DOI:10.16016/j.1000-5404.1996.01.004

group, receiving 0.64 g·kg^{-1}·day^{-1} and non-glutamine group receiving compound amino acids. The glutaminase activity was determined on the 10th day postburn in the mesenteric lymph nodes and splenic tissue and found to be greatly increased in the glutamine group and significantly suppressed in the non-glutamine group, which indicates that oral feeding of L-glutamine can improve the functions of lymphocytes postburn.

Key words burns; msesenteric lymph node; splenic tissue; glutaminase; miniswine

几种理化因素诱导的细胞微核形成及其自动化检测的研究*

The studies on the micronucleus formation induced by several chemical and physical factors and their micronucleus automatic measurement

曹 佳 程天民** (第三军医大学预防医学系分子毒理室)重庆,630038

微核(Micronuclei,简称MN)测试是用于评价外来化合物和环境污染物致突变性的一个重要试验,已在国内外得到了广泛应用。本研究选择了具有不同诱变机理的10种化合物、物理因子,采用电镜超微结构观察、BrdU掺入、DNA荧光原位杂交、抗着丝粒抗体染色、流式仪自动检测等多种技术手段,对整体动物红细胞、离体的人淋巴细胞、大鼠原代肝细胞、小鼠NIH3T3细胞的MN率变化规律,MN形成进机理行了系统研究,并研究了大样本细胞MN自动化检测的新技术,以及放烧复合伤时MN率的特殊变化规律。主要结果如下:(1)在0.5～5 Gy γ-射线照射人离体外周血淋巴细胞后,定量研究了第一个细胞周期各阶段MN形成情况,发现M期MNCF和NNF产量最高。另外,间期的S和G_2期细胞有可能直接形成MN。细胞原位固定显微形态学观察和电镜超微结构观察,也发现支持间期细胞核以核芽突方式形成MN的证据。(2)电镜观察发现5 Gy γ-射线诱导的人外周血培养淋巴细胞MN均具有双层核膜结构,MN内主要由低电子密度的常染色质组成,边缘有部分异染色质,个别MN内还有核仁样结构。提示经培养后增殖分裂的人淋巴细胞内,部分MN具有一定的结构和功能。而γ-射线诱导的小鼠骨髓红细胞MN虽具有双层核膜结构,但MN内全部由电子密度较高的异染色质组成。这提示MN结构和功能因所处细胞类型不同而有异。(3)使用抗着丝粒抗体染色和着丝粒主要卫星DNA探针荧光原位杂交方法。研究了染色体断裂剂CP、HQ、MMC和非整倍体毒剂COL、COM和AA的MN的染色体组成情况,发现两类毒剂诱导的MN的染色体组成完全不同。非整倍体毒剂COL、COM和AA约50%～70%MN由整条染色体组成,其中又约10%～30%由2条以上染色体组成,而染色体断裂剂则70%～80%以上的MN由染色体断片组成。(4)5 Gy γ-射线诱导的小鼠骨髓红细胞MN的DNA含量定量测定与染色体随机断裂和重接的模拟研究表明,当采用65% 1个Frag,22% 2个Frags,7% 3个Frags和6%LC混合分布模型时,可与MN的DNA实测分布值吻合较好。因此γ-射线诱导的小鼠骨髓红细胞MN,可看成是以染色体随机断裂和重接的方式形成的。(5)对小鼠红细胞MN的双染色双激光流式细胞仪检测方法进行了重要改进。使用RNA特异染料TO以区分PCE和NCE,使用DNA特异染料HO33342检出MN,首次实现了对化合物诱导的小鼠外周血红细胞MN的流式仪自动化检测。在对5个化合物及工业有害化合物的实际测定中,证实该方法与人工镜检相关性$r>0.95$,分选MN真实性在95%左右,而速度比人工检测提高了40～100倍,使该方法基本达到实用化程度。(6)使用两步染色流式细胞仪MN检测新技术,证实含有丰富代谢酶的大鼠原代培养肝细胞,可用于对间接致癌、致突变物活化后所形成MN的检测。但流式仪制样时空白对照易产生MN高背景值,有必要进一步寻找降低MN背景噪声的新方法。(7)小鼠放烧复合伤体内骨髓MNT研究表明:单纯烧伤(10%和20%)后不引起骨髓fMPCE升高,但放射复合烧伤(10%烧伤+1,3,5 Gy,20%烧伤+1,3,5 Gy)后MN率均明显低于单放组,且20%放烧复合组又明显低于10%组。同时发现放射复合烧伤后,PCE%成比例地增加,因此fMPCE降低的原因,可能是复合烧伤后刺激新生红细胞增加,或加速红细胞成熟所致。提示放烧复合伤早期以骨髓fMPCE作为放射剂量辅助指标时,有可能导致放射剂量低估,应予以注意。

关键词 微核;形成机理;流式细胞仪;γ-射线;放烧复合伤;自动化检测

中图法分类号 R329.24

(收稿:1995-12-29;修回:1996-01-22)

(编辑 沈锡庚、王 红)

* 德国研究技术部资助项目,全军"八五"青年基金资助项目,总后回国启动基金资助项目

** 防原医学教研室 重庆,630038

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net