

对维持一个正常的基本 cAMP 水平所必需的蛋白质合成速率极度下降。鉴于以上的某种因素,就有可能造成有丝分裂期时 cAMP 水平的降低。

结 论

CHO 细胞周期各时相中 cAMP 含量的变化,一般来说,在M期时含量最低, G_1 期略有升高,进入 S 期时仍基本维持在此水平,而在 G_2 期时 cAMP 水平则较其它各期更高些。

参 考 文 献

[1] Abell, C. W. and Monahan, T. M.: *J. Cell. Biol.*,

59, 549, 1973.

[2] 张鸿卿、吴同乐《北京师范大学学报》, 8, 1981.

[3] Barranco, S. C. et al.: *Cell tissue Kinetic*, 10, 355, 1977.

[4] Sheppard J. R. et al.: *Exptl. Cell. Res.*, 75, 293, 1972.

[5] Burger, M. M. et al.: *Nature, (London). New. Biol.*, 239, 161, 1972.

[6] Zeilig, C. E. et al.: *Fed. Proc.*, 33, 1391, 1974.

[7] Millis, A. J. T. et al.: *Biochem. Biophys Res. Comm.*, 49, 1645, 1972.

[8] D. M. Prescott *Reproduction of Eukaryotic Cells* Academic Press. 1976.

[本文于 1982 年 12 月 10 日收到]

^{35}S 、 ^{75}Se 双示踪测量淬灭校正方法的研究

李 洞 王 德 全

(西安医学院核医学教研室)

^{75}Se 是发射多种能量 γ 射线的核素,利用井型晶体测量,可以获得较高的计数效率;但它的 γ 射线与闪烁液作用产生康普顿电子,在液闪测量中,也有相当的计数^[1]; ^{35}S 是纯 β 发射体,用液闪测量有很高的计数效率。 ^{35}S 、 ^{75}Se 双示踪测量,实际上属于 β - γ 双标记测量问题。早期的 β - γ 双标记测量方法,常为双管法或吸收片法^[2];近十多年,多采用井型晶体—液闪测量法,但常不进行淬灭校正^[3,4];只有个别作者提到用内标准源法进行淬灭校正^[5]。内标准源法用于双标记样品的淬灭校正,不仅操作和计算繁杂,而且准确度差^[6]。

本实验的目的,就是在我室已经建立的 ^{35}S 、 ^{75}Se 双示踪井型晶体—液闪测量法的基础上,建立一个简便、准确的 ^{35}S 、 ^{75}Se 双示踪测量淬灭校正方法,并对与此有关的问题,作进一步的探讨。

一、基本 原 理

由于 ^{35}S 、 ^{75}Se 分别在液闪和井型晶体测量条件下具有较高的计数效率,故将 ^{35}S 、 ^{75}Se 双标记样品在这两种条件下测量,利用解联立方程的方法,可以分别求得其放射性强度^[7]。设井型晶体测量时的 ^{35}S 、 ^{75}Se 计数效率分别为 $E_{w.s}$ 、 $E_{w.se}$,总计数率为 W ;液闪测量的效率分别为 $E_{L.s}$ 、 $E_{L.se}$,总计数率为 L ; ^{35}S 、 ^{75}Se 放射性强度分别为 S 、 Se (dpm),则

$$\begin{cases} E_{w.s} \cdot S + E_{w.se} \cdot Se = W \\ E_{L.s} \cdot S + E_{L.se} \cdot Se = L \end{cases} \quad (1)$$

若 ^{35}S 在井型晶体的韧致辐射计数不能测出(参见后文),即 $E_{w.s} = 0$ 则

$$\begin{cases} E_{w.se} \cdot Se = W \\ E_{L.s} \cdot S + E_{L.se} \cdot Se = L \end{cases} \quad (2)$$

在相对测量中,若淬灭程度不变,以 cpm 计,则 $W_{se} = E_{w.se} \cdot Se$, $L_s = E_{L.s} \cdot S$, L_{se}

