

乳胶凝集法测定甲胎蛋白的方法学研究

顾国彦 刘 黎 洪龙生 厉梅芳

(上海实验生物研究所)

自从 Singer 和 Plotz (1956) 用乳胶凝集法测定类风湿关节炎以来, 乳胶凝集法一方面向简便和快速方向发展, 另一方面是扩大其应用范围的问题。1971 年 11 月 Pfizers 公司举行了乳胶凝集技术会议, 与会者认为此法有不同程度的假阳性。Smith 等 (1971) 曾提到用修改的 Morris 等 (1970) 的乳胶凝集法测定人甲胎蛋白, 认为它只和含甲胎蛋白的血清起反应。但至今未见全文; 而且 Morris 等方法的假阳性达 5—10%。我们应用乳胶凝集法测定人血清中甲胎蛋白, 发现将纯化的兔抗人甲胎蛋白抗血清致敏乳胶时, 乳胶往往会自凝。致敏的乳胶(吸附有抗体的乳胶)遇到正常人血清时也会出现凝集, 遇到含甲胎蛋白(抗原)的血清时却又常常不出现凝集。对此我们研究了乳胶致敏时引起自凝的因素, 找到了致敏乳胶的合适条件, 防止了自凝; 又研究了致敏乳胶与血清起反应所出现的非特异性凝集, 找到了抑制非特异性凝集的物质和使致敏乳胶起特异性(抗原-抗体)反应的条件, 从而消除或减少了假阳性。此外还证实了血清中有抑制特异性凝集的大分子物质, 而血球对乳胶凝集反应并无影响, 因此可用指血进行检测。

材 料 和 方 法

(一) 人甲胎蛋白 按施渭康等 (1972)^[1] 从抗原-抗体复合物中提取。

(二) 兔抗人甲胎蛋白抗血清的制备 按 Гусев 和 Язова (1969)^[2] 法进行。

(三) 兔抗人甲胎蛋白抗血清的纯化 按

Fritz 和 Rivers (1972) 法进行。抗血清经 18%、13.5% 和 13.5% 的硫酸钠连续纯化三次, 最后的沉淀溶解在 10 倍于所用抗血清体积的生理盐水中, 在水中搅拌透析至无氯离子。离心, 除去少量沉淀。加叠氮钠, 用分光光度计测出蛋白量, 冰冻保存。

(四) 硼酸缓冲液 不同克分子浓度 (0.1, 0.075, 0.05, 0.025, 0.01) 的硼酸溶液中加入固体的焦性硼酸钠至 pH8.2 (或 pH7.4 和 pH9)。

(五) 乳胶致敏 10% 乳胶, 用前过滤, 加水至 1%。将乳胶、硼酸缓冲液、水和纯化的抗血清球蛋白, 或者还有氯化钠, 按不同的量相互混合, 得到 42 种不同的混合液 (见表 1), 37℃ 温育 0.5—4 小时。以每分钟 3000 转的速度离心 45 分钟。弃去较混浊的悬浮液, 加水将乳胶摇散, 再加 pH8.2, 0.1 克分子浓度的硼酸缓冲液, 使乳胶的浓度为 1%, 硼酸的浓度为 0.05 克分子。

(六) 稀释度 不同克分子浓度 (0.15, 0.10, 0.05) 的碳酸锂溶液中, 加固体碳酸氢钠调节 pH 至 10, 9.5 或 9, 再加不同克分子浓度 (0.2, 0.15, 0.1, 0.05) 的固体氯化钠, 最后得到 36 种稀释液 (见表 3), 过滤使用。

(七) 乳胶凝集反应 一滴致敏乳胶与一滴血样 (经稀释液冲淡 10—100 倍的血清), 在玻璃板上用牙签混和, 在气温 30℃ 左右、每分钟 150 次的振荡器中摇动 10 分钟。显微镜观察。

