

ОБЪЕДИНЕННЫЙ
ИНСТИТУТ
ЯДЕРНЫХ
ИССЛЕДОВАНИЙ
ДУБНА

18-85-391

Д.А.Абдушукуров,¹ Е.В.Александров,²
Ю.В.Заневский, Н.Ф.Мясоедов,² В.Д.Пешехонов,
Чан Дык Тхань, Г.А.Черемухина

РАЗРАБОТКА
ПОЗИЦИОННО-ЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ ДЕТЕКТОРОВ
ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЙ БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТОВ,
МЕЧЕННЫХ ТРИТИЕМ

Направлено в "ПТЭ"

¹ Физико-технический институт АН ТаджССР, Душанбе

² Институт молекулярной генетики АН СССР, Москва

1985

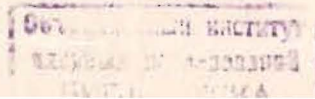
ВВЕДЕНИЕ

В последние годы все большее значение приобретает физико-химическая биология и в первую очередь - ее важнейшее прикладное направление - биотехнология. Прогресс этих областей в значительной мере определяется наличием меченных радиоактивными изотопами основных классов биологически активных соединений - компонентов нуклеиновых кислот, аминокислот, пептидов, белков, стероидов, углеводов, липидов и др. Среди меченых соединений особое место занимают соединения, меченные тритием. Практически все органические соединения содержат водород, и замена водорода тритием дает возможность изучать биосинтез, метаболизм и локализацию в живых организмах самых разнообразных классов биологически активных соединений.

Однако из-за мягкости β -излучения трития определение основных параметров меченых препаратов, таких, как молярная радиоактивность и радиохимическая чистота /РХЧ/, встречает известные трудности^{/1-3/}. Как правило, РХЧ меченных тритием соединений определяется с помощью измерения радиоактивности бумажных и тонкослойных хроматограмм /ТСХ/, путем измерения отношения количества радиоактивности в основном веществе и в примесях. Традиционно используемый сцинтилляционный метод анализа образцов трудоемок и не нашел широкого применения, хотя используется в лабораторной практике^{/4/}. Более широкое распространение получает метод сканирования ТСХ однокоординатным позиционно-чувствительным счетчиком^{/5/}.

Более перспективным является двумерный анализ ТСХ с помощью многопроволочных газовых детекторов, возможность использования которых показана в работе^{/6/} и реализована путем создания ряда автоматизированных установок типа "УРАН"^{/7-9/}, предназначенных для экспресс-анализов препаратов, меченных радионуклидами ^3H , ^{14}C , ^{35}S , ^{32}P , ^{125}I . Дальнейшим развитием явилось создание установки на основе многоступенчатой лавинной камеры /МСЛК/^{/10-12/} для радиографических исследований образцов, меченных радионуклидами ^{14}C , ^{32}P , ^{33}P , ^{35}S , ^{125}I .

В данной работе описываются два детектора: многопроволочная пропорциональная камера "УРАН-Н" и многоступенчатая лавинная камера "МСЛК-Н", созданные для регистрации излучения трития с плоских носителей, а также возможность использования этих камер для определения РХЧ-препаратов.



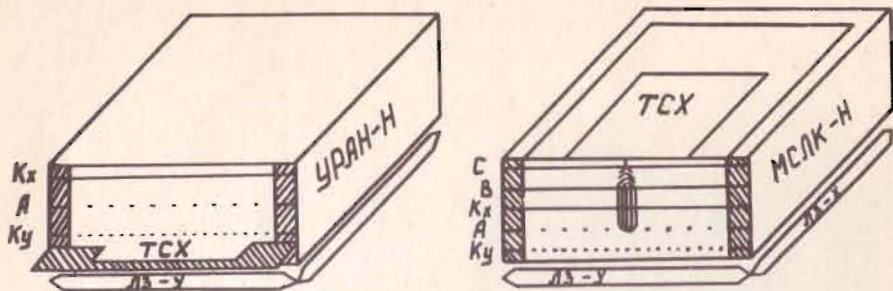


Рис.1. Схематическое изображение детекторов УРАН-Н и МСЛК-Н.

