

·科学论坛·

# 离子束生物工程学

宋道军 余增亮

(中国科学院等离子体物理研究所丰乐离子束生物工程中心,合肥 230031)

**[摘要]** 介绍了离子束生物工程学的产生背景、研究方向及取得的研究成果,阐述了发展该学科的科学意义,综述了该学科国内外研究概况,并对离子束生物工程学的未来发展趋势作了预测。

**[关键词]** 离子束生物工程学,离子束介导转基因,生命起源,单粒子束,公众健康

## 1 离子束生物工程学创立背景

本世纪后半叶,随着低能加速器和离子注入技术的发展,低能离子与物质相互作用研究对半导体工业、微电子和材料科学产生了重大影响。然而,在离子注入生物效应发现之前,低能离子与物质相互作用研究对象仅限于气体(包括等离子体)、固体(金属、半导体等)和高分子材料这些无生命物质<sup>[1]</sup>。实际上,在自然界,粒子辐射不管是天然的还是人工的,总有少数有静止质量的粒子注入到生物体内,影响生物的生长、发育、进化和公众健康。可是,辐射生物学发展的几十年间,研究者很少顾及质量沉积带来的影响,仅考虑能量沉积造成的损伤。即使80年代兴起的重离子治疗肿瘤研究,仍沿袭辐射生物学理论,忽视了注入肿瘤部位的慢化离子沉积的各种生物学效应<sup>[2]</sup>。

20世纪80年代中期,中国科学院等离子体物理所研究人员发现了离子注入对水稻的诱变作用<sup>[3]</sup>。在严格设计的实验体系下,证实了质量(粒子)沉积生物效应的存在,开辟了低能离子与物质相互作用新的研究方向,受到国家计委、国家自然科学基金委员会、中国科学院和安徽省人民政府的大力支持及国内外专家的广泛关注。

现代科学技术发展的重要标志之一是一个新的自然现象的发现与实际应用之间的周期大为缩短。离子注入生物效应发现不久,根据低能离子与生物体相互作用原理,离子束诱变育种技术和离子束介导转基因技术就很快发展起来,并在农作物和工业

微生物育种方面得到了初步的应用和成果。迄今已在安徽、江苏、山东、浙江、辽宁等省育出了14个新品(菌)种,新增社会效益17亿元。同时,获得了像对生玉米、转基因“玉米稻”、蛋白质含量为25%的高蛋白小麦、表达银杏内酯的西瓜等特殊育种材料,丰富了基因库,“对提高我国育种技术的整体水平具有深远的意义”。

从国家权威检索单位检索的结果,以及从国内外著名学者专著中的论述看,本项研究是一个由中国最先开始、前人尚未涉足、有独立存在基础的新的研究领域。NASA生命科学部T.C. Yang博士1992年在美国会见中国科学院离子束生物技术代表团和1993年在中国主持本领域国家自然科学基金重点项目中期评估时说,低能离子与生物体相互作用研究填补了重离子生物学研究的一段空白,建议本项研究定名为低能重离子生物学(见国家自然科学基金重点项目《离子注入水稻诱变机理》中评估“评估结论”)。后来徐冠仁院士又亲笔题写“离子束生物工程学”一名,这就是“离子束生物工程学”的由来<sup>[4]</sup>。

## 2 研究方向

本学科是由我国研究人员独立发展起来、具有自主知识产权的新的交叉领域。经过10余年的努力,已形成几个具有重要科学意义和强烈应用背景的研究方向。

### 2.1 低能离子与复杂生物体系相互作用

低能离子与复杂生物体系相互作用,从原初过

本文于2000年12月15日收到。

程到生物学终点,经历物理阶段、物理化学阶段、生物化学阶段、生物学阶段,时间跨越  $10^{-19} - 10^9$  s<sup>[5]</sup>。从原初微观分子水平损伤到宏观性状变异,空间上不知放大了多少倍。在如此宽广的时空域内要全面阐明低能离子与生物体系相互作用过程,从目前认识水平和所掌握的科学技术手段看,短时间内是极困难的。因此,现阶段主要开展了如下研究:

(1)低能离子与生物体系相互作用物理化学模型建立。低能离子与生物体相互作用物化过程是阐明低能离子生物学原理的基础。注入离子与生物体相互作用原初过程既存在能量损失、动量传递,又存在质量沉积、电荷交换过程。生物体结构既不同于晶体,又不同于凝聚态物质。本研究将在这样一个复杂的体系内,建立低能离子与生物体系相互作用弹-靶模型<sup>[6]</sup>。

