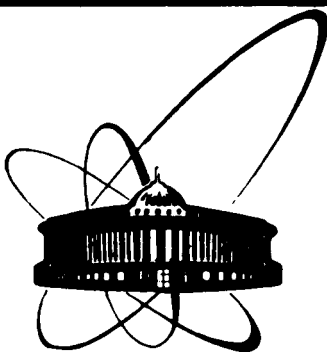


24/2.83



**ОБЪЕДИНЕННЫЙ
ИНСТИТУТ
ЯДЕРНЫХ
ИССЛЕДОВАНИЙ
ДУБНА**

5532/83

18-83-534

Ю.В.Заневский, А.Б.Иванов, Л.Б.Каминир*,
Э.Я.Крейндлин*, С.А.Мовчан, В.Д.Пешехонов,
Чан Дык Тхань, С.П.Черненко, А.А.Черный*

**ЧУВСТВИТЕЛЬНЫЙ ЭКСПРЕСС-АНАЛИЗ
ИОДИРОВАННОЙ СМЕСИ БЕЛКОВ
НА ПЛОСКИХ НОСИТЕЛЯХ
С ВЫСОКИМ ПРОСТРАНСТВЕННЫМ РАЗРЕШЕНИЕМ**

Направлено в журнал "Биоорганическая химия"

* Институт молекулярной биологии, Москва

1983

В последние годы при анализе смесей белков с помощью электрофореза для повышения чувствительности широко практикуется использование радиоактивного йода. Иодирование с помощью хлорамина^{/1/}, хлористого йода^{/2/} и лактопероксидазы^{/3/} обычно не сказывается на физических и функциональных свойствах белков^{/4/}.

При использовании выпускаемых промышленностью препаратов ^{125}I с удельной радиоактивностью до 1,3 - 1,8 Ки/мк.моль в полиакриламидном геле надежно обнаруживается с помощью радиоавтографии несколько наногрaмм белка. Однако при малом количестве вещества /менее $5 \cdot 10^3$ расп./мин на 1 см^2 площади геля/ необходима длительная /несколько суток/ экспозиция, что существенно задерживает получение результатов. Кроме того, радиоавтография дает только качественную картину распределения радиоактивности в геле. Прямое измерение радиоактивности в каждом участке после элюирования или разрезания геля обеспечивает возможность количественных измерений и более высокую чувствительность эксперимента, но характеризуется значительной трудоемкостью и низкой воспроизводимостью.

Оптимальным является метод, сочетающий воспроизводимость и надежность определения локализации, имеющие место при радиоавтографии, с высокой чувствительностью и точностью, свойственной способу измерения вещества, содержащего радиоактивную метку, с помощью сцинтилляционных счетчиков. Таким методом является изучение распределения в геле белков, меченных ^{125}I , с помощью установки типа УРАН, сопряженной с электронной вычислительной машиной.

Возможность использования многопроволочной пропорциональной камеры для анализа радиохроматограмм и электрофореграмм, показанная впервые в работе^{/5/}, была в дальнейшем реализована путем создания ряда установок УРАН^{/6,7,8/}. Эти приборы, предназначенные для экспресс-анализа препаратов, меченных ^3H , ^{14}C , ^{32}P , ^{35}S , позволяют определять локализацию радиоактивных зон и измерять их активность. Для проведения измерений исследуемые препараты вводят в газовый объем детектора.

Рассмотрим возможность анализа образцов, меченных радиоактивным йодом.

Радионуклид ^{125}I превращается посредством захвата электрона в ^{125}Te , переход которого из возбужденного состояния сопровождается испусканием гамма-лучей с энергией 35,5 кэВ. Этот переход конвертирован в 93% превращений, что приводит к сложной цепи распада /испускаются фотоны характеристического излучения, элект-

троны внутренней конверсии и оже-электроны/. В таблице приведено число испускаемых фотонов и электронов на распад $^{125}\text{I}/9/$. Для электронов указана величина средней энергии.

Таблица		
Излучение	Среднее число частиц на распад	Энергия, кэВ
гамма-излучение	0,07	35
характеристическое излучение	$\left\{ \begin{array}{l} \text{K}\alpha, \text{K}\beta \\ \text{L} \end{array} \right.$	1,36
		0,21
		4
электроны	5,83	1,3,4
электроны	0,39	24,31,35

При введении иодированных образцов в чувствительный объем детектора, работающего на газовой смеси на основе аргона, детектирование электронов, выходящих из образца, происходит с эффективностью, близкой к 1, и фотонов энергии 4 кэВ - с эффективностью ~ 0,6.

При проверке чувствительности и величины пространственного разрешения метода изготавливались специальные образцы. На металлическую подложку наносились пятна ^{125}I определенной активности и в заданной геометрии. Затем образцы помещались в детектор, а результаты экспресс-анализа представлялись на экране телевизионного монитора и выводились на печатающее устройство.

На рис.1, представляющем собой фотографию экрана телевизионного монитора, показана локализация 3 пятен с активностями около 100, 500, 1500 отсчетов в минуту и гистограммы сечений по их центрам. Время экспозиции равнялось 14 мин, интегральный счет в каждом пятне соответственно составлял 290, 1620, 5180 событий. Полученные результаты указывают на достаточно высокую чувствительность метода при работе с тонкослойными гелями.

