

ОБЪЕДИНЕННЫЙ
ИНСТИТУТ
ЯДЕРНЫХ
ИССЛЕДОВАНИЙ
ДУБНА

P18-84-758

Д.А. Абдушукуров, Ю.В. Заневский, А. Меркушов¹,
В.Д. Пешехонов, Е.П. Сенченков¹, А.А. Черный,²
Б.Д. Юрин¹

ВОЗМОЖНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ
ДВУМЕРНОГО ПРОВОЛОЧНОГО
ПОЗИЦИОННО-ЧУВСТВИТЕЛЬНОГО ДЕТЕКТОРА
ДЛЯ РАДИОМЕТРИЧЕСКОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ
РЕЗУЛЬТАТОВ ТВЕРДОФАЗНОГО
РАДИОИММУНОЛОГИЧЕСКОГО АНАЛИЗА

Направлено в журнал "Иммунология"

¹ Институт иммунологии МЗ СССР, Москва

² Институт молекулярной биологии АН СССР, Москва

1984

ВВЕДЕНИЕ

Методы радиоиммунологического анализа /РИА/, основанные на специфическом связывании меченных изотопом I^{125} антител определяемых антигенов, находят широкое применение практически во всех областях медицины, биологии, сельского хозяйства, биохимической, микробиологической и фармакологической промышленности. Одним из наиболее перспективных методов РИА - твердофазным радиоиммунологическим анализом в настоящее время широко пользуются для количественного и качественного анализа широкого круга соединений - антител, гормонов, нуклеиновых кислот, фармакологических препаратов, вирусных и бактериальных антигенов, пестицидов и т.д. Однако в настоящее время отсутствует оборудование для одновременного обсчета стандартных 96- и 60-луночных планшетов. Измерение результатов осуществляется последовательным обсчетом лунок с помощью гамма-счетчиков. Этот процесс трудоемок и занимает много времени, что сдерживает дальнейшее развитие и широкое применение твердофазного РИА.

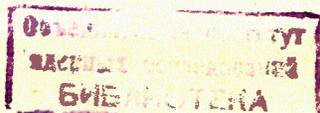
Вместе с тем дальнейшее усовершенствование методов твердофазного РИА, поиск других вариантов твердой фазы, например, специально обработанных бумажных фильтров, фильтров из нитроцеллюлозы и других, с целью повышения чувствительности метода диктует необходимость разработки специального оборудования, позволяющего изучать результаты РИА одновременно для 96 и 60 образцов.

Одним из возможных решений является использование методики многопроволочных пропорциональных камер. Впервые в работе ^{1/} была показана возможность проведения экспресс-анализа белков, меченных изотопом I^{125} на установках типа "Уран". Эти установки, предназначенные для анализа плоских радиохромограмм и электрофореграмм, меченных изотопами H^3 , C^{14} , P^{32} , S^{35} , позволяют определять локализацию радиоактивных зон и измерять их активность.

Дальнейшим развитием явилось создание установки на основе многоступенчатой лавинной камеры /МСЛК/^{2,3/} для радиографического исследования образцов, меченных изотопами C^{14} , P^{32} , P^{33} , S^{35} , I^{125} .

1. БЛОК-СХЕМА УСТАНОВКИ

Проверка возможности одновременного обсчета результатов РИА с 96- или 60-луночных стандартных планшетов была проведена



с помощью позиционно-чувствительного детектора, работающего на линии с ЭВМ СМ-4^{4/}. На рис.1 показано схематическое изображение установки. Детектором являлась МСЛК, координатная информация снималась с линий задержки, установленных на ортогонально намотанных катодах детектора /K1 и K2/. Анод детектора /Ан/ намотан проволокой ϕ 20 мкм с шагом 2 мм. Над катодом /K1/ расположены сеточные электроды (В,С), образующие промежутки предварительного усиления /ВС/ и дрейфовый промежуток /СК1/. Конверсионный промежуток /1 мм/ образован электродом /В/ и входным окном /А/, выполненным из алюминизированного майлара толщиной 50 мкм. На электроды подаются соответствующие потенциалы при помощи резистивного делителя. В конверсионном и дрейфовых промежутках напряженность поля равна ~ 1 кВ/см, в промежутке предварительного усиления ~ 7 кВ/см, что позволяет получить усиление в этом промежутке $\sim 10^3$. МСЛК работает на газовой смеси аргон + 1,5% п-гептана, при этом весь аргон продувается через п-гептан при температуре таящего льда.

Съем координатной информации осуществляется с двух концов электромагнитных линий задержек, удвоенное значение погонной задержки составляет $\sim 3,6$ нс.мм⁻¹.

