

电感耦合等离子体质谱法分析小鼠组织中以及 和 DNA 结合的贫铀浓度与²³⁵U/²³⁸U

郭志英 梁月琴 崔晓磊 于水*

(军事医学科学院生物医学分析中心, 北京 100850)

摘 要 在 DU 染毒动物模型基础上, 采用 ICP-MS 技术同时测定各组织中铀浓度和²³⁵U/²³⁸U 比值, 分析 DU 在体内的分布和代谢规律; 提取纯化肝肾组织中的基因组 DNA, ICP-MS 检测与 DNA 结合的 DU 浓度和²³⁵U/²³⁸U。以 Pt 为内标元素, 补偿基体效应, 组织中铀的检出限为 0.0019 ~ 0.0981 μg/kg; 精密度(RSD)为 0.92% ~ 2.13%, 回收率在 100% ± 10% 内。ICP-MS 对贫铀气溶胶中²³⁵U/²³⁸U 检测结果与经典的 α 谱仪检测结果相吻合。DNA 样品采用中性溶液稀释, DNA 中铀元素检出限为 0.0016 μg/kg DNA, 回收率为 98.3% ± 7.3%。样本测定结果显示, 肾脏和骨骼对贫铀的蓄积能力最强, 脑组织几乎不受贫铀影响, 其它组织的 DU 蓄积能力介于二者之间。在肾、肝组织中, DU 可以与 DNA 发生结合, 与肾 DNA 结合更持久。组织中²³⁵U/²³⁸U 随染毒铀同位素组成和浓度发生规律性改变。铀浓度与²³⁵U/²³⁸U 均可以作为衡量核素污染类型和程度的敏感指标。

关键词 电感耦合等离子体质谱; 贫铀; ²³⁵U/²³⁸U; DNA

1 引 言

贫铀(Depleted uranium, DU)是天然铀提取²³⁵U 之后的副产品, 具有化学毒性和放射性^[1]。进入体内的 DU 可以迁移、蓄积于人和动物组织中, 形成永久性辐射源, 对组织造成损伤^[2]。体内的 DU 多以铀酰离子(UO₂²⁺)的形式存在, 与体液中酸反应, 形成可透过生物膜的络合物, 与 DNA 结合造成 DNA 的断裂损伤^[3], 引起基因突变, 甚至致癌^[4]。生物样本中的 DU 含量通常非常低。目前, 测定铀含量的方法有能谱法^[5]、中子活化法、激光荧光分析法^[6]、γ 谱法和原子吸收光谱(AAS)等。这些方法存在样品制备复杂、核素易损失和基体干扰严重等不足, 不能满足生物样品中痕量元素的测定。电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)因其具有定量准确、检测快、灵敏度高、可进行多元素测定和同位素比值分析等优势, 已应用于临床医学、生物医药和法医学等领域^[7~9], 但是在分子生物学水平上应用 ICP-MS 进行痕量分析鲜有报道。

金属元素与生物大分子 DNA 的结合, 是进行生物机能调节的关键因素, 特别是在一些病理状态下, 一些具有放射性或化学毒性的元素与 DNA 发生结合、相互作用, 引起分子结构改变、断裂和功能丧失等, 这些损伤的严重程度与其结合毒性元素的量密切相关。通常的样品预处理过程可能引起 DNA 分子的构象和性质发生改变, 结合的金属元素发生解离, 无法与未结合元素进行区分, 因此检测结果很难反映出真正作用于 DNA 分子的元素的量。本研究在对 DNA 进行提取、纯化的基础上, 采用透析法消除了未结合元素的干扰, 并将 DNA 溶于中性稀释剂中, 尽可能保证 DNA 结构的稳定性, 以此溶液进行检测, 检测结果最大程度上体现了铀元素与 DNA 分子的结合程度, 有助于进一步探讨 DU 与 DNA 的相互作用。DU 中的²³⁵U 的含量远低于天然铀, 其放射性比活度也大大降低(<60%), 因此在测定铀含量的同时, 测定²³⁵U/²³⁸U 比值对于判断组织的受污染和损伤程度具有重要意义。本研究采用 ICP-MS 技术同时测定动物各组织中铀浓度和²³⁵U/²³⁸U 比值, 以了解 DU 在体内主要脏器的分布和代谢规律。

