

# 利用果蝇(D.melanogaster)研究 激光辐照生物的遗传效应\*

庚镇城 张丹 顾少华 朱定良 蒋惠芳

(复旦大学遗传学研究所)

郑企克 王志麟 潘循哲

(复旦大学激光化学研究室)

**提要:**用 C. S., Base 和 bw-st/bw-st 三种系统的果蝇研究了氦-氖激光、氮分子激光和氩离子激光辐射对果蝇遗传的影响。实验结果表明,当氦-氖激光辐照剂量达  $32\text{J}/\text{cm}^2$ , 氮分子激光辐照剂量达  $0.75\text{J}/\text{cm}^2$ , 氩离子激光辐照剂量达  $196\text{J}/\text{cm}^2$  时,尚未发现隐性致死突变或易位的遗传效应。

## Study on genetic effects of *Drosophila melanogaster* by using laser irradiation

(Geng Zhencheng, Zhang Dan, Gu Shaohua, Zhu Dingliang, Jiang Huifang)

(Institute of Genetics, Fudan University)

Zheng Qike, Wang Zhilin, Pan Xunxi

(Laser Chemistry Laboratory, Fudan University)

**Abstract.** The genetic effect of three stocks of *D. melanogaster*, C. S., Base, and bw-st/bw-st were studied with irradiation from He-Ne, nitrogen and argon ion lasers. Experimental results show that when the radiation dosages of He-Ne laser, nitrogen laser and argon ion laser amounted to  $32\text{J}/\text{cm}^2$ ,  $0.75\text{J}/\text{cm}^2$  and  $196\text{J}/\text{cm}^2$ , respectively, genetic effects of recessive lethal mutation and translocation have not been observed yet.

激光诞生后不久,人们就考虑到激光辐照各种生物系统可能象 X 射线一样会引起有害的遗传效应<sup>[1]</sup>。Rounds 等人<sup>[2]</sup>最初报道了红宝石激光辐照离体的培养组织可增加染色体的畸变率。Paul 等人<sup>[3]</sup>用红宝石激光处理海胆的受精卵发现其 DNA 合成和胚

胎发育出现异常。但是在七十年代有关激光的遗传毒理学研究逐渐被削弱和忽视了。人们着重研究激光的防护,如使用激光时该怎样保护眼睛与皮肤等。

收稿日期:1985年7月23日。

\* 中国科学院科学基金资助的课题。

近来,随着激光的应用,特别是在医学临床方面的应用日益广泛,国内外学者对激光辐照的遗传效应问题又产生了浓厚的兴趣。XoXHOB等<sup>[4]</sup>报道了用红光及绿光波谱范围内的激光辐照 HeLa 细胞和人的离体二倍体细胞后,染色体异常的频率明显增加,并且染色体异常的频率与激光辐照的剂量之间呈正的相关性。中岛等<sup>[5]</sup>用扩束的连续氩离子激光辐照中国仓鼠的培养细胞,发现氩离子激光能抑制细胞的生长,在一定剂量条件下染色体畸变和染色单体互换(SCE)率明显增长。[6,7]报道了激光工作者的染色体畸变率和染色单体互换率较对照组明显增高,且随着激光工作年限的增加,畸变率有增高。

本文利用果蝇(*Drosophila melanogaster*)研究激光辐照生物效应。果蝇作为遗传学研究的材料有很多优点,如容易饲养;世代周期短;繁殖力强;染色体数目少,  $2n=8$ ;而且果蝇的染色体地图和细胞学图都已研究得十分清楚。果蝇和哺乳幼物一样,体内也有使间接诱变物质、间接致癌物质表现为突变作用时所需要的代谢活性化酶系,因而果蝇可以将间接诱变,致癌物质作为阳性结果检测出来。但据我们所知,迄今为止,国内外还没有利用果蝇检测品系来测定各种激光的遗传效应。

