

激光对细胞亚显微结构的作用*

中山大学生物系遗传学教研室

提 要

用 CO_2 及 N_2 激光以不同时间处理水稻种子及洋葱鳞茎的根和芽, 发现细胞质膜、内质网、核糖核蛋白体、线粒体的光效应最大; 造粉体、溶酶体次之; 液泡膜的光效应最小。据此讨论了激光在诱变育种和治疗肿瘤方面应用的可能性。试验还测定了两种激光的一些剂量对植物组织的穿透力。

前 言

近十多年来, 由于激光在生物学、医学和农业上的广泛应用, 促使人们深入研究激光对细胞形态结构及生理生化上的各种效应。有关的国外资料已有所报导^[1~8]; 在国内方面, 关于育种工作、激光对染色体的诱变作用^[9]、以及医学上激光对多种酶活性的影响^[10], 亦有不少报导。此外, 激光的生物学效应也有若干综述文章^[11~13]。但总的看来, 这方面的工作还处在早期阶段, 激光对有机体作用的细胞学机理是复杂的。本实验的目的是在他人工作的基础上, 通过对细胞亚显微结构的观察, 探讨几种激光对细胞中各种结构的影响, 希望为激光在农业上和医学上的应用提供一些理论依据。本项研究仍在继续进行。

材料与方法

试验采用生产上常用的 IR24 水稻种子及市售洋葱鳞茎作材料。IR24 种子在 28°C 室内置培养皿中催芽发根, 洋葱用水培方法催根。当根长 1 厘米, 芽长约 0.5 厘米时进行照射。1977 年 5 月 24 日上午 8 时半~11

时半照射完毕, 将材料放回原处继续培养, 至 5 月 25 日上午 8 时半进行固定。照射光源有波长 10.6 微米的 CO_2 激光及 3371 埃的 N_2 激光。 CO_2 激光的功率密度为 20 瓦/厘米², 处理时间为 1 秒和 1/3 秒。 N_2 激光的单脉冲峰值功率(空气)为 1.0 兆瓦, 平均功率密度 33~44 毫瓦/厘米², 处理时间为 10、15 和 20 分钟。

作电镜观察的材料, 处理后用 1% 锍酸固定 4 小时, 然后经多级酒精脱水, 用环氧树脂 812 包埋, 横向切片, 厚度 650 埃, 用醋酸铀-柠檬酸铝双重染色。每个处理有 3~5 个根尖或芽尖。

观察 CO_2 激光对组织穿透力的材料用 Carnoys 液固定, 石蜡包埋, 横向切片, 厚度为 10 微米, 苏木精-快绿染色, 在光学显微镜下检查整个根尖或芽尖的损伤情况。

结果与讨论

本文仅报导 CO_2 激光处理 1/3 秒的 IR24 水稻的根尖细胞和对照细胞, 以及 N_2 激光处理 10 分钟的洋葱根尖和 IR24 芽尖细胞与对照材料。其余处理组合, 尚未检查完毕, 故未能比较不同剂量的激光对细胞的效应。

* 收稿日期: 1978 年 3 月 3 日。

1. 在上述剂量下, N_2 激光及 CO_2 激光均能引起细胞内各种结构的广泛变异。并且这两种激光诱发的变异情况有相类似的地方。现将各种结构的变化分述于下。

(1) 质膜的变化: 对照组细胞的质膜, 染色正常, 均匀一致, 可清楚地见到单位膜的三层结构, 照射后的细胞质膜, 表现出各种损伤现象, 如整个质膜或某些区段变淡, 不易染色。这可能由于质膜中的蛋白质及类脂在激光的高温 and 光化作用下产生变性, 难于吸附染料中的重金属离子所致。有些质膜出现许多大大小小的缺口, 断裂成念珠状(图 1)。这可能由于更剧烈的高温光化作用, 使膜物质变性凝结, 或由于瞬时高温, 使细胞内物质气化产生较大的膨压, 将质膜胀破。破坏较严重的质膜, 表现出区段性断裂(图 2)或完全解体或与细胞质凝结在一起, 形成大小团块, 完全失去膜的痕迹, 该处有些细胞壁亦破坏溶解, 在中胶层的地方出现许多小颗粒, 可能是因为质膜破裂引起细胞质外流的结果(图 3)。

