

γ 和 e 在斜纹夜蛾病毒中 诱发的 ESR 谱*

李冕丰 罗达玲 张纯祥

(物理学系)

陈其津 刘复生

(昆虫学研究所)

摘要 测量和研究了γ射线和电子束在斜纹夜蛾核型多角体病毒(NPV)中诱发的长寿命自由基的 ESR 谱。长寿命自由基的浓度与辐射剂量呈线性关系,而与 NPV 存活率的关系为“肩型”曲线。辐射在 NPV 中诱发的自由基的 ESR 谱明显不同于热能诱发的自由基的 ESR 谱,并且 ESR 谱具有超精细结构。本文还提出了 DNA 断链的一种可能方式。

关键词 斜纹夜蛾核型多角体病毒, ESR 谱, 辐射损伤机制

斜纹夜蛾核型多角体病毒(简称 NPV)不仅是我国用于防治农作物病虫害的一种重要的生物制剂^[1],而且它的核酸仅含有双螺旋链的 DNA,是结构简单的最小生命单位,也是研究辐射与生物体相互作用的一种好材料。NPV 经电离辐射辐照后会产生长寿命的自由基,长寿命自由基不仅产额高,而且产额与辐射剂量、NPV 的存活率都有确定的关系。本文测量 NPV 在γ射线和电子束辐照后诱发的自由基的电子自旋共振(ESR)谱,研究长寿命自由基浓度与辐射剂量、NPV 存活率的关系,分析 ESR 谱的超精细结构,并提出对 NPV 辐射损伤机制的一些看法。

1 材料和实验

1.1 材料

采用干粉状的 NPV 病毒,把它封装在壁厚为 1 mm、 $\phi 7\text{ mm} \times 26\text{ mm}$ 的塑料瓶内。

1.2 辐照

γ射线辐照用广东省辐照中心 $3.7 \times 10^{15}\text{ Bq}$ 的 ^{60}Co 源,电子束辐照用中山大学物理系的 2.0 MeV 电子静电加速器。辐照均在常温常压(有氧)的条件下进行。

1.3 电子自旋共振谱的测量

采用 JES FE1XG 电子自旋共振谱仪分别测量了常温保存下 NPV 的 ESR 谱、不同温度下存放 24h 后的 NPV 的 ESR 谱和经不同辐射剂量辐照后的 NPV 的 ESR 谱。测量的条件为:微波系统: $9.445 \times 10^9\text{ Hz}$, 功率 1 mW; 磁场强度: $(3360 \pm 100)\text{ Gs}$; 调制小场: 100 kHz、0.63 Gs; 响应时间: 0.1 s。

本文1991年1月8日收到

• 国家自然科学基金资助项目

1.4 NPV感染力(存活率)的测量

分别称取未经辐照的NPV(作为对照组)和经不同剂量辐照过的NPV各20mg,用5 ml水调匀,混入消毒过的饲料中,晾干后每种饲料分别喂养100头2龄的斜纹夜蛾幼虫24h,然后分养8~10天,逐日记录各组斜纹夜蛾幼虫的死亡数,经校正后求出不同辐照剂量下NPV的感染力(存活率)。

2 结果和分析

(1)在正常保存条件下的NPV中存在内源自由基,内源自由基的ESR一次微分谱(以下简称ESR谱)如图1(a)所示,自由基的 g 因子为 $g=2.0041$ 。内源自由基的浓度随保存时间的增长而逐渐增大。

(2)置于不同温度下24h后NPV的ESR谱与正常条件下保存的NPV内源自由基的ESR谱谱形相同,但自由基的浓度增大。图1(b)为置于80℃温度下24h的NPV的ESR谱。

(3) γ 射线和电子束在NPV中诱发了长寿命的自由基,这种长寿命自由基的浓度在辐照2h后保持稳定。 γ 射线和电子束在NPV中诱发的长寿命自由基的ESR谱的形状与辐射的类型无关,而且在一定的剂量范围内与剂量的大小也无关。图1(c)是 γ 射线辐照后NPV的ESR谱,电子束在NPV中诱发的ESR谱与图1(c)有相同的形状。

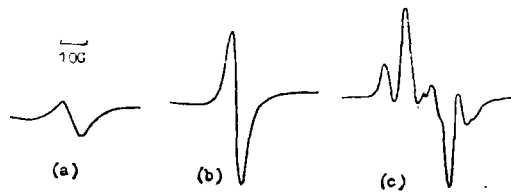


图1 NPV的ESR谱

Fig.1 The ESR spectra of NPV

(a)自然状态(功率0.1mW,放大1000倍);(b)热损伤(功率0.1mW,放大500倍);
(c)辐射损伤(功率0.1mW,放大200倍)

