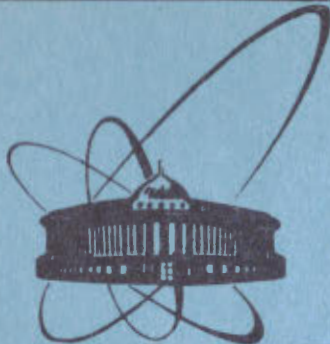


18/1184



**Объединенный
институт
ядерных
исследований
Дубна**

18-84-182

Д.А. Абдушукуров, Г.Г. Абдурашидова,¹
Ю.В. Заневский, А.Б. Иванов, Л.Б. Каминир,²
Э.Я. Крейндли,² С.А. Мовчан, В.Д. Пешехонов,
Чан Дык Тхань, С.П. Черненко, А.А. Черный²

**РАЗРАБОТКА
И БИМЕДИЦИНСКОЕ ПРИМЕНЕНИЕ
МНОГОСТУПЕНЧАТОЙ ЛАВИННОЙ КАМЕРЫ**

Направлено в журнал
"Nuclear Instruments and Methods"

¹ Институт биоорганической химии АН СССР,
Москва.

² Институт молекулярной биологии АН СССР,
Москва.

1984

ВВЕДЕНИЕ

Традиционные методы анализа радиохроматограмм и электрофореграмм путем автордиографии или прямого измерения радиоактивности в различных участках после элюирования препарата или разрезания образца в значительной степени заменены сейчас электронными методами автоматического анализа. Прежде всего, это метод сканирования тонкослойной хроматограммы /ТСХ/ однокоординатным позиционно-чувствительным счетчиком и, наконец, двумерный анализ ТСХ с помощью многопроволочной пропорциональной камеры /МПК/.

Возможность использования МПК для анализа радиохроматограмм и электрофореграмм, показанная в [1], реализована затем путем создания ряда автоматизированных установок. Приборы типа "УРАН" [2-5], предназначенные для экспресс-анализа препаратов, меченных радионуклидами ^3H , ^{14}C , ^{35}S , ^{32}P , позволяют определять локализацию радиоактивных зон и измерять их активность. Для проведения анализа образцов их вводят в газовый объем детектора. Возможно выполнение на этих установках экспресс-анализа иодированной радионуклидом ^{125}I смеси белков на плоских носителях [6].

Однако введение образцов в чувствительный объем детектора в ряде случаев вызывает некоторые сложности, особенно при работе с гелями. Кроме того, желательно иметь пространственное разрешение порядка 1 мм для всех радионуклидов. В установках "УРАН" такое разрешение обеспечивается для ^3H . Как было показано ранее [7,8], применение новой модификации многопроволочного детектора - многоступенчатой лавинной камеры /МСЛК/ может удовлетворять этим требованиям.

В настоящей работе говорится об использовании МСЛК для цифровой визуализации радиохроматограмм и электрофореграмм. В установке регистрируется β -излучение от радионуклидов ^{14}C , ^{32}P , ^{35}S и γ -излучение ^{125}I с пространственной точностью около 1 мм.

2. МНОГОСТУПЕНЧАТАЯ ЛАВИННАЯ КАМЕРА. БЛОК-СХЕМА УСТАНОВКИ

Позиционно-чувствительный детектор - МСЛК с чувствительной площадью $160 \times 160 \text{ мм}^2$ представляет собой многопроволочную пропорциональную камеру, размещенную в едином газовом объеме с ря-

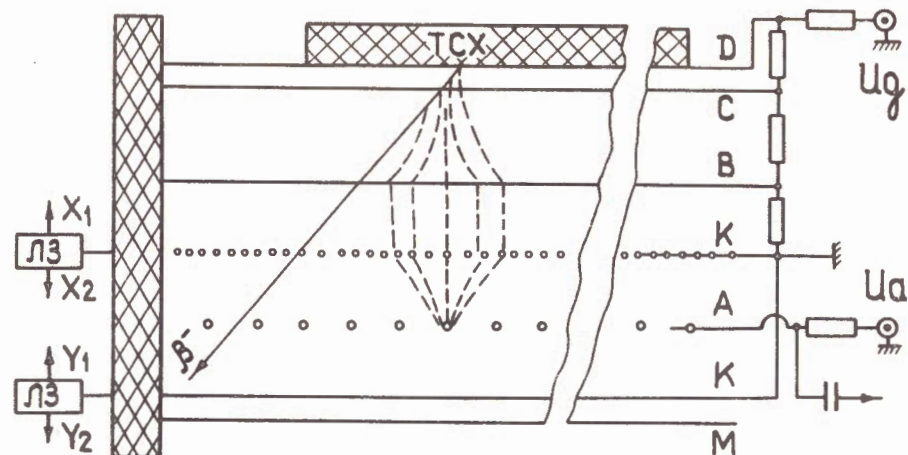


Рис.1. Схематическое изображение детектора /пояснения в тексте/.