(2) 胞基质、内质网和核糖核蛋白体的

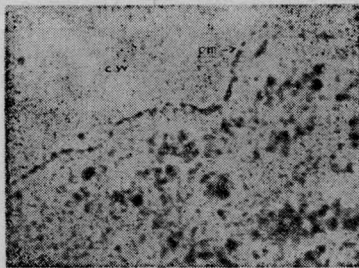


图 1

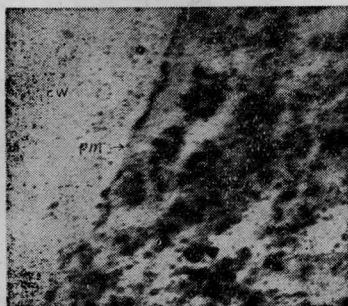


图 2

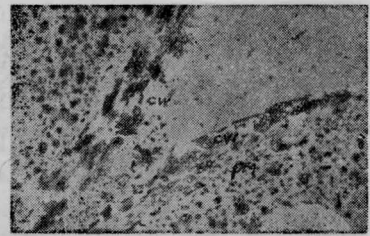


图 3

变化: 对照组的细胞, 胞基质呈微小颗粒状, 均匀分布在细胞质中, 内质网多呈双层膜开放管状结构, 二膜间的距离较窄, 有次序地分布在细胞质中, 其上附有许多核糖核蛋白体。经过 N_2 及 CO_2 激光处理过的细胞, 胞基质变得透明或变性凝结成大小团块(图 4)。核糖核蛋白体形态不清, 甚至与胞基质、内质网等凝结成小团块。内质网有些断裂成粗颗粒状, 有些呈泡状膨大, 双层膜的结构消失, 其上缺少核糖核蛋白体(图 5)。在 CO_2 处理的组合中, 有些细胞在某些部位出现一堆密集的网状结构, 其上无核糖核蛋白体, 整个胞基质部位显得特别透明, 看不到其他细胞器(图 6)。形成这种网状结构的原因有待进一步研究。

(3) 线粒体的变化: 对照组的细胞, 线粒

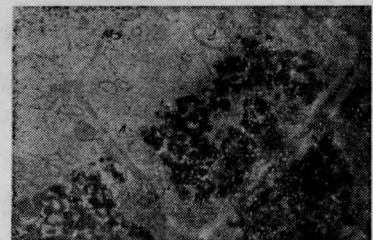


图 4

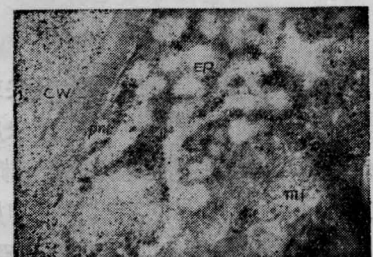


图 5

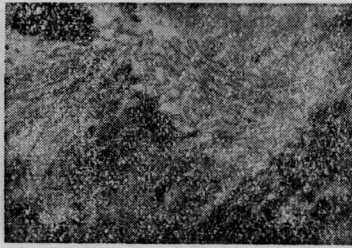


图 6

体呈圆形或椭圆形，内外膜清晰完整，嵴明显，基质呈细微颗粒状。照射后，表现出多种多样的损伤现象，有些线粒体变为不规则的多角形或锯齿状，外膜皱缩(图7)，有些基质变淡、空泡化或变成粗颗粒，其内嗜碱性颗粒增加。推测是在高温光化作用下，改变了膜的通透性所致。损伤严重的线粒体，内外膜部分或全部破裂，嵴亦部分或大部分解体(图8)。

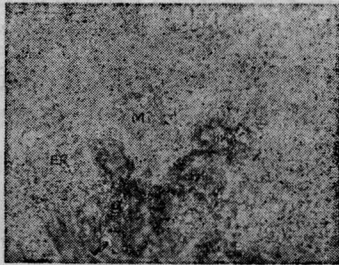


图 7

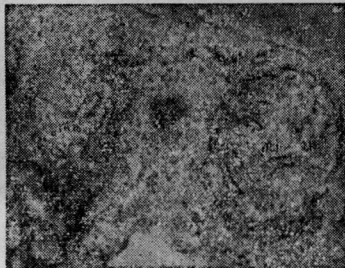


图 8

(4) 质体的变化：对照组的根尖或芽尖细胞的质体，主要是造粉体或发育未成熟的前质体，呈圆形或椭圆形，内外膜清晰完整，其内有大小不等的淀粉粒，或具有初始的片层结构(图9)。经过 N_2 或 CO_2 激光照射后，有些质体一边内外膜破裂，而另一边尚能清

