

文章编号:0253-9950(2007)03-0171-07

N-琥珀酰亚胺-3-碘 $[^{125}\text{I}]$ 苯甲酸酯标记人 IgG

刘振锋^{1,2}, 汪勇先^{2,*}, 董墨², 周伟², 夏皎云², 尹端祉², 李林法¹

1. 浙江大学医学院附属第一医院核医学科, 杭州 310003;
2. 中国科学院上海应用物理研究所, 上海 201800

摘要: 研究能有效降低抗体的体内脱碘的标记方法。碘标记 *N*-琥珀酰亚胺-3-(三正丁基锡)苯甲酸酯(ATE)前体, 得到 *N*-琥珀酰亚胺-3-碘 $[^{125}\text{I}]$ 苯甲酸酯(S^{125}IB), 分别与人 IgG 和抗人肝癌单抗(Hepama-1)进行偶联, 探索最佳标记条件, 并测定标记物的稳定性和生物活性, 研究直接标记和间接标记的 Hepama-1 在正常小鼠体内的生物学分布。结果表明, 用 *N*-氯代琥珀酰亚胺(NCS)法 ^{125}I 标记 ATE 前体, 在 ATE 用量为 25~100 μg 、NCS 用量为 10~20 μg 、磷酸盐缓冲溶液(PBS)用量为 10~20 μL 、反应时间为 5 min 时, 标记率大于 95%; S^{125}IB 和人 IgG 的偶联率最高可达 75%, 偶联产物稳定性、生物活性良好; 与 Hepama-1 偶联率可达 75% 以上。生物分布的对比实验证明, 1,3,4,6-四氯-3 α ,6 α -二苯甘脲(Iodogen)直接标记的 Hepama-1 在甲状腺的放射性摄取率(脱碘显示)最高是 S^{125}IB 间接标记的 Hepama-1 的 87.9 倍。这说明以 ATE 为前体的放射性碘间接标记蛋白质方法与传统的碘直接标记方法相比较, 在解决体内严重脱碘问题上具有明显的优越性。

关键词: 碘标记; 人 IgG; *N*-琥珀酰亚胺-3-(三正丁基锡)苯甲酸酯(ATE)

中图分类号: R142.3 文献标识码: A

Indirect Radioiodination of Human IgG With *N*-Succinimidyl-3-Iodo $[^{125}\text{I}]$ Benzoate

LIU Zhen-feng^{1,2}, WANG Yong-xian^{2,*}, DONG Mo²,
ZHOU Wei², XIA Jiao-yun², YIN Duan-zhi², LI Lin-fa¹

1. Nuclear Medicine Center, the First Affiliated Hospital of Zhejiang University, Hangzhou 310003, China;
2. Shanghai Institute of Applied Physics, the Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201800, China

Abstract: The objective of this study was to develop an acylation method for the radioiodination of monoclonal antibodies that could decrease the loss of radioiodine *in vivo*. Preparation of *N*-succinimidyl-3-iodobenzoate(S^{125}IB) from the organoth precursor, *N*-succinimidyl-3-(tri-*n*-butylstannyl)benzoate(ATE) proceeds in more than 95% labelling yield, when the mass of ATE and NCS are respectively 25-100 μg and 10-20 μg , and the volume of PBS is 10-20 μL , and reaction time is 5 min. IgG is labeled using S^{125}IB in up to 75% conjugation efficiency and with well retained immunoreactivity to sheep anti-human IgG. Hepama-1 is also labeled using S^{125}IB in more than 75% conjugation efficiency. Paired-label biodistribution studies in normal mice demonstrate that thyroid uptake(a monitor of dehalogenation) of Hepama-1 labeled by S^{125}IB

收稿日期:2007-01-04; 修订日期:2007-05-08

基金项目:中国科学院创新工程重大项目(KJCXI-SW-08);国家自然科学基金资助项目(10405034);上海市科委纳米专项资助项目(0352nm120)

作者简介:刘振锋(1980—),男,山东德州陵县人,药剂师,硕士,无机化学专业。

* 为通讯联系人

method is up to 87.9 times lower than that of Hepama-1 labeled with Iodogen. This result suggests that $S^{125}IB$ offers significant advantages for labeling proteins, antibodies over other conventional methods for protein radioiodination.

