

# 氚作为生物示踪剂的特征

王世真

(中国医学科学院分院)

## 一、氚的物理性质

现将有关氚的一些有用数据列于表1。

表1 氚的物理性质

|                                             |                                        |
|---------------------------------------------|----------------------------------------|
| 质量                                          | 3                                      |
| 半衰期                                         | 12.35 年                                |
| 生产方式                                        | ${}^6\text{Li}(n, \alpha){}^3\text{H}$ |
| 射线                                          | $\beta(100\%)$                         |
| 衰变产物                                        | ${}^3\text{He}$                        |
| 衰变常数                                        | $1.801 \times 10^{-9}/\text{秒}$        |
| 最高 $\beta$ 能量                               | 18.6 千电子伏                              |
| 平均 $\beta$ 能量                               | 5.7 千电子伏                               |
| 高于17 千电子伏的 $\beta$ 线                        | 0.05%                                  |
| 最高比放射性                                      | 29.12 居里/毫克原子                          |
| 每克分子居里数                                     | $5.8 \times 10^4$                      |
| 每毫居里原子数                                     | $2.07 \times 10^{16}$                  |
| 氚原子直径                                       | 约1.1 埃                                 |
| 离解能量, $\text{T}_2 \rightarrow 2\text{T}$    | 4.59 电子伏                               |
| 电离能量, $\text{T} \rightarrow \text{T}^+ + e$ | 13.55 电子伏                              |
| 打开 C-T 键所需的能量                               | 3.858 电子伏/分子(打开 C-H 键则需3.793电子伏/分子)    |
| 标准状态下1居里氚气的体积                               | 0.385 毫升                               |
| $\beta$ 粒子:                                 |                                        |
| 在空气中的射程                                     | 4.5—6 毫米                               |
| 最高穿透本领                                      | 0.6 毫克/平方厘米                            |
| 半值厚度                                        | 0.039 毫克/平方厘米, 0.1 微米 Al.              |
| 自吸收系数(1/微米)                                 | 0.0560 毫克/平方厘米                         |
| 水中初致辐射能量                                    | $2.5 \times 10^{-4}$ 千电子伏              |
| 1 毫居里在人体(70 公斤)内产生的剂量                       | 0.0044 雷姆/天                            |

## 二、氚的优点

### 1. 所有生命物质都含氢

绝大部分有机化合物都是由 H、C 和 O 所组成。氧一共有三种放射性同位素:  ${}^{14}\text{O}$  及  ${}^{15}\text{O}$  均为正电子发射体, 其半衰期分别为 76.5 秒及 118 秒,  ${}^{18}\text{O}$  发射半衰期为 29 秒的  $\beta$  射线。从示踪要求来看, 任何一种氧的放射性同位素都没有合适的半衰期, 因而都没有使用价值。所以, 在生物化学和化学的示踪研究中, 最有用和最常用的同位素只有氢和碳的同位素。氚(T)是氢的唯一的有实用意义的放射性同位素;  ${}^4\text{H}$  非常不稳定, 而  ${}^3\text{H}$  的半衰期只有 0.1 秒。

T 也比氘(D)更好。为了获得足够的探测灵敏度, 在采用 D 时, 必须加大同位素用量, 因而有可能扰乱正常代谢途径。对于 T, 则可以使用真正示踪量, 在完全生理状态下进行生物实验。

### 2. T 比较便宜

按每毫居里原料的价格计算, T( ${}^3\text{H}_2$ ) 比  ${}^{14}\text{C}$  ( $\text{Ba}^{14}\text{CO}_3$ ) 低 3750 倍。按标记物的价格计算, T 化合物比相应的  ${}^{14}\text{C}$  化合物低 50—1000 倍。

### 3. 半衰期很适用

T 的半衰期约为 12.3 年。这么长的物理半衰期对化学实验或生物实验来说都相当方便, 操作中不会有赶时间的困难。根据国际辐射防护委员会(ICRP)的报告, 人体 T 水的生物半衰期为 10 天。但在气温较高, 饮水较多(每天 4.1 升)的情况下, T 水的生物半衰期可能少到 6.5 天以内。一次饮入 100 微居里 T 水的牛, 以约为 4 天的半衰期排出 T。喂以含 T 夜光粉的大鼠, 和注入 T 水的大鼠一样, 其生物半衰期

均为 $3.9 \pm 0.4$ 天。T的有效半衰期当然就更小得多。这样，T不至于有长期贮留在体内的危险。

#### 4. 比放射性很高

纯T的比放射性约为29居里/毫克原子，而纯 $^{14}\text{C}$ 的比放射性只有64毫居里/毫克原子左右。目前无载体的T气和T水都不难得到。一般供应的T标记化合物，常可达到每毫克分子几个居里，甚至几十居里的高比放射性。这对于研究许多微量存在的、具有高生理活性的成份，包括激素、维生素、药物等等，是十分有用的。举例说，如欲测定血液中皮质醇或醛固酮的含量，T标记物就比相应的 $^{14}\text{C}$ 标记物方便得多，灵敏得多。在很多情况下，或由于生理剂量太小，或由于体内稀释度太大，只有高比放射性的T标记物才能达到实验的目的。

