

electrophoresis appears to be suitable to detect DNA strand breaks in rat alveolar macrophage. Coal tar pitch fume extracts can induce the rat alveolar macrophage to produce reactive oxygen species (ROS), and can induce lipid peroxidation: the DNA strand breaks induced by coal tar pitch fume extracts in AM are associated with the producing of ROS. GSH can inhibit coal tar pitch fume extracts-induced DNA damage in rat alveolar macrophage.

Key words: single cell gel electrophoresis; DNA damage; alveolar macrophage; coal tar pitch

文献标识码: A 文章编号: 1004-616X(2001)04-0248-01

65 9-氨基吡啶和乙基亚硝基脲诱导含LacZ靶基因重包装噬菌体突变机制的研究

刘勇, 吴涛, 曹佳*, 杨明杰, 孙华明, 杨录军, 钱频 (第三军医大学预防医学系分子毒理学实验室, 重庆 400038)

【摘要】为了提高 λ 噬菌体体外重包装致突变检测系统的特异性和利用该系统用于致突变分子机制的研究,我们引入了LacZ基因作为靶基因和报告基因。乙基亚硝基脲(1-ethyl-1-nitrosourea, ENU)和9-氨基吡啶(9-aminoacridine, 9-AA)直接处理含LacZ基因的 λ gt10DNA,在体外重新包装为噬菌体,然后转染宿主菌Y1090并在含X-Gal和IPTG的选择培养基上培养。通过计数清亮斑突变体和兰斑野生型的数目计算噬菌体的存活率和突变率;扩增和测定突变噬菌体中LacZ基因的序列,分析了两种化合物的分子致突变机制。结果表明:在ENU和9-AA作用下,噬菌体存活率明显下降,而突变率则相应上升,并呈较好剂量-反应关系;9-AA主要诱发移码突变(71.8%),A、G、C、T 4种碱基发生移码突变率分别为27.3%、24.2%、24.2%和24.2%;9-AA诱发的单个碱基缺失主要发生在相同的碱基的重复区内(68.6%),在单个或2个重复碱基位点发生缺失频率较低。9-AA诱发碱基置换主要是碱基颠换(92%),G:C碱基对比A:T碱基对易于诱发碱基置换(76.7% vs 24.3%);9-AA诱发碱基置换后一般易于同邻近碱基形成相同碱基的重复。ENU诱发的突变主要发生在G:C碱基对上;ENU诱发碱基置换主要是G:C:A:T、G:C:C:G和A:T:T:A颠换。该实验表明含有LacZ靶基因的 λ gt10DNA致突变检测系统比 λ DNA致突变检测系统更完善。该系统以噬菌斑的存活率、突变率和分子突变谱作为检测终点,不仅提高了检测系统的特异性和敏感度,而且能进一步研究化合物的致突变分子机制和进行危险度的评价。

【关键词】致突变; λ gt10DNA; LacZ基因; 9-氨基吡啶; 乙基亚硝基脲

文献标识码: A 文章编号: 1004-616X(2001)04-0249-01 a

66 应用单细胞凝胶电泳对NaF的DNA损伤作用的研究

孙建霞, 杨志祥, 李杰, 刘国庆 (山东大学公共卫生学院环境卫生教研室, 济南 250012)

近年来,氟是否具有遗传毒性成为人们的争论热点。我们应用由Singh等改进和建立的单细胞凝胶电泳(SCGE)技术,又称彗星实验检测了NaF的遗传毒性。

材料与方

取健康成年小白鼠一只取血,稀释。设1个阴性对照组和4个NaF受试物组,剂量分别为 $1 \mu\text{mol/L}$ 、 $2 \mu\text{mol/L}$ 、 $4 \mu\text{mol/L}$ 、 $8 \mu\text{mol/L}$ 。37℃染毒小时,制备细胞混悬液。用1%正常熔点琼脂糖(NMA)打底,0.5%NMA 100 μl 铺第一层,取已处理细胞混悬液10 μl 与75 μl 0.7%低熔点琼脂糖(LMA)混匀,铺第二层,0.7%LMA 85 μl 铺第三层;然后将铺好的玻片置4℃消化液中消化2 h,4℃电泳缓冲液中碱解15 min,电泳20 min(25 v, 300 mA)。以中性洗液冲洗玻片,EB染色。用OLYMPUS荧光显微镜观察。每个样本随机选择100个细胞,尽快用目镜测微尺测定DNA直径(a)和DNA迁移长度(b),并以a/b比值[$b/a < 1/2$ (+), $b/a > 1/2$ (#), $b/a > 1$ (##)]为标准分类,记录并拍照。

结果与讨论

DNA图象呈橙黄色,与阴性对照组比较,NaF各剂量组均可观察到不同程度的拖尾现象,即有受损细胞出现;且随着NaF剂量的增加,受损细胞阳性率呈上升趋势,存在明显的剂量-反应关系,相关系数 $r = 0.9895$ ($0.001 < P < 0.01$),受损细胞阳性率(Y)与