

咖啡因对分次照射小麦和大麦的影响*

顾瑞琦 沈惠明

(中国科学院上海植物生理研究所, 上海)

摘要 分次照射是研究辐射损伤修复的重要途径之一。本文报道用修复抑制剂咖啡因预处理后用X射线单次或分次照射小麦或大麦萌发种子, 来研究咖啡因对潜在致死损伤修复和亚致死损伤修复的作用。和别的作者的结果不同, 咖啡因既能抑制潜在致死损伤的修复又能抑制亚致死损伤的修复。根据本文的实验结果, 讨论了分次照射中间歇期间的修复效率以及照射结束后的修复过程。

关键词 分次照射, 咖啡因, 亚致死损伤, 潜在致死损伤, 修复, 小麦和大麦

前 言

Elkind等^[1]对分次照射效应和剂量率效应进行深入研究后提出“亚致死损伤”的概念。认为在分次照射或低剂量率照射条件下, 生物体有更多的机会修复亚致死损伤。在研究哺乳动物离体培养细胞的辐射生物学效应时, 发现随照射后培养条件的不同显著改变其存活率。由此提出“潜在致死损伤”的概念。亚致死损伤和潜在致死损伤是不同的概念, 但也有许多相似之处, 包括它们的修复过程。Chadwick等^[2]认为亚致死损伤是单链断裂, 而潜在致死损伤是双链断裂, 它们的修复有共同点也有差别。Schroy等^[3]报道分别用咖啡因处理照射后的中国仓鼠和人的T-1细胞能降低这些细胞的存活率, 而咖啡因对分次照射细胞的存活率则无影响。因此提出咖啡因抑制了潜在致死损伤的修复, 但对亚致死损伤的修复没有影响。Wolff等^[4]也曾报道咖啡因对分次照射的蚕豆没有影响。本文则报道咖啡因既抑制潜在致死损伤的修复, 又抑制亚致死损伤的修复。

许多分次照射实验表明, 分次照射减少损伤是由于间歇期间细胞可修复亚致死损伤。但是从照射结束到实验结束还有很长时间, 比间歇的时间要长得多, 对于这段时间中修复作用的估计往往被忽略, 本文结合实验室的实验结果进行了分析和讨论。

材 料 与 方 法

种子预处理: 小麦(*Triticum aestivum* L.), 品种“扬麦1号”。大麦, 用裸大麦(*Hordeum vulgare* var *nudum* Hook f.), 品种“114”。将浸种24 h的小麦和大麦的萌发种子排在9 cm的培养皿中, 胚芽向上。培养皿中加4.5 ml, 1 mg/ml的咖啡因(即5 mmol/L), 对照组则加等量蒸馏水。种子放于28℃恒温箱中培养3 h, 然后进行辐照处理。

辐照处理: X射线由国产34-I型深部X射线治疗机产生, 200 kV, 15 mA, 滤板为0.25 mm Cu+1 mm Al。剂量率为1.08 Gy/min。照射小麦的剂量为5.82和6.78 Gy, 大麦的剂量为

* 国家自然科学基金资助项目

3.88 Gy。分次照射则将总剂量二等分,中间间歇0、15、30或60 min。间歇期间种子亦放在28℃恒温培养箱。

小麦和大麦苗的培养:照射后用水冲洗,然后在尼龙网上进行水培。在28℃恒温室中培养,每天照光10 h。每个处理中小麦为60株,大麦为50株,各分三组排在三只尼龙网上,每只尼龙网上包括所有处理。照射后6天测量株高,作为生长指标。数据进行t检验。

实验结果

1. 分次照射对小麦生长的影响

X射线分次照射对小麦生长的影响,实验单独进行过二次,以后结合咖啡因的实验又进行过多次(见图1)。由图可见,凡分次照射者均比相同剂量X射线一次照射者生长抑制减轻。间歇时间长的生长抑制比间歇时间短的要轻。相同剂量不同间歇时间的各处理间的差异均极显著($P < 0.01$)。随着间歇时间的延长,曲线的斜率逐渐下降。说明间歇期间内前期的修复效率大于后期。值得注意的是总剂量为6.78 Gy分次照射间歇15 min者其生长抑制就接近于5.82 Gy一次照射,而间歇30 min的生长抑制比5.82 Gy一次照射还要少。也就是说间歇15—30 min,就可减少近1 Gy X射线所引起的损伤,即可修复近1/6的损伤,由此可推断出该生物系统修复损伤的效率。因而在我们实验系统中,小麦修复损伤的效率是相当高的。