2 实验部分

2.1 仪器与材料

7500ce 型电感耦合等离子体质谱(ICP-MS, 美国 Agilent 公司); MARS5 型微波消解系统(美国

2012-06-18 收稿; 2012-08-08 接受

本文系国家科技部创新方法研究项目(No. 2008IM021500), 国家自然科学基金项目(No. 81102072)和第 47 批博士后基金项目(No. 20100471003)资助

* E-mail: yushui@nic.bmi.ac.cn

CEM 公司); Smart SpecTM Plus 紫外分光光度计(美国 BIO-RAD 公司); 100 kD 透析袋(美国 Spectrum 公司)。

贫铀屑($^{235}\text{U}/^{238}\text{U}=0.00431$ 核工业总公司); 铂标准溶液(国家有色金属及电子材料分析测试中心); 铀元素标准溶液(美国 Agilent 公司, $^{235}\text{U}/^{238}\text{U}=0.00725$); 组织基因组 DNA 提取试剂盒(北京原平皓); 10% 水合氯醛; 去离子水($\geq 18.2\text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$) ,其余试剂均为色谱纯。

清洁级 雄性 BALB/c 小鼠 50 只(体重 18~22 g,军事医学科学院实验动物中心提供) ,温度: $(22\pm 2)^{\circ}\text{C}$,湿度: 50%~65% ,常规饲养。

2.2 实验方法

2.2.1 贫铀溶液的制备^[10] 取适量 DU 屑,加入少量浓 HNO_3 加热溶解,用 Na_2CO_3 调至 pH 7.0,用水稀释成铀浓度为 40 mg/L 的 DU 溶液,于 4°C 保存备用。吸取 0.5 mL HNO_3 于 10 mL 去离子水中,用 Na_2CO_3 调至 pH 7.0,去离子水定容至 50 mL,制成对照组空白注射溶液 4°C 保存备用。

2.2.2 动物模型制备与样本采集 小鼠随机分为实验组和对照组,实验组根据染毒后饲养时间(0, 3, 6, 12, 24, 72, 120, 240 和 480 h) 分为 9 组,每组 5 只。实验组小鼠按 20 mg/kg 的剂量腹腔注射 DU 溶液,对照组注射等体积空白注射液。染毒后分别饲养不同时间段,将小鼠以 10% 水和氯醛 0.05 mL/10 g 腹腔注射麻醉,心脏取血、处死,取肾、肝、脾、脑、股骨、肺和睾丸组织于洁净离心管中,于 -80°C 保存。

2.2.3 样品前处理与组织基因组 DNA 的提取和定量分析 分别称取实验组和对照组小鼠每种组织 50~100 mg,加入 3 mL 浓 HNO_3 微波消解, 110°C 赶酸,用纯水稀释 100 倍,于 4°C 保存待测。采用全基因组 DNA 提取试剂盒,按说明书步骤提取肝、肾组织中的基因组 DNA。得到的 DNA 沉淀用 70% 乙醇清洗、离心、晾干后用适量水溶解。以水为透析液,将提取到的 DNA 经多次透析,去除未与 DNA 结合的游离 DU。紫外分光光度计测定 DNA 浓度与 A_{260}/A_{280} 。根据定量结果,用水将 DNA 稀释至 $2\times 10^4\mu\text{g/L}$,于 20°C 保存。检测前,采用稀释剂将 DNA 稀释至 $1\times 10^4\mu\text{g/L}$ 。

2.2.4 DNA 稀释剂的配制 用水分别配制酸性和中性 DNA 稀释剂。中性稀释剂中含有 0.01% (V/V) Triton X-100; 酸性稀释剂中含有 1% (w/V) HNO_3 和 0.01% (V/V) Triton X-100,于 4°C 保存。

