

## 核分析技术在生命科学中的应用\*

李民乾

(中国科学院上海原子核研究所)

核物理学发展至今可以说已两极化,或者说呈现两个前沿。一个是高能核物理,基本粒子物理;另一个是核物理在其他领域内的重要应用,特别是在材料科学和生命科学中的应用。一些成熟的,先进的核物理方法在这些重要领域的前沿研究中正发挥着或将要发挥创造性的、革命性的作用。本文仅就若干新的核分析技术在生命科学领域内的典型应用作一点阐述。近十多年来发展起来的令人印象最深刻的核分析技术有三个方面:

1. 同步辐射 (SR) 的应用;
2. 离子束分析 (IBA) 技术;
3. 隧道电子显微术 (STM—Scanning Tunneling Microscopy) STM并非核物理方法,但由于其原理、方法学上的均与核物理有密切联系,应用领域亦相仿,这里也一并予以讨论了。其实在IBA核技术中也有原子物理的内容。

### 一、同步辐射(SR)的应用

同步辐射作为高能物理的副产品,在应用方面竟有惊人的重要性。关于SR想必会有专题报告予以详细阐述的。这里仅引用一些数字或典型应用来提示一下这一核分析技

术在生命科学中的应用具有何等的重要性。

1. 现今世界上各SR实验室都有 $\frac{1}{3}$ 至 $\frac{1}{2}$ 的时间是用于生物学、生化等生命科学的研究<sup>[1][2]</sup>;

2. SR的X吸收谱是研究原子配位的理想工具。固氮酶的化学结构就是应用了SR的EXAFS技术后才得以阐明的,搞清了Fe, Mo原子的配位结构,另外由于应用了强光源SR使之毫秒级以上的结构动力学研究成为可能;

3. SR的X衍射学使蛋白质分子三维结构的测定有了革命性的改进。测量时间由原先传统X光衍射法的几个月缩短至SR的几个小时,所需的样品量也大大减少,而且精度大大提高,使得建立蛋白质分子结构数据库的愿望可以实现;

4. 从远红外、真空紫外到软X射线甚至硬X射线各个波段上均有许多有价值的应用。例如应用软X射线显微术<sup>[3]</sup>可对成活状态的细菌孢子进行形貌及元素分布的分析测定,以研究杀菌剂的功能机理。这是传统的光学和电子显微镜无能为力的。这种在成活(含水份的)条件下对原始信息同时进行形貌及元素分布两方面的研究正是生物学家长期追求

\* 本文是第七届全国核物理会议特邀报告。

NS—26, No.2(1979)2379

2. 尹全民,何易,“SFC—SSC束流匹配系统的物理设计”,兰州重离子研究装置进展报告,第二卷(1983)43

3. P. Strehl, “Beam Diagnostic Device for A Wide Range of Currents”, Ninth International Conference on Cyclotron and Their Applications, p545

的目标。

我国开展SR应用研究的条件已趋成熟，应用研究的重大成果相信也是指日可待的。

## 二、离子束分析(IBA)的应用

离子束分析 (IBA—Ion Beam Analy-

sis)是典型的低能核物理应用，比之高能SR较具普遍性。涉及生命科学应用方面最令人瞩目的进展是核探针技术。具体是：

- 1.扫描质子微探针<sup>[4]</sup> (SPM—Scanning Proton Microprobe, 以质子为代表)；
- 2.扫描透射离子显微术<sup>[5]</sup> (STIM—Scanning Transmission Ion Microscopy)。

表1 SPM和STIM的性能

	空间分辨率	束流强度	元素测定灵敏度	浓度分辨率	质量厚度测定范围
SPM	1 $\mu$ m	100pA	IPPM	4nm	
STIM	0.3 $\mu$ m	10 <sup>-10</sup> —10 <sup>-15</sup> A	/	/	$\mu$ g—mg/cm <sup>2</sup>

目前已达到的指标如表1所列。在低能加速器、核探测及参量数据获取等核物理方法的基础上发展起来的扫描质子微探针特别适合于无损的微量元素的微区分析，多元素的定量成像及无损深度分布测定，这些都是传统电子微探针(SEM)和溅射离子显微镜(IMP)所难以解决的问题。在测量方法上可利用PIXE作无损定量的元素分析，这对生物样品特别适合，因为轻元素基体所致的本底极低；也可利用RBS，前向散射(forward scattering)，核反应及沟道反差(Channeling Contrast)等方法，后面一组方法还都能用于无损深度分布测定。

