

利用基因芯片筛选辐射损伤早期生物标志物

王治东¹ 沈丽萍¹ 林仲武² 张学清¹ 李孝鑫¹ 陈英¹

¹ (军事医学科学院放射与辐射医学研究所 北京 100850)

² (军事医学科学院科技部 北京 100850)

摘要 以人外周血全血为研究对象,筛选本底值均一的辐射敏感基因,寻找辐射损伤早期的生物标志物。采集3名健康成人外周血,采用 γ -射线对其分别进行0、0.75、2和6 Gy照射,照射后2 h提取全血总RNA,利用全基因组芯片筛选差异表达基因,并分析差异表达基因在3个个体中的本底值。结果显示,共筛选到15个具有相对均一本底值的辐射诱导基因,这些基因照射后的变化具有一定的剂量依赖性:ISG20L1、TRAF4和TRIAP1等3个基因在0.75、2和6 Gy 3个剂量照射后2 h均上调2倍以上;LOC345537、POLH、SPIB、TNFSF9和TCL1A等5个基因在2 Gy和6 Gy照射后2 h变化2倍以上,其中TCL1A为下调表达,其余4个上调表达;C12orf5、DDB2、GADD45A、MADCAM1和RPS27L仅在6 Gy照射后2 h上调2倍以上。

关键词 电离辐射, 基因芯片, 辐射敏感基因, 生物标志物

中图分类号 TL71

DOI: 10.11889/j.1000-3436.2014.rj.32.050205

在大规模核与辐射事故发生后早期,对疑似受照人员进行快速分类诊断和剂量估算对于事故救援具有重要的作用。目前,得到认可和应用的生物剂量估算方法主要包括以染色体畸变为代表的细胞遗传学方法和外周血淋巴细胞绝对数量分析两种方法。以染色体畸变分析作为辐射生物剂量估算的“金标准”方法,具有稳定性好和准确性高的优点,但是需要熟练的技术人员,而且分析时间长^[1]。外周血淋巴细胞绝对数量分析方法简单、快速,但是外周血淋巴细胞绝对数量下降多发生在照射后8–12 h,而且因为不同个体之间淋巴细胞绝对数量本底水平的差异较大,通常需要每间隔4–8 h分析一次,连续分析3次^[2–3]。已有的生物剂量估算方法不能满足大规模辐射事故分类诊断和剂量估算的需求。随着分子生物学技术的发展,国内外一些实验室^[4–7]采用基因芯片技术筛选辐射敏感基因,寻找可用于辐射生物剂量估算的分子标志物,并发现了很多辐射敏感基因,但是并没有任何一个辐射敏感基因发展成为辐射损伤诊断的分子标志物,辐射敏感基因在正常本底值之间的波动大是原因之一。

本研究对3名健康成人外周血进行剂量为0.75、2和6 Gy的照射,在同一张基因芯片上进行

平行分析,筛选照射后2 h的差异表达基因,同时分析差异基因的正常本底水平,筛选到15个具有相对均一正常本底水平的辐射敏感基因,有望研究出新的辐射损伤分子标志物。

1 材料和方法

1.1 血样采集和照射

采集3名健康成人(A、B和C,均为男性,无吸烟史、无饮酒史,近期未接受X-射线检查等放射影响,近期无服药史,采样时年龄分别为27、27和29岁)外周血各8 mL,肝素抗凝。将每份抗凝血平均分为4份,每份2 mL。37 °C条件下用钴-60放射源(剂量率为1.5 Gy·min⁻¹)分别单次照射0.75、2和6 Gy,设立未照射血样对照。照射后血样于37 °C培养箱中放置2 h,收集全血,提取总RNA。根据血样来源和照射剂量对照样品和照射样品标记如下:A-0、B-0、C-0、A-0.75、B-0.75、C-0.75、A-2、B-2、C-2、A-6、B-6和C-6。