2.2.5 标准溶液的配制 将铀标准溶液用 2% (w/V) HNO_3 稀释,分别配制成铀浓度为 0, 0.05, 0.2, 1, 0.2, 0.4, 0.8 和 8.0 mg/L 的标准贮备液。取上述配制好的标准贮备液 100 μL , 对照组组织消解溶液 100 μL (或浓度为 $1\times 10^4\mu\text{g/L}$ 的对照组 DNA), 用 2% (w/V) HNO_3 定容至 10.0 mL, 分别配制成铀浓度为 0, 0.5, 2, 10, 20, 40 和 80 $\mu\text{g/L}$ 铀元素标准溶液。将 Pt 标准溶液用 2% (w/V) HNO_3 配制成 Pt 浓度为 1.0 mg/L 的标准溶液。

2.2.6 ICP-MS 参数优化 仪器采用含有 ^7Li , ^{89}Y , ^{140}Ce 和 ^{205}Tl (1 $\mu\text{g/L}$) 的调谐溶液优化设置,调谐如下: RF 功率: 1500 W; 雾化器: Babington; 雾化室: 石英双通道, 2°C ; 采样深度: 8.0 mm; 载气流速: 1.22 L/min; 反应气(He) 流速: 5.0 mL/min; 蠕动泵转速: 0.12 r/s; 样品提升率: 0.5 mL/min; 透镜 1 电压: 2 V; 透镜 2 电压: -125 V ; 碰撞池入口电压: -30 V ; 碰撞池出口电压: -38 V ; 采样锥(Ni): 1.2 mm; 截取锥(Ni): 0.4 mm。测量方式: 脉冲; 检测次数: 5; 采用 Ratio 元素比值测定模式,同时检测样品中的铀浓度和 $^{235}\text{U}/^{238}\text{U}$ 比值,比值测定积分时间: 1.5 s; 扫描次数: 5; 检测过程中以 $^{235}\text{U}/^{238}\text{U}=0.00725$ 的同位素标准溶液校正比值检测结果。

3 结果与讨论

3.1 内标元素的选择

为了避免分析过程中产生的质量歧视效应,选取质量数与铀接近的元素为内标元素。通过对待测样品的元素半定量分析,了解各元素含量水平。各组织中 Pb 的含量均较高,全血中铅含量甚至达到铀元素含量的 1400 倍。表 1 中,按平均含量计算,组织中待选内标元素与铀元素的比值比较: $\text{Th}/\text{U} > \text{Tl}/\text{U} > \text{Bi}/\text{U} > \text{Pt}/\text{U}$ 。实验采用在线内标法,标准定量曲线以铀元素和内标元素计数的比值为纵坐标,因此内标元素在样本中的含量应极低,以确保定量分析准确性; Pt 在组织中的含量较低,与铀元素的质量数较为接近,因此选取 ^{195}Pt 作为内标元素。

表 1 半定量测定组织中部分内标元素含量与铀元素含量比值

Table 1 Ratios of semiquantitative concentration of different internal standard with uranium in tissues

组织 Tissue	待选内标元素含量/铀含量 Concentration of internal standard selected/concentration of uranium				
	Pt/U	Tl/U	Pb/U	Bi/U	Th/U
全血 Blood	<0.152	<0.135	1403.226	1.935	1.5
肝 Liver	<0.117	0.565	17.391	0.174	56.552
肾 Kidney	0.07	3.108	36.486	0.082	14.865
脾 Spleen	0.081	0.406	57.813	1.516	62.5
大脑 Cerebrum	<0.061	0.125	18.636	0.568	61.364
股骨 Femur	<0.09	0.264	43.636	<0.075	26.364
睾丸 Testicle	<0.109	0.674	30.233	<0.091	21.628
肺 Lung	<0.108	0.667	25.641	<0.090	30.769

