



Patentdirektoratet
TAASTRUP

- (21) Patentansøgning nr.: 5174/85
(22) Indleveringsdag: 08 nov 1985
(24) Løbedag: 08 mar 1985
(41) Alm. tilgængelig: 08 nov 1985
(44) Fremlagt: 11 maj 1992
(86) International ansøgning nr.: PCT/EP85/00089
(86) International indleveringsdag: 08 mar 1985
(85) Videreførelsesdag: 08 nov 1985
(30) Prioritet: 09 mar 1984 AT 797/84

(51) Int.Cl.5

B 01 D 71/74
A 61 K 9/64
B 01 D 15/08
B 01 D 53/22
B 01 J 13/02
B 01 J 47/00
B 65 D 65/38

- (71) Ansøger: Uwe B. *Sleytr; 10 Parhamerplatz; 1170 Wien, AT, Margit *Sara; 90/2/24 Vorgartenstrasse; 1200 Wien, AT
(72) Opfinder: SAMME

(74) Fuldmægtig: Plougmann & Vingtoft A/S

(54) Membranstruktur med kontinuerlige porer, fremgangsmåde til fremstilling af membranstruktur med kontinuerlige porer samt anvendelse af samme

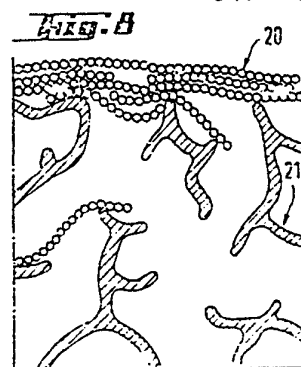
(56) Fremdragne publikationer

(57) Sammenlæg:

5174-85

En struktur, der kan anvendes som ultrafiltreringsmembran, har membraner (20) med ensartede kontinuerlige porer, som er bundet til eller ind i en hensigtsmæssig pores bærer (21). Hver af membranerne (20) består af proteinmolekyler eller proteinholdige molekyler, som er arrangeret som et todimensionelt krystalgitter, hvorefter kontinuerlige porer af ensartet størrelse og form forbliver frie, og de er med fordel dannet af molekyler, som især er adskilt fra cellemembraner i prokaryote celler, ved hjælp af en omkrystallisationsproces, som betegnes selvorganisering, og hvilke molekyler fortrinsvis er afsat på eller i bæreren (21) og er tværbundet henholdsvis intra- eller intermolekylært og med bæreren via fremmede molekyler. Strukturen er endvidere egnet til anvendelse som separationsorgan til en gasseparation eller til en ionbytningsproces samt til anvendelse som bærerstruktur for andre semipermeable kapper såsom hyperfiltreringsmembraner.

Den kan endvidere, hvis den har membraner i vesikelform, tjene som chromatografisøjle og i form af en film som indkapslingsmateriale for de mest forskelligartede stoffer.



Den foreliggende opfindelse angår en struktur, der omfatter mindst én membran med kontinuerlige porer, eller som er dannet af mindst én sådan membran, idet porerne især ligger i diameterområdet fra 2 til 200 nm (nanometer). Opfindelsen angår endvidere en fremgangsmåde til fremstilling af strukturen såvel som adskillige fordelagtige anvendelser af strukturen.

Strukturer med membraner, der har kontinuerlige porer inden for et diameterområde på fra 2 til 200 nm er fx ultrafiltreringsmembraner, der anvendes ved fremgangsmåder til fraktionering eller koncentreringsaf blandinger af højmolekylære organiske stoffer med forskellig molekylvægt. Asymmetriske ultrafiltreringsmembraner anvendes nu i mange tilfælde til industrielle og semiindustrielle formål; de består af en meget tynd separationsfilm, der er bestemmende for masseoverførselen gennem membranen og for separationsselektiviteten, og som i almindelighed er mellem 100 og 200 nm tyk, samt af et grovporøst støttelag. Separationsfilmene består af forskellige polymerer, fortrinsvis cellulosederivater eller polysulfoner. Sådanne ultrafiltreringsmembraner er enten faseomdannelsesmembraner eller kompositmembraner. I faseomdannelsesmembraner bringes en homogen polymeropløsning i kontakt med et bundfældningsmiddel, hvorefter membranen dannes ved kontaktfladen mellem polymeropløsning og bundfældningsmiddel, ved hvilken den grovporøse støttefilm sluttet til den finporøse film. I kompositmembraner fremstilles separationsfilmen og støttefilmen adskilt og føjes først derefter sammen.

I de kendte ultrafiltreringsmembraner har porediameteren ikke nogen fast størrelse, men diameteren af porerne varierer tilfældigt fordelt omkring en middelværdi. Ultrafiltreringsmembranens opførsel afspejler sig ved dens retentionskurve. For at bestemme denne retentionskurve bestemmes retentionsgraden (R) i procent for ultrafiltreringsmembranen under filtrering for forskellige ideelle testmolekyler (disse er sfæriske molekyler i uladet tilstand) med varierende molekylvægte (MW). Retentionskurven selv repræsenterer en interpolation af disse testværdier og viser sammenhængen mellem retentionsgraden (R) og logaritmen til molekylvægten $[\log(MW)]$.

Fig. 1 viser et diagram med retentionskurverne for tre kommercielt tilgængelige ultrafiltreringsmembraner, nemlig:

- Kurve A for PSED-membranen (Millipore) fra Millipore, Bedford, Ma, U.S.A.,
- 5 - kurve B for PSVP 1000-membranen (Millipore) fra samme firma, og
- kurve C for PM 30-membranen (Amicon) fra Amicon, Danvers, MA, U.S.A.

Som det kan ses af disse retentionskurver, er det ikke muligt ved hjælp af disse ultrafiltreringsmembraner at foretage nogen skarp
10 adskillelse af molekyler med lidt forskellige molekylvægte.

En yderligere karakteristisk værdi for en ultrafiltreringsmembrans funktion er den såkaldte strømningshastighed. Dette er den mængde vand, der strømmer gennem membranen pr. m^2 og time ved en fast trykforskel mellem membranens to sider. Ved de kendte faseomdannelsesmembraner, hvis separationsfilm er ca. 100-200 nm tykke, udvikler mem-
15 branen betragtelig modstand mod vandets gennemstrømning. Gennemstrømningshastigheden er højere, jo højere antallet af porer pr. arealenhed af membranen er, eller jo mindre den effektive poredybde er, dvs. længden af de kanaler, der danner porerne. Andre vigtige kvalitets-
20 kendetegn ved ultrafiltreringsmembraner er også deres kemiske og/eller termiske stabilitet.

Den foreliggende opfindelse har til formål at afgrænse en struktur, der omfatter mindst én membran med kontinuerlige porer eller er dannet af mindst én sådan membran, i hvilken membran porerne er inden
25 for et diameterområde på 1-8 nm og hvor der ved anvendelse som ultrafiltreringsmembran kan foretages en skarp adskillelse mellem molekyler med lidt forskellige molekylvægte, og ved hjælp af hvilken ultrafiltreringsmembran det endvidere er muligt at opnå en højere strømningshastighed end med kendte ultrafiltreringsmembraner, og som har
30 god kemisk og termisk stabilitet.

Opfindelsens formål opfyldes i strukturen ifølge opfindelsen ved, at membranen eller membranerne, der udstrækker sig langs plane, kurvede, cylindriske eller vesikelformede overflader, i hvert tilfælde består af mindst ét lag af sammenhængende molekyler, der er bundet sammen og
5 derved er arrangeret som et krystalgitter, nemlig proteinmolekyler eller proteinholdige molekyler, hvorved kontinuerlige porer, der er arrangeret som et gitter, i disse lag forbliver frie mellem molekylerne, og hvori membranerne er bundet til eller forenede inden for en passende porøs bærer eller er bundet til en uunderstøttet film. I
10 disse membraner er proteinmolekylerne eller de proteinholdige molekyler med fordel bundet sammen i et enkelt lag eller i flere sammenhængende lag og i hvert tilfælde arrangeret som et gitter, idet de sammenhængende proteinmolekyler eller proteinholdige molekyler i disse lag fortrinsvis er bundet til hinanden ved ikke-covalente
15 bindinger.

Ifølge en fordelagtig udførelsesform for opfindelsen er strukturen ifølge opfindelsen ejendommelig ved, at mono- eller bifunktionelle fremmede molekyler er bundet til reaktive grupper på proteinmolekylerne eller de proteinholdige molekyler, som hensigtsmæssigt kan være
20 carboxygrupper og/eller aminogrupper og/eller sulfhydrylgrupper og/eller hydroxygrupper, idet strukturen med fordel indeholder membraner med lag af proteinmolekyler eller proteinholdige molekyler, inden for hvilke fremmede molekyler er bundet til i det væsentlige alle disse molekyler på de samme reaktive steder.

Ifølge en yderligere fordelagtig udførelsesform for strukturen ifølge opfindelsen er denne ejendommelig ved, at proteinmolekyler eller proteinholdige molekyler i membranerne er intramolekylært covalent tværbundne gennem bifunktionelle fremmede molekyler og/eller ved, at den har membraner, på hvilke sammenhængende eller nabostillede proteinmolekyler eller proteinholdige molekyler, der hører til samme
30 membran eller til to sammenhængende eller nabostillede membraner, er covalent tværbundet til hinanden - hensigtsmæssigt gennem bifunktionelle fremmede molekyler, og/eller hvor proteinmolekyler eller proteinholdige molekyler er tværbundet med bærematerialet - hensigts-
35 mæssigt gennem bifunktionelle fremmede molekyler.

I endnu en fordelagtig udførelsesform for strukturen ifølge opfindelsen er denne ejendommelig ved, at de fremmede molekyler når ind i membranporezonen, der ligger mellem proteinmolekylerne eller de proteinholdige molekyler.

- 5 Ifølge en sidste fordelagtig udførelsesform er strukturen ifølge opfindelsen ejendommelig ved, at den har membraner, hvis proteinmolekyler eller proteinholdige molekyler og/eller fremmede molekyler, der er bundet dertil, har dissocierbare grupper, som dissocierer under strukturens arbejdsbetingelser og derved kan modtage forudbestemte elektriske ladninger afhængig af arbejdsbetingelserne. For så vidt angår typen og/eller fordelingen af disse dissocierbare grupper på membranen, er disse membraner med fordel konstrueret asymmetrisk med hensyn til hver overflade, der er parallel med membranens udstrækning.
- 10
- 15 Opfindelsen har det yderligere formål at tilvejebringe en fremgangsmåde til fremstilling af en struktur, der omfatter mindst én membran med kontinuerlige porer, og især en fremgangsmåde til fremstilling af strukturen ifølge opfindelsen.

