

断冠心病外科搭桥术的效果。Serafini报告冠状动脉搭桥术后,左室EF正常组死亡率1~4%,而左室EF明显降低组,死亡率高达29~55%^[14]。

七、心脏起搏器的监护

在应用心脏起搏器时,需要测量血液动力学的变化来监测心脏起搏器的效能。核听诊器可以及时测定即刻心搏和门电路心室功能,以调节起搏器的工作条件^[15]。

总的估价

核听诊器所测得的左室EF和用门电路控制的闪烁计数γ照相机所测得的左室EF经统计处理为密切正相关。Wagner报告44例患者同体用上述两法所测EF,其相关系数为0.92 ($P<0.001$)。说明两法同样准确可靠^[2]。

美国Picker4C型γ照相机有门电路控制器测定EF的装置,有影象又有数据比较理想。一般γ照相机只能在连续拍照并录相后再重放,

才能求得时间——放射性强度曲线及EF,出报告费时麻烦。

核听诊器不能显象,但在测定左心室功能上较简便、快速,适于作床边监测,造价较γ照相机低廉,易于普及。

参考文献

1. Wagner HN, et al, Am J Cardiol 38:797, 1976.
2. Wagner HN, et al, Am J Cardiol 43:975, 1979.
3. Wagner HN, et al, J Nucl Med 17:557, 1976.
4. 刘秀杰等,中华核医学杂志 1:3, 1981.
5. Bacharach SL, et al, J Nucl Med 18:1176, 1977.
6. Berger HJ, et al, Circulation 63:133, 1981.
7. Green MV, et al, J Nucl Med 19:380, 1978.
8. Strashun A, et al, Am J Cardiol 47:610, 1981.
9. Tarkowska A, et al, Eur J Nucl Med 5:333, 1980.
10. Berger HJ, et al, Am J Med 66:13, 1979.

转123页

放射免疫测定中的若干技术进展

上海第一医学院华山医院 张维仁综述 林祥通 林汉*审

过去的二十年中,放射免疫测定(RIA)技术已成为生物学及医学临床、科研工作不可缺少的工具之一。随着应用的日益广泛,RIA技术本身也有不少新的发展。本文仅对近年来RIA中新技术的主要方面作一扼要介绍。

一、蛋白质激素的¹²⁵I碘化技术^[1~3]

氯胺T法¹²⁵I碘化抗原,可获得高比放射性标记抗原,有利于提高RIA的灵敏度。但是氯胺T本身是一种氧化剂,标记反应中蛋白质激素因一些不稳定残基(如蛋氨酸)的氧化而发生严重变性,使抗原免疫活性和生物活性发生改变,影响与抗体的结合率及剂量反应曲线的斜率。此外,标记反应中,蛋白质与¹²⁵I碘源毒性物质的直接接触,也是标记抗原免疫活

性减低的原因之一。Bolton和Hunter对氯胺T法作了改良,先用¹²⁵I碘标记酰化剂3-(4-羟苯基)丙酸N-羧基琥珀亚胺酯,后者再与蛋白质分子的游离氨基反应,并以酰胺键与之结合,因此避免了蛋白质与¹²⁵I碘源以及氧化剂等的直接接触。用此方法制备了¹²⁵I碘标记的hGH、hTSH和hLH,比放射性分别达到170、120和55μCi/μg,经RIA法鉴定,用改良氯胺T法标记的蛋白质激素与氯胺T法制备者相比,具有相仿或较优的免疫活性。标记步骤较复杂是改良氯胺T法的不便之处。

七十年代初,应用乳过氧化物酶(LPO)催化¹²⁵I碘化反应获得成功。LPO法以酶及稀释的H₂O₂作氧化剂,不需应用还原剂终止反应(单纯稀释就能终止反应),反应温和,蛋白质变性损伤小,因此标记激素可保持完好的

* 中国医学科学院放射医学研究所

免疫活性。对用氯胺T法和LPO法标记的胰岛素、hFSH、hTSH、hGH、hLH及HCG作了比较,发现氯胺T法对蛋白质抗原免疫活性损伤较大,贮存稳定性也不如LPO法标记者。葡萄糖氧化酶(GO)法,是在LPO法基础上,利用GO与底物反应,有节制、小剂量和持续地产生H₂O₂来代替H₂O₂的直接加入。GO法标记的¹²⁵I-HGH,经Sephadex G-100柱纯化,损伤及聚合变性部分少于5%,而氯胺T法则多达25%。