Key words: radioiodination; human IgG; *N*-succinimidyl-3-(tri-*n*-butylstannyl) benzoate (ATE)

放射性核素标记的抗体药物对识别细胞类型有选择性,当发射 β 或 α 粒子的放射性核素标记到抗体上时,能杀伤肿瘤细胞,达到治疗目的。1984 年 Larson^[1] 等成功应用放射性核素标记抗体诊断和治疗肿瘤。采用氯胺 T^[2], 1,3,4,6-四氯-3 α ,6 α -二苯甘脲(Iodogen)^[3] 的直接标记法或采用 Bolton-Hunter^[4] 试剂的间接标记法,均涉及放射性卤素在芳环羟基邻位的取代,这些卤代苯基团与甲状腺激素在结构上类似^[5],由于酶的催化作用容易脱碘,而被甲状腺摄取,导致放射性不能很好地集中于靶组织,使甲状腺或非靶器官遭受不必要的辐射损伤,使碘标记抗体的临床应用受到限制。为了解决该问题,国外学者^[6] 用碘标记 *N*-琥珀酰亚胺-3-(三正丁基锡)苯甲酸酯(ATE)双功能螯合剂,生成含有活化酯的碘代小分子化合物,再与单抗分子中的赖氨酸的游离 ξ -NH₂ 偶联制备成碘苯甲酸与单抗的偶联物(IBA-McAb)。人 IgG 是大分子蛋白质(相对分子质量 150 000),分子结构与单克隆抗体结构类似,均包含有几十个酪氨酸和赖氨酸残基,分别适用于放射性的直接标记和间接标记。本工作拟选用人 IgG 为模型分子,以研究碘标记 ATE 双功能螯合剂间接标记抗体的方法,提高标记物的稳定性和生物活性。

1 实验部分

1.1 主要试剂、材料及仪器

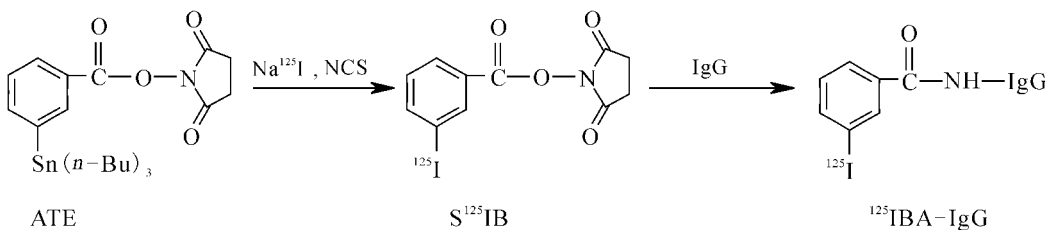
N-琥珀酰亚胺-3-(三正丁基锡)苯甲酸酯(ATE),纯度 98%,本实验室合成;人 IgG,纯度 98%,美国 Sigma 公司;羊抗人 IgG 抗体,纯度 97%,3 g/L,华美生物公司;葡聚糖凝胶 G-25(Sephadex G-25),纯度 98%,瑞士 Fluka 公司;*N*-氯代琥珀酰亚胺(NCS),纯度不小于 98%,瑞士 Fluka 公司; $Na^{125}I$,13.36 TBq/L,核纯度大于 99.95%,英国 Perkin 公司产品;聚乙二醇,纯度 95%,广州市鑫铂化工有限公司;抗人肝癌单抗(Hepama-1),纯度不小于 95%,上海生命科学院提供;其他溶剂均为分析纯。

SiGF₂₅₄ 硅胶层析板,山东烟台芝罘市黄务硅胶开发试验厂。昆明种小鼠,20~25 g,复旦大学动物房提供。

高效液相色谱仪(HPLC),配有 Waters510 泵、Waters 自动剃度系统、PC-800 分析软件、 μ PorasilTM 半制备柱 Sep-Pak Silica(10 μ m, ϕ 7.8 mm \times 300 mm),均为美国 Waters 公司产品;放射性检测器主要包括:FDG-101 γ 射线流式探头,日本 Aloka 公司;AR-2000 型放射性色谱扫描仪,美国 Bioscan 公司生产;冷冻离心机,日本日立公司;放射性磷屏成像系统,美国 Perkin Elmer 公司。