另一种重要的、尚鲜为人知的离子束分析是STIM，它可应用能量损失(Energy loss)或散射反差(scattering contrast)方法，它提供了一种非表面的，基于质量密度的成像技术。如此可提供新的信息，并特别有助于SPM分析中的定量化。另外，由于它可利用小得多的束流强度，因而可以获得更好的空间分辨率，因而STIM可获得更详细的形态结构信息。STIM也特别适合于生物、医学样品，因为基体是轻元素而且具有合适的质量厚度，对MeV级的离子穿透成像十分有利。

倘若将SPM和STIM技术结合起来研究生物样品，就不仅可得到形态结构的精细成

象而且同时可获得正确定量的元素浓度、微区分布的信息。更由于分析过程基本上是无损的，甚至还可在同一样本上再做生化实验。对生物(体系)样本提供了综合性的研究渠道。这对生命科学的基础研究无疑是十分重要的。下面就具体以作者最近几个月与墨尔本大学、上海细胞所合作开展的生物样品Amoeba的测定研究为例说明这些分析技术结合应用的可能性和潜力。

阿米巴(Amoeba)对一些生物学基础研究是一种理想的简单的生物体系。其中之一是探索某些特殊基因的表达与微量元素在细胞内的浓度之间的联系<sup>[6]</sup>。为此必需获知微量元素在细胞内的分布信息，最有效的方法可能就是SPM<sup>[7][8]</sup>。

图1是单个Amoeba的PIXE X能谱(3MeV, 质子)，显示其主要元素成分为P, S, Cl, K, Ca, Fe和Zn。

通过单个Amoeba细胞的SPM分析可获得一组元素分布图。图2显示了这一组中的一个，氯的元素分布图(深冷固化，临界点真空干燥样本)。我们还可测定细胞内各个特殊亚细胞微区内的元素组成和浓度。

图3是同样品的STIM二维成像(2MeV,  $\alpha$ 粒子, 0.3微米分辨率)，灰度代表了不同质量密度。可知STIM象指示了更精细的结构信息，可清晰地显示直径约6微米的小液泡(food

vacuole) 结构。能明确地对各个亚细胞区予以定位, 并有助于SPM的定量化。须知STIM实验是在SPM实验之后进行的, 显然STIM图象已证明了, SPM分析并没有损坏其内部结构, 即使细小的亚细胞器也仍然保持原来的形态。

SPM与STIM的结合可以真正获知定量的微量元素的亚细胞分布信息。初步结果显示在核区及一些内质颗粒区特别富含锌。提示了锌与细胞内某些生化过程的可能相关性。

SPM和STIM技术的最近进展<sup>[4][9]</sup>使得这些分析技术在生命科学中的应用更具吸引力和潜力。

### 三、扫描隧道显微技术(STM)

扫描隧道显微技术 (Scanning Tunneling Microscopy, 简称STM)是近几年发展起来的实验物理技术<sup>[10]</sup>, 其工作原理为量子隧道现象, 实验方法为多参量的数据获取和、图象显示, 与现代核物理实验技术一脉相承。通过探针对研究对象表面的近距扫描, 并将相应的隧道电流的变化记录下来, 可获得空间分辨率达原子水平的样品表面的三维结构及电子行为的信息。目前人们不仅在真空条件下, 而且可在常压、常温下, 甚至在电解液相中开展STM研究, 这就为STM在生命科学中的应用打下了基础, 并引起物理学家和生命科学家的浓厚兴趣。

1985年以来, STM在生命科学研究中的应用已有陆续发表。与众多超显微分析的生物物理技术(即电子显微术, X射线衍射等)相比, STM没有生物材料晶体化及高真空测试条件的需求, 而上述条件均不可避免地改变了生物材料的本身特征。在室温、常压下人们采用STM首次获得了病毒 $\phi$ -29表面垂直分辨率在1Å的有关三维信息<sup>[11]</sup>, 对

研究其感染机制十分有帮助。利用这一技术对DNA以及DNA—蛋白质复合体的表面形态的直接观察已成为可能<sup>[12]</sup>, 而且还获得了该类材料的局部化学组成及电子态的参数。对生物膜的STM分析, 也带来令人鼓舞的结果<sup>[13]</sup>, 人们甚至对粒子在膜间转移的细节进行研究。最近几个月, Arizona大学的物理学家更获得了在水溶液中DNA良好的STM成象<sup>[14]</sup>, 这是利用STM研究DNA结构的重大进展。

虽然STM在生命科学研究中的应用尚处初级阶段, 能看到其广泛应用前景潜在价值的已大有人在, 并引起国际学术界的高度重视。瑞士、西班牙等, 已组成物理所、分子生物所的联合科研集团, 倾注全力予以开展。上海原子核所与上海细胞所等也已明确拟合作开展这类应用研究并列入上海生命科学中心的研究内容之一。(这一工作也得到科学院生物学部的重视, 拟列入生物学八、五重点课题内容之一。)