(八) 琼脂扩散和对流免疫电泳法 按上海市肿瘤防治研究协作组^[3]的方法进行。

实 验 结 果

(一) 乳胶致敏条件

纯化的兔抗人甲胎蛋白抗血清与乳胶混合,使球蛋白分子吸附到乳胶颗粒上去。溶液中氯化钠超过 0.01 或硼酸超过 0.075 克分子浓度,以及乳胶太浓或球蛋白浓度过高,都会使乳胶产生自凝(表 1)。但 pH 在 7.4—9.0 之间无多大影响。我们选择了乳胶浓度为 0.2%,硼酸缓冲液 pH 为 8.2 (硼酸的克分子浓度为 0.05),球蛋白浓度为每毫升 100 微克作为乳胶致敏的混合液。此混合液在 37℃ 水浴箱中温育半小时至四小时,高速离心,测定上清液中的蛋白量。温育半小时至 1 小时,已有 65—80% 的蛋白质被乳胶颗粒吸附,说明乳胶已经致敏。延

长温育时间,吸附量并不显著增高。我们通常采用温育 2 小时。由于混合液中还有少量球蛋白未被吸附,乳胶浓度亦太稀,不能直接用于乳胶凝集反应,需要离心。沉淀的乳胶先加水,再加与水相等体积的 pH8.2、0.1 克分子浓度的硼酸缓冲液摇匀,使乳胶浓度为 1%。此液在 10℃ 左右可保存一个月以上。

在乳胶致敏的混合液中,将纯化的抗血清球蛋白增加至每毫升 400 微克,并不能明显地增强致敏乳胶与甲胎蛋白阳性病人血清的反应,而且当蛋白浓度增加时,会使乳胶自凝。用 DEAE 纤维素纯化的兔抗血清球蛋白致敏乳胶,亦常引起非特异性凝集。如加入聚乙炔吡咯烷酮(分子量 24000),使其最后浓度为 200 微克/毫升,就不产生凝集。

表 1 不同浓度的乳胶、盐类和纯化抗血清对乳胶自凝的影响

乳 胶 (百分浓度)		0.2										0.4			
氯化钠(克分子浓度)		0.025			0.01			0				0			
硼酸缓冲液 pH8.2 (硼酸克分子浓度)		0.075	0.05	0.01	0.075	0.05	0.01	0.1	0.075	0.05	0.025	0.1	0.075	0.05	0.025
纯化抗血清浓度 微克/毫升	200	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-	-
	100	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-
	50	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-

+ 自凝; □ 被选定的致敏乳胶的条件

(二) 稀释液的配制

一滴致敏乳胶与一滴未经任何处理的正常人血清,在玻璃板上混合摇动,在 70 多个正常人血清样品中有半数出现凝集。这显然是非特异性凝集。将致敏乳胶与氯化钠、氯化铵、氯化锂、醋酸锂、硫酸锂等溶液混合摇动都出现凝集,但与碳酸锂、碳酸钠或碳酸钾溶液相遇均不出现凝集;与经碳酸锂、碳酸钠或碳酸钾溶液稀释的正常人血清相遇亦不出现凝集,说明碳酸盐溶液有抑制乳胶凝集的作用。我们用碳酸锂作进一步试验(表 2):在不同浓度的碳酸锂、碳酸锂-碳酸氢钠和碳酸锂-碳酸氢钠-氯化钠的三类 9 种稀释液中(表 2)分别加入纯抗原(50 毫微克/毫升)与致敏乳胶起反应,发现在碳酸锂溶液中,碳酸锂克分子浓度大于 0.05 时,

不出现凝集;在碳酸锂-碳酸氢钠溶液中,碳酸锂克分子浓度在 0.1 时则出现凝集;在碳酸锂-碳酸氢钠-氯化钠溶液中,碳酸锂克分子浓度为 0.15 时也出现凝集。说明碳酸氢钠和氯化钠有

表 2 碳酸锂、碳酸氢钠和氯化钠溶液对乳胶凝集反应敏感度的影响

稀 释 液 种 类	稀释液中碳酸锂的克分子浓度		
	0.15	0.10	0.05
碳酸锂 (pH11.3)	-	-	++
碳酸锂-碳酸氢钠 (pH9.5)	±	+	++
碳酸锂-碳酸氢钠-氯化钠 (pH9.5) (氯离子克分子浓度 0.15)	+	++	+++

+++ 肉眼看到凝集颗粒为强阳性;
++ 低倍放大,可看到块状凝集为阳性;
+ 低倍放大,可看到粗的凝集颗粒为弱阳性;
± 低倍放大,可看到细的凝集颗粒为可疑;
- 低倍放大,不凝集为阴性