1.2 ^{125}I -IBA-IgG 的合成

^{125}I -IBA-IgG 合成路线^[7-9] 如下:



1.3 *N*-琥珀酰亚胺-3-碘 [^{125}I] 苯甲酸酯 $S^{125}IB$ 的放化合成

参照文献^[7-8],在 1 mL 反应瓶中,加入 50 μ L 0.5 g/L ATE(溶于 1% 的乙酸/甲醇溶液)、

10 μ L 1.0 g/L NCS 甲醇溶液、10 μ L pH=7.4 的磷酸盐缓冲溶液(PBS)和 1 μ L 无载体 $Na^{125}I$,室温下反应 5 min,用 10 μ L 1.0 g/L $Na_2S_2O_5$ 溶液与 NCS 反应,终止标记反应。反应物直接用放

射性薄层色谱(ITLC)反相层析测定标记率,展开剂为乙酸乙酯-正己烷(两者体积比为 25 : 75)。反应产物用高效液相色谱(HPLC)纯化,流动相为正己烷-乙酸乙酯-乙酸(体积比为 70 : 30 : 0.2),紫外检测波长为 254 μm,流速为 1 mL/min。得到的 S¹²⁵IB 溶液经蒸馏浓缩后备用。

1.4 S¹²⁵IB 与人 IgG 的偶联

按照文献[9],将 50 μL 3 g/L 人 IgG 的硼酸溶液(pH=9.0)加入到装有 S¹²⁵IB 的反应瓶中,室温下反应 30 min,粗标记的蛋白质用凝胶过滤法(Sephadex G-25)提纯,洗脱液为 pH=7.5 的 0.05 mol/L PBS 溶液,流速为 1 mL/min,标记率与放化纯度用放射性薄层色谱(ITLC)测定,展开剂为正丁醇-吡啶-乙酸-水,体积比为 30 : 20 : 6 : 4。用放射性检测仪检测收集到 2 mL ¹²⁵IBA-IgG, *t_R* 为 3.88 min,其它放射性杂质的 *t_R* 为 13.34 min。

1.5 人 IgG 的直接标记

取 1 mg 人 IgG 溶于 1 mL 0.05 mol/L 的 PBS(pH=7.4)缓冲液中。取 40 μL 人 IgG 溶液和 2 μL 无载体 Na¹²⁵I 依次加到 10 μg Iodogen 涂管中,室温条件下,在振荡器上反应 10 min。体积排阻色谱(SEC)分离纯化:Sephadex 柱(φ 10 mm×250 mm)预先用 0.05 mol/L PBS (pH=7.5)淋洗 30 min。取反应溶液上样,用同样的淋洗剂洗脱,流速 2 mL/min。标记率与放化纯度用放射性薄层色谱(ITLC)测定,展开剂为正丁醇-吡啶-乙酸-水(体积比为 30 : 20 : 6 : 4)。用 PBS 洗脱,用放射性检测仪检测收集到的 2 mL ¹²⁵I-IgG, *t_R* 为 4.27 min,游离碘的 *t_R* 为 16.72 min。

1.6 Hepama-1 的间接碘标记

取 100 μL 10 g/L 的 Hepama-1 溶液,溶解在 50 μL pH=8.7 的 0.5 mol/L 硼酸溶液中,加入到吹干的 S¹²⁵IB 中,20 °C 振荡反应 30 min。加入 300 μL 200 mmol/L 甘氨酸,在室温下反应 5 min,结束反应。分离纯化:Sephadex 柱(φ 10 mm×250 mm)预先用 0.05 mol/L PBS(pH=7.5)淋洗 30 min。取反应溶液上样,用同样的淋洗剂洗脱,流速 1 mL/min。收集到 3 mL ¹²⁵IBA-Hepama-1, *t_R* 为 7.34 min,游离 S¹²⁵IB 的 *t_R* 为 17.38 min。