дом электродов B, C, D, на которые через делитель подаются необходимые электрические потенциалы. Схематично детектор представлен на рис.1.

Электроды B и C выполнены в виде сетки с ячейкой $0,5 \times 0,5 \text{ мм}^2$ из проволоки диаметром 50 мкм. Катоды МПК намотаны проволокой диаметром 50 мкм с шагом 1 мм, анод - проволокой диаметром 20 мкм с шагом 2 мм. Расстояние между анодом и катодами /А-К/ составляет 5 мм. Расстояние между электродами K и B - 5 мм, между электродами B и C - 7 мм. В промежутке BC происходит усиление заряда, образованного в результате ионизации газового наполнения детектора. Дрейфовый промежуток BK служит для передачи этого заряда в объем МПК, где осуществляется его координатная регистрация. Электрод D, представляющий собой алюминизированный майлар толщиной 50 мкм, служит для создания конверсионного промежутка (DC) шириной 1 мм и изолирует, как и майларовая пленка M, внутренний объем детектора от атмосферы.

Детектор продувается газовой смесью аргона с 1,5% паров п-гептана, скорость продува - $140 \text{ см}^3/\text{мин}$. Перед проведением анализа исследуемый образец помещается непосредственно на майларовое окно D и ориентируется по имеющейся координатной сетке.

Координатная информация снимается с двух концов линий задержки /ЛЗ/, гальванически связанных с соответствующими катодами МПК. Полная задержка ЛЗ составляет около 430 нс при величине погонной задержки $\sim 1,7 \text{ нс}/\text{мм}$ и волновом сопротивлении 430 Ом. Сигналы с линий задержки, усиленные малошумящими усилителями /У/, подаются на дискриминаторы /Д/ точной временной отметки, в нашем случае определяемой вершиной входного импуль-

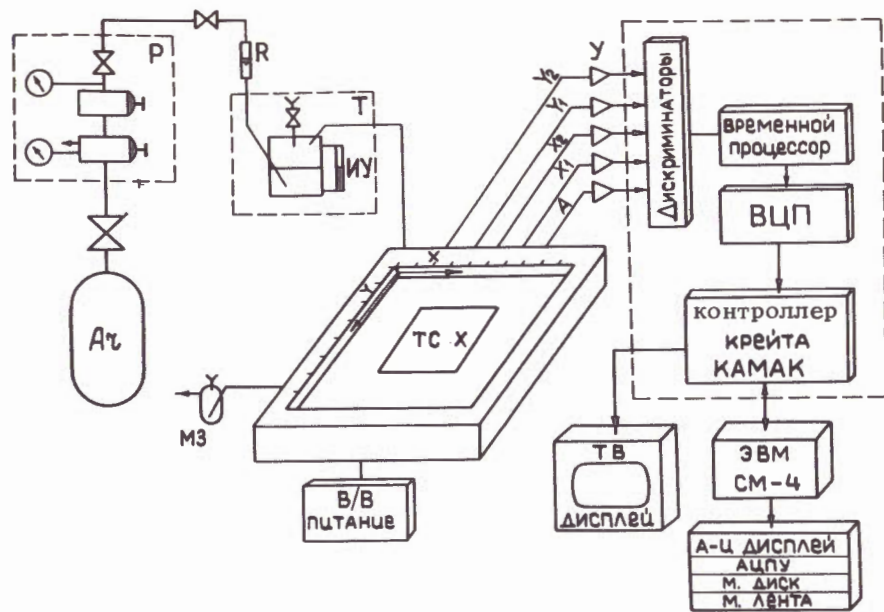


Рис.2. Блок-схема установки. Р - редуктор, R - ротаметр, Т - термостат, ИУ - индикатор уровня.

