

文章编号: 1007-4627(2008)03-0294-06

hprt 基因突变分析方法及其在辐射生物学中的应用*

何 晶^{1,2}, 李 强¹

(1 中国科学院近代物理研究所, 甘肃 兰州 730000;

2 中国科学院研究生院, 北京 100049)

摘 要: *hprt* 基因(次黄嘌呤鸟嘌呤磷酸核糖转移酶基因)由于其本身所具有的独特生物学特性, 逐渐成为基因突变机制和修复机制理想的研究靶点, *hprt* 基因突变分析法也逐渐成为很有价值并被广泛应用的生物剂量计。系统地综述了 *hprt* 基因的生物学特性、突变的检测方法学及其在辐射事故分析、放射治疗和宇航事业研究中的应用和进展。

关键词: *hprt* 基因; 突变分析; 辐射生物学

中图分类号: R730; Q691 **文献标识码:** A

1 引言

人体细胞在一些有害因素的作用下, 很可能出现一些高出正常水平的细胞遗传物质的变化, 即基因突变。这些基因突变往往就是导致人类许多疾病甚至肿瘤发生的原因。辐射作为一种广泛存在且十分重要的致突和致癌因素越来越受到人们的重视, 因此评价各类辐射对人体健康产生的影响并予以防护就成为研究的热点和重点。随着研究的深入和实验手段的进步, 辐射损伤研究已经不能仅仅停留在细胞水平上, 而更多的是要挖掘其分子机理。次黄嘌呤鸟嘌呤磷酸核糖转移酶(Hypoxanthine-guanine phosphoribosyl transferase, 简称 HPRT)基因(*hprt*)突变分析法就是一种广泛应用的定性和定量检测辐射致突的分子检测方法。作为一种很有价值的生物剂量计, *hprt* 突变分析法具有剂量效应关系好、灵敏度高、取样方便、结果便于比较等优点, 得到了不断发展^[1]。国内外对 *hprt* 基因作为突变机制和修复机制的研究靶点的报道不少, 已开始将 *hprt* 基因突变作为一种生物标记来对致突因素进行检测、评价和估计^[2]。本文结合 *hprt* 基因的生物学特性、突变检测方法学、分子突变谱等方面综述其在辐射致突研究中的应用。

2 *hprt* 基因的生物学特性

HPRT 是一种细胞膜酶, 是磷酸核糖化自由鸟嘌呤或次黄嘌呤的一种非必需酶, 由 2—4 个蛋白亚单位组成, 分子量为 24 470。该酶的缺失或活性降低都会引起核酸代谢异常, 导致出现一些遗传性疾病, 如 Lesch-Nyhan 综合症、布鲁姆综合症等^[3]。*hprt* 基因定位于 X 性染色体长臂末端 q^{26, 27} 区域。该基因在雄性动物体内为结构上的半合子; 而在雌性动物中则表现为细胞中一条 X 染色体失活, 为功能上的半合子。因此该基因如果发生突变就能在细胞表型上表现出来^[4]。*hprt* 包括大约 42 000 个碱基对, 其 mRNA 有 900 个碱基, 包括一个含 657 个碱基的蛋白质编码序列(从密码子 AUG 开始到密码子 UAA 结束), 基因有 9 个外显子和 8 个内含子, 已知外显子的核苷酸序列^[5]。

哺乳动物 *hprt* 基因(原核生物为 *gpt* 基因)编码产生 HPRT, 该酶的酶促反应是细胞体内嘌呤核苷酸生物合成的一条补救途径。嘌呤类似物(如 6-TG 等)能够掺入 DNA 中, 使细胞无法存活。但如果体内外致突变因子使 *hprt* 基因发生突变, 细胞在体外培养时就能抵抗 6-TG 的细胞毒性, 从而在含有 6-TG 的选择性培养液中能够存活。通过计算得到突变频率, 便可反映受试物的致突变性。*hprt*

