

19



Bureau voor de
Industriële Eigendom
Nederland

11 1005027

12 C OCTROOI²⁰

21 Aanvraag om octrooi: 1005027

22 Ingediend: 17.01.97

51 Int.Cl.⁶
C08J3/28, A61K35/16, B01D57/02,
B01J19/06, B01J19/08, C07H1/06,
C07K1/26, F15D1/00, C08F120/56

41 Ingeschreven:
18.07.97 I.E. 97/09

47 Dagtekening:
20.07.98

45 Uitgegeven:
01.09.98 I.E. 98/09

73 Octrooihouder(s):
Franciscus Matheus Everaerts te Weert.
Theodorus Petrus Eugenius Marie Verheggen te
Weert.

72 Uitvinder(s):
Franciscus Matheus Everaerts te Weert
Theodorus Petrus Eugenius Marie Verheggen te
Weert

74 Gemachtigde:
Drs. A. Kupecz c.s. te 1000 HB Amsterdam.

54 Werkwijze voor het wijzigen van de viscositeit of doorlaatbaarheid van een medium.

57 De uitvinding heeft betrekking op een werkwijze voor het wijzigen van een fysische eigenschap van een medium, waarbij de fysische eigenschap is gekozen uit doorlaatbaarheid en viscositeit, en het medium water en een organisch polymeer omvat. In plaats van, of naast gebruikelijke manieren om de viscositeit van een vloeistof of de doorlaatbaarheid van een gel aan te passen, wordt volgens de uitvinding de omgeving van het polymeer gewijzigd door het behandelen van het medium met elektromagnetische straling met een frequentie in het bereik van $5 \cdot 10^7$ tot 10^{10} Hz.

NL C 1005027

De inhoud van dit octrooi komt overeen met de oorspronkelijk ingediende beschrijving met conclusie(s) en eventuele tekeningen.

Werkwijze voor het wijzigen van de viscositeit of doorlaatbaarheid van een medium

De onderhavige uitvinding heeft betrekking op een werkwijze voor het wijzigen van een fysische eigenschap van een medium, waarbij de fysische eigenschap is gekozen uit doorlaatbaarheid en viscositeit, en het medium water en een
5 organisch polymeer omvat.

Het is algemeen bekend om de viscositeit van een een polymeer-bevattende vloeistof aan te passen door het wijzigen van de temperatuur, de ionsterkte of de pH. Hetzelfde geldt voor de viscositeit van een gel, of voor vaste gellen, de
10 doorlaatbaarheid daarvan voor andere moleculen, meestal andere polymeren zoals peptiden of nucleïnezuren.

De onderhavige uitvinding beoogt het aantal wijzen waarop de viscositeit respectievelijk de doorlaatbaarheid kan worden gecontroleerd uit te breiden.

15 Hiertoe wordt de werkwijze volgens de uitvinding gekenmerkt doordat de omgeving van het polymeer wordt gewijzigd door het behandelen van het medium met elektromagnetische straling met een frequentie in het bereik van $5 \cdot 10^7$ tot 10^{10} Hz.

20 Verrassenderwijs is gebleken dat met een dergelijke behandeling de viscositeit van een een polymeer-bevattende vloeistof of vloeibare gel kan worden gewijzigd. Afhankelijk van de aard van het polymeer kan de viscositeit worden verhoogd of verlaagd. Tevens is gebleken dat de doorlaatbaarheid van een vaste gel voor andere polymeren kan worden gewijzigd.
25

Bij voorkeur wordt als het polymeer een een acrylamidemonomeer-omvattend polymeer toegepast en heeft het medium de vorm van een vaste gel.

30 Een dergelijk medium kan met voordeel worden toegepast op het gebied van de scheiding van moleculen.

Derhalve heeft de uitvinding volgens een eerste gunstig aspect tevens betrekking op een werkwijze voor het elektroforeren van een mengsel van nucleïnezuurpolymeren onder gebruikmaking van een een acrylamidepolymeer-omvattende
35 gel.

