
Octrooiraad



[10] A **Terinzagelegging** [11] **7606464**

Nederland

[19] NL

- [54] Werkwijze voor het vormen van adsorptiekolommen ten gebruike bij radio-immunoproeven.
- [51] Int.Cl²: G01N31/06, G01N33/16.
- [71] Aanvrager: Union Carbide Corporation te New York.
- [74] Gem.: Dr. J.G. Frielink c.s.
NEDERLANDSCH OCTROOIBUREAU
Joh. de Wittlaan 15
's-Gravenhage.

-
- [21] Aanvraag Nr. 7606464.
- [22] Ingediend 15 juni 1976.
- [32] Voorrang vanaf 16 juni 1975.
- [33] Land van voorrang: Ver. St. v. Am. (US).
- [31] Nummer van de voorrangsaanvraag: 587264.
- [23] --
- [61] --
- [62] --

[43] Ter inzage gelegd 20 december 1976.

De aan dit blad gehechte stukken zijn een afdruk van de oorspronkelijk ingediende beschrijving met conclusie(s) en eventuele tekening(en).

N.O. 116 784

Union Carbide Corporation, te New York, N.Y. Ver. Staten van
Amerika

Werkwijze voor het vormen van adsorptiekolommen ten ge-
briike bij radio-immunoproeven.

De uitvinding heeft in het algemeen betrekking op adsorptie-
kolommen. Volgens een eerste aspect heeft de uitvinding meer in
het bijzonder betrekking op adsorptiekolommen, die bruikbaar zijn
bij radio-immunoproeven. Volgens een ander aspect heeft de uit-
vinding betrekking op een werkwijze voor het vormen van kolommen.

5

Er bestaat tegenwoordig vraag naar automatische analyse-
inrichtingen, die een snelle uitvoering van analyses mogelijk ma-
ken, in verband met de steeds hogere eisen aan microanalyseonder-
zoek bij biochemische research, klinische routineonderzoek, enzym-
onderzoek en dergelijke. Tegenwoordige komen analyseinrichtingen,
waarin gebruik gemaakt wordt van centrifugaalkrachten en die ver-
scheidene afdelingen voor het uitvoeren van parallelle-analyses
bezitten, ter beschikking voor een snelle micro-analyse van aller-
lei vloeistoffen, zoals lichaamsvloeistoffen, bijvoorbeeld bloëd-
serum, voedingsprodukten en dergelijke.

10

15

Bij deze inrichtingen is het dikwijls van kritisch belang,
dat op precies hetzelfde moment aangevangen wordt met een reeks
reacties, wil men betrouwbare resultaten kunnen verkrijgen. Dit
is in het bijzonder van belang voor enzymonderzoekingen, waarbij
dikwijls metingen kunnen worden uitgevoerd, nadat de reactie
slechts enkele seconden of minuten voortgang heeft gevonden.

20

In bepaalde van deze inrichtingen kunnen adsorptiekolommen
worden gebruikt voor het scheiden van de te analyseren componen-
ten. Wanneer echter adsorptiekolommen worden gebruikt in inrich-
tingen, waarin van centrifugaal krachten gebruik wordt gemaakt,
treedt ten gevolge van het verloren gaan van het water in de tus-
senruimten het verdere probleem van scheurvorming of compactering
in de kolom op. Daar vele analyses gelijktijdig kunnen worden

25

7606464

uitgevoerd, moeten de kolommen goedkoop zijn en moeten zij een uniform en gemakkelijk gebruik mogelijk maken.

Bij toepassing van de uitvinding zullen daarom één of meer van de volgende doelstellingen worden bereikt. Zo heeft de uitvinding ten doel adsorptiekolommen te verschaffen, die bruikbaar zijn in systemen voor radio-immuunproeven. Tevens heeft de uitvinding ten doel adsorptiekolommen te verschaffen die gebruikt kunnen worden in analysesystemen, waarin de centrifugaalkracht wordt benut voor het mengen en transporteren van reactiecomponenten. Bovendien heeft de uitvinding ten doel adsorptiekolommen te verschaffen, die op veilige wijze kunnen worden bewerkt, totdat zij moeten worden gebruikt. Verder heeft de uitvinding ten doel kolommen te verschaffen, die een uniform gelsubstraat bevatten. Tevens heeft de uitvinding ten doel een werkwijze te verschaffen voor het vormen van de kolommen. Bovendien heeft de uitvinding ten doel een werkwijze te verschaffen om de begrenzingsschijven hydrofiel te maken. Eveneens heeft de uitvinding ten doel een werkwijze te verschaffen voor het beladen en ontgassen van de kolom.

