



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 697 32 106 T2** 2005.12.22

(12) **Übersetzung der europäischen Patentschrift**

(97) **EP 0 907 718 B1**

(21) Deutsches Aktenzeichen: **697 32 106.1**

(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/US97/10443**

(96) Europäisches Aktenzeichen: **97 930 055.5**

(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 97/047730**

(86) PCT-Anmeldetag: **13.06.1997**

(87) Veröffentlichungstag
der PCT-Anmeldung: **18.12.1997**

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **14.04.1999**

(97) Veröffentlichungstag
der Patenterteilung beim EPA: **29.12.2004**

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **22.12.2005**

(51) Int Cl.⁷: **C12M 3/00**
A61M 5/30

(30) Unionspriorität:
665116 14.06.1996 US

(73) Patentinhaber:
Powderject Vaccines, Inc., Madison, Wis., US

(74) Vertreter:
**Rechts- und Patentanwälte Lorenz Seidler Gossel,
80538 München**

(84) Benannte Vertragsstaaten:
DE, ES, FR, GB, IT, SE

(72) Erfinder:
**HEINZEN, J., Richard, North Freedom, US;
McCABE, E., Dennis, Middleton, US**

(54) Bezeichnung: **MODUL ZUR ZUFÜHRUNG VON PROBENMATERIAL FÜR TEILCHENBESCHLEUNIGUNGSVOR-
RICHTUNG**

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

Beschreibung

[0001] Die vorliegende Erfindung betrifft das Gebiet der Zufuhr biologischen Materials in Zellen, insbesondere die Zufuhr biologischen Materials in Zellen mit Hilfe von Zufuhrverfahren mittels Partikeln.

[0002] Die Zufuhr biologischen Materials, insbesondere genetischen Materials, mittels Partikeln in lebende Zellen und lebendes Gewebe hat sich zu einem wichtigen Instrument der pflanzlichen und tierischen Biotechnologie entwickelt. Die vorübergehende und langfristige Expression von eingebrachtem genetischen Material aus Zielzellen sowie die erfolgreiche Integration von eingebrachter DNA in Keimzellen wurden bei einer Vielzahl von Mikroorganismen, Pflanzen und Tieren nachgewiesen.

[0003] Eine Beschränkung bestehender Zufuhrvorrichtung mittels Partikeln ist die Form, in welcher die biologische Probe bereitgestellt werden muss. Bei solchen bekannten Vorrichtungen wird die biologische Probe auf die Oberfläche kleiner, dichter Trägerpartikel aufgebracht, welche aus einem dichten Material wie Gold oder Platin bestehen. Die beschichteten Partikel werden wiederum auf einer Trägerfläche angeordnet, zum Beispiel einer steifen Fläche oder Metallplatte, oder auf einer flachen Trägerfolie aus fragilem Material wie Mylar. Die Trägerfläche wird dann auf ein Ziel zu beschleunigt und die beschichteten Trägerpartikel werden von deren Oberfläche für die Zufuhr zu einem Ziel gelöst. Dieses Vorgehen hat mehrere Vorteile wie auch einige Nachteile. Ein durch die Verwendung einer Trägerfläche, z. B. einer flachen Folie, gebotener Vorteil besteht darin, dass eine sehr gleichmäßige Verteilung beschleunigter Partikel in eine Zielfläche befördert werden kann. Ein Nachteil besteht darin, dass jede Trägerfläche einzeln erzeugt werden muss und nur einmal verwendet werden darf, was die Verwendung solcher Vorrichtungen zeitaufwändig und ineffizient macht. Dies ist vor allem problematisch, wenn eine wiederholte Zufuhr vorgenommen werden muss. Jede beschichtete Trägerfläche ist zudem relativ groß und muss mit Sorgfalt gehandhabt werden, um eine Beschädigung oder Verunreinigung während des Ladens einer Partikelbeschleunigungsvorrichtung zu vermeiden. Es ist unter Umständen auch schwierig, die beschichtete Seite einer Trägerfläche von der nicht beschichteten Seite zu unterscheiden, was die Möglichkeit einer falschen Positionierung der Trägerfläche in einer Beschleunigungsvorrichtung erhöht. Diese falsche Positionierung kann den Durchsatz senken und zu einer beträchtlichen Vergeudung von biologischen Proben führen.

[0004] Die Verteilung bzw. Streuung der von einer Partikelbeschleunigungsvorrichtung zugeführten Trägerpartikel kann bei manchen Anwendungen ausschlaggebend sein, insbesondere wenn das zuge-

führte biologische Material aus genetischem Material besteht. Bei Anwendungen, bei denen Keimbahn-Transformationsvorgänge erwünscht sind, ist die Notwendigkeit der Steuerung des Zufuhrmusters von Trägerpartikeln wesentlich akuter als in anderen Anwendungen, bei denen zum Beispiel nur eine vorübergehende Expression von eingebrachtem genetischen Material erforderlich ist. Wenn ein nur gelegentlicher Keimbahn-Transformationsvorgang erwünscht ist, ist es erforderlich, die Trägerpartikel gleichmäßig hin zu einer großen Zielfläche zu beschleunigen, um die Wahrscheinlichkeit zu erhöhen, dass eine oder mehrere Zielzellen transformiert werden. Somit besteht ein Vorgehen bei einer solchen Transformation darin, die beschichteten Trägerpartikel als Monolayer auf einer relativ großen Trägerfläche zu verteilen. Dies trägt dazu bei, die Anzahl an Zellen zu maximieren, welche unter exakt gleichmäßigen Bedingungen Partikel aufnehmen. Bei Anwendungen, bei denen beschichtete Partikel in die Zellen beschleunigt werden, um eine vorübergehende Genexpression in somatischem Gewebe wie Haut zu induzieren, ist die Notwendigkeit weniger zwingend, eine gleichmäßige Partikelverteilung zu bieten, da eine ausreichende Expression verwirklicht werden kann, selbst wenn eine relativ kleine Anzahl an Zellen die Partikel aufnehmen.

[0005] In Partikelbeschleunigungsanwendungen, bei denen beschichtete Partikel verwendet werden, um Nucleinsäureimpfstoffpräparate zuzuführen, wird ein eine antigene Determinante kodierendes genetisches Material in ein Zielgewebe befördert. In den Zellen, die erfolgreich mit dem genetischen Material transfiziert wurden, folgt eine vorübergehende Expression eines Proteins oder Peptids, welches durch das genetische Material kodiert wurde, was eine Immunreaktion gegen das Protein oder Peptid hervorruft. Diese und andere therapeutische oder medizinische Anwendungen von Partikelbeschleunigungstechnologien werfen praktische Fragen auf, wie zum Beispiel die Notwendigkeit, die Sauberkeit und eventuell die Sterilität einer zur Zufuhr der Partikel zu einem Empfänger verwendeten Vorrichtung zu wahren. Diese Punkte gewinnen eine besondere Bedeutung, wenn die Vorrichtung bei Massenimpfprojekten verwendet werden soll. Aus diesen und weiteren Gründen besteht auf dem Gebiet ein besonderer Bedarf an einer Partikelbeschleunigungsvorrichtung, die ohne Verunreinigen von Proben oder Zielen verwendet werden kann, sowie an einer Vorrichtung, die eine unerwünschte Zufuhr von in der Partikelzufuhrstrecke eingeschlossenen Partikeln vermeidet.

[0006] WO 95/19799 und WO 96/04947 offenbaren ein Genzufuhrinstrument mit einer Patronenkammer, einer Austrittdüse und einem Partikelbeschleunigungsdurchlass. Diese Bauteile sind an einer Antriebskraftquelle angebracht.

[0007] Die vorliegende Erfindung gibt ein Probenzufuhrmodul zur Verwendung mit einer Partikelbeschleunigungsvorrichtung an die Hand. Das Modul kann zur Zufuhr einer biologischen Probe, beispielsweise Nucleinsäure wie DNA- oder RNA-Moleküle, Peptide oder Proteine, zu einer Zielzelle verwendet werden.

[0008] Demgemäß ist in einer Ausführung der Gegenstand der Erfindung auf ein Probenzufuhrmodul für den Einmalgebrauch nach Anspruch 1 gerichtet.

[0009] In verwandten Ausgestaltungen der vorliegenden Erfindung ist das Probenzufuhrmodul so aufgebaut, dass die Austrittdüse eine kegelförmige Geometrie aufweist, und in einer bevorzugten Ausführung weist das stromabwärts gelegene Endstück der Austrittdüse einen größeren Durchmesser als dessen stromaufwärts gelegenes Endstück auf und der Abstand zwischen dem stromaufwärts und dem stromabwärts gelegenen Endstück der Austrittdüse ist größer als durch Durchmesser des stromabwärts gelegenen Endstücks.

[0010] Ein Vorteil der vorliegenden Erfindung liegt darin, dass das Probenzufuhrmodul unabhängig von einem zugehörigen Antriebskraft erzeugenden Teil einer Beschleunigungsvorrichtung ist und dass das Modell für einen einmaligen Partikelzufuhrvorgang ausgelegt ist, wobei das Modul ein Einwegmodul ist.

[0011] Die Verwendung eines Einweg-Probenmoduls vermeidet die Möglichkeit einer Probenkreuzkontamination zwischen aufeinander folgenden Zufuhren aus einer Beschleunigungsvorrichtung.

