

0.2 MeV 中子照射洋葱干种子后在根尖细胞内 诱发微核的相对生物效应

张文艺 焦玲

(中国医学科学院中国协和医科大学放射医学研究所 天津 300192)

星正治

(广岛大学原爆放射线医科学研究所 日本广岛 734-8553)

摘要 为更好地了解单能中子照射的相对生物效应(Relative biological effectiveness, RBE),用加速器产生的0.2MeV单能中子以及 ^{60}Co γ 射线照射洋葱种子,观察单位剂量的两种辐射在根尖细胞中的微核诱发率的差异。0.2MeV中子单位剂量的微核诱发率为 5.36 ± 0.30 ($\% \text{Gy}^{-1}$); ^{60}Co γ 射线单位剂量的微核诱发率为 0.031 ± 0.002 ($\% \text{Gy}^{-1}$)。0.2MeV单能中子照射洋葱种子后在根尖细胞诱发微核的RBE值高达 173 ± 15 ,其中一个十分重要的因素就是,中子照射所致的DNA损伤的修复效率可能不同于由 γ 射线照射所致的DNA损伤的修复效率。

关键词 中子,微核,洋葱种子,相对生物效应

中图分类号 Q691.6, R144.1, Q947.9, Q274

细胞受到射线照射后,导致部分细胞染色体的断裂等变异^[1]。这些断裂的染色体在随后的有丝分裂过程中形成一个远远小于正常子核的核小体,这样的核小体通常称之为微核^[1]。由于微核发生的频度与染色体变异的频度密切相关,因此微核频度是评价染色体损伤的重要指标之一^[1,2]。本研究通过由加速器产生的0.2MeV单能中子以及 ^{60}Co γ 射线照射洋葱种子后,观察两种射线在洋葱种子根尖细胞中的微核诱发率的差异,从而更好地了解单能中子的相对生物效应(Relative biological effectiveness, RBE)。

1 材料和方法

1.1 洋葱种子

1999年收获的洋葱种子,未使用时存储在 4°C 的冰箱内。照射时封装在直径为42mm、高12mm的聚乙烯培养皿中。

1.2 放射源以及种子照射条件

1.2.1 0.2MeV单能中子 单能中子通过安装在日本广岛大学原爆放射线医科学研究所的放射生物学研究用加速器(HIRRAC)得到。加速器的质子束

电流为1mA。经过Schenkel型加速器(HN-3000 BL,日新高电压有限公司)加速的质子轰击 ^7Li 靶后发生核反应 $^7\text{Li}(p,n)^7\text{Be}$ 产生中子^[3]。室温条件下,利用配对电离室IC-17和IC-17G(型号为565-RTG和561-RGG石墨空腔电离室)来测量中子以及 γ 射线的剂量^[3]。 γ 射线的剂量约占总剂量的5%左右。受照射样品与源之间的距离为10cm。无附加滤片。照射的剂量分别是1和2Gy。

1.2.2 ^{60}Co γ 射线源 放射性活度为 $1.11\times 10^{14}\text{Bq}$ ^[3]。源和受照种子间的距离为0.8m。种子放置位置处的剂量率为 44.6Gyh^{-1} 。照射剂量分别是25、50、70、100Gy。

1.3 标本制作^[4,5]

照射后的洋葱种子放置1—2d后再进行培养。将用蒸馏水浸透的棉纸置于直径为35mm的组织培养皿中,然后将照射后的洋葱种子均匀散置在上面,在 25°C 的恒温条件下进行培养。72h后,洋葱种苗的长度大约为1cm。此时,将种苗浸泡在体积比为7:3的醋酸大丽花(dahlia)染色液与1N盐酸混合而成的溶液中,染色15min左右。醋酸大丽花(dahlia)染色液是将0.5g的大丽花紫染料(dahlia violet)溶解于浓度为30%的100L醋酸中配制而成。

第一作者:张文艺,男,1965年6月出生,2003年毕业于日本广岛大学,获博士学位,辐射剂量学,副研究员
收稿日期:初稿 2004-06-14,修回 2004-08-24

然后再用蒸馏水浸泡、冲洗 5—10min。最后,将这样处理过的种苗截取其 1—2mm 的根尖部分,加上 50%的甘油后将其压碎、固着在载玻片上,制成标本。一颗种苗制作一个标本。

1.4 微核测定^[1,5]