Deze werkwijze wordt gekenmerkt doordat als de gel een volgens de uitvinding met elektromagnetische straling behandeld gelvormig medium wordt toegepast.

5 In de onderhavige aanvraag wordt onder de term nucleïnezuurpolymeer elke nucleïnezuurketen van biologische of natuurlijke oorsprong verstaan, waarbij de nucleïnezuurketen een RNA- of een DNA-keten kan zijn.

10 Volgens een tweede gunstig aspect van de uitvinding wordt een werkwijze verschaft voor het elektroforeren van een mengsel van peptiden onder gebruikmaking van een acrylamidepolymeer-omvattende gel.

Deze werkwijze wordt gekenmerkt doordat als de gel volgens de uitvinding een met elektromagnetische straling behandeld gelvormig medium wordt toegepast.

15 In de onderhavige aanvraag wordt onder de term peptide elke aminozuurketen van biologische of natuurlijke oorsprong verstaan en worden eiwitten door deze term mede omvat.

20 De gelvormige media volgens de uitvinding bieden de mogelijkheid van een uitgebreidere controle over de scheiding van, en daarmee een verbeterde scheiding van, DNA-, RNA- en eiwitmengsels.

25 Zonder aan deze theorie gebonden te zijn, wordt gemeend dat elektromagnetische straling binnen het genoemde frequentiebereik in staat is de structuur van het water te wijzigen. Het is in de stand van de techniek bekend dat watermoleculen zich niet louter chaotisch bewegen, doch dat in water enige mate van structuur voorkomt, zoals verschillende soorten clusters. Volgens aanvraagsters kan de verde-
30 ling van verschillende in water optredende structuren worden beïnvloed door gebruik te maken van elektromagnetische straling in het genoemde frequentiebereik, en kan daarmee de omgeving van het polymeer, en daarmee de viscositeit respectievelijk de doorlaatbaarheid, worden beïnvloed.

35 De uitvinding zal thans worden toegelicht aan de hand van de volgende, niet-beperkende voorbeelden. De viscositeitsmetingen werden uitgevoerd door een capillair met water te vullen. Dit water wordt verdrongen door het onder druk toevoeren van een vloeistof waaraan de viscositeit moet

worden bepaald. Aan de vloeistof is een geringe hoeveelheid kleurstof (sulfanilzuur) toegevoegd, en de tijd die de oplossing nodig heeft alvorens een detector nabij het einde van het capillair te bereiken is een maat voor de viscositeit.

5 Als controlemeting werd een niet-bestraalde, voor het overige identieke vloeistof gebruikt.

Voorbeeld I

Het effect van het bestralen op de viscositeit van een 2 gew./vol.% hydroxyethylcellulose-oplossing in water en
10 gepoold humaan bloedplasma werd onderzocht. De beide vloeistoffen werden onder koelen met lucht gedurende ten minste 2 uur bij ca. 90 MHz bestraald bij een vermogen van ca. 3 Watt. (De gebruikte inrichting is beschreven door Everaerts F.M. et al in J. Chromatog. Libr., deel 6, : Isotachophoresis, theory,
15 instrumentation and applications, Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam (1976). De enige modificatie was dat de elektronische schakeling was voorzien van een deklaag van goud om aantasting ervan door gevormd ozon te voorkomen.).

Voor gepoold humaan bloedplasma werd een viscositeitstoename van 2,6% waargenomen, voor de hydroxyethylcellulose-oplossing een afname van ca. 3%. Een ook onderzochte 4 gew./vol.% hydroxyethylcellulose-oplossing liet zelfs een afname zien van ca. 5,5%.