1.2 总RNA提取和电泳鉴定

采用百泰克公司的全血总RNA提取试剂盒提

第一作者:王治东,男,1977年11月出生,2006年毕业于军事医学科学院,放射医学博士,研究方向辐射生物计量学、辐射敏感基因功能及核辐射事故医学应急, E-mail: wangzhidong1977@126.com

通讯作者:陈英,博士生导师,研究员, E-mail: yingchen_29@163.com

收稿日期:初稿 2014-05-23;修回 2014-06-10

取全血总 RNA,并用 NucleoSpin® RNA clean-up 试剂盒(MACHERY-NAGEL, Germany)对总 RNA 进行过柱纯化,最后用分光光度计定量,甲醛变性胶电泳鉴定 RNA 的完整性,−80 °C 保存。

1.3 基因芯片分析

采用罗氏公司的 NimbleGen 全基因组芯片进行,具体操作过程:(1)反转录合成 1st-strand cDNA。以 Total RNA 或 mRNA 起始,含有 T7 启动子序列的 T7Oligo (dT) Primer 为引物,使用 SuperScriptII 酶反转录合成 1st-strand cDNA。(2)合成 2nd-strand cDNA。用 RNase H 将杂合链中的 RNA 切成短片段,DNA Polymerase I 以 RNA 短片段为引物延伸,合成 2nd-strand cDNA,并纯化双链 cDNA。(3)体外转录合成 cRNA。以 cDNA 为模板,利用 T7 Enzyme Mix 体外转录合成 cRNA,然后纯化定量。(4)随机引物反转录。取 5 μg cRNA,用 CbcScript 酶,Random Primer 进行反转录,反转录产物用 PCR NucleoSpin Extract II Kit (MN) 纯化。(5)cDNA 用 Klenow 酶标记。取上述反转录产物,以 Random Primer 为引物进行 Klenow 酶标记,标记产物用 PCR NucleoSpin Extract II Kit (MN) 纯化。(6)杂交与清洗。将标记好的样品与杂交 buffer (3×SSC, 0.2% SDS, 50× Denhart's, 25% 甲酰胺) 混匀后注到已经与相应 Mixer 粘合的芯片上,采用 Roche NimbleGen Hybridization System 12 杂交仪 42 °C 杂交 14–16 h。杂交结束后,去除 Mixer,分别用洗液 I、洗液 II 和洗液 III 清洗芯片,甩干,扫描。(7)芯片扫描使用 Roche-NimbleGen MS200 扫描仪扫描芯片。(8)芯片图像的采集与数据分析采用 NimbleScan 进行图像分析,将图像信号转换为数字信号。用 RMA (Robust multichip analysis) 归一化方法对信号值进行校正后,再用 SAM (Significance analysis of microarrays) 软件进行分析。变化倍数在 2 倍以上认为是差异表达基因。

2 结果

2.1 总 RNA 完整性分析

照射后的全血提取总 RNA,经过柱纯化。RNA 纯度测定表明所有样品的 260/280 均大于 1.8。采用甲醛变性电泳分析 RNA 的完整性。如图 1 所示,所有 12 个样品的 RNA 电泳条带清楚,28 s: 18 s

rRNA 条带亮度大于或接近 1: 1。从纯度和完整性上看,提取的总 RNA 满足基因芯片分析的需要。

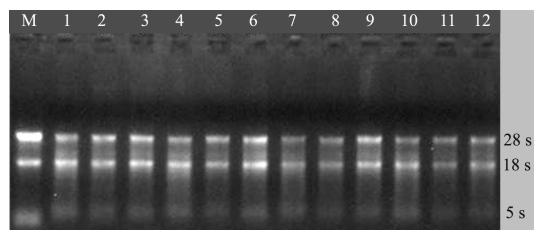


图 1 总 RNA 完整性分析

M: Hela 细胞提取的总 RNA, 1–12 分别代表 A-0、B-0、C-0、A-0.75、B-0.75、C-0.75、A-2、B-2、C-2、A-6、B-6 和 C-6 样品

