

低能离子注入对固态尿嘧啶损伤的初步研究*

王相勤 姚建铭 余增亮

(中国科学院等离子体物理研究所生物工程中心 合肥 230031)

摘要 对 25keV 氮、氩离子束辐照尿嘧啶(uracil)引起其分子结构的变化分别进行了研究,通过紫外光谱的分析,得到了离子注入后尿嘧啶的残余紫外吸收曲线,富里叶红外光谱仪的分析,说明尿嘧啶受到了一定程度的损伤,茚三酮反应的测定证明了氮、氩离子辐照后的样品中均产生了新的化学基团-氨基。

关键词 离子注入;固态尿嘧啶**中图分类号** O53;Q52;Q691**文献标识码** A **文章编号** 1007-7146(1999)01-0022-04

Study on Damage of Molecular Structure for Solid Uracil Induced by Low Energy Ions Implantation

WANG Xiang-qin YAO Jian-ming YU Zeng-liang

(Centre of Ions Beam Bioengineering, Institute of Plasma Physics, Academia Sinica, Hefei 230031)

Abstract The change of the molecular structure of uracil induced by 25 keV N⁺ and Ar⁺ ions implantation was studied. The Dose curve was obtained from the analysis of the ultraviolet spectra. The induced damage was analyzed by FT-IR. NH₂-group was proved to be produce by N⁺ and Ar⁺ ion beam with the analysis of quite sensitive ninhydrin reaction.

Key words Ion implantation; Solid uracil

自1980年以来,低能离子注入技术在农作物和微生物品种改良、细胞加工和转基因等方面的应用已取得了很大成就^[1]。为了揭示低能离子与复杂的生物靶分子相互作用的机制,一些简单的模型已被提出,在低能离子与生物分子反应过程的研究中,一些有意义的实验结果也已得到^[2-3],比如活性的氮离子注入不含氮的有机分子时可产生含氮的新的物质等^[4]。因此用离子注入生物分子的方式来合成自然界中更多更复杂的生物分子,是一种新颖的、有效的途径。核酸是生物体辐射损伤的主要靶分子,而它的损伤又主要表现为碱基的损伤。本实验中选用了碱基尿嘧啶作为研究对象,用活性的氮离子和惰性的氩离子分别辐照该样品,通过不同的测量方法的研究,为揭示低能离子对生物分子的注入损伤机理提供一些信息。

1 实验部分

1.1 材料

尿嘧啶为分析纯,由军事医学科学院药材供应站生产。其余试剂亦均为分析纯。

1.2 离子注入

氮、氩离子束由本所离子束育种机产生。离子束能量为 25keV,束流 20mA,采用脉冲式辐照,脉冲时间和脉冲间隔分别为 10s 和 20s,每次辐照的离子剂量为 $D_0 = 10^{15}$ ions/cm²。

1.3 实验方法

将一定质量的样品溶于水后铺于载玻片上,样品面积约 18cm²。样品于 45℃ 干燥后,进行离子束注入。将辐照前后的样品用于 KBr 压片,于 Magna 750 红外光谱仪上进行红外光谱分析;另取其平行样以适量的蒸馏水洗下,取 1ml 加入 0.5ml 醋酸钠-醋酸缓冲液,0.5ml 茚三酮溶液,将混合液在沸水浴中加热 15min,得到紫色物质,取出反应管,立即加入 5ml 30% 的异丙醇溶液,激烈振荡后,冷至室温后于 570nm 处比色。并以标准亮氨酸为参照样,计算出注入后尿嘧啶样品中 NH₂ 的含量。

* 基金项目:国家自然科学基金资助项目
收稿日期:1998-06-06

2 结果与分析

2.1 离子注入对尿嘧啶的损伤

将氮、氩离子束处理前后的样品分别溶于水中,测得它们的紫外吸收光谱见图 1 和图 2。两图的谱形不变,最大吸收波长 260nm 亦几乎没有变化,但由于注入剂量的增加,同质量样品的特征吸收强度发生变化,总的趋势随剂量增大而下降(见图 3)。

