

# 低能离子束诱变机理研究进展

陈浩<sup>1</sup>, 解继红<sup>2\*</sup>, 于林清<sup>2</sup>, 谭建国<sup>3</sup>, 贾芸<sup>1</sup> (1. 内蒙古工业大学理学院, 内蒙古呼和浩特 010051; 2. 中国农业科学院草原研究所, 内蒙古呼和浩特 010010; 3. 内蒙古草原工作站, 内蒙古呼和浩特 010020)

**摘要** 自发现离子束生物效应以来, 离子注入技术已被应用于生物改良、环境辐射生物学效应等研究领域。其中, 在植物遗传育种、创造新种质资源方面的成果非常突出。但是, 由于低能离子的能量低, 理论射程很短, 关于低能离子生物效应和诱变的机理尚不完全清楚。该研究重点综述了离子束生物技术在机理研究方面取得的成果, 并对今后的研究趋势进行了展望。

**关键词** 低能离子束; 机理研究; 远程诱变效应

中图分类号 S121 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2013)04-01425-02

## Research Progress on Low Energy Ion Beam Mutation Mechanism

CHEN Hao et al (Polytechnic Institute of Inner Mongolia University of Technology, Huhhot, Inner Mongolia 010051)

**Abstract** Ion beam implantation technique has been applied to many research fields, such as organism improvement and radiobiological effect of the environment, since the mutagenic effects of ion beam had been discovered. Especially ion beam biotechnology has obtained outstanding result in introducing plant breeding and creating new germplasm resources. But ion has low energy and theory range is very short, the low energy ion biological effect and mutation mechanism is not completely clear. The achievements of ion beam biology technology in the studies of mechanism were summarized and research trend was forecasted.

**Key words** Low energy ion beam; Mechanism research; Remote mutagenic effect

低能离子束生物工程学是一门新兴的交叉学科。由此发展起来的低能离子生物技术是具有中国自主知识产权的原始创新技术。在我国, 以中国科学院离子束生物工程重点实验室为中心, 建立了多个离子束生物工程实验室或工程中心; 美国、日本、英国、澳大利亚和泰国等也相继开展了这方面的研究; 日本还将离子束生物技术列为“人类前沿科学计划”, 作为优先发展的高科技项目<sup>[1]</sup>。20世纪80年代中期, 余增亮研究员带领的研究组首先将低能离子注入技术应用于农作物的诱变育种, 发现低能离子注入作为一种新的生物诱变源具有损伤轻、突变率高、突变谱广的特点, 从而开辟了离子束生物工程学。在之后短短十余年, 离子束生物技术已经在诱变育种、植物转基因、生命起源和进化以及环境辐射与人类健康等方面取得重要的阶段性研究成果, 开辟了具有重要理论和应用价值的研究方向<sup>[1]</sup>。在基础研究领域, 与分子生物学、遗传工程学结合使得人们对低能离子在生命起源、辐射损伤中的作用有了更多认识。在工农业、医药业领域, 离子束生物工程技术选育的新品种带来了巨大的经济效益<sup>[2]</sup>。然而, 由于低能离子的能量低, 理论射程很短, 关于低能离子注入生物体引起诱变的机理尚不完全清楚, 因而低能离子诱变机制一直是人们关注的焦点。

### 1 低能离子注入的射程

低能离子注入生物学效应的机理研究最初围绕离子注入生物体的深度问题展开。荷能离子在晶体和无定型固体中的射程、30 keV N<sup>+</sup>的理论射程不足0.2 μm。一种观点认为由于生物体是非晶体靶, 上述理论可以外推到离子与生物

体的作用, 即30 keV N<sup>+</sup>在生物体内的射程不足0.2 μm。还有一种观点认为这种外推的观点忽视了生物体与晶体和无定型固体在结构上的差异。生物体主要由C、H、O、N等元素组成, 密度不均一, 并且其中存在很多孔洞。显微结果显示, 离子注入对绿豆种子胚胎细胞<sup>[3]</sup>和耐辐射微球菌细胞<sup>[4]</sup>都产生局部的损伤和刻蚀效果, 而且随着注入剂量的增加, 刻蚀的程度增加, 细胞在形态上有变化, 细胞的电性和活性<sup>[1]</sup>也有变化。目前, 关于低能离子注入生物体的射程问题没有一个比较公认的结果。