(4) γ 射线和电子束在NPV中诱发的自由基的ESR谱具有超精细结构。分析ESR谱的超精细结构,知其由幅度比为1:3:3:1的4个峰组成,这4个峰所对应的 g 值分别为:2.0182, 2.0109, 1.9968和1.9886。

(5)由于辐射在NPV中诱发的ESR谱与辐射的类型无关,而且在一定的剂量范围下也与剂量的大小无关。因此,采用每克NPV样品中ESR谱主峰的峰-峰值来表示辐射诱发的自由基浓度。实验得到的 γ 和 e 在NPV中诱发的自由基浓度 f 与剂量 D 都呈线性关系,如图2所示。假设NPV中辐射诱发的自由基浓度 f 与剂量 D 的关系为:

$$f = \alpha + \beta D$$

$$\text{则对于 } \gamma: \alpha_{\gamma} = 10.7 \text{ mm/g}, \quad \beta_{\gamma} = 8.20 \times 10^{-3} \frac{\text{mm}}{\text{g}} / \text{Gy}$$

$$\text{对于 } e: \alpha_e = 8.13 \text{ mm/g}, \quad \beta_e = 4.42 \times 10^{-3} \frac{\text{mm}}{\text{g}} / \text{Gy}$$

(6)如果把NPV经辐照后的感染力近似当作NPV的存活率,则 γ 和 e 辐照后, NPV的存活率 s 与自由基浓度 f 的关系如图3所示。曲线的形状类似于存活率-剂量的“肩型”曲线。

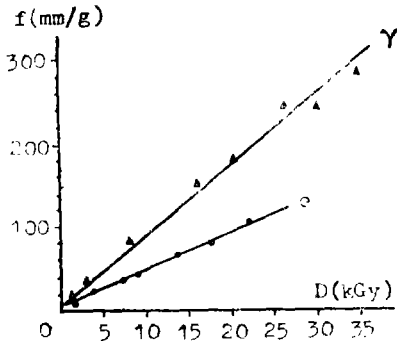


图2 NPV的自由基浓度与辐射剂量的关系

Fig.2 The concentration of free radical vs dose of radiation for NPV

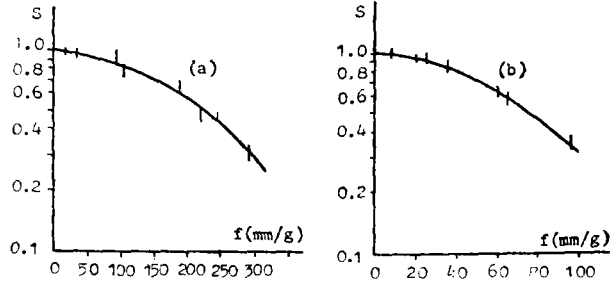


图3 NPV的存活率与自由基浓度的关系

Fig.3 The survival fraction vs concentration of free radical for NPV
(a) γ 射线辐照, (b)电子束辐照

3 讨论

由于DNA是结构复杂的大分子,辐射与生物体的相互作用又是一个非常复杂的过程,而且自由基的ESR谱受多种因素的影响,不象原子光谱等具有标识谱的性质,因而难于从ESR谱直接获得准确可靠的信息。但对于同一样品,在相同的测量条件下,可以从样品的ESR谱获得一些重要信息。

(1)在NPV中辐射损伤的机制不同于热能损伤的机制。ESR谱的测量表明, γ 射线和电子束在NPV中诱发的自由基的ESR谱具有相同的谱形,因而 γ 射线和电子束在NPV中引起损伤的机制是相同的。这样的结论是容易理解的,因为 γ 射线与物质相互作用时,通过光电效应、康普顿效应和电子偶生成效应等3种过程产生高能电子(δ 射线), γ 射线产生的高能电子与物质的相互作用和电子束与物质的相互作用是相同的。因此,在相同的条件下显示相同的ESR谱。

由电离辐射在NPV中诱发的自由基的ESR谱不同于热能所诱发的自由基的ESR谱,因而推断在NPV中,辐射损伤的机制不同于热能损伤的机制。

对于辐射损伤,一般认为损伤的关键靶是DNA,各种生物终点可能都与DNA螺旋链的断裂直接有关,而DNA的断裂又依赖于电离辐射能量的沉积与转移,以及相继发生的一系列的物理、物化、化学和生化过程,当然也依赖于辐照时的环境条件^[2]。对于热能损伤,例如哺乳动物细胞的热能损伤,一般认为是与细胞中蛋白质的凝固、或与细胞膜的等离子梯度的改变、或与细胞结构代谢的改变有关^[3]。从现有的实验生物学资料可见,这两种损伤机制是不同的。我们从NPV的ESR谱得到的结果与这些结果是相符的。