在 400 倍显微镜下检测上述方法制作而成的标本,观察分裂间期细胞数和微核数量。微核频度是同一辐射条件下的 5 个标本的未加权平均值。为减少误差,对每一标本检测大约 1000 个分裂间期细胞。

2 结果

图 1 示出了不同剂量的能量为 0.2MeV 的中子和 ^{60}Co γ 射线照射洋葱种子后,在萌发的种子根尖细胞中微核诱发率的变化情况。从图 1 可以看出,根尖细胞中的微核频度 F 随着中子和 ^{60}Co γ 射线的照射剂量 D 的增大而线性地增加。

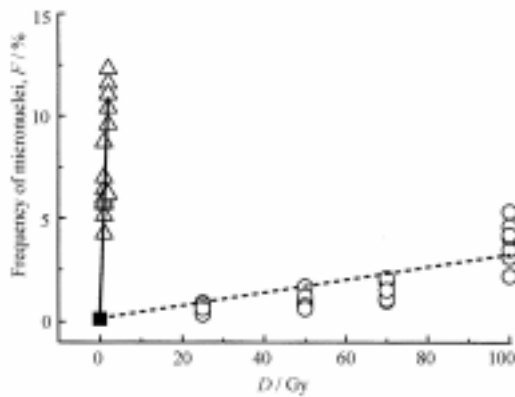


Fig.1 The frequencies of micronuclei observed in the root-tip cells of onion seedlings exposed as dry dormant seeds plotted against the radiation dose/Gy given by 0.2MeV neutrons (Δ) and ^{60}Co γ -ray ($\circ$). The symbol ■ is the spontaneous frequency of micronuclei

应用具有泊松分布的最大或然法可以得到如下近似剂量响应方程^[1,6]:

$$F = a + bD \quad (1)$$

式中,方程(1)中的系数 $a = 0.13 \pm 0.08$ (%)是自发微核频度,是通过 9 次独立实验求得平均值 ($\pm$ 标准误,下同)。系数 b 则是不同辐射单位剂量的微核诱发率:即照射单位剂量 (Gy^{-1}) 的某种辐射后在每 100 个分裂间期根尖细胞中诱发的微核数。通过对 6 次独立实验数据进行回归计算,得到能量为 0.2MeV 中子辐射单位剂量的微核诱发率 b_n 为 5.36 ± 0.30 ($\%\text{Gy}^{-1}$);相应地, ^{60}Co γ 射线单位

剂量的微核诱发率 b_γ 为 0.031 ± 0.002 ($\%\text{Gy}^{-1}$)。

某种辐射的相对生物效应 (RBE) 的定义是引起某一特定水平生物效应的参考辐射剂量和引起相同水平生物效应的某种辐射剂量之比。在本研究得到的方程(1)的系数 b 的实际意义是:照射单位剂量 (Gy^{-1}) 的中子或 γ 射线后在每 100 个分裂间期的根尖细胞中所诱发的微核数;换句话说, b^{-1} 的意义则是:在每 100 个分裂间期的根尖细胞中诱发 1 个微核所需的中子或 γ 射线的剂量。因此,在本研究中,以 ^{60}Co γ 辐射为参考,能量为 0.2MeV 的中子的 RBE 值则由下式计算得到:

$$\text{RBE} = \frac{b_\gamma^{-1}}{b_n^{-1}} = \frac{b_n}{b_\gamma} = \frac{5.36}{0.031} \cong 173 (\pm 15)$$

3 讨论

种子照射受环境因素的影响很大,导致了根尖细胞对中和 γ 射线照射的响应程度的巨大差异^[2]。有研究表明^[5],用 ^{252}Cf 裂变中子照射洋葱种苗后根尖细胞中单位剂量的微核诱发率为 115 ± 27 ($\%\text{Gy}^{-1}$),远远高于本研究中用 0.2MeV 中子照射洋葱干种子后尖细胞中单位剂量的微核诱发率 (5.36 ± 0.30 , $\%\text{Gy}^{-1}$),两者之比大约是 21:1。对于 ^{60}Co γ 射线来说,种苗照射条件下根尖细胞中单位剂量的微核诱发率为 6.3 ± 1.1 ($\%\text{Gy}^{-1}$)^[5],而本研究中干种子照射条件下根尖细胞中单位剂量的微核诱发率为 0.031 ± 0.002 ($\%\text{Gy}^{-1}$),两者之比大约是 203:1。0.2MeV 中子照射种子和 ^{252}Cf 裂变中子照射种苗在根尖细胞中诱发微核的 RBE 值分别为 173 ± 15 和 18 ± 5 。这一结果与其它研究人员的研究类似^[1,2],可能是由于种苗中水分和氧含量较高导致了 γ 辐射效应的增加,从而导致中子相对生物效应的减少。