Deze en andere doelstellingen zullen de deskundigen op het onderhavige gebied duidelijk worden uit de volgende beschrijving en de bijgaande tekening.

De bijgaande tekening toont een beeld in dwarsdoorsnede van de adsorptiekolom volgens de uitvinding. De kolom 10 kan uit vrijwel elk inert materiaal, zoals glas, kunststof en dergelijke, bestaan. Een materiaal, dat de voorkeur verdient, is polystyreen, dat doorzichtig en licht is en niet gemakkelijk breekt. Kolom 10 bezit een lengte van ongeveer 100 mm en bezit een uitwendige cilinderdiameter van ongeveer 10 mm. De kolom kan ongeveer 2,5 ml vloeistof bevatten. De punt 12 bezit een inwendige diameter van ongeveer 1 mm, terwijl het bovenreservoir 14 een uitwendige diameter van ongeveer 20 mm bezit. Puntafsluiter 16 en stop 18 dienen voor het afsluiten van de betreffende einden van de kolom. Begrenzingsschijf 20 en bovenschijf 22 bestaan uit een materiaal, bij voorkeur een kunststofmateriaal, zoals polyetheen, dat op de onderstaand beschreven wijze hydrofiel is gemaakt. In de cilinder van de kolom bevindt zich tussen de twee schijven gel 24. Kolommen, die kunnen worden toegepast, zijn de kolommen, die ge-

leverd worden door de Sorstedt Company onder de handelsnaam "Sorpette".

De uitvinding is in het algemeen gesteld gericht op adsorptiekolommen, die bruikbaar zijn bij radio-immunoproeven, alsmede op een werkwijze voor het vormen daarvan. De kolommen worden gereed gemaakt volgens een werkwijze, die de volgende trappen omvat:

- 1) Opnemen in een cilindervormige kolom, die aan beide einden open is en een middengedeelte met een vrijwel uniforme diameter bezit alsmede een onderste gedeelte, dat tot een kleinere diameter dan het middengedeelte taps toeloopt, en een bovenste gedeelte, dat een grotere diameter dan het middengedeelte bezit, van een eerste poreus hydrofiel begrenzingsorgaan op zodanige wijze, dat dit eerste begrenzingsorgaan in de kolom wordt geplaatst op een punt waarin het middengedeelte zich tot een kleinere diameter vernauwt; 10
- 2) Vullen van de kolom met een waterhoudende brij van een scheidingsmedium, dat in staat is selectief één of meer componenten vast te houden, die aan de kolom worden toegevoerd;
- 3) Opnemen in de kolom van een tweede poreus hydrofiel begrenzingsorgaan op zodanige wijze, dat het tweede begrenzingsorgaan aangebracht wordt in de kolom op een punt aan de bovenzijde van het scheidingsmedium ongeveer waar het middengedeelte zich tot een grotere diameter verwijdt; 20
- 4) Toevoeren van een voldoende hoeveelheid water aan de bovenzijde van de kolom om uitdrogen van het scheidingsmedium te voorkomen, en 25
- 5) bevestiging van verwijderbare afdichtorganen aan beide einden van de kolom.

Bij het vormen of gereed maken van de kolommen volgens de uitvinding treden diverse factoren op, die van belang zijn voor het bereiken van aanvaardbare resultaten. In de adsorptiekolommen, die in inrichtingen moeten worden gebruikt, waarin gebruik wordt gemaakt van een centrifugaalveld, is het van belang, dat het scheidingsmedium zich als de begrenzende stromingsweerstand gedraagt. De bovenste en onderste begrenzingsorganen moeten daarom vloeistof doorlaten met een grotere snelheid dan waarmee de vloeistof 35

stof door het scheidingsmedium wordt doorgelaten. De deeltjes van het scheidingsmedium dienen in het centrifugaalveld niet door het materiaal van het begrenzingsorgaan te worden gedrukt. Op soortgelijke wijze moet de poriëngrootte van het bovenste begrenzingsorgaan klein genoeg zijn om het scheidingsmedium tijdens het bewaren of het vervoer tegen te houden waarbij het mogelijk is, dat de kolom wordt omgekeerd.