- Ved fremgangsmåden ifølge opfindelsen løses dette problem ved, at
- 20 proteinmolekyler eller proteinholdige molekyler, der hensigtsmæssigt er vundet fra cellekapper, især cellekapper fra prokaryote celler, eller fragmenter af lag af sådanne molekyler, der er sammenhængende bundet til hinanden i disse lag, bringes i henholdsvis opløsning eller suspension i en væske, hensigtsmæssigt et vandigt medium, der
- 25 hensigtsmæssigt indeholder chaotropiske midler såsom guanidin-hydrochlorid eller urinstof og/eller overfladeaktive midler, og hvor der derefter, hensigtsmæssigt ved en reduktion af koncentrationen af de chaotropiske midler og/eller overfladeaktive midler og/eller ved ændring af pH-værdien, skabes betingelser i mediet, ved hvilke proteinmolekylerne eller de proteinholdige molekyler og/eller lagfragmenterne derefter ved selvorganisering forenes til membraner, i hvilke
- 30 proteinmolekylerne eller de proteinholdige molekyler er arrangeret sammenhængende som et krystalgitter, i hvilket kontinuerlige porer, der er arrangeret mellem molekylerne som et gitter, forbliver frie,
- 35 og hvori de således dannede membraner er anbragt i, henholdsvis på en

bærer, og hvori proteinmolekyler eller proteinholdige molekyler i membranerne, hensigtsmæssigt ved behandling med mono- og/eller bifunktionelle fremmede molekyler, er substituerede på deres reaktive grupper og/eller er tværbundet gennem disse reaktive grupper intramolekylært og/eller med hinanden og/eller med bæreren. For at fremstille henholdsvis opløsningen eller suspensionen af proteinmolekylerne eller de proteinholdige molekyler og/eller lagfragmenter opbygget af sådanne molekyler fremstilles en hensigtsmæssig vandig suspension med fordel af cellekapper af en sådan type, som har eksterne lag opbygget af sammenhængende proteinmolekyler eller proteinholdige molekyler, der er bundet til hinanden og arrangeret som et krystalgitter, idet kontinuerlige porer arrangeret som et gitter mellem molekylerne i disse lag forbliver frie, hvorefter proteinmolekylerne eller de proteinholdige molekyler eller fragmenter af lagene bestående af disse molekyler skilles fra cellekapperne, hensigtsmæssigt ved tilsætning af chaotropiske midler og/eller overfladeaktive midler og/eller ved modificering af mediets pH-værdi, og hvor cellekapperesterne skilles fra mediet.

Ifølge fordelagtige udførelsesformer for fremgangsmåden ifølge opfindelsen udføres separationen af proteinmolekylerne eller de proteinholdige molekyler hensigtsmæssigt ved at forøge pH-værdien fra ca. 7,0 til en værdi mindre end eller lig med 13,0, men især til en værdi mindre end eller lig med 9,5, eller ved at reducere pH-værdien fra ca. 7,0 til en værdi større end eller lig med 1,0, men især til en værdi større end eller lig med 2,5.

Ved en anden fordelagtig udførelsesform går fremgangsmåden ifølge opfindelsen ud på, at reduktionen af koncentrationen af chaotropiske midler og/eller overfladeaktive midler og/eller ændringen af pH-værdien, der udføres for at inducere selv-organiseringen af proteinmolekylerne eller de proteinholdige molekyler og/eller de adskilte lagfragmenter til membraner, finder sted ved hjælp af dialyse.

Ved en yderligere fordelagtig udførelsesform går fremgangsmåden ifølge opfindelsen ud på, at de mono- og/eller bifunktionelle fremmede molekyler har grupper, der reagerer med carboxygrupper, amino-

grupper, sulfhydrylgrupper eller hydroxygrupper på proteinmolekylerne eller de proteinholdige molekyler.

Ifølge endnu en fordelagtig udførelsesform for fremgangsmåden ifølge opfindelsen finder selv-organiseringen af proteinmolekylerne eller de proteinholdige molekyler og/eller lagfragmenterne til membraner sted ved en faststof/væske-fasegrænse.

Ved en yderligere fordelagtig udførelsesform går fremgangsmåden ifølge opfindelsen ud på, at membraner, der er dannet ved selv-organiseringen af proteinmolekylerne eller de proteinholdige molekyler og/eller lagfragmenterne, praktisk talt alle har maksimumdimensioner i området mindre end 100 μm , dog fortrinsvis mindre end 15 μm .

Ved en sidste fordelagtig udførelsesform for fremgangsmåden ifølge opfindelsen udføres placeringen af membranerne henholdsvis på eller i en porøs bærer ved afsætning på bæreren.

Endelig omfatter opfindelsen følgende anvendelser ifølge opfindelsen af strukturen ifølge opfindelsen eller af strukturen fremstillet ved fremgangsmåden ifølge opfindelsen, nemlig

- anvendelse af strukturen som et ultrafilter eller som et separationsorgan for en gasseparation eller som separationsorgan for en ionbytningproces;
- anvendelse af strukturen som bærer for andre semipermeable membraner, som udstrækker sig over porer i strukturens membraner, idet disse andre semipermeable membraner hensigtsmæssigt er tværbundet med proteinmolekyler eller proteinholdige molekyler i strukturens membraner via carboxygrupper og/eller aminogru-
per og/eller sulfhydrylgrupper og/eller hydroxygrupper, enten direkte eller via bifunktionelle fremmede molekyler. Disse andre semipermeable membraner kan med fordel være: hyperfiltreringsmembraner, hensigtsmæssigt overfladeaktive eller overfladeaktive-lignende lipoid hyperfiltreringsmembraner, eller separationsorganer for en ionbytningsproces, eller separationsorganer

for en pervaporeringsproces, eller opløsningsdiffusionsmembraner;

- anvendelse som en separationssøjle til søjlechromatografi, idet membranerne hensigtsmæssigt er formet som vesikler;
- 5 - anvendelse som indpakningsmateriale for stoffer, idet indpakningsmaterialet hensigtsmæssigt kan anvendes som et biologisk nedbrydeligt indpakningsmateriale, eller som kapselhylster for farmaceutiske præparater, der skal administreres oralt.

Visse prokaryote cellers cellekapper, især hos visse *Bacillaceae*, har
10 et ydre lag, hvis massefordeling, bestemt ved elektronmikroskopi, har en periodicitet, der tillader den konklusion, at laget har en krystallinsk struktur. Dette ydre lag, i det følgende kaldet S-laget (overfladelaget) kan i et vandigt medium ved tilsætning af chaotropiske midler adskilles fra det underliggende peptidoclycanholdige lag i
15 cellekappen og bringes i opløsning. Som det kan bestemmes ved biokemiske metoder, består disse S-lag i de fleste tilfælde af identiske molekyler, nemlig proteinmolekyler eller proteinholdige molekyler. Hvis koncentrationen af de chaotropiske midler i opløsningen nedsættes, fx ved dialyse, vil der ved selvorganisering blive dannet
20 små membranfragmenter ud fra disse molekyler, idet membranfragmenterne har overfladedimensioner på op til ca. 10-15 μm og udviser den samme massefordeling som det oprindelige S-lag. Disse membranfragmenter kaldes i det følgende P-membraner. Eftersom sådanne P-membraner ved en yderligere forøgelse af koncentrationen af de chaotropiske
25 midler vil sønderdeles igen og igen vil dannes som P-membraner ved en fornyet reduktion af koncentrationen, antages det endvidere, at P-membranerne er opbygget af lag af sammenhængende, med hinanden sammenføjede proteinmolekyler eller proteinholdige molekyler arrangeret som et krystalgitter, og at den reversibelt opløselige og rekonstituerbare
30 arrangering af molekylerne i P-membranerne finder sted via ikke-covalente bindinger mellem disse molekyler.

Ud fra den tidligere bestemte massefordeling er det muligt at genkende gittertypen, som kan være kvadratisk, hexagonal eller skrå. Fig. 2-4 viser tre typer gitre, i hvilke man kan forestille sig hvordan

henholdsvis S-lagene og P-membranerne af proteinmolekylerne eller de proteinholdige molekyler, her angivet ved 1, 1' og 1", skal konstrueres. Fig. 2 viser et kvadratisk gitter med p4-symmetri, fig. 3 et hexagonalt gitter med p6-symmetri og fig. 4 et skråt gitter med p2-symmetri. Baseret på information om massefordelingen i S-lagene og/eller P-membranerne bestemt ved elektronmikroskopi har man antaget, som illustreret skematisk i fig. 2-4, at der mellem molekylerne, der udgør disse S-lag og/eller P-membraner, er kontinuerlige porer af karakteristisk form og størrelse til stede. Denne antagelse er blevet bekræftet, men vil blive beskrevet yderligere i det følgende.

Ved hjælp af fig. 5-7 beskrives i det følgende fremstilling af en struktur som beskrevet i et første eksempel, til hvis oprettelse der anvendes sådanne P-membraner, og som fordelagtigt kan anvendes som ultrafilter.

EKSEMPEL 1

I dette eksempel begyndes der med celler af *Bacillus stearothermophilus* 3c/NRS 1536, hvis cellekapper er opbygget af en cytoplasmisk membran, et peptidoglycanholdigt lag og S-laget. Som det er almindeligt anvendt inden for mikrobiologien, sprænges cellerne først ved ultrasonisk behandling, de cytoplasmiske membranfragmenter sonderdeles ved hjælp af detergenter, og de tilbageværende cellemembranfragmenter renses ved vaskning for de komponenter, der er indeholdt i cellen. S-Lagene skilles derefter fra det peptidoglycanholdige lag i et vandigt medium ved tilsætning af 5M guanidin-hydrochlorid som chaotropisk middel og bringes i opløsning. Denne opløsning skilles derefter fra peptidoglycanfragmenterne ved centrifugering, og den klare opløsning dialyseres mod en neutral pufferopløsning indeholdende 10 mM CaCl_2 . Under denne dialyse, hvor koncentrationen af guanidin-hydrochlorid i opløsningen reduceres til praktisk talt nul, og CaCl_2 -koncentrationen øges, dannes P-membranerne ved selvorganisering og har en kvadratisk gitterstruktur (p4-symmetri) med en periodicitet på 14 nm, og hvis maksimumdimensioner er i området ca. 15 μm , og som holdes i suspension i det vandige medium ved omrøring.

