

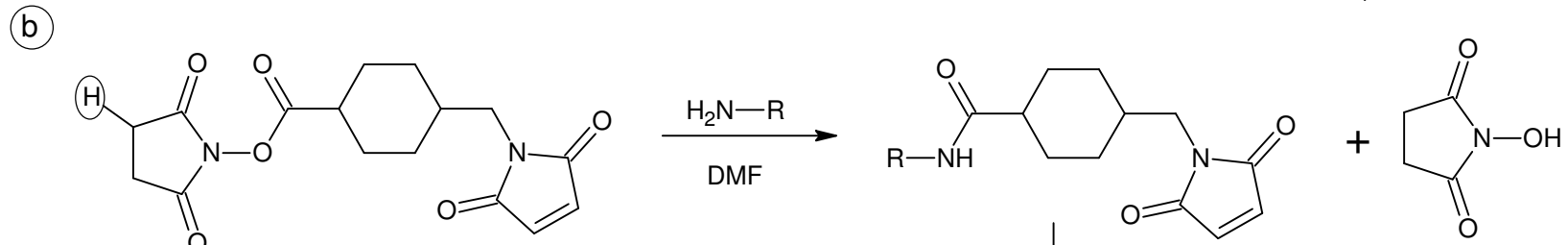
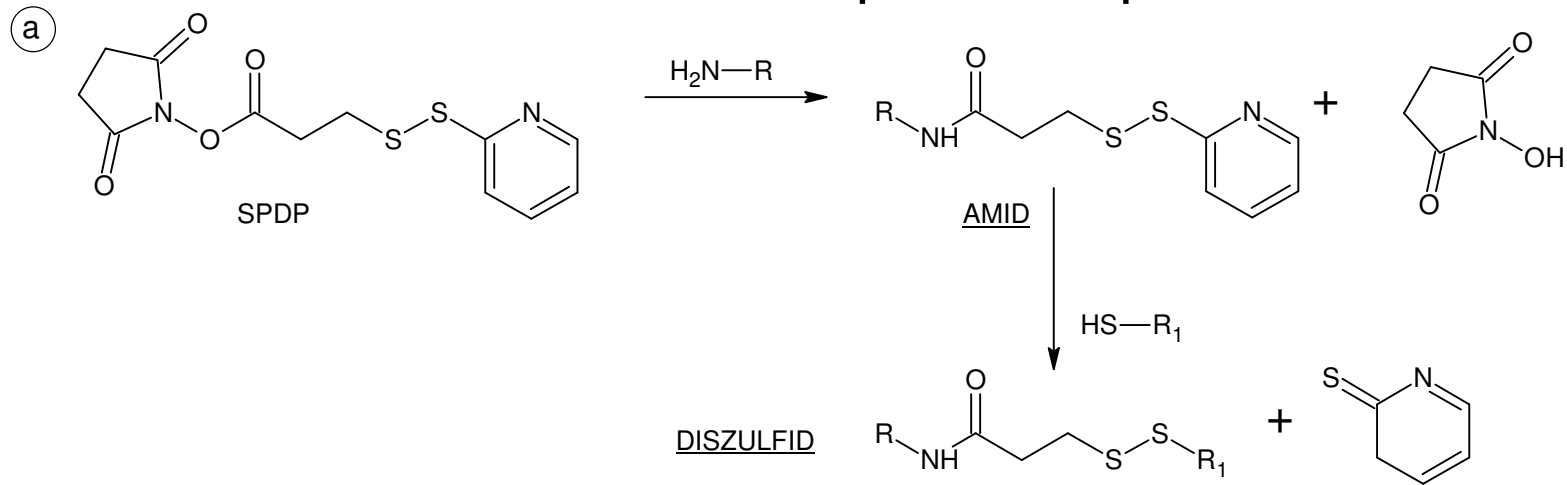
3. Heterobifunkciós reagensek



Szempon: szelektivitás vs. specificitás
különbség  és  között → két lépés

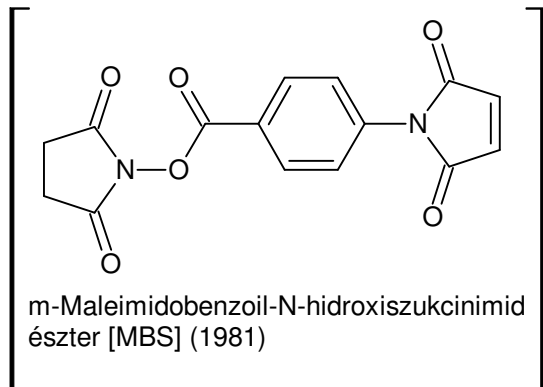
- 3.1. amino- és tiol-csoportok
- 3.2. karboxil- és tiol/amino-csoportok
- 3.3. karbonil- és tiol-csoportok
- 3.4. fotoérzékeny reagensek

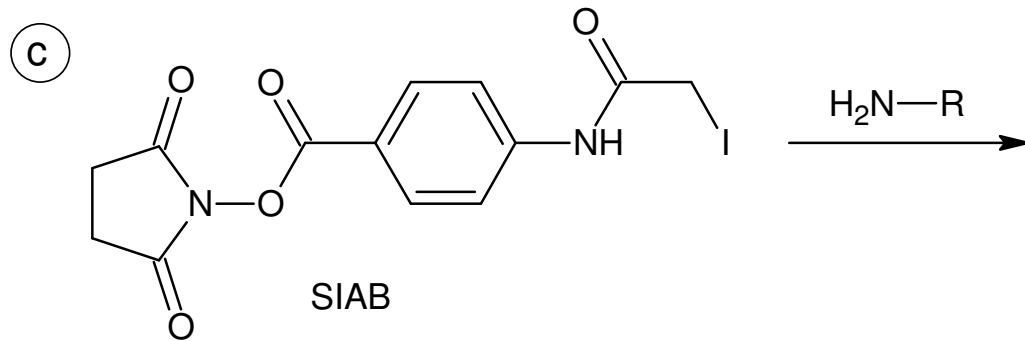
3.1. Amino- és tiol-csoportok kapcsolása



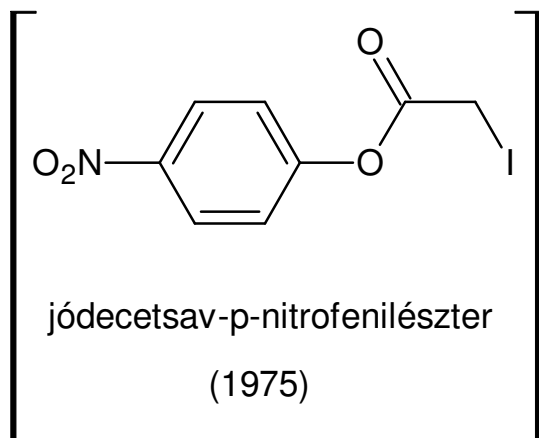
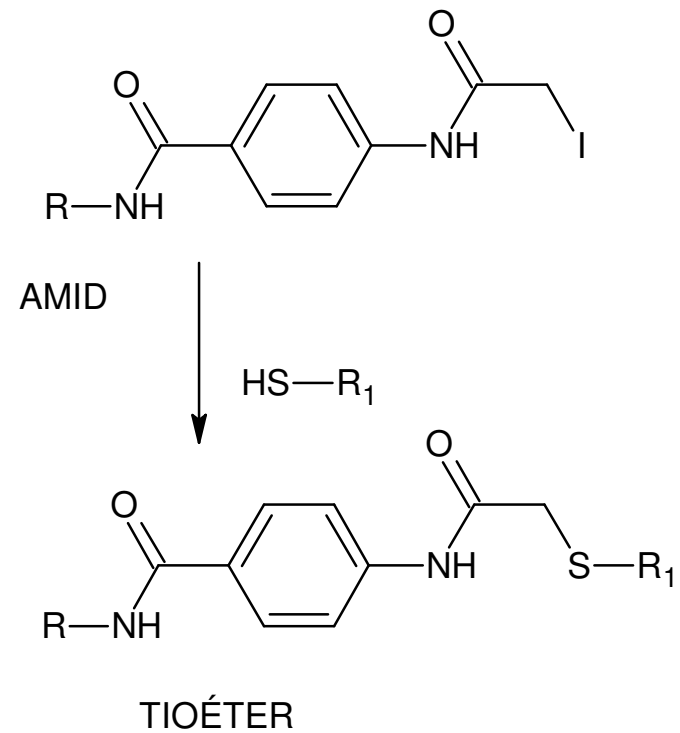
(H) = H, SMCC; \ominus SO_3^-Na^+

Yoshitake, S. et al. 101 395 (1979)



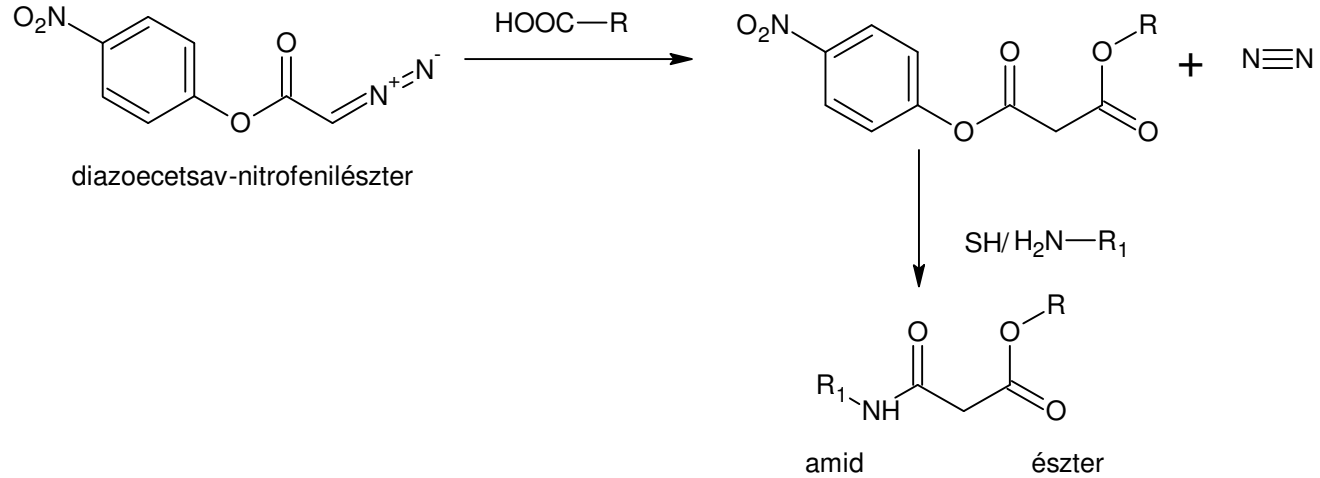


Weltman, JK et al. *Biotechniques* **1** 148 (1983)