1.7 Hepama-1 的直接碘标记

取 4 μL 10 g/L 的 Hepama-1 单抗,加入到

40 μL 0.05 mol/L PBS 缓冲溶液中,然后加入到涂有 10 μg Iodogen 管中,接着加入 2 μL 无载体 Na¹²⁵I,室温条件下,在振荡器上反应 10 min。标记率和放化纯度用放射性薄层色谱(ITLC)测定,展开剂为正丁醇-吡啶-乙酸-水(体积比为 30 : 20 : 6 : 4)。体积排阻色谱(SEC)分离纯化:Sephadex 柱(φ 10 mm×250 mm)预先用 0.05 mol/L PBS(pH=7.5)淋洗 30 min。取反应溶液上样,用同样的淋洗剂洗脱,流速 1 mL/min。用放射性检测仪检测收集到的 3 mL ¹²⁵I-Hepama-1, *t_R* 为 7.73 min,游离碘的 *t_R* 为 21.59 min。

1.8 ¹²⁵IBA-IgG 的体外稳定性

将所制的 ¹²⁵IBA-IgG 与 ¹²⁵I-IgG 溶液分别稀释到 1.85 GBq/L,取 5 mL,向其中加入适量的小牛血清,37 °C 温育,在 7 d 之内每隔 24 h,用 ITLC 测定 1 次,检验标记物的放化纯度,评价是否有脱碘现象。

1.9 ¹²⁵IBA-IgG 体外生物活性的评价

将所制的 ¹²⁵IBA-IgG 用 0.05 mol/L pH=7.4 的 PBS 稀释至 4.0×10⁵/(min·mL) 待用。配制羊抗人 IgG 75.000, 32.500, 8.125, 4.063, 2.062 mg/L 及空白的标准溶液各 0.5 mL,每个浓度及空白样配制成 2 份,做平行样品,向 2 组平行样品管中依次加入 100 μL 的 ¹²⁵IBA-IgG 溶液,然后加入 100 μL 羊抗人 IgG 溶液,200 μL PBS 溶液,混合后于 37 °C 温育 30 min。加入 50 μg 牛血清 γ 球蛋白与 15% 聚乙二醇(PEG)溶液,混合后静置 15 min,4 °C 下于 3 500 r/min 离心分离 15 min,弃去上层液体,应用 γ 计数器测量管内放射性计数。

1.10 ¹²⁵I-Hepama-1 与 ¹²⁵IBA-Hepama-1 在小鼠甲状腺的生物分布

将 30 只实验鼠分成 2 组,每组 15 只,分别由尾静脉注射 ¹²⁵I-Hepama-1 (Iodogen 直接标记法)和 ¹²⁵IBA-Hepama-1 各 0.3 MBq。每组分别在注射后 5, 12, 24, 32, 48 h 处死 3 只小鼠,在 48 h 时分别对直接标记与间接标记的 Hepama-1 进行放射性磷屏成像;取颈部甲状腺组织,称重并用 γ 计数器测定放射性计数,计算每克组织中放射性占总注射量的百分比(%/g)。

2 结果和讨论

2.1 S¹²⁵IB 的放化合成

HPLC 的 UV 显示 ATE 的保留时间 *t_R* 为

27.2 min, $S^{125}IB$ 保留时间 $t_R = 44.8$ min, 与放射性检测器 $S^{125}IB$ 的 $t_R = 44.8$ min 相同。图 1 为 $S^{125}IB$ 的 ITLC 图谱。图 1 表明, $Na^{125}I$ 的 $R_f = 0$, $S^{125}IB$ 的 $R_f = 0.38$, 标记率为 99%。利用 NCS 为氧化剂, 标记 ATE, 标记率为 60%~99%, 与 Iodogen 法相比, Iodogen 涂膜不均会影响实验重现性, 而 NCS 为溶液, 反应的重现性好; 与氯氨 T 法相比, 氧化剂 NCS 温和, 反应易于控制。含有琥珀酯官能团的 ATE 纯度对标记率的影响很大, 其水解产物的碘标速度比 ATE 更加迅速, 所以要求 ATE 纯度 98% 以上。为了得到最佳标记条件, 研究了反应时间、NCS 及 PBS(0.05 mol/L, pH=7.5) 溶液用量对标记率的影响, 结果列入表 1。表 1 结果表明, ATE 与无载体 $Na^{125}I$ 的反应中, 控制 ATE 用量为 25~100 μg 、NCS 用量为 10~20 μg 、PBS 用量为 10~20 μL 、反应时间为 5 min 时, 得到的标记率大于 95%。加入 PBS 能够显著的提高标记率, 其机理仍不清楚, 可能是由于 PBS 的配置试剂 NaH_2PO_4 , Na_2HPO_4 , $NaCl$

