

X-射线辐照对酿酒酵母细胞线粒体膜电位的影响

曹国珍^{1,2,3} 陆栋^{2,3} 张苗苗^{2,3} 缪建顺^{2,3} 王菊芳^{2,3} 李文建^{1,2,3}

¹ (兰州大学药学院 兰州 730000)

² (中国科学院近代物理研究所 兰州 730000)

³ (甘肃省微生物资源开发利用重点实验室 兰州 730000)

摘要 采用不同剂量的X-射线对酿酒酵母细胞进行辐照处理,然后以罗丹明123(Rh123)为荧光探针,结合流式细胞术检测酵母细胞线粒体膜电位($\Delta\Psi_m$)的变化。结果表明,不同剂量X-射线辐照后,酵母细胞 $\Delta\Psi_m$ 较对照(0 Gy)显著下降($p<0.05$ 或 $p<0.01$)且表现出明显的剂量-效应关系。对于辐照后3、6、12、24和48 h时间点的剂量-效应,及不同吸收剂量下时间-效应关系的研究中发现:3 h以前(包括3 h), $\Delta\Psi_m$ 随吸收剂量的增加而下降,相比于0 h点的 $\Delta\Psi_m$,3 h点略有上升,但仍低于对照;3 h以后,辐照组的 $\Delta\Psi_m$ 维持在高于对照的水平,且随剂量的增加而上升,上升的程度和最初吸收剂量的大小有关,吸收剂量越大则最终的 $\Delta\Psi_m$ 越高,48 h时趋于平衡,整个过程呈现出明显的剂量-效应和时间-效应规律。以上结果说明,在X-射线辐照引起酵母 $\Delta\Psi_m$ 变化的过程中, $\Delta\Psi_m$ 并不只是单纯下降,而是表现出更加复杂的变化规律。

关键词 线粒体膜电位, X-射线, 酿酒酵母, 罗丹明123

中图分类号 Q691.5, TL99

DOI: 10.11889/j.1000-3436.2015.rj.33.010201

电离辐射影响生物体基因组的稳定性,遗传物质的变化可产生严重的遗传毒性;同时,电离辐射也可以诱导生物体细胞凋亡或坏死。作为一种典型的电离辐射,X-射线辐射通过直接效应和间接效应对生物体造成损伤。前者主要是指辐射能量直接沉积在生物体内而引起物理损伤;后者则是指电离辐射通过与生物体内环境(主要是水)相互作用,导致水分子分解产生过量的活性氧(Reactive oxygen species, ROS)。与直接效应相比,间接作用产生的ROS往往给生物体带来更加复杂的危害,如引起细胞膜损伤、DNA的损伤和诱导由线粒体介导细胞凋亡过程等^[1]。线粒体是细胞生命活动的控制中心,不仅是细胞呼吸链和氧化磷酸化的中心,而且也是细胞凋亡的调控中心,线粒体功能的改变往往表现为膜电位降低和膜的不稳定性。在正常情况下,质子可自由通过线粒体通透性转运孔,形成线粒体跨膜电位(Mitochondrial transmembrane potential, $\Delta\Psi_m$)。当细胞遭受电离辐照时,线粒体通透性转运孔异常开放, $\Delta\Psi_m$ 下降或丧失,细胞色素C及多种

凋亡诱导因子释放,引起细胞凋亡级联反应^[2-4]。

线粒体内 $\Delta\Psi_m$ 的降低被认为是细胞凋亡级联反应中最早发生的事件,一旦线粒体 $\Delta\Psi_m$ 剧变,则细胞凋亡将不可逆。在细胞凋亡的研究中, $\Delta\Psi_m$ 的变化多作为凋亡发生的早期特征和观察线粒体凋亡途径的敏感指标^[5-7]。王志成等^[8]在研究X-射线辐照对细胞 $\Delta\Psi_m$ 的影响时发现:细胞凋亡早期 $\Delta\Psi_m$ 处于下降状态,然后又转变为上升趋势。然而对于在不同剂量的电离辐射下, $\Delta\Psi_m$ 的变化与吸收剂量的关系以及与辐照处理后不同时间点的时效性等研究较少。

酿酒酵母是真核模式生物,也是研究 $\Delta\Psi_m$ 变化的良好标本^[9],已经广泛应用于辐照生物学的研究。本研究选用酿酒酵母细胞为研究对象,以X-射线为辐照手段,采用罗丹明123(Rhodamine123, Rh123)染色结合流式细胞术检测不同剂量辐照后的 $\Delta\Psi_m$ 以及不同时间点 $\Delta\Psi_m$ 的变化情况,旨在阐明在X-射线导致的酵母细胞凋亡中,线粒体 $\Delta\Psi_m$ 变化的剂量-效应关系以及不同剂量下的时间-效应关系。