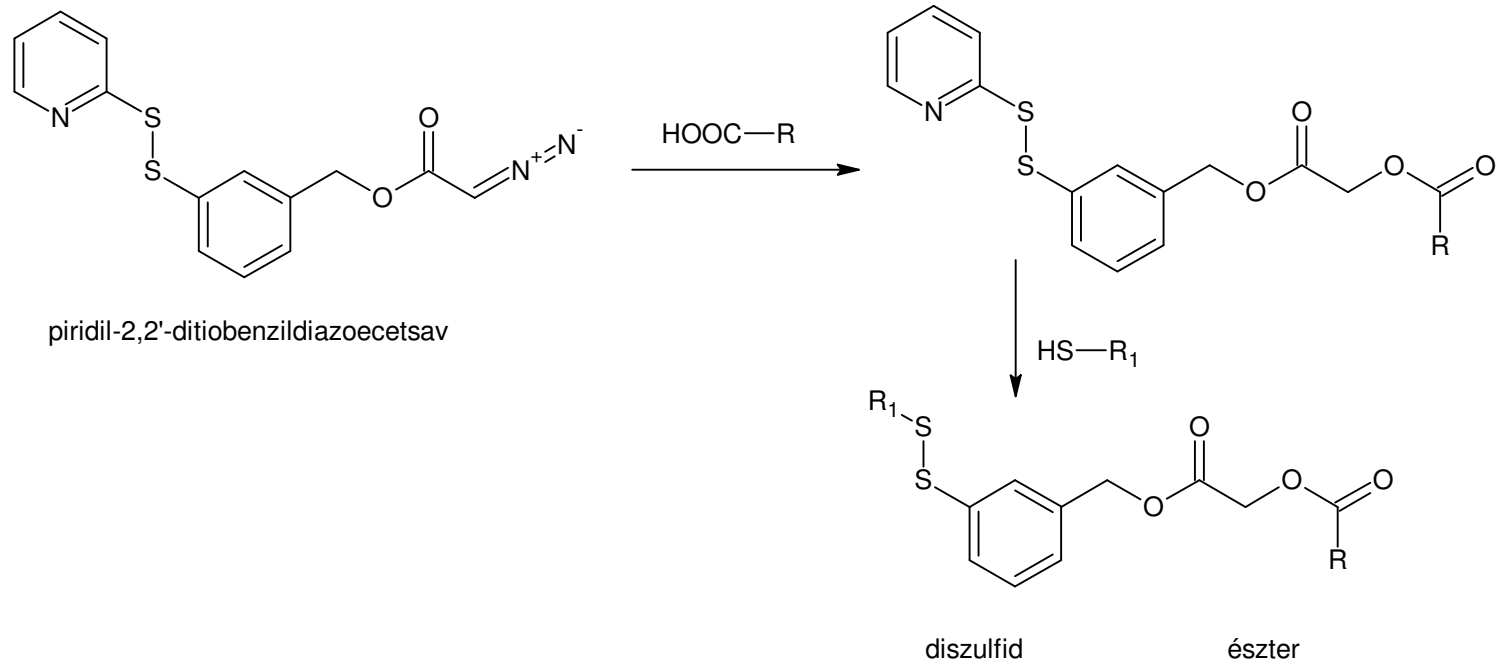


3.2. Karboxil- és tiol/amino-csoportok kapcsolása

(a)

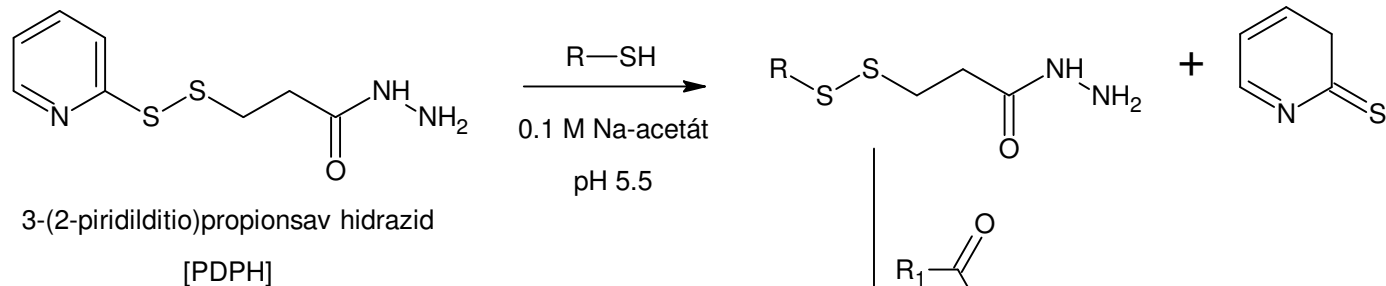


(b)



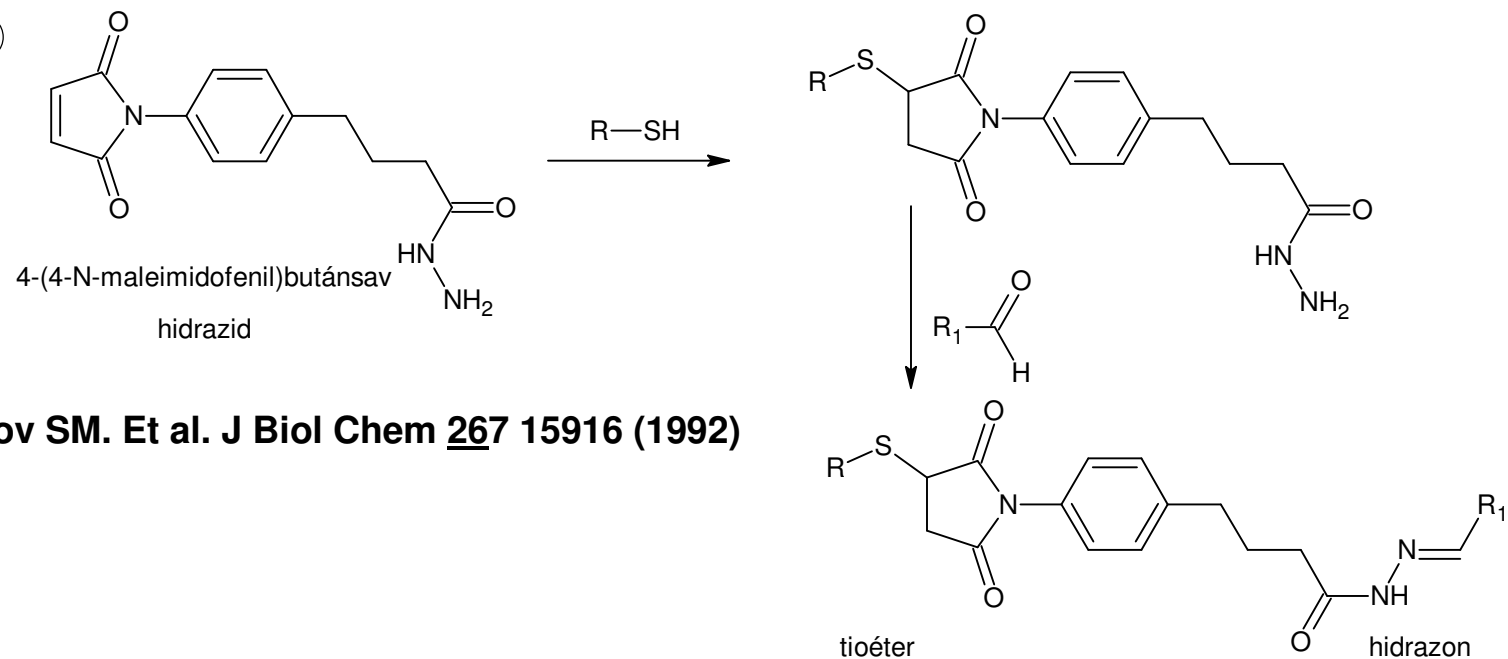
3.3. Karbonil- és tiol-csoportok kapcsolása

(a)



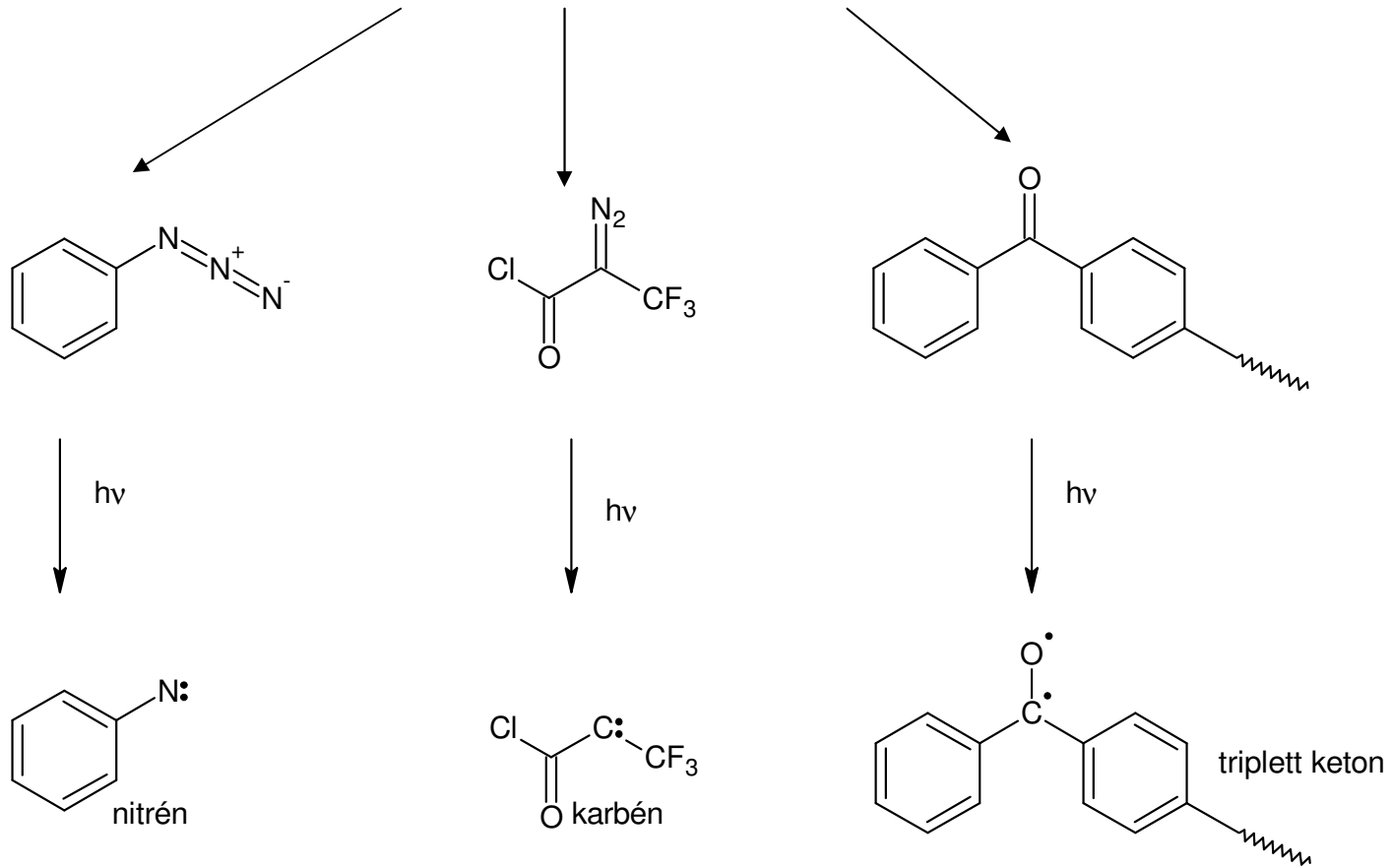
Zara JJ. Anal Biochem 194 156-162 (1991)

