

論文匯編

第六集

中國人民解放軍軍事醫學院

1962

論文匯編

第六集

內部資料 注意保存

目 录

射线的药物防护问题	朱壬葆 (1)
脱氧核糖核蛋白中脱氧核糖核酸的辐射敏感性	吳 蔚 吳祖澤 (7)
血清蛋白变性作用研究报告之三, 在有氧与缺氧条件下变性	
血清的研究	吳 蔚 鮑忠祈 黃耀煌 (16)
維生素 A 营养状况与视野的关系	鄭建中 王成发 陈仁惇 赵彦春 崔治平 (22)
上海冬季貯藏对蔬菜中核黄素、抗坏血酸和胡萝卜素	
含量的影响	姚士才 楊 均 王成发 (27)
高原地区豆芽中抗坏血酸增量試驗	方允中 潘光熹 (32)
小球藻营养效用问题	侯祥川 陈仁惇 黃美瑩 李荣芬 刘广清 陆蓉琴 (35)
野外个人用有机碘饮水消毒片剂的制备和消毒	
效果观察	蔣兴錦 郭玲玲 葛熾义 (42)
十年来我国的蚊类研究	陆宝麟 (50)
广西僮族自治区蚊类調查	周树松 薛景珉 叶宗茂 李丽璋 譚璟宪 陆宝麟 (66)
广西睦边常見蚊种夜晚侵入室内活动	
的观察	陆宝麟 譚璟宪 李丽璋 薛景珉 (76)
太湖震澤中华按蚊及雷氏按蚊的生态习性	郎 所 吳必英 孟宋健 (86)
DDT 和 666 水悬剂滞留噴洒对夜晚侵入室内中华按蚊、日月潭按蚊和	
微小按蚊活动的影响	陆宝麟 高鉅鎮 張秉斋 柳支英 (95)
自制伯氨喹啉根治温带型間日瘧的疗效研究	莫若明 黃 策 (108)
氯化喹啉和伯氨喹啉治疗瘧疾研究	黃 策 唐俊紅 (115)
单剂量氯喹和凱喹治疗瘧疾急性发作的观察	黃 策 馮克光 (118)
大冷必灵(Daraprim)氯化喹啉和白乐君預防瘧疾	
的观察	黃 策 薛爱曾 閻国珍 赵太松 (122)
国外杀灭蚊蝇等害虫的新方法	柳支英 (130)
中国蚤类研究之三, 西北額蚤屬一新种, 西南櫛眼蚤屬一新种及	
华东狹蚤屬一新种	柳支英 吳厚永 (133)
角叶蚤屬一新种——曲扎角叶蚤	刘連珠 吳厚永 (140)
黃鼠体外寄生的松江黃鼠蚤的季节消长調查	柳支英 高鉅鎮 吳厚永 蔡关元 (144)
××等地区鉤端螺旋体病的調查	閩南工作組 (151)
××島恙虫病流行病学	
調查	高韻荪 卢玉韻 吳光华 王福彭 梁蔭蓀 赵予秀 何 尤 薛敏荣 (158)
滇南地区恙虫病流行病学調查初步报告	卢玉韻 李继祚 何原文 張发良
	刘迎发 董再鴻 郭木兰 刘树忠 朱继蓉 (166)

某地部队中恙虫病的预防

实验.....卢玉韶 高韶荪 唐士元 王秀亭 楊光华 何 尤 徐之兴 (171)
两种硬蜱——边缘革蜱及纳氏革蜱在实验室条件下生活史

的观察.....吳厚永 柳支英 (180)

我国細蠨屬的一新种——郎县細蠨.....虞以新 (184)

中国鳥类的两个新记录——栗頸噪鵲与純色岩燕.....虞以新 郑作新 (187)

傳染性肝炎的预后問題.....張学德 (188)

副霍乱是怎样一种病.....蔣豫图 (191)

在开荒中应注意的几个自然疫源性疾庖.....蔣豫图 (193)

疫苗接种的人体反应.....赵予秀 (197)

外界环境中霍乱弧菌的螢光显微镜实验诊断.....李 俐 (201)

产气荚膜杆菌 α 毒素及抗毒素测定法研究.....黃翠芬 庄汉澜 王明道 (205)

假单胞菌屬致便輸血反应.....王树林 周佳敏 楊叔雅 程知义 (211)

宇宙医学問題.....蔡 翹 (216)

疲勞問題.....蔡 翹 (226)

Selye 应激学說与生理应激.....蔡 翹 (238)

神經衰弱的辨別诊断和分类诊断的生理学

方法研究.....蔡 翹 陈 信 龐 誠 程必为 (248)

狗空胃运动的規律及其神經机制.....朱壬葆 石守謙 欧阳淹 張云祥 罗自强 (269)

空胃运动的食物性抑制及其神經机制.....朱壬葆 欧阳淹 張云祥 石守謙 (278)

狗胃消化性运动的观察.....朱壬葆 欧阳淹 張云祥 石守謙 (285)

X-綫全身照射对于狗胃运动的影响.....朱壬葆 石守謙 (290)

狗經X綫照射后胰分泌机能变化的規律.....張云祥 戴克明 朱壬葆 (296)

X綫全身照射后狗胃的“組織胺分泌”和空胃分泌

的变化.....欧阳淹 林祝恒 朱壬葆 (300)

X綫全身照射对于狗胃食物性分泌机能的影响.....欧阳淹 朱壬葆 (306)

旋轉錯觉的实验研究.....徐广第 張昌华 刘韻宜 (314)

快速头部运动鍛炼对前庭稳定性及暈船发病率的影响.....張义声 魏元良 (319)

駱駝、牛和水牛錐虫病补体結合反应诊断.....郑策平 刘俊华 雷振声 (324)

馬錐虫病补体結合反应标准阳性血清的制造

与保存.....郑策平 刘俊华 霍叶德 雷振声 (329)

射綫的藥物防護問題

朱 壬 葆

放射損傷的化學防護研究只有十多年的歷史。1949年Patt等發現半胱氨酸對於受致死劑量照射的小白鼠有明显的保護作用，減低其死亡率，這才開始藥物預防的研究，同時提出了化學防護的概念。此後相繼發現其他巰基化合物如谷胱甘肽，硫脲等，以及另外一些具有毒性的物質如氰化物、氯化鉍等對小白鼠都有不同程度的防護射綫損傷的作用。1951年Bacq等發現半胱胺(MEA)對射綫有極顯著的防護功效，毒性也較其他防護劑為輕，小白鼠在照射前數分鐘以3毫克半胱胺作腹腔注射，可使受全致死量照射的動物活存97%。1955年Doherty等發現 β -氨基乙基半硫脲(AET)也是一個很有效的抗射綫化合物，如以等分子量計算， β -氨基乙基半硫脲比半胱胺的預防效果更好。Crouch與Overman(1957)證明 β -氨基乙基半硫脲對受致死量(650倫)照射的猴子也有良好的預防效果。最近Jacobus(1959)報導20條狗在全致死量照射前給以一個半胱胺的复方處理，結果全部照射動物都活存。作者並沒有公布复方中的全部內容。半胱胺已經在幾個國家作臨床試驗，惟報告的結果並不一致。這是藥物預防研究的發展概況。