基金资助:中国科学院西部之光人才培养计划项目(Y306010XB0)和甘肃省自然科学基金项目(1308RJZA316)

第一作者:曹国珍,男,1989年10月出生,2012年6月毕业于石河子大学,现为兰州大学在读硕士研究生, E-mail:

caoguozhen@impcas.ac.cn

通讯作者:李文建,博士,研究员, E-mail: wjli@impcas.ac.cn

收稿日期:初稿 2014-10-08;修回 2014-11-04

1 材料与方

1.1 原料与试剂

酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*), 本实验室保存; 酵母浸出粉胨葡萄糖 (Yeast extract peptone dextrose, YPD)培养基: 葡萄糖 20 g/L, 酵母提取物 15 g/L, 蛋白胨 20 g/L, pH=6.8; 流式细胞仪 (MACSQuant), 德国美天旎公司; 冷冻离心机 (Z323K), Hermle 公司; 罗丹明 123, Sigma 公司。

1.2 X-射线辐照处理细胞

取活化后斜面酿酒酵母一环, 接种于 25 mL 液体 YPD 培养基中, 在 30 °C、200 r/min 的条件下培养 9 h, 至菌株生长到对数期。取上述酵母细胞 2 mL 加至直径为 35 mm 的无菌平皿中, 将其随机分成 8 组。然后在 RX-650 X-射线仪 (FAXITRON, 美国) 上进行辐照处理, X-射线仪的辐照电压为 50 kV, 剂量率为 1.25 Gy/min, 吸收剂量分别为 25、50、75、100、125、150 和 175 Gy, 其中, 对照组(0 Gy)不做任何辐照处理。随后, 为了检测辐照后不同时间点 $\Delta\Psi_m$ 的变化情况, 将辐照处理后的酵母细胞置于培养箱内, 在正常的生长条件下(30 °C、200 r/min)培养至 3、6、12、24 和 48 h 时间点时取样测定 $\Delta\Psi_m$ 。

1.3 $\Delta\Psi_m$ 的检测

离心收集经过不同剂量 X-射线辐照后的酵母细胞, 用 PBS 洗涤 2 次后稀释至细胞浓度大约为 10^6 个/mL, 取 100 μ L 细胞加入 900 μ L PBS 和 2 μ L 1 mg/L 的 Rh123, 37 °C 避光孵育 30 min, 然后进样至流式细胞仪检测 (激发光 488 nm, FL1 检测器测 505–545 nm 发射光强度), 每个样计数 10 000 个细胞, 每个样重复 3 次。

1.4 数据处理

所有数据均采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间均数比较 (辐照组与对照组) 采用单因素方差分析。统计分析由 SPSS15 软件完成; 流式数据均采用 FlowJo7.6 软件处理; 统计图采用 Origin8.0 软件绘制。

2 结果

2.1 X-射线辐照后酿酒酵母细胞 $\Delta\Psi_m$ 变化的剂量-效应关系

分别用 25、50、75、100、125、150 和 175 Gy 的 X-射线辐照处理酿酒酵母细胞, 其中对照组不做任何处理, 然后使用 Rh123 染色, 流式细胞术定量检测 $\Delta\Psi_m$ 的变化, 其中 Rh123 阳性率(Rh123⁺)表示 $\Delta\Psi_m$ 的相对值, 结果如图 1 所示。

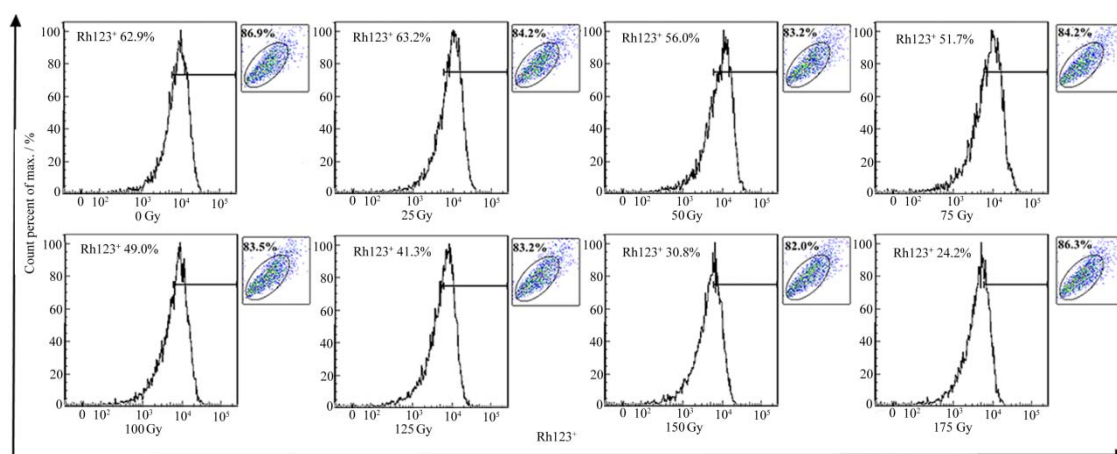


图 1 不同剂量 X-射线辐照对酵母细胞 $\Delta\Psi_m$ 的影响
Fig.1 Effects of X-ray irradiation at different doses on yeast $\Delta\Psi_m$

