

文章编号: 1007-4627(2001)01-0056-04

重离子注入生物和药物分子的质量沉积研究技术*

袁世斌, 卫增泉

(中国科学院近代物理研究所, 甘肃 兰州 730000)

摘要:介绍了我国在重离子束生物学这门新兴交叉学科领域已经取得的一系列领先成果, 首次提出了重离子束生物效应系能量沉积、质量沉积、电荷交换和动量传递四者综合作用的结果. 过去的研究已初步证实了重离子注入生物和药物小分子所引起的质量沉积过程, 并在此基础上开展了重离子注入生物和药物分子改性的研究. 将来可先应用稳定性和放射性重离子束注入生物和药物分子, 然后用X射线衍射、电子显微镜放射自显影和图像处理等技术对重离子注入质量沉积开展进一步的研究.

关键词:重离子束; 生物效应; 质量沉积

中图分类号: Q691; Q506 **文献标识码:** B

1 引言

20世纪80年代兴起的重离子注入材料表面处理技术已被成功地应用于生物品种改良、细胞加工、转基因等生命科学领域. 作为一种新兴的辐射诱变手段, 重离子束辐射在物理学和生物学方面具有很多显著的特点和优点. 1986年, 我国率先成功地开展了低能重离子束注入水稻的诱变育种研究, 与 γ 射线等诱变源相比, 获得了 M_1 代生理损伤较轻、 M_2 代突变率较高和突变谱较广的可喜结果. 后来相继推广到其他作物、微生物乃至动物的诱变育种方面, 并开辟了低能重离子束与生物体相互作用的全新研究方向, 建立了质量、能量、电荷三因子作用机制体系, 初步奠定了重离子束注入诱变育种的理论基础, 受到国内外科学家的普遍关注^[1-5]. 美国、前苏联、德国、英国和日本等发达国家侧重于中高能重离子束治疗肿瘤的应用基础研究, 也对多种生物材料的重离子束辐照效应开展了一定的研究^[6, 7]. 美国还于1995年发展了单离子束单细胞操纵技术, 随后英、日等国纷纷开发了微束及单离子束技术. 目前重离子束辐照已经达到单细胞甚至亚细胞水平, 我国也将建成此类科学装置^[8]. 可以预言, 如同重离子束在材料科学中的应用研究一样,

重离子束生物学正处在重大突破的前夜. 我国在重离子束遗传改良方面位居世界前列, 但就物理技术发展而言, 已明显落后于一些发达国家.

2 重离子注入质量沉积理论研究概况

质量沉积效应在重离子束生物学发展早期就已被提出, 它能解释一些经典辐射生物学所不能解释的实验现象^[9, 10]. 一般认为, 所谓重离子注入质量沉积效应, 是指注入重离子在生物系统中慢化后成为生物样品分子的组成部分而引起的生物学效应^[11].

前人实验研究选用的都是生物或药物小分子物质, 所研究的是重离子在小分子中的质量沉积, 而据上述定义, 质量沉积对处于生命状态下的活生物体组织细胞和生物大分子所带来的生物学效应, 即质量沉积效应的研究还未曾真正触及.

邵春林、宋道军等^[12, 13]根据辐射生物学的原理, 假设注入离子的质量沉积产物和电荷交换效应对DNA具有保护和刺激作用而建立了质量效应模型和刺激效应模型, 较好地解释了低能重离子注入生物小分子引起的剂量效应关系所呈现的特有的“马鞍型”曲线的现象, 导出了一些新的存活剂量关

收稿日期: 2000-08-11

* 基金项目: 国家自然科学基金资助项目(19975060); 中国科学院“九五”基础性研究重点项目(ZD980611)

作者简介: 袁世斌(1973-), 男(汉族), 四川华蓥人, 博士生, 从事重离子生物学研究.