[0012] Ein Vorteil der vorliegenden Erfindung ist auch, dass das Probenzufuhrmodul ein Befestigungsmittel umfassen kann, das eine formschlüssige, druckdichte Verbindung zwischen dem Modul und einer zugehörigen Antriebskraftquelle vorsieht, und dass Proben vor Gebrauch erzeugt und somit mühelos aufbewahrt und gehandhabt werden können.

[0013] In einer weiteren Ausführung ist die Erfindung auf eine Partikelbeschleunigungsvorrichtung gerichtet, welche umfasst: (a) einen Instrumentenkörper mit einer sich durch diesen erstreckenden Leitung, wobei die Leitung ein für das Ankuppeln an einer Druckgasquelle ausgelegtes erstes Endstück und ein für das Ankuppeln an einem Probenzufuhrmodul ausgelegtes zweites Endstück aufweist, wobei der Instrumentenkörper weiterhin Betätigungsmittel für das Freigeben eines Gasstroms durch die Leitung umfasst; und (b) ein wie oben beschriebenes Probenzufuhrmodul, wobei die Druckgasquelle die Antriebskraftquelle ist und das stromaufwärts gelegene Endstück der Patronenkammer mit dem zweiten Endstück der Leitung des Instrumentenkörpers verbunden ist.

[0014] In verwandten Ausgestaltungen der vorliegenden Erfindung umfasst die Partikelbeschleunigungsvorrichtung ein Betätigungsmittel, welches aus einem Ventil oder einer zerreißbaren Membran besteht und in dem Instrumentenkörper zwischen dem ersten und zweiten Endstück der Leitung angeordnet ist, um das Strömen von Gas durch diese zu steuern.

[0015] Weitere Aufgaben, Merkmale und Vorteile der vorliegenden Erfindung gehen aus der folgenden Beschreibung unter Zusammenschau mit den Belegezeichnungen hervor. Hierbei zeigen:

[0016] [Fig. 1](#) eine schematische Darstellung einer erfindungsgemäßen Partikelbeschleunigungsvorrichtung.

[0017] [Fig. 2](#) eine schematische Abbildung, welche die Wirkungen bei Ändern des Winkels der Austrittdüse zeigt.

[0018] [Fig. 3](#) eine Seitenansicht einer Partikelbeschleunigungsvorrichtung, welche den verbesserten erfindungsgemäßen Zufuhrteil umfasst.

[0019] [Fig. 4](#) eine Seitenansicht einer Ausführung des verbesserten erfindungsgemäßen Zufuhrteils.

[0020] [Fig. 5](#) eine seitliche Schnittansicht entlang Linie 5-5 von [Fig. 4](#).

[0021] [Fig. 6](#) und [Fig. 7](#) Endansichten der Ausführung von [Fig. 4](#).

[0022] [Fig. 8](#) eine seitliche, frei geschnittene Ansicht einer rohrförmigen Probenpatrone zur Verwendung in der als Beispiel herangezogenen Ausführung.

[0023] Vor einer eingehenden Beschreibung der vorliegenden Erfindung muss darauf hingewiesen werden, dass diese Erfindung nicht auf die jeweiligen Partikelzufuhrvorrichtungen oder auf die jeweiligen Trägerpartikel beschränkt ist, da diese natürlich unterschiedlich sein können. Es versteht sich auch, dass verschiedene Ausführungen der offenbarten Probenzufuhrmodule und der zugehörigen Vorrichtungen auf die spezifischen Bedürfnisse des Gebiets zugeschnitten werden können. Ferner versteht sich, dass die hier verwendete Terminologie lediglich dem Zweck der Beschreibung bestimmter Ausführungen der Erfindung dient und nicht einschränkend gedacht ist.

[0024] Zu beachten ist, dass der bestimmte und unbestimmte Artikel im Singular auch den Plural einschließt, es sei denn der Inhalt schreibt ausdrücklich etwas Gegenteiliges vor. Somit umfasst der Hinweis auf „einen beschichteten Partikel“ einen Hinweis auf Gemische aus zwei oder mehr Partikeln und derglei-

chen.

[0025] Die vorliegende Erfindung gibt ein Probenzufuhrmodul zur Verwendung in einer Partikelbeschleunigungsvorrichtung an die Hand. Das Probenzufuhrmodul ermöglicht eine reproduzierbare, aufeinander folgende Zufuhr von Partikeln, welche mit einem biologischen Material, beispielsweise genetischem Material, beschichtet sind, in eine Empfängerzelle oder ein Zielgewebe. Das Modul ist unabhängig und ist mit einem Teil eines Partikelbeschleunigungsinstruments verbindbar, das eine ausreichende Antriebskraft für das Zuführen der beschichteten Partikel hin zu und in ein Ziel erzeugt. In bestimmten Ausführungen ist das Probenzufuhrmodul so konfiguriert, dass es ein schnelles An- und Abkuppeln desselben an einer zugehörigen Antriebskraftquelle zulässt. Weiterhin ist das Zufuhrmodul eine entsorgbare Vorrichtung für den Einmalgebrauch.

[0026] In bevorzugten erfindungsgemäßen Ausführungen ist das Probenzufuhrmodul aus einem kostengünstigen Polymermaterial gebildet oder geformt, beispielsweise einem thermoplastischen Harz, was es wirtschaftlich praktikabel macht, das Probenzufuhrmodul nach einmaligem Gebrauch wegzuworfen. Alternativ kann das Probenzufuhrmodul aus einem elastischeren und wieder verwendbaren Material bestehen, beispielsweise aus Materialien, die Reinigungsvorgängen standhalten können, die für das Entfernen und/oder Vernichten von verbleibenden biologischen Materialien ausreichen. Das Probenzufuhrmodul kann zum Beispiel aus einem Material bestehen, das herkömmlichen Sterilisierungsprozessen standhalten kann. Geeignete Materialien umfassen Polycarbonate oder Polypropylene, die bei der Herstellung von Vorrichtungen oder Instrumenten medizinischer Qualität häufig verwendet werden.

[0027] Bei Verwendung in einem klinischen Umfeld ist vorgesehen, dass das Probenzufuhrmodul in einem abgedichteten, sterilen Behälter vorgesehen werden kann, wie er häufig zur Aufbewahrung von medizinischen Vorrichtungsteilen für den Einmalgebrauch, wie Einwegspritzen, verwendet wird.

[0028] [Fig. 1](#) zeigt eine schematische Darstellung, welche das allgemeine Verfahren für den Betrieb eines Partikelbeschleunigungsinstruments unter Einbeziehung der vorliegenden Erfindung veranschaulichen soll. Die in [Fig. 1](#) gezeigten Bauteile der Vorrichtung werden an einigen Stellen der Klarheit halber in leicht auseinander gezogener Ansicht gezeigt. Diese bestimmte Darstellung soll das grundlegende Funktionsprinzip einer Partikelbeschleunigungsvorrichtung veranschaulichen, nicht Konstruktionseinzelheiten zeigen.

[0029] Unter Bezug nun auf die in [Fig. 1](#) dargestellte Vorrichtung ist eine Trägerpartikelpatrone **14** in

dem Instrument angeordnet. Die Partikelpatrone **14** ist eine längliche konkave oder rohrförmige Konstruktion, welche einen durch ihre Mitte verlaufenden konkaven hohlen Durchlass aufweist. Es sind mehrere Trägerpartikel **16** am Inneren der Patrone angeordnet. Die Trägerpartikel, welche nachstehend eingehender beschrieben werden, sind kleine, dichte Partikel, die zuvor mit einem biologischen Material, z. B. DNA oder RNA, beschichtet wurden, das in eine Zielzelle oder ein Zielgewebe befördert werden soll. Die Trägerpartikel können alternativ mit anderen Arten von biologischen Materialien wie Peptiden, Cytokinen, Hormonen oder Proteinen beschichtet werden. Ein Betätigungsmittel **18**, zum Beispiel ein Gasventil oder eine zerreißbare Membran, ist stromaufwärts der Trägerpartikelpatrone angeordnet und steht über eine geeignete Leitung **17** in Fluidverbindung mit dem Inneren der Trägerpartikelpatrone **14**. Das Betätigungsmittel steht über einen geeigneten Schlauch, welcher im Allgemeinen bei **13** gezeigt ist, mit einer Quelle für Druckgas **12** in Verbindung. Die Quelle für Druckgas **12** kann ein herkömmlicher handelsüblicher Druckgasbehälter sein, vorzugsweise mit einem reaktionsträgen Druckgas wie Helium. Ein Druckgasspeicher ist im Allgemeinen zwischen der Gasquelle **12** und dem Betätigungsmittel **18** wünschenswert; jedoch kann der Schlauch **13** als solcher Speicher fungieren.

[0030] Neben der Trägerpartikelpatrone befindet sich eine Mündung **20**, welche eine Fluidverbindung zum Inneren einer Beschleunigungskammer **22** erzeugt, welche wiederum mit einer kegelförmigen Austrittsdüse **24** in Verbindung steht. Das Ziel, z. B. ein Patient, ein Gewebe oder eine Zelle, wird in der Figur mit **19** bezeichnet.