са. Далее информация анализируется временным процессором, который отбирает сигналы, отвечающие случаю одного и только одного события по всем регистрационным каналам ^{9/}. Время-цифровые преобразователи производят цифровое кодирование временных интервалов с шириной каналов дискретизации $\approx 0,6$ мс ^{10/}. Передача данных в ЭВМ СМ-4 производится по программному каналу.

Программное обеспечение установки состоит из двух программ. Первая осуществляет управление установкой и прием информации. Вторая предназначена для обработки и визуализации накопленной информации. Программы написаны на фортране и предназначены для работы в диалоговом режиме.

Для визуализации информации о распределении активности используется цветной телевизионный монитор, управляемый дисплей-драйвером, а также алфавитно-цифровой дисплей и АЦПУ. Для улучшения качества изображения предусмотрена процедура цифровой обработки накопленной матрицы активностей ^{5/}.

Блок-схема установки показана на рис.2.

3. ХАРАКТЕРИСТИКИ ДЕТЕКТОРА

Постоянство парциального давления паров n-гептана обеспечивается пропусканием всего аргона через n-гептан, находящийся-

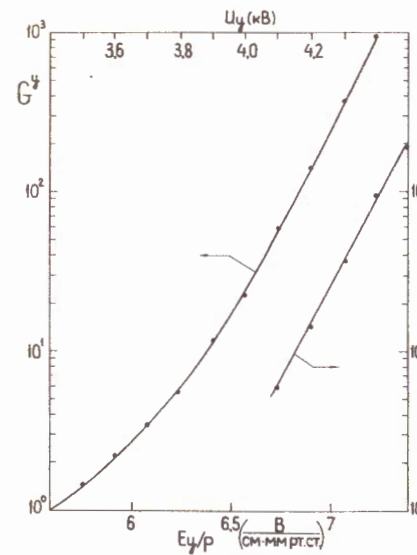
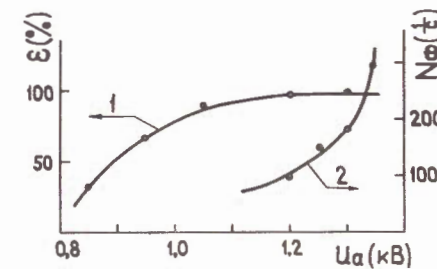


Рис.3. Зависимость коэффициента газового усиления G промежутка предварительного усиления от величины напряженности электрического поля E/p.

Рис.4. Эффективность детектора /кривая 1/ и количество собственных шумов /кривая 2/ в зависимости от величины анодного напряжения МПК.



ся при температуре таящего льда. На рис.3 представлена зависимость коэффициента газового усиления, получаемого в промежутке ВС, от величины напряженности электрического поля в нем. На делитель в рабочем режиме детектора подается напряжение U_d , обеспечивающее напряженность поля в конверсионном и в дрейфовом промежутках ~ 80 В/мм, а в промежутке предварительного усиления - около 550 В/мм. Коэффициент усиления в промежутке ВС при этом близок к величине 10^3 .

Эффективность детектора проверялась с помощью β -источника ^{90}Sr , и, как видно из рис.4 /кривая 1/, при анодном напряжении 1,2÷1,3 кВ близка к 1. Количество собственных шумов детектора в зависимости от величины анодного напряжения представлено кривой 2. Однородность детектора проверялась коллимированным гамма-источником ^{55}Fe . С помощью амплитудного анализатора измерялись центры тяжести спектров анодных сигналов. Изменение этих величин, измеренных в 49 точках площади детектора относительно значения в центре, представлено в таблице. Видно, что дифференциальная неоднородность детектора не превышает 10%.

Дифференциальная нелинейность определялась с помощью хорошо коллимированного источника ^{55}Fe , который перемещался с шагом 5 мм по заданному направлению. Отклонение измеренного значения профиля пучка от истинного положения источника, характеризующее дифференциальную нелинейность, для Y-координаты представлена на рис.5. Видно, что с учетом систематической ошибки в определении масштабного коэффициента дифференциальная нелинейность не превышает 0,43 мм. Аналогичная зависимость получена для X-координаты.