晰地看到膜的结构(图10)。有些初始片层结构有不同程度的破坏，质体的基质变淡或絮结成小颗粒。

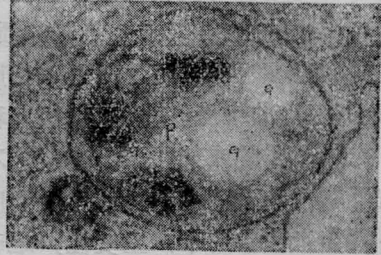


图 9



图 10

(5) 液泡膜的变化：对照的细胞的液泡为一层界线清晰的单位膜包围着，大多近于圆形(图11)。照射后，有些液泡膜还比较完整，而有些则断裂成念珠状(图12)。损伤较



图 11

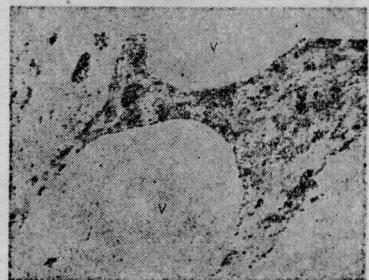


图 12

严重的,则完全解体而失去液泡膜的痕迹。这种情况可能由于高温引起液泡内液体的沸腾,将膜胀破。

(6) 溶酶体的变化:对照细胞的溶酶体,外周具有一层清晰的单位膜,内部为均匀微小颗粒状结构。照射后,观察到有些膜破裂。

2. 细胞在上述激光的剂量作用下,各种结构都会发生不同程度的损伤;但不同细胞器对光的吸收和透过度都不同,光损伤程度也有差别。质膜、内质网、核糖核蛋白体和线粒体最易受到破坏,造粉体和溶酶体次之,液泡膜耐辐射性最强。如图 13,水稻 IR24 芽尖细胞在 N_2 激光处理 10 分钟后,当质膜完全解体;内质网、核糖核蛋白体形态消失;线粒体变形,内外膜及嵴被严重破坏的情况下,造粉体的内外膜仅部分破坏,液泡膜则相对完整。这种对激光敏感性的差异可能与细胞器的生理活性有密切关系。质膜控制着细胞内外物质的交流,与整个细胞的能量代谢和物质代谢密切相关,具有极其复杂和活泼的生理功能;线粒体是细胞代谢和能量代谢的重要场所,是细胞有氧呼吸的中心,具有一系列的酶类和整套电子传递系统;核糖核蛋白体是合成蛋白质的基地;内质网上附着丰富的酶类,不断地进行着生理生化反应。这些结构都具有较高的生理活性,它们的膜系的主要组分——蛋白质和类脂分子中含有较多的活化电子和活泼的不饱和键;这些活化

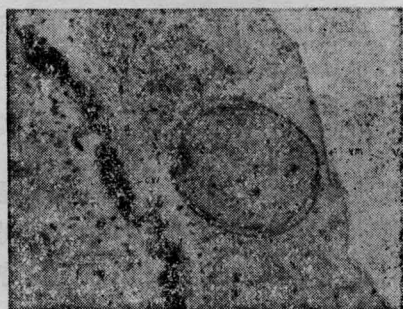


图 13

以上各图中的外文表示:

Cw—细胞壁; Pm—质膜; mi—线粒体; ER—内质网; P—质体; G—淀粉粒; V—液泡; Vm—液泡膜

电子和不饱和键能够吸收更多的光能,从而加强光效应。造粉体虽与形成淀粉有关,但生理活性比上述结构低,含有的酶类也比较少,构成质体内外膜的界面脂质的不饱和性也比较低,因而光效应比较弱。液泡是细胞“废物”储存场所,虽具有一定的酶活性,但生理活性比上述各种结构低,液泡膜化学性较稳定,因而光效应最弱,同时,液泡内含有较多的水分,透光率比较大,水的比热又较高,所以对光损伤具有较强的耐受力。此外还可能由于别的原因,如膜在结构上的种种特性,各自的吸收光谱不同,而导致各种细胞器对同种激光光效应的差异。

根据上述情况,在实践上可考虑利用各种理化因子,人为地提高细胞中膜系的活性而加强辐射效应。例如发芽的种子,细胞生理活性较高,各种膜的光效应比干种子的强,可提高辐射后的诱变效果。又如在医学上,可利用肿瘤细胞比一般细胞具有更高的代谢活性,光效应大,而用之以治疗癌肿。此外还可利用各种细胞器对同种激光具有不同的敏感性这个特点,选择性地破坏某种细胞器而研究它们的生理功能。