减低碳酸锂的抑制抗原-抗体反应作用,即能提高乳胶特异性凝集的灵敏度。

究竟需要多少浓度的碳酸锂、碳酸氢钠和氯化钠才能使正常人血清不产生非特异性凝集,而使琼脂扩散法为阳性的病人血清能产生凝集?正常人混合新鲜血清经不同浓度的碳酸锂-碳酸氢钠-氯化钠稀释液(共36种组合)冲淡50倍后,与致敏乳胶混合都不会引起凝集(表3)。琼脂扩散法为阳性病人的混合新鲜血

表3 不同浓度的碳酸锂、碳酸氢钠(以酸值表示)和氯化钠对乳胶凝集反应的影响

稀释液	氯化钠 (克分子浓度)	pH (用 碳酸氢钠 调节)								
		10			9.5			9.0		
		碳酸锂 (克分子浓度)								
		0.15	0.1	0.05	0.15	0.1	0.05	0.15	0.1	0.05
正常人混合新鲜血清	0.2	-*	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.15	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
琼脂扩散甲胎蛋白阳性病人混合新鲜血清	0.2	+	+	+++	+	++	++	++	++	++
	0.15	+	++	++	+	++	+++	++	++	++
	0.1	±	+	++	+	+	++	++	++	+
	0	-	+	+	+	+	+	++	++	+
对照组 (无血清)	0.2	-	±	++	-	±	+	±	-	-
	0.15	-	±	++	-	-	+	±	±	±
	0.1	-	-	+	-	-	+	±	±	-
	0	-	-	+	-	-	+	±	±	-

血清经稀释液冲淡50倍, ■ 被选定的稀释液

血清经上述各种稀释液冲淡50倍,几乎都能使致敏乳胶产生凝集,凝集强度随着pH的下降和氯化钠浓度的增加而提高。这一现象与表2所示相同。在选择乳胶凝集反应条件时,如果只要考虑正常人和病人血清反应强度差别最大,那么有几种稀释液浓度可供选择。但在免疫反应中总希望在没有血清的对照组中亦不起反应。在pH9.0的一项内,不加血清的对照组的多次实验结果有些差异,因此选择pH9.5、锂离子和氯离子的克分子浓度分别为0.1和0.15

作为碳酸锂-碳酸氢钠-氯化钠稀释液的浓度。这里所选稀释液浓度是否完全没有抑制抗原-抗体反应的作用?我们用琼脂扩散法进行下列实验:将预热的高浓度巴比妥缓冲液或高浓度稀释液分别与高浓度的琼脂水溶液相混合,使巴比妥缓冲液的最后浓度与琼脂扩散法通常所用浓度相同(巴比妥缓冲液的离子强度为0.05, pH8.2),使稀释液的最后浓度为上述选择的浓度,琼脂的最后浓度都是1%。在琼脂板的洞穴中分别加入等体积的含0.1%牛血清白蛋白的不同浓度的纯甲胎蛋白,使它们与兔抗甲胎蛋白抗血清进行扩散。甲胎蛋白浓度在6微克/毫升以上时,两种扩散板上都出现沉淀线;纯抗原浓度为3微克/毫升时,巴比妥缓冲液的琼脂板上出现眉弯,稀释液的琼脂板上无任何沉淀线,纯抗原浓度为1.5微克/毫升时,两种琼脂板上都没有沉淀线。说明稀释液还有一些抑制抗原-抗体反应的作用,但其抑制作用已经很小了。

(三) 血清中大分子抑制乳胶凝集的作用

表3结果说明,致敏乳胶,与无血清的对照组中不同浓度的稀释液相遇时,有的出现明显的凝集反应;与不同浓度的稀释液冲淡50倍的正常人混合新鲜血清相遇时都不起凝集反应;与未经稀释的琼脂扩散为阳性的血清混合,有的反而呈阴性反应。推测这些差别是由于血清中存在抑制乳胶凝集的物质。将正常人混合新鲜血清在50%饱和度的硫酸铵中分成上清液和沉淀两部分,生理盐水透析、浓缩,再透析,至无硫酸根离子,测定蛋白浓度。用上述选定的稀释液冲淡10倍以上,分别加入一定量的纯抗原,再与致敏乳胶起反应。当上清液的蛋白浓度大于1.5毫克/毫升,就出现抑制现象(表4)。浓度愈大,抑制作用亦愈大。沉淀部分的蛋白浓度超过0.31毫克/毫升,亦产生抑制现象。说明血清中的确存在抑制乳胶凝集的物质,并且沉淀部分的抑制作用比上清液的大。根据正常人血清白蛋白和球蛋白的含量计算,血清稀释50—100倍,就可以几乎没有抑制作用。稀释倍数增加,乳胶凝集测定血清中甲胎蛋白的实

