

ОБЪЕДИНЕННЫЙ
ИНСТИТУТ
ЯДЕРНЫХ
ИССЛЕДОВАНИЙ
ДУБНА

18-85-282

РАЗРАБОТКА И ПРИМЕНЕНИЕ КООРДИНАТНЫХ
МНОГОПРОВОЛОЧНЫХ ДЕТЕКТОРОВ
ДЛЯ ЭКСПРЕСС-АНАЛИЗА МЕЧЕНЫХ СОЕДИНЕНИЙ
В ТОНКИХ СЛОЯХ

Направлено на III Международный симпозиум по
тонкослойной хроматографии /Вирцбург, ФРГ, 1985/

1985

Ю.С.Анисимов, Д.А.Абдушукуров,¹ Ю.В.Заневский, А.Б.Иванов,
С.А.Мовчан, Т.Нэтушил, В.Д.Пешехонов, Л.П.Смыков,¹
Чан Дык Тхань, Чан Хыу Дао, Г.А.Черемухина,
С.П.Черненко, К.Хафнер²

1. ВВЕДЕНИЕ

Метод разделения многокомпонентных соединений в тонком слое широко используется при различных исследованиях, например, в биохимии, микробиологии и медицине. Для метки биологически активных веществ используются в основном следующие радионуклиды: ^3H , ^{14}C , ^{32}P , ^{35}S , ^{125}I . При исследованиях необходимо устанавливать факт выделения отдельных компонентов, проводить количественные оценки по определению абсолютного количества маркера в них и по процентному соотношению, а также желательно иметь возможность элюировать вещество для последующей работы. Указанные выше оценки должны обладать высокой достоверностью и их получение занимать малую часть от полного объема работ.

Традиционные методы анализа тонкослойных образцов характеризуются низкой чувствительностью, большими затратами времени /авторадиография/ или большой трудоемкостью /обсчет с помощью жидких сцинтилляционных счетчиков/.

Развитие современных ядерно-физических методов регистрации излучения позволяет полностью автоматизировать подобные исследования. Широко применяются однокоординатные счетчики для сканирования образцов. Известны устройства на основе искровых камер для двумерного анализа. Однако отсутствие возможности проведения количественных измерений и некоторые сложности работы с ними сдерживали их практическое применение.

В 1976 году в ЛВЗ ОИЯИ была впервые показана возможность применения для вышеуказанных целей многопроволочных пропорциональных камер. В дальнейшем на основе разработанной в ЛВЗ методики был создан ряд установок в ОИЯИ ^{/1,2,3/} и в других научных центрах ^{/4,5/}.

2. ОДНОКООРДИНАТНЫЙ ДЕТЕКТОР

С целью создания сканирующего устройства для анализа в тонких образцах был разработан и исследован однокоординатный детектор, представляющий собой пропорциональный счетчик с одной анодной проволокой, установленной по центру детектора. Координатная информация снимается с двух концов линии задержки /ЛЗ/, являющейся частью катода детектора. Предусмотрено два режима работы детектора с входным окном, закрытым алюминизированным майларом толщиной 12 мкм, и с открытым окном в случае регистрации очень мягкого β -излучения (^3H). При этом вместо рамки с Al-

¹ Физико-технический институт им.С.У.Умарова
АН ТаджССР, Душанбе.

² Центральный институт микробиологии и экспериментальной терапии, Иена, ГДР

-майларом устанавливается рамка с проволочным электродом. Детектор работает на газовой смеси $Ag + 10\% CH_4$ при продуве более $250 \text{ см}^3/\text{мин}$. Основные параметры детектора приведены в табл.1. и опубликованы в ^{7/8/}. Эффективность определяется соотношением счет в секунду, пространственное разрешение характеризуется расстоянием между двумя разрешаемыми областями.