* 收稿日期: 2007-07-03; 修改日期: 2007-07-30

* 基金项目: 中国科学院百人计划资助项目(O506120BR0); 国家高技术研究发展计划(863 计划)资助项目(2006AA02Z499)

作者简介: 何 晶(1983—), 女(汉族), 江西萍乡人, 硕士研究生, 从事辐射生物学研究; E-mail: nicehj@126.com

实验法就是根据这种原理建立起来的^[6]。细胞在体内外都能耐受 *hprt* 基因突变,且 *hprt* 基因对电离辐射敏感,故可作为研究电离辐射所致 DNA 损伤和对人体远后效应的靶基因^[7]。*hprt* 突变谱分析可以在分子水平上更加细微地反映基因结构变化,能够阐明辐射致突、致癌的分子机制和反映 DNA 损伤与修复情况。这些重要特性决定了 *hprt* 基因能够成为辐射损伤的指示基因,反映正常组织细胞的分子生物学变化。

3 *hprt* 基因突变的检测学方法

3.1 *hprt* 基因突变频率的检测方法^[8-11]

突变频率(mutation frequency, 简称 MF)是检测和评价辐射致突的重要指标。测定突变频率在细胞水平上即可进行,主要方法有以下4种,原理基本相同,只是采用不同实验手段和细胞表型变化来实现检测目的。

3.1.1 放射自显影法

1979年, Strauss 和 Albertini 首次提出,在突变的淋巴细胞 DNA 中掺入³H 标记的脱氧胸腺嘧啶核苷(³H-TdR),以丝裂源 PHA 刺激细胞分裂,短期培养后利用放射自显影法检测出突变细胞。此法虽然简单经济,但由于假表现型的出现导致突变频率偏高,未得到广泛应用。

3.1.2 5-溴脱氧尿嘧啶法

这种方法以 5-Brdurd 代替³H-TdR 掺入细胞 DNA 中,用荧光加吉姆萨染色法(FPG 法)检测出突变的细胞。此法目前已较少用。

3.1.3 多核细胞检测法

细胞松弛素 B 能使体外培养的突变细胞出现双核或多核的现象。此法简单、快速、灵敏,检出率比 5-Brdurd 法可高出 11—17 倍^[12],但所分析的细胞不能用于进一步的分子水平分析。

3.1.4 细胞克隆检测法

克隆法是将细胞培养在含嘌呤类似物的培养基中,从而对抗性细胞进行阳性筛选。此法最大的优点就是可以进一步对筛选出的阳性克隆进行基因型分析,进而得到 *hprt* 基因的突变谱。其缺点是周期长(14—21 d)、操作要求和技术要求高,且影响克隆形成的因素多等。克隆检测法目前已广泛应用于化学、物理、生物等因素诱导的外周血淋巴细胞、WI-L2_NS 细胞系、TK6 细胞系和中国仓鼠 V79

细胞等的 *hprt* 基因突变研究。

通常对非融合细胞的 6-TG 筛选结果为 10^5 个细胞中可筛出几个到几十个 *hprt* 突变株,而 Taucchi 等^[13]在克隆筛选基础上发展了一种超敏感突变检测系统,可从照射后种入玻璃皿中的同样细胞量中筛选出成百上千的 *hprt* 突变株,大大提高了检出效率。其原理是:将含有 *hprt* 筛选活性的人类 X 染色体融合入仓鼠细胞,与含有无 *hprt* 筛选活性的仓鼠 X 染色体进行配对后组成新细胞系,辐照后进行 6-TG 筛选。一些辐照后人类 X 染色体 *hprt* 基因大片段缺失原本会致死细胞,由于仓鼠 X 染色体的互补作用变为能够存活并生成克隆。这样,不仅能检测出传统方法能检测到的 *hprt* 基因突变株,而且对 *hprt* 基因大片段损伤的细胞也能检出,从而提高了筛选效率。这种超敏感检测系统仍处于研究阶段,目前还未得到广泛应用。

