

(19) DANMARK



PATENTDIREKTORATET
TAASTRUP

(12) FREMLÆGGELSESSKRIFT

(11) 160231 B

(21) Patentansøgning nr.: 2347/84

(51) Int.Cl.⁵ A 61 L 15/32

(22) Indleveringsdag: 11 maj 1984

(24) Løbedag: 13 sep 1983

(41) Alm. tilgængelig: 11 maj 1984

(44) Fremlagt: 18 feb 1991

(86) International ansøgning nr.: PCT/SE83/00323

(86) International indleveringsdag: 13 sep 1983

(85) Videreførelsesdag: 11 maj 1984

(30) Prioritet: 14 sep 1982 SE 8205244

(71) Ansøger: Magnus *Hoeoek; 478 Malma Ringvaeg; S-752 40 Uppsala, SE, Torkel *Wadstroem; P.O. Box 96; S-741 00 Knivsta, SE

(72) Opfinder: Magnus *Hoeoek; SE, Torkel *Wadstroem; SE

(74) Fuldmægtig: Hofman-Bang & Boutard A/S

(54) Anvendelse af protein til fremstilling af et middel til fjernelse af mikroorganismer fra væv

(56) Fremdragne publikationer

EP pat. nr. 59265
DE off. g. skrift nr. 2422308, 2635508, 2725261, 2823620,
2849570, 3002038

CH pat. nr. 590666
Andre publikationer. Römpps Chemie-Lexikon, 8 ed. (1981)
bal. 2, 1280-81.

(57) Sammendrag:

2347-84

Middel til fjernelse af mikroorganismer fra væv, såsom slimhinder, hud- eller sår væv, hvilket middel omfatter mindst ét protein eller fragment(er) eller rest(er) deraf, som kan bindes til mikroorganismerne, og eventuelt en bærer, til hvilken proteinet/-erne eller fragmentet/-erne eller resten/-erne deraf er bundet. Opfindelsen angår endvidere anvendelsen af protein(er) eller fragment(er) deraf til fjernelse af mikroorganismer fra væv.

LJK 160231 B

Den foreliggende opfindelse angår anvendelse af protein til fremstilling af midler til fjernelse af mikroorganismer fra væv, såsom slimhinder, hud- og sårvæv.

5 På hud og slimhinder er der en hjemmehørende flora af ikke-patogene såvel som potentielt patogene mikroorganismer. Tilstedeværelsen af den hjemmehørende flora tjener visse nyttige funktioner og kan forhindre kolonisering af patogene mikroorganismer. Nogen, som på denne måde bærer
10 patogene mikroorganismer, er potentielle bærere for patogener, da de patogene mikroorganismer fra en sådan person kan overføres til et vævssår.

Med udtrykket mikroorganismer menes Gram-positive bakterier, såsom forskellige arter Staphylococci, Streptococci
15 og Pneumococci, Gram-positive stavbakterier, såsom Mycobacteria, f.eks. Mycobacterium leprae, Gram-negative bakterier, såsom forskellige arter af familien Enterobacteriaceae, f.eks. Escherichia coli, Klebsiella, Proteus, Enterobacter og Vibrionaceae, eller Pseudomonas, såvel som
20 Gram-negative cocci, såsom Gonococci. Dette udtryk omfatter også anaerobe bakterier, såsom Bacteroides, Fusobacteria, anaerobe cocci, f.eks. Peptococci og Peptostreptococci, såvel som Spirillae og Spirochetes. Yderligere omfattet er svampe, såsom Candida, f.eks. Candida albicans,
25 dermatophyter, såvel som patogene amøber, såsom Entamoeba histolytica og Giardia lamblia og Leischmania.

Måderne til fjernelse af mikroorganismer fra væv varierer
30 efter vævstypen af mikroorganismene. Til fjernelse af patogene mikroorganismer fra slimhinder og hudvæv anvendes ofte et desinfektionsmiddel eller antibioticum. En ulempe derved er, at den hjemmehørende flora fjernes lige såvel, og dermed de funktioner, den tjener. Yderligere
35 ulemper er, at desinfektionsmidler er celletoxiske, og at i dag har mange patogene stammer udviklet resistens over for et stort antal antibiotica. Fjernelsen af patogene