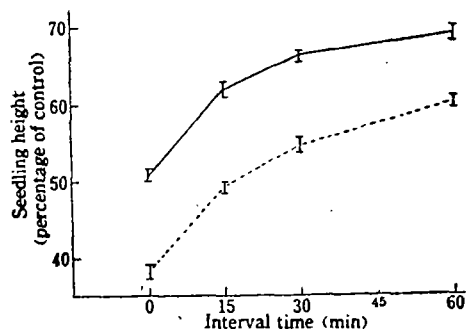


Fig 1. The effect of fractionated X-irradiation on wheat growth. The influence of different interval on seedling height were different significantly. Total dose were 5.82 Gy(—) and 6.78 Gy(---) respectively. (6 days after X-irradiation).

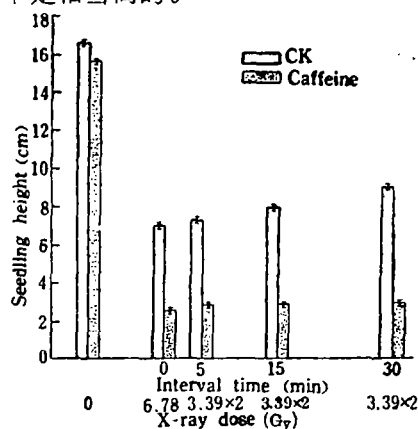


Fig 2. The effect of caffeine on wheat growth irradiated with fractionated dose. Total dose was 6.78 Gy and was divided in two equal parts. The interval time were 0, 5, 15, and 30 min respectively. (6 days after irradiation).

从照射全部结束到实验终点(即最后测量株高)有6 d时间,在此期间也发生修复。15—60 min间歇期的修复和以后6 d的修复有什么关系?从时间来看间歇期只是以后时间的1/500或1/100,但其作用却是非常显著。其原因是很值得探索的。这些问题为过去研究分次照射效应的学者所忽略,本文将在后面进一步讨论。

2. 咖啡因对分次照射后小麦和大麦生长的影响

如前所述,许多作者认为咖啡因对分次照射后的生物材料没有影响^[3,2]。本试验用1 mg/ml咖啡因照射前预处理小麦萌发种子3 h,这样可使咖啡因进入胚细胞,对照则用等量的重蒸水。

总剂量 6.78 Gy, 分次照射, 把剂量二等分, 中间分别间歇 0、5、15、30 min。照射后 6 d 测量株高。实验进行多次, 趋势一致, 其中一次的实验结果(见图 2)。在未加咖啡因的处理中, 图 2 的结果重复了图 1 的现象, 反复证明了分次照射比一次照射减轻对生长的抑制, 间歇时间长的比间歇时间短的抑制减少。即使间歇 5 min 者也显著优于一次照射者($t = 2.0091$, $P < 0.05$), 而间歇 15 min 和 30 min 者和一次照射的差异均为极显著($P < 0.001$), 其 t 值分别为 6.4386 和 13.4448。经 1 mg/ml 咖啡因预处理的部份中, 未经辐射者其株高比对照略有降低, 但经辐射处理的小麦中咖啡因严重抑制小麦的生长。无论一次照射或分次照射, 无论间歇时间的长短, 经咖啡因处理过的各处理间生长抑制程度相差无几。由于分次照射效应主要是由于生物体修复亚致死损伤, 所以咖啡因抑制了分次照射效应, 也就是抑制了亚致死损伤的修复, 从而加剧了辐射引起的损伤。