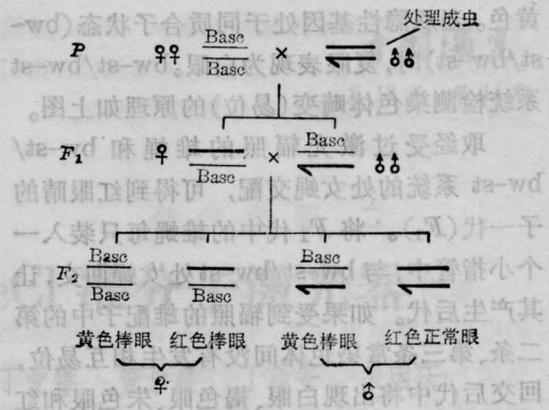
## 实验方法

### 1. 果蝇系统<sup>[8]</sup>——采用下列三个系统

(1) C. S. 系统(Canton-Special, 野生型)。

(2) Baso 系统或称 Muller-5 系统: X 染色体上具有标记基因 B(Bar, 棒眼, 显性)和  $w^a$ (white apricot, 杏黄眼, 隐性), 还有两个抑制 X 染色体间发生交换的复杂倒位。

用 Baso 系统检测遗传突变的原理如下图。



将经受过激光辐照的雄蝇与 Baso 系统的处女蝇交配,让其繁殖出子一代( $F_1$ )。  $F_1$  代中的雌蝇均为肾形红棒眼,说明它是杂合子,其中的一条 X 染色体是来自受过处理的亲代雄蝇。将  $F_1$  代中的处女蝇各装入一个小培养指管中,每个小指管就代表一条来自受过处理的亲代雄蝇的 X 染色体。这只雌蝇然后与一只或几只 Baso 雄蝇交配,让其繁殖出子二代( $F_2$ )。如果受过辐照的亲代雄蝇的 X 染色体发生了隐性致死突变,那么  $F_2$  代中就不会出现正常的红色圆眼的野生型雄蝇。相反,如果经受过处理的亲代雄蝇的 X 染色体上没有隐性致死突变发生,  $F_2$  代中就会有红色圆眼睛的野生型雄蝇出现。这样, Baso 方法就可以定量地检测出发生隐性致死突变的 X 染色体的频度。

(3)  $bw-st/bw-st$  系统:  $bw$ (brown, 隐性, 第二染色体的 104.5 座位), 褐色眼, 精巢无色, 幼虫的马尔比基管淡黄色。  $st$ (scarlet, 隐性, 第三染色体的 44 座位), 复眼鲜红不透明, 呈朱色, 单眼白色, 幼虫的马尔比基管淡



黄色。当双隐性基因处于同质合子状态( $bw-st/bw-st$ )时,复眼表现为白眼。 $bw-st/bw-st$ 系统检测染色体畸变(易位)的原理如上图。

取经受过激光辐照的雄蝇和  $bw-st/bw-st$  系统的处女蝇交配,可得到红眼睛的子一代( $F_1$ )。将  $F_1$  代中的雄蝇每只装入一个小指管中,与  $bw-st/bw-st$  处女蝇回交,让其产生后代。如果受到辐照的雄配子中的第二条、第三条常染色体间没有发生相互易位,回交后代中将出现白眼、褐色眼、朱色眼和红眼四种类型的个体,且数目大致相等,呈 1:1:1:1。如果在第二条、第三条常染色体之间发生了相互易位,回交后代中则只出现红眼和白眼两种类型,而没有褐色眼和朱色眼类型。通过检测一个个指管中的回交后代,就能够求出第二条、第三条染色体之间发生相互易位的频度。

## 2. 激光器

输出波长为 632.8 nm 的氦-氖激光器;  
输出波长为 337.0 nm 的氮分子激光器;  
输出波长主要为 488.0 nm 和 514.5 nm 的 YJ-4-A 型氩离子激光器;

辐照剂量分别用国产激光功率计和能量计测定。

## 3. 辐照条件

取刚羽化 1~2 天的 C.S. 雄蝇 50 只左右放在金属网制成的样品盒中,将样品盒安置到转动装置上,调控其转速约为 100 转/min,然后进行辐照。实验在室温 25°C 条件下进行。

### (1) 氦-氖激光辐照

采用两种方式处理。一种是加透镜扩束,使激光照满样品盒的金属网面(138.9 mm<sup>2</sup>)。样品盒接受的激光剂量在 0.6 至 11.3 J/cm<sup>2</sup> 范围,经透光投影测定,样品盒的金属丝约占网面的 30% 左右,故样品实际接受的净剂量在 0.42~8.0 J/cm<sup>2</sup> 范围。另一种是不加透镜扩束,激光束直接辐照在样品盒的金属网的近边缘处,光束的面积约为