#### 5. T标记比较容易进行

T可以很容易地引入到任何有机分子中去。标记的方法包括化学交换、化学合成、生物合成、反冲标记等。化学合成可以采用还原不饱和化合物或还原卤化物等通用的方法，一般不象 $^{14}\text{C}$ 的化学合成那么复杂。特别是化学交换反应，更是 $^{14}\text{C}$ 标记所不易办到的。

交换标记中，有一种所谓气体曝射法。待标记的化合物只要放置于T气中，经过数天或数周的曝射，就会引起化合物与T气之间氢原子的交换。T气起了双重的作用，其 $\beta$ 粒子激活了T气或化合物的分子，这就促进了分子中的氢与气体T的交换。T化的产物需要进一步提纯，过剩的T可以回收。不少很难用或不能用化学合成来制备的抗菌素（如四环素、新霉素）、激素（如胰岛素、促性腺激素）、酶（如核糖核酸酶、溶菌酶）、生物高分子（如透明质酸、 $\gamma$ 球蛋白）等天然物质都曾用过这种方法制成T化产品，而且还保持着很高的生物活性。

T标记方法的简单和多样化，正象T价格的低廉和T探测效率的提高一样，也成为推动T的示踪应用的有利条件。

#### 6. 能量低，射程短

在人工放射性元素中，T的 $\beta$ 能量是最低的。T $\beta$ 粒子的最高能量只有18.6个电子伏。这

意味着，即使有极薄的窗，这种粒子也不太可能透过。更重要的是，任何T样品，不论铺到多么薄，都会吸收掉本身所放出的 $\beta$ 能量的绝大部分。但是，液体闪烁计数和气体计数两种测量技术，都能够有效地克服上述困难。液体闪烁系统能够测出少至25微微居里的T。

低能量，在生物示踪应用中，甚至还是一个明显的优点。T软 $\beta$ 粒子的平均能量只有5.7个电子伏。T射线在衰变核周围半径不超过几微米的球形体积内全部被吸收。在组织中，T $\beta$ 粒子能量的90%都释放到半径为半微米的小球之内。在乳胶中，0.8微米的距离内 $\beta$ 粒子流就下降到1%。用于代谢研究的任何其他同位素都不可能有这么小的射程。这样，在放射自显影中，用T标记的前身做实验，就能得到极高的分辨率。在显微镜下或电子显微镜下，不但单独的细胞能够区别开来，而且还可以十分满意地在亚细胞水平实现生物样品中T的定位。通过这种方法，可以追踪染色体分裂这样的细致动态过程。

#### 7. 毒性很小

由于T的低能量，组织从每毫居里T所接受的放射性，远小于从每毫居里 $^{14}\text{C}$ 所接受者。1毫居里T，如果在60公斤重的人体内平均分布，将产生每天0.0038rep（等能仑，或物理当量仑）的剂量；而1毫居里 $^{14}\text{C}$ 则产生0.033rep左右。

关于T的毒性，以后还要讨论。

8. 含T样品很容易转变为便于计数的形式（包括T水，T气或T代甲烷等）

#### 9. 在双标记实验中，T也很有用

既然所有生物及有机物都含H及C，上面已经提到，此两种元素的放射性同位素对于追踪代谢过程是非常重要的。在同一实验条件下，同时使用T及 $^{14}\text{C}$ 标记的代谢物，更大大扩充了在各类研究领域中示踪方法的应用价值。

T及 $^{14}\text{C}$ 的双标记实验之所以易于进行，就在于这两种同位素的能量有相当大的差别，因而有可能在液体闪烁谱仪中选择不同的道来测定同一样品中T及 $^{14}\text{C}$ 的含量。

T 及  $^{14}\text{C}$  的双标记实验,能够解决很多单标记示踪所不易解决或不能解决的问题。现举几个例子来说明。如给动物注射 T-胆固醇,可以以此外源胆固醇研究动物体内胆固醇的代谢库、半减期、代谢产物、代谢途径、更新率、更新时间等等。如给同一动物注射  $^{14}\text{C}$ -乙酸,此标记乙酸将迅速转变为体内新生的标记胆固醇,而  $^{14}\text{C}$ -胆固醇随着时间的增长则反映内源胆固醇的生长速度。在适当设计的双标记实验中,可以在同一动物体内观察胆固醇生成与分解(或排出)之间的相互关系,以及某些外加因素(如膳食、激素、药物、手术、照射等)对体内胆固醇平衡的影响。

人尿中醛固酮的含量是肾上腺皮质瘤等疾病的灵敏诊断指标。醛固酮的含量极小,用一般化学方法是测不出来的。如果取几毫升的人尿,用 T-乙醇处理,把尿中的醛固酮变成其标记乙醇衍生物,然后将此衍生物提纯分离,并测定其放射性,就可以测得醛固酮的多少。但是,困难在于,提纯步骤较繁,又是微量操作,待测物质不免有所损失。此时,只要在测定实验中加入一定量  $^{14}\text{C}$  标记的乙酰醛固酮,测定产品中  $^{14}\text{C}$  的回收率,就可以校正分析、提纯过程中的损失。这种分析方法,叫做双同位素衍生物分析法,它可以在不定量分离的情况下达到定量测定的目的。用此方法,可以准确测定 0.01 微克的醛固酮。