化學防護研究涉及的范围很广，筛选过的药物数目也很多，其中証明有一定防护作用的約有以下几类药物：

(1) 巰基烴胺类：这就是半胱氨酸与半胱胺一类化合物。这类化合物曾經研究过的数目也最多，它們對許多种类动物——如小白鼠、大白鼠、荷兰猪、兔子、狗及猴子等，

都有防护射綫損傷的功效，其有效劑量約在100—1000毫克/公斤体重之間，一般都作腹腔注射，在照射前10分鐘左右給藥，而有效時間大都不超过一小时。其中少数藥物如胱胺与 β -氨基乙基半硫脲可以口服，仍能表現一定程度的預防效果。其余含硫化合物中，應該特別提到Diethyl dithio carbamate，因为这类藥物的防护作用比較突出，但毒性也比较大。

(2) 导致組織缺氧的藥物：从Bacq(1951)发现氰化鉀有抗射綫作用之后，陸續发现許多类似的化合物都有同样的作用。在这类藥物中，最值得注意的是对氨基苯丙酮(简称PAPP)，它的防护作用是與它导致变性血紅蛋白的量相并行的。在它的同族物中与衍生物中，經人們研究过的，除对氨基正丁酮沒有預防作用外，其它都有一定的預防效果。而且作用時間較長，有效劑量在小白鼠中不引起中毒症狀，和口服有效等优点，因此值得我們作进一步研究。最近Романцев(1960)观察到半胱胺与半胱氨酸也有降低靜脈血中氧含量的作用，因此导致組織缺氧可能是許多預防藥物所共有的特性。

(3) 胺类藥物：有許多胺类藥物有防护射綫的作用，包括組織胺、腎上腺素、苯乙胺和对羟基苯乙胺等。此外还有一些胺类化合物也有不同程度的預防效果，其中尤以色胺与5-羟色胺的效果更为突出(Langendorff, 1959)，利血平有降低体温和抑制呼吸的作用，它對於射綫的防护效力在給藥后12—24小时达到最高峰(Melching等, 1957)，这个

特点是其他药物所没有的。

(4) 作用于神经系统的药物: 神经系统在放射病中有重大的意义, 因此某些能影响神经系统机能的药物, 也有抗射线的效力。对中枢神经系统有镇静作用的药物, 或能截断周围冲动上行至神经中枢的药物如奴佛卡因, 都有一定的防护效能。更重要的是有些调节植物性神经系统的药物, 如抗胆碱酯酶制剂和乙酰胆碱等, 都经过很多人的研究。在另一方面, 抗胆碱药物也同样有防护放射病的功用。因此从药物预防的角度去了解神经系统与放射病的关系, 确是一个很复杂的问题。

上述四类药物是比较重要的, 但是并没有概括放射病预防药的全部。从各类有效药物的性质来看, 我们还很难得出一个结论, 即药物的预防作用与它们的化学结构和药理性质究竟存在着什么关系。固然, 对于部分药物来说, 如含有巯基、胺基的化合物, 或能引起组织缺氧的药物, 这种关系是显然存在的。

如何提高预防药物的作用

在放射病药物预防研究中, 目的是希望找到一种效果好而作用时间长的药物, 能够很安全地应用于人类。为了达到这个目标, 我们对以下几个问题应该作周密的考虑。

1. 实验条件的控制

要想做好实验, 获得恒定的实验结果, 必须严密地控制实验的条件, 这对于射线药物防护的研究尤为重要。根据文献报导, 我们也有同样的经验, 象半胱胺与 β -氨基乙基巯醚等有效的预防药物, 各实验室所报告的结果时常不同, 有时甚至差别很大。造成这种差异的原因, 主要是未能完全控制实验条件, 而以下几种因素尤为重要: (1) 动物品种与药效的关系。不同动物对于射线的敏感性固然不同, 即同一动物而品种不同, 对于

射线的敏感性也有很大的差别。实验动物对于射线既有不同的敏感性, 则对于预防药物的反应, 也自然不可能一致。所以采用纯种动物是做好此项研究的一个重要条件。(2) 药物适宜剂量的摸索。有些药物在很大的剂量限度内都有效, 但是最高的药效只出现于一个狭窄的范围。因此在筛选药物的时候, 应该仔细摸索药物适当的剂量。(3) 药物毒性与预防效能的关系。许多对于射线有预防效力的药物, 同时具有很高的毒性。在这种情况下, 我们应该鉴别毒性与药效有无并行的关系, 以及两者是否可以分离。在毒性没有解除以前, 必须注意到动物中毒的程度能否影响药物的防护作用。不然对这种药物的预防效果就不能作正确的评价。(4) 照射剂量的控制。实验动物对于射线的敏感性必须作比较正确的测定, 例如半致死量的测定或95%致死量的测定等。在放射病预防药筛选研究中, 最普遍使用的照射剂量是最小全致死量, 但是这个剂量是很难测定的, 不如采取95%致死量, 比较容易掌握。(5) 动物性别以及其他环境因素的控制。小白鼠对于射线的敏感性有性别的差异, 但是差别的程度随着品种而不同。因此对自己的实验动物, 应该及早掌握这种资料, 免得在具体实验中影响结果的正确性。此外, 还有许多其他因素如营养条件、温度改变等, 都足以影响动物对于射线的耐受性, 间接地影响实验的结果。

以上各点, 是研究药物防护问题所必须注意的, 而且在工作开始阶段就应该全面解决这些问题, 奠定了良好的基础, 这才有利于工作的进展。

2. 新药合成与前途

关于如何筛选和提高预防药物的药效, 新药筛选仍是最基本的工作。因为只有通过大量筛选才能找出更多有效的药物, 在这过程中也可能不断地找到更好的药物。为了增进药物筛选的效率, 除了小白鼠30天活存率这个方法外, 还应该寻找另外简便而可靠的

方法，加快药物筛选的速度。

3. 提高药效的措施

目前所知道的预防药物，其防护效力还不能满足我们的要求，那么是否能够将药物的效力提高呢？这种可能性是存在的。例如在发现胰岛素之后，当时所提取的纯胰岛素作用时间很短，使用时颇感麻烦。经过不断研究，结果发现胰岛素可与精蛋白结合而延长其作用时间，极明显地提高了胰岛素的疗效。因醇类性激素酯化的研究，也足以说明药物的效力是可以人工提高的，如丙酸睾丸酮、苯动情素二醇等酯类激素制备的成功，比原来激素的作用增加了好几倍。因此某些较好的放射病预防药也可以从这个方向去研究，提高其药效。