### 2 低能离子注入的生物学机理研究

**2.1 低能离子诱导小分子的损伤与基团变化** 低能离子注入能引起氨基酸和小分子无机化合物的损伤, 导致电荷和基团变化等<sup>[5]</sup>。石怀彬等利用N<sub>2</sub>常压弧光放电产生低能N<sup>+</sup>, 经电场加速后注入胞嘧啶水溶液。结果表明, 低能N<sup>+</sup>对溶液样品造成多种形式的损伤, 形成多种损伤产物, 其中不仅包括水溶液中多种损伤碎片之间的重新化合, 而且包括N<sup>+</sup>与溶液中元素形成新的化学基团<sup>[6]</sup>。王相勤等以25 keV N<sup>+</sup>处理固态尿嘧啶后, 用傅里叶红外光谱分析其分子结构的变化, 发现尿嘧啶受到一定程度的损伤, 茚三酮反应测定证实辐射后样品中出现新的化学基团——氨基<sup>[7]</sup>。这些研究表明, 低能离子注入生物体, 可以与生物体内多种靶分子相互作用。

**2.2 低能离子诱导DNA和染色体的损伤** 离子注入后引起染色体结构上的变异非常丰富, 如中期染色体的着丝点裂隙、染色体末端缺失、染色体单体一臂缺失染色体片段等; 后期有染色体落后、三级分离、不均等分离、多桥; 末期有多桥、双微核和小核等。此外, 染色体的畸变率随着剂量的增加而增加<sup>[1]</sup>。

低能离子注入可引起丰富的DNA多态性变化。杨剑波等应用lacZ系统, 通过离子注入处理M13mp18质粒DNA后

**基金项目** 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金(中国农业科学院草原研究所)。

**作者简介** 陈浩(1960-), 男, 内蒙古呼和浩特人, 讲师, 博士, 从事离子束生物技术教学和科研工作。\*通讯作者, 助理研究员, 硕士, 从事离子束诱变、植物育种等方面的研究, E-mail: xiejihong223@163.com。

**收稿日期** 2012-12-20

导入大肠杆菌细胞,筛选缺陷型突变子,并检测相应的突变,结果表明转换主要为 CG\_TA 与 AT\_GC,颠换主要为 CG\_AT 与 CG\_GC,并对其可能的诱变机理进行了初步分析<sup>[8]</sup>。Tang 等用低能氮离子辐照野生型大肠杆菌 w3110 后检测 *lacI* 的突变频谱。与真空对照相比,注入后 *lacI* 的突变率比真空对照高 10 倍。离子注入产生的突变谱与氧化自由基胁迫造成的突变结果相类似,并且这种增加的突变主要是碱基对的突变、缺失和插入<sup>[9]</sup>。

**2.3 低能离子诱导植物种子远程诱变效应的研究** 最近的一些研究表明,辐射诱导植物种子的浅层损伤能够通过一定途径转导到茎端分生组织(SAM)和根尖部位(RAM),表明植物个体水平上存在辐射远程诱变效应。Yang 等以单粒子微束装置定点、定量辐照拟南芥种胚 SAM 的研究结果表明,在 SAM 受到辐照损伤后,远端未受到直接照射 RAM 分化发育包括主根伸长、根毛发育分化以及侧根发生均受到显著的抑制<sup>[10]</sup>。Yang 等采用特定的遮挡辐照掩膜装置,实现拟南芥种子关键发育学部位 SAM 和 RAM 的低能离子遮挡辐照,研究了未受直接损伤的 SAM 和 RAM 在后续萌发发育分化中的变化。结果表明,未受直接辐射损伤的 SAM 和 RAM 在后续的萌发发育分化中产生显著的变化。这表明辐射诱导拟南芥种子的浅层损伤能够通过一定途径转导到 SAM 和 RAM,拟南芥个体水平上存在辐射诱导的长程信号转导<sup>[11]</sup>。笔者利用豆科模式植物——蒺藜苜蓿对低能离子诱导植物种子长程旁效应做了进一步研究。结果表明,辐射诱导的长程信号转导不但能引起蒺藜苜蓿表型和酶活性的变化,而且能诱导 DNA 链断裂的增加<sup>[12]</sup>。卜坡等以 30 keV 低能氦离子从 4 个典型的方向(茎端分生组织、根尖部位、子叶和胚根方向)对拟南芥种子进行辐照。结果表明,4 个方向的辐照均导致地上植株同源重组频率的增加,对距离茎端分生组织最远的根尖部位辐射诱导了最明显的诱变效应,直接证明了低能离子在植物种子中的远程诱变效应。同时,研究人员还发现辐射种子的子代植株中同源重组频率的增加,说明旁观机制参与植物辐射远程过程的诱导<sup>[13-14]</sup>。