3.2 检出限、稳定性、精密度、回收率和²³⁵U/²³⁸U 比值准确性分析

对以对照组织消解液为基体的空白溶液进行 10 次重复测定 3 倍标准偏差 (3s) 对应的铀元素浓度值为方法的检出限,各对照组织的检测精密度 (RSD) <3%,稳定性较好,RSD<5%。每测定 10 个样品观察一次内标元素的计数值,分析仪器的稳定性 (RSD) 检测过程中,内标元素计数的 RSD<5.0%,仪器稳定性良好;在每种组织的检测过程中,每隔 20 个样品进行一次质控分析,分别对低、中、高浓度 (2、20 和 40 μg/L) 的 U 标准溶液连续分析 3 次,所测结果在准确值的 10% 误差范围内。对同一样品平行测量 10 次,分析检测方法的精密度 (RSD);在对照组样品中加入浓度与铀浓度相近的标准溶液,进行加标回收实验,在各组织中 U 的加标回收率在 100%±10% 之内,结果见表 2。

表 2 组织中铀含量分析的方法学确证

Table 2 Analytical validation of uranium concentration in tissues

组织 Tissue	线性相关系数 Correlation coefficient (r)	检出限 Detection limit (μg/kg)	稳定性 Stability RSD (%)	精密度 Precision RSD (%)	回收率 Recovery (%)
全血 Blood	0.9999	0.0022	4.26	1.05	101.2±1.9
肝 Liver	1.0000	0.0981	3.39	1.09	96.7±1.4
肾 Kidney	0.9999	0.0039	4.63	0.92	107.4±1.8
脾 Spleen	0.9999	0.0098	3.17	1.85	99.6±2.0
大脑 Cerebrum	0.9999	0.0041	4.53	0.94	94.5±1.2
股骨 Femur	1.0000	0.0041	3.26	2.01	98.7±0.5
睾丸 Testicle	1.0000	0.0027	2.93	1.90	102.2±2.9
肺 Lung	0.9999	0.0019	3.10	2.13	93.9±3.0

分别采用大面积屏栅电离室 α 谱和 ICP-MS 测定 DU 气溶胶样品中的²³⁵U/²³⁸U 比值,结果分别为 0.00236(α-Spectrometer) 和 0.00249(ICP-MS),二者相对误差为 6.0%,结果基本一致。

3.3 DNA 鉴定与稀释剂选择

采用紫外分光光度计测定肝、肾 DNA 样品在 260 nm 的吸光度值,计算 DNA 浓度。样品 DNA 的 A₂₆₀/A₂₈₀ 为 1.7~1.9,表明提取的基因组 DNA 无蛋白质和 RNA 残留干扰。在稀释剂中加入 Triton X-100 起增敏作用,可以富集溶液中的离子,使检测体系更加均匀。比较两种不同性质的 DNA 稀释剂,中性稀释剂在检出限、精密度和回收率等方面均优于酸性稀释剂(表 3),酸性稀释剂中 U 回收率仅为 47.3%±3.9%,很难满足准确检测的要求。

表 3 两种稀释剂中 DNA 结合铀含量分析的方法学确证

Table 3 Analytical validation of uranium concentration combined with DNA in two diluents

稀释剂类型 Diluent type	线性相关系数 Correlation coefficient (r)	检出限 Detection limit (μg/kg DNA)	精密度 Precision RSD (%)	回收率 Recovery (%)
酸性稀释剂 Acidic diluent	0.9997	0.0152	4.35	47.3±3.9
中性稀释剂 Neutrality diluent	0.9999	0.0016	1.06	98.3±7.3

酸性溶液,特别是 HNO₃ 溶液,是 ICP-MS 检测中常见的溶剂,一般的离子在酸性溶液中比较稳定,可保证检测的准确性。DNA 是具有 α 双螺旋结构的碱性生物活性物质,在酸性环境中由于电荷相互作用其结构发生改变,溶解性和稳定性都会降低,这有可能是样品在酸性稀释剂中回收率低的原因。

