

# **Ksenon-biosensori**

Luk-tutkielma  
Sampo Ylisiurua  
Oulun yliopisto  
2016

# Sisällys

<b>Johdanto</b> .....	1
<b>1. NMR-spektroskopia</b> .....	2
1.1 Ytimen magneettinen momentti .....	2
1.2 Ytimen käyttäytyminen magneettikentässä .....	3
1.3 NMR-signaali ja sen havaitseminen .....	6
1.4 Ytimen vuorovaikutuksista.....	6
1.4.1 Varjostusvuorovaikutus.....	7
1.4.2 Spin-spin-kytkentä.....	8
<b>2. Magneettikuvaus</b> .....	9
<b>3. Ksenonin hyperpolarointi</b> .....	10
3.1 <sup>129</sup> Xe-ytimen ominaisuuksia .....	10
3.2 Terminen polarisaatio.....	11
3.3 Hyperpolarointi .....	11
<b>4. Biosensori</b> .....	17
<b>5. Hyper-CEST</b> .....	22
<b>Yhteenveto</b> .....	25
<b>Lähdeluettelo</b> .....	26

## Johdanto

Tässä LuK-tutkielmassa käsitellään NMR-spektroskopian (Nuclear Magnetic Resonance = ydinmagneettinen resonanssi) sovellusta, mahdollisesti tulevaisuudessa käytettävää erittäin tarkkaa kuvantamismenetelmää, jolla kyettäisiin muodostamaan kuvia reagenssin avulla, jonka konsentraation ei tarvitse olla suuri kuvattavassa kohteessa. Menetelmän herkkyys edistäisi suuresti lääketieteen diagnostiikkaa, mahdollistaen NMR-spektroskopiaan perustuvassa magneettikuvantamisessa esimerkiksi syövän varhaisen havaitsemisen. Menetelmässä käytetään hyväksi biosensoria ja hyperpolaroitua ksenonkaasua eli ksenon-biosensoria. Biosensori toimii tässä ksenonin kuljettimena, jonka ominaisuutena on löytää kuvattavan kohteen solun pinnalta reseptori, johon se kykenee sitoutumaan. Lisäksi biosensorin osana on molekyylihäkki, jonka sisään menetelmässä signaalin muodostukseen käytettävä hyperpolaroitu ksenon pystyy kulkeutumaan.

Ensimmäisessä luvussa käydään läpi NMR-spektroskopian perusteita. Tämän jälkeen tarkastellaan lyhyesti NMR:n ehkä tunnetuinta sovellusta magneettikuvausta, jota käytetään menetelmässä kuvan muodostukseen. Tämän jälkeen käydään läpi ksenonin hyperpolarointi, jossa hyödynnetään optisen pumppauksen menetelmää. Lopuksi kerrotaan yleisesti biosensorista ja käydään läpi epäsuora kuvantamismenetelmä eli hyper-CEST- menetelmä.

Tutkielmassa käydään asioita läpi melko yksinkertaisesti, menemättä teoreettisesti kovinkaan syvälle aiheen käsittelyssä. Suppeasti käsitellään kvanttimekaniikkaa, jonka tärkeys tulee ilmi ksenonin hyperpolarointia käsittelevässä kappaleessa. Nämä asiat ovatkin varmasti jo tuttuja atomifysiikkaan tutustuneille ja fysiikkaa opiskelleille lukijoille, joten en usko niiden ymmärtämisen tuottavan suurestikaan päänvaivaa.

# 1. NMR-spektroskopia

## 1.1 Ytimen magneettinen momentti

Atomiydin on monimutkainen nukleoneista, eli protoneista ja neutroneista koostuva fysikaalinen systeemi. Atomiytimillä on kullekin ytimelle ominainen spinkvanttiluku  $I$ , joka määräytyy ytimen protonien ja neutronien lukumäärän eli ytimen massaluvun  $A$  mukaan. Jos massaluku on parillinen, on spinkvanttiluku kokonaisluku. Kun massaluku on pariton, on spinkvanttiluku parittoman kokonaisluvun puolikas. Spinkvanttiluku on nolla silloin, kun ytimen sisältämien protonien sekä neutronien lukumäärät ovat molemmat parillisia. Ytimen spinimpulssimomenttivektori  $\mathbf{I}$  saadaan ytimen protonien ja neutronien sisäisten liikemäärämomenttien eli spinimpulssimomenttien ja rataimpulssimomenttien vektorisummasta. Vektorin  $\mathbf{I}$  pituus on

$$|\mathbf{I}| = \hbar\sqrt{I(I + 1)}, \quad (1-1)$$

missä  $\hbar$  on redusoitu Planckin vakio. Spinimpulssimomenttivektorin  $\mathbf{I}$  komponentti voidaan määrittää halutussa suunnassa ja esimerkiksi z-akselin suunnassa saadaan

$$I_z = m\hbar. \quad (1-2)$$

Kuten yhtälöistä (1-1) ja (1-2) nähdään,  $|\mathbf{I}|$  ja  $I_z$  ovat kvantittuneita spinkvanttiluvun  $I$  määräämällä tavalla. Kvanttiluvun  $m$  mahdolliset arvot ovat

$$m = I, I - 1, I - 2, \dots, -I, \quad (1-3)$$

joita on yhteensä  $2I + 1$  kappaletta.

Jos ytimellä on spinimpulssimomenttivektori, on sillä klassisesti määriteltynä spinimpulssimomenttivektorin kanssa saman- tai vastakkaissuuntainen magneettinen dipolimomentti

$$\boldsymbol{\mu} = \gamma \mathbf{I}, \quad (1-4)$$

jossa  $\gamma$  on ytimen gyromagneettinen suhde, joka on kullekin ytimelle ominainen luku. Kvanttimekaniikan mukaan ytimen magneettisen dipolimomentin pituus ja suunta eivät voi saada mielivaltaisia arvoja, koska ne riippuvat ytimen spinimpulssimomentista. Magneettisen dipolimomentin suuruudeksi saadaan

$$\mu = |\boldsymbol{\mu}| = \gamma \hbar \sqrt{I(I+1)}, \quad (1-5)$$

ja komponentiksi halutussa suunnassa, esimerkiksi z-suunnassa

$$\mu_z = \gamma I_z = \gamma m \hbar \quad (1-6)$$

[1].

## 1.2 Ytimen käyttäytyminen magneettikentässä

Klassisen fysiikan mukaan ydin kokee vääntömomentin  $\mathbf{N}$  ulkoisessa magneettikentässä  $\mathbf{B}$

$$\mathbf{N} = \boldsymbol{\mu} \times \mathbf{B}. \quad (1-7)$$

Tämän seurauksena ydin alkaa prekessoida magneettikentässä samalla tavoin kuin hyrrä prekessoi maan gravitaatiokentässä, jolloin ytimen pyörimisakselin ja magneettikentän välinen kulma pysyy vakiona. Ytimen *Larmorin prekessiotaajuus* on tällöin

$$\nu = -\frac{\gamma}{2\pi} B. \quad (1-8)$$

Kuten yhtälöstä voi nähdä, riippuu prekessiotaajuus siten ytimen gyromagneettisesta suhteesta  $\gamma$  ja ulkoisesta magneettikentästä  $B$  [2].

Ytimen orientaatio magneettikentässä määrittää ytimen energian. Magneettisen ytimen ja magneettikentän välinen energia eli *Zeemanin vuorovaikutuksen* energia on

$$E = -\boldsymbol{\mu} \cdot \mathbf{B}, \quad (1-$$

9)

ja silloin, kun  $\mathbf{B}$  on z-akselin suuntainen, energiaksi saadaan

$$E_m = -\gamma \hbar B m. \quad (1-$$

10)

Koska ytimen spinimpulssimomenttivektorin  $\mathbf{I}$  ja magneettisen dipolimomenttivektorin  $\boldsymbol{\mu}$  arvot ovat kvantittuneet, ovat myös energian arvot kvantittuneet. Ytimen energiatilat ja mahdollisten energiatilojen lukumäärä riippuu kvanttiluvusta  $m$ , joka kertoo ytimen orientaatiosta magneettikentässä.

NMR-spektroskopiassa ydin siirtyy energiatilalta toiselle absorboimalla tai emittoimalla (riippuen siitä siirtyykö ydin ylemmälle vai alemmalle energiatilalle) sähkömagneettisen säteilyn kvantin eli fotonin. Tapahtumassa ydin voi siirtyä energiatasoltaan vain viereiselle energiatasolle. Fotonin spinquanttiluku on kokonaisluku ja arvoltaan 1. Kun ydin virittyy fotonin toimesta energiatilalta toiselle, muuttuu ytimen spinquanttiluku  $\Delta m = \pm 1$  verran. Fotonin liike-energia on  $E = h\nu$ , joka on yhtä suuri kuin ytimen energiatilojen välinen erotus  $\Delta E$  eli

$$\Delta E = \pm \gamma \hbar B \Delta m = \pm h\nu, \quad (1-$$

11)

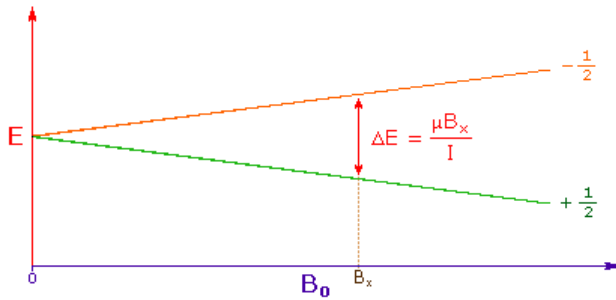
josta absorboituvan tai emittoituvan kvantin taajuus eli resonanssitaajuus on

$$\nu = \frac{\Delta E}{h} = \frac{\gamma \hbar B}{h} = \frac{\gamma}{2\pi} B, \quad (1-12)$$

joka on sama kuin ytimen Larmor-taajuus [3]. Resonanssitaajuus riippuu vain ytimen gyromagneettisesta suhteesta sekä ytimen kohdalla vaikuttavasta magneettikentästä  $\mathbf{B}$ .

