

离子注入生物分子的电荷交换效应^{*}

邵春林 许 安 余增亮

(中国科学院等离子体物理研究所 合肥 230031)

摘要 以酪氨酸 (Tyr) 分子晶体和腺嘌呤核苷 (AR) 分子晶体为对象, 用毛细管电泳法研究荷能离子注入对其表面电荷的影响。实验发现, 分子的泳动情况与注入离子的剂量有关。当 30keV N^+ 以 $15 \times 10^{10}\text{ions/m}^2$ 剂量注入后, Tyr 和 AR 分子晶体的电泳图象出现三种情况: 向正极运动; 静止悬浮; 向负极泳动, 这说明注入 N^+ 与靶分子之间发生了电荷交换作用, 并对电荷交换量进行了估算。

关键词 离子注入, 生物分子, 电荷交换

低能离子辐照的一个重要特点是具有电荷转移效应^[1]。几十 keV 的低能重离子注入到生物物体上时, 由于离子能量很低, 其运动速度小于原子最外层电子的轨道速度, 它从生物体中得到电子的能力很强, 入射离子很快就因与靶原子、分子的碰撞而发生电荷交换, 将其正电荷转移到靶物质中, 引起靶物质表面电荷的改变。该电荷转移效应对生物体来说显得尤为重要。研究发现, 低能 Ar^+ 辐照后的水稻悬浮细胞的负电性会发生显著变化, 减弱至原来的 40% 左右^[2]。如果该电荷转移效应发生在 DNA 分子上, 则将会影响其辐射损伤情况。

我们研究了在分子水平上低能 N^+ 注入时的电荷转移效应。

1 材料与 方法

1.1 材料

以上海生物化学研究所生产的层析纯酪氨酸 (Tyr) 分子晶体和腺嘌呤核苷 (AR) 分子晶体为研究对象。常温下, 这两种分子晶体在水中的溶解度较小, 且呈针状, 比重较小, 单个晶体能够在水中悬浮一段时间, 在低倍显微镜下即清晰可见。

1.2 辐照源

N^+ 注入在本所离子束生物工程装置上进行, 离子能量为 20keV 和 30keV , 采用脉冲式辐照, 脉冲剂量为 10^{10}ions/m^2 , 记为 D_0 。

1.3 方法

分子晶体样品于载玻片上制成薄膜。辐照后的样品立即以蒸馏水或去离子水 (pH 约 6.8) 洗下, 配制成悬浮液。取适量注入电泳所用的毛细玻璃管内, 将毛细玻璃管的两端以含 NaCl 的琼脂糖电解质封闭, 插入电极, 加 100V 的电场电压。将其置于显微镜的载物台上, 观察分子晶体泳动的情况。

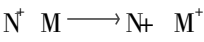
^{*} 国家自然科学基金资助项目

收稿日期: 1996-01-28, 修回日期: 1996-05-17

2 结果与分析

2.1 泳动方向

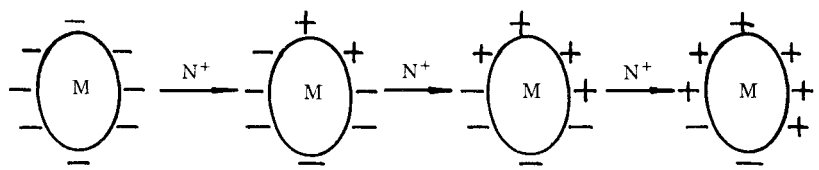
测试发现,未受辐照的 Tyr和 AR分子晶体在毛细管中都向正极泳动,说明它们在水溶液中带负电荷。这是由于它们在水中解离成负离子的缘故。而 N⁺ 注入后分子的泳动情况则与离子的注入能量和剂量有关。Tyr和 AR分子在 20keV N⁺ 以 5D₀ 剂量注入后,进行毛细管电泳,发现所有分子晶体包括被离子轰击产生的更小的分子晶体,仍向正极泳动,与对照相比没有显著差别。但当离子束能量增大至 30keV,剂量增大为 15D₀ 后,受辐照的 Tyr和 AR分子晶体的毛细管电泳图象出现显著变化,共有三种情况;一是多数分子仍向正极运动;二是少部分分子晶体悬浮于水溶剂中,实验中未观察到明显的泳动;三是部分分子晶体向负极泳动,且占有一定比例,对 AR分子还可看到有一些较大的分子团簇在向负极泳动不久后解聚。调换电极极性,仍发现此现象。这说明注入 N⁺ 通过吸取 Tyr或 AR靶分子中的一个电子,而将其正电荷转移给了一部分靶分子。该电荷传递过程可表示成



式中, M代表靶分子 Tyr或 AR

实验发现,受 N⁺ 注入的靶分子晶体悬液即使放置一段时间,其电泳性质亦不再发生变化,这说明注入 N⁺ 引起的靶分子晶体表面电荷的改变较为稳定,所传递的电荷能较稳定地结合在靶分子上。这可能与注入离子的质量沉积有关。以前的研究表明,注入 N⁺ 能取代 Tyr分子苯环的=CH-基团,形成新的氮杂环化合物^[3]。水溶液中该氮杂环化合物将解离成正离子。这就使得 N⁺ 注入在发生质量沉积的同时,也将其正电荷传递给了靶分子。

另一方面,由于分子晶体是由多个分子所组成,各个晶体在样品薄膜中的排列不同,它们暴露给注入离子的面积亦不一样,有大有小,离子束射程外的分子将感受不到离子的注入。这就使得离子束辐照后的分子样品中,各分子晶体具有不同的电荷分布。射程外的分子没有得到电荷。射程内的分子因与注入离子反应的截面不同而获得不同的电荷量;若分子获得的正电荷数与其原有的负电荷数相等,则该分子晶体将呈中性,从而不表现泳动性;若靶分子晶体继续获得电荷,则分子晶体表面将带上正电荷,电泳时将向负极泳动。该过程可形象地表示如下;



