

激光生物学与激光医学 学术讨论会论文集

1988·6·杭州



国家自然科学基金委员会

生物科学部
信息科学部
合编

编辑说明

1. 收集的论文在讨论会后均经作者本人对内容进行了增删，编者又作了必要的修改。

2. 为避免制版困难，只保留论文中少量必要的图表，其余全部删除。

3. 讨论会邀请报告的7篇论文按报告先后编排在最前面，其余论文仅作大致分类编排。

4. 论文集的编者为：

主 编 刘颂豪

副主编 马海官 王玉堂 雷仕湛

编 辑 黄永楷 赵梅村 周稳观 苏笑珍

前 言

一九八八年六月三日至六日，国家自然科学基金委员会信息科学部与生物科学部联合在杭州大学召开了激光生物学和激光医学学术讨论会。来自全国各地40个单位的52名从事医学、生物学、物理学和化学研究的科学家出席了会议。

会议按学术报告和学术讨论两阶段进行。有33人代表40个课题组报告了他们的研究进展和研究成果，介绍了国外的研究发展动向。这些报告沟通了从事不同学术领域工作的科学家之间在研究工作上的相互了解，开阔了彼此的研究思路，激发了不同学科的科学家之间合作研究的兴趣，从而对我国激光医学、激光生物学领域内的深入研究起了促进作用。

与会科学家高度地评价了我国在激光医学、激光生物学研究领域内所取得的成就。从六十年代末起，我国便开始采用激光技术进行育种试验。经过二十多年的研究，已培养出一批包括粮食作物、油料作物、蔬菜、果树、棉花、桑树、家蚕等三十多个新品种。它们的主要特点是高产，有较强的抗病能力。用激光治疗家畜疾病，提高家畜繁殖力以及进行微生物育种等方面，也取得了可喜的成果。我国科学家利用激光微束技术实现了动物卵细胞融合和向蚕卵细胞注入外源基因，研究了细胞分裂机理，探讨了使用这一技术对染色体切割、核仁组织者的定位、遗传缺失，诱发微核仁形成和基因定位的可能性以及光动力医疗的机制。

激光治疗是一项新的医疗技术。从一九六五年起至今二十余年的研究发展，我国在眼科、皮肤科、内科、儿科、五官科、肿瘤等各科都采用了激光技术进行疾病治疗，积累了丰富的临床经验，为数以千计用普通治疗手段认为是不治之症的病人解除了病痛、恢复了健康。目前，全国各省市的医院和某些地区的县、乡医院都已设有激光门诊部和医疗站。激光技术已从体表治疗，深入到体腔内各器官的治疗。与此相应的各种类型激光医疗器械也得到了迅速发展。根据专家们的统计，一九八七年全国激光医疗机的销售额为1300余万元，比一九八六年增长了约30%，占全国激光产品的1/6。我国激光医学工作者这些卓有成效的工作，受到了我国医学界的欣赏，也受到国际医学界的称道。

与会学者就激光医学和激光生物学的发展前景，今后应重点开展研究的领域，以及如何组织合作研究等进行了充分的、热烈的讨论。诚然，我国在将激光技术用于生物学、医疗卫生及农业研究方面已取得了不少成果，展现了它在解决人类衣食，保障人民健康方面潜在的应用前景。但目前也存在不少问题，有待解决。主要问题是基础研究跟不上，对激光及育种中见到的大量生物效应，还未能上升到理论认识水平。因而，不能把握临床治疗和育种中的高效性，可靠性亦不够高，在一定程度上影响了激光技术的推广使用。其次是对这两个领域的科研投资比较少，设备比较简陋，影响了这门新技术发挥应有的效能。第三是不能有效地组织开展前沿课题的研究，各个层次的研究发展不平衡，开拓性的研究成果不多。科学家们认为，国家自然科学基金委员会在解决这些问题上是能够有所作为的，这次能够把医学家、物理学家、生物学家、化学家和农业科学家组织起来，同堂共计两个领域的发展，本身就表明了这一点。大家热情期待国家自然科学基金委员会继续关心、支持、组织这两个领域的研究工作，增加对这两个领域的投资；从政策上鼓励不同学科交叉合作研究；鼓励激光技术在其他学科领域应用的尝试，使得激光生物学和医学在分子、细胞到整体的各个层次上都有一些课题得到支持，必将有力地促进这些交叉学科的发展。

科学家们认为,在目前科学研究经费还不充裕的情况下,有选择地重点支持某些项目的做法是必要的。经过讨论,与会科学家提议在激光医学研究方面,应重点支持以下几个方面:激光用于体腔内疾病疗治的临床基础研究;用于治疗疾病的激光新技术;激光医学基础研究。对于提高激光眼科医疗水平的基础研究和激光防护研究也应给予重视。在激光生物学方面应重点支持:激光与生物体相互作用的效应及其育种机制;激光生物工程,其中包括激光遗传、激光细胞融合、外源基因导入、染色体工程、激光光谱在生物学中的应用等。

激光医学和激光生物学是一门正在蓬勃发展的新学科,它的每项研究成果都直接与提高我们的生活水平和健康水准有关。而要更好地发展这两个领域,需要多个学科的科学家的共同努力。

会议希望不同学科的科学家的进一步密切联系、共同合作,为繁荣我国的激光医学和激光生物学事业继续努力。

会议呼吁有关部门尽快组织生产适合激光医学临床使用和激光生物研究使用的激光设备和配套元件,提高产品性能和质量。

按会议决定而编成的本学术论文集,收集了会上发表的主要报告。希望它能对从事激光生物学和激光医学研究的科学工作者了解国内外该领域的研究现况,从而促进我国在这方面的研究更加深入有所助益。不当之处,请予指正。

编者 1989.1.