Voorbeeld II

25 Voor het onderzoek van het effect van bestralen op de viscositeit van een "lineaire verstrengelde polyacrylamide-gel" werd als volgt een PAA-gel bereid. Aan een 8 gew./vol.% acrylamide oplossing in 0,1 M Tris-boraatbuffer pH 8,3 werd 0,5% N,N,N',N'-tetramethyleendiamine (TEMED) en
30 0,08% ammoniumpersulfaat toegevoegd. Het reactiemengsel werd gedurende 24 uur bij 40°C gehouden. Na polymerisatie werd de verkregen oplossing met gedeïoniseerd water verdund tot 3 gew./vol.% acrylamide. De oplossing werd, zoals beschreven in voorbeeld I, gedurende 2 uur bestraald. In vergelijking met
35 de niet-bestraalde controle was de viscositeit ca. 1,6% hoger.

Volgens een gunstige uitvoeringsvorm van het uitvoeren van capillaire elektroforese wordt als het acrylamide-polymeer-omvattende gelvormige medium (C_{0.4})alkylhydroxy-

(C₁₋₄)alkylcellulose en niet-vernet acrylamidepolymeer omvat-
tend medium toegepast, waarbij de verhouding van (C₀₋₄)alkyl-
hydroxy(C₁₋₄)alkylcellulose en niet-vernet acrylamidepolymeer
zodanig is gekozen dat een, als gevolg van bestraling, met
5 acrylamidepolymeer gepaard gaande viscositeitsverhoging wordt
gecompenseerd door een, als gevolg van bestraling, met (C₀₋₄)-
alkylhydroxy(C₁₋₄)alkylcellulose gepaard gaande viscositeits-
verlaging.

Voorbeelden van geschikte cellulosederivaten zijn
10 hydroxyethylcellulose en met een CH₃O(CH₂)₃-groep gesubsti-
tueerde cellulose. Aldus kan de doorlaatbaarheid worden
ingesteld zonder dat de viscositeit van de voor capillaire
elektroforese gebruikte gel wordt beïnvloed. Dit maakt het
mogelijk het transport van bijvoorbeeld eiwitten of nucleïne-
15 zuren door de gel te wijzigen, zonder een gelijktijdige
verandering van de viscositeit, door het aanpassen van de
duur en of intensiteit van de bestraling. De combinatie van
de twee polymeren kan worden gezien als een driedimensionaal
netwerk, waarbij de vernetting niet chemisch doch fysisch van
aard is.

CONCLUSIES

1. Werkwijze voor het wijzigen van een fysische eigenschap van een medium, waarbij de fysische eigenschap is gekozen uit doorlaatbaarheid en viscositeit, en het medium water en een organisch polymeer omvat, **met het kenmerk**, dat de omgeving van het polymeer wordt gewijzigd door het behandelen van het medium met elektromagnetische straling met een frequentie in het bereik van $5 \cdot 10^7$ tot 10^{10} Hz.

2. Werkwijze volgens conclusie 1, **met het kenmerk**, dat als het polymeer een acrylamidemonomeer-omvattend polymeer wordt toegepast en het medium de vorm heeft van een vaste gel.

3. Werkwijze voor het elektroforeren van een mengsel van nucleïnezuurpolymeren onder gebruikmaking van een acrylamidepolymeer-omvattende gel, **met het kenmerk**, dat als de gel een volgens conclusie 2 met elektromagnetische straling behandeld gelvormig medium wordt toegepast.

4. Werkwijze voor het elektroforeren van een mengsel van peptiden onder gebruikmaking van een acrylamidepolymeer-omvattende gel, **met het kenmerk**, dat als de gel een volgens conclusie 2 met elektromagnetische straling behandeld gelvormig medium wordt toegepast.

5. Werkwijze volgens conclusie 3 of 4, **met het kenmerk**, dat voor capillaire elektroforese als het acrylamidepolymeer-omvattende gelvormige medium een (C_{0-4}) alkylhydroxy (C_{1-4}) alkylcellulose en niet-vernet acrylamidepolymeer omvattend medium wordt toegepast, waarbij de verhouding van (C_{0-4}) alkylhydroxy (C_{1-4}) alkylcellulose en niet-vernet acrylamidepolymeer zodanig is gekozen dat een, als gevolg van bestraling, met acrylamidepolymeer gepaard gaande viscositeitsverhoging wordt gecompenseerd door een, als gevolg van bestraling, met (C_{0-4}) alkylhydroxy (C_{1-4}) alkylcellulose gepaardgaande viscositeitsverlaging.