由图 1 可知, 随着 X-射线吸收剂量的增加, Rh123⁺逐渐下降, 即 $\Delta\Psi_m$ 表现出下降趋势。尤其是当吸收剂量为 175 Gy 时, Rh123⁺的变化具有统计学差异($p < 0.01$), 从对照组(0 Gy)的 69.2%下降到

24.2%。随之对其结果进行统计处理, 结果见图 2。由图 2 可知, 25 Gy 剂量辐照时, $\Delta\Psi_m$ 几乎没有变化, 这可能是由于 25 Gy 剂量太低, 在此剂量下, X-射线辐照没有导致酵母细胞线粒体通透性转运

孔的改变或者产生的 ROS 不足以打破机体 ROS 的平衡状态, 所以没有影响到线粒体的功能。然而,

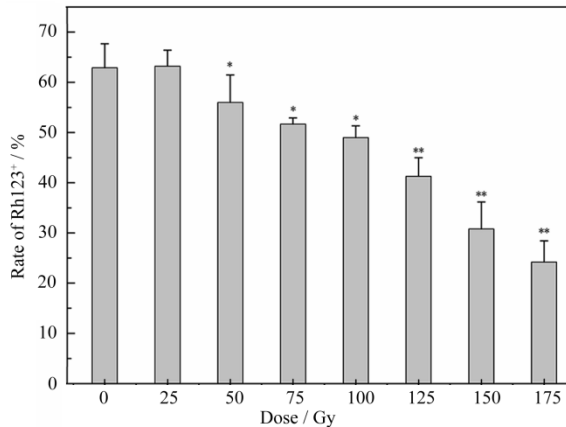


图2 X-射线吸收剂量与酵母细胞 $\Delta\Psi_m$ 的关系
(与前一剂量相比, *, $p<0.05$; **, $p<0.01$)

Fig.2 Relationship between absorbed dose of X-rays and $\Delta\Psi_m$ of yeast(*, $p<0.05$; **, $p<0.01$ vs. prior group)

从 50 Gy 开始, 酵母细胞的 $\Delta\Psi_m$ 逐渐下降, 较对照具有统计学差异 ($p<0.05$); 相邻大剂量与小剂量比较发现, 前后剂量之间 $\Delta\Psi_m$ 的下降具有统计学差异 ($p<0.05$ 或 $p<0.01$), 说明 X-射线诱导酵母细胞线粒体 $\Delta\Psi_m$ 的变化具有剂量依赖性。

2.2 X-射线辐照酵母细胞不同时间点的 $\Delta\Psi_m$ 的变化

为了深入研究 X-射线辐照对酵母细胞 $\Delta\Psi_m$ 的影响, 本实验对辐照后 3、6、12、24 和 48 h 时间点不同剂量下 $\Delta\Psi_m$ 的变化进行了定量跟踪检测, 结果如图 3。在每个剂量下, 0 h 点的 $\Delta\Psi_m$ 均最低, 说明 X-射线辐照导致酵母细胞 $\Delta\Psi_m$ 的下降是凋亡的早期事件, 往往在很短的时间内就已经发生。随后 $\Delta\Psi_m$ 都所上升, 48 h 时趋于平衡, 每个时间点 $\Delta\Psi_m$ 的变化过程都表现出与吸收剂量的相关性。

