

离子束氚标记装置及其初步实验

盛树刚 曹蓉珍

(中国科学院上海原子核研究所)

研制了一台采用氚离子束标记技术的新型装置。装置由真空室、离子源、靶座、排气系统和充气系统等组成。可移动多位冷冻靶座是本装置的独特部件,它使被标记样品的生物活性保持良好,并大大缩短了进行标记的时间。使用本装置对亮氨酸脑啡肽样品进行标记取得了良好的效果。

关键词: 氚离子 离子源 标记技术 蛋白质 肽

在生物化学和医学上,氚是一种重要的、广泛使用的同位素。把氚引入到有机分子中有各种方法,近年来发展了一种称做离子束氚标记的技术,它使用能量可控的高能电子碰撞电离获得气相氚离子,然后氚离子被加速到所需能量,射入固态样品中,把氢置换出来。该技术可用于任何非挥发性的含氢化合物,其优点是反应时间短、耗氚量少,并能保持样品的生物活性。本文介绍这种新型离子束氚标记装置。

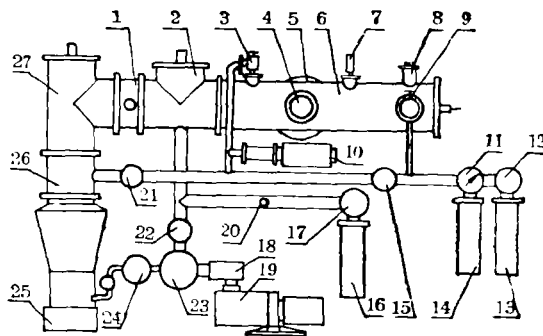


图1 离子束氚标记装置图

Fig.1 Tritium ion beam labelling apparatus

整个装置的构成(图1)采用不锈钢材料制成。工作室(6)为直径 $\phi 100\text{mm}$ 、长350mm的圆筒($\approx 3\text{L}$),其上接有离子源(5)、观察窗(4)、测量本底真空度用的B-A裸规(8)、测量工作气体压强及低真空用数显电容式绝对压强计(7)。氚气通过蓝宝石面密封精密微调阀(9)引入工作室。室中气体通过针形微调阀(3)导入四极质谱分析仪(10)进行分析。放样品的靶座连接在液氮冷阱(2)的底部,使样品得到冷却。工作室通过超高真空闸板阀(1)与抽气系统相连。氚气由铀粉瓶(13)经超高真空金属阀(12)送入储气瓶(14)。储气瓶中的气压由真空压力表(1)测量。工作室中反应后的剩余气体经超高真空金属阀(17)由钼碳吸附瓶(16)吸收后,再经阀门(1)和(24)由抽气系统排放。工作室通过阀门(22)可作低真空预抽气,此时需关闭阀门(24)。在打开工作室之前,由放气阀(20)对工作室放入大气。抽气系统由机械泵(19)、电磁放气阀(18)、吸附阱(23)、油扩散泵(25)、三通接管(26)和液氮冷阱(27)组成。整个系统可在 200°C 以下烘烤。本底真空度在1—2h内可达 10^{-5}Pa 。

图2是装置中使用的离子源的示意图。它由片状皮尔斯电子枪(a)和电离-加速空间(b)两部分组成。电子枪的阴极(1)是一根直径 $\phi 0.15\text{mm}$ 、长60mm的纯钨丝,处于零电位。电子枪的聚焦极(2)一般处于零至负十几伏的电位。电子枪阳极(3)的电位和电离空间的电位相近。电离空间由板极(4)、第一栅极(5)和电子收集极(6)组成。空间尺寸为 $70 \times 60 \times 20\text{mm}^3$ 。板极电位0—500V可调,通常用300V。第一栅极电位比板极低数十伏。电子收集

极电位比板极高数十伏。加速空间由第一栅极、第二栅极(7)和靶座(8)组成。它把电离空间中电离形成的氚离子引出并加速射向样品靶。第二栅极电位一般为第一栅极电位的1/3左右。靶座处于零电位。

用氢气做试验气体, 对离子源性能作了模拟测量。其靶座上离子流密度(J^+)分布见图3a及b。可以看到离子流密度横向分布很均匀, 纵向密度分布均匀性稍差。目前用的是直径 $\phi 40\text{mm}$ 的圆形样品靶, 放于适当位置, 接受到的离子流密度是比较均匀的。

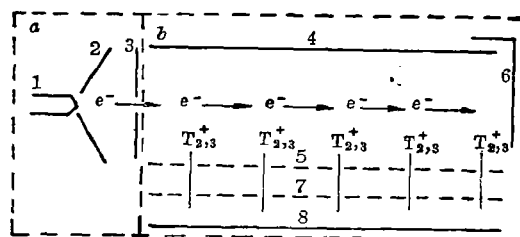


图2 离子源示意图

Fig.2 Ion source

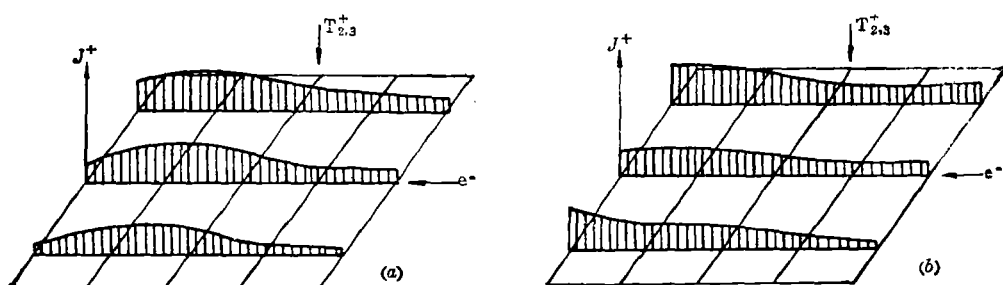


图3 靶座上离子流密度分布

a. 板极: 275V 收集极: 375V 离子流: 100 μA 氚气压强: 1.06Pa
b. 板极: 250V 收集极: 470V 离子流: 100 μA 氚气压强: 5.3Pa