Fig.1 Analysis of total RNA integrity

M: Total RNA extracted by Hela cell, 1–12 represent samples A-0, B-0, C-0, A-0.75, B-0.75, C-0.75, A-2, B-2, C-2, A-6, B-6 and C-6, respectively

2.2 血样共同变化差异表达基因筛选

本研究采用的 NimbleGen 全基因组芯片可以在同一张芯片上同时分析 12 个样品,可以最大程度的保证不同样品之间数据的可比性。图 2 为 A、B、C 3 个志愿者的外周血分别进行 0.75、2 和 6 Gy 照射后与各自的对照样品 (0 Gy 照射组) 比较的散点图,散点图中红色 (上) 表示表达上调基因,绿色 (下) 表示表达下调基因,黑色 (中) 为无明显差别基因。

表 1 显示 A、B、C 三名志愿者的外周血受到不同剂量照射后超过 2 倍改变的差异表达基因数目。从结果可以看出,在相同剂量照射下,3 名志愿者外周血的差异表达基因数目存在明显差别,志愿者 C 的血样照射后差异变化基因数目最多,A 次之,B 最少。对同一基因,同样剂量照射后,志愿者 C 的血样照射后基因变化幅度最大,这种差异表达基因数量和基因变化幅度的差异也证实辐射敏感基因在照射后的个体间差异,提示不同个体的辐射敏感性的不同。为了提高基因芯片筛选结果的准确性,将在 3 名志愿者血样中变化均超过 2 倍的基因认定为是差异表达基因。表 2 列出血样在 0.75、2 和 6 Gy 照射后 2 h 差异表达基因的变化倍数。3 名志愿者来源的外周血在 0.75、2 和 6 Gy 照射后共同变化的差异表达基因数目分别为 7、13 和 19 个,在 3 个剂量均为差异表达的基因共计 6 个,即 ISG20L1、CDKN1A、BBC3、TRAF4、TNFSF7 和 TRIAP1 (表 2)。筛选到的差异表达基因包括 3 个功能未知基因 (LOC345537、LOC401296 和 LOC90925)。