3. 关于 CO_2 及 N_2 激光穿透组织的能力

各种激光对组织的穿透能力,是医学上和育种上有效地应用激光的重要问题之一。在高等动植物诱变育种中,必须通过若干层细胞而照射到与后代胚形成有关的细胞时,才能产生变异的后代,在医疗上要求有不同深度组织的疗效。但不同波长的激光、各种剂量的穿透力都是不同的,特别是紫外激光,波长短,能否穿透多层细胞而作用到靶细胞上,这是个值得探讨的问题。我们初步试验了 CO_2 及 N_2 激光对组织的穿透力。

用光学显微镜观察经 CO_2 激光照射过的水稻 IR24 的芽尖和根尖组织,处理时间为 1 秒及 1/3 秒的组合中均出现明显的烧伤区,在功率密度为 20 瓦/厘米² 辐射 1 秒时,根尖组织中烧伤面积约为 0.2×0.4 毫米²,

激光对细胞亚显微结构作用图版说明

图号	细胞部位	激光处理时间	结 果
1	水稻 IR24 芽尖细胞	N ₂ 激光处理 10 分	质膜断裂成念珠状,细胞质内各种结构均被破坏。
2	水稻 IR24 芽尖细胞	N ₂ 激光处理 10 分	质膜呈区域性断裂,细胞内各种结构被破坏。
3	水稻 IR24 芽尖细胞	N ₂ 激光处理 10 分	质膜与细胞质凝结在一起,形成大小团块,完全失去质膜的痕迹,该处细胞壁亦破碎溶解。
4	水稻 IR24 根尖细胞	CO ₂ 激光处理 1/3 秒	细胞质变性凝结成大小团块。
5	水稻 IR24 根尖细胞	N ₂ 激光处理 10 分	内质网呈泡状膨大,膜的结构消失。
6	水稻 IR24 根尖细胞	CO ₂ 激光处理 1/3 秒	在细胞的某些部位出现一堆密集的网状结构,其上无核糖核蛋白体。整个胞基质变得特别透明,看不到其他细胞器。
7	水稻 IR24 芽尖细胞	N ₂ 激光处理 10 分	线粒体变形,嵴、内外膜欠清晰。
8	水稻 IR24 根尖细胞	N ₂ 激光处理 10 分	左边一个线粒体,内外膜消失,剩下部分嵴。
9	水稻 IR24 根尖细胞	未处理的细胞造粉体	内外膜清晰,内有二个淀粉粒。
10	水稻 IR24 芽尖细胞	N ₂ 激光处理 10 分	造粉体一边膜被破坏,另一边较完整。
11	水稻 IR24 根尖细胞	未处理的细胞液泡	单位膜结构清晰。
12	水稻 IR24 根尖细胞	N ₂ 激光处理 10 分	液泡膜断裂成念珠状。
13	水稻 IR24 芽尖细胞	N ₂ 激光处理 10 分	各种细胞器的损伤程度不同,当质膜完全解体,内质网,核糖核蛋白体形态消失,线粒体变形,内外膜及嵴崩解时,质体膜部分缺损,液泡膜相对完整。

芽尖的烧伤面积亦为 0.2×0.4 毫米², 烧伤部位的表皮都向外崩裂, 在烧伤中心区, 中央下陷, 细胞可能由于瞬时高温气化或炭化而被彻底破坏, 只剩下一个锥形或长椭圆的空腔, 在腔的边缘上有黑色碳化组织团块, 在中心区的后面, 许多细胞可能由于气压的作用而变形, 胞质亦变得无色透明, 看不到核和其他细胞器的结构, 更内层的细胞仍保持着快绿的深色, 细胞形态基本正常, 但胞质内凝结着许多粗颗粒。损伤区的范围约为 10~15 层细胞, 在非损伤区的细胞, 在光学镜下, 相对正常, 这是由于激光穿透力所限, 作用不到的结果, 或者是由于损伤区的瞬时崩裂, 吸收了激光的各种能量, 而保存了该区细胞的正常结构。对照组各个根尖或芽尖组织细胞结构、形态正常, 细胞层次分明。