Таблица 1

Чувствительный размер	250 x 15 мм ²
Пространственное разрешение:	
³ H	0,8 мм
¹⁴ C	3 ÷ 4 мм
Чувствительность:	
³ H	/10 ÷ 30/ пКи/мм ²
¹⁴ C	/1 ÷ 3/ пКи/мм ²
Время анализа	5 минут
Скорость продува газа:	
открытое окно	250 см ³ /мин
закрытое окно	150 см ³ /мин

3. ДЕТЕКТОР НА ОСНОВЕ МПК

Были разработаны и исследованы установки для экспресс-анализа радиохроматограмм на основе МПК с чувствительным размером $200 \times 200 \text{ мм}^2$. Детектор содержит 3 МПК с дрейфовыми промежутками и позволяет обрабатывать образцы с "тройной меткой", например ³H, ¹⁴C и ³²P, одновременно, идентифицируя тип радионуклида. Тонкослойные образцы на препаратном столике вводятся в газовый объем детектора. Информация с анодов МПК используется для идентификации радионуклида и для отбора полезных событий. Координатная информация снимается с катодов МПК при помощи ЛЗ. Результаты анализа представляются на мониторе и выводятся на дисплей и цифропечать. При обработке информации возможно осуществлять восстановление траекторий длиннопробежных β-частиц и определение точки вылета их из препарата/хотя кулоновское рассеяние электронов велико/. Это позволяет повысить пространственное разрешение в случае регистрации ³²P. В табл.2 приведены основные характеристики созданных установок ^{7/8,7/}.

Таблица 2

Чувствительный размер	200x200 мм ²
Пространственное разрешение:	
³ H	1,5 мм
¹⁴ C	5 мм
³² P	10 мм; /4 мм/ *
Чувствительность:	
³ H	10 пКи/мм ²
¹⁴ C	0,5 пКи/мм ²
³² P	0,1 пКи/мм ² ; /0,3 пКи/мм ² /*
Время анализа	10 ÷ 30 мин

* В случае восстановления точки вылета β-частиц.

4. ДЕТЕКТОР НА ОСНОВЕ МНОГОСТУПЕНЧАТОЙ ЛАВИННОЙ КАМЕРЫ /МСЛК/

Необходимость ввода образцов в газовый чувствительный объем детектора усложняет конструкцию прибора и требует определенного опыта работы оператора. С целью устранения указанных затруднений при работе с метками ¹⁴C, ³²P, ³⁵S и повышения пространственного разрешения прибора создан детектор на основе МСЛК, обладающий т.н. фокусирующими свойствами. Регистрируются координаты точек входа частиц в плоскости входного окна детектора, что значительно повышает пространственное разрешение.

МСЛК с чувствительной площадью $160 \times 160 \text{ мм}^2$ представляет собой МПК, размещенную в едином газовом объеме с рядом электродов E, F и G, на которые подаются через делитель необходимые электрические потенциалы /рис.1/. Детектор продувается смесью $Ag + 1,5\% \text{ n-гептана}$. Постоянство парциального давления паров n-гептана обеспечивается пропусканием всего аргона через n-гептан, находящийся при температуре 0°C. Перед проведением анализа исследуемый образец помещается непосредственно на майларовое окно E и ориентируется по имеющейся координатной сетке.

На рис.2 приведена схема, являющаяся типичной для случая установок для экспресс-анализа. Координатная информация снимается с двух концов ЛЗ. Сигналы, усиленные маломощными усилителями, подаются на дискриминаторы точной временной привязки. Далее временной процессор отбирает сигналы, отвечающие одному и только одному событию по всем каналам съема информации. Временные преобразователи производят кодирование временных интервалов с дискретизацией ~ 0,6 мм/канал. Передача данных в ЭВМ СМ-4 производится по программному каналу.

