

文章编号: 1007-4627(2016)03-0353-05

## 低能质子辐照活体细胞的能量沉积特性

张宁<sup>1</sup>, 张鑫<sup>1</sup>, 闫学文<sup>1</sup>, 林崇楠<sup>1</sup>, 王广甫<sup>2</sup>, 邵剑雄<sup>1</sup>, 陈熙萌<sup>1</sup>

(1. 兰州大学核科学与技术学院, 兰州 730000;

2. 北京师范大学, 北京 100875)

**摘要:** 为了研究带电粒子与活体细胞的相互作用, 利用能量为 2, 2.5, 3 MeV 的质子外束, 在室温环境下对厚约 50 nm 的氮化硅支持膜上的毕赤酵母菌进行辐照, 并用金硅面垒探测器测量其透射能谱, 通过对能量沉积特性的分析, 表明质子外束穿过毕赤酵母菌后能随入射能的增大而减小, 但能量歧离随入射能的增大而增大。

**关键词:** 质子外束; 活体细胞; 氮化硅薄膜; 能损

**中图分类号:** Q28      **文献标志码:** A      **DOI:** 10.11804/NuclPhysRev.33.03.353

### 1 引言

近些年来, 无论在肿瘤治疗、离子束生物技术、应急事故辐照剂量估算还是辐射灭菌等方面, 辐射生物学都应运而生, 并且得到了蓬勃发展。例如在肿瘤治疗方面, 与传统放疗的 X 射线(属于光子线)不同, 质子属于粒子线, 粒子线在物理学上有独特的布拉格峰现象, 峰前为低剂量坪区, 峰后剂量骤降为零, 能够在到达肿瘤病灶时, “定向爆破”集中释放能量, 以杀灭实体肿瘤病灶。在 20 世纪 80 年代, 我国余增亮等<sup>[1]</sup>率先把离子束注入技术应用到水稻辐射育种上, 开启了离子束与生物体相互作用的研究。离子束微生物方面, 研究人员从离子注入到菌种培养, 最后到选出优良菌种, 已经选育出了大量的微生物优良品种。如虞龙等<sup>[2]</sup>利用离子注入技术得到两株 DNA 重组菌, 为微生物转基因工程提供了一条新的途径。

1988 年, 徐存栓等<sup>[3]</sup>初步研究了真空对洋葱细胞的影响, 发现在真空环境下细胞产生膨胀或者受压会破坏其结构, 还可能会造成原生质和染色体失水, 影响细胞正常的生命活动。2009 年, 张凤秋等<sup>[4]</sup>研究了真空、低能离子注入后 HeLa 细胞的吸收光谱, 发现细胞在抽真空过程中细胞膜会被压缩, 膜上蛋白质中氨基酸原有的位置和结构也会发生变化。2013 年李宝昌等<sup>[5]</sup>进行了真空爆裂大豆生胚细胞壁技术的研究, 实验中发现真空环境可使得细胞的细胞壁大部分被破坏, 细胞质结构明显

发生变化。

从上述工作可以看出, 活体细胞的形态和功能在真空环境下会发生很大的变化。最近, Natalia Arteaga Marrero 等<sup>[6]</sup>将束流引出真空, 利用单个质子研究了生物活体细胞的辐照效应, 进而提出了一种低剂量辐照研究的新工具。Mäckel 等<sup>[7]</sup>研究并组建了一种在可控环境下通过 MeV 离子束对活体细胞进行微区辐照的新平台。然而大多研究开展的是经离子束辐照后细胞内部结构的变化, 对离子束穿过生物活体细胞后能量沉积特性的研究还有待研究。考虑到真空环境对活体细胞的损害以及质子束在细胞中累积效应的重要性, 本工作采用 MeV 质子外束进行生物活体细胞的辐照研究。为了尽量减少质子外束的能损, 实验中将活体细胞悬浮液滴在厚度为 50 nm 的氮化硅薄膜上, 制备成辐照靶。经金硅面垒探测器测量其透射能谱, 研究了质子束在活体细胞中的能量沉积特性。

### 2 实验材料和方法

本实验所用到的材料和仪器可分为三部分: 制备的活体细胞样品靶、引出质子外束的串列加速器以及用以束流分析的电子学仪器。实验流程为:  $2 \times 1.7$  MV 串列加速器提供三种能量的质子外束辐照处于大气环境中的活体细胞样品靶, 然后用金硅面垒型探测器等电子学仪器测量穿过细胞后质子束的能损等特性, 进而分析质子

收稿日期: 2015-10-27; 修改日期: 2015-11-04

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(11174116, 11175075)

作者简介: 张宁(1994-), 男, 甘肃礼县人, 硕士研究生, 从事射线与物质相互作用研究; E-mail: zhangning2014@lzu.edu.cn

通信作者: 邵剑雄, E-mail: shaojx@lzu.edu.cn; 陈熙萌, E-mail: chenxm@lzu.edu.cn.