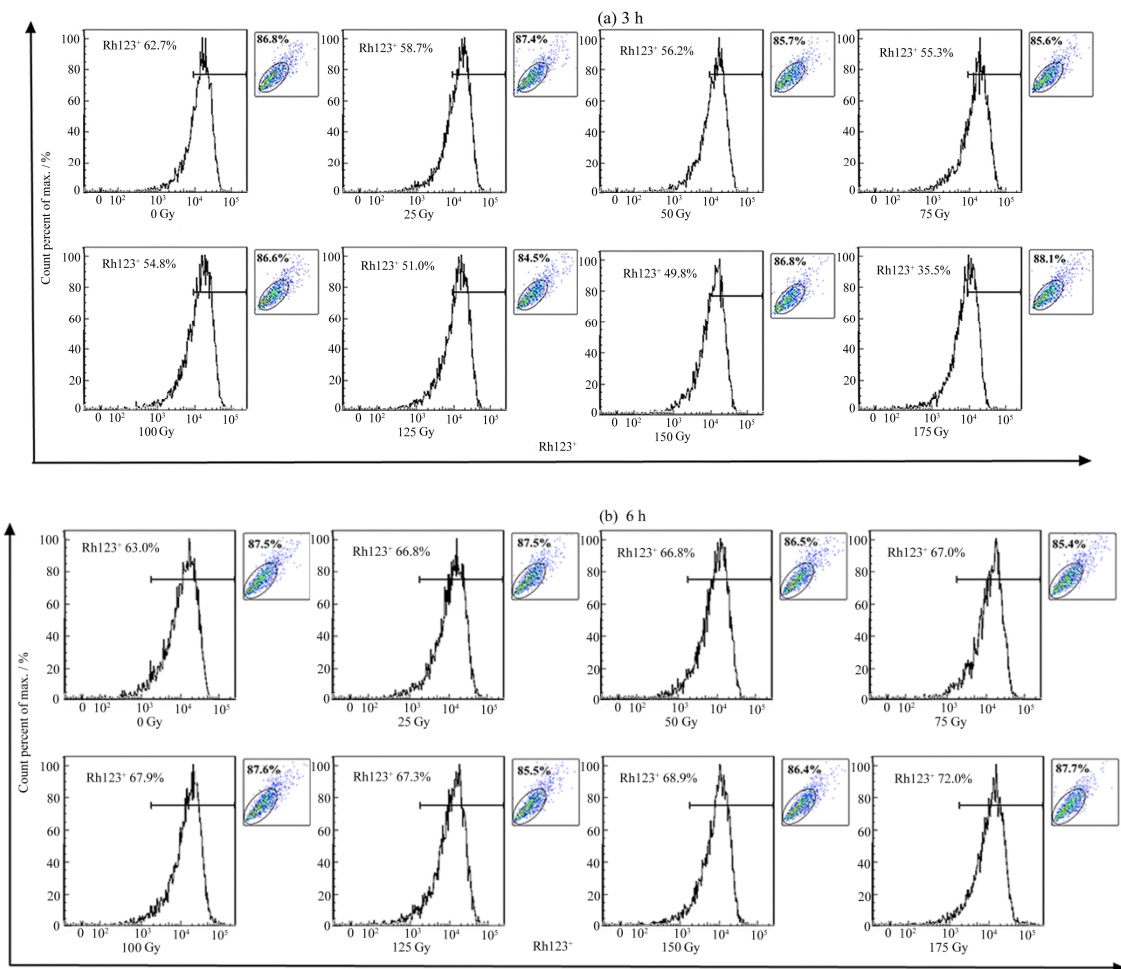


图 3(A) X-射线辐照后不同时间点不同剂量对酵母细胞 $\Delta\Psi_m$ 的影响

Fig.3(A) Effects of X-ray irradiation at different doses on yeast $\Delta\Psi_m$ at different time(a, 3 h; b, 6 h)