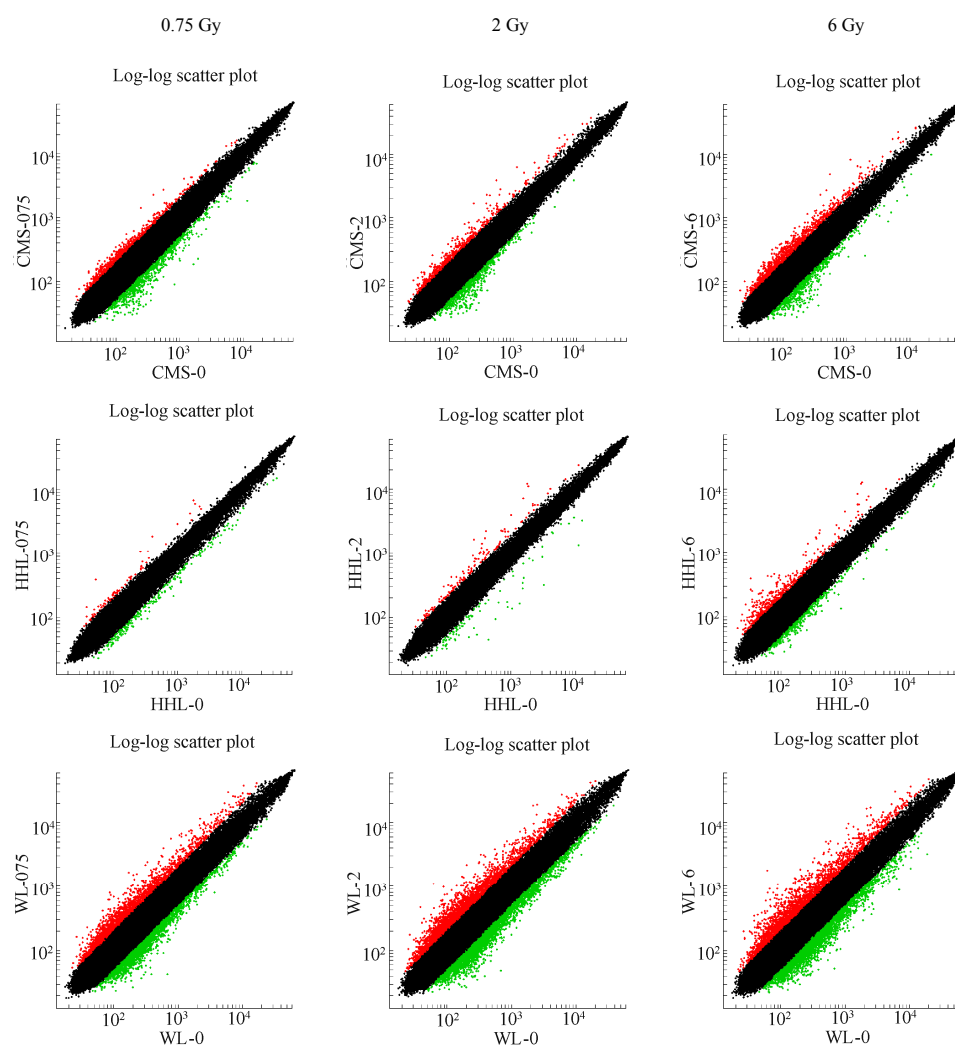


图2 外周血照射后基因芯片分析散点图
Fig.2 Analysis of microarray scatterplot of irradiated peripheral blood

表1 血样照射后差异表达基因数目分析
Table 1 Number analysis of differential expression genes of blood samples after irradiation

	0.75 Gy		2 Gy		6 Gy	
	上调 Up-regulation	下调 Down-regulation	上调 Up-regulation	下调 Down-regulation	上调 Up-regulation	下调 Down-regulation
A	210	311	175	125	343	124
B	16	99	57	28	93	69
C	910	759	1353	1251	1264	992
共同改变 Common change	7	0	12	1	16	3

表2 血样照射后共同变化基因分析
Table 2 Analysis of common change genes of irradiated blood samples

剂量/ Gy Dose	基因 ID Gene ID	基因名称 Gene name	变化倍数 Ratio of change				
			志愿者 Volunteer			平均值 Average	标准差 SD
			A	B	C		
0.75	NM_022767	ISG20L1	5.80	4.47	7.08	5.78	1.31
	NM_078467	CDKN1A	2.43	3.15	4.10	3.23	0.84
	NM_014417	BBC3	3.43	2.66	3.13	3.08	0.39

表 2 (续)