7 mm<sup>2</sup>。激光功率密度为 250 mW/cm<sup>2</sup>,辐照 60 分钟,样品接受的净剂量为 32 J/cm<sup>2</sup>。

### (2) 氮分子激光辐照

样品盒距激光源约 41 cm,在离光源 16 cm 处放一透镜,聚激光在网上成横条束状,占样品盒的网面的 1/3。激光单脉冲功率为 60 kW,脉冲频率为 2 Hz,辐照 30 分钟。样品接受到的净剂量为 0.75 J/cm<sup>2</sup>。

### (3) 氩离子激光辐照

采用透镜扩束的方法,使光束均匀地射在网面上。

由于氩离子激光器的能量远较上述两种激光器为大,辐照剂量大时,足以使果蝇死亡,所以在用它辐照果蝇前,测定了果蝇的临界致死剂量。实验结果表明以功率为 0.62 W 和低于 0.62 W,辐照 20 分钟,有部分果蝇被击昏,过后即苏醒,全部存活,功率为 0.65 W 时,辐照 10 分钟,绝大部分击昏,不久即苏醒,有 1/4 死亡;但当激光功率达 0.68 W,辐照 10 分钟后,则果蝇全部死亡。因此,可以认为功率 0.65 W,辐射 10 分钟的剂量已接近于使果蝇致死的临界剂量,可以作为遗传检测的有效剂量,在此条件下,样品所受到的净剂量为 196 J/cm<sup>2</sup>。

## 实验结果

### 1. 氦-氖激光辐照果蝇的遗传效应

第一种方式系加透镜扩束辐照,在样品所受净剂量为 0.42~8.0 J/cm<sup>2</sup> 的范围内,C.S. 雄蝇均全数成活,并能正常地和 Base 系统的雌蝇交配,产生出能育的子一代( $F_1$ )。为了说明第一种辐照方式的遗传效应,我们主要对辐照剂量最大的一组的子二代( $F_2$ )个体作了详细观察与计数。

第二种辐照方式处理的 C.S. 雄蝇亦全数成活,能正常地和 Base 系统的雌蝇交配,产生出能育的子一代( $F_1$ )。我们对其子二代( $F_2$ )个体作了详细的观察与计数。

表 1

组 别	激光功率 (mW/cm <sup>2</sup> )	辐照时间 (分)	辐照剂量 (J/cm <sup>2</sup> )	检查的 X 染 色体数目	发生隐性致死 突变的 X 染色体数	频 度 (%)
阴性对照	0	0	0	1196	1	0.08
辐照方式(1)	12.5	15	8.0	1611	2	0.12
辐照方式(2)	250	60	32	1370	2	0.14

表 2

组 别	激光功率 (mW/cm <sup>2</sup> )	辐照时间 (分)	辐照剂量 (J/cm <sup>2</sup> )	检测的染色 体数目	第 2、3 常染色体间 发生易位数	频 度 (%)
阴性对照	0	0	0	673	0	0
处 理	12.5	15	11.3	341	0	0

表 3

激 光	组 别	辐照剂量 (J/cm <sup>2</sup> )	检测的 X 染色 体的数目	发生隐性致死突变 的 X 染色体的数目	频 度 (%)
氮分子	阴性对照	0	1196	1	0.08
	辐照处理	0.73	1515	0	0
氩离子	阴性对照	0	1196	1	0.08
	辐照处理	196	1011	2	0.19

上述两种辐照方式所得的结果见表 1。

Crow 等<sup>[9]</sup> 最初报告, 在自然条件下 X 染色体发生隐性致死突变的频度为 0.26%。每次实验条件不同, 隐性致死突变频度会有所变动, 但一般都很低, 在 0.3~0.14% 以下。从表 1 的数据来看, 两种辐照处理的结果均在自发突变范围内, 可以认为没有引起隐性致死突变。

