

表3 血清中各种元素分析的准确度

| 元素 | 含量 (微克/克) | 标准差 | |
|----|--------------|----------|------|
| | | 微克/克 | % |
| Ag | 0.00019 | 0.00014 | 3.7 |
| Br | 3.64 | 0.06 | 1.6 |
| Co | 0.00035 | 0.00021 | 60.0 |
| Cr | 0.0014 | 0.0009 | 64.3 |
| Cs | 0.00093 | 0.00006 | 6.5 |
| Fe | 2.21 | 0.04 | 1.8 |
| Na | 3060 | 56 | 1.8 |
| Rb | 0.21 | 0.008 | 3.8 |
| Sb | 0.00011 | 0.00005 | 45.5 |
| Sc | 0.000019 | 0.000012 | 63.2 |
| Se | 0.105 | 0.002 | 1.9 |
| Zn | 0.958 | 0.014 | 1.5 |

得到了人血清中元素的浓度值和个体差异的资料。各值列于表4。Fe的值没有列入表内,因为重复性固然较好,但溶血作用引起的误差超过了个体差异。对分析结果值得着重指出的是,人血清是横卧位取血得到的。与直立位取血相比较,按血清湿重计算,元素Se低8%,元素Zn低15%。

通过对全部元素(Br除外)进行 χ^2 测定,得到一个常态分布曲线,对Br、Cs、Rb、Se、Zn等元素,“个体间”存在着有统计意义的差别($p < 0.001$),这个“个体间”差异对元素Br是特别的大。不同年龄,不同性别各组之间的差异没有意义。

表4 正常人血清中元素浓度值

| 元素 | 检查人数 | 平均含量 (微克/克湿重) | 标准差 (%) | 浓度范围 (微克/克湿重) |
|----|------|------------------|------------|------------------|
| Br | 18 | 4.4* | 48.7 | 2.4~44.5 |
| Cs | 25 | 0.00107 | 29.0 | 0.00065~0.00201 |
| Na | 14 | 3270 | 3.6 | 3040~3500 |
| Rb | 25 | 0.224 | 17.0 | 0.151~0.307 |
| Se | 25 | 0.142 | 8.7 | 0.086~0.125 |
| Zn | 25 | 0.882 | 13.3 | 0.541~1.101 |

*有三个Br值(21.1ppm, 43.1ppm, 44.5ppm)在计算平均值时略去

结 论

结果表明,在测定长寿命放射核素进行生物样品的仪器中子活化分析时,NBS提供的标准物质“牛肝”,适合于用作测定Ag、Br、Co、Cs、Fe、Na、Se和Zn等元素的参照物质。用上述方法分析血清样品Br、Cs、Fe、Na、Rb、Se和Zn等元素可以得到很高的精确度,因此即使血清样品中元素浓度只有微小差异,也可用本方法测出。

(Behne D等: J Radioanal Chem 42: 447~453, 1978(英文) 刘国栋译 林汉卢正福校)

^3H -胸腺嘧啶核苷标记核的高速自显影术

近来采用并加以改良的高速自显影术,提供了一种明显加速检查同位素的自显影方法。如果使用低比度、低掺入率和/或低剂量的低能同位素如氚做放射自显影时,这是特别重要的。

方法是将覆盖乳胶的标本浸于闪烁剂中并进行几小时的曝光之后显影、定影。

高速自显影使核乳胶AgBr晶粒形成潜影是由闪烁剂发射的光量子 γ 和 β 粒子二者引起的。因此,高速自显影的效率,即每次衰变所致乳胶的显影银颗粒的数目与常规自显影者比较大为增多。本研究的目的着手应用脱底乳胶高速自显影术以及试验方法中有关在闪烁剂中浸泡的时间、曝光时间、温度、湿度和本底的问题。