$= E_{L,Se} \cdot Se$ 故

$$\begin{cases} W_{Se} = W \\ L_S + L_{Se} = L \end{cases} \quad (3)$$

在淬灭程度和测量条件均不变时, ^{75}Se 在两种测量仪器中的计数率之比是一个常数:

$$\frac{L_{Se}}{W_{Se}} = \frac{E_{L,Se} \cdot Se}{E_{W,Se} \cdot Se} = \frac{E_{L,Se}}{E_{W,Se}} = K \quad (4)$$

$$\therefore L_{Se} = K \cdot W_{Se}$$

$$\therefore \begin{cases} W_{Se} = W \\ L_S + K \cdot W_{Se} = L \\ K = \frac{L_{Se}}{W_{Se}} \end{cases} \quad (5)$$

此式是 ^{35}S 、 ^{75}Se 双标记井型晶体一液闪测量方法的基础。

当所测样品的淬灭程度不同时,若 ^{75}Se 在井型晶体的计数率不变(参见后文),即 $W_{Se\text{淬灭}} = W_{Se}$ 则

$$K_{\text{淬灭}} = \frac{L_{Se\text{淬灭}}}{W_{Se}} \quad (6)$$

设相对效率^[8]

$$E_{r,Se} = \frac{L_{Se\text{淬灭}}}{L_{Se}} \quad E_{r,S} = \frac{L_{S\text{淬灭}}}{L_S}$$

则

$$K_{\text{淬灭}} = \frac{L_{Se\text{淬灭}}}{W_{Se}} = \frac{L_{Se} \cdot E_{r,Se}}{W_{Se}} = K \cdot E_{r,Se} \quad (7)$$

即某一淬灭条件下的 $K_{\text{淬灭}}$ 值,可通过对 ^{75}Se 液闪相对效率 $E_{r,Se}$ 进行淬灭校正而求得。将(7)式代入(5)式,得

$$\begin{cases} W_{Se} = W \\ L_{S\text{淬灭}} + K_{\text{淬灭}} \cdot W_{Se} = L_{\text{淬灭}} \end{cases} \quad (8)$$

其中,

$$L_S = \frac{L_{S\text{淬灭}}}{E_{r,S}}; K_{\text{淬灭}} = K \cdot E_{r,Se}$$

在(8)式中, W 和 $L_{\text{淬灭}}$ 可由测量得到; $K_{\text{淬灭}}$ 和 $E_{r,S}$ 可由相应的淬灭校正曲线查知,故可求出无淬灭时的 ^{35}S 液闪计数率 L_{S0} 。

二、材料和方法

本实验分别用 Beckman LS-9000, FJ-2100, FJ-353 三种液闪谱仪和 $H^\#$ 、外道比、内道比(参见后文)三种淬灭指标进行了测量和淬

灭校正。井型晶体测量仪器均为 E_{kco} -N530G (井型晶体探头)。实验所用放射源 $\text{Na}_2^{35}\text{SO}_4$ 和 $\text{Na}_2^{75}\text{SeO}_3$ 系中国科学院原子能研究所产品; ^{14}C -正十六烷内标准源系上海原子核研究所产品;闪烁液均用 PPO-POPOP-甲苯(加助溶剂乙二醇乙醚) 5ml;淬灭剂用 CCl_4 或丙酮(均为分析纯)。

1. 淬灭校正曲线的制作 (1) 选择适当的计数条件;(2)制备 ^{75}Se 系列淬灭源,分别置于井型和液闪测量,求出不同淬灭程度的 $K_{\text{淬灭}}$ 值($K_{\text{淬灭}} = \frac{L_{Se\text{淬灭}}}{W_{Se}}$),绘制 $K_{\text{淬灭}}$ 校正曲线;(3)制备 ^{35}S 系列淬灭源,测量并绘制 $E_{r,S}$ 淬灭校正曲线。

