

文章编号: 1007-4627(2016)04-0471-10

微束技术在放射生物学中的应用

郭娜^{1,2}, 杜广华¹, 刘文静¹, 郭金龙¹, 吴汝群¹, 陈昊^{1,3}

(1. 中国科学院近代物理研究所, 兰州 730000;

2. 中国科学院大学, 北京 100049;

3. 兰州大学, 兰州 730000)

摘要: 微束装置可以为生命科学研究提供微米定位、剂量特定的电离辐射, 在生物体内的电离辐射靶物质及其敏感度、靶物质的损伤及修复机制研究中具有独特的作用。概述了生物微束装置和实验技术的发展及其在低剂量辐射效应、旁观者效应、信号传导研究中的主要应用; 介绍了中国科学院近代物理研究所 (IMP) 重离子微束装置, 该装置可以提供能量 $7 \sim 80$ MeV/u、传能线密度为 $30 \sim 3000$ keV/ μm 的重离子微束, 实现了活细胞辐照和在线观察、小鼠定位辐照的实验技术; 利用 IMP 微束装置在重离子诱导旁效应实验、小鼠下丘脑重离子辐照效应和 DNA 损伤快速修复动态等方面取得了一些实验成果。

关键词: 重离子; 微束技术; 放射生物学

中图分类号: Q691 **文献标志码:** A **DOI:** 10.11804/NuclPhysRev.33.04.471

1 引言

微束辐照装置利用微米准直狭缝、导向狭缝、聚焦电场或聚焦磁场将能量为 MeV 量级的带电粒子束斑限制或聚焦至微米尺寸^[1-4]。与其它大面积辐射源相比, 微束可将电离辐射投送至样品几十微米至亚微米尺度的局部区域, 可为放射生物学提供精确的样品微观辐照或作为微米离子探针。利用微束装置开展的生命科学研究可以追溯到 1953 年, Zirkle^[1]在 2 MV 静电加速器上用准直器获得了 $2.5 \mu\text{m}$ 的质子束, 通过 $5 \mu\text{m}$ 厚的云母真空窗将其引出至空气中并辐照蝶螈活细胞, 研究了细胞的分裂进程及核内染色体的变化。随着生物学研究的深入开展和辐照技术的进步, 微束在生命科学中的应用在过去二十年获得了快速的发展, 出现了一批专门为生命科学研究开发的微束装置 (生物微束)。生物微束与跨学科技术的结合越来越紧密, 辐射源涵盖了几 MeV 至 GeV 的高能轻离子和重离子、X 射线、中子等^[5-7]。本文总结了国内外生物微束辐照装置的技术发展及其在低剂量辐射、旁观者效应、DNA 修复、信号传导等生命科学研究中的主要应用^[8-10]。结合中国科学院近代物理研究所 (IMP) 重离子微束辐照实验平台特点^[11-15],

介绍了基于 IMP 微束装置开展的生物学研究进展^[16]。

2 生物微束技术的发展

虽然利用可调节的狭缝准直技术可以较低的成本获得微米离子束, 但是由于准直狭缝散射影响微束品质, Sasha^[17]于 1963 年提出采用四极透镜聚焦以获得高品质微束。聚焦微束技术在 20 世纪 80 年代前后得到广泛发展, 大多数微束装置可提供百 keV 至几 MeV 聚焦轻离子束, 其中以质子束最常见, 此时的微束装置以开展真空中材料的离子束分析研究为主^[18-21]。90 年代初期, 英国 Gray 癌症研究所 (GCI) 和美国哥伦比亚大学辐射研究加速器中心 (RARAF) 基于 MV 静电加速器开启了建造生物专用微束装置的新时代^[22-23]。GCI 和 RARAF 实验室微束装置的早期版本采用垂直向上的束流管道, 在管道终端用内径为 $1 \mu\text{m}$ 通孔的玻璃毛细管 (GCI) 和双层不锈钢微孔准直器 (RARAF) 获得准直微束, 束流穿过准直微孔后透过真空窗从下向上辐照特制的以薄膜为底的细胞培养盘, 微束离子通过真空窗辐照培养在 $4 \mu\text{m}$ 厚的聚酰胺膜上的细胞 (图 1(a))^[24-25]。随着计算机、图像获取、数据采集

收稿日期: 2015-12-18; 修改日期: 2016-01-20

基金项目: 中国科学院百人计划资助项目 (Y150310BRO); 国家自然科学基金委员会资助项目 (31200630, U1632271); 科技部重大仪器专项 (2012YQ03014204)

作者简介: 郭娜 (1988-), 女, 河北邯郸人, 硕士研究生, 从事重离子微束在线活细胞成像研究; E-mail: naguo@impcas.ac.cn

通信作者: 杜广华, E-mail: gh_du@impcas.ac.cn.

控制、脉冲电源和快速束流开关技术的发展和多学科硬件技术的集成应用，利用高度自动化的图像识别软件、束流控制系统和样品平移台等微束装置可实现在线细胞选择、单细胞单粒子定位辐照，极大地促进了电离辐射诱导旁效应、低剂量辐射和单细胞水平的放射生物学研究^[8-9]。新一代生物专用微束装置与之前的微束装置的根本性区别是微束装置设计和实验技术紧密结合生物学问题，实验系统布局 and 高度自动化使得生物学家在微束终端可将其作为一个准日常设备使用，而不像在传统的加速器核物理实验终端上开展实验那样需要复杂的实验准备和复杂操作。

RARAF 和 GCI 微束装置在生物学研究中的成功应用取得了大量成果，不仅吸引了传统的核微探针微束装置向细胞精细辐照的交叉应用发展，也掀起了国

际上生物微束建造的热潮。德国 GSI (全离子直线加速器)、日本 JAEA (全离子回旋加速器)、德国慕尼黑工业大学 (串列加速器) 和法国 CENBG (静电加速器) 等核微探针实验室相继在原装置基础上发展了活细胞精细辐照技术^[5-7,26-28]。这些基于核微探针装置的辐照终端大多都是水平束线结合四极磁铁聚焦 (图 1(b))，不利于带液体培养基的细胞盘和显微镜等成像仪器的安装和使用。一些新建造的生物微束装置则采用电磁聚焦与垂直辐照终端 (图 1(c) 和图 1(d))，使得样品辐照和显微成像具有很好的设备兼容性，如 RARAF 二代聚焦微束、德国 PTB、日本 NIRS 和 JAEA^[5-7,29]、中国 IMP 等。中国科学院合肥物质研究院和复旦大学也已经建成了利用玻璃毛细管准直的 MeV 质子微束用于生物实验研究^[30-31]。