3.4 各组织中的铀含量及 $^{235}\text{U}/^{238}\text{U}$ 比值测定结果

表 4 为染毒后不同时间点小鼠各组织中的铀浓度及 $^{235}\text{U}/^{238}\text{U}$ 比值。根据组织对贫铀的蓄积能力,可将其分为高、中、低 3 组:其中肾脏和股骨的贫铀蓄积能力最强,脑组织最弱,其余组织的贫铀蓄积能力介于二者之间。

染毒 6 h 后,肾脏中的铀浓度达到峰值,为对照组的 303 倍。随着部分贫铀经尿液排出,铀浓度缓慢下降。染毒 3 h 后, $^{235}\text{U}/^{238}\text{U}$ 显著降低,并一直保持在较低水平,接近于染毒贫铀溶液 $^{235}\text{U}/^{238}\text{U}$ (0.00431)。染毒 480 h 后,虽然肾脏铀浓度已经接近本底水平,但是 $^{235}\text{U}/^{238}\text{U}$ 为 0.00597,提示仍有部分贫铀蓄积于组织中。染毒 6 h 后,小鼠股骨中的铀浓度迅速增高至对照组的 130 倍,之后股骨中的铀浓度一直保持在高浓度水平,至染毒 480 h 时达到对照组的 180 倍;相应的 $^{235}\text{U}/^{238}\text{U}$ 在染毒后迅速降低,并长期保持较低水平。与肾脏相比,骨组织对贫铀的蓄积效应更显著,因此骨骼可能受到贫铀持续的放射和化学毒性作用,引起骨骼和造血系统的病理作用。

由于脑组织具有特殊的血脑屏障结构,血液中的贫铀很难通过完整的血脑屏障进入脑组织。因此,染毒小鼠脑组织中的贫铀含量和 $^{235}\text{U}/^{238}\text{U}$ 始终保持在本底水平。其余组织中的铀浓度随着染毒进程,均呈现先升后降的规律变化,而 $^{235}\text{U}/^{238}\text{U}$ 呈现相反的变化。表明除骨骼之外,其它组织中贫铀的蓄积可能是一过性的,贫铀对这些组织的毒性作用也是短时的。

表 4 组织中铀浓度与 $^{235}\text{U}/^{238}\text{U}$ 测定结果 (n=5)

Table 4 Results of uranium concentration and $^{235}\text{U}/^{238}\text{U}$ isotopic ratio in tissues (n=5)