1. КОНСТРУКЦИИ ДЕТЕКТОРОВ И БЛОК-СХЕМА УСТАНОВКИ

1.1. УРАН-Н. Детектор разработан на базе МПК с дрейфовым промежутком и с выдвигающимся поддоном для размещения образцов. Выдвигающийся поддон в совокупности со шлюзом, герметизирующим камеру, позволяет вводить плоские исследуемые объекты размером до $200 \times 200 \text{ мм}^2$ в газовый объем детектора. Схематическое изображение детектора показано на рис.1. МПК имеет анод-катодные расстояния, равные 5 мм. Координатная информация снимается с линий задержек, непосредственно распаянных на ортогонально намотанных катодах (K_x, K_y). На расстоянии 5 мм от нижнего катода расположен электрод дрейфового промежутка, намотанный проволокой 50 мк шагом 1 мм. На выдвигающемся поддоне расположена прижимная рамка, выполненная аналогично дрейфовому электроду. Рамка осуществляет прижим и фиксацию образцов при вводе в газовый объем детектора. Газовый объем детектора равен 1,35 л.

1.2. МСЛК-Н. Многоступенчатая лавинная камера состоит из стандартной МПК, аналогичной описанной выше. Над МПК в одном газовом объеме расположены дрейфовый, предусилительный и конверсионный промежутки. Эти промежутки образуются путем введения сеток, намотанных проволокой $\phi 50 \text{ мкм}$ с шагом 0,5 мм. Зазоры дрейфового и предусилительного промежутков равны 5 мм, зазор конверсионного промежутка — 0,5 мм. На эти промежутки при помощи в/в делителя поданы соответствующие напряжения. Над сеткой конверсионного промежутка в непосредственном контакте расположена полипропиленовая пленка толщиной 100 мг/см^2 , служащая входным окном детектора. Пленка прозрачна для электронов с энергией $\geq 6 \text{ кэВ}$. Для предотвращения механического повреждения пленки, а также для уменьшения прогиба ее избыточным давлением внутри камеры, над пленкой расположена сетка с высокой прозрачностью.

1.3. Блок-схема установки. Детекторы были проверены на линии с ЭВМ МЕГА 60-30. Координатная информация снималась с двух концов электромагнитных линий задержек /ЛЗ/, при помощи низкошумящих предусилителей^{13/}. При этом коэффициент усиления составлял величину ~ 300 и 30 соответственно для детекторов УРАН-Н и МСЛК-Н. Временная привязка сигналов с ЛЗ осуществлялась при помощи дискриминаторов со следящим порогом. Кодирование информации и передача данных в ЭВМ осуществлялись при помощи электронной аппаратуры, описанной в^{14/}. В качестве средств представления данных использовались цветной TV-монитор, АЦ-дисплей и матричная АЦПУ.

Для приема и обработки информации применялся пакет прикладных программ, созданный для работы с радиохромограммами.

2. ХАРАКТЕРИСТИКИ ДЕТЕКТОРОВ

2.1. УРАН-Н. Детектор работает на газовой смеси $\text{Ar} + 20\%$ метана + 3% спирта. На рис.2. показано плато счетной характеристики детектора, измеренное при помощи коллимированного источника ^{55}Fe . Протяженность плато составляет величину $\sim 350 \text{ В}$. Там же показана зависимость роста шумов от напряжения на детекторе. Шумы в конце плато составляют ~ 10 отсчет/мин. Кривая 2 показывает эффективность регистрации излучения трития / $\epsilon = \text{отсчет/распад}$ / из бесконечно тонкого слоя в зависимости от анодного напряжения, которое составляет 13,5% и 21% соответственно для начала и конца плато счетной характеристики. Однородность счета детектора по площади была проверена путем сканирования его источником ^3H известной активности. Максимальный разброс по эффективности не превышает 25%.

В связи с тем, что ввод образцов предполагает временную разгерметизацию камеры, проведено исследование времени восстановления параметров детектора в зависимости от времени разгерметизации при различных скоростях продува. Результаты показаны на рис.3. Из рисунка видно, что при времени разгерметизации $\geq 60 \text{ с}$ восстановление режимов работы детектора происходит при четырехкратном обмене газа, то есть требуется прокачать $\sim 6 \text{ л}$ газа.