Het materiaal, dat voor de begrenzingsorganen in de kolom wordt gebruikt, moet zonder scheuren of buigen bestand tegen een centrifugaalkracht, die ten minste ongeveer 5 malen de zwaartekracht bedraagt. Diverse materialen kunnen worden gebruikt, hoewel poreus polyetheen met een hoog soortelijk gewicht voor dit doel in het bijzonder de voorkeur verdient. Andere materialen, die eveneens kunnen worden toegepast maar minder de voorkeur verdienen, zijn nylon, teflon, copolymeren van etheen, zoals etheen/propeen-copolymeren, omdat het voor de begrenzingsorganen gekozen materiaal inherent een grotere doorstroming mogelijk moet maken dan het scheidingsmedium. In verband hiermee is het bij voorkeur toegepaste polyetheen vereist, dat het in de hydrofiele toestand wordt gebracht, zoals onderstaand nader wordt beschreven.

Het materiaal, dat, zoals opgemerkt, bij voorkeur als begrenzingsorganen worden gebruikt, is poreus polyetheen met een hoog soortelijk gewicht met een dikte van ongeveer 1,6 mm en een poreusheid tot ongeveer 30μ en een durometerhardheid van ongeveer 80 tot ongeveer 100.

Het gereed maken van de begrenzingsorganen of schijfjes wordt onderstaand nader in voorbeeld I beschreven. De behandeling kan worden uitgevoerd zowel vóór als na het snijden van het polyetheenveld. Hoewel chroomzuur als oxydatiemiddel de voorkeur verdient, kunnen eveneens andere oxydatiemiddelen worden gebruikt. Zo kunnen bijvoorbeeld salpeterzuur, perchloorzuur, kaliumpermanganaat, ozon en dergelijke worden toegepast. Desgewenst kan ook een thermische oxydatie worden toegepast.

Het deeltjesgroottetrajekt van het scheidingsmedium vormt een andere belangrijke factor voor het waarborgen van adsorptiekolommen met een hoge doorstroomsnelheid. Indien ten opzichte van de gemiddelde deeltjesgrootte in de kolommen een overmatige hoeveelheid

7606464

fijne deeltjes aanwezig is, zullen de stroomsnelheden in aanzienlijke mate worden verminderd. In tegenstelling daarmee zullen kolommen, die overvloedige hoeveelheden overmatig grote deeltjes ten opzichte van de gemiddelde deeltjesgrootte bevatten, het water in de tussenruimten snel verliezen ten gevolge van de verminderde capillariteit. Dit effect versnelt de scheurvorming van gevulde kolommen, die niet volledig in water zijn ondergedompeld, dat wil zeggen tijdens het ronddraaien in het centrifugaalveld. Het in de kolommen toegepaste deeltjesgroottetrajekt moet daarom smal genoeg zijn om de vorming van uniforme bedden mogelijk te maken. Een te ruim trajekt van deeltjesgrootten kan dikwijls aanleiding geven tot een ongelijkmatige verdeling over elke kolom, waardoor de resolutie bij de scheiding op nadelige wijze zal worden beïnvloed.

In de praktijk werd waargenomen, dat de adsorptiemedia, die in de bovenbeschreven centrifugaalinrichtingen worden toegepast, een gemiddelde deeltjesgrootte binnen het trajekt van ongeveer 20 tot ongeveer 80μ moeten bezitten. Bovendien dient niet meer dan 10% van de deeltjes van het scheidingsmedium buiten dit trajekt te vallen.