2. 双标记模拟源的测量 分别制备淬灭程度不同、 $^{35}\text{S}/^{75}\text{Se}$ 强度比值相同和淬灭程度相同、 $^{35}\text{S}/^{75}\text{Se}$ 强度比值不同的模拟源;(1)分别在井型晶体和液闪测量,得到 W_{Se} 和 $L_{\text{淬灭}}$,以及淬灭指标的数值($H^\#$ 、外道比等);(2)按该样品的 $H^\#$ (外道比等)从 $K_{\text{淬灭}}$ 值校正曲线查出相应的 $K_{\text{淬灭}}$ 值,从 $E_{r,S}$ 校正曲线查出相应的 $E_{r,S}$;(3)按前述(8)式求出无淬灭时的 L_S (校正值);(4)将校正值与该样品中 ^{35}S 在未加 ^{75}Se 源和淬灭剂以前的液闪计数率(实测值)进行比较,求出校正值对实测值的相对误差。

三、结 果

1. Beckman LS-9000 的校正曲线和校正误差($H^\#$ 法)

图 1、图 2 分别是在该仪器上测量和制作的 $E_{r,S}$ 和 $K_{\text{淬灭}}$ 值校正曲线(不用自动淬灭补偿

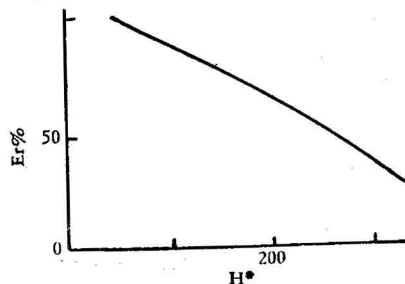


图 1 ^{35}S 淬灭校正曲线 ($\text{AQC} = 0$)

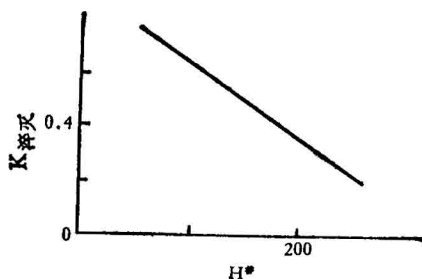


图2 ^{75}Se $K_{\text{淬灭}}$ 值校正曲线 ($\text{AQC} = 0$)

系统即 $\text{AQC} = 0$)

求得相应的三次拟合曲线为^[9]:

$$E_{r,s} = 1.1169 - 2.086 \times 10^{-3} \cdot H \\ + 1.9535 \times 10^{-6} \cdot H^2 - 8.8047 \\ \times 10^{-9} \cdot H^3$$

$$K_{\text{淬灭}} = 0.8917 - 1.7954 \times 10^{-3} \cdot H \\ - 9.8727 \times 10^{-6} \cdot H^2 + 2.838 \\ \times 10^{-8} \cdot H^3$$

$E_{r,s}$ 计算值与实测值的平均误差为1.16%，最大误差3.67%，相关指数 $R^2 = 0.9943$ ； $K_{\text{淬灭}}$ 的计算值与实测量平均误差1.24%，最大误差4.68% 相关指数 $R^2 = 0.9980$ ；已可满足实际需要。

图3、图4分别是在该仪器上测量 ^{35}S 、 ^{75}Se 双标记模拟源时，淬灭和 $^{35}\text{S}/^{75}\text{Se}$ 比值对 ^{35}S 校正误差的影响情况。 $E_{r,s}$ 和 $K_{\text{淬灭}}$ 均由校正曲线得到。图中实线为 $H^\#$ 法校正误差，虚线为内道比法校正误差，图4是半对数座标。

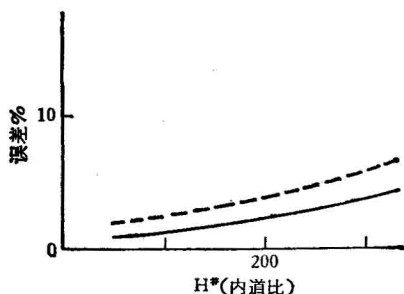


图3 淬灭对 ^{35}S 校正误差的影响 ($\text{AQC} = 0$)