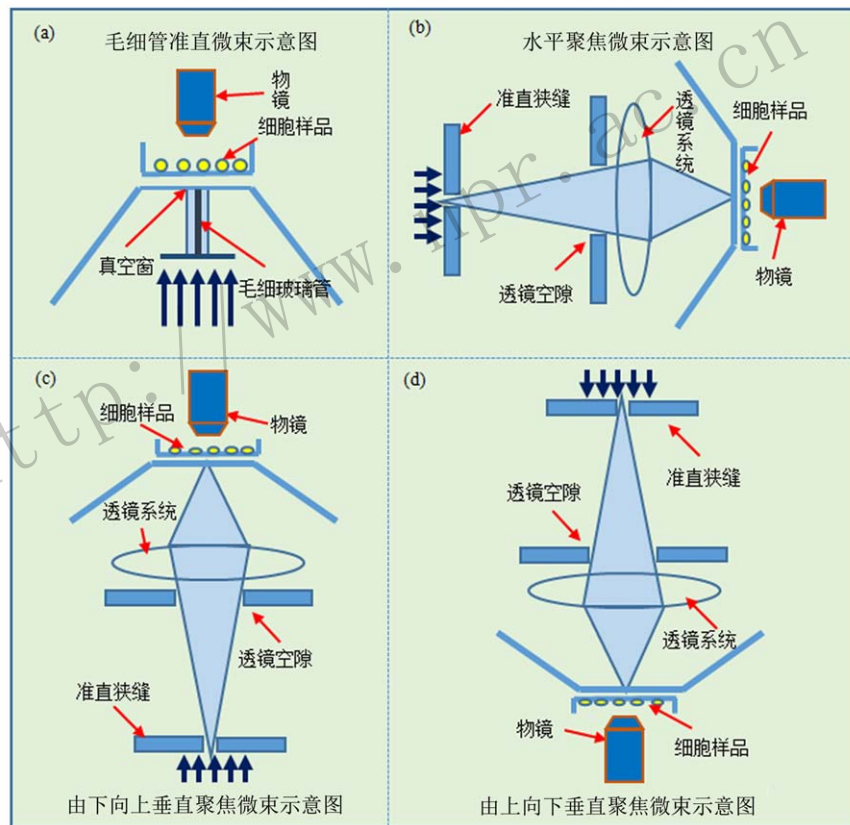


图 1 (在线彩图) 生物微束装置示意图

生物微束的实验技术发展趋势为 (1) 亚微米细胞器的精确定位辐照；(2) 在线细胞响应检测；(3) 高通量悬浮细胞精确辐照；(4) 活体模型动物器官精细辐照；(5) 高能量和高 LET 离子辐照。由此可见，生物微束实验系统已经从早期单纯的细胞辐照工具演变成了多种技术结合的细胞器功能研究、细胞响应检测、分子动态和信

号传导测量的综合研究平台。

目前，重离子癌症治疗技术正在全球临床推广，载人航天、太空旅行和火星探索逐渐成为各国航天事业争夺的制高点^[32-33]。在高能重离子治癌机理、二次癌症诱发和空间辐射健康防护研究中，中国科学院近代物理研究所依托兰州重离子研究装置 (HIRFL) 建成的高能

重离子微束辐照装置是深入开展高能重离子对生物体的辐照效应实验研究的理想工具。

3 微束技术在放射生物学中的主要应用

微束与传统辐照相比, 有以下 3 个优势 (图 2): (1) 微束技术可实现单个粒子辐照单个细胞开展细胞定剂量辐照研究; (2) 可以对细胞核区域及非细胞核区域进行

精确定位辐照研究。在环境低剂量辐射影响与宇宙空间辐射中, 微束技术还可实现细胞群、3D 组织及活体生物局部区域辐射损伤研究; (3) 集成了活细胞成像系统的微束装置在实现精确辐照功能的同时对细胞进行观测成像, 可开展细胞对电离辐射的早期快速响应或蛋白分子的动态研究。所以在能量高、束斑小的微束辐照装置上主要开展细胞的旁观者效应研究、环境及空间辐射中低剂量效应研究、细胞快速响应动态研究有明显优势。

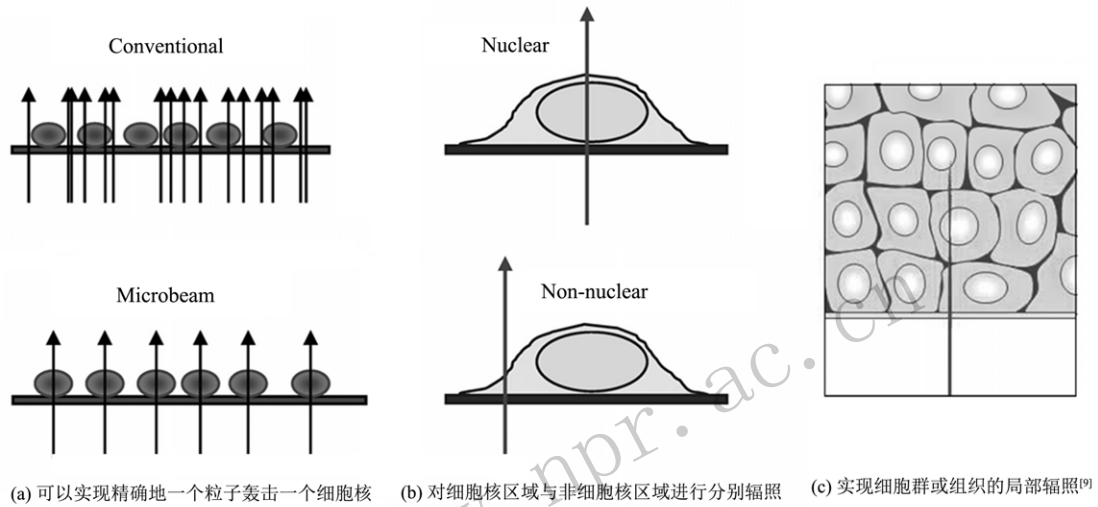


图 2 (在线彩图) 与传统辐射相比, 微束辐射的优势

3.1 细胞的旁观者效应研究

20 世纪 90 年代初, Nagasawa 等^[34]利用 α 源辐照中国仓鼠卵巢细胞(CHO), 实验剂量平均为 1% 的细胞核受到一个 α 粒子的轰击, 发现却有 30% 左右的细胞均发生姐妹染色单体互换。随后 Deshpande 等^[35]在 1996 年利用人成纤维细胞证实了这一现象。这种辐照少量细胞后在其它未辐照细胞中观察到的现象称为非靶辐照效应 (Non-targeted Radiation Effect) 或辐射诱导旁观者效应 (Radiation Induced Bystander Effect, 旁效应)。