Hoewel diverse scheidingsmedia kunnen worden toegepast, bevat deze volgens de werkwijze van de uitvinding gevormde kolom bij voorkeur scheidingsmedia, die uit gelen, gelcombinaties, ionen uitwisselende harsen en dergelijke bestaan. Houtskool in poedervorm of kleine korrels kan eveneens worden gebruikt, maar verdient minder de voorkeur. Een medium, dat in het bijzonder de voorkeur verdient, is een gel, dat door Pharmacia in de handel wordt gebracht onder de benaming "Sephadex-G-25 Fine" en waarin ongeveer 90% van de deeltjes een deeltjesgrootte van ongeveer 20 tot ongeveer 80μ bezit.

Gevonden werd, dat kolommen gevormd kunnen worden met dit gel in de toestand, waarin het wordt ontvangen. Er is geen verwijdering van fijne deeltjes noodzakelijk zolang omstandigheden worden toegepast, waarbij dit gel-water-mengsel wordt gemengd zonder dat de geldeeltjes verder worden fijngemaakt. In dit opzicht werd na veel proefnemingen gevonden, dat de toepassing van een magnetische roerder ongewenst is, omdat bij het roeren met behulp van een

7606464

magnetische roerder de neiging bestaat tot een verder fijn maken van de deeltjes. De verkregen geloplossing was dan niet gelijkmatig, terwijl het bij het gebruik van de kolommen bij radio-immunoproeven moeilijk was reproduceerbare resultaten te verkrijgen. Gevonden werd, dat de toepassing van een van bovenaf bediende roerder de voorkeur verdiende en dat daarmee gelsuspensies met een uniforme deeltjesgrootte werden verkregen.

Een verder aspect, dat bij het vormen of gereed maken van de kolommen volgens de uitvinding van belang is, is de mengverhouding van scheidingsmedium tot water. De verhouding is van belang om in elke kolom uniforme suspensievolumina te waarborgen, waardoor weer een uniform scheidingsvermogen wordt gewaarborgd. In de praktijk is een mengverhouding van het scheidingsmedium tot water van ongeveer 1 : 1,5 tot 1,5 : 1 bevredigend gebleken.

Volgens de voorschriften van de uitvinding bereid tingel dient niet te worden gekoeld, omdat het bij lage temperaturen moeilijk is mogelijk ingesloten lucht te verwijderen.

Zoals bovenstaand reeds is opgemerkt, zijn de adsorptiekolommen volgens de uitvinding bijzonder geschikt voor het gebruik bij radio-immunoproeven, in het bijzonder proeven, waarbij gebruik gemaakt wordt van de centrifugaalkracht voor het mengen, transporteren en scheiden van reactiecomponenten en/of omzettingen producten. De kolommen kunnen natuurlijk bij andere analysemethoden worden gebruikt, waarbij geen gebruik gemaakt wordt van een centrifugaalkracht, maar in dat geval bieden zij geen voordelen ten opzichte van de in de handel verkrijgbare kolommen. In verband met het feit, dat de gelsuspensie in de kolommen volgens de uitvinding aan centrifugaalkrachten wordt blootgesteld is het van belang, dat geen scheurvorming of compactering ten gevolge van het verloren gaan van water in de tussenruimten van de kolommen optreedt. Bovendien is het van even groot belang, dat de snelheid van de vloeistofstroming door de gelsuspensie, terwijl deze onder invloed van deze kracht verkeert, voor alle kolommen vrijwel uniform is, zodat de adsorptie of desorptie van de component(en) aan de hand van dit uniforme karakter kan worden gemeten. Al deze aspecten worden beïnvloed door de werkwijze voor het vormen of

gereed maken van de kolommen.

Een analyseinrichting, die in het bijzonder de voorkeur verdient en waarin de adsorptiekolommen volgens de uitvinding kunnen worden toegepast, is beschreven in octrooiaanvraag 75.05497 Ned. Zoals beschreven in de genoemde octrooiaanvraag, is de inrichting een analyseinrichting met vele parallelle analyseafdelingen, waarbij gebruik wordt gemaakt van een centrifugaalveld voor het mengen, transporteren en scheiden van reactiecomponenten en/of omzettingsprodukten. De inrichting kan op zodanige wijze worden gestuurd, dat slechts een partiele menging van componenten mogelijk wordt gemaakt, een incubatieperiode kan worden verschaft en een gelijktijdige scheiding en meting van de componenten plaats vindt. Zo worden de adsorptiekolommen volgens de uitvinding met voordeel in deze inrichting toegepast voor radio-immunoproeven van diverse samenstellingen, zoals lichaamsvloeistoffen, bijvoorbeeld bloedserum en dergelijke. Zo kunnen de adsorptiekolommen, die volgens de voorschriften van de onderstaande voorbeelden I tot IV gereed zijn gemaakt bijvoorbeeld worden gebruikt voor de micro-analyse van digoxine, trijoodthyronon (T-3), tetrajoodthyronine (T-4), T-3 absorptie, cortisol en dergelijke.