[0031] Bei allgemeinem Betrieb der Vorrichtung von [Fig. 1](#) wird das Betätigungsmittel **18** für die Abgabe eines Druckgasstoßes verwendet, welches in dem durch den Schlauch **13** gebildeten Speicher gehalten wird. Ein zwischen dem Betätigungsmittel **18** und der Austrittsdüse **24** angeordneter Partikelbeschleunigungsdurchlass bildet eine Strecke, durch welche das abgegebene Gas einen sich bei beträchtlicher Geschwindigkeit fortbewegenden Gasstrom erzeugt. Der Gasstrom beschleunigt durch den Partikelbeschleunigungsdurchlass und löst bei Durchtreten durch das Innere der Partikelpatrone **14** die Trägerpartikel **16** ab. Der beschleunigende Gasstrom, welcher die abgelösten Partikel enthält, tritt durch die Kammer **22** und in die Austrittsdüse **24**. Auf diese Weise werden die Trägerpartikel von dem Instrument und in das Ziel **19** befördert, wo sich die Trägerpartikel in den Zellen des Ziels oder Patienten festsetzen, diese aber nicht vernichten.

[0032] Ein besonders wichtiges Merkmal der Vorrichtung von [Fig. 1](#) ist die Geometrie der Austrittsdüse **24**. Unter Bezug nun auf [Fig. 2](#) werden drei verschie-

dene mögliche Geometrien der Austrittsdüse **24** schematisch als Versionen A, B und C gezeigt. Ferner wird die Wirkung dieser verschiedenen Austrittsdüsengeometrien auf das Zufuhrmuster der Trägerpartikel **16** dargestellt. In Version A weitet sich die Austrittsdüse **24** hin zu ihrem stromabwärts liegenden Ende nicht wesentlich. Dadurch tritt der austretende Gasstrom im Wesentlichen linear von der Austrittsdüse **24** aus und begibt sich direkt hin zum Ziel. Dadurch bewegen sich die Trägerpartikel weiterhin auf einer relativ geraden Strecke und liefern ein zielgerichtetes Zufuhrmuster, das auf einen relativ schmalen Bereich **25** des Ziels auftrifft. Die Partikel **16** weichen zwar etwas von ihrem linearen Flug ab, doch ist das Abweichen recht gering und unerheblich.

[0033] Analog weist die Austrittsdüse **24** in Version B von [Fig. 2](#) einen außergewöhnlich breiten Winkel einer konischen Verjüngung hin zu ihrem stromabwärts gelegenen Endstück auf. Bei dieser Konfiguration tritt der Gasstrom recht geradlinig aus dem Instrument aus und die Trägerpartikel **16** streuen nicht breit. Die Partikel treffen wiederum auf einem relativ kleinen Teil **25** des Ziels auf.

[0034] Ein wesentlich anderes Zufuhrmuster wird aber erhalten, wenn der Verjüngungswinkel der kegelförmigen Austrittsdüse unter einem kritischen Winkel liegt. Dieses Phänomen wird als Version C in [Fig. 2](#) gezeigt. Wenn der beschleunigte Gasstrom in die Austrittsdüse gelangt, erzeugt er insbesondere durch eine Wirbelwirkung ein Vakuum zwischen der Durchtrittsstrecke des Gasstroms und den Seiten der Austrittsdüse **24**. Dieses Vakuum bewirkt, dass der Gasstrom in alle Richtungen senkrecht zur Fortbewegungsrichtung des Gasstroms nach außen gezogen wird. Auf diese Weise werden der Gasstrom und die in dem Gasstrom mitgeführten Partikel in einer Richtung seitlich der Hauptachse der Austrittsdüse (d. h. der Fortbewegungsrichtung der Partikel) gestreut. Dadurch wird, wie in Version C von [Fig. 2](#) ersichtlich ist, der aus dem Instrument austretende Gasstrom seitlich über einer breiteren Fläche gestreut, wodurch die Trägerpartikel **16** über einer breiteren Fläche verteilt werden und ein verbessertes Zufuhrprofil über einer viel größeren Fläche **25** des Ziels erzeugt wird, als dies der Fall wäre, wenn die kegelförmige Austrittsdüse nicht so geformt wäre. Dies vermeidet ein Überdosieren einer kleinen Fläche des Ziels mit Trägerpartikeln und sieht eine relativ breite und gleichmäßige Verteilung der Trägerpartikel ohne Notwendigkeit einer mechanischen Verteilung der Partikel oder komplizierter Gasumleitungs- oder Gasverteilungsgeräte vor.

[0035] Der exakte Verjüngungswinkel der kegelförmigen Austrittsdüse **24** ist – abhängig vom verwendeten Gasdruck und der Größe der Beschleunigungskammer **22** – von Ausführung zu Ausführung unterschiedlich. Bei einem Instrument, welches einen han-

delsüblichen Heliumbehälter als Antriebskraftquelle verwendet, wobei die Beschleunigungskammer **22** einen Durchmesser von etwa 1,6 mm (1/16 Zoll) hat, liefert eine Austrittsdüse, welche über eine Spanne von 84 mm (3,3 Zoll) von 1,6 mm (1/16 Zoll) auf 17 mm (2/3 Zoll) zuläuft, ein zufrieden stellendes Partikelverteilungsmuster, das eine Zielfläche mit einem Durchmesser von etwa 1,6 mm (1/16 Zoll) bis etwa 17 mm (2/3 Zoll) abdeckt. Dies stellt eine 100fache Zunahme des Partikelverteilungsmusters dar, mit einer gleichzeitigen 100fachen Abnahme der Partikelverteilungsdichte.

[0036] Somit muss in bevorzugten Ausführungen die konische Austrittsdüse **24** entlang ihrer Hauptachse wesentlich länger sein (z. B. 84 mm (3,3 Zoll)), als sie an ihrem stromaufwärts oder stromabwärts befindlichen Endstück breit ist (z. B. 1,6 mm bis 17 mm (1/16 Zoll bis 2/3 Zoll)). Eine Düse mit einer konischen Verjüngung, die einen Durchmesser aufweist, der größer ist als ihre Länge, liefert für die Zwecke der Erfindung keine geeignete Streuung von Trägerpartikel. Es ist aber nicht erforderlich, dass die kegelförmige Austrittsdüse eine kontinuierlich kegelförmige Innengeometrie aufweist. Die Austrittsdüse kann zum Beispiel mehrere kleine gestufte Durchmesserzunahmen an Stelle einer kontinuierlichen Durchmesserzunahme aufweisen, ohne dass ihre Gesamtfunktion nachteilig beeinflusst wird.

[0037] Durch Abändern des Drucks des Gases kann die Kraft, mit der die Partikel auf das Ziel **19** auftreffen, geändert werden. Bei der praktischen Umsetzung der Erfindung muss der von der Antriebskraftquelle gelieferte Gasdruck ausreichen, um die beschichteten Partikel **16** von der Patrone **14** zu lösen, darf aber nicht so groß sein, dass das Ziel **19** beschädigt wird. Bei Befördern von beschichteten Partikeln in die unversehrte Haut eines Tiers hat sich gezeigt, dass ein abgelassener Gasstrom die Zielhautfläche nicht schädigt. Bei manchen höheren Gasdrücken tritt eine gewisse geringfügige Rötung der Haut bei sehr tolerierbaren Werten ein. Ein regulierter Gasdruck, wie er z. B. bei im Handel erhältlichen Behältern mit verdichtetem Helium verfügbar ist, hat sich für das Ablösen der Trägerpartikel **16** und das Zuführen derselben in die Hautzellen eines Zieltiers ohne nachteilige Schädigung der Zielhaut oder Zielzellen als zufrieden stellend erwiesen. Niedrigere Drücke oder höhere Drücke können – abhängig von der Dichte der Trägerpartikel, der Beschaffenheit der Zielfläche und der erwünschten Tiefe des Eindringens der Partikel – bei bestimmten Anwendungen geeignet sein. Die mit der Zufuhr von Trägerpartikeln in Schweinehaut verbundenen Zufuhrparameter sind aufgrund der mechanischen Ähnlichkeit zwischen menschlicher Haut und Schweinehaut analog zu den bei der menschlichen Haut erwarteten Parametern.

[0038] Die Partikelpatrone **14** kann aus einer konk-

ven Konstruktion gebildet werden, vorzugsweise einer rohrförmigen Konstruktion, und weist an ihrer Innenfläche aufgebrachte Partikel auf. Diese Partikelpatronen können mühelos gehandhabt werden, ohne die Trägerpartikel zu berühren, wodurch die Unversehrtheit und eventuell die Sterilität der Probe gewahrt wird. Im Rahmen der Erfindung sind zwar viele Formen und Geometrien der Partikelpatrone **14** möglich, doch kann eine einfache und funktionsfähige Version mit Hilfe eines kurzen Schlauchsegments bestehend aus einem im Wesentlichen reaktionsträgen Polymermaterial wie Poly(ethylentetra-Fluorethylen), welches unter der Handelsbezeichnung Tefzel® erhältlich ist, erzeugt werden. Der Schlauch bildet einen Zylinder mit einem Durchlass durch seine Mitte. Ein Vorteil einer solchen rohrförmigen Konstruktion liegt darin, dass die mit einem biologischen Material beschichteten Trägerpartikel an der Innenfläche des Schlauchs aufgebracht werden und dadurch nicht die Wände der Zufuhrvorrichtung berühren und eventuell kontaminieren. Ein Vorteil bei Verwendung eines Materials wie Tefzel® liegt darin, dass es transparent ist, was das visuelle Identifizieren der geladenen Patronen zulässt. Dieses Identifizieren erfolgt anhand des Aussehens der Patrone, welche zum Beispiel erkennbar goldstichig ist oder einen sichtbaren Goldstreifen hat, wenn Goldträgerpartikel verwendet werden. Der Innendurchmesser der Patrone muss nur so groß sein, dass darin Patronen gelagert werden können und ein ausreichender Gasstrom durch diese bei einem für das Ablösen der Partikel ausreichenden Druck zugelassen wird. Die Patrone **14** muss aber nicht rohrförmig sein und kann in jeder geeigneten konkaven Form konfiguriert sein, in welcher das mit Druck beaufschlagte Gas eingeschlossen werden kann. Solche alternativen Geometrien gewährleisten, dass die abgelösten Partikel **16** nicht gestreut werden und somit durch den Gasstrom hin zum Ziel geführt werden. Die Patrone **14** kann beispielhaft aus einem Halbrohr bestehen, in welchem Trägerpartikel **16** abgeschieden sind. Das Halbrohr kann dann durch eine ebene oder nicht ebene Fläche der Vorrichtung dicht abgedeckt werden, um eine halbzyklindrische Bahn zu bilden, durch welche das Gas strömen kann. Diesbezüglich sind die jeweiligen Geometrien der Probenpatrone und der umgebenden Kammer, welche durch eine Fläche der Vorrichtung gebildet wird, nicht ausschlaggebend, solange die Geometrien zusammen den Gasstrom von der Patrone **14** zu dem Ziel **19** führen.