Til fremstilling af ultrafilteret anvendes en trykenhed 2 som vist i snit i fig. 5. Den består af en bunddel 3, der har en cylindrisk udskæring 4 med en ribbet bund, og i hvilken der er anbragt en porøs sintret plade 5; rummet under den sintrede plade 5 er forbundet med et udløbsrør 7 gennem en udløbskanal 6. En cylindrisk vægdel 9 af plexiglas er anbragt på denne bunddel 3 ved hjælp af en forseglings-O-ring 8, hvilken vægdel igen er forbundet med en dakseldel 11 gennem en anden forseglings-O-ring 10. I dakseldelen 11 findes en tilførselskanal 12 med forbindelser 13 og 14 til henholdsvis et indløbsrør eller en trykgaskilde. En magnetisk omrørerenhed 15 er anbragt på undersiden af dakseldelen 11; med sin omrører 16 når den ned til den nederste kant af den cylindriske vægdel 9. Under drift af trykenheden er bund- og dakseldelene holdt sammen ved hjælp af en sammenspændingsindretning, der virker ved 17 og 17'.

Til fremstilling af ultrafilteret anbringes et skiveformet mikrofilter 18, fremstillet af Nucleopore, Tübingen, Vesttyskland, på den sintrede plade 5 i trykenheden for at tjene som bæremateriale for det ultrafilter, der skal fremstilles. Dette mikrofilter 18 består af en ca. 10 μm tyk polycarbonatfilm med porer af samme størrelse og en porediameter på 0,1 μm . Den ovenfor beskrevne P-membransuspension hældes derefter ned i dakseldelen 11 gennem forbindelsen 13 i en sådan mængde, at der er indeholdt 25 μg P-membran i suspensionen pr. cm^2 mikrofilterareal. Derefter ledes nitrogen med et overtryk på $0,5 \times 10^5$ Pa som trykgas gennem forbindelsen 14, hvorved suspensionens væskefase presses gennem mikrofilteret 18 og den porøse sintrede plade 5, og P-membranerne afsættes på mikrofilteret 18. Dernæst påføres 3 ml af en 2,0 volumenprocent opløsning af glutardialdehyd (i 0,1M natriumcacodylatpuffer, pH-værdi 7,2) på de afsatte P-membraner gennem forbindelsen 13. Derefter etableres et overtryk på 2×10^5 Pa, hvilket forårsager, at glutardialdehydopløsningen presses gennem de afsatte P-membraner og mikrofilteret 18 i 20 minutter ved 20°C. Glutardialdehyd har en carbonylgruppe i begge ender og reagerer derved som et bifunktionelt tværbindingsmiddel med to ϵ -aminogrupper i lysin i de proteinholdige molekyler i P-membranerne, nemlig enten intramolekylært, når begge ϵ -aminogrupper stammer fra samme protein-

holdige molekyle, eller intermolekylært, når de to ϵ -aminogrupper stammer fra to forskellige proteinholdige molekyler i P-membranerne.

Efter gentagen vaskning er ultrafiltreringsmembranen bestående af mikrofilteret 18 og de afsatte og tværbundne P-membraner derefter i
 5 det væsentlige færdig og kan fjernes fra trykenheden 2. Imidlertid kan trykenheden 2 med den således fremstillede ultrafiltreringsmembran også anvendes direkte som ultrafiltreringsenhed.

Med henblik på at bestemme den fremstillede ultrafiltreringsmembrans retentionsegenskaber blev der udført filtreringstests på denne ultra-
 10 filtreringsenhed ved et overtryk på 2×10^5 Pa, der var etableret ved hjælp af tilført nitrogen, for en serie testmolekyler ved pH-værdier, ved hvilke hver af testmolekylerne ikke var elektrisk ladede, dvs. ved deres isoelektriske punkt (IEP). Som teststoffer blev der anvendt følgende proteiner:

15	Nr.	Protein	Molekylvægt	IEP
	1	Myoglobin	17.000	6,6
	2	Subtilisin	27.000	9,4
	3	Ovalbumin	43.000	4,6
20	4	Bovint serumalbumin	67.000	4,7
	5	Ferritin	440.000	4,3

Fig. 6 viser et diagram med retentionskurven interpoleret ud fra testværdierne for disse teststoffers retentionsgrad. Retentionskurven
 25 udviser en skarp molekylvægtsafskæring mellem retentionsgraderne for subtilisin og ovalbumin. Denne retentionskurve beviser også, at P-membranerne har kontinuerlige porer af jævn størrelse; baseret på retentionskurvens form antages porediameteren at være 4-5 nm.

Strømningshastigheden bestemt på denne ultrafiltreringsmembran ved et
 30 membranovertryk på 2×10^5 Pa er ca. 480 l/time.m^2 . Imidlertid afhænger strømningshastigheden af mængden af afsatte P-membraner. Således falder den til en værdi på 220 l/time.m^2 med en afsat P-membranmængde på $50 \mu\text{g/cm}^2$ membranoverflade.

Den på denne måde fremstillede ultrafiltreringsmembran har en yderligere fordelagtig egenskab, som er forklaret i detaljer i det følgende:

De frie aminogruupper og carboxygrupper bidrager på forskellig måde til den elektriske nettoladning i henholdsvis S-lagfragmenterne eller de ikke-tværbundne P-membraner afhængig af pH-værdien i det vandige medium, der omgiver dem. Op til en pH-værdi på under 9 giver aminogruupperne positive ladninger, og carboxygrupperne giver negative ladninger i området over pH-værdi 2,0. Ved en vis pH-værdi, dvs. ved deres isoelektriske punkt (CIEP), udligner de negative og positive ladninger hinanden, således at S-lagfragmenterne og P-membranerne udadtil vil synes elektrisk neutrale. I det foreliggende eksempel mistes potentielt positivt ladede grupper i P-membranerne ved glutardialdehydets reaktion med lysinets ϵ -aminogruupper i P-membranernes proteinholdige molekyler, hvorved de tværbundne P-membraners IEP forrykkes ned i det sure område og har en værdi på mindre end pH-værdi 2,0. De tværbundne P-membraners negative nettoladning er i mange tilfælde en effektiv beskyttelse mod tilstopning af membranporerne ved filtrering under fysiologiske betingelser.

Fig. 7 viser i delvis gengivelse og i skematisk snit den ved dette eksempel fremstillede ultrafiltreringsmembran. På overfladen af mikrofilteret 18, der er forsynet med kontinuerlige porer 19, er de med tallet 20 viste P-membraner afsat og fikseret ved tværbinding. De påføres derved i en sådan mængde, at den samlede overflade af P-membranmængden er lig med ca. 2-3 gange arealet af ultrafiltreringsmembranerne, således at P-membranerne i gennemsnit vil være lagt oven på hinanden i ca. to lag og derved vil delvis overlape.

EKSEMPEL 2

I modsætning til fremgangsmåden ifølge eksempel 1 gås der i dette eksempel ud fra celler af *Bacillus stearothermophilus* pV 72. Også her består cellekapperne af en cytoplasmisk membran, et peptidoglycanholdigt lag og et S-lag af proteinholdige molekyler. I lighed med det,

der er beskrevet i eksempel 1, fremstilles der ud fra cellekapperne en suspension af P-membraner. S-Laget og P-membranerne fra denne bakteries cellekapper udviser en hexagonal gitterstruktur (p6-symmetri) med en periodicitet på 18 nm.

- 5 Til fremstilling af en struktur, der kan anvendes som ultrafiltreringsmembran, anbringes et skiveformet nylonmikrofilter af typen Ultipor n₆₆ T fra firmaet Pall, Cortland, U.S.A. og med en tykkelse på 150 μm i trykenheden 2 for at tjene som bærer. Dette mikrofilter har frie amino- og carboxygrupper i et forhold på 1:1. I lighed med
- 10 fremgangsmåden ifølge eksempel 1 påføres P-membransuspensionen på mikrofilteret i en sådan mængde, at der i suspensionen er indeholdt 30 μg P-membraner pr. cm^2 mikrofilterareal, og P-membranerne afsættes på og i mikrofilterets svampede struktur ved påføring af et membranovertryk på 2×10^5 Pa.
- 15 Fig. 8 viser i delvis snit et mikrofilter 21, der har en uregelmæssig svampestruktur, hvor porernes dimensioner ligger frit i en tilfældig fordeling omkring en middelværdi. De afsatte P-membraner 20 er også vist. Ved et overtryk på 2×10^5 Pa presses derefter 1 ml af en 0,1%’s dimethylsuberimidatopløsning (1M triethanolaminpuffer, pH-værdi 9,5) gennem P-membranerne 20 og mikrofilteret 21 i 60 minutter ved
- 20 4°C. Dimethylsuberimidatet reagerer derved i egenskab af bifunktionel imidoester ligesom et aldehyd intra- og intermolekylært primært med lysinets ϵ -aminogruupper i P-membranernes proteinholdige molekyler samt med nylonmikrofiltermaterialets aminogruupper. Efter gentagen
- 25 vaskning er ultrafiltreringsmembranen derefter klar til brug.

Fig. 9 viser et diagram med ultrafiltreringsmembranens retentionskurve. Den udviser en skarp molekylvægtsafskæring i lighed med den i eksempel 1 beskrevne membran.

- De amidiner, der dannes under omsætningen mellem dimethylsuberimidatet og ϵ -aminogruupperne, giver en positiv ladning på en måde i lighed med lysinets ϵ -aminogruppe, således at P-membranernes naturlige nettoladning næppe ændres ved tværbindingen.
- 30

De P-membranstrukturer, der er beskrevet i de foregående eksempler 1 og 2, og som fordelagtigt kan anvendes som ultrafiltreringsmembraner, har en høj kemisk, termisk og mekanisk stabilitet på grund af tværbindingen med bifunktionelle fremmede molekyler. De er især stabile mod proteolytisk nedbrydning, de er autoclaverbare og kan også anvendes i et surt og alkalisk medium (pH-værdi 1-13) såvel som sammen med stærkt koncentrerede chaotropiske midler (5M guanidin- hydrochlorid, 8M urinstof). En anden vigtig egenskab hos strukturerne med P-membraner er deres modstandsdygtighed mod organiske væsker såsom ketoner, alkoholer og chlorerede carbonhydrider.

Ultrafiltreringsmembranernes ønskede porediameter opnås i det væsentlige ved udvælgelse af den anvendte mikroorganisme, hvis celler har S-lag med porer med omtrent den porediameter, der stræbes efter. Den ønskede porediameter kan derefter varieres ved tilsætning af fremmede molekyler, der rækker ind i P-membranernes poreområder. Dette vil blive diskuteret yderligere i det følgende.