上述的这些物理分析技术在生命科学前沿研究中的现实应用价值和潜在意义不仅为从事边缘学科研究的物理学家所察觉, 也引起国际上生命科学家们的高度重视, 在最近制定的“人类生命科学前沿研究计划”<sup>[15]</sup>中这些分析技术均被列为必须发展的重要支撑技术。这些先进的核分析技术在生命科学中的应用将对生命科学的前沿研究及应用研究作出重大贡献。

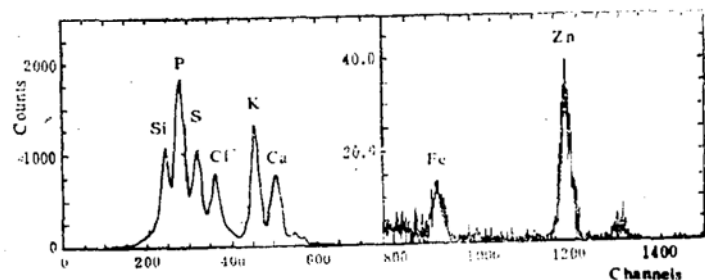


图1. 单个细胞的PIXE X能谱

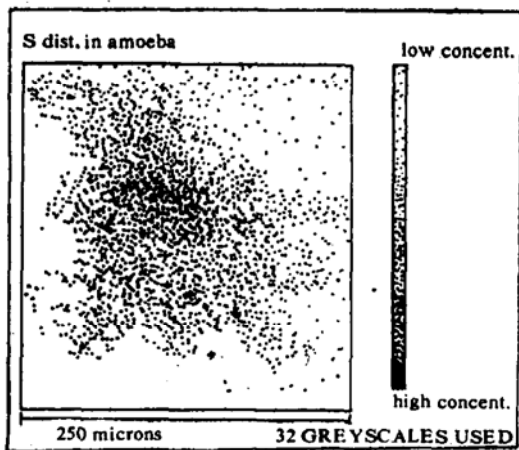


图2. 单个细胞 (Amoeba) 中硫的分布

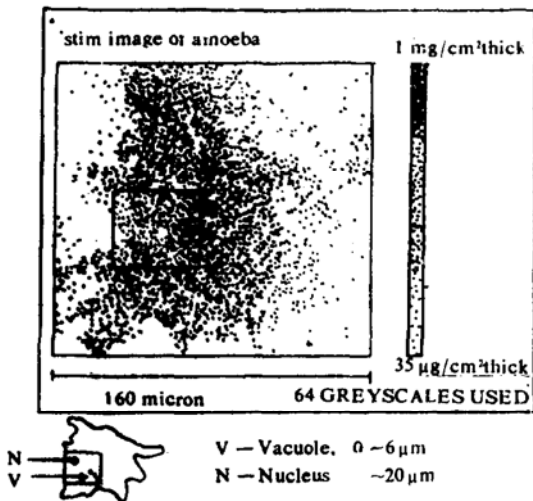


图3. 单个细胞 (Amoeba) 的STIM

### 参考文献

- (1) National Synchrotron Light Source Annual Report, 1986, BNL. UPTON, NY 1973
- (2) Photon Factory Activity Report,

1986, National Laboratory for High Energy Physics, KEK

- (3) B. J. Panessa-Warren, NSLS, Annual Report, 1986, P. 235
- (4) G. J. F. Legge et al., NIM in Physics Reseach, B30 (1988)252-259 Ultramicroscopy, 24(1988)283 .
- (5) R. M. Sealock et al., Ibid., B29 (1987)557-566
- (6) Ch. Ender, M. Q. Li, B. Martin et al., IEEE Trans. on Nucl. Sci., Vol. NS-30, NO.2, 1332 (1983)
- (7) H. D. Reiss, G. W. Grime, M. Q. Li, J. Takacs and F. Watt, Protoplasma, 126(1985)147
- (8) P. M. Oprien and G. J. F. Legge, Biological Trace Element Reseach, Vol. 13, 159(1987)
- (9) P. M. Opriem and G. J. F. Legge, NIM in Phys. Res. , B30, 312(1988).
- (10) G. Binnig et al., Phys. Rev. Lett., 49(1982)57
- (11) A. M. Baro et al., Nature, 315 (1985)253
- (12) G. Binnig et al., Bull. Am. Phys. Soc., 31(1986)217
- (13) A. Stemmer et al., Surface Science, 181(1987)394
- (14) S. M. Lindsay, 1988, 私人通讯 (待发表)
- (15) "人类生命科学前沿研究计划"(日本初稿, 欧洲国际会议修改稿1987)