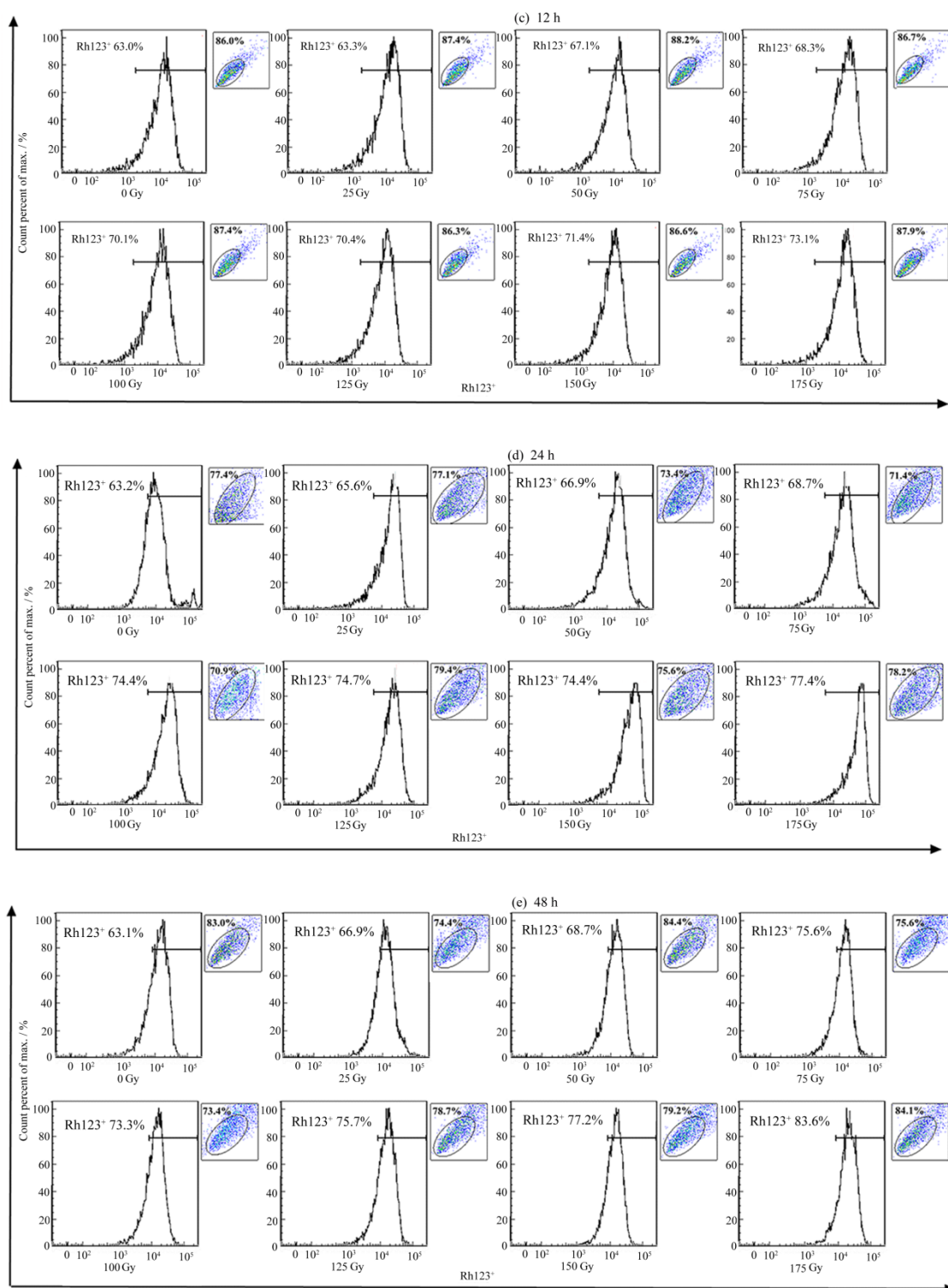


图 3(B) X-射线辐照后不同时间点不同剂量对酵母细胞 $\Delta\Psi_m$ 的影响
Fig.3(B) Effects of X-ray irradiation at different doses on yeast $\Delta\Psi_m$ at different time(c, 12 h; d, 24 h; e, 48 h)

2.3 不同时间点 $\Delta\Psi_m$ 变化的剂量-效应关系

为了探索辐照后不同时间点 $\Delta\Psi_m$ 与剂量的关系, 本研究对其变化趋势进行了拟合处理。由图 4

可知, 在照射后 3 h 内, $\Delta\Psi_m$ 均处于随剂量的增加而下降的状态, 在同等剂量下, 与 0 h 时的 $\Delta\Psi_m$ 相比较, 3 h 时有所上升, 但均低于对照(0 Gy)。从 6 h 开始, $\Delta\Psi_m$ 表现出增加趋势, 48 h 增加到最高值且

趋于平衡, 其中 6 h 到 12 h 之间变化不太明显, 整个过程也表现出与剂量的相关性。这说明在 X-射线导致的酵母细胞凋亡的早期, $\Delta\Psi_m$ 明显下降且表现出对吸收剂量的依赖性, 但是到了凋亡后期, 特别是大部分细胞的凋亡过程已经完成或已经处于死亡状态时, $\Delta\Psi_m$ 不仅没有继续下降, 反而呈现出上升趋势。这可能是在 3 h 以后, 由于辐照引起的凋亡细胞大多处于死亡状态, 在死细胞中 Rh123 可以自由扩散到线粒体质基质中, 所以死细胞表现出更强的 Rh123 阳性, 而对照组 (健康的活细胞) 中包含部分 Rh123 扩散到线粒体内的细胞和部分没有装载上 Rh123 的细胞, 所以在同等条件下死细胞的 Rh123⁺ 比正常细胞的更强, 而正处于凋亡早期的细胞 Rh123⁺ 相对最弱。