目 录

前言.....	编者
激光生物学和激光医学发展战略的初步设想	
.....全国激光生物学、激光医学学术讨论会	(1)
激光光谱学用于生物系统快速过程的研究.....	刘颂豪 (2)
激光微束照射的进展.....	梁 宏 (8)
激光在胸科疾病中的应用.....	李峻亨 (13)
现代农业中的激光技术和激光育种.....	陈震古 (17)
涉及光疗机制的生物光化学.....	蒋丽金 (20)
生物物理光学方法的近期发展与前瞻.....	李文冲 (24)
激光技术在细胞融合中的应用研究.....	张闻迪 (27)
激光血管成形术和激光消融术的系列研究.....	胡雪金 赵震声 王佩林等 (27)
血卟啉光化疗法及其与高温协同作用于几种实验肿瘤杀	
伤效应.....	范贤骏 曹恩华 (34)
激光—血卟啉衍生物光敏作用分子机理的研究.....	曹恩华 (37)
激光对离体人类淋巴细胞的影响.....	窦肇华 张继伟 胡卫红等 (39)
我国激光劳动卫生标准的实验基础.....	许松林 (42)
Nd: YAG激光晶体囊膜切开术对眼的生物效应.....	王康孙 王 玲 石海云等 (45)
激光感生人体组织荧光及其应用.....	杨远龙 (47)
HPD在正常脑组织及脑S180肉瘤的代谢对比.....	朱菁 张慧国 陆美娥等 (49)
用激光技术研究造血干细胞及祖细胞是激光生物学的一个生长点.....	欧阳淹 (51)
激光的生物学效应的研究.....	胡能书 朱泽瑞 (53)
微生物激光育种的研究与开拓.....	吴振倡 (56)
氩氦激光治疗奶牛疾病性不育的研究.....	李树滋 郑昌乐 王云鹤等 (59)
氩氦激光麻醉的研究.....	王云鹤 李树珊 汪世昌等 (62)
荧光漂白恢复技术测定林蛙卵表面的运动.....	张孔华 徐成汤 吴直江等 (65)
齐通红对小鼠肿瘤的激光荧光光谱影响的初步研究.....	周志康 何开祥 (68)
水稻病毒的吸收与发射光谱.....	林 星 王由义 张文珍等 (70)
水稻病毒激光喇曼光谱的初步探讨.....	林 星 王由义 张文珍等 (72)
激光荧光技术及其在微观和快速生命过程研究中的应用.....	王丽华 江丕栋 (74)
大容量光子选频存贮术.....	黄永楷 (76)
激光作用下生物分子的非线性光学效应.....	张 极 立 群 王文耀等 (78)
蛋白分子的多光子荧光及其红移机制.....	张晶如 邓玉妹 徐英武等 (80)
一种适于生物医学研究的红外激光系统.....	王瑞峰 (83)
气功“外气”——具有分子和激光生物学效应的	
“生物场”.....	罗 森 应成仁 徐特璋 (85)

激光生物学和激光医学发展战略的初步设想

激光生物学是激光技术向生物学渗透而形成的边缘学科,它是激光医学、激光育种等应用学科的基础。为增进从事激光、生物学、医学和农业等方面研究人员之间的学术交流,促进激光生物学的发展,以期在激光医学、激光育种等领域取得更大成果,国家自然科学基金委员会信息科学部和生物科学部于一九八八年六月三日至六日在杭州共同主持召开了全国激光医学、激光生物学学术讨论会。经与会代表和专家组反复讨论,对激光生物学、激光医学的发展战略提出如下设想:

一、激光生物学

(一) 激光的生物学效应及其机理的探讨
利用激光刺激动、植物生长,改善生理机能,以提高农作物产量、改善家禽和家畜的品质以及诱发动、植物、微生物的有益经济性状的突变,选育优良新品种是我国从七十年代中期以来把激光生物学效应用于农业的一个主要方面。据不完全统计,十余年来我国用激光遗传育种方法已培育出棉花、小麦、水稻、果树、家蚕等优良品种和品系达三十六个。这对提高我国的农业生产起到了良好作用,取得了一定的经济效益。当前激光在农业应用中存在的主要问题是工作比较粗放,盲目性较大,缺少激光生物效应方面的基础研究。应加强开展激光诱发动、植物、微生物突变规律的研究和激光对大动物的生物学效应机理的研究。选材可考虑以重要农作物——水稻、小麦及家蚕和牲畜为主。这些基础研究的结果将用于指导今后激光在农业上的应用,减少育种等工作中的盲目性,把激光在农业和遗传育种中的应用提高到一个新的阶段。

(二) 激光技术应用于生物工程

近年来随着生物技术的发展,国内外都考

虑致力于把激光技术应用于生物工程,这方面尤以激光微束技术更有独到之处。利用激光微束切割染色体、诱导细胞融合、细胞打孔导入外源 DNA 等研究都取得了进展。目前国内已有一支基本研究队伍和相应的研究设备,研究水平并不比国外差。生物工程是当前生物科学发展的前沿,国际上普遍给予重视。因此,激光技术应用于生物工程应是激光生物学发展的一个重要方面。从战略上看,这方面的研究具有潜在的经济和社会效益,应给予重点支持,以期激光生物学为我国生物工程技术的发展作出贡献。

(三) 生物分子激光光谱及光化学、光物理性质的研究

深入开展这方面的研究,将有助于阐明生物分子的结构与功能,揭示生命现象的奥秘。应继续支持深入开展生物分子的非线性光谱,生物分子反应动力学及某些生物分子的光化学反应机理和显微光谱等研究,把激光生物学的研究提高到分子水平。

二、激光医学

(一) 激光对机体组织作用机理的研究

我国激光医学自六十年代在眼科得到发展以来,已在内科、外科、皮科、耳鼻喉科、肿瘤科等方面得到了迅速的发展,积累了大量病例。但同时应当看到我国激光医学的基础研究一直比较薄弱,与激光临床治疗相比发展不平衡,妨碍了我国激光医学向更高层次的发展。因此,需要加强激光对机体组织作用规律的研究。例如不同波长、不同功率、不同能量的激光对不同组织的作用机理,在整体、组织、细胞、分子不同层次上进行探讨,将为临床治疗提供科学依据。

(二) 激光在内腔疾病治疗中应用的基础

研究

从体表疾病治疗向内脏疾病治疗的发展是当前激光医学发展的趋势。我们也必须重视利用激光治疗各种内脏疾病的研究。在内腔激光医学中,难度最大者为心血管疾病的激光治疗,目前尚处于临床前的基础研究。但近三、四年内这方面的研究非常活跃,发展较快,国内有的工作已具有国际先进水平。由于心血管病是当前世界上最常见、危害最大的疾病之一,因此,以心血管病的激光治疗的基础研究为突破口,以它带动呼吸、消化、泌尿等内脏疾病的激光治疗将有重要的战略意义。

(三) 继续加强激光医学中有关激光光谱诊断、光化学治疗、激光防护和激光眼科的基础研究等,把这些工作提高到一个新的水平,跟上国际发展水平。

三、激光技术

(一) 进一步提高用于激光生物学、激光医学研究的激光器件的性能;加强激光剂量及其他重要参数的测量及控制技术的研究;注意紫外及红外光纤技术的引进或研制;激光微束

及显微操作系统(包括电子计算机的控制系统)的研制。

(二) 发展各种激光生物物理技术,促进激光生物学、激光医学研究。例如偏振、干涉及全息等技术在生物力学的应用,激光细胞流式光度法,分类法;激光多卜勒血液流速仪在血液流变学方面的应用;光学显微镜的光电子——电子计算机接口及图像处理研究;为生物系统识别专用的光学信息处理及计算机信息处理的混合系统;生物信息流的采集、数据(图像)处理及全息等。

为了推动和实现激光生物学和激光医学的发展战略,应加强追踪这一领域的国内外研究动态,定期召开国内学术交流讨论会;积极参加和组织国际会议,有目的地组织一些重点项目,为组织这一领域内的重大项目创造条件,努力使我国激光生物学和激光医学尽快在某些方面达到国际先进水平。

