

文章编号: 1007-4627(2003)01-0038-04

重离子束在诱变育种和分子改造中的应用*

卫增泉¹, 颌红梅¹, 梁剑平¹, 袁世斌¹, 冯 岩¹, 谢忠奎²

(1 中国科学院近代物理研究所, 甘肃 兰州 730000;

2 中国科学院寒区旱区环境与工程研究所, 甘肃 兰州 730000)

摘 要: 重离子束具有与中性辐射 X, γ 和中子不同的特性, 利用这些特性开展它在生物学领域内的应用和基础研究具有重要的理论和实际意义. 简要阐述了这种应用的理论基础, 以及多年来实践的一些工作与取得的结果.

关键词: 重离子束; 诱变育种; 分子改造; 应用

中图分类号: Q691 **文献标识码:** A

1 引言

常规的 X, γ 射线和中子等中性辐射会造成细胞、生物分子的损伤和突变已被研究所证实, 它们的应用在诸多领域中已经实现, 机理研究也进入到相当深度. 然而, 荷能重带电粒子(即重离子束)对生物影响的研究及其在生命科学领域中的应用方兴未艾, 有待进一步开发.

为了科学地、有效地实现重离子束在生命科学领域中的应用价值, 近年来, 核物理学家和生物学家合作, 对其在物理学和生物学上表现出的特征开展了广泛的研究. 重离子束对生物体系的作用, 按其能量的高低可能有 3 种基本过程: 在能量较高或受体线度较小的情况下, 表现为重离子束贯穿, 这时主要是能量转移, 即能量传递的一重效应; 在上述情况下若有电荷交换, 即表现为能量与电荷的二重效应; 在能量较低或受体线度较大时, 表现为重离子束注入, 这时便会产生能量动量转移、电荷交换及质量沉积三重效应.

重离子束作为一种新的辐射源, 在生命科学研究中居有重要的独特地位, 因为它具有常规辐射源所没有的优势: (1) 传能线密度(LET)大, (2) 相对生物效率(RBE)高, (3) 损伤后修复效应小, (4) 能量沉积的空间分辨性好, (5) 氧效应小, (6) 细胞在不同相内对重离子束敏感性的差异小, 等.

重离子束具有的这种独特优势在肿瘤治疗上可以用来高效、准确地杀死癌细胞, 而周围的健康组织免遭(或减小)损伤, 正像一把锋利的不流血的手术刀, 利用这种技术可以使我国的放射治疗技术跨入当代先进行列, 更好地造福人类^[1,2].

重离子束还可以用来进行定点定位诱变研究, 探索定向育种新技术, 有可能改变过去传统的无方向性的随机育种局面, 创造一套全新的育种手段, 大大提高育种效率, 缩短育种周期^[3-5], 为农业和医药食品工业达到优质增产的目的, 创造明显的经济和社会效益.

还可以通过实验寻找参数合适的重离子, 来进行生物分子改性研究, 或进行药物分子的改造^[6], 最终达到人工制造人类需要的新分子, 使其在加快新药研制、治疗疾病、优化物种、推动生物进化中起积极作用, 由此可建立起一门新的生物技术——重离子束生物工程.

2 理论基础

能量高于 0.1 MeV/u 的重离子在通过介质时, 主要与介质的核外电子发生作用, 造成电子碰撞阻止, 这时在单位路程上的能量损失率 $-dE/dx$ (有时称它为传能线密度(LET)) 不仅与介质材料性质有关, 还与离子能量、离子有效电荷数关系极大.

收稿日期: 2002-09-20; 修改日期: 2002-09-25

* 基金项目: 国家自然科学基金重点项目(19135022); 中国科学院重点项目(KJ952-S1-424); 甘肃省自然科学基金重点项目(C34); 中国科学院寒区旱区环境与工程研究所创新项目(210069)

作者简介: 卫增泉(1939-), 男(汉族), 江苏吴县人, 研究员, 博士生导师, 从事(重离子)物理学与生命科学交叉学科的研究.

重离子的 LET 要比 X, γ 射线的大得多, 因此它对生物介质作用到的部位损伤很密, 造成细胞核中 DNA 分子双链断裂比例显著增加, 表现出损伤程度比较严重, 不是细胞致死, 就是突变率高, 而且损伤不易修复, 突变体稳定较快. 这些特性在诱变育种中具有很大的优越性, 可以采用较小的剂量达到诱变目的, 而且突变率高、突变体稳定性好和育种周期短.