Yhtälöstä voidaan lisäksi huomata, että havaitun resonanssitaajuuden avulla saadaan selvitettyä ytimen kohdalla vaikuttava magneettikentän  $\mathbf{B}$  suuruus. Tämä ei kuitenkaan ole täysin sama ulkoisen kentän  $\mathbf{B}_0$  kanssa vaan poikkeaa tästä hieman. Elektronit ytimen läheisyydessä sekä muut ytimet synnyttävät omat magneettikenttensä, jotka heikentävät hieman ulkoisen magneettikentän  $\mathbf{B}_0$  suuruutta ytimen kohdalla [1]. Tästä tarkemmin kohdassa 1.4.1, jossa käsitellään elektroniverhon ytimeen kohdistamaa varjostusvuorovaikutusta.

Stabiileista ytimistä protonilla on havaittu suurin gyromagneettinen suhde. Koska myös protonien lukumäärä on ihmisessä hyvin suuri, voidaan magneettikuvantamisessa havaita ihmisestä voimakas NMR-signaali [3].



**Kuva 1.** Spin-1/2-ytimen energiatilat magneettikentässä.

Vety on spin-1/2-ydin, jolloin sillä on energeettisesti kaksi mahdollista tilaa: ”spin ylös”-tila ( $m = 1/2$ ) ja ”spin-alas”-tila ( $m = -1/2$ ). Näistä ”spin-alas”-tila on energeettisesti ylemmässä tilassa ja ”spin-ylös”-tila energeettisesti alemmassa tilassa (kuva 1). Kun ytimet laitetaan ulkoiseen magneettikenttään  $\mathbf{B}_0$ , ne pyrkivät orientoitumaan kentän suuntaisesti. Tämä ei aivan pidä paikkaansa, sillä kvanttimekaniikan mukaan ydin ei ole koskaan orientoitunut täysin ulkoisen magneettikentän suuntaisesti [3]. Tilojen miehitysten  $N_{1/2}$  ja  $N_{-1/2}$  suhteeksi termisessä tasapainossa saadaan Boltzmannin jakauman avulla

$$\frac{N_{1/2}}{N_{-1/2}} = \exp\left[-\frac{\Delta E}{kT}\right], \quad (1-13)$$

missä  $k$  on Boltzmannin vakio. Suhteeksi saadaan hyvin pieni luku eli tilojen väliset miehitysluvut poikkeavat mitättömän vähän toisistaan ydinten kokonaislukumäärään verrattuna. Ihmisessä on kuitenkin valtava määrä protoneita, jolloin tilojen miehityslukujen pienestä poikkeamasta huolimatta ytimien magneettisista dipolimomenteista syntyy havaittava makroskooppinen ydinmagnetoituma kentän  $\mathbf{B}_0$  suunnassa. Energiatilojen väliset siirtymät tapahtuvat kuitenkin  $\mathbf{B}_0$ -kenttää vastaan kohtisuoran ja huomattavasti heikomman heräte kentän  $\mathbf{B}_1$  avulla joka oskilloi edellä määritetyllä resonanssitaajuudella.

### 1.3 NMR-signaali ja sen havaitseminen

NMR-kokeessa näytte asetetaan ensin voimakkaaseen ulkoiseen magneettikenttään  $\mathbf{B}_0$ , jolloin ytimet pyrkivät orientoitumaan kentän suuntaisesti. Kun näiden ydinten magneettiset momentit lasketaan yhteen, saadaan tasapainotilanteessa kentän kanssa yhdensuuntainen (z-akselin suuntainen) makroskooppinen ydinmagnetoitumavektori  $\mathbf{M}_0$ . Kohdistamalla näytteeseen magneettikenttää  $\mathbf{B}_0$  vastaan kohtisuora herätekenttä  $\mathbf{B}_1$ , saadaan aikaiseksi ytimien energiatilojen välisiä virityksiä, jonka johdosta magnetoitumavektori  $\mathbf{M}$  kallistuu tasapainosta xy-tasoon.

Pulssin loputtua  $\mathbf{M}$  jatkaa pyörimistään xy-tasossa z-akselin ympäri, minkä seurauksena näytteen vieressä oleva kela kokee muuttuvan magneettikentän, joka indusoi kelaan vaihtojännitteen. Tästä eteenpäin indusoitunut vaihtojännite on suoraan verrannollinen magnetoitumavektorin  $\mathbf{M}$  x-komponentin muutosnopeuteen. Radiotaajuudella vastaanottimeen tuleva signaali saadaan yhtälöstä

$$s_{rf}(t) = f \frac{dM_x}{dt}. \quad (1-14)$$

Magnetoitumavektorin palautuessa takaisin kohti tasapainoasemaa, signaali vaimenee vähitellen minkä takia sitä kutsutaan *vapaan vaimenemisen signaaliksi* (FID = Free Induction Decay) [3]. Näytteessä olevien erilaisissa kemiallisissa ja fysikaalisissa ympäristöissä olevien ytimien emittoimien signaalien taajuudet voidaan lopulta erottaa toisistaan Fourier-muunnoksen avulla.

Systemin palautumisessa takaisin termiseen tasapainotilaan liittyy kaksi eri relaksaatioaikaa: pitkittäistä relaksaatiota z-akselin suunnassa kuvataan  $T_1$  -relaksaatiolla (spin-ympäristö-relaksaatio), jossa magnetoitumavektorin  $\mathbf{B}_0$  – kentän suuntainen z- komponentti kasvaa kohti tasapainoasemaa.  $T_1$  -relaksaatiossa spinsysteemin energia muuttuu, koska  $\mathbf{B}_1$ -kentän pulssista absorboitu energia on luovutettava pois. Poikittaista relaksaatiota z-akselia vastaan kohtisuorassa xy-tason suunnassa kuvataan  $T_2$ -relaksaatiolla (spin-spin-relaksaatio), missä  $\mathbf{B}_0$  – kenttää vastaan kohtisuora magnetoitumavektorin xy-komponentti pienenee. Tämä aiheutuu ytimien välisistä keskinäisistä vuorovaikutuksista ja ytimien kokeman ulkoisen magneettikentän epähomogeenisuuksista. Näistä  $T_2$ -relaksaatio on ajallisesti  $T_1$  -relaksaatiota lyhyempi [4].

### 1.4 Ytimen vuorovaikutuksista

NMR-spektriä analysoimalla saadaan tietoa tutkittavasta näytteestä. Ytimen kemiallinen ympäristö, elektroniverho sekä naapuriytimet vaikuttavat ytimen kohdalla olevaan



magneettikenttään, jonka avulla kyetään saamaan tietoa näytteessä olevien ydinten kemiallisista sekä fysikaalisista ympäristöistä. Tarkastellaan elektronin aiheuttamaa varjostusvuorovaikutusta sekä ytimien välistä spin-spin-kytkentää.

### 1.4.1 Varjostusvuorovaikutus

Ulkoisessa magneettikentässä  $B_0$  molekyylin elektronit joutuvat kiertoliikkeeseen magneettikentän vaikutuksesta. Tämä kiertoliike saa aikaan sähkövirran, joka synnyttää oman magneettikenttensä, joka pyrkii pienentämään ulkoista magneettikenttää  $B_0$ . Elektronit *varjostavat* molekyylin ytimiä ja pienentävät ytimien kohdalla vaikuttavan magneettikentän voimakkuutta. Ytimen  $i$  kohdalla vaikuttavalle magneettikentälle  $B_i$  saadaan

$$B_i = (1 - \sigma_i)B_0, \quad (1-15)$$

missä  $\sigma_i$  on ytimen varjostusvakio, jonka arvo riippuu ytimen kemiallisesta ympäristöstä. Varjostusvakioiden arvot ilmoitetaan miljoonasosina (ppm). Elektroniverhon varjostusvuorovaikutuksen magneettikenttään aiheuttaman korjauksen johdosta ytimen resonanssitaajuudeksi saadaan

$$\nu_i = \frac{\gamma B_i}{2\pi} = \frac{\gamma}{2\pi} (1 - \sigma_i)B_0. \quad (1-16)$$

NMR-spektrissä havaittujen NMR-signaalien intensiteetti esitetään taajuuden funktiona. Signaalien intensiteetti eli spektristä havaittavan piikin korkeus on verrannollinen sitä vastaavien ytimien lukumäärään. Ytimen  $i$  NMR-spektri esitetään kuitenkin yleensä taajuuden  $\nu_i$  sijaan kemiallisena siirtymänä  $\delta_i$  johonki vertailusignaaliin verrattuna, joka saadaan referenssiaineesta.