表4 血清中大分子物质对乳胶凝集反应的抑制作用

正常人血清(经50%饱和的硫酸铵处理)					
上清液部分			沉淀部分		
蛋白浓度 (毫克/毫升)	乳胶凝集反应		蛋白浓度 (毫克/毫升)	乳胶凝集反应	
	不加抗原	加入纯抗原 250毫微克/毫升		不加抗原	加入纯抗原 250毫微克/毫升
12	-	+	10	-	-
6	-	++	5	-	-
3	-	++	2.5	-	+
1.5	-	+++	1.25	-	++
0.75	-	+++	0.63	-	++
0.38	-	+++	0.31	-	+++
0	-	+++	0	-	+++

血清中,抽出乳胶凝集也为阳性的65例分别稀释10、50和100倍,再进行乳胶凝集反应。血清稀释50倍的阳性率为100%,稀释100倍的占95.4%,稀释10倍的只占66.7%。因此采用稀释50倍。

表5也说明在没有血清时,每毫升稀释液中含8毫微克以上的纯抗原就能使致敏乳胶凝集。所以乳胶凝集的敏感度是很高的。大量抗原存在时也不出现前带现象。还值得提出的是纯抗原经稀释液冲淡,引起致敏乳胶凝集所需的最低浓度比用水冲淡的要小10倍以上。

(五) 用指血测定

血清中有抑制乳胶凝集的大分子物质,红细胞是否起抑制作用?在正常人混合血清中加入等体积的、经生理盐水洗涤过的正常人“O”型红细胞,再按上述方法进行测定(加入不同浓度的纯抗原,稀释倍数按血清量计算),发现加入的红细胞不影响乳胶凝集。甲胎蛋白阳性病人的全血经离心去除上清液,再用生理盐水洗涤一次,沉淀的大量红细胞再用稀释液浸泡洗涤,此洗涤液与致敏乳胶不起反应,说明红细胞表面不吸附或只吸附极微量的甲胎蛋白。这启示我们可用全血来测定甲胎蛋白。实践证明(顾国彦等)^[4]用全血测定是可行的。由于血球较多,宜待全血凝固后再加入稀释液较好。即使血样蒸发至干涸,只要加入稀释液后,使蛋白质充分溶解,亦不会影响乳胶凝集反应的专一性和敏感度。

(六) 乳胶凝集反应时的条件

温度:乳胶凝集反应在30℃左右较好,温度过低,敏感度下降,甚至可以不起反应。

摇荡:为了增加血样中的甲胎蛋白与致敏乳胶颗粒接触的机会,玻璃板可在150次/分的振荡器中振荡。检测少量样本时手摇也行。

时间:摇荡时间超过10分钟并不会增加反应的灵敏度。而摇荡后放置一段时间(半小时内,不使反应液干涸)再观察,有些原来微弱的反应能较清楚地显示出来,但并不因此出现假阳性。

致敏乳胶的浓度:致敏乳胶与稀释的血清

实际灵敏度就下降。如果能设法除去这种抑制因素以减少稀释度,就可提高乳胶凝集的敏感度。我们曾用胰蛋白酶,或在稀释液中56℃处理血清,都未能收到效果,将血清在37℃中蒸发到接近干涸,再加稀释液,它的敏感度虽不减弱,也不增加。

(四) 血清的稀释倍数

正常人混合新鲜血清经选定的稀释液冲淡不同倍数后,再加不同量的纯抗原,与致敏乳胶起反应,发现稀释10倍的血清抑制作用最大(表5)。随着稀释倍数增加,抑制作用逐渐减小。稀释到100倍时,抑制作用已经很弱了。这一结果与上一节计算的结果很相符合。肝癌患者血清需稀释多少倍较好?我们从琼脂扩散或对流免疫电泳测得甲胎蛋白为阳性的病人新鲜