材 料 和 方 法

细胞和标记:人羊膜FL细胞体外培养于盖片上加有10%小牛血清的Parker's 199培养液中。培养20小时,在收获细胞前4小时加入0.5微居里/毫升的 ^3H -6-胸腺嘧啶核苷(比活性为18.7居里/毫克分子)。将细胞用PBS短时间清洗,用96%乙醇、冰醋酸(3:1)固定30分钟,并在96%和70%的乙醇中漂洗,继续将细胞置于0°C的5%三氯乙酸中10分钟,以除去非DNA标记。

自显影技术和闪烁剂应用:带有细胞的盖片,以及空白对照的盖片用加拿大胶粘在一个明胶化的玻璃载片上,在短时间干燥后覆盖上一层Kodak AR-10脱底乳胶。标本用一放在距它们40厘米以外

*原文harvesting可能为Culture之误 译者

的电扇冷空气干燥30分钟。这一步可使脱底乳胶完全干燥,部份空白放在一个有 CaCl_2 的干燥器中过夜干燥。

闪烁剂的配方为300mM PPO, 6mM POPOP的二氧六环混合物,将细胞标本置于其中浸泡10秒、30秒、1、2、3、4、5、7和10分钟,温度为 20°C 。然后曝光。

曝光:细胞标本和空白在浸过闪烁剂之后立即放入一纸盒中,并包上黑纸,在某些盒中放有 CaCl_2 ,以发现是否在高速自显影较短的曝光过程中发生潜影消退。所有标本的曝光均在 CO_2 气中进行以防止乳胶翳雾形成,在 -70°C 或 $+20^\circ\text{C}$ 中曝光15分,1、2、3、4、5、和7小时。

显影和定影:所有标本在 20°C 二氧六环中洗1分钟,短时间蒸馏水漂洗,在 $+20^\circ\text{C}$ 的Kodak's D196显影剂中显影4分钟,自来水洗,在30% (W/V) 硫代硫酸钠水溶液中固定7分钟,水洗之后所有细胞标本用苏木精伊红染色,最后用加拿大胶封固。

放射自显影定量:对细胞和空白二者的自显影图中的颗粒进行计数,对每一曝光时间,每一温度以及每种浸泡闪烁剂时间,至少计数50个FL细胞核的颗粒数。用一视野大于3600平方微米的分度目镜计数银颗粒以估算本底。至少在25个视野内计数细胞间区和空白区的乳胶颗粒。结果取平均值并进行统计学评价。

结果和解释

无论是 $+20^\circ\text{C}$ 或 -70°C 下曝光1小时的高速自显影图中50%以上的FL细胞的核被标记,说明高速自显影的效率比常规自显影术提高约40倍。高速自显影图的质量和常规自显影的图一样好。

在闪烁剂中的浸泡时间:标本在闪烁剂中浸泡的时间不同其自显影效率也不同,浸泡时间为2分钟时效率最高。

温度和曝光时间:曝光时间15分和1小时者高速自显影的效率对温度没有依赖关系,高速自显影的效率与1~7小时的曝光时间之间的关系是线性关系,可用最小二乘法加以证明。在 -70°C $y = 10.6x + 44.9$, $r = 0.987$; 在 $+20^\circ\text{C}$ $y = 7.7x + 30.8$, $r = 0.985$ 。曝光时间为2~7小时,高速自显影的效率在 -70°C 比在 $+20^\circ\text{C}$ 时约高20~40%。虽然在高速自显影术中使用的曝光时间很短,但在缺乏干燥因素,尤其是在曝光时间为3~5小时时可见到潜影消退,潜影消退在 $+20^\circ\text{C}$ 的