Усиленные сигналы через дискриминаторы поступают во временной процессор, осуществляющий отбор событий, для которых в каждом регистрирующем тракте за время разрешения детектора регист-

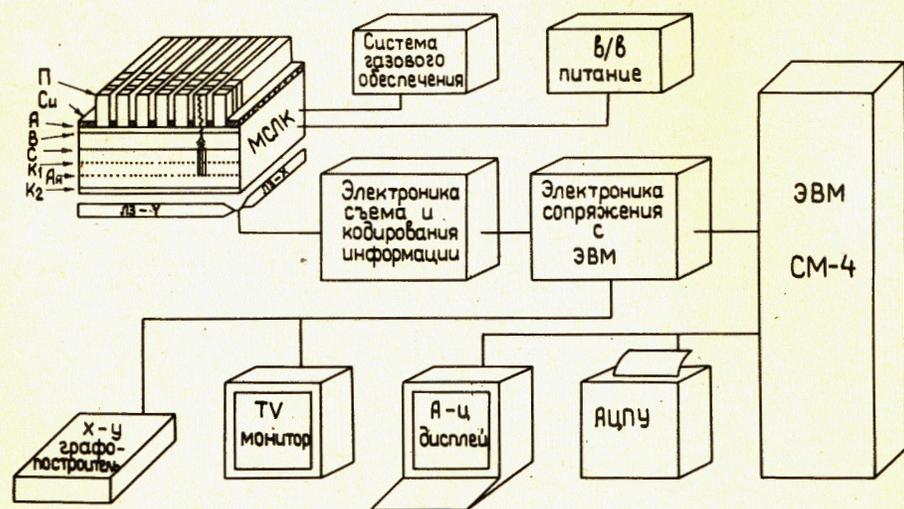


Рис.1. Блок-схема экспериментальной установки. П - планшет, Сп - медный коллиматор, А, В, С - электроды конверсионного, предусилительного и дрейфовых промежутков, K1, K2, Ан - катоды и анод МПК. Лз-х, Лз-у - линии задержек.

рируется один импульс. Время-цифровые преобразователи осуществляют кодирование временной информации с шагом 2 нс. Информация поступает в ЭВМ СМ-4, которая осуществляет накопление и обработку событий. Результаты анализа представляются на экране цветного TV-монитора или X-Y-графопостроителя в виде двухмерной или трехмерной картины.

2. РЕГИСТРАЦИЯ ИЗЛУЧЕНИЯ I¹²⁵

Методы РИА основаны на широком применении радионуклида I¹²⁵, который посредством К-захвата превращается в Te¹²⁵. Это превращение сопровождается испусканием γ - и характеристического излучения. В таблице приведено число испускаемых фотонов на распад I¹²⁵ и их энергии^{4/}.

Особенностью МСЛК является то, что детектор чувствителен только к тем событиям, которые образованы в конверсионном промежутке и в первых ~ 2 мм промежутка предварительного усиления. В таблице приведены квантовые эффективности детектора и вероятность регистрации событий на один распад I¹²⁵. Из таблицы следует, что в 80% случаев происходит регистрация L-излучения, в 20% случаев регистрируется жесткое излучение.

Таблица

Излучение	Энергия кэВ/	Среднее число фотонов на распад	Эффективность регистрации МСЛК	Вероятность регистрации на один распад
γ -излучение	35,5	0,07	0,01	$7 \cdot 10^{-4}$
Характеристическое				
K α , K β	27,31	1,36	0,01	0,014
L	4	0,21	0,3	0,063

3. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

Для проверки параллельного обсчета 96- или 60-луночного планшета последний размещался непосредственно на входном окне детектора. Результаты измерений иллюстрирует рис.2, где приведена гистограмма сечения по одному из рядов планшета. Изотропность излучения, а также наличие жесткого излучения приводят к образованию пьедестала на уровне $\sim 50\%$. Для уменьшения пьедестала планшет располагался на медном коллиматоре Сп /рис.1/ тол-

Рис.2. Сечение вдоль одного из рядов лунок планшета, содержащих I^{125}

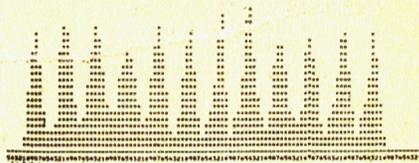
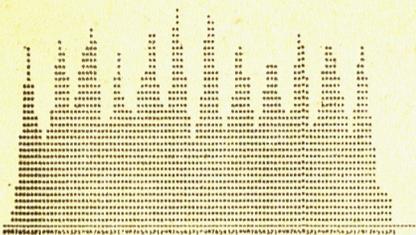


Рис.3. Сечение одного из рядов лунок планшета, полученное с использованием медного коллиматора.

