

激光科学、生命科学和激光生命科学

Laser Science, Life Science and Laser—Life Science

朱延彬

(华南师范大学激光生命科学研究所以教授 广州 510631)

生命科学是一门古老的科学,发展至今,又是一门内涵丰富、意义重大的新兴科学。世界科技发达国家都已将生命科学列为优先发展的领域,普遍认为 21 世纪将是生命科学的世纪。

激光科学从 60 年代一出现,就已经与生命科学相互渗透,特别是在与生物分子、细胞、整体和群体的相互作用的研究与应用中,获得了一系列令人瞩目的成果。目前,激光科学与生命科学的各个领域相互渗透的结果,正在形成一门新兴边缘学科——激光生命科学。这一学科的研究重点将是激光与生物分子、细胞及其整体和群体的相互作用的现象和规律,寻找其发展和应用的前景,并开发一系列新仪器、新产品、新技术。

一、从光生物学到激光生物学

从 60 年代激光技术开始渗透到生物学起,光生物学就发生许多带有本质性的变更及飞跃,把传统的光生物学研究提高到一个新的水平,从而形成了一门十分活跃的新兴边缘学科分支——激光生物学。

光对生命系统的刺激作用是生命系统活动不可缺少的。人眼的视觉响应全部特性的形成均是光的刺激作用的产物。光能调节生物体的整体或局部的行为反应。光作为信号对植物体结构和形态的形成与变更起着重要作用,控制着植物的生长、发育与分化。光还是生命系统活动的最基本能源,没有光,就没有光合作用,植物就不能存在,人和动物就没有光合作用提供的有机物、氧气和能量。因此光和生命系统的关系、光和生物体的相互作用、光对生物的刺激作用、生物体的微弱发光现象及光对生物系统结构和形态的影响等一系列基本问题的研究,早就形成一门独立的科学——光生物学。激光由于具有高的单色性,在许多光谱范围具有波长可选择性,就产生了激光生物学与传统光生物学的第一个原则性差别,即激光对生物的刺激作用具有波长选

择性。它可选择最佳激光波长产生最佳的生物效应,这是传统的光生物学所不能实现的。激光由于具有良好的方向性,可通过光学系统聚焦成很小的斑点,因此利用激光研究其生物效应时,具有很高的空间分辨力,这就形成激光生物学有别于传统光生物学的第二个特点:可实现激光微束照射,即把激光聚焦到微米或亚微米量级的光斑,对生物细胞或细胞内某一细胞器微区特定部位进行照射,以达到研究细胞和细胞器结构和功能的目的。现在,已利用激光的这种高空间分辨特性对生物细胞内的核仁、染色体、中心粒、线粒体、叶绿体等各种重要细胞器的功能和细胞有丝分裂机理进行了大量的研究,提示和发现了一些新的现象和规律。笔者所在实验室曾利用激光微束对金鱼的受精胚胎的特定部位进行辐照,培养出一批三只眼、双脊椎、脊椎畸变等畸变幼鱼,表明微束激光具有生物效应十分鲜明的特点及其在改变生物属性方面的潜在能力。由于激光具有的高亮度特性,加上脉冲激光的脉宽从几十微秒量级(静态)到纳秒量级(调 Q)以至到皮秒量级(锁模输出)甚至更短,其脉冲输出峰值功率可从几瓦到兆瓦级甚至 100 兆瓦量级,这样高峰值功率的激光作用于生物体就会产生一系列非线性现象,或者称之为非线性生物效应。这种非线性现象或非线性生物效应是传统光生物学所不能观察到的,从而成为激光生物学的第三特点。

激光生物学的研究对激光诱变育种起到了推动作用。以我国为例,我国自 70 年代开始进行激光生物效应研究以来,已成功地育成水稻、小麦、棉花、大豆、油菜、豆角、蕃茄、桃、苡仁、桑树、家蚕、微生物等新的品种近 30 个,并均已应用于生产,反映了我国在激光生物学和激光诱变育种方面已具有较高的研究水平和成就。

