



(19) DANMARK



(12) FREMLÆGGELSESSKRIFT (11) 148208 B

DIREKTORATET FOR
PATENT- OG VAREMÆRKEVÆSENEN

(21) Patentansøgning nr.: 1216/80

(51) Int.Cl.⁴: G 01 N 33/543

(22) Indleveringsdag: 20 mar 1980

(24) Løbedag: 07 apr 1976

(41) Alm. tilgængelig: 20 mar 1980

(44) Fremlagt: 29 apr 1985

(86) International ansøgning nr.: -

(62) Stamansøgning nr.: 1648/76

(30) Prioritet: 07 apr 1975 US 565848

(71) Ansøger: *BECTON DICKINSON AND COMPANY; Rutherford, US.

(72) Opfinder: LaVell Rolfson *Johnson; US.

(74) Fuldmægtig: Ingeniørfirmaet Lehmann & Ree

(54) **Apparat til kvantitativ bestemmelse af antigen-koncentrationen i en prøvevæske ved hjælp af en immunoadsorbent**

LN 148208 B

Opfindelsen angår et apparat til kvantitativ bestemmelse af antigenkoncentrationen i en prøvevæske med en i et kammer fastholdt masse af partikler (immunoadsorbent), til hvilke der er bundet over for bestemte antigener specifikke antistoffer, og med et kammerindløb og et kammerudløb til at føre en prøvevæske eller en skyllevæske gennem kammeret.

En radioimmunoanalyse, som f.eks. beskrevet i tysk offentliggørelsesskrift nr. 24 12 833, er en analytisk metode, som baserer sig på et antigens konkurrence om (affinitet overfor) antigenbindingssteder på antistofmolekyler. I praksis fastlægges der standardkurver ud fra data opnået på basis af en række prøver, der hver indeholder (a) samme kendte koncentration af mærket antigen og (b) forskellige, men kendte, koncentrationer af umærket antigen. Antigener mærkes med et radioaktivt isotopsporestof. Prøven bringes i et kontaktkammer i kontakt med en deri fastholdt masse af for antigenet specifikke antistoffer (immunoadsorbent) for derved at fremkalde en binding af en del af de mærkede og umærkede antigener til antistofferne. Det frie antigen skilles fra den fastholdte masse af antistoffer og den dertil bundne antigen og derpå bestemmes ved hjælp af en passende detektor, såsom en gamma- eller beta-strålingsdetektor, det procentvise indhold af enten bundet eller frit mærket antigen eller begge. Denne fremgangsmåde gentages for en række prøver indeholdende forskellige kendte koncentrationer af umærkede antigener, og resultaterne indtegnes i et diagram.

Normalt aftager den relative mængde af sporestofantigenet, som er bundet til antistoffet, med stigende total antigenkoncentration. Efter at der er fremstillet en standardkurve, anvendes denne til bestemmelse af koncentrationen af antigen i prøver, som underkastes analyse.

Ved den faktiske analyse blandes prøven, hvis koncentration af antigen skal bestemmes, med en kendt mængde sporestofantigen. Sporestofantigenet er det samme antigen, som vides at være til stede i prøven, men som er blevet mærket med en passende radioaktiv isotop. Prøven med sporestoffet inkuberes derpå i kontakt med antistoffet. Dernæst kan der efter adskillelse af det frie fra det bundne antigen foretages en tælling af det i prøven tilbageværende frie antigen eller af det til immunoadsorbenten bundne antigen ved hjælp af en passende detektor. Derpå bestemmes ud fra standardkurven koncentrationen af antigenet i den oprindelige prøve.

Immunoadsorbenten regenereres derpå ved at ophæve bindingen af antigenet til antistofferne for at kunne genanvendes til en kvantitativ analyse, idet den gennemskylles med et opløsningsmiddel.

5 Brugen af en genanvendelig immunoadsorbent forudsætter, at immunoadsorbenten har langtidsegenskaber, der sikrer, at immunoadsorbentens virkning kan reproduceres. Det er derfor nødvendigt, at immunoadsorbenten ved hvert forsøg frigiver antigenet støkiometrisk. Desuden må det sikres, at immunoadsorbenten ikke
10 udtørres og lader sig pakke på en sådan måde, at strømningsforholdene gennem massen opfylder de stillede krav i immunoadsorbentens fulde levetid.

Formålet med opfindelsen er at tilvejebringe et gennemstrømningskammer til en sådan genanvendelig immunoadsorbent,
15 hvilket kammer virker understøttende, for såvidt angår opretholdelsen af de krævede egenskaber hos immunoadsorbenten.

Dette formål opnås ifølge opfindelsen med det i krav 1 definerede apparat.

