

人类外周血淋巴细胞中“自发”和诱发的 SCE 频数分布的比较

杜荣骞 刘丽慧^①

(南开大学生物系, 天津 300071)

“自发”SCE 频数在细胞间的分布, 服从 Poisson 分布; 而以 CSC 诱发的 SCE 频数则服从正态分布。分布类型的改变, 可能是由于平均数的增加所致。平均数的增加, 以 A 组和 C 组染色体为甚。

关键词 姐妹染色单体交换(SCE), SCE 频数, Poisson 分布, 正态分布

The Comparison of Spontaneous and Induced SCE Frequency Distribution in Human Peripheral Blood Lymphocytes

Du Rongqian Liu Lihui^①

(Department of Biology, Nankai University, Tianjin 300071)

姐妹染色单体交换 (SCE), 因为涉及了 DNA 的断裂和重组^[6,7,9], 便为 DNA 交换的细胞学检测提供了极大的方便。在世界范围内, SCE 已被广泛地作为一种快速检测环境诱变物和致癌物的方法, 并用于肿瘤病因学的基础研究^[4,5,10,13,14]。但是, 尽管 SCE 做为一种检测手段的应用已相当普遍, 但对于 SCE 的一些基础研究尚嫌不足。

Байрамян 曾观察 SCE 数在人体外周血淋巴细胞间的分布, 发现实测值和按 Poisson 分布的概率函数所计算出来的理论值吻合良好 ($0.75 > P > 0.5$)。这与 Smith 用放射自显影记录的 SCE 结果类似^[1]。Morgan 和 Crossen 的分析结果也表明, SCE 数在细胞间的分布不是正态的, 而是正偏态的^[8,11,12]。Vercauteren 1984 年的工作也得到了相同的结论^[15]。

本文对人体外周血淋巴细胞 SCE 频数的分布规律做了探讨。其中包括不加任何诱变物的“自发”SCE 频数和加入香烟烟雾凝结物 (CSC) 诱发的 SCE 频数。希望这些结果能为积累 SCE 的知识, 为今后更有效地将 SCE 作为一种检测手段提供一些资料。

材料和方法

(一) 血液来源

无吸烟史的健康女性的新鲜血液。

^①现工作单位: 天津市中心妇产科医院遗传室, 天津 300052。Present address: Laboratory of Genetics, Tianjin Centre Maternity Hospital, Tianjin 300052.

(二) CSC 的收集

以自制的香烟烟雾凝结器,在液氮低温区,收集 3 支香烟燃烧后的凝结物,融化后用二甲基亚砜溶解,制成原液。吸取 1 ml 原液+4ml 双蒸水制成稀释液。

(三) 细胞培养及分染

按外周血细胞培养的常规方法培养、制片。其中 BrdU 终浓度为 $12\mu\text{g}/\text{ml}$ 。诱变处理的 CSC 稀释液于收获前 24 小时加入,终浓度为 $5\mu\text{g}/\text{ml}$ 。分染采用 VPG 法⁽²⁾。

(四) SCE 计数

只考察经历了两个分裂周期,染色体数目完整且分染鲜明的分裂相进行计数。分别记录各染色体组的交换次数。每个细胞的 SCE 总数称为 SCE 数。以不同分布类型的概率函数或密度函数拟合以上数据,经 χ^2 检验,判断 SCE 数的频数分布规律。

结果与讨论

(一) “自发”SCE 数和诱发 SCE 数

本实验观察了未加诱变剂的 100 个细胞和加入 CSC 的 120 个细胞的 SCE 数,结果如表 1。

表 1 “自发”SCE 数和诱发 SCE 数

单个细胞内 SCE 数	具有此种交换数的细胞个数	
	“自发”	诱发
1	0	0
2	0	0
3	4	1
4	3	3
5	3	2
6	14	6
7	8	5
8	10	6
9	12	10
10	14	15
11	5	11
12	7	14
13	8	6
14	6	7
15	3	7
16	2	8
17	0	3
18	0	2
19	1	5
20	0	4
21	0	1
22	0	2
23	0	0
24	0	2
细胞总数	100	120
SCE 总数	930	1457

