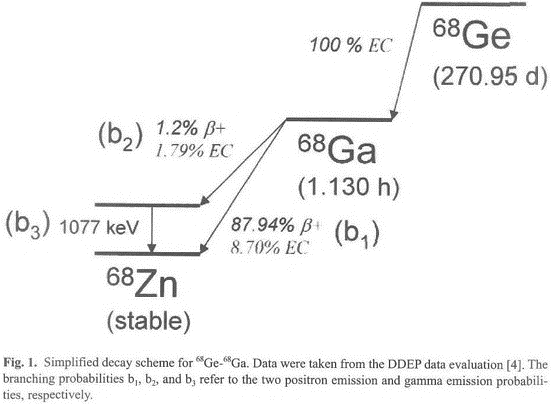
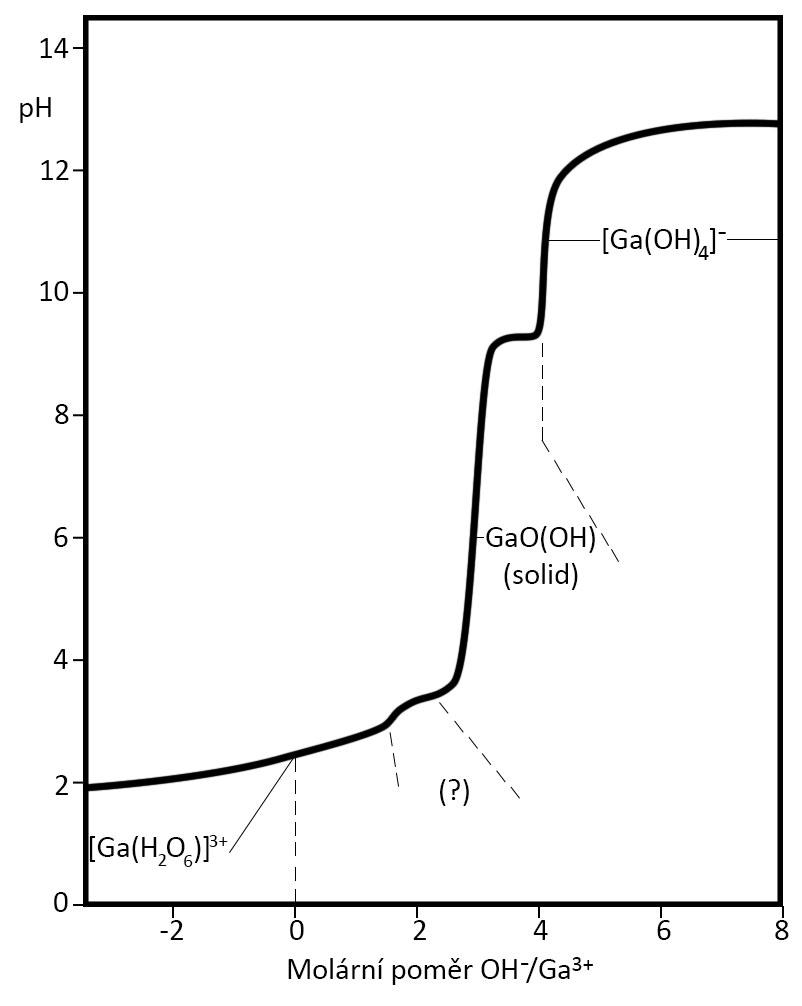
ELUCE 68Ge/68Ga GENERÁTORU A STANOVENÍ OPTIMÁLNÍCH PODMÍNEK ZNAČENÍ LIGANDU

# Úvod:

Galium-68 s poločasem přeměny 68 minut se přeměňuje na stabilní zinek (68Zn) emisí pozitronu (**Obr. 1)**. Následuje anihilace pozitronu a elektronu za vzniku dvou fotonů o energii 511 keV, které jsou zachyceny koincidenčně na detektoru. 68Ga je pozitronový zářič (obdobně jako 18F, 11C, 13N, 15O, 64Cu aj.), který je využíván v pozitronové emisní tomografii (PET).

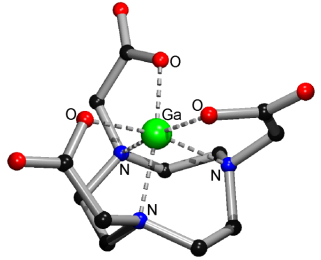
Získat 68Ga je možné na urychlovači částic, přednostně je však získáváno elucí 68Ge/68Ga generátoru 0,1M kyselinou chlorovodíkovou. Mateřský radionuklid je v generátoru imobilizován na stacionární fázi, kterou může být např. oxid titaničitý. Podrobnější informace o radionuklidových generátorech jsou uvedeny v textu úlohy Tc-KIT.

***Obr. 1*** *Rozpadové schéma 68Ge.*

K následnému značení sloučenin lze použít přímo eluát (GaCl3) z generátoru. Z **Obr. 2** lze vidět, že při pH značení větším než 4 galium začíná hydrolyzovat.