Taajuuden suhteellinen arvo eli *kemiallinen siirtymä*  $\delta_i$  on

$$\delta_i = \frac{\nu_i - \nu_{ref}}{\nu_0} = \frac{(1 - \sigma_i)\nu_0 - (1 - \sigma_{ref})\nu_0}{\nu_0} = \sigma_{ref} - \sigma_i. \quad (1-17)$$

Käytettävän  $\delta$ -asteikon etu on ettei se riipu käytettävästä ulkoisesta magneettikentästä  $B_0$ , vaan ainoastaan ydinten kemiallisista ympäristöistä. Yhtälössä  $\nu_{ref}$  ja  $\sigma_{ref}$  ovat jonkin vertailusignaalin taajuus ja kemiallinen siirtymä. Vertailusignaali on asetettu spektrin nollakohtaan, johon saatuja

spektrin signaaleja verrataan. NMR-spektroskopiassa yleisesti käytetään referenssiaineena tetrametyylisilanaa TMS [ $Si(CH_3)_4$ ].

Historiallisista syistä johtuen NMR-spektrin esittäminen poikkeaa yleisestä käytännöstä. NMR-spektrissä  $\delta$  kasvaa oikealta vasemmalle, koska varjostuksen pienenentyessä kemiallinen siirtymä kasvaa [1].

### 1.4.2 Spin-spin-kytkentä

Ytimet voivat olla epäsuorasti vuorovaikutuksessa keskenään elektroniverhojensa välityksellä. Tätä kutsutaan spin-spin-kytkennäksi, jossa elektronit muodostavat ytimen  $i$  kohdalle pienen ylimääräisen magneettikentän  $B_{ij}$ . Tämä on suoraan verrannollinen ytimen  $j$  magneettiseen momenttiin  $\mu_j$ . Tässä ydin  $j$  häiritsee magneettikentällään elektroniverhoaan polaroimalla elektronien spinistä aiheutuvia magneettisia momenteja ja välittää kyseisen häiriön ytimen  $i$  ympäristöön, missä elektronien magneettiset momentit pyrkivät polaroitumaan vastakkaiseen suuntaan kuin ytimen  $j$  ympärillä. Ytimien välillä on siten olemassa vuorovaikutus, joka tapahtuu kentän  $B_{ij}$  välityksellä.

Ydin voi kytkeytyä samanaikaisesti useampaan naapuriytimeensä, joista jokainen vaikuttaa hieman erisuuruisella sekä muista riippumattomalla kytkentävakion  $J_{ij}$  arvolla ytimen resonanssitaajuuden  $\nu_i$  sekä ytimen kohdalla vaikuttavan magneettikentän  $B_i$  suuruuteen. Tällöin resonanssitaajuuden  $\nu_i$  arvot saadaan yhtälöstä

$$\nu_i = (1 - \sigma_i)\nu_i^0 - \sum_{j=1}^n J_{ij}m_j \quad (1-$$

18)

[1].

## 2. Magneettikuvaus

Lääketieteessä saadaan korkealaatuisia ja tarkkoja leikekuvia ihmiskehosta NMR-spektroskopian tunnetuimman sovelluksen magneettikuvauksen (MRI = Magnetic Resonance Imaging) avulla. Magneettikuvauksen hyödyllisyys kuvantamismuotona ei perustu ainoastaan kuvien korkeaan laatuun vaan myös siihen, että siinä ihminen ei altistu terveydelle haitalliselle ionisoivalle säteilylle, kuten esimerkiksi positroniemissiotomografiassa (PET) ja yksifotoniemissiotomografiassa (SPECT).

Magneettikuvaus on vielä varsin uusi kuvantamistekniikka. Ensimmäinen magneettikuvauslaite hankittiin Suomeen 1980-luvun lopulla, jonka jälkeen kuvantamistekniikka ja sen sovellukset ovat kehittyneet nopeasti [5]. Magneettikuvauksessa käytetään hyväksi protonien suurta lukumäärää ihmisessä. Näiden avulla saadaan muodostettua ihmisestä voimakas NMR-signaali. Magneettikuvauksessa käytettävän staattisen ulkoisen magneettikentän voimakkuus on n. 1-3 T (Teslaa). Nykyisin uusissa laitteissa käytetään pääosin 3 T:n kenttiä. Kuvauksessa potilas asetetaan tähän suhteellisen voimakkaaseen magneettikenttään. Magneettikenttä tehdään lineaarisesti paikasta riippuvaiseksi gradienttipulssin avulla, jolloin ytimien prekessiotaajuus tulee myös paikasta riippuvaiseksi. Tällöin ytimet resonoivat eri taajuuksilla paikasta riippuen. Ilman tätä menetelmää ihmisestä saataisiin NMR-spektri, josta ei pystyttäisi havaitsemaan kuin yksi kapeahko signaali.

Gradienttipulssin ansiosta magneettikenttä voi olla matalampi potilaan pään kohdalla ja kasvaa siitä eteenpäin lineaarisesti potilaan jalkopäätä lähestyttäessä. Koska ihmisessä protonien tiheys vaihtelee, havaitaan spektri, joka on projektiio ihmisen spinttiheydestä. Kuvausyhtälö, josta nähdään signaalien olevan spinttiheyden Fourier-muunnos, on yhdessä ulottuvuudessa

$$S(\mathbf{k}) = \int_{-\infty}^{\infty} \rho(x) \cdot e^{2\pi i \mathbf{k}(t) \cdot x} dx, \quad (1-19)$$

missä  $\rho(x)$  on spintiheys yhdessä ulottuvuudessa ja

$$\mathbf{k}(t) = \gamma \int_0^t \mathbf{G}(t') dt' \quad (1-$$

20)

on taajuusvektori, missä  $\mathbf{G}(t')$  on ajasta ja paikasta riippuva ulkoisen magneettikentän  $\mathbf{B}_0$  gradientti [3, 6].

### 3. Ksenonin hyperpolarointi

#### 3.1 $^{129}\text{Xe}$ -ytimen ominaisuuksia

$^{129}\text{Xe}$ -ytimen gyromagneettinen suhde on suhteellisen suuri ( $\gamma = -73,997 \times 10^6 \text{ rad s}^{-1} \text{ T}^{-1}$ ) ja se on spin-1/2-ydin. Ksenon on jalokaasu, jolloin sen elektronikuoret ovat täyteen miehityt, joten ksenon on kemiallisesti reagoimaton eikä muodosta pysyviä yhdisteitä muiden atomien kanssa.  $^{129}\text{Xe}$ -ytimen elektroniverho on suuri ja se reagoi helposti ympäristön muutoksiin, minkä takia sen kemiallinen siirtymä on hyvin herkkä ja siksi hyödyllinen materiaalitutkimuksessa sekä biosensoreissa. Ksenon ei myöskään esiinny osana missään biologisessa organismissa, jolloin sen hyödyntäminen NMR-kuvantamisessa on helppoa, koska sillä ei ole häiritsevää taustasignaalia NMR-spektrissä. Ksenonia voidaan käyttää myös ns. NMR-tunnustelijana jolloin ksenonin avulla saadaan informaatiota sen ympäristöstä. Ksenonia on hyödynnetty mm. nestekiteiden ja huokoisten materiaalien tutkimuksessa [4].  $^{129}\text{Xe}$ -kaasua on käytetty myös hyväksi keuhkojen sekä aivojen kuvantamisessa ja jotkin tutkimusryhmät jopa perfuusio (nesteen virtaaminen elimen läpi sen verisuonien kautta) tutkimuksissa [7].

### 3.2 Terminen polarisaatio

$^{129}\text{Xe}$ :n ytimen spin on  $1/2$ , jolloin ytimellä on kaksi mahdollista energiatilaa magneettikentässä: *spin-alas*-tila ja *spin-ylös*-tila. Termisessä tasapainossa näiden kahden tilan välinen miehityslukujen suhde saatiin Boltzmannin jakauman avulla

$$\frac{N_{1/2}}{N_{-1/2}} = \exp\left[-\frac{\Delta E}{kT}\right], \quad (3-1)$$

1)

jonka suhde vierekkäisille energiatiloille on hyvin pieni, noin  $10^{-5}$ - $10^{-6}$  prosenttia. Energiatilojen miehitysluvut eivät juurikaan poikkeakaan toisistaan termisessä tasapainossa.