在能量低于 0.1 MeV/u 时, 与介质的作用主要表现为核碰撞阻止, 它会造成介质中大量原子位移, 形成物质缺陷和分子组分与结构的变化. 即使中、高能离子, 只要它们被阻止在所研究的物质中, 那么在它们被阻止前总要经历能量低于 0.1 MeV/u 的过程, 因而也会具有低能、超低能的特性: 除了能量转移外, 还会发生电荷交换和质量沉积. 可以利用这个特性来改造生物分子, 进而可能造成生理生化反应或遗传性状的变化.

上面提及的重离子传能线密度 LET 是沿其行进路程而变化的, 对于多电荷重离子射入介质后, 可根据 Bethe-Bloch 公式

$$\left(-\frac{dE}{dx}\right)_{\text{电离}} = \left(\frac{4\pi z^2 e^4 N Z}{m_e v^2}\right) \cdot \left\{\ln\left[\frac{2m_e v^2}{I(1-\beta^2)}\right] - \beta^2 - \frac{C}{Z}\right\}$$

来描述, 式中符号见参考文献[2]. 一方面, 重离子随着能量不断损失而速度逐渐减小, 另一方面, 在离子路程上因获得电子而使其电荷数变小, 因此在开始一段路程上, 能量损失值几乎保持不变. 随着离子向前行进, 速度越来越小, 而有效电荷数不再变化, 直到离子能量耗尽时, 整个射程骤然截止. 截止前产生一个尖锐的能量损失峰, 即 Bragg 峰, 此时 LET 在很长一段行进路程上相对较小, 到最终骤然增大. 这种能量沉积空间分辨高的特性, 就会使生物系统受到严重影响的部位是局部的, 其它部位影响较小. 因此, 总体来看, 重离子束对生物体系的作用, 有利于获得更多突变体, 提高突变率. 同时, 这种局部受损的部位可以随离子能量的高低而变化, 是可以调控的、可以选择的, 这有利于实现宏观定点定位诱变, 探索定向育种. 这种能量沉积空间分辨性好的特性也非常适用于肿瘤治疗, 它能高效、准确地杀死癌细胞, 对消除癌细胞集中的瘤块和保护周围健康组织特别有利.

重离子参数多样, 有利于拓宽突变谱. 采用不同种类、不同能量和不同剂量的重离子束, 对生物体系(例如: 作物种子、微生物等)做不同方式的处理, 可能获得人类不同需求的多种类型突变体(例如: 丰产、优质、抗病、矮秆、耐旱、耐寒、耐热、早熟、不易退化等). 在离子注入情况下, 通过注入离子与原生物分子相互作用(置换、加成等反应), 可能改造并构成人类需要的新的生物分子, 这与分子生物学上常规利用切割酶, 切开分子再进行组装是不一样的, 尽管离子注入目前只能随机产生新分子, 但它可以“真正创造”新分子, 而利用切割酶仅仅是分子的改组或装配.

重离子束在辐照生物体系时, 受体细胞表面受损和穿孔, 从而引起细胞膜透性和跨膜电场改变, 有利于带负电荷的外源 DNA 主动进入细胞. 另一方面, 重离子束辐照导致受体 DNA 损伤, 激活受体细胞的修复机制, 有利于外源 DNA 与受体细胞 DNA 的重组和整合. 这两点有可能提高外源基因导入率、克服转基因沉默并延长表达时间. 重离子束介导外源基因不必通过与载体重组这一中间环节, 而且可以转导大片段 DNA 甚至全 DNA, 这就简化了步骤, 可以缩短周期、降低成本^[7].

3 科学实践

基于上述理论, 我们进行了多年重离子束在生命科学领域中的应用基础研究.

重离子束是由兰州重离子加速器国家实验室(NLHIAL)兰州重离子研究装置(HIRFL)提供的. 目前该装置可提供 20 多种稳定离子束(最高能量可达 100 MeV/u)以及几十种放射性离子束(最大流强可达 10^6 ions/s). 在为应用研究建立的辐照终端上, 可提供面积最大可达 5 cm×5 cm 的比较均匀的离子束. 在该装置上除主要研究重离子物理基础研究外, 还为重离子物理相关交叉学科的应用及其基础研究创造了条件. 近年来, 我们所做的工作及取得的初步成果大致如下:

(1) 改良植物品种

采用了各种不同种类、不同能量的离子, 连续多年对不同种类的植物进行了诱变育种, 通过实验室观察与田间培育, 已经获得了一批新品系和许多突变材料, 其中较好的有:

1) 来自亲本“定西-24”的抗旱、抗逆、优质春

小麦新品系 95-119.

2) 来自亲本“张掖-14615”的矮秆、抗逆、高产、优质春小麦新品系 M-920(见图 1).