时间 Time (h)	指标 Index	肾(1) Kidney	股骨(2) Femur	肝(3) Liver	脾(4) Spleen	肺(5) Lung	睾丸(6) Testicle	全血(7) Blood	大脑(8) Cerebrum
对照 Control	U($\mu\text{g}/\text{kg}$)	16.98	12.14	5.423	7.839	4.873	3.497	2.551	2.413
	$^{235}\text{U}/^{238}\text{U}$	0.00715	0.00725	0.00809	0.00783	0.00827	0.00811	0.00843	0.00860
0	U($\mu\text{g}/\text{kg}$)	16.89	12.46	5.335	7.673	3.394	3.669	2.549	2.387
	$^{235}\text{U}/^{238}\text{U}$	0.00716	0.00723	0.00828	0.00781	0.00848	0.00800	0.00857	0.00868
3	U($\mu\text{g}/\text{kg}$)	2577.25	239.41	15.03	13.08	22.905	7.406	6.292	2.640
	$^{235}\text{U}/^{238}\text{U}$	0.00462	0.00471	0.00645	0.00671	0.00575	0.00742	0.00794	0.00835
6	U($\mu\text{g}/\text{kg}$)	5169.94	1574	27.58	34.87	43.96	18.57	10.425	2.420
	$^{235}\text{U}/^{238}\text{U}$	0.00458	0.00451	0.00583	0.00650	0.00529	0.00579	0.00734	0.00818
12	U($\mu\text{g}/\text{kg}$)	4593	1732	39.59	58.94	52.868	22.957	8.659	2.720
	$^{235}\text{U}/^{238}\text{U}$	0.00462	0.00458	0.00556	0.00617	0.00511	0.00572	0.00785	0.00834
24	U($\mu\text{g}/\text{kg}$)	4429	1770.13	43.31	64.42	41.157	15.393	6.906	2.740
	$^{235}\text{U}/^{238}\text{U}$	0.00460	0.00455	0.00539	0.00499	0.00531	0.00628	0.00732	0.00831
72	U($\mu\text{g}/\text{kg}$)	2883.51	1956	33.88	54.23	40.118	13.03	4.544	3.300
	$^{235}\text{U}/^{238}\text{U}$	0.00453	0.00452	0.00632	0.00509	0.00532	0.00682	0.00826	0.00779
120	U($\mu\text{g}/\text{kg}$)	2097.86	2068.5	28.37	43.31	35.515	10.863	3.138	2.060
	$^{235}\text{U}/^{238}\text{U}$	0.00458	0.00450	0.00640	0.00645	0.00563	0.00700	0.00793	0.00861
240	U($\mu\text{g}/\text{kg}$)	475.7	2146.9	11.68	31.55	32.404	7.313	2.536	2.120
	$^{235}\text{U}/^{238}\text{U}$	0.00462	0.00455	0.00667	0.00615	0.00558	0.00747	0.00820	0.00848
480	U($\mu\text{g}/\text{kg}$)	35.83	2167.7	6.490	18.16	10.831	3.624	2.521	2.210
	$^{235}\text{U}/^{238}\text{U}$	0.00597	0.00450	0.00729	0.00618	0.00711	0.00839	0.00844	0.00859

3.5 与 DNA 结合的铀含量及 $^{235}\text{U}/^{238}\text{U}$ 测定结果

表 5 显示,染毒后 24 h,肾 DNA 结合铀含量达到峰值,较肾组织铀含量达到峰值的时间(6 h)有所延后,每 mgDNA 结合 9.34 ng 铀;肝 DNA 结合铀达峰值的时间(120 h)较肝组织铀含量峰值时间(24 h)延后更长。染毒 480 h 后,肝组织 DNA 结合铀已接近对照组,而肾组织 DNA 结合铀仍显著高于对照组。表明肝脏 DNA 对贫铀的结合是短时的,这可能与肝脏代谢和更新较快有关,而肾组织 DNA 与贫铀结合较为持久,对 DNA 造成持续损伤。

3.6 组织中铀浓度与 $^{235}\text{U}/^{238}\text{U}$ 的相互关系

天然铀的 $^{235}\text{U}/^{238}\text{U}$ 为 0.00725,当受到不同类型的铀污染时,其比值发生相应改变,当有富积铀污染时,比值增高;有贫铀污染时,比值降低。以小鼠的 8 种组织中铀浓度为横坐标, $^{235}\text{U}/^{238}\text{U}$ 为纵坐标得到图 1。

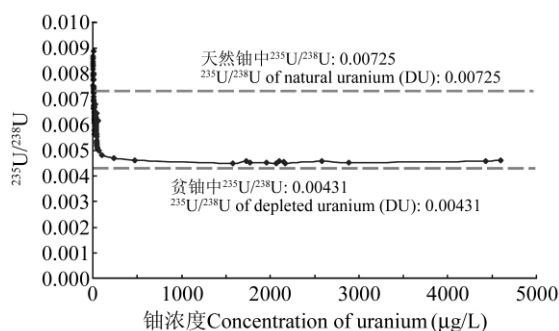
随着组织中铀浓度升高, $^{235}\text{U}/^{238}\text{U}$ 迅速下降,当铀浓度升高至 $100\mu\text{g}/\text{kg}$ 左右时曲线变平缓, $^{235}\text{U}/^{238}\text{U}$ 逐渐