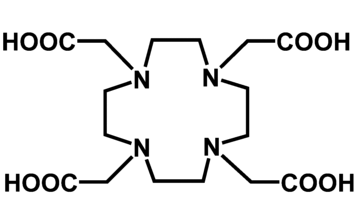
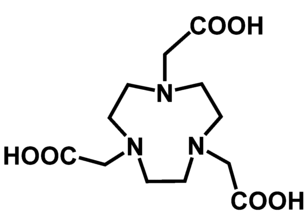
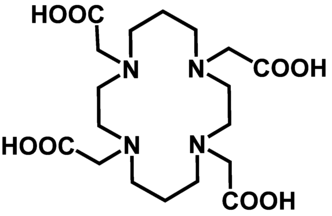
Při značení kationtem kovu (Ga3+) je nutné použít vhodné komplexační činidlo (chelátor), které kvantitativně zakomplexuje galium, přičemž zároveň proběhne i jeho stabilizace. Takto připravený komplex lze používat přímo jako radiofarmakum ([68Ga]-DOTATOC) nebo lze komplex navázat na různorodé látky, např. nanočástice (NP), protilátky pomocí vhodného můstku – linker/spacer (**Obr. 3**). Častěji se lze setkat s případem, kdy se označí již připravený konjugát látky s chelátorem.

Jako komplexační činidlo lze použit např. NO2A-PBP nebo aza- makrocyklické ligandy jako DOTA, NOTA, TRAP, TETA aj.(**Obr. 4**). Prostřednictvím těchto chelátorů lze 68Ga navázat např. na analogy somatostatinových receptorů, čehož je využíváno pro jejich zobrazování např. při neuroendokrinních nádorech.



***Obr. 2*** *Hydrolýza 0,2M GaCl3 ve vodném roztoku. Převzato z [Bradley 1990].*

***Obr. 3*** *Komplexace Ga3+ v H3nota a jeho navázání na nanočástici*

***Obr. 4*** *Struktury sloučenin v pořadí DOTA, NOTA, TETA, TRAP.*

# Úloha:

Cíl: určení optimálních podmínek značení ligandu (DOTA, NOTA, TETA, TRAP - dle výběru) v závislosti na zvoleném pH

1. Proveďte eluci 68Ge/68Ga generátoru.
2. Proveďte značení ligandu a stanovte optimální pH značení.

## Pomůcky a chemikálie:

* 68Ge/68Ga generátor, ligandy o koncentraci 1 mg/ml, vialky, termostatovaný blok
* AR 2000 – TLC skener, TLC desky a vyvíjecí komůrka, automatické pipety, pufr dle výběru, mobilní fáze – kyselina citronová

## Postup:

## a) Frakcionovaná eluce 68Ge/68Ga generátoru.

1. Naplňte injekční stříkačku 0,1 M kyselinou chlorovodíkovou (tracer free – již připravena!) –

6 ml.

1. Nasaďte ji na generátor a proveďte proplach 1 ml (generátor je uzavřen – ventil směřuje dolů).
2. Pět scintilačních vialek vložte do stínění. Do jedné scintilační vialky vložte tenkou hadičku (s víčkem) vystupující z generátoru.
3. Otevřte generátor a proveďte eluci 1 ml elučního roztoku. Opatrně vyjměte tenkou hadičku a vložte do druhé scintilační vialky. Pokračujte v eluci 1 ml elučního roztoku tak, aby v 5 vialkách bylo po 1 ml eluátu. Vialky uzavřete víčkem. Nakonec opět otočte ventil a uzavřete generátor.
4. Změřte a zapište si aktivitu získaného eluátu.

## b) Značení ligandu

1. Zapněte termostatovaný blok a nastavte teplotu na 95 °C.
2. Do zavíracích mikrozkumavek přidejte 1 ml zvoleného pufru o rozdílném pH. Do každého vzorku přidáte 50 µl zvoleného ligandu (1 mg/ml).
3. Následně přidejte požadované množství 68Ga a změřte radioaktivitu.
4. Vzorek vložte do termostatovaného bloku (otevřte víčko od ampulky) a nechte inkubovat 15-20 minut.
5. Připravte si proužky TLC desek (1,5 cm x 10 cm) a označte si start (2 cm od okraje).
6. U vyjmutých vzorků z termostatovaného bloku změřte pH reakční směsi

## c) Stanovte účinnost značení ligandů pomocí TLC

1. Pomocí mikropipety odeberte 10 l každého vzorku a kápněte na střed startovní čáry na TLC desce.
2. Desku vložte do vyvíjecí komůrky s mobilní fází a nechte vyvíjet zhruba 1 cm od horního okraje.
3. Proveďte radiochemickou detekci měřením TLC desek podle pokynu vedoucích praktik na přístroji AR 2000. Přístroj uvedete do chodu zapnutím vypínače na zadní stěně skeneru. Poté otevřete přívod plynu P10 z tlakové lahve a zapněte PC. Spusťte program WinScan (ikona na ploše) a použijte přihlašovací údaje pro praktikum. Proveďte nastavení parametrů a geometrie měření.
4. Stanovte optimální pH značení.

## Výsledky a diskuze

Jednotlivé postupy a naměřené hodnoty uveďte do protokolu. Z hodnot získaných v části frakcionovaná eluce vytvořte graf závislosti aktivit vzorků na počtu frakcí. Stejně zpracujte získané hodnoty radiochemického výtěžku ligandu v závislosti na zvolených pH. Výsledky okomentujte v diskuzi.