



化学诱变剂对染色体的作用

T. C. Hsu William Au

引言

细胞学家研究化学物质对染色体的作用已经有好几十年，只是在近几年里才更为活跃。对我们的环境与遗传毒性的关注，促使生物学家和生物化学家用各种测试系统，在不同研究水平上分析环境中诱变剂的作用。细胞遗传学研究被认为是整个项目中的主要部分。

染色体和有丝分裂器是复杂的超级分子。药物对这些分子的作用不及它们对 DNA 的作用了解得那么清楚。可是，因为染色体是遗传物质的载体，染色体和分裂机制受到损伤的后果就象 DNA 分子受到损伤一样严重。实际上，要研究药物对染色体的影响主要有两方面：(1)，查明有毒因子和它们损害的程度。(2)，根据药物作用阐明染色体和有丝分裂器的结构和生理学。本文介绍环境中的化学诱变剂所诱发的种种细胞遗传学效应，讨论化学诱变剂和电离辐射之间的差别，以及染色体损伤和修复机制之间的关系。

方法学

诱变剂的细胞遗传学效应大致可分成两大类：引起染色体断裂(染色体断裂剂)和分离异常(有丝分裂毒素)。有些化合物会诱发两种异常。遗憾的是，有丝分裂毒性还没有受到应有的注意，或许是由于方法学还没有很好建立起来的缘故。

要记住，用常规方法是见不到染色体在间期受到的损伤。只有那些能够进入细胞周期、继而到达中期(M_1)的细胞才能作细胞遗传学观察。由于 DNA 的修复作用(因而使染色体恢复)在损伤的显露中起重要作用，这给估计

染色体损伤程度带来了麻烦。

早些年代，在染色体断裂剂的研究中几乎唯一只用植物材料。随着哺乳动物细胞遗传学的发展，培养的细胞得到了更广泛的使用，因为在实验上有几个好处：(1)能迅速地大量繁殖；(2)繁殖的时间短；(3)染色体有明显特征；(4)能同步生长；(5)能克隆化产生单细胞集落。(6)能和其它细胞杂交。本文将集中讨论实验方法所涉及的哺乳动物体细胞。已知道培养细胞的反应性并不总是同活体细胞相平行的，但研究活体细胞的方法学也不是十分复杂的。

许多长期培养的细胞株象短期培养的人体淋巴细胞一样，可用来研究化学物质对染色体的影响。步骤很简单，即把待测化合物的浓溶液加到培养并里，达到所需要的最终浓度。在多数实验里，细胞应处于刚开始的对数生长期，以保证对照样本里有大量的有丝分裂。

在这类实验中，对于供试细胞的细胞周期的了解是很必要的。中国仓鼠细胞增殖一代所需时间一般是 12 小时， G_2 期 2 小时，S 期 6—7 小时， G_1 期 3 小时和有丝分裂期半小时。要估计一种化合物对不同时期细胞的影响，细胞的收集时间应是药物加入后 2 小时(G_2)，5—6 小时(中 S 期)和 8—10 小时(G_1)。在药物连续处理时，10 小时处理意味着细胞几乎在整个细胞周期里都接触到药物。因此，看到的染色体损伤是代表药物对整个细胞周期所有阶段的累加效应，而不是对某一个时期的作用。

要分析药物对处于某个特定时期染色体的作用，必需用脉冲处理法。例如，待测化合物在处理细胞 1 或 2 小时后就除去，再过大约 8

小时收集细胞。也许所反映的是在G₁期受到的损伤。对于电离辐射来说,这种模式是可以接受的,可是对于化学诱变剂来说,有一个因素使这种设计复杂化了。许多化合物能和DNA结合,但它们本身并不诱发DNA断裂,只是在细胞复制DNA时(S期)引起紊乱。由于细胞遗传学家必须观察有丝分裂中的染色体畸变,所以见到的损伤也许是在S期,而不是在G₁期诱发的。根据染色体畸变的呈现(染色单体断裂或染色体断裂)有可能区分每一期的特定损伤,但这些不是绝对的标准。