外束用于辐照活体细胞的可行性, 并证实用以支撑细胞的氮化硅支持膜对质子束没有较大的影响。

## 2.1 活体细胞样品的制备

本实验所采用的生物活体样品为毕赤酵母细胞溶液(BMGY), 具体配方如表1所列。

表 1 毕赤酵母细胞溶液(BMGY)具体配方

酵母粉	蛋白胨	YNB	甘油	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>
1 g	2 g	1.34 g	1 mL	10 mL

上述样品加蒸馏水稀释, 定容至 100 mL (细胞浓度约为  $10^6$  个/mL), 121 摄氏度高压灭菌, 待用。

由于支撑细胞的薄膜对离子束穿过细胞后的能谱分析有很大影响, 因此该膜的选择也十分关键。如Doria等<sup>[8]</sup>研究了V79中国仓鼠细胞系细胞在不同剂量下的2 MeV质子辐照下的存活率, 其实验中使用3  $\mu\text{m}$ 厚的Mylar薄膜用以支撑细胞。Natalia Arteaga Marrero等<sup>[6]</sup>在研究单个质子辐照活体细胞的工作中选用200 nm厚的氮化硅薄膜作为细胞支撑架。考虑到支撑细胞的薄膜对质子束的影响, 我们选用50 nm厚的氮化硅薄膜并进行了测试。图1中能谱1与能谱2分别表示是2.5 MeV质子在空白和有氮化硅薄膜时的透射能谱, 从图中可以发现, 氮化硅薄膜对于质子束基本没有影响, 因此选其用来支撑细胞。用量程为10  $\mu\text{L}$ 的移液枪取2  $\mu\text{L}$ 的酵母细胞悬浮液(其中含有约2000个细胞)滴到厚度为50 nm、窗格厚度为100  $\mu\text{m}$ 、边框大小为3 mm的氮化硅支持薄膜(图2)表面, 在光学显微镜下观测到细胞的排列分布情况, 如图3所示。从图中可以看出, 滴在支持膜上的细胞比较密集, 视野中央的黑色斑点是显微镜目镜上留下的污渍。