利用 α 源等辐照无法区分被辐照细胞和未被辐照的旁细胞, 因此可在微米尺度上精准定位辐照单细胞的生物微束装置成为研究旁效应的最佳工具。利用新建成的 RARAF 生物微束装置, Zhou 等^[36]选择照射样品中 20% 的细胞, 但是整个细胞群体的突变率比预期结果高了 3 倍, 而且通过加入细胞间通讯抑制剂可以有效防止未被辐照细胞损伤。Wu 等^[37]用 Hoechst33342 和 Nile Red 分别标记 A_L 细胞的细胞核和细胞质, 然后利用 RARAF 微束把 α 粒子定位辐照细胞长轴两端的细胞质处 (图 3), 随着细胞质内穿过 α 粒子数的增多, 细胞的存活率下降。RARAF 微束的细胞定位辐照实验更

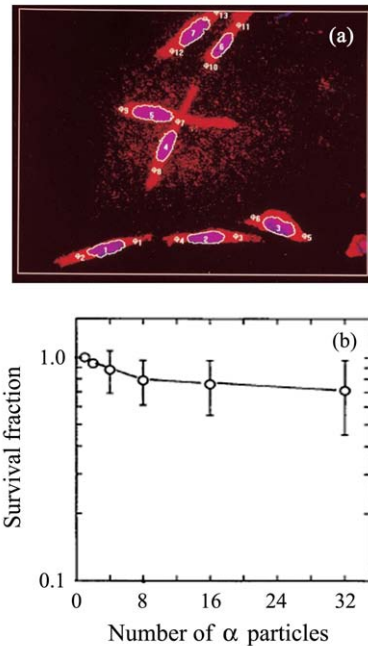


图 3 (在线彩图) A_L 细胞(细胞核经过Hoechst33342染色, 细胞质经过Nile Red染色)在40 X物镜下(a), α 粒子轰击细胞核两端8 μm 处及 A_L 细胞质在受到不同数目 α 粒子照射后细胞存活率(b)^[37]

除了只有细胞核是电离辐射主要敏感靶的传统认识,使细胞内和细胞间的信号传导成为了生物微束的下一热点,凸显了微束装置的独特优势。利用 GCI 微束 Prise 等^[38-39]很快也发现了单个离子辐照可以引起未辐照细胞的微核和凋亡损伤。Tartier 等^[40]采用 He 离子定点辐照细胞质引起核内 53BP1 蛋白 foci 点的出现,同样也观察到了旁观者效应。这些结果不仅扩大了人们对辐射靶物质的认识,同时也使放射生物学家认识到细胞内和细胞间的通讯和信号传导对辐射损伤的放大非常重要,结合放射治疗的旁效应研究有助于防止病人二次癌症的发生。

3.2 环境及空间辐射中的低剂量效应研究

高剂量的电离辐射对体会造成显著的组织损伤,并有很大几率导致癌症产生。冷战的结束和核电站安全系数的提高大大降低了核战争和核事故等人类接受大剂量辐射的发生几率,而人类在正常活动中接触到的医学检查、工作环境辐射和居住环境辐射的剂量都

非常低^[41-45]。旁效应研究中只有少量的单个个体接受辐照,如果按照传统剂量学计算,则群体平均的辐射剂量非常低,实验却观察到了大范围群体损伤。同时临床流行病学数据也表明 10 ~ 50 mSv 的急性照射和 50 ~ 100 mSv 的慢性照射能够引起人类癌症风险,因此低剂量辐射正逐渐引起生命科学工作者的重视^[46-47]。随着载人航天、太空旅行和火星探索等成为人类探索外太空世界的国际热点,太空空间辐射的健康防护需要开展系统的实验模拟研究。银河宇宙射线主要由质子、氦离子和高能重离子组成^[33](图 4(a)),各种离子的离子能量可达 100 ~ 1000 MeV/u。虽然高能重离子射线的通量相对于质子非常低,但是由于其高 LET 特性,重离子射线引起的团簇性 DNA 损伤非常难于进行有效的修复,导致辐照细胞的畸变率很高^[48-49]。此外,居住环境的建筑材料和地下采矿作业环境中释放的氡气带有 α 放射性,长期受到氡气环境影响的铀矿工人得肺癌的几率更高,空气中氡气的危害还可引发白血病、不孕不育、遗传变异等后果^[50-51]。

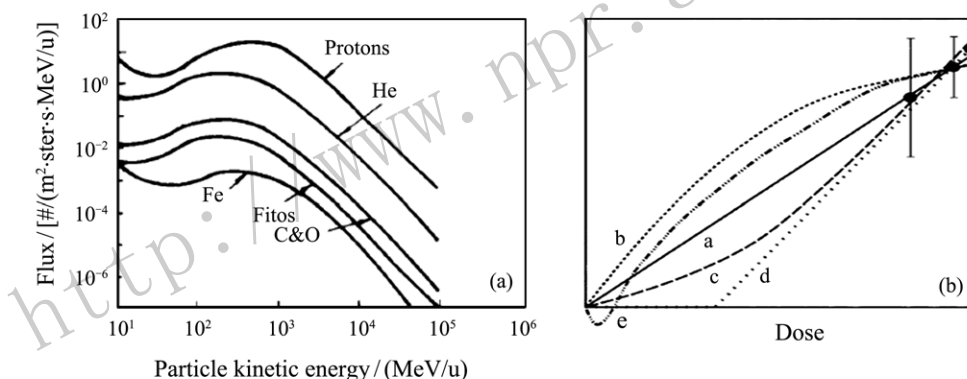


图 4 (在线彩图) 银河宇宙射线中各种离子的能谱图(a)^[33]及低剂量辐射导致癌症风险的几率外推模型(b)^[47]