二、激光遗传学与激光遗传工程

利用激光的生物效应进行遗传育种的研究与

实验,为农业应用服务,由于其机制复杂,遗传定向性差,一直处于实验阶段。1984年日本人首次实现用激光微束技术把DNA导入细胞的研究,把激光遗传学的研究提高到一个新水平。尽管迄今为止激光遗传学及激光遗传工程的研究刚刚起步,但已显示出应用前景。激光微束是80年代后期发展起来的一种很有前途的遗传操作技术。该技术把激光束通过光学系统引入显微镜并聚集成很小的光点(直径小于1微米)。这种直径很小但功率密度很高的激光束照射细胞后,在细胞膜的表面引起可修复性的微损伤,从而改变细胞膜的通透性,因此激光微束可用于诱导基因转移、染色体切割、细胞核打孔以及细胞融合等与基因导入有关的遗传操作。

1. 激光微束诱导基因转移

诱导基因转移是基因工程的关键步骤,把外源基因稳定地导入植物细胞内是现代生物技术进展中重要的发展项目之一。最早的转基因植物是用根癌农杆菌系统产生的,根癌农杆菌介导的基因转移法适合那些对根癌农杆菌侵染敏感的双子叶植物(特别是茄科植物),但是绝大多数单子叶植物特别是禾谷类植物对根癌农杆菌感染很不敏感,这使得和人类生活密切相关的禾谷类粮食作物的基因转移工作遇到了极大的困难。为了克服根癌农杆菌介导基因转移的局限性,化学诱导法(PEG诱导)、显微注射法、电激法、基因枪法、激光微束法等基因转移的各种方法应运而生。

激光微束法诱导基因转移,是利用一定波长的直径只有0.3~0.5微米的高能量激光微束,聚焦至细胞膜平面,引起膜的可逆性穿孔,穿孔在短时间内(小于10秒)可自动修复。这种损伤改变了细胞膜的通透性,使细胞摄取外源DNA,最后得到转化细胞。

激光微束法诱导基因转移与其他方法相比具有以下优越性:(1)可以直接对带壁植物细胞进行处理,将外源基因导入。而其它基因转移法如质粒载体法、化学诱导法、显微注射法、电激法等,只能对原生质体进行操作。细胞壁对于植物细胞的组织培养和器官发生是非常重要的,带壁细胞的培养,要比去壁后的原生质体的培养容易得多。特别是采用激光微束法,直接将外源基因导入愈伤组织中,使得转化细胞的培养更为简单,增强了实用性,优于其它方法。(2)激光微束处理的样品范围几乎不受任何限制,可以是动物细胞,也可以是植物细胞,乃至原生质体;可以是双子叶植物细胞(如胡萝卜、马铃薯等),也可以是单子叶植物细胞(如小麦、玉米、水稻等),克服了某些转移基因方法的局限。(3)激光微束处理,穿刺直径仅1微米左右,给细胞造成的损伤小,很快可以修复,对于生物样品不会产生太大的不良影响。而某些化学诱导法通常对细胞

有毒害作用。(4)转化频率高,比一般方法高出一个数量级。

2. 对细胞染色体进行显微外科手术

染色体是细胞核内的一种极重要的结构,它是由DNA和蛋白质组成的一个复合物。任何生物都有一定数目的染色体,每条染色体上都有一定排列顺序的基因。而染色体的数目变化和染色体上的基因排列次序的变化,都会引起生物遗传性的变异。因此,利用激光微束对染色体进行显微外科手术,切割或损伤一部分染色体,就可研究这一部分染色体的功能,并可同时获得遗传缺失的变异细胞。这种研究对细胞工程和遗传工程均有很大的意义。

多年来植物细胞遗传学通过连锁研究已经查明某些基因在染色体组中某条染色体上的基本位置,但对这些基因及其产物却仍然很不清楚。显微切割染色体,用尾克隆技术建立该染色体片断的基因文库,将有助于重要遗传位点的分离和鉴定。