P-Membraner bestående af ét molekyllag har lagtykkelser på ca. 5-20 nm og porediameter i området mellem 1 og 8 nm.

Med hensyn til fremstillingen af P-membransuspensionen bør det bemærkes, at det ved udvælgelse af henholdsvis de chaotropiske midler og de overfladeaktive midler er muligt at opnå, at S-lagfragmenterne kun adskilles fra cellekappefragmenternes peptidoglycanholdige lag, eller at S-lagfragmenterne i sig selv sønderdeles og bringes i opløsning. Fx ved behandling med 2,5M guanidin-hydrochlorid fås der kun en adskillelse af S-lagfragmenterne, hvorimod en sønderdeling af S-laget opnås med 5M guanidin-hydrochlorid ved overrivning af bindingerne mellem de individuelle proteinmolekyler eller proteinholdige molekyler. En sønderdeling af S-laget kan også forårsages af en væsentlig ændring af pH-værdien af den opløsning, der indeholder S-lagene; fx ved sænkning af pH-værdien fra ca. 7,0 til 2,5 eller i visse tilfælde ved at hæve den fra 7,0 til 9,5.

Overfladerne af de P-membraner, der dannes ved selvorganisering, kan være plane, kurvede, cylindriske eller vesikelformede. I overens-

stemmelse med eksemplerne 1 og 2 anvendtes der P-membraner, hvis overflade var i det væsentlige plane.

Fig. 10 og 11 viser varianter af de i eksemplerne 1 og 2 beskrevne strukturer, hvor P-membranerne 20' er vesikelformede.

- 5 Fig. 12 viser en yderligere variant af strukturen ifølge eksempel 2, hvor der ved fremstillingen deraf blev anvendt henholdsvis vesikelformede og plane P-membraner 20 og 20'. De vesikelformede P-membraner blev fortrinsvis afsat i porerne, medens de plane P-membraner for det meste blev afsat på overfladen af mikrofilteret 21.
- 10 Der er i det følgende beskevet nogle få yderligere eksempler på tværbinding af P-membraner.
 - Hexamethylendiisocyanat reagerer i P-membranerne fortrinsvis med aminogrupperne og, efter at de er mattede, med hydroxygrupperne, således at en intermolekylær tværbinding kan finde
15 sted via begge funktionelle grupper. Fx anvendes hexamethylendiisocyanat i en 1%'s opløsning med 5% tetrahydrofuran (trietanolamin-hydrochlorid, pH-værdi 8,0). Reaktions tiden er fx 4 timer ved 20°C.
 - N,N'-Diiodacetyl-hexamethylendiamin angriber sulfhydrylgrupper
20 i P-membranerne, hvilket også gælder andre bifunktionelle alkylhalogenider, idet det dog under passende reaktionsbetingelser også vil angribe aminogrupperne. I et neutralt eller svagt alkalisk medium er dette tværbindingsmiddel imidlertid specifikt over for sulfhydrylgrupperne. Til tværbinding
25 anvendes N,N'-diiodacetyl-hexamethylendiamin fortrinsvis i en 0,5%'s opløsning (0,1M natriumacetatpuffer, pH-værdi 7,2). Reaktions tiden er 3 timer ved 4°C.
 - 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid-hydrochlorid (EDC). Carbodiimider såsom EDC reagerer i surt medium med
30 carboxy-, sulfhydryl- og hydroxygrupperne i P-membranerne. Hvis sulfhydrylgrupperne ikke skal tage del i reaktionen, må de maskeres på forhånd. Ved at blokere carboxygrupperne med

EDC forrykkes P-membranernes pH-værdi til det alkaliske område. 0,1M EDC i destilleret vand (0,02M NaOH, pH-værdi 8,0) lades fx reagere i 18 timer ved stuetemperatur.

Der er i det følgende givet flere eksempler på tilsætning af fremmede molekyler til proteinmolekylerne eller de proteinholdige molekyler i P-membranerne, idet disse fremmede molekyler på passende måde påvirker de tværbundne P-membraners porestørrelse:

- 10 - P-Membranerne afsat på en porøs bærer, fx et mikrofilter, overtrækkes med en opløsning af polykationiseret ferritin (5 μ g polykationiseret ferritin i 1 ml H₂O) og inkuberes i 5 minutter ved 20°C. Som det kan bestemmes elektronmikroskopisk, kædes ét ferritinmolekyle under disse betingelser sammen med hvert proteinmolekyle eller proteinholdigt molekyle gennem elektrostatiske interaktioner. Ved en efterfølgende tværbin-

15 ding med glutardialdehyd analogt med den i eksempel 1 beskrevne fremgangsmåde bindes ferritinmolekylerne derefter covalent til P-membranerne.
- 20 - P-Membraner anbragt på en bærer overtrækkes med en 1%'s opløsning af osmiumtetraoxid og inkuberes i 30 minutter ved 20°C. Efter at den overskydende opløsning er vasket ud, kan det til P-membranerne kemisk bundne osmium fastslås ved elektronmikroskopi og ved hjælp af røntgenmikroanalyse. Tværbindingen af P-membranerne finder derefter sted i overensstemmelse med eksempel 1.
- 25 - P-Membraner anbragt på en bærer behandles med et bifunktionelt tværbindingsmiddel, hvis brolængde er tæt ved P-membranens porediameter. Følgende stoffer kan betragtes som bifunktionelle tværbindingsmidler med varierende brolængde:

30 Tartryl-di-(glycylazid) (TDGA): 1,3 nm brolængde,
tartryl-di-(ϵ -aminocaproylazid) (TDCA): 2,3 nm brolængde,
bis-methyl-3,8-diazo-4,7-dioxo-5,6-dihydroxydecan-bisimidat (DEBE): 1,4 nm brolængde,

bis-methyl-4,9-diazo-5,8-dioxo-6,7-dihydroxydodecan-bisimidat (DOBE): 1,7 nm brolængde.

- Reaktionen af TDGA eller TDCA, DEBE eller DOBE (0,01M i destilleret vand med 1M triethanolamin, pH-værdi 8,0) finder sted i 1 time ved 4°C eller i 30 minutter ved 20°C, hvorefter tværbinding kan finde sted i overensstemmelse med eksempel 1.

EKSEMPEL 3

I dette eksempel beskrives en variant af fremgangsmåden ifølge opfindelsen, ved hvilken der fremstilles et lag ud fra P-membraner, som kan have store overfladestørrelser, især dimensioner på op til 100 μm , og som består af en enkelt-lags P-membran. Til det formål fremstilles som beskrevet i eksempel 1 en suspension af P-membraner, som var vundet ud fra cellekapper fra *Bacillus stearothermophilus* 3c/NRS 1536. S-Lagene i denne bakteries cellekapper er elektrisk neutrale ved de overflader, der støder op til cellens yderside, hvor carbonhydratresten af de proteinholdige molekyler (glycoproteiner), der danner disse S-lag, er blotlagt, medens de har en negativ nettoladning på deres anden overflade. Den førnævnte P-membranopløsning indeholder endvidere også frie proteinholdige molekyler fra de opløste lag. Et mikrofilter med en særlig glat overflade, fx som den, der blev anvendt i eksempel 1, behandles på sin ene overflade med en opløsning af Alcian Blue (0,1% i destilleret vand) og tørres derefter. Alcian blue giver i et neutralt medium en positiv overfladeladning på mikrofilteroverfladen. P-Membranopløsningen påføres derefter på mikrofilteret under svag omrøring. Induceret af den positive overfladeladning finder der derefter ved nogle områder af mikrofilteroverfladen en selvorganisering sted til P-membraner af proteinmolekylerne eller de proteinholdige molekyler, der stadig er i opløsning, hvorved på den ene side P-membranernes negativt ladede side støder op imod den positivt ladede mikrofilteroverflade, medens P-membranerne i suspensionen, der sædvanligvis har maksimale overfladedimensioner på op til 10 μm , på den anden side fortrinsvis med deres negativt ladede side støder op imod mikrofilteroverfladens stadig frie områder. For at

stabilisere det således dannede P-membranlag tværbindes det på en måde analogt med den i eksempel 1 beskrevne.

Fig. 13 viser i delvis snit den således dannede struktur, som også med fordel kan anvendes som ultrafiltreringsmembran, med mikrofilteret 21 og en P-membran dannet ved faststof/væske-fasegrænsen via selvorganisering til større overfladeudstrækning. Ved anvendelse som ultrafiltreringsmembran har den således fremstillede struktur den samme skarpe molekylvægtsafskæring og de samme retentionsegenskaber som strukturen fremstillet ifølge eksempel 1.

- 10 Helt generelt og delvis afvigende fra de i eksemplerne 1-3 beskrevne fremgangsmåder er det også muligt som støtteoverflader, ved hvilke et P-membranlag dannes, at anvende andre lag, fx peptidoglycanholdige lag, pseudomureinlag, lipidlag, polymerlag, geler og lignende. Hvis disse lag har kontinuerlige porer, hvis størrelse er større end
- 15 P-membranernes porer, kan de tjene som permanente bærere for P-membranlagene, eller de kan være hjælpelag, som fjernes efter dannelsen af P-membranlaget, fx ved hjælp af organiske opløsningsmidler. P-Membranlagene adskilt fra hjælpelagene kan, hensigtsmæssigt efter covalent tværbinding, anbringes på en endelig bærer, der er bedre tilpasset kravene til den tiltænkte anvendelse af strukturen ifølge op-
- 20 findelsen, og med hvilken bærer de derefter også hensigtsmæssigt kan tværbindes covalent.

- "Støtteoverfladens" overfladeegenskaber såsom dens hydrofile eller hydrofobe natur og/eller dens specifikke nettoladning og "støtteover-
- 25 fladens" ladningsfordeling tillader - i lighed med fremgangsmåden ifølge eksempel 3 - en orienteret binding af P-membranerne og/eller proteinmolekylerne eller de proteinholdige molekyler til "støttelaget" og fremmer derved dannelsen af P-membranlaget. Disse overfladeegenskaber bør blandt andet være sådan, at bindingsstyrken mellem
 - 30 "støtteoverfladen" og proteinmolekyler eller proteinholdige molekyler er tilstrækkelig svag til ikke at forhindre den selvorganisering af disse molekyler til P-membraner, som finder sted på denne "støtteoverflade". Dette er vigtigt for dannelsen af P-membraner med få forstyrrelser i krystalgitteret.