确定化学诱变剂引起的分裂期相特定的染色体损伤,最合理的方法或许是用同步化的细胞群体和观察提前浓缩染色体(PCC)。我们将在下一节讨论这一点。

许多药物由于干扰细胞的DNA合成对细胞有很高的毒性,特别是浓度较高时。因而,持续处理甚至处理5或6小时,实际上就不会出现有丝分裂。少数细胞,特别是处于晚S期的细胞,也许能幸免而进入有丝分裂。从这些样本中的少数有丝分裂细胞所得到的结果,不能反映大多数细胞染色体所受到的损伤程度。让药物短时间(2—4小时)处理细胞群体,随后让细胞回复到无药物的培养基中,也许可以弥补这一缺陷。这种脉冲处理和回复实验在许多方面是有用的。引起染色体粘着的因子也许会使染色单体纤维在第一个后期(A₁)机械地断裂,在第二次有丝分裂(M₂)将表现为断裂和交换。没有回复实验的细胞群体,就会遗漏许多现象。

大家知道,许多化合物需要经过代谢转化才变成致癌剂。反之,一个诱变剂也可被代谢失活而解毒。在微生物和细胞培养等测试系统里不会发生代谢转化。因此在Ames试验中,常常在测定潜在诱变剂时加入肝匀浆S₉部分,同不加S₉的同种化合物进行比较(Ames等1973)。Natarajan等(1976)首先发现两种间接作用的亚硝胺被肝匀浆活化,变成强烈的染色体损伤因子。然而,有关诱变剂效应的细胞

遗传学实验中,加肝匀浆的还极少。

表1概括了我们实验室在做诱变剂的细胞遗传学分析时使用S₉的好处。肝匀浆与待测因子同时加到培养物里。龙胆紫是一种染色体断裂剂(Au等1978a)但是S₉几乎完全消除它的作用(Au等1978b)。一些肿瘤化疗药物经S₉处理后,发现有增加染色体断裂的危险,另外一些则有所降低或保持不变(Au等,整理中的手稿)。因此,我们强烈建议在染色体断裂剂研究中,应当同时做加S₉与不加S₉的实验。

染色体畸变

虽然上面介绍包括一般性的讨论,但提出了染色体畸变分析特别有关的一些原理。从技术上说,细胞收集和染色体制备按照常规操作:秋水酰胺阻滞有丝分裂,低渗处理,甲醇:冰醋酸(3:1)混合液固定,气干制片和用Giemsa或地衣红染色。在研究有丝分裂毒素时,应避免用秋水酰胺和低渗予处理;因为秋水酰胺本身是有丝分裂毒素。观察和照相全部用明视野显微镜。详细操作见Hsu等1977。

姐妹染色单体互换(SCE)

从事筛选试验的许多细胞遗传学实验室,最近已用SCE系统代替染色体畸变作为常规工作的标准。SCE系统简介如下:

Latt(1973)发现,5-BUdR掺入DNA两个周期的细胞,当制片用吖啶橙染色时,两条姐妹染色单体之间的荧光强弱不同。一条姐妹染色单体呈现明亮的荧光,另一条则荧光暗淡。在一定的实验条件下,一套染色体的SCE频率是相对恒定的(有关SCE的评述:Wolff 1977, Kato 1977)。

姐妹染色单体之间的交换,不管是什么机制,一定涉及DNA的交换。下述发现支持这一见解,即Bloom's综合症——一种染色体自发断裂和交换的遗传缺陷——患者的细胞里,SCE频率大大增加(Chaganti等1974)。因此,SCE看来可作为一个系统来估计诱变剂的作用。Latt(1974)和后来其它一些研究者(Perry和Evans 1975, Carrano等1978)确