4. 复方的效价

另外一个问题值得我们作详细讨论，就是一种药物对高等动物及人类是否能够有效地防护射线的损伤作用。从放射病的发展规律及各阶段所表现的症状来看，由射线所造成的伤害，几乎涉及全身每一个器官，但是严重的程度却有差别；各器官发生病变的时间，也有先后迟早之分，至于机体代谢过程的纷乱，那就更加复杂了。象这样千头万绪的病理变化而企图用一种药物防止其发展，那是很困难的。那么我们能否以筛选出来的药物为基石，筑成一条堤坝，防止放射能的“泛滥”呢？这就是说如用几种药物组成复方，是否能更有效地控制放射病的发展呢？最近研究的趋势，似乎指出这个研究方向是比较有希望的。应该设想，许多预防药物是通过不同的机制而实现其防护作用的。

如何解决药物毒性问题

预防放射损伤的药物都有一定的毒性，而且有些药物的预防作用是同它们的毒性密切地联系着的；如要解除其毒性，就会丧失

其药效。但是另外一些药物的预防作用与它们的毒性无关，可以设法去其毒性而提高其防护效力。在动物实验中，一种有效药物效果的好坏，时常取决于药物的毒性与预防效能的对比关系，假使动物能够耐受某种程度的药物毒性，并不因此而加强射线的损伤作用，这样就可以使药物的预防效力很好地表现出来；若动物不能耐受某种程度的毒性，或者虽能耐受，但由于中毒而加强了射线的损伤作用，这样就不可能将药物的预防作用表现出来。在这种情况下，对于此药必须作解毒处理后才能观察其药效。

这个概念有其实际意义，文献时有报导，对于一种预防药的研究，不同作者得到不同的结果。推究其原因，实验动物的品种不同，除对射线具有不同的敏感性外，对于药物毒性的耐受量也有很大的差别；即同一品种，个别差异也是存在的。因此在研究过程中，对于各种在理论上认为有效的药物，如实验结果不好，则应该研究这种药物主要的毒性，设法解毒，再观察其预防作用。假使毒性与预防作用是不能分开的，则这种药物就没有实用的价值；假使经解毒后能保持其预防功效，这才有应用于人类的可能。所以我们应该把这两类药物加以区别，对于具有实际意义的药物作深入细致的研究，以期达到以上提出的目的。

预防药物解毒的办法，可从两方面着手：第一是药理学的方法，即先研究该药的毒性表现在哪些方面，它的性质是怎样，了解毒性的性质之后，就不难提出抗毒的办法。第二是化学的方法，从药物的化学结构来看，什么基团与防护作用有关，那一部分结构可以表现毒性，一般是可能推测的。如能通过化学反应的方法，去除发生毒性部分，保留防护有效的部分，这种研究结果，将有很大的实际价值。

放射病药物預防的机制問題

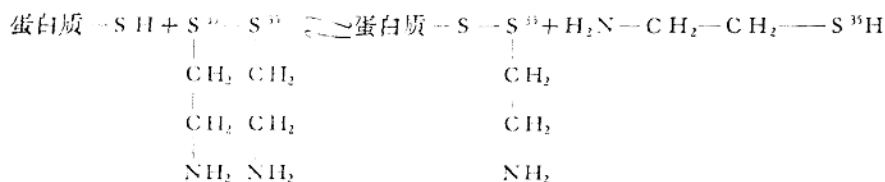
药物为什么有預防放射损伤的作用，对此問題应该作詳細的研究，而且应该結合多种預防药物进行研究，才能局部了解药物防護的机制。通过這個問題的闡明，我們才能从理論上来提高具体的預防措施。因此在研究药物預防同时，須研究各种預防药物的作用机制。国外学者对此問題有几种不同的看法，但是只能說明个别药物作用的性质，其主要論点如下：

1. 有些学者从射綫的間接作用去探討药物預防的机制。他們认为預防药物只在照射前給药才能發揮預防的作用，因此可以設想，照射后瞬息間在組織与体液中所产生的自由基，足以激发組織与細胞中某些大分子化合物，破坏其生理性能。但当某种預防药物存在于組織中时，由于它具有某种特殊的基团，对自由基有很高的亲和力，因此能爭夺这些自由基，从而保护組織中某些具有重大生理意义的大分子化合物。主張这种理論最力的是 Alexander 与 Bacq 等，当然也获得不少其他学者的贊同。这种观点有人叫做“竞争学說”。

2. 組織缺氧的观点，放射的效应，在降低氧压的条件下大大減輕，因此对于許多

預防药物的作用机制都可以用缺氧去解釋。事实也正是如此，只要能减低細胞中氧漲力的措施，都有抗射綫的作用。有人曾进行过这样的实验，在給予照射动物某种預防药物的同时，并以低氧处理之，这样就可以加强預防药物的作用。这表示缺氧是能够減輕射綫对于机体的伤害的。这种观点，虽然没有从細胞中氧压的改变获得真实的根据，但是确有許多药物或作用于周圍血管，或妨碍肺泡气体交换，或形成变性血紅蛋白，或促进細胞的氧消耗量，都可使組織造成缺氧的状态。照射时氧化自由基的产生，与組織中是否有分子氧存在有密切的关系，如在組織体液中缺乏游离氧，則照射时 H_2O_2 、 HO_2 等自由基的形成也减少，这样就会減輕射綫对于机体的损伤作用。

3. 有的学者认为，机体中那些容易受到射綫所激发的蛋白质分子，可以得到巯基类預防药物的保护，例如人的血清蛋白，人的血紅蛋白及接触酶等，都能与胱胺或半胱胺結合，而胰島素，細胞色素C等則不能，这两类蛋白质之間的差別就是前者有巯基而后者没有。含有巯基的蛋白质可与半胱胺等預防药結合得很穩固，即使用磷酸緩冲液透析也不能分离。但若加入半胱氨酸使之还原，則两者又可分开。我們可以推想，胱胺与含有巯基蛋白质的反应，可能如下方式进行：



半胱胺很易氧化，它与蛋白质的結合可能发生于氧化之后。这种反应也发生于机体內，在人与小白鼠的实验中都能証明，由蛋白质与半胱胺組成的-S-S-双硫鍵，可以部分保护蛋白质-SH基。双硫鍵对于射綫也很敏感，但是双硫鍵中有二个硫，所以至少可以

保护一半-SH基。

双硫鍵的形成，也可以保护射綫的直接作用。机体中的大分子受到放射能作用时，其电子沿炭鏈移动，直至一个較敏感的鍵破裂为止。双硫鍵較为敏感，这样就可以保护-SH基及整个蛋白质，这是 Eldjarn 与 Pihl 提