表 5 肝、肾组织 DNA 结合铀含量与 $^{235}\text{U}/^{238}\text{U}$ 比值($n=5$)Table 5 Results of uranium concentration and $^{235}\text{U}/^{238}\text{U}$ isotopic ratio combined with DNA in liver and kidney ($n=5$)

时间 Time (h)	肾 Kidney		肝 Liver	
	DNA 结合铀含量 Concentration of uranium combined with DNA ($\mu\text{g/g}$ DNA)	$^{235}\text{U}/^{238}\text{U}$	DNA 结合铀含量 Concentration of uranium combined with DNA ($\mu\text{g/g}$ DNA)	$^{235}\text{U}/^{238}\text{U}$
对照 Control	4.26	0.00722	4.51	0.00730
0	4.98	0.00707	4.73	0.00716
3	5.09	0.00687	4.93	0.00708
6	7.52	0.00675	5.02	0.00678
12	8.55	0.00667	5.44	0.00662
24	9.34	0.00567	6.07	0.00684
72	7.45	0.00646	7.89	0.00652
120	7.33	0.00669	8.89	0.00652
240	7.29	0.00664	7.45	0.00690
480	7.23	0.00664	4.81	0.00739

趋近 0.00431, 即染毒 DU 溶液中的 $^{235}\text{U}/^{238}\text{U}$ 。组织中的 $^{235}\text{U}/^{238}\text{U}$ 也反映污染核素的存在, 即使在污染核素含量较低时, 其比值的变化可能很显著。染毒 480 h 后, 肾组织中的铀含量已接近于对照水平, 但是 $^{235}\text{U}/^{238}\text{U}$ 仍为 0.00597, 表明肾脏中有一定量的贫铀残留。因此, $^{235}\text{U}/^{238}\text{U}$ 也可以作为衡量核素污染, 甄别核素性质的敏感指标, 对判断组织损伤范围和程度具有重要意义。

本研究建立的 ICP-MS 测定生物样本中铀浓度和 $^{235}\text{U}/^{238}\text{U}$ 的方法, 准确可靠、稳定性和精密度良好。将 ICP-MS 和分子生物学技术相结合, 特异性地检测 DU 与 DNA 的结合水平及 $^{235}\text{U}/^{238}\text{U}$, 对于研究贫铀在体内的分布代谢规律, 及 DU 毒理学机制具有重要意义, 也为放射生物学研究提供一种新的研究手段。

图 1 小鼠组织中铀浓度- $^{235}\text{U}/^{238}\text{U}$ 比值图Fig. 1 $^{235}\text{U}/^{238}\text{U}$ isotopic ratio associated with concentration of uranium in mouse tissues

References

- Shawky S. *East Mediterr Health J.* ,2002 ,8 (2-3) : 432-439
- Briner W. *Int J Environ Res Public Health* ,2010 ,7(1) : 303-313
- YU Shui ,ZOU Xiao-Ying ,ZHONG Wei-Qiang ,WANG Gong-Peng ,GUO Li-Sheng. *Chin. J. Radio. Med. Prot.* ,2001 ,21(2) : 90-92
于水,邹晓颖,仲伟强,王功鹏,郭力生. 中华放射医学与防护杂志,2001 ,21(2) : 90-92
- Fairlie I. *Med. Confl. Surviv.* ,2009 ,25(1) : 41-64
- LIANG Zhi-Rong ,CHEN Qi ,LIU Xue-Jun. *Journal of Nuclear Radiochemistry* ,2007 ,29(1) : 57-59
梁志荣,陈琦,刘学军. 核化学与放射化学,2007 ,29(1) : 57-59
- LI Rong ,AI Guo-Ping ,XU Hui ,REN Jiong ,LOU Shu-Fen ,CHENG Tian-Min ,SU Yong-Ping ,ZHENG Huai-En ,JIANG Jian-Xin ,HUANG Yue-Sheng. *J. Fourth Mil Med Univ.* ,2004 ,25(6) : 503-506
李蓉,艾国平,徐辉,任洞,楼淑芬,程天民,粟永萍,郑怀恩,蒋建新,黄跃生. 第四军医大学学报,2004 ,25(6) : 503-506
- ZENG Jing ,YAN Lai-Lai ,OUYANG Li ,WANG Jing-Yu. *Chinese J. Anal Chem.* ,2011 ,39(8) : 1176-1180
曾静,闫赖赖,欧阳荔,王京宇. 分析化学,2011 ,39(8) : 1176-1180
- ZHANG Lin-Lin ,XING Xiao-Ru ,WU Guo-Ping ,WEI Fu-Sheng. *Spectroscopy and Spectral Analysis* ,2009 ,29(4) : 1115-1118
张霖琳,邢小茹,吴国平,魏复盛. 光谱学与光谱分析,2009 ,29(4) : 1115-1118
- Castro W ,Hoogewerff J ,Latkoczy C ,Almirall J R. *Forensic Sci. Int.* ,2010 ,195(1) : 17-27
- YANG Zhi-Hua ,LU Ying ,CAO Zhen-Shan ,YU Shui ,ZHU Mao-Xiang. *J. Health Toxicol.* ,2002 ,16(3) : 146-149