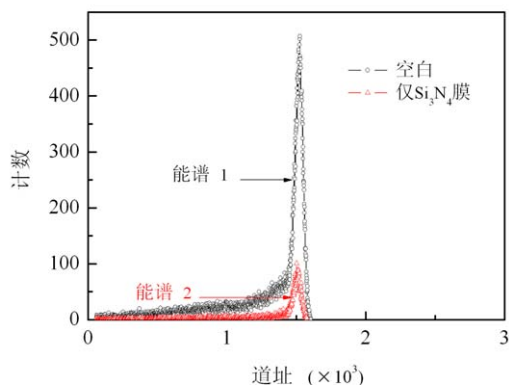


图 1 (在线彩图) 2.5 MeV质子在有无氮化硅薄膜时的透射能谱

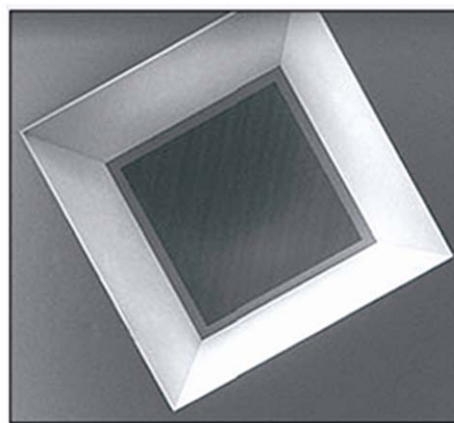


图 2 (在线彩图) 氮化硅支持薄膜

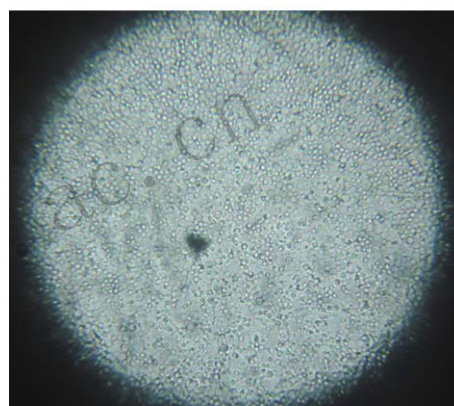


图 3 (在线彩图) 细胞样品靶在光学显微镜下的照片

## 2.2 实验仪器和束流参数

本实验所用的质子外束由北京师范大学  $2 \times 1.7$  MV 串列加速器(真空度为  $10^{-5}$  Pa) 提供, 能量范围为 0.3~3.2 MeV。外束引出管道主要由快速真空保护阀和引出窗口组成, 引出窗口采用 7.5  $\mu\text{m}$  的 Kapton( $\text{C}_{22}\text{H}_{10}\text{O}_5\text{N}_2$ ) 膜隔离真空与大气。该膜和引出法兰之间用  $\phi 11.2$  mm 的橡皮圈密封, 出口光阑内径为 8 mm<sup>[9]</sup>。本工作引出的质子外束能量分别为 2, 2.5, 3 MeV, 束斑直径大小为 2 mm。采用金硅面垒探测器对束流进行测量, 该探测器灵敏面积直径为 5 mm, 灵敏层厚度约为 1 mm, 表面金层厚度约为 30 nm。

## 2.3 实验流程

实验装置示意图如图 4 所示。将已制备好的细胞样品靶放置在靶支架上, 后面接金硅面垒探测器, 将两者固定在一起置于调角器上, 调角器用于调节样品靶与束流的准直方向。然后由加速器引出质子束对样品靶进行辐照, 束流出口用 Kapton 膜密封, 与样品之间的距离约为 1.3 cm。穿过细胞后的质子束通过金硅面垒探测

器、前置放大器、主放大器及多道分析等电子学设备进行辐照信号的接收和探测。

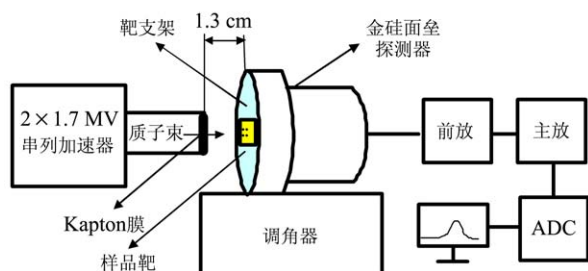


图 4 (在线彩图) 实验装置示意图

能量离散值可以根据能谱主体的半宽度即 FWHM 值得到。辐照后通过计算标准偏差来评价质子束的能量歧离。3 个能量点的质子束从加速器引出到探测器接收依次穿过 7.5 μm 厚的 Kapton 膜、1.3 cm 厚的空气层、30 nm 厚的金层, 在其中的能损经 SRIM 计算可得如表 2 所列, 因此, 经过 3 种不同的介质产生能损后质子束能量分别减为 1.61, 2.18, 2.71 MeV。

在质子外束辐照样之前, 选 1.61, 2.18, 2.71 MeV 此 3 个能量点分别进行无靶辐照以用于能谱分析时的能量刻度, 通过 Origin 8.0 拟合得出的能量刻度曲线方程为