20 Videreudviklinger af opfindelsen er defineret i underkravene.

Apparatet ifølge opfindelsen finder hensigtsmæssigt anvendelse i et automatisk arbejdende apparat til radioimmunoanalyse af den type, som er beskrevet i ovennævnte tyske offentliggørelses-
25 skrift nr. 24 12 833. En genanvendelig immunoadsorbent, som med fordel kan anvendes i forbindelse med det omhandlede apparat, er beskrevet i dansk patentansøgning nr. 1648/76.

Opfindelsen skal herefter beskrives nærmere under henvisning til tegningen, der viser et aksialsnitbillede gennem et apparat ifølge opfindelsen.

30 Som vist på tegningen omfatter apparatet 25 et hus 27, som for at lette fremstillingen har cylindrisk form. I huset 27 er der et kammer 30, som indeholder den immobiliserede immunoadsorbent 32, der er vist som et partikelformet materiale. Immunoadsorbenten fastholdes i kammeret ved hjælp af en porøs prop 34, hvis porer er
35 mindre end størrelsen af partiklerne, som udgør immunoadsorbenten. Der er tilvejebragt et udløb 36 til fjernelse af materiale, som bringes til at strømme gennem kammeret fra et indløb 38. Proppen 34 sidder fast i understøtningslegemet, som kan bestå af polypropylen eller et andet formstof. Eksempelvis kan kammeret have en diameter på 3,175

mm, en længde på 6,35 mm, medens proppen har dimensionerne 3,175 x 3,175 mm og en porestørrelse på 10 µm.

5 Anbragt i indløbsbanen befinder der sig filterelementer 41 og 43 i form af 400 maskers nylonnet, som ligger an mod en filter-skive 43, som fortrinsvis er af polytetrafluorethylen, og som har form som et filt med en porestørrelse på højst 10 µm.

10 Som vist ender kammeret 30 ved hver ende i udvidede endesektioner 46 og 47 i form af tapforsænkninger, der hver indeholder en prop 48 henholdsvis 49. Hver prop omfatter en indre tapforsækning 51 henholdsvis 53 og en gennemgående kanal som vist på tegningen. Ved de ender af propperne, som grænser op til kammeret 30, har propperne en konisk åbning 56 henholdsvis 57 og en ringformet skulder, som optager et o-rings tætningsselement, idet sidstnævnte danner en tætning i de respektive tap-borede ender af
15 huset 27.

Proppen 49 tjener til at presse filtrene 41 og 43 på plads, hvorhos nettet 41 tjener til at forhindre filten i at trænge ind i den koniske åbning 57.

20 En tilslutning af apparatet sker gennem endepropperne 48, 49 og endeudboringerne 51,53. Apparatet udgør et enhedsbyggeelement med en for det pågældende forsøg specifik immunoabsorbent. Når det ikke anvendes, kan det opbevares ved 4°C.

25 Den koniske åbning tjener det formål at sprede strømmen over laget af partikelformet immunoabsorbent i kammeret 30. Den koniske åbning 56 virker som en kollektor for materialet, som forlader kammeret, hvorhos proppen 48 holder den porøse prop 34 i kammeret.

P a t e n t k r a v

1. Apparat til kvantitativ bestemmelse af antigenkoncentrationen i en prøvewæske med en i et kammer fastholdt masse af partikler (immunoabsorbent), til hvilke der er bundet over for bestemte
5 antigener specifikke antistoffer, og med et kammerindløb og et kammerudløb til at føre en prøvewæske eller en skyllevæske gennem kammeret, k e n d e t e g n e t ved, at kammeret (30) er anbragt i et cylindrisk hus (27) mellem to propper (48,49), som sidder i huller (46,47) i huset, hvilke huller er udvidede i forhold til kammeret og har en indløbsudboring henholdsvis en udløbsudboring, der
10 hver ved den mod kammeret vendende ende har en konisk udvidende åbning (56,57), og at der til fastholdelse af immunoabsorbenten (32) er anbragt en porøse prop (34) i kammeret.

2. Apparat ifølge krav 1, k e n d e t e g n e t ved, at
15 porerne i den porøse prop (34) er mindre end diameteren af partiklerne.

3. Apparat ifølge krav 2, k e n d e t e g n e t ved, at porerne i den porøse prop (34) højst er 10 micron brede.

4. Apparat ifølge et hvilket som helst af kravene 1-3,
20 k e n d e t e g n e t ved, at der er anbragt et filter (41,43) mellem indløbsudboringen og immunoabsorbenten (32).

Fremdragne publikationer:

DE offentliggørelsesskrift nr. 2412833.