高速自显影图上较在 -70°C 的图上更为显著。

本底:如果脱底乳胶高速自显影标本采用缓慢干燥,则本底值比常规自显影略有增高。然而,若将制备好的标本放在有 CaCl_2 的干燥器中过夜,则缓慢干燥将使高速自显影的过程延长约12~20小时,因此选用电扇干燥高速自显影标本的方法,虽然此法能使本底值增高。无论用那一种温度(-70°C 或 $+20^\circ\text{C}$)或曝光时间(1/4, 1, 2, 3, 4, 5, 7小时),当用电扇干燥高速自显影时其本底值的范围为0.6~0.8颗粒/100平方微米,而脱底乳胶在有 CaCl_2 的干燥器中过夜缓慢干燥时本底值为0.2颗粒/100平方微米。虽然前者本底值明显地高于后者,但二者均低于1颗粒/100平方微米,即他们中无论那一个值均能充分地满足做为优质放射自显影的要求。

脱底乳胶高速自显影的步骤:考虑到采用闪烁剂的最佳条件和曝光的最佳参数,推荐如下的脱底乳胶高速自显影程序:

1. 脱底乳胶覆盖细胞标本。

2. 用电扇干燥标本20~30分钟,这种干燥方法可以加速干燥过程,但可使本底增高。如果需低本底,标本应放于有 CaCl_2 的干燥器中过夜。

3. 标本在 20°C 的闪烁剂中浸泡2分钟,闪烁剂成份为300mM PPO和6mM POPOP的二氧六环混合液。

4. 标本在有 CaCl_2 的情况下在 CO_2 气中温度范围为 -70°C ~ $+20^\circ\text{C}$ 内曝光1~7小时(或更长)。

5. 在 $+20^\circ\text{C}$ 二氧六环中漂洗标本1分钟,玻璃载片的边缘靠在滤纸上,吸去多余的二氧六环,再用蒸馏水漂洗几秒钟。

6. 在 $+20^\circ\text{C}$ Kodak's D196中显影4分钟,自来水短时间冲洗,30%硫代硫酸钠水溶液固定7分钟。

7. 如果标记物是沉积在明胶化的玻璃载片上用自来水洗30分钟,如果标记物是沉积在未明胶化的玻璃载片上,则用10%福尔马林在 0°C 下冲洗1~2分钟,然后在50%和70%乙醇中漂洗。

高速自显影的效率:在高速自显影中,曝光时间缩短至几小时是由于它有较高的效率,即在单位素每一次衰变时能产生比常规自显影多得多的银颗粒。这是因为在高速自显影中PPO-POPOP发射的光量子数和氚本身的 β 粒子均能使乳胶AgBr晶粒形成潜影。氚 β 粒子活化二氧六环分子,后者以非放

射性方式传递活性给 PPO。由 PPO 发射的光子数 (Q_{PPO}) 为: $Q_{PPO} = q_{PPO} f S E$

这里 E 是氚发射的能量, q_{PPO} 是 PPO 荧光量子效率, f 是二氧六环-PPO 能量转换量子效率因子 (对目前所用浓度的 PPO, $f = 1$), S 是每 f100 电子伏 β 粒子活化 1 个二氧六环分子。

同样, 由 PPO 量子活化 POPOP 而发射的光量子数, Q_{POPOP} 可如此描述

$$Q_{POPOP} = q_{POPOP} q_{PPO} f S E$$

这里 q_{POPOP} 是 POPOP 的荧光量子效率, 在目前所用 PPO 和 POPOP 克分子浓度下 q_{PPO} 和 q_{POPOP} 分别为 0.80 和 0.85, 当取氚的平均发射能量 5 千电子伏时 $f S E = 50$, 其 $Q_{PPO} = 40$ 光量子数和 $Q_{POPOP} = 34$ 光量子。由 PPO 发射的光量子波长 3650 Å, 平均能量 3.40 电子伏, 由 POPOP 发射的光量子的波长为 4150 Å, 能量为 2.96 电子伏。为使潜影形成需使 1 个 AgBr 晶粒释放 10~1000 个电子, 而 AgBr 晶粒释放一个电子大约需要 3 电子伏的能量。氚的一个 β 粒子的能量经过作用于二氧六环-PPO-POPOP 以后能诱发至少 90 电子伏的能量 (仅由 POPOP 发射的能量), 这就足够使 3 个 AgBr 晶粒形成潜影即在乳胶中形成三个银颗粒, 而在常规的放射自显影中氚的一个 β 粒子只能产生 < 0.1 个银颗粒, 即高速自显影术从理论上上看至少比普通自显影效率高 30 倍。