出的学说。

据目前所知道的预防药物，只有在照射前给药才有防护放射损伤的作用，照射后立刻给药就没有效用。因此药物预防的机制就只能与原发反应联系起来，以上几个学说几乎都在这个基础上提出的。为了彻底了解药物预防的机制，在电离辐射原发反应方面还需要作详细而深入的研究，才能了解药物的原始作用。在另一方面，预防药物对于继发反应的影响怎样，也应该进行详细的研究，只有了解那些重要器官的机能与形态的变化情况之后，才能使我们有一个清晰的概念，预防药物是怎样纠正放射损伤的症状的。通过对原发反应与继发反应的研究，我们非但可以很清楚地明了预防药的作用机制，而且对于放射病发病机制问题也将迎刃而解。目前有关预防药物对电离辐射继发反应的影响，还缺乏足够的研究资料，尚待我们努力。

电离辐射对于核酸代谢的影响，经过许多学者的研究，已经获得比较丰富的资料，现在虽然还存在着不少问题尚待解决，但是射线足以妨碍核酸代谢，这是已经肯定了的。动物在照射后小便中脱氧胞嘧啶以及其他核酸代谢中间产物排出量的增加，脱氧核糖核酸解聚酶的活性在照射后小便中也有显著的增加；相反的在许多器官中的核酸含量则相应地减少。这许多事实都说明照射后核酸代谢是不平衡的。

最近曾观察到(Миллих, Д. и Носек, Я., 1960)，动物在预防药处理后照射，脾脏与肝脏的核酸含量就没有下降的现象。半胱胺注射于动物体内后，分布于各器官的量是有很大的差别的。骨髓、脾、肝等吸取半胱胺的量较多，而睾丸则吸取半胱胺较少。我们最近也观察到与此类似的事实。形态学的观察证明，在照射前经过预防药处理的小白鼠，骨髓受到一定程度的保护，而且恢复也较快；脾脏与肝中的造血细胞有再生现象；肾上腺皮质中类脂物的恢复也比较迅速。但是睾丸

在照射后的退化程度与速度，与未经药物预防者并无差别。这些现象，如与预防药的组织分布作一对比，似乎那一个器官吸取预防药较多，则受到保护也较大，而多数吸取预防药较多的器官，核酸的含量也较高，因此在这些器官中核酸代谢的过程也得到更有效的保护。

在放射病中，造血器官能否早期恢复，对于病情的恶化与否则有决定的意义；血液中某些有形成份一定数值的维持，对于机体的抵抗力与出血症状的发生也有重要的意义。如果从这些问题来分析，似乎说明核酸代谢与放射病的发展存在着很密切的关系，如能维持正常的核酸代谢过程，可能在很大程度上减轻放射病的严重性，而某些预防药物是有保护核酸代谢的作用的。

放射病是很复杂的症候群，不能简单地以核酸代谢的障碍去解释，但是由于物质代谢的改变可以引起机体中重要器官的机能与形态的改变，这是形成放射病复杂症候群的基本原因，而核酸代谢的变化，是其中一个最重要的环节，因此也可能发生最重要的影响。

以上的观点，虽有零星材料的依据，但是在许多方面都缺乏系统的研究，因此还需要大量的实验予以证实。这种不成熟的意见，可能是完全错误的，提出以作今后工作的参考。

今后研究的方向

在射线防护的研究领域中，药物预防不过是有有效措施中的一种，今后研究的目标，非但能够用药物消除急性放射病的症状，而且对于由内及由外照射的远期效应及遗传影响，也能有效地防止。使人类受到绝对致死量照射后也不会发生严重的症状。不过这种预防措施，还是消极的、被动的，我们应该探索更积极的研究方向，能使射线的危害作

用，对人类的健康轉变为有利，我們非但要控制原子能为生产服务，而且要利用原子能作为增进人类健康的工具，这种鴻图远見，对于解放了的中国人民，在党领导下对自然

界展开斗争，胜利是可以預期的。

〔本文曾載《原子能科学技术》
(署名方富)1961年；汇集时
作者曾作部分修正〕

脫氧核糖核蛋白中脫氧核糖 核酸的輻射敏感性

吳 蔚 吳祖澤^①

机体在輻射损伤中早期出現的DNA⁽²⁾结构的改变^(1,2,3)与代謝的紊乱,随着放射生物学的进展,日益受到人們的重视。1961年Stacey⁽⁴⁾归納了DNA代謝的輻射损伤,不外乎二种可能的机制:合成DNA酶系的被抑制;或DNA模板(Primer)分子的改变。由于DNA在机体細胞内不是单独存在的,一般是与蛋白质結合,以DNP⁽⁵⁾形式存在。因此,我們认为DNP分子内隐藏破坏的存在,及其进一步发展為结构的变化,是机体輻射损伤原发机制中一个重要的方面,也可能是代謝紊乱的开端。

DNA与蛋白质結合不是一成不变的,与不同性质或数量的蛋白质結合,表现出不同的生物活性⁽⁵⁾。許多文献也报导了在細胞分裂或生长的不同时期对电离輻射的敏感性也是不同的⁽⁶⁻¹⁰⁾,这些现象是否与DNP结构的周期性的变化有关,是值得探索的問題。本实验的目的在于从比較DNA和DNP的輻射敏感性中,来推测DNA损伤的原发机制。

Sparrow(1946)⁽¹¹⁾与Butler(1949)⁽¹²⁾用粘度降低的方法,比較了DNP与DNA溶液的輻射敏感性,观察到DNP較DNA为稳定。但是Sparrow的DNP与DNA是在不同的介质(前者在1MNaCl水溶液中,后者在水中)进行照射,現在已經知道DNA有稀釋变性的现象⁽¹³⁾而盐有保护作用,所以这个实验难以說明何者对輻射更为敏感。

Kaufmann(1955)⁽¹⁴⁾报导了小牛胸腺核胶体溶液或人为的DNP經1,000倫琴X射

綫照射后,DNP粘度的下降比DNA迅速,推測了电离輻射是损伤了分子間的结构,而不是DNA的解聚。看来Kaufmann的結果似乎与前人的結果有所矛盾。实际上,可能是由于DNP提取方法的不同所致。当提得的DNP尚能保持其分子間网状结构时,这种DNP溶液对射綫是敏感的^(15,16)。其分歧之原因正在于此。

