

因而不适宜于研究。为此将氯化镭( $^{226}\text{Ra}$ ) 315Bq放入干燥器中,研究了由 $^{226}\text{Ra}$ 衰变所生成的氡(与子体处于放射性平衡状态)和径迹密度的关系。在干燥器(容积8.5升)内还放入了灯,离灯5.5厘米处放置了硝酸纤维素薄片。为使薄片能够出入,在干燥器盖子上装了一个不漏气的插入口。将此干燥器放在恒温室( $20^{\circ}\text{C}$ )内,将薄片暴露2小时,求得镭生长氡的不同时间的径迹密度。结果与计算值十分一致,确定了氡浓度与径迹密度成正比。

由于灯表面捕集了空气中的氡子体,而氡子体放出的 $\alpha$ 粒子能射到硝酸纤维薄片上形成径迹,因此使本法径迹增多,灵敏度比以前的 $\alpha$ 径迹法提高5~6倍,

且大部分径迹蚀刻在薄片的一定深度,蚀刻直径一致,易于计数。由于灯的保温作用,在湿度高的地方进行测定时,薄片表面不易附着水滴,因而不会使径迹密度下降。此外,还证实了在灯的表面有 $^{222}\text{Rn}$ 的子体 $^{218}\text{Po}$ 、 $^{214}\text{Pb}$ 、 $^{214}\text{Bi}$ 、 $^{214}\text{Po}$ 。但是 $^{218}\text{Po}$ 以下这些子体的捕集效率如何,为什么会被捕集在灯上,尚不清楚。 $^{222}\text{Rn}$ 浓度与径迹密度的关系是在干燥器内的特定条件下测定的结果,情况不同,未必一样。因此,要利用本法测定空气中的 $^{222}\text{Rn}$ 浓度,今后必须把这些问题搞清楚。

(强亦忠摘译 章仲侯审校)

## 用密度梯度离心法从X射线 照射过的大鼠胸腺细胞悬液中分离出死细胞部分

Yamada T et al: Int J Radiat Biol 37(6):695~699, 1980(英文)

### 引言

大白鼠胸腺的小淋巴细胞,通常称为胸腺细胞,它是间期死亡的生物化学研究的方便的材料源。胸腺细胞受到中等剂量的辐照以后,随着照后的时间推移,死细胞部分逐渐增多。“死亡细胞部分”的逐渐增多,意味着一些被照射细胞的死亡比另一些细胞要早一些,也就是说,所有被照射的细胞,死亡过程并不是同时进行的。因此,细胞悬液受电离辐射作用以后的任一时刻,细胞悬液的一部分已死或正在死去,而其余部分则仍然活着。

当我们考察伴随间期死亡事件时序的生化变化时,通常是分析从整个细胞悬液制备而来的提取物,其中的一部分是死的或正在死去。这样测得的生化变化代表着正在死去的和仍然活着的细胞的正常生化变化的总和。所以仅在死去细胞中发生的微小的生化变化将很难被检测到。

如果能研究出一种从正常的活细胞中分离出死细胞或正要死亡的细胞部分的方法,那么,就可为研究间期死亡的生物化学提供一种实用的手段。但至今还未曾试验过在生化检测之前,从活存细胞中分离出死细胞部分。本研究详细地介绍了用改进的胶体二氧化硅梯度离心法,从照射过的大白鼠胸腺细胞悬液中分离出死细胞的方法。

### 材料与方法

#### 一、胸腺细胞悬液的照射和制备

如前曾介绍的那样,用400伦X射线( $200\text{Kvp}$ ,  $20\text{mA}$ ,  $0.5\text{mm}$ 铝+ $0.5\text{mm}$ 铜滤片)在有机玻璃盒中照射年轻的Wistar雄性大白鼠,照射后2或4小时杀死动物,并将胸腺细胞悬浮于单纯的Krebs-Ringer磷酸盐溶液中( $2 \times 10^6$ 细胞/毫升,  $\text{pH}7.4$ )。

#### 二、用Percoll梯度分离细胞

使用Percoll——一种细胞的密度梯度离心介质——连续密度梯度分离这种悬浮的胸腺细胞(Pharmacia, Uppsala, Sweden), Percoll由胶状的二氧化硅外包被聚乙烯吡咯烷酮(Polyvinylpyrrolidone)所组成。由于介质中粒子大小的不一致性, Percoll溶液在离心时就自然地形成密度梯度。当天用 $1.2\text{ml}$ 五倍浓度的Krebs-Ringer磷酸盐溶液( $\text{pH}7.4$ )和 $5.15\text{克}$  Percoll混合制备梯度介质。在 $15 \times 70\text{mm}$ 聚碳酸酯离心管中,用梯度介质与 $2\text{ml}$ 的细胞悬液彻底混和,然后在日立离心机上用角转子( $35^{\circ}$ ) RPR18-2将混合物于 $4^{\circ}\text{C}$ ,  $11000\text{r.p.m}$ (管的中部为 $11000\text{g}$ )离心30分钟。 $20^{\circ}\text{C}$ 时混合物起初的密度为 $1.084\text{g/ml}$ ,  $\text{pH}8.1$ 。混和物与Krebs-Ringer磷酸盐溶液一起准确地调至等渗,可用冰点下降和蒸汽压平衡技术测量法来确定。当Percoll梯度在原位