De ovenfor beskrevne eksempler og deres varianter beskæftiger sig med strukturer med P-membraner, i hvilke proteinmolekylerne eller de proteinholdige molekyler er bundet til hinanden i et enkelt lag. Fig. 14 viser skematisk i delvis snit en yderligere variant af strukturen ifølge opfindelsen, i hvilken der på et porøst mikrofilter, således som det også blev anvendt ifølge eksempel 2, er anbragt et P-membranlag bestående af P-membraner 22 opbygget på spejlvendt måde af to lag 23 og 23' af proteinmolekyler eller proteinholdige molekyler. Hvert af disse to lag af molekyler 23 og 23' har en forskellig overfladetopografi på henholdsvis sin inderside og yderside, og de to lag 23 og 23' er hensigtsmæssigt bundet til hinanden i et arrangement med lav fri energi. De to lag 23 og 23' kan endvidere være covalent tværbundne med hinanden, ligesom henholdsvis P-membranen 22 og mikrofilteret 21 kan være covalent tværbundne med hinanden.

I det følgende beskrives flere yderligere fordelagtige anvendelser af strukturen ifølge opfindelsen, som er kommercielt betydningsfulde.

Ud over anvendelse som ultrafiltreringsmembran kan strukturen ifølge opfindelsen også fordelagtigt anvendes som separationsorgan for en gasseparation eller som separationsorgan for en ionbytningsproces.

I yderligere fordelagtige anvendelser tjener strukturen ifølge opfindelsen som bærer for andre semipermeable membraner, der strækker sig over porerne i strukturens P-membraner. Disse andre semipermeable membraner kan være hyperfiltreringsmembraner, især mono- eller bimolekylære hyperfiltreringsmembraner. Sådanne hyperfiltreringsmembraner, især overfladeaktive eller overfladeaktiv-lignende lipoide hyperfiltreringsmembraner, er i almindelighed kun 2-6 nm tykke og er særlig skrøbelige. Hyperfiltreringsmembraner anvendes især ved afsaltning af havvand, spildevandsbehandling, adskillelse af blandinger af organiske væsker, især til carbonhydridadskillelse ved pervaporing, eller til adskillelse af optiske antipoder ved hjælp af chirale separationslag.

Fig. 15 viser i delvis snit en struktur ifølge opfindelsen, hvis fremstilling er beskrevet i eksempel 2 (jfr. fig. 8), på hvis P-membranlag 24 en hyperfiltreringsmembran 25 er blevet anbragt. Ved

anvendelsen af strukturerne ifølge opfindelsen som bærere for hyperfiltreringsmembraner bestemmes henholdsvis filtrerings- eller adskillelseevnen i det væsentlige af hyperfiltreringsmembranen. Defekter såsom små huller eller lignende i P-membranlaget 24 er ikke nødvendigvis skadelige. Det tværbundne P-membranlag er særlig egnet som bærer for hyperfiltreringsmembraner, eftersom de har tilstrækkelig mekanisk stabilitet til at strække sig over eller opfylde porer og grove overflader på de sædvanlige bærelag til ultrafiltreringsmembraner, således at de skrøbelige hyperfiltreringsmembraner, især tværbundne monolag, kan anbringes eller adskilles ensartet. Endvidere er P-membranlagene tilstrækkelig tynde og har en høj porøsitet til at sikre en tilstrækkelig høj strømningshastighed i kombination med hyperfiltreringsmembranerne.

En særlig glat overflade på P-membranlaget fås især ved hjælp af følgende fremgangsmåde. I lighed med det, der er beskrevet i eksempel 1, fremstilles og tværbindes et P-membranlag på en polycarbonatbærer med en meget glat overflade. Polycarbonatbæreren opløses derefter i chloroform, hvorefter der efterlades et sammenhængende P-membranlag med en tykkelse på 5-100 nm, som derefter afsættes med sin oprindeligt meget glatte underside opad på en anden porøs bærer. På denne meget glatte blotlagte overflade på P-membranlaget afsættes hyperfiltreringsmembranen derefter og tværbindes hensigtsmæssigt med P-membranlaget.

Der kan også fremstilles blandinger af et P-membranlag og en hyperfiltreringsmembran, idet der på en hyperfiltreringsmembran, der har en veldefineret overfladenettoladning, som tjener som "støtteoverflade" - fx analogt med det, der er beskrevet ved hjælp af eksempel 3 - dannes et P-membranlag, og sidstnævnte tværbindes på passende måde med hyperfiltreringsmembranen.

Med henblik på en covalent tværbinding mellem hyperfiltreringsmembranen og P-membranlagene kommer de reaktioner først og fremmest i betragtning, hvor carboxy-, hydroxy-, amino- og sulfydrylgrupper deltager. Med P-membraner af glycoprotein og enkelt-lags hyperfiltreringsmembraner med sukkerrester kan der også anvendes carbonhydratkemiske reaktioner.

- Blandinger mellem et P-membranlag og en hyperfiltreringsmembran kan endvidere i sig selv tjene som bærer eller "støtteoverflade" for yderligere hyperfiltreringsmembraner eller P-membranlag. Sådanne multilagsblandinger kan også tværbindes i enkeltlagsplanerne eller
- 5 også mellem de enkelte lag ved hjælp af covalente bindinger. Dannelsen af en sandwichforbindelse bestående af to hyperfiltreringsmembraner på hver side af et P-membranlag tillader indfletning af fremmede molekyler såsom enzymer eller ladningsbærere, som i væsentlig grad kan påvirke opførslen af en sådan sandwichforbindelse.
- 10 De ovennævnte forbindelser eller multilagsforbindelser kan fordelagtigt også have form af lukkede vesikler, ved fremstilling af hvilke man kan begynde med en "udgangsvesikel" bestående af en hyperfiltreringsmembran eller af et P-membranlag.

- I en yderligere fordelagtig anvendelse anvendes strukturen ifølge opfindelsen som separationssøjle til søjlechromatografi. Fig. 16 viser skematisk og i delvis snit en sådan chromatografisøjle 26, hvori der er fyldt vesikelformede, hensigtsmæssigt intra- eller intermolekylært tværbundne P-membraner 20' med en indre diameter d i området 1-3 μm . De stoffer, der skal adskilles, føres ind i søjlens
- 15 top. Efter at stofferne er passeret gennem og er elueret, kommer de store molekyler hurtigere ud af chromatografisøjlens nedre ende end de små molekyler, idet chromatografien udviser en skarp fraktionering i P-membranernes porestørrelsesområde.
- 20

- Ifølge en fordelagtig variant kan strømningshastighederne gennem separationssøjlen forøges ved, at P-membranvesiklerne 20' forenes covalent tværbundet i morfologisk definerede og mekanisk stabile aggregater. Til fremstilling af disse aggregater hurtigfryses en tæt pellet (sediment) af P-membranvesikler i et tyndt lag, pulveriseres til små fragmenter under flydende nitrogen og frysesubstitueres
- 25 derefter i en blanding af methanol og glutardialdehyd ved fx -80°C , hvorved tværbindingen finder sted ved hjælp af glutardialdehydet. De således vundne aggregater kan fragmenteres yderligere og sigtes efter størrelse, idet der kun anvendes specifikke størrelseskategorier af aggregaterne til fyldning af separationssøjlen. Enten før eller efter
- 30

fyldning af søjlen kan aggregaterne endvidere omdannes til puffere, og/eller der kan foretages kemiske eller enzymatiske ændringer af aggregaterne. I en sidste fordelagtig anvendelse anvendes strukturen ifølge opfindelsen som hylstermateriale for de mest forskellige stoffer. Dette hylstermateriale kan være et tværbundet P-membranlag, der som beskrevet dannes på et hjælpelag eller en "støtteoverflade", hvorefter hjælpelaget fjernes på passende måde. De således fremstillede film kan hensigtsmæssigt anvendes som indpakningsmateriale og har som sådan den fordel, at de er i det væsentlige biologisk nedbrydelige, og at nedbrydningshastigheden kan påvirkes både af arten og graden af den covalente tværbinding.

P-Membranlag af denne type kan endelig også finde anvendelse som indkapslingshylstre til farmaceutiske præparater, der administreres oralt, hvorved den ønskede afgivelse af indholdet kun forårsages af den proteolytiske nedbrydning i specifikke sektioner af fordøjelseskanalen. Ved en selektiv kemisk ændring af hylstermembranernes P-membranlag kan deres nedbrydningshastighed og derved kapselindholdets afgivelsestidspunkt fastlægges. Afgivelsen af kapselindholdet kan finde sted, allerede før P-membranlaget er opløst, nemlig hvis det er reguleret af porestørrelsen. Endvidere kan pH-effekter også inducere afgivelsen.

PATENTKRAV

1. Struktur omfattende mindst én membran med kontinuerlige porer, eller som er dannet af mindst én sådan membran, k e n d e t e g n e t ved, at membranen eller membranerne, der strækker sig langs plane, kurvede, cylindriske eller vesikelformede overflader, i hvert tilfælde består af mindst ét lag af sammenhængende molekyler, der er bundet sammen og derved er arrangeret som et krystalgitter, nemlig proteinmolekyler eller proteinholdige molekyler, idet kontinuerlige porer, der er arrangeret som et gitter, i disse lag forbliver frie mellem molekylerne, og hvor membranerne er bundet til eller forenede inden for en passende porøs bærer eller er bundet sammen til en ustøttet film.

2. Struktur ifølge krav 1,
k e n d e t e g n e t ved, at den har membraner, i hvilke protein-
molekylerne eller de proteinholdige molekyler er arrangeret som et
krystalgitter i et enkelt lag, sammenhængende og bundet til hinanden,
5 eller i hvilke proteinmolekylerne eller de proteinholdige molekyler
er arrangeret i flere sammenhængende lag, hver som et krystalgitter,
og er bundet til hinanden.
3. Struktur ifølge krav 1 eller 2,
k e n d e t e g n e t ved, at de sammenhængende proteinmolekyler
10 eller proteinholdige molekyler i lagene er bundet til hinanden ved
ikke-covalente bindinger.
4. Struktur ifølge et hvilket som helst af kravene 1-3,
k e n d e t e g n e t ved, at mono- eller bifunktionelle fremmede
molekyler er bundet til reaktive grupper på proteinmolekylerne eller
15 de proteinholdige molekyler.
5. Struktur ifølge krav 4,
k e n d e t e g n e t ved, at de reaktive grupper er carboxygrupper
og/eller aminogrupeer og/eller sulfhydrylgrupper og/eller hydroxy-
grupper.
- 20 6. Struktur ifølge krav 4 eller 5,
k e n d e t e g n e t ved, at den har membraner med lag af prote-
inmolekyler eller proteinholdige molekyler, inden for hvilke fremmede
molekyler er bundet til i det væsentlige alle disse molekyler på de
samme reaktive steder.
- 25 7. Struktur ifølge et hvilket som helst af kravene 4-6,
k e n d e t e g n e t ved, at proteinmolekyler eller proteinholdige
molekyler i membranerne er intramolekylært covalent tværbundet ved
hjælp af bifunktionelle fremmede molekyler.
8. Struktur ifølge et hvilket som helst af kravene 1-7,
30 k e n d e t e g n e t ved, at den har membraner, på hvilke sammen-
hængende eller nabostillede proteinmolekyler eller proteinholdige
molekyler, der hører til samme membran eller til to sammenhængende

eller nabostillede membraner, er tværbundet covalent med hinanden, om ønsket ved hjælp af bifunktionelle fremmede molekyler.