Fig.3 Ion current density on sample plate

a. Plate: 275V Collector: 375V Ion current: 100 μA Tritium gas pressure: 106Pa
b. Plate: 250V Collector: 470V Ion current: 100 μA Tritium gas pressure: 5.3Pa

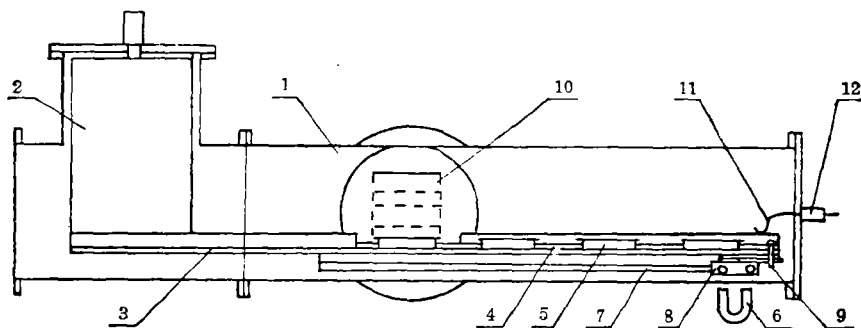


图4 可移动液氮冷冻靶

Fig. 4 The movable cooling sample plate system

改变氚气压强或电子枪阴极发射电子流的大小, 可改变样品上接受到的氚离子流大小。离子流最高可达100 μA 。

本装置特别设计安装了一种可移动液氮冷冻靶。其结构原理示于图4。图中靶座冷阱(2)的底部连接靶座(3)。冷阱与靶座在电气上是绝缘的, 但相互间有较好的热传导。靶座上安有拖板(4)及放样品的小舟(5)。在工作室(1)外用永久磁铁(6), 可带动装在导轨(7)上的软铁(8), 通过销钉(9)可使拖板移动。这样拖板上的四个样品小舟在真空状态下

可作任意位移,使它们依次处于离子源(10)下接受离子束照射。样品接受到的离子流可通过弹簧针(11),经由金属陶瓷引线(12)引出测量。冷阱通入液氮后,经过~30min靶座温度可下降至-90°C左右。

与国外同类型装置相比,本装置具有如下优点:

(1) 样品处于低温状态之下接受氚离子照射,因此不会因过热而使样品遭受破坏。这样可以增加照射剂量率,缩短反应时间和保证样品的生物活性。

(2) 每次可装入4个样品,每个样品接受照射的氚离子束参数可以按需要分别调整。使一次充入工作室里的氚气利用率大大提高。

(3) 油扩散泵不停止工作即可取放样品,每一次取放样品后,工作室达到本底真空度(10^{-5} Pa)仅需0.5h。

用本装置对亮氨酸脑啡肽样品做了一些初步标记实验。结果表明:(1)在氚离子束流为 $10\mu\text{A}$ 时,用300eV能量的氚离子轰击样品所得的产品比度要比用200eV轰击时高;(2)在同样能量(300eV)和同样束流($10\mu\text{A}$)情况下,薄的靶片($0.32\text{mg}/\text{cm}^2$)比厚的靶片($0.55\text{mg}/\text{cm}^2$)所得产品比度高;(3)样品在有液氮冷却状态下,连续轰击40min无分解。但不经冷却的样品有明显的分解。这说明在装置中设置冷却部件有重要的作用。自本装置1985年初完成后至1988年9月,氚离子标记课题组使用该装置对十几种化合物进行氚离子标记。证明氚离子对小分子、大分子均可标记,靶的冷却效果好,样品生物活性保持完整。尤其是牛筋蛋白,用其它标记法均标记不上,而氚离子标记可达几倍 $3.7 \times 10^{10}\text{Bq}/\text{mmol}$ 。

这些实验结果表明该装置的设计是成功的,装置设计时考虑的两大改进,其效果是明显的。

彭庆义等同志做了部分工作,作者对此表示感谢。

参 考 文 献

- [1] G.A. Bush et al., *J. Biol. Chem.*, 256 (1981), 12215.
- [2] UK Patent Application, GB 2044772, A.

A tritium ion beam labelling apparatus and its applications

Sheng Shugang Cao Rongzhen

(Shanghai Institute of Nuclear Research, Academia Sinica)

Abstract:

A new apparatus suitable to the advanced tritium ion beam labelling technique is presented. It consists of a vacuum chamber, an ion source, a sample target seat, a pumping system and a gas supply unit. A movable cooling sample plate which is meticulously designed is an original part of this apparatus. The new labelling technique has advantages of reserving fully biological activity and requiring relatively short reaction time. It has been used to tritiate enkephalin, pachyman and other nonvolatile organic compounds with good results.

Keywords: Tritium ion Ion source Labelling technique
Proteins Peptides

(1989年4月6日收到)