结果表明：淬灭对 ^{35}S 校正误差的影响很小，当淬灭十分严重时 ($H^\# = 336 \text{ CCl}_4/200\mu\text{L}$)，校正误差仍小于10%； $^{35}\text{S}/^{75}\text{Se}$ 比值对误差影响

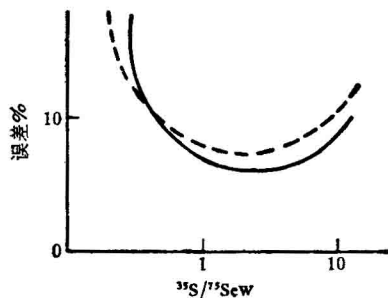


图4 $^{35}\text{S}/^{75}\text{Se}$ 对 ^{35}S 校正误差的影响 ($\text{AQC} = 0$)

较大，但在比值0.7—20范围内，校正误差平均为7.5%，最大误差11% (图4、半对数座标)。

2. FJ-2100 测量及校正结果(外道比法)

用该种液闪谱仪，以外道比值为淬灭指标对双标记模拟源测量和校正的结果表明：当淬灭剂 CCl_4 不超过 $70\mu\text{L}$ 时，平均误差4.5%，最大误差9.1%；在 $^{35}\text{S}/^{75}\text{Se}$ 强度比值在0.1—5范围内，校正误差平均为8%，最大误差13.2%。

3. FJ-353 测量及校正结果(内道比法)

在不具备外标准源的 FJ-353 仪器上测量时可以向样品中加入 ^{14}C -正十六烷或微量的 ^{35}S 强源求出它在两道计数率之比值(内道比)，代替外道比，按上述程序进行校正。在淬灭剂 CCl_4 不超过 $70\mu\text{L}$ 时，在 $^{35}\text{S}/^{75}\text{Se}$ 强度比值2—15范围内，平均校正误差5.2%，最大误差13.4%。为了验证这种淬灭指标的可靠性，在 Beckman LS-9000 上，用同一套模拟源进行了测量，发现内道比法与 $H^\#$ 法的适用范围和校正误差基本一致(参见图3、图4)。

总之，在不同的仪器上，选用不同的淬灭指标，运用本次建立的方法进行 ^{35}S 、 ^{75}Se 双示踪测量和淬灭校正， ^{35}S 校正误差一般可控制在10%以下，已可满足测量要求。

四、有关测量的几个问题

1. ^{35}S 、 ^{75}Se 液闪谱的分离

在 FJ-353 和 FJ-2100 液闪谱仪上，二者的谱峰不能分离，故不能直接采用常见的样品道比法或外标准源道比法进行 ^{35}S 、 ^{75}Se 双标记测量和淬灭校正，而只能采井型晶体—液闪测

量法和外道比法、内道比法进行淬灭校正。在 Beckman LS-9000 液闪谱仪上测量得到的 ^{35}S 、 ^{75}Se 液闪谱,在轻、中度淬灭条件下,无论是否采用 AQC,其谱峰均有一定程度分离;在重度淬灭下($120\mu\text{LCCl}_4$ 淬灭),无论是否采用 AQC,其谱峰均不能分离。

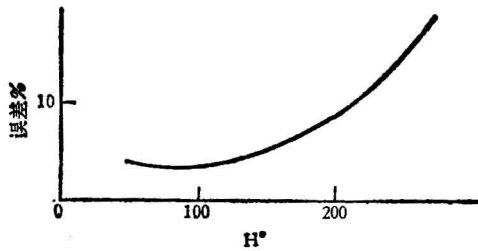


图 5 淬灭对 ^{35}S 校正误差的影响(AQC = 0)

