

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第6924750号
(P6924750)

(45) 発行日 令和3年8月25日(2021.8.25)

(24) 登録日 令和3年8月4日(2021.8.4)

(51) Int. Cl.	F I
B O 1 D 15/34 (2006.01)	B O 1 D 15/34
B O 1 D 71/82 (2006.01)	B O 1 D 71/82 5 0 0
B O 1 D 39/16 (2006.01)	B O 1 D 39/16 A
G O 1 N 33/48 (2006.01)	B O 1 D 39/16 C
C 1 2 M 1/12 (2006.01)	G O 1 N 33/48 A
請求項の数 10 (全 35 頁) 最終頁に続く	

(21) 出願番号	特願2018-520105 (P2018-520105)	(73) 特許権者	505005049
(86) (22) 出願日	平成28年10月11日 (2016.10.11)		スリーエム イノベイティブ プロパティ
(65) 公表番号	特表2018-538127 (P2018-538127A)		ズ カンパニー
(43) 公表日	平成30年12月27日 (2018.12.27)		アメリカ合衆国, ミネソタ州 5 5 1 3 3
(86) 国際出願番号	PCT/US2016/056326		- 3 4 2 7, セント ポール, ポスト オ
(87) 国際公開番号	W02017/069965		フィス ボックス 3 3 4 2 7, スリーエ
(87) 国際公開日	平成29年4月27日 (2017.4.27)	(74) 代理人	100110803
審査請求日	令和1年10月10日 (2019.10.10)		弁理士 赤澤 太朗
(31) 優先権主張番号	62/245,403	(74) 代理人	100135909
(32) 優先日	平成27年10月23日 (2015.10.23)		弁理士 野村 和歌子
(33) 優先権主張国・地域又は機関	米国 (US)	(74) 代理人	100133042
			弁理士 佃 誠玄
		(74) 代理人	100157185
			弁理士 吉野 亮平
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 生体材料精製用の濾過媒体配列

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

(i i i) 複数の第四級アンモニウム基を含む陰イオン交換不織布基材を含む、第 1 の濾過媒体と、

(i v) 複数のグアニジル基を含む官能化微多孔質膜を含む、第 2 の濾過媒体と、を含み、

前記第 1 の濾過媒体が前記第 2 の濾過媒体の上流に配置されている、濾過媒体配列。

【請求項 2】

前記第 1 の濾過媒体が、前記第 1 の濾過媒体 1 グラム当たり少なくとも 0 . 1 m m o l の第四級アンモニウム基を含む、請求項 1 に記載の濾過媒体配列。

10

【請求項 3】

前記第 2 の濾過媒体が、前記第 2 の濾過媒体 1 グラム当たり少なくとも 0 . 0 1 m m o l のグアニジル基を含む、請求項 1 又は 2 に記載の濾過媒体配列。

【請求項 4】

前記第 1 の濾過媒体が、不織布基材の表面にグラフトされたポリマーを含み、前記ポリマーが、

(a) 8 0 ~ 9 8 重量%のアミノアルキル(メタ)アクリロイルモノマーと、

(b) 2 ~ 2 0 重量%のポリ(アルキレンオキシド)モノマーと、

(c) 0 ~ 1 0 重量%のアミノアルキル(メタ)アクリロイルモノマー及びポリ(アルキレンオキシド)モノマーではない親水性モノマーと、が共重合したモノマー単位を含む

20

、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の濾過媒体配列。

【請求項 5】

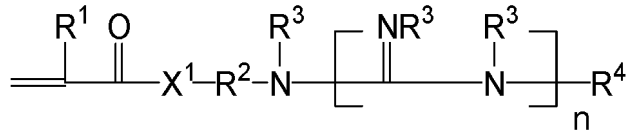
前記第 1 の濾過媒体が、不織布基材の表面にグラフトされたポリマーを含み、前記ポリマーが、

- (a) 10 ~ 50 重量%の第四級アンモニウム含有リガンドモノマーと、
- (b) 10 ~ 80 重量%のアミドモノマーと、
- (c) 10 ~ 40 重量%のオキシモノマーと、
- (d) 0 ~ 30 重量%のポリ(アルキレンオキシド)モノマーと、が共重合したモノマー単位を含む、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の濾過媒体配列。

【請求項 6】

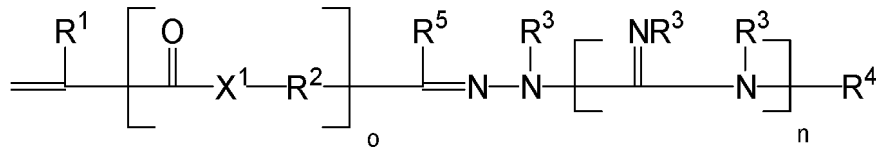
前記官能化微多孔質膜がフリーラジカルグラフト化グアニジル官能性(メタ)アクリロイルモノマーを含み、前記グアニジル官能性(メタ)アクリロイルモノマーが、

【化 1】



及び

【化 2】



[式中、

R¹ は H 又は C₁ ~ C₄ アルキルであり、

R² は (ヘテロ) ヒドロカルビル基であり、

各 R³ は独立して H 又はヒドロカルビルであり、

R⁴ は H、C₁ ~ C₁₂ アルキル又は -N(R³)₂ であり、

R⁵ は H 又はヒドロカルビルであり、

X¹ は -O- 又は -NR³- であり、

o は 0 又は 1 であり、かつ

n は 1 又は 2 である] のうちの少なくとも 1 つを含む、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の濾過媒体配列。

【請求項 7】

前記フリーラジカルグラフト化グアニジル官能性(メタ)アクリロイルモノマーが、微多孔質膜上に配置されたプライマー層にグラフトされ、

前記プライマー層が、エチレン性不飽和重合性基を有する架橋ポリアミンポリマーを含み、

エチレン性不飽和重合性基を有する前記架橋ポリアミンポリマーが、

- (a) ポリアミンポリマーと、
- (b) 前記ポリアミンポリマーのための多官能性架橋剤と、
- (c) アミン反応性官能基及びエチレン性不飽和重合性基を有するモノマーと、の反応生成物である、請求項 6 に記載の濾過媒体配列。

【請求項 8】

前記第 1 の濾過媒体と前記第 2 の濾過媒体との間に配置された非官能化濾過媒体を更に含む、請求項 1 ~ 7 のいずれか一項に記載の濾過媒体配列。

【請求項 9】

流体入口と、

流体出口と、

10

20

30

40

50

前記流体入口及び前記流体出口を流体連通する濾過媒体と、を含み、
前記濾過媒体が、

(i) 複数の第四級アンモニウム基を含む陰イオン交換不織布基材を含む、第 1 の濾過媒体と、

(i i) 複数のグアニジル基を含む官能化微多孔質膜を含む、第 2 の濾過媒体と、を含み、かつ

前記第 1 の濾過媒体が前記第 2 の濾過媒体の上流に配置されている、フィルタ装置。

【請求項 10】

生体流体の濾過方法であって、前記方法が、

(a) 標的生体分子及び夾雑物を含む前記生体流体を準備することと、

(b) 前記生体流体を、請求項 1 ~ 8 のいずれか一項に記載の濾過媒体配列に接触させて濾過流体を得ることと、を含む、方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

官能化不織布(functionalized nonwoven: 官能化した不織布)及び官能化多孔質膜(functionalized porous membrane: 官能化した多孔質膜)を含む、濾過媒体配列(filtration medium sequence)を開示する。濾過媒体配列は、例えば、生体材料の精製において有用である。

【背景技術】

【0002】

タンパク質等の治療に有用な標的生体材料の大規模又は商業規模の製造は、所望のタンパク質を産生するように設計された細胞を、管理された条件下において、バイオリクター中で増殖させることによって実施することができる。用いられる技術は、例えば、組み換え DNA 技術によって改変された微生物の発酵、又はハイブリドーマ技術によって改変された哺乳動物細胞の培養を伴う。細胞は、塩、糖、タンパク質、及び特定の細胞の増殖の維持に必要な各種の因子を含有する培養液中に懸濁される。所望の生成物は、細胞によって培養液中に分泌される、又は、細胞体内に保持されるのいずれかであり得る。次いで、収穫した培養液を処理し、所望の生成物を回収し、精製し、かつ濃縮する。

【0003】

これらの標的生体材料を不均質な混合物から分離又は精製するのは、少なくとも以下の理由により、困難な作業であることが分かっている。すなわち、所望のタンパク質は、多くの場合、かなりの量の微粒子及び可溶性夾雑物を含む全細胞培養流体のごく一部に過ぎない。また、細胞培養流体は高塩濃度を有する場合がある。

【0004】

これらの要因の結果、精製生成物を多量に生成するためには、広範な後続処理を用いる必要があった。このような後続処理は、標的生体材料の産生に続いて実施される、例えば、遠心分離、細胞破碎、機械的ふるい分け、精密濾過、イオン交換、クロスフロー濾過、アフィニティー分離、滅菌、精製、及び包装といった、多段階の処理を含む。後続処理は、バイオプロセス製品の生産において、大きなコストとなる。

【0005】

流体混合物から標的生体材料を精製又は分離するための、各種の濾過物品が記載されている。米国特許出願公開第 2011/0207196 号(Koehler et al.)は、DNA 等の夾雑物を保持し、その一方でバイオテクノロジープロセスによるタンパク質はその中を通過可能である、無機複水酸化物層を有するデプスフィルタ層を記載している。米国特許第 5,567,615 号(Degen et al.)は、生物活性化合物の単離に特に有用であると言われる動的濾過を伴うアフィニティー分離法を記載している。米国特許出願公開第 2012/0252091(Rasmussen et al.)は、中性又は負に帯電した生体材料を結合する親和性を有するポリマーをグラフトした、基材を記載している。

10

20

30

40

50

【発明の概要】

【0006】

流体試料からの生体材料の単離及び／又は精製の費用効率を上げるための濾過媒体に対する要望が存在する。このような効率は、処理工程の削減による処理量の増大、それぞれの工程の処理量の増大、及び／又は夾雑物のより良好な除去による後続の精製装置（例えばクロマトグラフィーカラム又はフィルタ等）に負荷される不純物の削減といった形態であり得る。

【0007】

一態様において、

(i) 複数の第四級アンモニウム基を含む陰イオン交換不織布基材を含む、第1の濾過媒体と、

(ii) 複数のグアニジル基を含む官能化微多孔質膜（functionalized microporous membrane：官能化した微多孔質膜）を含む、第2の濾過媒体と、を含み、

第1の濾過媒体が第2の濾過媒体の上流に配置されている、濾過媒体配列が記載される。

【0008】

別の態様において、

(a) 標的生体材料及び夾雑物を含む生体流体を準備することと、

(b) 生体流体を、

(i) 複数の第四級アンモニウム基を含む陰イオン交換不織布基材を含む、第1の濾過媒体と、

(ii) 複数のグアニジル基を含む官能化微多孔質膜を含む、第2の濾過媒体と、を含み、第1の濾過媒体が第2の濾過媒体の上流に配置されている濾過媒体配列と接触させることと、を含み、生体流体の濾過方法が記載される。

【0009】

上記の発明の概要は、各実施形態について説明することを意図するものではない。本発明の1つ以上の実施形態の詳細についても、以下の明細書に記載する。他の特徴、目的、及び利点は、本明細書及び特許請求の範囲から明らかとなる。

【図面の簡単な説明】

【0010】

【図1】複数のブリーツを含む多層物品に成形された、本開示による濾過媒体配列の例示的な実施形態の斜視図である。

【0011】

【図2】レンズ状の形態で提供され、かつ本開示による濾過媒体配列を含む例示的なフィルタ装置の断面図である。

【0012】

【図3】封入形態で提供され、かつ本開示による濾過媒体配列を含む例示的なフィルタ装置の斜視及び部分破断図である。

【0013】

【図4】封入形態で提供され、かつ本開示による濾過媒体配列を含むブリーツ状の媒体シリンダを含む、例示的なフィルタ装置の、図3の4-4で切断した断面図である。

【0014】

【図5】封入形態で提供され、かつコアを含み、本開示による濾過媒体配列がコアの周りに渦巻状に巻かれている例示的なフィルタ装置の、図3の4-4で切断した断面図である。

【0015】

【図6】実施例3及び比較例C6～C8についての、処理量に対する圧力のプロットである。

【0016】

【図7】CHO遠心分離液4並びに実施例6～8及び比較例C11からの濾過流体のSD

10

20

30

40

50

S - P A G Eゲルの写真である。

【 0 0 1 7 】

上記の図 1 ~ 5 は本開示のいくつかの実施形態を示すが、説明において記述するように、他の実施形態も企図される。全ての場合において、本開示は本開示を代表的に提示するものであって、限定するものではない。

【 発明を実施するための形態 】

【 0 0 1 8 】

本明細書で用いる場合、用語

「アルキル」は、1 ~ 約 1 2 個の炭素原子を有する、直鎖又は分枝鎖の、環状又は非環状の、飽和一価炭化水素、例えば、メチル、エチル、1 - プロピル、2 - プロピル、ペンチル等を意味する。

10

「アルキレン」は、1 ~ 約 1 2 個の炭素原子を有する直鎖飽和二価の炭化水素、又は 3 ~ 約 1 2 個の炭素原子を有する分枝鎖飽和二価の炭化水素、例えば、メチレン、エチレン、プロピレン、2 - メチルプロピレン、ペンチレン、ヘキシレン等を意味する。

「アルケニル」は、2 ~ 約 1 2 個の炭素原子を有する直鎖不飽和一価炭化水素、又は 3 個 ~ 約 1 2 個の炭素原子を有する分枝鎖不飽和炭化水素を意味する。

「アルケノイル」は、カルボニル (- C (= O) -) 基を含むアルケニル基を意味する。

「アリール」は、一価の芳香族、例えば、フェニル、ナフチル等を意味する。

「グアニジル」は、グアニジン及びビグアナイドのうちの少なくとも 1 つから選択される官能基を意味する。

20

「ヘテロアリーレン」は、芳香族及び複素環である二価の基を指す。すなわち、ヘテロアリーレンは、5 又は 6 員を有する芳香環中に少なくとも 1 つのヘテロ原子を含む。好適なヘテロ原子は、典型的には、オキシ、チオ、又はアミノである。この基は、連結している、縮合している、又はこれらの組み合わせである 1 ~ 5 個の環を有し得る。少なくとも 1 つの環は複素芳香環であり、かつその他の基は、芳香環、非芳香環、複素環、炭素環、又はこれらの組み合わせであり得る。いくつかの実施形態において、ヘテロアリーレンは最大 5 個、最大 4 個、最大 3 個、最大 2 個、又は 1 個の環を有する。ヘテロアリーレン基の例としては、これらに限定されるものではないが、トリアジン - ジイル、ピリジン - ジイル、ピリミジン - ジイル、ピリダジン - ジイル等が挙げられる。