形成时,细胞在它们的浮力密度上分成带(图1和 图2) 如图所示,根据产生的可见带,可分为4个部分。用巴斯德吸管分别收集之,先收集表面最轻的部分,而后逐渐收集较密的部分。从Percoll梯度中回收的胸腺细胞,用过量的Krebs-Ringer磷酸盐溶液温和地离心洗涤,重新悬浮于同一溶液中,并用四碘荧光黄或称藻红B(Erythrosin B)计数和测定存活率。密度梯度离心并不影响存活率。用阿贝折射率仪在20℃下测定折射率。

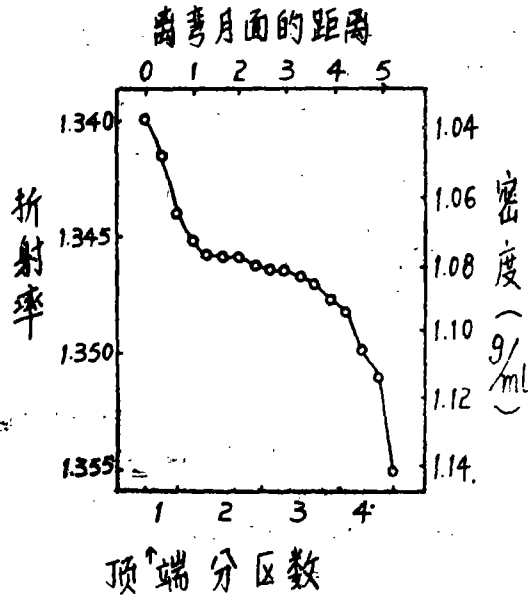


图1. 含Percoll细胞分离介质离心所产生的密度梯度,用阿贝折射率仪测量取自离心管底部的部分离心介质的折射率。

## 结 果

### 一、用Percoll梯度分离胸腺细胞

用上面所说的方法制备和离心Percoll溶液的密度梯度见图1。由图可以清楚地看到该梯度的特征,这就是顶部和底部有相对较陡的梯度,而其余居间的一个较大的部分,梯度小,这表明密度上仅有微小差异的细胞群,是可以相互分离的。

如图2所示,用这种分离程序,可将胸腺细胞密度不同的亚群得以分离,它大致上可以分为4层,分别称为表层段、上层段、中层段以及密集段。

从对照的大白鼠分离来的正常的胸腺细胞,主要收集在中层段和上层段(图2左管)。显微镜观察可以辨认出中间结集的细胞多数是大小均一的小淋巴细胞。其余中等至大的细胞被分在上层段。还发现,分布在表层段的是细胞碎片和少量的大细胞,污染的红

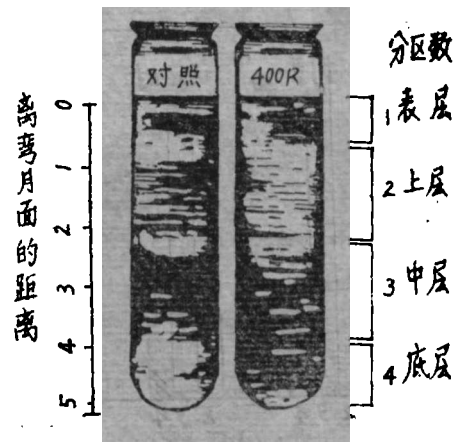


图2 照片表示大白鼠胸腺细胞在 percoll 密度梯度中的分层。左管,对照,未受照射的细胞,右管,400伦 全身照射以后4小时的胸腺细胞样品。如同图的左边栏所示,分出的细胞带从离心管顶部到底部顺次定名为1、2、3、4号。

细胞沉没在密集段,它明显地可与其它细胞群分开。

400伦 全身照射以后4小时制备的胸腺细胞的离心,显示出完全不同的细胞带型(图2,右管)。聚集到密集区段的细胞数明显增加,而上层和中层的细胞则明显减少。藻红B排斥试验(exclusion test)证明,除污染的红细胞外,密集段的多数细胞是死的。相反,上层和中层细胞很少被染色,也就是说,这两段的多数细胞是活的。

### 二、分段细胞群之间死细胞的分布

图3表示从未照射的对照大白鼠和全身400伦照射后2小时和4小时分离得来的活细胞和死细胞在四个区段之间的分布。对照组,原初加在梯度液上的细胞约有65%收集在第三层(中层),25%的细胞在第二层,两层中的细胞全是活的。在第四层,仅见到百分之几的活细胞,包括污染的红细胞。

图3右边图说明照射后4小时制备得到的细胞的相对分布。与未照射的对照细胞相反,最显著的特征是第四层回收的细胞数明显增加,这部分可占所加细胞的40%,而且这些细胞大多数是死的。与密集段细胞增加相对应,较轻层的细胞数量减少。第二层的细胞降至对照组的半数以下,第三层的细胞从65%降至50%。样品中的死细胞几乎都被收集在第四层。