不同辐射品质的低剂量辐射与人类空间探索和日常生活的各个方面紧密相关,但是系统的低剂量研究数据非常少。根据高剂量辐射下的癌症发病率统计数据和不同的假设,外推的低剂量辐射的癌症风险评估模型如图 4(b) 所示。曲线 a 表明在低剂量区域癌症风险为高剂量发生率的线性外推,即单位剂量的癌症发生率不随剂量而变化,且没有癌症发生的剂量阈值;曲线 b 假设由于敏感患病人员的存在,在低剂量情况下能很快达到患癌风险饱和值,即单位剂量的癌症发生率随剂量的增加而减小;曲线 c 表明大剂量照射会使单位剂量癌症发病率增加,即单位剂量的癌症发生率随剂量的增加而增加;曲线 d 为有癌症发生剂量阈值情况下的线性外推;曲线 e 假设在低剂量辐照后,细胞可能会产生辐射抗性或人体辐射应激反应具有保护作用,而只有在稍大剂

量时癌症发生率才随剂量增加而增加^[47]。高能重离子、MeV 质子/ α 粒子、X 射线、中子等不同粒子类型的微束装置为模拟研究上述不同环境中的辐射提供了理想的辐照工具^[52-57]。

3.3 细胞受照的快速动态响应研究

为了快速捕捉细胞受辐照后的损伤响应和修复动态,通过在生物微束终端集成适宜于活细胞长期培养的在线显微成像系统,可以在辐照的同时研究细胞内荧光标记的目的蛋白或信号分子的空间转移和时间演化,获得相应的蛋白和信号分子的响应并可对其功能进行分析研究。但是由于生物微束实验终端具有复杂的粒子探测、核电子学及其它外围设备,往往需要定制搭建或对商业显微成像系统改进才能集成到微束实

验平台。RARAF实验室的聚焦微束装置上搭建了双光子成像系统可以在线研究3D组织及细胞的短期动态辐射响应事件^[29]。德国GSI微束实验室辐照终端搭建的活细胞成像系统可以利用荧光比率法研究细胞内第二信使游离钙信号的响应和在线检测方法^[58], 在该系统集成荧光漂白恢复技术(Fluorescence Recovery

After Photobleaching, FRAP)后可以获得细胞不同部位DNA修复蛋白的募集动态^[59]。

同时期, Hable等^[60]在慕尼黑工业大学超导核应用纳米微探针上建成了活细胞成像系统并研究了MDC1蛋白在DNA双链断裂(DSB)处的修复动态信息(图5)。

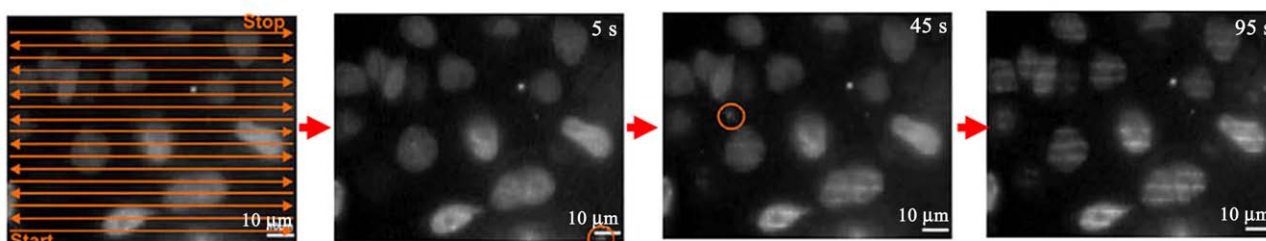


图5 (在线彩图) SNAKE上用55 MeV碳离子辐照人类骨瘤细胞U2OS, 在损伤位点聚集表达的MDC1-GFP蛋白^[60]

4 HIRFL微束及其在生命科学中的应用

4.1 HIRFL高能重离子微束装置

IMP在HIRFL TR0终端上建成的重离子生物微束装置如图6所示。HIRFL微束装置采用电磁聚焦, 经过狭缝选择的离子束在垂直段经三组合四极磁铁聚焦, 穿过真空靶室下的真空窗后在空气中形成微米尺寸束斑。该装置已经成功地将80.5 MeV/u的¹²C⁶⁺离子束在大气中聚焦至微米束斑, 是目前世界上能量最高的微束装置。

易与其他平台如显微镜成像系统等整合。安装于三维位移台上的奥林巴斯IX81倒置荧光显微镜(含Retiga-4000RV CCD)位于真空窗下方, 用于开展样品的精确辐照和在线活细胞成像等放射生物学实验研究。为减小微束束流的散射, 应使培养在专用细胞盘内的细胞距离真空窗200 μm左右。定制的三维控制台由步进电机控制, X/Y/Z轴的移动定位精度误差均可控制在2 μm之内, 可为生物样品辐照区域提供微米量级的准确定位。通过微束束流控制软件可以为目标生物样品提供所需的离子辐照。基于HIRFL重离子微束装置, 我们已建立了活细胞辐照和在线成像系统、小鼠定位辐照系统、单粒子效应分析成像系统、器件/材料的微区辐照系统等多学科交叉使用的微束实验平台, 并开展了相关实验。

4.2 HIRFL重离子微束的生命科学研究

HIRFL重离子微束开展了重离子诱导旁效应实验、小鼠丘脑体重离子辐照效应和DNA损伤快速修复动态等方面的一些实验研究^[16]。相对于质子和α粒子诱导旁效应实验研究, 利用重离子开展旁效应的研究报道非常有限, 对于重离子是否能诱导显著的旁观者效应仍存在一定的争论。采用高能碳离子微束(80.5 MeV/u)辐照φ35 mm培养皿中的局部HeLa细胞, 利用培养基转移实验发现微区辐照HeLa细胞的培养基并未引起共培养细胞微核频率的显著增加(图7(a))。通过微束以10 Gy定位辐照活体小鼠的下丘脑结节乳头核区域, 并进行睡眠唤醒实验测量, 发现10 Gy辐照剂量对小鼠没有造成显著睡眠影响(图7(b))。基于HIRFL微束的在线活细胞成像系统和单离子辐照系统, 实验采用6.2 MeV/u