高速自显影的温度-依赖性效率与处于 -70°C 的 PPO 和 POPOP 的荧光效率较 +20°C 时的荧光效率增强有关, 因此它也与发射的光子数目的增加有关。

高速自显影的分辨力: 对氚标记细胞的高速自显影的分辨力与常规自显影者一样, 在我们的材料中大多数乳胶颗粒是定位在 FL 细胞的核上, 少数刚好在核膜上。在改进自显影分辨力方面, 通过改变自显影的几何形状, 或应用发射能量低于 3H 或 ^{125}I 同位素以及降低生物材料的厚度实际上还不能达到其目的。然而, 当应用高速自显影时, 可以考虑通过降低 AgBr 晶粒的大小改进其分辨力。潜影形成需要 β 粒子通过 AgBr 晶粒时丢失 150 电子伏的能量, 而能量损失的多少依赖于晶粒的大小和同位素发射的能量。对晶粒大小为 ≤ 100 Å 者, 尽管用低能量同位素, 3H 和 ^{125}I , 在 AgBr 晶粒中的能量损失是不足以形成潜影的。然而由 POPOP 发射的可见光由于在 AgBr 中丢失 35 电子伏的能量而形成潜影。因此在高速自显影中乳胶的 AgBr 晶粒可以缩小到约 25 Å, 从理论上说这样的大小已能保留潜影形成的性质。由于 AgBr 晶粒大小的缩小, 实际上能达到相应地改进自显影分辨力的目的。

(Sawicki W 等: Hisfochemistr 52, (4): 341~347, 1977 (英文) 张孙曦译 刘鼎新 曹淑媛校)

^{111}In 标记血小板和碘化纤维蛋白原检查深部 静脉血栓形成的比较

目前公认, 采用 ^{125}I 纤维蛋白原的纤维蛋白摄取实验是检查深部静脉血栓形成的一种有用而精确的方法。如果使用 ^{111}In 或 ^{125}I 标记纤维蛋白原, 用闪烁照像机即可获得血栓闪烁图。遗憾的是, 当血栓已有数日之久时, 它对放射性碘化纤维蛋白原摄取很少, 因此血栓与血液的比值较低, 这就难以成像, 特别是在大血池区。

Thakur 等人最近报导了一种用 ^{111}In 标记血小板的方法。用狗作的初步实验表明, 静脉血栓摄取标记血小板, 在给予标记血小板后, 对 72 小时龄的血栓可进行 γ 血池显像。

本实验中, 我们用 ^{125}I 纤维蛋白原作比较标准, 进一步研究了不同时龄的深部静脉血栓对 ^{111}In

标记血小板的摄取情况。

方 法

诱发狗的实验性深部静脉血栓, 如文献所述。用戊巴比妥钠将狗麻醉 (30 毫克/公斤), 把内有不锈钢电线的乙烯导管插入颈静脉, 在荧光镜引导下进入股静脉, 不锈钢电线与可变电源的阳极相联, 阴极与腿上带有导管的皮夹相联, 通直流电 1 小时 (5 毫安、2 伏), 然后去掉电线与导管。在血栓形成 1、2、4、12、19、24 或 72 小时的时候, 于前肢静脉注射标记血小板和标记纤维蛋白原。用 Thakur 等人的方法制备 ^{111}In 标记的自体血小板。血小板从含有 7 毫升葡萄糖柠檬酸的注射器抽取的 43 毫升全血中获得。将血仔细地移入两个 50 毫升的