全国激光生物学、激光医学学术讨论会

一九八八年六月六日

激光光谱学用于生物系统快速过程的研究

刘 颂 豪

(华南师范大学量子电子学研究所)

光与生物相互作用的研究构成光生物学⁽¹⁾。光生物学作为生物学与物理学、化学及工程技术的边缘学科在引入激光和激光光谱学技术之后取得了划时代的进展。生物系统由分子、细胞与亚细胞、组织与器官、高级组织与生命系统以及社会等不同的层次所组成。激光的引入大大促进了我们从不同层次和不同的方面来探索和揭示生命世界的奥秘。激光一方面作为直接参与者,作用于生物系统引起一系列生物效应和生物结构、性质和功能的变化;另一方面激光作为分析和检测工具,用于研究

生物分子与细胞的结构、性质、功能以及生物物理和生物化学的反应机制。

生物体内的生物物理和生物化学过程特别是其中的能量转移过程许多都是快过程,须用微微秒时标进行研究。光与生物大分子相互作用过程中被激发的模数非常多,受激分子有许多衰变途径。从分子中的能量转移时间和迁移时间,原则上可确定分子结构间隔。在复杂的生物分子系统中,如光合作用,由于分子非常靠近,会导致激子的快速迁移。此外,生物大分子中的原子、分子或分子支链在生物物理过程

表 1 生物系统的快速过程

生物系统	快速过程	检测方法
光合作用	能量转移, 电子转移, 激子迁移	PS 吸收光谱 PS 荧光光谱 PS 荧光光谱
核 酸	链动力学 光损伤	PS, nS非线性光化学方法 CW, PS喇曼光谱
视 觉	异构化	PS 吸收光谱, pS、mS荧光
视 紫 红 质	质子转移	NS 吸收光谱
血 红 素 蛋 白	配体动力学	PS 吸收光谱
血 红 蛋 白	血红素, 蛋白质动力学	PS, nS喇曼光谱, fS吸收光谱, pS荧光光谱
肌 红 蛋 白	变构效应	NS 喇曼谱, pS CARS谱
氨基酸, 多肽	振动动力学	PS 荧光光谱
蛋 白 质	整体运动, 侧链运动, 链动力学	PS 荧光光谱
趋 光 性	质子转移	PS 荧光光谱
膜	分子取内, 输运过程	PS, nS荧光光谱

中常出现重新分布, 而重新分布的时间量级为微微秒。因此, 为了揭示生物分子中的各种微观动力学过程, 高时间分辨激光光谱技术起着十分突出的作用。(2),(3)

表 1 列出了用高时间分辨激光光谱技术研究的若干生物系统的快速过程及其检测方法。高时间分辨激光喇曼光谱技术利用喇曼位移与分子结构参数的关系, 通过观察分子的时间分辨喇曼谱有可能得到分子在生化反应或生物分子功能过程中化学键的瞬时形成和破坏等动力学信息。激光瞬态吸收光谱和荧光光谱技术则采用泵浦—探测方法测量光吸收时分子的光谱时间演变, 从而给出快速过程动力学的信息。显微荧光技术则有可能研究在活体情况下生物分子结构和细胞功能之间的关系, 可研究器官组织中的小局部或细胞中某一部分分子的生化过程。聚焦光斑可达 $0.3\mu\text{m}$, 用超短脉冲激光技术能测出 10^{-9} 克分子溶液的 τ 值。

下面简略介绍高时间分辨激光光谱技术用于生物学中几个重要领域的研究情况。

一、脱氧核糖核酸 (DNA) 的研究

DNA 的结构已基本清楚。DNA 中主要的快速过程是, 沿分子链的能量转移和电子态的

去激活, 以及单核甾酸和双核甾酸子单元的荧光衰变。微微秒激光技术提供了研究 DNA 和其他生物分子中连贯态和不连贯态的可能性, 并且可能研究在细胞发展的不同阶段当双重螺旋被解开时的动力学性质, 以及研究正常细胞与癌细胞的可能差别。

DNA 的激光选择作用是这个领域的重要研究方向。有若干研究小组正加紧进行(4-6)。但在研究工作中遇到一些困难: 如由于 DNA 的快速电子去激活, 导致在室温下无荧光, 另外选择激发时能量易沿 DNA 分子链迁移, 使选择作用失效。苏联列托霍夫 (Letothoa) 建议用 pS 激光技术并在振动光谱中进行选择性作用或剪接。他认为在 A (adenine 腺嘌呤) 和 T (thymine 胸腺嘧啶), G (guanine 鸟嘌呤) 和 C (cytosine 胞嘧啶) 配对之间的氢键有可能选择性地断裂并有可能促使 DNA 双重螺旋的解开。

文献[4]研究了强可见—紫外超短激——光脉冲与 DNA 组分的相互作用。用 5mJ , 20pS , 266nm 和 10mJ , 25pS , 532nm 的激光脉冲辐照胸腺嘧啶水溶液, 辐照后检测其光谱、光密度和色谱。不同辐照剂量其差光谱 (即光致产物

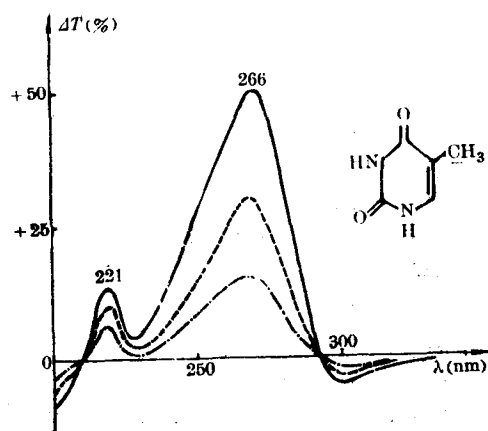


图1 thymine溶液辐照后的差光谱辐射剂量为:

$$-E_{266} = 136.6 \text{ J} \cdot \text{cm}^{-2}, E_{532} = 293 \text{ J} \cdot \text{cm}^{-2}$$

$$-E_{266} = 103.4 \text{ J} \cdot \text{cm}^{-2}$$

$$-E_{266} = 32.4 \text{ J} \cdot \text{cm}^{-2}, E_{532} = 93.8 \text{ J} \cdot \text{cm}^{-2}$$

与稳态参照物之间的吸收差)如图1所示。随剂量增加221nm和266nm谱带光密度减少,而在195nm和302nm处则出现新的吸收带。他们认为,266nm光密度的减小意味着胸腺嘧啶中嘧啶环的破坏,而195nm吸收带的出现说明嘧啶环开裂。

测量DNA作为时间函数的去偏振可获取许多有关分子动力学的信息。用偏振ps激光激发DNA络合物,观察其荧光偏振的变化。可在快速响应探测器前置一检偏器,探测可用ps分辨的条纹照相机、快速二极管、光电倍增管和光子计数器。