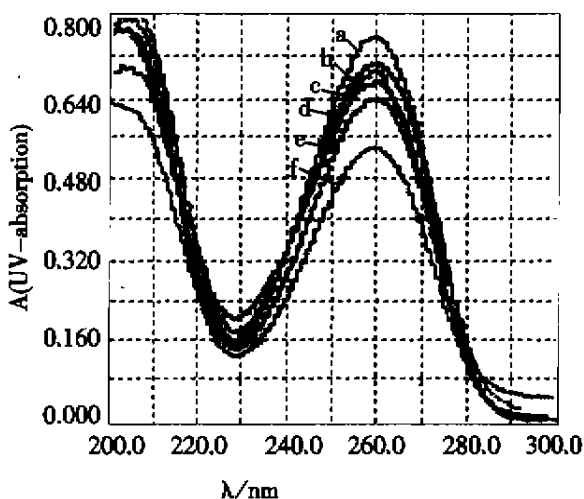


Fig. 1 UV spectra of uracil sample with and without N^+ ion implantation

a: control sample b: 23.85D₀ c: 42.93D₀ d: 62.01D₀
e: 81.09D₀ f: 100D₀

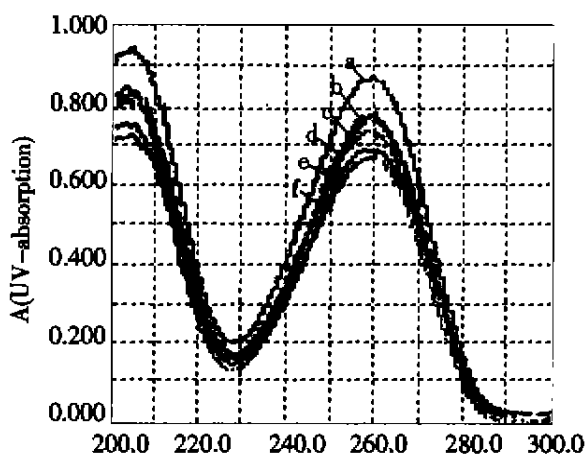


Fig. 2 UV spectra of uracil sample with and without Ar^+ ion implantation

a: control sample b: 23.85D₀ c: 42.93D₀ d: 62.01D₀
e: 81.09D₀ f: 100D₀

从图 3 可看出,在离子注入的低剂量阶段,

氮、氩离子对尿嘧啶的辐射损伤程度相差不大,但随着能量的不断增加,氩离子的损伤程度大于氮离子。

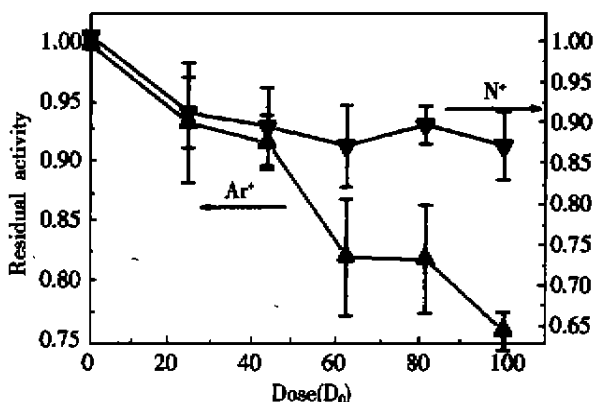


Fig. 3 Dose effect of the residual UV-absorption of Ar^+ and N^+ ion implanted uracil sample

2.2 NH_2 产生量的剂量效应

实验结果表明,氮、氩离子注入尿嘧啶样品后,产生的氨基的浓度与注入剂量的关系如图 4。

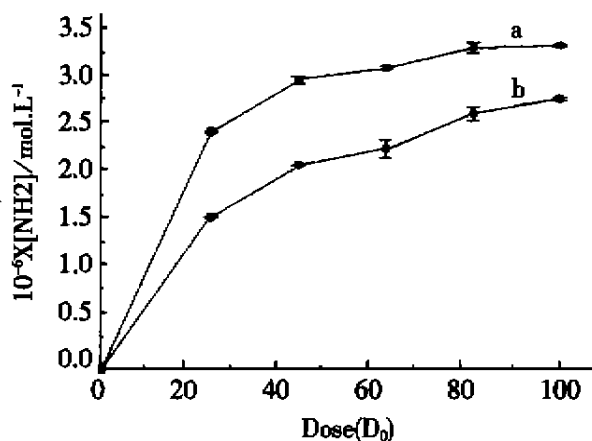


Fig. 4 Dose response of the yield of NH_2 -group in Ar^+ (a) and N^+ (b) ions irradiated

