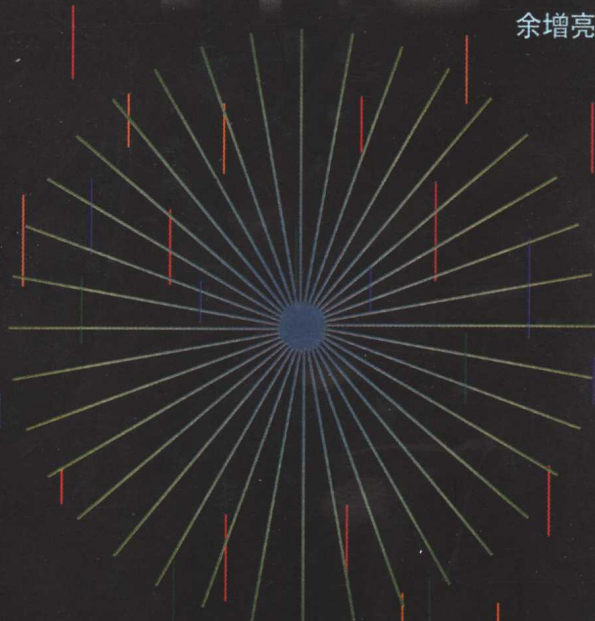


离子束 生物技术 引论

LIZISHU
SHENGWU
JISHU
YINLUN

余增亮 著



安徽科学技术
出版社

责任编辑:胡春生

封面设计:冯 劲

离子束生物技术引论

余增亮 著

*

安徽科学技术出版社出版

(合肥市跃进路1号新闻出版大厦)

邮政编码:230063

新华书店经销 中国科学技术大学印刷厂印刷

*

开本:850×1168 1/32 印张:9.25 字数:230千

1998年12月第1版 1998年12月第1次印刷

印数:2 000

ISBN 7-5337-1736-8/Q·25 定价:20.00元

(本书如有倒装、缺页等问题向本社发行科调换)

献 给

关心 支持本项研究的
科学家及有关人士
项目科技部门的专家

感 谢

不署名的
1987~1996 级研究生班
三十七位同学

序

80年代中期,受离子注入材料表面改性研究的启发,作者尝试将离子注入技术用于农作物品种改良。那时,作者对遗传改良完全外行,试验不得要领。随后邀请安徽省农科院王学栋、吴跃进研究员等共同参与研究,于1986年发现离子注入水稻生物效应。从此,离子注入作为新的遗传改良方法,在农作物、微生物育种上得到应用。1988年,作者发现离子束对细胞的刻蚀作用,提出了离子束细胞加工和基因转移的设想。经过三个博士生小组独立的研究,利用这种方法获得了水稻转基因植株。

实际上,载能离子注入复杂生物体在自然界是客观存在着的现实。荷能离子不管来自何处,在特定的地理和历史条件下,总有一些注入到细胞内,影响生物的进化和人类的健康。特别是进入21世纪,人类征服太空,包括长期居留月球和飞向火星,已不再是科学幻想。在地面模拟太空荷能离子对人类健康可能造成的各种问题,将在很长时期内成为科学家要研究的重大课题。由于离子注入技术简单,注入离子在细胞内沉积引起机体损伤,沉积离子本身又可作为被检测的对象。因此,研究注入离子与复杂生物体系相互作用已引起足够的重视。

我国离子束遗传改良的实践,迫切要求研究其机理。这确实是一个困难的课题。从离子注入那一时刻起到终点生物学效应,时间跨越 $10^{-19} \sim 10^9$ 秒,空间从微生物分子的损伤到宏观性状的变异,其效应不知放大了多少倍。要弄清这样宽广的时空域内的变化过程,就目前的认识能力和技术水平尚不可能。即使是原初物理过

程的研究,由于弹(离子)—靶(生物体)体系极为复杂,要建立注入离子与生物体系相互作用物理模型,也并非易事。

1989年,作者发表论文,提出注入离子与生物体相互作用原初过程三因子效应,即能量沉积效应、质量沉积效应和电荷交换效应,引起物理学家和生物学家的兴趣。1993年召开了第二次全国离子注入生物效应学术会议,并邀请三位美国专家参加。正是在这次会议上,与会专家和安徽科学技术出版社的同志希望有一本书,反映本领域研究的成果和发展方向。作者深知自己的功底,要撰写这样一本学科跨度大的专著,实在勉为其难。但这第一步迟早要迈出去。经过三年断断续续的写作,书是写成了,压力也更大了。书中提出的观点,有的得到实验的支持,有的还是纸面文章。作者的目的是抛砖引玉,旨在能引起关心本领域的物理学家、生物学家讨论,指出和纠正书中的错误,这样,正确的理论便建立起来。所以,本书书名特意冠“引论”二字。