图 5 是不用井型测量,而单独用 Beckman LS-9000 测量和校正 ^{35}S 、 ^{75}Se 双标记样品的结果。在 AQC = 0、 $\text{ch}_1 = 0-250$, $\text{ch}_2 = 250-700$ 、 $\text{H}^\# < 234$ ($\text{CCl}_4 80\mu\text{L}$) 条件下 ^{35}S 校正误差可保持在 10% 以下。考虑到 ^{75}Se 在 Beckman LS-9000 的计数效率为井型晶体的 76% 左右,故在样品淬灭不严重的情况下,可以用 Beckman LS-9000 一次完成 ^{35}S 、 ^{75}Se 双标记测量和淬灭校正。

2. ^{35}S 在井型晶体的韧致辐射计数

^{35}S 在井型晶体的韧致辐射计数^[10]与它在液闪的计数呈线性相关。用 FJ-353 和 $E_{\text{KCO}}-\text{N}_{530}\text{G}$ 井型晶体分别测量同样强度样品,求得无淬灭时的直线回归方程为 $y = 0.00007153 \cdot x - 6$ 由方程求出当 ^{35}S 液闪 cpm 达到 83916 时,其井型 cpm = 0。实际上, ^{35}S 液闪 cpm 达 $3-5 \times 10^6$ 时,其井型韧致辐射仍不能测出。一般生物样品中 ^{35}S 强度远远低于此值,故对 ^{35}S 在井型晶体的韧致辐射计数可不予考虑。

3. 内标准源道比法

本实验建立的内标准源道比法,操作过程与内标准源法相同,但对内标准源,只要求不含有淬灭物质;故能谱不同、半衰期较短的同位素

也可采用。本法又具有道比法的特点,以内标准源的道比值作为淬灭指标,故对淬灭比较严重的样品,要适当提高内标准源的放射性强度,并注意道的选择,使在两道均有足够的计数率,以减少测量误差。

4. 样品体积和淬灭剂对井型晶体计数的影响

用 $E_{\text{KCO}}-\text{N}_{530}\text{G}$ 井型晶体测量 ^{75}Se 源,求得相对效率与样品体积的线性回归方程为 $y = 1.0098 - 0.0693 \cdot x$ 由方程求得体积为 1ml 时的相对效率为 0.1ml 时的 94.05%。分别用水、闪烁液、丙酮作溶剂,其相对效率下降情况基本一致,故在实际测量中,可以认为上述低密度物质和淬灭剂,对 ^{75}Se 井型晶体计数无影响,而只需注意样品体积不要超过 1ml,并保持各个样品体积的一致性。

根据以上实验结果,可以认为:采用上述的井型晶体—液闪测量和 $\text{H}^\#$ 淬灭校正方法,进行 ^{35}S 、 ^{75}Se 双示踪测量,手续比较简便,结果较为准确。如不具备 $\text{H}^\#$ 校正条件,也可采用外道比法或内标准源道比法进行淬灭校正。

参 考 文 献

- [1] Spencer R. P. et al.: *Science*, **136**, 2, 155, 1962.
- [2] 潘中允等:《原子能》, **5**, 434, 1964。
- [3] 章净霞等:《西安医学院学报》, **1**, 16, 1980。
- [4] Nelp W. B. et al.: *J. of Nuclear Medicine*, **6**(11) 822, 1965.
- [5] Galambos J. T. et al.: *Biochim. Biophys. Acta*, **83** (2) 204, 1964.
- [6] 中国医学科学院第七研究室,《同位素技术及其在生物医学中的应用》,科学出版社,1977。
- [7] 同上。
- [8] 中国科学院生物物理研究所编译组:《液体闪烁计数及其在生物学中的应用》,科学出版社 1979。
- [9] Society for Analytical Chemistry: *Liquid Scintillation Counting Vol. 3*, Brighton, M. A. Crook and P. Johnson London, Heyden, 89, 1974.
- [10] Woodard H. Q et al.: *J. of Nucl. Med.*, **17**(4)285, 1976.

[本文于 1983 年 1 月 3 日收到]