**RAPPORT BETREFFENDE HET ONDERZOEK
NAAR DE STAND VAN DE TECHNIEK**

Octrooiaanvraag Nr.:

NO 133800
NL 1005027

VAN BELANG ZIJNDE LITERATUUR			
Categorie	Vermelding van literatuur met aanduiding voor zover nodig, van speciaal van belang zijnde passages	Van belang voor conclusie(s)Nr.:	Internationale classificatie (toegekend door de Octrooiraad)
X	DATABASE WPI Section Ch, Week 8147 Derwent Publications Ltd., London, GB; Class A14, AN 81-86200D XP002043565 & JP 56 129 208 A (MITSUBISHI CHEM IND LTD) , 9 Oktober 1981 * samenvatting *	1,2	C08J3/28 B01D57/02 G01N27/26 //C08L33:26
A	--- PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 012, no. 295 (P-743), 11 Augustus 1988 & JP 63 070156 A (FUJI PHOTO FILM CO LTD), 30 Maart 1988, * samenvatting *	1	Onderzochte gebieden van de techniek C08J B01D G01N C07K C02F C08L
A	--- DATABASE WPI Section Ch, Week 9404 Derwent Publications Ltd., London, GB; Class B04, AN 94-031831 XP002043566 & JP 05 339 300 A (TAIYO KAGAKU KK) , 21 December 1993 * samenvatting *	1	
A	--- US 5 324 401 A (YEUNG EDWARD S ET AL) 28 Juni 1994 * conclusies 1,15 * -----	1	
Indien gewijzigde conclusies zijn ingediend, heeft dit rapport betrekking op de conclusies ingediend op			
Plaats van onderzoek		Datum waarop het onderzoek werd voltooid	Vooronderzoeker (EOB)
'S-GRAVENHAGE		14 Oktober 1997	Niaounakis, M
CATEGORIE VAN DE VERMELDE LITERATUUR X : op zichzelf van bijzonder belang Y : van bijzonder belang in samenhang met andere documenten van dezelfde categorie A : achtergrond van de stand van de techniek O : verwijzend naar niet op schrift gestelde stand van de techniek P : literatuur gepubliceerd tussen voorrangs- en indieningsdatum T : niet tijdig gepubliceerde literatuur over theorie of principe ten grondslag liggend aan de uitvinding E : andere octrooipublicatie maar gepubliceerd op of na indieningsdatum D : in de aanvraag genoemd L : om andere redenen vermelde literatuur & : lid van dezelfde octroofamilie, corresponderende literatuur document			

**AANHANGSEL BEHORENDE BIJ HET RAPPORT BETREFFENDE
HET ONDERZOEK NAAR DE STAND VAN DE TECHNIEK,
UITGEVOERD IN DE OCTROOIAANVRAGE NR.**

NO 133800
NL 1005027

Het aanhangsel bevat een opgave van elders gepubliceerde octrooiaanvragen of octrooien (zogenaamde leden van dezelfde octrooifamilie), die overeenkomen met octrooischriften genoemd in het rapport.
De opgave is samengesteld aan de hand van gegevens uit het computerbestand van het Europees Octrooibureau per
De juistheid en volledigheid van deze opgave wordt noch door het Europees Octrooibureau, noch door de Octrooiraad gegarandeerd ;
de gegevens worden verstrekt voor informatiedoeleinden.

14-10-1997

In het rapport genoemd octrooigeschrift	Datum van publicatie	Overeenkomend(e) geschrift(en)	Datum van publicatie
US 5324401 A	28-06-94	WO 9418552 A US 5498324 A	18-08-94 12-03-96