已知DNA具有双螺旋结构,两条互补的多核苷酸链借氢键相连共同绕主轴盘旋。染料分子如吡啶(Acaidine)以近垂直于双螺旋轴方向进入此结构。如用ps激光激发,染料分子将重新取向,这可用去偏振进行测量。用ps激光激发分子后开始时辐射是偏振的,但当激发分子产生转动和布朗运动时,偏振随之衰减。因为染料分子可能紧附在DNA结构上,而观察到的则是双螺旋本身的扭转运动。

二、血红朊和肌血红朊的研究

血红朊(Hb)和肌血红朊(Mb)都是生物体中的蛋白质。它们和细胞色素C一样,都含有吸收可见光的铁卟啉。Hb的作用是运输 O_2 ,而Mb的作用是储存 O_2 ,不管在什么情况下, O_2 的束缚与离解对其生物功能都是至关重要的。

迄今,关于这些蛋白质大分子构象运动的信息,主要来自于X射线单晶衍射分析的研究结果。一般说来,X射线衍射技术只是提供分子在晶格中时间上和空间上的平均图象,是静态结构,是蛋白质分子在特定条件下的“幻灯片”。

血红朊的动力学过程跨越18个数量级的时间范畴,即从fs的光物过程直至其它生物体内循环的时标。下面我们只重点介绍瞬态吸收光谱学和喇曼光谱学用于研究配体束缚和释放时结构改变的最初阶段及其演变过程。

(一) 瞬态吸收光谱学

瞬态吸收光谱通常采用所谓泵浦—探测方案获得,即用短或超短光脉冲快速地打断双原子配位体与血红素铁原子之间的结合键,产生生物学上极为重要的非平衡态,随后用宽带探测光脉冲记录其瞬态光谱。

图2是用ns光谱仪研究羧基血红朊(Hbco)光解过程的典型结果。图中给出了用532nm泵浦光脉冲光解后1ns至100ms时标内,以宽带连续谱探测光脉冲测得的差光谱 $\Delta A(\lambda)$ 。它揭示了时间依赖的吸收和漂白过程,左边的“谷”表示419nm处羧基血红朊吸收的漂白作用,右边的峰表示退束缚的血红朊在430nm的吸收。光解脉冲引起CO和新生态Hb的产生,经过若干 μs 后,Hb才趋于平衡态结构形式。这些光谱资料的计算机分析,可获得结构和中间产物的信息。

ps超短脉冲激光技术的发展,使得人们有可能以更短的时间标度来研究蛋白质分子的光解动力学。借助非线性光学产生连续谱的ps

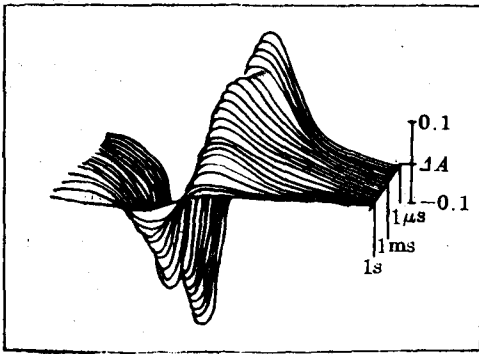


图2 用ns光谱仪获得的羧基血红素的吸收谱。它显示了随时间变化的吸收和漂白过程。

(8ps) 光谱技术, 前几年已用于研究血红素。它揭示了许多新的现象, 如接近于激发光脉冲宽度的光物理过程和快速退束缚过程, 光解后8ps时的瞬态光谱与Hb和Mb平衡态光谱的差别, 以及HbO₂中光离解O₂的配对复合等。作为一个例子, 图3给出了Mbco被353nm激光脉冲激发后不同时刻的瞬态光谱, 纵坐标表示光解产物与Mbco参照物吸收的差值。

用短至300fs光脉冲对血红素蛋白质进行光解的研究最近也已发表。实验已表明, Hbco和Mbco离解的时间常数为350fs, 并由此推断在Fe区发生结构改变的时间也应为350fs。

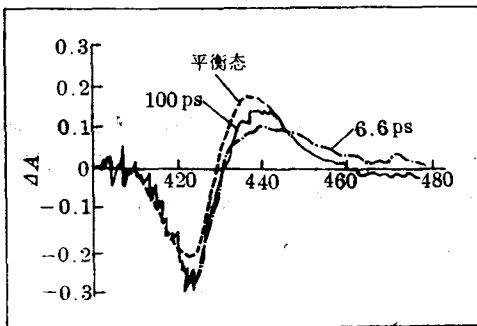


图3 Mbco被353nm超短脉冲激光光解后不同时刻的瞬态吸收光谱

(二) 激光喇曼光谱学

由于血红素蛋白质的时间分辨的喇曼频移

与血红素及其周围的结构改变相对应, 因此它是反映分子结构和结构变化的“指纹”。AT&T Bell实验室已用10ns强脉冲光解血红素并同时获取喇曼光谱。在这一时间标度内, 血红素的结构尚来不及呈现出稳定的脱配位体组态, 因而喇曼光谱反映了蛋白质从有配位体到无配位体组态演变过程中最初10ns期间的血红素结构。若用泵浦—探测技术, 可在时间上追踪这种演变过程。

对于血红素结构弛豫而言, 某些关键事件发生于ns或更长的时间, 但也有一些变异发生于ps的时间标度。喇曼光谱学对于这种快速变异的探测特别有用, 因为在常温下的凝聚态物质, 拉曼信号紧跟激发脉冲之后发生, 且能自动选通。ps拉曼光谱同样可采用泵浦—探测方案完成。

第一个ps激光喇曼实验采用一个30ps光脉冲兼作泵浦源和探测源, 在血红素中揭示了振动谱的位移。随后, 时间分辨率约为30ps的泵浦—探测拉曼实验也已完成。最近 Princeton 大学对肌红蛋白的研究表明, 在30ps时标的某拉曼跃迁明显地偏移于10ns时标内观测到的喇曼跃迁 (见图4)。这说明在这两个时刻之间发生了有意义的弛豫过程。但对于血红素, 甚至更长的时间这种弛豫也不发生。因此, ps共振拉曼光谱揭示了血红素和肌红蛋白光解后动力学过程的差异。

顺便指出, 非线性光学现象也可以在生物大分子中发生。一些研究小组已报导了低温下蛋白质和核酸出现双光子过程的研究。前几年, 我们在室温下用 Nd: YAG 激光照射血红素、脱辅基血红素、白蛋白和色氨酸, 也观察到由双光子激发产生的荧光⁽⁷⁾。毫无疑问, 双光子过程的研究也将有助于进一步深入了解生物分子中电子能量的转移, 这是一个重要的和有趣的强光作用下生物分子的光谱学问题。