(2)注入离子与生物体相互作用物理过程。主要研究:典型生物靶精细结构图像,微剂量分布,自由基、三重态实验探测生物沟道,离子透射能谱及角分布,结构损伤及沟道演变,电子溅射-库仑爆炸,生物大分子抛射质谱,离子溅射-非线性级联溅射,化学溅射-活性基团反应生成物的挥发,分子探针-沟道几何的演变,低能离子在生物体内的长程输运,弹-靶作用的理论模型, Monte-Carlo 模拟等<sup>[7]</sup>。

(3)离子注入与生物分子反应动力学。主要研究:离子碰撞生物分子反应动力学,生物大分子聚合反应,交联反应,碎裂过程,振动模式和链式传播,内能和形变能的转换、贮存,电荷交换及跨膜物理场,静电场、粒子流场、氧化还原场,生物弛豫等<sup>[8]</sup>。

(4)离子注入细胞分子遗传学。主要研究:离子注入的分子遗传效应, DNA 单双链断裂效应<sup>[9]</sup>, DNA 序列突变热点,突变基因定位分析,基因调控与表达,质粒 DNA 与病毒损伤规律,离子注入胞内、外质粒序列的变化规律<sup>[10]</sup>,对 Nov 基因表达及一级结构的影响,离子注入对细胞遗传的影响,染色体结构、数量、形为变异的特点和规律,当代可遗传突变细胞学基础等<sup>[11]</sup>。

## 2.2 离子束生物工程学

生物工程学是细胞工程、遗传工程、发酵工程等涉及生物学及工程学领域的研究总括。离子束诱变技术、细胞加工技术和离子束介导转基因技术为生物工程学研究又提供了新的概念、方法和手段。

(1)有益突变高效调控。离子束诱变的起因不仅是能量沉积引起 DNA 单双链断裂,主要是通过离子注入过程中质、能、电多因子作用,移位和重组遗

传物质分子原子,使突变性状表现出多发性和重复性。因此有可能通过不同参数组合注入达到有益突变的调控。

(2)细胞加工。细胞工艺学是 21 世纪新技术之一。人类在细胞水平上做手术已为期不远,美、英、日等发达国家已开始发展微束细胞手术的研究。离子束对生物体刻蚀各相异性的成因,离子束溅射对细胞壁的超微加工,离子束切割基因、构建基因载体都是离子束细胞加工要研究的内容。

(3)离子束诱导细胞融合。主要研究正、负电荷注入对细胞电性的影响,电场对变电性细胞的操纵,细胞对称融合细胞非对称融合<sup>[13]</sup>。

(4)离子束介导裸露活性 DNA 大分子转移。主要研究注入离子刻蚀转基因通道,通道壁电位分布,电场引导 DNA 转移,外源 DNA 转移的定位和时空表达<sup>[13]</sup>。

## 2.3 单粒子束加速器及细胞定位照射

正如日本政府在“人类前沿科学计划”中所论述的那样,离子束将成为未来生命科学研究的支撑技术之一,其关键是发展微束或单粒子加速器以及细胞图像重建和精确定位技术。单粒子束加速器系统包括束的准直和散射、粒子角分布研究、单粒子探测(超薄晶体探测器)、细胞图像分析、细胞无损染色、活细胞结构显微分析(关键提高分辨率)和细胞微区激光定位技术。细胞精密操纵系统包括细胞无损固定和拆除和细胞三维精确操纵。精确粒子数定位照射控制系统包括快速电子开关及控制软件包等。

## 2.4 单粒子效应与公众健康

环境低剂量照射危险性估计、重离子注入肿瘤的细胞学效应等一直缺乏精确的实验数据。从 50 年代开始,欧洲和美国科学家进行了各种尝试,如紫外微束、电子束微束、激光微束等用于低剂量辐射研究。这些系统都被限制到相对较大的剂量,仍不能回答低剂量对生物体的影响。单粒子生物效应的研究可从根本上解决这一难题。精确粒子数照射细胞核主要研究内容为基因突变和表达、细胞转化、细胞周期。精确粒子数照射细胞质诱变效应主要研究内容为:自由基、三重态、细胞通讯、离子的生物学功能、注入质子对细胞 pH 值的影响。单粒子束细胞器手术主要研究内容为:叶绿体照射效应、线粒体照射效应等。精确粒子数重离子穿透及注入细胞的损伤效应主要研究内容为:损伤的敏感区域、损伤程度与离子质量数的关系、肿瘤细胞转化等。