2.2. МСЛК-Н. Детектор работает на газовой смеси $\text{Ar} + 1,5\%$ гептана. Для стабилизации режимов работы МСЛК весь аргон про-

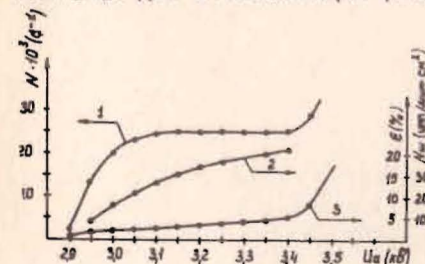


Рис.2. Характеристики детектора УРАН-Н. 1 — плато счетной характеристики. 2 — эффективность регистрации ^3H из бесконечно тонкого слоя. 3 — шумы детектора.

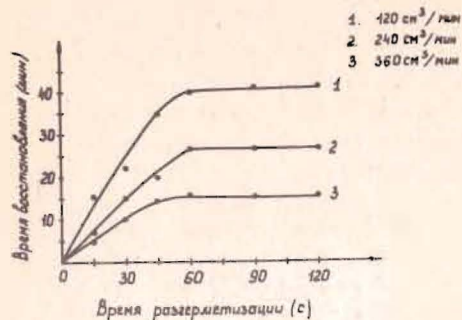


Рис.3. Время восстановления режимов работы УРАН-Н в зависимости от времени разгерметизации при различных скоростях продува.

дувается через н-гептан, термостатированный при температуре тающего льда. Детектор позволяет получать коэффициент предварительного усиления $> 10^4$. Для улучшения эксплуатационных характеристик рабочий режим предусиления выбран $(1 \div 4) \cdot 10^3$. При этом общий коэффициент газового усиления детектора $\geq 10^6$.

Эффективность регистрации частиц с минимальной ионизирующей способностью, измеренная с помощью источника ^{90}Sr , составляет 96%.

При помощи детектора УРАН-Н было проверено ослабление счета излучения трития пленкой, из которой выполнено входное окно МСЛК. Ослабление счета составило величину $\sim 5,7$. На рис.4. представлена эффективность регистрации трития для фиксированных коэффициентов предусиления $/10^3, 2 \cdot 10^3, 4 \cdot 10^3/$ в зависимости от анодного напряжения. Следует заметить, что несмотря на ослабление интенсивности излучения входным окном, МСЛК обладает достаточно высокой эффективностью регистрации излучения трития, равной $\sim 6\%$ для бесконечно тонкого слоя благодаря более высокому коэффициенту газового усиления.

Однородность счета по площади МСЛК-Н проверена при помощи источников известной активности трития и ^{14}C . При этом входное окно является прозрачным для излучения ^{14}C . Максимальный разброс эффективности регистрации составил 10% и 50% соответственно для излучения ^{14}C и ^3H . Значительный разброс эффективности регистрации трития по площади, очевидно, связан с неравномерностью пленки по толщине. Следует отметить, что снятие разброса эффективности регистрации трития позволяет программным путем уменьшать разброс до 5%.

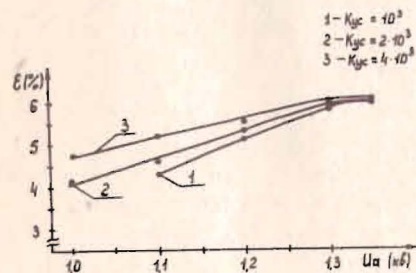


Рис.4. Эффективность регистрации ^3H МСЛК-Н для различных коэффициентов предусиления.

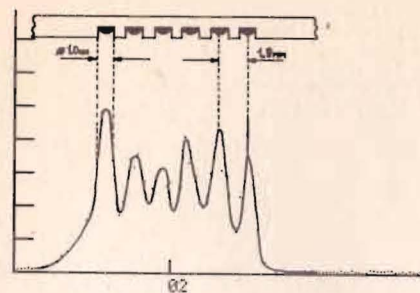


Рис.6. Результат анализа УТФ /3 мкКи/ с РХЧ-53,21%, снятый при помощи счетчика "Berhold".

Рис.5. Гистограмма сечения ряда лунок $\phi 1$ мм, содержащих ^3H , расстояние между границами отверстий - 0,8 мм.