(b)



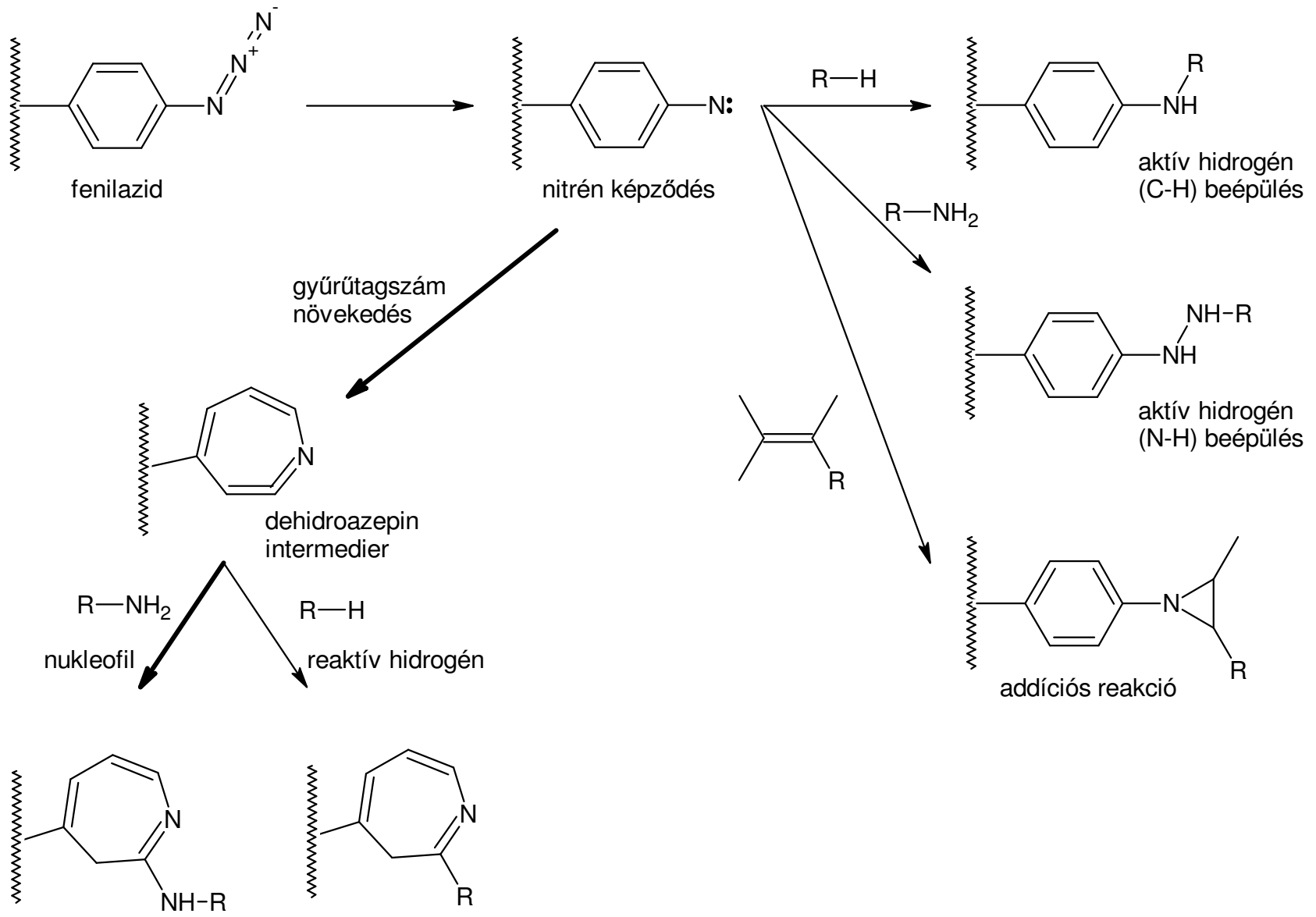
Chamov SM. Et al. J Biol Chem 267 15916 (1992)

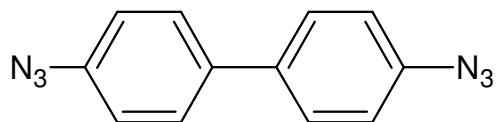
Fotonaktív csoportok



1. Alkil azid: UV gerjesztés
2. Aril azid: $\lambda = 300 - 400 \text{ nm}$
3. Acil azid: reaktív sötétben is

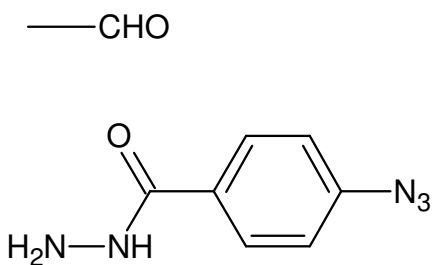
A. Aril azid csoport aktiválása és átalakulása





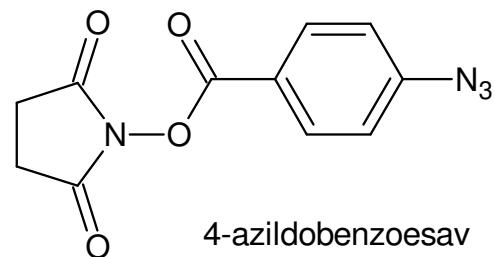
4,4'-diazidobifenil
[DABP]

Mikkelsen, RB et al. *J Biol Chem* **251** 7413 (1976)



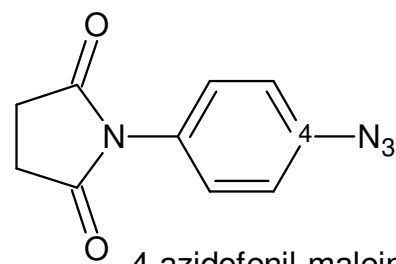
p-azidobenzoésav hidrazid
[ABH]

Trommer WE et al. *Hoppe-Seyleis Z Physiol Chem* **356** 1455 (1975)

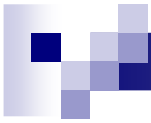


4-azidobenzoésav
N-hidroxiszukcinimid észter
[NHS-ABA, HSAB]

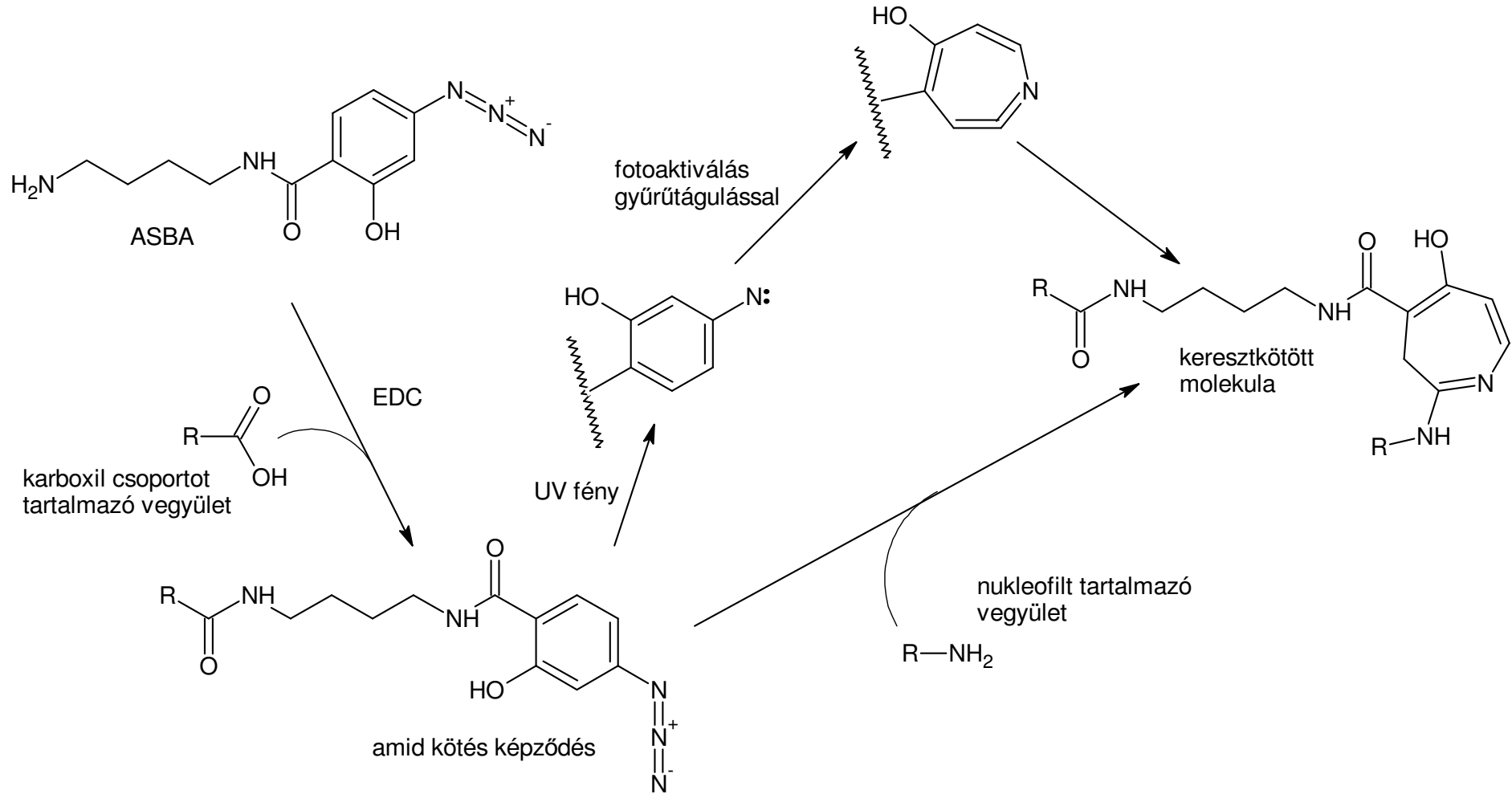
Ji, T. *Anal Biochem* **121** 286 (1982)