表 1 S₉ 对染色体断裂频率的影响

因子	剂 量	S ₉ 影 响	
A.	(μM)		
	生物学染料		
	天青 A (Azure A)	10	降低
	龙胆紫 (Gentian violet)	10	失活
B.	甲苯胺蓝 (Toluidine blue)	10	降低
	($\mu\text{g/ml}$)		
	抗肿瘤药物		
	阿霉素 (Adriamycin)	0.1—1.0	降低
	放线菌素 D (Actinomycin D)	0.1—1.0	无意义
	博莱霉素 (Bleomycin)	1.0—10.0	无意义*
	环磷酰胺 (Cyclophosphamide)	50—500	活化
	阿胞苷 (Ara C)	1.0—10.0	无意义
	丝裂霉素 C (Mitomycin C)	1.0—10.0	无意义
	氨基甲基叶酸 (Methotrexate)	5.0—25.0	无效
C.	新制癌素 (Neocarzinostatin)	0.01—1.0	失活
	长春新碱 (Vincristin)	1.0—10.0	无效
	实验药物		
NSC 279836	0.01—0.10	降低	
NSC 287513	0.01—0.10	降低	
NSC 299195	0.01—0.10	降低	

* S₉ 显著地增加染色体损伤的细胞数, 可是每个细胞里的损伤数没有增加。

实证明了许多种已知的诱变剂会使 SCE 显著地增加。

供试细胞培养物在两个细胞周期里应该得到足量的 BUdR, 两条链都参入 BUdR 的 DNA, 其着色情况不同于天然 DNA 或只有一条链被 BUdR 取代的 DNA。制片可用吖啶橙染色, 荧光显微镜观察 (Latt 1973), 或用 Giemsa 染色 (Perry 和 Wolff 1974, Korenberg 和 Freedlender 1974)。

DNA 修复合成

因为大多数诱变剂引起 DNA 损伤, 所以损伤的程度能够用 DNA 的修复合成来估计。经处理的细胞用 ³H-胸腺嘧啶核苷标记, 计算放射自显影的细胞核的颗粒数, 就提供了定量数据 (Stich 和 San, 1970)。这个方法可作为一种很好的补充核对, 但我们认为它比直接的细胞遗传学方法更费时。

化学诱变剂的细胞遗传学效应

化学因子会给细胞造成类型众多的细胞遗传学效应, 其中有些有害或无害。例如, 许多

物质 (PHA 商陆属有丝分裂剂等) 能诱导培养的成熟淋巴细胞去分化。这些物质统称有丝分裂剂。许多荧光色素会和 DNA 结合, 在特定的光学条件下, 能在中期染色体纵长上出现不同的荧光。这些化合物已有效地用于识别染色体和染色体片段。然而我们在此将只介绍对染色体产生有害作用的那些化合物, 即使在这领域也只能有简要提纲。

有丝分裂毒素

在诱变剂研究中, 比较起来有丝分裂毒素 (引起细胞分裂紊乱的因子) 比染色体断裂剂更少受到人们的注意。这种差别有几个原因。有丝分裂毒素的靶结构是有丝分裂器 (纺锤丝、中心粒和附带的结构)。这些结构由特殊的蛋白质而不是由 DNA 构成。因而严格地说, 有丝分裂毒素不符合诱变剂的定义。但是分裂异常会引起明显的染色体不平衡, 例如非整倍体, 它对细胞和个体的影响比点突变更不利。在多数诱变剂测试系统中, 强调引起 DNA 损伤的因子 (诱变剂)。因为微生物的细胞分裂不

用纺锤丝，所以许多有丝分裂毒素就不是诱变剂了。

与染色体断裂剂相比，细胞遗传学家也较少注意有丝分裂毒素。在染色体断裂剂研究中，许多定量方法能够估计出某一因子的遗传学毒性；可是至今还没有为有丝分裂毒素设计出好的测试系统。假如一种有丝分裂毒素能完全阻止纺锤丝的形成，如秋水仙素，那么有丝分裂指数就能用来估计它的活性。如果使用阈值浓度的秋水仙素(或别种有丝分裂阻滞剂)，有丝分裂指数应当和处理时间成正比。然而，有丝分裂毒素不一定总是阻滞中期相，它们也会诱发异常有丝分裂，如核内复制，多极纺锤丝，不分离等。遇到这种情况应采用其它的记录方法。