低能离子与生物体相互作用的研究,得到了国家计委、国家自然科学基金会、中国科学院和安徽省计委等有关部门的极大支持,使得这项工作逐步成长为有独立研究基础、在农业和发酵行业遗传改良应用上的新的学科成长点。“七五”期间,国家自然科学基金数理学部主任基金的启动,以及国家科委、安徽省科委的重点支持,对于这一新成长点的萌发,起到了催化作用。

在本领域发展过程中,我的三十余位研究生做出了重要贡献,特别是邵春林、黄卫东、韩建伟、吴跃进、杨剑波、崔海瑞、程备久、邓建国等博士生的研究为本书提供了丰富翔实的资料。中国科学院等离子体物理研究所离子束生物工程研究室的同志为本书的写作提供了诸多的帮助,冯慧云和刘军红同志做了许多的文字方面的工作,作者在此一并表示感谢。

最后,作者还要感谢康明同志。当初,由于她的建议,经安徽生

物理学界前辈梁余德先生的引荐,得以和生物学家合作。十年学习,从物理涉足生物领域,其间得到了徐冠仁院士、霍裕平院士等众多生物学家和物理学家的关心和支持。如果说这十年的工作有成效的话,成功应当属于他们。

余增亮

1996 年 7 月于合肥

常用符号

A	元素质量数、面积
$a(\vec{a})$	加速度
$B(\vec{B})$	磁场强度
bp	碱基对
c	真空中的光速
C	库仑、电容、比热
C_aMV	花椰菜花叶病毒
CVg	遗传变异系数
d	分子量(道尔顿)、击中次数
D	剂量、扩散系数
DMSO	二甲基亚砷
$e(e_0)$	电荷(基本电荷)
$E(\vec{E})$	电场强度
ΔE	吸收能量
E_1	入射离子能量
ECR	Electron Cyclotron Resonance 电子回旋共振
E_d	靶原子位移阈能
eV	电子伏特(能量单位)
$F(\vec{F})$	带电粒子受到的电磁力
F_0	中和效率
$F_{1,2\cdots n}$	杂种世代
$\Delta G(\Delta G')$	遗传进度(相对遗传进度)
GUS	编码 GUS 基因

H	体元每吸收 100 个注入离子的化学变化系数
h	普朗克常数、击中次数
ΔH	克分子汽化热
h_2	遗传力
H_m	潮霉素
hpt	编码潮霉素磷酸转移酶的基因
I^+	注入正离子
J	离子流密度
K	反应系数、各种常数、辐射系数
kb	千碱基对
kn	辐射品质
Krens'F	外源 DNA 导入介质之一
KT	激动素
l	长度、距离
LET	Linear Energy Transfer 传能线密度
$m(m_0)$	质量(静止质量)
Δm	受照射体积的质量
m_1	入射离子质量
m_2	靶原子质量
$M_{1,2,\dots,n}$	突变世代
M_{13}	质粒 DNA(7.2kb)
n	密度
N	粒子数、外推数, 牛顿
NAA	萘乙酸
N_6	植物培养基
OER	Oxygen Enhancement Ratio, 氧增强比

P	压强
P_2	长寿命自由基份额
pBI	质粒 DNA(4.7kb)
pCR	聚合酶链式反应
pUC	质粒 DNA(2.7kb)
Q	电量、热量、品质因素
q	电量
$-Q_b$	细胞电性值
ΔQ_i	细胞电性变化值
R, r	离子半径、距离、气体常数
RBE	Relative Biological Effectiveness, 相对生物学效应
R_i	入射离子总射程
R_p	入射离子投影射程
Renner's Complex	伦纳氏复合体
S	存活率、溅射率
S_e	电子阻止本领
S_n	核阻止本领
SSC	NaCl 和柠檬酸混合液
T	温度
t	时间
TE	三甲基氨基甲烷和二乙胺四乙酸混合液
U	电势
V	电压、体积、靶体积
$v(\dot{v})$	速度、靶学说中的靶体积
W	离子能量、离子流加速能量
$W_{k,l}$	X 荧光产生几率