mikroorganismer fra sårsvæv udføres på adskillige måder. En måde er et direkte angreb på mikroorganismene ved behandling med desinfektionsmidler eller antibiotica, men dette er ineffektivt og resulterer i ovennævnte ulemper for den hjemmehørende flora. En anden måde er mekanisk rensning af sårsvæv ved hjælp af forbindinger fugtet med saltvand. Ulemperne derved er bl.a., at vævshelingen in-
hiberes, og at sådanne forbindinger må skiftes meget of-
te. Det sidstnævnte er et eksempel på en mere indirekte
10 måde til fjernelse af patogene mikroorganismer fra sår-
svæv. Sekretionerne fra sårsvævet er fremragende substrat
for mikroorganismer, og ved at reducere mængden deraf vil
væksten af mikroorganismene også nedsættes. Andre meto-
der, hvori denne indirekte måde anvendes, er behandling
15 af sår ved hjælp af egnede polymere, f.eks. på partikel-
form, hvilke polymere absorberer sekretionerne fra sårsvæ-
vet. Nogle af disse sekretionsabsorberende polymere inde-
holder komplekst bundet iod (såkaldte iodophorer), og med
disse opnås en sekretionsabsorption og samtidig en desin-
20 fektion.

Det er også blevet foreslået at anvende forskellige pro-
teiner i sårforbindingen og vævsadhæsiver, og basiskon-
ceptet for dette er, at det menes, at sårhelingen vil
25 blive lettet ved tilsætning af proteiner, der produceres
af legemet. Dette fremgår også af DE-A-28 23 260,
DE-A-30 02 038 og EP-A-0 059 265. DE-A-28 23 260 beskri-
ver porøse kollagenforbindinger, hvor kollagen også an-
vendes, fordi det er et relativt billigt materiale og be-
30 friet for telopeptider. Det anføres udtrykkeligt, at der
kan være inkorporeret et antibiotikum eller baktericid i
forbindsstofferne, når der er behov for en antibakteriel
virkning. DE-A-30 02 038 angår en type vævsadhæsiv af
biokompatibelt og blodkompatibelt elastisk materiale til
35 topisk eller indre anvendelse. Vævsadhæsivet omfatter et
substrat, der bærer aminogrupper, der er bundet til reak-
tive grupper. Til disse aminogrupper bindes via de reak-

tive grupper bundne proteiner, som giver adhæsivsubstratets overflade bio- og blodkompatibilitet.

5 EP-A-0 059 265 beskriver et vævsadhæsiv, der løser problemet i forbindelse med samtidig tilstedeværelse af fibrinogenpartikler, thrombin og thrombinfrigørende partikler uden indbyrdes reaktion. I dette vævsadhæsiv anvendes kollagen som bærer for forbindelser, der er vigtige for blodstørkning, såsom størkningsfaktor XIII, fibrinogen-
10 og thrombinkomponenter. For at undgå eller bekæmpe infektionen kan der være inkorporeret et baktericid i vævsadhæsivet.

15 Den foreliggende opfindelse angår anvendelse af et protein til fremstilling af et middel til fjernelse af mikroorganismer fra væv uden at påvirke den hjemmehørende flora i særlig høj grad.

20 En overvejende årsag til primære sårinfektioner og infektioner efter kirurgiske indgreb er visse Gram-positive cocci, såsom Staphylococcus aureus og såkaldte β -hæmolyserende Streptococci fra gruppe A, C og G. Patogene Staphylococci findes overalt i omgivelserne, også på et hospital, hvor op til 80% af personalet kan være bærere for
25 patogener. Gule Staphylococci (*S. aureus*) danner specielt kolonier visse steder på huden, såsom armhulen, bækkenbunden og på hænderne såvel som i næsen. Selv i tør eczema findes ofte hvide såvel som gule Staphylococci. Den almindelige Tonsillitis-bakterie Streptococcus pyogenes
30 (gruppe A Streptococcus) forekommer med høj frekvens på plejepersonale såvel som patienter. Nosocomiale infektioner overføres ofte exogent (fra f.eks. personale til en patient) eller endogent (patienter med disse mikroorganismer på hud eller slimhinder inficerer deres egne sår),
35 og dette er blevet et stigende problem. For at nedsætte hyppigheden af disse infektioner er der blevet foretaget klassiske præventive skridt indtil nu, såsom omhyggelig

rensning før operation og bandagering af inficerede eczema i separate rum.