系式和模型。

质量沉积效应可能会直接或间接地影响到由重离子束辐照所引起的生物遗传变异的结果和生物物质的性质。质量沉积造成生物分子改性后沉积在生物体内,必将参与生物体内包括遗传物质在内的新陈代谢过程,从而影响生物体的基因表达、修复和存活等生物学终点效应;新物质的沉积将改变细胞内的生化环境,从而可能影响DNA的辐射损伤,还可能通过与DNA和蛋白质等生物大分子争夺自由基而起到减轻自由基对细胞损伤的作用。因此该效应受到人们的普遍重视^[1, 10, 12]。

3 重离子注入质量沉积实验研究概况

余增亮等^[1]以离体生物小分子如L-苯乙酸、氨基酸、核苷和核苷酸等为生物材料,用低能氮离子束注入,对荷能重离子在这些生物小分子中的能量沉积、质量沉积进行了初步研究,推测了新分子形成的可能机理。他们在研究中还发现,使用不同的注入离子,在剂量相同时可引发不同类型的染色体畸变。梁剑平等^[14]开展了重离子束辐照唑乙醇等药物的分子改性研究,紫外吸收光谱、TLC分析和抑菌实验结果表明,重离子束辐照后15%以上的唑乙醇结构发生了改变,产生了多种辐照产物,重离子束辐照后的唑乙醇抗菌作用更强。蔡喜臣等^[2]开展了重离子束辐照甘氨酸、胸腺嘧啶和胸苷等生物小分子的改性研究,采用多种先进的仪器分析手段,观察到多种辐照产物。王相勤等^[15]采用荷能重离子注入乙酸钠样品,在产物中检测到了氨基酸,这将加深人们对生命起源的认识。

因此,重离子注入质量沉积在生物分子改性、药物分子改性和生物分子进化等方面都将具有重要的理论价值与应用价值。

前人采用碳、氮、氧等重离子束注入生物和药物小分子,借助多种仪器分析手段来研究重离子注入质量沉积,但分析这些生物和药物分子所固有元素离子的沉积行为相当困难,难以排除样品中的碳、氮、氧等原子经过一些复杂的过程而掺入新分子的可能性,所得结论的可靠性和普遍性相应地受到一定的影响。至今还没有,至少是生化基础上的实验结果,说明注入重离子在生物体中的实际行为,即重离子注入生物和药物分子还没有直接令人信服的实验证据^[1, 9]。由于重离子束流强度和束流

时间有限,导致重离子注入数量有限,使得重离子束辐照产物含量极微,给化学仪器分析带来较大的难度,这也是目前重离子注入质量沉积研究继续深入的一个很重要的制约因素^[7, 14]。在机理探讨方面,还没有在细胞和分子水平上有关重离子注入质量沉积效应的研究报道。为了继续深入开展该项研究,务必解决的问题是:某种注入离子集中分布于细胞内何处?为什么在此处被浓缩?某处离子浓度过量时对细胞生物功能有何影响?某种注入离子沉积于生物大分子尤其是DNA分子上将会产生何种影响?等等。为了解决这些问题,至少有两个技术难题需要解决:一是细胞及其亚微结构内注入离子分布的精确测定;二是定量、准确地向细胞乃至亚细胞结构内注入便于检测的、生物样品中含量极微的元素(如铁、钴、铜、锌等)的离子。

迄今为止,主要通过研究注入离子(特别是碳、氮、氧离子等)与氨基酸、碱基、核苷和核苷酸等生物小分子的相互作用来研究重离子注入质量沉积。这是因为氨基酸作为蛋白质的基本单元,碱基、核苷和核苷酸作为遗传物质核酸的基本单元,通过对重离子注入氨基酸、碱基、核苷和核苷酸的研究,可以更好地解释重离子注入复杂的体系后与有生物活性的蛋白质和核酸所发生的作用过程,从而有助于揭示重离子束生物效应和质量沉积。

重离子注入的方法主要是采取脉冲式辐照,以避免局部温度过高,有时还需采用水循环冷却。制样方法通常是制成薄片、薄膜或者水溶液。对于产物的分析,则采用多种较为先进的仪器分析手段,如气相色谱-质谱联用、气相色谱-傅立叶转换红外光谱联用、X射线光电子能谱分析、元素分析、光声光谱、红外光谱、紫外吸收光谱、激光喇曼光谱、高效液相色谱、快原子轰击质谱及核磁共振等^[1, 7, 9, 10, 14]。