Määritetään nyt ydinspinpolarisaatio, joka kertoo energiatilojen välisen suhteellisen miehityseron

$$\left| \frac{N_{-\frac{1}{2}} - N_{\frac{1}{2}}}{N_{-\frac{1}{2}} + N_{\frac{1}{2}}} \right| \approx \left| \frac{\Delta E}{2kT} \right| = \left| \frac{\gamma \hbar B_0}{2kT} \right|, \quad (3-2)$$

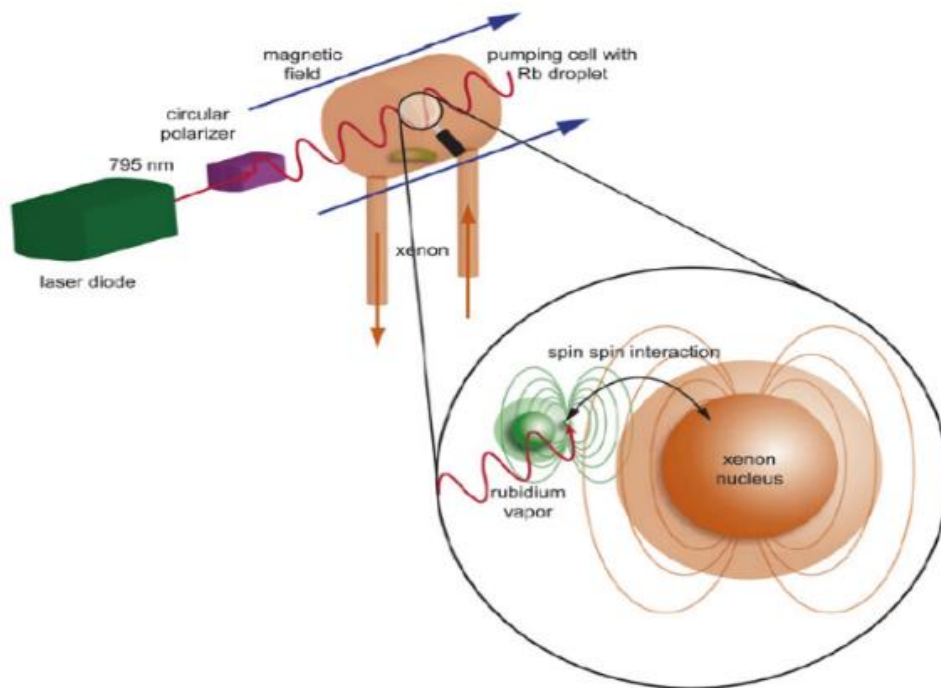
joka saadaan, kun eksponenttifunktio kehitetään sarjakehitelmäksi ja approksimoidaan  $|\gamma| \hbar B_0 \ll kT$ .

Ydinspinpolarisaatioksi  $^{129}\text{Xe}$ -ytimelle saadaan melko voimakkaassa 11,7 T magneettikentässä ja huoneenlämpötilassa (295 K) vain 0,0011%. Havaittava NMR-signaali jää tällöin hyvin heikoksi [4]. Jalokaasuista havaittavaa NMR-signaalia voidaan kuitenkin kasvattaa kasvattamalla ydinspinpolarisaatiota [8, 9]. Tähän menetelmään tutustutaan seuraavassa luvussa.

### 3.3 Hyperpolarointi

Ksenonin hyperpolaroinnissa käytetään hyväksi ympyräpolaroitua valoa, joka kohdistetaan hyperpolarisointilaitteistossa sijaitsevaan ja magneettikentässä olevaan polarointikammioon. Tämän pohjalla on alkalimetallia, joka höyrystyy kammiota kuumennettaessa, jolloin valo absorboituu alkalimetalliatomeihin. Menetelmää kutsutaan optiseksi pumppaukseksi ja sen tarkoituksena on saada viritettyä rubidiumin valenssielektroni haluttuun tilaan. Alkalimetallin elektronien viritämiseen menetelmä ja ympyräpolaroidun valon käyttäminen on välttämätöntä (kuva 4).

Valoa voidaan kutsua ympyräpolaroiduksi, kun valon sähkövektorin x- ja y-komponenttien välinen vaihe-ero on  $90^\circ$  ja ne ovat suuruudeltaan yhtä suuret [10]. Valo on oikeakätisesti ympyräpolaroitua, kun sähkövektori kiertyy myötäpäivään valon etenemissuuntaan katsottaessa ja vasenkätisesti ympyräpolaroitua sähkövektorin kiertyessä vastapäivään valon etenemissuuntaan katsottaessa. Valolähteenä käytetään diodilaseria, jonka emittoimien fotonien aallonpituus on 795 nm. Alkalimetallina käytetään yleisimmin rubidiumia, joka höyrystyy melko matalassa lämpötilassa ( $80^\circ\text{C}$ ). Tämän ansiosta saavutetaan kammioon helposti korkea höyrynpaine, joka lisää atomien välisiä törmäyksiä ja vuorovaikutuksia kammiossa. Polarointikammio on varsinaisesti vain yksi osa ksenonin polaroinnissa käytettävästä jatkuvan virtauksen laitteistosta. Laitteistossa rubidiumkaasu voidaan höyrystää omassa säiliössään ja ohjata sitten polarointikammioon, jossa rubidium sekoittuu laitteiston kaasuseokseen. Seoksessa ksenonia on vain murto-osa muihin kaasuihin verrattuna (1-5%). Runsaimmin on heliumia ja lisäksi jonkin verran typpeä. Näistä typpi toimii seoksessa puskurikaasuna, jonka tehtävänä on absorboida emittoituvia fotoneja (fluoresenssivaloa) elektronien viritystilojen purkautuessa.



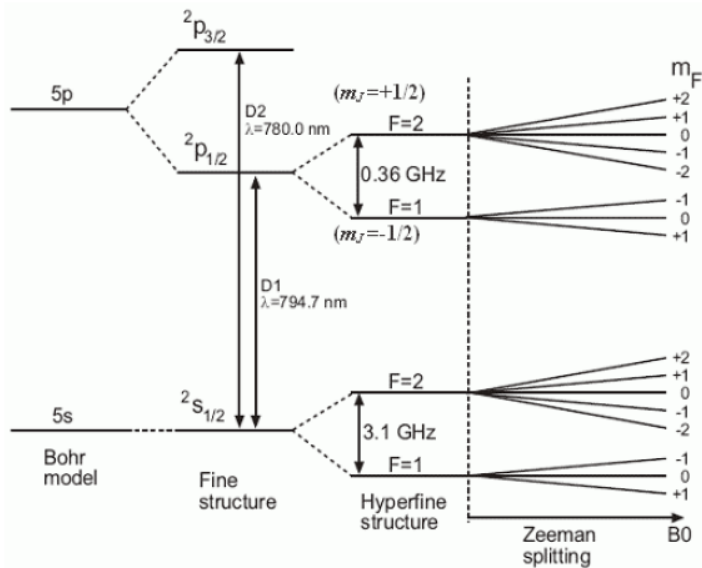
**Kuva 4. Ksenonin hyperpolarointilaitteisto.** Laser-diodilta kohdistetaan 795 nm:n valo polarisaattoriin, jossa valo ympyräpolaroidaan ja ohjataan magneettikentässä polarisointikammioon. Polarointikammiossa tapahtuu elektronien optinen pumppaus, jossa rubidiumin uloin elektroni viritetään perustilan alikuoren spin-ylös-tilaan. Polarointikammiossa ksenon- ja rubidiumatomien törmäyksissä spintila siirtyy ksenonytimelle [11].

Rubidium on alkalimetalli, joten sen uloimmalla elektronikuorella on yksi elektroni (valenssielektroni), joka sijaitsee rubidiumin viidennen elektronikuoren s-alikuorella. Elektronin kokonaiskulmaliikemäärävektori  $\mathbf{J}$  saadaan spinimpulssimomenttivektorin  $\mathbf{S}$  ja rataimpulssimomenttivektorin  $\mathbf{L}$  summana. Sen kvanttiluvut saadaan laskemalla summa  $j = s + l$ , missä  $s$  on elektronin spinimpulssimomentin kvanttiluku ja  $l$  on elektronin rataimpulssimomentin kvanttiluku. Elektronin spinimpulssimomentin kvanttiluku voi saada joko arvon  $+1/2$  tai  $-1/2$ . Rataimpulssimomentin  $l$  kvanttiluku riippuu siitä millä elektronikuoren alikuorella elektroni sijaitsee, ja siten sen arvo saadaan säännöstä  $l = n - 1$ . Koska kvanttimekaniikan mukaan elektronin spinimpulssimomentti ja rataimpulssimomentti ovat vuorovaikutuksessa keskenään, aiheuttaa tämä spektriviivojen halkeamisen kahtia ensimmäisestä viritystilasta lähtien. Tätä vuorovaikutusta kutsutaan elektronin *spin-rata-vuorovaikutukseksi*, joka synnyttää osaltaan alikuorten hienorakenteen, kun  $l > 0$ . Tarkalleen ottaen hienorakenne syntyy, kun spin-rata -kytkennän lisäksi huomioidaan myös suhteellisuusteoreettinen korjaus elektronin kineettiseen energiaan.

Spin-rata -kytkentä (alikuorten hienorakenne) syntyy, kun tarkastellaan tilannetta elektronin lepokoordinaatistosta. Vuorovaikutus voidaan ymmärtää myös suoraan klassisesti. Nyt ydin on pyörimisliikkeessä elektronin ympäri ja aiheuttaa magneettikentän  $\mathbf{B}$  elektronin kohdalle. Elektronin potentiaalienergiaksi ytimen kiertoliikkeen synnyttämässä magneettikentässä saadaan

$$U_n = \pm \mu_B B \quad (3-3)$$

Elektronin spinin  $\mathbf{S}$  orientaatiosta ytimen magneettikentässä riippuu, saako elektroni positiivisen vai negatiivisen potentiaalienergian. Lopputuloksena jokainen alikuori halkeaa kahdeksi uudeksi alikuoreksi, joiden energiat poikkeavat  $\Delta E = 2\mu_B B$  verran toisistaan (kuva 5). Perustila ei kuitenkaan halkea, koska sille  $l = 0$ , joten tulos pätee vain viritystiloille [4, 12].