5 Det første trin i de fleste infektionsprocesser er bindingen af mikroorganismene til væv. Mikroorganismene binder specifikt, enten direkte til en komponent på overfladen af epitheliumcellen eller til ekstracellulære molekyler i blodklumper eller dermed forbundet væv, der udsættes for mikroorganismene i et epithelliumsår.

10

Den foreliggende opfindelse er baseret på et fuldstændigt nyt princip til fjernelse af mikroorganismer fra væv, hvilket princip er baseret på inhibering af bindingen af mikroorganismene til vævsproteinerne på slimhinder, hud og i sår.

15

Patogene Staphylococci har på deres celleoverflade et protein (protein A), der specifikt bindes til den komplementbindende del (Fc-delen) af immunoglobuliner tilhørende forskellige klasser i et stort antal dyrearter. Denne bindingsspecificitet anvendes ved immunologiske prøver til fjernelse af antistoffer i ekstracorporal cirkulation ved hjælp af protein A bundet til en fast fase.

20

25 Det er også kendt, at Staphylococci agglutineres af normalt serum fra forskellige dyrearter. Denne reaktion skyldes en specifik binding mellem bakterieoverfladen og fibrin/fibrinogen.

30

Det har nu vist sig, at receptorer, der ligner dem, der er til stede i Staphylococci, også forekommer i andre mikroorganismer. Frekvensstudier af f.eks. stammer af Staphylococci og Streptococci isoleret fra sårinfektioner og andre typer infektioner viser, at evnen til at binde f.eks. fibronectin bidrager til mikroorganismernes virulens. I infektioner forårsaget af Staphylococcus aureus og coagulase-negative Staphylococci bidrager denne bin-

35

dingsevne til virulensen ved at muliggøre en begyndende vævskolonisering.

Det har nu overraskende vist sig, at proteiner eller pep-
5 tider deraf, eventuelt bundet til en bærer, er egnede
midler til fjernelse af mikroorganismer fra væv. Den fo-
religgende opfindelse angår således anvendelse af protein
til fremstilling af et middel til fjernelse af mikroorga-
nismen fra væv, såsom slimhinder, hud- og sår væv ved in-
10 hibering af mikroorganismernes binding til vævet, hvilket
middel består af mindst ét protein fra den gruppe, som
udgøres af fibrinogen, fibronectin, et immunglobulin, al-
bumin, haptoglobin, β -2-mikroglobulin, kollagen, laminin,
entactin og chondronectin, eller et peptid deraf med en
15 molvægt på $5 \times 10^2 - 10^5$, og som kan bindes til mikroor-
ganismerne, og eventuelt en bærer, til hvilken proteinet
eller peptidet er bundet.

Egnede bærere til anvendelse i forbindelse med opfindel-
20 sen er polymere materialer, såsom agarose eller et deri-
vat deraf, stivelse eller et derivat deraf, cellulose el-
ler et derivat deraf, dextrin eller et derivat deraf, el-
ler et alginat. Endvidere er et fibermateriale, der ind-
går i absorptionsprodukter, såsom en forbindelse eller en
25 tampon, velegnet.

Proteiner eller peptider deraf kan bindes til bæreren på
en i for sig kendt måde, og det ved en covalent binding
via kulhydratdelen, de primære aminogruupper, sulfhydryl-
30 eller carboxygrupperne i proteinet, f.eks. ved hjælp af
divinylsulfon, epichlorhydrin, carbodiimid, ved hjælp af
transaminering eller via cyanobromidbroer eller ved i og
for sig kendte blodspecifikke interaktioner, såsom bin-
dingen af fibronectin til gelatine, bindingen af gluco-
35 proteiner til lectin eller bindingen af antigener til an-
tistoffer.

Proteinerne eller peptiderne kan også absorberes direkte på en bærer.

Den foreliggende opfindelse forklares nærmere ved hjælp af de efterfølgende eksempler.