在蛋氨酸的甲基用 T 及  $^{14}\text{C}$  标记的转甲基实验中,T/ $^{14}\text{C}$  比值在动物组织分出的胆碱中和蛋氨酸中一样,这证明了这种转甲基反应中甲基是作为整体而转移的,转移过程没有产生甲基的氧化等变化。

标记的胆固醇在人和动物体内会转变为胆酸,这是很容易用示踪实验来证明的。可是,这里存在着两种可能性:(1)胆固醇的母核没有改变,这固醇确实是胆酸的直接前身。(2)胆固醇可能先分解成为小分子(如乙酸,甚至  $\text{CO}_2$  及水),然后小分子又合成了胆酸这样的大分子。这两种可能性可以有几种方法来区分,其中很方便的一种就是使用了胆固醇-(4- $^{14}\text{C}$ )-(7 $\beta$ -T)。

双标记前身的两种同位素都大量保留在产物的分子中,而且比值基本不变,说明只有上述第一种可能性才符合客观实际。

有时在研究某一种药物时,我们需要比较不同给药途径或不同剂型会产生什么不同的效果。如果手边只有一种示踪剂,而两种不同情况所引起的差别又不太大,则需要分组观察大批动物,才能得到统计学上有意义的结果。反之,双标记实验中,每一只动物既属于实验组,又是自身的对照组,大部分难以控制的个体差异与其它变异因素都消除了,只要通过少数动物就可得到可靠的比较结果,从而大量节省了人力、物力与时间。

其它实验研究,如细胞或组织内外的分子双向转移、消化道吸收与分泌的关系、分子不同部位的代谢转变、两种不同代谢物在代谢中的相互关系、以及同一代谢物在不同代谢库中的转移速度或转变速度等等,无不通过双标记实验而大幅度地丰富了人们的认识。

### 三、氟的应用

氟在生物医学中的应用极其广泛。此处不拟列举具体的例子,仅将应用范围列于表 2。

表 2 氟在生物医学中的应用

|                     |
|---------------------|
| 1. 科学研究             |
| (1) 代谢研究            |
| (2) 细胞学及放射自显影       |
| (3) 酶的放射化学测定及酶的作用机制 |
| (4) 氢的转移反应          |
| (5) 农业示踪应用          |
| 2. 临床医学             |
| (1) 诊断              |
| (2) 药理研究            |
| (3) 实验性放射治疗         |

### 四、氟化合物的特殊问题

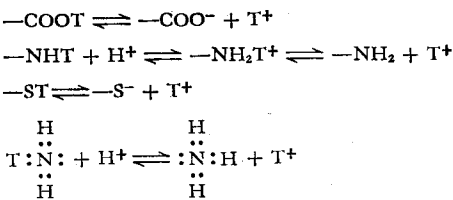
尽管 T 的应用有许多优点,事物总是一分为二的, T 实验中也会遇到一些用其他同位素时所少有的特殊问题。例如,我们往往没有把

握确切知道，T 会不会按我们所希望那样在某一反应的始终都牢固地不从分子上掉下来。T 已标记在化学稳定位置的某一种分子，有时却会在人们未必认识的代谢过程中丧失了它的标记。一个标记物，虽然收货时原是放射化学纯品，在实验之前，放置期间，竟部分分解了。甚至很少量的高比放射性分解产物，颇有可能毁坏了整个实验的结果。研究工作者又须注意到同位素效应。T 的质量三倍于氢。这种原子量上的差别可能引起标记分子与非标记分子之间在反应速度上的差别，以至于反应产物的比放射性不一定能代表被示踪分子的反应速度。此外，T 如聚集在细胞核内，高度选择性地照射，将使剂量估计相当困难。下面拟分别扼要讨论这些问题。

### 1. 标记氚原子的稳定性

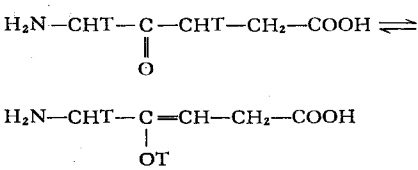
T 标记大致可以分成 4 类：(1) 在中性条件下很容易与带羟基的溶剂交换，往往在室温下便立即交换。这类是“不稳定”T，常指连接于 N、O 或 S 原子的 T；(2) 在任何 pH 及温度下都不交换，只有在化学或生化转氢接触剂存在的情况下才能与带羟基的溶剂交换。这类是“稳定”T；(3) 一般认为“稳定”，但在一定的 pH 及温度条件下能与带羟基溶剂的氢进行交换。这类称为“对酸不稳定”T 或“对碱不稳定”T。交换速度随溶液的 pH 及温度而异，一般随温度的升高而加大；(4) 在生物系统中不稳定的 T 原子，称为“生物不稳定”T。这类 T 原子在化学处理中可以是相当稳定的。

直接与氧、氮或硫原子相结合的氚原子(如  $-OT$ 、 $-COOT$ 、 $-NHT$ 、 $=NT$ 、 $-ST$ )是不稳定的，都会迅速与水中的氢离子交换。这首先是因为这类氚原子带有酸性或碱性。其次，与氚相连接的原子具有自由电子对，易于质子化，因而也易于引起氢同位素交换。