щиной 1,5 мм, выполненном в соответствии с геометрическими размерами стандартных планшетов. Коллиматор осуществляет подавление излучения, испускаемого под большими к плоскости МСЛК углами. На рис.3 показано разрешение одного из рядов планшета, снято с применением коллиматора. Из рисунка видно, что уровень пьедестала снижен до 12%. Для тестовых измерений в 96- и 60-луночные планшеты было внесено примерно одинаковое количество изотопа I^{125} , а также был изготовлен тестовый образец на бумажном фильтре. Стандартный 96-луночный планшет, выполненный из оргстекла, содержит 12x8 лунок диаметром 6 мм, глубиной 12 мм, с расстоянием между лунками 3 мм. Бумажный фильтр толщиной 0,1 мм содержит 96 активных зон в такой же геометрии.

Планшеты и фильтры размещались на коллиматоре с диаметром отверстий 4 мм, установленном на входном окне МСЛК. Соседние радиоактивные зоны планшета /рис.4/ и бумажного фильтра /рис.5/ хорошо разрешаются, уровень пьедестала между соседними зонами составляет 15 и 12% соответственно. 60-луночные планшеты также выполнены из оргстекла и состоят из 6x10 лунок диаметром 4 мм, глубиной 2 мм, с расстоянием между лунками, равным 2 мм. Рис.6

показывает разрешение соседних зон 60-луночного планшета, которое равно 88%. Показано также сечение по одному из рядов.

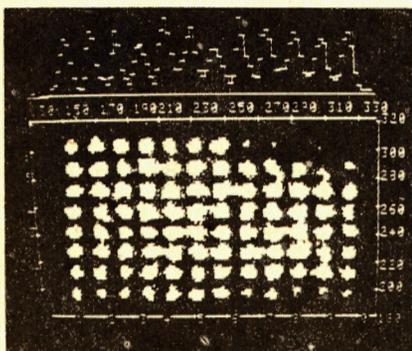


Рис.4. Результаты обработки 96-луночного планшета и сечение одного ряда. Снимок с ТВ-монитора.

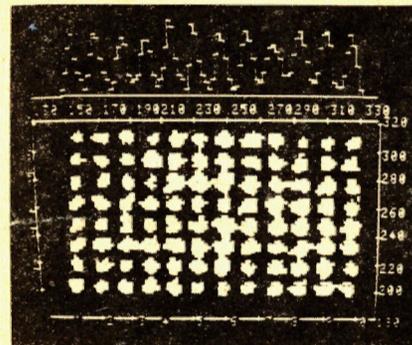


Рис.5. Картина распределения активности на бумажном фильтре.

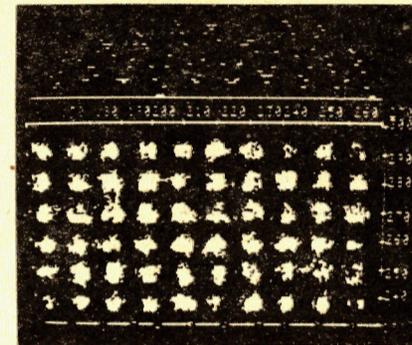


Рис.6. Тестовые измерения 60-луночного планшета.

4. ЭФФЕКТИВНОСТЬ И ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ

Эффективность регистрации, измеренная на планшетах, составляет ~ 3%. Следует отметить, что МСЛК имеет достаточно высокую чувствительность благодаря низкому уровню собственных шумов, равных ~ 3 отсчет/мин.см².

Рис.7 характеризует чувствительность МЛСК. На бумажный фильтр через равные расстояния был введен препарат I^{125} следующей активности: 8000, 3800, 1830, 470, 210, 110 расп./мин. Минимальная чувствительность к излучению I^{125} для бумажных фильтров и 60-луночных планшетов составляет 500 расп./мин на лунку, а для 96-луночного планшета - 700 расп./мин на лунку.

Рабочая активность при проведении RN анализов равна обычно 10000 расп./мин на лунку.

Время проведения анализов не превышает 20 мин.

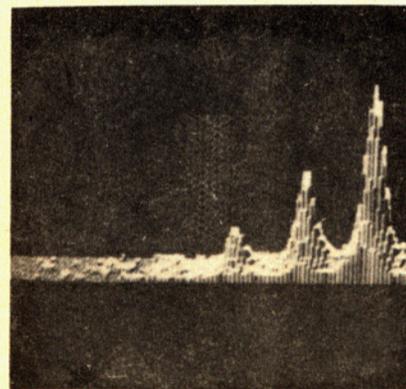


Рис.7. Результаты анализа тестового образца, характеризующие чувствительность метода.

4. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Использование МСЛК для одновременного радиометрического определения результатов твердофазного радиоиммунологического анализа позволяет:

- значительно сократить время проведения анализов;
- широко использовать для анализов в твердой фазе выпускаемые планшеты для иммунологических реакций, особенно для проведения радиоиммунометрических исследований с клетками животных /онкология, иммунология/;
- оптимизировать варианты РИА с использованием различных фильтров, преимущества которых для отдельных исследований неоспоримы;
- сэкономить рентгеновскую пленку, используемую в качестве материала для автордиографии, в тех случаях, когда проводится качественная оценка методов связывания по принципу "да"- "нет" /варианты скринингов в биотехнологии/;
- широко использовать в методах связывания некоторые реагенты, меченные изотопом I^{125} , которые пока невозможно использовать в других методах /например, в иммуноферментном анализе/.

Установка на основе МСЛК, сопряженная с ЭВМ, позволяет создать автоматизированную систему с имеющимися средствами представления и документирования информации.

Эффективность регистрации излучения I^{125} может быть заметно повышена при использовании газовых смесей на основе ксенона.

В заключение авторы выражают благодарность Л.Б.Каминиру за проявленный интерес к работе.

ЛИТЕРАТУРА

1. Заневский Ю.В. и др. ОИЯИ, Р18-83-534, Дубна, 1983.
2. Petersen G. et al. CERN/EP/80-39, 1980.
3. Абдушукуров Д.А. и др. ОИЯИ, Р13-82-216, Дубна, 1982.
4. Абдушукуров Д.А. и др. ОИЯИ, Р18-84-182, Дубна, 1984.

СООБЩЕНИЯ, КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ, ПРЕПРИНТЫ И СБОРНИКИ ТРУДОВ КОНФЕРЕНЦИЙ, ИЗДАВАЕМЫЕ ОБЪЕДИНЕННЫМ ИНСТИТУТОМ ЯДЕРНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ, ЯВЛЯЮТСЯ ОФИЦИАЛЬНЫМИ ПУБЛИКАЦИЯМИ.

Ссылки на СООБЩЕНИЯ и ПРЕПРИНТЫ ОИЯИ должны содержать следующие элементы:

- фамилии и инициалы авторов,
- сокращенное название Института /ОИЯИ/ и индекс публикации,
- место издания /Дубна/,
- год издания,
- номер страницы /при необходимости/.

Пример:

1. Первушин В.Н. и др. ОИЯИ, Р2-84-649, Дубна, 1984.

Ссылки на конкретную СТАТЬЮ, помещенную в сборнике, должны содержать:

- фамилии и инициалы авторов,
- заглавие сборника, перед которым приводятся сокращенные слова: "В кн."
- сокращенное название Института /ОИЯИ/ и индекс издания,
- место издания /Дубна/,
- год издания,
- номер страницы.

Пример:

Колпаков И.Ф. В кн. XI Международный симпозиум по ядерной электронике, ОИЯИ, Д13-84-53, Дубна, 1984, с.26.

Савин И.А., Смирнов Г.И. В сб. "Краткие сообщения ОИЯИ", № 2-84, Дубна, 1984, с.3.

Рукопись поступила в издательский отдел
27 ноября 1984 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.

Абдушукуров Д.А. и др.

P18-84-758

Возможность применения двумерного проволочного позиционно-чувствительного детектора для радиометрического определения результатов твердофазного радиоиммунологического анализа

Показана возможность одновременного радиометрического определения результатов твердофазного радиоиммунологического анализа с помощью многоступенчатой лавинной камеры, работающей на линии с ЭВМ СМ-4. При использовании радионуклида I^{125} хорошо разрешаются все радиоактивные зоны на стандартных 96- и 60-луночных планшетах. Время проведения анализа не превышает 20 мин. Минимальная чувствительность не ниже 700 распадов/мин.

Работа выполнена в Лаборатории высоких энергий ОИЯИ.

Препринт Объединенного института ядерных исследований. Дубна 1984

Перевод Д.Н. Варабаш

Abdushukurov D.A. et al.

P18-84-758

The Possibility of Application of a Two-Dimensional Wire Position-Sensitive Chamber for Radiometric Determination of Results of a Solid-Phase Radioimmunological Analysis

The possibility is shown of simultaneous radiometric determination of results of a solid-phase radioimmunological analysis by means of multistep avalanche chamber operating on-line with an SM-4 computer. Using an I^{125} radionuclide, all radioactive zones on standard 96- and 60-hole plates are well localized. The time of carrying out analyses does not exceed 20 min. The minimal sensitivity is no worse than 700 decays/min.

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

Preprint of the Joint Institute for Nuclear Research. Dubna 1984