重离子束生物学的理论研究远远滞后于应用研究,特别是在重离子束辐照所特有的质量沉积效应、动量传递效应和电荷交换效应等方面。这些过程差不多在 10^{-19} — 10^{-16} s内同时发生,很难区分各自的独立作用,许多研究者试图证明这些过程的生物学效应,但待分析生物样品时,它们已经过了一系列的变化,这给研究工作带来了诸多困难^[1]。研究技术方面的创新可使实验结果在生命科学和医药学等方面具有更大的实用价值。

鉴于有限的重离子束流强度和束流时间,重离子注入数量和辐照产物含量都较少,给常规仪器分析带来较大难度的实际情况,可以采用兰州重离子研究装置(HIRFL)的兰州放射性核束流线(RIBLL)装置,以放射性重离子束(RIB)的灵敏探针赋予重离子注入质量沉积和质量沉积效应研究以客观、准确、灵敏、高效的特色,使我国在重离子束生命科学研究领域占据制高点^[7,14].可以采用亚微观(电子显微镜水平)放射自显影示踪技术和图像分析处理技术,以离体生物小分子、大分子和药物分子为材料,以RIB为辐射源,对注入离子予以精确定位和精确定量,在分子水平上得出质量沉积的准确而直观的结论,最终阐明重离子注入的质量沉积过程.

另外,可用同步辐射X射线晶体衍射技术确定重离子注入引起的质量沉积最终位点.可先采用结构清楚且晶体衍射技术成熟的离体生物小分子和大分子如氨基酸、胰岛素和小分子药物(如青霉素、利福霉素、鬼臼毒素等)为材料,注入稳定性重离子束,然后进行晶体衍射分析,以确定重离子注入引起的质量沉积最终位点,即植入重离子与生物和药物分子的原子发生替换的位点^[7].

此外,还可借助扫描隧道电子显微镜观察注入重离子与生物样品分子的原子是否发生了“取代”和“补充”,采用fs量级的激光化学技术研究质量沉积

效应动力学,用二次离子谱分析遗传缺陷等,为将来RIB和稳定性重离子束在生命科学和医药学等方面的广泛应用奠定理论基础^[11].

4 小结

用重离子注入生物和药物分子的方式来合成自然界中所没有的更多更复杂的新分子,是一种新颖的、有效的途径.在重离子束,特别是中、高能重离子束应用于生物医学领域时,注入离子有其特殊的物理性质,如高激发性、高传能线密度和相对生物效应、尖锐的Bragg峰及低氧增比等,并可精确控制入射深度和部位,同时注入离子的质量也可选择,特别是RIBLL和冷却储存环(CSR)建成出束后,使得可供选择的重离子质量范围更为广阔.随着重离子束生物学效应研究的系统深入,特别是重离子注入质量沉积效应和质量沉积反应动力学研究的深入,重离子注入质量沉积造成生物分子特别是DNA分子和药物分子改性可能在不远的将来具有基因工程和制药工业等方面的实际应用价值^[7,14].另外,重离子微束技术及单离子注入技术、适形技术和微剂量学、信号检出灵敏度和图像处理准确度的提高和发展,也将为生物遗传工程、医疗诊断、肿瘤治疗、太空生物学研究、生物分子及药物分子改性和生物分子进化研究等提供有力的武器^[1,7,8,15].

参 考 文 献:

[1] 余增亮,霍裕平.离子注入生物学研究述评[J].安徽农业大学学报,1994,21(3):221-225.

[2] Yu Z L, Deng J G, He J J, et al. Mutation Breeding by Ion Implantation[J]. Nucl Inst and Meth, 1991, B59/60: 705-708.

[3] 江泽慧,彭镇华.离子束应用于生物品种改良的研究进展[J].安徽农业大学学报,1994,21(3):295-298.

[4] 卫增泉.重离子生物效应研究中的一些基本物理问题[J].核物理动态,1996,13(1):40-45.

[5] Yu Z L, Yang J B, Wu Y J, et al. Transferring GUS Gene into Intact Rice Cells by Low Energy Ion Beam[J]. Nucl Inst and Meth, 1993, 80/81: 1328-1331.

[6] 卫增泉.德国重离子生物效应研究现状[J].核物理动态,1995,12(1):65-66.

[7] 蔡喜臣.重离子辐照生物分子改性的研究[D].兰州:中国科学院近代物理研究所,1999.