EKSEMPEL 1

Hudområder på den menneskelige lænd blev vasket med en
10 fysiologisk saltvandsopløsning. Derpå blev der på flere
hudområder påført ca. 10^7 og 10^9 Staphylococcus aureus
(stammen Newman). En gel af Sepharose® 4B, hvortil der
var bundet fibronectin, blev påført de hudområder, på
hvilke stammen Newman var påført, og det i lag med en
15 tykkelse på 2-3 mm. Fibronectinet var bundet til en cyanobromidaktiveret gel af Sepharose® 4B ved inkubering af
10 mg fibronectin pr. ml cyanobromidaktiveret gel i 2 timer ved stuetemperatur og under forsigtig omrøring. Reaktionen blev afsluttet ved tilsætning af 1 M glycinopløsning til reaktionsblandingen, hvorefter inkuberingen blev fortsat i yderligere 30 minutter. Før anvendelse blev gelen vasket omhyggeligt. Ren Sepharose® 4B blev anvendt som kontrolgel og påført på samme måde på andre hudområder, på hvilke der var påført stammen Newman. Alle hudområder blev tørret med en blæser (kold luft). Efter 20-30 minutters forløb blev prøvegelen såvel som kontrolgelen fjernet med en steril skalpel. Derefter blev der påført frisk materiale af begge geler, og proceduren blev gentaget, indtil der var udført i alt 3 behandlinger, og
30 det under et tidsrum på ca. 2 timer.

Efter fuldendt procedure viser en dyrkning af prøver taget fra huden, at stamme Newman er blevet fjernet næsten helt (kun enkelte bakteriekolonier blev iagttaget), hvorimod dyrkninger fra hudområder, hvor kontrolgelen var
35 blevet påført, kun udviste en lille nedgang i bakterieantal.

EKSEMPEL 2

Eksempel 1 blev gentaget, men i stedet for stamme Newman
anvendtes Staphylococcus aureus (stamme V8). Den samme
5 type kontrolgel blev anvendt. Dyrkningskontrollen efter
den fuldstændige behandling viste en vækst af stamme V8,
der var væsentlig større end væksten af stamme Newman i
eksempel 1.

10 EKSEMPEL 3

Eksempel 2 blev gentaget, men i stedet for fibronectin
blev der anvendt fibrinogen. Bindingen af fibrinogen til
Sephacrose® 4B gel blev etableret på samme måde som for
15 fibronectin i eksempel 1. En gel af ren Sepharose® 4B
blev anvendt som kontrolgel.

Dyrkning efter fuldendelse af proceduren viser, at stamme
V8 er fjernet næsten fuldstændigt (kun enkelte kolonier
20 blev iagttaget), mens dyrkninger fra hudområder, der var
behandlet med kontrolgel, kun viste en lille nedgang i
bakterieantal.

Disse eksempler viser, at stamme Newman har en fibronec-
25 tinreceptor, hvorimod stamme V8 er bundet meget svagt til
fibronectin, men har en fibrinogenreceptor. Det er endvi-
dere indlysende, at en stamme med en fibrinogen receptor
fjernes specifikt.

30 EKSEMPEL 4-19

Eksempel 1 blev gentaget under anvendelse af Staphylococ-
cus aureus, stamme SA113 og stamme Cowan 1, og gruppe A
Streptococci, stamme H15757 og stamme 11270.

35

De anvendte proteiner var albumin, immunoglobulin G, fi-
brinogen og fibronectin, og disse stoffer blev bundet til

en gel af Sepharose® 4B på samme måde som fibronectin i eksempel 1. I alle eksemplerne blev anvendt gel af ren Sepharose® 4B som kontrolgel.

- 5 Den i eksempel 1 beskrevne procedure blev udført, og påfølgende dyrkning viste de i det følgende angivne resultater for forskellige organismer og proteiner.

Når fibronectin blev anvendt, var Staphylococcus aureus
10 (stamme SA113) dyrkningsnegativ (kun enkelte bakteriekolonier blev iagttaget), hvorimod der blev opnået positive dyrkningsresultater for denne stamme, når der blev anvendt albumin, immunoglobulin G henholdsvis fibrinogen.

15 Staphylococcus aureus (stamme Cowan 1) var dyrkningsnegativ, når immunoglobulin, fibrinogen og henholdsvis fibronectin blev anvendt, hvorimod der blev opnået positive dyrkningsresultater for denne stamme, når albumin blev anvendt.

20 Gruppe A Streptococcus (stamme H15757) var dyrkningsnegativ, når albumin henholdsvis fibronectin blev anvendt, hvorimod der blev iagttaget positive dyrkningsresultater for denne stamme, når immunoglobulin G henholdsvis fibrinogen blev anvendt.
25

Gruppe A Streptococcus (stamme 11270) var dyrkningsnegativ, når fibrinogen blev anvendt, hvorimod der blev opnået positive dyrkningsresultater for denne stamme, når der
30 blev anvendt albumin, immunoglobulin G henholdsvis fibronectin.