### 3 展望

低能离子生物技术从应用至今虽然仅短短 20 多年的时间,但已成为许多国家竞相开展的国际前沿课题。这项技术的发展不仅促进了核科学的发展,而且将促进生命科学研究

的变革。可以预见,低能离子生物技术在诱变育种这一领域所能开创研究的广度和深度不可限量。然而,由于低能离子的理论射程很短,尽管前人已经做了许多相关的研究工作,但关于低能离子注入生物体引起诱变的机理尚不完全清楚。最近,中国科学院离子束生物工程实验室创新性地从辐射诱导长程信号转导(辐射旁效应)的角度探讨了低能重离子注入引起的生物学效应尤其是诱变效应的机理,证明了辐射损伤信号的长程转导是低能离子束注入诱变育种的主要生物学机理之一,为深入理解低能离子诱变机理提供了新的研究思路。今后,以辐射旁效应为切入点的低能离子诱变机理研究应当是关注的热点。

### 参考文献

- [1] 余增亮. 离子束生物技术引论[M]. 合肥:安徽科学技术出版社,1998.
- [2] 刘竞男. 低能氮离子注入大肠杆菌诱发碱基置换突变与 DNA 损伤及修复[D]. 合肥:中国科学院等离子体物理研究所,2006.
- [3] 苏一,李毅,辛华. 离子注入绿豆种胚中注入深度的研究[J]. 天津师大学报,1996(4):32-35.
- [4] 宋道军,余汛. 耐辐射微球菌细胞内含物 pH 受离子注入的影响及其抗辐射作用[J]. 高技术通讯,1999(2):53-55.
- [5] 谢传晓. 低能氮离子注入大肠杆菌诱发碱基置换突变与 DNA 损伤及修复[D]. 合肥:中国科学院等离子体物理研究所,2004.
- [6] 石怀彬,邵春林,王相勤,等. 弧光放电产生的低能氮离子对胞嘧啶水溶液损伤作用的研究[J]. 辐射研究与辐射工艺学报,2001,19(3):231-235.
- [7] 石怀彬,邵春林,王相勤,等. 低能离子与腺苷酸组分水溶液作用合成腺苷酸[J]. 物理化学学报,2001,17(5):412-415.
- [8] YANG J B, WU L J, LI L, et al. Sequence analysis of *lacZ*(-) mutations induced by ion beam irradiation in double-stranded M13mp18DNA[J]. Science in China Series C-Life Sciences, 1997, 40:107-112.
- [9] TANG M L, WANG S C, WANG T, et al. Mutational spectrum of the *lacI* gene in *Escherichia coli* K12 induced by low-energy ion beam[J]. Mutation Research-Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis, 2006, 602:163-169.
- [10] YANG G, WU L, CHEN L, et al. Targeted irradiation of shoot apical meristem of *Arabidopsis* embryos induces long-distance bystander/abscopal effects[J]. Radiat Res, 2007, 167:298-305.
- [11] YANG G, MEI T, YUAN H, et al. Bystander/abscopal effects induced in intact *Arabidopsis* seeds by low-energy heavy-ion radiation[J]. Radiat Res, 2008, 170:372-380.
- [12] CHEN H, LI F H, YUAN H, et al. Abscopal signals mediated bio-effects in low-energy ion irradiated *Medicago truncatula* seeds[J]. Journal of Radiation Research, 2010, 51(6):651-656.
- [13] WANG T, LI F H, XU S Y, et al. The time course of long-distance signaling in radiation-induced bystander effect *in vivo* in *Arabidopsis thaliana*-demonstrated using root micro-grafting[J]. Radiation Research, 2011, 176:234-243.
- [14] LI F H, WANG T, XU S Y, et al. Abscopal mutagenic effect of low-energy ions in *Arabidopsis thaliana* seeds[J]. International Journal of Radiation Biology, 2011, 87:1-10.

(上接第 1422 页)

- [15] 王虹,索菲娅,王剑虹,等. 新疆大帽藓属 6 种植物茎及叶的比较解剖学研究[J]. 植物研究, 2011, 31(5):524-530.
- [16] 王虹,姜彦成,苏俊. 一号冰川地区 4 种藓类植物的解剖学观察[J]. 植物研究, 2008, 28(1):25-27.
- [17] 王虹,阿不都拉·阿巴斯,范兆田,等. 四种旱生藓类植物的比较结构学观察[J]. 云南植物研究, 2000, 22(1):38-40.
- [18] WU P C, SHI D J, WANG M Z. SEM studies on Leaves and leaf cells of some mosses. [J]. Cathaya, 1990(2):165-170.

- [19] PEDERSEN N, HEDENÅS L. Hylogenetic investigations of a well supported clade within the acrocarpus moss family Bryaceae: evidence from seven chloroplast DNA sequences and morphology[J]. Plant Systematics and Evolution, 2003, 40:115-132.
- [20] PEDERSEN N, HOLYOAK D T, NEWTON A E. Systematics and morphological evolution within the moss family Bryaceae: a comparison between parsimony and Bayesian methods for reconstruction of ancestral character states[J]. Molecular Phylogenetics and Evolution, 2007, 43:891-907.