Y_i	二次电子发射系数
Z	电荷数
Z_1	入射离子电荷数
Z_2	靶原子电荷数
α	适应系数、氦核
β	系数
γ	比例系数、保护系数
ϵ	介电常数
η	辐射效应、比例系数、份额
θ	入射角、角度
λ	自由程、波长、失活常数
μ	导磁率
ν	光子频率
ρ	密度、概率
σ_{ij}	电荷交换截面

目 录

第一章 离子的一般概念	1
第一节 离子的物理性质	1
第二节 离子的形成和复合	5
第三节 离子的极化和离子群团化	6
第四节 离子的生物效应	9
第五节 离子注入和遗传改良	12
第二章 离子的产生和加速	15
第一节 离子注入生物样品对装置的要求	15
第二节 束线基本结构	16
第三节 束流强度的测量	28
第四节 单粒子束简述	32
第三章 离子注入基础知识	35
第一节 载能离子与固体表面相互作用	35
第二节 离子注入射程	41
第三节 辐照损伤	54
第四节 离子注入过程的 Monte—Carlo 计算	59
第五节 化学反应和核反应	64
第四章 荷能离子与生物体相互作用	67
第一节 靶结构成分的描述	68
第二节 靶在离子注入时的状态	70
第三节 电荷交换效应	77
第四节 表面刻蚀和容积损伤	81

第五节	自由基的产生	84
第六节	质量沉积反应	91
第七节	能量损失的特征	95
第八节	剂量和注量	105
第五章	离子注入生物小分子反应历程	110
第一节	溶液体系中生物小分子的辐射损伤	110
第二节	离子注入生物小分子损伤	112
第三节	离子沉积反应历程	123
第四节	物理化学修复	132
第六章	离子注入 DNA 的损伤和修复	137
第一节	离子注入常用的质粒 DNA	138
第二节	DNA 单链双链断裂	144
第三节	DNA 损伤的修复	147
第四节	基因突变	151
第五节	质粒 DNA 离子注入突变的分子机制	153
第七章	离子注入细胞损伤效应	160
第一节	细胞形态的变化	160
第二节	细胞电性的变化	167
第三节	细胞活性的变化	171
第八章	离子注入生物学效应	176
第一节	离子注入生物效应的进程	177
第二节	影响生物效应的主要因素	178
第三节	生理效应	181
第四节	生化效应	187
第五节	遗传效应	190
第九章	离子注入遗传变异基础	195
第一节	染色体结构变异的类型	196

第二节	小麦 Premebi 染色体畸变·····	199
第三节	黑麦 AR ₁ 染色体变异·····	204
第四节	同源四倍体黑麦染色体畸变·····	209
第五节	染色体畸变的类型和特点·····	214
第六节	不同离子注入棉花细胞学效应·····	218
第十章	离子束农作物诱变育种·····	223
第一节	诱变育种一般原则·····	224
第二节	诱变方法·····	226
第三节	离子束诱变育种的程序·····	230
第四节	离子束在育种上应用的途径·····	234
第十一章	离子注入微生物诱变育种·····	241
第一节	离子注入微生物诱变作用·····	241
第二节	微生物育种程序·····	244
第三节	离子注入生产菌改良·····	247
第十二章	离子束介导转基因·····	250
第一节	离子束介导转基因原理·····	251
第二节	影响转基因的因素·····	254
第三节	离子束介导转基因程序·····	258
第四节	离子束介导基因簇转移·····	263
附 录	有关的辐射生物学知识·····	268
第一节	辐射效应和辐射品质·····	268
第二节	相对生物学效应 RBE·····	271
第三节	辐射敏感性·····	272
第四节	环境因子的影响·····	273
第五节	直接作用和间接作用·····	275
第六节	靶学说·····	277

第一章 离子的一般概念

离子在自然界广泛存在。宇宙射线中有离子,空气中有离子,水中有离子,生物体内也含有离子。不管是生物体内固有的离子还是环境辐射注入到生物体内的离子,都对生命活动产生着重要的影响。

第一节 离子的物理性质

早在电子发现之前半个世纪,法拉第就把电化试验中流向两个电极的物质粒子称为离子。实际上,任何一种原子或分子被电离而失去一个或几个电子就成为正离子;相反,任何一种原子或分子俘获一个或几个电子就称为负离子。