De uitvinding wordt nader beschreven aan de hand van de volgende voorbeelden, die alleen ter toelichting dienen en geen beperking inhouden.

Voorbeeld I

Prepareren van schijven voor de kolommen.

Uit een vel van polyetheen met een dikte van ongeveer 1,6 mm en een poreusheid van $25 \pm 3/\mu$ werden schijven met een uitwendige diameter van 7,87 tot 8,03 mm gesneden. De schijven werden vervolgens in aceton ondergedompeld en daarin rond geslingerd om alle vettigheid te verwijderen. Terwijl de schijven in het acetonbad aanwezig waren, werd vacuum getrokken, waarna de schijven onmiddellijk daarna in water werden ondergedompeld en gespoeld, waarbij ongeveer 1 liter water per 500 schijven werd gebruikt. Terwijl de schijven in het water aanwezig waren werd opnieuw vacuum getrokken. De schijven werden daarna overgebracht in een vat, dat gedeeltelijk met een sterk oxydatiemiddel was gevuld, om de schij-

7606464

ven van de hydrofobe toestand om te zetten in de hydrofiele toestand. Het oxydatiemiddel bestond uit een chroomzuuroplossing, die bereid was door 8 tot 10 g kaliumbichromaat in 35 tot 50 ml gedestilleerd of gedeïoniseerd water op te lossen in een beker-glas van 1500 tot 2000 ml, gevolgd door geleidelijke toevoeging onder roeren van 1 liter geconcentreerd zwavelzuur. Men hield de schijven in contact met het chroomzuur, totdat zij groen werden, hetgeen gewoonlijk ongeveer 5 tot 10 minuten vergde. De schijven werden daarna uit het zuur verwijderd en met gedestilleerd water gespoeld, totdat zij een wit of roomkleurig voorkomen bezaten. De voor deze wastrap vereiste periode bedroeg gewoonlijk 5 tot 10 minuten. De schijven werden in voldoende mate gespoeld om een pH van het waswater te bereiken, die gelijk was aan de pH van het toegevoerde water. De hydrofiele toestand van de schijven werd gecontroleerd door een droge schijf in een lege kunststofkolom te brengen en de schijf op zijn plaats aan te drukken, gevolgd door vullen van de kolom met water. De kolom moet dan onmiddellijk gaan druppelen, hetgeen erop wijst, dat de omzetting van de hydrofobe in de hydrofiele toestand is voltooid. De schijven werden onder gedestilleerd of gedeïoniseerd water bewaard.

Voorbeeld II

Bereiden van gelsuspensie.

In een dikwandig maatglas van pyrexglas werd een afgemeten hoeveelheid, gewoonlijk 40 tot 50 g van een verknoopt dextrangel gebracht, dat onder de benaming "Sephadex G-25 Fine" door Pharmacia Fine Chemicals Company in de handel wordt gebracht en een korrelgrootte van 20 tot 80 μ bezit. Vervolgens werd hetzij gedestilleerd hetzij gedeïoniseerd water toegevoegd in een hoeveelheid overeenkomende met 6 tot 8 maal het gewicht van het gel. Het mengsel werd daarna geroerd, totdat de suspensie homogeen was. Het mengsel werd gedurende een periode van ten minste één uur in een kokend waterbad gehouden. Nadat men de suspensie had laten afkoelen werd de volumeverhouding van vloeistofniveau tot het gelbed op zodanige wijze ingesteld, dat de tenslotte bereikte verhouding ongeveer 1:0,8 bedroeg. Hierna werden per 1000 vol.dln van de suspensie 0,10 g van een bacteriostatisch middel, zoals

7606464

Thimerosal, toegevoegd.