30

「ヒドロカルビル」は、アリール及びアルキルを含む。

「(ヘテロ)ヒドロカルビル」は、ヒドロカルビルアルキル及びアリール基、並びにヘテロヒドロカルビルヘテロアルキル及びヘテロアリール基を含み、後者は、1 つ以上のカテナリー (鎖中) ヘテロ原子、例えば、酸素原子又は窒素原子等を含む。ヘテロヒドロカルビルは、任意に、エステル官能基、アミド官能基、尿素官能基、ウレタン官能基、及びカーボネート官能基等の、1 つ以上のカテナリー (鎖中) 官能基を含有し得る。別途指示がない限り、非ポリマー (ヘテロ)ヒドロカルビル基は、典型的には、1 ~ 6 0 個の炭素原子を含有する。本明細書で用いられるようなヘテロヒドロカルビルのいくつかの例としては、これらに限定されるものではないが、上記の「アルキル」、「ヘテロアルキル」、「アリール」、及び「ヘテロアリール」について記載されたものに加え、メトキシ、エトキシ、プロポキシ、4 - ジフェニルアミノブチル、2 - (2 ' - フェノキシエトキシ) エチル、3 , 6 - ジオキサヘプチル、3 , 6 - ジオキサヘキシル - 6 - フェニルが挙げられる。

40

「a」、「an」、及び「the」は互換的に用いられ、1 つ以上を意味する。

「及び / 又は」は、記載された事例の一方又は両方が生じ得ることを示すのに用いられ、例えば、A 及び / 又は B は、(A 及び B) 並びに (A 又は B) を含む。

【 0 0 1 9 】

また、本明細書において、端点による範囲の記載は、その範囲内に包含される全ての数を含む (例えば、1 ~ 1 0 は、1 . 4、1 . 9、2 . 3 3、5 . 7 5、9 . 9 8 等を含む) 。

50

【 0 0 2 0 】

また、本明細書において、「少なくとも1」の記載は、1以上の全ての数（例えば、少なくとも2、少なくとも4、少なくとも6、少なくとも8、少なくとも10、少なくとも25、少なくとも50、少なくとも100等）を含む。

【 0 0 2 1 】

本開示は、異なる官能化リガンドによって官能化された2つの異なる基材を含む、濾過媒体配列を提供する。濾過媒体配列は、少なくとも2つの異なる官能化媒体を特定の順序で含む。一実施形態において、(i)第四級アンモニウム基によって官能化された不織布基材を含む、第1の濾過媒体が、(ii)グアニジル基によって官能化された微多孔質膜基材を含む、第2の濾過媒体の上流に配置されている。

10

【 0 0 2 2 】

第1の濾過媒体(i)は、第四級アンモニウム基を含む陰イオン交換不織布基材である。

【 0 0 2 3 】

不織布基材は不織布ウェブであり、不織布ウェブの製造のための周知のプロセスのいずれかにより製造された不織布ウェブを含み得る。本明細書で用いる場合、用語「不織布ウェブ」は、不規則にかつ/又は一方向に、マット状に組み込まれた個々の繊維又はフィラメントの構造を有する布地を指す。

【 0 0 2 4 】

例えば、繊維不織布ウェブは、カード、エアレイド、ウェットレイド、スパンレース、スパンボンド、電界紡糸、又はメルトスパン若しくはメルトブローン等のメルトブロー法、又はこれらの組み合わせによって製造することができる。スパンボンド繊維は、典型的には、押し出される繊維の直径を持つ、複数の微細で通常は円形の紡糸口金のキャピラリーから、熔融した熱可塑性ポリマーをフィラメントとして押し出し、急激に縮小させることにより形成された小径繊維である。メルトブローン繊維は、典型的には、熔融した熱可塑性材料を、融解した糸又はフィラメントとして、複数の微細で通常は円形のダイのキャピラリーを通し、熔融した熱可塑性材料のフィラメントを細めてその直径を縮小させる、高速の、通常は加熱されたガス（例えば、空気）流中に押し出すことによって形成される。その後、メルトブロー繊維は高速ガス流によって運搬されて収集面上に堆積され、不規則に分散されたメルトブローン繊維のウェブを形成する。任意の不織布ウェブが、単一の種類の繊維から、又は、熱可塑性ポリマーの種類及び/若しくは厚さが異なる2つ以上の繊維から製造され得る。

20

30

【 0 0 2 5 】

短繊維もまた、ウェブ中に存在し得る。短繊維の存在により、概して、メルトブローンマイクロファイバーのみのウェブよりも、より嵩高く、より低密度のウェブがもたらされる。約20重量%以下の短繊維の存在が好ましく、より好ましくは約10重量%以下である。短繊維を含有するこのようなウェブは、米国特許第4,118,531号(Haus er)に開示されている。

【 0 0 2 6 】

不織布物品は、任意に、1層以上のスクリムを更に含まし得る。例えば、主表面のいずれか又は両方が、それぞれ任意に、スクリム層を更に含まし得る。スクリムは、典型的には、繊維から製造される織布又は不織布の補強材であり、不織布物品に含まれ、強度をもたらす。好適なスクリム材料としては、これらに限定されるものではないが、ナイロン、ポリエステル、繊維ガラス、ポリエチレン、ポリプロピレン等が挙げられる。スクリムの平均厚さは様々であり得る。典型的には、スクリムの平均厚さは、約25~約100マイクロメートル、好ましくは約25~約50マイクロメートルの範囲である。スクリムの層は、任意に、不織布物品に接着され得る。各種の接着剤を用い、スクリムをポリマー材料に接着することができる。あるいは、スクリムは、不織布に熱接着され得る。

40

【 0 0 2 7 】

不織布基材のマイクロファイバーは、Davies, C.N., 「The Separ

50

ation of Airborne Dust and Particles」、Institution of Mechanical Engineers, London, Proceedings 1B, 1952に記載の方法による計算で、典型的には、有効繊維径が少なくとも0.5、1、2、又は4マイクロメートル、最大15、10、8、又は6マイクロメートルである。不織布基材は、好ましくは、基本重量が少なくとも5、10、20、又は50 g/m²、かつ最大800、600、400、200、又は100 g/m²の範囲である。不織布ウェブの最小引張強度は、約4.0ニュートンである。不織布の引張強度は、ウェブ横断方向におけるより良好な繊維結合及び絡み合いにより、ウェブ横断方向よりも機械方向で低いことが、一般に認識されている。

【0028】

不織布ウェブの製造方法の更なる詳細は、Wente, Superfine Thermoplastic Fibers, 48 INDUS. ENG. CHEM. 1342 (1956)、又はWente et al., Manufacture Of Superfine Organic Fibers (Naval Research Laboratories Report No. 4364, 1954)に見出すことができる。

【0029】

不織布ウェブの嵩高性は、ウェブの体積中の固体分率を規定するパラメータであるソリディティによって測定される。ソリディティ値がより低いほど、ウェブの嵩高性がより大きいことを示す。有用な不織布基材は、ソリディティが20%未満又は15%未満である。ソリディティは、典型的には で表わされる無単位の分数である。

$$= m_f \div \rho_f \times L_{\text{不織布}}$$

式中、 m_f は試料表面積当たりの繊維質量であり、 ρ_f は繊維密度であり、

$L_{\text{不織布}}$

は不織布の厚さである。ソリディティは、本明細書では不織布基材自体について用い、官能化不織布は対象とならない。不織布基材が2種類以上の繊維の混合物を含む場合、同一の $L_{\text{不織布}}$ を用いて繊維のそれぞれの種類について個々のソリディティを求め、これらの個々のソリディティを合計してウェブのソリディティを得る。

【0030】

不織布基材は、任意の好適な熱可塑性ポリマー材料製の繊維又はフィラメントから形成することができる。好適なポリマー材料としては、これらに限定されるものではないが、ポリオレフィン、ポリ(イソブレン)、ポリ(ブタジエン)、フッ素化ポリマー、塩素化ポリマー、ポリアミド、ポリイミド、ポリエーテル、ポリ(エーテルスルホン)、ポリ(スルホン)、ポリ(ビニルアセテート)、ビニルアセテートのコポリマー、例えばポリ(エチレン) - co - ポリ(ビニルアルコール)等、ポリ(ホスファゼン)、ポリ(ビニルエステル)、ポリ(ビニルエーテル)、ポリ(ビニルアルコール)、及びポリ(カーボネート)が挙げられる。

【0031】

好適なポリオレフィンとしては、これらに限定されるものではないが、ポリ(エチレン)、ポリ(プロピレン)、ポリ(1-ブテン)、エチレンとプロピレンとのコポリマー、オレフィンコポリマー(例えば、エチレン又はプロピレンの、1-ブテン、1-ヘキセン、1-オクテン、及び1-デセンとのコポリマー等)、ポリ(エチレン - co - 1-ブテン)及びポリ(エチレン - co - 1-ブテン - co - 1-ヘキセン)が挙げられる。

【0032】

好適なフッ素化ポリマーとしては、これらに限定されるものではないが、ポリ(フッ化ビニル)、ポリ(フッ化ビニリデン)、フッ化ビニリデンのコポリマー(ポリ(フッ化ビニリデン - co - ヘキサフルオロプロピレン)等)、及びクロロトリフルオロエチレンのコポリマー(例えばポリ(エチレン - co - クロロトリフルオロエチレン)等)が挙げられる。

【0033】

好適なポリアミドとしては、これらに限定されるものではないが、ポリ(イミノアジポ

10

20

30

40

50

イルイミノヘキサメチレン)、ポリ(イミノアジポイルイミノデカメチレン)、及びポリカプロラクタムが挙げられる。好適なポリイミドとしては、ポリ(ピロメリットイミド)が挙げられる。

【0034】

好適なポリ(エーテルスルホン)としては、これらに限定されるものではないが、ポリ(ジフェニルエーテルスルホン)及びポリ(ジフェニルスルホン-c o -ジフェニレンオキシドスルホン)が挙げられる。

【0035】

好適なビニルアセテートのコポリマーとしては、これらに限定されるものではないが、ポリ(エチレン-c o -ビニルアセテート)と、コポリマー中でアセテート基のうちの少なくともいくつかが加水分解され、ポリ(エチレン-c o -ビニルアルコール)等の各種のポリ(ビニルアルコール)を生成するようなコポリマーと、が挙げられる。

【0036】

本開示の不織布基材は、第四級アンモニウム官能基、すなわち、 $-N^+R^1R^2R^3X^-$ [式中、 X^- は対イオン基で、多くの場合ハライド(例えば、 Cl^-)、サルフェート、ホスフェート、ナイトレート等である]を含むように処理される。いくつかの実施形態において、アンモニウム官能基の R^1 、 R^2 、及び R^3 は全てメチルである。他の実施形態において、 R^1 基、 R^2 基、又は R^3 基のうちの1つはメチルであり、他の2つは、2~18個、2~10個、2~6個、又は2~4個の炭素原子を有するアルキルである。他の実施形態において、 R^1 基、 R^2 基、又は R^3 基のうちの2つはメチルであり、他の基は、2~18個、2~10個、2~6個、又は2~4個の炭素原子を有するアルキルである。更に他の実施形態において、 R^1 基、 R^2 基、及び R^3 基のうちの少なくとも2つは、これらの基が結合している窒素原子と共に、複素環式基を形成する。複素環式基は少なくとも1つの窒素原子を含み、他のヘテロ原子、例えば酸素又は硫黄等を含み得る。例示的な複素環式基としては、これらに限定されるものではないが、ピペリジニル及びモルホリニルが挙げられる。複素環式基は、ベンゼン、シクロヘキセン、又はシクロヘキサン等の追加の環に融合され得る。

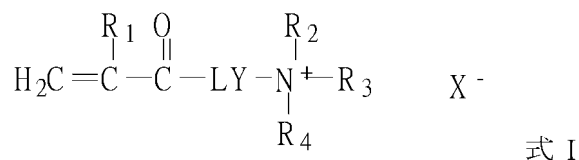
【0037】

第四級アンモニウム基は、当該技術分野で既知の技術を用い、不織布基材に共有結合される。典型的には、第四級アンモニウム基は、連結基を介し、不織布基材上に、又は、プライマー層によって処理された不織布基材上に直接グラフトされる。

【0038】

一実施形態において、不織布基材は、アミノアルキル(メタ)アクリロイルモノマーの第四級アンモニウム塩、例えば、

【化1】



等を用いてグラフトされる。式中、 R_1 は水素又はメチル、好ましくはメチルであり、 L は $-O-$ 又は $-NH-$ であり、 Y はアルキレン(例えば、2~10個の炭素原子、2~6個、又は2~4個の炭素原子を有するアルキレン)である。 R_2 、 R_3 、及び R_4 は、独立して、アール又はアルキル、好ましくは $C_1 \sim C_4$ アルキルであり、 X^- は対アニオンである。

【0039】

式Iのアミノアルキル(メタ)アクリロイルモノマーの例示的な第四級塩としては、これらに限定されるものではないが、(メタ)アクリルアミドアルキルトリメチルアンモニウム塩(例えば、3-メタクリルアミドプロピルトリメチルアンモニウムクロライド及び3-アクリルアミドプロピルトリメチルアンモニウムクロライド)及び(メタ)アクリル

オキシアルキルトリメチルアンモニウム塩（例えば、2 - アクリルオキシエチルトリメチルアンモニウムクロライド、2 - メタクリルオキシエチルトリメチルアンモニウムクロライド、3 - メタクリルオキシ - 2 - ヒドロキシプロピルトリメチルアンモニウムクロライド、3 - アクリルオキシ - 2 - ヒドロキシプロピルトリメチルアンモニウムクロライド、及び2 - アクリルオキシエチルトリメチルアンモニウムメチルサルフェート）が挙げられる。

【0040】

式Iの第四級アンモニウム基を有するこのようなモノマーを、不織布基材の表面に直接グラフトしてもよい、又は、第一級、第二級又は第三級アミン基を有するグラフトアミノアルキル（メタ）アクリロイルモノマーをグラフトした後、アルキル化によって第四級アンモニウム基に変換してもよい。陰イオン交換不織布のこのような製造は、米国特許第8,328,023号（Weiss et al.）に記載されている。