也许可以把有丝分裂毒素归纳为下面几类：

(1) 有丝分裂阻滞 有丝分裂阻滞剂常常阻断管蛋白(tubulin)——微管的基本蛋白——的聚合作用。它们并不破坏已经形成的微管，因而不影响现有的中期相和后期相细胞，可是处于前期或间期的细胞就不能形成纺锤体，结果阻滞在中期。属于这一类的有多种化学物质，其中包括著名的秋水仙素、秋水酰胺、长春新碱、鱼藤酮及其它。

人们早已知道，用秋水仙素处理植物的分生组织会形成多倍体。受到阻滞的有丝分裂最终没有后期运动而进入间期，中期染色体就象在后期和末期中那样脱凝缩(C-有丝分裂)，结果形成四倍体细胞。在动物细胞中间，受阻滞的细胞的命运还未完全弄清楚。在大多数情况下，染色体经历一系列类似于C-有丝分裂行动，大概变成了多倍体。Sawada和Ishidate(1978)关于已烯雌酚(DES)的工作也许对此作了最好的启示。在几种细胞培养物中，已烯雌酚的作用象有丝分裂阻滞剂，累积中期相，延长处理时间(24小时或更长)后，发现大多数有丝分裂细胞成了多倍体。假如在处理一段时间之后除去DES，就会出现后期相。从这些研究者的资料来看，在DES处理过的一系列培养物里，纺锤体的再生作用要比用秋水酰胺处理过的快得多。

已阻滞细胞能否再生纺锤体，或许取决于阻滞剂的浓度。假如阻滞剂的浓度刚刚高于阈值，尽管有药物存在，有些细胞也许能再生纺锤体。Stubblefield(1964)通过缩时电影的记录发现，用秋水酰胺处理的中国仓鼠细胞，在中期相受阻一段时间之后还能分裂。

在细胞培养中，如果把有丝分裂阻滞剂从这些培养基里除去，大多数受阻滞的细胞会再

张容华、姚增序：图版说明

图 1. 穴内加菊糖—人 C₃ 复合物。槽内加兔抗新鲜人全血清抗体。

图 2. 中央穴加新鲜正常人全血清。

周围穴：

A: 1号兔抗菊糖—人 C₃ 复合物抗体；
C: 抗人 C₃ 标准样品抗血清；
E: 空白；

B: 2号兔抗菊糖—人 C₃ 复合物抗体；
D: 3号兔抗菊糖—人 C₃ 复合物抗体；
F: 抗人 C₃ 标准样品抗血清。

图 3. 各穴内加正常人新鲜全血清。

A、E 槽加：1号兔抗菊糖—人 C₃ 抗血清；
C 槽加：2号兔抗菊糖—人 C₃ 抗血清；
E 槽加：4号兔抗菊糖—人 C₃ 抗血清。

B 槽加：抗人 C₃ 标准样品血清；
D 槽加：3号兔抗菊糖—人 C₃ 抗血清；

图 4. 用抗补体免疫荧光法检测 Raji 细胞，绝大部分细胞核内有颗粒状荧光染色。

图 5、6. 三例鼻咽癌未分化上皮癌涂片中均见 EBNA 阳性反应的似癌细胞。

图 7. 7904 号材料，细胞涂片作 EBNA 荧光反应，偶见阳性细胞，其细胞大小与周围阳性淋巴细胞相差悬殊。

生纺锤体而进入后期。然而在回复的细胞中, 很多会出现多极性, 特别是在长期阻滞之后。纺锤体的再生能力显然与这一异常无关, 决定因素也许是中心粒。在阻滞期内, 子中心粒开始成熟并与母中心粒分离, 于是能在母中心粒之外组建纺锤体(Stubblefield 1967)。在活体条件下, 阻滞剂在有效期以后大部分被排泄或经代谢转化。因而在活体里的情况, 应类似于在细胞培养物的回复实验中所见到的。