本实验室利用细胞克隆检测法研究了¹²C⁶⁺离子(LET 为 30 keV/ μ m)和 X 射线(LET 为 0.2 keV/ μ m)辐照人类肝细胞系 L02 细胞诱发 *hprt* 基因突变与剂量的效应关系^[14]。结果显示,相对于 X 射线,L02 细胞对高 LET 的重离子辐射更敏感。无论是¹²C⁶⁺离子束还是 X 射线辐照,随着剂量增大,每 10^6 个存活细胞中的突变克隆数 S_m 是逐渐增加的。剂量相同时,¹²C⁶⁺离子束辐照后明显大于 X 射线的突变克隆数 S_m 和突变频率 MF 值。这些为正确评价重离子对人体正常组织细胞的辐射风险及危害提供了基础数据和依据。

3.2 *hprt* 基因突变谱分析方法

3.2.1 早期方法

早期的 *hprt* 基因突变谱分析方法主要有 Southern 印迹杂交、单链构象多态性分析(SSCP)、变性梯度凝胶电泳(Denaturing gradient gel electrophoresis, 简称 DGGE)、恒定变性凝胶电泳(Constant denaturant gel electrophoresis, 简称 CDGE)和荧光原位杂交(Fluorescence in situ hybridization, 简称 FISH)等。由于这些方法操作麻烦、对突变检测的位置不确定和检测效率低等原因而限制了其在 *hprt* 基因突变分析领域的应用。

3.2.2 PCR 分析法

PCR 技术出现后,逐渐发展成为 *hprt* 基因突变分析最简便、快速、有效的方法,得到广泛应用。

3.2.2.1 多重 PCR

根据 *hprt* 基因组 9 个外显子的结构及顺序, 设计合成 8 对 *hprt* 基因外显子寡核苷酸引物(基因组外显子 7 和 8 间隔较近, 可合用一对引物)进行 PCR 扩增, 可以从细胞中同时扩增到 *hprt* 基因的全部 9 个外显子 DNA 片段, 并可利用琼脂糖凝胶电泳将其分开。根据 PCR 从突变细胞中扩增的 *hprt* 基因外显子结果, 可将基因突变分为完全缺失、部分缺失和点突变。该方法对缺失突变的分析效率较高, 但难以检测到点突变的类型。若要得到点突变的详细情况, 则还需对 PCR 产物再进行测序。国内外都有不少使用该方法进行突变谱研究的事例。赵艳华等^[15]利用该方法研究了⁶⁰Co γ 射线所致 HeLa MR 细胞 *hprt* 基因的突变情况, 结果显示该法能够较好地反映外显子缺失突变的情况(77.8%)。Masao Suzuki 等^[16]利用该法研究了 Ne 离子照射对人体胚胎纤维原样细胞(HE20 细胞)中 *hprt* 基因的影响, 发现不同 LET Ne 离子辐照后的突变株中, 10%—55% 发生了部分缺失突变, 30%—75% 发生了完全缺失突变。

本实验室利用细胞克隆法对 ¹²C⁶⁺ 离子辐照的人类肝细胞系 L02 细胞进行突变频率检测后, 随机选取了一些突变克隆进一步培养, 提取突变克隆株的 DNA 后, 用多重 PCR 法对各个外显子的突变情况进行了研究。结果表明, 不同剂量照射后扩增出的 *hprt* 基因的 9 个外显子发生的全缺失、部分缺失和点突变在琼脂糖电泳后能够明显地区分开来, 且重复性较好。不同剂量 ¹²C⁶⁺ 离子照射后的 *hprt* 基因突变株中, 部分缺失突变最多, 占 67% 以上。随着剂量增加, 完全缺失突变发生率呈增大趋势。目前, 多重 PCR 法仍是广泛应用的一种方法。