Kulturer fra hudområder, hvor kontrolgel var påført, gav i alle tilfælde positive dyrkningsresultater.

35

EKSEMPEL 20

Hospitalspersonale med en konstateret kolonisering af antibiotikumresistent *Staphylococcus aureus* blev delt i to
5 lige store grupper (forsøgsgruppe og kontrolgruppe). Prøver fra alle personer i de to grupper udviste gentagne positive dyrkningsresultater. Prøvegruppen blev behandlet med vatpinde, der var blevet dyppet i en fibronectinopløsning, hvilke vatpinde blev indført i næseborene og
10 holdt der i nogle timer, hvorefter de blev udskiftet med friske vatpinde, der også var dyppet i fibronectinopløsningen. Proceduren blev gentaget, så at behandlingen blev udført i alt 3 gange. Kontrolgruppen blev behandlet på samme måde, men der blev anvendt upræparerede vatpinde.

15

Prøver fra personerne i kontrolgruppen var efter fuldendt procedure dyrkningspositive, hvorimod prøver fra personerne i prøvegruppen var fuldstændig negative.

20 EKSEMPEL 21

Mus (20-30 g, CBA-stamme) blev barberet og underkastet en anden- eller tredjegradsforbrænding efter en international standard på et område på 1 x 1 cm (ethanolflamme, 2
25 minutter). *Staphylococcus aureus* (stamme Cowan 1) blev anvendt som mikroorganisme i dette eksempel. Suspensioner af 10 mikroorganismer pr. ml saltvandsopløsning (phosphatpufret) blev fremstillet, og alle mus blev penslet med 0,5 ml af suspensionen på det forbrændte område.
30 Musene blev derpå delt i en prøvegruppe og en kontrolgruppe. Musene i prøvegruppen blev behandlet med fibronectin bundet til en gel af Sepharose® 4B, hvorimod musene i kontrolgruppen blev behandlet med ren Sepharose® 4B. Behandlingen blev udført, således at gelen blev påført
35 det brændte område i et sammenhængende lag med en tykkelse på 2-3 mm. Efter fjernelse af et lag ved skrabning med en skalpel påførtes et frisk lag, og behandlingen blev

gentaget, indtil i alt 3 lag gel var påført og fjernet. Derpå blev der taget prøver fra det brændte område, hvilke prøver blev dyrket.

- 5 Prøver fra mus i prøvegruppen var dyrkningsnegative (dvs. 1-3 kolonier) efter 1 dags forløb. Prøver fra mus i kontrolgruppen var dyrkningspositive (mere end 3 kolonier op til sammenhængende vækst) endnu efter 3 dages forløb.

10 EKSEMPEL 22

Der blev anvendt samme type mus som i eksempel 21. I stedet for *S. aureus* blev der anvendt *Staphylococcus capitis*, LK 499, men ellers blev proceduren fra eksempel 21
15 gentaget.

Prøver fra mus i prøvegruppen var dyrkningspositive på dag nr. 2, hvorimod prøver fra mus i kontrolgruppen var dyrkningspositive endnu på dag nr. 4.

20

EKSEMPEL 23

Der blev anvendt samme type mus som i eksempel 21. I stedet for *S. aureus* blev der anvendt *Staphylococcus haemolyticus*, men ellers blev proceduren i eksempel 21 genta-
25 get.

Prøver fra mus i prøvegruppen såvel som kontrolgruppen var dyrkningspositive efter tredje dag.

30

EKSEMPEL 24

Den samme procedure og den samme stamme som i eksempel 21 blev anvendt og ligeledes den samme type mus, men musene
35 i prøvegruppen blev behandlet med fibrinogen bundet til en gel af Sepharose® 4B.

Prøver fra mus i prøvegruppen var dyrkningspositive på dag nr. 2, hvorimod prøver fra mus i kontrolgruppen var dyrkningspositive på dag nr. 4.

5 EKSEMPEL 25

Den samme procedure og den samme stamme som i eksempel 22 blev anvendt og ligeledes den samme type mus, men musene i prøvegruppen blev behandlet med fibrinogen bundet til
10 en gel af Sepharose® 4B.