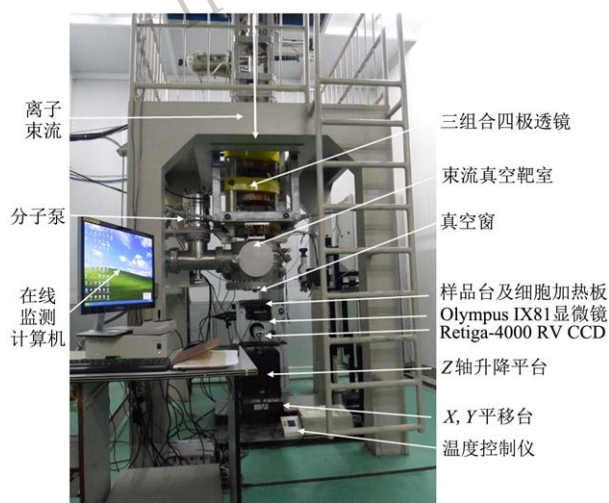


图6 (在线彩图) HIRFL重离子微束辐照实验终端装置图

由于HIRFL微束可提供几MeV/u至百MeV/u的重离子束流, 并且微束焦点在空气中, 所以适宜于生物活样品和大样品的辐照实验。样品平台可大行程移动,

的 Ni 单离子微束辐照转有内源性 XRCC1-RFP 蛋白的 HT1080 细胞, 通过实时荧光成像, 观察到 XRCC1 蛋白在 20 s 内就形成了荧光亮点, 表明 XRCC1 蛋白在离子辐照后被迅速募集到 Ni 离子的辐照位点(图 7(c))。另外, 在单细胞单离子辐照实验中, 通常仅对细胞盘中的特定细胞进行辐照, 被辐照细胞数量占比非常小, 为

了对被辐照的某些细胞个体进行离线观察检测, 我们用光刻技术制备了具有坐标标记的细胞盘(图 7(d)), 通过坐标位置可以快速在其它显微镜下找到这些感兴趣的细胞。这些生物学辐照实验表明 HIRFL 已经具备开展细胞样品和模型动物样品的精确定位和局域辐照及活细胞成像在线检测实验的能力。

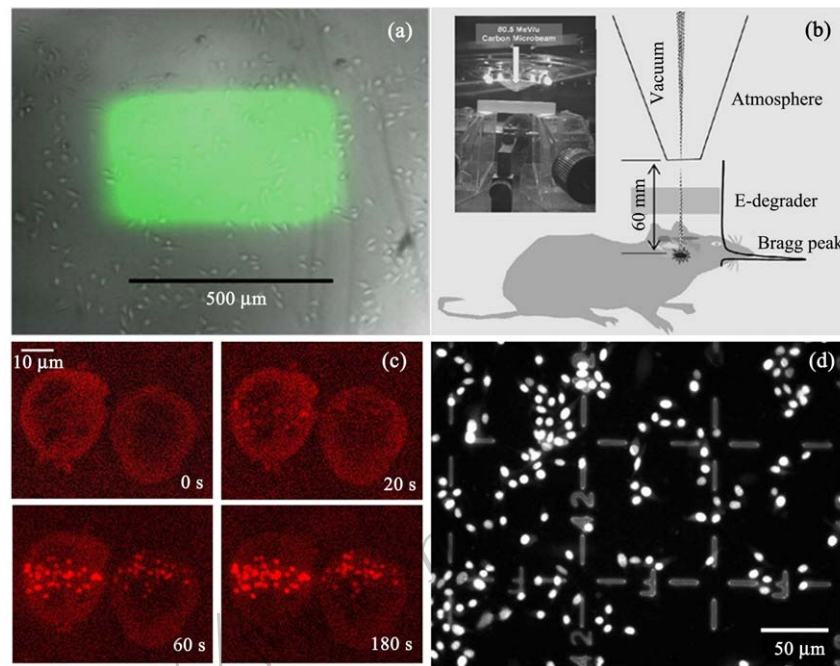


图 7 (在线彩图)HIRFL 微束开展的不同类型的生物样品辐照实验

(a) 培养在普通 $\phi 35$ mm 培养皿中的 HeLa 细胞部分细胞受到 80.5 MeV/u 的 C 离子微束扫描辐照(中间亮区为辐照区域)^[16]; (b) 利用 C 离子定位辐照小鼠的下丘脑结节乳头核区域^[16]; (c) HT1080(XRCC1-RFP) 细胞 6.2 MeV/u 的 Ni 离子扫描后 XRCC1 蛋白快速募集至单离子轰击位点; (d) 下丘脑结节乳头核区域培养在带有刻度标记的可寻址细胞盘被细胞经 Hoechst33342 染色。

4.3 DNA 损伤修复动态的活细胞成像研究

HIRFL 微束装置活细胞成像系统由奥林巴斯 IX81 显微镜、自制细胞外培养系统和图像获取系统组成, 可以实现在暴露环境中无菌、长时间、恒温培养和自定义时间轴的多通道、多位置的活细胞荧光三维显微成像, 并满足不同能量离子辐照细胞要求。在线活细胞成像系统简易方便可移动且具有普遍适用性, 在普通标准荧光显微镜环境下均可实现在线可控活细胞成像实验研究。

采用 X 射线、 ^{241}Am α 放射源、Kr 离子及 Ni 的离子束分别对转有内源性 XRCC1-RFP 蛋白 HT1080 细胞样品进行辐照成像实验, 首次成功观测到了 HT1080 细胞受到电离辐射后, 修复蛋白 XRCC1 在 DNA 损伤位点处的快速聚集(图 8)。

将样品放置在 X 射线机里 (RX-650, 美国 Faxitron 公司) 进行剂量为 5 Gy 的辐照, 辐照完成 5 min 后放置在活细胞成像系统上进行在线成像观察(图 8(a))。 α 粒子由 ^{241}Am 放射源衰变产生, 活度为 3.0×10^4 Bq, 将 α 源直接放置在样品中间区域部分, 辐射 20 min 后取走, 然后对细胞内标记蛋白进行在线跟踪观察(图 8(b))。HIRFL 高能重离子微束装置终端提供 Kr(25 MeV/u) 离子束和 Ni(6.2 MeV/u) 离子束, 经聚焦调节后束斑尺寸在 $6 \sim 10 \mu\text{m}$ 。离子束辐照后 20 s 时就可以看到明显的 foci 点(图 8(c,d))。

X 射线、 α 粒子、Kr 离子及 Ni 离子的射线品质不同, LET 值及对样品产生的相对生物学效应也不同, 因而可看到荧光标记蛋白 XRCC1 在上述 4 种辐射情况下的聚集速率也不同。可知不同类型的辐射损伤对细胞内引起的修复机制也不同, 具体机理需要进一步研究。