三、卟啉和HPD的研究

卟啉是光动力学上十分活泼的光敏物质,

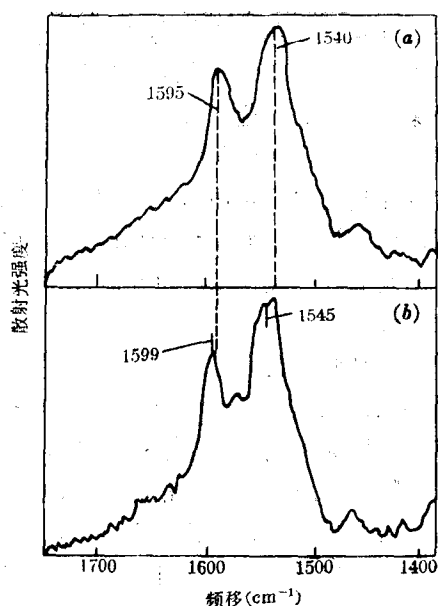


图 4 光解Mbco后30ps时的瞬态喇曼谱 (a) 相对于Mb稳态普通拉曼谱 (b) 的频移

普遍存在于细胞质中。卟啉的种类很多, 有原卟啉、血卟啉、尿卟啉、叶绿素等。卟啉分子在光合作用、生物的氧化与还原以及氧的运输等生命过程中起着核心作用。称为 HPD 的血卟啉衍生物是含有血卟啉、原卟啉等几十种组分的混合物。近年来 HPD 已作为光敏剂用于肿瘤和癌症的诊断和治疗, 因此对其结构、光致机制及结构与疗效关系等的研究显得极为重要。

不少工作者已用激光感生荧光光谱学、激光拉曼光谱学和ps激光瞬态吸收光谱学研究了卟啉分子的结构和激发态弛豫等诸问题。这里我们举二个例子加以说明。

其一是用激光拉曼光谱研究 HPD 的振动光谱, 探讨其结构与疗效的关系。我们曾用 A₇ 激光喇曼谱仪研究了几种HPD和不同溶剂中HPD的拉曼振动谱, 光谱覆盖范围为 570~1640cm⁻¹(8)。实验表明溶剂对光谱有明显的影

响, 且不同疗效的HPD具有不同的喇曼谱。这意味着在不同溶剂中的HPD或不同疗效的

HPD可能具有不同的结构形式, 说明卟啉环可以与不同的侧链连接。

其二是用ps瞬态吸收光谱学研究卟啉分子的激发态弛豫过程, 测定激发态的寿命和能量的转移时间。图5是血卟啉中激光感生的吸收改变与时间的依赖关系。它表明530nm超短脉冲激发后激发态迅速被布居而导致590nm吸收的增大(图5a), 355nm超短脉冲激发后基态迅速倒空而导致Soret吸收带漂白。这种实验的进一步研究已表明血卟啉的激发态寿命小于1ns。

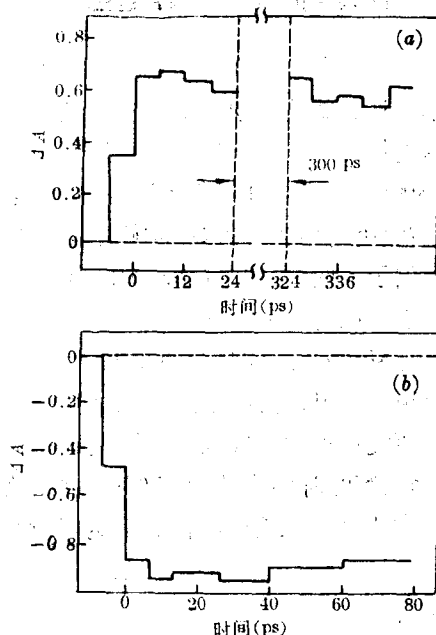


图 5 血卟啉中激光感生的吸收改变与时间的依赖关系, (a) 6 ps, 530 nm 激发, 在 590 nm 处审查; (b) 6 ps, 55 nm 激发, 在 405 nm 处审查。

四、视觉原初过程的研究

我们的视觉器官是怎样工作呢? 这是一个古老的问题, 也是当今生理学家以科学方式提出来的新课题。尽管人们已对视觉过程作了大量的研究, 但由视觉色素——视紫红质——吸收光后诱发的各种事件的原初时序尚未清楚。

原初视觉过程发生于对光特别敏感的视网

膜的视紫红质上。视紫红质是一种未知其三维结构而又无法用衍射技术测定的膜蛋白质,从这个意义上来说,激光光谱学为探查它的结构及其动力学过程提供了实验手段。

(一) 激光喇曼光谱学

近年来,吸收和喇曼光谱学已提供了关于视觉原初过程和第一个中间产物的大量信息。一些研究小组已获得非光解色素——视紫红质和同分异构视紫红质——振动光谱的“指纹区”,并鉴定其结构分别为11-顺式和9-顺式同分异构体。激光共振喇曼光谱学也已表明,11-顺式视紫红质和9-顺式视紫红质吸收光后产生的第一个中间产物——深视紫红质——为反式同分异构体。

由于喇曼光谱学能对上述不同结构组态作出可靠的识别,因此人们一般相信光化作用的第一个中间产物是深视紫红质。至于它的形成过程,传统观念认为是顺式→反式同分异构作用。但近年来ps激光光谱学的研究对此提出了怀疑。

(二) ps瞬态吸收光谱学

直至ps激光用于研究视紫红质光化学之前,人们只知道所涉及到的事件时标小于1ms。ps吸收光谱学,Busch等人首次测量了深视紫红质在室温下形成和衰变的动力学过程,用指出它在6ps时间内形成,以约30 ns的时间常数衰变为第二个中间产物——光视紫红质。300—4°K的变温实验研究表明,即使在最低的温度下,深视紫红质出现的时间也特别快,约为36 ps。由此人们不得不怀疑在那么短的时间内生色团发生完全的顺式→反式同分异构化的可能性,而代之提出质子易位作为原初光化过程的机制。

某些实验已表明,用25ps、532nm的光脉冲分别激发9-顺式和11-顺式视紫红质后85ps,将产生不同的吸收光谱。这暗示光激发9-顺式视紫红质形成的深视紫红质与光激发11-顺式视紫红质生成的深视紫红质是不一样的。这一

结果进一步动摇了以顺式→反式同分异构化作为视觉原初事件的基础——9-顺式和11-顺式视紫红质受光激发后产生共同的深视紫红质。

目前,两种不同的机制形成鲜明的对照,今后激光光谱学的任务是继续揭示视觉作用中这一最初阶段的化学本质。

上面我们主要介绍了激光光谱学在一些生物系统快速过程研究中的应用和所取得的成就。尽管是粗浅的和不全面的,但足见激光光谱学为生物分子结构和动力学的研究增添了一种十分有用的工具。随着激光技术的发展,这种技术的应用必将向纵深发展。例如在最近召开的第九届国际生物物理会议上,不少工作者报导了用时间分辨的激光荧光光谱技术从不同的方面研究分子动力学,其时间分辨率优于10 ps。