咖啡因预处理大麦萌发种子, 然后进行分次照射。其结果和小麦试验的趋势一致(图 3)。但间歇 15 min 和间歇 30 min 之间差异不显著。可能由于大麦对辐射比小麦更敏感, 大麦的修复能力比小麦弱。咖啡因和辐射复合处理者, 无论间歇与否或间歇时间的长短, 差异均不显著, 说明咖啡因也抑制了大麦的亚致死损伤的修复。

讨 论

如前所述, 对亚致死损伤和潜在致死损伤的相互关系有不同的看法^[5], 有人认为是相似的, 而有的人认为是不同的, 另外则有人认为有一些潜在致死损伤和亚致死损伤是相同的, 而另一些潜在致死损伤是不同的。三种观点都有许多论据, 肯定的结论还有待于进一步工作。从分子水平而言, 有人认为^[2]亚致死损伤是 DNA 单链断裂而潜在致死损伤是 DNA 双链断裂, 另有人认为^[5]两种损伤都是双链断裂。Schroy 等^[3]的工作表明咖啡因对分次照射的细胞的存活率无影响, 因而提出咖啡因抑制潜在致死损伤的修复而不抑制亚致死损伤的修复。这是认为潜在致死损伤和亚致死损伤是不同的论据之一。本文报道的实验结果表明, 咖啡因不仅加强辐射的伤害作用, 而且分次照射效应消失, 这说明咖啡因不仅抑制潜在致死损伤的修复, 而且也抑制亚致死损伤的修复。因而本实验系统的结果支持认为这两种损伤是相似的论点。

在分次照射实验中观察到有 5—60 min 间歇期, 小麦的生长就显著优于一次照射的小麦。说明这 5—60 min 期间的修复有很高的效率。从照射结束到测量生长有 6 d。如果说受照射的细胞不是立即死亡, 就必然存在修复过程, 同样单次照射的小麦也存在这个修复过程。问题是 5—60 min 期间的修复与 6 d 的修复在数量上是什么关系, 虽然从时间来看前者是后者 1/1000—1/100。回顾一系列分次照射实验都存在这个问题, 但许多作者均未给以应有的重视。例如 Elkind 等^[1]的实验用中国仓鼠的离体细胞为材料, 用 10 Gy X 射线照射, 发现分二次照射, 中间间歇 18 h

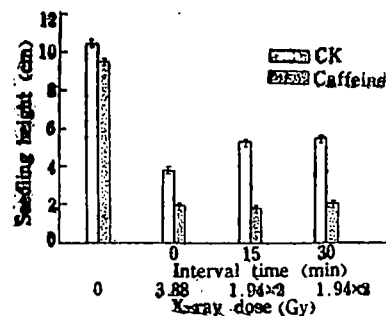


Fig 3. The effect of caffeine on barley growth irradiated with fractionated dose. Total dose was 3.88 Gy and was divided in two equal parts. The interval time were 0, 15 and 30 min respectively. (6 days after irradiation).

者比一次照射后存活率高很多。存活率的记数是在照射后 12—18 d。在照射结束到实验结束记数的十多天中,如果细胞不死亡就有修复发生,这种修复在单次照射中也存在。只有分次照射间歇期间的修复效率比照射全部结束后的修复效率高得多,分次照射效应才会显示出来。如 18 h 是 18 d 的 1/24, 间歇期修复的效率至少要比照射后的修复效率高 24 倍以上,分次照射效应才能显示出来。这种情形在不同材料的分次照射的实验中都存在。Hillova 等^[6]用衣藻研究亚致死损伤,分次照射的间歇时间为 200 min, 3—7 d 后检查菌落形成数作为实验终点。McNulty 等^[7]和 Woch 等^[8]用紫鸭跖草的雄蕊毛为材料,间歇 15 min 以上就可看到分次照射效应。一般在照射后 11—15 d 记载突变数,若间歇时间超过 12 h, 则于照射后 17 d 观察。用蚕豆根尖的实验^[9-11]间歇时间从 0.5 到 24 h, 10 d 后观察根的生长。用大豆幼苗的实验^[12]间歇时间为 30、60、120 min, 照射后 25—30 d 称干重。这些实验都能看到分次照射效应。同样说明间歇期的修复效率比照射结束后的修复效率要高得多。间歇期修复的高效率可能由于部份剂量照射后的辐射损伤小于全部剂量照射后的损伤。间歇期开始时损伤还较小,比较易于修复,而全部照射后的损伤较大,这时修复就困难。所以间歇期的修复效率高于全部照射后的修复效率。