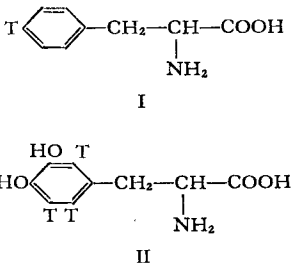


用非定位标记方法制成的 T 标记产品，必须先用带羟基的溶剂(如水、乙醇)处理，以除去“不稳定”T，保证示踪实验中标记的可靠性。作为检查方法，应将用于处理产品的溶剂蒸馏出来，并测定蒸馏液的放射性；这要比直接测定标记产品比放射性的改变更灵敏得多。

脂肪族化合物的 T 原子，一般在所有 pH 条件下都是牢固结合着的。只有处于能够烯醇化位置的 T，才是不稳定的，在碱性溶液中尤其如此。5-氨基-乙酰丙酸-3,5-T 便是一个例子。



芳香环上的 T 原子，一般也是稳定的，除非环上带有亲核基团。苯酚对位与邻位上的 T，会迅速与水交换。L-苯丙氨酸-4-T(I)及 L-DOPA-2,5,6-T(II) 上的 T，在稳定程度上，也有显著的区别。



在稀水溶液中某些化合物的 T 交换情况如表 3。

表 3 在 2°C 稀水溶液中化合物的 T 交换

| 化 合 物                 | 比放射性<br>(居里/毫克分子) | 贮藏时间<br>(周) | 不稳定 T<br>(%) |
|-----------------------|-------------------|-------------|--------------|
| L-丙氨酸-T(G)            | 0.17              | 75          | <1           |
| L-亮氨酸-4,5-T           | 1.0               | 25          | 1            |
| 5-氨基-乙酰丙酸-3,5-T       | 2.5               | 30          | 20           |
| L-苯丙氨酸-4-T            | 1.0               | 21          | 2            |
| L-3,4-二羟-苯丙氨酸-2,5,6-T | 34.7              | 11          | 15           |
| L-酪氨酸-(侧链-2,3-T)      | 3.6               | 30          | <1           |

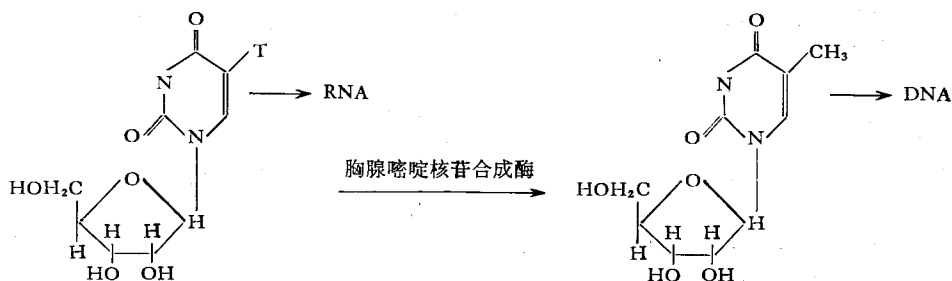


图1 尿嘧啶核苷-5-T 作为 RNA 的特异性前身

在 T 的示踪应用中,最困难的问题牵涉到上述(3)及(4)两类化合物。一种放射化学纯而又稳定的化合物,在生物系统中不一定也呈现相应的稳定性。化学上不易交换的氢,如 C-H 链上的氢,仍有可能在生物反应中变成不稳定的。事实上,生物合成正是利用了这种生物不稳定性才能完成氘化作用。 $\alpha$  标记的氨基酸,可能通过氨基氧化酶催化的生物氧化,而丢失 T。胸腺嘧啶 5 位上的 T,在嘧啶环被胸腺嘧啶核苷合成酶甲基化时丢失。此外,此第 5 位上的 T,在从组织分离出两种核酸的热酸处理过程中,也易丢失。对于这些情况,尿嘧啶环上 6 位的 T,却是稳定的。

由此可见,分子由 T 原子的稳定性,既与标记位置有关,也决定于使用该化合物的具体实验情况。生物不稳定性不太容易预料,但可以通过在实际使用情况的直接实验而获得一些线索。这是目前值得推荐的唯一途径。用于证明放射示踪稳定性的实验方法,有下列几种:

(1) 实验之后,回收的化合物保留着与实验前同样的比放射性。当然,此法只限于不会被内源合成所稀释的化合物,如 T 标记的药物。即使分离出来的是所用标记物的代谢产物,后者的比放射性(按每克分子的放射性计)也应当与原标记物一致。

(2) 用相应的  $^{14}\text{C}$  标记物代替 T 标记物,在相同条件下进行实验,前后实验数据应当一致。

(3) 用 T 标记物与相应  $^{14}\text{C}$  标记物的混合物进行双标记实验。原用标记物和实验后分出的代谢物应当具有相同的 T/ $^{14}\text{C}$  比值。