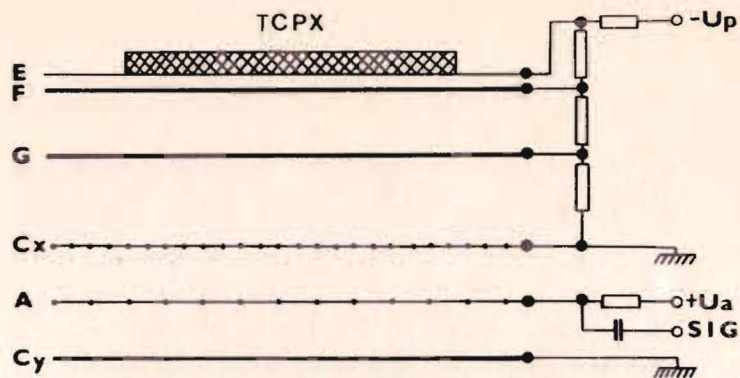


Рис.1. Схематическое изображение детектора. TLC - тонко-
слойная радиохроматограмма, C_x , A, C_y - электроды много-
проволочной пропорциональной камеры; E, F, G - электроды,
формирующие промежутки предварительного газового усиления
/FG/ и дрейфовые промежутки (EF, GC_x).

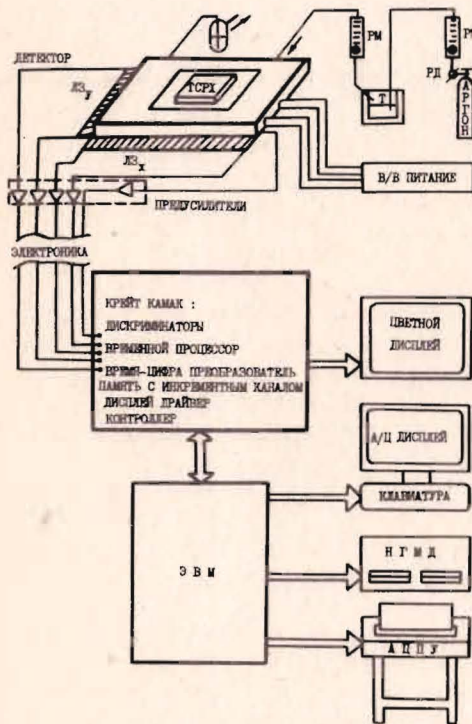


Рис.2. Блок-схема установки.
TLC - тонко-
слойная радиохрома-
тограмма, $0L_x$, $0L_y$ - линии за-
держки для определения x- и y-
координат, F - ротаметры, T - тер-
мостат, P - редуктор.

ЭВМ работает в диалоговом ре-
жиме с оператором, управляет
установкой, проводит обработку
накопленных матриц активностей
и обеспечивает с помощью внешних
устройств /цветной ТВ-дисплей,
АЦПУ, терминал/ визуализацию
информации. В табл.3 приведены
основные характеристики детек-
тора /8/.

Надо отметить, что в случае
 ^{35}S и ^{14}C регистрируются электро-
ны с энергией более 60 кэВ, про-
ходящие через входное окно из
из 50-мкм майлара. В случае ^{125}I
регистрируются γ -кванты характе-
ристического излучения с энергией
4 кэВ. Используя более тонкое