含有的大量氯离子或微量非放碘离子促进了反应; 即使在有载体的情况下, 加入 PBS 也能提高其标记率。加入偏二亚硫酸钠与过量的 NCS 反应, 同时将正电荷的碘转变为碘单质, 结束碘标反应, 可防止下一步与 IgG 反应时, NCS 对 IgG 造成活性损伤。

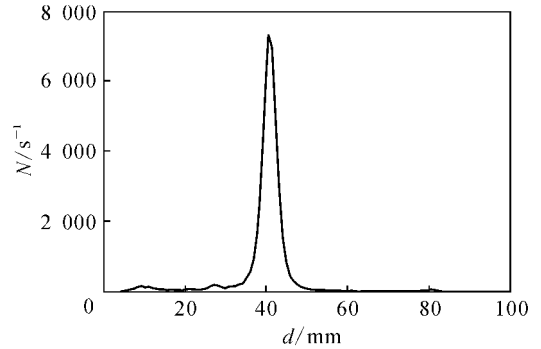


图 1 标记后 $S^{125}IB$ 的放射性 ITLC 图谱
Fig. 1 Radio-ITLC chromatogram of $S^{125}IB$ after iododestannylation

表 1 反应时间、NCS 和 PBS 用量对反应的影响

Table 1 Effect of reaction time and amount of NCS and PBS on reaction

$t/\text{min}^{1)}$	$Y_{\text{lab}}/\%$	$m(\text{NCS})/\mu\text{g}^{2)}$	$Y_{\text{lab}}/\%$	$V(\text{PBS})/\mu\text{L}^{3)}$	$Y_{\text{lab}}/\%$
5	99	10.1	99	0	90
10	94	13.5	96	10	99
15	96	15.8	98	20	96
20	95	19.6	97	30	93

注(Notes): 1) $m(\text{NCS}) = 10 \mu\text{g}$, $V(\text{PBS}) = 10 \mu\text{L}$;

2) $t = 5 \text{ min}$, $V(\text{PBS}) = 10 \mu\text{L}$;

3) $t = 5 \text{ min}$, $m(\text{NCS}) = 10 \mu\text{g}$

2.2 $S^{125}IB$ 与 IgG 的联接

图 2 为 ^{125}IBA -IgG 的 ITLC 图谱。图 2 表明, ^{125}IBA -IgG 的 $R_f = 0$, $S^{125}IB$ 的 $R_f = 0.88$ 。图 3, 4 分别为 $S^{125}IB$ 的偶联率与抗体的浓度及反应溶液 pH 的关系。图 3, 4 表明, $S^{125}IB$ 与 IgG 的偶联率为 40%~75%, 抗体质量浓度越高, 偶联率越高, 当抗体质量浓度大于 3 g/L 时, 偶联率可达到 60% 以上; pH=8.5~9.5 时, 随着 pH 值增加, IgG 中赖氨酸残基越容易脱去质子, 与 $S^{125}IB$ 的琥珀酯基团越容易反应, 偶联率越高; pH=9.5 时, 偶联率最高; pH=9.5~10.0, 随着 pH 值增加, 偶联率降低, 这是由于人 IgG 的水解反应与其部分沉淀反应相互竞争的结果; pH 过高会导致人

IgG 的活性损伤, 选择 pH=8.5~9.0 比较适宜。

2.3 Hepama-1 的 $S^{125}IB$ 联结与直接碘标记

图 5 是 ^{125}IBA -Hepama-1 的 ITLC 图谱。图 5 表明, ^{125}IBA -Hepama-1 的 $R_f = 0$, $S^{125}IB$ 的 $R_f = 0.88$, $Na^{125}I$ 的 $R_f = 0.90$, 联结率为 75%。图 6 是 ^{125}I -Hepama-1 的 ITLC 图谱。图 6 表明, ^{125}I -Hepama-1 的 $R_f = 0$, $Na^{125}I$ 的 $R_f = 0.90$, 标记率为 95.2%。

2.4 ^{125}IBA -IgG 的体外稳定性评价

图 7 为 ^{125}IBA -IgG, ^{125}I -IgG 的体外稳定性随放置时间的变化。由图 7 可看出, 在 37 $^{\circ}\text{C}$ 小牛血清中培育 7 d 后, 间接标记物 ^{125}IBA -IgG 的放化纯度仍保持在 95% 以上, 而直接标记物 ^{125}I -IgG 的放