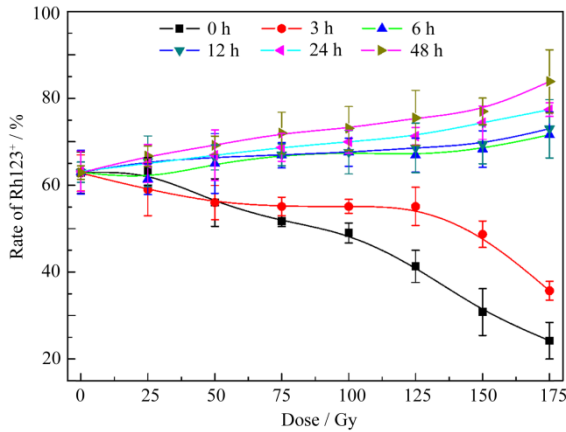


图 4 不同时间点 $\Delta\Psi_m$ 变化的剂量-效应关系
Fig.4 Relation between irradiation doses and $\Delta\Psi_m$ at different time

2.4 不同剂量下 $\Delta\Psi_m$ 变化的时间-效应关系

对于不同剂量 X-射线辐照下酵母细胞 $\Delta\Psi_m$ 随时间变化 (时间-效应关系) 的研究中发现: 在 X-射线引起的酵母细胞凋亡过程中, $\Delta\Psi_m$ 并不只是单纯的下降, 而是表现出更加复杂的变化规律。 $\Delta\Psi_m$ 的下降是及时的, 随后呈现出相对于 0 h 点而上升的趋势 (见图 5)。具体来讲, 小剂量 25 Gy 辐照处理时, 在 6 h 以前 $\Delta\Psi_m$ 稍有下降, 6 h 以后虽然略有上升, 但和对照相比整个变化过程均不显著, 这可能是由于 25 Gy 的吸收剂量太小, 不足影响到线粒体通透性转运孔的功能或辐照间接生物学效应产生的 ROS 没有超过机体的阈值, 从而对线粒体内膜的影响较小, 所以 $\Delta\Psi_m$ 的变化不显著。在剂量超过 25 Gy 的情况下, 随着吸收剂量的增加, 在 0 h 点 $\Delta\Psi_m$ 下降越明显, 3 h 点开始回升, 6 h 接近正常水

平, 随后一直呈上升状态, 且上升的程度和最初吸收剂量的大小有关, 剂量越大则最终的 $\Delta\Psi_m$ 越高, 具有明显的时间-效应规律。

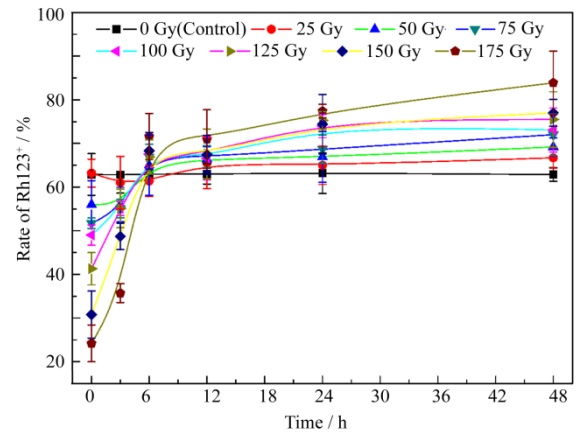


图 5 不同剂量辐照下 $\Delta\Psi_m$ 变化的时间-效应关系
Fig.5 Relation between time and $\Delta\Psi_m$ at different doses

3 讨论

在发现酵母中也可能存在凋亡现象之后, 酵母中的一些凋亡调控蛋白类似物也陆续被发现, 所有这些发现都使人们更为确信酵母细胞存在与多细胞生物中类似的凋亡过程。目前的研究显示, 和哺乳动物细胞类似, 酵母细胞凋亡可由内源性信号或外源性信号引发^[10-11]。其中内源性途径主要受到线粒体的调控^[12], 也被称为线粒体途径。在凋亡诱导因素作用下, 线粒体通透性转变孔开放, $\Delta\Psi_m$ 崩溃, 线粒体内膜通透性增加, 线粒体通透性转换孔开放后导致线粒体基质膨胀, 由于外膜表面积较小, 易于破裂, 破裂后释放出膜间促凋亡蛋白, 凋亡促进因子释放入胞质, 启动凋亡的发生。另外, 自由基在电离辐照氧化损伤效应中发挥着重要的作用, 特别是 ROS。在正常情况下, 机体内 ROS 的产生和 ROS 清除系统处于动态平衡状态, 细胞可以通过改变一部分基因的表达以减弱外界环境产生的压力来拯救细胞, 但是当 ROS 产生超过某个阈值的时, 这种平衡就被打破, 过量的 ROS 便会提高线粒体外膜的通透性, 并通过对线粒体内膜上与细胞色素 C 结合的双磷脂酰甘油的过氧化作用, 促使细胞色素 C 从线粒体内膜脱落, 释放到细胞质中, 进而激活 Caspase, 并引起一系列级联反应, 最终导致细胞凋亡^[13-16]。另外, 细胞色素 C 的释放反过来也会影响 ROS 的水平。细胞色素 C 释放后, 电子传递链中的电子不能传递给细胞色素 C, 而是以单电子的形式

