

小剂量辐照小鼠胸腺细胞膜流动性的变化

谢国梁 么燕玉 郝春风 孙福聚 王莉虹

(河北省放射卫生研究所, 石家庄)

摘要 报道了以芘为荧光探针, 探讨小剂量 ^{60}Co γ 射线照射后小鼠胸腺细胞膜流动性的变化。结果表明, 剂量在 0.25—1.00 Gy 范围, 胸腺细胞膜流动性降低与剂量之间呈明显线性关系。从 0.50 Gy 起, 辐照组荧光强度比值 I_1/I_2 与 I_3/I_2 与对照组的比较存有显著差异 ($P < 0.05$)。提示淋巴细胞膜流动性的变化可作为小剂量辐照早期效应的敏感指标。

关键词 小剂量 电离辐射, 胸腺细胞, 细胞膜流动性, 荧光探针

生物膜脂类双分子层的流动性是细胞膜的基本特征, 而膜的流动性与膜的结构、功能及运动方式都有密切关系。近年来的研究表明, 电离辐射诱发淋巴细胞分子结构的损伤是导致其间死亡的重要原因之一, 并确认细胞是放射损伤的重要靶子^[1,2]。目前对较大剂量照射后红细胞及胸腺细胞膜流动性的变化已有报道^[1-3], 而研究小剂量生物效应对辐射防护理论与实践可能更具有重要意义。为此, 以芘(Pyrene)为荧光探针, 探讨 ^{60}Co γ 射线小剂量照射后小鼠胸腺细胞膜流动性的变化, 试图阐明小剂量照射的早期淋巴细胞膜脂类分子结构的变化。

材 料 与 方 法

1. 动物及照射

实验用昆明系雄性小鼠, 体重 18—22 g。分未照射对照组与照射实验组, 每组 10 只。照射组小鼠于塑料盒内受 ^{60}Co γ 射线一次全身照射。剂量率 0.47 Gy/min, 与照射源距离为 200 cm。分为 0.25、0.50、0.75 和 1.00 Gy 4 个剂量组。室温下照射。于照后 4 h 活杀。

2. 胸腺细胞悬液制备

按前文方法活杀小鼠^[4], 剖取胸腺组织。在冷冻 ACD 抗凝剂中剪碎做成匀浆, 于 4℃冰箱内静止 15 min, 吸取上清液, 用无 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} , pH 7.2 的 Hank 氏液洗涤离心两次。将细胞悬液叠加于聚蔗糖—泛影葡胺分离液(比重 1.028), 2000 r/min 下离心 20 min。吸出交界面层细胞, 并用 Hank 氏液洗涤离心, 检查细胞纯度活力整应 > 95%, 加适量 pH 7.4 的 PBS 溶液, 并调均细胞浓度为 $3 \times 10^6/\text{mL}$ 备用。

3. 芘溶液的制备

临用前将纯度 98% 芘(西德进口)溶于无水乙醇, 加适量 PBS 溶液, 使芘与细胞悬液结合, 最终浓度为 $4 \mu\text{mol/L}$ 。两者混匀, 放置 15 min, 用 PBS 溶液重复洗涤离心一次, 沉淀细胞加 2 ml PBS 溶液备用。

4. 荧光强度测量

用 Hitachi 650—60 型荧光分光光度计, 激发(E_x)与发射(E_m)的狭缝为 3 nm。芘荧光光谱 E_x 波长 335 nm, E_m 波长 374 nm、392 nm 和 480 nm。室温下平行样品测量, 并进行统计学处理。

结 果

芘细胞悬液的激发与发射荧光光谱如图1所示,与文献[1]报道的相似。荧光波长374 nm(I_1)和392 nm(I_2)之比,表示芘在膜微环境中精细结构荧光强度比值。芘的激发二聚体(excimer)波长480 nm(I_3)与单体(monomer)波长392 nm荧光强度比值,表示双分子层脂膜的微粘度。在0.25—1.00 Gy剂量范围内,荧光强度比值 I_1/I_2 或 I_3/I_2 ,从0.50 Gy起受照组与对照组比较有明显差异($P < 0.05$)。以对照组为100,计算受照组 I_1/I_2 与 I_3/I_2 相对比值的百分率,经直线回归方程作图,如图2所示,两者比值与照射剂量之间呈明显线性关系($r > 0.989$)。