10

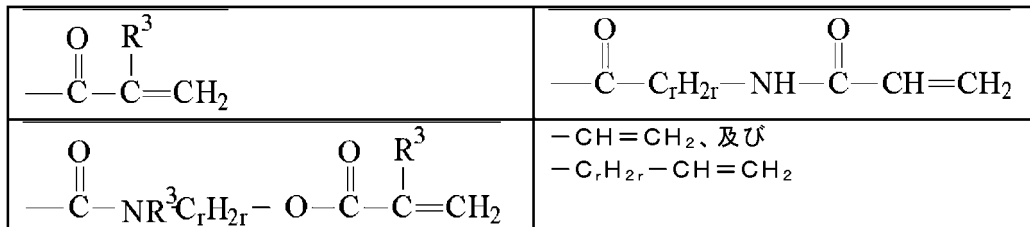
【0041】

一実施形態において、式Iのモノマーから誘導される第四級アンモニウム基を有するグラフトポリマー（grafted polymer：グラフト化されたポリマー）は、ポリ（アルキレンオキシド）基を有する一官能性エチレン性不飽和モノマーから誘導される単位を更に含む。ポリ（アルキレンオキシド）基を有するモノマー単位は、式：

$Z - Q - (CH(R^5) - CH_2 - O)_m - R^6$ [式中、Zは重合性エチレン性不飽和部分であり、 R^5 はH又は $C_1 \sim C_4$ アルキル基であり、Qは $N(R^5)$ 又はOであり、 R^6 はH、 $C_1 \sim C_4$ アルキル基、アリール基、又はこれらの組み合わせであり、mは2 ~ 100、好ましくは5 ~ 20である]のものである。モノマーの有用なエチレン性不飽和部分Zとしては、以下を挙げることができる。

20

【化2】



30

式中、 R^3 はH又は-CH₃、かつ $r = 1 \sim 10$ である。

【0042】

好適な一官能性ポリ（アルキレンオキシド）モノマーの例としては、ポリ（エチレンオキシド）（メタ）アクリレート、ポリ（プロピレンオキシド）（メタ）アクリレート、ポリ（エチレンオキシド - プロピレンオキシド）（メタ）アクリレート、及びこれらの組み合わせが挙げられる。このようなモノマーは、1つの非反応性末端基、例えば、（ $C_1 \sim C_4$ ）アルコキシ、アリールオキシ（例えば、フェノキシ）、及び（ $C_1 \sim C_4$ ）アルカリールオキシ等を含んでいることが好ましい。これらの基は、直鎖又は分枝鎖であり得る。これらのモノマーは広範な分子量のものであり得、Sartomer Company（Exton, PA）、Shinnakamura Chemical Co., Ltd.（Tokyo, Japan）、Aldrich（Milwaukee, WI）、及びOsaka Organic Chemical Ind., Ltd.（Osaka, Japan）等の供給元から市販されている。

40

【0043】

一実施形態において、式Iの第四級アンモニウム基を含むグラフトポリマーは、更に「親水性モノマー」から誘導される。本明細書で用いる場合、「親水性モノマー」は、曇点に達することなく、少なくとも1重量%、好ましくは少なくとも5重量%の水混和性（モノマー中の水）を有する重合性モノマーであり、ポリ（アルキレンオキシド）モノマーを含まず、酸性官能基、又はグラフト重合（grafting polymerization）を阻害する基を含有しない。好適な親水性モノマーの例としては、2 - ヒドロキシエチル（メタ）アクリレー

50

ト(HEMA)、2-ヒドロキシプロピル(メタ)アクリレート、3-ヒドロキシプロピル(メタ)アクリレート、2,3-ジヒドロキシプロピル(メタ)アクリレート、4-ヒドロキシブチル(メタ)アクリレート、N-ビニルカプロラクタム、N-ビニルアセトアミド、N-ビニルピロリドン、アクリロニトリル、テトラヒドロフルフリルアクリレート、アクリルアミド、モノ-又はジ-N-アルキル置換アクリルアミド、グリセロールメタクリレート、及びこれらの組み合わせが挙げられる。好ましい極性モノマーとしては、2-ヒドロキシエチル(メタ)アクリレート(HEMA)、N-ビニルピロリドン、N-ビニルアセトアミド、メチルアクリルアミド、及びこれらの混合物が挙げられる。一実施形態において、式Iの第四級アンモニウム基を含むグラフトポリマーは、アミノアルキル(メタ)アクリロイルモノマー、ポリ(アルキレンオキシド)モノマー、また、任意に、第2の親水性モノマーから誘導されるポリマーである。一実施形態において、グラフトポリマーは、80~98重量%のアミノアルキル(メタ)アクリロイルモノマー、2~20重量%のポリ(アルキレンオキシド)モノマー、及び0~10重量%の親水性モノマーから誘導される。好適なポリ(アルキレンオキシド)モノマーの例としては、ポリ(エチレンオキシド)(メタ)アクリレート、ポリ(プロピレンオキシド)(メタ)アクリレート、ポリ(エチレンオキシド-プロピレンオキシド)(メタ)アクリレート、及びこれらの組み合わせが挙げられる。このようなグラフトに関する更なる情報は、米国特許第8,328,023号(Weiss et al.)に見出すことができる。

10

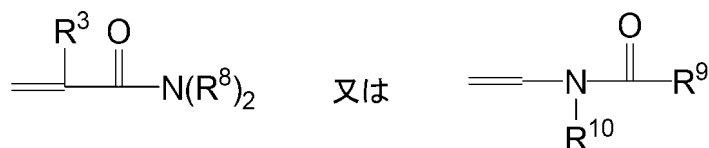
【0044】

一実施形態において、式Iの第四級アンモニウム基を含むグラフトポリマーは、アミドモノマー、オキシモノマー、また、任意に、ポリ(アルキレンオキシド)モノマーから更に誘導される。一実施形態において、グラフトポリマーは、モノマーを含む10~50重量部の第四級アンモニウム基、10~80重量部のアミドモノマー、10~40重量部のオキシモノマー、及び0~30重量部のポリ(アルキレンオキシド)モノマーから誘導される。

20

アミドモノマーは、一般式：

【化3】

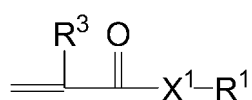


30

[式中、R³は-H又はC₁~C₄アルキルであり、各R⁸はH、アルキル基又はアール基であり、R⁹及びR¹⁰はアルキル基である、又は、互いに結合して五員環若しくは六員環を形成し得る]の(メタ)アクリルアミド及びN-ビニルアミドを含む親水性モノマーである。好適な親水性アミドモノマーの例としては、N-ビニルカプロラクタム、N-ビニルアセトアミド、N-ビニルピロリドン、アクリルアミド、モノ-又はジ-N-アルキル置換アクリルアミド、及びこれらの組み合わせが挙げられる。好ましいアミドモノマーとしては、N-ビニルピロリドン、N-ビニルアセトアミド、メチルアクリルアミド、及びこれらの混合物が挙げられる。オキシモノマーとしては、エポキシ官能性及びモノエーテル官能性の、(メタ)アクリレート及び(メタ)アクリルアミド、並びに一般式：

40

【化4】



[式中、

R³は-H又はC₁~C₄アルキルであり、X¹は-NR³-又は-O-であり、R¹はエポキシ官能性又はエーテル官能性の(ヘテロ)ヒドロカルビル基である]のものが挙げられる。より詳細には、エーテル官能基は、低級アルキレンオキシアルキル基である。

50

好ましくは、 R^1 基は、オキシラン（エポキシ）基を有する2～30個の炭素原子の直鎖、分枝鎖、環状又は多環式炭化水素に基づいている。より好ましくは、 R^8 基は、グリシジルメタクリレート（GMA）のように、3～10個の炭素を含む。このようなグラフトに関する更なる情報は、米国特許出願公開第2015/0099413号（Berrigan et al.）に見出すことができる。

【0045】

第1の濾過媒体の平均厚さは、好ましくは、少なくとも0.1、0.25、又は1mm、かつ最大5、8又は10mmである。

【0046】

一実施形態において、第1の濾過媒体は、第1の濾過媒体1グラム当たり、少なくとも0.1、0.2、0.4、0.8、1、又は5mmolの第四級アンモニウム基を含む。

【0047】

【0048】

第2の濾過媒体（ii）は、グアニジル基によって官能化された微多孔質膜基材である。

【0049】

微多孔質膜は、ASTM標準試験法F316-03、「Standard Test Methods for Pore Size Characteristics of Membrane Filters by Bubble Point and Mean Flow Pore Test」による特性分析で、平均流動孔径が5マイクロメートル未満のミクロ細孔を含む多孔質ポリマー基材（例えばシート又はフィルム等）である。一実施形態において、微多孔質膜は、平均流動孔径が、少なくとも0.1、0.2、0.5、0.8、又は1マイクロメートル、かつ最大5、3、又は2マイクロメートルである。所望の孔径は、用途に応じて異なり得る。微多孔質膜は、流体の流動方向に対称又は非対称（例えば、グラジエント）の孔径分布を有し得る。

【0050】

微多孔質膜は、任意の好適な熱可塑性ポリマー材料から形成することができる。好適なポリマー材料としては、これらに限定されるものではないが、ポリオレフィン、ポリ（イソプレン）、ポリ（ブタジエン）、フッ素化ポリマー、塩素化ポリマー、ポリアミド、ポリイミド、ポリエーテル、ポリ（エーテルスルホン）、ポリ（スルホン）、ポリ（ビニルアセテート）、ポリエステル、例えばポリ（乳酸）等、ビニルアセテートのコポリマー、例えばポリ（エチレン）-co-ポリ（ビニルアルコール）等、ポリ（ホスファゼン）、ポリ（ビニルエステル）、ポリ（ビニルエーテル）、ポリ（ビニルアルコール）、及びポリ（カーボネート）が挙げられる。

【0051】

好適なポリオレフィンとしては、これらに限定されるものではないが、ポリ（エチレン）、ポリ（プロピレン）、ポリ（1-ブテン）、エチレンとプロピレンとのコポリマー、オレフィンコポリマー（例えば、エチレン又はプロピレンの、1-ブテン、1-ヘキセン、1-オクテン、及び1-デセンとのコポリマー等）、ポリ（エチレン-co-1-ブテン）及びポリ（エチレン-co-1-ブテン-co-1-ヘキセン）が挙げられる。

【0052】

好適なフッ素化ポリマーとしては、これらに限定されるものではないが、ポリ（フッ化ビニル）、ポリ（フッ化ビニリデン）、フッ化ビニリデンのコポリマー（例えばポリ（フッ化ビニリデン-co-ヘキサフルオロプロピレン）等）、及びクロロトリフルオロエチレンのコポリマー（例えばポリ（エチレン-co-クロロトリフルオロエチレン）等）が挙げられる。

【0053】

好適なポリアミドとしては、これらに限定されるものではないが、ポリ（イミノアジポリリイミノヘキサメチレン）、ポリ（イミノアジポリリイミノデカメチレン）、及びポリカプロラクタムが挙げられる。好適なポリイミドとしては、これに限定されるものではな

10

20

30

40

50

いが、ポリ(ピロメリットイミド)が挙げられる。

【0054】

好適なポリ(エーテルスルホン)としては、これらに限定されるものではないが、ポリ(ジフェニルエーテルスルホン)及びポリ(ジフェニルスルホン-co-ジフェニレンオキシドスルホン)が挙げられる。

【0055】

好適なビニルアセテートのコポリマーとしては、これらに限定されるものではないが、ポリ(エチレン-co-ビニルアセテート)と、コポリマー中でアセテート基のうちの少なくともいくつかが加水分解され、各種のポリ(ビニルアルコール)を生成するようなコポリマーと、が挙げられる。

10

【0056】

一実施形態において、微多孔質膜は、溶媒誘起相分離(SIPS)膜である。SIPS膜は、多くの場合、第1の溶媒(複数可)に溶解したポリマーの均質溶液を調製し、この溶液を所望の形状、例えば平坦なシート又は中空繊維にキャストイングし、ポリマーにとっては非溶媒であるが、第1の溶媒にとっては溶媒である別の第2の溶媒(すなわち、第1の溶媒は第2の溶媒と混和性であるが、ポリマーは第2の溶媒と非混和性である)にキャスト溶液を接触させることによって、製造される。相分離は、第2の溶媒のキャストポリマー溶液への拡散と、第1の溶媒のポリマー溶液から第2の溶媒への拡散と、によってポリマーを沈殿させることにより誘起される。ポリマー希薄相を除去し、ポリマーを乾燥して多孔質構造体を得る。SIPSは、転相、又は拡散誘起相分離、又は非溶媒誘起相分離とも呼ばれ、このような技術は、当該技術分野において周知である。微多孔質SIPS膜は、米国特許第6,056,529号(Meyering et al.)、同第6,267,916号(Meyering et al.)、同第6,413,070号(Meyering et al.)、同第6,776,940号(Meyering et al.)、同第3,876,738号(Marinacchio et al.)、同第3,928,517号(Knight et al.)、同第4,707,265号(Knight et al.)、及び同第5,458,782号(Hou et al.)に更に開示されている。

20

【0057】

別の実施形態において、微多孔質膜は熱誘起相分離(TIPS)膜である。TIPS膜は、多くの場合、プラスチック製造装置、例えば押出機中において高温で混合することにより、熱可塑性材料及び第2の材料(例えば希釈剤等)と、任意に核剤と、を含む均質溶液を形成することにより、調製される。溶液は、オリフィス板又は押出ダイを通過することによって成形することができ、冷却時に熱可塑性材料が晶出し、相が第2の材料から分離する。晶出した熱可塑性材料は、多くの場合、延伸される。第2の材料は、延伸の前又は後のいずれかに任意に除去され、多孔質ポリマー構造体が残る。微多孔質TIPS膜は、米国特許第4,529,256号(Shipman)、同第4,726,989号(Mrozinski)、同第4,867,881号(Kinzer)、同第5,120,594号(Mrozinski)、同第5,260,360号(Mrozinski)、及び同第5,962,544号(Waller, Jr.)に更に開示されている。いくつかの例示的なTIPS膜は、ポリ(フッ化ビニリデン)(PVDF)、ポリオレフィン、例えばポリ(エチレン)又はポリ(プロピレン)等、ビニル含有ポリマー又はコポリマー、例えば、エチレン-ビニルアルコールコポリマー等、ブタジエン含有ポリマー又はコポリマー、及びアクリレート含有ポリマー又はコポリマーを含む。PVDFを含むTIPS膜は、米国特許第7,338,692号(Smith et al.)に更に記載されている。