9. Struktur ifølge et hvilket som helst af kravene 1-8,
k e n d e t e g n e t ved, at den har membraner, på hvilke prote-
5 inmolekyler eller proteinholdige molekyler er tværbundet med bærema-
terialet, om ønsket ved hjælp af bifunktionelle fremmede molekyler.

10. Struktur ifølge et hvilket som helst af kravene 5-9,
k e n d e t e g n e t ved, at de fremmede molekyler strækker sig ind
i membranporezonerne, der er anbragt mellem proteinmolekylerne eller
10 de proteinholdige molekyler.

11. Struktur ifølge et hvilket som helst af kravene 1-10,
k e n d e t e g n e t ved, at den har membraner, hvis proteinmole-
kyler eller proteinholdige molekyler og/eller fremmede molekyler, der
er bundet til dem, har dissocierbare grupper, som dissocierer under
15 strukturens arbejdsbetingelser og derved kan modtage forudbestemte
elektriske ladninger afhængig af disse arbejdsbetingelser.

12. Struktur ifølge krav 11,
k e n d e t e g n e t ved, at den har membraner, der, for så vidt
angår arten og/eller fordelingen af disse dissocierbare grupper på
20 membranen, er konstrueret asymmetrisk med hensyn til hver overflade,
der er parallel med membranens udstrækning.

13. Fremgangsmåde til fremstilling af en struktur, især en struktur
ifølge et hvilket som helst af kravene 1-12,
k e n d e t e g n e t ved, at proteinmolekyler eller proteinholdige
25 molekyler, hensigtsmæssigt vundet fra cellekapper, især cellekapper
fra prokaryote celler, eller fragmenter af lag af sådanne molekyler,
der er bundet sammenhængende til hinanden i disse lag, bringes i
henholdsvis opløsning eller suspension i en væske, hensigtsmæssigt et
vandigt medium, der hensigtsmæssigt indeholder chaotropiske midler
30 såsom guanidin-hydrochlorid eller urinstof og/eller overfladeaktive
midler, og hvor der derefter, hensigtsmæssigt ved en reduktion af
koncentrationen af de chaotropiske midler og/eller overfladeaktive
midler og/eller ved ændring af pH-værdien, skabes betingelser i

mediet, ved hvilke proteinmolekylerne eller de proteinholdige molekyler og/eller lagfragmenterne derefter ved selvorganisering forenes til membraner, i hvilke proteinmolekylerne eller de proteinholdige molekyler er arrangeret sammenhængende som et krystalgitter, i hvilket kontinuerlige porer, der er arrangeret mellem molekylerne som et gitter, forbliver frie, og hvori de således dannede membraner er anbragt i, henholdsvis på en bærer, og hvori proteinmolekyler eller proteinholdige molekyler i membranerne, hensigtsmæssigt ved behandling med mono- og/eller bifunktionelle fremmede molekyler, er substitueret på deres reaktive grupper og/eller er tværbundet gennem disse reaktive grupper intramolekylært og/eller med hinanden og/eller med bæreren.

14. Fremgangsmåde ifølge krav 13,
k e n d e t e g n e t ved, at der til fremstilling af henholdsvis opløsningen eller suspensionen af proteinmolekylerne eller de proteinholdige molekyler og/eller lagfragmenterne opbygget af sådanne molekyler fremstilles en hensigtsmæssig vandig suspension af cellekapper af en sådan type, som har eksterne lag opbygget af sammenhængende proteinmolekyler eller proteinholdige molekyler, der er bundet til hinanden og arrangeret som et krystalgitter, idet kontinuerlige porer arrangeret som et gitter mellem molekylerne i disse lag forbliver frie, hvorefter proteinmolekylerne eller de proteinholdige molekyler eller fragmenter af lagene bestående af disse molekyler skilles fra cellekapperne, hensigtsmæssigt ved tilsætning af chaotropiske midler og/eller overfladeaktive midler og/eller ved modificering af mediets pH-værdi, og hvor resterne af cellekapperne skilles fra mediet.

15. Fremgangsmåde ifølge krav 14,
k e n d e t e g n e t ved, at adskillelsen af proteinmolekylerne eller de proteinholdige molekyler eller af fragmenterne af lag bestående af disse molekyler udføres ved en forøgelse af pH-værdien fra ca. 7,0 til en værdi mindre end eller lig med 13,0, fortrinsvis mindre end eller lig med 9,5.

16. Fremgangsmåde ifølge krav 14,
k e n d e t e g n e t ved, at adskillelsen af proteinmolekylerne
eller de proteinholdige molekyler eller af fragmenterne af lag be-
stående af disse molekyler udføres ved at sænke pH-værdien til en
5 værdi større end eller lig med 1,0, fortrinsvis større end eller lig
med 2,5.
17. Fremgangsmåde ifølge et hvilket som helst af kravene 13-16,
k e n d e t e g n e t ved, at reduktionen af koncentrationen af de
chaotropiske midler og/eller overfladeaktive midler og/eller ændrin-
10 gen af pH-værdien, der udføres for at inducere selvorganiseringen af
proteinmolekylerne eller de proteinholdige molekyler og/eller de ad-
skilte lagfragmenter til membraner, finder sted ved hjælp af dialyse.
18. Fremgangsmåde ifølge et hvilket som helst af kravene 13-17,
k e n d e t e g n e t ved, at de mono- og/eller bifunktionelle frem-
15 mede molekyler har grupper, der reagerer med carboxygrupper, amino-
grupper, sulfhydrylgrupper eller hydroxygrupper på proteinmolekylerne
eller de proteinholdige molekyler.
19. Fremgangsmåde ifølge et hvilket som helst af kravene 13-18,
k e n d e t e g n e t ved, at selvorganiseringen af proteinmoleky-
20 lerne eller de proteinholdige molekyler og/eller lagfragmenterne til
membraner finder sted ved en faststof/væske-fasegrænse.
20. Fremgangsmåde ifølge et hvilket som helst af kravene 13-19,
k e n d e t e g n e t ved, at de ved selvorganisering af proteinmo-
lekkylerne eller de proteinholdige molekyler og/eller lagfragmenterne
25 dannede membraner praktisk talt alle har maksimumdimensioner i om-
rådet under 100 μm , fortrinsvis under 15 μm .
21. Fremgangsmåde ifølge et hvilket som helst af kravene 13-20,
k e n d e t e g n e t ved, at placeringen af membranerne henholdsvis
på eller i bæreren udføres ved afsætning på en porøs bærer.

22. Anvendelse af strukturen ifølge et hvilket som helst af kravene 1-12 eller af en struktur fremstillet ved en fremgangsmåde ifølge et hvilket som helst af kravene 13-21,
k e n d e t e g n e t ved, at den anvendes som ultrafilter eller som
5 separationsorgan for en gasseparation eller som separationsorgan for en ionbytningsproces.

23. Anvendelse af strukturen ifølge et hvilket som helst af kravene 1-12 eller af en struktur fremstillet ved en fremgangsmåde ifølge et hvilket som helst af kravene 13-21,
10 k e n d e t e g n e t ved, at den anvendes som bærer for andre semipermeable membraner, der strækker sig over porer i strukturmembranerne, idet disse andre semipermeable membraner hensigtsmæssigt er tværbundet med proteinmolekyler eller proteinholdige molekyler i
strukturens membraner ved hjælp af carboxygrupper og/eller aminogrup-
15 per og/eller sulfhydrylgrupper og/eller hydroxygrupper enten direkte eller ved hjælp af bifunktionelle fremmede molekyler.

24. Anvendelse ifølge krav 23,
k e n d e t e g n e t ved, at de andre semipermeable membraner er hyperfiltreringsmembraner, hensigtsmæssigt overfladeaktivt stof-
20 eller overfladeaktivt stof-lignende lipoide hyperfiltreringsmembraner.

25. Anvendelse ifølge krav 23,
k e n d e t e g n e t ved, at de andre semipermeable membraner er separationsorganer for en gasseparation, en ionbytningsproces eller
25 en pervaporeringsproces, eller er opløsningsdiffusionsmembraner.