[0039] Geeignete Trägerpartikel **16** zur Verwendung in der Probenpatrone **14** können aus jedem biologisch reaktionsträgen Material hoher Dichte bestehen. Dichte Materialien sind bevorzugt, um Partikel zu erzeugen, die über eine kurze Strecke mühelos auf ein Ziel zu beschleunigt werden können, wobei die Partikel verglichen mit den Zellen, in die sie befördert werden sollen, immer noch von der Größe her klein genug sind. Es wurde festgestellt, dass Träger-

partikel mit einem durchschnittlichen Durchmesser von ein paar Mikron mühelos in lebende Zellen eindringen können, ohne diese Zellen übergebühlich zu verletzen.

[0040] Für die Zwecke der Erfindung können Wolfram-, Gold-, Platin- und Iridium-Trägerpartikel verwendet werden. Wolfram- und Goldpartikel sind bevorzugt. Wolframpartikel sind in durchschnittlichen Größen von 0,5 bis 2,0 µm Durchmesser gut erhältlich und sind dadurch für die intrazelluläre Zufuhr geeignet. Wenngleich diese Partikel eine optimale Dichte zur Verwendung bei Partikelbeschleunigungsverfahren aufweisen und eine höchst effiziente Beschichtung mit Nucleinsäuren zulassen, kann Wolfram für bestimmte Zelltypen möglicherweise toxisch sein. Daher ist Gold ein bevorzugtes Material für die Trägerpartikel **16**, da Gold eine hohe Dichte aufweist, gegenüber biologischen Materialien relativ reaktionsträge ist und oxidationsresistent ist und in Form von Kugeln mit einem durchschnittlichen Durchmesser von etwa 0,2 bis 3 µm problemlos verfügbar ist. Kugelförmige Goldpartikel oder Goldperlen in einem Größenbereich von 1–3 Mikron werden bei Partikelbeschleunigungstechnologien erfolgreich eingesetzt, ebenso wie Gold in Form eines mikrokristallinen Pulvers mit einem gemessenen Größenbereich von etwa 0,2 bis 3 µm.

[0041] Es kann eine große Anzahl an Probenpatronen **14**, wie z. B. die rohrförmige Konstruktion von [Fig. 8](#), welche anhaftende Trägerpartikel **16** aufweisen, in einem einzelnen Vorgang erzeugt werden. Diesbezüglich werden zwei verschiedene Anwendungsverfahren erfolgreich eingesetzt.

[0042] Bei einem ersten Verfahren wird eine Suspension aus Trägerpartikeln, die mit einem interessierenden biologischen Material beschichtet sind, in ein Stück Kunststoffschlauch eingebracht. Man lässt die Partikel unter der Wirkung der Schwerkraft entlang des Bodens der Innenfläche des Schlauchs absetzen. Bei Setzen bilden die Partikel ein Band von Partikeln entlang der gesamten Länge des Schlauchs, und es kann Flüssigkeit aus der Partikelsuspension vom Schlauch abgelassen werden. Bei Entnehmen der Flüssigkeit wird der Schlauch gerollt, um die Partikel über der gesamten Innenfläche des Schlauchs zu verteilen, und die verteilten Partikel werden unter einem Strom von trocknendem Gas wie z. B. Stickstoff getrocknet. Der Schlauch kann dann auf Längen zugeschnitten werden, die für das Einführen in eine Probenkammer einer Partikelzufuhrvorrichtung geeignet sind. Ein Durchschnittsfachmann wird erkennen, dass die Anzahl beschichteter Partikel, die für die Übertragung zur Verfügung stehen, durch Einstellen der Konzentration der Partikelsuspension oder durch Einstellen der Länge des zur Ausbildung einer Patrone verwendeten Schlauchs variiert werden kann. Er wird auch erkennen, dass

Probenpatronen, welche in der vorliegenden Erfindung brauchbar sind, auf andere Art hergestellt werden können, als gerade beschrieben wurde.

[0043] Ein zweites Verfahren für das Beschichten der Innenfläche einer rohrförmigen Konstruktion verwendet eine leichte Klebewirkung, um die Trägerpartikel **16** an der Partikelpatrone **14** zu befestigen. Es hat sich herausgestellt, dass die Verwendung eines leichten Klebstoffs dazu beiträgt sicherzustellen, dass die Partikel gut beschleunigt werden, indem man sie zeitweilig an der konkaven Innenfläche der Patrone anhaften lässt, bis der Gasstrom einen angemessenen Zufuhrdruck erreicht. Um dies zu verwirklichen, wird ein Zusatz verwendet, wenn die Partikel in Alkohol suspendiert sind. Zusätze, die nur schwach haftend wirken und die erfolgreich eingesetzt wurden, sind Polyvinylpyrrolidon (PVP), Cholesterin, Glycerin und Wasser. Cholesterin wird zum Beispiel bei einer Rate von 1 mg Cholesterin pro ml Alkohol in der Suspension verwendet. Die Partikel-/Alkoholsuspension wird mit Ultraschall behandelt, um zum Halten der Partikel in der Suspension beizutragen, und die Suspension wird auf die Innenfläche der Patrone **14** zum Haften gebracht, welche auf ihre Seite gelegt wurde. Die Trägerpartikel werden entlang einer Seite der Innenfläche der Patrone schnell aus der Suspension ausgefällt. Der Alkohol kann dann entfernt und das Innere der Patrone mit einem Stickstoffstrom getrocknet werden, während der Schlauch gedreht wird.

[0044] Unter Bezug nun auf [Fig. 3](#) wird eine Seitenansicht einer Ausführung einer Partikelbeschleunigungsvorrichtung, welche allgemein bei **10** dargestellt wird, mit eingebautem Einweg-Probenzufuhrmodul gezeigt, welches erfindungsgemäß konstruiert wurde. Die Vorrichtung **10** ist von Hand bedienbar und tragbar, so dass sie von einem Bediener mühelos gehandhabt und bewegt werden kann.

[0045] Unter Hinwendung auf die Einzelheiten der Vorrichtung von [Fig. 3](#) umfasst der Antriebskraft erzeugende Teil der Vorrichtung einen Handgriff **28**, welcher vorzugsweise länglich ist und von jeder geeigneten Form oder Größe sein kann, welche für die Bedürfnisse und den Komfort eines jeweiligen Bediener ausgelegt ist. Wie in [Fig. 3](#) gezeigt wird, kann der Handgriff **28** in Form eines Pistolengriffs ausgebildet sein, um dem Bediener einen festen Griff und mühelosen Zugang zu einem Betätigungsmittel **30**, z. B. einem Ventilauslösemechanismus, zu geben, der von einer Kappe **29** abgedeckt sein kann, welche mit dem Betätigungsmechanismus **30** greift, wenn sie von einem Bediener gedrückt wird.

[0046] Ein Einlassschlauch **32** oder eine Leitung verläuft durch den Handgriff **28**, wobei der Einlassschlauch an beiden Enden offen ist und aus einem festen Material besteht, welches Gas bei den für die

Zufuhr von Partikel aus der Vorrichtung erforderlichen Drücken enthalten kann. In bevorzugten Ausführungen bestehen der Einlassschlauch **32** und alle anderen Teile der Vorrichtung (mit Ausnahme der Probenpatrone), die den unter Druck stehenden Gasstrom kontaktieren, aus einem nicht verformbaren festen Material wie Metall, z. B. Messing, oder einem Polymermaterial hoher Dichte. Der Einlassschlauch **32** kann in dem Instrument durch Buchsen oder dergleichen ortsfest befestigt werden. Der Einlassschlauch **32** dient als Speicher, welcher ein abgebares Gasvolumen unter ausreichendem Betriebsdruck liefert, um eine Zufuhr beschleunigter Partikel zu verwirklichen. Die Maße des Einlassschlauchs **32** sind nicht ausschlaggebend und können vergrößert oder verkleinert werden, um ein ausreichendes Volumen von Gas unter Druck aufzunehmen. Alternativ kann ein separater, eigens vorgesehener Gasspeicher vorgesehen werden, wenn das Volumen in dem Einlassschlauch **32** unzureichend ist.