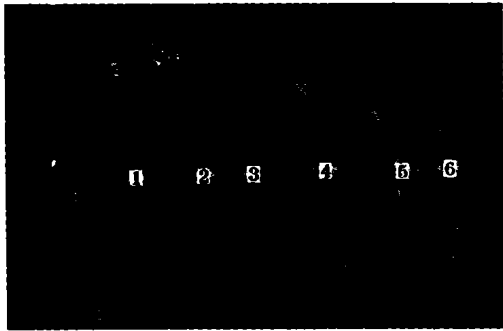


图 1 诱变后的春小麦 920

1 对照, 株高 110—120 cm, 穗型圆柱形; 2 株高变成 100 cm; 3 株高变成 100 cm, 穗型变成纺锤形; 4 株高变成 100 cm, 穗型变成长方形; 5 株高变成 95 cm, 芒型变为顶芒; 6 株高变为 80—90 cm.

以上新品系已在甘肃省中、西部地区试种千亩以上(最多已近 3 万亩), 深受农户欢迎, 拟在品种审定后, 正式提供生产, 推广使用.

3) 诱变进口马铃薯“大西洋”, 当代大薯率增加 50%, 小薯率减少 50%, 单株上结实个大、数多, 单株产量提高 30%—50%(见图 2).

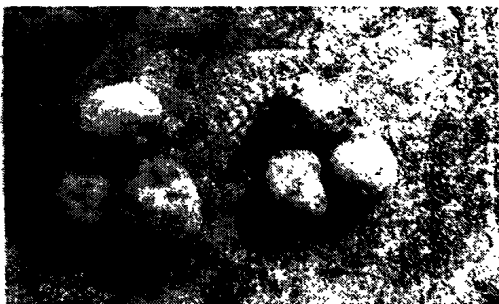


图 2 诱变后的进口马铃薯“大西洋”(左边)

4) 诱变新疆白皮脆瓜, 当代就获得含糖量增加、肉质颜色变深、个大和一藤结 4 瓜(原一藤只结一个)等优良变异株(见图 3).

5) 诱变蔬菜荷兰豆, 当代就选育出茎秆变矮、肉质增厚、嫩荚宽度增大的优良变异株(见图 4).

6) 辐照处理禾本科草籽“美国细茎披碱草”和菊科草籽后, 在大田中已选出叶片变厚、叶色深绿、生长势增强的禾本科牧草与叶片形状、茎秆和叶脉颜色发生了很大变化的菊科品种新株系.

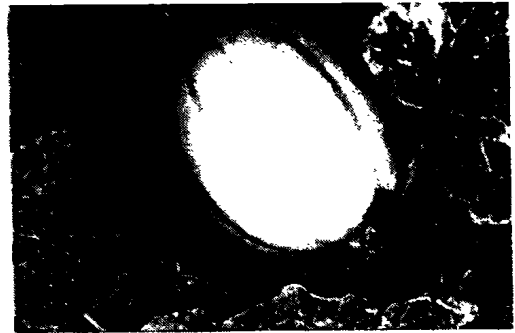


图 3 诱变后的新疆白皮脆瓜

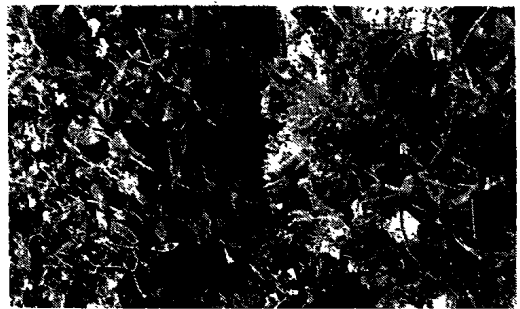


图 4 诱变后的蔬菜荷兰豆, 与对照相比, 茎秆变矮、肉质增厚、嫩荚宽度增大; 左侧是对照

7) 中药材——岷山当归在经重离子束辐照后, 已选育出茎秆变粗、颜色变深、茎叶铺展面扩大、生长茁壮的新株系.

8) 牵牛花籽被处理后, 使其结出的花瓣由单瓣变为双瓣, 由粉红变为深红(见图 5).



图 5 诱变后的牵牛花与对照相比, 花瓣由单瓣变为双瓣, 颜色由粉红变为深红; 左侧是对照

(2) 提高药物活性

1) 微生物——庆大霉素生产菌绛红色小单孢菌进行辐照处理后, 选出了孢子量丰富、菌落出现时间缩短 40 h、正突变率达到 69.1%的、效价高达 2 000 μg/mL 的突变株.