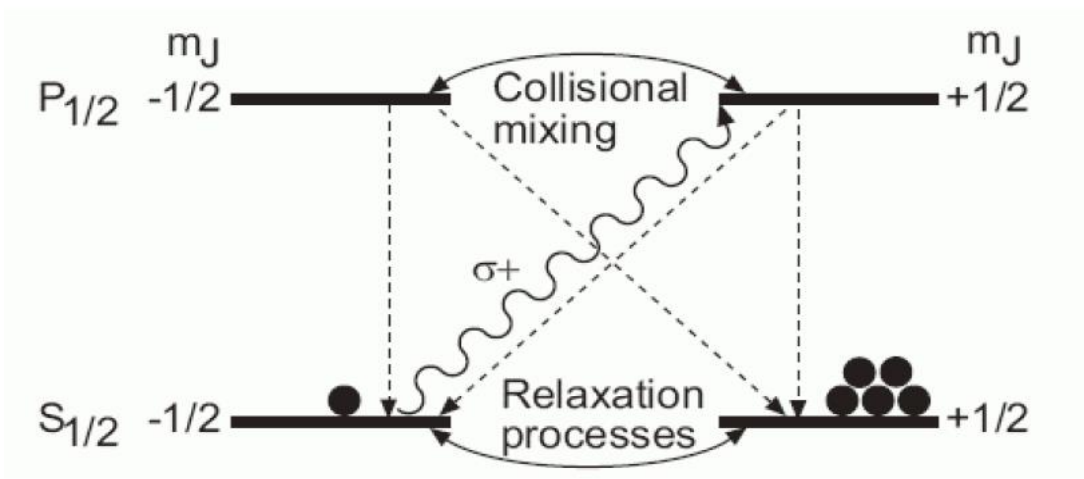


**Kuva 5. Rubidiumin energiatasokaavio magneettikentässä.** Kaaviosta nähdään energiatasojen Bohrin-malli, hienorakenne, hyperhienorakenne ja Zeemanin vuorovaikutus [14].

Elektronin perustila on  $5^2S_{1/2}$ . Perustilalla spin-rata-vuorovaikutusta ei havaita, koska rataimpulssimomentti saa arvon nolla. Ensimmäisellä ja toisella viritystilalla spin-rata-vuorovaikutus aiheuttaa energiatiilojen jakautumisen kahteen tilaan, koska rataimpulssimomentin kvanttiluku saa arvon  $l=1$  ja elektronin spinimpulssimomentti voi saada joko arvon  $-1/2$  (ensimmäinen viritystila:  $2P_{1/2}$ ) tai  $+1/2$  (toinen viritystila:  $2P_{3/2}$ ). Ensimmäisellä viritystilalla spinimpulssimomentti ja rataimpulssimomentti ovat vastakkaissuuntaiset ja toisella viritystilalla samansuuntaiset.

Alikuorista jokainen hienorakenne jakautuu vielä kahdeksi hyperhienorakenteeksi atomin kokonaisspinkvanttiluvun  $F$  mukaan (kuva 5). Tämä saadaan, kun summataan elektronin spinkvanttiluku ja ytimen spinkvanttiluku, eli  $F = m_s + I$ . Hyperhienovuorovaikutus aiheutuu, kun ytimen ja elektronien välinen vuorovaikutus huomioidaan. Jos vielä huomioidaan elektronin ja ytimen Zeemanin vuorovaikutus, jakautuvat hienorakenteet vieläkin useampaan alitilaan, joiden lukumäärä on  $2F + 1$  (kuva 5). Optisen pumppauksen yhteydessä voidaan kuitenkin unohtaa hyperhienovuorovaikutus sekä ytimen spinkvanttiluvun  $I$  huomioon ottaminen. Tällöin riittää, että tarkastellaan vain elektronin kokonaisimpulssimomenttivektoria  $\mathbf{J}$ . Perustila ja ensimmäinen viritetty tila jakaantuvat tarkastelussa elektronin magneettisen momentin ja magneettikentän välisen vuorovaikutuksen johdosta (kuva 6) [8, 13, 14].

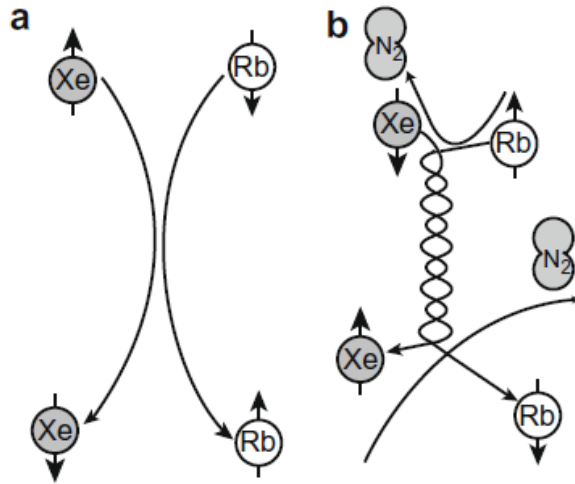




**Kuva 6.** Kaaviokuva rubidiumin elektronien optisesta pumppauksesta ympyräpolaroidun valon avulla [15].

Elektronin perustilan ja ensimmäisen viritetyn tilan välinen energia on suuruudeltaan sama kuin elektronin absorboiman fotonin energia. Tällöin viritys voi tapahtua vain perustilalta ensimmäiselle viritetylle tilalle eli  $5^2S_{1/2} \rightarrow 5^2P_{1/2}$ . Virityksessä elektronin magneettinen kvanttiluku  $m_J$  muuttuu arvosta  $-1/2$  arvoon  $+1/2$ . Muutoksen suuruus  $\Delta m_J = +1$  mikä vastaa fotonin spinkvanttiluvun  $I_f$  arvoa. Jos fotoni onnistuu viritämään elektronin, voidaan valoa merkitä  $\sigma^+$  (kuva 6). Elektroni ei asetu viritetylle tilalle pitkäksi aikaa vaan palaa takaisin perustilalle hyvin nopeasti, kun se samalla emittoi fotonin. Palautuuko elektroni perustilan spin-alas- vai spin-ylös-tilaan viritetyltä tilalta, riippuu ns. Glebsch-Gordan kertoimien todennäköisyyksistä, jotka eivät ole samat molemmille tapahtumille [16]. Rubidiumatomien liike on kuitenkin säiliössä vaikuttavan suuren paineen johdosta niin nopeaa, että viritetyn tilan lyhyestä elinajasta riippumatta, että viritetyn tilan alitilat sekoittuvat keskenään (collisional mixing). Tämä huomioiden Glebsch-Gordan kertoimien todennäköisyydet eivät enää päde, vaan rubidiumin törmäyksien seurauksena elektroni palaa viritetyltä tilalta takaisin perustilan kahdelle eri alitilalle yhtä suurilla todennäköisyyksillä. Tämä vaikuttaa optisen pumppauksen tehokkuuteen positiivisesti. Perustilan alitilalla  $m_J = +1/2$  olevien elektronien lukumäärä alkaa lisääntyä nopeasti. Tämä johtuu siitä, että viritetyltä tilalta perustilan alitilalle  $m_J = -1/2$  palautunut elektroni virityy lähes välittömästi takaisin viritetyn tilan alitilalle  $m_J = +1/2$ , josta alitilat jälleen sekoittuvat keskenään ja elektroni palaa yhtä suurella todennäköisyydellä jälleen takaisin toiselle alitiloistaan emittoimalla fotonin. Perustilan alitilan  $m_J = +1/2$  elektronit eivät pysty absorboimaan  $\sigma^+$ -valoa (kuva 6). Prosessi jatkuu, niin pitkään kunnes elektronit ovat lähes kokonaan miehittäneet perustilan alitilan  $m_J = +1/2$ . Vaikka elektronit eivät

tältä tilalta kykenekään absorboimaan fotoneja, voivat ne silti depolaroitua takaisin alitilalle  $m_J = -1/2$ . Tämä johtuu atomien vuorovaikutuksista keskenään sekä polarointikammion seinien kanssa. Kuitenkin lähes täydellinen elektronispinpolarisaatio voidaan saavuttaa [13].



**Kuva 7. Spinpolarisaation siirto SEOP-menetelmässä.** a) Kahden kappaleen törmäys. b) Kolmen kappaleen törmäys, jossa van der Waals-molekyylin muodostuminen mahdollistaa rubidiumin valenssielektronin ja ksenoniytimen spinvaihdon molekyylin elinaikana [8].

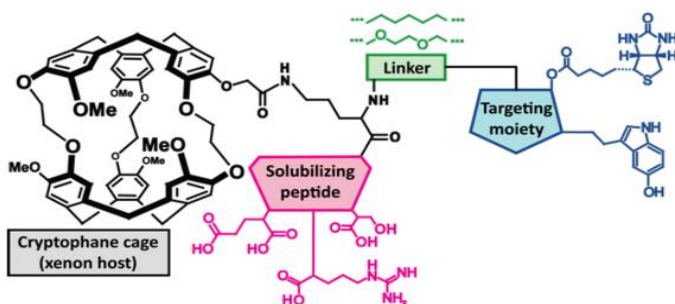
Rubidiumatomien saavutettua elektronispinpolarisaationsa sen on mahdollista vaihtaa spintiloja kaasuseoksen ksenonatomien kanssa (kuva 7). Tätä kutsutaan *spinvaihtotörmäykseksi* ja siinä rubidiumin elektronispinpolarisaatio siirtyy ksenonatomien ytimelle ja tästä SEOP-menetelmässä varsinaisesti onkin kyse. Spinvaihto tapahtuu ns. van der Waals-molekyylin elinaikana ja tähän törmäysprosessiin liittyy lisäksi typpimolekyylillä. Siksi tapahtumaa kutsutaankin kolmen kappaleen törmäykseksi, jossa van der-Waals-molekyylin muodostuu ksenon- ja rubidiumatomien sekä typpimolekyylin välille heikon sidoksen välityksellä [17]. Ennen törmäystä optisesti pumpattujen rubidiumatomien valenssielektroni on siis perustilallaan ja spin-ylös suuntaan orientoitunut, kun taas ksenonatomien ydin on spin-alas suuntaan orientoitunut. van der Waals-molekyylin elinaikana spintilat vaihtuvat siis päinvastaisiksi jolloin spinvaihto on tapahtunut. Rubidiumin elektronispinpolarisaation siirtymien ksenonin ydinspinpolarisaatioksi riippuu hyperpolarointilaitteistosta. Tehokkaimmilla laitteistoilla on päästy lähemmäs 100 %:a, kun alimmillaan siirtyminen on ollut n. 10 %:n luokkaa, joka johtuu van der Waals-molekyylin pyörimisestä aiheutuvan molekyylin pyörimisimpulssimomentin  $N$  ja rubidiumatomien elektronin spinimpulssimomentin  $S$  välisestä spin-rotaatiovuorovaikutuksesta. Ksenonin ydinspinpolarisaatiota voidaan kasvattaa, jos rubidiumin valenssielektronit polaroituvat heti spinvaihtotörmäyksen jälkeen jolloin rubidiumin elektronispinpolarisaatio pysyy korkeana kaasuseoksessa. Alhaisilla paineilla