[0047] An einem Endstück des Einlassschlauchs **32** befindet sich ein Verbindungsstück **31**, das sich durch einen biegsamen Schlauch mit einer externen Gasquelle, welche allgemein bei **12** gezeigt wird, verbinden lässt. Das Verbindungsstück **31** ist vorzugsweise eine Schnellkupplung einer häufig bei Druckluftvorrichtungen verwendeten Art, welche Gase bei höheren Drücken einsetzen. Die Gasquelle kann einer handelsüblicher Behälter sein, welcher ein biologisch und chemisch reaktionsträges Druckgas enthält. Das reaktionsträge Gas ist vorzugsweise Helium. Der Druck, bei welchem Gas die Gasquelle verlässt, wird vorteilhafterweise durch ein herkömmliches Druckregelventil geregelt. Ein für den Bediener sichtbares Messelement kann zur Anzeige des Drucks in der Vorrichtung verwendet werden.

[0048] Ein Betätigungsmittel **34**, beispielsweise ein Ventil oder eine zerreißbare Membran, ist mit dem gegenüberliegenden Endstück des Einlassschlauchs **32** verbunden. Das Betätigungsmittel wird zur Steuerung des Gasstroms aus dem Einlassschlauch **32** zu dem Probenzufuhrteil der Vorrichtung **10** verwendet. In der Ausführung von [Fig. 3](#) ist das Betätigungsmittel **34** ein elektrisch betätigtes Magnetventil, das durch einen Auslösemechanismus **30** an dem Handgriff **28** gesteuert wird. Drähte, welche das Magnetventil mit dem Auslösemechanismus verbinden, können in dem Handgriff **28** angeordnet werden, um die Sicherheit und Bedienbarkeit der Vorrichtung zu verbessern. Eine abnehmbar befestigbare Abdeckplatte **36** bietet Zugriff auf die internen elektrischen Verbindungen des Auslösemechanismus **30**. Ein Verdrahtungskanal **38**, welcher durch den Handgriff **23** verläuft, bietet einen geschützten Durchlass für Drähte, welche den Auslösemechanismus **30** und das Betätigungsmittel **34** verbinden.

[0049] Die Erfindung ist nicht auf die bestimmte Art

von Betätigungsventil und auch nicht auf einen bestimmten Auslösemechanismus beschränkt. Diesbezüglich sind viele Ventil- und Auslösemechanismen bekannt, die von einem Durchschnittsfachmann an Stelle der in [Fig. 3](#) abgebildeten Kombination eingesetzt werden können. Es können federbelastete Kugelventile verwendet werden, ebenso wie Betätigungsmechanismen, die durch Reißen oder Brechen eines fragilen Verschlusses arbeiten, um einen beschränkten Strom druckbeaufschlagten Gases freizusetzen. Solche Kombinationen sind zur Verwendung in dieser Anmeldung geeignet, solange der Betätigungsmechanismus dem Druck des aus dem Einlassschlauch **32** eindringenden Gasstroms standhalten kann.

[0050] Der Fluidauslass des Betätigungsmittels **34** umfasst ein Gasauslassrohr **39**, welches mit dem Ventil gekoppelt ist, und ein Endstück-Verbindungsstück **37**, welches dafür ausgelegt ist, das erfindungsgemäße Probenzufuhrmodul (welches allgemein bei **40** gezeigt wird) aufzunehmen. Um das mühelose und wiederholte Anbringen und Abnehmen des Probenzufuhrmoduls **40** zu erleichtern, kann das Verbindungsstück **37** eine Schnellkupplung der oben erwähnten Art sein.

[0051] Die vorliegende Erfindung beruht zum Teil auf dem Probenzufuhrmodul **40** und zum Teil auf dem Gebrauch desselben mit einer Partikelbeschleunigungsvorrichtung **10**, welche eine geeignete Antriebskraft vorsehen kann. Das Probenzufuhrmodul **40** umfasst die erforderlichen Elemente zur Zufuhr einer Probe zu einem Ziel, wenn diese mit dem Antriebskraft erzeugenden Teil des Instruments **10** verbunden ist. Das Probenzufuhrmodul **40** wird unter Bezug auf die [Fig. 4-Fig. 7](#) eingehender beschrieben. Wie in [Fig. 4](#) gezeigt wird, umfasst eine bestimmte erfindungsgemäße Ausführung ein Befestigungsmittel **42** für das schnelle Verbinden des Probenzufuhrmoduls mit dem Verbindungsstück **37**. In dieser Ausführung umfasst das Befestigungsmittel **42** ein Endfitting, das von Größe und Form her für das sichere Greifen des Verbindungsstücks **37** ausgelegt ist. Die bestimmte Größe und Form des sichernden Endfitting ist nicht ausschlaggebend, solange sie der des Verbindungsstücks **37** entspricht, so dass das Probenzufuhrmodul während des Betriebs fest mit der Antriebskraftquelle gekoppelt werden kann. Diesbezüglich ist es bevorzugt, dass das Befestigungsmittel binnen Sekunden in Eingriff bringbar und lösbar ist.

[0052] Das Endfitting des Befestigungsmittels **42** wird in [Fig. 4](#) als die Art von Schnellkupplung gezeigt, welche häufig als „Swagelok“-Schnellkupplung bezeichnet wird. Das Endfitting des Befestigungsmittels umfasst drei zylinderförmige Teile **44**, **46** und **48**. Im Verlauf vom stromaufwärts befindlichen Endstück des Endfitting zum mittleren Teil des Probenzufuhr-

moduls **40** wird der Durchmesser jedes zylinderförmigen Teils zunehmend größer. Der äußerste zylinderförmige Endteil **44** selbst endet in einem stumpfkegeligen Segment **50**. Zwischen dem zylinderförmigen Endteil **44** und dem mittleren zylinderförmigen Teil **46** bietet ein zweites stumpfkegeliges Segment **52** einen allmählichen Übergang vom Durchmesser des ersten zylinderförmigen Teils **44** zu dem des zweiten zylinderförmigen Teils **46**. Zwischen dem zweiten zylinderförmigen Teil **46** und dem dritten zylinderförmigen Teil **48** ist kein solcher allmählicher Übergang vorgesehen. Dadurch ergibt sich ein abrupter Durchmesseranstieg der bevorzugten Ausführung von dem zweiten zylinderförmigen Teil **46** zu dem dritten zylinderförmigen Teil **48**. Der dritte zylinderförmige Teil **48** bietet eine praktischen Handgriff für einen Bediener und erleichtert das Einrücken des Probenzufuhrmoduls in das Verbindungsstück **37**.

[0053] Es können bei der Umsetzung der Erfindung eine Reihe anderer schnellkupplungsartiger Verbindungsstücke verwendet werden. Insbesondere ist zum Beispiel beabsichtigt, dass ein „Luer-Lok“ Ansatz der an Spritzen verwendeten Art an Stelle des in der gezeigten Ausführung von [Fig. 4](#) abgebildeten Befestigungsmittels treten kann.

[0054] Bevorzugt ist auch, dass das Befestigungsmittel **42** formschlüssig mit dem Verbindungsstück **37** greifen kann. Zum Beispiel kann eine ringförmige Nut **54** an der Außenfläche des zweiten zylinderförmigen Teils **46** vorgesehen werden. Die Nut kann von Größe und Form her so ausgelegt werden, dass sie von einer durch das Verbindungsstück vorgesehenen Arretierung formschlüssig gegriffen wird. Diesbezüglich können eine Vielzahl von Kugeln (z. B. von der in einem Kugellager gefundenen Art) als Arretierungsmittel in dem Verbindungsstück **37** vorgesehen werden. Die Kugeln und die ringförmige Nut **54** werden so angeordnet, dass bei Anziehen des Verbindungsstücks **37** die Kugeln in der ringförmigen Nut **54** zum Sitzen kommen, wo sie bis zum Abkuppeln des Verbindungsstücks **37** bleiben.

[0055] Ein Verbindungsteil **56** ist neben dem Endfitting **42** angeordnet. Der Verbindungsteil **56** weist vorzugsweise eine zylinderförmige Geometrie auf und weist in einer Ausführung einen kleineren Durchmesser als der dritte zylinderförmige Teil **48** des Befestigungsmittels **42** auf. Auf diese Weise ist der dritte zylinderförmige Teil **48** während des Einbaus des Probenzufuhrmoduls **40** zugänglich. Eine kegelförmige Austrittsdüse **58** ist am gegenüberliegenden Ende des Verbindungsteils **48** angeordnet. Die Austrittsdüse **58** ist wie hier vorstehend beschrieben konfiguriert. Diesbezüglich ist der Durchmesser der kegelförmigen Austrittsdüse **58** vorzugsweise nahe dem Verbindungsteil **56** schmaler als an ihrem gegenüberliegenden Ende. Die bestimmten Maße und der Kegelwinkel der Austrittsdüse **58** hängen von dem Eingangs-

gasdruck des Instruments ab.