[8] 吴李君, Tom K H, Randers-Pehrson G, 等. α 粒子微束定点照射——细胞的放射生物学效应及精确性分析[J].辐射研究与辐射工艺学报,2000,18(1):57-62.

[9] 邵春林,余增亮.低能氮离子束注入酪氨酸分子的质量沉积效应[J].安徽农业大学学报,1994,21(3):349-352.

[10] Yu Z L, Shao C L. Dose-effect of Tyrosine Sample Implanted by a Low Energy N^{-} Ion Beam[J]. Radiat Phys Chem, 1994, 43(4): 349-351.

[11] 杜严华,丘冠英,李国红,等.低能离子束及 γ 辐照对小菜蛾卵粒体病毒的影响及剂量效应关系的拟合分析[J].生物物理学报,1997,13(2):267-272.

[12] 邵春林,余增亮.离子束辐照下微生物、植物组织存活模型的研究[J].核技术,1997,20(7):423-430.

[13] 宋道军,姚建铭,邵春林,等.离子注入微生物产生“马鞍型”存活曲线的可能作用机制[J].核技术,1999,22(3):129-132.

- [14] 梁剑平. 重离子放射增敏药物的研制及重离子辐照对唑啉的作用[D]. 兰州:中国科学院近代物理研究所, 1999. 126-128.
- [15] 王相勤, 邵春林, 余增亮. 低能氮离子注入固体乙酸钠的质量沉积效应[J]. 辐射研究与辐射工艺学报, 1998, 16(2): 126-128.

Research Techniques on Mass Deposition in Biomolecules and Pharmic Molecules Induced by Heavy Ion Implantation*

YUAN Shi-bin, WEI Zeng-quan

(Institute of Modern Physics, the Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000, China)

Abstract: Heavy ion beam biology is a jumped-up scientific subdivision. China acquired a series of prior achievements and for the first time brought forward the idea that heavy ion biological effects are the integrated results of the four effects, i. e. energy deposition, mass deposition, charge exchange and momentum transfer. Researchers have validated the mass deposition process in small biomolecules and pharmic molecules induced by heavy ion implantation, and researches on modification of biomolecules and pharmic molecules by heavy ion implantation have been taken up. In the near future stable and radioactive heavy ion beams can be used to implant biomolecules and pharmic molecules. thereafter X-ray diffraction analysis, electron microscopic autoradiography and image processing can be used to make further studies on mass deposition induced by heavy ion implantation.

Key words: heavy ion beam; biological effect; mass deposition

第六届全国中子计学术会议在南京召开

2000年10月20—23日在南京召开了第六届全国中子计学术会议。该会议由全国中子计专业组、中国核物理学会、中国同位素学会和江苏省核学会联合主办,并由南京大学承办。刘圣康教授主持了本届会议。出席会议的有17个单位,代表43人。交流论文共32篇。

刘圣康教授报告了《中子计的概况与展望》,并提出了中子计分类的新建议,原理由“中子减速扩散”扩展到“中子与原子核作用”。型式除“计数型”外,增加了“能谱型”。第五届会议后,计数型在设计和应用上都有所发展。例如:《钢板下浇注混凝土空洞缺陷中子探查新技术》、《表面型中子计测煤水分的实验探索》、《热中子透射法检测废钢管内杂质的实验探索》、《深层核子密度含水量测定仪》等论文都有创新点。宝钢的代表介绍了长期应用中子水分计的成功经验。中国原子能院的代表报告了一种新的中子屏蔽材料(六硼化钙)。能谱型的研究也已开始。例如《能谱型中子计测玉米水分的理论探讨》、《长寿命耐高温高压稳定性中子管寿命计算分析》、《悬浮式C/O测井中子发生器及其气压自动控制电路》、《多元素中子俘获瞬发 γ 射线分析方法的研究》等。代表指出专业组成员间应加强团结与协作,提高我国中子仪表的水平,争取研制出创新的特色仪表。

会议期间,全国中子计专业组进行了改选,第二届成员单位有15个。南京大学物理系仍为挂靠单位,刘圣康教授连任主任委员。大会确定第七届全国中子计学术会议将于2003年在杭州召开,由杭州科汇公司承办。

(张治平)

* Foundation item: NSFC(19975060); Scientific Foundation of "9.5" Fundamental Research from the Chinese Academy of Sciences (ZD980611)