在分析有丝分裂阻滞剂时要考虑的另一个因素是供试细胞的来源问题。我们已经知道叙利亚仓鼠细胞对秋水仙素有很高的抗性, 反之 HeLa 细胞对秋水仙素非常敏感, 经过适当时间处理之后, HeLa 细胞就不会再生纺锤体; 可是 HeLa 细胞有从一氧化二氮阻滞的有丝分裂中恢复的能力(Rao 1968)。

(2)核内复制 核内复制是一类特殊的多倍体有丝分裂细胞, 在这里姐妹染色体彼此并排排列着。猜想细胞经过两个 DNA 复制周期而没有有丝分裂介于其间。在第二个复制周期之后, 当细胞终于发生有丝分裂时姐妹染色单体彼此靠近。姐妹染色体这样的排列也叫做双分染色体。

在细胞培养物和活体的肿瘤细胞里, 偶尔可见到核内复制的中期相。许多化学因子会增加核内复制的频率, 如巯基丙酮酸盐(Jackson 和 Lindohl-Kiessling 1963), 6-巯基嘌呤(Nasjleti 和 Spenser 1966), 秋水仙素(Rizzoni 和 Palitti 1973), 溴乙锭(McGill 等1974)和其它种种 DNA 嵌入因子, 代谢拮抗物和抗肿瘤抗菌素(Suton 和 Arai 1975)。其中大多数只能稍许增加核内复制的频率, 一般是 10% 左右或稍低。最令人注目的情况发现于 Hoechst 33258。当 Hoechst 33258 与抗肿瘤抗菌素 rubidazone 复合处理 L 系细胞时, 高达 70% 的中期相出现双分染色体(Kusy 和 Hsu 1978)。

核内复制的机制还不清楚。研究这一领域的困难之一是在细胞群体里能够诱发细胞核内

复制的频率低。由于有可能达到 70% 或较高的核内复制频率, 就有希望在这方面取得一些显著的进展。

(3)异常纺锤体的形成 有些化学物质并不阻碍纺锤体的形成, 而是引起异常纺锤体的形成(多极性, 不分离等)。也许所有麻醉药具有这一性质(Sturrock 和 Nunn 1975; Grant 等 1977)。多极纺锤体的频率可以在后期记录下来, 但是, 除非染色体是非常不均等地分配到子细胞核, 否则就很难明确地辨认不分离现象。染色体组成严重不平衡的细胞可能不能存活, 紊乱较少的非整倍体细胞则有可能存活。人和有些动物群体里非整倍体个体为数较多, 表明在有丝分裂和减数分裂中不分离现象经常发生, 可以想像化学和病毒因素或许在其中起了重要作用。

由于有丝分裂毒素诱发有丝分裂阻滞和/或后期异常, 最终将产生多核和微核。所以必须建立一些有效的测试方法去分析有丝分裂毒素的作用, 因为这是环境中一类重要的诱变剂。

应该指出, 非整倍体的形成或许严重地导致胚胎死亡。Gropp 及其同事指出, 在小鼠中, 单体(染色体)难得活过妊娠 3 天, 相反, 三体(染色体)在胚胎发育期间也许会活得更久些, 这和多了一条染色体有关(Gropp 1975; Gropp 等 1976)。在显性致死试验中, 只要是死胎不究其原因就记录在案。其实有一定比例的致死应当归结于染色体的不平衡。

(4)染色体脱凝和粘着 Arrighi 和 Hsu (1965)报道过, 放线菌素 D 会引起中期染色体严重程度的脱凝。以后, Shafter(1973)发现, 如果细胞与放线菌素 D 一起温育几小时会诱发 G 带图型。能够诱发染色体显带的药物不限于放线菌素 D(Hsu 等 1973; Goodpasture 和 Arrighi 1976)。在固定前诱发染色体显带, 也许同一些特定的染色体区段不能正常凝缩有关。或许也和粘着染色体的出现有关。