*kolmen kappaleen törmäys* dominoi, mutta korkeissa paineissa *kahden kappaleen törmäys* spinvaihtomekanismina on todennäköisempi, joka johtaa ksenonin ydinspinrelaksaatioon. Muita ksenonin ydinspinrelaksaatioon vaikuttavia tekijöitä on vuorovaikutukset muiden ksenon ja puskurikaasujen atomien kanssa, säiliön seinämävuorovaikutukset ja magneettikentän epähomogeenisyydet [8].

## **4. Biosensori**

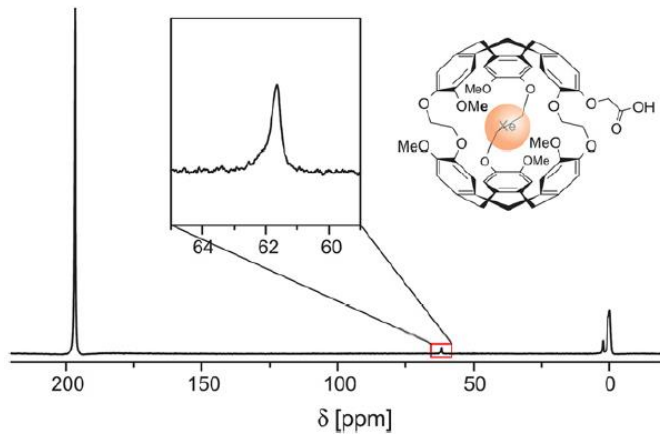
Ksenon on jalokaasu jota ei esiinny elimistössä luonnostaan. Tämän vuoksi se on ihanteellinen kuvantamisaine, toisin kuin esimerkiksi  $^1\text{H}$ , jonka signaalia on vaikea erottaa taustasignaaleista. Jotta ksenonia voitaisiin käyttää hyväksi kudosten kuvauksessa, on sille löydettävä molekyylihäkkirakenne, joka kulkeutuu haluttuun kohteeseen ihmiskehossa ja sen Xe-signaali on

havaittavissa. Tällaisia jalokaasuja kapseloivia molekyyliä on kehitetty ja niitä kutsutaan *biosensoreiksi* (yksi mahdollisista rakenteista kuvassa 10). Parhaita tuloksia on saatu molekyyllillä, jota kutsutaan *kryptofaaniksi* (cryptophane). Ksenonatomeilla on ns. sisään-ulos vaihtoa häkkimolekyylin ja liuottimen välillä (tyypillisesti vesi). Häkin sisäpuolella ksenon vuorovaikuttaa häkin aromaattisen rakenteen kanssa ns. van der Waalsin voimien eli dispersiovoimien välityksellä, jolloin kyseessä on heikko sidos, jonka kesto on ainoastaan millisekuntien luokkaa [11]. Tässä vuorovaikutuksessa elektronien kiertoliike jalokaasun ympärillä synnyttää niistä värähteleviä sähköisiä dipoleja. Hetkellinen dipolimomentti jalokaasuatomissa synnyttää sähkökentän, joka polarisoi toisen sidokseen osallistuvan atomin, jolloin näiden välille muodostuu dipoli-dipoli-sidos [18]. Sidoksen katkettua ksenon palaa häkin sisäpuolelta takaisin häkin ulkopuolelle, josta kulkeutuu uusi ksenon atomi häkin sisään vanhan tilalle. Häkin ja ympäristön välillä vallitsee siis selkeä tasapaino. Ksenonatomit liikkuvat näin, koska ne ovat hydrofobisia eli vesipakoisia, jolloin ne kulkeutuvat mielellään häkkimolekyylin sisälle, jossa on hydrofobinen ympäristö.



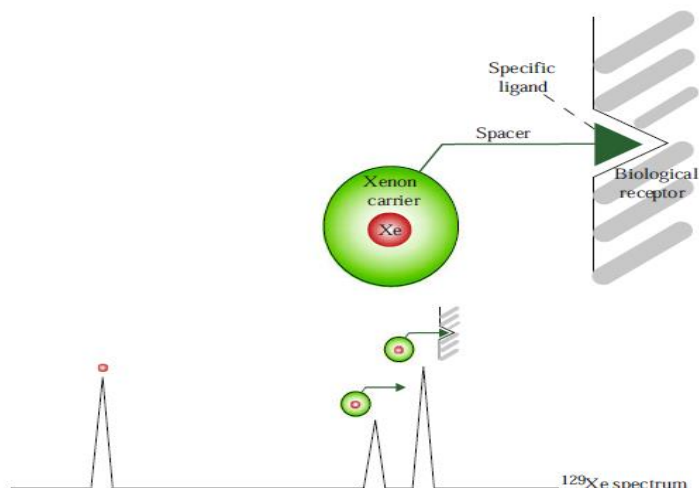
**Kuva 10. Ksenon-biosensori ja sen osat.** Häkkimolekyyli, vesiliukoisuutta parantava aminohappomolekyyli, ”linkkeri” ja ligandi, jolla on kyky hakeutua tietyn solutyypin reseptoriin eli muodostaa sidos reseptorin kanssa [19].

Aromaattisista hiilirenkaista koostuva molekyylihäkki aiheuttaa ison muutoksen myös sen sisällä olevan ksenonin NMR-taajuuteen (kuva 11). Vapaan ksenonin pitoisuus on huomattavasti suurempi kuin biosensoreiden, joten niistä saatava resonanssihiikki on spektrissä paljon korkeampi kuin ksenonia sisältävän biosensorin hiikki.



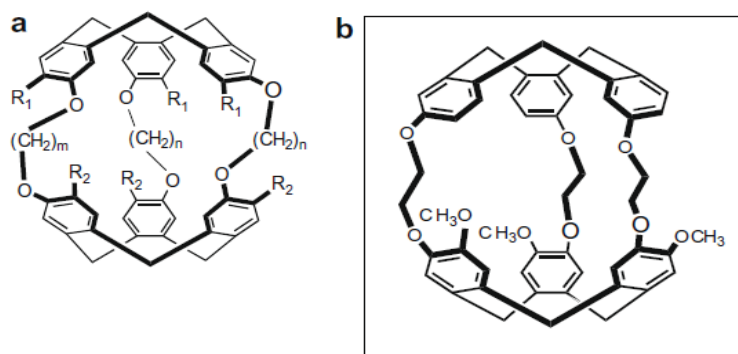
**Kuva 11. Ksenonia ja biosensoreita sisältävästä näytteestä saatu NMR-spektri.** Korkea piikki saadaan liuottimessa olevasta vapaasta ksenonista ja matala piikki biosensorin sisältämästä ksenonista. Vapaan ksenonin korkea piikki aiheutuu sen suuresta pitoisuudesta näytteessä. Biosensoreiden konsentraatio näytteessä on taas huomattavasti pienempi kuin vapaan ksenonin, joten niiden sisältä saatava ksenonin signaali antaa erittäin matalan intensiteetin piikin spektriin. Kuvasta voidaan huomata selvästi, että biosensorin sisältämän ksenonin kemiallinen siirtymä on aivan eri luokkaa kuin vapaan ksenonin kemiallinen siirtymä. Tämän johdosta signaalit voidaan erottaa hyvin toisistaan [11].

Häkkimolekyylin lisäksi joissain biosensoreissa on rakenteellisena osana sen vesiliukoisuutta lisäävä aminohappomolekyylillä sekä ns. ”linkki-molekyylillä” (*linker*) ja kohdistava ryhmä, joka kykenee hakeutumaan solukalvon pinnalla sijaitsevaan reseptoriin ja ohjaa biosensorin kulkeutumista elimistössä (kuva 8). Tämä mahdollistaisi myös ns. virtuaalisen biopsian eli virtuaalisen kudoksen näytteen ottamisen, jossa käytetään samanaikaisesti useampaa eri biosensoria, joissa kussakin kohdistavana ryhmänä toimisi tietyn syöpäsolun solukalvon reseptoriin hakeutuva ryhmä. Jos jokin biosensori löytäisi potilaan elimistöstä syöpäsolun ja sitoutuisi tähän, saataisiin siitä eri signaali kuin sitoutumattomasta biosensorista (kuva 12). Tämän avulla pystyttäisiin potilaalla epäiltävä mahdollinen sairaus havaitsemaan aikaisessa vaiheessa, mikä edesauttaisi sairaudesta paranemista. Ksenon-biosensori kykenisi siis toimimaan myös diagnostisena työkaluna, kun haluttaisiin seuloa potilaalla ilmeneviä eri sairauksia [20].