剂量/ Gy Dose	基因 ID Gene ID	基因名称 Gene name	变化倍数 Ratio of change				
			志愿者 Volunteer			平均值 Average	标准差 SD
			A	B	C		
	NM_145751	TRAF4	2.81	2.33	3.97	3.04	0.84
	NM_001252	TNFSF7	2.01	3.09	2.55	2.55	0.54
	NM_016399	TRIAP1	2.82	2.45	2.36	2.54	0.25
	NM_002392	MDM2	2.24	2.26	2.29	2.27	0.02
2	NM_022767	ISG20L1	5.86	5.42	9.24	6.84	2.09
	NM_078467	CDKN1A	3.27	5.91	8.25	5.81	2.49
	NM_014417	BBC3	5.28	4.57	5.31	5.05	0.42
	XM_293868	LOC345537	3.51	4.36	7.23	5.03	1.95
	NM_145751	TRAF4	4.36	3.98	8.21	5.52	2.34
	NM_001252	TNFSF7	2.41	3.44	3.39	3.08	0.58
	NM_016399	TRIAP1	3.39	2.68	3.03	3.03	0.36
	NM_003121	SPIB	5.12	3.20	5.92	4.75	1.40
	NM_006502	POLH	2.29	2.30	3.37	2.65	0.62
	NM_003811	TNFSF9	2.14	2.95	3.57	2.89	0.71
	NM_001024677	LOC401296	2.32	2.21	2.55	2.36	0.17
	AB107353	RKHD1	2.32	2.38	2.42	2.37	0.05
	NM_021966	TCL1A	0.32	0.46	0.27	0.35	0.10
6	NM_022767	ISG20L1	5.80	5.57	8.14	6.50	1.42
	NM_078467	CDKN1A	3.18	6.77	7.53	5.82	2.32
	NM_014417	BBC3	7.00	5.40	3.70	5.37	1.65
	XM_293868	LOC345537	2.34	5.14	5.98	4.49	1.91
	NM_145751	TRAF4	3.01	4.72	4.80	4.18	1.01
	NM_001252	TNFSF7	2.30	5.05	4.01	3.79	1.39
	NM_016399	TRIAP1	4.26	3.08	3.24	3.53	0.64
	NM_003121	SPIB	3.56	2.82	3.83	3.40	0.52
	NM_006502	POLH	2.58	2.07	4.77	3.14	1.43
	NM_002392	MDM2	2.59	2.60	3.55	2.91	0.55
	NM_003811	TNFSF9	2.38	3.08	2.85	2.77	0.36
	NM_020375	C12orf5	2.45	2.34	2.96	2.58	0.33
	NM_001924	GADD45A	2.37	2.29	2.73	2.46	0.23
	NM_000107	DDB2	2.03	2.25	2.27	2.18	0.13
	NM_130761	MADCAM1	2.12	2.14	2.16	2.14	0.02
	NM_015920	RPS27L	2.00	2.04	2.36	2.13	0.20
	NM_175870	LOC90925	0.50	0.32	0.25	0.36	0.13
	NM_021602	CD79B	0.24	0.43	0.18	0.28	0.13
	NM_021966	TCL1A	0.19	0.25	0.12	0.19	0.06

2.3 差异表达基因本底水平分析

具有较低或均一的本底值是筛选辐射标志物的条件之一。我们对表 2 中列出的差异表达基因的本底水平进行分析。通常情况下, 基因芯片筛选差异表达基因变化超过 2 倍认为是有意义的, 而且采用荧光定量 PCR 对基因定量研究中, 一个扩增循环相差倍数也是 2 倍。所以我们假定 3 个个体中最大值不超过最小值 2 倍, 可认为本底值相对均一。如表 3 所示, BBC3、MDM2、CD79B、LOC90925、TNFSF7 和 CDKN1A 等 6 个基因中, 3 个个体本底值的最大

值超过最小值得 2 倍, 提示这些基因不适合作为辐射损伤的分子标志物。其余 15 个基因本底值相对均一, 结合表 2 中的数据分析可知, ISG20L1、TRAF4 和 TRIAP1 等 3 个基因在 0.75、2 和 6 Gy 3 个剂量照射后 2 h 均上调 2 倍以上; LOC345537、POLH、SPIB、TNFSF9 和 TCL1A 等 5 个基因在 2 和 6 Gy 照射后 2 h 变化 2 倍以上, 其中 TLC1A 为下调 2 倍, 其余 4 个上调 2 倍; C12orf5、DDB2、GADD45A、MADCAM1 和 RPS27L 等基因仅在 6 Gy 照射后 2 h 上调 2 倍以上 (表 4)。

表 3 差异表达基因本底值个体间差异分析
Table 3 Analysis of inter-individual of background level of differential expressed genes