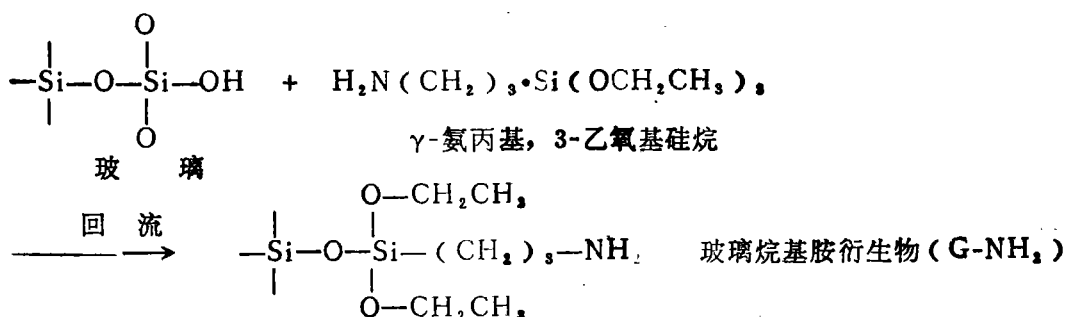
实际工作中,氯胺T法仍是普遍采用的技术。鉴于酶促¹²⁵碘化法不仅对蛋白质抗原免疫活性损伤小,而且保留较高的生物活性,因

此对蛋白质激素RIA及放射受体分析(RRA)都较适宜。

二、多孔玻璃-固相放射免疫测定^(9~10)

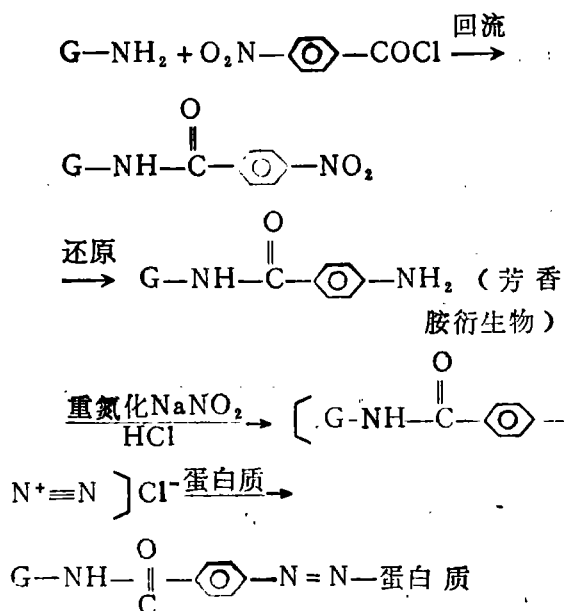
多孔玻璃在固相酶及亲和层析中的应用,已有许多报导。近二年来,逐渐生产了以多孔玻璃微珠为抗体载体的固相RIA药盒,测定项目包括地高辛、维生素B₁₂、胰岛素、T₃、FT₄、TBG等,因此多孔玻璃载体既适用于小分子半抗原,也适用于蛋白质抗原的RIA测定。

玻璃载体与蛋白质共价结合的方法有重氮法、异硫氰酸盐法、肽法及戊二醛交联法等。首先使玻璃硅烷化,在表面接上氨基(-NH₂):



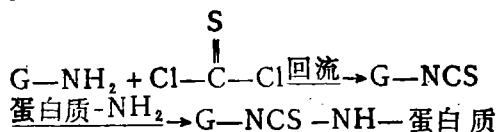
再使蛋白质与玻璃连接:

1. 重氮法: 玻璃烷基胺衍生物(G—NH₂)与对-硝基苯甲酰氯反应, 经还原得芳香胺衍生物, 再经重氮化后即可与蛋白质共价偶联:

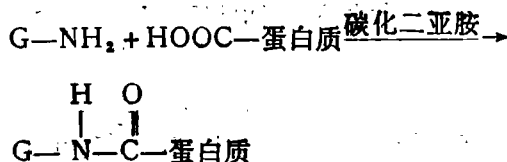


2. 异硫氰酸盐法: G—NH₂与硫光素的氯

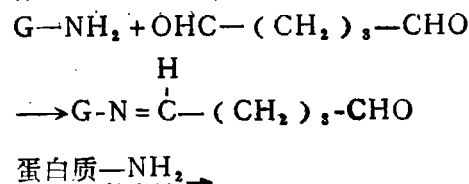
仿溶液反应, 得异硫氰酸盐, 可直接与蛋白质结合:

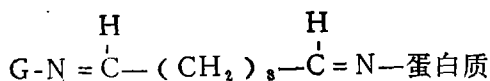


3. 肽法: 在碳化二亚胺存在的条件下, 使玻璃烷基胺衍生物的氨基与蛋白质分子的羧基直接缩合成肽键:



4. 戊二醛交联法: 以戊二醛为“桥”, 将载体的氨基与蛋白质的氨基联接起来:





多孔玻璃是惰性无机材料，因此在抵御微生物侵蚀、耐受pH及有机溶剂组份改变以及机械性能上都优于有机载体（如Sephadex、Sephadex和纤维素），制备成固相抗体后贮存稳定性好。极细的多孔玻璃微珠混悬于反应液，提供了相当大的反应面积，有利于反应动力学，使反应迅速达到平衡。玻璃本身比重较大，离心后可使结合抗原与游离抗原完全分离。晚近，有采用直径6mm的固体玻璃珠作抗体载体的报导，每个反应管只需加一粒玻璃珠，免去了离心的步骤，使操作更加简便。

三、放射受体分析^(17~18)

近年来随着许多激素受体的发现和提纯成功，建立了激素的放射受体分析（RRA），其原理与RIA相仿，只是以受体作特异性结合剂。标记配基及非标记配基与特异受体竞争结合，当受体和标记配基含量恒定时，标记配基与受体的结合率随反应系统中非标记配基含量的增加而下降。不少肽类激素，如胰岛素、胃泌素、甲状旁腺素、ACTH和HGH等，分子大小不均一，虽然具有相同的免疫活性，但生物活性有强有弱，甚至完全不具有生物活性。RRA优于RIA之处就是能反映血清或血浆中这些有生物活性激素的含量。应用相同的标准品与标记物，分别以RRA与RIA法测定肢端肥大症血清HGH含量，二种方法测定结果平均值之比是 $\text{RRA}/\text{RIA} = 1:1.42$ ($P < 0.001$)，这一发现有助于解释部分患者RIA测定结果与临床症状不平行的现象。

利用肽类激素的靶细胞具有调节其表面受体数目的能力，新近报导了HGH的“受体调节分析”（Receptor Modulation Assay, RMA）。这方法实际上不是一个竞争反应：HGH与培养的淋巴细胞预先温育一定时间，将减少细胞下一步与 ^{125}I -HGH的结合，结合率减少程度与HGH的浓度及温育时间长短有关。低达1ng/ml的HGH与淋巴细胞温育4小时，就可使细胞与 ^{125}I -HGH的结合降低，

7ng/ml的HGH，则使结合率降低50%。28份肢端肥大症、新生儿和刺激后病人的标本，以RIA与RMA方法测定HGH结果之比为 $\text{RIA}/\text{RMA} = 0.96 \pm 0.03$ ($\bar{X} \pm \text{SD}$)。

四、单克隆抗体的应用^(19~20)

现用免疫动物产生的抗体，是一种含有多株抗体群的混合物，这些抗体分别对抗原分子上不同的抗原决定簇专一，而且滴度、专一性及亲和力等不仅随不同动物个体而异，即使在同一动物也随不同的免疫时期而变化，因此使制备一种性能好而且稳定的抗体极为困难。淋巴细胞杂交瘤的问世，克服了抗体制备中的这些问题。1975年Köhler及Milstein以仙台病毒作融合剂（现多用聚乙二醇，简称PEG）使一株小鼠浆细胞瘤（P3-X63-Ag8）与用羊红细胞免疫过的小鼠脾细胞融合，称为淋巴细胞杂交瘤。融合后的细胞既具有瘤细胞在培养基中大量繁殖的能力，又能分泌抗羊红细胞抗体。以选择性培养基HAT（含次黄嘌呤、氨基蝶呤和胸腺嘧啶核苷）进行筛选，二周后，剩余的瘤细胞及脾细胞均死亡，只有杂交瘤大量繁殖。进一步选取单个杂交瘤细胞进行培养，使之形成一个细胞系，这种克隆化的杂交瘤能分泌结构、氨基酸顺序、特异性都完全一致的纯抗体，而且在培养过程中只要没有突变，不同时间所分泌的抗体都保持相同的性能。应用这“突破性”的新技术，能成功地制备针对弱抗原的抗体，而这些弱抗体通常应用混合抗体是不易被检测到的。在RIA技术中应用单克隆抗体，无疑能使测定达到高度专一的程度，单克隆抗体将最终成为RIA中的标准试剂之一。