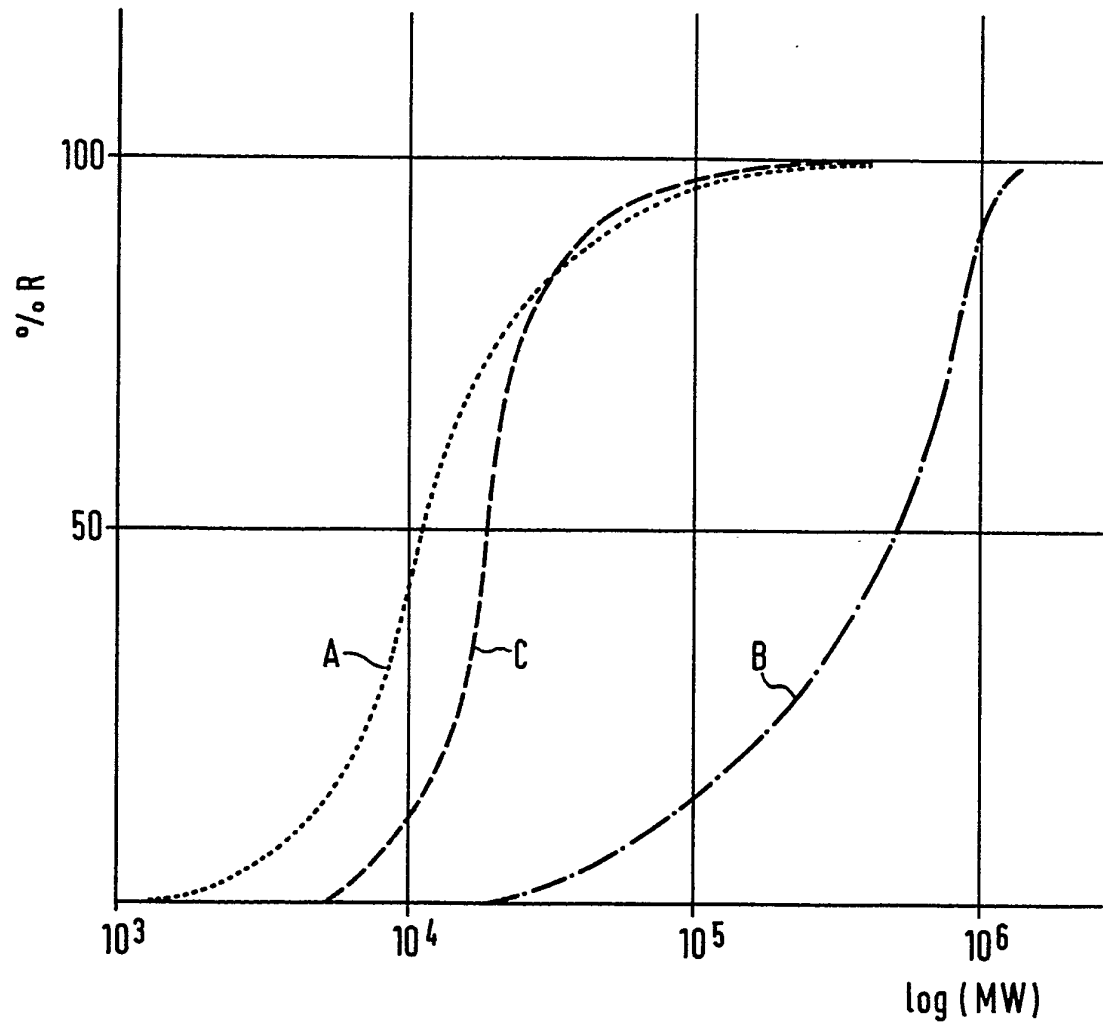
26. Anvendelse af strukturen ifølge et hvilket som helst af kravene 1-12 eller af en struktur fremstillet ifølge en fremgangsmåde ifølge et hvilket som helst af kravene 13-21,
k e n d e t e g n e t ved, at den anvendes som separationssøjle til
30 søjlechromatografi, hvor membranerne hensigtsmæssigt er vesikelformede.

27. Anvendelse af en struktur ifølge et hvilket som helst af kravene 1-12 i form af en film,

k e n d e t e g n e t ved, at den anvendes som indkapslingsmateriale
for stoffer.

28. Anvendelse ifølge krav 27,

- k e n d e t e g n e t ved, at strukturen anvendes som biologisk
5 nedbrydeligt indpakningsmateriale eller som indkapslingshylster for
farmaceutiske præparater til oral administration.

***Fig. 1***

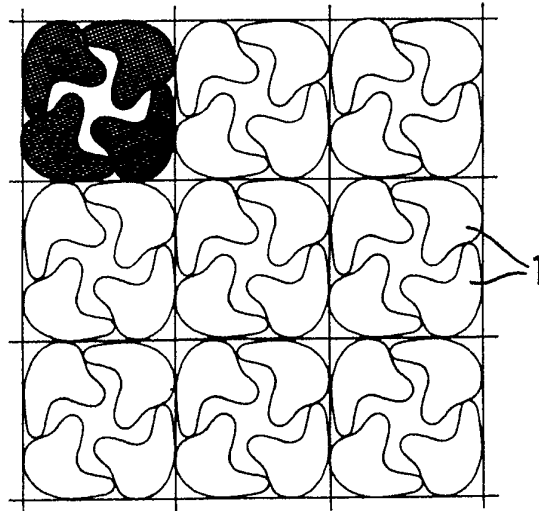


Fig. 2

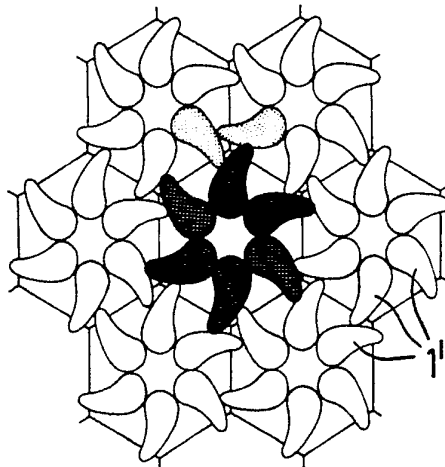


Fig. 3

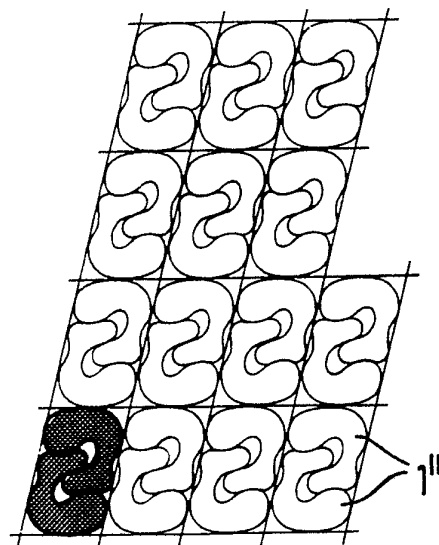


Fig. 4

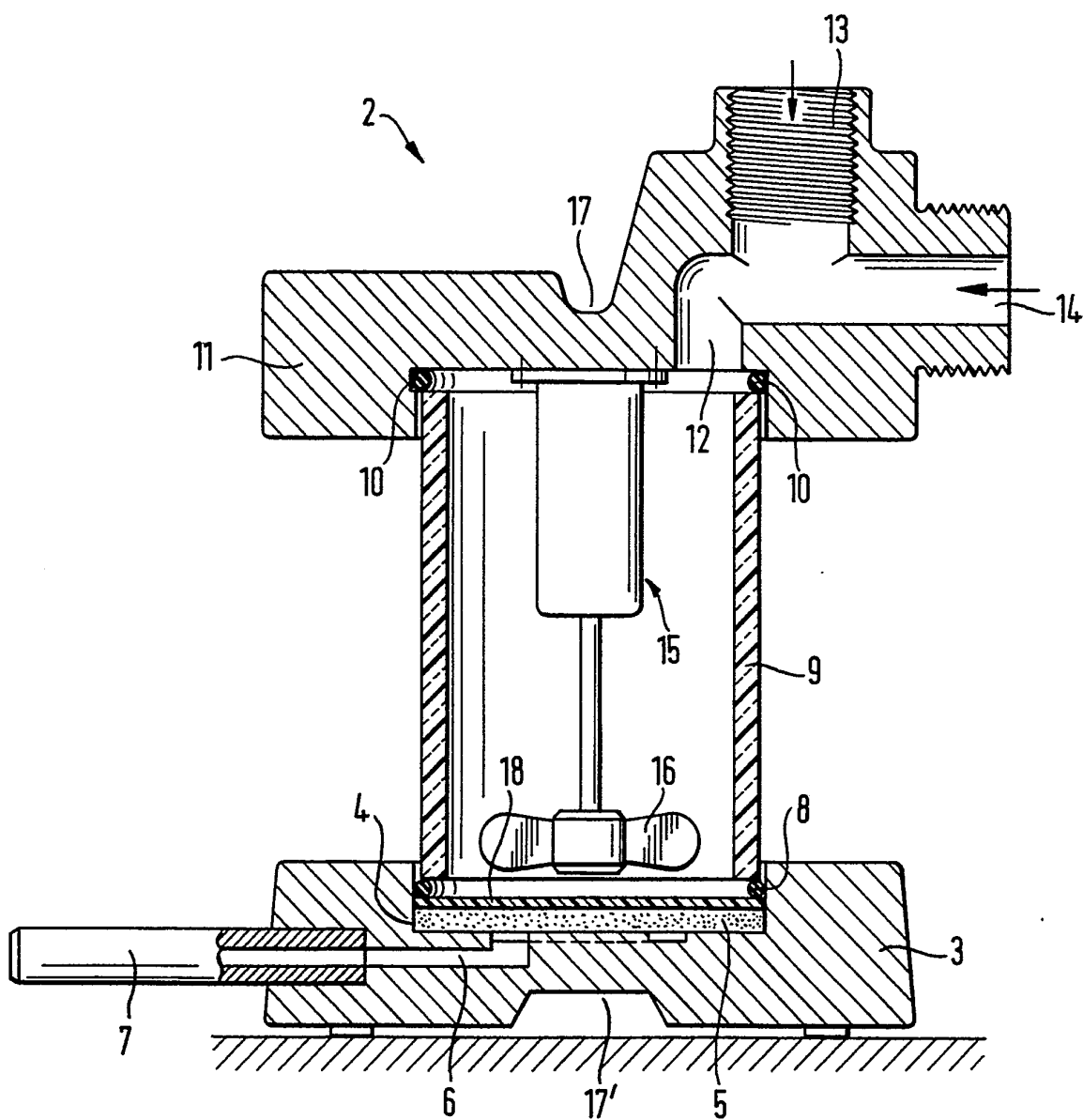
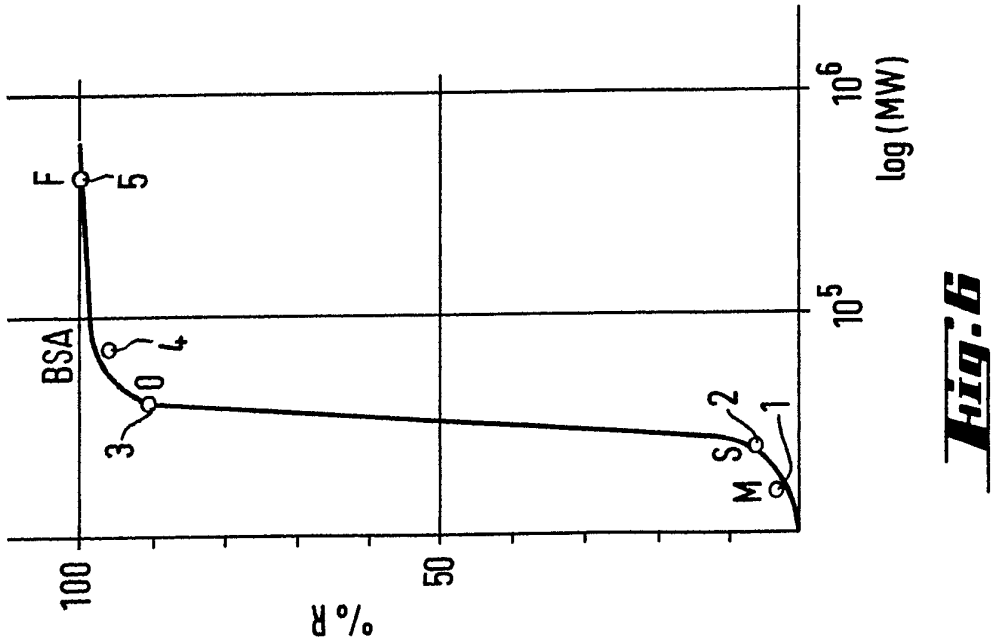
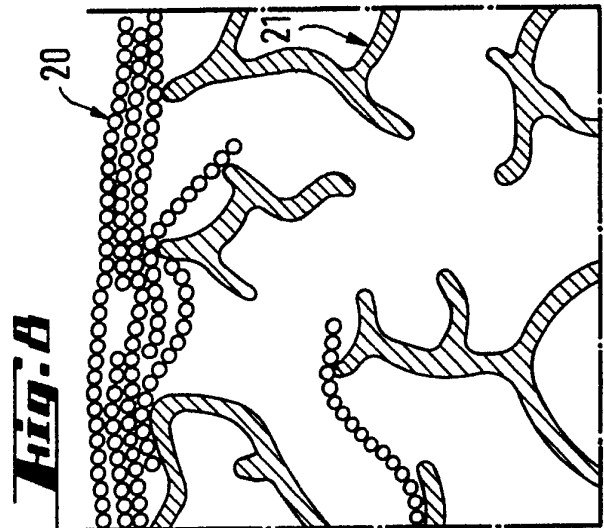
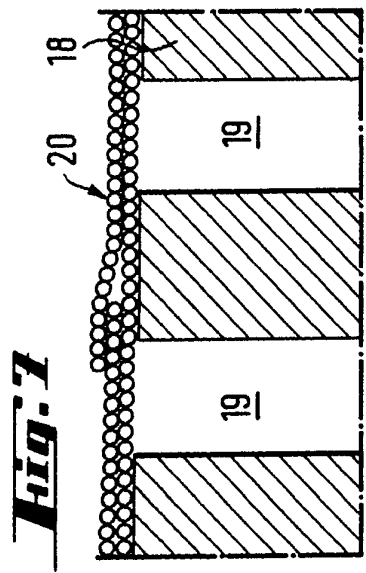