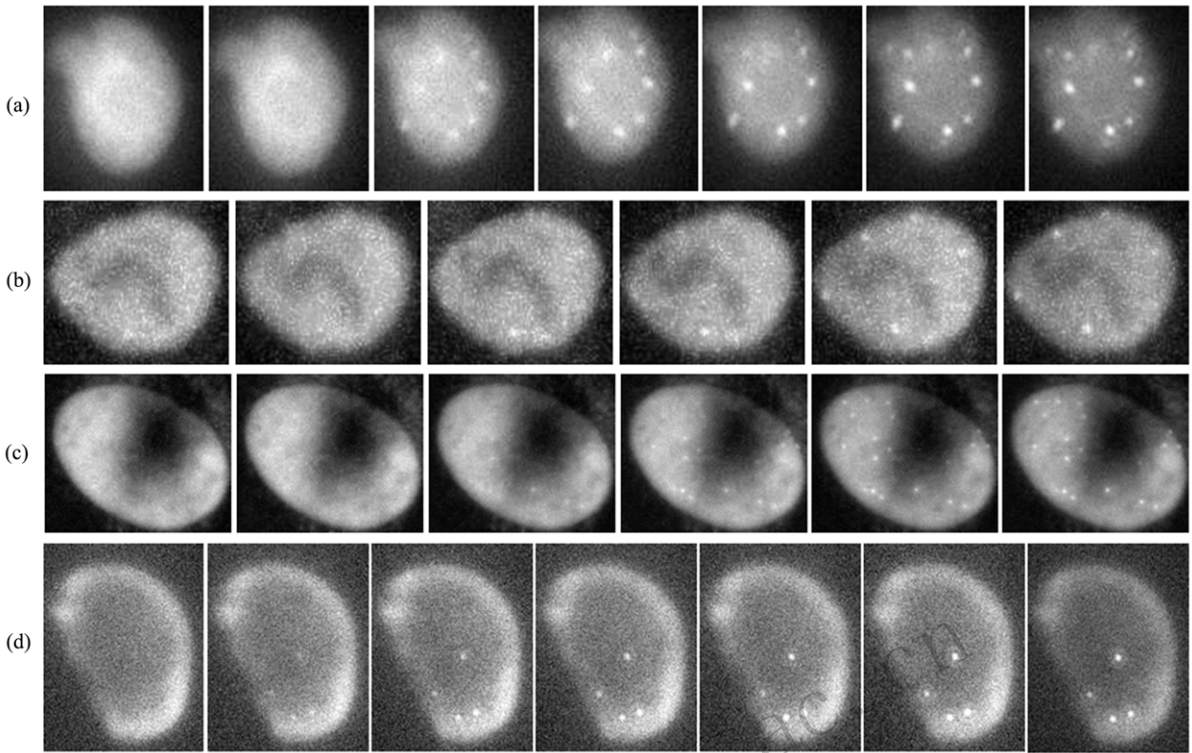


图 8 (在线彩图) HT1080活细胞中XRCC1蛋白在不同电离辐射后的募集动态
 (a) 5 Gy X射线, 辐照5 min后开始图像采集, 帧间隔30 s; (b) α 粒子(5.486 MeV, ^{241}Am 放射源)在线辐照, 帧间隔10 s;
 (c) 25 MeV/u Kr离子, 在线成像采集, 帧间隔20 s; (d) 6.2 MeV/u Ni离子在线轰击, 帧间隔10 s。

选取由 Ni(6.2 MeV/u) 离子辐照后细胞核内的两个相同大小的区域点 S1 和 S2, 如图 9(a) 所示, 其中 S1 点正好落在离子辐照产生 foci 点的位置, S2 正好在离子未辐照的位置处, S1 和 S2 点相对于细胞核的平均荧光亮

信息随时间的变化分别对应图 9(b) 中的黑色实心点和红色空心点。可知, 当受到离子辐射后, 细胞内标记的修复蛋白从细胞核中聚集到了 DNA 的损伤位点处, 细胞核内的修复蛋白总数量保持不变。

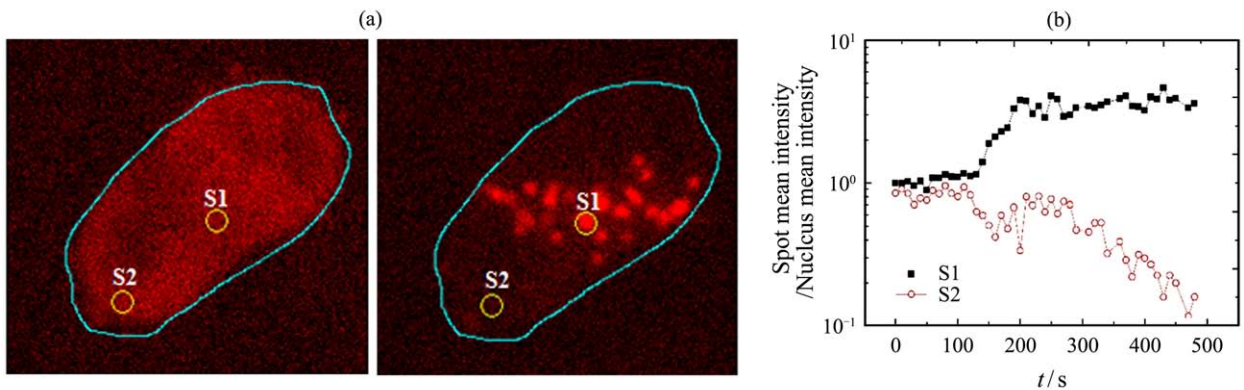


图 9 (在线彩图) 在细胞核内选取S1和S2及S1和S2两个斑点分别相对于细胞核的亮度变化曲线图

4.4 高能重离子微束的潜在应用

高能重离子具有独特的能量沉积 Bragg 峰, 在离子射程末端单位距离能量沉积几倍于表层区域, 且具有较高的相对生物学效应, 因此在某些肿瘤的治疗效果和

放疗副作用方面优于 X 射线和 γ 刀。高能碳离子治癌已经在日本、欧洲、美国等地区开展了大量临床治疗, HIRFL 微束装置具有同一个大型治疗终端相似的束流聚焦、点扫描、剂量控制和精确定位系统(图 10), 提供的 80 MeV/u 碳离子微束在人体组织中射程可达近 20

mm, 在空气中的聚焦束斑可以点扫描方式精确辐照毫米及亚毫米大小的患者病灶。由于可以将入射微束在组织内聚焦至较小尺寸, 精确控制束斑位置避开敏感器官, 因此非常适宜于小肿瘤和敏感器官肿瘤的精确定离子