离子和电子都是带电粒子。电子的质量约为质子的 $1/1840$, 所带的电荷等于 1.60×10^{-19} 库仑。电子所带的电荷是最小电荷,一切带电体所带电荷量都是这个最小电荷的整数倍。离子和电子不同,它的种类很多。对于离子的类型可以用电荷数 Z 和质量数 A 来描述。如果离子所带电荷量为 e , 则:

$$e = Ze_0. \quad (1.1.1)$$

式中 e_0 为基本电荷,即电子所带的电荷量 (1.60×10^{-19} 库仑)。如果离子的静止质量为 m_0 , 则:

$$m_0 \approx Am_p. \quad (1.1.2)$$

式中 m_p 为质子的静止质量 ($1.67 \times 10^{-27} \text{kg}$)。这是一个近似的等式, 因为这里忽略了原子内核子的结合能和核外电子的质量。

根据 Einstein 相对论, 质量 m 与静止质量有下述关系:

$$m = m_0 \gamma, \quad (1.1.3)$$

$$\gamma = \frac{1}{\sqrt{1 - \beta^2}}, \quad (1.1.4)$$

$$\beta = \frac{v}{c}. \quad (1.1.5)$$

v 为粒子速度, c 为真空中的光速。

电子的直径约为 10^{-15}m , 离子直径比电子要大得多, 大约在 10^{-10}m 量级, 大小与原子差不多。一般地, 负离子的直径比正离子为大, 几乎所有负离子的半径在 $(1.3 \sim 2.5) \times 10^{-10} \text{m}$ 之间, 而正离子的半径在 $(0.1 \sim 1.7) \times 10^{-10} \text{m}$ 之间。例如, K^+ 半径 0.133nm , Cl^- 半径 0.181nm 。就同一元素的不同价态的离子来说, 离子所带正电荷越多, 离子的直径就越小。如果原子核外电子全被剥离, 则原子核的直径只有 $10^{-14} \sim 10^{-16} \text{m}$ 。离子的全部质量, 几乎都集中在原子核中。

离子在它的周围产生静电场。设离子电量为 e , 则离子在 r 处产生的静电场为:

$$E = \frac{e}{4\pi\epsilon_r r^2}, \quad (1.1.6)$$

$$\epsilon = \epsilon_r \epsilon_0。$$

ϵ_r 为相对介电常数, $\epsilon_0 = 8.85 \times 10^{-12} \text{C}^2/\text{N} \cdot \text{m}^2$ 。在真空中, $\epsilon_r = 1$, 在其他介质中 $\epsilon_r > 1$ 。电场的方向与位于 r 处试验正电荷所受的力的方向一致。离子的能量(即离子产生的静电场的总能量)由下式表示:

$$W = \frac{e^2}{2\epsilon R}。 \quad (1.1.7)$$

式中 R 为离子的半径。根据(1.1.7)式可估计离子能量数量级。设离子直径 $2 \times 10^{-10} \text{m}$ 量级, 则在真空中离子的能量大约为 $5eV$, 而在电介质中的能量为真空中的 $1/\epsilon$ 。

运动离子在它周围空间产生磁场, 设离子运动速度为 v , 则在距运动离子 r 处的磁场为:

$$B = \frac{\mu e v}{4\pi r^2} \sin \alpha。 \quad (1.1.8)$$

式中, μ 为磁导率, α 为速度 v 的方向与矢径 r 之间的夹角。以矢量表示:

$$\vec{B} = \frac{\mu e}{4\pi r^3} \vec{v} \times \vec{r}. \quad (1.1.9)$$

根据 Lorentz 公式, 离子在外加电磁场中受的力为:

$$\vec{F} = e\vec{E} + e\vec{v} \times \vec{B}. \quad (1.1.10)$$

式中 $e\vec{E}$ 是离子受到的电场力, 正离子受到的电场力的方向与 E 的方向一致, 负离子受到电场力的方向与 E 的方向相反。 $e\vec{v} \times \vec{B}$ 为离子受到的磁场力, 磁力的方向垂直于 $\vec{v}, \vec{B}$ 所在的平面。离子在电磁场中的运动方程为:

$$e\vec{E} + e\vec{v} \times \vec{B} = m\vec{a}. \quad (1.1.11)$$

式中 m 为离子的质量, $\vec{a}$ 为离子运动的加速度。

在没有外加电磁场的情况下, 离子与离子之间, 离子与其他带电粒子之间受到运动电荷自身电场磁场的作用。举一个极简单的例子来说明这种作用。设带有同样电荷 e 的两个离子以同样的速度 v 平行运动, 离子间的距离为 d , 则每个离子所受到的电磁力分别为:

$$F_{\text{电}} = \frac{e^2}{4\pi\epsilon_0 d^2}, \quad (1.1.12)$$

$$F_{\text{磁}} = \frac{\mu_0 e^2 v^2}{4\pi d^2}. \quad (1.1.13)$$