Fig. 5



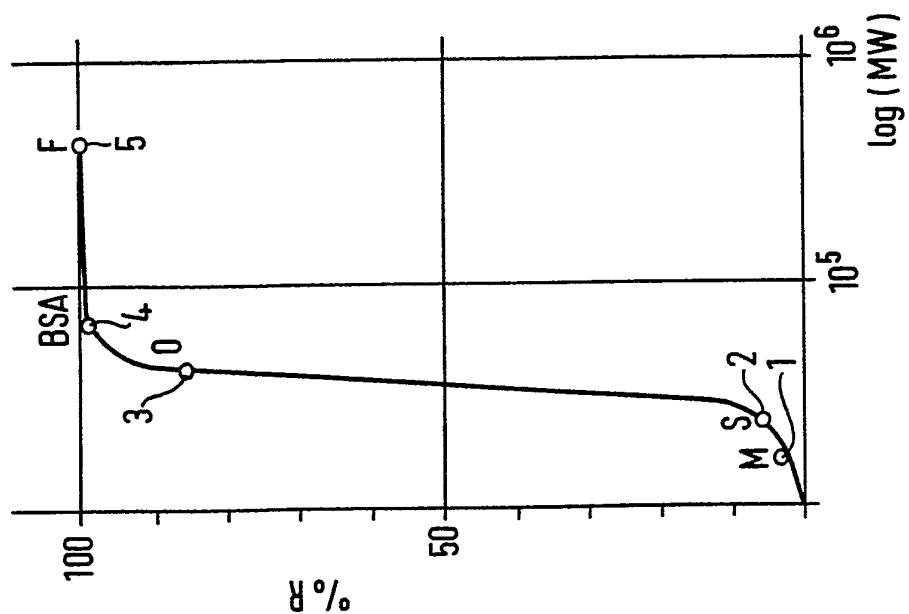
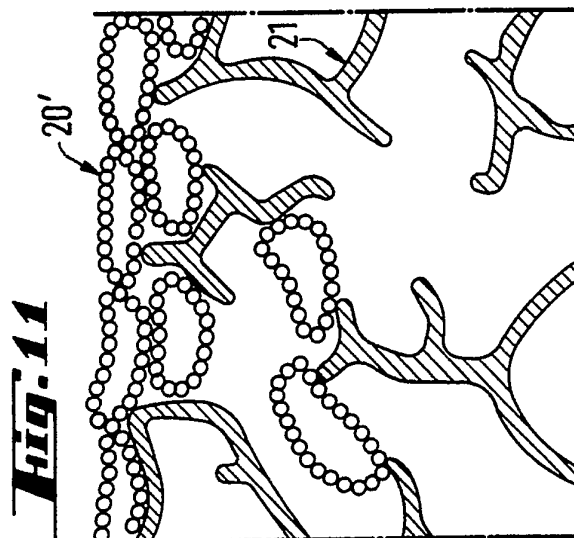
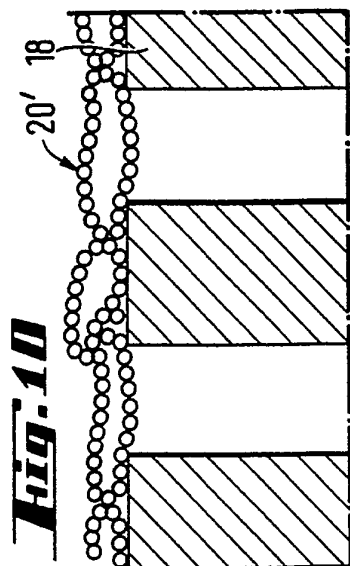


Fig. 12

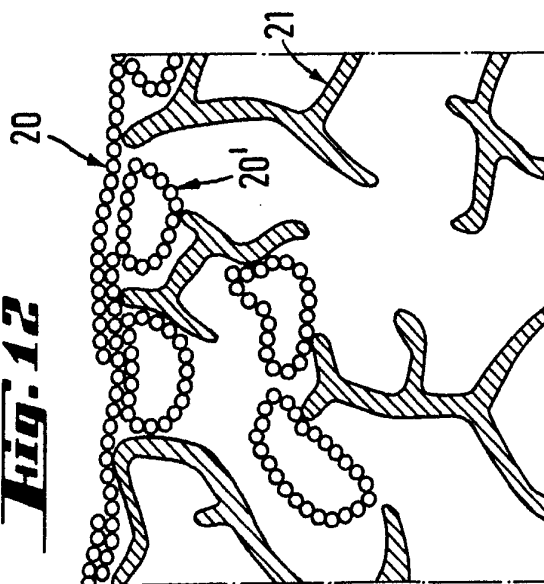


Fig. 13

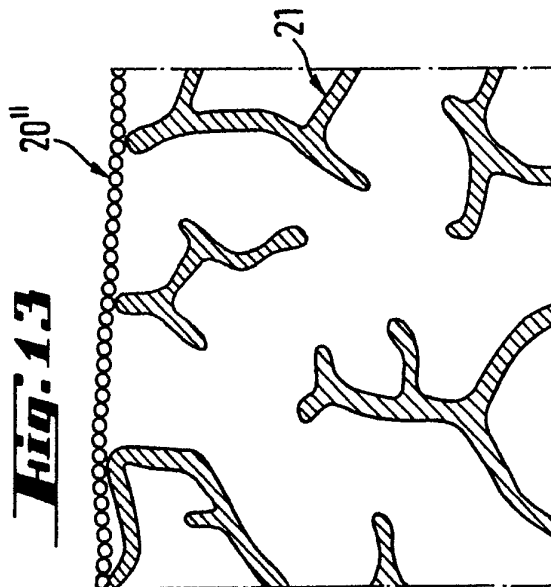


Fig. 14

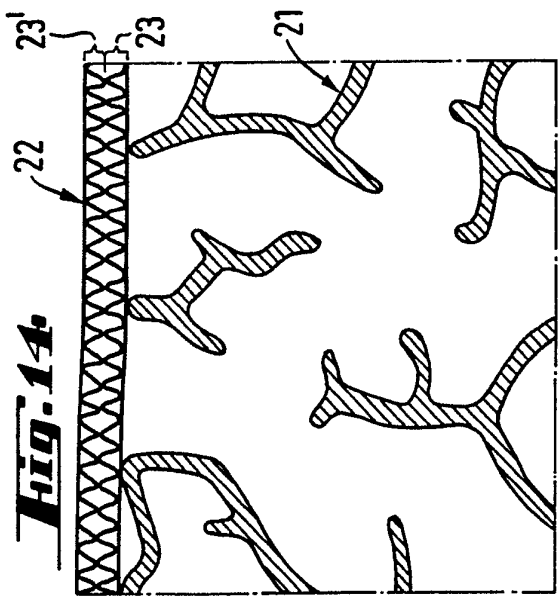


Fig. 15

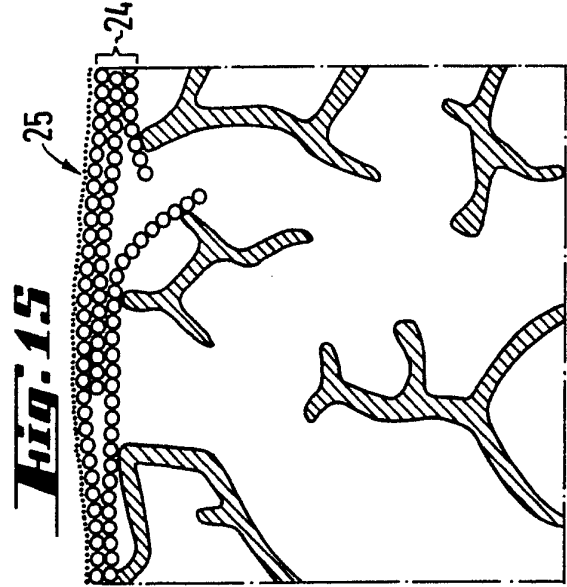


Fig. 16