序号 No.	基因 ID Gene ID	基因名称 Gene name	基因芯片信号值 A	Signal values of microarray B	C
1	NM_145751	TRAF4	384.71	359.38	375.73
2	NM_130761	MADCAM1	735.65	711.03	651.04
3	XM_293868	LOC345537	442.37	399.15	399.18
4	AB107353	RKHD1	2614.20	2370.56	2243.99
5	NM_015920	RPS27L	7903.34	6983.24	8085.66
6	NM_020375	C12orf5	863.49	990.83	873.47
7	NM_000107	DDB2	634.02	642.80	733.88
8	NM_006502	POLH	234.54	278.27	264.89
9	NM_022767	ISG20L1	390.76	411.75	338.25
10	NM_001024677	LOC401296	332.41	418.68	350.48
11	NM_001924	GADD45A	617.28	795.76	622.96
12	NM_003811	TNFSF9	1050.64	806.07	1088.08
13	NM_016399	TRIAP1	1502.91	2189.19	2334.51
14	NM_021966	TCL1A	4595.20	4487.98	6984.95
15	NM_003121	SPIB	440.01	707.09	862.45
16	NM_014417	BBC3	1176.53	1567.66	2463.03
17	NM_002392	MDM2	433.02	278.33	202.77
18	NM_021602	CD79B	5067.63	5751.23	10539.72
19	NM_175870	LOC90925	420.23	545.41	1122.93
20	NM_001252	TNFSF7	497.74	351.23	1022.44
21	NM_078467	CDKN1A	5415.29	1865.46	2185.32

表 4 本底值均一基因在不同剂量照射后变化情况分析
Table 4 Change of genes with similar background value after radiation with different doses

基因 ID 号 Gene ID	基因名称 Gene name	剂量 Dose / Gy		
		0.75	2	6
NM_022767	ISG20L1	▲	▲	▲
NM_016399	TRIAP1	▲	▲	▲
NM_145751	TRAF4	▲	▲	▲
XM_293868	LOC345537	—	▲	▲
NM_006502	POLH	—	▲	▲
NM_003121	SPIB	—	▲	▲
NM_003811	TNFSF9	—	▲	▲
NM_021966	TCL1A	—	▼	▼
NM_001024677	LOC401296	—	▲	—
AB107353	RKHD1	—	▲	—
NM_020375	C12orf5	—	—	▲
NM_000107	DDB2	—	—	▲
NM_001924	GADD45A	—	—	▲
NM_130761	MADCAM1	—	—	▲
NM_015920	RPS27L	—	—	▲

注：▲，上调；▼，下调。

Note: ▲, Up-regulation; ▼, Down-regulation.

3 讨论

在大规模核与辐射事故医学救援中,及时有效地对大规模受照伤员进行分类诊断和剂量估算对于充分利用医疗资源、救治受照伤员具有重要作用。急性放射损伤程度与受照射的剂量有关,受到照射的剂量也影响治疗方案选择和病情转归。0.5–2 Gy 照射一般不需要特殊治疗,注意感染和加强营养即可恢复;2–6 Gy 照射经及时、正确治疗多能有效救治;6 Gy 以上救治目前尚没有有效方法,也没有成功救治的先例。在核与辐射事故救援中,对外照射损伤的分类诊断一般在事故发生后 2–4 h 进行。本研究采用 0.75 Gy (采用的照射源剂量率较高,不能实现 0.5 Gy 照射)、2 Gy 和 6 Gy 3 个剂量进行照射,筛选照射后 2 h 的差异表达基因正是基于上述分析。

外周血细胞是电离辐射的主要效应细胞,而且外周血容易取材、创伤小,容易为患者接受,是筛选疾病生物标志物的理想样品之一。国内外一些相关研究多采用外周血淋巴细胞或淋巴细胞系进行照射,筛选差异表达基因^[3-7]。以淋巴细胞系作为筛选对象获得的差异表达基因并不能直接作为辐射损伤生物标志物的候选分子,而外周血淋巴细胞获取需要从全血中进行分离,分离步骤在增加操作时间的同时,也增加了结果的不确定性,不利于后期的应用。本研究以外周血全血作为研究对象,直接分析全血照射后差异表达基因,可以避免上述问题。