如果将这一差异完全解释为由于水和氧含量较高而导致 γ 辐射效应的增加,还是不能够很好地解释 γ 射线照射种子和种苗后根尖细胞中微核诱发率之间存在如此大的差异 (203:1),因为 γ 射线照射种子和种苗后根尖细胞内的微核诱发率充其量也不过 10 倍之差^[2,5]。另外一个十分重要的因素就是 γ 射线和中子照射引起 DNA 损伤的修复效率^[7-10]。种子照射的情况下,一方面辐射所致的 DNA 损伤在开始培养后的第一个有丝分裂期间就能够得到有效地修复;另一方面,由 γ 射线照射所致的 DNA 损伤的修复效率比由中子照射所致的 DNA 损伤的修复效率要高得多。

另外,与光子照射比较,中子照射引起的这种

变化更依赖于不同的物理、生物学因素^[2]。一般来说, 辐射在植物细胞中诱发的染色体变异远比在动物细胞中高^[11]。并且, 中子的能量、照射剂量以及剂量率、生物学判定标准的不同, 这种差异也会有相应的变化^[11]。

参考文献

- 1 Evans H J, Neary G J, Williamson F S. *Int J Radiat Biol*, 1959, **1**(3): 216-229
- 2 NCRP. Bethesda: National Council on Radiation Protection and Measurements, 1990, NCRP Report 104: 14-28
- 3 Endo S, Masaharu H, Takada J, *et al.* *J Radiat Res*, 1999, **40**(Suppl.): 14-20
- 4 Hanmoto H. *Jpn J Biol Education*, 1988, **28**(1): 52-55
- 5 (Japanese) Fujikawa K, Endo S, Itoh T, *et al.* *J Radiat Res*, 1999, **40**(Suppl.): 28-35
- 6 Marshall I, Bianchi M. *Int J Radiat Biol Relat Stud Phys Chem Med*, 1983, **44**(2): 163-173
- 7 Hase Y, Shimono K, Inoue M, *et al.* *Radiat Environ Biophys*, 1999, **38**(1): 111-115
- 8 Durante M, Furusawa Y, Georgee K, *et al.* *Radiat Res*, 1998, **149**(5): 446-454
- 9 Goodhead D T. *J Radiat Res*, 1999, **40**(Suppl.): 1-13
- 10 Goodhead D T. *Int J Radiat Biol*, 1994, **65**(1): 7-17
- 11 Wambersie A, Laublin G, Octave P M, *et al.* *Strahlentherapie*, 1979, **155**(11): 776-785

The relative biological effectiveness of 0.2MeV neutrons to induce micronuclei in the root-tip cells of onion seedlings after irradiation as dry dormant seeds

ZHANG Wenyi JIAO Ling

(Institute of Radiation Medicine, Chinese Academy of Medical Sciences and
Peking Union Medical College, Tianjin 300192)

HOSHI Masaharu

(Research Institute for Radiation Biology and Medicine, Hiroshima University, Hiroshima 734-8553)

ABSTRACT Dry dormant onion seeds were irradiated by 0.2MeV neutrons from an accelerator, or ^{60}Co γ -rays, for a better understanding of relative biological effectiveness (RBE) of mono-energy neutrons, and for observing different frequencies of micronuclei in root-tip cells of the onion seedlings induced by unit dose of the neutrons and γ -rays. The frequencies of micronuclei induced by unit dose of the 0.2MeV neutrons and the ^{60}Co γ -rays are 5.36 ± 0.30 and 0.031 ± 0.002 (%Gy⁻¹), respectively. The RBE value for the 0.2MeV neutrons is about 173 ± 15 , using the ^{60}Co γ -rays as reference radiation. The RBE value of the 0.2MeV neutrons to induce micronuclei in the root-tip cells of *Allium cepa* onion seedlings irradiated as dry dormant seeds is as high as 173 ± 15 . Our findings suggested that the repair efficiency of DNA damage induced by mono-energetic neutrons might be different from those by γ -rays.

KEYWORDS Neutron, Micronucleus, Onion seed, Relative biological effectiveness (RBE)

CLC Q691.6, R144.1, Q947.9, Q274