

标准,对相关的内容进行分析和综合,可以更加全面和深入地理解和贯彻这些标准的精髓,从而进一步推动卫生防护标准体系的创新和发展,对于提高X射线影像诊断质量,降低群体剂量以及保障放射工作人员、患者和公众的安全和健康具有重要意义。

参考文献:

- [1] 陈尔东,李小娟,刘长安,等.放射卫生防护标准的体系建设[J].中国辐射卫生,2007 16(1): 37-39.
- [2] 赵兰才.《放射诊疗管理规定》概述[J].中华放射医学与防护杂志,2006 26(2): 101-105.

(收稿日期:2008-05-12)

【工作报告】

流式细胞仪在放射医学中的应用

张继隼,阮健磊,刘建香

中图分类号:R81 文献标识码:D

流式细胞术(Flow Cytometry, FCM)是上世纪70年代发展起来的高科学技术,它集计算机技术、激光技术、流体力学、细胞化学、细胞免疫学于一体,同时具有分析和分选细胞功能。它不仅可测量细胞的大小、内部颗粒的性状,还可检测细胞表面和细胞浆抗原、细胞内DNA、RNA含量等,可对群体细胞在单细胞水平上进行分析,在短时间内检测分析大量细胞,并收集、储存和分析数据,进行多参数定量分析;能够分类收集(分选)某一亚群细胞,分选纯度>95%。在血液学、免疫学、肿瘤学、药理学、分子生物学等学科广泛应用。这是近些年来兴起的高、新技术。

1 流式细胞仪主要构造

流式细胞仪主要由以下五部分构成:①流动室及液流驱动系统②激光光源及光束形成系统③光学系统④信号检测与存储、显示、分析系统⑤细胞分选系统。

2 流式细胞仪的工作原理

流动室(Flow Cell或Flow Chamber)是流式细胞仪的核心部件,流动室由石英玻璃制成,单细胞悬液在细胞流动室里被鞘液包绕通过流动室内的一定孔径的孔,检测区在该孔的中心,细胞在此与激光垂直相交,在鞘液约束下细胞呈单行排列依次通过激光检测区。流动室里的鞘液是稳定流动的,控制鞘液的装置是在流体力学理论的指导下由一系列压力系统、压力感受器组成,只要调整好鞘液压力和标本管压力,鞘液流包绕样品并使样品流保持在液流的轴线方向,能够保证每个细胞通过激光照射区的时间相等,从而使激光激发的荧光信息准确无误。综合型仪器的流动室孔径有60 μ m、100 μ m、150 μ m、250 μ m等多种,供研究者选择。小型仪器一般固定装置了一定孔径的流动室。

在细胞流动室上装有超声压电晶体,通电后超声压电晶体发生高频震动,可带动细胞流动室高频震动,使细胞流动室喷嘴流出的液流束断成一连串均匀的液滴,每秒钟形成液滴上万个。每个液滴中包含着一个样品细胞,液滴中的细胞在形成液滴前已被测量,如符合预定要求则可被充电,在通过偏转板的高压静电场时向左或向右偏转被收集在指定容器中,不含细胞液滴或细胞不符合预定要求液滴不被充电亦不发生偏转进入中间废液收集器中,从而实现了分选。最终由计算机获取数据,处理和分析,可得到多种技术参数,得到各种图形及统计结果。

3 流式细胞仪的主要特点

3.1 测量速度快速 流式细胞仪对悬液中的细胞进行快速测量,其速度可高达每秒数千甚至上万个细胞。其快速分选的速度

是其他技术无法比拟的。

3.2 荧光检测灵敏度高 一般能测出单个细胞上<600个荧光分子,两个细胞间的荧光差>5%即可区分。这样流式细胞术对细胞群体组成的亚群进行定量分析,具有其它手段无法赶超的优越性。

3.3 前向角散射(FSC)光检测灵敏度高 前向角散射(FSC)反映被测细胞的大小,一般流式细胞仪能够测量到0.2 μ m~0.5 μ m。

3.4 流式细胞仪的分辨率高 通常用变异系数(CV)值来表示,一般流式细胞仪能够达到<2.0%,这也是测量标本前用荧光微球调整仪器时要求必须达到的。

3.5 分选纯度高 一般流式细胞仪分选细胞纯度可达99%以上。而更可贵的是分选后细胞还可再用于实验研究中。流式细胞术分选过程中不伤害细胞。

4 流式细胞仪的应用范围

流式细胞术是放射生物医学研究中常用的对单个细胞或其他生物微粒进行快速定量分析与分选的高新技术。例如光散射的测量与定量测定细胞的特征;如测定DNA、RNA等等。就能从一个复杂的细胞混合群体中评价某个细胞群体,对大量的细胞进行测量才能发现稀有的亚群并分选出来,所以流式细胞的快速分选是有其优势,这些应用既包括细胞倍体分析和细胞周期测定等传统领域,还包括肿瘤细胞表面特征的研究、免疫表型分析和细胞毒性研究、细胞功能确定等特殊应用,以及基因转移效率和细胞毒性评价等生命科学前沿领域的最新应用,流式细胞术在放射生物学方面推广极大地拓展了流式细胞术的应用领域,流式细胞术为研究人员开拓新的研究方向提供了重要的技术支持。而多数流式细胞术是一种零分辨率的仪器。它只能测量一个细胞的总核酸、总蛋白等,而不能测量细胞中某一特定部位的核酸或蛋白,这是它的不足之处。但流式细胞术对细胞群体组成群体的亚群进行定量分析,又具有其他手段无法比拟的优越性。

5 流式细胞仪在放射医学中的应用

著名的放射生物学家刘树铮教授的课题组应用流式细胞仪做了大量的工作,从X射线照射对动物的体内、体外做了系统的研究工作,涉及了细胞周期、细胞凋亡、T细胞亚群、凋亡蛋白、细胞的表面分子、周期素蛋白表达、T细胞的游离钙、蛋白激酶C、细胞膜的完整性和通透性、膜电位、转基因的效率及效果等等方面。目前许多的研究者利用流式细胞仪能够客观快速的分析多个样品的优势,探索作为辐射生物剂量计的生物指标,如T细胞受体的突变频率、血型糖蛋白A(GPA)、DNA双链断裂、细胞中的微核、基因表达等等,为核和辐射事故受照者的生物剂量估算打下坚实的基础。

(收稿日期:2008-06-06)