2.3. Пространственное разрешение детекторов. Собственное координатное разрешение детекторов, снятое при помощи коллимированного источника ^{55}Fe , составляет 0,44 и 0,33 /ПШПВ - полная ширина на половине высоты/ соответственно для УРАН-Н и МСЛК-Н.

Пространственное разрешение для трития проверено при помощи тестовых образцов, содержащих ряды отверстий $\phi 1$ мм, высверленных в плексигласе и заполненных ^3H . Расстояние между отверстиями в ряду было фиксированным, но менялось от ряда к ряду. На рис.5 показано отображение ряда отверстий, содержащих тритий, расстояние между краями отверстий равно 0,8 мм. Пространственное разрешение при использовании трития для обоих детекторов примерно одинаково.

Основные параметры детекторов приведены в табл.1.

Таблица 1

	УРАН-Н	МСЛК-Н
Детектор	МПК	МСЛК
Чувствительная площадь	200x200 мм ²	150x150 мм ²
Входное окно	-	100мкг/см ²
Газовая смесь	Ar+20%метан + 3% спирт	Ar+1,5%н-гептан
Расход газа	300 см ³ /мин	100÷300см ³ /мин
Время ввода детекторов в режим	15 мин.	60÷20 мин.
Коэффициент газового усиления	$\sim 10^4$	$\geq 10^6$
Эффективность регистрации ^3H с бесконечно тонкого слоя	20%	6%

Таблица 1 /продолжение/

	УРАН-Н	МСЛК-Н
Эффективность регистрации ^3H с подложки фирмы "Merck"	- 2%	- 0,35%
Шумы детектора	$2 \cdot 10^{-8}$ 1/с мм ²	$8 \cdot 10^{-4}$ 1/с мм ²
Минимальная чувствительность ^3H с подложки фирмы "Merck"	10 пКи/мм ²	30 пКи/мм ²
Пространственное разрешение двух соседних зон, меченных тритием	0,7 мм	0,7 мм

3. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ДЕТЕКТОРОВ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ РХЧ СОЕДИНЕНИЙ

Детекторы были использованы для определения РХЧ, меченных тритием компонентов нуклеиновых кислот, список которых приведен в табл.2. В этой же таблице приведены молярные радиоактивности препаратов. Как видно из таблицы, в работе использовались все соединения, относящиеся к компонентам нуклеиновых кислот - азотистые основания, нуклеотиды разной степени фосфорирования. Использовались водно-спиртовые растворы указанных соединений с радиоактивной концентрацией 1 мкКи/мл. На стартовую линию наносили около 10 мкКи меченого соединения. В работе использованы пластинки с полиэтиленцеллюлозой фирмы "Merck". Развитие хроматограмм производили в 1 моль/л растворе NaCl.

Приготовленные хроматограммы были просчитаны на детекторах МСЛК-н и УРАН-Н.

Для выяснения зависимости эффективности счета от объема наносимой пробы был просчитан препарат [5,6 - ^3H] УТФ /10 мкКи/, нанесенный из разных объемов /1, 3, 5 и 10 мкл/. Увеличение объема, из которого наносится радиоактивность, приводит к увеличению геометрических размеров пятна меченого соединения на тонкослойной пластинке. В результате измерений было выяснено, что геометрия пятна не влияет на эффективность регистрации трития.

Результаты измерений также приведены в табл.2, где указан интегральный счет активности выделенных компонентов соединений на детекторах МСЛК-Н и УРАН-Н. Приведено также отношение счета активности МСЛК-Н и УРАН-Н. Из таблицы видно, что за исключением одного измерения разброс эффективности регистрации МСЛК-Н и УРАН-Н не превышает +3%, что в свою очередь говорит о высокой достоверности и хорошей повторяемости результатов измерений.