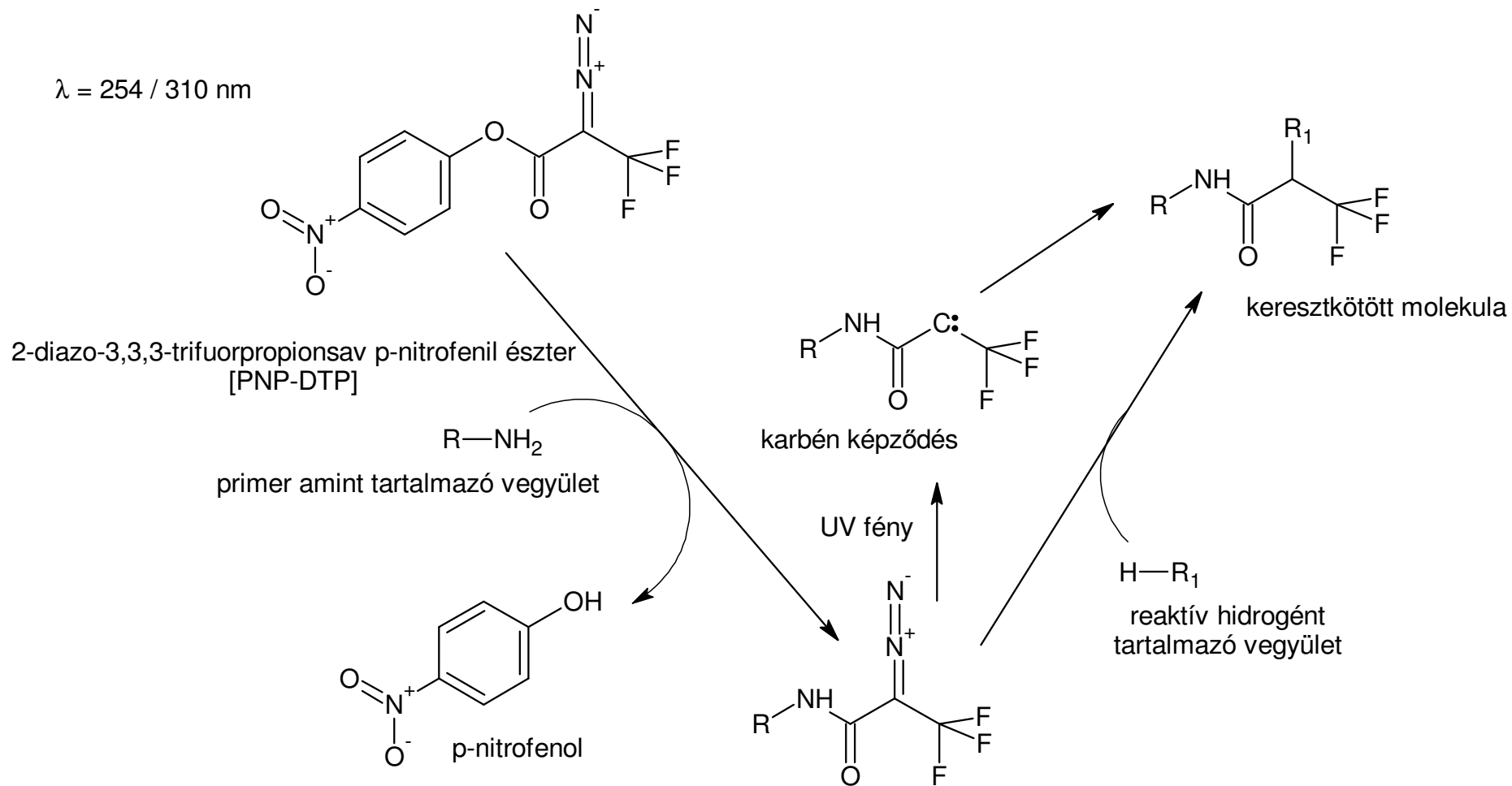
4-azidofenil-maleimid
[APM]



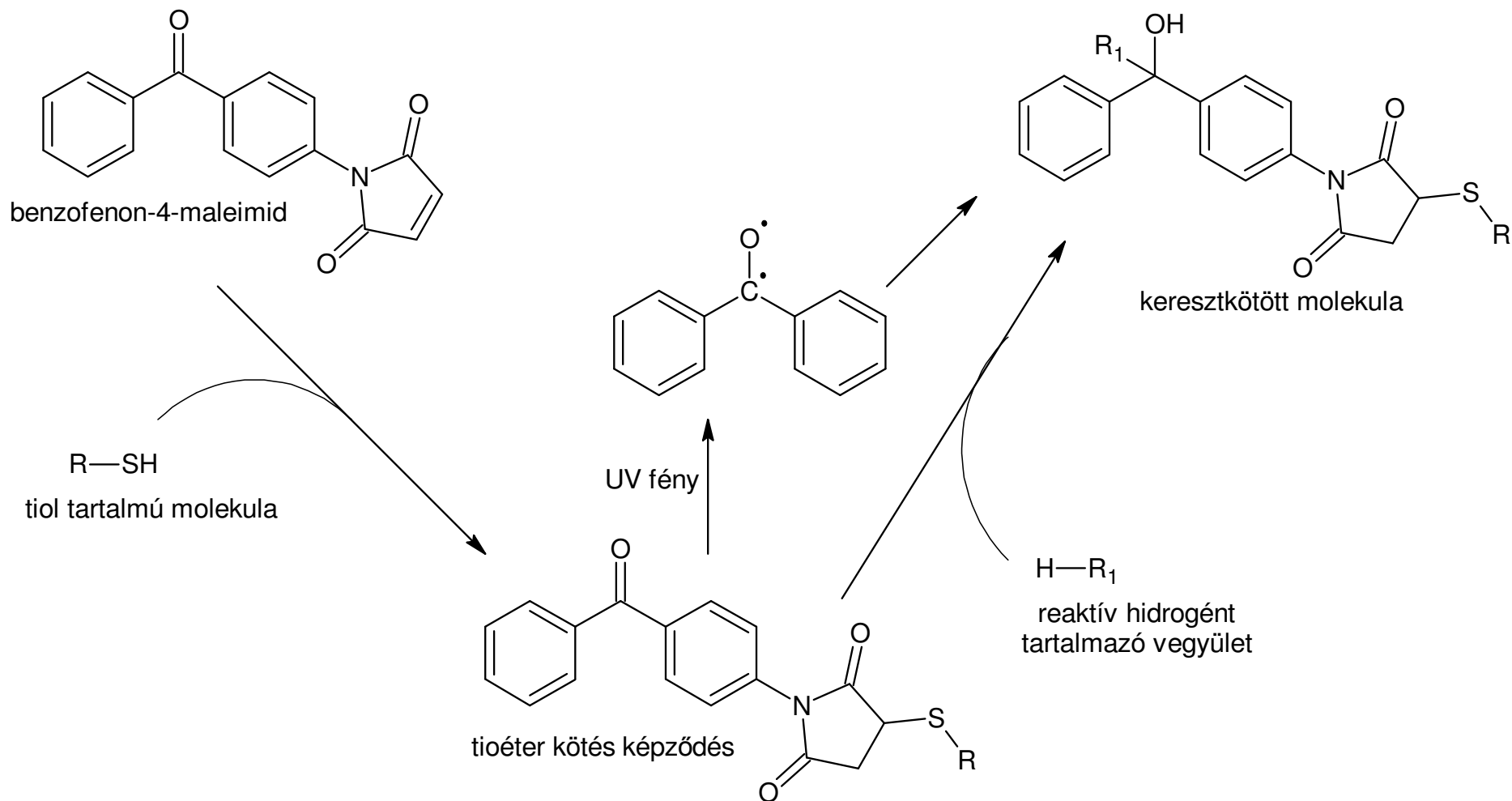
-COOH



B. Diazo vegyület aktiválása és átalakulása

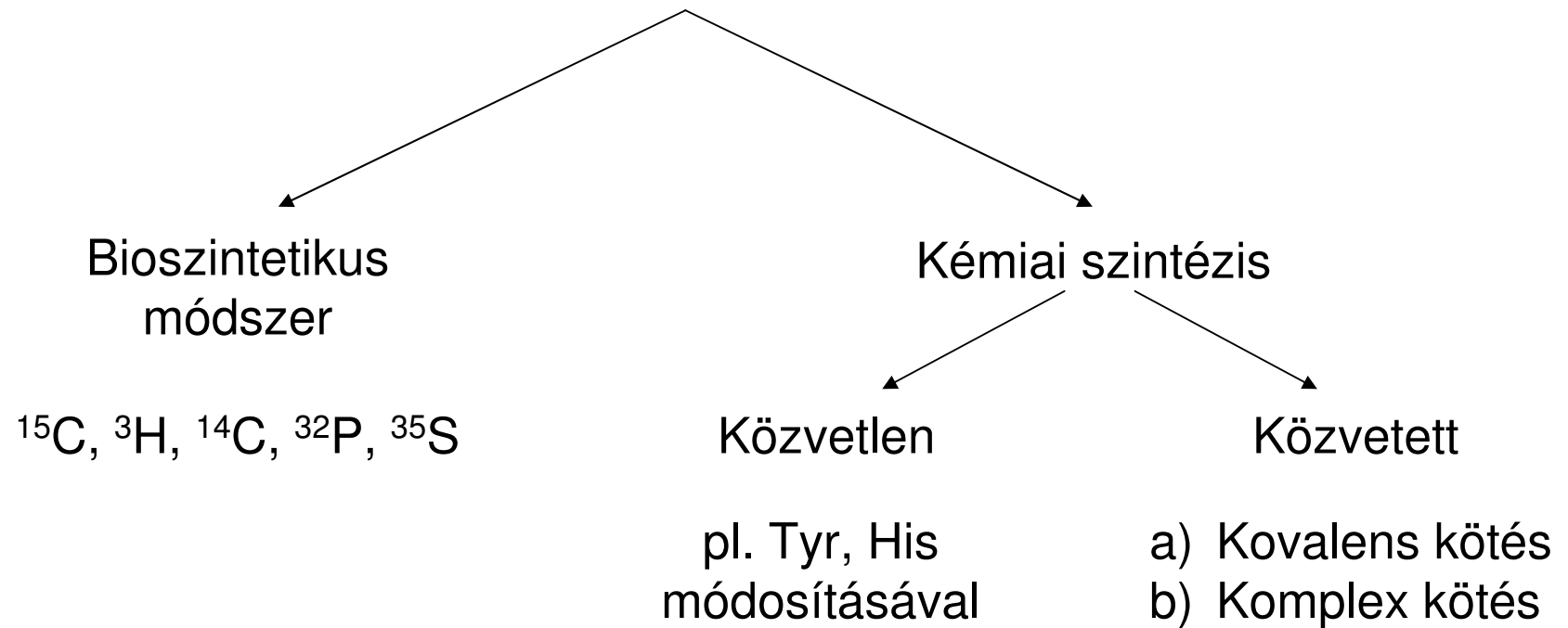


C. Benzofenon tartalmú csoportok aktiválása



Walling C, Gibian MJ, JACS 87 3361 (1965)

Radioaktív izotóp konjugátumok



Radioaktív izotópok közvetlen beépítése

Példa: ^{125}I , ^{131}I (17 jód-, 13 bróm-, 6 klór-, 2 fluorizotóp $t_{1/2} > 3$ perc)

■ In vitro

- Hosszú félélettartam ^{125}I
- Alacsony energiájú foton kibocsátás (nincs részecske)
- ár

■ In vivo „IMAGING” ^{125}I , ^{131}I (β^-), ^{123}I ($\gamma - 159$ keV)

- X-ray vagy γ -sugárzó ^{18}F (97% β^+)
- „Single photon emission tomography” (SPECT)
„positron emission tomography” (PET)
- γ -kamera

■ In vivo TERÁPIA ^{131}I (^{82}Br)

- Nem optimális (nagy energia: veszélyforrás)