照射后2小时分离的细胞分布(中间的图),表现出介于左图(对照)和右图(照射后4小时)之间的图象。第三层的细胞开始减少,同时第四层增加到对照值两倍多。

在照射后2小时和4小时两种情况下,分离之前死

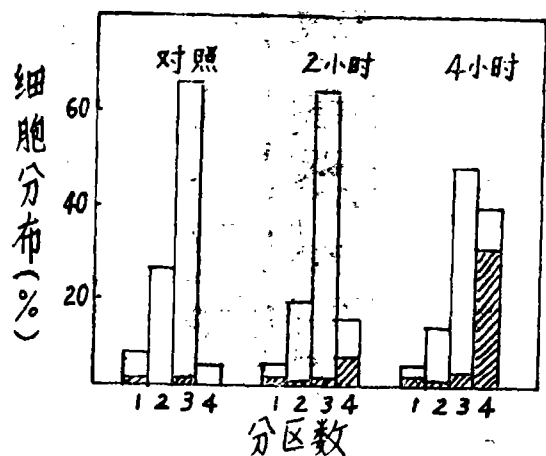


图3 400伦全身照射以后2和4小时，“活的”和“死的”胸腺细胞在percoll密度梯度中分布的变化。□，活的细胞；▨，死的细胞。左边的图代表正常的、未受照射的大白鼠制备得到的细胞分布。中间和右边的图表示大白鼠400伦全身照射后2和4小时制备得到的细胞的分布。

细胞的百分率分别为23.5%和37.8%。这些死细胞数仅比分离之后的死细胞稍多一点（每部分死细胞百分率的总和），这意味着分离过程本身不会增加照射细胞的死亡率。

从这些结果可清楚地看到，照射大白鼠胸腺细胞浮力密度方面的变化是随辐射损伤的发展而发生的。随着死亡，细胞变重，导致它们在近离心管底部的部位上集结，从而使死细胞几乎可以完全从活细胞群中分离出来。

### 讨 论

对于涉及到间期死亡机制的研究，曾用过种种实验的方法，从“活”细胞中区分出“死”细胞来，至今所使用的方法实质上都是组织化学的方法，因此仅

适用于显微镜观察，而不适用于从照射细胞悬液中把死细胞部分分离出来。本文论述了用密度梯度离心法从活细胞中快速地、方便地、重现性好地分离死的胸腺细胞。percoll密度梯度分离法，从细胞放入离心管至洗涤被分离的各层细胞，前后仅需一个半小时左右。离心期间，特征性的连续percoll梯度自然形成（图1）和细胞的分离同时发生。

在同期死亡的细胞生化研究中，当死亡的细胞部分和仍然存活的细胞部分相比很少时，比如低剂量照射后的早期，从照射细胞中分离出死细胞是很重要的。而且离心本身无损地回收所有的细胞，这是成功的技术的必要的先决条件。每次实验都仔细地确定了不存在离心所致的细胞损伤。percoll梯度离心实际上降低了染色的细胞，照射后4小时，细胞的死亡率在分离操作后为34%，而在分离前则为38%。细胞的回收很高，实际上所有用于梯度离心的细胞都能回收。几乎所有的死细胞都可与活细胞明显地分离开来，并收集到密集的区域。这种方法对于研究活细胞和死细胞组成的胸腺细胞样品的放射损伤时的生化变化，将是有益的。

尽管有许多报告论述了根据细胞密度来分离胸腺细胞亚群的方法，然而原先的设计都没有涉及到从活的胸腺细胞中分离出死细胞的问题。Reeves (1977) 和Sabolovic及Dumont (1973) 在他们研究细胞亚群之间特性差异的过程中，注意到离心管底部有死的胸腺细胞所组成的小团沉淀。这种观察给我们所发现的，死的胸腺细胞被收集于密集的区域提供了支持。

现正在进行与细胞死亡有关的密度变化的深入探讨和生物化学研究，以便进一步查明细胞间期死亡的机理。

（胡天喜译 袁宝国校）

## 用 $^3\text{He}$ 活化钚的方法生产高纯度同位素 $^{52}\text{Mn}$

Sastri CS等; Int J Appl Radiat Isot 32(4): 246~247, 1981 (英文)

用14MeV能量的 $^3\text{He}$ 粒子照射可生产纯度非常高的 $^{52}\text{Mn}$ 。妨碍 $^{52}\text{Mn}$ 核医学应用的主要放射性核素 $^{54}\text{Mn}$ 在上述生产条件下，实际上是不存在的。其他元素的放射性核素用8-羟基喹啉萃取法分离。测定了各种不同束能条件下该核素的产率。

### 引 言

$^{52}\text{Mn}$ 在核医学领域里是一个感兴趣的放射性同位素，例如它被用于血液病的诊断和治疗。 $^{52}\text{Mn}$ 的常用生产方法是用质子或者氦核照射铬，也可用与铁反应的方法，但用得较少。用这些方法时，不仅产生