3.2.2.2 逆转录 PCR (reverse-transcription PCR, 简称 RT-PCR)

hprt 基因编码区长度仅 900 bp 左右, 故对于逆转录产物 cDNA, 用一对引物即可扩增出 *hprt* 的全部编码区, 再进行测序, 就可了解编码区各种类型的突变。然而有时会发生这样的情况, 即外显子两侧剪接部位发生了突变, 这样 hnRNA(不均一核 RNA)则会进行错误剪接, 使 mRNA 异常。所引起的阅读框架改变可出现错义密码或无义密码, 尤其当出现无义密码子时, 情况更加复杂。这种情况下用 RT-PCR 进行检测时会出现 mRNA 含量降

低, 琼脂糖凝胶电泳中出现多个长度不等的产物。有关其机制的假说不少, 但目前还不能圆满解释这一现象^[17]。因此一般研究时都先用多重 PCR, 再用 RT-PCR 分析。如果多重 PCR 结果中出现无扩增产物或产物长度变化的情况, 则说明外显子两侧剪接部位发生突变, 需要再对出现问题的特定外显子基因组 DNA 进行测序, 以了解有问题的外显子两侧剪接区域的突变情况^[18]。另外, 还可以采用相反的方法顺序: 将突变株的 *hprt* mRNA 反转录为 cDNA 并扩增, RT-PCR 后再进行嵌套 PCR(RT-PCR-PCR), 将此扩增的 cDNA 进行测序^[19]。

3.2.3 与 PCR 联用的技术

根据不同情况, 可与 PCR 技术联用的技术很多, 主要有 DNA 直接测序法、单链构象多态分析法、限制性片段长度多态分析法等^[20, 21]。另外, Williams 等^[22]为获得更多潜在的缺失和移位突变机制信息, 发展了一种利用反向 PCR(inverse PCR, 简称 IPCR)对 *hprt* 突变的 DNA 断裂点扩增和测序的方法。IPCR 的过程包括限制性内切酶作用下的 DNA 降解, 酶切片段的环化和反向沿环 PCR 扩增。这种方法可用于对重组和大片段缺失的 *hprt* 突变基因的测序。

4 *hprt* 基因突变分析在辐射生物学领域中的应用

正常细胞 *hprt* 基因的自然突变频率是非常低的, 只有百万分之几, 肿瘤细胞的 *hprt* 基因突变频率相对高一些, 而经过 X 射线、 γ 射线和其它射线辐照过后的肿瘤细胞和正常细胞 *hprt* 基因突变频率可达到在 10^6 个细胞中有几十个到上百个突变株^[23—26]。这使得 *hprt* 基因成为良好的辐射效应的生物标记。

4.1 在辐射事故分析中的应用^[27]

对事故性受照者进行患癌风险与远后效应评价具有十分重要的意义。*hprt* 基因作为研究电离辐射效应理想的靶基因, 其突变频率(MF)能粗略反映人体的辐射暴露量, 进一步的分子生物学检测能更精细地反映辐射对 DNA 的作用情况。而且突变能在体内长期存留, 故可为判断事故病人的辐射损伤程度和评价远后效应提供有价值的信息。邢瑞云等^[28]对上海“6.25”辐射事故后 3.5—5 a 5 例放射

病人进行了外周血淋巴细胞 *hprt* 基因 MF 的测定。结果显示, 人体受 γ 射线照射后 *hprt* 基因的 MF 比正常对照明显升高, 且升高程度与受照剂量有一定关系。Hakoda 等^[29]报道在日本原子弹爆炸 40 a 后, 30 名幸存者(受照剂量大于 0.01 Gy)的 *hprt* 基因 MF 仍明显高于对照。da Cruz 等^[30]用克隆、RT-PCR 和 DNA 测序法研究了 1987 年 Goiania 事故中受 ^{137}Cs 辐射的 10 名受照者, 在照后 3.4 a 的外周血淋巴细胞样品中错义突变最多。