最近Emmerson(1960)⁽¹⁷⁾以DNA中无机磷释放的程度来探討DNP中DNA輻射损伤的情况,經 1.3×10^5 rads X射綫照射,沒有观察到DNP的变化。而DNA或人为的DNP經照射后,均能释放无机磷,前者更多一些。Peacocke(1961)⁽¹⁸⁾用光散射法測定DNP的分子量与螺旋軸半徑的改变,推測了DNP在X射綫照射时,首先为蛋白质的脫落,直至其分子量相当于DNA时,才有DNA的輻射降解现象发生。作者观察到⁽¹⁹⁾DNA在照射1.6 E.V./P时,有70%变性,而在DNP中即使照射40 E.V./P亦不发生DNA的变性。Цейтлин(1960)⁽²⁰⁾以具有不同N/P比值的DNP溶液經X射綫照射后,发现N/P愈大,即含蛋白质愈多,則对輻射愈稳定。这些实验似乎进一步說明DNP中的蛋白质有保护DNA的作用。

虽則大多数的报告提出了这样的看法,但是在有些实验中,仅比較了DNP与DNA

① 郭養平同志参加本实验的技术工作

② DNA 脫氧核糖核酸

⑤ DNP 脫氧核糖核蛋白

在輻射損傷後性質的改變。這二種物質，不論在組成、結構或表面性質上都不相同，要以同一個物化性質的改變來比較其輻射敏感性，顯然是意義不大的。即使 DNP 在照射後有了變化，亦不能推斷其中 DNA 是否有改變。我們提出一個直接比較照射 DNP 中的 DNA 與同樣條件下照射的游離 DNA 的輻射敏感性的方法，從而有助於這個問題的澄清。

實驗材料和方法

材料 雄性小白鼠，體重 16--18 克。殺死後，立即在冷室中(0--2°C)取出胸腺。

DNP 新鮮胸腺在玻璃勻漿管中製成含有 0.014M 檸檬酸鈉的 0.14M NaCl 的勻漿液，以角度离心机分離出核蛋白沉淀(轉速 2500 轉/分)，丟去上清液中可溶性的 RNP^①、磷脂蛋白、核苷酸及其它可溶性雜質，沉淀用含有 0.014M 檸檬酸鈉的 0.14M NaCl 水溶液重複洗滌二次，最後以 1M NaCl 水溶液提取过夜。

DNA 在 1M NaCl 的 DNP 溶液中加入等體積 95% 重蒸餾酒精，析出 DNP，製成含有 0.014M 檸檬酸鈉的 0.14M NaCl 懸液。按 Simmons 方法^[21]作連續二次硫酸十二酯鈉(S. D. S.)的處理除去蛋白質，最後用氯仿-辛醇(3:1)提取 6—8 次，直至二相界面不出現蛋白質沉淀。DNA 溶液盛入纖維素管對含有 0.014M 檸檬酸鈉的 0.14M NaCl 在冷室中透析 40 小時。紫外吸收高峰在 259m μ ， $\epsilon(p)=6,600$ ，用烏氏氣懸式粘度計測出特性粘度 $[\eta]=46$ ，80°C 加熱 20 分鐘， $\epsilon(p)$ 維持不變。

T_m 測定^[22] 在高為 20 厘米的試管中，盛入 5 毫升含有 0.014M 檸檬酸鈉的 0.14M NaCl 的 DNA 水溶液，分別在不同溫度的恒溫水浴中(保持恒溫在 $\pm 0.05^\circ\text{C}$)加熱 20 分鐘，取出後，在冰水中冷卻 10 分鐘，回復室

溫後，測定 259m μ 的光密度。

特性粘度^[7]的測定 採用烏氏氣懸式粘度計，測定溫度維持在 $20.00 \pm 0.01^\circ\text{C}$ ，粘度計毛細管直徑為 0.593 毫米，溶劑(含有 0.014M 檸檬酸鈉的 0.14M NaCl)流出時間為 129 秒，測定四個濃度下的相對粘度，以 $\ln r_r/C$ 對 C 作圖^[23]，取 C 趨於 0 的外推值為特性粘度，濃度單位為每升 DNA 溶液中含磷的克數。

吸收光譜 用 Beckman DU 型分光光度計測定。

氮的定量測定 按 T. S. Ma^[24]改良的微克氏定氮法測定。

磷的定量測定 改良的 Fiske 和 Subbarow 定磷法^[25]。

照射條件 採用 Co⁶⁰ 放射源 γ 射線在大大氣氧分壓的條件下照射，照射劑量為 5,000 倫琴，劑量率 79.9 倫琴/分。DNA，DNP 1M NaCl 水溶液，在照射前，分別調節濃度使每毫升溶液中含磷 40 微克。正常和照射的 DNA 1M NaCl 水溶液對含有 0.014M 檸檬酸鈉的 0.14M NaCl 透析 20 小時後，測定 DNA 的物化性質。

實驗結果

(一)電離輻射對 DNP 中 DNA 的損傷效應

根據 Peacocke^[19]用大劑量 γ 射線照射小牛胸腺 DNP 溶液，紫外吸收 (259m μ) 沒有

① RNP 核糖核蛋白

② 文獻上測定 T_m 方法為在逐漸溫度加熱 DNA 後，

溫度對 $\frac{(O.D.)_{\lambda, t}}{(O.D.)_{\lambda, 25^\circ}}$ 變化曲線中， $\frac{(O.D.)_{\lambda, t}}{(O.D.)_{\lambda, 25^\circ}}$

增加一半時的溫度。作者則在 DNA 溶液加熱後，迅速以冰水冷卻，回復至室溫時測定 $(O.D.)_{\lambda, r}$ 。其光密度小於在加熱溫度時測定值，但根據 Doty, P. et al (Proc. Nat. Acad. Sci., [1960] 46, 461) 報導 DNA 在加熱後迅速冷卻，尚能保持其變性狀態，則在實驗條件中，室溫測定之 $(O.D.)_{\lambda, r}$ 亦應反映部分 DNA 的結構狀態。

增加的事实,想从吸收光谱来观察 DNP 在照射 5,000 倫琴后,其中 DNA 的輻射损伤是不可能的。这在我們的实验中,亦得到了証实。因此我們即分别从正常和照射的 DNP 中提取 DNA,直接测定 DNA 的物化性质。

DNA 的 1M NaCl 水溶液在 5,000 倫琴照射后,由于其双股螺旋間氫鍵的部分断裂,提高了对热的敏感性,因而 T_m 略有降低。但是这个剂量尚不足以引起 DNA 分子的形状和大小的明显的改变,因此粘度基本不变。