Для проверки пространственного разрешения в углубления диаметром 1,3 мм на металлической подложке вносились микроколичества ^{125}I , близкие по активности. На рис.2 и 3 показаны локализация и гистограммы сечений по центрам исследуемых пятен, расстояние между центрами которых составляет соответственно 2,5 и 3,5 мм.

Приведенные результаты указывают на то, что, используя приборы на основе многопроволочной пропорциональной камеры, можно прово-

Рис.1. Иллюстрация чувствительности метода. Диаметр пятен - 5-10 мм, расстояние между центрами - 20 мм. Время экспозиции - 14 мин.

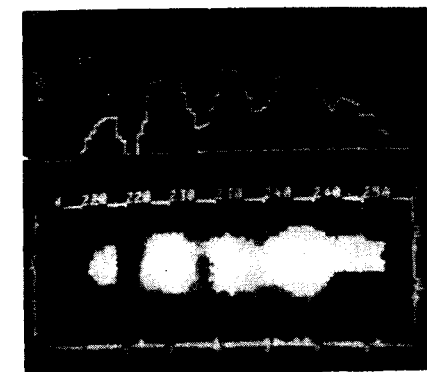
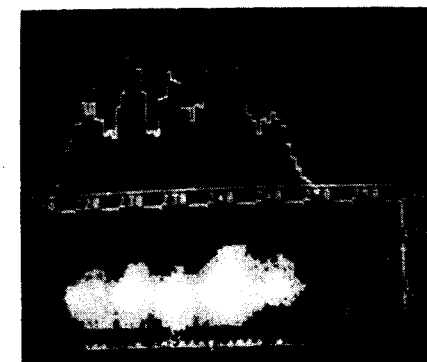
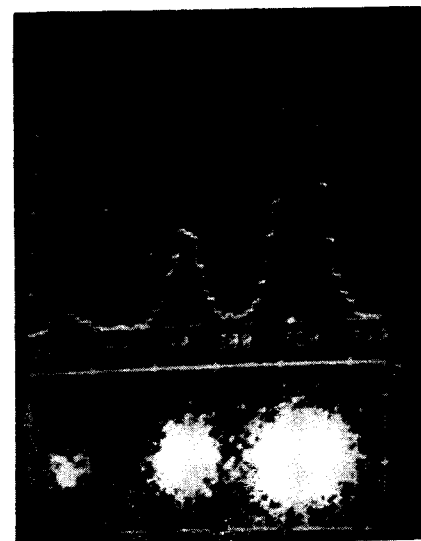


Рис.3. Локализация пятен диаметром 1,3 мм при расстоянии между их центрами 3,5 мм.

дить экспресс-анализ смесей иодированных белков с высокой чувствительностью. В большинстве реальных случаев время экспозиции не превышает нескольких десятков минут, а пространственное разрешение составляет около 1 мм.

Авторы выражают глубокую признательность проф.Э.И.Будовскому за интерес к работе и помощь.

ЛИТЕРАТУРА

- Hunter W.M., Greenwood F.C. Nature, 1962, 194, p. 495-496.
- Roholt O.A., Pressman D.N. In: Methods in Enzymology, 1972, 25, p. 438-444.

3. Luis L. Eur. J. Biochem., 1979, 96, p. 93-97.
4. Carlsen J., Christensen M., Josefsson L. Anal. Biochem., 1979, 92, 1, p. 46-54.
5. Zanevsky Yu.V. et al. Nucl. Inst. and Meth., 1978, 153, p. 445.
6. Anisimov Yu.S. et al. J. of Chromatography, 1979, 178, p. 117.
7. Anisimov Yu.S. et al. Nucl. Instr. and Meth., 1980, 176, p. 67.
8. Балдин А.М. и др. Препринт ОИЯИ, 18-81-48, Дубна, 1981.
9. Parker Roy P., Smith Peter H.S., Taylor David M. Basic Science of Nuclear Medicine. Churchill Livingstone. London, 1978.

Заневский Ю.В. и др.

18-83-534

Чувствительный экспресс-анализ иодированной смеси белков на плоских носителях с высоким пространственным разрешением

Показана возможность проведения экспресс-анализа иодированной ^{125}I смеси белков на плоских носителях с помощью установки типа УРАН, разработанной на основе многопроволочной пропорциональной камеры. Показано, что чувствительность метода лучше чем 200 отсчетов в минуту на 1 см^2 , а пространственное разрешение около 1 мм. Время проведения экспресс-анализа не превышает нескольких десятков минут.

Работа выполнена в Лаборатории высоких энергий ОИЯИ.

препринт Объединенного института ядерных исследований. Дубна 1983

Zanevsky Yu.V. et al.

18-83-534

Sensitive Express-Analysis of Flat of the Admixture of ^{125}I - Labelled Proteins with a High Space Resolution

The possibility is shown of carrying out an express-analysis of the admixture of ^{125}I -labelled proteins on flat samples by means of a setup of the "URAN" type developed using a multiwire proportional chamber. The sensitivity of the method is better than 200 cpm/cm² and the space resolution is approximately 1 mm. The time of carrying out the express-analysis is no longer than several tens of minutes.

The investigation has been performed at the Laboratory of High Energies, JINR.

Preprint of the Joint Institute for Nuclear Research. Dubna 1983

Перевод О.С.Виноградовой

Рукопись поступила в издательский отдел
22 июля 1983 года