Voorbeeld III

Bereiding van gelsuspensie.

In een dikwandig maatglas van pyrexglas werd een afgemeten hoeveelheid, gewoonlijk 40 tot 50 g, van hetzelfde verknoopte dextrangel gebracht als toegepast bij voorbeeld II. Vervolgens werd hetzij gedestilleerd hetzij gedeïoniseerd water toegevoegd in een hoeveelheid overeenkomende met 6 tot 8 malen het gewicht van het gel, waarna het mengsel werd geroerd, totdat de suspensie homogeen was. Men liet het mengsel daarna gedurende een nacht bij kamertemperatuur staan. De volumeverhouding van vloeistofniveau tot gelbed werd op zodanige wijze ingesteld, dat de verhouding in gereede toestand ongeveer 10:0,8 bedroeg. Hierna werden per 100 vol.dln van de suspensie 0,10 g van een bacteriostatisch middel, zoals Thimerosal, toegevoegd. Vóór het gebruik werd de suspensie ontgast door alle luchtballen te verwijderen.

Voorbeeld IV

Gereed maken van de kolom.

Polystyreenkolommen met ^{een} uitwendige cilinderdiameter van ongeveer 9,02 mm en een lengte van ongeveer 102,75 mm, die door de Walter Sarstedt Company werden geleverd, werden in een in een schaal aangebracht rek rechtop gezet. Elke kolom werd eerst met gedestilleerd of gedeïoniseerd water gespoeld. Volgens voorbeeld I geprepareerde hydrofiele polyetheenschijven werden in het onderste gedeelte van de eigenlijke cilinder van de kolommen aangebracht met behulp van een aandrukwerktuig en met gedestilleerd water bevochtigd. De gelsuspensie, die op de in voorbeeld II of voorbeeld III beschreven wijze was bereid, werd met behulp van een van bovenaf bediende met variabele snelheid roteerbare roerder gemengd met een matige snelheid van 500 tot 750 omwentelingen per minuut om een volkomen homogeen mengsel in stand te houden. Hierna werd in elk van de tevoren geassen kolommen telkens 5,0 ml van het gel gebracht. Men liet de gelsuspensie bezinken, zodat het niveau van het harsbed zich ongeveer 1,6 mm boven de eigenlijke cilinder van de kolom bevond. Ten minste 1 tot 2 ml water werd boven het gel gehouden, voordat de bovenste schijf werd aangebracht. Een tweede hydrofiele be-

7606464

grenzingsschijf, die volgens het voorschrift van voorbeeld I was vervaardigd, werd in het bovenste gedeelte van de eigenlijke cilinder aangebracht met behulp van een aandrukwerktuig, waarna het gedeelte van elk van de kolommen boven de schijf grondig met water werd gespoeld om de overmaat gel te verwijderen. Vervolgens werden 3,0 tot 4,0 ml van het gel zwelmiddel bij elk van de kolommen gevoegd, waarna men het reagens uit de kolom liet druppelen, totdat geen vloeistof meer op de bovenste schijf achterbleef. De kolommen werden daarna in gedestilleerd water bewaard, dat 0,01 vol.% van een bacteriostatisch middel, zoals Thimerosal bevatte.

5

10

Het zal duidelijk zijn, dat de uitvinding niet beperkt is tot de in de voorbeelden beschreven materialen maar dat de beschreven materialen geheel of gedeeltelijk door de andere expliciet vermelde alsmede overeenkomstige materialen kunnen worden vervangen zonder buiten het kader van de uitvinding te treden.