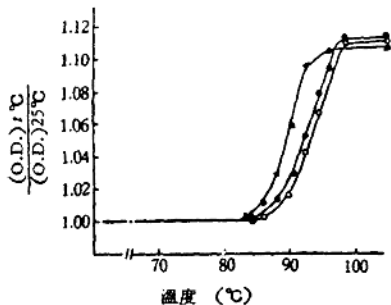


图 1 DNA 热变性曲线的比較

—○— 正常 DNA; —●— DNA 照射 5,000 倫琴; —▲— DNP 照射 5,000 倫琴后提取的 DNA。紫外吸收的测定波长为 259mμ。

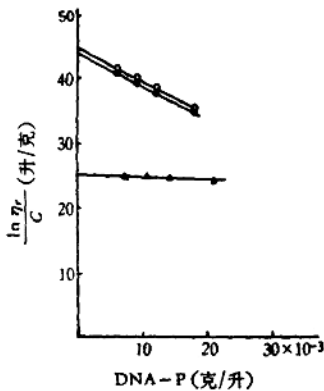


图 2 DNA 特性粘度的比較

—○— 正常 DNA; —●— DNA 照射 5,000 倫琴; —▲— DNP 照射 5,000 倫琴后提取的 DNA。

DNP 1M NaCl 溶液經 5,000 倫琴 γ 射綫照射后,立即进行酒精沉淀,經过二次

S. D. S. 处理去除蛋白质,繼續用氯仿-辛醇 (3:1) 混合液振搖数次,直到二相界面不出现蛋白质沉淀为止,最后对含有 0.014M 檸檬酸鈉的 0.14M NaCl 溶液透析 24 小时 后测定 DNA 的物化性质。

我們发现从照射 DNP 中提取的 DNA,其物化性质与同样条件下照射游离的 DNA,显然不同。 T_m 与 $[\eta]$ 急剧下降(见图 1、2 及表 1)。

表 1 小白鼠胸腺 DNP 与 DNA 的輻射敏感性

样 品	N/P	$[\eta]$	$T_m, ^\circ\text{C}$
正常 DNA	1.57	44.5	93.1
正常 DNA 照射 5,000 倫琴	1.62	43.6	91.9
DNP 照射 5,000 倫琴后提取的 DNA	1.64	24.9	89.7

这个现象,导致我們考虑如下二个問題:

(1) DNP 中的 DNA 較同样条件下的游离 DNA,对輻射损伤更为敏感,或者

(2) 照射后, DNP 中 DNA 仅有輕微的隐藏破坏,但是在 S. D. S. 去蛋白质的提取过程中,扩大了 DNA 原有的隐藏损伤。

为了闡明 DNP 中 DNA 的輻射损伤机制,我們研究了 S. D. S. 的处理对已受輻射损伤的 DNA 的扩大效应。

(二) S. D. S. 处理对輻射损伤 DNA 的扩大效应

(1) 二次 S. D. S. 处理对正常 DNA 的影响 DNA 1M NaCl 溶液中加入等体积 95% 重蒸餾酒精,析出 DNA,沉淀溶解在含有 0.014M 檸檬酸鈉的 0.14M NaCl 中,按提取 DNA 方法,經过連續二次 S. D. S. 的处理,最后在纖維素管中对含有 0.014M 檸檬酸鈉的 0.14M NaCl 透析 24 小时,测定 DNA 的物化性质。从图 3 与表 2 可見, S. D. S. 的处理,对 DNA 的天然结构是有损伤作用的。因此,在提取天然 DNA 的过程中,不宜次数过多地应用 S. D. S. 去除蛋白质。

这与 Kleinschmidt⁽²⁶⁾ 等报导, 多次 S. D. S. 处理提取 DNA, 导致其粘度降低的结果相吻合。为了得到较为纯净的 DNA, 我们在二次 S. D. S. 去除蛋白后, 再用氯仿-辛醇法继续除去微量的蛋白质。

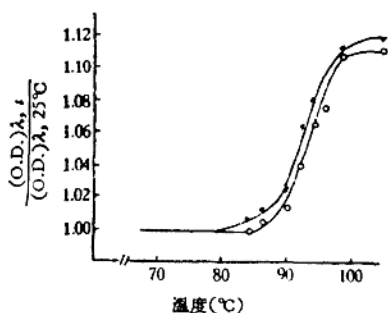


图3 正常 DNA 和經二次 S. D. S. 处理后的热变性曲线

—○— 正常 DNA; —▲— 正常 DNA 作二次 S. D. S. 处理。紫外吸收的测定波长 259 mμ。

表2 二次 S. D. S. 处理对正常 DNA T_m 的影响

样	品	N/P	$T_m, ^\circ\text{C}$
正常 DNA		1.57	93.1
正常 DNA 作二次 S. D. S. 处理		1.63	92.3

(2) 二次 S. D. S. 处理对照射 DNA 的影响 DNA 1M NaCl 溶液經 5,000 倫琴照射后, 連續作二次 S. D. S. 的处理, 最后对含有 0.014M 檸檬酸鈉的 0.14M NaCl 透析 24 小时后, 测定 DNA 的物化性质。由图 4 及表 3 可見, 輻射损伤的 DNA, 連續作二次 S. D. S. 处理, 是有扩大其损伤作用的。

表3 二次 S. D. S. 处理对照射 DNA T_m 的影响

样	品	N/P	$T_m, ^\circ\text{C}$
照射 DNA		1.62	91.9
照射 DNA 作二次 S. D. S. 处理		1.57	91.1

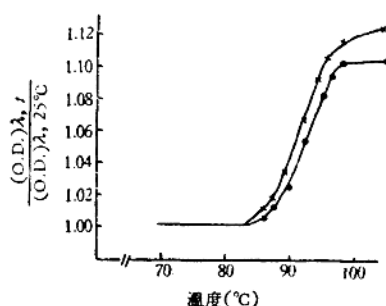


图4 照射 DNA 和照射 DNA 連續作二次 S. D. S. 处理后的热变性曲线

—●— DNA 照射 5,000 倫琴; —×— DNA 照射 5,000 倫琴后作二次 S. D. S. 处理。紫外吸收的测定波长 259 mμ。

(3) S. D. S. 去蛋白质对辐射损伤 DNA 的影响 去蛋白质的过程中, S. D. S. 不仅可以直接影响游离 DNA 的性质, 而且和蛋白质所生成的复合物在脱离 DNA 时, 是否由于某种拉力的作用例如使原来在单链处只有一个主链断裂的 DNA, 由复合物的脱离而在该链附近再造成一个键的断裂, 而扩大 DNA 的辐射损伤。

为了模拟 DNP 中 DNA 和蛋白质结合的状态, 我們設計了下面的实验。其根据是在 1M NaCl 溶液中, 除了少量的残余蛋白质外, 部分以盐键联接的蛋白质, 是处于解离状态的, 我們以正常 DNP 的 1M NaCl 溶液分别与等体积、等浓度的下面三种不同处理的 DNA 均匀混合: (i) 正常 DNA; (ii) 正常 DNA 照射 5,000 倫琴; (iii) DNP 照射 5,000 倫琴后提取的 DNA。放置过夜, 然后把混合液稀释到 0.14M NaCl 浓度, 使 DNP 沉淀; 在沉淀过程中, 加入的 DNA 和原来由 DNP 中解离出来的 DNA, 应有同样的机会和蛋白质结合, 而得到 DNP 的沉淀, 然后按 S. D. S. 的方法分别提取 DNA。