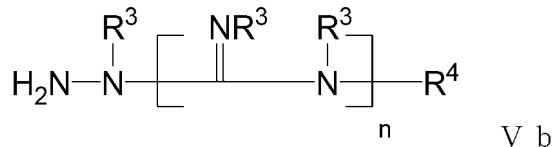
30

40

【0058】

本開示の微多孔質膜は、グアニジル官能基を含むように処理される。このような官能基は、式IIのグアニジン基又は式IIIのピグアニジン基：

【化10】



【式中、 R^1 はH又は $\text{C}_1 \sim \text{C}_4$ アルキルであり、 R^2 は(ヘテロ)ヒドロカルビル基であり、任意に、エステル、アミド、ウレタン又は尿素、好ましくは、1~20個の炭素原子を有する二価のアルキレンを含有し、各 R^3 は独立してH又はヒドロカルビル、好ましくは $\text{C}_1 \sim \text{C}_{12}$ アルキルであり、 R^4 はH、 $\text{C}_1 \sim \text{C}_{12}$ アルキル又は $-\text{N}(\text{R}^3)_2$ であり、 X^1 は $-\text{O}-$ 又は $-\text{NR}^3-$ である】の化合物との縮合により調製することができる。他のリガンドモノマーは、カルボニル含有モノマー、例えば、アクロレイン、ビニルメチルケトン、ジアセトンアクリルアミド又はアセトアセトキシエチルメタクリレート等の、任意に還元剤の存在下で、式V a又はV bの化合物との縮合により調製することができる。

10

【0062】

米国特許出願公開第2012/0252091号(Rasmussen et al.)は、多孔質基材を、エチレン性不飽和重合性基(ethylenically unsaturated polymerizable group)を有する架橋ポリアミンポリマー層によって処理した後、このプライマー層に、上記のグアニジル含有モノマーから誘導されたポリマーをグラフトすることを開示している。米国特許出願公開第2015/0136698号(Bothof et al.)は、基材を、II型光開始剤の存在下で、上記のグアニジル含有モノマーによってグラフトすることを教示している。II型光開始剤は、化学線によって活性化されると、第2の(H供与体)化合物からの水素引き抜きによってフリーラジカルを生成し、実際の開始フリーラジカルを生成する。このような光開始剤は、当該技術分野において既知である。

20

【0063】

一実施形態において、グアニジル含有モノマーから誘導されたグラフトポリマー層は、グアニジルモノマー単位のコポリマーである。

30

【0064】

一実施形態において、グアニジル含有モノマーから誘導されたグラフトポリマー層は、グアニジルモノマー単位のコポリマーである。

【0065】

グアニジル含有モノマーに加え、一実施形態において、グアニジル含有モノマーから誘導されたグラフトポリマー層は、他のモノマー、例えば、(メタ)アクリレートモノマー及び(メタ)アクリルアミドモノマーを含む多官能性(メタ)アクリロイルモノマー等から誘導され得る。有用な多官能性(メタ)アクリレートの例としては、これらに限定されるものではないが、ジ(メタ)アクリレート、トリ(メタ)アクリレート、及びテトラ(メタ)アクリレート、例えば、エチレングリコールジ(メタ)アクリレート、1,6-ヘキサンジオールジ(メタ)アクリレート、ポリ(エチレングリコール)ジ(メタ)アクリレート、ポリブタジエンジ(メタ)アクリレート、ポリウレタンジ(メタ)アクリレート等、並びにプロポキシ化グリセリントリ(メタ)アクリレート、メチレンビスアクリルアミド、エチレンビスアクリルアミド、ヘキサメチレンビスアクリルアミド、ジアクリロイルピペラジン、並びにこれらの混合物が挙げられる。一実施形態において、ポリマー層は、基材に親水性をもたらすため、又は、生体材料を結合する際、基材に、より高い選択性をもたらすため、少なくとも1つのアルケニル基、好ましくは(メタ)アクリロイル基と、ポリ(オキシアルキレン)及びイオン基を含む親水性基と、を含む親水性モノマーから誘導され得る。親水性イオン基は、中性であり得る、かつ/又は、正電荷を有し得る。一実施形態において、グアニジル基の結合相互作用を妨害しない程度に十分に少量である

40

50

限り、負に帯電したコモノマーが含まれてもよい。

【0066】

一実施形態において、第2の濾過媒体は、官能化微多孔質膜1グラム当たり、少なくとも0.01、0.05、0.1、又は0.5 mmol、かつ最大1、1.5、又は2 mmolのグアニジル基を含む。

【0067】

一実施形態において、第2の濾過媒体の厚さは、少なくとも5、10、20、25、又は50マイクロメートル厚、かつ最大800、500、200、又は100マイクロメートル厚である。

【0068】

本明細書に開示した通り、第1及び第2の濾過媒体の組み合わせが、濾過媒体として用いられる。濾過用途で用いられる場合、一実施形態において、1層以上の第1の濾過媒体が用いられ得る。複数の第1の濾過媒体層が用いられる場合、各層は、同一又は異なる、有効繊維径、基本重量、ソリディティ、グラフトされた第四級アンモニウムの量、引張強度、及び表面積を有し得る。いくつかの実施形態において、第1の濾過媒体の各後続層は、より微細な夾雑物を保持できるように、より小さな有効繊維径を有し得る。複数の第2の濾過媒体が用いられる場合、各層は、流体の流動方向に対称又は非対称（例えば、グラジエント）の孔径分布を有し得、かつこれらの層は、同一又は異なる、平均流動孔径、多孔度、グラフトグアニジル基の量、引張強度、及び表面積を有し得る。いくつかの実施形態において、第2の濾過媒体の各後続層は、より微細な夾雑物を濾過できるように、より

10

20

【0069】

第1の濾過媒体の層の数は、試料マトリックス、並びに/又は生体流体中の夾雑物の種類及び/若しくは量に基づいて異なり得る（又は最適化され得る）。例えば、第1の濾過媒体の層の数は、試料中の細胞残屑及び/又はDNAの量に基づき、存在する第四級アンモニウムイオンの濃度を最適化するために異なり得る。第2の濾過媒体の層の数は、試料中の宿主細胞タンパク質の量に基づき、存在するグアニジル基の濃度を最適化するために異なり得る。

【0070】

本開示において、第1の濾過媒体は、第2の濾過膜の上流に配置されている。一実施形態において、第2の濾過媒体はキャプチャークロマトグラフィー工程の上流にあり、標的分子は媒体上に保持された後、意図的に媒体から放出され、標的分子を精製かつ/又は濃縮する。このような捕捉工程は、クロマトグラフィーカラム、例えばプロテインAカラム等を含み得る。

30

【0071】

一実施形態において、第1の濾過媒体及び第2の濾過媒体は、別々のハウジング内に収容され、第1の濾過媒体が第2の濾過媒体の上流にある。より好ましくは、第1の濾過媒体及び第2の濾過媒体は、同一のハウジング内に収容されている。

【0072】

いくつかの実施形態において、微多孔質の非官能化サイズ排除膜（non-functionalized size exclusion membrane：官能化されていないサイズ排除膜）が、第1の濾過媒体と第2の濾過媒体との間に配置される。微多孔質膜は、上で定義した。膜は官能化されておらず、すなわち、膜は、イオン交換官能性化学基（ion exchange functional chemical group）を実質的に含まない（すなわち、非官能化サイズ排除膜1グラム当たり10、1、又は0.1 μmol未満）。膜はサイズ排除膜であり、すなわち、膜は、主に機械的ふるい分けによって粒子を保持する。非官能化サイズ排除膜が含まれる場合、非官能化サイズ排除膜は、パブルポイント孔径が、ASTM標準試験法F316-03、「Standard Test Methods for Pore Size Characteristics of Membrane Filters by Bubble Point and Mean Flow Pore Test」による測定で、第2の濾過媒体のバ

40

50

ブルポイント孔径よりも、有利に小さい。

【0073】

一実施形態において、非官能化サイズ排除膜は、非対称の細孔構造を含む。一実施形態において、非官能化サイズ排除膜は、グラジエント又はマルチゾーン細孔形態を含み、上流の表面から下流の表面に向かって孔径が小さくなり、高い粒子負荷能力をもたらしている。好適な微多孔質の非官能化サイズ排除膜の種類としては、第2の濾過媒体に好適な基材として上記したものが挙げられる。

【0074】

いくつかの実施形態において、本開示は、ハウジングを含むフィルタ装置を提供し、このハウジングは、上壁と、底壁と、上壁と底壁との間に広がるほぼ円筒形の側壁と、ハウジング内に配置されたフィルタ要素と、を含み、フィルタ要素は、フィルタ要素を通過する液体流路を画定する入口及び出口を含む。液体流路は、流体が第1の濾過媒体を通過した後第2の濾過媒体を通過して出口へと流動するように、入口に隣接した上流部分と、出口に隣接した下流部分と、を有する。

【0075】

一実施形態において、第1及び第2の濾過媒体はそれぞれ個別に、平面状又はレンズ状のディスクとして形成され得る。いくつかの実施形態において、第1及び第2の濾過媒体はそれぞれ個別に、プリーツ状であり得る。

【0076】

好ましくは、第1及び第2の濾過媒体は、ごく近接して配置され、より好ましくは、第1の濾過媒体及び第2の濾過媒体は、同一のフィルタハウジング内に収容されている。一実施形態において、第1及び第2の濾過媒体は、平面状又はレンズ状のディスクとして形成されている。いくつかの実施形態において、第1及び第2の濾過媒体は、共にプリーツ状である。一実施形態において、第2の濾過媒体はコアの周りに巻かれ、第1の濾過媒体は第2の濾過媒体の周りに巻かれている。あるいは、第2の濾過媒体は第1の濾過媒体上に配置されて多層構造体を形成し、多層構造体の単一の層がコアの外周に巻かれてコア軸に対して平行に共に接合され、第2の濾過媒体は第1の濾過媒体の下流にある。例示的な実施形態を、以下の図面に示す。

【0077】

図1は、第1の濾過媒体1（第四級アンモニウム基を有する不織布）及び第2の濾過媒体2（グアニジル基を有する多孔質膜）を含む、本開示による例示的な濾材10を示す。任意に含まれる粒径フィルタ等の非官能性層（図示せず）が、第1の濾過媒体と第2の濾過媒体との間に配置される場合がある。図示した通り、濾材10は複数のプリーツ4を含む。いくつかの実施形態において、プリーツ状の濾材10を、フィルタ装置に組み込むことができる。プリーツ形状及びプリーツ状の媒体を含むフィルタ装置の例は、例えば、米国特許第6,521,011号(Sundet et al.)に見出すことができる。

【0078】

図2は、レンズ状のフィルタセルの形状の濾材配列を含む、本開示による例示的なフィルタ装置200の内部断面図を示す。レンズ状のフィルタセルは、濾材配列20A及び濾材配列20Bとして示した、濾過媒体の2つの円板状区画を含み、これらの間に内容積25がある。濾材配列は、外側シール27から中心コア26の内側シール24まで広がる。濾材配列20Aと濾材配列20Bを合わせて、媒体パックと呼ぶ。いくつかの実施形態において、媒体パックは、例えば、それ自体の上に折りたたまれ、外側シールを必要としない、濾材のポケット状の延長であり得る。流体流動がフィルタ装置200の外部から内部25に向かう場合、濾材配列20A及び20Bの外側（図2では201と示されている）が汚染側、すなわち濾過媒体配列20A及び20Bの上流側となり、濾材配列20A及び20Bの内側（図2では202と示されている）が濾過された側、すなわち濾材配列の下流側となる。このような流体流動条件下では、濾材配列20Aは第1の濾過媒体21A及び第2の濾過媒体22Aを含み、一方、濾材配列20Bは第1の濾過媒体21B及び第2の濾過媒体22Bを含む。任意に含まれる粒径フィルタ等の非官能性層（図示せず）が、

10

20

30

40

50

第1の濾過媒体と第2の濾過媒体との間に配置される場合がある。

【0079】

中心コア26は、内部25とハブ配列23との間で流体連通を放射状にもたらず複数の放射状通路28を、その内部に有する。分離要素29は、例えば複数のリブからなり、濾材配列20Aと20Bとの間で、ハブ配列23から内部25中に広がる。分離要素29は、放射状通路28を介した内部25からハブ配列23への流体流動を促進する、非濾過要素である。更に、分離要素29は、例えば、レンズ状のフィルタセル200によって濾過されている流体からの濾材配列20A及び20Bの圧力による、濾材配列20A及び20Bの内部25への陥没を防止する。図2に示したように、分離要素29の外径は、濾材配列20A及び20Bの外径よりも小さい。いくつかの実施形態において、分離要素29が外側シール27内に封入されるように、分離要素29の外径が、濾材配列20A及び20Bの外径と等しい場合がある、又は、これらの外径よりもわずかに大きい場合がある。

10

【0080】

図2は、流体流動がレンズ状のセルの外側から内部に向かう稼働において示されているが、レンズ状のセルは、流体流動が内部から外側に進む、逆方向においても稼働することができる。流体流動が上記の方向である場合、表面202が汚染側、すなわち濾材配列の上流側となり、表面201が濾過された側、すなわちフィルタ配列の下流側となる。これらの流体流動条件下では、第1の濾過媒体はレンズ状のセルの内部に配置され、第2の濾過媒体は、第1の濾過媒体の下流に配置されている。

【0081】

20

レンズ状のフィルタセルと、レンズ状のフィルタセルの製造方法の例は、例えば、米国特許第6,464,084号(Pulek)、同第6,939,466号(Pulek)、同第7,178,676号(Pulek et al.)、及び同第6,712,966号(Pulek et al.)、並びに米国特許出願公開第2011/0259812号(Marks et al.)に見出すことができる。レンズ状のフィルタセルは、例えば、米国特許出願公開第2011/0297604号(Bryan et al.)に開示されている濾過システムと共に用いることができる。

【0082】

図3は、フィルタカプセル33を含む、例示的なフィルタ装置300を示す。濾材配列30は、流体入口35及び流体出口36を含むフィルタカプセル33中に封入されている。ベント弁37を用い、フィルタ装置から空気を排出し、一方、使用後、ドレン弁38を用い、フィルタ装置から廃液する。図3の破断図で分かるように、フィルタ装置は、フィルタカプセル33中を同軸上に伸び、濾材配列30を流体出口36に流体連通する、穿孔された内部コア34を含む。濾材配列30はフィルタカプセル33から伸びているように示されているが、これはフィルタ装置の構成要素を示すためであり、使用においては、図3及び4から分かるように、濾材配列は穿孔された内部コア34と穿孔された外周39との間に配置されている。流体入口35は、穿孔された外周39と流体連通している。稼働中、流体は流体入口35に入った後、穿孔された外周39、濾材配列30、穿孔された内部コア34を通過して順次進み、次いで流体出口36から出る。穿孔された外周39はネット、穿孔されたケージ等であり得、特にバックフラッシュ操作において濾材配列の支持に用いられる。濾材配列の構造に応じ、フィルタ装置は、穿孔された外周を含まない場合がある。