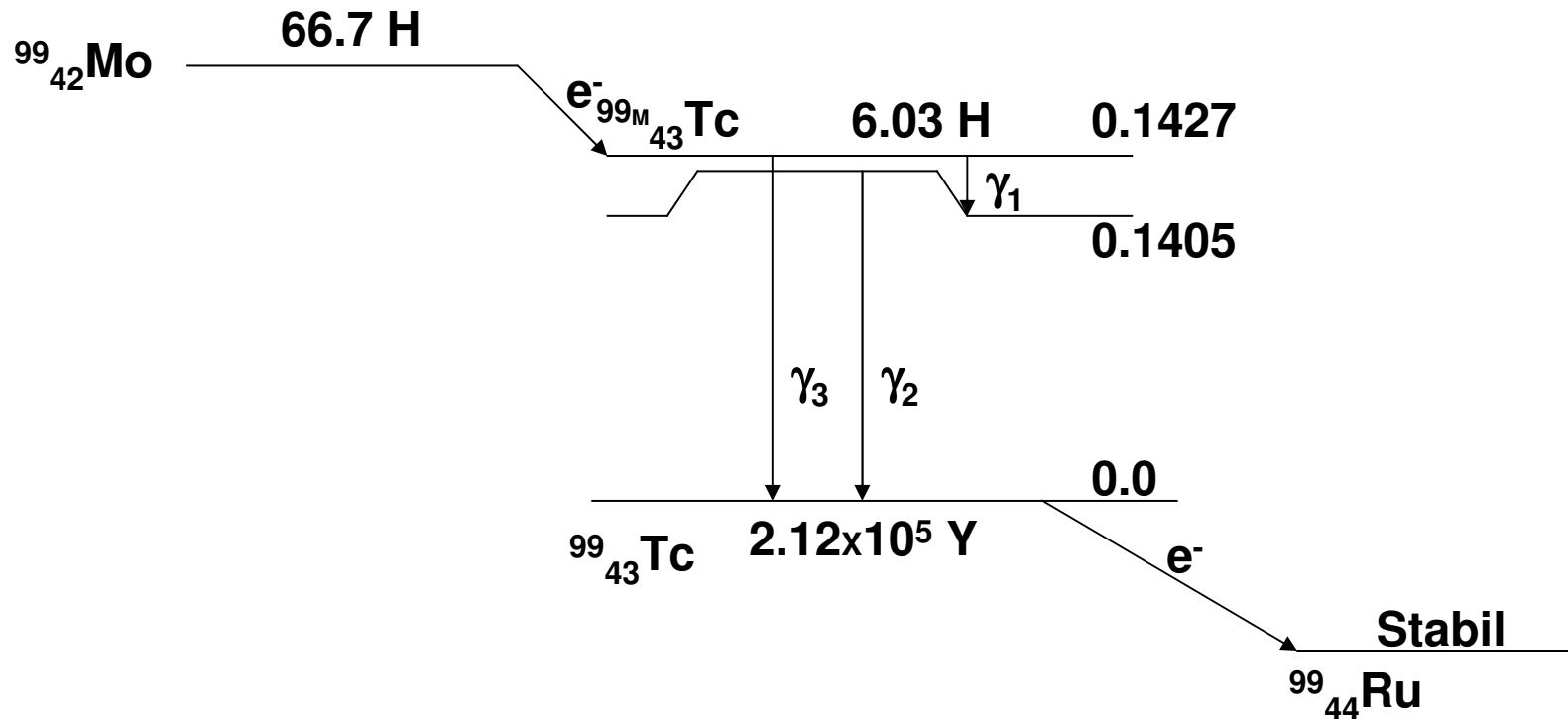
A fontosabb radioaktív izotópok jellemző adatai

Érzékenység: $^{131}\text{I} > ^{125}\text{I} > ^{14}\text{C}, ^{32}\text{P}, ^{35}\text{S}, ^3\text{H}$

Kémiai elem és rendszáma	Izotóp szimbóluma	Fizikai felezési idő	Bomlás módja	Maximális részecske-energia (MeV)	γ -energia (MeV)
Hidrogén 1	^3H	12,33 év	β^-	0,0186	-
Szén 6	^{11}C	20,4 perc	β^+	0,96	-
	^{14}C	5760 év	β^-	0,155	-
Nitrogén 7	^{13}N	10 perc	β^+	1,19	-
Oxigén 8	^{15}O	2 perc	β^+	1,73	-
Fluor 9	^{18}F	109,8 perc	β^+	0,633	-
Nátrium 11	^{24}Na	15,02 óra	β^-, γ	1,392	2,754 1,369
Foszfor 15	^{32}P	14,28 nap	β^-	1,710	-
Kén 16	^{35}S	87,2 nap	β^-	0,167	-
Kálium 19	^{40}K	$1,28 \cdot 10^9$ év	β^-, K	1,31	1,46
	^{42}K	12,36 óra	β^-, γ	3,52 (75%) 1,99 (25%)	1,525
Kalcium 20	^{45}Ca	163 nap	β^-	0,257	-
Króm 24	^{51}Cr	27,7 nap	K, e^-, γ	0,315 (e^-)	0,320
Vas 26	^{52}Fe	8,2 óra	β^+, γ	0,8	0,5
	^{59}Fe	44,6 nap	β^-, γ	1,566	1,30 1,10

Kémiai elem és rendszáma		Izotóp szimbóluma	Fizikai felezési idő	Bomlás módja	Maximális részecske-energia (MeV)	γ-energia (MeV)
Kobalt	27	⁶⁰ Co	5,272 év	β ⁻ , γ	0,318	1,33
						1,17
Réz	29	⁶⁴ Cu	12,74 óra	β ⁻ (39%)	0,575	1,34
				β ⁺ (19%)	0,656	
				K (42%)		
				γ (1%)		
Gallium	31	⁶⁷ Ga	78 óra	γ	-	0,185 0,30 ✘
Kripton	36	⁸⁵ Kr	10,73 év	β ⁻ , γ	0,687	0,514
Rubídium	37	⁸¹ Rb	4,7 óra	β ⁺ , γ	0,99	1,93
		⁸⁶ Rb	18,65 nap	β ⁻ , γ	1,78	0,95 1,078
Stroncium	38	⁹⁰ Sr	29 év	β ⁻	0,546	-
Ittrium	39	⁹⁰ Y	64 óra	β ⁻ , γ	2,29	1,761
Technécium	43	^{99m} Tc	6,02 óra	γ	-	0,140 ✘
Indium	49	¹¹¹ In	67,0 óra	γ	-	0,173 0,247 ✘
		^{113m} In	1,658 óra	γ	-	0,391
Jód	53	¹²³ I	13,3 óra	γ	-	0,16 ✘
		¹²⁵ I	59,7 nap	K, γ	-	0,0355
		¹³¹ I	8,04 nap	β ⁻ , γ	0,606	0,364 ✘
					0,25	0,080
				0,81	0,723	

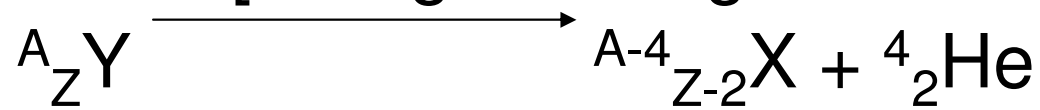
^{99m}Tc keletkezése és bomlása



**A ^{99m}Tc keletkezésében és bomlásában részt vevő magok bomlási sémája.
A rendszám jobbra nő, míg az energia függőlegesen változik.**

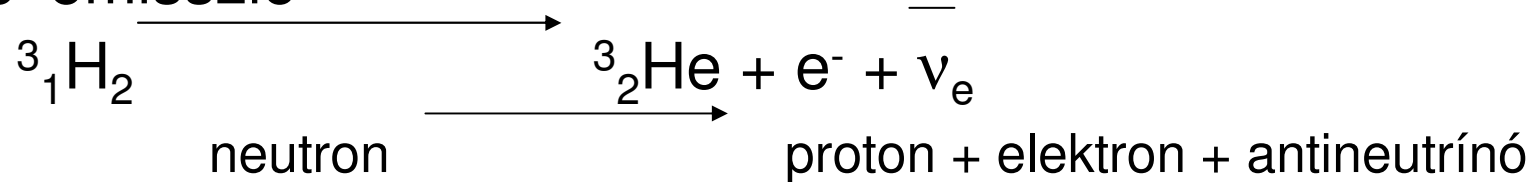
(Dillman, LT; Von der Lage, FC: Radionuclide decay schemes and nuclear parameters for use in radiation dose estimates (MIRD Pamphlet No. 10), Society of Nuclear Medicine, 1975)

- α -bomlás [biológiai közegben: mm]