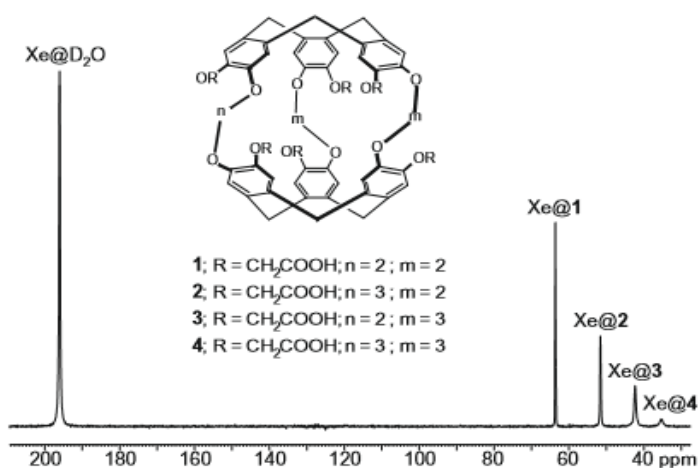
**Kuva 12. Biosensorin ja sidoksen vaikutus NMR-signaaliin.** Kohteen reseptoriin sitoutunut ja ksenonia sisältävä biosensori antaa hieman vapaasta ksenonista sisältävästä biosensorista poikkeavan signaalin. Reseptoriin sitoutuneen biosensorin ksenonista saadaan hieman korkeamman intensiteetin piikki ja sen kemiallinen siirtymä on hiukan pienempi kuin sitoutumattoman biosensorin ksenonista saadaan. Huomioitavaa on myös, että kuvan spektrin ksenonia sisältävien biosensoreiden intensiteetti- ja kemialliset siirtymät ovat huomattavasti matalampia kuten kuvassa 11 [21].

Tutkimuksessa käytetyiltä häkkimolekyyleiltä vaaditaan tiettyjä ominaisuuksia. Oleellista on, että ksenon pystyy kulkeutumaan häkkimolekyylin sisälle. Ksenonvaihdon eli ksenonin kulkeutumisen häkkimolekyylin sisään ja ulos on oltava tarpeeksi nopeaa, että kulkeutuminen on mahdollista. Suuri resonanssitaajuuksien ero näytteen vapaan ksenonin ja häkkimolekyylin sisällä olevan ksenonin välillä on lisäksi suotuisaa. Ksenonin relaksaatioaika häkin sisällä pitäisi myös olla riittävän pitkä.



**Kuva 8. Kryptofaanien rakenne.** a) Anti-muoto, b) Esimerkki syn-muodosta (cryptophane-D) [21].

Tutkimusten perusteella on havaittu, että parhaiten nämä ominaisuudet täyttyvät kryptofaaneilla (kuva 8), jotka löydettiin jo vuonna 1981 [22]. Ne koostuvat kahdesta CTV-yksiköstä (cyclotrimeratrylene), jotka sitoutuvat toisiinsa alkoksyyylisidoksin. Kryptofaanit voivat esiintyä anti- tai syn-topoisomeereina. Nämä eroavat toisistaan CTV-yksiköiden välillä olevien sidosten määrällä, jolloin eri kryptofaaneilla  $m$  ja  $n$  voivat saada eri arvoja. Lisäksi kohdissa  $R_1$  ja  $R_2$  voi olla sitoutuneena eri substituentti (kuva 8) [23]. Kun  $m=n$  ja  $R_1=R_2$ , anti-kryptofaanit ovat kiraalisia, kun taas syn-kryptofaanit ovat akiraalisia.



**Kuva 9.** Erilaisista häkkimolekyyleistä saadaan toisistaan poikkeavat kemialliset siirtymät. Kuvassa eri häkkimolekyyliden CTV-yksikköjen välillä on eri pituisia sidokset [21].

Koska kryptofaanin sisällä on hydrofobinen ympäristö, pystyvät pienet ja neutraalit molekyylitkin kulkeutumaan tämän sisälle [24-26]. Se mitä molekyylejä häkkimolekyylin sisälle pystyy kulkeutumaan, riippuu suuresti siitä, kuinka suuri häkki on sisältä katsottuna. Lisäksi eri häkkimolekyyleistä saadaan toisistaan poikkeavat signaalit (kuva 9).

## 5. Hyper-CEST

Kuvantaminen ksenon-biosensorin avulla tapahtuu ns. epäsuoralla hyper-CEST (chemical exchange saturation transfer) tekniikalla. Tämä on äärimmäisen herkkä menetelmä ja se voi mahdollistaa esimerkiksi syöväälle ominaisten proteiinien havaitsemisen jo hyvin pieninä määrinä, jopa nM pitoisuuksista. Todella herkkänä kuvantamiselle ja haluttuun paikkaan hakeutuvana molekyylinä, ksenon-biosensori kykenee siten antamaan sekä avaruudellista että biokemiallista tietoa yhtä aikaa.

Tavallinen CEST-menetelmä kehitettiin alun perin magneettikuvantamista varten parantamaan kuvien kontrastia. Menetelmä perustuu protoneihin, jotka vaihtavat paikkaa kehossa vesimolekyylien ja toisten molekyylien välillä. Magneettikuvauksen aikana näihin protoneihin voidaan kohdistaa niille ominainen radiotaajuinen pulssi (RF-pulssi). Pulssi depolaroi eli tuhoaa protoneista saatavan signaalin ja lisäksi magnetisaation siirrosta johtuen myös veden signaali heikkenee. Vertaamalla kuvia, jotka saatiin, kun pulssi kytkettiin päälle, kuviin ilman pulssia, saadaan huomattavan selkeä kontrasti aikaiseksi. Menetelmä on tiettytyyppisissä tilanteissa tehokas, mutta sen laajempaa käyttöä rajoittaa protoneiden nopea relaksaatio. Tämä edellyttää melko voimakkaan magneettikentän käyttöä relaksaation hidastamiseksi ja kuvista saatavan kontrastin parantamiseksi.

Hyperpolaroidulla ksenonilla on paljon pidempi relaksaatioaika kuin protoneilla. Kuten edellä nähtiin, on näytteessä olevien biosensoreiden häkkimolekyylien sisältä havaittava ksenonin signaali paljon heikompi kuin näytteestä saatavan vapaan ksenonin signaali. Lisäksi signaalien kemiallisten siirtymien ero on huomattava: häkin sisältä saapuvan ksenonista saadaan n. 60 ppm ja vapaasta ksenonista n. 190 ppm. Tämä helpottaa hyper-CEST -menetelmässä biosensorin häkkimolekyylin säteilyttämisen RF-säteilyllä, jolloin häkin sisällä oleva hyperpolarisoitu ksenoniatomin ydin depolaroituu takaisin alempaan energiatilaansa. Menetelmässä käytetty RF-säteily vastaa taajuudeltaan NMR-kokeessa ksenonin häkin sisältä lähettämän signaalin taajuutta.

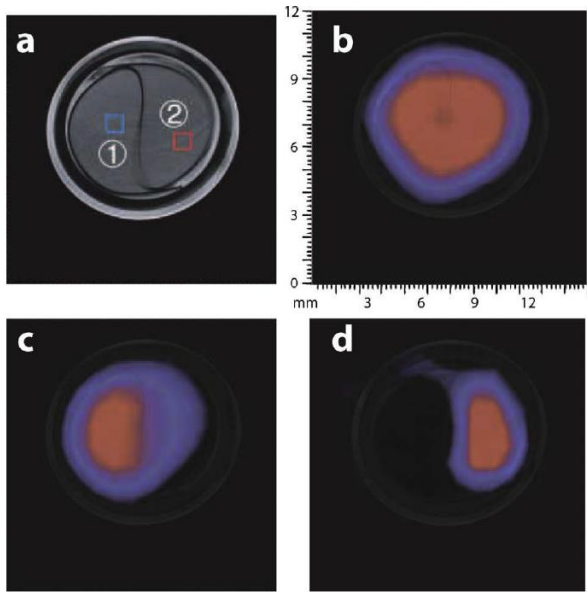
Epäsuorassa hyper-CEST -menetelmässä on näytteessä vapaana olevia hyperpolaroituja ksenoneita sekä biosensoreiden häkkimolekyylien sisällä olevia hyperpolaroituja ksenoneita. Näytteessä vapaan ksenonin pitoisuus on huomattavasti suurempi verrattuna biosensoreiden



pitoisuuteen. Näytteen ja häkkimolekyylin välillä tapahtuu ksenoneiden vaihtoa, jolle on olemassa tietty tasapaino.

Kun tehdään NMR-koe, saadaan spektri, joka esitettiin kuvassa 11. Siinä on korkea vapaasta ksenonista havaittava piikki sekä matala ksenon-biosensorista havaittu piikki. Seuraavaksi kohdistetaan biosensorin signaalin taajuutta vastaava RF-säteily näytteeseen, jolloin häkkimolekyylin sisällä olevat ksenonit depolaroituvat. Säteilytys voidaan toteuttaa NMR-kokeen aikana, koska hyperpolaroidun ksenonin relaksaation kesto on pitkä verrattuna säteilytyksen keston. Tämän jälkeen NMR-spektrissä ei enää havaita ollenkaan biosensorista saatavaa signaalia depolarisaation johdosta.

