

(19)



SUOMI - FINLAND

(FI)

PATENTTI- JA REKISTERIHALLITUS  
PATENT- OCH REGISTERSTYRELSEN  
FINNISH PATENT AND REGISTRATION OFFICE

(10) **FI 751642 A7**

(12) **JULKISEKSI TULLUT PATENTTIHAKEMUS  
PATENTANSÖKAN SOM BLIVIT OFFENTLIG  
PATENT APPLICATION MADE AVAILABLE TO THE  
PUBLIC**

(21) Patentihakemus - Patentansökan - Patent application 751642

(51) Kansainvälinen patenttiluokitus - Internationell patentklassifikation -  
International patent classification  
A23J

(22) Tekemispäivä - Ingivningsdag - Filing date 04.06.1975

(23) Saapumispäivä - Ankomstdag - Reception date 04.06.1975

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig - Available to the public 15.12.1975

(43) Julkaisupäivä - Publiceringsdag - Publication date 12.06.2019

(32) (33) (31) Etuoikeus - Prioritet - Priority

14.06.1974 SE 7407881

(71) Hakija - Sökande - Applicant

1 •Lindroos, Paul Göran Sigvard, Eriksgatan 37, 20100 Åbo, SUOMI - FINLAND, (FI)

(72) Keksijä - Uppfinnare - Inventor

1 •Lindroos, Paul Göran Sigvard, Åbo, SUOMI - FINLAND, (FI)

(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning - Title of the invention

**Punaisia verisoluja sisältävien nesteiden käsittelymenetelmä**

**Sätt att behandla vätskor innehållande röda blodkroppar**

# Punaisia verisoluja sisältävien nesteiden käsittelymenetelmä.

Paul Göran Sigvard Lindroos

Stockholm

21

Kyseisessä keksinnössä käsitellään punaisia verisoluja sisältäviä nesteitä tarkoituksena verisolujen solukalvo rikkomalla mahdollistaa solujen sisältämien arvokkaiden yhdisteiden, erikoisesti valkuaisaineiden talteenotto.

5. Entuudestaan tunnetaan laboratoriomittakaavassa tapahtuvia punasolujen solukalvon rikkovia menetelmiä, joiden avulla verisolujen sisältämiä yhdisteitä voidaan eristää ja sen jälkeen lähemmin tutkia, erikoisesti esiintyvien reaktiomekanismien suhteen. Esimerkkinä tällaisista menetelmistä mainittakoon eräs, jossa näyte ensin jäädytetään, sitten sulatetaan ja lopuksi laimennetaan tislatussa vedellä ainakin nesteen nelikertaiseen tilavuuteen. Toinen esimerkki on menetelmä jossa verisoluja pestään toistuvasti fysiologisella suolaliuoksella ennen laimennusta tislatussa vedellä ainakin kaksinkertaiseen tilavuuteen. Kolmantena esimerkkinä mainittakoon solukalvon rikkominen digitoninilla.
- 10
- 15 Näillä aiemmin tunnetuilla menetelmillä on pystytty särkeämään verisolujen solukalvo. Haittapuolena näillä menetelmillä on kuitenkin liuosten suuri laimennussuhde, joten jäteveden määrä on erittäin suuri, josta aiheutuu hankaluuksia teknisessä prosessissa, samoin aiheutuu tästä vaikeuksia lopputuotteen puhdistamisessa. Tuote on käyttökelvoton elintarvike- ja rehu-
- 20 käyttöön.

Kyseinen keksintö poistaa ennestään tunnettujen menetelmien vaikeudet ja mahdollistaa teknisesti ja taloudellisesti toteutettavissa olevan menetelmän solukalvojen rikkomiseksi ja verisolujen sisältävien arvokkaiden valkuaisaineiden taltiomiseksi.

25       Keksinnön mukaan ratkaistaan ongelma siten, että verisoluja sisältävään nesteeseen lisätään orgaanista liuotinta tai muita vastaavia aineita joilla on solukalvoa denaturoiva ominaisuus, jotta saataisiin liuos jossa on valkuaisaineita ja kiinteä materiaa sisältäen pääasiassa solukalvomateriaa, ns stromaa.