本研究共发现 21 个辐射敏感基因(表 2),其中 LOC345537、LOC401296 和 LOC90925 等 3 个基因为功能未知基因,未见任何功能报道。本研究发现这 3 个基因为辐射诱导表达,提示其可能参与辐射反应过程,为其功能研究提供了线索。BBC3、CDKN1A、C12orf5、DDB2、GADD45A、ISG20L1、MDM2、POLH、TNFSF9、TRIAP1 和 TRAF4 等 11 个基因为已知的辐射诱导表达分子^[8-11],已经得到验证,这也证明我们实验室基因芯片数据的准确性。CD79B、MADCAM1、RKHD1、SPIB、RPS27L、TCL1A 和 TNFSF7 等 7 个基因为新发现的辐射敏感基因,提示这些分子可能在辐射反应中发挥作用。

以辐射敏感基因作为辐射损伤的生物标志物的研究已经有 10 余年,但是目前并没有取得实质性进展,原因之一就是很多辐射敏感基因在正常本底水平和照射后水平的个体间差异大。本研究中发现,3 名志愿者外周血在受到相同剂量照射后,差异表达

基因的数目明显不同(表 1),同一基因受到同样剂量照射的变化幅度也不相同,这种差异表达基因数量和基因变化幅度的差异也证实辐射敏感基因在照射后的个体间差异。

照射后基因的变化幅度不仅受到照射剂量影响,也与照射后时间密切相关,这也是单一基因不适于辐射损伤生物标志物的原因之一。以多种辐射敏感分子组合代替单一分子,用于辐射生物剂量估算具有更好的实用价值^[12]。本研究筛选到的差异在照射后 2 h,在 0.75、2 和 6 Gy 3 个剂量增加倍数均超过 2 倍,而且本底水平相对均一的基因有 3 个: TRIAP1、TRAF4 和 ISG20L1。ISG20L1 在 0.75、2 和 6 Gy 照射后 2 h 均明显增加,且在 0.75 Gy 照射即表现出一定的饱和趋势,提示该分子对辐射具有较高的灵敏性,可能是一种低剂量照射的生物标志物。LOC345537、POLH、SPIB、TNFSF9 和 TCL1A 等 5 个基因在 2 和 6 Gy 照射后 2 h 变化 2 倍以上,其中 TCL1A 为下调两倍,其余 4 个上调 2 倍; C12orf5、DDB2、GADD45A、MADCAM1 和 RPS27L 仅在 6 Gy 照射后 2 h 上调 2 倍以上。本研究筛选到的 15 种本底水平相对均一的辐射敏感基因,对不同剂量照射的反应不同,这为建立多基因组合作为辐射损伤生物标志物奠定了基础。

参考文献

- 1 IAEA. Cytogenetic Dosimetry: Applications in Preparedness for and Response to Radiation Emergencies. Vienna: International Atomic Energy Agency, 2011: 53-63.
 - 2 Benderitter M, Durand V, Caux C, *et al.* Clearance of radiation-induced apoptotic lymphocytes: *Ex vivo* studies and an *in vitro* co-culture model [J]. Radiation Research, 2002, 158: 464-474.
 - 3 Chng W J, Tan G B, Kuperan P. Establishment of adult peripheral blood lymphocyte subset reference range for an Asian population by single-platform flow cytometry: Influence of age, sex, and race and comparison with other published studies [J]. Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology, 2004, 11: 168-173.
 - 4 李建国, 秦秀军, 张伟, 等. 人外周血淋巴细胞照射后 6 小时差异基因表达谱的变化 [J]. 中国辐射卫生, 2011, 20(1): 41-45.
- LI Jianguo, QIN Xiujun, ZHANG Wei, *et al.* Study of