表5 用稀释液冲淡不同倍数的正常人血清对乳胶凝集反应灵敏度的影响

甲胎蛋白 (毫微克/毫升)	不加血清	正常人混合新鲜血清稀释倍数					
		10	20	40	60	80	100
2,000	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
1,000	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
500	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
250	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
125	+++	+	+	++	++	+++	+++
62.5	++	-	±	+	+	++	++
31.3	++	-	-	-	+	+	++
15.6	+	-	-	-	-	±	+
7.8	±	-	-	-	-	-	-
3.9	-	-	-	-	-	-	-
0	-	-	-	-	-	-	-

混合后,乳胶浓度在0.5%以上较好,浓度过低,灵敏度下降。

观察:弱的乳胶凝集反应,肉眼不能检出,要用低倍显微镜放大观察。

讨 论

(一) 关于乳胶自凝

纯化的抗血清致敏乳胶时,盐类浓度稍高就会使乳胶产生自凝(表1)。原因之一是盐类浓度增加,乳胶颗粒周围的扩散双电层变薄,有利于颗粒表面静电荷的相互吸引,促使乳胶自凝。盐类中氯化钠引起乳胶自凝的作用要比硼酸盐为强,这显然与盐类的性质有关。蛋白质引起乳胶自凝(实验结果第一节最后一段)亦与蛋白质的性质和浓度有关。至于乳胶浓度较高引起的自凝,与乳胶相互碰撞机会增多有关。致敏的乳胶在离心浓缩后先加水摇散,再加硼酸缓冲液也是这个道理。

(二) 稀释液的作用

乳胶的特异性凝集是由抗原-抗体反应引起的,乳胶的非特异性凝集是由静电荷以及蛋白质的疏水基团间的作用力等引起的。因此有可能找到抑制非特异性凝集而保存特异性凝集的物质。碳酸锂有强烈的抑制乳胶非特异性凝集的作用,甚至可抑制抗原-抗体的反应。其它锂盐没有抑制乳胶凝集的作用,而其它碳酸盐(如碳酸钠、碳酸钾)却有抑制作用。所以这种抑制作用可能是由于碳酸盐的pH值较高,或碳酸根吸附至乳胶颗粒上,改变了乳胶颗粒的电荷之故。降低稀释液的pH值(加入碳酸氢钠),或加入氯化钠都可减低碳酸锂的抑制作用,促使乳胶凝集(表2),这可能与缩小乳胶颗粒周围的扩散双电层有关。在乳胶凝集反应时,既需要一定的碳酸锂浓度抑制非特异性凝集,又需要一定的盐浓度促进抗原-抗体结合。因此乳胶凝集反应的专一性和灵敏度的关键之一在于选择适当的稀释液及其浓度。我们选择的稀释液还有一些抑制抗原-抗体反应的作用,这是为了减少或消除乳胶凝集可能出现的假阳性。

一般认为致敏乳胶时,抗体分子吸附至乳胶颗粒上去是物理作用,也就是说抗体分子的某些基团与乳胶颗粒相连很可能是随机的;而抗体分子上的活性中心位置却是固定的。因此抗体活性中心与乳胶颗粒表面的距离各不相同。乳胶悬液中的盐浓度低时,乳胶颗粒周围的扩散双电层增厚,吸附在乳胶颗粒上的抗体活性中心被掩盖的就多,与抗原决定簇接触的机会就少,乳胶凝集反应的灵敏度就低。反之,增加盐类的浓度,灵敏度就会增高。在碳酸锂溶液中加入碳酸氢钠和氯化钠,可以增加乳胶凝集反应的灵敏度就是例证。又如在选定的稀释液中,致敏乳胶与纯抗原起反应,产生凝集所需要的抗原最低浓度,要比在盐离子浓度很低的或在水中起反应产生凝集所需的低十倍以上,其部分原因亦是如此。Оловников(1967, 1969)提出红细胞聚合法,并应用它来测定甲胎蛋白。他对这一方法的解释是:铅笔样的抗体分子的一端与红细胞表面结合,而抗体活性中心又位于结合端的附近,由于空间的限制,抗原决定簇不能与抗体活性中心接触,红细胞不能聚合。他将抗体分子聚合起来,使抗体分子变成脚手架似的立体结构,再与红细胞结合,使之有利于和抗原反应,使红细胞聚合。在乳胶凝集或红细胞聚合中,乳胶或红细胞都是载体,Оловников的假说如果在红细胞聚合反应中确是那样的话,在乳胶凝集反应中可能是另一种情况;致敏乳胶时抗血清球蛋白不必先行聚合,致敏乳胶与抗原反应时,增加稀释液的盐类浓度,使扩散双电层变薄,利于凝集。