3. 激光诱导细胞融合

细胞融合是细胞工程的重要内容,许多动物、植物和微生物细胞都可以融合,实现体细胞杂交。1987年德国海德堡理化研究所首次实现激光法诱导哺乳动物细胞融合和植物原生质体融合。他们使用准分子微光泵浦染料激光,波长从320~920纳米连续可调,其倍频光在217~320纳米连续可调。他们用激光微束照射使油菜原生质体膜受到损伤,在这种短暂的损伤下相邻的原生质体的膜融合,从照射开始到完全融合仅历时30秒钟。我国学者利用激光诱导细胞融合的方法对三种不同组合的鱼类受精卵进行了融合实验,即,同种大鳞副泥鳅卵,不同属的大鳞副泥鳅卵与鳗尾泥鳅卵,不同科的鲤科斑马鱼卵和鳅科的大鳞副泥鳅卵。结果表明它们皆可融合并发育。前两种组合的融合卵可发育至仔鱼,第三种组合的融合可发育至幼鱼。

激光诱导细胞融合是一种细胞水平上的遗传操作,具有较高的选择性,因此是细胞工程中极有前途的一项新技术。

三、激光在分子生物学中的应用

激光在研究生物大分子及生化反应中有着一系列重要的应用,其重要原因之一是它能提供分子水平的信息。

1. 光散射作用

利用激光散射方法提取生物大分子物理信息的应用是令人瞩目的。在悬浮体中的光散射测量可以推导出生物大分子的各种物理特性。激光散射测量由于具有良好的单色信息、低噪声、高信噪比的特点而获得实际应用。目前,像病毒这类大分子聚合物的物理特性已能成功地应用激光散射方法进

行测量。

2、基因排序及剪裁

利用氩离子激光给 DNA 排序及超短脉冲激光剪裁 DNA 生物大分子将会是未来激光生物技术的发展方向。目前已发展了利用激光荧光法进行测试的电泳——激光荧光检测的 DNA 序列检测仪,毛细管电泳——激光荧光检测的 DNA 测试仪等。采用激光扫描、自动荧光检测,能自动记录测试结果,并制出彩色图像,排出 DNA 顺序,具有简便、快速的优点。

3、利用激光拉曼光谱进行测量

在分析生物大分子构造及反应作用中,生物分子的拉曼光谱对反应生物样品的成分及性质的振动能级非常灵敏,因此激光拉曼光谱测量是一种极有价值的工具。一个生物样品的振动能带是其成分的表征,更为重要的是它还能提供有关生物样品的形态及其动力学信息,例如关于磷脂及脂肪基链的取向及动力学信息。

激光对生物分子的光离解作用是这个领域另一个值得重视的研究方向。一种称为笼蔽化合物的无活性生物分子,在红宝石激光倍频为近紫外光的照射下,产生光离解作用,变为活性的生物分子。由于这种活性生物分子产生的生物化学和生理学的特性可以测量,于是科学家可利用这类化合物来检验肌肉收缩、酶活性、膜传送及细胞受体等过程中的瞬态生物化学反应。

四、激光医学

激光医学是激光生命科学的一个重要方面,最近几年发展得特别迅速。激光医学由临床应用、医学测量和诊断、医学的生物学基础研究等几个方面组成。

1. 激光的临床应用

激光医疗最早集中在眼科、外科、皮肤科。随着新的激光光源的出现以及激光器质量的提高,加上新技术的推广应用,使得激光临床应用已经扩展到医学的各个领域,特别是光纤技术的发展,已使激光医疗从体表进入内腔,并正在向心血管系统突破。光敏技术促进了光动力学疗法的深入发展,已成为多种肿瘤(癌病变)诊断和治疗的重要手段。

2. 激光在医学生物学基础研究和医学诊断中的应用

近年来,激光在医学生物学基础研究和医学诊断中越来越显示其独特的作用,其特点是从宏观形体的观察深入到细胞及分子水平的分析,从而开创了传统手段所不能及的新技术。例如,利用激光的高强度特点,能从物质或细胞中激发出较强的荧光光谱或拉曼光谱,从而能测出物质内部或细胞内的