30

40

【0083】

フィルタカプセル33で用いる2つの異なる媒体シリンダを、図4及び5に示す。

【0084】

図4は、フィルタ装置の一実施形態の断面図を示しており、媒体カプセルは、複数のブリーツ44を含む濾材配列を含む。穿孔された外周39と穿孔された内部コア34との間に配置された濾材配列40は、第1の濾過媒体41及び第2の濾過媒体42を含む。第2の濾過媒体42は、第1の濾過媒体41の下流に配置されており、流体流動は、穿孔された外周39から濾材配列40を通過し、穿孔された内部コア34へと進む。複数のブリー

50

ツを含む媒体シリンダを含むフィルタモジュールの例は、例えば、米国特許第6,315,130号(Olsen)に見出すことができる。

【0085】

図5は、フィルタ装置の別の実施形態の断面図を示しており、媒体カプセルは、内部の穿孔されたコア34の周りに渦巻状に巻かれた濾材配列を含む。穿孔された外周39と穿孔された内部コア34との間に配置された濾材配列50は、内部の穿孔されたコア34の周りに渦巻状に巻かれた第2の濾過媒体52と、第2の濾過媒体52の周りに渦巻状に巻かれた第1の濾過媒体51とを含む。図示したように、流体は、穿孔された外周39から濾材配列50を通過し、穿孔された内部コア34へと流動する。いくつかの実施形態において、廃液層を更に設け、濾材配列の隣接した層の間の流体流動の促進を助ける場合がある。

10

【0086】

一実施形態において、第1及び第2の濾過媒体は多孔質ウェブによって封入され、取り扱い時の支持及び補助がもたらされる。濾過用途において、第1及び第2の濾過媒体は、垂直又は水平のいずれかに配置することができる。

【0087】

本開示の濾過媒体配列は、生体流体からの標的生体材料の精製及び/又は単離に用いることができる。一実施形態において、本開示の濾過媒体配列は、バイオリアクター又は発酵槽からの収穫流体(harvest fluid)からの、正に帯電したタンパク質、より好ましくはモノクローナル抗体の精製及び/又は単離に用いることができる。典型的には、収穫流体は、モノクローナル抗体に加え、全細胞及び不溶性の細胞残屑、並びにタンパク質不純物を含む可溶性不純物、例えば、培地中の、宿主細胞タンパク質、DNA、及びクロマチン等を含む。

20

【0088】

モノクローナル抗体は、医薬品業界において最も使用されている治療用タンパク質の1つである。細胞系の開発における進歩及び細胞培養プロセスの最適化により、抗体価をより高めることが可能になり、このことで細胞培養密度は増大し、培養期間は長くなっている。これは、プロセス関連不純物、例えば、宿主細胞タンパク質及びDNA、脂質、コロイド及び細胞残屑等が、より高レベルとなることにつながる。これらのより高い不純物レベルにより、モノクローナル抗体の回収、精製、及び/又は濃縮についての課題が提起される。典型的には、収穫後処理は、モノクローナル抗体の一次回収と、これに続くクロマトグラフィーカラム(例えばプロテインA又は陽イオン交換クロマトグラフィー)によるモノクローナル抗体の捕捉、これに続く捕捉されたモノクローナル抗体のクロマトグラフィーカラムからの溶出(及び濃縮)、及び溶出物のポリッシングを伴う。

30

【0089】

プロテインAの、モノクローナル抗体との高度に特異的な相互作用のため、捕捉にはプロテインAアフィニティークロマトグラフィーが好ましい。プロテインAカラムは比較的高価であるため、プロテインAカラムに暴露する前に、収穫した培養液中の不純物を低下させ、プロテインAカラムの耐用期間を最大化することが重要である。更に、一部の不純物がプロテインAカラムによって保持され、モノクローナル抗体の溶出物と共に溶出される場合があり、その結果、追加の、かつ/又はより強力な溶出物のポリッシングをもたらす。

40

【0090】

細胞残屑は、概して、分解した(壊れた)細胞の不溶成分を指し、細胞壁の脂質、細胞小器官(例えば、ミトコンドリア、リソソーム、小胞体等)、及びタンパク質性の凝集物を含む。典型的には、細胞残屑はより大きく、主として負に帯電した物質で、フィルタを詰まらせることがある。濁度は、流体中の細胞残屑の濃度を測定するための一方法であり、濁度値が高いほど、より多くの細胞残屑が存在する。一実施形態において、収穫流体又は細胞培養流体の濁度は、少なくとも40、60、80又は100NTU(比濁法濁度単位)、かつ最大500、400、200、又は150NTUである。本開示の濾材を通過

50

した後、濾過流体の濁度は、多くの場合、15、10、5、又は2 NTU未満である。

【0091】

望ましくないタンパク質、例えば、タンパク質の不純物及び宿主細胞タンパク質等もまた、典型的には、収穫流体中に存在する。一実施形態において、収穫流体又は細胞培養流体は、宿主細胞タンパク質濃度が、少なくとも50,000、100,000又は200,000 ng/mL、かつ最大2,000,000、1,000,000、又は500,000 ng/mLである。これらの可溶性タンパク質は本質的により小さく、モノクローナル抗体から分離する必要がある。

【0092】

DNAは塩基配列であり、細胞の複製のための設計図である。一実施形態において、収穫流体又は細胞培養流体は、DNAの濃度が少なくとも 10^5 、 10^6 、 10^7 、 10^8 、又は 10^9 ピコグラム/mLである。本開示の濾過媒体配列を通過した後、濾過流体のDNAは、log減少値で3以上、多くの場合、log減少値で4以上、又はlog減少値で8以上減少し得る。

【0093】

モノクローナル抗体等の標的生体高分子を単離かつ/又は精製するため、夾雑物のそれぞれを、十分なレベルまで除去しなくてはならない。多くの場合、培地は、緩衝液、電解質、及び/又は糖を含み、これらはフィルタの性能に影響を及ぼす場合がある。一実施形態において、収穫流体又は細胞培養流体は、伝導度が、少なくとも10ミリジーメンズ/cm (mS/cm)、又は15 mS/cm、かつ最大25 mS/cm又は35 mS/cm以下である。濾過媒体配列が精製及び/又は単離のプロセスに用いられるいくつかの実施形態において、入口の流体(すなわち、濾過される流体)は、前の処理工程に応じ、より高い又はより低い伝導度を有し得る。一実施形態において、入口の流体は、伝導度が、少なくとも1 mS/cm、又は0.5 mS/cm、かつ少なくとも40 mS/cm又は50 mS/cm以下である。モノクローナル抗体の従来の単離/精製中には、処理溶液を希釈し、イオン濃度を低下させる場合があるが、これは、高塩濃度が特定の技術、例えばイオン交換等の妨げとなる場合があるためである。

【0094】

本出願において、第四級アンモニウム基によって官能化された不織布基材が、グアニジン基又はピグアニド基を有するリガンドによって官能化された微多孔質膜の上流に配置された場合、濾過装置は、処理工程数を最小化しながらも、流体から細胞残屑を精製する高い能力と、流体からDNAを大幅に低下させ、かつ宿主細胞タンパク質を大幅に低下させる高い能力と、を有する様式となり得ることが判明した。

【0095】

モノクローナル抗体の精製に用いられる場合、第1の濾過媒体は、全細胞及び細胞残屑、並びに可溶性夾雑物、例えばDNA及び一部の宿主細胞タンパク質等を除去する役割を果たすことができる。第2の濾過媒体はグアニジル基を含み、負に帯電した夾雑物、特に負に帯電した宿主細胞タンパク質を結合させることができ、正に帯電した物質、例えばモノクローナル抗体(mAb)等を通過させることができる。

【0096】

一実施形態において、本開示の濾過配列は、高塩濃度の存在下で細胞残屑、DNA、及び宿主細胞タンパク質の効果的な除去に用いることができ、mAb等の標的生体高分子の精製及び/又は単離が可能となる。

【0097】

下記の実施例で説明するように、第1の濾過媒体を第2の濾過媒体の上流に含む多層構造体を用いることにより、第四級アンモニウム基又はグアニジル基のみを含むフィルタに比べ、驚くほど良好な処理量が得られることが判明した。第1の濾過媒体が第2の濾過媒体の上流にあるこれらの2つの濾過媒体の組み合わせにより、向上した処理量をもたらされ、濾材の組み合わせの耐用期間が延長され得ることも判明した。向上した処理量は、濾過媒体による向上した処理量によるだけではなく、生体材料の精製又は単離において1つ

10

20

30

40

50

以上の処理工程を取り除いたことにもより、かつノ又はより効果的に夾雑物を低下させ、後続処理への夾雑物の暴露を最小化することにより、後続要素の耐用期間を延長することができる。タンパク質精製プロセスの初期、例えば、収穫した細胞培養流体、又は遠心分離されたこれらの遠心分離液の最初の浄化中に利用される場合、本開示の濾過媒体は、標的タンパク質（例えば、m A b）が、標的タンパク質の品質を劣化させ得る流体夾雑物（例えば、プロテアーゼ酵素）に暴露される時間を制限する役割を果たすこともできる。

【0098】

本開示の例示的な実施形態としては、以下の非限定的な実施形態が挙げられる。

【0099】

実施形態1 .

(i) 複数の第四級アンモニウム基を含む陰イオン交換不織布基材を含む、第1の濾過媒体と、

(i i) 複数のグアニジル基を含む官能化微多孔質膜を含む第2の濾過媒体と、を含み、

第1の濾過媒体が第2の濾過媒体の上流に配置されている、濾過媒体配列。

【0100】

実施形態2 . 第1の濾過媒体が、第1の濾過媒体1グラム当たり少なくとも0 . 1 mmolの第四級アンモニウム基を含む、実施形態1に記載の濾過媒体配列。

【0101】

実施形態3 . 第2の濾過媒体が、第2の濾過媒体1グラム当たり少なくとも0 . 01 mmolのグアニジル基を含む、実施形態1 ~ 2のいずれか1つに記載の濾過媒体配列。

【0102】

実施形態4 . 陰イオン交換不織布基材が、1 ~ 6マイクロメートルの有効繊維径を有する、実施形態1 ~ 3のいずれか1つに記載の濾過媒体配列。

【0103】

実施形態5 . 第2の濾過媒体が、0 . 1 ~ 5マイクロメートルの平均流動孔径を有する、実施形態1 ~ 4のいずれか1つに記載の濾過媒体配列。

【0104】

実施形態6 . 第1の濾過媒体が、不織布基材の表面にグラフトされたポリマーを含み、ポリマーが、

(a) 80 ~ 98重量%のアミノアルキル(メタ)アクリロイルモノマーと、

(b) 2 ~ 20重量%のポリ(アルキレンオキシド)モノマーと、

(c) 0 ~ 10重量%の第2の親水性モノマーと、が共重合したモノマー単位を含む、実施形態1 ~ 5のいずれか1つに記載の濾過媒体配列。

【0105】

実施形態7 . 第2の濾過媒体が、不織布基材の表面にグラフトされたポリマーを含み、ポリマーが、

(a) 10 ~ 50重量%の第四級アンモニウム含有リガンドモノマーと、

(b) 10 ~ 80重量%のアミドモノマーと、

(c) 10 ~ 40重量%のオキシモノマーと、

(d) 0 ~ 30重量%のポリ(アルキレンオキシド)モノマーと、が共重合したモノマー単位を含む、実施形態1 ~ 6のいずれか1つに記載の濾過媒体配列。

【0106】

実施形態8 . 官能化微多孔質膜がTIPS膜を含む、実施形態1 ~ 7のいずれか1つに記載の濾過媒体配列。

【0107】

実施形態9 . 官能化微多孔質膜がSIPS膜を含む、実施形態1 ~ 8のいずれか1つに記載の濾過媒体配列。

【0108】

実施形態10 . 官能化微多孔質膜がフリーラジカルグラフト化グアニジル官能性(メタ

10

20

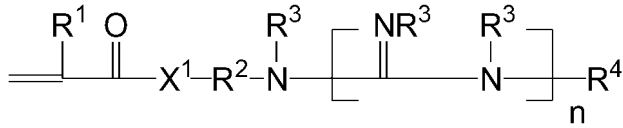
30

40

50

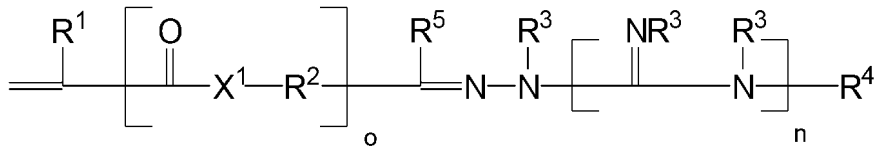
) アクリロイルモノマー (free-radically grafted guanidyl-functional (meth)acryloyl monomer: フリーラジカルによりグラフト化されたグアニジル官能性(メタ)アクリロイルモノマー) を含み、グアニジル官能性(メタ)アクリロイルモノマーが、

【化11】



及び

【化12】



[式中、

R¹ は H 又は C₁ ~ C₄ アルキルであり、

R² は (ヘテロ) ヒドロカルビル基であり、

各 R³ は 独立して H 又は ヒドロカルビルであり、

R⁴ は H、C₁ ~ C₁₂ アルキル 又は -N(R³)₂ であり、

R⁵ は H 又は ヒドロカルビルであり、

X¹ は -O- 又は -NR³- であり、

o は 0 又は 1 であり、かつ

n は 1 又は 2 である] のうちの少なくとも 1 つを含む、実施形態 1 ~ 9 のいずれか 1 つに記載の濾過媒体配列。

【0109】

実施形態 11 . フリーラジカルグラフト化グアニジル官能性(メタ)アクリロイルモノマーが、微多孔質膜上に配置されたプライマー層にグラフトされ、

プライマー層が、エチレン性不飽和重合性基を有する架橋ポリアミンポリマーを含み、エチレン性不飽和重合性基を有する架橋ポリアミンポリマーが、

(a) ポリアミンポリマーと、

(b) ポリアミンポリマーのための多官能性架橋剤と、

(c) アミン反応性官能基及びエチレン性不飽和重合性基を有するモノマーと、の反応生成物である、実施形態 10 に記載の濾過媒体配列。

【0110】

実施形態 12 . フリーラジカルグラフト化グアニジル官能性(メタ)アクリロイルモノマーが、II 型光開始剤の存在下で、微多孔質膜上にグラフトされる、実施形態 10 ~ 11 のいずれか 1 つに記載の濾過媒体配列。

