

辐射诱发缺色氨酸型大肠杆菌 致死和致突变试验

许 荣 钱宏伟 姚凤英 顾淑珠 徐佳心 毕和堪 刘玉英

(上海医科大学放射医学研究所, 上海)

摘要: 本文研究了X线和 ^{60}Co γ 线在3种不同色氨酸营养缺陷型大肠杆菌中的致死和致突变效应。此三株菌为 wP_1 、 wP_2A 和 Cm 891 , 均为硷基置换型。 Cm 891 具有R因子显示了对射线致突变有较高的敏感性。从实验中得到以下结果: (1) 使用体外致突变试验确认电离辐射是一种致突变因子。(2) 射线对三种菌的致死和致突变效应的敏感程度 $\text{Cm 891} > \text{wP}_2\text{A} > \text{wP}_1$ 。(3) γ 射线剂量率对三株菌的致死和致突变影响大剂量率强于小剂量率。(4) 小剂量率 γ 射线对 Cm 891 的致死和致突变效应与X射线相接, 但在 wP_1 和 wP_2A 则 γ 射线强于X射线。

关键词: 致突变性, 致死性, 大肠杆菌

前 言

最近10多年来利用短期细菌突变试验判断潜在致癌化学物已作出了显著贡献。化学致癌物能直接或间接与DNA相互作用诱发体细胞突变而致癌, 因此细菌的突变测试可提示化学物的潜在致癌性^[1]。现以证明, 化学物质体外细菌致突变和整体动物试验及流行病学调查结果高度相关。但是应用细菌突变测试方法来揭示电离辐射对DNA作用, 目前仍在探索之中。1972年Ames等报告了快中子和X线能诱发细菌呈阳性突变反应, 但对 γ 射线则呈阴性反应。Isildar和Bakale认为辐射能诱发Ames试验菌的阳性致突变和致死效应^[2]。因此这是一个尚未解决的问题。本文所采用的菌株不是Ames试验菌株, 而是大肠杆菌(缺色氨酸型)试验菌株, 因此这是一项探索性工作。

材 料 和 方 法

菌株: 试验菌株 wP_1 、 wP_2A 、 Cm 891 大肠杆菌缺色氨酸型, 均为硷基置换型(引自天津劳研所)。实验前均经鉴定后使用, 性质见表1^[3]。

Tab 1. Description of the E.coli tester strains

Strains	R-factor*	0.1 M	Tryptophan	UV
		+	-	33 cm, 8"
wP_1	Sensitivity	Growth	Non-growth	Non-sensitivity
wP_2A	Sensitivity	Growth	Non-growth	Sensitivity
Cm 891	Non-sensitivity	Growth	Non-growth	Sensitivity

*R-factor with resisting ampicillin

致突变试验: 实验前各菌株先接种于新鲜肉汤斜面上, 次日接种于肉汤中, 37℃下培养16小时增菌, 活菌数约 $1 \times 10^8/\text{ml}$, 后分装于各试管(每管1.5 ml)于X射线机或 ^{60}Co 源下照射不同剂量。受照后取0.1 ml菌液接种于顶层培养基中(5 g氯化钠, 6 g琼脂, 40 ml 125 mg%的色氨酸, 加蒸馏水至1000 ml)溶解状倒入底层培养基(100 ml 20%葡萄糖, 15 g琼脂, 100 ml基本

液——70 g $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$, 20 g $KH_2PO_4 \cdot 3H_2O$, 1 g $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 10 g $(NH_4)_2SO_4$, 5 g $Na_3C_6H_5O_7 \cdot 2H_2O$, 蒸馏水加至 1000 ml)。在 37℃ 下培养 48 小时, 取出后计数回变菌落。同时设自发回变对照及阳性对照(Cm 891、wP₂A 使用 20 μg 呋喃丙胺, wP₂ 使用 2 μg 甲基磺酸甲酯作阳性对照剂)。