Таблица 2

Препарат	Молярная активность Ки/моль	Интегральный счет		Отношение счета МСЛК-Н / УРАН-Н
		детектор МСЛК-Н	детектор УРАН-Н	
1. [2,8 - ^3H] Аденин	39,0	261	2062	0,13
2. [6 - ^3H] Тимин	21,0	143	614	0,23
3. [5,6 - ^3H] Урацил	37,3	435	2566	0,17
4. [Метил- ^3H] Тимидин	45,0	333	1808	0,18
5. [5 - ^3H] Уридин	22,0	270	1494	0,18
6. [8 - ^3H] ИМФ	15,2	280	1466	0,19
7. [8 - ^3H] 3',5'-ц АМФ	28,0	263	1975	0,13
8. Д[8 - ^3H] АТФ	23,0	213	1700	0,13
9. [5 - ^3H] ЦТФ	23,0	230	1300	0,18
10. [5,6 - ^3H] УТФ	20,0	153	824	0,19

Все активности равны 10 мкКи.

Обозначения: А - аденозин, И - инозин, У - уридин, Ц - цитидин.

Отдельные хроматограммы были просчитаны также на одномерном сканирующем счетчике фирмы "Berthold". В качестве иллюстрации на рис.6 приведен результат анализа препарата УТФ /3 мкКи/ с РХЧ - 53,21%, на рис.7 - препарат АМФ /10 мкКи/ с РХЧ - 98,58%, снятых при помощи счетчика фирмы "Berthold".

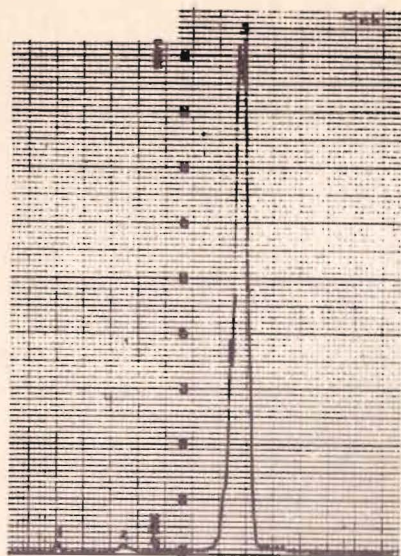


Рис.7. Результат анализа АМФ /10 мКи/ с РХЧ-98, 58% счетчиком "Berthold".

Рис.8. Одновременный анализ 6 хроматограмм: УТФ /10 мКи/, аденин /10 мКи/, ЦТФ /10 мКи/, АМФ /10 мКи/, УТФ /3 мКи/ и тимидин /10 мКи/, дана гистограмма сечения по препарату УТФ /3 мКи/.