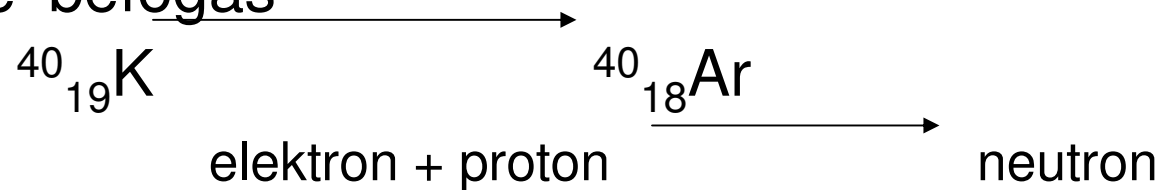


- β -bomlás

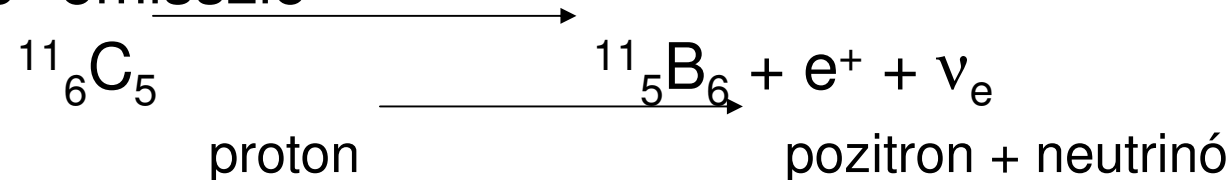
- e^- emisszió



- e^- befogás



- e^+ emisszió



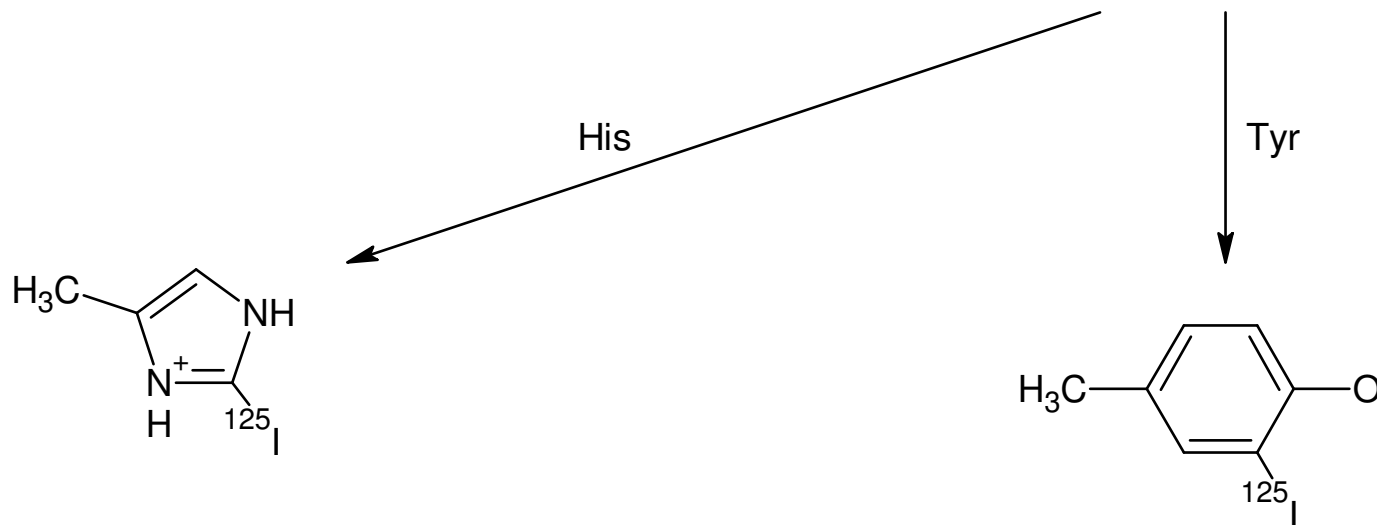
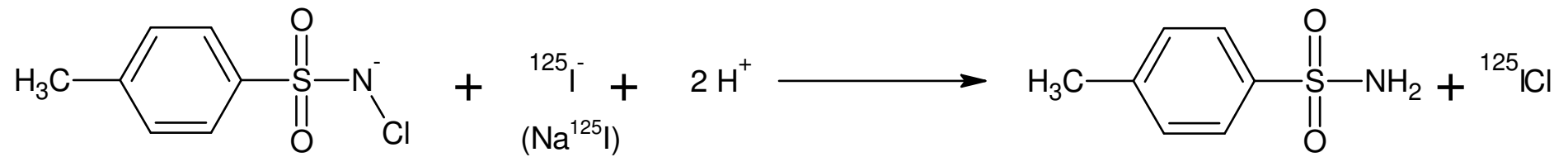
- γ -bomlás



1. Klóramin-T módszer

Greewood, FC et al. *Biochem J* **89** 114 (1963)

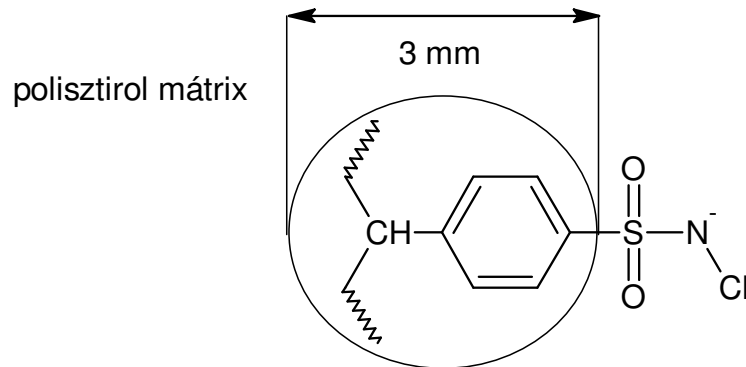
Wilbur, DS *Bioconjugate Chem* **3** 433 (1992)



- 30 s – 30 perc
- vízdékony
- pH 7 foszfát 0.05 M

2. Immobilizált klóramin-T (IODO-BEADS)

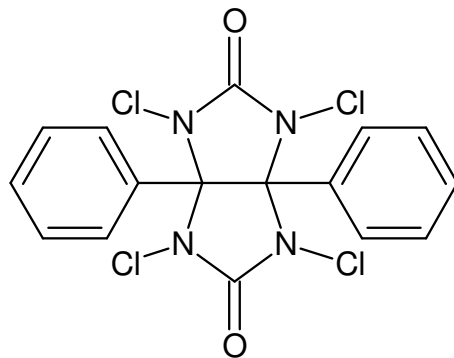
U.S. Patent 4448764 és 4436718



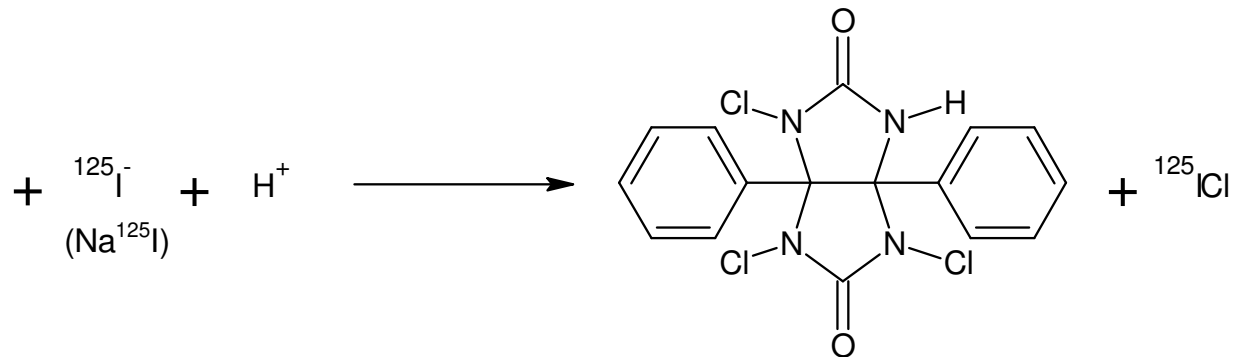
- 2 – 5 perc
- jó protein visszanyerés
- enyhébb körülmények
- pH 7.2 – 8.4

3. IODO-GEN

Fraker, PJ és Speck, JC BBRC 80 849 (1978)



1,3,5,6-tetraklór-3a,6a-difenilglicouril

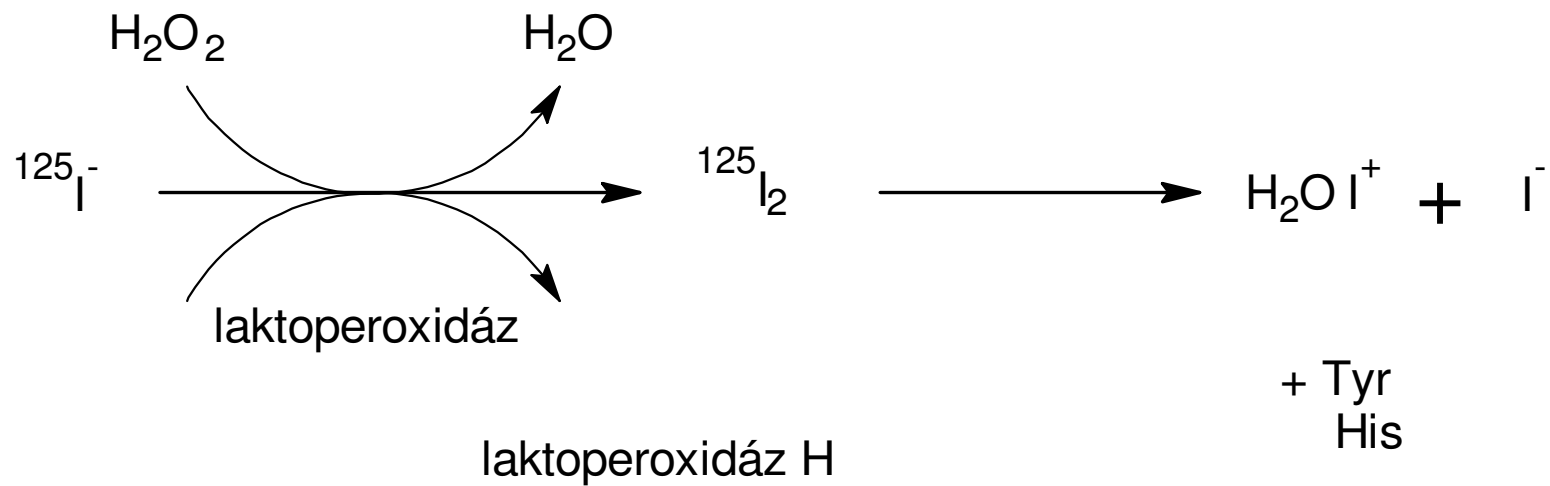


- vízben nem oldódik
- felszínre kell felvinni
- gyors
- leállítás az oldószer megvonással

Enzim katalízis

Marcholoni JJ Biochem J 113 299 (1969)

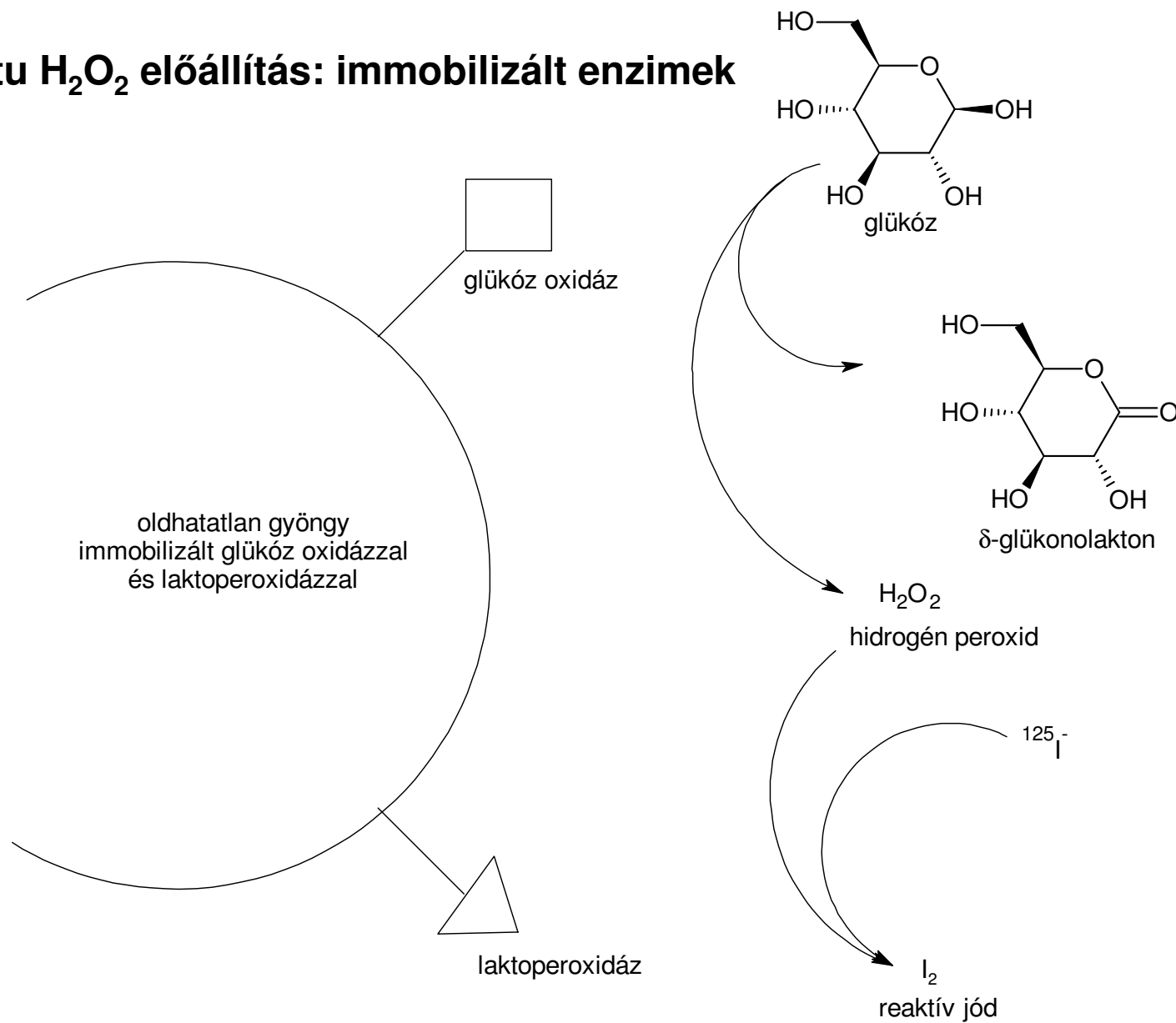
a)