存活试验: 经不同剂量照射的菌液取不同的稀释度菌液于普通肉汤琼脂平板上均匀推开于 37℃ 培养 24 小时计数, 可以获得存活份额 F。

照射条件: X 线照射的样品剂量率为 0.82—0.87 Gy/min(180 kvp、15 mA), 剂量范围为 3.269—14.57 Gy。⁶⁰Co 源 γ 线照射剂量率为 6 Gy/min 及 0.5 Gy/hr, 剂量范围 6—30 Gy。照射时菌液置于试管内进行, 小剂量率照射时菌液置于冰格内温度为 4—10℃。

实 验 结 果

辐射诱发致死效应, 从表 2 可见, γ 线等对不同菌株的 LD₅₀ 效应。表明除 X 线和小剂量率 γ 线对 Cm 891 的 LD₅₀ 接近时, 其余则是 X 线 LD₅₀ 剂量 > 小剂量率 γ 线 > 大剂量率 γ 线, 即菌株对 X 线有较大的抗性。按菌株比较 Cm 891 抗性最小最易死亡。

Tab 2. The lethal and mutagenic responses of E. coli tester strains to radiation

Ray	LD ₅₀ ± SD			MDD**		
	wP ₂	wP ₂ A	Cm 891	wP ₂	wP ₂ A	Cm 891
X		168.69 ± 3.14	54.10 ± 0.69		45.00	37.50
γ (low dose rate)	90.13 ± 0.15	83.94 ± 0.17	65.16 ± 0.29	76.00	88.00	35.00
γ (high dose rate)	71.05 ± 0.19	35.15 ± 0.19	27.07 ± 0.19	28.00	22.00	11.80

* LD₅₀ is the dose that induces 50% lethality (Gy)。

** MOD or mutation doubling dose is the dose at which the survival-corrected number of revertants is twice the value of SR₀ (Gy)。

辐射诱发突变效应, 从表 2~5 可见大剂量率 γ 线更易导致菌株突变, 而小剂量率 γ 线则有较小的突变效应, 且对于 Cm 891 小剂量率 γ 线与 X 线相接近。另外, 具有 R-因子 Cm 891 对致突变效应较其余两菌株敏感。

Tab 3. γ-ray of low dose rate induced revertant in E. coli tester strains ($\bar{x} \pm SD$)

Dose (Gy)	wP ₂		wP ₂ A		Cm 891	
	SR	R	SR	R	SR	R
0	0.20 ± 0.03		0.64 ± 0.05		4.68 ± 0.33	
84		0.47 ± 0.08		1.47 ± 0.45		13.92 ± 0.85
168		0.90 ± 0.21		5.45 ± 0.29		33.12 ± 3.15
252		1.81 ± 0.32		11.49 ± 1.21		78.42 ± 21.20
336		2.27 ± 0.26		20.73 ± 1.94		184.18 ± 37.34

SR₀ is mean of the number of spontaneous revertants per 10⁶ bacterium for control group

R_i is mean of observed revertants per 10⁶ bacterium for experiment group

Tab 4. γ-ray of high dose rate induced revertant in E. coli tester strains ($\bar{x} \pm SD$)

Dose (Gy)	wP ₂		wP ₂ A		Cm 891	
	SR*	R*	SR	R	SR	R
0	0.30 ± 0.12		0.96 ± 0.05		7.11 ± 0.96	
6		0.39 ± 0.05		1.42 ± 0.27		6.06 ± 0.67
15		0.40 ± 0.09		1.52 ± 0.44		16.49 ± 0.40
30		1.21 ± 0.30		1.94 ± 0.55		19.07 ± 2.59
70		1.14 ± 0.17		6.80 ± 1.20		32.46 ± 5.22
110		1.46 ± 0.17		12.38 ± 1.02		94.29 ± 25.53
150		1.54 ± 0.10		24.24 ± 0.78		141.44 ± 36.89
300		4.90 ± 1.20		83.51 ± 15.23		—

* SR and R_i Same as tab 3

Tab 5. x-ray-induced revertant in E. coli tester strains ($\bar{x} \pm SD$)

Dose (Gy)	wP ₂		wP ₂ A		Cm 891	
	SR*	R*	SR	R	SR	R
0	0.24±0.074		0.66±0.29		3.79±0.29	
3		0.21±0.04		—		3.40±0.52
6		0.28±0.04		0.51±0.07		7.22±1.88
10		—		0.53±0.064		6.23±0.50
15		0.17±0.029		0.99±0.33		—
30		—		—		10.84±1.15
67		0.21±0.067		1.78±0.44		—
145		0.30±0.023		3.08±0.61		12.00±2.60