4.2 在放射治疗研究中的应用

hprt 基因突变分析在放疗研究中的应用主要是肿瘤治疗的效果评价、风险评估等。王利利等^[31]采用多核细胞法研究肿瘤患者及其接受放疗后外周血淋巴细胞 *hprt* 基因位点的突变频率, 并与正常人群进行了对比。结果表明, 肿瘤患者的外周血淋巴细胞 *hprt* 基因突变频率均较正常对照组的高, 接受放疗的肿瘤患者外周血淋巴细胞 *hprt* 基因突变频率较放疗前显著升高。朱少平等^[32]研究了普通放疗对患者外周血淋巴细胞 *hprt* 基因突变的剂量效应关系, 并与染色体畸变的剂量效应进行了比较。结果表明, *hprt* 基因突变率在照射后显著增加, 并随剂量累积而增加; 染色体畸变率在照射 10 Gy 后也显著增高。染色体畸变类型以断片为主, 并出现了双着丝粒体、环状染色体和微小体等畸变类型。这表明局部放射治疗对患者造成了明显的遗传损害, 且与放射剂量有明显相关性。国外 Messing 等^[33]用克隆法对 12 名接受放疗的乳腺癌病人进行了检测。结果发现, 治疗后 *hprt* 基因平均突变频率显著上升。虽然 *hprt* 基因的突变频率受很多个体因素影响, 如年龄、性别、吸烟史等^[34], 但这些因素都是可以通过统计数据进行排除, 并且针对个体的研究不受这些因素影响, 所以可为放疗效果评价和风险评估提供有意义的数据。

近年来, 重离子束治癌作为一门新兴的放疗技术, 因其独特的倒转剂量分布, 对健康组织损伤最小, 对肿瘤疗效最佳, 可以准确进行适形照射, 精确控制和严格监测照射剂量, 成为迄今为止最理想的放射疗法^[35, 36]。除了可进行重离子治疗效果评价和风险评估外, *hprt* 基因突变分析法也有助于研究重离子束与细胞 DNA 的相互作用及分子机理的研究。这项研究不仅能对基础研究提供依据, 而且

可以对重离子治癌的应用研究提供参考。Tsuboi 等^[37]分析了不同 LET 的 ^{56}Fe 重离子辐射诱导的人皮肤纤维原细胞 *hprt* 基因突变情况。研究发现, 高 LET 的重离子束导致细胞致死和基因突变的几率大大高于低 LET 的重离子束, 并且高 LET 时 *hprt* 基因突变为多片段或多位点缺失突变。这说明基因突变的程度与 LET 值的大小有直接关系。Stoll 等^[26]对加速 O 离子和 Ne 离子辐照后中国仓鼠 V79 细胞的致死和 *hprt* 基因突变情况进行的研究发现, 突变频率和致死效应随着照射剂量的增加而增加, 并且无论 LET 值高或低, 诱导突变的 RBE 值都比诱导致死的 RBE 值要高。Wu 等^[38]建立了一个能显示辐射诱导的 *hprt* 缺失突变大小的生物物理学模型。该模型提示, 在 *hprt* 位点到着丝粒方向上, 距离 *hprt* 位点 2—3 Mb 处可能存在一个能够决定不同性质辐射产生特异完全缺失图谱的重要基因。他们还得到结论, 辐射诱导的 *hprt* 基因完全缺失突变和内交换染色体异常的机制基本相同。目前重离子治疗中应用的离子主要是 C 离子, 但对治疗用 C 离子束与细胞 DNA 的相互作用及分子机理的研究报道所见较少。本实验室所进行的 *hprt* 突变频率分析^[14]和突变谱研究揭示, 相对 X 射线, $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子束诱发了辐照后存活 L02 细胞中更多的细胞突变。受照 L02 细胞 *hprt* 基因突变频率在低剂量(0—1 Gy)与剂量成正相关, 在高剂量(>1 Gy)则随剂量增大而减小; $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子辐照所导致的 *hprt* 基因突变更多的为缺失突变。本实验室所用 C 离子束的 LET(30 keV/ μm)恰处于重离子束治癌当中离子束贯穿健康组织通道到达肿瘤靶区前的所具有的 LET 范围之内。这一结果提示人们应在充分考虑重离子束对正常组织辐射风险的前提下合理地制订治疗计划, 使得重离子束治癌成为一种最有效且安全的放射治疗模式。