传递给氧,产生 O_2^- ,造成ROS大量积累。故细胞色素C的释放也可导致ROS的进一步升高^[17]。

在整个线粒体细胞凋亡过程中,最关键的是 $\Delta\Psi_m$ 的变化, $\Delta\Psi_m$ 下降也被认为是细胞凋亡级联反应中最早事件,因此深入而系统的研究 $\Delta\Psi_m$ 对于线粒体介导的细胞凋亡具有普遍性意义。流式细胞术是检测胞内 $\Delta\Psi_m$ 变化的重要方法。Rh123是一种具有亲脂性的阳离子荧光染料,可以与具有高负电性膜电位的线粒体所结合,Rh123荧光强度的下降说明线粒体内膜两侧电位差下降,不能提供足够的电位梯度使标记物被吸收和保留在线粒体中;电位差越小,线粒体吸收的染料越少,荧光强度就越弱^[18]。当细胞发生凋亡时,去极化使膜电位降低,Rh123结合减少,所检测到的荧光强度减弱,所以Rh123通常作为一种灵敏的线粒体跨膜电位指示剂^[19-20],在流式细胞仪525 nm处检测到绿色荧光,用荧光强度可以间接反映 $\Delta\Psi_m$ 的高低。

本实验选用Rh123为探针,采用流式细胞术间接检测X-射线辐照后酿酒酵母细胞内 $\Delta\Psi_m$ 的变化。从量效关系看, $\Delta\Psi_m$ 随着照射剂量的增加而降低,与0 Gy比较差异具有显著性($p<0.05$),呈现出较好的剂量依赖性。从时程关系看, $\Delta\Psi_m$ 在辐照后的0 h点最低,随之表现出上升势态,在6 h时 $\Delta\Psi_m$ 几乎与正常细胞(对照)相当。从6 h以后,辐照组逐渐表现出比对照组更高的 $\Delta\Psi_m$,在48 h时趋于平衡(图4、5)。并且吸收剂量越高,0 h点 $\Delta\Psi_m$ 下降的越多,对应的6 h以后 $\Delta\Psi_m$ 的升高也更显著,整个过程具有明显的时程和剂量-效应规律性。

由于酵母细胞在没有线粒体时也能够生长,同时又是相对简单的单细胞真核生物,因此被认为是研究凋亡过程中线粒体作用的良好模型^[21]。所以,上述研究结论不仅为电离辐照诱导酵母细胞线粒体凋亡途径中 $\Delta\Psi_m$ 的变化提供理论依据,更为线粒体及相关蛋白调控细胞凋亡提供了重要的实验证据。

参考文献

- 1 Azzam E I, Jay-Gerin J P, *et al.* Ionizing radiation-induced metabolic oxidative stress and prolonged cell injury [J]. Cancer letters, 2012, **327**(1-2): 48-60.
- 2 Galluzzi L, Brenner C, Morselli E, *et al.* Viral control of mitochondrial apoptosis [J]. PLoS Pathogens, 2008, **4**(5): 1-18.
- 3 Green D R, Kroemer G. The pathophysiology of mitochondrial cell death [J]. Science, 2004, **305**(5684): 626-629.
- 4 Raha S, Robinson B H. Mitochondria, oxygen free radicals, and apoptosis [J]. American Journal of Medical Genetics, 2001, **106**(1): 62-70.
- 5 Cao S H, Xu W T, Zhang N, *et al.* A mitochondria-dependent pathway mediates the apoptosis of GSE-induced yeast [J]. PLoS ONE, 2012, **7**(3): 1-9.
- 6 Du L, Su Y, Sun D, *et al.* Formic acid induces Yca1p-independent apoptosis-like cell death in the yeast *Saccharomyces cerevisiae* [J]. FEMS Yeast Research, 2008, **8**(4): 531-539.
- 7 Ayer A, Gourlay C W, Dawes I W. Cellular redox homeostasis, reactive oxygen species and replicative ageing in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. FEMS Yeast Research, 2014, **14**(1): 60-72.
- 8 王志成, 李艳博, 郭伟, 等. 低剂量电离辐照对小鼠睾丸生精细胞中活性氧活性和线粒体膜电位的影响 [J]. 吉林大学学报(医学版), 2007, **33**(5): 786-789.
WANG Zhicheng, LI Yanbo, GUO Wei, *et al.* Effects of low dose radiation on activity of reactive oxygen species and mitochondrion membrane potential in spermatogenic cells of mouse testes [J]. Journal of Jilin University (Medicine Edition), 2007, **33**(5): 786-789.
- 9 Altmann K, Durr M, Westermann B. *Saccharomyces cerevisiae* as a model organism to study mitochondrial biology: general considerations and basic procedures [J]. Methods Molecular Biology, 2007, **372**(11): 81-90.
- 10 吴静, 闵柔, 雷艳丽, 等. 酵母细胞凋亡机制研究进展 [J]. 生物加工过程, 2010, **8**(6): 67-72.
WU Jing, MIN Rou, LEI Yanli, *et al.* Research progress of yeast cell apoptosis and its mechanism [J]. Chinese Journal of Bioprocess Engineering, 2010, **8**(6): 67-72.
- 11 钟明, 杨显富, 邓绍平. 外源性及内源性细胞凋亡机制研究进展 [J]. 实用医院临床杂志, 2014, **11**(2): 70-173.
ZHONG Ming, YANG Xianfu, DENG Shaoping. Research progress in intrinsic and extrinsic mechanism of cell apoptosis [J]. Practical Journal of Clinical Medicine, 2014, **11**(2): 170-173.
- 12 Elmore S. Apoptosis: a review of programmed cell death [J]. Toxicologic Pathology, 2007, **35**(4): 495-516.
- 13 Vacca R A, Valenti D, Bobba A, *et al.* Cytochrome c is released in a reactive oxygen species-dependent manner and is degraded via caspase-like proteases in tobacco Bright-Yellow 2 cells en route to heat shock-induced cell