【0111】

実施形態 13 . 第 1 の濾過媒体が第 2 の濾過媒体と接触している、実施形態 1 ~ 12 のいずれか 1 つに記載の濾過媒体配列。

【0112】

実施形態 14 . 多層物品を含み、多層物品が第 1 の濾過媒体及び第 2 の濾過媒体を含む、実施形態 1 ~ 13 のいずれか 1 つに記載の濾過媒体配列。

【0113】

実施形態 15 . 第 1 の濾過媒体と第 2 の濾過媒体との間に配置された非官能化濾過媒体(non-functionalized filtration medium: 官能化されていない濾過媒体) を更に含む、実施形態 1 ~ 14 のいずれか 1 つに記載の濾過媒体配列。

【0114】

実施形態 16 . 非官能化濾過媒体が微多孔質の非官能化サイズ排除膜である、実施形態

10

20

30

40

50

15に記載の濾過媒体配列。

【0115】

実施形態17．微多孔質の非官能化サイズ排除膜が非対称の細孔構造を有する、実施形態16に記載の濾過媒体配列。

【0116】

実施形態18．微多孔質の非官能化サイズ排除膜が、第2の濾過媒体よりも小さい平均流動孔径を有する、実施形態16に記載の濾過媒体配列。

【0117】

実施形態19．

流体入口と、

流体出口と、

流体入口及び流体出口を流体連通する濾過媒体と、を含み、

濾過媒体が、

(i)複数の第四級アンモニウム基を含む陰イオン交換不織布基材を含む、第1の濾過媒体と、

(ii)複数のグアニジル基を含む官能化微多孔質膜を含む、第2の濾過媒体と、を含み、かつ

第1の濾過媒体が第2の濾過媒体、複数の濾過媒体の上流に配置されている、フィルタ装置。

【0118】

実施形態20．濾過媒体が、複数のプリーツを含む媒体シリンダに成形される、実施形態19に記載のフィルタ装置。

【0119】

実施形態21．コアを更に含み、第2の濾過媒体がコアの周りに巻かれ、かつ第1の濾過媒体が第2の濾過媒体の周りに巻かれている、実施形態19に記載のフィルタ装置。

【0120】

実施形態22．フィルタ装置が、

分離要素と、

縁部シールと、を更に含み、

分離要素が、

流体入口と流体連通している中心コアと、

第1の側面と、

第2の側面と、を含み、

濾材が、

分離要素の第1の側面上に配置され、外周縁部及び内周縁部を有する第1の媒体ディスクと、

分離要素の第2の側面上に配置され、外周縁部及び内周縁部を有する第2の媒体ディスクと、を更に含み、

第1及び第2の媒体ディスクの外周縁部が縁部シールにより連通されており、第1及び第2の媒体ディスクの内周縁部が中心コアに連通されており、第1及び第2の媒体ディスクの上流側が第1の濾過媒体を含む、実施形態19に記載のフィルタ装置。

【0121】

実施形態23．生体流体の濾過方法であって、方法が、

(a)標的生体分子及び夾雑物を含む生体流体を準備することと、

(b)生体流体を、実施形態1～22のいずれか1つに記載の濾過媒体配列に接触させて濾過流体を得ることと、を含む、方法。

【0122】

実施形態24．生体流体が少なくとも10mS/cmの伝導度を有する、実施形態23に記載の方法。

【0123】

10

20

30

40

50

実施形態 25 . 生体流体が少なくとも 40 NTU の濁度を有する、実施形態 23 ~ 24 のいずれか 1 つに記載の方法。

【 0 1 2 4 】

実施形態 26 . 生体流体が 100,000 ng/mL ~ 2,000,000 ng/mL の宿主細胞タンパク質濃度を有する、実施形態 23 ~ 25 のいずれか 1 つに記載の方法。

【 0 1 2 5 】

実施形態 27 . 生体流体が少なくとも 10^5 pg/mL の DNA 濃度を有する、実施形態 23 ~ 26 のいずれか 1 つに記載の方法。

【 0 1 2 6 】

実施形態 28 . 濾過流体が 15 NTU 未満の濁度を有する、実施形態 23 ~ 27 のいずれか 1 つに記載の方法。

10

【 0 1 2 7 】

実施形態 29 . 生体流体が第 1 の宿主細胞タンパク質濃度を有し、かつ濾過流体が第 2 の宿主細胞タンパク質濃度を有し、第 2 の宿主細胞タンパク質濃度が、第 1 の宿主細胞タンパク質濃度より少なくとも 50 % 低い、実施形態 23 ~ 28 のいずれか 1 つに記載の方法。

【 0 1 2 8 】

実施形態 30 . 生体流体が第 1 の DNA 濃度を有し、かつ濾過流体が第 2 の DNA 濃度を有し、第 2 の DNA 濃度が、第 1 の DNA 濃度より少なくとも 3 log 低い、実施形態 23 ~ 29 のいずれか 1 つに記載の方法。

20

【 0 1 2 9 】

実施形態 31 . 濾過流体を、プロテイン A によって官能化されたクロマトグラフィーカラムに接触させることを更に含む、実施形態 23 ~ 30 のいずれか 1 つに記載の方法。

【 0 1 3 0 】

実施形態 32 . 標的分子がタンパク質である、実施形態 23 ~ 31 のいずれか 1 つに記載の方法。

【 0 1 3 1 】

実施形態 33 . 標的分子が正に帯電したタンパク質である、実施形態 32 に記載の方法。

【 0 1 3 2 】

30

実施形態 34 . 正に帯電したタンパク質がモノクローナル抗体である、実施形態 33 に記載の方法。

[実施例]

【 0 1 3 3 】

別途断りのない限り、実施例及び明細書の残りの部分における、全ての部、百分率、比等は全て重量によるものであり、実施例で用いた全ての試薬は、一般的な化学物質供給元、例えば、Sigma-Aldrich Company (Saint Louis, Missouri) 等より入手した、若しくは、入手可能である、又は、従来の方法によって合成することができる。

【 0 1 3 4 】

40

これらの略語は、以下の例において用いられる：cm = センチメートル、g = グラム、mL = ミリリットル、min = 分、 μ L = マイクロリットル、mmol = ミリモル、wt = 重量、pg = ピクトグラム (pictograms)、kPa = キロパスカル、kV = キロボルト、kGy = キルグレイ (kilgray)、及び $^{\circ}$ C = 摂氏度。

【 0 1 3 5 】

材料

【 0 1 3 6 】

メタクリルアミドプロピルトリメチルアンモニウムクロライド (MAPTAC、50% wt/wt 水溶液)、メチレンビスアクリルアミド (MBA)、ベンゾフェノン、及びメタノールは、Sigma-Aldrich より入手した。

50

【0137】

4 - (3 - スルホプロピルオキシ) ベンゾフェノンナトリウム塩 (S - B P) は、特許第 47040913 号 (Teijin Ltd.) に記載のように調製することができる。

【0138】

N - (3 - ジメチルアミノプロピル) メタクリルアミド (D M A P M A) 及び N - ビニルピロリドン (N V P) は、T C I A m e r i c a s , I n c . (P o r t l a n d , O r e g o n) より入手した。

【0139】

イソシアナートエチルメタクリレートアグマチンナトリウムサルフェート (I E M - A g) は、米国特許出願公開第 2011 - 0033633 号に記載のように調製することができる。

10

【0140】

グリシジルメタクリレート (G M A) は、D o w C h e m i c a l C o r p o r a t i o n (D e e r P a r k , T e x a s) より入手した。

【0141】

ナイロン膜基材 (# 080ZN、強化ナイロン - 6, 6 膜、名目上孔径 0.8 マイクロメートル) は、3 M P u r i f i c a t i o n , I n c . (M e r i d e n , C T) より入手した。

【0142】

ポリプロピレンブローンマイクロファイバー (P P B M F) 基材は、メルトブローン処理により調製し、有効繊維径は 4.3 マイクロメートル、基本重量は 90 g / m²、かつソリディティは 10% であった。

20

【0143】

測定

【0144】

官能性不織布についてのグラフトポリマーの質量パーセント及びグラフト密度測定

【0145】

下記の官能性不織布について、グラフト官能性ポリマーの質量パーセントを以下のように測定した。少なくとも 5 つの直径 47 mm のディスクを、乾燥した官能性不織布試料からダイカットした。ディスクを水分天秤 (M e t t l e r - T o l e d o M J 3 3、M e t t l e r - T o l e d o , L L C (C o l u m b u s , O h i o) より入手可能) 上において 90 で一定重量となるまで乾燥し、一定乾燥重量を m_f として記録した。P P B M F 基材の等面積の質量を m_i として記録した。次に、グラフトポリマーの質量パーセントを以下のように計算した。

30

【数 1】

$$\text{グラフトポリマーの質量\%} = \frac{m_f - m_i}{m_f} \times 100\%$$

【0146】

グラフト官能性ポリマーの質量パーセントは、不織布基材にグラフトされたモノマーのミリモル数の推定に後で用いた。すなわち、官能性ポリマーの質量パーセントに面積が既知の試料の総質量を乗じ、この結果にコーティング溶液中のリガンド官能性モノマーの全モノマーに対する質量パーセントを乗じ、更にリガンド官能性モノマーの分子量で割って求めた。次に、不織布基材の元の質量で割ってグラフト密度を基準に合わせ、基材 1 グラム当たりのグラフトされたモノマーのミリモル (m m o l / g) として表した。

40

【0147】

官能性膜のグラフト密度測定

【0148】

ナイロン膜基材は、グラフトする前に、低湿度チャンバ (S a n p i a D r y K e

50

eper, Sanplatic Corporation, VWR Internationalより入手可能) 中において相対湿度 (RH) 20 ~ 25 パーセント (%) で最低 18 時間平衡化した。基材を低湿度チャンバから取り出し、直ちに秤量した後、各種のリガンド官能基含有モノマーについて以下に記載のように、フリーラジカルグラフト反応させた。洗浄及び乾燥処理の後、基材を再び低湿度チャンバ中で最低 18 時間平衡化し、チャンバから取り出し、直ちに再秤量し、グラフト反応中の質量増加の測定値を得た。続いて、この質量増加を用い、質量増加をモノマーの分子量で割って、膜基材にグラフトされたモノマーのミリモル数を推定した。次に、膜基材の元の質量で割ってグラフト密度を基準に合わせ、基材 1 グラム当たりのグラフトされたモノマーのミリモル (mmol/g) として表した。

10

【0149】

pH 及び伝導度

供試流体の pH 値及び伝導度値を、Beckman Coulter pH/Conductance 570 pH 及び電気化学計 (Beckman Coulter, Inc. (Brea, California) より入手可能) によって特性分析した。

【0150】

濁度

【0151】

濾過実験において、供試流体及び処理した流体を、濁度計 (商標名「ORION AQUAFAST AQ4500 TURBIDIMETER」でThermoFisher Scientificより入手可能) を用いて測定した。濁度計により、濁度値は、標準的な比濁法濁度単位 (NTU) で得られる。

20

【0152】

ELISA による宿主細胞タンパク質 (HCP) 濃度の定量

【0153】

CHO HCP の定量は、CHO HCP に特異的な酵素結合免疫吸着測定法 (ELISA) (CHO HCP ELISA キット, 3G, Cygnus Technologies (Southport, NC) より入手した) を用いて実施した。分析の前に、試料を緩衝液 (Cygnus Technologies より入手した試料希釈緩衝液) で希釈し、検量線の範囲内の濃度とした。

30

【0154】

HCP 減少 (%)、すなわち、供試流体 (CHO 遠心分離液) 中の HCP 濃度から濾過流体中の HCP 濃度を差し引いた差を、供試流体 (CHO 遠心分離液) 中の HCP 濃度で割って求め、百分率で報告される HCP 濃度を報告する。

【0155】

ドデシル硫酸ナトリウムポリアクリルアミドゲル電気泳動 (SDS-PAGE)

【0156】

変性電気泳動用のアリコートを含む、あらかじめ混合したタンパク質試料緩衝液 (Biorad Laboratories Inc. (Hercules, CA) より入手した 2X Laemmli 試料緩衝液) に溶解した。試料を、あらかじめ成形した 12% トリス-グリシンゲル (商標名「CRITERION TGX PRECAST GEL」でBiorad Laboratories Inc. より入手可能) 中、200 ボルトで 30 分間泳動し、アリコート中の各種のタンパク質を分離した。電気泳動終了後、ThermoFisher Scientific の銀染色キットを用い、ゲルを染色した。

40

【0157】

DNA 濃度の定量

【0158】

CHO DNA の定量は、定量的ポリメラーゼ連鎖反応 (qPCR) により、CHO DNA (商標名「RES DNA SEQ QUANTITATIVE CHO DNA K

50

IT」でThermoFisher Scientific (Waltham, MA)より入手可能)に特異的なアッセイを用いて実施した。qPCRの前に、調製キット(商標名「PREPSEQ RESIDUAL DNA SAMPLE PREPARATION KIT」でThermoFisher Scientificより入手可能)を用い、DNAを試料から分離し、細胞培地成分による妨害を防止した。

【0159】

DNAの減少は、LRV(log減少値)(濾過流体中で測定されたDNA濃度を、供試流体(CHO遠心分離液)中のDNA濃度で割った後、得られた商の、底が10の対数をとった)として報告する。

【0160】

材料の調製

【0161】

膜1:第四級アンモニウム官能性膜

【0162】

第四級アンモニウム官能性(「Q官能性」)膜1を、以下のように調製した。コーティング溶液:MAPTAC(50%wt/wt水溶液3.532グラム)及びS-BP(脱イオン水に溶解した0.05g/mL溶液250マイクロリットル)を混合した後、脱イオン水で全量20グラムに希釈し、コーティング溶液を調製した。