(4) 从实验动物尿蒸馏出来的水,应当不含 T。由于生物系统是水溶液系统,只要有不

稳定的 T 原子存在,就一定会与体内水中的氢进行交换。

进行上述实验时,必须注意到,许多代谢功能会随着单细胞,组织器官及整体动物的周期性变化而改变,也会因每天的不同时间、动物的不同年龄、不同基础代谢状态、不同脂肪含量、不同的水含量等等而有所不同。因此在采用以上第 2 种方法时,特别应该尽可能进行严格的平行实验。

也值得指出,在某些 pH 及温度条件下不稳定的 T 标记物,也不一定绝对不能应用于示踪实验。有时这种标记物,在有小心对照的实验中,仍有可能产生有用的结果。例如,接受了苯甲酸及不十分稳定的氘化甘氨酸之后,小鼠即从尿中排出含 D 马尿酸,从而证实了甘氨酸的这种代谢途径。氘化氨基酸的代谢,也和氘化氨基酸近似。

## 2. 辐射分解及保藏条件

放射性标记化合物在贮藏过程中会逐渐分解。

在电离辐射( $\alpha$ 、 $\beta$  及  $\gamma$  线)作用下,有机化合物会产生化学变化,包括碎裂、聚合及异构化。至于为什么标记化合物会进行辐射自分解,是不难理解的: 辐射能或被化合物本身所吸收,或被周围环境所吸收。标记物吸收能量时,所产生的激活分子可能以某种方式分解。环境吸收能量时,自由基或其他活性中间物都可能出现,这些更会引起标记分子的破坏(表 4)。水在电离辐射作用下,会分解而生成  $\text{H}$ 、 $\text{OH}$ 、 $\text{H}_2\text{O}_2$ 、 $\text{e}^-$ 、 $\text{H}_2$ 、 $\text{OH}^-$ 、 $\text{H}^+$ 、 $\text{HO}_2^-$  等中间物,其中以  $\text{OH}$  自由基的破坏性为最大。

对于 T 的化合物,同位素释放的  $\beta$  能量几

表 4 标记化合物的分解方式

| 分解方式   | 原 因                                        | 控 制 方 法           |
|--------|--------------------------------------------|-------------------|
| 初级(内部) | 天然同位素衰变                                    | 不存在               |
| 初级(外部) | $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$ 射线直接作用于化合物分子 | 分散标记分子            |
| 次 级    | 激活产物与化合物分子的相互作用                            | 分散活性分子; 降温; 清除自由基 |
| 化 学    | 化合物的热力学不稳定性; 环境不良                          | 降温; 除去有害因素        |

乎完全被吸收, 而且标记物的比放射性可以达到极高的程度, 以致其辐射自分解远较其他放射性同位素的标记物更难于控制。

标记物的各种分解方式中, 次级分解往往具有最大的破坏性, 也最难于控制。这种分解对于环境条件的微小改变也最敏感。加入苯醇或半胱胺, 可以清除自由基。其他自由基清除剂包括甲酸钠、甘油、抗坏血酸、乙醇及巯乙醇。加入惰性溶剂(如苯), 引起稀释(图 2), 可降低自由基遇到标记分子的机会, 也可把标记分子彼此分开, 以降低  $\beta$  粒子直接作用于标记分子的机会。其他常用的溶剂还有乙醇、水及甲苯。一般而言, 有机化合物在低温下分解得较少。但是, 如果 T 化合物和溶剂一起保存于低温, 特别在减压封管的情况下, 溶剂有可能升华到管的一端, 而使标记物浓集成一团。在低温, T 标记物也有结晶出来的可能性。但在  $-196^{\circ}\text{C}$ (液氮), T 标记物都较稳定, 很可能此时自由基与溶质的作用最小, 甚至消失了。如果不便将封装标记物的安瓿直接浸泡在液氮之中; 将安瓿悬挂在液氮上面的蒸气( $-140^{\circ}\text{C}$ )对于减低辐射自分解, 也是很满意的。

每毫居里 T 每天蜕变  $3.7 \times 10^7 \times 3600 \times$

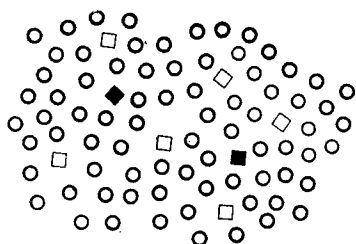


图 2 用稀释剂降低放射性浓度

24, 即  $3.2 \times 10^{12}$  次。T  $\beta$  粒子的平均能量为  $5.7 \times 10^3$  电子伏, 因此, 每毫居里 T 每天释放的总能量为  $3.2 \times 5.7 \times 10^{15}$  电子伏, 即  $1.82 \times 10^{16}$  电子伏。

为了表达辐射分解的程度, 需要有一个单位。 $G(-M)$  代表某一物质每吸收 100 电子伏能量所分解的分子数。 $G(-M)$  是实验测得的。固态的 T 标记物所释放的全部能量都被吸收, 对于比放射性为 S 毫居里/毫克分子的 T 化合物, 每天每毫克分子吸收的能量应为  $1.82 \times 10^{16} S$  电子伏。每毫克分子具有  $6.02 \times 10^{20}$  个分子, 所以任何一种 T 标记物每毫克分子每天分解的 % = Pd

$$= \frac{G(-M) \times 1.82 \times 10^{16} \times S}{100 \times 6.02 \times 10^{20}} \times 100$$