### 3 开展离子束工程学研究的科学意义

从本项研究已经开展的4个研究方向看,许多是具有中国知识产权的创新研究,有些是近年来发达国家竞相开展的国际前沿课题。这些研究不仅促进核科学的发展,促进对生命科学中一些深层次问题(如生命化学进化、离子的生物学功能、自由基、三重态、微注量分布、基因突变、结构生物学、低剂量辐射与公众健康等等)的研究,而且有可能建立新的研究体系,发展新的交叉学科。

(1)离子注入半导体、金属等固体无机材料在离子射程、晶格畸变、辐照损伤、注入离子晶格定位和材料电学性质等一系列问题上已取得了重大突破,创立了低能离子与固体材料相互作用的基本理论,发展了新的分支学科,对世界技术经济产生了重要影响。同理,我国开展的离子注入生物体研究在入射离子输运、结构损伤、注入离子反应、分子原子重排、DNA序列变异、基因突变和遗传改良等基本问题上面临着突破的前奏。这些问题的解决有助于低能离子与生物体相互作用基本理论的建立,有可能发展成为低能离子生物学这一新的交叉学科<sup>[14]</sup>。

(2)在生物圈内,荷能离子不管来自何处,总有一部分注入到细胞内,并与周围分子反应,造成局部原子移位、重组、基因修饰等多重损伤,影响人类的健康和生物的进化。这一客观存在的自然现象长期被人们忽略了。因此,研究低能离子与复杂生物体系相互作用,对于揭示这一自然现象的本质,评价它的危险性以及人们如何防护和利用它具有重要的科学意义<sup>[15]</sup>。

(3)研究离子注入生物小分子,可增加人们对原始地球生命化学进化过程的认识。一般认为,原始地球上生物小分子的合成主要在气态和液态环境中进行。最近研究发现, $N^+$ 注入羧乙酸可形成氨基酸, $N^+$ 注入甲酸盐、乙酸盐不仅能形成腈基,而且形成环状氨,溶于水后,形成了新的氨基酸。由此可以推演,原始大气中的氮电离后,注入并沉积到地表有机盐分子中,引起靶原子移位和重排,可能是生物小分子进化的重要途径<sup>[16]</sup>。

(4)对公众健康而言,环境低剂量辐射到底有多大危险,这是人们所关心的问题。现已基本查明,美国肺癌死亡人群中,每年约有1.5万人因居室氡衰变放射 $\alpha$ 粒子入射引起的。支气管上皮细胞是 $\alpha$ 粒子的靶细胞,每年接受1到十几个 $\alpha$ 粒子入射。中国科学院等离子体物理研究所与美国哥伦比亚大学

合作,为此提供了证据。因此,阐明单个粒子或几个粒子如何引起细胞恶性转化,对提高人们的生存质量有重要的意义。特别是,人类移居其他星球已不再是科学幻想,研究低能单粒子细胞学效应就显得更加突出<sup>[17]</sup>。

(5)20世纪90年代以来,欧美和日本把离子束作为生命科学研究中的支撑技术之一而受到高度重视。其目的,一是利用离子冲击发光和讯号的检出、图像的再构成从原子分子尺度上计测细胞的精细结构,二是利用离子束超微加工,部分损伤和切割基因,研究自由基,三重态和微注量分布。这对阐明细胞的功能,以便人类将来更好的利用这些功能及发展细胞工艺学,有目的地控制生物过程等具有重要意义。

(6)低能离子束作为遗传改良新方法,已在诱变育种和介导基因转移方面取得了显著的进展。离子束介导裸露活性DNA大分子转移已成为国际上生物技术研究的热点(GEN.1,1995)。目前,尽管离子束诱变在一定条件下表现出多发性和重复性,但总的看来还是统计学上的。深入了解低能离子与生物体系相互作用的规律和特征,建立这一领域的基本理论,将离子束聚成微束或单粒子束,发展精确定位术,将离子束用于定点遗传操作(基因转移和重组),将对定向育种产生重要影响。

综上所述,本学科研究的关键还在于离子束的微束化,发展单粒子加速器,研究细胞精确定位技术,信号检测技术和图像重建技术。这些问题并不是现有技术的组合所能解决的,而是物理学、技术科学自身要研究的前沿课题。因此,本学科研究不仅对生命科学的发展具有重要意义,对物理学和技术科学的发展同样有重要意义。