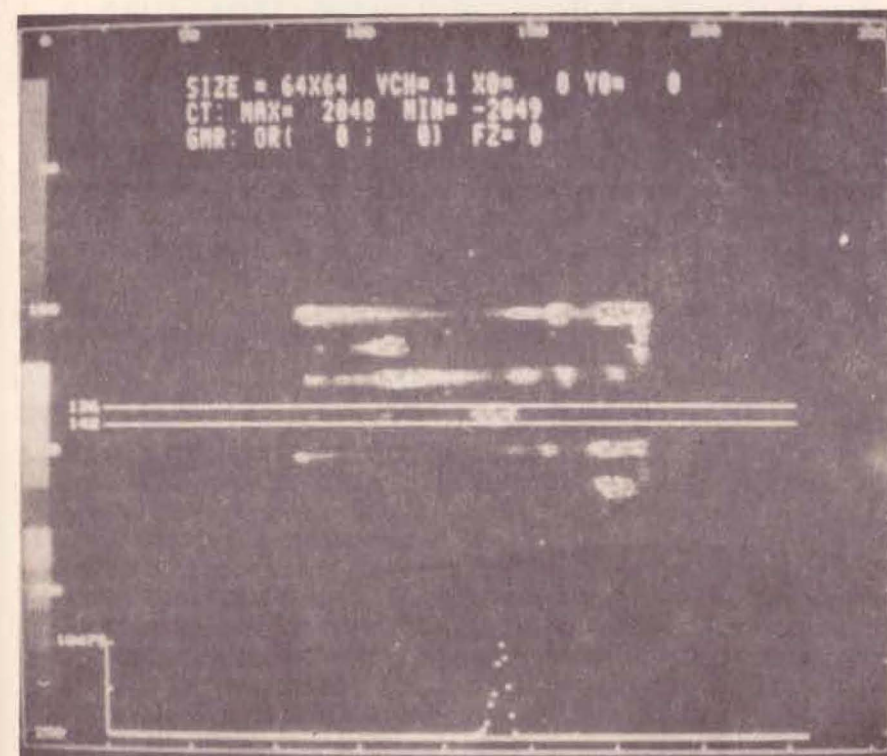
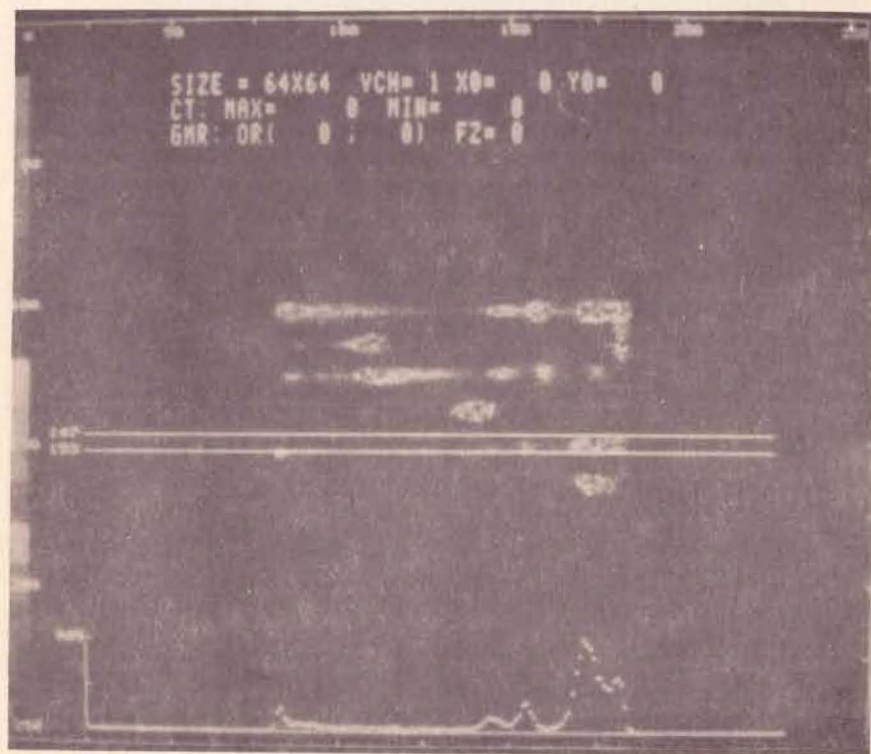


Рис.9. Гистограмма сечения препарата АМФ /10 мКи/.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Создано два детектора для регистрации излучения трития с плоских образцов. При этом МСЛК-Н, снабженная тонким входным окном, позволяет использовать его в качестве универсального детектора для регистрации излучения изотопов, широко применяемых при медико-биологических исследованиях ^3H , ^{14}C , ^{32}P , ^{35}S и ^{125}I . Измерены основные характеристики детекторов. Показана возможность использования их для определения радиохимической чистоты меченных тритием соединений. Использование этих детекторов позволяет одновременно обрабатывать до 20 одномерных хромато-

грамм, при этом время набора данных для определения РХЧ не превышает 100 с.

Созданные детекторы являются основой разрабатываемых в ЛВЗ ОИЯИ автоматизированных радиохроматографов для анализа одномерных и двумерных хроматограмм и электрофореграмм. Детекторы более чем в десятки раз уменьшают время анализа одномерных хроматограмм и позволяют проводить анализ меченых двумерных биологических объектов, проведение которых затруднено при использовании одномерных сканирующих счетчиков.