2.2 泳动速度

实验发现,受 30keV 15D₀ 剂量的 N⁺ 辐照后,向正极运动的 Tyr分子晶体的速度约是向负极运动的 2- 3倍。由于分子晶体的泳动速度与其所带电荷量成正比^[4],因此这部分 Tyr分子晶体在 N⁺ ;离子束的注入下获得的正电荷量为其原有负电荷量绝对值的 3/2- 4/3倍,正电荷不仅中和了分子晶体原有的负电荷,而且还使其表面具有原电荷值 1/3- 1/2的正电荷。

而 30keV 15D₀ 剂量的 N⁺ 辐照下的 AR分子晶体中,向负极泳动的分子晶体的速度与向

正极泳动的分子晶体相当,这意味着 AR 分子晶体表面具有与原负电荷量相当的正电荷。因此,比起 Tyr 分子晶体,AR 分子晶体可从注入正离子中获得更多的正电荷。该现象可能与分子晶体的大小有关。饱和水溶液中,AR 分子晶体小于 Tyr 分子晶体,这样,AR 分子晶体表面的净负电荷数将少于 Tyr 分子晶体表面的净负电荷数。因此,在同剂量离子注入下,AR 分子表面的电荷能更快地得到中和,使其能更快地转变成电泳中向负极泳动的速度。

2.3 分子泳动位形

受 N^+ 离子束辐照的 Tyr 和 AR 分子晶体在泳动中有一个共同特点,即显微镜下观察到向正极运动的带负电荷的针状分子晶体都呈平躺状态,而从注入离子获得了电荷的、静止悬浮和向负极泳动的带正电荷的针状分子晶体都呈竖直状态。这一现象的原因不详,可能是由于离子束辐照改变了分子晶体极性的缘故。

3 讨 论

20–30 keV 能量级的重离子在与靶分子相互作用时,只要发生一次碰撞,就有相当大的几率把电荷传递给靶分子原子。理论上讲,这两种能量的差异应不至于影响电荷传递的效率。因此,靶分子获得的电荷数应不受注入离子能量太大的影响,但与注入离子的剂量成正相关性。

氨基酸和核苷在离子束辐照下电性的改变意味着蛋白质和核酸在离子束作用下亦将发生表面电荷的变化^[4]。实验发现,注入离子通过溅射作用可使细胞壁(膜)减薄甚至破损^[5],使得后来的注入离子可与细胞内物质如 DNA 发生电荷交换,从而导致两方面的作用:一是引起基因突变,二是阻止 DNA 在辐射作用下的双链断裂。

一方面,构成 DNA 的碱基对常因质子转移而产生异构体。当碱基处于正常或多少处于中性时,可发生质子转移。此时一个质子的隧道沿着一个方向,则可诱导另一个质子沿相反的隧道方向,以保持总电荷的平衡。但当碱基对中的一个碱基从注入离子中得到额外的电荷时,则双势阱形状就会变化,一个质子隧道的几率就会有很大的增加,这时质子将往一个方向传递,导致 $A-T \rightarrow A^+-T^-$ 或 A^-T^+ 以及 $G-C \rightarrow G^+-C^-$ 或 G^-C^+ 的转变,产生两个碱基离子异构体。但这在 DNA 的模式结构中不存在,所以可以导致不同形式的基因突变。

另一方面,电离辐射直接作用引起的 DNA 致死 $\neq$ 亚致死损伤,可由电子传递形成的 T 阴离子自由基和 G 阳离子自由基对引起,当它们的垂直距离小于 3–6 nm 时,将导致 DNA 的单链和双链的断裂^[6],这种因电子转移而产生的 DNA 双链断裂机制,在固态样品和高 LET 辐射中尤其重要。

在荷能离子辐照中,如果注入离子在击中 DNA; 引起 DNA 链断裂的同时,将其所带正电荷“沉积”在 DNA 链间,吸收碱基间所传递的电子,则碱基阴、阳离子自由基的形成将受到阻碍。结果,注入离子与靶分子 DNA 的电荷转移反应将阻碍 DNA 双链断裂的形成。

参 考 文 献

- 1 余增亮,何建军,邓建国,等. 安徽农业科学,1989, 39(1): 12
- 2 Yu Zengliang, Yang Jianbo, Wu Yuejin, *et al.* Nucl Instr Meth Phys Res, 1993; B80/81 1328
- 3 邵春林,余增亮. 氮离子注入生物分子的质能效应. 核科技报告, CNIC-00851, ASIPP-0042 北京;原子能出版社,1994

4 程极济,林克椿,主编. 生物物理学,北京:高等教育出版社,1987

5 余增亮,邵春林,杨剑波. 安徽农业大学学报,1994; **21**(3): 260

6 Cullis P M, Symons M C R. Radiat Phys Chem, 1986; **27**(2): 93

Charge exchange effect of ion implantation to biomolecules

Shao Chunlin Xu An Yu Zengliang

(*Institute of Plasma Physics, The Chinese Academy of Sciences, Hefei 230031*)

Abstract

The N^+ implantation- induced influence upon the surface charges of tyrosine and adenosine molecule crystals was studied with the method of capillary electrophoresis. The swimming directions of the implanted molecule crystals were found to be related to dose of the implanted ions. Irradiated by 30keV N^+ with a dose of $15 \times 10^{19} / m^2$, the tyrosine or adenosine crystals had three swimming models to cathode, to anode, and motionless. This means that the charge exchange effect between N^+ and the target molecules exists and the transferred charge amount has been estimated.

Key words Ion implantation, Biomolecules, Charge exchange