十余年来,离子束生物工程学已创造的良好社会和经济效益为离子束生物工程学在未来我国工农业发展的广泛应用奠定了良好的基础,随着这项技术逐渐的被国内外生物界和农学界的接纳和认可,我们相信我国的工农业生产和物理学科、技术学科、生物学科等也会对离子束生物工程学的需求更加迫切。

### 参 考 文 献

- [1] 余增亮,邱励焱等. 离子注入生物效应及育种研究进展. 安徽农学院学报, 1991, 18(4): 251—257.
- [2] T. C. 杨,梅曼彤. 太空放射生物学. 广州:中山大学出版社, 1995, 5—18.
- [3] 吴跃进,王学栋等. 水稻温敏型叶绿素突变体遗传及超微结构

- 研究. 安徽农学院学报, 1991, 18(4):258—262.
- [4] 徐冠仁. 在全国第一次离子注入生物效应研究学术讨论会上的几点建议. 安徽农学院学报, 1991, 18(4):250.
- [5] 余增亮. 离子束生物技术引论. 合肥:安徽科学技术出版社, 1998, 177—180.
- [6] 邵春林, 余增亮. 离子束辐射微生物、植物组织存活模型研究. 核技术, 1997, (20):422—430.
- [7] 邓建国, 吴跃进等. 种子存活率-离子束辐射剂量曲线拟合初步研究. 安徽农学院学报, 1991, 18(4): 305—313.
- [8] 邵春林. 博士论文, 中国科学院等离子体物理研究所, 1995.
- [9] 付烈振, 丘冠英等. 低能重离子对 T1 噬菌体和 T1dsDNA 的影响及与 UV 效应的比较. 安徽农业大学学报, 1994, 21(3):275—281.
- [10] 鲁润龙, 朱学良等. N<sup>+</sup>束对离体和体内 DNA 影响的初步研究. 安徽农学院学报, 1991, 18(4):294—298.
- [11] 崔海瑞. 博士论文, 中国科学院等离子体物理研究所, 1994.
- [12] 邵春林, 余增亮. 离子注入生物分子电荷交换效应. 核技术, 1997, (20):70—73.
- [13] 宋道军, 余汛. 离子束介导转基因提高 E. coli UV 敏感菌株的 DNA 损伤修复能力. 科学通报, 1999, 44(18):1 968—1 972.
- [14] 宋道军, 余增亮. 离子注入生物学 - 诞生于中国的一门交叉新学科, 1996, 11:49—51.
- [15] 韩建伟. 博士论文, 中国科学院等离子体物理研究所, 1998.
- [16] 黄卫东. 博士论文, 中国科学院等离子体物理研究所, 1995.
- [17] 吴李君. 博士论文, 中国科学院等离子体物理研究所, 1999.

## SURVEY OF STUDY ON ION BEAM BIO-ENGINEERING

Song Daojun Yu Zengliang

(Center of Fengle Ion Beam Bioengineering, Institute of Plasma Physics, CAS, Hefei 230031)

**Abstract** In this paper, the found background of ion beam bioengineering and research field and achievement were introduced. The scientific significance of developing ion beam bioengineering and the research progress of this subject were elaborated. Finally, we forecasted its developing direction in future research.

**Key words** ion beam bio-engineering, DNA-mediated gene transfer by ion beam, public health

·资料·信息·

### 2001 年度国家自然科学基金 3 月底截止受理申请

国家自然科学基金面向全国,资助自然科学基础研究和应用基础研究,其资助对象以中央所属科研机构 and 重点高等院校为主。各单位从事基础研究和应用基础研究的科研人员应根据《国家自然科学基金申请指南》和《2001 年度国家自然科学基金项目指南》,结合研究工作积累及所在单位的工作条件提出申请。各单位应根据科学基金各类项目申请办法,严格审查,认真推荐,遴选出创新性强的优秀项目申报国家自然科学基金。

国家自然科学基金 2001 年度项目申请的受理工作,自 2001 年 2 月 15 日开始,3 月 31 日截止(邮寄申请书及软盘以投寄日邮戳为凭,软盘以快递方式投寄)。

国家自然科学基金委员会现已迁址,新的通讯地址:北京市海淀区双清路 83 号,邮政编码:100085。信箱:北京市 8610 信箱。

联系电话:010 - 62326970, 62327233 (服务中心);62327087(值班室)