- death [J]. Plant Physiology, 2006, **141**(1): 208-219.
- 14 Lee H C, Wei Y H. Mitochondrial role in life and death of the cell [J]. Journal of Biomedical Science, 2000, **7**(1): 2-15.
 - 15 Petrosillo G, Ruggiero F M, Pistolese M. Reactive oxygen species generated from the mitochondrial electron transport chain induce cytochrome c dissociation from beef-heart submitochondrial particles *via* cardiolipin peroxidation possible role in the apoptosis [J]. FEBS Letters, 2002, **509**(7): 435-438.
 - 16 Guido K. Mitochondrial control of apoptosis: an introduction [J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2003, **304**(3): 433-435.
 - 17 Starkov A A. Measuring Mitochondrial Reactive Oxygen Species (ROS) Production [J]. Systems Biology of Free Radicals and Antioxidants, 2014, **3**(5): 265-278.
 - 18 Lucken-Ardjomande S, Martinou J C. Newcomers in the process of mitochondrial permeabilization [J]. Journal of Cell Science, 2005, **118**(3): 473-483.
 - 19 Huerta S, Goulet E J, Huerta-Yepez S, *et al.* Screening and detection of apoptosis [J]. Journal of Surgical Research, 2007, **139**(1): 143-156.
 - 20 Vekshin N L. On measurement of mitochondrial transmembrane potential with fluorescent probes [J]. Biophysics, 2013, **58**(6): 845-850.
- Eisenberg T, BuRner S, Kroemer G, *et al.* The mitochondrial pathway in yeast apoptosis [J]. Apoptosis, 2007, **12**(5): 1011-1023.

Effects on mitochondrial transmembrane potential of *Saccharomyces cerevisiae* by X-ray irradiation

CAO Guozhen^{1,2,3} LU Dong^{2,3} ZHANG Miaomiao^{2,3} MIAO Jianshun^{2,3}
WANG Jufang^{2,3} LI Wenjian^{1,2,3}

¹(School of Pharmacy, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China)

²(Institute of Modern Physics, Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000, China)

³(Key Laboratory of Microbial Resources Exploitation and Application, Lanzhou 730000, China)

ABSTRACT *Saccharomyces cerevisiae* cells were irradiated by X-rays with different doses, and then rhodamine123, a kind of fluorescent dye, was applied to measuring $\Delta\Psi_m$ (mitochondrial transmembrane potential) by flow cytometry. According to results, the $\Delta\Psi_m$ of *S.cerevisiae* cell obviously decreased compared with that in control group (0 Gy) ($p<0.05$ or $p<0.01$), and displayed remarkable correlation with dose after X-rays treatment. The results showed that $\Delta\Psi_m$ was declined with the increase of dose before 3 h, while slightly went up at 3 h and the whole was lower than that of the control. After 3 h, $\Delta\Psi_m$ maintained the greater level than the control and revealed rising trend with dose and became balanced at 48 h finally. There is a distinct relationship among the $\Delta\Psi_m$ and dose, as well as time. These results demonstrate that the change of $\Delta\Psi_m$ induced by X-ray irradiation is not simply a drop but presents more complex relations.

KEYWORDS Mitochondrial transmembrane potential, X-rays, *Saccharomyces cerevisiae*, Rhodamine123

CLC Q691.5, TL99