杨陟华, 陆颖, 曹珍山, 于水, 朱茂祥. 卫生毒理学杂志, 2002, 16(3): 146-149

Determination of Depleted Uranium and $^{235}\text{U}/^{238}\text{U}$ of Tissues and Combined with DNA in Mouse by Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry

GUO Zhi-Ying, LIANG Yue-Qin, CUI Xiao-Lei, YU Shui*

(Biomedical Analysis Center, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850, China)

Abstract The BALB/c mice was exposed to depleted uranium (DU) solution ($^{235}\text{U}/^{238}\text{U}=0.00431$). Blood and the tissues of kidney, liver, spleen, cerebrum, femur, lung and testicle were collected in different time after the exposure. The uranium concentration and $^{235}\text{U}/^{238}\text{U}$ ratio in tissues were determined simultaneously by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS), and to analyze the distribution and metabolism of DU in the body. The extracted and purified genomic DNA in kidney and liver was dialyzed to excluding the DU uncombined, and quantified by ultraviolet spectrophotometry. Then the DNA was diluted with special diluents, and the binding level of DU with genomic DNA in kidney and liver was detected by ICP-MS. Pt was confirmed as the internal standard to compensate matrix influence. The limits of detection in tissues were in the range of 0.0019 $\mu\text{g}/\text{kg}$ to 0.0981 $\mu\text{g}/\text{kg}$. The precision (RSD) ranged from 0.9% to 2.1%, and the recovery was about 100% $\pm$ 10%. The results of $^{235}\text{U}/^{238}\text{U}$ isotopic ratio in the depleted uranium aerosols detected by ICP-MS were consistent with the results detected by α -spectrometer, and RSD = 6%. The genomic DNA was diluted with neutral solution. The detection limit of uranium in DNA was 0.0016 $\mu\text{g}/\text{kg}$, and the recovery was 98.3% $\pm$ 7.3%. The analytical results showed that DU could be differentially accumulated in different tissues, and most of DU was accumulated in kidney and bone, and scarcely enter into the brain tissue. Especially, DU would be accumulated in bone for a long time. DU could combine with genomic DNA in kidney and liver, and the binding level of DU in kidney was relatively high and persistent. The uranium concentration in tissues had relationship to some extent with $^{235}\text{U}/^{238}\text{U}$, and the $^{235}\text{U}/^{238}\text{U}$ isotopic ratio would be altered with uranium concentration. The uranium concentration and $^{235}\text{U}/^{238}\text{U}$ can be sensitive indicator to measure the pollution of uranium.

Keywords Inductively coupled plasma mass spectrometry; Depleted uranium; Isotopic ratio of uranium; Deoxyribonucleic acid

(Received 18 June 2012; accepted 8 August 2012)