参考文献

1. Bolton AF & Hunter WM: *Biochem J* 133:529, 1973.
2. 林祥通等：五种多肽激素的乳过氧化物酶酶促 ^{125}I 碘化法及其保存稳定性研究（待发表资料）。
3. Marchalonis JJ: *Biochem J* 113:299, 1969.
4. Thorell JI & Johansson BG: *Biochimica et Biophysica Acta* 251:363, 1971.
5. Miyachi Y, et al: *J Clin Endocrinol* 34:23, 1972.
6. Heidi Pinto, et al: *Clinica Chimica Ac-*

- ta 76:25, 1977.
7. Wajchenberg BL, et al: J Nucl Med 19: 8, 1978.
 8. Tower B B, et al: Life Science 21:959, 1977.
 9. 袁中一等, 〈固相酶亲和层析〉P.6, 科学出版社, 1975.
 10. Weetall HH, et al: Biochim Biophys Acta 242:194, 1971.
 11. Weetall HH: Biochim Biophys Acta 212:1, 1970.
 12. Weetall HH: Biotech Bioeng 12:399, 1970.
 13. Weetall HH: Biochem J 117:257, 1970.

14. Line WF, et al: Clin Chem 19 (12):1361, 1973.
15. Robinson PJ, et al: Biochim Biophys Acta 242:659, 1971.
16. Post KG, et al: J Clin Endocrinol Metab 50:169, 1980.
17. Herington AC, et al: J Clin Endocrinol Metab 39:257, 1974.
18. Rosenfeld RG & Hintz RL: J Clin Endocrinol Metab 50:62, 1980.
19. Kohler G, et al: Nature 256: 495, 1975.
20. Pearson T, et al: Eur J Immunol 7:684, 1977.

辐射防护剂量测定中的染色体畸变分析

Lloyd DC and Purrott RJ: Radiation Protection Dosimetry 1 (1),
19~28, 1981 (英文)

引 言

染色体分析作为定量的生物剂量测定, 自1962年首次应用于美国Recuplex 临界事故以来, 在过去的20年中已成为估算全身等效剂量 (equivalent whole-body dose) 的一种常规方法。染色体剂量测定的技术, 已在辐射防护中得到了公认, 在协助物理剂量测定中, 发挥着重要的作用。据公开发表的文章报道、在近20例严重的 (其中有些是致死性的) 超剂量受照事故中, 已进行了染色体剂量测定的研究。总的说来, 在1~10Sv的范围内, 剂量计算和病人的症状以及与物理剂量仪的资料是相符的。染色体畸变分析是当前估计辐射受照最敏感的生物学方法, 它能检出低LET辐射0.1Sv的全身等效剂量。本文的目的是总结英国国家辐射防护委员会 (NRPB) 细胞遗传实验室14年来的工作, 并概述辐射防护中染色体剂量测定的现况。

方 法

染色体剂量测定最常用的畸变分析, 是检查外周血淋巴细胞的染色体损伤。外周血的培养方法是1960年发展起来的, 而后有所改进。现已可用邮寄的方法, 将受照者的血样送到数千公里外的实验室进行检查。

其他组织的细胞遗传学分析

皮肤, 毛根及骨髓组织可作为染色体检查的细胞来源。但这些组织的细胞分裂在同步化上很不一致,

所以很难对辐射损伤进行定量分析。另外它们都处于身体的某些固定部位, 在局部受照的情况下就更难对观察结果作出评价。淋巴细胞是循环于全身的无数剂量仪, 能估算全身的平均剂量。近来, 睾丸细胞及精液中成熟精子的染色体检查方法, 有了重大的进展。但是, 这些技术对事故受照者后代在遗传上是否正常, 还不能作出明确的回答。基于上述理由, 在可预见的未来, 外周血淋巴细胞仍将是细胞遗传学方法反映辐射受照的最重要的细胞类型。

畸 变 类 型

辐射诱发的染色体畸变分稳定性和不稳定性畸变两类。染色体剂量测定分析的畸变, 都是不稳定性类型的。虽然稳定性畸变能通过细胞分裂周期, 具有更大的潜在危害, 但在辐射剂量测定中没有进行研究。这是因为显示稳定性畸变需要特殊的染色技术, 而且分析它们很费时间。双着丝点体在急性照射情况下约占全部不稳定性畸变的60%, 它在正常人群中的本底值很低 (1000个细胞中约有1个), 而且二个着丝点的畸变在形态上很易识别, 所以, 双着丝点体是辐射损伤最可靠的指标。环状染色体较为少见、约为双着丝点体的5%, 因而环对剂量测定的意义不大。无着丝点断片包括末端缺失和中间缺失, 因其本底值较高 (250个细胞中有1个), 而且某些化学诱变剂会增加其数目, 所以断片在剂量测定中的价值也是有限的。