4.3 在宇航事业中的应用

随着人们对宇宙空间探测水平的提高, 载人进入太空进行考察、观测也会越来越多。宇宙空间中存在大量射线, 其中 85% 是质子辐射, 14% 是 α 离子辐射, 1% 是重离子辐射。空间宇宙辐射是仅次于微重力的环境危险因素^[39]。正确评价各种辐射对宇航员的伤害程度和宇航事业的发展有重要意义。

hprt 基因突变是一个很好的辐射损伤评价指

标。总地来说,空间高能质子照射所致的危险不会显著超过电子、 γ 射线的效应。而重离子的比例虽然比质子低得多,剂量也很小,但由于其原子序数大、能量高,电离能力强,尤其在 LET 高时沿粒子径迹会产生很大的能量沉积,从而造成生物细胞的破坏较严重。甚至一个重离子就能对细胞产生明显损伤^[39]。本实验室对于 L02 细胞受 C 离子辐照后的结果也显示重离子对正常组织细胞能够产生较大的损伤。所以研究重离子对人体组织和细胞的损伤作用及其机理就显得更为重要。但目前由于具有重离子实验条件的实验室不多,因此这方面研究还处在摸索阶段。Kiefer 等^[40]通过测定重离子辐照后中国仓鼠 V79 细胞 *hprt* 基因突变频率,对美国 ICRP 提出的太空重离子辐射损伤估计情况进行的评估认为,ICRP 对太空中 LET 高于 200 keV/ μm 的每一个重离子所带来的风险估计偏高,而对 LET 低于 10 keV/ μm 的每个重离子所带来的风险估计偏低。Yatagai 等^[41]试图通过 3 种不同 LET 的 C, Ne 和 Fe 离子辐照淋巴母细胞来研究太空环境中不同 LET 的重离子束辐照后 p53, p21 等蛋白变异与 *hprt* 基因突变的关系。结果并未得到 *hprt* 基因突变与 p53 蛋白变异有明显的效应关系,但提出了一个新课题,就是 *hprt* 基因突变对蛋白能产生怎样的影响,从而把分析基因水平提高到蛋白水平。

5 总结

目前, *hprt* 突变分析法的突变频率检测方法已趋于成熟,但在分子水平上还有很大的发展空间。各种新技术、新工艺的出现和应用都会为 *hprt* 突变分析法带来新的生机。*hprt* 位点作为体外研究的生物标记,由于细胞对 *hprt* 活性不必需,细胞表型容易识别,具有较高的突变频率等优点,已经越来越广泛的应用于辐射生物学和其他研究领域。随着人类细胞 *hprt* 基因结构与基因序列的测定完成,利用探针分析的方法也越来越成熟。然而还存在一些仍未解决的问题。例如:目前的克隆筛选实验还不能实现规范化;目前只研究了 *hprt* 基因外显子的突变,对内含子是否发生突变及其与外显子有何关系仍有待探讨;*hprt* 基因突变与 DNA 修复有何关系及如何研究这些关系仍不清楚;不同种类辐射对 *hprt* 基因的作用机制是否具有特异性尚待摸索。这些问题的解决都有待于进一步的实验和研究。

参考文献 (References):