- Differential Expression Gene in Human Lymphocyte after 6 h irradiation [J] Chinese Journal of Health and March, 2011, **20**(1): 41-45.
- 5 陆雪, 李玉文, 封江彬, 等. 用基因芯片技术分析不同剂量 ^{60}Co γ 射线照射后淋巴细胞株的差异基因表达谱 [J]. 辐射研究与辐射工艺学报, 2009, **27**(4): 244-247.
LU Xue, LI Yuwen, FENG Jiangbin, *et al.* Detection on the differential gene expression profiling of lymphoblastoid cells induced by different dose levels of ^{60}Co γ -rays[J] Journal of Radiation Research and Radiation Processing, 2009, **27**(4): 244-247.
- 6 Kabacik S, Mackay A, Tamber N, Manning G, *et al.* Gene expression following ionising radiation: identification of biomarkers for dose estimation and prediction of individual response [J]. International Journal of Radiation Biology, 2011, **87**(2): 115-29.
- 7 Turtoi A, Sharan R N, Srivastava A, *et al.* Proteomic and genomic modulations induced by gamma-irradiation of human blood lymphocytes [J]. International Journal of Radiation Biology, 2010, **86**(10): 888-904.
- 8 Budworth H, Snijders A M, Marchetti F, *et al.* DNA repair and cell cycle biomarkers of radiation exposure and inflammation stress in human blood [J]. PLoS One, 2012, **7**(11): e48619, 1-12.
- 9 Yang H J 1, Kim N, Seong K M, *et al.* Investigation of radiation-induced transcriptome profile of radioresistant non-small cell lung cancer A549 cells using RNA-seq [J]. PLoS One, 2013, **8**(3): e59319, 1-14.
- 10 Turtoi A, Schneeweiss F H. Effect of (211) at alpha-particle irradiation on expression of selected radiation responsive genes in human lymphocytes [J]. International Journal of Radiation Biology, 2009, **85**(5): 403-412.
- 11 Saini D, Shelke S, Mani Vannan A, *et al.* Transcription profile of DNA damage response genes at G lymphocytes exposed to gamma radiation [J]. Molecular and Cellular Biochemistry, 2012, **364**(1-2): 271-281.
- 12 Marchetti F, Coleman M A, Jones I. Candidate protein biosensors of human exposure to ionizing radiation [J]. International Journal of Radiation Biology, 2006, **82**(9): 605-639.

Screening of biomarker for radiation injury using microassay

WANG Zhidong¹ SHEN Liping¹ LIN Zhongwu² ZHANG Xueqing¹ LI Xiaoxin¹ CHEN Ying¹

¹(Institute of Radiation Medicine, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850, China)

²(Ministry of Science and Technology, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850, China)

ABSTRACT To screen radiation-sensitive genes with uniform background levels in human peripheral blood, which can be used as biomarkers for radiation injury, peripheral blood samples from three healthy adults were exposed to gamma-rays with dose of 0, 0.75, 2 and 6 Gy. The total RNA was extracted from the whole blood and differential gene expression profiling was analyzed using microarray at 2 h after irradiation. The results showed that 15 differential expressive genes with a relatively uniform background were found: ISG20L1, TRAF4 and TRIAP1 were up-regulated over 2-fold at 2 h after 0.75, 2 and 6 Gy irradiation; LOC345537, POLH, SPIB and TNFSF9 were up-regulated over 2-fold, and TCL1A was down-regulated over 2-fold at 2 h after 2 and 6 Gy irradiation; C12orf5, DDB2, GADD45A, MADCAM1 and RPS27L were up-regulated over 2-fold at 2 h after 6 Gy irradiation.

KEYWORDS Ionizing radiation, Microassay, Radiation-sensitive genes, Biomarkers

CLC TL71