Koska häkin ja näytteen välillä tapahtuu ksenonin vaihtoa, tulee häkin sisään näytteestä vapaa hyperpolaroitu ksenon ja häkistä ulos näytteeseen depolaroitu ksenon, jolloin havaitaan spektrissä madaltunut vapaan hyperpolaroidun ksenonin signaali. Tämä on seurausta siitä, että depolaroidusta ksenonista ei saada enää resonanssisignaalia lainkaan. Pidempi säteilytys madaltaa vapaan ksenonin signaalia entisestään, jolloin depolaroidun vapaan ksenonin määrä kasvaa näytteessä sitä enemmän mitä pidempään säteilytystä jatketaan. Kun säteilytystä on jatkettu tarpeeksi pitkä aika, on vapaasta ksenonista saatava signaalin piikki madaltunut paljon verrattuna alkuperäiseen. Tämä NMR-kokeesta saatu lopullinen spektri vähennetään alussa saadusta spektristä, joka saatiin ennen depolarisaatiota. Vähennyksen jälkeen saadaan spektri, josta havaitaan epäsuorasti piikki ksenoneista, jotka depolaroitiin häkkimolekyylin sisältä. Kuvantamisen kannalta tämä tarkoittaa sitä, että alkuperäisestä kuvasta, joka saatiin ilman RF-pulssia, vähennetään kuva, joka saatiin pulssin eli depolarisaation jälkeen, jolloin saadaan kuva häkkimolekyylin sisältä depolaroiduista ksenoneista eli epäsuorasti kuva näytteen biosensoreista (kuva 13). Kokeissa on saatu kuvattua pitoisuudeltaan mikromolaarinen määrä biosensoreita samalla, kun vapaan ksenonin signaali on depolarisaation johdosta pienentynyt 50% [11, 20, 21].



**Kuva 13.** Näyteputki, joka koostuu kahdesta osasta. a) Osassa 1 sekä 2 vapaata hyperpolaroitua ksenonia, mutta osassa 2 myös biosensoreita. b) Kuva, joka saatiin ennen saturaatiota. c) Kuva saturaation jälkeen. d) Kuva, joka saadaan, kun vähennetään kohtien b) ja c) kuvat toisistaan ja nähdään vain häkkimolekyylin sisällä olleet ksenonit [21].

## Yhteenveto

NMR-spektroskopia on kehittynyt isoin harppauksin sekä poikanut useita hyödyllisiä sovelluksia. Tunnetuin sovelluksista, magneettikuvantaminen, tuottaa tarkkoja kuvia ihmisen pehmytkudoksista, kun taas röntgenkuvantamisella saadaan kuvannettua ihmisestä lähinnä luut. Esimerkiksi aivotutkimuksen kannalta magneettikuvantaminen on kaikkein tärkein työkalu, koska muut menetelmät eivät pysty tuottamaan yhtä tarkkoja ja laadukkaita kuvia.

Alunperin SEOP-menetelmä löydettiin, kun huomattiin, että menetelmän avulla pystytään siirtämään optisesti pumpattujen alkalimetalliatomien elektronien spinpolarisaatio  $^3\text{He}$ -ytimille. Myöhemmin huomattiin, että menetelmän käyttö onnistuu myös  $^{129}\text{Xe}$ -ytimille, jonka jälkeen ytimelle sekä muille jalokaasuille on löytynyt paljon eri sovelluskohteita NMR-spektroskopiassa sekä -kuvantamisessa. SEOP-menetelmän avulla saadaan kasvatettua ytimien herkkyyttä kuvantamiselle useita kertalukuja, johon hyper-termi viittaa hyper-CEST menetelmän nimessä.

Kuvantaminen ksenon-biosensoreiden avulla ei onnistuisi ilman epäsuoraa hyper-CEST menetelmää, jolla saadaan tuotettua tarkkoja kuvia, vaikka biosensoreiden pitoisuus kuvattavassa kohteessa on varsin pieni. Ksenon-biosensoreiden hyödyntäminen kuvantamisessa onkin lupaava sovellus, ei ainoastaan sen herkkyyden, vaan myös kuvattavasta kohteesta saatavan biokemiallisen informaation ansiosta. Sen käyttöä on demonstroitu vasta jonkin verran biokemiallisilla kohteilla, joten menetelmää on tutkittava siten vielä monesta näkökulmasta, jotta se on tarpeeksi kypsä tullakseen käyttöön lääketieteessä potilaskäytössä. Vielä ei ole esimerkiksi tiedossa, miten keho reagoi erilaisiin biosensoreiden häkkimolekyyleihin. Lähitulevaisuudessa onkin suunnitteilla testata menetelmää ensin yksinkertaisesti eläimillä.

Menetelmän kehittyminen potilaskäyttöön nostaisi sen roolin lääketieteessä tärkeäksi diagnostiseksi työkaluksi. Se mahdollistaisi sairauksien havainnoimisen jo hyvin varhaisessa vaiheessa, koska sairauksien aiheuttamat muutokset potilaan kehossa pystyttäisiin havainnoimaan jo solutasolla. Lisäksi kuvantaminen menetelmän avulla olisi myös vaaratonta potilaan kannalta, koska menetelmässä ei altisteta potilasta radioaktiiviselle säteilylle.

## Lähdeluettelo

- [1] J. Lounila, luentomoniste: *Ydin- ja hiukkasfysiikka*, Oulun yliopisto (2011).
- [2] J. Lounila, luentomoniste: *NMR-spektroskopia*, Oulun yliopisto (2014).
- [3] V.-V. Telkki, luentomoniste: *Spektroskooppiset menetelmät – NMR-spektroskopia*, Oulun yliopisto (2015).
- [4] J. Saunavaara, Lisensiaattitutkimus: *Nestekidetutkimuksia SF<sub>6</sub> ja <sup>129</sup>Xe-kaasun NMR-spektroskopian avulla sekä hyperpolaroidun ksenonkaasun tuottaminen*, Oulun yliopisto (2007).
- [5] L. Huurto, T. Toivo, *Terveysthuollon laadunhallinta – Magneettitutkimukset ja niiden turvallisuus*, **1**, 9, (2000).
- [6] Mathematics and physics of emerging biomedical imaging, National research council and institute of medicine committee on mathematics and physics of emerging dynamic biomedical imaging, Washington (DC), National academies press (US) (1996), 4.12.2016, saatavilla www-muodossa: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK232486/>
- [7] D. Hedlund, LW. *Toxicol pathol* **35**, 49-58, (2007).
- [8] T. G. Walker and W. Happer, *Rev. Mod. Phys.*, **69**, 629 (1997).
- [9] A.-M. Oros and N. J. Shah, *Phys. Med. Biol.*, **49**, R105 (2004).
- [10] E. Hecht, *Optics*, Addison Wesley Longman, Reading (1998).
- [11] L. Schröder, *Phys. Med.* **29**, 3-16, (2013).
- [12] A. Beiser, *Concepts of modern physics, 6th edition.*, McGraw-Hill, New York (2003), s. 247.
- [13] M. E. Wagshul and T. E. Chupp, *Phys. Rev. A*, **49**, 3854 (1994).
- [14] S. Appelt, A. Ben-Amar Baranga, C. J. Erickson, M. V. Romalis, A. R. Young and W. Happer, *Phys. Rev. A*, **58**, 1412 (1998).
- [15] I. C. Ruset, Ph. D. Thesis: *Hyperpolarized <sup>129</sup>Xe production and applications*, University of New Hampshire (2005).
- [16] W. Happer, *Rev. Mod. Phys.*, **44**, 169 (1972).
- [17] W. Happer, E. Miron, S. Schaefer, D. Schreiber, W. A. van Wijngaarden and X. Zeng, *Phys. Rev. A*, **29**, 3092 (1984).
- [18] E. Thuneberg, luentomoniste: *Kiinteän aineen fysiikka*, Oulun yliopisto (2014).
- [19] The almighty xenon! Xenon-based MR spectroscopy and imaging, University of California - Berkeley, 11.9.2016, saatavilla www-muodossa: <http://www.cchem.berkeley.edu/wemmer/research/xenon.html>
- [20] Research news Berkeley lab, *Hyper-CEST MRI breaks new ground in molecular imaging* (2006), 11.9.2016, saatavilla www-muodossa: <http://www2.lbl.gov/Science-Articles/Archive/MSD-HYPER-CEST.html>
- [21] P. Berthault, *Prog. NMR spectrscp.* **55**, 35-60, (2009).
- [22] J. Gabard, A. Collet, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **21**, 1137, (1981).

- [23] S.T. Mough, J.C. Goeltz, K.T. Holman, *Angew. Chem. Int. Ed.* **43**, 5631, (2004).
- [24] A. Collet, J.P. Dutasta, B. Lozach, J. Canceill, *Top. Curr. Chem.* **165**, 103, (1993).
- [25] K.T. Holman, in: *Encyclopedia of Supramolecular Chemistry*, Marcel Dekker Inc., New York (2004), s. 340.
- [26] K. Bartik, M. Luhmer, J.-P. Dutasta, A. Collet, J. Reisse, *J. Am. Chem. Soc.* **120**, 784, (1998).