- [1] Zhao Tao, Zhao Jingyong. *Ind Hlth & Occup Dis*, 2001, **27** (4): 238(in Chinese).
(赵涛, 赵经涌. 工业卫生与职业病, 2001, **27**(4): 238.)
- [2] Kim G, Oh T J, Yoon B S. *Biotechnology Letters*, 2000, **22**: 1 401.
- [3] Gregoric A, Rabelink G M, Vokac N K, *et al.* *Pediatr Nephrol*, 2005, **20**: 1 346.
- [4] Xue Lian, Zhou Jianhua. *Ind Hlth & Occup Dis*, 2003, **29** (2): 119(in Chinese).
(薛莲, 周建华. 工业卫生与职业病, 2003, **29**(2): 119.)
- [5] Wu Hongliang. *Foreign Medical Sciences (Section of Genetics)*, 1996, **19**(6): 285(in Chinese).
(邬洪梁. 国外医学遗传学分册, 1996, **19**(6): 285.)
- [6] Albertini R J. *Mutat Res*, 2001, **489**(1): 1.
- [7] Albertini R J, Nicklas J A, O'Neill J P, *et al.* *Annual Review of Genetics*, 1990, **24**: 305.
- [8] Wu Lirui. *Tianjin Medical University*, 2004, **10**(1): 146(in Chinese).
(武丽蕊. 天津医科大学学报, 2004, **10**(1): 146.)
- [9] Liu Shengxue. *Foreign Medical Sciences (Section of Hygiene)*, 2000, **27**(1): 51(in Chinese).
(刘胜学. 国外医学卫生学分册, 2000, **27**(1): 51.)
- [10] Xu Yongzhong. *Foreign Medical Sciences (Section of Radiation Medicine and Nuclear Medicine)*, 1997, **21**(3): 137(in Chinese).
(徐永忠. 国外医学放射医学核医学分册, 1997, **21**(3): 137.)
- [11] Cole J, Skopek T R. *Mutat Res*, 1994, **304**: 33.
- [12] Zhao Jingyong, Xu Yongzhong, Zhao Tao. *Chin J Environ Occup Med*, 2002, **19**(3): 190(in Chinese).
(赵经涌, 徐永忠, 赵涛. 环境与职业医学, 2002, **19**(3): 190.)
- [13] Tauchi H, Ichimasa M, Ichimasa Y, *et al.* *Fusion Science and Technology*, 2002, **41**: 413.
- [14] He Jing, Li Qiang, Li Ping. *Nuclear Techniques*, 2008, **31** (3): 188(in Chinese).
(何晶, 李强, 李萍. 核技术, 2008, **31**(3): 188.)
- [15] Zhao Y H, Xing R Y, Ma P, *et al.* *J Radiat Res Radiat Process*, 1998, **16**(1): 20.
- [16] Suzuki M, Tsuruoka C, Kanai T, *et al.* *Mutat Res*, 2006, **594**: 86.
- [17] Valeline C R. *Mutat Res*, 1998, **411**(2): 87.
- [18] Yu Y J, Xu Z, Gibbs R A, *et al.* *Environ Mol Mutagen*, 1992, **19**(4): 267.
- [19] Coryell V H, Stearns D M. *Mutat Res*, 2006, **45**(1): 60.
- [20] Mognato M, Graziani M, Celotti L. *Mutat Res*, 1999, **431**