Авторы благодарят Ю.С.Анисимова, А.Б.Иванова, С.П.Черненко за помощь в работе. Авторы также признательны В.А.Белякову, Н.П.Волкову, М.Н.Михайловой и Ю.Г.Федулову за помощь в изготовлении детекторов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Робертс Т. Радиохроматография. "Мир", М., 1981.
2. Berthold F. Radioisotope Sample Measurement Techniques in Medicine and Biology. Proceedings of Symposium. Vienna, 1965, p.303.
3. Куделин Б.К. и др. Радиохимия, 1984, т.26, № 4, с.479.
4. Куделин Б.К. и др. Радиохимия, 1983, т.25, № 1, с.146.
5. Заневский Ю.В. и др. ОИЯИ, 18-84-796, Дубна, 1984.
6. Zanevsky Yu.V. et al. Nucl.Instr. and Meth., 1978, 153.
7. Anisimov Yu.S. et al. J. of Chromatogr., 1979, 178, p.117.
8. Anisimov Yu.S. et al. Nucl.Instr. and Meth., 1980, 176, p.67.
9. Abdushukurov D.A. et al. Nucl.Instr. and Meth., 1983, 217, p.101.
10. Абдушукуров Д.А. и др. ОИЯИ, 18-84-182, Дубна, 1984.
11. Абдушукуров Д.А. и др. ОИЯИ, 18-84-758, Дубна, 1984.
12. Абдурашидова Г.Г. и др. ОИЯИ, 18-85-129, Дубна, 1985.
13. Иванов А.Б., Чан Хыу Дао. ОИЯИ, 10-83-370, Дубна, 1983.
14. Анисимов Ю.С. и др. ОИЯИ, 18-85-101, Дубна, 1985.

Рукопись поступила в издательский отдел
24 мая 1985 года

ТЕМАТИЧЕСКИЕ КАТЕГОРИИ ПУБЛИКАЦИЙ ОБЪЕДИНЕННОГО ИНСТИТУТА ЯДЕРНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

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

В Объединенном институте ядерных исследований начал выходить сборник "Краткие сообщения ОИЯИ". В нем будут помещаться статьи, содержащие оригинальные научные, научно-технические, методические и прикладные результаты, требующие срочной публикации. Будучи частью "Сообщений ОИЯИ", статьи, вошедшие в сборник, имеют, как и другие издания ОИЯИ, статус официальных публикаций.

Сборник "Краткие сообщения ОИЯИ" будет выходить регулярно.

The Joint Institute for Nuclear Research begins publishing a collection of papers entitled *JINR Rapid Communications* which is a section of the JINR Communications and is intended for the accelerated publication of important results on the following subjects:

Physics of elementary particles and atomic nuclei.
Theoretical physics.
Experimental techniques and methods.
Accelerators.
Cryogenics.
Computing mathematics and methods.
Solid state physics. Liquids.
Theory of condensed matter.
Applied researches.

Being a part of the JINR Communications, the articles of new collection like all other publications of the Joint Institute for Nuclear Research have the status of official publications.

JINR Rapid Communications will be issued regularly.



Абдушукуров Д.А. и др.
Разработка позиционно-чувствительных детекторов
для исследований биологических объектов,
меченных тритием

18-85-391

Описываются многопроволочная пропорциональная камера и многоступенчатая лавинная камера, созданные для регистрации излучения трития с плоских носителей, и предлагаются возможности использования этих камер для определения радиохимической чистоты препаратов. Показана возможность регистрации излучения трития МСЛК с тонким ~ 100 мкг/см² / входным окном. Приведены основные параметры детекторов. Созданные детекторы в десятки раз уменьшают время анализа хроматограмм и позволяют проводить анализ меченых двумерных образцов. Детекторы являются основой разрабатываемых в ЛВЭ ОИЯИ радиохроматоров для анализа одномерных и двумерных хроматограмм и электрофореграмм.

Работа выполнена в Лаборатории высоких энергий ОИЯИ.

Препринт Объединенного института ядерных исследований. Дубна 1985

Перевод Л.Н.Барабан

Abdushukurov D.A. et al.
Development of Position-Sensitive Detectors
for the Investigation of Labeled by Tritium
Biological Objects

18-85-391

Two detectors are described: a multiwire proportional chamber "URAN-H" and a multistep avalanche chamber "MSLK-H" constructed to register tritium radiation from flat samples and to determine radiochemical purity of preparations. It is shown that tritium radiation can be detected by means of MSLK-H with a thin (~ 100 μ g/cm²) input window. Basic parameters of the detectors are presented. The detectors make it possible to decrease the time of analysis of one-dimensional chromatograms by a factor of tens and to carry out the analysis of labeled two-dimensional biological objects. The detectors form the basis of radiochromatograms being developed at the High Energy Laboratory, JINR for analysis of one- and two-dimensional chromatograms and electrophoregrams.

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

Preprint of the Joint Institute for Nuclear Research. Dubna 1985