$$E = 0.00183 * ch - 0.461。$$

上式  $ch$  表示能谱中的道址数,  $E$  表示质子束的能量(单位为 MeV)。

### 3 实验结果

MeV 质子穿过细胞前后的能谱如图 5 所示。从图中可以看出, 辐照前能谱主体近似为高斯分布, 能损值可以由入射离子能量值减去波峰位置对应能量值计算,

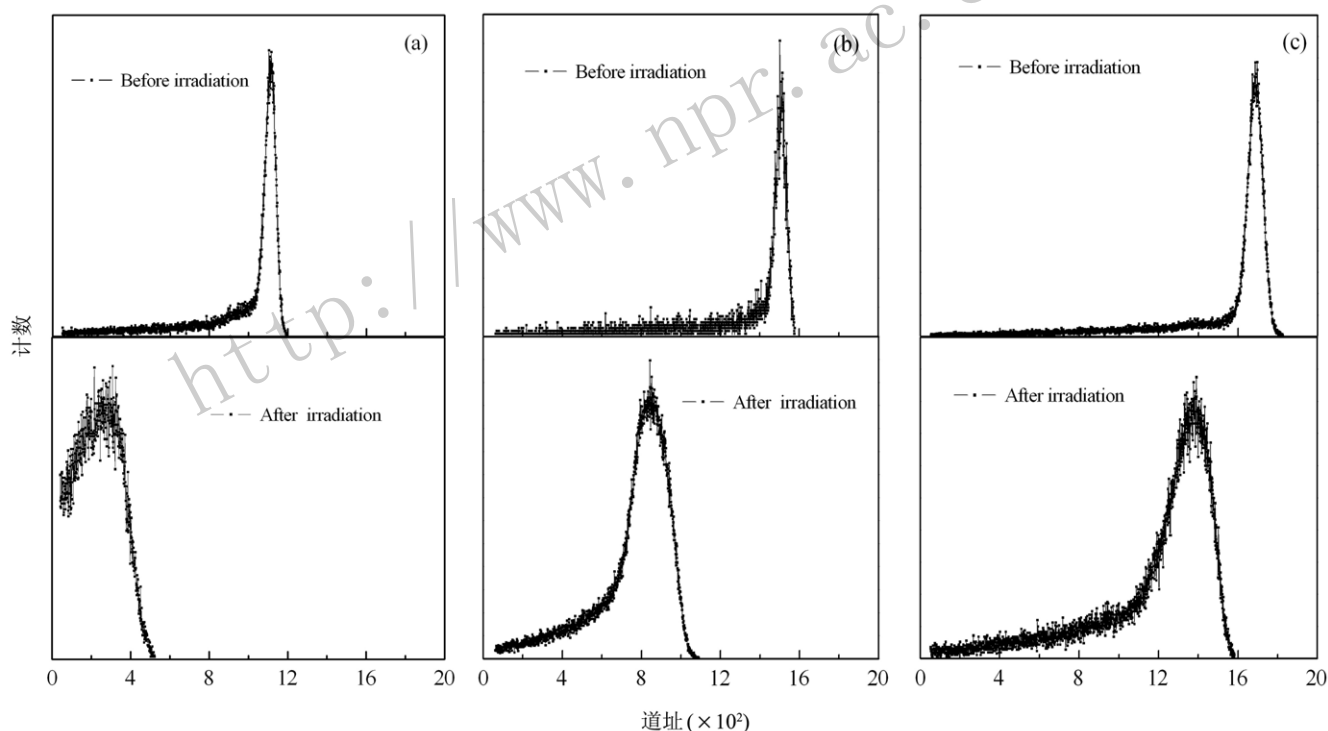


图 5 3 种能量的质子外束辐照细胞前后的透射能谱

(a) 质子束能量: 1.61 MeV; (b) 质子束能量: 2.18 MeV; (c) 质子束能量: 2.71 MeV。

表 2 3 种能量的质子束依次在 3 种介质中的能损值

原始能量/MeV	在Kapton膜中能损/keV	在空气层中能损/keV	在探测器金层中能损/keV	探测器接收到的能量/MeV
2	157.7	234	3	1.61
2.5	133.8	195	2.7	2.18
3	116.6	169	2.28	2.71

### 3.1 能损

经辐照后的透射能谱可以得出, 1.61, 2.18, 2.71 MeV 3 个能量点辐照前后对应的道址数分别表 3 所列。因此, 通过表 3 中的道址数和能量刻度曲线计算可得 3 种质子相应的能损各自为 1.47, 1.21, 0.54 MeV, 变化趋势如图 6 所示。从图中可以看出, 随着质子束入射能量的增加, 相应的能损逐渐减小。

表 3 3 种能量的质子束辐照前后对应的道址数

实验阶段	1.61 MeV	2.18 MeV	2.71 MeV
辐照前	1109	1504	1685
辐照后	308	843	1390

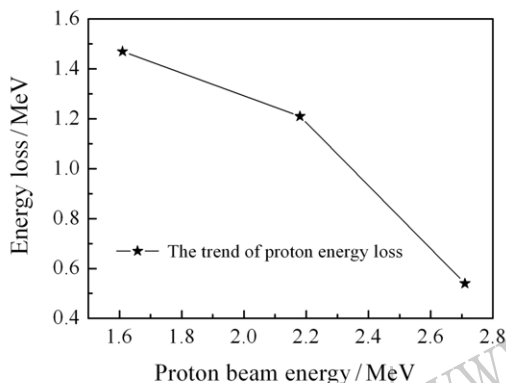


图 6 质子在细胞中的能损随入射能量变化趋势图

### 3.2 能量歧离

当一束单能带电粒子入射到靶物质上, 在表面时, 能量分布很窄, 越到靶子深部, 平均能量越来越小, 能量分布越来越宽。从图 5 可以看出, 辐照细胞之后的透射能谱与辐照之前相比产生了一定的展宽, 说明质子外束辐照细胞后产生了能量歧离。辐照之前能量歧离可以根据能谱主体的半宽度即 FWHM 值得到, 辐照之后的透射能谱由于并非理想的高斯分布, 因此通过 Microsoft Excel 中 STDEV 函数计算得到标准偏差来评价质子束的歧离。由表 4 中数据可知, 质子外束穿过细胞后能量歧离随着入射质子能量的增大而增大。