如果 S. D. S. 去蛋白质的作用, 对辐射损伤的 DNA 有严重的扩大其损伤的效应, 則从(ii)混合物中提取的 DNA 其性质应接近于(iii)。

如果 S. D. S. 去蛋白质对辐射损伤的 DNA 没有明显的影响,则从上述三种情况中提取的 DNA,由于加入等体积的正常 DNP,因而所测定的 DNA 物化性质应该分别为原来辐射损伤程度的 50%。例如, DNA 单独照射 5,000 伦琴, T_m 平均降低 1.4°C, 从照射 5,000 伦琴 DNA 和正常 DNP 的等体积混合物中提取的 DNA, T_m 应降低 0.7°C, 为原来辐射损伤程度的 50%, 这是和实验结果相符合的。(表 4)

表 4 S. D. S. 去蛋白质对辐射损伤 DNA 的影响

样 品	N/P	$T_m, ^\circ\text{C}$	$[\eta]$
(i) 正常 DNA + DNP 提取 DNA	1.64	92.8	40.3
(ii) DNA 照射 5,000 伦琴 + DNP 提取 DNA	1.67	92.1	38.2
(iii) DNP 照射 5,000 伦琴 提取 DNA + DNP 提取 DNA	1.68	90.5	33.3

因而可以认为: S. D. S. 处理虽能扩大 DNA 的辐射损伤效应,但是在去蛋白质过程中,对辐射损伤的 DNA 没有明显的扩大其损伤的效应。

(三) DNP 溶液中可透析性杂质对 DNA 辐射敏感性的影响

在我们的实验中, DNP 中 DNA 的辐射损伤较游离的 DNA 更为严重, 其原因不外乎两个方面: 即杂质, 尤其是金属离子的存在, 提高了电离辐射在水中生成自由基的产率; 以及电离辐射通过蛋白质加强了 DNA 的辐射损伤。当然也很难排除少量的不能透析的杂质的存在。但是基于组织匀浆经过三次含有 0.014M 柠檬酸钠的 0.14M NaCl 水溶液的洗涤和照射时 DNP 溶液的稀释度相当大, 我们认为杂质与蛋白质含量相比应该是微量的。

为了证实上述观点, 我们进行了 DNP 溶液中可透析性杂质对 DNA 辐射敏感性影

响的实验。

经过三次含有 0.014M 柠檬酸钠的 0.14M NaCl 洗涤的小白鼠胸腺匀浆制成 DNP 的水匀浆, 盛入纤维素透析袋对重蒸馏水透析过夜, 袋外透出液冰冻干燥, 干燥固体配入适当体积的 1M NaCl 的正常 DNA 水溶液中。照射 5,000 伦琴后, 经过对含有 0.014M 柠檬酸钠的 0.14M NaCl 水溶液的透析, 测定 DNA 的 T_m 和 $[\eta]$ 。

由图 5、表 5 可见, DNP 中可透析性的杂质对 DNA 的辐射损伤没有明显的增强效应。含有杂质的 DNA 溶液和天然 DNA 溶液, 在照射后, T_m 和 $[\eta]$ 基本上是相同的。

所以目前可以这样说, DNP 中 DNA 辐射损伤的增强, 其主要因素为不可透析部分所致。

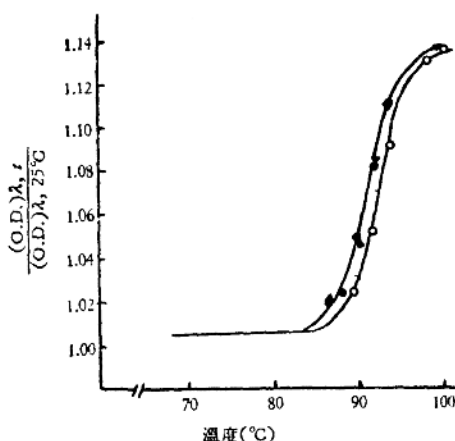


图 5 DNP 溶液中可透析性杂质对 DNA 热变性曲线的影响

—○— 正常 DNA; —●— DNA 照射 5,000 伦琴; —▲— 含有杂质的 DNA 照射 5,000 伦琴。紫外吸收的测定波长 259mμ。

表 5 DNP 溶液中可透析性杂质对 DNA T_m 的影响

样 品	N/P	$T_m, ^\circ\text{C}$
正常 DNA	1.73	92.9
DNA 照射 5,000 伦琴	—	91.2
含有杂质的 DNA 照射 5,000 伦琴	1.75	91.1

(四)DNA, DNP 輻射敏感性的比較

我們在同一組實驗中，同時測定五種條件下 DNA 的物理化學性質：(1)正常 DNA；(2)正常 DNA 照射 5,000 倫琴；(3)正常 DNA 繼續作二次 S. D. S. 處理；(4)正常 DNA 照射 5,000 倫琴後，繼續作二次 S. D. S. 的處理；(5)DNP 照射 5,000 倫琴後提取的 DNA。

從 5,000 倫琴照射的 DNP 中提取的 DNA，特性粘度顯著下降；對熱的敏感性顯著提高，因而 T_m 下降。 T_m 和 $[\eta]$ 的下降程度較其它四種情況更為嚴重(圖 6、圖 7、表 6)。

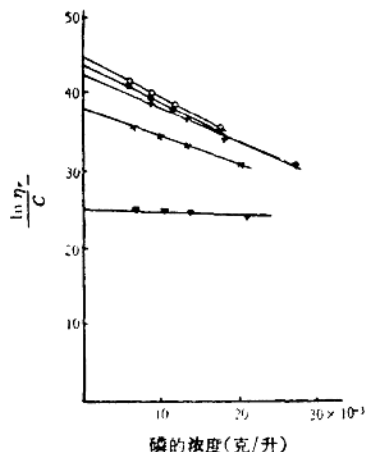


圖 6 五種情況下 DNA 溶液特性粘度的比較

—○— 正常 DNA；—●— DNA 照射 5,000 倫琴；—+— 正常 DNA 作二次 S. D. S. 處理；—×— DNA 照射 5,000 倫琴後作二次 S. D. S. 處理；—▲— DNP 照射 5,000 倫琴後提取 DNA。

自然我們也注意到了不論是正常或照射 DNA，經二次 S. D. S. 的處理，均導致 $[\eta]$ 與 T_m 的若干下降，但其程度，較之照射 DNP 經二次 S. D. S. 去蛋白處理提取的 DNA，要弱得多。同時考慮到，不論是正常 DNA 或照射 DNA，在作二次 S. D. S. 的處理時，實際上它們已經過四次 S. D. S. 的處