Таблица 1

Величина газового усиления детектора относительно его значения в центре для различных участков по площади

	.99	1.01	.99	.99	.99	.92	.85	7
	.97	.98	.96	.96	.95	.89	.84	6
	.98	.98	.96	.94	.95	.92	.88	5
	1.02	1.01	1.	1.	1.	.96	.90	4
	.94	.94	.94	.93	.95	.93	.88	3
	.93	.96	.96	.95	.95	.90	.86	2
	.94	.97	.99	.98	.97	.90	.85	1

2 см

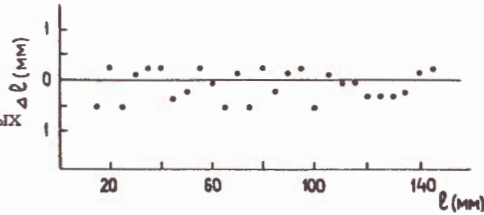


Рис.5. Отклонение измеренного значения координаты Y от истинного значения в зависимости от местоположения коллимированного источника.

4. ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ И РАЗРЕШАЮЩАЯ СПОСОБНОСТЬ УСТАНОВКИ

Основные характеристики установки - пространственное разрешение и чувствительность - проверялись с помощью тестовых образцов, изготовленных с применением радионуклидов ^{14}C , ^{32}P и ^{125}I . В случае ^{14}C и ^{32}P регистрировались электроны с энергией более 60 кэВ, которые были способны пройти через входное окно из алюминизированного майлара толщиной 50 мкм. В случае ^{125}I регистрировались гамма-кванты характеристического излучения с энергией 4 кэВ /6/.

Чувствительность установки ϵ определялась как отношение счета в единицу времени и с единицы площади образца, наблюдаемого с помощью детектора - $N_{\text{срм}}$, к введенной в образец /на единицу площади/ активности - $N_{\text{дрм}}$, $\epsilon = (N_{\text{срм}}/N_{\text{дрм}}) \cdot 100\%$. При работе с ^{125}I ожидаемая чувствительность может быть задана выражением $\epsilon = 0,21 \cdot k \cdot P_1 \cdot P_2 \cdot \epsilon_{\text{д}}$, где эффективность детектора $\epsilon_{\text{д}} \approx 100\%$, вероятность прохождения квантов через майларовое окно $P_1 = 0,68$, суммарная вероятность поглощения квантов в конверсионном и в предусилительном промежутках $P_2 = 0,3 \div 0,6$, геометрический коэффициент $K \approx 0,5$. Числовой множитель дает средний выход квантов на акт распада ^{125}I . Оценки показывают, что ϵ не может превышать 4%.

Величину минимальной измеряемой активности, распределенной равномерно на 1 см^2 без учета поглощения излучения в материале образца, можно оценить выражением: $A_{\text{мин}} = \frac{5(N_{\phi}/S)^{1/2}}{\epsilon}$, где N_{ϕ} -

уровень фонового излучения и собственных шумов детектора площадью S /кривая 2 на рис.4/. Из-за вероятности неравномерного распределения шумов по площади детекторов принимаем, что $A_{\text{мин}}$ должна создавать скорость счета, равную пяти стандартным отклонениям фонового счета. В табл.2 даны расчетные значения $A_{\text{мин}}$ и приведены значения активности $A_{\text{мин}}^*$ /с указанием времени экспозиции t / тестовых образцов.

Таблица 2

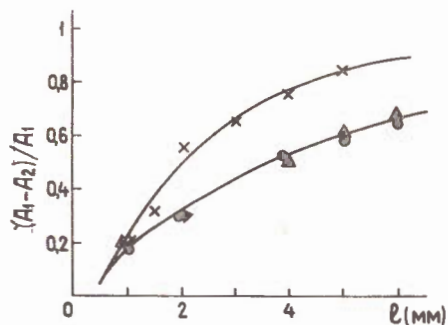
Нуклид	$T_{1/2}$	Регистрируемое излучение	Энергия /кэВ/	Чувствительность ϵ /%/	$A_{\text{мин}}$ (распад /мин.см ²)	$A_{\text{мин}}^*$ (распад /мин.см ²)	t /мин/
^{14}C	5730 лет	β	≤ 155	7*	500	500	34
^{35}S	87 сут	β	≤ 167	7*	500		
^{32}P	14,3 сут	β	≤ 1710	23	200	400	10
^{125}I	60 сут	γ	4	~2	2000	5000	30

*Может быть повышена уменьшением толщины майлара D.



Рис.6. Гистограммы сечения радиоактивных пятен диаметром 1 мм с расстоянием между краями 4,5 мм. Радионуклид - ^{14}C .