[0056] Optional können Abstandsschenkel **60** mit dem breiteren, stromabwärts befindlichen Endstück der Austrittsdüse **58** verbunden sein. Die Abstandsschenkel **60** werden im Allgemeinen so gewählt, dass sie eine geeignete Länge für die Zufuhr von Partikeln zu einem erwünschten Ziel haben. Solche Abstandsschenkel **60** sind nicht erforderlich, sind aber vorteilhaft, da sie es einem Bediener ermöglichen, einen geeigneten Abstand zwischen dem Instrument **10** und dem Ziel festzulegen. Dies ermöglicht reproduzierbare Ergebnisse zwischen aufeinander folgenden Partikelzufuhren. Der geeignete Abstand kann ermittelt und wie benötigt festgelegt werden, indem die Länge der Abstandsschenkel **60** variiert wird, wobei empirische Beobachtungen des Aussehens der Zielzellen und gemessene Werte der Genexpression nach Zufuhr genutzt werden. Es wurde für Säugetierhaut festgestellt, dass eine Abstandsschenkellänge von 19 mm bis 25 mm (3/4–1 Zoll) bevorzugt ist. Alternativ ist es möglich, das Instrument manuell bei einem erwünschten Abstand zum Ziel zu positionieren. Meist wird mindestens einer und vorzugsweise zwei oder mehr Abstandsschenkel **60** vorgesehen. Die Abstandsschenkel einer bestimmten Ausführung sind am besten in den [Fig. 5–Fig. 7](#) ersichtlich.

[0057] Ein hohler Kanal wird entlang der gesamten Länge des Probenzufuhrmoduls **40** vorgesehen. Dieser hohle Kanal bietet eine Probenbahn, die im Wesentlichen koaxial zur Hauptachse des Probenzufuhrmoduls **40** ist. Unter Bezug auf die Schnittansicht von [Fig. 5](#) umfasst die Probenbahn eine Patronenkammer **62**, welche axial in dem Befestigungsmittel **42** angeordnet ist und sich von dem stromaufwärts gelegenen Endstück des Befestigungsmittels durch den ersten zylinderförmigen Teil **44** und in den zweiten zylinderförmigen Teil **46** erstreckt. Die Patronenkammer **62** lässt einen beschleunigten Gasstrom von dem Antriebskraft erzeugenden Teil des Instruments **10** ein. Die Patronenkammer **62** ist so konfiguriert, dass sie eine (nachstehend beschriebene) Partikelpatrone mit den an einer konkaven Innenfläche derselben lösbar befestigten Trägerpartikeln aufnimmt und festhält. Der Durchmesser der Patronenkammer **62** ist an ihrem stromabwärts gelegenen Endstück verglichen mit ihrem stromaufwärts gelegenen Endstück kleiner. Dies beschränkt die Bewegung einer Partikelpatrone, wenn sie in der Patronenkammer gehalten wird.

[0058] Das schmalere Endstück der Patronenkammer **62** steht mit dem stromaufwärts befindlichen Endstück eines im Wesentlichen geradlinigen Partikelbeschleunigungsdurchlasses **64** mit einem Durchmesser, der verglichen mit dem der Patronenkammer **62** kleiner ist, in Fluidverbindung. Die relativen Durchmesser der Patronenkammer **62** und des Partikelbeschleunigungsdurchlasses **64** sind unter Bezug auf

die [Fig. 5](#) und [Fig. 6](#) ersichtlich. Der Partikelbeschleunigungsdurchlass **64** ist im Wesentlichen koaxial zu den Hauptachsen des Probenzufuhrmoduls **40** und der Patronenkammer **62** angeordnet. Der Durchlass **64** kann in einer Ausführung einen Durchmesser von 1,6 mm (1/16 Zoll) und eine Länge von 5 bis 15 mm aufweisen. Wenn der Durchlass **64** zu lang ist, kann der Gasstrom aufgrund von Reibung an Moment verlieren. Der Partikelbeschleunigungsdurchlass **64** verläuft zwischen dem stromabwärts befindlichen Endstück der Patronenkammer und dem stromaufwärts befindlichen Endstück der kegelförmigen Austrittsdüse **58**.

[0059] Das Wahren einer glatten Innenfläche für den Beschleunigungsdurchlass **64** reduziert jeden Reibungswiderstand bzw. jede nachteilige Wechselwirkung zwischen den Trägerpartikeln und dem Durchlass **64**, wodurch ein korrektes Strömen der Trägerpartikel hin zu dem geplanten Ziel erleichtert wird. Um eine solche glatte Fläche zu wahren, kann eine Schnur oder ein Rohrreiniger mit einer Polierverbindung beschichtet und dann zum Polieren des Inneren des Durchlasses **64** verwendet werden. Eine geeignet glatte Innenfläche für den Durchlass kann auch direkt in einem Formprozess gebildet werden, wenn das Probenzufuhrmodul aus einem thermoplastischen Material gebildet wird. Die Austrittsdüse **58** weist ferner bevorzugt eine glatte Innenfläche auf.

[0060] Bei Gebrauch wird eine Probenpatrone so in die Patronenkammer **62** eingesetzt, dass ihre Innenfläche, welche daran angebrachte Trägerpartikel aufweist, mit dem Gasstrom in Fluidverbindung steht, wenn das Probenzufuhrmodul **40** eingebaut ist. Die Ausrichtung der Partikel in der Probenpatrone ist ansonsten nicht ausschlaggebend. Das Probenzufuhrmodul **40** ist mittels des Befestigungsmittels **42** mit dem Verbindungsstück **37** gekuppelt, wodurch ein unbeabsichtigtes Lösen des Probenzufuhrmoduls **40** von dem Instrument **10** während Einsatz verhindert wird. Der Auslösemechanismus **30**, der das Gasstrom-Betätigungsmittel **34** steuert, wird betätigt, um Druckgas aus dem Schlauch **32** freizusetzen. Das freigesetzte Gas strömt in einem Strom von dem Betätigungsmittel **34** hin zu dem Probenzufuhrmodul **40**, wobei es durch die Probenpatrone strömt und Partikel von deren Oberfläche löst und mitführt. Der Gasstrom und die darin mitgeführten Trägerpartikel strömen durch den Partikelbeschleunigungsdurchlass **64** und in die kegelförmige Düse **58** und hin zu und in ein Ziel.

[0061] Wie vorstehend beschrieben hängen die präzisen Betriebsparameter im Allgemeinen von dem zum Zuführen der Trägerpartikel verwendeten Gasdruck ab, was wiederum die jeweiligen Maße des Partikelbeschleunigungsdurchlasses **64** und der Austrittsdüse **58** diktiert.

[0062] Nachdem eine Probe der beschichteten Partikel aus der Vorrichtung **10** zugeführt wurde, wird das Verbindungsstück **37** gelöst, um das Probenzufuhrmodul **40** zu entnehmen. In bevorzugten Ausführungen, bei denen das Modul für den Einmalgebrauch gedacht ist, kann das verbrauchte Modul in geeigneter Weise entsorgt werden. Anschließendes Zuführen kann dann durch Wiederholen der oben beschriebenen Schritte unter Verwendung einer neuen Probenpatrone und einer neuen Probenzufuhrmoduls **40** ausgeführt werden.

[0063] Die vorliegende Erfindung ist für die Zufuhr von biologischen Materialien besonders brauchbar, da alle Teile der Partikelbeschleunigungsvorrichtung, die tatsächlich mit der Probe und einer Zielfläche in Kontakt kommen, separat von dem Antriebskraftteil des Instrument vorgesehen werden und nach Einmalgebrauch problemlos entsorgt werden können. Dadurch wird das Potenzial für eine Kreuzkontamination mit verbleibenden biologischen Materialien aus früheren Zufuhren effektiv eliminiert. Das routinemäßige Wegwerfen verbrauchter Probenzufuhrmodule verhindert zudem eine Kreuzkontamination zwischen oder unter Empfängern, da kein Teil des Instruments, der mit einem Empfänger in Berührung kommt, erneut verwendet werden muss.

[0064] Die vorliegende Erfindung kann bei Massimpfungen von Säuger-Versuchstieren, beispielsweise Ratten, Vieh, Schweine, Schafe, Ziegen, Pferde und von menschlichen Versuchspersonen sowie von Haustieren wie Hunden und Katzen unter Verwendung von Nucleinsäure-Impfstoffen, verwendet werden. Nucleinsäure-Impfstoffe enthalten genetisches Material, für gewöhnlich DNA, welches aus einem pathogenen Stoff gewonnen wurde. Das genetische Material wird in Zellen eines Säuger-Versuchstiers mit Hilfe einer Vorrichtung, wie sie hier beschrieben werden, zugeführt. Nach Zufuhr in eine Zelle wird das genetische Material durch die zelluläre Transkription und Translationsmaschinerie ausgedrückt, um ein Protein oder Peptid zu erzeugen, welches bei dem geimpften Versuchstier bzw. der geimpften Versuchsperson eine Immunreaktion auslöst. Die Immunreaktion kann das geimpfte Versuchstier bzw. die geimpfte Versuchsperson gegenüber einer späteren Infektion durch den Stoff, aus welchem der Impfstoff gewonnen wurde, resistent machen oder eine therapeutische Wirkung bei einem bereits infizierten Versuchstier bzw. einer bereits infizierten Versuchsperson erzeugen. Die hierin beschriebene Vorrichtung kann auch für den Gentransport, beispielsweise Gentherapien, verwendet werden.