分子结构或组分。根据这一原理产生一系列用于医学生物基础研究和医学诊断的新型分析仪器:肿瘤诊断分析仪、激光流式细胞计、激光拉曼光谱仪和激光荧光漂白计等。这类仪器结合计算机技术,能自动处理分析结果,迅速而客观地获得测量结果,已成为当代新型的分析仪器。此外,激光具有很好的相干性,利用物体各部分反射光或透射光的干涉现象,能记录物体各部分特征,从而了解所研究的现象的全过程和物体的整体信息。根据这一原理已研制出激光全息眼底摄影仪、激光颅脑分析仪、激光骨组织应力分析仪、激光干涉视力测定仪、激光衍射细胞分析仪等,从而将全息技术全面应用于医学诊断中。

总之,激光在医学的生物学基础研究和医学诊断中的成功应用,不但极大地提高了生物学及诊断学的水平,而且对激光生命科学的形成和发展,特别是对激光医学的形成与发展起到了重要的作用。

五、用于生命科学研究的激光光谱技术

激光光谱技术在生命科学研究中具有特别重要的意义,它是对生物分子与细胞的结构、性质、功能以及生物物理和生物化学的反应机制进行研究的重要手段。

1. 激光拉曼光谱技术

拉曼光谱技术与红外光谱技术均为分析分子振动结构的有效方法,两者各有特点,互为补充。拉曼光谱技术在生物学和医学上获得广泛应用的原因之一是它对样品几乎全无损害,可以让待测样品处在与生物活体相同的环境条件下进行研究。在一些重要的生物学和医学研究领域,如蛋白质、生物膜的结构和功能研究中都应用这项技术进行了有效的研究。70 年代初,人们将激光拉曼光谱技术应用于研究核酸分子结构。核酸具有重要的生物功能,是细胞中储存、传递信息的生物大分子。现已利用激光拉曼光谱技术研究和探测了核酸的组分,获得包括核糖或脱氧核糖、磷酸和碱基的特征光谱,研究和探测出 DNA 右向双螺旋结构和左向双螺旋结构,定量分析了 DNA 样品中不同构型所占的比例。激光拉曼光谱技术与 X 射线衍射、核磁共振、红外光谱技术等相结合,可获得更多更全面的信息。人们预测,此项技术可望在不久的将来用于临床医学。

2. 激光荧光对肿瘤的诊断技术

癌细胞对某些荧光物质(如血卟啉衍生物 HPD)具有特殊的亲和力。当荧光物质与癌细胞结合后,用适当波长的激光激发使之活化而发出荧光,于是就可用荧光光谱技术对癌病变进行诊断。

生物组织除了能结合外加荧光物质发射荧光

光谱外,实际上组织细胞也能在激光作用下产生自体荧光。实验研究证明,某些肿瘤组织有其特异的自体荧光,在脉冲激光激发下测量出它的瞬态荧光谱的分布特征,就能对肿瘤病变进行早期诊断。

3. 高时间分辨的激光光谱技术

由于生物分子中各种微观动力学过程是一个瞬间过程,只有高时间分辨的激光光谱技术才有可能进行有效的研究。例如应用皮秒吸收光谱和皮秒荧光光谱可检测光合作用的能量转移和电子转移。

六、激光生物物理技术

激光在生物物理技术领域已有着一系列重要的应用,其中激光捕捉粒子技术(Laser trapping)

就是很有发展苗头的一项新技术。美国科学家阿斯金(Ashkin)是第一位提出并证明用激光束能对生物体进行光捕捉技术的科学家。他用氩离子和Nd:YAG两种激光的单光束都成功地“捕捉”了包括病毒、细菌、酵母细胞和红血球细胞等在内的各种在显微镜下可见的生物体。1987年以来,激光捕捉粒子技术已扩大应用于精子运动、把两个细胞捕捉到一块来进行激光诱导细胞融合、操纵植物细胞内的物体以及捕捉细胞染色体。因此有人把“Laser trapping”称之为“光镊”或“光钳”,其含意就是能设计成“无接触”的“镊子”对各种微小的生物粒子进行显微操作,这无疑是有着重要应用前景的。