在电子显微镜下, 观察了 N₂ 激光处理 10 分钟的水稻芽尖细胞, 发现从外边第一层至第三层细胞都有不同程度的损伤, 第一层

最重, 胞质普遍出现絮结, 线粒体内外膜及嵴多数消失, 第三层细胞受害较轻, 仅线粒体变形, 可看到部分内质网。第四层以内的细胞, 由于切片不够完整, 未能准确观察, 有待今后进一步研究。

结 论

1. 在上述激光作用下, 可以引起细胞内各种结构产生复杂的不同程度的损伤。据此认为激光用作诱变手段或治疗肿瘤是可能的。

2. 不同的细胞器, 光效应是有明显差别的, 生理活性高的光效应较强, 相反则弱。这种差别估计与细胞器膜系的分子结构特性有关。

3. 上述剂量的 CO₂ 激光可穿透 15~20 层细胞, N₂ 激光亦可作用到第三层细胞, 能否进入到第四层细胞, 有待今后进一步研究。

激光束干涉法的应用*

董月明 贺金斗

(天津市第九玻璃厂)

利用球面波代替平面波作干涉法检验,在设备上较为简单,是本方法的特点和优点。以下着重介绍对平行平晶检验的应用结果。

一、用激光束干涉法 检验平行平晶

1. 激光点光源

激光光束经一凸透镜聚焦或凹透镜散焦后就可以得到一个具有一定发散角的球面波,它犹如放置在透镜焦点处的一个点光源发出的光波。所以利用激光器发出的激光束通过简单的光学系统,可能获得一个高相干性的理想的点光源。

2. 对平行平晶平行性的检定

我们对平行平晶的检定采用了激光光束干涉的方法。使用 He-Ne 激光器(6328 埃),激光束通过一个凸透镜聚焦于屏幕的小孔,光束穿过小孔射到被测样品上。由于平行平晶有一定的厚度,使样品的前后两个面在光束通过它们反射的时候产生干涉的圆环。因

而在屏幕上我们可以看到干涉的圆环图样。如图 1 所示:理想的平行平晶应是严格平行的,因此光源的中心与干涉圆环的中心是重合的。如果当被测样品的两个表面存在着一定的小楔角,则光源的中心与干涉圆环的中心不再是重合的。如图 2 中我们看到的光源中心与干涉圆环中心偏离的那段距离,实际上就反映出了平行平晶两表面的偏差量。

图 3 中 S 表示等效的点光源和它的虚

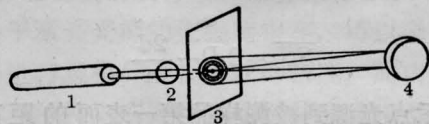


图 1 激光束干涉法测平行平晶楔角示意图

1—He-Ne 激光器; 2—凸透镜;
3—屏; 4—待测平行平晶

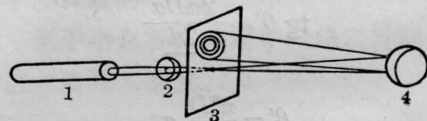


图 2 光源中心与干涉环中心的偏离量
1—激光器; 2—凸透镜; 3—屏; 4—待测平行平晶

* 收稿日期: 1977 年 2 月 1 日。

参 考 资 料

- [1] M. L. Wolbarht; Laser Application in Medication and Biology, Pleum Press, 1971.
- [2] M. W. Bems; Biologycal Microirradiation Classical and Laser Souries, 1974.
- [3] D. E. Rounds; Laser Handbook, Vol. 2, Part. F., 1863~1887, 1972.
- [4] G. Leon; Application of the Laser, 1973.
- [5] L. G. Paleg, D. Aspinall, Nature, 1970, 228, 970~973.

- [6] Л. В. Рубин; Успехи Современ. Биол., 1969, 2, No. 2, 222~234.
- [7] АН СССР, Генетика, 1972, 8, No. 1, 12~16.
- [8] 何芳德译,《国外激光》, 1977, No. 2.
- [9] 中山大学生物系遗传学教研室,《激光》, 1976, 3, No. 2, 26~31.
- [10] 武汉医学院附属第二医院耳鼻喉科教研室,《武汉医学院学报》, 1977, No. 1, 87~88.
- [11] 广州中山医学院科仪厂医用激光组,《激光》, 1977, 3, No. 3, 54~62.
- [12] 王联治,曾传相;《科学通报》, 1977, No. 2, 68~72.
- [13] 周志康,《物理》, 1976, 5, No. 1, 79.