Рис.7. Разрешающая способность установки в зависимости от расстояния между радиоактивными пятнами (x) - в случае ^{14}C ; (●) и (▲) - для ^{32}P и ^{125}I .



Пространственное разрешение установки проверялось следующим образом. На алюминиевых пластинах имеется несколько рядов углублений диаметром 1 мм, расстояние между краями соседних углублений в каждом ряду различное. В углублении помещался раствор радионуклида и высушивался; изготовленные таким образом тестовые образцы использовались для оценки разрешающей способности установки.

На рис.6 показано сечение изображения радиоактивных пятен вдоль их центров для ряда с расстоянием между краями соседних зон 4,5 мм. На рис.7 приведены зависимости среднего отношения величины $(A_1 - A_2)/A_1$, характеризующей разрешающую способность установки, от расстояния между краями нанесенных радиоактивных пятен. Видно, что разрешаются области, близкие по активности при расстоянии между ними ~ 1 мм и более.

5. ПРАКТИЧЕСКОЕ ПРИМЕНЕНИЕ УСТАНОВКИ

В настоящее время на установке проводятся методические исследования, выполняемые с биологически-активными препаратами. Кроме того, осуществлен анализ более 50 рабочих радиохроматограмм и электрофореграмм, приготовленных, главным образом, с использованием радионуклидов ^{14}C и ^{125}I . С помощью установки успешно проведен цикл работ по идентификации рибосомальных белков, взаимодействующих с тРНК, рибосомальными РНК на различных этапах трансляции. Рис.8 иллюстрирует идентификацию рибосомальных белков, "пришивающихся" к $\text{Phe} + \text{RNA}^{\text{Phe}}$ при УФ-облучении $\lambda = 254$ нм/ комплекса



Показана локализация радиоактивности, содержащейся в ^{125}I -меченых белках рибосом *E.coli* после двумерного электрофореза в полиакриламидном геле.

Проведено изучение процессов, связанных с биосинтезом и ферментативными превращениями одного из возможных регуляторов кле-

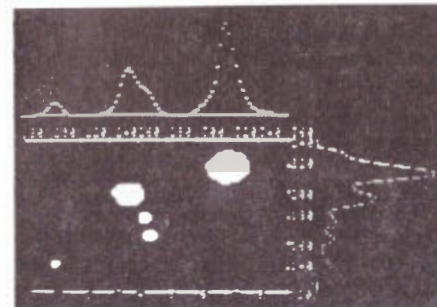


Рис.8. Локализация меченых ^{125}I белков рибосом *E.coli* после двумерного электрофореза в полиакриламидном геле. На гистограммах показана активность в проекциях на X- и Y-координатные направления. Снимок с экрана дисплея.

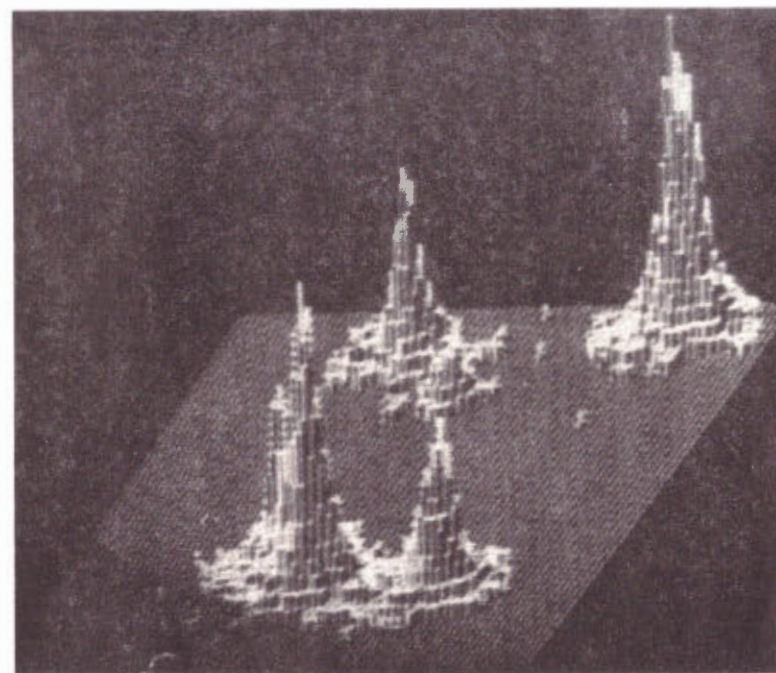


Рис.9. Распределение активности ^{125}I в рабочей радиохроматограмме /снимок с экрана дисплея/.