另外,正如引言中所指出,激光光谱学从不同的层次、不同的时标和不同的方面参与生物学的研究。除了对于快速过程的研究之外,各种崭新的激光光谱技术,正在以前所未有的光谱分辨率、空间分辨率和极高的探测灵敏度来分析和鉴别生物样品,实现微量探测和无损伤探测。例如,对各种形状的材料都适用的光声光谱技术,可以提供完整无损的生物组织(甚至光学上不透明的组织)的光学资料,显示出在生物和医学上具有巨大的应用潜力。

总之,激光光谱学用于生物学的研究正在迅速发展之中,它将越来越多地在生命科学研究中发挥作用,造福于人类。作者对吴际华、詹明生同志给予的有益帮助与讨论表示谢意。

参 考 文 献

- 1 K.C.Smith, The science of photobiology, plenum press, 1977
- 2 C.V.Stank et al., picosecond phenomena, Proceedings of the 1st International Conference on ps phenomena, 1978

- 3 E.P.Ippen and C.V.Shank, Methods of experimental physics, V. 15B, Academic Press, 1979
- 4 P.C.Kyruko et al., Chem. phys. Lett., 61, 375 (1979)
- 5 D.A.Angelov et al., Quantum Electronics(Moscoco),7,1304(1980)
- 6 D.N.Nikogosyau, plenum Publishing Corporation, 1985
- 7 S.H.Liu et al., Springer Series in Optical Sciences Laser Spectroscopy VI, 372 (1983)
- 8 S.H.Liu et al., SPIE,(292), 129 (1984)
- 9 S.H.Liu et al., SPIE,(292), 518 (1984)

激光微束照射的进展

梁 宏

(中国科学院遗传研究所)

激光微束照射,即激光显微照射术,也称细胞激光刀,是生物学和医学研究的一项新技术。其基本原理是利用激光方向性好、光色单一和度亮等特点,把激光器发出的激光束通过光学系统引入显微镜,再通过显微镜上的接物镜进行聚焦。变换接物镜的放大倍数,把激光聚焦成大小不同的光点,从而能准确照射到事先选择好的细胞某一特定部位或某一细胞器,使细胞器或细胞组织产生选择性损伤或破坏,而不损伤邻近部位的组织。因此,也就可以对细胞和细胞内细胞器进行常规显微操作很难做到的细胞显微外科手术,本文就激光显微照射装置的发展,激光显微照射的基本方法及其在生物学和医学中的应用等方面进行评述。

一、激光显微照射装置的发展

国内外建立的几种主要的激光显微照射装置有:

(一) 红宝石激光显微照射装置

1962年法国Bessis等⁽¹⁾建立起世界第一台用氙灯泵浦5mm宽和50mm长的红宝石激光微束装置。靶体样品放在介质反射镜上。校正是通过观察投射到激光器出口的反射镜上的样品二次物象未完成的。物象的亮度由二块偏振

镜和一块四分之一波片控制。激光束通过6倍目镜到100倍物镜,聚焦光束直径为215微米。

1963年Saks和Roth报导⁽²⁾,他们使用了另一种红宝石激光微米仪。这种装置既能连接到标准直立显微镜,也能与倒置显微镜连接。

我国也有自己设计的红宝石激光微束装置。1977年吉林市光机实验厂与白求恩医科大学协作试制出我国第一台红宝石激光微束仪—XJX—I型细胞激光显微化⁽³⁾,以后又改进制造了XJX—I型细胞激光显微仪⁽⁴⁾。1980年福建师范大学也研制成功了JWS—I红宝石激光微束仪⁽⁵⁾。

(二) 氦氖激光显微照射装置

1972年Lacalli和Acton⁽⁶⁾介绍了一种连续波氦氖激光微束装置。氦氖激光束通过一前表面镜的小孔并反射到一个短焦距的附加透镜进入聚光器,然后通过前透镜聚焦到样品表面。用氦氖激光连续波照射植物叶绿体或活体染色的单个细胞,在1—2秒内就能产生足够的损伤。

(三) 氩离子激光显微照射装置

世界上第一台氩离子激光显微照射装置是由美国Berns和Rounds(1970)建立的⁽⁷⁾。

我国在1982年由中国科学院遗传研究所与北京师范大学、北京工业学院共同研制成功了我国第一台YW—I型氩离子激光微束仪⁽⁸⁾。该系统主要由五个部分组成：(1) 氩离子激光器；(2) 一台直立光学显微镜带相差设备，供观察和聚焦用；(3) 记录系统，包括显微摄影装置和电视摄像系统等；(4) 能量记录装置；(5) 供电电路系统。此外，根据微束仪的需要装备了光脉冲触发、瞄准光电调节、水压欠压、供电缺相、灯丝欠流、过流、联锁操作等保护系统。

(四) 氮分子激光显微照射装置

1976年Isenberg等研制了一种紫外激光微束装置⁽⁹⁾。激光微束经聚焦后产生的最小光斑直径为 $0.75\mu\text{m}$ ，可调功率从4-40kw，脉冲频率可调，从单点到100Hz，脉宽为 $8 \times 10^{-8}\text{s}$ 。用0.5mw的氮氛激光器准直。

(五) 多谱线激光显微照射装置

进入八十年代后，激光微束装置向更先进的多谱线激光微束装置发展，其中紫外波长的格外受到重视。1981年美国Berns建立了一台更先进的激光微束系统⁽¹⁰⁾，已配有Nd:YAG激光器和染料激光器。这双重激光系统与一台蔡司Axiomat多功能倒置显微镜和象列计算机相连。能对实时图象进行巧妙的象列程序处理。实时过程可以提高图象的光学质量，例如提高反差、边缘的探查、背景的消除、复合图象的平均和膺色的加强等。这里信息处理机也能用来分析诸如靶体面积的计算，分界线的长度，细胞内的距离的测量等等。

1984年日本物理化学研究所也研制成类似于美国Berns实验室的多谱线激光微束照射装置⁽¹¹⁾。据报道，他们在显微镜台上装有一自动扫描装置，当进行激光打孔导入外源基因实验需要对大量细胞连续打孔时，就利用此扫描装置对一个个细胞快速打孔，每分钟可照射 10^3 个细胞。据报道，上述实验装置已正式推出产品⁽¹²⁾。

(六) 准分子多谱线激光显微照射装置

1986年，联邦德国Heidelberg理化研究所报导了他们的准分子多谱线激光微束装置⁽¹³⁾。该系统使用准分子激光器泵浦的染料激光器。准分子激光器在308nm波段发射17毫微秒脉冲。重复率为1-100赫兹。使用不同有机染料使该系统从320-920nm波长可调，以及用倍频从217-320nm波长可调。准分子激光微束装置的最大优点是对微区组织切割得更细更光滑。