很多因子, 特别是 DNA 嵌入因子, 会引起某些特有的细胞学反应——染色体粘着。中

期染色体不同程度的互相缠绕,以致即使用低渗溶液予处理也不能把它们分散。对粘着染色体的电镜观察表明,不同染色体的染色质纤丝互相缠绕着(McGill等1974,Pathak等1975)。

由于染色质纤丝缠绕,染色体在后期就不能正常分裂。在严重的情况下,后期的运动受到抑制,尽管有纺锤体存在,整套染色体将进入间期,就象经秋水仙素作用那样。在不太严重的例子中,缠绕的染色体在后期也许会运动,其结果造成染色质纤丝断裂。在这类例子中,造成染色体粘着的因子本身也许不会引起染色体断裂,但可能作为次级作用诱发染色体断裂,也就是染色质纤丝在细胞分裂期间机械折断。折断的纤丝在下一个细胞周期中(M_2)时表现为断裂或重排。

许多DNA嵌入因子引起染色体的粘着和/或显带。例如,喹吖因和Hoechst 33258即使浓度较高也不诱发染色体断裂,但会诱发很多的染色体粘着(Hsu等1977)。我们未发表的资料表明天青和甲苯胺蓝也属于这一类。在细胞分裂期间许多染色体纤丝明显地被折断,因为在 M_2 见到的断裂频率相当高(大多数是染色体型)。另一方面,溴乙锭既能诱发染色体粘着又是染色体的断裂剂(未发表资料)。

Hoechst 33258还有其它独特的效应。它能特异地诱发小鼠染色体异染色区段的脱凝缩作用。

染色体断裂剂

细胞遗传学家较多注意化学诱变剂的染色体断裂效应,较少注意它的其它类型的细胞遗传学毒性。虽然不同的药物有不同的作用机制,其中很多机制还没有弄清楚,可是,由辐射引起的各种染色体畸变类型都已在用药物处理过的细胞里找到。

细胞受到辐照时,不管它在细胞周期哪个时相都会引起损伤。这些损伤随后也许修复,也许仍然存在。 M_1 里的畸变类型和细胞收集时间常常会告诉我们,细胞是在哪个时相受到辐照的。例如,染色体畸变类型(无着丝点片

段,环,双着丝点)说明是在 G_1 期受到损伤;反之,染色单体类型畸变(染色单体断裂,裂隙,中间缺失等)是在S期和 G_2 期受到损伤。一旦辐照停止,通常不再有新的损伤产生;所谓延滞效应是罕见的。另一方面,化学染色体断裂剂的情况就不同了。许多药物引起DNA损伤,即交联,可是不立即引起染色体断裂。在细胞进入S期时常常出现断裂。染色体断裂剂的细胞遗传学分析有赖于中期染色体畸变的记录。在这种情况下,在 G_1 期受到药物处理的细胞,不会表现出 G_1 型的畸变,而是表现S或 G_2 型的畸变。所以,化学染色体断裂剂和辐射造成的情况很不相同。况且化学物质普遍还有持久效应,可能由于化学物质通过这一或另一途径继续与细胞DNA发生反应,从而在以后的细胞世代里继续造成新的损伤(Hsu等1975)。

辐射引起的和化学物质引起的染色体畸变之间的另一主要区别是,许多药物引起的断裂是非随机分布的。BUdR掺入会在中国仓鼠染色体上造成几个高度专一的断裂点(Hsu和Somers 1961),羟胺造成另外一组固定位置上的损伤(Somers和Hsu 1962)。丝裂霉素C是在结构异染色质区优先诱发断裂的著名药物(Cohen和Shaw 1964; Hoehn和Martin 1973; Hsu 1975)。放线菌素D优先诱发核仁组织者区的损伤(Pathak等1975)。也许所有烷化剂都能够诱发某种程度非随机分布的染色体断裂,可是尚无详尽的资料。

提早凝缩的染色体(PCC)