[0065] Zwar wurde die vorliegende Erfindung eigens für die wiederholte Zufuhr von biologischen Materialien im Großeinsatz entwickelt, doch kann sie auch für traditionellere Anwendungen eingesetzt werden, beispielsweise bei vorhandenen Partikelbe-

schleunigungsvorrichtungen für die einmalige, separate Zufuhr von Trägerpartikeln in eine Zielfläche. Das Probenzufuhrmodul und eine dieses Modul verwendende Partikelbeschleunigungsvorrichtung können zum Beispiel bei Verfahren für das Übertragen von genetischem Material in Organe, Gewebe und/oder gezüchtete Zellen von Pflanzen und Tieren verwendet werden. Die vorliegende Erfindung wurde mit einer Partikelbeschleunigungsvorrichtung zum Zuführen von Genen in die Meristeme von lebenden Pflanzen verwendet, um transgene Pflanzen zu erzeugen. Alle Vorteile der Erfindung, insbesondere ihre Tragbarkeit und ihre einfache Probenhandhabung, kommen genauso gut zur Geltung, wenn die Vorrichtung für die einmalige Zufuhr eines Gens durch Partikelbeschleunigung verwendet wird. Das Prinzip der Erfindung kann aber auch in ein feststehendes, nichttragbares Gerät integriert werden, um wesentliche Vorteile bezüglich Geschwindigkeit, Reproduzierbarkeit und müheloser Anwendung zu verwirklichen.

[0066] Dementsprechend wurden neuartige Probenzufuhrmodule zur Verwendung mit einer Partikelbeschleunigungsvorrichtung beschrieben. Es werden zwar gewisse Einzelheiten bevorzugter Ausführungen dieser Erfindung beschrieben, doch versteht sich, dass nahe liegende Abänderungen vorgenommen werden können, ohne vom Schutzbereich der durch die beigefügten Patentansprüche festgelegten Erfindung abzuweichen.

Patentansprüche

1. Probenzufuhrmodul (**40**) für den Einmalgebrauch zur Verwendung in einer Partikelbeschleunigungsvorrichtung, wobei das Modul umfasst:

- (a) eine Patronenkammer (**62**), welche für die Aufnahme und das Halten einer Partikelpatrone (**14**) konfiguriert ist, wobei die Kammer ein stromaufwärts gelegenes Endstück und ein stromabwärts gelegenes Endstück aufweist;
- (b) eine Austrittsdüse (**58**) mit einem stromaufwärts gelegenen Endstück und einem stromabwärts gelegenen Endstück;
- (c) einen Partikelbeschleunigungsdurchlass (**64**), welcher zwischen der Patronenkammer und der Austrittsdüse angeordnet ist, wobei der Beschleunigungsdurchlass in Fluidverbindung mit dem stromabwärts gelegenen Endstück der Patronenkammer und dem stromaufwärts gelegenen Endstück der Austrittsdüse steht;
- (d) Befestigungsmittel (**42**) für das Koppeln des Probenzufuhrmoduls mit einer Antriebskraftquelle, wobei das Befestigungsmittel das stromaufwärts gelegene Endstück der Patronenkammer mit einer zugehörigen Antriebskraftquelle verbindet; und
- (e) eine Partikelpatrone (**14**) mit einer Vielzahl von Partikeln; **dadurch gekennzeichnet**, dass das Probenzufuhrmodul in einem abgedichteten sterilen Be-

halter vorgesehen wird.

2. Probenzufuhrmodul nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Austrittsdüse kegelförmig ist.

3. Probenzufuhrmodul nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, dass das stromabwärts gelegene Endstück der Austrittsdüse einen größeren Durchmesser als ihr stromaufwärts gelegenes Endstück aufweist und dass weiterhin der Abstand zwischen dem stromaufwärts gelegenen und dem stromabwärts gelegenen Endstück der Austrittsdüse größer als der Durchmesser des stromabwärts gelegenen Endstücks ist.

4. Probenzufuhrmodul nach Anspruch 1, welches weiterhin mehrere Abstandsschenkel (60) umfasst, welche sich von dem stromabwärts gelegenen Endstück zu der Austrittsdüse erstrecken.

5. Probenzufuhrmodul nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass das Modul aus einem Polymermaterial besteht.

6. Probenzufuhrmodul nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, dass das Polymermaterial ein thermoplastisches Harz ist.

7. Probenzufuhrmodul nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, dass das Polymermaterial ein Polycarbonat oder Polypropylen ist.

8. Probenzufuhrmodul nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass das Befestigungsmittel eine formschlüssige, druckdichte Kopplung zwischen dem Modul und einer zugehörigen Antriebskraftquelle vorsieht.

9. Probenzufuhrmodul nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, dass das Befestigungsmittel für das Zusammenwirken mit einem Schnellverbindungsstück an einer zugehörigen Antriebskraftquelle ausgelegt ist.

10. Probenzufuhrmodul nach Anspruch 9, dadurch gekennzeichnet, dass das Befestigungsmittel eine ringförmige Nut (54) für das Zusammenwirken mit einem Arretierverbindungsstück an einer zugehörigen Antriebskraftquelle umfasst.

11. Probenzufuhrmodul nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Probenpatrone konkav ist und mit einem biologischen Material beschichtete Trägerpartikel enthält.

12. Probenzufuhrmodul nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, dass die Probenpatrone rohrförmig ist.

13. Probenzufuhrmodul nach Anspruch 12, dadurch gekennzeichnet, dass der Beschleunigungsdurchlass einen kleineren Durchmesser als die rohrförmige Probenpatrone aufweist.

14. Partikelbeschleunigungsvorrichtung (10), welche umfasst:

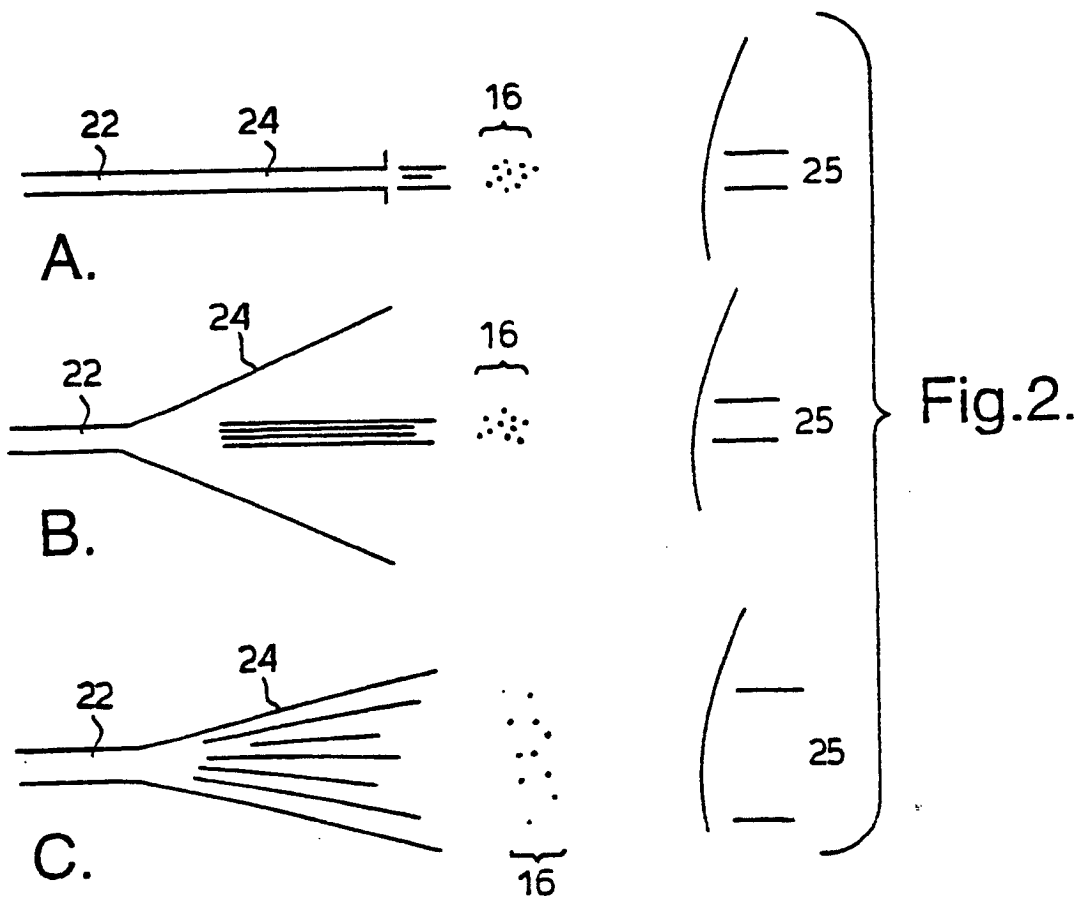
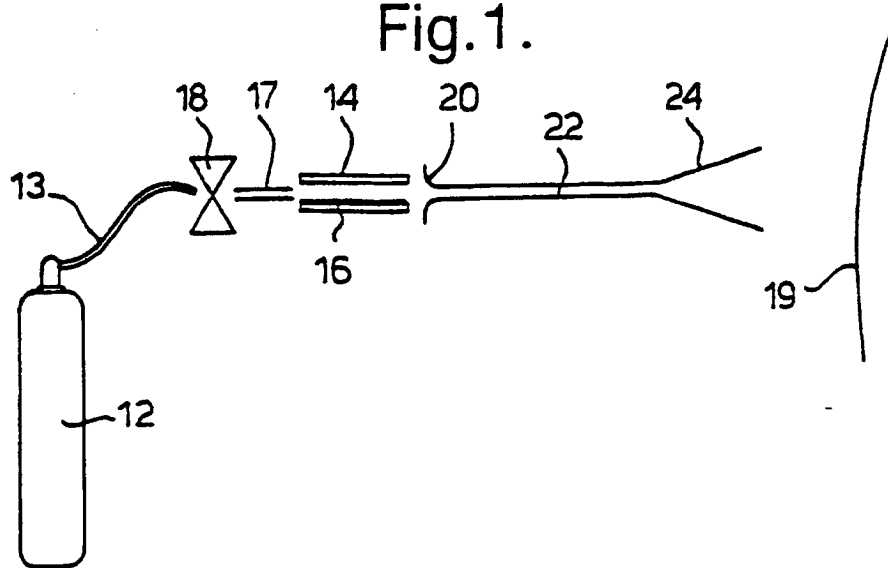
(a) einen Instrumentenkörper (28) mit einer sich durch diesen erstreckenden Leitung (32), wobei die Leitung ein für das Ankuppeln an einer Druckgasquelle ausgelegtes erstes Endstück (31) und ein für das Ankuppeln an einem Probenzufuhrmodul ausgelegtes zweites Endstück aufweist, wobei der Körper weiterhin Betätigungsmittel (34) für das Freigeben eines Gasstroms durch die Leitung umfasst; und
(b) ein Probenzufuhrmodul nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die Druckgasquelle die Antriebskraftquelle ist und das stromaufwärts gelegene Endstück der Patronenkammer mit dem zweiten Endstück der Leitung des Instrumentenkörpers verbunden ist.