二、单细胞分析技术

由于激光显微照射通常是对单个靶体细胞或单个细胞的某个细胞器或细胞器的某一特定成分进行损伤或切割实验，现已发展出与激光显微照射相适应的单细胞分析技术。

(一) 单细胞克隆术⁽¹⁴⁻¹⁵⁾

此技术主要用于遗传学实验分析，即把受照射的单个细胞从载有细胞样品的Rose小室大批细胞中分离出来并克隆成存活的细胞群体。其主要操作步骤归纳如下：

(1) 激光显微照射单细胞的一个有丝分裂的选定的染色体或核仁。

(2) 用激光杀死与靶细胞相邻的细胞。

(3) 在超净工作台上，打开Rose小室。用显微操作器把靶体细胞周围的未受照射的细胞清除掉。再组装好Rose小室。

(4) 用注射器小心撤除小室中带细胞碎片的培养液，小心更换培养液。继续保温培养。

(5) 用磁带录象或定期定时观察和照相以监视靶体细胞的增殖情况。

(6) 在受照射细胞生长繁殖过程中，位于Rose小室边缘那些未被清除掉的细胞会逐渐“入侵”到靶体细胞的周围。要经常检查有无“入侵”细胞，用激光照射或显微操作器清除掉。

(7) 当受照射细胞增殖到上百个或数百个细胞时，在超净工作台上打开Rose小室，在显微镜监视下对准已增殖的克隆细胞团周围套上一

圆柱形金属环,向环内注射胰酶把这些克隆细胞消化下来,吸取细胞悬液,转入微型培养瓶中。待细胞大批增殖后再转入常规培养瓶。

(8)一旦得到大批克隆细胞,就可继代培养并在液氮中保存,以及进行实验所要求的常规的细胞学核型,细胞化学和生物化学等分析。

另一个主要的单细胞分析是对受照射细胞作超微结构的分析,现已发展出单细胞超微结构电子显微镜切片技术⁽¹⁶⁾。

三、激光显微照射在生物学和医学中的应用

(一) 有丝分裂和有丝分裂器

利用激光显微照射对细胞有丝分裂过程进行了广泛的研究。这类研究是先用激光显微照射中心粒区或着丝粒,造成微区损伤,再进一步分析细胞的行为和超微结构的变化。例如,Berns等⁽¹⁷⁾用激光显微照射选择性地损伤中心粒周围的雾状物质。当照射有丝分裂前期细胞时,细胞能形成相对的极,甚至进入中期构型,但不进行染色单体的分离或染色体的后期运动,尽管这种细胞的确进入胞质分裂。这些研究结果有力地说明中心粒周围的物质在调节染色体的运动中起到关键性的作用。Peterson和Berns⁽¹⁸⁾用四种不同的补骨烯光敏剂敏化中心粒区,再用365nm波长的激光显微照射,观察它们对细胞分裂的抑制作用。实验结果表明,四种补骨烯中只有一种与DNA和RNA都能结合(4'-胺甲基4,5,8-三甲基(AMT)补骨烯),能阻碍有丝分裂。另外三种只对DNA有亲合力的补骨烯则对有丝分裂无抑制作用。这证明中心区的核酸是RNA而不是DNA。同时进行的超微结构观察说明对照和受照射的中心粒带无结构上的损伤,但受照射的中心粒区内或其周围的微管则明显减少。Berns和Richardson⁽¹⁹⁾进行的另一项试验是用473nm波长的激光显微照射没有敏化处理的中心粒区。这种照射能直接破坏中心粒周围的物

质。尽管中心粒在前期就遭到破坏,但细胞能继续进行有丝分裂。电镜观察清楚地证明中心粒周围的物质有着正常数目的微管,结合体外生化多聚合作用的研究,证明在纺锤体形成中起主要作用的是中心粒周围的物质,而不是中心粒本身。此后,Koonce等⁽²⁰⁾在另一项研究中又看到激光显微照射破坏中心粒本身并不妨碍未受损伤的中心体物质,即中心粒周围物质继续形成微管。

另一个方面是染色体的运动和分布。例如,激光照射着丝粒区域能破坏着丝粒,使染色体同纺锤体脱离。这类研究发现了一个重要现象,即在分裂中期照射一个染色体上的两个着丝粒,染色体就漂流出中期极,但两个染色单体还连在一起。然而,当进入分裂后期,其他未受照射的染色体开始染色单体分离时,那两个受照射后漂流在细胞中即无着丝粒也无纺锤体着生区的染色单体也互相分离。这证明染色单体的分离和染色单体向两极移动是性质不同的两回事,并说明染色单体彼此间的起始分离与微管在着丝粒上产生的一种拉力无关。Berns等还进行一系列实验研究动原体在染色体运动中的功能⁽²¹⁾。

(二) 染色体

激光显微照射技术出现后不久就被应用于染色体的研究。Berns等⁽²²⁾把低功率的脉冲氩激光聚焦到用吡啶橙敏化过的染色体上。这种活体染色和激光显微照射相结合的方法,可以损伤染色体一个非常小的微区。当使用高功率的氩激光,损伤光斑为0.5微米,能量密度到1000微焦耳/微米²时,可以不用活体染色。通过变换激光能量或利用对核酸特导的光敏化剂,可以影响染色体不同分子的组成,如DNA或组蛋白。研究证明,超微结构上的电子密集的损伤光斑的物质局限在染色体的一部分上,这与光学显微镜所观察到的“苍白”损伤光斑面积非常一致。陆仲康等在类似的研究中用细胞化学分析表明⁽²³⁾,在不用任何活性

染料敏化的情况下,激光照射能破坏核仁内的DNA与RNA。

用激光显微照射损伤一条染色体的着丝粒区使该染色体与有丝分裂纺锤体相脱离,但细胞继续进行有丝分裂,从而使该染色单体或者从细胞中丢失或者渗入一个微核。再用上述单细胞克隆的方法把该受照射细胞克隆成细胞群体。这样可以有选择地排除整个染色体。梁宏等⁽²⁴⁾把氩激光聚焦到PTK细胞有丝分裂的染色体上,可以切断染色体或选择性地损伤染色体而不影响细胞继续分裂直到形成两个子细胞,而受激光照射的染色体区段的DNA确实遭到了破坏。

最近,国内外一些学者正致力于用激光显微照射切割染色体进行基因定位的尝试。1986年西德Monajembashi等报道⁽²⁵⁾用一台准分子激光器泵浦染料激光器的微束装置显微切割人淋巴细胞染色体,把一条染色体切成若干小的片段。他们认为把这种切割染色体的方法与微克隆的技术相结合,将为研究人类遗传病在染色体上的基因定位提供可能性。