точного метаболизма /ArpprA/ с помощью его аналогов, устойчивых к гидролизу ферментами.

Результаты экспресс-анализа одной из рабочих радиохроматограмм иллюстрирует рис.9.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Создана и успешно используется для проведения биохимических исследований установка на основе новой модификации многопроволочных позиционно-чувствительных детекторов - многоступенчатой лавинной камеры. Установка позволяет проводить автоматизированный анализ образцов площадью до 160×160 мм², время экспозиции в большинстве случаев не превышает 30 мин. Результаты анализа представляются на экране цветного ТВ-монитора и с помощью цифровпечатного устройства. По результатам полученного распределения радиоактивности оператор получает информацию о количестве зарегистрированных импульсов в течение заданного времени, то есть активности радионуклидов с любого интересующего его участка площади образца.

Установка характеризуется высокой стабильностью и воспроизводимостью получаемых результатов. Так, результаты анализов одного из образцов, проведенные в разное время, дали количественную информацию, совпадающую с точностью в пределах 5%. Установка отличается высокой чувствительностью при хорошем пространственном разрешении /около 1 мм/.

В заключение авторы благодарят В.С.Хабарова, А.А.Попова, Л.П.Смыкова, Г.А.Черемухину, М.Н.Михайлову, Ю.Г.Федулова, Н.П.Волкова, В.А.Белякова, А.Е.Московского за помощь в создании установки. Авторы признательны также профессору Э.И.Будовскому за оказанную помощь и проявленный интерес.

ЛИТЕРАТУРА

1. Zanevsky Yu.V. et al. Nucl.Instr. and Meth., 1978, 153, p.445.
2. Anisimov Yu.S. et al. J. of Chromatogr., 1979, 178, p.117.
3. Anisimov Yu.S. et al. Nucl.Instr. and Meth., 1980, 176, p.67.
4. Балдин А.М. и др. ОИЯИ, 18-81-48, Дубна, 1981.
5. Анисимов Ю.С. и др. ОИЯИ, 18-83-668, Дубна, 1983.
6. Заневский Ю.В. и др. ОИЯИ, 18-83-534, Дубна, 1983.
7. Petersen G. et al. CERN-EP/80-39, Geneva, 1980.
8. Абдушукуров Д.А. и др. ОИЯИ, 13-82-216, Дубна, 1982.
9. Иванов А.Б., Черненко С.П. ОИЯИ, P10-83-370, Дубна, 1983.
10. Иванов А.Б. и др. ОИЯИ, P10-83-383, Дубна, 1983.

Абдушукуров Д.А. и др.

18-84-182

Разработка и биомедицинское применение многоступенчатой лавинной камеры

Разработана установка на основе многоступенчатой лавинной камеры для высокочувствительного автоматизированного экспресс-анализа плоских радиохроматограмм и электрофореграмм. Установка работает на линии с ЭВМ SM-4. Пространственное разрешение при регистрации β -излучения от радионуклидов ¹⁴C, ³⁵S, ³²P и при регистрации γ -излучения для ¹²⁵I не хуже 1 мм. При анализе образцов осуществляется локализация радиоактивных пятен и измеряется их относительная активность, время анализа образцов размером 160×160 мм² не более 30 мин. Установка характеризуется высокой стабильностью и повторяемостью результатов измерения.

Работа выполнена в Лаборатории высоких энергий ОИЯИ.

Препринт Объединенного института ядерных исследований. Дубна 1984

Перевод Л.Н.Барабаш

Abdushukurov D.A. et al.

18-84-182

Development and Biomedical Use of a Multistep Avalanche Chamber

A device based on a multistep avalanche chamber has been developed for high-sensitive automation express-analysis of flat radiochromatograms and electrophoresis. The device operates on-line with a SM-4 computer. The spatial resolution for detection from ¹⁴C, ³⁵S and ³²P radionuclides and for X-ray detection from ¹²⁵I is no worse than 1 mm. Analyzing the samples, radioactive spots are localized and their relative activity is measured. The time of analyzing the 160×160 mm² samples is no larger than 30 min. The device possesses high stability and the reproducibility of measurement results.

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

Preprint of the Joint Institute for Nuclear Research, Dubna 1984

гдел