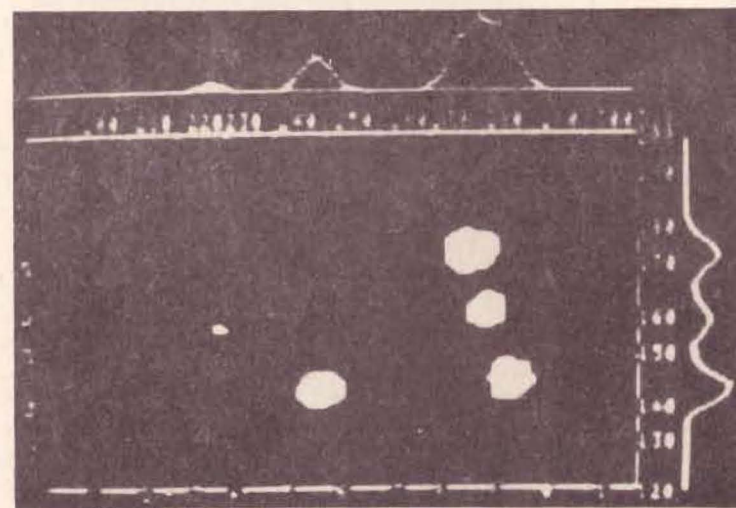
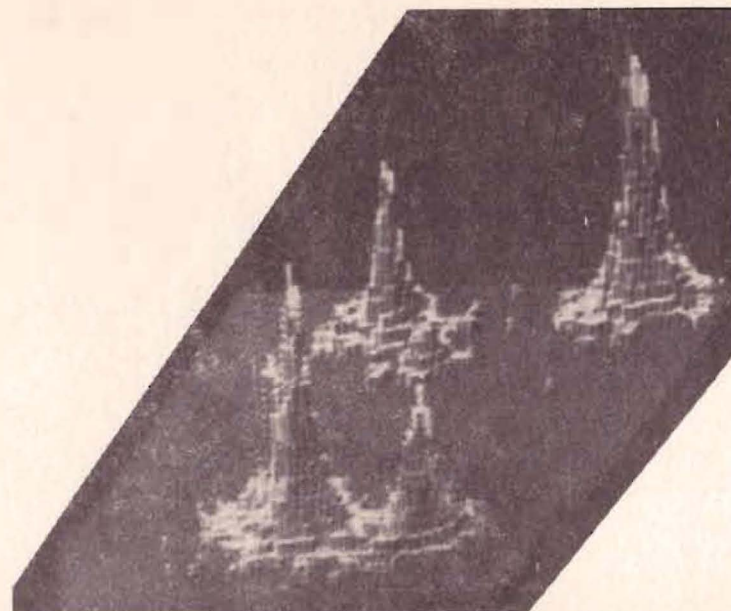


Рис.3. Локализация меченных ^{125}I белков рибосом *E.coli* после
двумерного электрофореза в полиакриламидном геле. На гис-
тограмме показана активность в проекциях на x- и y-коор-
динаты. Снимок с экрана дисплея.

входное окно, можно повысить чувствительность при регистрации ^{14}C и ^{35}S .

Таблица 3

Чувствительный размер	160 x 160 мм ²
Пространственное разрешение для ^{14}C , ^{32}P , ^{35}S , ^{125}I	1 мм
Чувствительность:	
^{14}C , ^{35}S	2 пКи/мм ²
^{32}P	0,6 пКи/мм ²
^{125}I	6 пКи/мм ²
Время анализа	10 ÷ 30 минут

5. ПРИМЕНЕНИЕ УСТАНОВОК

Описанные выше установки успешно используются при различных биохимических исследованиях. Например, при изучении функционально значимых групп неорганической пирофосфатазы из дрожжей /КФ 3.6.11/ с помощью необратимого ингибитора фермента - ^3H - фосфоэтанолamina; при радиометрическом определении результатов твердофазного радиоиммунологического анализа /9/, для идентификации рибосомальных белков, взаимодействующих с тРНК и рибосомальными РНК на различных этапах трансляции и др.

На рис. 3 показан пример локализации меченных ^{125}I белков рибосом *E. coli* после двумерного электрофореза в полиакриламидном геле.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Установки на основе проволочных позиционно-чувствительных детекторов позволяют автоматизировать процесс анализа тонкослойных радиохроматограмм и электрофореграмм, сокращая требуемое на анализ время до 10 ÷ 30 минут независимо от размера образца. Экспресс-анализ характеризуется предельно высокой чувствительностью, высокой воспроизводимостью результатов и хорошим пространственным разрешением. В ходе анализа осуществляется одновременный обсчет всей хроматограммы, представляются результаты интегрирования пиков по абсолютному значению и по процентному соотношению.

ЛИТЕРАТУРА

1. Anisimov Ju.S. et al. J. of Chromatography, 178, 1979, p.117.
2. Anisimov Ju.S. et al. Nucl. Instr. and Methods, 176, 1980, p.67.
3. Abdushukurov D.A. et al. Nucl. Instr. and Methods 217, 1983, p.101.
4. Bellazini R. et al. Nucl. Instr. and Methods, 190, 1981, p.627.
5. Bellazini R. et al. Nucl. Instr. and Methods, 217, 1983, p.95.
6. Заневский Ю.В. ОИЯИ, 18-84-796, Дубна, 1984.
7. Анисимов Ю.С. ОИЯИ, 18-83-668, Дубна, 1983.
8. Абдушукуров Д.А. и др. ОИЯИ, 18-84-182, Дубна, 1984.
9. Абдушукуров Д.А. и др. ОИЯИ, P18-84-758, Дубна, 1984.