30       Seuraavassa esitellään keksintöä esimerkkien valossa.

#### Esimerkki 1.

25 grammaan verisolumassaa, joka on saatu linkoamalla verestä ja jäädytetty 0°C asteeseen, lisättiin hitaasti sekoittaen ja jäädyttäen noin -5°C asteeseen <sup>liuos sisältäen</sup> 10 ml vettä, 20 ml 94% etanolia ja 3 ml 0,5 M etikkahappoa. 35       Liuoksen pH-arvo lisäyksen jälkeen oli 5,2. Seos lingottiin 8 000 x g 10 minuutin ajan, jonka jälkeen saatiin noin 45 ml sentrifugaattia ja 10 g sakkaa. Sakka pestiin kahdesti 5 ml vedellä ja erotettiin linkoamalla. Sakka oli väriltään harmahtava.

40       Kuiva-ainepitoisuus sentrifugaateissa oli 15,5 %, 9,2 % ja 4,1 %. Yhdessäkään sentrifugaatissa ei ollut tislatus veden lisäyksen jälkeen havaittavissa stromahajoamista.

Sakka painoi 2,9 g ja sisälsi 17,5 % kuiva-ainetta.

#### Esimerkki 2.

45       20 grammaan verisolumassaa lisättiin 15 ml 94 % kylmää etanolia. pH-arvo sovitettiin 5,3 arvoon 0,5 M rikkihapon avulla. Lopuksi lisättiin 10 ml vettä. Lisäyksen aikana jäädytettiin liuos -5°C asteeseen. Linkous ja pesu suoritettiin kuten esimerkissä 1. Saatiin noin 40 ml sentrifugaattia jonka kuiva-ainepitoisuus oli 14,9 % sekä 2,4 g sakkaa jonka kuiva-ainepitoisuus oli 18 %.

50       Sentrifugaatissa ei tapahtunut stromahajoamista tislatus veden lisäyksellä.

#### Esimerkki 3.

55       40 grammaan verisolumassaa, kuiva-ainepitoisuudeltaan 40,3 %, lisättiin samalla sekoittaen ja jäädyttäen seos 0 - -1°C asteeseen, liuos joka sisälsi 40 ml 94 % etanolia, 27 ml vettä ja 2,5 ml 0,5 M rikkihappoa. Seoksen pH-arvo oli lisäyksen jälkeen 5,4.

Seos lingottiin 8 000 x g 10 min ajan, jolloin saatiin noin 95 ml sentrifugaattia, kuiva-ainepitoisuudeltaan 14,4 %, sekä 13,8 g sakkaa.

Sakka pestiin kahdesti 10 ml 36 % etanolilla, lämpötila oli  $-1^{\circ}\text{C}$ .

60 Pesujen jälkeiset sentrifugaatit, 14 ml ja 13 ml sisälsivät kuiva-ainetta 7,1 % ja 4,2 %. Lopullinen sakka, määrältään 4,8 g, sisälsi kuiva-ainetta 19,2 %.

65 Vastaavalla tavalla voidaan verisolujen solukalvot rikkoa käyttämällä muita orgaanisia liuottimia, esim. toisia alkoholeja, etupäässä kuitenkin alifaattisia alkoholeja kuten metanolia, tai muita lyhytketjuisia alkoholeja. Jopa kaksiarvoisia alkoholeja kuten glykolia voidaan käyttää.

70 Solukalvon denaturoivan vaikutuksen aikaansaamiseksi on osoittautunut mahdolliseksi käyttää orgaanisia happoja, esim. etikka-, sitruuna- tai viinihappoa, tai epäorgaanisia happoja, esim. suola- tai rikkihappoa. Esimerkkinä muista denaturoivan vaikutuksen omaavista aineista mainittakoon virtsa-aine, ja esimerkkinä muista orgaanisista liuottimista asetooni ja etylasetaatti. Erikoisen ryhmän käyttökelpoisia denaturointiaineita muodostavat n.k. Tween-valmisteet.

75 Erittäin tehokas solukalvoja rikkova vaikutus on saatu sovittamalla verisoluja sisältävän liuoksen pH-arvo 5,0 ja 7,2 välille, etupäässä alueelle 5,1 - 5,8, samalla liuos jäähdyttäen.

Keksintö ei rajoitu yllämainittuihin esimerkkeihin, vaan on toteutettavissa allamainittujen patenttivaatimusten mukaisesti.

Patenttivaatimuksia.