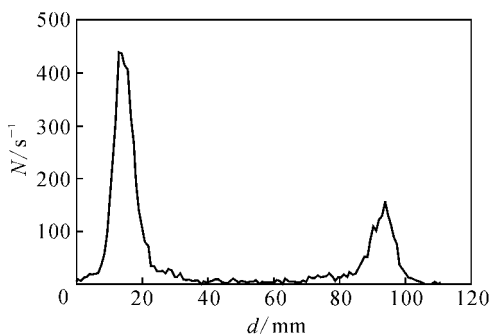


图 2 标记后¹²⁵IBA-IgG 的放射性 ITLC 谱图
Fig. 2 Radio-ITLC chromatogram of ¹²⁵IBA-IgG after conjugation of S¹²⁵IB and human IgG

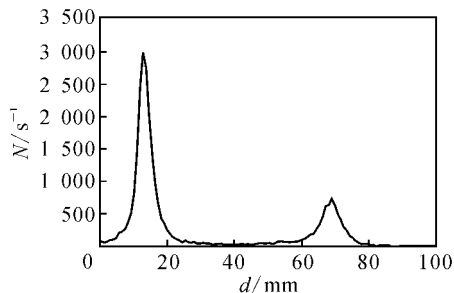


图 5 Hepama-1 的放射性碘间接标记 ITLC 谱图
Fig. 5 ITLC analysis of the conjugation efficiency of Hepama-1 with S¹²⁵IB

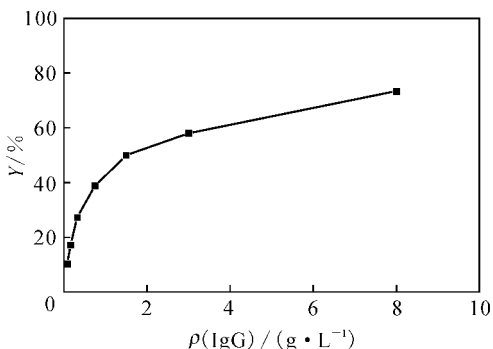


图 3 室温下抗体质量浓度对 IgG 偶联率的影响
Fig. 3 Effect of protein mass concentration on protein-labeling efficiency at room temperature
pH=8.7, t=30 min

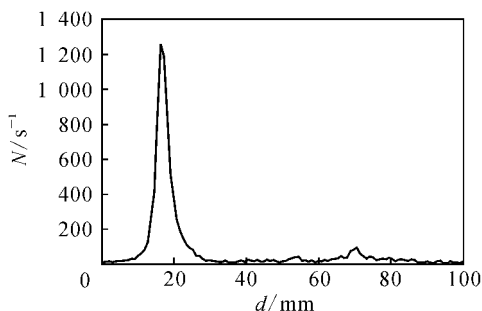


图 6 Hepama-1 的放射性碘直接标记 ITLC 谱图
Fig. 6 ITLC analysis of the Hepama-1 labeled using Na¹²⁵I

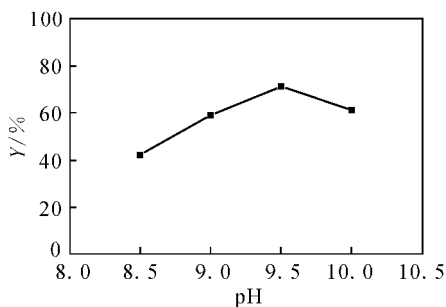


图 4 室温下 pH 值对 IgG 偶联率的影响
Fig. 4 Effect of pH on protein-labeling efficiency at room temperature
 $\rho(\text{IgG}) = 3 \text{ g/L}, V(\text{IgG}) = 50 \mu\text{L}, t = 30 \text{ min}$