Prøver fra mus i prøvegruppen såvel som kontrolgruppen var dyrkningspositive efter 4 dages forløb.

15 EKSEMPEL 26

Den samme procedure og den samme stamme som i eksempel 23 blev anvendt og ligeledes den samme type mus, men musene i prøvegruppen blev behandlet med fibrinogen bundet til
20 en gel af Sepharose® 4B.

Prøver fra mus i prøvegruppen såvel som kontrolgruppen var dyrkningspositive efter 4 dages forløb.

25 Eksemplerne viser, at forskellige mikroorganismer bindes til forskellige proteiner. De viste bindinger mellem mikroorganisme og protein er blevet bekræftet ved forsøg in vitro. Disse forsøg er blevet udført ved at inkubere den pågældende mikroorganisme med det pågældende protein,
30 hvor sidstnævnte er mærket med radioaktivt iod. Efter fuldstændig inkubering blev mængden af radioaktivt mærkede proteiner bundet til de pågældende mikroorganismer målt. I de tilfælde, hvor mikroorganismene er blevet fjernet ved behandlingen med et protein (dyrkningsnegative prøver), har forsøg in vitro vist, at de pågældende
35 mikroorganismer er blevet bundet til det radioaktivt mærkede protein, hvorimod i de tilfælde, hvor mikroorganis-

merne ikke er blevet fjernet (dyrkningspositive prøver) efter behandlingen med et protein, har forsøg in vitro vist, at der ikke er nogen binding mellem den tilsvarende mikroorganisme og det radioaktivt mærkede protein.

5

Proteinerne kan også bindes til fibermaterialer, der udgør en del af et absorptionsprodukt, såsom forbindinger eller tamponer, til fjernelse af mikroorganismer fra sår eller andet væv. Forbindinger, hvortil proteinerne er bundet, er egnede til behandling af sår. Tamponer, hvortil et protein er bundet, kan f.eks. anvendes i kirurgien til absorption fra kirurgiske sår eller som hygiejnetamponer, hvor de kan anvendes til fjernelse af de mikroorganismer, der er årsagen til den såkaldte tamponsygdom.

15

Det omhandlede middel kan også anvendes til fjernelse af mikroorganismer i sårhulheder, som f.eks. skyldes en åbning af bylder, såsom analbylder, i hvilke tilfælde midlet foretrukket er bundet til en forbindelse eller et kompres, der har form efter sårhulheden for at opfylde denne og inhibere lukningen af bylden. Et sådant forbindingsmateriale kan f.eks. være et fiber- eller granulatformigt absorptionsmateriale indesluttet i et hydrofobt materiale. Proteinet kan endvidere indgå i en skyllevæske til fjernelse af mikroorganismer ved lokale infektioner.

25

30

35

P a t e n t k r a v :

1. Anvendelse af protein til fremstilling af et middel
5 til fjernelse af mikroorganismer fra væv, såsom slimhin-
der, hud- og sår væv ved inhibering af mikroorganismernes
binding til vævet, hvilket middel består af mindst ét
protein fra den gruppe, som udgøres af fibrinogen, fibro-
nectin, et immunglobulin, albumin, haptoglobin, δ -2-mi-
10 kroglobulin, kollagen, laminin, entactin og chondronec-
tin, eller et peptid deraf med en molvægt på $5 \times 10^2 -$
 10^5 , og som kan bindes til mikroorganismene, og eventu-
elt en bærer, til hvilken proteinet eller peptidet er
bundet.
- 15 2. Anvendelse ifølge krav 1, hvor bæreren er et polymert
materiale, såsom agarose eller et derivat deraf, stivelse
eller et derivat deraf, cellulose eller et derivat deraf,
dextrin eller et derivat deraf, eller et alginat.
- 20 3. Anvendelse ifølge krav 1, hvor bæreren består af et
fibermateriale, der er en del af et absorptionsmateriale,
såsom en forbinding eller tampon.
- 25 4. Anvendelse ifølge krav et af kravene 1-3, hvor protei-
net eller peptidet deraf er bundet til bæreren ved hjælp
af divinylsulfon, epichlorhydrin, carbodiimid, ved hjælp
af transaminering, via cyanobromidbroer eller ved biospe-
cifik interaktion.
- 30 5. Anvendelse ifølge et af kravene 1-3, hvor proteinet
eller peptidet deraf er absorberet på bæreren.
- 35