- (2): 271.
- [21] Skopek T R, Glaab W E, Monroe J J, *et al.* *Mutat Res*, 1999, **430**(1): 13.
- [22] Williams M, Rainville I R, Nicklas J A, *et al.* *Environ Mol Mutagen*, 2002, **39**(1): 22.
- [23] Furunofukushil, Tatsumi K, Takahagl M, *et al.* *Int J Radiat Biol*, 1996, **70**(2): 209.
- [24] Roger C, Masson W K. *Int J Radiat Biol*, 1979, **36**(2): 149.
- [25] Wang H C, Xing R Y, Xia S X. *Chinese Biochemical Journal*, 1996, **12**(2): 131.
- [26] Stoll U, Schmidt A, Schneider E, *et al.* *Radiat Res*, 1995, **142**: 288.
- [27] Cui Fengmei, Zhao Jingyong. *China Public Health*, 2002, **18**(8): 1 018(in Chinese).
(崔凤梅, 赵经涌. *中国公共卫生*, 2002, **18**(8): 1 018.)
- [28] Xing Ruiyun, Zhao Yanhua, Xia Shouxuan, *et al.* *Bulletin of the Academy of Military Medical Sciences*, 1997, **21**(1): 1(in Chinese).
(邢瑞云, 赵艳华, 夏寿萱等. *军事医学科学院院刊*, 1997, **21**(1): 1.)
- [29] Hakoda M, Akiyama M, Kyoizumi S. *Mutat Res*, 1988, **201**: 39.
- [30] da Cruz A D, Glickman B W. *Environ-Mol-Mutagen*, 1997, **30**(4): 385.
- [31] Wang Lili, Zhou Juying, Cui Fengmei, *et al.* *Chin J Radiol Med Prot*, 2006, **24**(3): 204(in Chinese).
(王利利, 周菊英, 崔凤梅等. *中华放射医学与防护杂志*, 2006, **24**(3): 204.)
- [32] Zhu Shaoping. *China Medical Engineering*, 2006, **14**(3): 257 (in Chinese).
(朱少平. *中国医学工程*, 2006, **14**(3): 257.)
- [33] Messing K, Bradly W E C. *Mutat Res*, 1985, **152**: 107.
- [34] Curry J, Karnaoukhova L, Guenette G C. *Genetics*, 1999, **152**(3): 1 065.
- [35] Li Qiang. *Acta Laser Biology Sinica*, 2003, **2**(5): 386 (in Chinese).
(李强. *激光生物学报*, 2003, **2**(5): 386.)
- [36] Li Wenjian. *Nuclear Physics Review*, 2005, **22**(1): 39 (in Chinese).
(李文建. *原子核物理评论*, 2005, **22**(1): 39.)
- [37] Tsuboi K, Yang T C, Chen D J. *Radiat Res*, 1992, **129**: 171.
- [38] Wu H, Sachs R K, Yang T C. *Int J Radiat Biol*, 1998, **73**(2): 149.
- [39] Ye Changqing. *Chin J Radiol Med Prot*, 1999, **19**(2): 143(in Chinese).
(叶常青. *中华放射医学与防护杂志*, 1999, **19**(2): 143.)
- [40] Kiefer J, Schmidt P, Koch S. *Radiation Research*, 2001, **156**: 607.
- [41] Yatagai F, Furusawa Y, Saito M, *et al.* *Proceedings of 10th Annual Space Radiation Health Investigators Workshop*. New York: Brookhaven National Laboratory, 1999, 20.

Progress in *hprt* Mutation Assay and Its Application in Radiation Biology^{*}

HE Jing^{1, 2, 1)}, LI Qiang¹

(1 *Institute of Modern Physics, Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000, China;*

2 *Graduate School of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China*)

Abstract: *hprt* gene is an X-linked locus that has been well studied and widely used as a bio-marker in mutation detection. *hprt* mutation assay is a gene mutation test system in mammalian cells *in vitro* which has been used as a biological dosimeter. In this paper, the biological characteristics of *hprt* gene, *hprt* mutation detection methodology and the application of *hprt* mutation assay in radiation biology are comprehensively reviewed.

Key words: *hprt* gene; mutation detection; radiation biology

* Received date: 3 Jul. 2007; Revised date: 30 Jul. 2007

* Foundation item: Century Program of Chinese Academy of Sciences (O506120BR0); National High Technology Research and Development Program of China (863 Program)(2006AA02Z499)

1) E-mail: nicehj@126.com