(2)在NPV中,长寿命自由基是未被修复的DNA单链断裂后的产物。曾有许多学者发现辐射引起的DNA的单链断裂数与辐射剂量呈线性关系^[4]。我们在NPV中测量到辐射诱发的长寿命自由基的浓度与辐射剂量也呈线性关系。由于辐射损伤的关键靶是DNA,因而可以认为:在NPV中辐射诱发的DNA的单链断裂数与长寿命自由基浓度之间应存在某种线性关系。如果把在NPV中测量到的长寿命自由基看作是未被修复的DNA单链断裂后的产物,则可以由DNA的单链断裂数与剂量的线性关系推出自由基浓度与剂量的线性关系(或相反的过程)。此外,还可以解释这种自由基的时间稳定性,以及NPV存活率与自由基浓度的“肩型”曲线关系。因为NPV是二次击中探测器、存活率 S 与剂量 D 呈“肩型”曲线^[5],再注意到两个未被修复的单链断裂等效于一个未被修复的双链断裂,以及生物学终点直接正比于DNA的双链断裂数^[2]。于是可把NPV存活率与剂量的肩型关系和NPV存活率与自由基浓度的肩型关系统一起来。当然,这个假设还有待进一步的实验验证。

(3)分析ESR谱的超精细结构,可以推断辐射在NPV中诱发的DNA断链的部位。分析辐射在NPV中诱发的自由基的ESR谱的超精细结构,知其由幅度比为1:3:3:1的4个成份组成。这就表示,在此长寿命自由基中,未成对电子与3个核自旋为 $I=1/2$ 的磁性核相互作用,这3个磁性核可能就是3个质子。因此,DNA断链的一种可能方式是DNA分子的糖环被抽取3个氢后,在与磷酸根的联接处发生断裂。曾有人认为^[6,7],DNA的断裂过程是由于羟基自由基 OH^{\bullet} 从脱氧核糖的 C_4 上抽取一个氢开始的,最后造成戊糖开环和磷酸酯链的断裂。也有人认为,在有氧存在时,DNA链的断裂是从糖部份的 $\text{C}-5$ 位置的自由基开始的。我们从ESR谱超精细结构获得的信息与这些DNA断链模型不矛盾。但是,也有待实验的进一步证实。

总之,由于NPV在 γ 和 e 的辐照下能产生长寿命的自由基,因而在辐射能量沉积和宏观生物终点之间多了一个中间的连接点,研究辐射诱发的自由基的ESR谱,有可能获得更多的关于NPV辐射损伤机制的信息。

参 考 文 献

- 1 蒲蛰龙. 害虫生物防治的原理和方法. 北京: 科学出版社, 1984. 221
- 2 查得威克 K H, 莱恩豪斯 H P. 放射生物学分子理论. 北京: 原子能出版社, 1987. 32
- 3 Dewey W C. Radiat Res, 1989, 120: 191
- 4 Lennartz M *et al.* Int J Radiat Biol, 1973, 24: 621
Ono T, Okada S. Int J Radiat Biol, 1974, 25: 291
Coggle J E. Biological Effects of Radiation, 2nd ed. London, 1983. 39
- 5 李冕丰等. 斜纹夜蛾病毒对 γ 和 e 的响应. 核技术, 1992(1): 59
- 6 Ward J F. Int J Radiat Biol, 1973, 23: 543
- 7 Schulte-Frohlinde D, In: Okada S *et al.* eds. Radiation Research, 1979. 408

The ESR Spectra in Irradiated NPV with Gamma-ray and Electron-beam

Li Mianfeng* Luo Daling Zhang Chunxiang Chen Qijin Liu Fusheng

Abstract The Electron Spin Resonance (ESR) spectra of longevity free radicals in irradiated *Prodenia litura* Nuclear Polyhedrosis Viruses (NPV) with Gamma-ray and Electron-beam are measured and investigated. The curves of concentration of free radicals with dose of radiation are linear and the curves of survival fraction with concentration of free radicals are shouldered. The ESR spectra of free radicals in irradiated NPV with radiation have hyperfine structure, which are different from the ESR spectra of heat killing. The unpaired electron with three nuclei of spin $I=1/2$ is equally coupled in the longevity free radicals. Consequently, a possible way of strand break of DNA is proposed.

Keywords *Prodenia litura* Nuclear Polyhedrosis Viruses (NPV), ESR spectra, mechanism of radiation damage

* Department of Physics