【0163】

調製:18cm×23cmのナイロン膜基材をポリエステルフィルムのシート上に配置し、基材の上面に、コーティング溶液をピペットで移した。コーティング溶液を基材に約1分間浸漬させた後、ポリエステルフィルムの第2のシートを基材の上部上に配置した。2.28kgの円筒状のおもりを、得られた3層のサンドイッチ状試料の上部上で転がし、余分な溶液を搾り出した。18個のバルブ[SYLVANIA RG2 40WF 40/350BL/ECO、基材の上に10個、下に8個、長さ1.17メートル(46インチ)、中央の間隔5.1cm(2インチ)]を備えたUVスタンド(Classic Manufacturing, Inc. (Oakdale, MN))を用い、15分間の照射時間でサンドイッチ状試料を照射し、紫外線(UV)開始グラフトを実施した。ポリエステルシートを取り外し、得られた官能化基材を1000mLのポリエチレン瓶に入れた。瓶に0.9パーセント(%)食塩水を充填し、密封し、30分間振とうし、任意の残留モノマー又は未グラフトポリマーを洗い落とし、食塩水を捨て、官能化基材を新鮮な食塩水で更に30分間洗浄した後、脱イオン水で30分間洗浄し(2回)、乾燥させた。

【0164】

官能性膜1のグラフト密度は、0.53mmol/gであることが分かった。

【0165】

膜2A:グアニジル官能性膜

【0166】

グアニジル官能性(「G官能性」)膜2を、以下のように調製した。コーティング溶液: IEM-Ag(3.5グラム)、MBA(0.07グラム)、及びベンゾフェノン(0.125グラム)を混合した後、メタノールで全量を25グラムに希釈し、コーティング溶液を調製した。混合物を30分間攪拌した後、濾過した。次いで、膜1の調製について上記したように、ナイロン膜基材をコーティング溶液でコーティングし、照射し、洗浄し、乾燥した。官能性膜2Aのグラフト密度は、0.51mmol/gであることが分かった。

【0167】

膜2B:グアニジル官能性膜

【0168】

グアニジル官能性(「G官能性」)膜2Bを、米国特許出願公開第2012/0252091号、実施例42に記載の手順に従い、調製した。

10

20

30

40

50

【 0 1 6 9 】

膜 3 : 第三級アミン官能性膜

【 0 1 7 0 】

第三級アミン官能性(「T官能性」)膜3を、以下のように調製した。コーティング溶液: DMA PMA (0.851グラム)及びS-BP(脱イオン水に溶解した0.05g/mL溶液250マイクロリットル)を混合した後、脱イオン水で全量20グラムに希釈し、コーティング溶液を調製した。次いで、膜1の調製について上記したように、ナイロン膜基材をコーティング溶液でコーティングし、照射し、洗浄し、乾燥した。官能性膜3のグラフト密度は、0.41mmol/gであることが分かった。

【 0 1 7 1 】

不織布1: 第四級アンモニウム官能性不織布

【 0 1 7 2 】

第四級アンモニウム官能性(「Q官能性」)不織布1を、米国特許第2015/0099413号に記載の手順に従い、調製した。コーティング溶液: MAPTAC水溶液(50%wt/wt水溶液)、NVP、GMA、及び脱イオン水を混合し、9wt%のMAPTACモノマー、11wt%のNVP、6wt%のGMA、及び74wt%の水を含む水溶液を調製し、コーティング溶液を調製した。グローブボックス内の窒素雰囲気下でコーティング溶液のカバーを繰り返し開閉し、かつ溶液を振とうし、コーティング溶液の空気をパージした。

【 0 1 7 3 】

調製: PP BMF基材の30cm×43cmのシートの空気をグローブボックス内でパージし、再密封可能なプラスチック袋に入れ、密封した。次いで密封した袋をグローブボックスから取り出し、ウェブ速度約5.5メートル/min(18~19フィート/min)及び加速電圧300kVでEnergy Sciences, Inc.の「Electrocurtain」CB-300電子ビーム中をワンパス操作で通過させ、線量レベル40kGyで照射した。次いで密封した袋を、グローブボックス内の窒素雰囲気に戻した。袋を開け、窒素パージしたコーティング溶液110グラムで均一に飽和し、ほとんどの窒素を排出した後、袋を再密封した。これらの工程中、グローブボックス内の酸素レベルは、概して40百万分率(ppm)未満に維持した。試料を袋内で平坦に維持し、コーティング溶液で約16時間飽和させた。次いで、米国特許第2015/0099413号に記載のように、官能化不織布を取り出し、洗浄し、乾燥した。グラフト官能性ポリマーの質量パーセントは、62パーセント(%)であることが分かった。これは、官能化不織布の0.25mmol/g又は不織布基材の0.66mmol/gのMAPTACグラフト密度に相当する。

【 0 1 7 4 】

不織布2: グアニジル官能性不織布

【 0 1 7 5 】

グアニジル官能性(「G官能性」)不織布2を、以下のように調製した。コーティング溶液: 9wt%のIEM-Ag、11wt%のNVP、6wt%のGMA、及び74wt%の脱イオン水を含むコーティング溶液を調製した。

【 0 1 7 6 】

調製: 次いで、不織布1の調製について上記したように、PP BMF基材を不活性状態でコーティングし、照射し、洗浄し、乾燥した。グラフト官能性ポリマーの質量パーセントは、69パーセント(%)であることが分かった。これは、官能化不織布の0.16mmol/g又は不織布基材の0.52mmol/gのIEM-Agグラフト密度に相当する。

【 0 1 7 7 】

不織布3: 第三級アミン官能性不織布

【 0 1 7 8 】

第三級アミン官能性(「T官能性」)不織布3を、以下のように調製した。コーティン

10

20

30

40

50

グ溶液：9 wt %のDMA PMA、11 wt %のNV P、6 wt %のGMA、及び74 wt %の脱イオン水を含むコーティング溶液を調製した。

【0179】

調製：次いで、不織布1の調製について上記したように、PP BMF基材を不活性化状態でコーティングし、照射し、洗浄し、乾燥した。グラフト官能性ポリマーの質量パーセントは、61パーセント(%)であることが分かった。これは、官能化不織布の0.32 mmol / g又は不織布基材の0.84 mmol / gのDMA PMAグラフト密度に相当する。

【0180】

供試流体

10

【0181】

標準的な細胞培養技術を用い、チャイニーズハムスター卵巣細胞の培養を行った。収穫流体を採取し、遠心分離した後、伝導度又はpH、濁度、及びELISAによるHCP濃度について試験した。各種の培養物を、本明細書に開示した実験に用いた。それぞれの概要を以下に説明する。

【0182】

CHO遠心分離液1：CHO細胞培養物を、細胞密度約 5×10^6 細胞数/mL及び生存率約20%で収穫した。収穫流体を4000 rpmで約4分間遠心分離し(Thermo fisher Scientificより入手可能なJouan GR4.22遠心分離機)、濁度85.2 NTU、HCP濃度169,596ナノグラム/ミリリットル(ng/mL)、及び伝導度11.8 mS/cmの遠心分離流体を得た。

20

【0183】

CHO遠心分離液2：CHO細胞培養物を、細胞密度約 1×10^8 細胞数/mL、生存率約60、及びmAb濃度0.5 mg/mLで収穫した。収穫流体を4000 rpmで約8分間遠心分離し(Thermo fisher Scientificより入手可能なJouan GR4.22遠心分離機)、濁度83.4 NTU、HCP濃度255,688ナノグラム/ミリリットル(ng/mL)、DNA濃度 2.41×10^8 pg/mL、及び伝導度16.9 mS/cmの遠心分離流体を得た。

【0184】

CHO遠心分離液3：細胞培養物を、細胞濃度約 1×10^7 細胞数/mL及び生存率約20%で収穫した。流体を遠心分離し、濁度81.0 NTU、HCP濃度259,840ナノグラム/ミリリットル(ng/mL)、及びpH6.8を有する遠心分離液を得た。

30

【0185】

CHO遠心分離液4：細胞培養物を、細胞濃度約 1×10^7 細胞数/mL及び生存率約20%で収穫した。流体を遠心分離し、濁度87.5 NTU、HCP濃度265,740ナノグラム/ミリリットル(ng/mL)、及びpH6.8を有する遠心分離液を得た。

【0186】

方法

【0187】

25 mmフィルタハウジングを用いた濾過供試実験

40

【0188】

CHO細胞供試流体を用い、以下のように、名目上直径25 mmのフィルタアクリルハウジングを用い、各種の不織布媒体と膜媒体との組み合わせについて濾過試験を実施した。官能性不織布媒体及び官能性膜媒体の直径25 mmのディスクを、上記の乾燥した媒体試料からダイカットした。各試験媒体の組み合わせにつき、特定の官能性膜媒体の6枚のディスクを、アクリルフィルタハウジングの底部に配置した。次いで、特定の官能性不織布媒体の4枚のディスクを、ホルダ中の官能性膜媒体の上部上に配置した。次いで、アクリルハウジングを組み立てた。アクリルハウジングは、供試流体がハウジングの入口に流入した後、4層の官能性不織布媒体を通過し、次いで6層の官能性膜媒体を通過し、次いでハウジングの出口から流出するように、媒体の周縁部の周りにリングによる縁部シー

50

ルがもたらされるよう構成され、有効濾過面積（EFA）2.84平方センチメートル（ cm^2 ）を画定した。流体入口付近に配置したベント弁により、試験前にハウジングから空気を抜くことが可能であった。

【0189】

濾過供試は、Pendotech（Princeton, New Jersey）より入手可能なPENDOTECHフィルタスクリーニングシステムを用いて実施した。自動ポンプモジュールにより、一定流量の供試溶液をフィルタハウジングに供給した。ハウジングの入口の上流に配置した圧力変換器を用い、フィルタハウジング全体の圧力低下をモニターした。フィルタハウジングの出口で採取した流体の質量を、マスバランスを用いてモニターした。任意の所定時間において、フィルタハウジングによって処理された流体の累積量を、EFA 1平方メートル当たりで処理された流体のリットル単位（ L/m^2 ）で特性分析した。

10

【0190】

各フィルタ試験前に、フィルタハウジングをまず通気させ、脱イオン水に溶解した25ミリモル（ mM ）の塩化ナトリウム溶液を流量 $3\text{ mL}/\text{min}$ 、 $250\text{ L}/\text{m}^2$ で流して洗浄した。次いで供給物流体をCHO供試流体に変え、流量 $3\text{ mL}/\text{min}$ でフィルタ試験を開始した。フィルタ試験中、膜に供試流体中の微粒子物が負荷されるのに伴い、圧力低下が増大した。圧力が 172 kPa （ 25 psi ）に達した時点でフィルタ試験を停止し、その時点で処理された流体の累積量を、処理量として記録した。各フィルタ試験用の出口の流体試料を、個々に約25ミリリットルのアリコートで採取し（ $88\text{ L}/\text{m}^2$ ）、これらのそれぞれの正確な質量を測定し、記録した。各アリコートの濁度を測定し、選択したアリコートを、HCP及び/又はDNA濃度について上記のように試験した。各フィルタ試験の平均出口濁度を、アリコートの質量により荷重し、アリコートのそれぞれの濁度の加重平均として算出した。

20

【0191】

47mmフィルタハウジングを用いた濾過供試実験

【0192】

CHO細胞供試流体を用い、以下のように、名目上直径47mmのフィルタハウジングを用い、各種の不織布媒体と膜媒体との組み合わせについて濾過試験を実施した。各供試実験において、それぞれが、単一の名目上直径47mmのアクリルフィルタハウジング又は直列に配置された2つのこのようなフィルタハウジングのいずれかを有する、4つのフィルタ列を構築した。媒体の直径47mmのディスクを、上記の乾燥した媒体試料からダイカットした。媒体ディスクを、フィルタハウジング内に、下記の例で詳述するように、特定の組み合わせで配置した。次いでハウジングを組み立てた。各アクリルハウジングは、媒体の周縁部の周りにOリングによる縁部シールがもたらされるよう構成され、EFA 13.85平方センチメートル（ cm^2 ）を画定した。流体入口付近に配置したベント弁により、試験前にハウジングから空気を抜くことが可能であった。

30

【0193】

1つのフィルタハウジングが用いられたフィルタ列において、供試流体がハウジングの流体入口に流入した後、ハウジング内の濾材を通過し、次いでハウジングの流体出口から流出するように、フィルタハウジングを配置した。2つのフィルタハウジングが用いられたフィルタ列において、供試流体が第1のハウジングの流体入口に流入した後、第1のハウジング内の濾材を通過し、次いで第1のハウジングの流体出口から流出し、次いで第2のハウジングの流体入口に流入した後、第2のハウジング内の濾材を通過し、次いで第2のハウジングの流体出口から流出するように、フィルタハウジングを配置した。

40

【0194】

通常の流動濾過スクリーニングシステム（3M Purification, Inc. (Meriden, CT)）を用い、濾過供試を実施した。自動ポンプモジュールにより、一定流量の供試溶液を各フィルタ列に供給した。各フィルタハウジング全体の圧力低下をモニターできるように、圧力変換器を、各フィルタ列の各フィルタハウジングの上流に

50

配置した。2つの直列のフィルタハウジングを有するフィルタ列においては、第1のフィルタハウジングと第2のフィルタハウジングとの間に三方弁を取り付け、フィルタ列のその位置から、試料をシリンジによって定期的に採取できるようにした。各フィルタ列の最後の直列のフィルタハウジングの出口で採取した流体の質量を、マスバランスを用いてモニターした。任意の所定時間において、フィルタハウジングによって処理された流体の累積量を、EFA1平方メートル当たりで処理された流体のリットル単位(L/m²)で特性分析した。

【0195】

各フィルタ試験前に、フィルタハウジングをまず通気させ、脱イオン水に溶解した35ミリモル(mM)の塩化ナトリウム溶液を流量4mL/min、250L/m²で流して洗淨した。次いで供給物流体をCHO供試流体に変え、流量3.7mL/minでフィルタ試験を開始した。フィルタ試験中、膜に供試流体中の微粒子物が負荷されるのに伴い、フィルタ列全体の全圧力低下が増大した。全圧力(フィルタ列における全ての直列のホルダ全体)が172kPa(25psi)に達した時点で各フィルタ試験を停止し、その時点で処理された流体の累積量を、処理量として記録した。

【0196】

実施例

【0197】

実施例1~2、比較例C1~C5

【0198】

表1に記載した各種の官能性媒体の組み合わせを、25mmフィルタハウジング法を用いた濾過供試実験において、CHO遠心分離液1を用いて試験した。実施例1~2及び比較例C1~C5についての、処理量、平均出口濁度、及びHCP減少の結果を、表1に報告する。

【表1】

表1

試料	不織布	膜	処理量 (L/m ²)	出口濁度	HCP減少(%)				
					アリコート				
					1	2	4	5	6
1	1	2A	470	3.3	97	86	44	—	11
C1	1	1	446	2.0	58	24	28	—	28
C2	2	2A	371	1.8	99	95	—	80	—
C3	2	1	410	1.7	96	88	—	52	—
C4	1	3	462	3.1	59	40	36	—	34
2	1	2A	340	2.6	—	91	37	—	—
C5	3	2A	286	4.8	—	89	—	22	—