1. Menetelmä punaisia verisoluja sisältävien nesteiden käsittelemiseksi jotta verisolujen solukalvot voidaan särkeä etanolin avulla, ja siten mahdollistaa verisolujen sisältämien arvokkaiden aineosasten talteenotto, t u n n e t t u s i i t ä, että neste ensin lingotaan jotta saadaan verisolumassaa johon sitten lisätään liuotinta, muodostuen pääasiassa etanoli-vesiseoksesta niin paljon että etanolimäärä tulee olemaan 10-70 % kokonaistilavuudesta, jäähdyttään siten että lämpötila on korkeintaan 0°C ja sovittaen pH-arvon välille 5,1 - 5,8.
2. Menetelmä patenttivaatimuksen 1 mukaan, t u n n e t t u siitä, että liuottimeen lisätään asetonia tai etylasetaattia.
3. Menetelmä jommankumman edellisen patenttivaatimuksen mukaan, t u n n e t t u siitä, että solukalvon rikkominen suoritetaan väkevöidyssä liuoksessa jonka kuiva-ainepitoisuus on noin 35 %.
4. Menetelmä jonkin edellämainitun patenttivaatimuksen mukaan, t u n n e t t u siitä, että solukalvon rikkomisen jälkeen neste erotetaan, etupäässä linkoamalla, jotta saadaan liukoiset valkuaisaineet sisältävä neste ja kiinteä aines, joka sisältää pääasiassa solukalvomateriaa.
5. Menetelmä jonkin edellämainitun patenttivaatimuksen mukaan, t u n n e t t u siitä, että neste tai sen tiiviste ensin jäähdytetään noin 0°C asteeseen jonka jälkeen lisätään liuotin.
6. Menetelmä jonkin edellämainitun patenttivaatimuksen mukaan, t u n n e t t u siitä, että solukalvon rikkominen suoritetaan lämpötila-alueella -20 - 0°C.

P a t e n t k r a v

1. Sätt att behandla vätskor innehållande röda blodkroppar i avsikt att nedbryta cellmembranen hos blodkropparna genom användning av etanol, och därigenom möjliggöra tillvaratagandet av i blodkropparna ingående, värdefullt material, k ä n n e t e c k n a t därav, att vätskan först centrifugeras för erhållande av en blodkroppsgrot, varefter gröten tillsättes ett lösningsmedel i huvudsak bestående av en etanol-vattenblandning i sådan mängd att etanolhalten uppgår till 10 - 70 volymprocent, räknat på den totala lösningsmängden, under nedkylning till en temperatur av högst 0°C och vid ett pH-värde av 5.1 - 5.8.
2. Sätt enligt patentkravet 1, k ä n n e t e c k n a t därav, att lösningsmedlet tillsättes aceton eller etylacetat.
3. Sätt enligt något av de föregående patentkraven, k ä n n e t e c k n a t därav, att nedbrytningen utföres i en vätska koncentrerad till en torrhalt av ca 35 %.
4. Sätt enligt något av de föregående patentkraven, k ä n n e t e c k n a t därav, att den efter nedbrytningen erhållna vätskan separeras, företrädesvis genom centrifugering, för erhållande av en vätska innehållande löst protein samt ett fast material i huvudsak innehållande membranmaterialet.
5. Sätt enligt något av de föregående patentkraven, k ä n n e t e c k n a t därav, att vätskan eller koncentratet först kyles till ca 0°C och därefter tillsättes lösningsmedlet.
6. Sätt enligt något av de föregående patentkraven, k ä n n e t e c k n a t därav, att nedbrytningen utföres vid en temperatur mellan -20°C och 0°C.

Viitejulkaisuja - Anförda publikationer

Julkisia suomalaisia patenttihakemuksia: - Offentliga finska patent-  
ansöknningar: \_\_\_\_\_

Hakemus-, kuulutus- ja patenttijulkaisuja - Ansökningspublikationer,  
utläggning- och patenskrifter:

Suomi - Finland \_\_\_\_\_

Iso-Britannia - Storbritannien \_\_\_\_\_

Norja - Norge \_\_\_\_\_

Ranska - Frankrike \_\_\_\_\_

Ruotsi - Sverige

49535 (532)

Saksa - BRD - Tyskland

291911 (5321)

Sveitsi - Schweiz \_\_\_\_\_

Tanska - Danmark \_\_\_\_\_

USA \_\_\_\_\_

Muita julkaisuja: - Andra publikationer:

Merkitse hakemusjulkaisun (esim. saksal. Offenlegungsschrift) numeron eteen H ja  
vastaavasti kuulutus- ja patenttijulkaisun numeron eteen K ja P

31.3.80

Kari Kari

Allekirjoitus