* SR and R₁ Same as tab 3

讨 论

一般认为电离辐射能直接或间接引起 DNA 的损伤而诱发细胞突变,也可由此影响细胞的正常复制和转录而导致细胞死亡^[4]。目前已报道应用细菌突变的测试方法探索电离辐射与 DNA 作用,主要是伤寒沙门氏菌的依赖组氨酸的变异株^[2],但应用大肠杆菌变异株进行此研究则很少报道。本文采用缺色氨酸大肠杆菌,观察比较电离辐射 γ 线和 X 线的致死和致突变效应、 γ 线大剂量率和小剂量率的致死和致突变效应的差别。从 LD₅₀ 致死剂量可见小剂量率 γ 线对 Cm 891 的相对生物效应与 X 线接近 1:1,而对 wP₂A 则为 X 线的 2 倍。另外,除 wP₂ 不敏感外,大剂量率 γ 线的相对生物效应为小剂量率的 2—3 倍。以致突变为观察生物终点,从表 2 的 MDD 即双倍回复突变剂量可见 γ 线(大剂量率)为 11.80 Gy(Cm 891),22.00 Gy(wP₂A)及 28.00 Gy(wP₂), γ 线(小剂量率)为 35.00—88.00 Gy, X 线为 37.50 Gy(Cm 891)。对 Cm 891 来说,小剂量率 γ 线与 X 线的致突变效应接近,除此之外, γ 线的致突变效应为 X 线的 2—3 倍。另外,同为 γ 线,剂量率分别为 6.00 及 0.5 Gy/min 时,其致突变效应,从 MDD 可见小剂量率 γ 线低于大剂量率 γ 线,这是由于小剂量率时导致辐射诱发 DNA 突变及其修复 DNA 机会远大于大剂量率,而二次击中 DNA 链的机率却小于大剂量率。

从实验证明, wP₂ 对射线不十分敏感,而有 R-因子的 Cm 891 对射线的敏感性较高。作者认为如果比较各种射线(如中子、介子等)的致突变效应时,可以 Cm 891 菌株的回复突变作为指标。

参 考 文 献

- [1] 朱世能, 肿瘤基础理论, 第1版, 上海科学技术出版社, 48, 1986.
[2] M. Isidar and G. Bakale, *Radiat. Res.*, (100) 396 (1984).
[3] 张文郁, 刘淑英, 徐桂荣, 屈琳, 劳动卫生与环境医学, (3)6, 24 (1980).
[4] 盛祖嘉, 微生物遗传学, 第1版, 上海科学技术出版社, 96, 1981.

(稿件收到日期 1987 年 8 月 10 日)

RADIATION-INDUCED MUTAGENICITY AND LETHALITY IN TRYPTOPHAN-REQUIRING AUXOTROPHS OF *ESCHERICHIA COLI*

Xu Rong, Qian Hongwei, Yao Fenyong, Gu Shuzhu,

Xu Jiabin, Bi Hekan and Liu Yinying

(Shanghai Medical University, Shanghai Institute of Radiation Medicine, Shanghai)

ABSTRACT Mutation and killing caused by X-ray radiation and ^{60}Co γ -ray radiation were studied in three different tryptophan-requiring auxotrophs (wp2, Wp2A, Cm 891) of *Escherichia coli*. These testers are sensitive to base pair substitution mutagens. Cm891 carries a R-factor and is more sensitive than wp2 and wp2A to radiation-induced mutation and lethality. The results of our study show that (1) ionizing radiation was mutagenic to *E. coli*, (2) the order of mutagenic sensitivity among three strains to ionizing radiation was Cm 891 > wp2A > wp2, (3) the dose rate of γ -ray influence mutagenicity and lethality of *E. coli* strain, (4) the toxicity and mutagenicity of γ -ray were similar to X-ray when Cm891 was tested, however, γ -ray was more toxic and mutagenic than X-ray to wp2A and wp2.

KEY WORDS Radiation, Mutagenicity, Tryptophan