

G 01 N 33

C 12 N 9

Ans.nr.: 1881/84

Indleveret: 11 apr 1984

Løbedag: 11 apr 1984 840411

Alm. tilgængelig: 21 okt 1984

Prioritet: 20 apr 1983 US 486924

*ENZO BIOCHEM INC.; New York, US.

Opfinder: Kenneth H. *Johnston; US.

Fuldmægtig: Firmaet Chas. Hude

Fremgangsmåde til dannelsen af et kompleks af biologisk aktive eller funktionelle forbindelser og anvendelse af forbindelserne

SAMMENDRAG

1881-84

Komplekser indeholdende en biologisk aktiv eller funktionel forbindelse eller forbindelser fremstilles ved at fæstne eller binde en første forbindelse, som kan være en biologisk aktiv eller funktionel forbindelse, til et fast substrat under sådanne betingelser, at det aktive sted af nævnte første forbindelse beskyttes, og derefter derivatisere eller lade nævnte første forbindelse gå i forbindelse med en derivatiserende eller modificerende forbindelse, medens nævnte første forbindelse er fæstnet til nævnte faste substrat. Det resulterende kompleks eller den i et kompleks indeholdte første forbindelse frigøres derefter fra fæstning til nævnte faste substrat til dannelsen af komplekset, hvor nævnte kompleks indbefatter nævnte derivatiserende forbindelse fæstnet til nævnte første forbindelse, og hvor nævnte første forbindelse efter frigørelse fra det faste substrat har sit funktionelle eller biologisk aktive sted tilgængeligt. F.eks. fæstnes alkalisk fosfatase til et fast substrat, såsom dextrankugler, fortrinsvis gennem

en ligand, såsom en kompetitiv inhibitor for alkalisk phosphatase, f.eks. para-aminobenzyl-phosphonsyre (p-ABPA). Dextrankuglerne ville først blive behandlet med (p-ABPA), og alkalisk phosphatase ville derefter blive bragt i kontakt med de således behandlede dextrankugler. Den kompetitive inhibitor p-ABPA virker som en ligand for fæstnelse af alkalisk phosphatase til dextrankuglerne, medens den på samme tid optager og beskytter det aktive sted af alkalisk phosphatase. Derefter derivatiseres eller modificeres den således fæstnede alkaliske phosphatase, f.eks. ved biotinylering. Efter biotinylering af den alkaliske phosphatase elueres den resulterende biotinylerede alkaliske phosphatase eller fjernes fra fæstnelse til det p-ABPA-behandlede faste substrat eller dextrankugler, hvortil det var bundet, til dannelse af en biotinyleret alkalisk phosphatase med det aktive eller funktionelle sted af denne intakt. Komplekset kunne, medens det stadig var bundet til dextrankuglerne, behandles yderligere med en anden forbindelse eller komponent, som også om ønsket kunne tilvejebringe et aktive eller funktionelt sted, f.eks. ved kontakt med avidin, der ville binde til den modificerende eller derivatiserende del, dvs. biotin, af den biotinylerede alkaliske phosphatase, og det således dannede avidin-biotinylerede, alkaliske phosphatasekompleks kunne derefter elueres. Dette kompleks, såsom et kompleks indbefattende avidin-biotinyleret alkalisk phosphatase kunne anvendes som en detektor i et detektionssystem til identifikationen og/eller lokaliseringen af en anden forbindelse, såsom en biotinyleret forbindelse, f.eks. et biotinyleret nucleotid eller biotinyleret DNA.