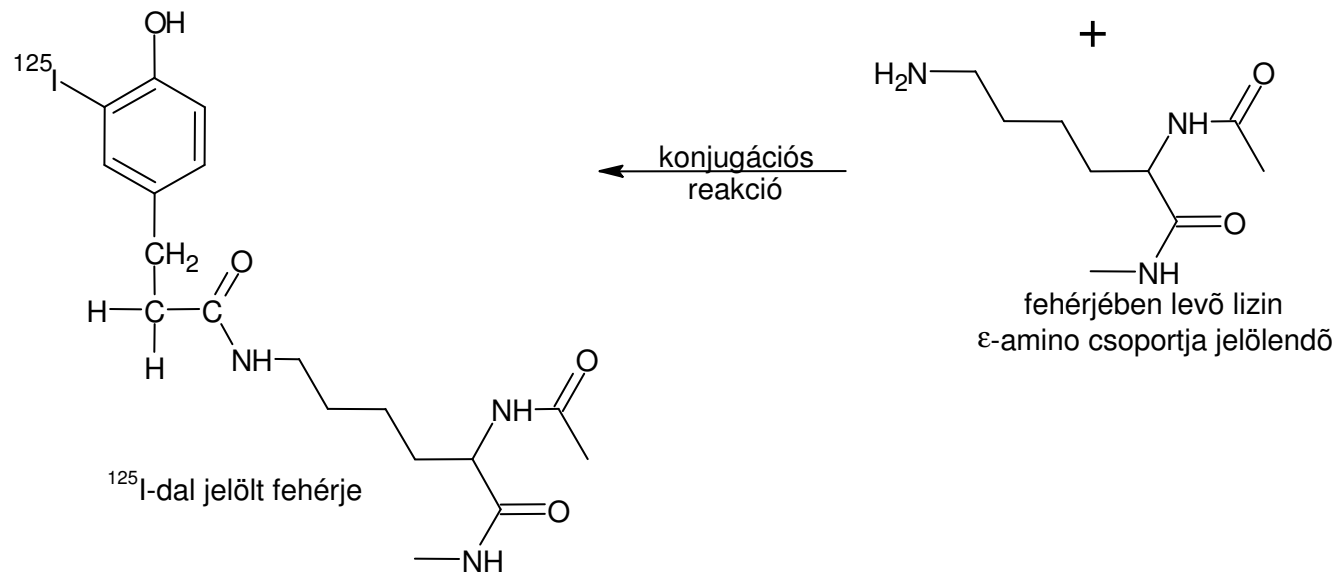
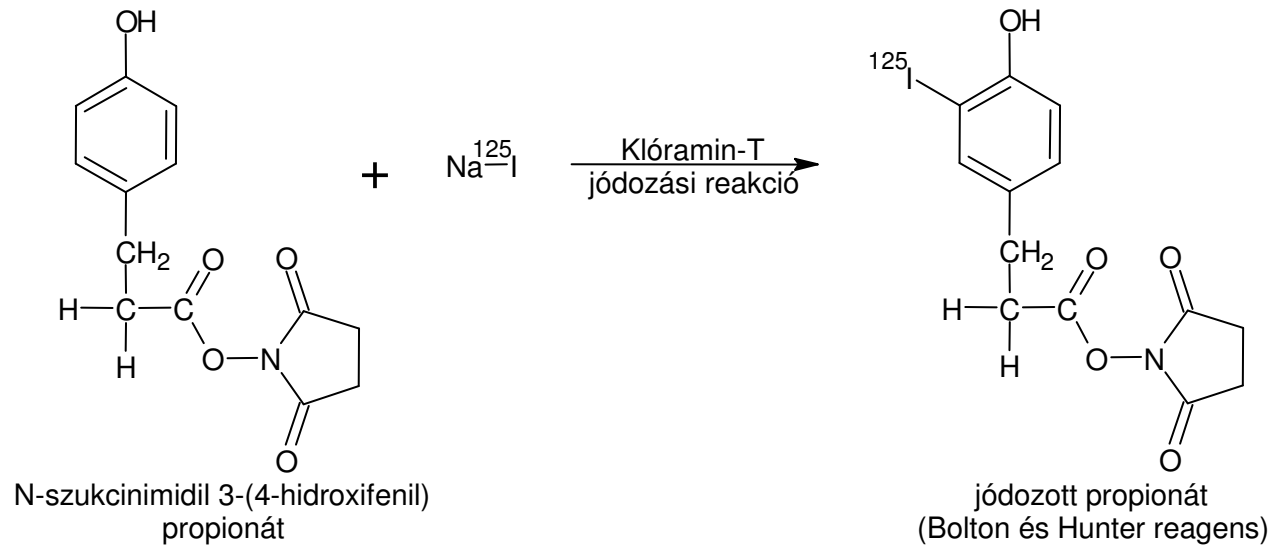
- pH függő (pH 6 – 7)
- H_2O_2 tisztasága!

Enzim katalízis

b) In situ H_2O_2 előállítás: immobilizált enzimek



N-szukcinimidil 3-(4-hidroxi 5-[¹²⁵I]jódifenil) propionát (Bolton és Hunter reagens)



A radioaktív mag kiválasztását befolyásoló tényezők

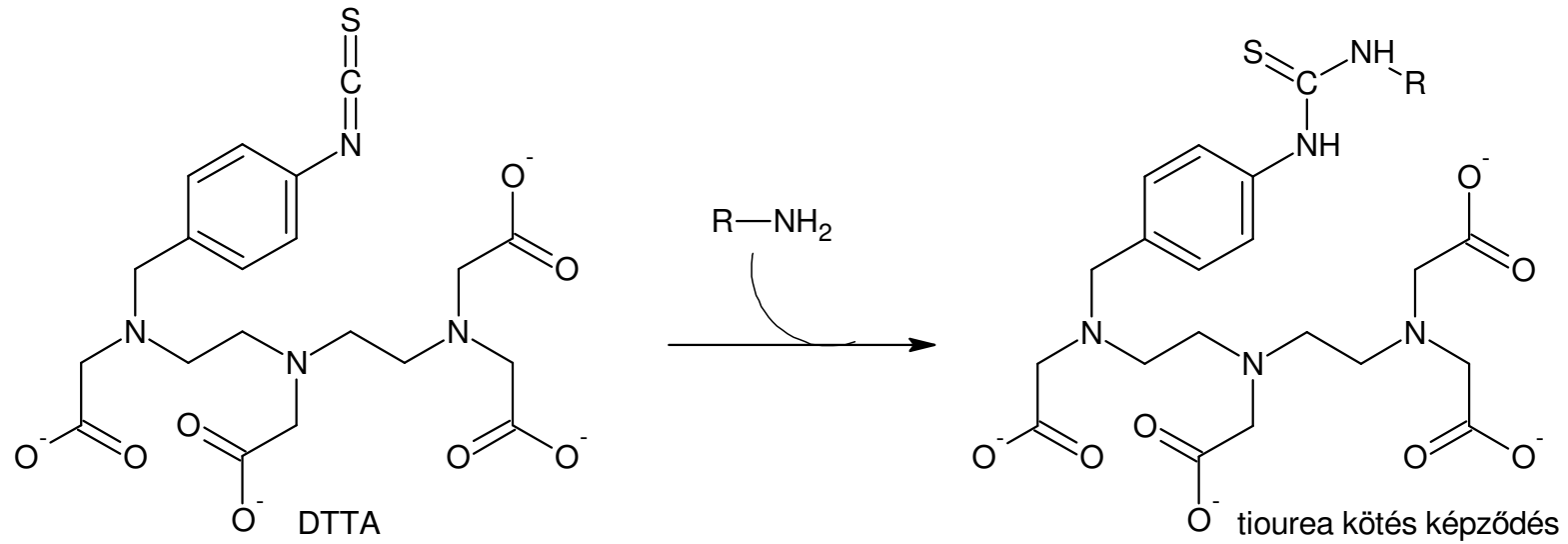
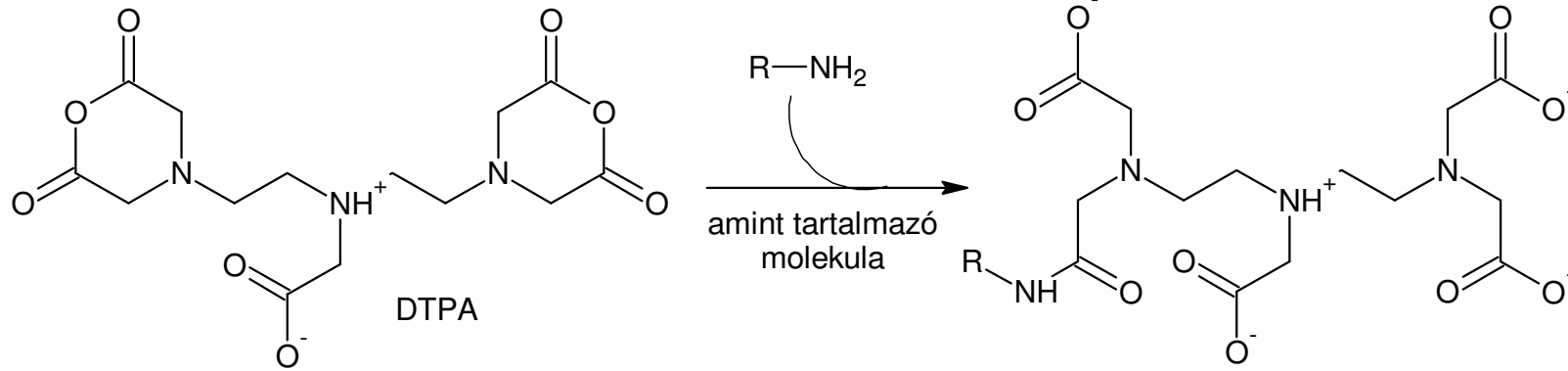
Radioaktív mag	Elérhetőség	Ár	Fizikai félélet	Legfontosabb gamma energia (keV)
^{123}I	Kicsi	Magas	13 óra	159
^{131}I	Jó	Alacsony	8 nap	364
^{111}In	Jó	Közepes	67 óra	173 247
^{67}Ga	Jó	Közepes	78 óra	185 300
$^{99\text{m}}\text{Tc}$	Jó	Alacsony	6 óra	141