(三) 基因缺失的诱发

这方面工作最有代表性的是诱发核仁基因缺失Berns等用蝶螈原代培养物和长鼻蟾细胞所做的实验⁽²⁴⁾证明,用激光显微照射损伤染色体的次缢痕区(核仁基因的位置),或处于有丝分裂早期前期的核仁,能够有效地使核仁组织者的基因失活,使子细胞核仁缺失。同时证明次缢痕部的活性是由紧靠次缢痕近侧的区域来调节的。梁宏和Berns等用紫外激光显微照射PTK₁,有丝分裂早期两个核仁中的一个,证明激光显微照射可以诱发PTK₁子细胞缺失一个核仁⁽²⁵⁾。他们还进一步用紫外激光显微照射PTK₂-WA四倍体细胞的核仁基因缺失,并得到了由受照射单细胞克隆的具核仁缺失的细胞株亚系⁽²⁶⁾。PTK₂细胞通常只有一个核仁,激光显微照射前期和间期细胞的核仁都能诱发子细胞不能形成正常的核仁,却形成数目

多达十多个的微小的核仁状物质,即微核仁。他们用细胞化学分析证明,激光照射破坏了核仁内的DNA和RNA,用银染方法进一步证明,当主要核仁基因被破坏后,核质内出现银染颗粒。这表明核仁外存在“候补”核仁组织区,因而有转录活性。当主要的核仁基因被破坏后,此候补核仁基因从被抑制状态变为有活性,从而形成了微核仁。这是用激光显微照射的方法首次阐明了微核仁形成的机制。

(四) 细胞运动和细胞骨架

Koonce等人用激光显微照射蝶螈嗜伊红细胞的中心体区域使细胞迅速变圆⁽¹⁹⁾。照射后几分钟大多数细胞又展开并继续移动,但照射后运动变得不协调和无方向性,其平均移动率从原来的平22.5 μ m/mip减少到145 μ m/min。电镜和免疫荧光分析表明,激光显微照射最初破坏了微管,数分钟后微管重现,但中心粒的损伤继续扩大。他们认为在控制蝶螈嗜伊红细胞的运动中中心体是一重要结构。Hahne和Hoffmann⁽²⁷⁾用紫外激光显微照射来自高等植物木槿属愈伤组织的原生质体的细胞质线。发现照射后使细胞质线缩回,并导致整个细胞停止细胞质流动。同时,所有的胞质线都溃散,原来不怎么圆的原生质体的非圆球状并非因为细胞壁的残留物引起的。照射后不久细胞质流动和细胞质线重建,原生质体也再呈不规则形状。作者得出激光显微照射与用细胞松弛素B处理的结果十分相似。因此,用激光显微照射可以有效地研究细胞骨架这一细胞生物学中的基本问题。

(五) 早期胚胎发育

Mckinnel等用红宝石激光显微照射破坏豹蛙受精卵中的雌原核获得了典型的单倍体胚胎⁽²⁸⁾; Daniel等用红宝石激光显微照射破坏兔2-细胞期,8-细胞期和16-细胞期的卵裂球⁽¹⁹⁾在每个时期的早期胚胎中只剩下一个未受照射的卵裂球。结果在体外培养过程中能按正常分裂时期发育到桑椹胚。白琴华、陆仲康等

以小鼠和兔2-细胞胚胎为材料,用红宝石激光显微照射破坏其中一个卵裂球后,另一个卵裂球能继续在体外培养条件下发育到桑椹期(兔)和胚胎期(鼠)⁽³⁰⁾。张开兴和徐在宽等应用红宝石激光显微照射泽蛙、黑眶蟾蜍的受精卵研究了对其胚胎发育的影响并获得了各种畸形胚胎和畸形蝌蚪。但它们不能发育到变态期^(31,32)。陆仲康、梁宏等以金鱼受精卵和早期胚胎为材料研究了激光显微照射诱发畸变的作用。他们发现当金鱼8-细胞期或囊胚期胚胎以较大剂量的激光显微照射后,在继续培养过程中绝大多数胚胎发育成不正常胚体,并进一步发育到孵化期或游动期。在孵化期观察到周围心腔和体腔膨大的畸形,在游动期可观察到大量脊尾和脊椎弯曲的畸形幼鱼,以及脊尾变短、眼发育不全和缺乏色素等各种畸形⁽³³⁾。

六、激光打孔导入外源基因

日本理化研究所首先报道⁽³⁴⁾用355nm波长的激光微束照射大鼠肾NRK,在细胞膜上打一亚微米级大小并能在1秒钟内自我愈合的小孔,使培养基内含有的外源DNA(Eco-gpt基因)在小孔愈合前流入细胞。实验结果证明,经激光打孔的NRK细胞能在选择培养基上存活生长,并证明Eco-gpt基因被整合到克隆细胞的基因组中。这种方法的转导率为 $1/10^2$,比化学法的 $1/10^5$ 大三个数量级,比手工显微注射操作准确、快速、效率高。陶文也报道了用355nm波长的激光微束给人细胞株HT-1080 6TG细胞打孔使培养基中的neo基因导入的实验^(35,36)他们的实验结果证明neo基因已整合到个别染色体中,并有表达能力。通过在选择和非选择培养基上的相对生长分析证明该neo基因的整合是稳定的。

联邦德国Weber于1987年12月在荷兰举行的第七届国际原生质体学术讨论会上报告了用激光微束单脉冲将DNA直接导入油菜个别细胞和叶绿体

(七) 细胞融合

1987年联邦德国Wiegand等报导⁽³⁷⁾了用紫外激光微束照射诱导油菜原生质体融合B-淋巴细胞和骨髓瘤细胞融合都取得了成功。最近我国青岛海洋大学张闻迪等用激光显微照射诱导泥鳅卵的融合也取得了成功。予期这方面的工作将会进一步受到重视和发展。

(八) 光动力学诊治癌症的研究

光动力学诊治癌症是近年内出现的一种新疗法。梁宏等利用氦氖激光显微照射摄入HPD等光敏剂的体外培养正常和肿瘤细胞。研究了细胞因光动力学反应从出现可以损伤到细胞解体死亡的细胞学和超微结构规律性变化。此外,他们还建立了一种激光微束照射单细胞比较光敏剂药效的技术。该技术具有方法简便,易于操作、用药量小、重复性好等优点,特别适用于测定分离提纯得到的微量光敏药物样品和大批药物的初筛,并可作为常规药理学和毒理学分析及体外试验的补充。

激光显微照射的应用还有其他方面的工作,本文由于篇幅有限,不能一一评述,只能就上述主要方面进行评述。根据当前的国际动态,这项新的技术将会越来越引起生物学家和医学家的重视,其发展趋势将会更多地用于揭示生命奥秘的有关细胞生物学、遗传学的基础研究和渗透到与生物工程如遗传工程、细胞工程、染色体工程等有关的技术中。

参 考 文 献

- 1 Bessis M.F. et al., C.R. Acad. Sci., 225? 1010(1962)
- 2 Saks N.M. et al., Science, 141, 46 (1963)
- 3 吉林医大基础部等, 吉林医大学报, 21 (1976)
- 4 梁宏等, 激光, 8, 43(1981)
- 5 邱锦辉等, 福建师大学报, 2, 45(1980)
- 6 Lacalli T.C. et al., Trans. Amer. Micros. Soc., 90, 2(1972)