15

C O N C L U S I E S

1. Werkwijze voor het vormen van een adsorptiekolom, in het bijzonder om eenmaal te worden gebruikt bij radio-immunoproeven, met het kenmerk, dat men

(1) in een cilindervormige kolom, die aan beide einden open is en een middengedeelte met een vrijwel uniforme diameter bezit alsmede een onderste gedeelte, dat tot een kleinere diameter dan het middengedeelte taps toeloopt en een bovenste gedeelte, dat een grotere diameter dan het middengedeelte bezit, een eerste poreus hydrofiel begrenzingsorgaan op zodanige wijze opneemt, dat dit eerste begrenzingsorgaan in de kolom geplaatst wordt op een punt, waar het middengedeelte zich tot een kleinere diameter vernauwt,

20

25

(2) de kolom met een waterhoudende brij van een scheidingsmedium vult, dat in staat is selectief één of meer componenten vast te houden, die aan de kolom worden toegevoerd,

30

(3) in de kolom een tweede poreus hydrofiel begrenzingsorgaan op zodanige wijze opneemt, dat het tweede begrenzingsorgaan in de kolom aangebracht wordt op een punt aan de bovenzijde van het scheidingsmedium ongeveer waar het middengedeelte zich tot een grotere diameter verwijdt,

35

7606464

- (4) een voldoende hoeveelheid water aan de bovenzijde van de kolom toevoert om een uitdrogen van het scheidingsmedium te voorkomen, en eventueel
- (5) verwijderbare afdichtorganen aan beide einden van de kolom bevestigt.

2. Werkwijze volgens conclusie 1, met het kenmerk, dat het scheidingsmedium bestaat uit een brij van een gel in water met een mengverhouding van water tot gel van ongeveer 1:1,5 tot ongeveer 1,5:1.

3. Werkwijze volgens conclusie 1 of 2, met het kenmerk, dat het scheidingsmedium bestaat uit een brij van een gel, dat een gemiddelde deeltjesgrootte van ongeveer 20 tot ongeveer 80μ bezit. 1

4. Werkwijze volgens een of meer der voorafgaande conclusies, met het kenmerk, dat het scheidingsmedium bestaat uit een brij van verknoopt dextran in water. 1

5. Werkwijze volgens een of meer der conclusies 1-3, met het kenmerk, dat het scheidingsmedium bestaat uit een brij van houtskool in water.

6. Werkwijze volgens een of meer der voorafgaande conclusies, met het kenmerk, dat de begrenziingsorganen bestaan uit een poreus polyetheenmateriaal. 2

7. Werkwijze volgens conclusie 6, met het kenmerk, dat de begrenziingsorganen een poreusheid tot ongeveer 30μ bezitten. 2

8. Werkwijze volgens conclusie 6 of 7, met het kenmerk, dat de begrenziingsorganen een durometersterkte van ongeveer 80 tot ongeveer 100 bezitten.

9. Werkwijze volgens een of meer der voorafgaande conclusies, met het kenmerk, dat de begrenziingsorganen hydrofiel worden gemaakt door behandeling met een oxydatiemiddel. 3

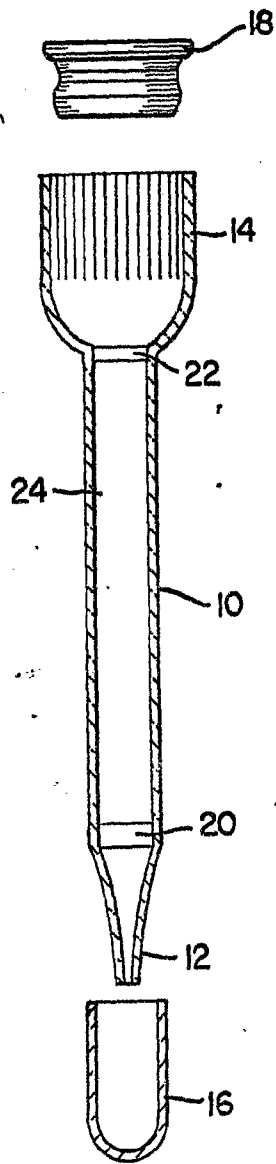
10. Werkwijze volgens conclusie 9, met het kenmerk, dat men als oxydatiemiddel chroomzuur gebruikt.

11. Werkwijze volgens conclusie 9 of 10, met het kenmerk, dat men de begrenziingsorganen, voordat men deze met het oxydatiemiddel in contact brengt, achtereenvolgens in aceton en water wast en daarbij evacueert. 3

7606464

12. Adsorptiekolom ten gebruike bij radio-immunoproeven te verkrijgen volgens de werkwijze van een of meer der voorafgaande conclusies.

7606464



UNION CARBIDE CORPORATION, te New York

7606464