(责任编辑 肖庆山)

学术动态

科学家在京审议国家自然科学基金“九五”计划和2010年规划

[本刊讯]国家自然科学基金委员会1994年12月15~17日在北京举行二届六次全体委员会议,审议国家自然科学基金委员会提出的《国家自然科学基金“九五”计划和2010年规划》及《国家自然科学基金“九五”优先资助领域》两个重要文件。

“九五”计划的主要目标是:加强若干重大科学前沿的研究,争取部分基础研究的水平能在21世纪初进入国际领先或先进行列;加强有重大应用背景的应用基础研究,解决经济与社会发展中的重大科技问题;做好国家杰出青年科学基金的组织、实施、管理工作,加强中青年优秀人才培养和跨世纪学术骨干和学科带头人的培养;建立科学仪器设备基金,加强对国家重点实验室、国家工程研究中心、国家科学中心等科研基础研究工作的支持力度。

为了使有限的自然科学基金发挥更大的作用,确定在“九五”期间科学基金资助的重大项目的立项原则是:在科学发展中具有战略意义,在国内又有一定基础,可望取得重大突破并达到国际先进和领先水平的基础性研究项目;对国民经济发展和未来产业能产生重大影响或具有重大社会效益的基础性研究项目;对推动社会持续发展有战略意义或全局意义的基础性研究项目;有重大意义的基础数据积累工作项目。

参加审议的科学家认为,国家自然科学基金委员会在广泛征求专家学者的意见和深入调查国内外基础研究情况后提出的两个文件的指导思想符合我国的国情,这就是:我国必须从国情出发保持基础性研究的适度规模,使基础性研究能持续稳定发展;在基础性研究中要妥善安排纯基础研究和应用基础研究的比例,应用基础研究要更加面向经济建设和社会发展中急需解决的重大课题;国家自然科学基金要着眼于建立宽松的学术环境,大力培养跨世纪的优秀人才,使我国的基础性研究向世界先进水平迅速靠拢。(本刊记者 刘先曙)

第四届城市环境国际会议(POLMET'94)在京召开

[本刊讯]“POLMET”城市环境国际会议于1985年在香港首次举行,每三年举行一次。前三届均在香港召开。这个定期的国际科学会议为世界范围内的城市环境专业人士提供了珍贵的机会,就大城市环境的污染防治、保护问题作定期的技术性、政策性的交流。目前“POLMET”国际会议已成为亚洲和世界各国城市规划、环境专家和社会、工商界领袖人物关注的科学盛会。

这次在北京召开的第四届会议(1994年11月14~17日)是首次在香港以外地区举行的会议,也是香港工程师学会和中国科协工程学会联合会首次联手合作筹办的。与会的有:来自香港、新加坡、马来西亚、泰国、菲律宾、日本、沙特阿拉伯、美国、澳大利亚、德国等20多个国家、地区的代表120人;国内各城市、大学、专业机构的专家、学者180人。这次POLMET'94中国北京会议之所以具有强烈吸引力,是因为众多的外国专家认为,能到目前世界上发展最快的国家,变化最大的首都城市来共同探讨城市发展与环境协调问题,其本身就具有重大的科学意义和社会意义。

此次会上,中国国家环保局长解振华就中国环保现状、问题、政策、可持续发展战略、实质性的环保行动等问题作了专题讲演。欧洲著名的环保专家、英国的戴维·贝勒米(David Bellety)教授作了“可持续发展的城市”的科学讲演。香港的多位专家及港府环保署长也作了交流讲演。在120位外国专家的发言中,尤以新加坡冯先生(Mr. Foong)的“新加坡政府协调、管理发展与环境的措施”、德国沃格尔(Vogel)教授的“环境设备、设施的发展与作用”、澳大利亚辛普森(simpson)的“公众参与、政府与民间合作”等几项发言,备受欢迎。中国学者范维唐、唐孝炎、吴峙山就中国的洁净能源、CFCs(氯氟烃氯化物)替代、中国环保的深层症结等问题作的讲演,也受到关注。