放疗。另外, 由于 HIRFL 微束提供的离子能量高, 在样品内的射程长, 适宜于对胚胎、组织和模型动物进行精确的单粒子辐照实验, 研究环境辐射和空间高 LET 辐射的低剂量效应。

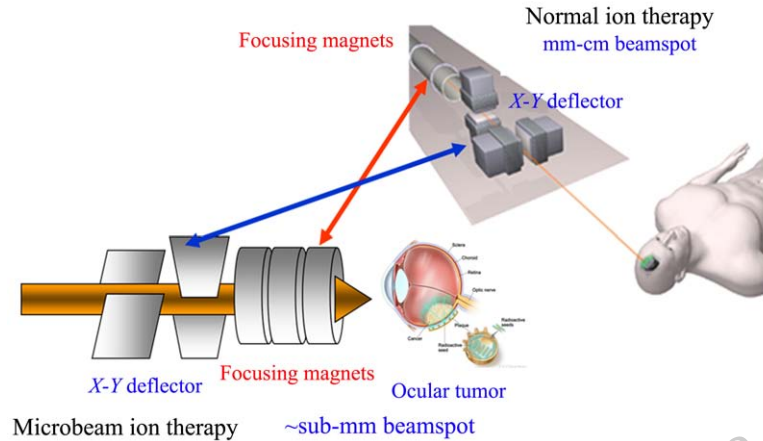


图 10 (在线彩图) 高能重离子微束可潜在应用于微小肿瘤的精确放疗

5 总结与展望

生物微束装置已经不再局限应用于生物学研究, 而是正逐渐发展成多学科技术集成的先进实验平台, 实时、快速、精准和高分辨地获取电离辐射后单细胞、细胞器和生物分子的时空动态信息是未来利用微束开展生命科学研究的趋势。HIRFL 重离子微束辐照装置将发挥其能量高、LET 高和多离子种类的特点, 改进微束品质和单粒子精确打靶技术, 逐步完善微束生命科学实验技术和系统整合, 重点在空间辐射效应模拟、重离子治癌机理研究和微束精准放疗应用领域的开展研究。

致谢 感谢 HIRFL 加速器物理和运行人员的长久支持, 感谢兰州重离子加速器国家实验室提供的束流时间, 感谢中国科学院百人计划项目对本工作的资助与支持。

参考文献:

- [1] ZIRKLE R E, BLOOM W. *Science*, 1953, **117**: 487.
- [2] GEARD C R, BRENNER D J, RANDERS-PEHRSON G, *et al.* *Nucl Instr and Meth B*, 1991, **54**(1/3): 411.
- [3] KAMIYA T, YOKOTA W, KOBAYASHI Y, *et al.* *Nucl Instr and Meth B*, 2001, **181**: 27.
- [4] LEGGE G J F. *Nucl Instr and Meth B*, 1997, **130**(1/4): 9.
- [5] FISCHER B E. *Nucl Instr and Meth B*, 1991, **54**: 401.
- [6] KOBAYASHI Y, FUNAYAMA T, HAMADA N, *et al.* *J Radiat Res*, 2009, **50**: 29.
- [7] GERARDI S. *J Radiat Res*, 2009, **50**: 13.
- [8] NAGASAWA H, LITTLE J B. *Cancer Research*, 1992, **52**: 6394.
- [9] PRISE K M, SCETTINO G, VOJNOVIC B, *et al.* *J Radiat Res*, 2009, **50**: 1.
- [10] HU Zhiwen, WU Lijun, YU Zengliang. *Plasma Science & Technology*, 2005, **7**(2): 2789.
- [11] SONG Mingtao, SHENG Lina, WANG Zhiguang, *et al.* *Chinese Physics C*, 2008, **32**: 259. (in Chinese)
(宋明涛, 盛丽娜, 王志光, 等. *中国物理C*, 2008, **32**: 259.)
- [12] SHENG Lina, SONG Mingtao. *Atomic Energy Science and Technology*, 2008, **42**: 1135. (in Chinese)
(盛丽娜, 宋明涛. *原子能科学技术*, 2008, **42**: 1135.)
- [13] SHENG Lina, SONG Mingtao, LIU Jie, *et al.* *Nuclear Physics Review*, 2009, **26**: 215. (in Chinese)
(盛丽娜, 宋明涛, 刘杰, 等. *原子核物理评论*, 2009, **26**: 215.)
- [14] SHENG Lina, SONG Mingtao, ZHANG Xiaoqi, *et al.* *Nucl Instr and Meth B*, 2011, **269**: 2189.
- [15] DU Guanghua. *Nuclear Physics Review*, 2012, **29**: 371. (in Chinese)
(杜广华. *原子核物理评论*, 2012, **29**: 371.)
- [16] DU Guanghua, GUO Jinlong, WU Ruqun, *et al.* *Nucl Instr and Meth B*, 2015, **348**: 28.
- [17] DYMNIKOV A D, OVSYANNIKOVA L P, YAVOR S Y. *Soviet Physics-Technical Physics (USA)*, 1963, **4**: 293.
- [18] FISCHER B E, SPOHR R. *Nucl Instr and Meth*, 1980, **168**: 241.
- [19] DEMORTIER G, MATHOT S, VANOYSTAEYEN B. *Nucl Instr and Meth B*, 1990, **49**: 46.
- [20] RYAN C G, JAMIESON D N. *Nucl Instr and Meth B*, 1993, **77**: 203.
- [21] KHODJA H, BERTHOUMIEUX E, DAUDIN L, *et al.* *Nucl Instr and Meth B*, 2001, **181**: 83.
- [22] MICHAEL B D, FOLKARD M, PRISE K M. *Int J Radiat Biol*, 1994, **65**(4): 503.