15. Partikelbeschleunigungsvorrichtung nach Anspruch 14, dadurch gekennzeichnet, dass das Betätigungsmittel (34) ein in dem Instrumentenkörper zwischen dem ersten und dem zweiten Endstück der Leitung angeordnetes Ventil umfasst, welches das Durchströmen von Gas durch die Leitung reguliert.

16. Partikelbeschleunigungsvorrichtung nach Anspruch 14, dadurch gekennzeichnet, dass das Betätigungsmittel (34) eine zerreißbare Membran umfasst, welche in der Leitung des Instrumentenkörpers zwischen deren ersten und zweiten Endstück angeordnet ist.

Es folgen 3 Blatt Zeichnungen

Fig.1.



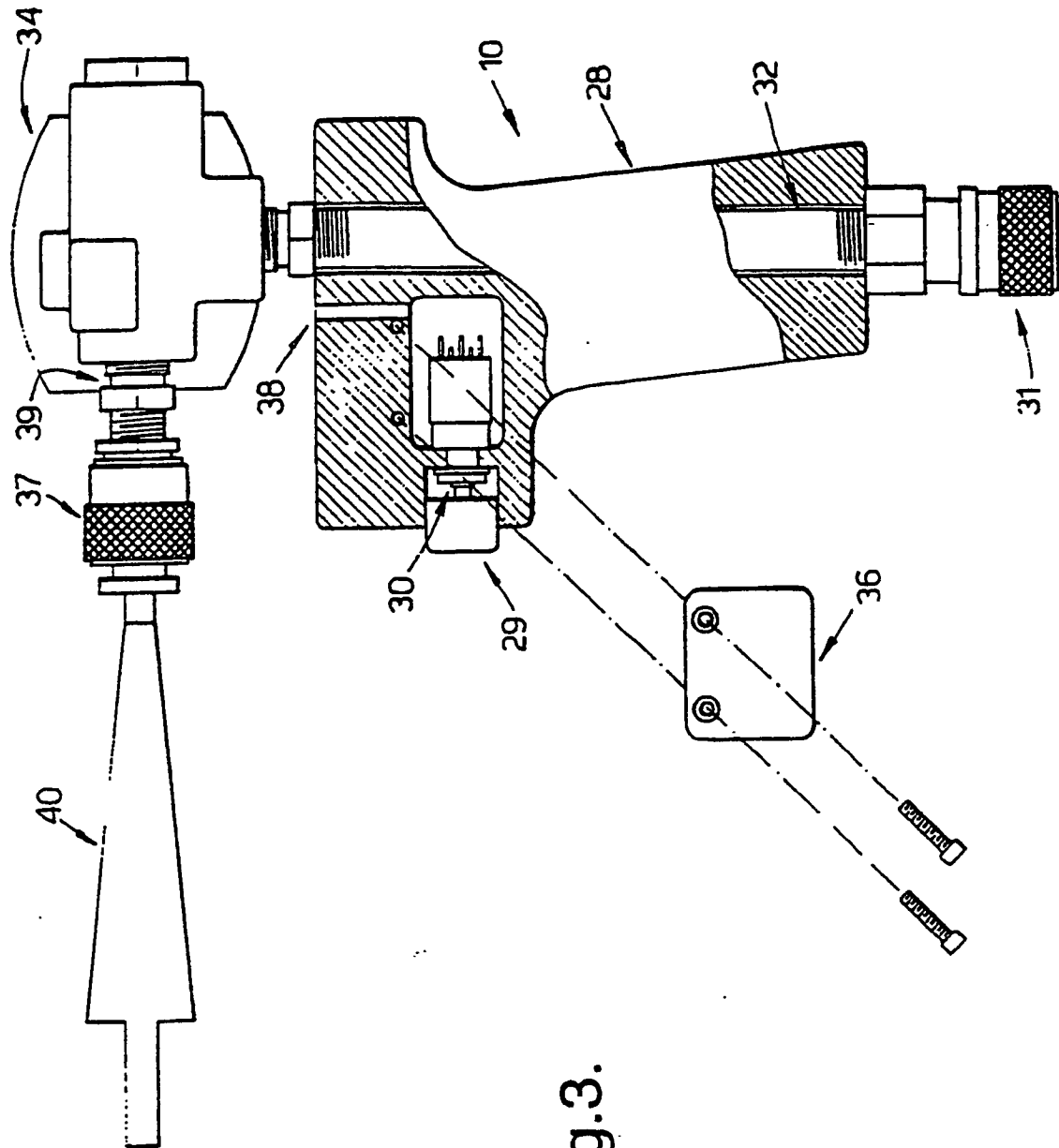


Fig.3.

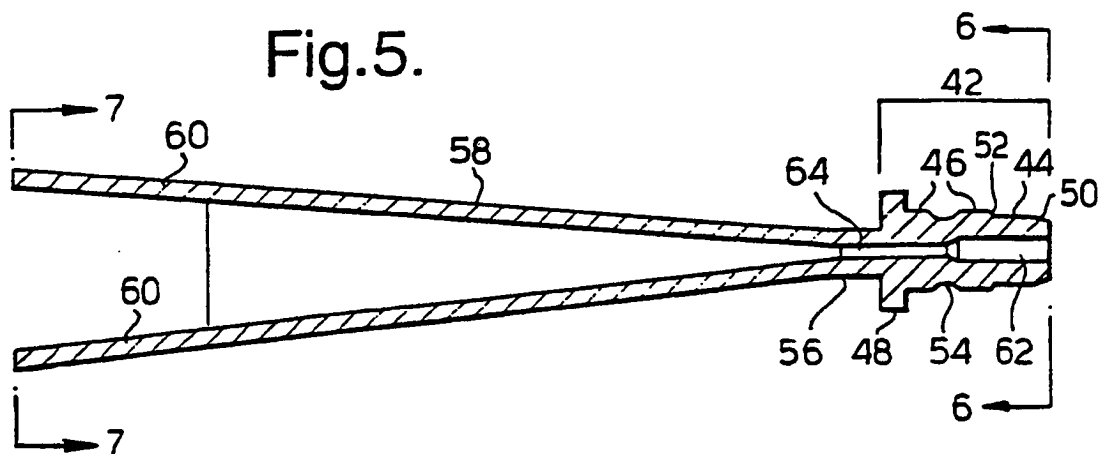
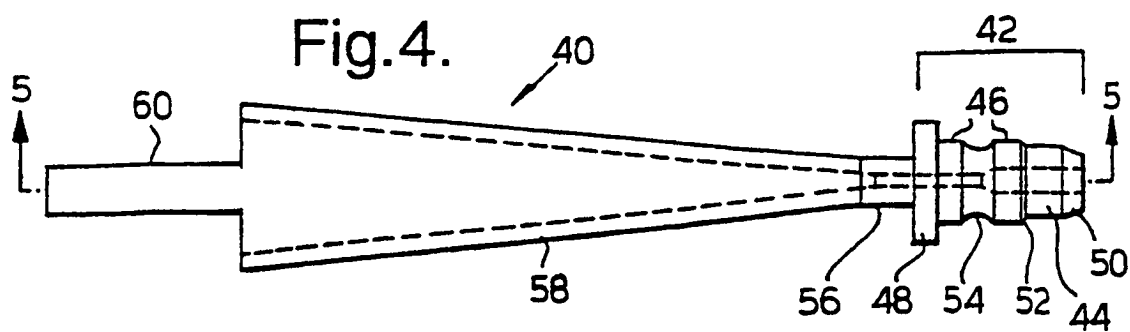


Fig.6.

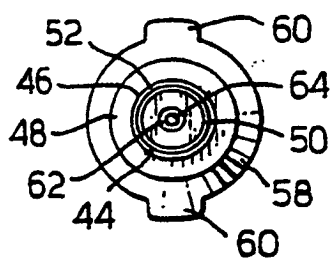


Fig.7.

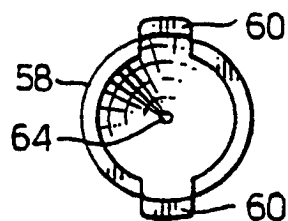


Fig.8.