(三) 血清中的抑制和促进乳胶凝集的因素

致敏乳胶与纯抗原在稀释液中起反应时的灵敏度是很高的(表5中的对照组);在上述反应系统中,加入一定量的白蛋白或球蛋白,灵敏度便下降(表4);加入不同稀释度的正常人血清时,随着稀释倍数增加,蛋白含量减少,乳胶凝集反应灵敏度便随之增加(表5)。这些都说明有些蛋白质有阻碍乳胶凝集反应的作用。这种阻碍作用不大可能是由于血清中存在半抗原,

而很可能是由于这些分子妨碍了抗原-抗体分子间的接触。牛血清白蛋白、聚乙烯吡咯烷酮的“抑制”作用亦可能是这样。

血清中还可能促进非特异性凝集的因素。致敏乳胶遇到未经稀释的正常人血清会产生非特异性凝集,用生理盐水稀释的正常人血清亦能使乳胶产生非特异性凝集,说明血清中的盐离子可能就是这种因素之一,也可能还有一些促进凝集的大分子,经 DEAE 纤维素纯化得到的球蛋白致敏乳胶,能引起非特异性凝集就是例证。

碳酸锂-碳酸氢钠缓冲液可抑制非特异性凝集。碳酸钠-碳酸氢钠或碳酸钾-碳酸氢钠缓冲液亦有抑制非特异性凝集的作用,三者之中,那样更好?有待进行详细比较。碳酸盐缓冲液抑制乳胶非特异性凝集很可能是一个普遍的现象,有可能将它应用到其它乳胶凝集反应中去。

小 结

1. 本文介绍了乳胶凝集测定甲胎蛋白的方法。用碳酸锂-碳酸氢钠-氯化钠溶液稀释血液

(血清或全血),再与纯化的兔抗人甲胎蛋白抗血清致敏的乳胶起反应,可防止或减少非特异性凝集。可测出 1~2 微克/毫升血清甲胎蛋白。

2. 待测血样中既有抑制乳胶凝集的因素,又有促进乳胶凝集的因素。

3. 对乳胶凝集反应的原理,结合稀释液和血清中的抑制和促进因素进行了讨论。

本工作承上海市第六人民医院检验组、上海市生物制品研究所血源组、上海市第一医学院中山医院等单位,以及杨正洪、施渭康等同志大力协作,特此致谢。

参 考 资 料

- [1] 施渭康等:《上海实验生物所成果汇编》,1972年。
- [2] Гусев, А. И.: Бюлл. Экспер. Биол. Мед., 4, 120. 1969.
- [3] 上海市肿瘤防治研究协作组:《中华医学杂志》,1973年,第8期,第454页。
- [4] 顾国彦等:《肿瘤防治研究》,1974年,第2期,第22页。

[本文于 1976 年 4 月 9 日收到]

电离辐射对人血淋巴细胞转化能力的影响

苏州医学院卫生系第三教研组

电离辐射作用于机体,可以引起一系列变化,但究竟哪些变化是辐射损伤所特有的,而且在较小的辐照剂量即能产生反应,便于早期发现放射损伤,这是人们所关注的问题,是放射医学领域中的一个迫切需要解决的问题。在我们先前的实验中^[1,2]证实,X线照射后血细胞脱氧核糖核酸(DNA)减少,并随剂量增加而显著降低,这是由于DNA合成减少及分解加剧所造成。一般认为,DNA合成的变化是辐射损伤最敏感的指标之一。本实验就这方面进行探索,采用人血在体外分别接受X线和 γ 线照射后进行培养,用³H-胸腺嘧啶核苷作掺入DNA的

实验(以反映DNA合成→淋巴细胞转化),然后用液体闪烁计数器测量³H掺入的放射性,了解受照后剂量-效应的规律,以便进一步研究整体接受照射时所发生变化的规律性。

一、X线对人血淋巴细胞转化能力的影响

方法和结果

应用男性健康输血者血液,以肝素抗凝,置消毒小瓶内,进行X线照射。照射条件为:深部X线治疗机,电压140千伏,电流10毫安,表面焦距30厘米,滤片为3毫米铝,剂量率120伦