- [23] ROHRIG N, COLVETT R D, MARINO S A. Radiation Research, 1978, **74**: 485.
- [24] PENG Shixiang, GILCHRIST S, FOLKARD M, *et al.* Vacuum Science and Technology(China), 2002, **22**: 89. (in Chinese)
(彭士香, GILCHRIST S, FOLKARD M, 等. 真空科学与技术, 2002, **22**: 89)
- [25] BIGELOW A, GARTY G, FUNAYAMA T, *et al.* J Radiat Res, 2009, **50**: 21.
- [26] VOSS K O, FOURNIER C, TAUCHER-SCHOLZ G. HeNew Journal of Physics, 2008, **10**: 075001.
- [27] DATZMANN G, DOLLINGER G, GOEDEN C, *et al.* Nucl Instr and Meth B, 2001, **181**: 20.
- [28] MORETTO P, MICHELET C, BALANA A, *et al.* Nucl Instr and Meth B, 2001, **181**: 104.
- [29] BIGELOW A W, ROSS G J, RANDERS-PEHRSON G, *et al.* Nucl Instr and Meth B, 2005, **231**: 202.
- [30] WANG Xufei, WANG Xiaohua, CHEN Lianyun, *et al.* Science China Press, 2004, **49**: 1677. (in Chinese)
(王旭飞, 王晓华, 陈连运, 等. 科学通报, 2004, **49**: 1677.)
- [31] LI Jiaqing, WANG Xufei, ZHANG Jiexiong, *et al.* Atomic Energy Science and Technology, 2013, **47**: 1916. (in Chinese)
(李嘉庆, 王旭飞, 张杰雄, 等. 原子能科学技术, 2013, **47**: 1916.)
- [32] FENG Y, HUA G, LIU S. Journal of Astronautics, 2007, **28**: 1071. (in Chinese)
(冯彦君, 华更新, 刘淑芬. 宇宙学报, 2007, **28**: 1071.)
- [33] WANG T, SHEN Y, WANG S, *et al.* Journal of National University of Defense Technology, 1999, **21**: 36. (in Chinese)
(王同权, 沈永平, 王尚武, 等. 1999, **21**: 36.)
- [34] NAGASAWA H, LITTLE J B. Cancer Research, 1992, **52**: 6394.
- [35] DESHPANDE A, GOODWIN EH, BAILEY SM, *et al.* Radiat Res, 1996, **145**(3): 260.
- [36] ZHOU H, RANDERS-PEHRSON G, WALDREN C A, *et al.* Proc Natl Acad Sci, 2000, **97**: 2099.
- [37] WU L, RANDERS-PEHRSON G, XU A, *et al.* Proc Natl Acad Sci USA, 1999, **96**: 4959.
- [38] PRISE K M, BELYAKOV O V, FOLKARD M, *et al.* International Journal of Radiation Biology, 1998, **74**(6): 793.
- [39] BELYAKOV O V, MALCOLMSON A M, FOLKARD M, *et al.* British Journal of Cancer, 2001, **84**(5): 674.
- [40] TARTIER L, GILCHRIST S, BURDAK-ROTHKAMM S, *et al.* Cancer Res, 2007, **67**: 5872.
- [41] EUKEL W W, HUBER W. Food Technology, 1960, **14**: 198.
- [42] COLLINS V P. Journal of Nuclear Medicine, 1960, **1**: 110.
- [43] MCCORMIC W G, STEFF S. Obstetrics and Gynecology, 1970, **36**: 688.
- [44] WARREN S. Journal of Forensic Sciences, 1980, **25**:721.
- [45] DAHL O, HORN A, MORILD I, *et al.* Cancer, 1990, **66**: 2286.
- [46] PRISE K M, FOLKARD M, MICHAEL B D. Radiation Protection Dosimetry, 2003, **104**(4): 347.
- [47] BRENNER D J, DOLL R, GOODHEAD D T, *et al.* Proc Natl Acad Sci, 2003, **100**: 13761.
- [48] ZIRKLE R E. New York: Academic Press, 1957, 103.
- [49] BLOOM W. Reviews of Modern Physics, 1959, **31**: 66.
- [50] SETLOW R B. Mutation Research, 1999, **430**: 169.
- [51] SCHIMMERLING W. Radiation and Environmental Biophysics, 1995, **34**: 133.
- [52] SCETTINO G, FOLKARD M, PRISE K M, *et al.* Radiation research, 2001, **156**(5 Pt 1): 526.
- [53] GERARDI S, GALEAZZI G, CHERUBINI R. Radiation Research, 2005, **164**(4 Pt 2): 586.
- [54] MAEDA M, USAMI N, KOBAYASHI K. Journal of radiation research, 2008, **49**(2): 171.
- [55] UGENSKIENE R, PRISE K, FOLKARD M, *et al.* International Journal of Radiation Biology, 2009, **85**(10): 872.
- [56] CHOI V W, YUM E H, KONISHI T, *et al.* Journal of Radiation Research, 2012, **53**(3): 475.
- [57] TOMITA M, MAEDA M. Journal of Radiation Research, 2015, **56**(2): 205.
- [58] DU G, FISCHER B E, VOSS K O. Nucl Instr and Meth B, 2011, **269**: 2312.
- [59] MERK B, VOSS K O, MULLER I, *et al.* Nucl Instr and Meth B, 2013, **306**: 81.
- [60] HABLE V, GREUBEL C, BERGMAIER A, *et al.* Nucl Instr and Meth B, 2009, **267**(12-13): 2090.

Microbeam Application in Radiation Biology

GUO Na^{1,2}, DU Guanghua¹, LIU Wenjing¹, GUO Jinlong¹, WU Ruqun¹, CHEN Hao^{1,3}

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

2. *University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China;*

3. *Lanzhou University, Lanzhou 730000, China*)

Abstract: The microbeam facility can provide micrometer scale localized and predefined ionizing radiation in the life science study, and the microbeam techniques play a unique role in determining the target substances of ionizing radiation, as well as in the study of radiation sensitivity, mechanisms of radiation damage response and repair. This paper summarizes the technical developments of biological microbeam facilities and their applications in the studies of low-dose radiation effect, bystander effect and cellular signaling. This paper also introduces the recent developments at the heavy-ion microbeam facility in the Institute of Modern Physics (IMP), which can provide heavy ion microbeam irradiation with energy of 7 ~ 80 MeV/u and LET of 30 ~ 3000 keV/ μm . The facility can perform radiobiological irradiation and online investigation in living cells and mice, including bystander effect study, sleeping system influence after irradiation to mice hypothalamus and the recruitment dynamics of XRCC1 protein.

Key words: heavy ion; microbeam technique; radiation biology

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

Received date: 18 Dec. 2015; **Revised date:** 20 Jan. 2016

Foundation item: Hundred Talents Program of Chinese Academy of Sciences (Y150310BRO), National Natural Science Foundation of China(31200630, U1632271), Ministry of Science and Technology(2012YQ03014204)

Corresponding author: Du Guanghua, E-mail: gh_du@impcas.ac.cn.