用 bw-st/bw-st 系统检测常染色体间发生易位的结果见表 2。

根据表 2 所示的结果, 可以认为在所试验的剂量条件下, 氮-氟激光辐照并没有引起第二、第三条染色体间发生易位(畸变)。

## 2. 氮分子和氩离子激光辐照果蝇的遗传效应

经氮分子和氩离子激光辐照果蝇后用 Baso 系统检测的结果见表 3。

根据表 3 所列的结果来看, 在所试验的剂量条件下, 氮分子激光(337 nm) 和氩离子

激光(488 nm 和 514.5 nm) 辐照也没有引起 X 染色体的隐性致死突变。

## 讨 论

所用的激光波长已扩展到 337.0~632.8 nm 的波长范围。已知 260.0 nm 的紫外线辐照生物体或细胞时, 遗传物质核酸容易形成嘧啶二聚体, 因而表现出致死或诱变的效果。至于波长大于 260.0 nm 的光, 虽然不处于核酸碱基的吸收峰, 但也有人认为可能表现出诱变的效果, 并提出了一些理论解释<sup>[10]</sup>。

从本文所列的实验数据来看, He-Ne、N<sub>2</sub> 和氩离子激光辐照果蝇没有产生隐性致死的或易位的遗传效应。这可能不是由于激光能量密度和处理时间不足所引起的, 因为对于体长不足 2 mm 体重仅 1 mg 的果蝇来说大概是足够大了, 而主要原因将在于果蝇

成虫体表复有一层几丁质的外皮,对激光辐照有保护作用,使穿透力弱的激光不能达到细胞核。这种解释可以从以往的紫外线诱变实验的结果中得到支持。由于紫外线穿透力较弱,只有对着果蝇卵的极冠(Polarcap)辐照,诱变效果才显著<sup>[10]</sup>。

本文所得的实验结果似乎增加了人们对激光辐照的安全感,但决不可由此而轻视对激光的防护。例如,用激光治疗幼嫩皮肤上的疾患时,会不会产生有害的遗传效应,这些还需作进一步深入的研究。

### 参 考 文 献

[1] M. S. Litwin, D. H. Glew; *J. Am. Med. Assoc.*, 1964, **187**, 842~847.  
 [2] D. E. Pounds *et al.*; *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1964, **122**, 713~727.  
 [3] J. S. Paul *et al.*; *Exp. Cell Res.*, 1970, **60**, 166-174.  
 [4] М. В. Хохлов и др.; *Радиобиология*, 1982, **22**, No. 5, 700~703.

[5] M. Nakajima *et al.*; *Radiation Research*, 1983, **93**, 598~608.  
 [6] 广州医学院物理学教研室等;《激光》,1981, **8**, No. 2, 60.  
 [7] 李全胜;《激光》,1981, **8**, No. 11, 62.  
 [8] M. Demerec, B. P. Kaufmann; "Drosophila Guide," Carnegie Institution of Washington, Washington, 1967.  
 [9] 森脇大五郎编;《ショウジョウバエの遺伝実習》,培风馆,东京,1980, 110~116.  
 [10] David Brusick; "Principles of Genetic Toxicology", Plenum Press, N. Y., 1980, p. 254~266.  
 [11] 田岛弥太郎著;《环境は遺伝にどう影響するか》,ダイヤモンド社,东京,1981, 158~160.  
 [12] D. L. Lindsley, E. H. Grell; "Genetic Variation of Drosophila Melanogaster". Carnegie Institution of Washington, Washington, 1968, pp. 431, 406, 37, 238.  
 [13] J. F. Crow, R. G. T. Temin; *Am. Natur.*, 1964, **98**, 21~33.  
 [14] L. Goldman, R. J. Rockwell; *J. Am. Med. Assoc.*, 1966, **198**, 173~176.  
 [15] 西山市三編;《细胞遗传学研究法》,養賢堂发行,东京,1961, 450.

### 简 讯

## 金蒸气激光器的新进展

中国科学院上海光机所研制的小型金属蒸气激光器,输出波长 627.8 nm, 光纤耦合输出 500 mW, 经上海瑞金医院用于激光血卟啉治疗技术证实,它适宜于医用,具有使用方便、可靠的优点。为进一步扩大医疗效果,需要更高平均输出功率的金蒸气激光器。

我们利用本所研制的一台 CVL-III 实用型铜蒸气激光器(其最高平均输出功率大于 15W), 在放

电管中用金粉代替铜粉,进行了金蒸气激光器试验。在放电管  $\phi_{内}28 \times$  极间距 840 mm, 充电电容量 5nF, 锐化电容 1nF, 频率 9 kHz 的情况下,当输入功率为 3500 W 时,得到 627.8 nm 激光平均输出功率 6 W (用电子所生产的功率计测量),输出长时间稳定,效率为 0.17% 的结果。

(梁宝根)