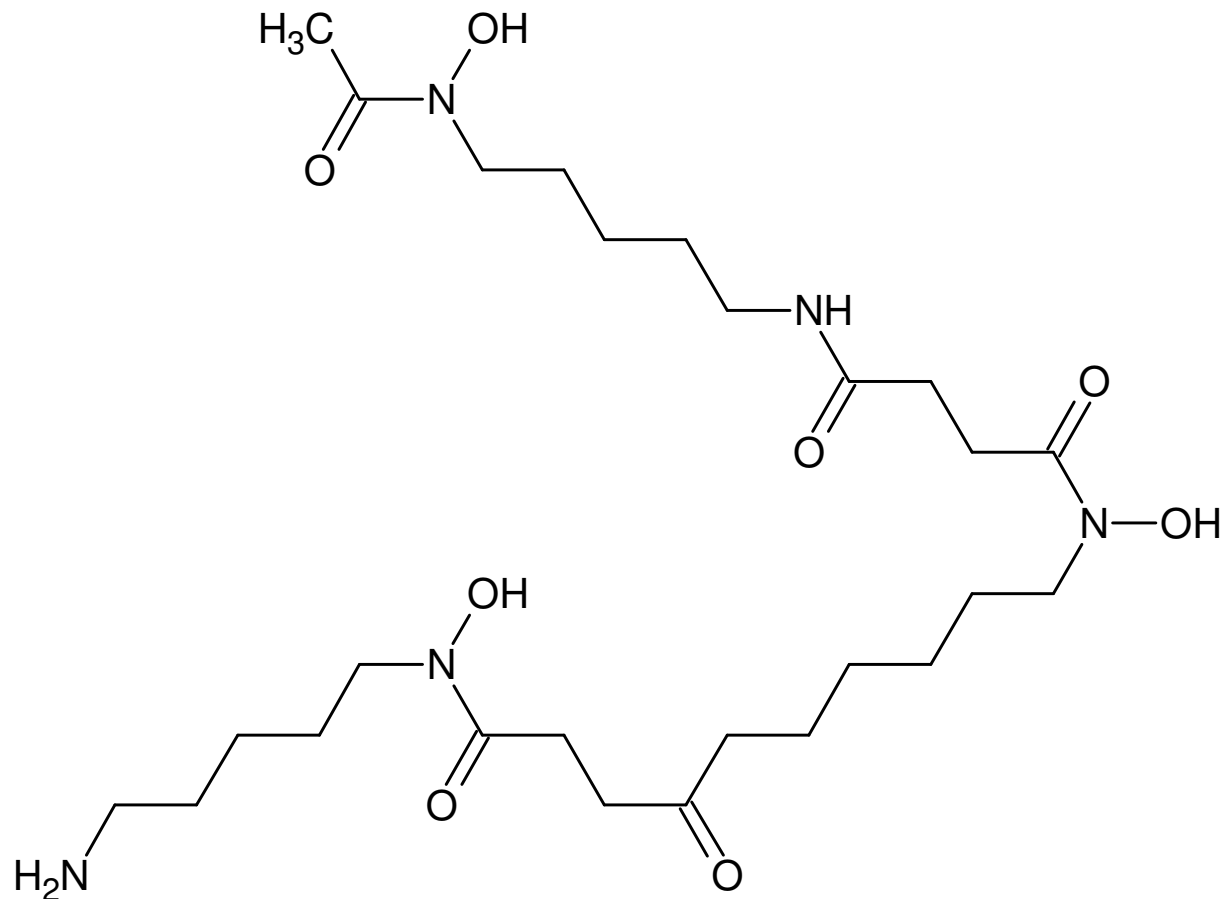
Radioaktív izotópok beépítése kelátorokkal

- **Alkalmazás:**
 1. biodisztribúció (diagnosztika, terápia)
 2. sejten belüli lokalizáció
- **Elv:** komplexképződés → nagy stabilitás
indirekt módszer

Lineáris kelátorok

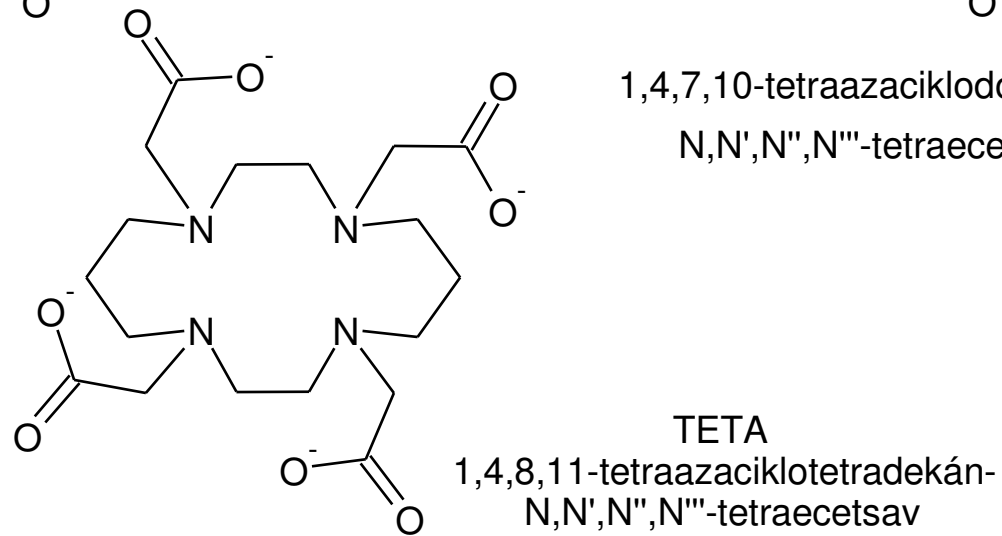
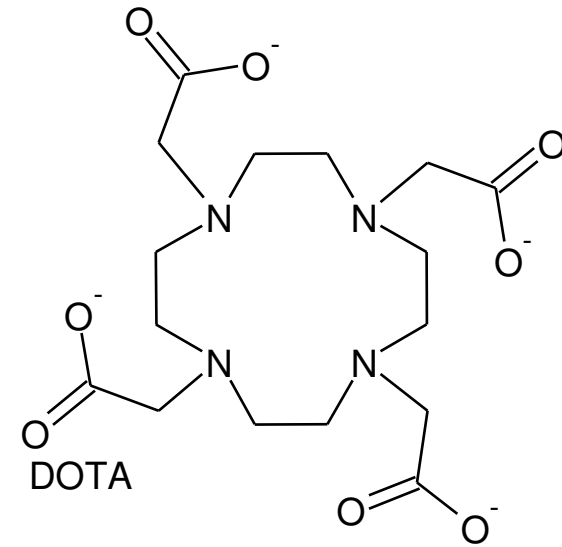
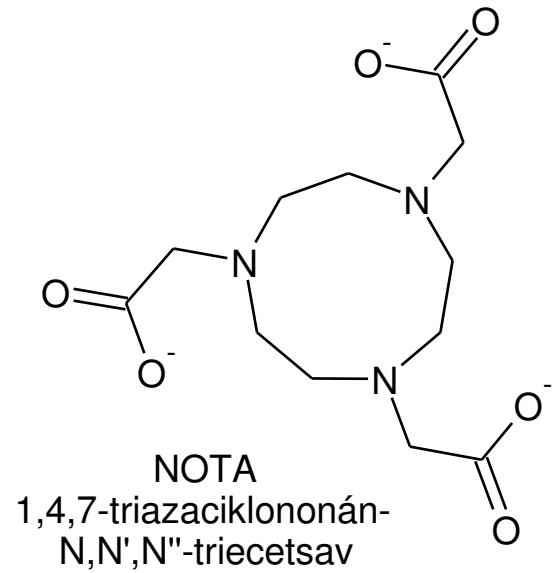


Lineáris kelátorok

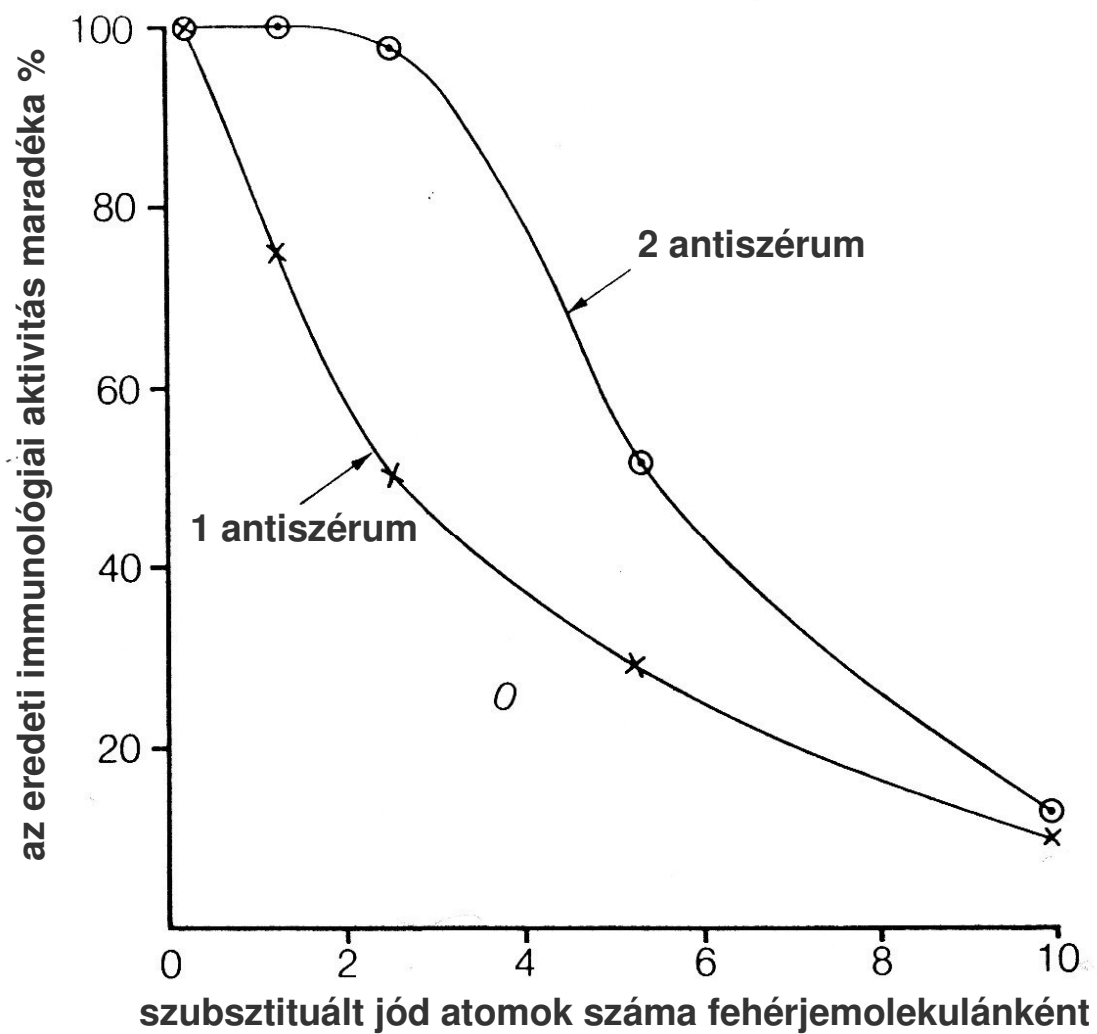


DFA
deferoxamin

Lineáris kelátorok



A növekvő mértékű jelölés hatása a fehérje immunológiai aktivitására



Radioaktívan jelölt emberi növekedési hormon gél szűrése, a frakciók immunológiai aktivitása