以前的实验结果表明,低能氮离子注入不含氮的有机小分子可形成氨基基团。本实验的注入离子之一是氩离子,如果实验样品最终产物产生了新的基团,不可能是慢化氩的加成引起的。但是氩离子注入不含氨基的尿嘧啶分子,通过水合茚三酮法分析得到了氨基。氨基产生的机理不同于氮离子注入不含氮的有机小分子产生的氨基。由于尿嘧啶分子是由 C、H、N、O 四种元素组成的,实验产物中的氨基只可能是这几种元素重新形成

的。从低能离子与固体物质相互作用原理可知,一个百 keV 的重离子,通过级联碰撞可使几百个靶原子移位。移位原子能量降至化学反应范围时,将同环境元素发生化学反应。因此,氩离子注入尿嘧啶产生的氨基可能是分子内部原子移位和重组的结果。从图中可以看出,在离子注入的低剂量阶段,氨基的量增加较快,但当剂量增加到一定程度时,新生成的氨基也同样受到进一步而来的离子束的损伤,导致曲线呈现缓慢上升状态。从图 4 可以看出,相同剂量的氩离子和氮离子注入到尿嘧啶分子时,前者产生的氨基的量大于后者;考虑到高剂量时新产生的氨基要受到进一步的离子束的损伤,故以低剂量阶段为基准,从图中还可计算出氩离子和氮离子辐照尿嘧啶所生成的氨基的产额为 6.18 个/100Ar⁺ions 和 3.96 个/100N⁺ions。

2.3 红外光谱

尿嘧啶辐照前后的红外光谱如图 5:

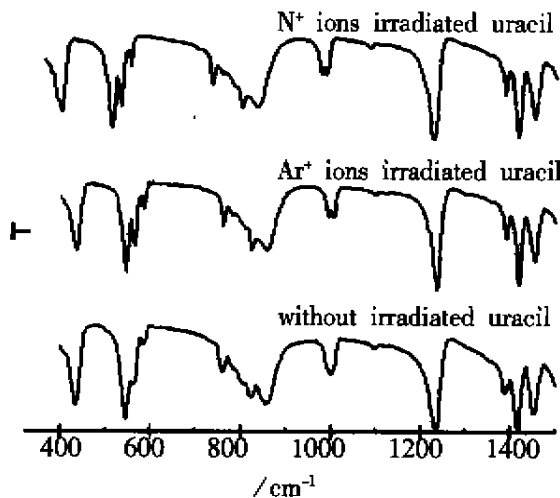
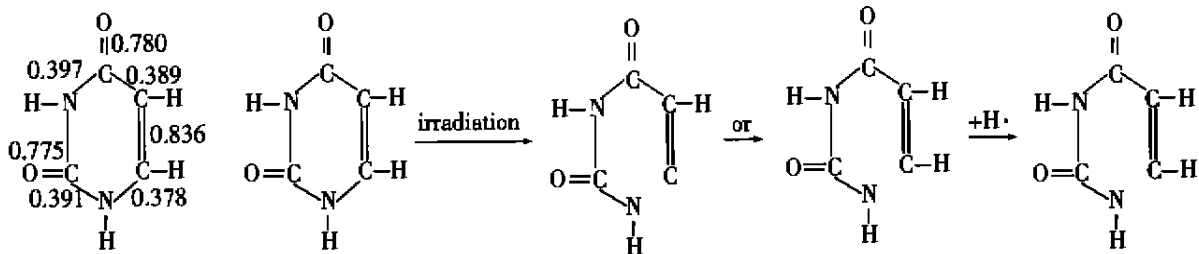


Fig. 5 FT-IR spectra of uracil sample with and without N⁺ and Ar⁺ ions implantation



个和 66 个氢原子的移位;由此可以看出,尽管氩离子不直接与靶分子反应,但由于它可产生较多的移位原子、分子碎片等,这些活性的粒子再与本底元素发生重组而形成了新的结构的分子的几率

对比辐照前后尿嘧啶的红外光谱发现(在 1500 - 4000cm⁻¹ 范围内,谱图除吸收强度发生变化外,形状不变),在 400 - 1500cm⁻¹ 范围内,辐照后尿嘧啶样品的谱图除发生吸收强度减弱外,形状也发生了变化。辐照的尿嘧啶在 1000cm⁻¹ 处的单峰在氮、氩离子注入后分别变为两个吸收峰(吸收波数为 1009cm⁻¹ 和 987cm⁻¹),但峰的包络位置变化不大。这表明氩离子注入后使得尿嘧啶环上的 CH 振动发生了变化^[5],即一定能量的氮、氩离子使得芳香环发生破裂而释放出一定数目的氢原子,造成环上的相邻的氢原子数减少,使得吸收峰的波长范围变宽^[6]。