或  $\text{Pd} = 3.0 \times 10^{-5} G(-M) S$   
 每年分解的 % = Pd =  $1.1 \times 10^{-2} G(-M) S$ 。

也就是说, 如果尽量减小或排除由于标记分子内在不稳定性所引起的分解, 以及该分子与溶剂、气体或贮藏容器之间的相互作用, 那么分解的程度主要依赖于化合物的比放射性。值得指出, 在对不同化合物进行比较时, 必须考虑每毫克分子的毫居里数, 而不是每毫克的毫居里数。

在电离辐射作用下, 有机化合物分解后的一个主要产物是氢气。有时也用氢气的生成量来表达辐射分解的程度:  $G(-\text{H}_2)$  为某一物质每吸收 100 电子伏能量所生成的  $\text{H}_2$  分子数。

为了保证 T 示踪实验的可靠性, 必须经常检查所用的标记物是否放射化学纯, 或是否含有放射性杂质(表 5)。最方便的测定放射化学纯度的方法, 就是采用纸层析法, 具体条件则因化合物种类而异, 此处不一一列举了。

同样重要的是, 必须采取最适宜的贮藏条件。T-胸腺嘧啶核苷是十分常用的一种 T 示踪剂。现姑且以它为例来说明。这种标记核苷, 如以水溶液状态贮藏, 在  $-196^{\circ}\text{C}$  分解最少。加入半胱胺, 在  $0^{\circ}\text{C}$  也同样能保持很低的分解速度。加入甘油, 也得到同样效果。此核苷水

表 5 T 化合物的自分解

| 化 合 物      | 比放射性<br>(毫居里/<br>毫克分子) | 浓 度<br>(毫居里/<br>毫升) | G(-M) | 贮藏条件      | 时 间<br>(月) | 温 度<br>(°C) | 放射化学<br>纯 度<br>(%) | 破 坏<br>(%) |
|------------|------------------------|---------------------|-------|-----------|------------|-------------|--------------------|------------|
| 皮质醇-1,2-T  | 4,530                  |                     | 1.1   |           | 6          | 0           |                    | 24         |
|            | 4,530                  |                     | 1.4   |           | 6          | -25         |                    | 29         |
|            | 2,000                  | 1.6                 | 0.7   | 苯-甲醇(1:1) | 4          | 0           |                    | 5          |
|            | 2,000                  | 1.6                 | 1.1   | ”         | 6          | -20         |                    | 12         |
| 胸腺嘧啶核苷-6-T | 4,400                  |                     |       | 水溶液       | 10         | 室温          | 100                |            |
|            | 4,400                  |                     |       | ”         | 1          | -40         | 95                 |            |
|            | 14,100                 |                     |       | ”         | 1.5        | -40         | 90                 |            |
|            | 14,100                 |                     |       | ”         | 3.5        | 室温          | 100                |            |
|            | 3,000                  | 1                   | 1.5   | ”         | 6          | +2          |                    | 22         |
|            | 3,000                  | 1                   | 0.05  | 水溶液+1%苯醇  | 6          | +2          |                    | 13         |
|            |                        |                     |       |           |            |             |                    |            |

溶液在  $-20^{\circ}$  或  $-40^{\circ}\text{C}$  的分解速度,反比在  $0^{\circ}\text{C}$  更大。一种解释是,在  $-20^{\circ}$  及  $-40^{\circ}$  自由基的寿命延长了;但在  $-196^{\circ}$  自由基不能与核苷起作用。当比放射性为 2.5 居里/毫克分子、浓度为 6 毫居里/毫升时,T-胸腺嘧啶核苷在  $0^{\circ}\text{C}$  不加保护剂的分解速度约为每月 1%。在室温的分解速度也不高;但此时有被细菌污染的危险,故仍以低温保存为宜。

一般说,大多数 T 化合物最适宜的保藏条件是在低于室温的温度下置于适当溶剂之中,而不是在固体状态。化合物可用苯醇或半胱胺等去除自由基的试剂进一步保护。在  $-40^{\circ}\text{C}$  贮藏,往往并不优于  $0^{\circ}\text{C}$ 。如有可能在  $-196^{\circ}\text{C}$  贮藏,分解能够降到最低限度。需要避免细菌污染。也尽量避免曝露于强光之下,或受到紫外线的照射。不要忘记,溶液中通常只有几个微克的标记化合物。

对于不同种类的 T 化合物,最适宜的贮藏条件不尽相同。现将几类化合物常用的贮藏条件归纳如下:

(1) 氨基酸 低比放射性产品:冷冻干燥固体,  $+2^{\circ}\text{C}$  或更低的温度。高比放射性产品:水溶液(有时含有不超过 2% 的乙醇),  $+2^{\circ}\text{C}$ , 最高浓度为 1 毫居里/毫升。

(2) 糖类及核苷 水溶液(有时含有不超过 10% 的乙醇),  $+2^{\circ}\text{C}$ , 最高浓度为 1 毫居里/毫升。

(3) 核苷酸 乙醇-水溶液(1:1),  $-20^{\circ}\text{C}$ ,

最高浓度为 1 毫居里/毫升。

(4) 类固醇 一般在含乙醇的苯溶液中,  $+2^{\circ}\text{C}$  或  $+20^{\circ}\text{C}$ ; 不稳定类固醇,  $-140^{\circ}\text{C}$  或  $-196^{\circ}\text{C}$ ; 最高浓度为 1 毫居里/毫升。