2) 辐照兽药噻烯酮后, 使其抗菌活性明显提

高, 抑菌圈增大, 最小抑菌浓度减小。

(3) 改造分子结构

1) 质子(p)辐照甘氨酸水溶液, 使甘氨酸(分子式为 $\text{NH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$)聚合成甘甘二肽(分子式为 $\text{NH}_2\text{CH}_2\text{CONHCH}_2\text{COOH}$)。

2) 铁离子注入 L(+)-半胱氨酸薄膜 $\text{HS}[\text{CH}_2\text{CH}(\text{NH}_2)\text{COOH}]$ 后, 通过 X 射线单晶衍射分析, 直接证实获得了含铁的稳定新产物: $[\text{CH}_2\text{CH}(\text{NH}_2)\text{NO}_2]\text{ClFe}$ (见图 6)^[8]。

3) 铁离子注入原卟啉 IX 二钠盐薄膜后, 金属铁取代了卟啉中吡咯环上 N—H 键上的 H 原子, 生成了新的稳定的有机铁络合物。初步实验看到了这种铁卟啉化合物有着与血红素类似的功能。

(4) 介导外源基因

沙打旺草籽经辐照后, 浸泡在 GUS 基因的培养基中, 经萌发获得了变异株, 它们与对照相比,

叶片绿色变淡, 有的还出现了红色小斑点。

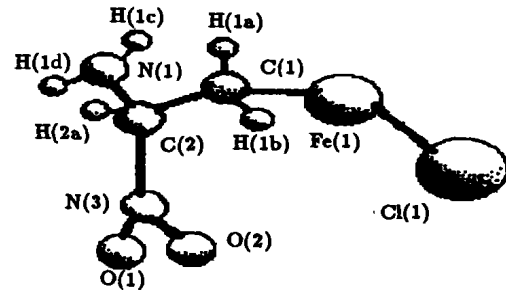


图 6 L(+)-半胱氨酸($\text{HSCH}_2\text{CH}(\text{NH}_2)\text{COOH}$)注入铁离子后的单晶分子($[\text{CH}_2\text{CH}(\text{NH}_2)\text{NO}_2]\text{ClFe}$)结构图

致谢 参加本文实验工作的还有本所原离子束应用研究二室的部分同志和研究生, 以及所内外有关合作单位的同志, 在此一并表示感谢。

参 考 文 献:

- [1] 卫增泉. 圆形加速器在医学、生物学和农学中的应用[C]. 圆形加速器及其应用技术交流会, 兰州, 2000, 46.
- [2] 卫增泉, 魏宝文. 重离子束在医学治疗中的应用[J]. 物理, 2001, 30(8): 485.
- [3] 颜红梅, 王浩瀚, 卫增泉等. 不同能区重离子束在小麦育种上的比较研究[J]. 核技术, 1998, 21(10): 617.
- [4] 颜红梅, 王浩瀚, 卫增泉等. 重离子束定点诱变育种初探[J]. 原子核物理评论, 2001, 18(3): 174.
- [5] 卫增泉, 颜红梅, 周光明等. 重离子束在植物开发中的应用[A]. 西部地区第二届植物科学与开发学术讨论会[C]. 乌鲁木齐, 2001, 133.
- [6] 梁剑平, 卫增泉, 张 力等. 氧离子辐照噻唑乙醇对其结构的影响[J]. 沈阳药科大学学报, 1999, 16(增刊): 39.
- [7] 卫增泉, 周光明, 颜红梅等. 重离子束介导基因诱变育种[A]. 甘肃省核学会 2001 年学术交流会[C]. 兰州, 2001, 112.
- [8] Yuan Shibin, Wei Zengquan, Gao Qingxiang. Molecule Modification and Mass Deposition Induced by the Implantation of Low Energy Fe^+ Ion Beams into Amino Acids[J]. Chinese Science Bulletin, 2002, 47(8): 672.

Application of Heavy Ion Beams in Induced Mutation Breeding and Molecular Modification*

WEI Zeng-quan¹, XIE Hong-mei¹, LIANG Jian-ping¹, YUAN Shi-bin¹, FENG Yan¹, XIE Zhong-kui²

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

2 Institute of Cold Arid Environment and Engineering, Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000, China)

Abstract: Heavy ion beams have different character from X-, γ -rays and neutrons. It has important value in theory and practice to use the character to carry out application and fundamental researches in biological field. Theoretical basis of the application and some practice and their results are briefly described here.

Key words: heavy ion beam; induced mutation breeding; molecular modification; application

* **Foundation item**, Major Subject of National Natural Science Foundation of China (19135022); Major Subject of Chinese Academy of Sciences (KJ952-S1-424); Natural Science Foundation of Gansu Province (C34); Original Subject of Institute of Cold Arid Environment and Engineering, Chinese Academy of Sciences (210069).