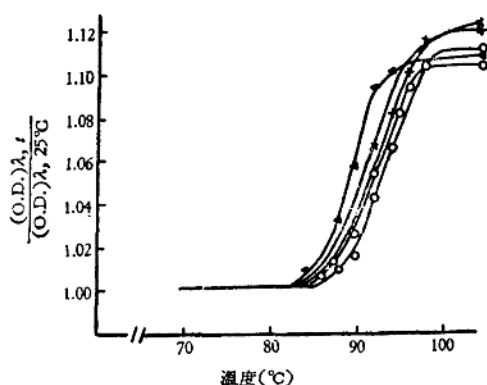


圖 7 五種情況下 DNA T_m 的比較

—○— 正常 DNA；—●— DNA 照射 5,000 倫琴；—+— 正常 DNA 作二次 S. D. S. 處理；—×— DNA 照射 5,000 倫琴後作二次 S. D. S. 處理；—▲— DNP 照射 5,000 倫琴後提取 DNA。紫外吸收的測定波長 259 m μ 。

表 6 小白鼠胸腺 DNP, DNA 輻射敏感性的比較

樣品	N/P	$[\eta]$	$T_m, ^\circ\text{C}$	$\epsilon(P), 259 \text{ m}\mu$
正常 DNA	1.57	44.5	93.1	6682
正常 DNA 作二次 S. D. S. 處理	1.63	42.7	92.3	6614
正常 DNA 照射 5,000 倫琴	1.62	43.6	91.9	6659
正常 DNA 照射 5,000 倫琴後作二次 S. D. S. 處理	1.57	38.2	91.1	6648
DNP 照射 5,000 倫琴後提取的 DNA	1.64	24.9	89.7	6732

理，而照射 DNP 在提取 DNA 時，一共才經過二次，所以如果 S. D. S. 對 DNA 有較顯著的損傷作用，或擴大損傷的效果，則在前面二種樣品中，應較後者為嚴重。但是實驗的結果，說明了後者更為嚴重。可見 S. D. S. 的處理所造成的損傷，並非主要，而主要是輻射對 DNP 中 DNA 的損傷效應最為嚴重。

我們概括了連續多批實驗 T_m 測定的數據。由表 7 所示：正常 DNA 在 5,000 倫琴照射後， T_m 下降 1.4%；從 5,000 倫琴照射的 DNP 中提取 DNA， T_m 降低 4.0%。照射的 DNA 經過二次 S. D. S. 處理，有一定的擴

大效应,但明显地小于 DNP 中 DNA 的辐射损伤。

表 7 五批实验中 $T_m(^{\circ}\text{C})$ 测定数据的比较

编 号	正常 DNA	DNA 照射 5,000 倫琴	DNA 照射 5,000 倫琴 后,作二次 S.D.S. 处理	DNP 照射 5,000 倫琴 后提取的 DNA
SG-1	92.3	91.1	—	88.5
SG-2	92.5	92.0	—	—
SG-3	92.3	90.0	90.0	88.5
SG-4	93.1	91.9	91.1	89.7
SG-5	92.9	91.2	—	—
五 批 平均值	92.6 ± 0.3	91.2 ± 0.6	90.5 ± 0.6	88.9 ± 0.5

归纳上述实验结果,我们提出了一个新的观点,即 DNP 中蛋白质可能并不像文献中所说的那样起着保护 DNA 的作用;相反的,可能有加强 DNA 辐射损伤的效应。

讨 论

根据我们所制备的 DNA 的一些物化性质: $[\eta]=4\text{G}$, $c(p)=6,600$, 在 80°C 以下保温 20 分钟没有增色效应等现象看来,这些样品应该说是接近于天然状态的。

DNA 样品经 5,000 倫琴 γ 射线照射后,特性粘度和紫外吸收没有明显改变, T_m 却稍有降低,说明在试管条件下,经过不算大的剂量照射后, DNA 分子已经有了一定的损伤,这种损伤在紫外吸收光谱和特性粘度上虽没有表现出来,但在加热时就被扩大而出现了。 T_m 的降低意味着照射后 DNA 双螺旋间氢键有一定程度的断裂,或者说存在着一定程度的变性。同时也可以看到,在这样的照射剂量下,尚不至于造成 DNA 分子的降解。

实验中已经证实了 DNP 在 1M NaCl 溶液中照射时,并未含有足以加强 DNA 辐射损伤的可透析性的杂质,所以 DNP 中 DNA 所表现的较高的辐射敏感性,主要与蛋白质有关。在 1M NaCl 的 DNP 溶液中,存在着游离的和与蛋白质结合的 DNA⁽²⁷⁾。在辐射损

伤中,如果前者是主要的,则 DNP 的辐射损伤应该弱于单独照射的 DNA。实际上却得到了相反的实验结果。可见与蛋白质结合的 DNA 受到了较强的辐射损伤。

在讨论 DNP 与 DNA 的辐射损伤机制时,可以认为在我们的实验条件下,样品浓度很稀,间接作用应该处于主要的地位。换言之, DNP 或 DNA 的损伤主要不是由于辐射直接作用于这些大分子本身,而是通过溶剂的激发或电离。水产生的自由基是否能透过 DNP 的外层蛋白质而造成其中 DNA 的损伤呢? Emmerson⁽²⁷⁾ 认为 X 射线在 10^3 rads 以下剂量照射 DNP, 自由基是不能透过蛋白质的。当然它的实验条件与观察损伤的指标与我们不同,不能作平行的比较。但是,如果 DNA 的损伤仅仅由于水产生的自由基透过蛋白质而造成的,则难于设想为什么 DNP 中 DNA 的损伤大于单独照射的 DNA。所以蛋白质的存在及其可能起的作用是不容忽视的。蛋白质可以通过能量传递的方式,把它自己所获得的能量传递给它结合的 DNA。如果我们设想在分子的任何部位接受辐射能后,总是在分子最薄弱的环节起到损伤作用的话,那么分子愈大就应当更容易受到辐射损伤。Владимиров 与 Конев⁽²⁸⁾ 二氏比较全面地探讨了生物高分子的能量传递问题。Alexander 与 Lett⁽²⁹⁾ 二氏以顺磁共振的方法观察到在 -196°C 照射条件下,能量由蛋白质向 DNA 传递的事实。Сажинский 与 Эменуэль⁽³⁰⁾ 二氏从 γ 射线激发了蛋白质、DNA 与 RNA⁽³¹⁾ 后产生的磷光光谱,推测了在蛋白质与 DNA 之间能量传递的可能性。我们认为这种可能性也是存在的。此外亦可以通过蛋白质产生的自由基(或双自由基)损伤 DNA 分子⁽³²⁾, 由于这些自由基的寿命比水分子所产生的自由基长⁽³²⁾, 甚至可以长好几个数量级,因此大大地增强了对 DNA 的

(1) RNA 核糖核酸