Рукопись поступила в издательский отдел
8 мая 1985 года

Принимается подписка на препринты и сообщения Объединенного института ядерных исследований.

Установлена следующая стоимость подписки на 12 месяцев на издания ОИЯИ, включая пересылку, по отдельным тематическим категориям:

ИНДЕКС	ТЕМАТИКА	Цена подписки на год
1.	Экспериментальная физика высоких энергий	10 р. 80 коп.
2.	Теоретическая физика высоких энергий	17 р. 80 коп.
3.	Экспериментальная нейтронная физика	4 р. 80 коп.
4.	Теоретическая физика низких энергий	8 р. 80 коп.
5.	Математика	4 р. 80 коп.
6.	Ядерная спектроскопия и радиохимия	4 р. 80 коп.
7.	Физика тяжелых ионов	2 р. 85 коп.
8.	Криогеника	2 р. 85 коп.
9.	Ускорители	7 р. 80 коп.
10.	Автоматизация обработки экспериментальных данных	7 р. 80 коп.
11.	Вычислительная математика и техника	6 р. 80 коп.
12.	Химия	1 р. 70 коп.
13.	Техника физического эксперимента	8 р. 80 коп.
14.	Исследования твердых тел и жидкостей ядерными методами	1 р. 70 коп.
15.	Экспериментальная физика ядерных реакций при низких энергиях	1 р. 50 коп.
16.	Дозиметрия и физика защиты	1 р. 90 коп.
17.	Теория конденсированного состояния	6 р. 80 коп.
18.	Использование результатов и методов фундаментальных физических исследований в смежных областях науки и техники	2 р. 35 коп.
19.	Биофизика	1 р. 20 коп.

Подписка может быть оформлена с любого месяца текущего года.

По всем вопросам оформления подписки следует обращаться в издательский отдел ОИЯИ по адресу: 101000 Москва, Главпочтамт, п/я 79.

Анисимов Ю.С. и др.

18-85-282

Разработка и применение координатных многопроволочных детекторов для экспресс-анализа меченых соединений в тонких слоях

Разработаны и созданы установки на основе позиционно-чувствительных проволочных детекторов для экспресс-анализа тонкослойных радиохроматограмм, меченных ^{125}I или β -активными радионуклидами. Приведены параметры одномерных и двумерных детекторов. Показано, что устройства, содержащие детектор, работающий на линии с ЭВМ, позволяют осуществлять одновременный обсчет всей радиохроматограммы. Возможно хранение и воспроизводство записанной информации, обработка данных и выдача их в графическом или цифровом виде. Время анализа занимает $10 \div 30$ минут, чувствительность в зависимости от вида радионуклида и образца $0,1 \div 10$ пКи/мм². Для всех радионуклидов пространственное разрешение около 1 мм.

Работа выполнена в Лаборатории высоких энергий ОИЯИ

Препринт Объединенного института ядерных исследований. Дубна 1985

Перевод авторов

Anisimov Yu.S. et al.

18-85-282

The Development and Utilisation of Multiwire Coordinate Detectors for an Express-Analysis of Labelled Compounds in Thin Layer Chromatography

Detection system for an analysis of thin layer chromatograms labelled with ^{125}I or some β -active radioisotopes based on position sensitive wire detector has been developed and constructed at the High Energy Laboratory, JINR, Dubna. Some parameters of the one- and two-dimensional detectors are presented. Further it has been shown that such detector on-line with a small computer can count all the radiochromatogram simultaneously. Information on the activity spatial distribution can be stored, recalled and graphically and digitally displayed. The time of radiochromatogram analysis alters from 10 to 30 minutes. Depending on the type of radioisotopes the detector sensitivity varies over a range of $0.1-10$ pCi/mm². A spatial resolution of ~ 1 mm can be achieved for all utilized radioisotopes.

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

Preprint of the Joint Institute for Nuclear Research. Dubna 1985