表 4 3 种能量的质子外束辐照细胞样品前后的能量歧离

实验阶段	1.61 MeV	2.18 MeV	2.71 MeV
辐照前/keV	92.2	96.5	125.3
辐照后/keV	200.6	428.8	636.6

## 4 结论

质子外束辐照置于正常大气环境中的活体细胞更接近辐照生物学所要求的真实情况, 并且对于大气环境中细胞样品靶的制备方法提供了可行的方法。同时也测得, MeV 能量的质子束穿过生物活体细胞后的能损随入射质子束能量增大而减小, 而由于生物样品结构和密度的不均匀性, 能量歧离随质子束能量的增大而增大。

本实验利用外束研究了离子束在活体细胞中的能量沉积特性, 对离子束生物技术的多样性具有一定的参考价值, 为后续进行带电粒子外束与生物活体细胞的相互作用的研究奠定了基础。

### 参考文献:

- [1] YU Zengliang, HE Jianjun, DENG Jianguo, *et al.* Journal of Anhui Agricultural Sciences, 1989, **39**(1): 12. (in Chinese) (余增亮, 何建军, 邓建国, 等. 安徽农业科学, 1989, **39**(1): 12)
- [2] YU Long, YU Zengliang. Nuclear Techniques 2004, **27**(4): 264. (in Chinese) (虞龙, 余增亮. 核技术, 2004, **27**(4): 264.)
- [3] XU Cunshuan, ZHANG Yueping, WEI Junbiao, *et al.* Journal of Henan Normal University, 1988, **58**(2): 116. (in Chinese) (徐存栓, 张月萍, 魏俊彪, 等. 河南师范大学学报, 1988, **58**(2): 116.)
- [4] ZHANG Fengqiu, ZHAO Yuanli, GE Xianghong, *et al.* Spectroscopy and Spectral Analysis, 2009, **29**(8): 2034. (in Chinese) (张凤秋, 赵元黎, 葛向红, 等. 光谱学与光谱分析, 2009, **29**(8): 2034.)
- [5] LI Baochang, LI Zhiping, ZHANG Chunyan, *et al.* Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2013, **28**(4): 13. (in Chinese) (李宝昌, 李志平, 张春艳, 等. 中国粮油学报, 2013, **28**(4): 13.)
- [6] Natalia Arteaga Marrero. Single-Proton Irradiation of Living Cells - Development of New Tools for Low-Dose Radiation Research [D]. Lund: Lund University, 2010(1): 35.
- [7] MÄCKEL V, MEISSEL W, IKEDA T, *et al.* Rev Sci Instrum, 2014, **85**: 014302.
- [8] DORIA D, KAKOLEE K F, KAR S, *et al.* AIP Adv, 2012, **2**: 011209.
- [9] LU Yongfang, WANG Guangfu. Journal of Beijing Normal University (Natural Science), 2006, **42**(6): 588. (in Chinese) (鲁永芳, 王广甫. 北京师范大学学报(自然科学版), 2006, **42**(6): 588.)

## Energy Deposition Properties of Living Cells by Low Energy Protons Irradiation

ZHANG Ning<sup>1</sup>, ZHANG Xin<sup>1</sup>, YAN Xuewen<sup>1</sup>, LIN Chongnan<sup>1</sup>,  
WANG Guangfu<sup>2</sup>, SHAO Jianxiong<sup>1</sup>, CHEN Ximeng<sup>1</sup>

(1. School of Nuclear Science and Technology, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China;

2. Beijing Normal University, Beijing 100875, China)

**Abstract:** To study the interaction of charged particles with biological living cells, we delivered 2, 2.5 and 3 MeV protons outside vacuum as external beam at room temperature to irradiate yeast *Pichia* cells which are supported by 50 nm thick silicon nitride film and the transmission energy spectrum were measured by an Au-Si surface barrier detector to analyze energy deposition properties. The results demonstrate that the energy loss decreases with the incident protons energy increase, but the energy straggling increases with incident protons energy increase.

**Key words:** external proton; living cell; silicon nitride film; energy loss

<http://www.npr.ac.cn>

---

**Received date:** 27 Oct. 2015; **Revised date:** 4 Nov. 2015

**Foundation item:** National Natural Science Foundation of China (11174116, 11175075)

**Corresponding author:** SHAO Jianxiong, E-mail: shaojx@lzu.edu.cn; CHEN Ximeng, E-mail: chenxm@lzu.edu.cn.