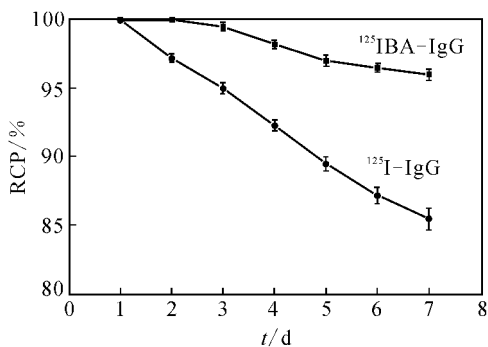


图 7 ¹²⁵IBA-IgG 和¹²⁵I-IgG 的体外稳定性
Fig. 7 Stability of ¹²⁵IBA-IgG and ¹²⁵I-IgG *in vitro*
t=37 °C, 在小牛血清中(In calf serum)

化纯度降为 86%，前者放化纯度较后者有较大幅度的改善，表明放射性碘间接标记物有良好的应用前景。

2.5 ¹²⁵IBA-IgG 体外生物活性的评价

图 8 为¹²⁵IBA-IgG, ¹²⁵I-IgG 与羊抗人 IgG 的结合率随羊抗人 IgG 质量浓度变化的曲线。由图 8 可看出，羊抗人 IgG 抗体与间接标记物¹²⁵IBA-IgG 的最大结合率大于 68.0%，与直接标记物¹²⁵I-IgG 的最大结合率为 63.2%。多次实验表明，两者生物活性无明显差异。

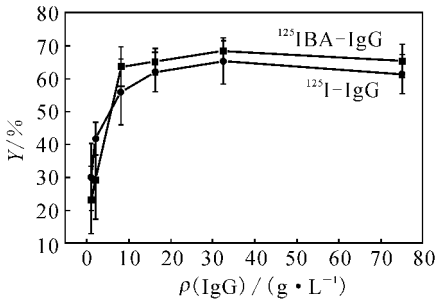


图 8 ^{125}I -IBA-IgG, ^{125}I -IgG 与羊抗人 IgG 的结合率
Fig. 8 Conjugation efficiency of sheep anti-human IgG with ^{125}I -IBA-IgG and ^{125}I -IgG

2.6 放射性生物学分布

^{125}I -Hepama-1 和 ^{125}I -IBA-Hepama-1 的小鼠放射性自显影示于图 9, 在正常小鼠甲状腺的摄取列入表 1。图 9 结果表明, 48 h 后直接标记的单抗

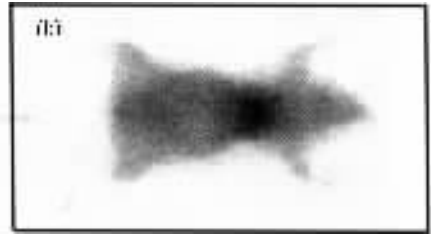
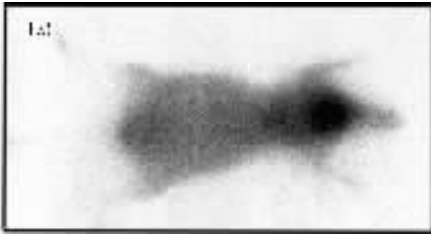


图 9 ^{125}I -Hepama-1(a) 与 ^{125}I -IBA-Hepama-1(b) 小鼠放射性自显影

Fig. 9 Autoradiograph of mice injected by ^{125}I -Hepama-1(a) or ^{125}I -IBA-Hepama-1(b)

表 2 ^{125}I -Hepama-1 和 ^{125}I -IBA-Hepama-1 在正常小鼠甲状腺的放射性摄取

Table 2 Thyroid uptake of ^{125}I -Hepama-1 and ^{125}I -IBA-Hepama-1 in normal mice

t/h	摄取率(Uptake ratio)/(%) · g ⁻¹	
	^{125}I -Hepama-1	^{125}I -IBA-Hepama-1
5	89.8 ± 7.1	5.8 ± 0.6
12	195.0 ± 54.5	8.3 ± 0.2
24	196.0 ± 12.0	6.4 ± 0.6
32	178.7 ± 10.5	7.4 ± 0.2
48	184.6 ± 75.7	2.1 ± 0.8

注(Note): $n=3$

3 结论

用 NCS 法 ^{125}I 标记 ATE 前体, ATE 用量为 25~100 μg , NCS 用量为 10~20 μg , PBS 用量为 10~20 μL , 反应时间为 5 min 时, 标记率大于 95%, 利用 S^{125}IB 放射性标记 IgG, 偶联率最高可