「-」は分析しなかったという意味である。

【0199】

上流の膜が濾過媒体の最終的な処理量に影響を及ぼすものと仮定し、表1の処理量のデータを、不織布1、不織布2、及び不織布3についてまとめ、かつ比較した。不織布1使用時の平均処理量は430L/m²であった。不織布2使用時の平均処理量は390L/m²であった。不織布3の処理量は286L/m²であった。

【0200】

実施例3、比較例C6~C8

【0201】

上記の実験を、より高いHCP濃度を有する供試溶液を用い、再実施した。表2に記載した各種の官能性媒体の組み合わせを、25mmフィルタハウジング法を用いた濾過供試実験において、CHO遠心分離液2を用いて試験した。実施例3及び比較例C6~C8についての、DNA減少に対する処理量、平均出口濁度、HCP減少(%),及びlog減少値(LRV)の結果を、表2に報告する。上述のように、稼働中、フィルタハウジン

グ全体の圧力低下及び採取した流体の質量をモニターした。採取した流体の質量から、処理量 (L/m^2) が算出できる。図 6 に、実施例 3 及び比較例 C 6 ~ C 8 についての処理量の関数としての圧力を示す。

【表 2】

表 2

試料	不織布	膜	処理量 (L/m^2)	出口濁度	HCP減少(%)		LRV DNA減少	
					アリコート		アリコート	
					1	2	1	2
3	1	2A	657	5.7	74	46	6.71	7.33
C6	2	2A	384	3.5	82	66	6.95	6.78
C7	2	1	357	3.1	77	46	7.53	6.32
C8	1	1	552	3.4	46	29	7.91	7.03

10

【0202】

実施例 4 ~ 5、比較例 C 9 ~ C 10

【0203】

各種の媒体を、上記の 47mm フィルタハウジング法を用いた濾過供試実験に従い、フィルタ列中で試験した。

【0204】

比較例 C 9 は 1 つのフィルタハウジングのみを收容し、このフィルタハウジング内には、2 つの従来型のデプスフィルタ媒体グレード（商標名「ZETA PLUS 60ZA」及び「ZETA PLUS 90ZA」で 3M Co. (St. Paul, MN) より入手可能で、あらかじめ抽出された無機濾過助剤、セルロース、及び陽イオン性ポリマーバインダーからなる）が取り付けられていた。フィルタハウジングは、1 層の ZETA PLUS 60ZA を 1 層の ZETA PLUS 90ZA の上流に收容していた。

20

【0205】

比較例 C 10 は、直列に配置された 2 つのフィルタハウジングを收容していた。第 1 の（上流の）フィルタハウジングは、4 層の不織布 1 を收容していた。第 2 のフィルタハウジングは、官能化されていない、定格 0.2 マイクロメートルで非対称の非官能化ナイロンサイズ排除膜（non-functionalized nylon size-exclusion membrane：官能化されていないナイロンサイズ排除膜）1 つを收容していた。このフィルタ列は、哺乳動物細胞培養の浄化向けに設計された市販の合成浄化フィルタ、3M EMPHAZE AEX ハイブリッド浄化器（3M Purification, Inc. (Meriden, CT) より入手可能）をシミュレーションするものであった。

30

【0206】

実施例 4 は、直列に配置された 2 つのフィルタハウジングを收容していた。第 1 の（上流の）フィルタハウジングは、4 層の不織布 1 を收容していた。第 2 のハウジングは、定格 0.2 マイクロメートルで非対称の非官能化ナイロンサイズ排除膜 1 つを、2 層の膜 2 B の上流に收容していた。

【0207】

実施例 5 は、2 層の代わりに 4 層の膜 2 B を用いた以外は、実施例 4 と同じ構成であった。

40

【0208】

4 つのフィルタ列に、CHO 遠心分離液 3 を流量 3.7 mL/min で同時に供試した。試料を、各フィルタ列から 2 つの位置のそれぞれにおいて、HCP 分析用に採取した。第 1 の位置（2 つのハウジングを用いた場合）は、ハウジング 1 の出口の下流であるが、これはハウジング 2 の入口の上流であった。これによって、ハウジング 1 内の媒体によってもたらされた HCP 減少の算出が可能となった。第 2 の位置は、ハウジング 2 の出口の下流であった。これによって、両方のハウジング内の媒体によってもたらされた累積 HCP 減少の算出が可能となった。試料を、各フィルタ列から、145 L/m^2 及び 220 L/m^2 の 2 つの処理量ポイントで採取し、稼働の前半及び稼働の後半それぞれにおいても

50

たらされたHCP減少の特性分析が可能となった。位置及び処理量ポイントのそれぞれにおけるHCP減少を、表3に示す。下記の表3には、実施例4～5及び比較例C9～10の蓄積した濾過流体の総処理量及び濁度も示す。

【表3】

表3

試料	HCP減少(%)				総処理量 (L/m ²)	濁度 (NTU)
	145L/m ²		220L/m ²			
	ハウジング1の後	ハウジング2の後	ハウジング1の後	ハウジング2の後		
C9	NA	26	NA	0	339	0.5
C10	33	26	28	33	422	3.0
4	34	69	31	35	397	4.5
5	26	74	30	68	365	2.8

NAは、該当しないことを意味する。

【0209】

実施例6～8、比較例C11

【0210】

各種の媒体を、上記の47mmフィルタハウジング法を用いた濾過供試実験に従い、フィルタ列中で試験した。

【0211】

比較例C11は1つのフィルタハウジングのみを収容し、このフィルタハウジング内には、定格0.2マイクロメートルで非対称の非官能化ナイロンサイズ排除膜1つの上流に、4層の不織布1が取り付けられていた。このフィルタ列は、哺乳動物細胞培養の浄化向けに設計された市販の合成浄化フィルタ、3M EMPHAZE AEXハイブリッド浄化器(3M Purification, Inc. (Meriden, CT)より入手可能)をシミュレーションするものであった。

【0212】

実施例6～8は、直列に配置された2つのフィルタハウジングを収容していた。なお、第1の(上流の)ハウジングの内容物は、比較例C11のハウジングの内容物と同一であった。実施例6～8の第2のハウジングは、それぞれ、3層、4層、及び6層の膜2Bを収容していた。

【0213】

4つのフィルタ列に、CHO遠心分離液4を流量3.7mL/minで同時に供試した。フィルタ列のそれぞれの全圧力低下が172kPa(25psi)に達した時点で、その時点で処理された流体の累積量を、処理量として記録した。各フィルタ列について蓄積した濾過流体の総貯留の濁度及びHCP濃度を測定した。これにより、稼働全体にわたって各フィルタ列によってもたらされたHCP減少の算出が可能となった。各フィルタ列の処理量、全濁度、及びHCP減少を表4に示す。

【表4】

表4

試料	総処理量(L/m ²)	濁度(NTU)	HCP減少(%)
C11	429	0.3	36
6	378	1.7	62
7	419	1.3	62
8	421	2.0	72

【0214】

CHO遠心分離液4の供試流体、並びに実施例6～8及び比較例C11の濾過流体の貯留のそれぞれからのアリコート、SDS-PAGEによって分析した。得られたゲルを図7に示す。

【0215】

本発明の範囲及び趣旨を逸脱することのない、本発明の予見可能な改変及び変更が当業

者には明らかであろう。本発明は、例示目的のために本出願に記載した実施形態に限定されるものではない。本明細書の記載と、参照によって本明細書に言及した若しくは組み込んだいずれかの文書の開示との間に何らかの矛盾又は不一致が存在する場合、本明細書の記載が優先するものとする。

【図1】

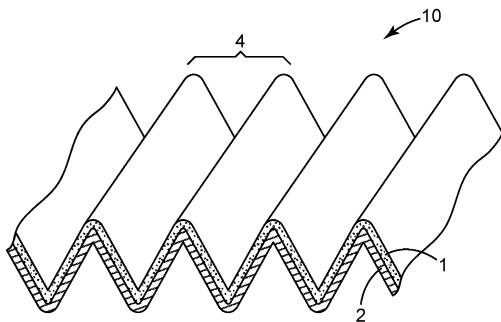


Fig. 1

【図2】

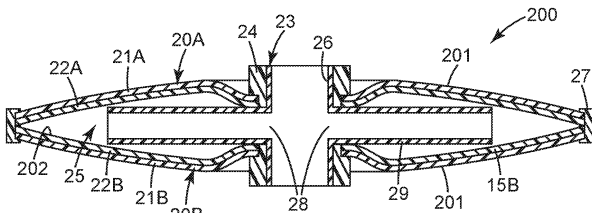


Fig. 2

【図3】

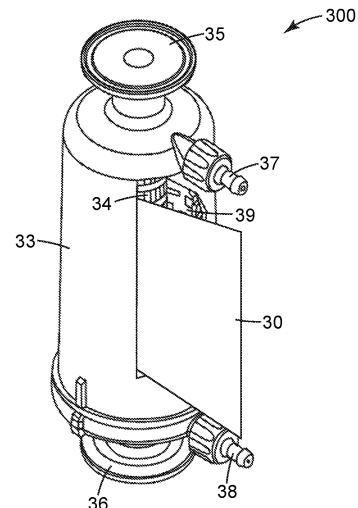


Fig. 3

【 図 4 】

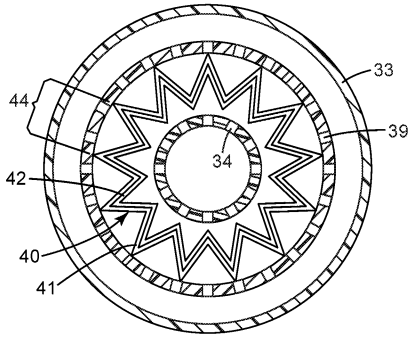


Fig. 4

【 図 5 】

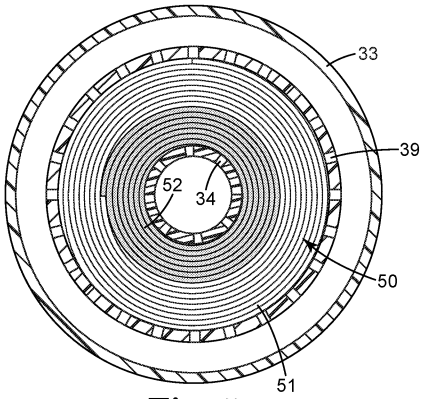


Fig. 5

【 図 6 】

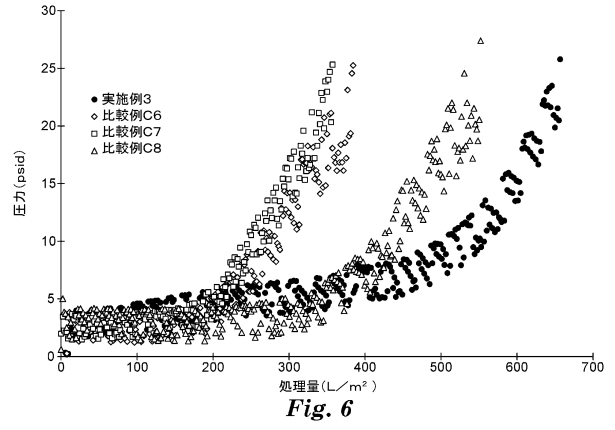


Fig. 6

【 图 7 】

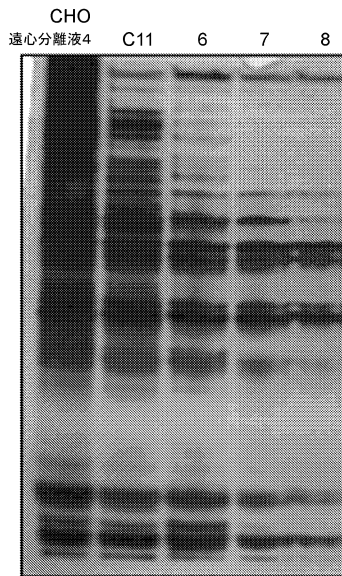


Fig. 7

フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I
 C 0 7 K 1/34 (2006.01) C 1 2 M 1/12
 C 0 7 K 1/34

- (72)発明者 ヘスター, ジョナサン エフ.
 アメリカ合衆国, ミネソタ州 5 5 1 3 3 - 3 4 2 7, セント ポール, ポスト オフィス ボッ
 クス 3 3 4 2 7, スリーエム センター
- (72)発明者 カストロ フォレロ, アンジェリネス エー.
 アメリカ合衆国, ミネソタ州 5 5 1 3 3 - 3 4 2 7, セント ポール, ポスト オフィス ボッ
 クス 3 3 4 2 7, スリーエム センター
- (72)発明者 ジェラム, グレゴリー エム.
 アメリカ合衆国, ミネソタ州 5 5 1 3 3 - 3 4 2 7, セント ポール, ポスト オフィス ボッ
 クス 3 3 4 2 7, スリーエム センター
- (72)発明者 ラスミュセン, ジェラルド ケー.
 アメリカ合衆国, ミネソタ州 5 5 1 3 3 - 3 4 2 7, セント ポール, ポスト オフィス ボッ
 クス 3 3 4 2 7, スリーエム センター
- (72)発明者 セシャドリ, カナン
 アメリカ合衆国, ミネソタ州 5 5 1 3 3 - 3 4 2 7, セント ポール, ポスト オフィス ボッ
 クス 3 3 4 2 7, スリーエム センター
- (72)発明者 ウォーラー, クリントン ピー., ジュニア
 アメリカ合衆国, ミネソタ州 5 5 1 3 3 - 3 4 2 7, セント ポール, ポスト オフィス ボッ
 クス 3 3 4 2 7, スリーエム センター

審査官 瀧 恭子

- (56)参考文献 特表2012-513546(JP,A)
 特表2015-521229(JP,A)
 特開2009-090259(JP,A)
 特表2006-518420(JP,A)
 特表2012-531531(JP,A)
 米国特許出願公開第2015/0099413(US,A1)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

B 0 1 D 1 5 / 0 0 - 1 5 / 4 2、3 9 / 0 0 - 4 1 / 0 4
 B 0 1 D 5 3 / 2 2、6 1 / 0 0 - 7 1 / 8 2
 G 0 1 N 3 3 / 4 8 - 3 3 / 9 8
 C 1 2 M 1 / 0 0 - 3 / 1 0
 C 0 2 F 1 / 4 4
 C 0 7 K 1 / 0 0 - 1 9 / 0 0