(5) 儿茶酚胺类 水溶液,  $-140^{\circ}\text{C}$  或  $-196^{\circ}\text{C}$ , 最高浓度小于 1 毫居里/毫升。

(6) 其他化合物 水、苯或乙醇溶液,  $+2^{\circ}\text{C}$  或  $+20^{\circ}\text{C}$ 。

目前大多数厂商在发货时都提供产品说明书,其中应当介绍该标记物的最适贮藏条件,以便控制存放过程中的幅射自分解。

在适当的贮藏条件下,比放射性少于 500 毫居里/毫克分子的 T 化合物,一般每年分解速度不会超过 10%。

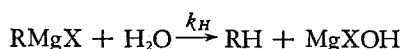
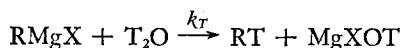
### 3. 同位素效应

当同位素标记分子和相应的非标记分子在化学反应速度或物理性质上有所不同时,这种差别就叫做同位素效应。T 的质量比氕( $^1\text{H}$ )大三倍,因此 T 的同位素效应要比一般同位素更大。T 与  $^1\text{H}$  在化学或生物系统中的差别,是由两种因素所造成:(1)T 参与形成的键与  $^1\text{H}$  的键具有不同的键能;(2)含 T 的原子基团与含  $^1\text{H}$  者具有不同的移动性能。

一个元素的质量对决定此元素与另一元素所形成的键的稳定性起一定的作用。质量愈小,所形成的键愈弱。C—T 键比 C—D 键更难打开,而 C—D 键又比 C—H 键更牢固。

当反应直接牵涉到不同同位素键(如 C—T

和 C—<sup>1</sup>H) 的打开或形成时, 同位素效应比较明显。这叫做初级同位素效应。如果采用格氏试剂的水解来制备 T 化碳氢化合物, 同位素效应就比较大。格氏试剂在 T 水中比在普通水中水解得较慢。



在 20℃ 制备甲烷时反应常数比 ( $k_T/k_H$ ) 为 0.67, 制备苯时  $k_T/k_H$  为 0.61。同位素效应的大小, 通常就用标记分子与非标记分子的反应速率比值 ( $*k/k$ ) 来表达。

另一种同位素效应叫做次级同位素效应。此时在反映过程中并没有打开或形成不同同位素参与的化学键。例如 (T-对-甲基) 苯甲酸甲酯在碱性溶液中水解得较慢, 但在酸性溶液中的水解速度与非标记化合物一样。又如, 在液相层析中 T-3, 5-L-酪氨酸比 1-<sup>14</sup>C-L-酪氨酸及非标记酪氨酸移动得更快一些。

作为生物示踪剂时, T 的同位素效应更值得注意。酶反应往往比化学反应对标记同位素更有选择性。下面举几个简单的例子:

将含有  $-\text{<sup>14</sup>CH}_3$  及  $-\text{CT}_3$  的化合物一起用酶反应氧化时, 含 H 的甲基 (即 <sup>14</sup>C 标记者) 比含 T 的甲基更易于氧化。

将重水及 T 水混合喂给哺乳大鼠时, 动物乳汁脂肪中 T/D 比值只有饮水 T/D 比值的 0.8。

另有人将重水及 T 水喂给大鼠后, 发现 D 参入到动物肝脏糖元及脂肪酸的速度比 T 高 8 及 18%。

饮用 T 水的鸽子, 其呼气水份中的比放射性只分别为血及尿中的 0.35 及 0.55。鸽子的呼吸系统似乎有把 T 大量贮留在体内的特殊功能。

总之, T 标记物的应用中, 十分可能出现同位素效应。仔细的实验工作者应该考虑到这一点。

#### 4. 氚的毒性

T 传统地被认为是相当“安全”的同位素。这一部分是由于它的低  $\beta$  能量 (在水中的射程约为 1 微米), 几乎不会引起任何外照射的剂

量; 同时也因为大量资料都是从 T 水这个最普通的 T 化合物得来的。 $\beta$  粒子至少要有 70 千电子伏的能量, 才有可能透过 70 微米厚的皮肤。

这不等于 T 的射线是可以忽视的。有些人只因带着涂有含 T 夜光粉的手表。其尿中的  $\beta$  放射性就达到几个毫微居里的水平, 或比本底几乎大十倍。实际上, 尿的分析目前已成为体内 T 摄入量的常规方法。如果用嘴在 0.1—5 毫升的移液管吸取纯 T 水, 每吸一口就会吸入 5—70 毫微升的水蒸气, 也就相当于 15—210 毫居里的剂量。

对于氚, 国际放射防护委员会规定:

(1) 最高容许体内积存量为 1 毫居里。

(2) 空气最高容许浓度为:

$$5 \times 10^{-6} \text{ 微居里/毫升 T 水蒸气,}$$

或

$$2 \times 10^{-3} \text{ 微居里/毫升 T 气。}$$

(3) 饮水最高容许浓度为 0.1 微居里/毫升。

值得注意的是, 由于 T 气在体液中的溶解度极低, 它的毒性差不多只有 T 水的千分之一。

T 也有一些特点, 使得它比一些较毒的同位素更难于控制。首先在制备标记物的实验里, 用量较大, 可能是多居里级。其次, 实验室的监测不太容易进行, 因此实验室的污染就较难防止 (有一简便的方法是把小杯内闪烁液暴露在实验室空气里, 这样空气污染可以定性地检查出来)。第三, T 是以多种多样的化学形式用于生物实验, 毒性取决于具体的化学形式, 这下面还要举例说明。第四, T 水常被应用, 而且很多有机化合物在实验中也必将转变为 T 水。T 水与普通的水很容易混在一起, 难分难解。水本身就很难对付, 它很容易被皮肤及肺所吸收, 也会牢固地吸收到各种物质中去。这些都提醒我们, 在用 T 的时候, 不要掉以轻心。

T-胸腺嘧啶核苷达到血液后, 能够在细胞有丝分裂的合成期参入到细胞的 DNA 之内。这样, T 就集中在细胞核, 细胞中最放射敏感的部位, 进行局部照射。对于 HeLa 细胞, 这种核苷的毒性比 T 水大 1,000 倍。对于动物, 这种核苷给予增生细胞的剂量相当于等放射性 T 水的

50—50,000 倍。1 微居里/克体重的这种核苷对杀死小鼠精细胞的效应相当于 5 仑  $^{60}\text{Co}$  的外照射。给小鼠 5 次注射总量达 8 微居里的  $^3\text{H}$ -胸腺嘧啶核苷明显提高白血病, 肝瘤等多种肿瘤的发病率。对于 T-胸腺嘧啶核苷这样标记物来说, 1 微居里/克体重的剂量既然就已明显地引起毒性生物效应, 示踪剂量自然要限制在这种毒性水平之下。鉴于 T-胸腺嘧啶核苷有变异效应及遗传效应, 人体应用应当严禁才对。

T 标记物不但广泛地用作代谢示踪剂, 它还充当了照射和杀伤细胞的一种有效的, 独特的工具。由于四环素有集中在某些肿瘤的倾向, 有人合成了 7-T-四环素, 以求用它照射肿瘤。据说高比放射性的这种 T 化合物, 在产生几十个拉得全身剂量的同时, 对肿瘤可释放高达几万拉得的剂量。虽然此工作尚处于初步动物实验阶段, 其设想还是值得引起注意的。

[本文于 1977 年 9 月 6 日收到]

# 国外神经控制论发展概况 (下)

中国科学院自动化研究所控制论组

## 四、听觉系统的模型

用工程的方法研究生物或人的听觉系统, 主要在于弄清楚这些系统对声音(语言)的识别方法。这些方法的技术模拟可用在计算机或控制机的人机联系方面。

胜木(1958 年)对猫的耳蜗神经进行研究表明, 每个神经对不同频率的声音有一个感受域, 即当刺激的频率在感受域所对应的频率附近时、神经阈值很低。大于或小于这个频率的刺激, 阈值就很快升高。在听觉中枢中越是高级中枢的神经元, 它的感受域就越窄。这种变窄的现象应由侧抑制来解释。

再研究一下听神经细胞被刺激后的响应随时间的变化。听觉系统中较低级的神经细胞, 用一定强度和频率的连续音刺激时, 有持续的响应。而较高级中枢的神经, 就没有持续的响应。开始有响应的相当于“开”(on)型, 终了有响应的相当于“关”(off)型。开始和终了两者都有反应的称为“开-关”(on-off)型。

刺激声音的频率从高到低或从低到高作双向变化时, 较低级中枢的神经能反应这种变化。

但较高级神经只对频率上升或下降的单向变化起反应。这种对频率变化起反应的细胞, 最初是在蝙蝠上进行研究的 (Suga, N. 1965 年)。蝙蝠在黑暗的地方飞行, 发出超声波, 根据周围物体反射波来定位。类似这种“回声定位”(echo-location)的, 还有海豚一类的动物。

在猫身上, 对频率起反应的神经细胞在上橄榄核就开始出现, 在下丘、内侧膝状体、大脑皮层等较高级和高级中枢对频率变化方向的反应是显著的。这些细胞能辨别音色和方向, 在声识别中起重要作用。

1961 年, 美国无线电公司(RCA)研究了把随时间变化的声音信号变成空间分布模式的方法

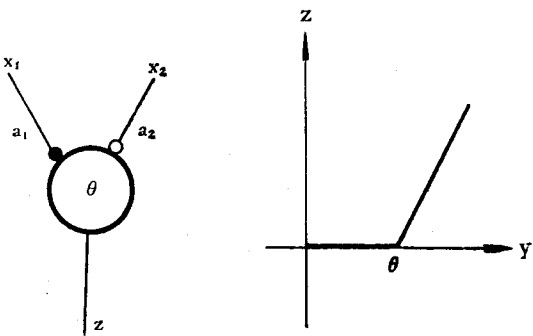


图 10 声音识别系统的基本元件