参 考 文 献

- [1] M. M. Elkind and H. Sutton, *Nature*, 184, 1293 (1959).
- [2] K. H. Chadwick and H. P. Leenhouts, *Radiat. Environ. Biophys.*, 11, 319 (1975).
- [3] C. B. Schroy and P. Todd, *Radiat. Res.*, 78, 312 (1979).
- [4] S. Wolff and D. Scott, *Exptl. Cell Res.*, 55, 9 (1969).
- [5] G. Iliakis, *Int. J. Radiat. Biol.*, 53, 541 (1988).
- [6] J. Hillova and V. Drasil, *Int. J. Radiat. Biol.*, 12, 201 (1967).
- [7] P. J. McNulty, C. H. Nauman, A. H. Sparrow, S. S. Schwemmer and L. A. Schairer, *Mutat. Res.*, 44, 235 (1977).
- [8] B. Woch, A. G. Underbrink, J. Huczowski and M. Litwiniszyn, *Radiat. Res.*, 90, 547 (1982).
- [9] E. J. Hall and L. G. Lajtha, *Radiat. Res.*, 20, 187 (1963).
- [10] R. Oliver, *Int. J. Radiat. Biol.*, 8, 475 (1964).
- [11] B. M. Winston, P. J. Berry and R. Oliver, *Int. J. Radiat. Biol.*, 26, 251 (1974).
- [12] M. J. Constantin and D. D. Killion, *Adv. Exp. Med. Biol.*, 18, 197 (1972).

(稿件收到日期: 1989 年 4 月 4 日)

(下转第 172 页)

STUDY ON THE PREPARATION OF IMMOBILIZED GLUCOSE OXIDASE MEMBRANE AND ITS APPLICATION IN CLINIC ANALYSIS

Yu Ye, Cao Jin and Su Zongxian

(East China University of Chemical Technology, Shanghai)

Chen Zhixiong

(Shanghai Seaman Hospital, Shanghai)

ABSTRACT The paper deals with the preparation of immobilized glucose oxidase membrane by using two steps irradiation (irradiation grafting, irradiation entrapping). Some properties of membrane were discussed. The immobilized glucose oxidase membrane with oxygen electrode and oxygen analyser can be satisfied with the clinic analysis for the determination of serum glucose.

KEY WORDS Immobilized enzyme membrane, Irradiation grafting, Irradiation entrapping, Nylon net, HEMA, Clinic analysis

(上接第162页)

INFLUENCE OF CAFFEINE ON FRACTIONATED IRRADIATION IN WHEAT AND BARLEY

Gu Ruiqi and Shen Huiming

(Shanghai Institute of Plant Physiology, Academia, Sinica Shanghai)

ABSTRACT Fractionated irradiation is one of the important methods studying repair of radiation damage. Some authors reported that caffeine, a repair inhibitor, had no effects on fractionated irradiation in human cell, animal cell and *Vicia faba*. And they concluded that caffeine inhibited the repair of potentially lethal damage (PLD), but did not inhibit the repair of sub-lethal damage (SLD). In this study, the effect of caffeine on the repair of PLD and SLD were reexamined in wheat and barley systems. The germinating seeds of wheat or barley were pre-irradiation treated 3 h with 5×10^{-3} mol/L caffeine, then they were irradiated by single or fractionated X-ray doses. The results showed that after caffeine treatment the effect of fractionated irradiation was disappeared. In this case, caffeine not only inhibited the repair of PLD but also inhibited the repair SLD.

In previous fractionated radiation experiments, the repairs during interval were discussed in detail, but the repairs after whole irradiation were neglected. According to the results of this experiment and some early reports about fractionated irradiation, the repair efficiency during interval and the repair function after whole irradiation were discussed.

KEY WORDS Fractionated irradiation, Caffeine, Sub-lethal damage, Potentially lethal damage, Repair, Wheat and barley