自从Johnson和Rao(1970)发现间期细胞与有丝分裂细胞融合会导致前者的染色体提早凝缩(PCC)以来,这一现象已用来研究由辐射(Waldren和Johnson 1974; Hittelman和Rao 1974a)和化学诱变剂(Hittelman和Rao 1974b)诱发的染色体损伤。上面已提到,一定要受损伤的细胞进入可用显微镜观察的 M_1 或 M_2 ,才能确定细胞遗传学损伤。损伤严重的细胞也许到不了 M_1 ;而进入 M_1 的细胞,其

损伤或许已被修复。在药物处理过的细胞里，不能用检查中期相来确切断定，因为有些药物不会在G₁期引起损伤，而其它的药物则可。

因此，PCC提供了观察间期染色体的手段。Hittelman和Rao(1974c)指出，博莱霉素会引起G₁期染色体的断裂，而绝大多数药物要到S期以后。PCC方法也提供了一个分析修复潜力的方法(Hittelman和Rao 1974c; Sognier等1979)。遗憾的是这一非常有用的工具至今还没有被大多数细胞遗传学家所利用，而在今后的药物效应研究中，PCC技术会给遗传毒理学领域带来更恰当的信息。

姐妹染色单体互换(SCE)

显现SCE的方法(Latt 1973)已成为研究诱变剂效应的又一新工具。检测诱变剂的SCE系统比计算染色体畸变的经典系统有几个好处，即记录SCE不需多作解释，因此更适合技术员的常规工作。另一个好处是，在多数情况下，诱发SCE所需的药物浓度低于诱发染色体断裂。另一方面，SCE系统也有一些短处。这种实验需要EUDR掺入两个细胞周期；当供试化合物延长细胞周期时间时，为了要得到一个SCE清晰的样本必须多次取样。而且SCE的机制至今还不清楚。诱发SCE的机制也许与诱发染色体断裂的不一样。会诱发很高的染色体断裂频率的一些因子，如X线和博莱霉素，并不会显著增加SCE。因此，在SCE能用作环境中诱变剂的常规试验方法之前，在这研究领域还有许多工作要做。

耐药性

几个耐药性例子提供了哺乳动物系统中基因扩增的有力证据(Alt等1978)。Biedler等(1976)发现，抗甲氨喋呤的细胞在G带制片里，有一些均匀着色(HSR)的染色体长片段。HSR是否确实代表了扩增的基因(在这个抗甲氨喋呤的例子里，是决定双氢叶酸还原酶的基因)至今还未证实，但极有可能是这样。

讨论

关于化学染色体断裂剂的研究，已导致对

染色体断裂的经典概念的修正。在研究化学诱变剂之前，外界因子对染色体影响的细胞学资料，主要来自电离辐射的实验。总的结论是：沿染色体纵长所诱发的断裂的分布是随机的。这个结论导出一个重要概念，即恰恰在同一个位点上发生染色体断裂的机率是极小的。因为许多染色体畸变(也就是倒位、易位、中间缺失等)分别需要两次断裂，恰恰在同一断点上出现同样畸变的机率是如此之少，以致实际上可忽略不计。生物学家利用这个概念去追溯个体间、群体间、族间与种间的关系。因为不会重复发生同样的倒位或易位，它们必定来自一个原始的畸变。所以两个个体不管它们现在处于何处，如果它们具有相同的倒位或易位就被认为是有亲缘关系的。同样，在离体细胞群体的核型分析中，标记染色体(有可明显区分的形态和显带图型的异常染色体)已被认为是株系的特征。例如几个研究者在HeLa系里已辨认出四至六个标记染色体(Nelson-Rees等1975; Lavappa等1976; Heneen 1976)。任何细胞株只要出现HeLa标记染色体，就认为是被HeLa细胞污染了，因为按照经典的概念，完全一样的染色体重排是不会重现的。这条途径多半是正确的，可是从肿瘤染色体和药物诱发染色体损伤的最新资料来看，必须要作些调整。