(二) “自发”SCE 数在细胞间的分布

由表 1 可以看出,未加诱变剂的 100 个细胞的“自发”SCE 数为 930 次。由此,每个中期细胞 SCE 数平均值 $\mu=9.3$ 次。根据 Poisson 分布的概率函数⁽³⁾ $p(x) = \frac{\mu^x}{x!} e^{-\mu}$ 计算出 $p(x)$ 及相应的理论频数,其结果列在表 2 中。理论值与观察值吻合度 χ^2 检验结果, $\chi^2=12.988$, $P>0.05$ 。所以“自发”SCE 数在细胞间的分布属 Poisson 分布。

(三) 诱发 SCE 数在细胞间的分布

本实验考察了加入 CSC 的 120 个细胞共 1457 次交换(表 1)。每个细胞 SCE 数的平均数 $\mu=12.124$ 次。根据 Poisson 分布的概率函数计算出 $p(x)$ 及相应的频数,其结果列在表 3 中的第 2 列。同时根据正态分布的密度函数⁽³⁾ $f(x) = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} e^{-\frac{(x-\mu)^2}{2\sigma^2}}$ 计算 SCE 数的理论值,列在表 3 的第 3 列。其中 $\mu=12.124$, $\sigma^2=20.241$ 。

将以上根据 Poisson 分布概率函数所计算出的理论值和根据正态分布密度函数所计算出的理论值,分别与实际观察值做 χ^2 吻合度检验。

得 $\chi^2_{\text{Poisson}}=24.663$, $P<0.05$ 和 $\chi^2_{\text{正态}}=9.651$, $P>0.05$ 。由此可见,经诱发后的 SCE 数在细胞间的分布已不再服从 Poisson 分布而服从正态分布了。

由以上结果可以看出,在细胞培养中加入诱变剂,不仅改变了 SCE 数,而且也改变了 SCE 数在细胞间的分布。我们知道, Poisson 分布有一特点,即 Poisson 分布的平均数 μ 与其方差 σ^2 等值。经计算,未诱变的每一细胞 SCE 平均数的 0.95 置信区间为 8.645—9.955。方差的 0.95 置信区间为 8.984—14.368。两个置信区间绝大部分是重叠的。所以总体平均数 μ 与方差 σ^2 有很大的可能性是相等的,该样本很可能是抽自服从 Poisson 分布的总体。

表 2 “自发”SCE 数在细胞间的分布

单个细胞内的 SCE 数	具有此种交换数的细胞个数		$\frac{(O_i - T_i)^2}{T_i}$
	理论值 T_i	观察值 O_i	
<4	4.565	7	1.299
5	5.300	3	0.988
6	8.215	14	4.078
7	10.915	8	0.778
8	12.688	10	0.569
9	13.111	12	0.094
10	12.193	14	0.268
11	10.309	5	2.734
12	7.990	7	0.123
13	5.716	8	0.913
>14	8.997	12	1.002
总和	99.999	100	12.846

表 3 诱发 SCE 数在细胞间的分布

单个细胞内的 SCE 数	用 Poisson 分布计算出的理论细胞数	用正态分布计算出的理论细胞数	实际观察到的细胞数
<6	5.080	12.528	12
7	4.938	5.538	5
8	7.495	6.965	6
9	10.111	8.338	10
10	12.278	9.501	15
11	13.552	10.303	11
12	13.713	10.636	14
13	12.808	10.449	6
14	11.108	9.771	7
15	8.991	8.697	7
16	6.823	7.367	8
17	4.874	5.940	3
>18	8.227	13.963	16
总数	119.988	119.996	120
χ^2	24.663	9.651	

另一方面,经诱导的每一细胞 SCE 平均数的 0.95 置信区间为 11.337—12.947,方差的 0.95 置信区间为 16.559—24.406,两者完全不重叠。所以诱导后的样本有很大的可能性不是抽自服从 Poisson 分布的总体。即诱导后 SCE 数的分布已不再服从 Poisson 分布。虽然不能说具 $\mu = \sigma^2$ 的分布一定是 Poisson 分布,但 $\mu \neq \sigma^2$ 的分布一定不是 Poisson 分布,这一点是肯定无疑的。该结果也可以从另一侧面证实上面的推断。