3 讨论

尿嘧啶分子是由 C、H、N、O 四种元素组成的,分子结构中含有一个环闭的、稳定的氮杂环共轭体系,其分子结构的键级分布^[7]见左图,从图中可以看出,在整个杂环体系中 C₅-N 键的键级最小,即该键最易发生断裂。因此在氩离子束的直接辐照下,一方面尿嘧啶分子结构中 5 位或 6 位碳氢键易于断裂发生脱氢反应,生成 H· 自由基^[8],另一方面,环上的 C6-N 键发生断裂,此时尿嘧啶环上的亚氨基与活泼的 H· 自由基结合生成了氨基。其形成过程可表示为:

前面实验结果已表明,当相同剂量的氩离子和氮离子辐照固体尿嘧啶时,随着剂量的不断增加,前者对靶样品的损伤大于后者;且产生的氨基的量也是前者大于后者。这是由于氩离子的质量比氮离子大,在相同的能量状态下,氩离子与靶分子产生的核碰撞较氮离子剧烈,因而产生的移位原子就多,通过 Trim 模拟计算可知,每一个氩离子和氮离子注入到尿嘧啶分子时,可分别引起 74

就大,故氩离子辐照尿嘧啶样品以后产生的氨基的量大于氮离子。同时根据图 3 的氨基的产额值(6.18 个/100Ar⁺ions),还可求得氩、氮离子辐照尿嘧啶样品的过程中,由于 H 原子发生原子重组

生成氨基的机率分别为 8.35×10^{-4} 和 6.0×10^{-4} 。

References

- [1] Yu Zengliang. *Physics*, 1997, 26, 333-338 (in Chinese)
- [2] Huang, W. D. Yu, Z. L. Jiang, X. Y. et al. *Radiat. Phys. Chem.*, 1996, 48, 319-323
- [3] Shao, C. L. And yu, Z. L. *Radiat. Phys. Chem.*, 1997, 50, 595-599
- [4] Wang Xiangqin, Shao Chunlin, Yu Zengliang. *Acta Physico-Chimica Sinica*, 1997, (13)9, 786-789 (in Chinese)
- [5] Zhongguo Jixie Gongcheng Xuehui Lihua Fenhui. *Test handbook of the mechanical engineering material Chemistry*, Shenyang; Liaoning Science Press, 1996, 772 (in Chinese)
- [6] Xie Jiaxi. *The application of IR in the Organic chemistry and the medicament chemistry*. Beijing, Science Press, 1981, 157-160 (in Chinese)
- [7] Yongtian qinyi, Tao Zongjiang, Jiang Shouping. *An Introduction to Quantum Biology*, Shanghai. Science and Technology Press, 1979, 38 (in Chinese)
- [8] Xia Shouxuan. *Molecule Radio-biology*. Beijing; Atom Energy Press, 1992, 36 (in Chinese)



作者简介

王相勤, 女, 35岁, 化学学士, 助理研究员。

目前从事的工作: 低能离子与生物小分子相互作用的机理研究。

Biography

WANG Xiang-qin, female, age, 35, chemical bachelor, assistant boffin.

I am working on:

Study on the mechanism of the interaction of the low energy ions with biomolecules.

(上接第 55 页)



作者简介

张坤普, 女, 1970年出生于山东省宁津县。1995年毕业于莱阳农学院农学系。同年7月在德州市农科所从事小麦、大豆育种研究工作, 参加了“九五”重点项目“运用激光诱导、外源DNA导入技术培育冬小麦新品种技术研究”及“利用激光、等离子束辐射技术选育亩产400kg大豆新品种”的研究实施工作。并承担了山东省小麦“三〇”工程“旱地小麦新品种选育”。现已发表论文7篇。

Biography

ZHANG Kun-pu was born in ningjin county of Shandong province in 1970. She was graduated from department of agronomy, LaiYang Agronomy College. She is engaged in breeding research of wheat and soybean in July in the same year. She takes part in "9·5" important research projects, which technique studies on suing laser induce, introducing exogenous DNA technique breeding wheat new varieties, and using laser and plasmatron radiation technique on soybean to breed four hundred kilogram soybean new varieties. And she takes part in wheat "30" engineering of Shandong province, which breeding of new dryland wheat varieties. She has reported papers of seven.