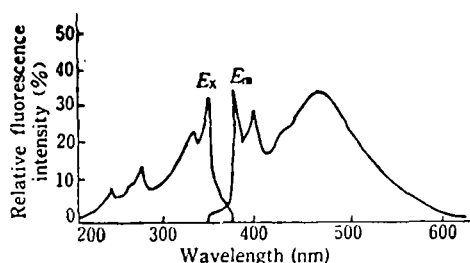


Fig 1. Fluorescence spectrum of the cellular suspensions in pyrene

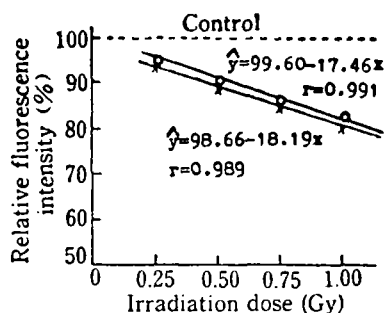


Fig 2. The ratio of I_1/I_2 (x) and I_3/I_2 (o) of thymocyte membrane in mice

讨 论

许多实验资料证实,生物膜组成不均匀,具有动态结构。膜脂类和蛋白质分子均处于不断运动中,所谓细胞膜流动性主要是膜脂类和蛋白质的分子运动。用荧光法研究细胞膜的生物物理状态的变化,多是采用细胞质膜,如完整淋巴细胞膜,红细胞包壳(ghost)及线粒体等。由于淋巴细胞是射线最敏感细胞之一,所以参照文献[1]方法稍有改进,采用小剂量整体照射后小鼠的胸腺细胞膜。

采用文献[3]中荧光探针方法,以芘分子与膜疏水区的碳氢键结合的特征,测定芘分子与膜脂类结合形成单体和荧光激发后的激发二聚体。由于两者荧光强度比值表示双分子层脂微细结构及膜微粘度,因此它能反映膜脂类变化,尤其是磷脂的侧向扩散率,从而能揭示细胞膜流动性的变化。实验结果表明,小剂量 ^{60}Co γ 射线照射后4 h胸腺细胞膜流动性随着照射剂量递增而降低,与受较大剂量照射的变化相似^[1,3]。图2表明,淋巴细胞膜流动性的变化,可作为小剂量电离辐射早期效应的敏感指标。0.25 Gy照射组与对照组比较,未见明显差异($P > 0.05$)。可能与电离辐射小剂量照射膜分子结构的变化较微细及机体修复功能等诸因素影响有关,有待深入探讨。

综上所述,小剂量 γ 射线照射使淋巴细胞膜流动性降低。是由于电离辐射所致细胞膜脂类分子结构的变化,从而影响了细胞膜的生理功能。

感谢刘洪祥教授对荧光测试工作的指导。

参 考 文 献

- 1 Sungurov A YU, Sharlaeva T M. *Int. J. Radiat. Biol.*, 1988, 53(3):501
- 2 Leyko W, Bartosz G. *Int. J. Radiat. Biol.*, 1986, 49(5):743
- 3 康鑫, 方允中. 辐射研究与辐射工艺学报, 1990, 8(4):199
- 4 谢国梁等; 林念芸主编. 辐射研究与辐射工艺学术论文集, 上海: 上海医科大学出版社, 1990:122

(稿件收到日期: 1991年5月7日)

CHANGES OF THYMOCYTE MEMBRANE FLUIDITY IN MICE INDUCED BY LOW DOSE ^{60}Co γ IRRADIATION

Xie Guoliang Yao Yanyu Hao Chunfong Sun Fujun Wang Lihong

(Hebei Institute of Radiation Health, Shijiazhuang)

ABSTRACT The changes of thymocyte membrane fluidity in mice induced by low-dose ^{60}Co γ irradiation from pyrene fluorescent probe were reported. The results showed that the fluidity was decreased with increase of irradiation dose (0.25—1.00 Gy). The relationship between the ratio of I_1/I_2 or I_3/I_2 and irradiation dose were significantly correlative. From 0.50 to 1.00 Gy both ratios were significantly different as compared with control. The results can be used as sensitive indexes for early radiation effects.

KEYWORDS Low-dose ionizing radiation, Thymocyte, Fluidity of cell membrane, Fluorescent probe.

(上接第 173 页 Continued from P 173)

EFFECT OF SOLVENTS ON COPOLYMERIZATION OF TRIBUTYLTIN METHACRYLATE WITH METHYL METHACRYLATE

Zhao Bingxi Chen Daoyong Tian Minquan Chen Kunsong Hu Keliang Zhu Qingren

(University of Science and Technology of China, Hefei)

Han Zhewen

(College of Chemical Industry of Eastern China, Shanghai)

ATSTRACT In this paper, the radical copolymerization of TBTM with MMA initiated by radiation in various solvents were studied and the reactivity ratios were also calculated. It is found that there is nearly linear relationship between dipolemoment of solvents and copolymerization activity of TBTM. The charging in the structuer of TBTM in different solvents, which bring steric hindrance to the copolymerization, was presented to explain these results.

KEYWORDS Solvents effect, Radiation Copolymerization, TBTM (tributyltin methacrylate), MMA (methyl methacrylate), Copolymerization activity