(四) 各染色体组对诱发 SCE 的敏感性

表 4 列出了每个细胞和每一染色体组“自发”和诱发 SCE 数的平均数,并做了“自发”和诱发的平均数间差异显著性的检验。检验表明:就整个细胞而言,由 CSC 所诱发的 SCE 数目明显高于“自发”SCE 数目。这很可能就是造成诱导后 SCE 的数目不再服从 Poisson 分布而服从正态分布的原因。根据 Poisson 分布的偏斜度 $\gamma_1 = \frac{1}{\sqrt{\mu}}$ 和峭度 $\gamma_2 = \frac{1}{\mu}$ 可见,随着平均数 μ 的增加,偏斜度和峭度愈来愈接近正态分布的数字特征: $\gamma_1 = 0$ 和 $\gamma_2 = 0$ 。经计算,诱导后的偏斜度 $\hat{\gamma}_1 = 0.287$, 峭度 $\hat{\gamma}_2 = 0.082$, 虽然还略有些正偏,但与正态的 0 已经很接近了。

表 4 “自发”和诱发 SCE 平均数的比较

染色体组	A	B	C+X	D	E	F	G	整个细胞
“自发”(n=100)	2.600	1.730	4.260	0.940	0.550	0.170	0.050	9.300
诱发(n=120)	3.500	2.030	4.400	1.150	0.680	0.280	0.090	12.142
t	3.589**	1.598	4.379**	1.623	1.205	1.844	1.223	6.446**

** $\alpha=0.01$.

对于染色体组来说,虽然从数据表面看 SCE 数都有不同程度的增加,但只有 A 组和 C 组的增加才有显著意义。根据 Poisson 分布的数字特征 γ_1 和 γ_2 , 诱导后 SCE 数分布类型的改变,很可能是由 A 组和 C 组造成的。

总之,在进行与 SCE 有关的研究中,除应考虑 SCE 平均数之外,还应考虑频数分布特征。例如,根据以上分析,在对“自发”SCE 数进行方差分析时,为了消除 μ 和 σ^2 的等值性,应对 SCE 数做平方根变换。而经诱导的 SCE,由于已经服从正态分布,则不必再做任何变换。

参 考 文 献

- (1) 袁进华: 1981. 国外医学(遗传学分册), 4(2):57-62.
- (2) 王子淑: 1987. 人体及动物细胞遗传学实验技术, 四川大学出版社, 第160-161页.
- (3) 杜荣蓉: 1985. 生物统计学, 高等教育出版社, 第68-77页.
- (4) Abes, S.: 1977. *Proc. Jpn. Acad.*, 53:46-49.
- (5) Abes, S.: 1977. *J. Natl. Cancer Inst.*, 58:1635-1641.
- (6) Carrano, A.V. et al.: 1978. *Nature*, 271:551-553.
- (7) Carrano, A.V. et al.: 1979. *Mutat. Res.*, 63:1975-1977.
- (8) Crossen, P.E. et al.: 1977. *Hum. Genet.*, 35:345-352.
- (9) Latt, S.A. et al.: 1979. *Int. Rev. Cytol.*, 49:55-58.
- (10) Latt, S.A. et al.: 1974. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 71:3162-3166.
- (11) Morgan, W.F. and P.E. Crossen: 1977. *Mutat. Res.*, 42:305-312.
- (12) Morgan, W.F. and P.E. Crossen: 1981. *Mutat. Res.*, 81:395-402.
- (13) Perry, P. et al.: 1975. *Nature*, 258:121-125.
- (14) Popescu, N.C. et al.: 1977. *J. Natl. Cancer Inst.*, 59:289-293.
- (15) Vercauteren, P.: 1984. *Hum. Genet.*, 67:56-61.

本文于 1991 年 8 月 17 日收到。