细胞遗传学家分析了几种类型的人体肿瘤，每种有许多个病例。记载最多的是慢性粒细胞白血病。绝大多数病例特有的异常是有著名的费城染色体——22号染色体的长臂易位到9号染色体长臂的端部(Rowley 1973)。因为所有的病例都是独立的，这个特有的重排必定已经发生了几百次，甚至几千次。在巴基斯坦淋巴瘤(Manolov和Manolova 1972)，成视网膜细胞瘤(Orye等1974)和其它一些肿瘤，也同样发现有特异的染色体异常。因此，非随机的畸变能够重现、并且已经重现了不止一次，而是无数次。

异染色质区里的非随机的染色体断裂应该

特别常见,因为我们已经知道,有些化学因子例如丝裂霉素C,主要在染色体的这些区段里引起损伤。于是,当细胞在异染色质区受到多次断裂时,就能容易地而且重复地再次发生非随机易位。在鼠和人的核型里,结构异染色质位于近着丝粒区域。在这些区域中发生断裂,会造成着丝粒融合和整条臂易位,而其中有些也许会涉及一些相同的片段。在HeLa系里,1号标记染色体是1号染色体长臂和3号染色体长臂之间整条臂易位的产物。可以想像,对异染色质有亲和性的化学物质会诱发这种易位。因此,发现有HeLa 1号标记染色体的细胞系,不一定说明有HeLa污染。实际上,

Pathak等(1979)在乳癌患者的胸膜渗出物里发现了这种染色体。细胞学制片是直接由渗出液制成的,没有经细胞培养。因此,寻找类似的标记染色体以鉴定细胞株的污染,尽管是高度精确的,但也不是绝对保险的。另一方面,由于能重现畸变而宣称所有细胞株是真的同源系,也是错误的。许多实验室里,细胞株污染蔓延,标记染色体仍是排除对细胞群体怀疑的极其有用的指标,除非其它一些事实指出是相反的。

在人群中已发现有許多先天性遗传病与DNA修复系统的缺陷有关。这些综合症显然代表了不同的生化缺陷和它们的细胞学表现。下表扼要地列举这些疾病的细胞遗传学观察:

综 合 症	敏 感 于	诱发明显的染色体损伤的因子
AT (毛细血管扩张性运动失调) FA (Faconi贫血症) XP (着色性干皮病) Bloom's 综合症	电离辐射 交联剂 紫外线 无结论	X 线 丝裂霉素 C 紫外线

San等(1977)研究XP患者的染色体损伤诱发和修复缺陷之间的相关。他们分析了NQO和N-乙酰-2AAF有不同的DNA修复缺陷的四个XP患者的成纤维细胞培养物。由这2个因子诱发的染色体损伤的数量,随着这4个细胞株修复能力的降低而增加,另一方面。已经知道XP细胞完全能够修复由亚硝基胍(MNNG)这类烷化剂诱发的DNA损伤。这些研究者发现, MNNG诱发XP细胞和正常人体细胞的染色体断裂并无显著差异。由此可见,染色体断裂与DNA修复机制缺陷是很好对应的。

有趣的是在修复缺陷综合症中间,只有Bloom's综合症患者的自发SCE频率增高(Chaganti等1974; Latt等1975; Bartram等1976)。在XP患者中,他们对U.V诱发损伤的修复缺陷反映在提高SCE的诱发率上(Schonwald和Passarge 1977)。另一有趣的是发现用一些认为没有正常效用的因子,如

MMS、MNNG, 处理XP细胞,也增加了SCE频率(Cleaver 1977; Wolff等1977)。所以,对DNA修复缺陷、染色体损伤和SCE,还有很多东西有待研究。

由于各种化学因子的作用模式不一样,药物的遗传学毒性分析还仅仅在童年期阶段。细胞遗传学家必须善于把生物化学家、分子生物学家和药物学家们取得的信息,用于他们自己对染色体断裂剂和有丝分裂毒素的研究中,这些研究反过来也会给生物化学家提供一些信息。预计将有更多恰当的信息、包括基础和应用的,特别是有关有丝分裂毒素和其它细胞遗传学毒性方面的信息问世。

"Drug Effects on the Cell Nucleus"中的一章. H. Busch ed., Academic Press.

(李昌本译 赵寿元校)