^{125}I -Hepama-1 在颈部有明显的放射性聚集, 而间接标记的单抗 ^{125}I -IBA-Hepama-1 在颈部没有放射性聚集, 主要集中在胸部。由此可见, 通过 ATE 法间接标记的单抗, 在体内没有发现脱碘, 显著提高了其在生物体内的稳定性, 脱碘程度大大减小。从表 2 比较可见, 直接标记产物 ^{125}I -Hepama-1 在甲状腺的摄取率在 5, 12, 24, 32, 48 h 时分别是间接标记产物 ^{125}I -IBA-Hepama-1 的 15.5, 23.5, 30.6, 24.1, 87.9 倍, 甲状腺放射性摄取有显著差异, 这说明间接标记方法可以有效地解决单抗体内脱碘的问题。ATE 可以用来间接标记大分子、单抗、蛋白质, 解决体内脱碘的问题^[10], 对于那些没有酪氨酸的小分子肽, 应用 Iodogen、氯胺 T 方法无法进行碘标记, 也可以用 ATE 进行间接标记, 用来显像^[11-12]。

达 75%, 反应易于控制, 标记后产物的稳定性有较大提高, 生物活性保持良好。应用 ATE 法标记的单抗 Hepama-1 可以提高其在生物体内的稳定性, 为单克隆抗体的间接标记提供了有用的参考与借鉴, 为解决碘标放射性药物的体内脱碘问题提供了有效的途径。

参考文献:

- [1] Larson S M, Carrasquillo J A, Reynolds J C. Radioimmunodetection and Radioimmunotherapy[J]. Cancer Invest, 1984, 2(3): 363-381.
- [2] Hunter R M, Greenwood F C. Preparation of Iodine-131 Labelled Human Growth Hormone of High Specific Activity[J]. Nature, 1962, 194: 495-496.
- [3] Fracker P J, Speck J C. Protein and Cell Membrane Iodination With a Sparingly Soluble Chloramide 1, 3, 4, 6-Tetrachloro-3 α , 6 α -Diphenylglycouril[J]. Biochem Biophys Res Commun, 1978, 8(4): 849-

- 857.
- [4] Bolton A M, Hunter R M. The Labeling of Proteins to High Specific Radioactivities by Conjugation to a ¹²⁵I-Containing Acylating Agent [J]. *Biochem J*, 1973, 133: 529-539.
- [5] Wood F T, Wu M M, Gerhart J C. The Radioactive Labeling of Proteins With an Iodinated Amidination Reagent[J]. *Anal Biochem*, 1975, 69: 339-349.
- [6] Zalutsky M R, Narula A S. A Method for the Radiohalogenation of Proteins Resulting in Decreased Thyroid Uptake of Radioiodine [J]. *Appl Radiat Isot*, 1987, 38(12): 1 051-1 055.
- [7] 刘振锋, 汪勇先, 周伟. 3-正丁基锡-*N*-琥珀酰亚胺苯甲酸酯的合成及其¹²⁵I 标记 [J]. *同位素*, 2005, 18(3): 148-152.
- [8] Wilbur D S, Hadley S W, Hylarides M D, et al. Development of a Stable Radioiodinating Reagent to Label Monoclonal Antibodies for Radiotherapy of Cancer[J]. *J Nucl Med*, 1989, 30: 216-226.
- [9] Vaidyanathan G, Zalutsky M R. Protein Radiohalogenation: Observations on the Design of *N*-Succinimidyl Ester Acylation Agents [J]. *Bioconjugate Chem*, 1990, 1: 269-273.
- [10] Schuster J M, Garg P K, Bigner D, et al. Improved Therapeutic Efficacy of a Monoclonal Antibody Radioiodinated Using *N*-Succinimidyl 3-(Tri-*n*-Butylstanny1)-Benzoate [J]. *Cancer Res*, 1991, 51: 4 164-4 169.
- [11] Vaidyanathan G, Affleck D, Welsh P. Radioiodination and Astatination of Octreotide by Conjugation Labeling[J]. *Nucl Med Biol*, 2000, 27: 329-337.
- [12] Pozzi O R, Sajaroff E O, Edreira M M. Influence of Prosthetic Radioiodination on the Chemical and Biological Behavior of Chemotactic Peptides Labeled at High Specific Activity[J]. *Appl Radiat Isot*, 2006, 64: 668-676.