

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第6427007号
(P6427007)

(45) 発行日 平成30年11月21日(2018.11.21)

(24) 登録日 平成30年11月2日(2018.11.2)

(51) Int. Cl.		F I	
GO 1 N	30/56 (2006.01)	GO 1 N	30/56 A
GO 1 N	30/60 (2006.01)	GO 1 N	30/60 B
BO 1 D	15/08 (2006.01)	GO 1 N	30/60 E
		BO 1 D	15/08

請求項の数 20 (全 36 頁)

(21) 出願番号	特願2014-554969 (P2014-554969)	(73) 特許権者	504232044 レプリゲン・コーポレイション REPLIGEN CORPORATION N アメリカ合衆国02453マサチューセツ州ウォルサム、スウィート100、ビルディング・ナンバー1、セイオン・ストリート41番
(86) (22) 出願日	平成25年1月30日(2013.1.30)	(74) 代理人	110001195 特許業務法人深見特許事務所
(65) 公表番号	特表2015-507191 (P2015-507191A)	(72) 発明者	ウィット, ダニエル・ピ アメリカ合衆国、02129 マサチューセツ州、チャールズタウン、オーク・ストリート、28
(43) 公表日	平成27年3月5日(2015.3.5)		
(86) 国際出願番号	PCT/US2013/023895		
(87) 国際公開番号	W02013/116367		
(87) 国際公開日	平成25年8月8日(2013.8.8)		
審査請求日	平成28年1月25日(2016.1.25)		
(31) 優先権主張番号	61/592,569		
(32) 優先日	平成24年1月30日(2012.1.30)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 クロマトグラフィカラム

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

クロマトグラフィカラムを作製および装填する方法であって、
所望の体積の充填媒体を収容するために適切な弾性と、内径と、および長さとを有するカラム管を選択するステップと、

適切にサイズ決めされた前記カラム管に液体を運び込む/カラム管から液体を運び出す第1および第2のフローディストリビュータを選択するステップとを備え、少なくとも前記第2のフローディストリビュータは、前記カラム管の前記内径よりも大きい直径を有し、前記方法はさらに、

前記第1のフローディストリビュータを前記カラム管の第1の端に永久的に固定するステップと、

前記カラム管の中に充填媒体を装填するステップと、

軸方向力を加えて前記第2のフローディストリビュータを前記カラム管の第2の端に挿入して前記第2のフローディストリビュータを前記カラム管の最初の位置に押し込んで前記カラム管の内面と前記第2のフローディストリビュータの外周面との間に締り嵌めを確立し、前記カラム管の内部で前記第1および第2のフローディストリビュータ同士の間封止されたチャンバを形成するステップとを備え、前記締り嵌めは、前記カラム管が永久的に固定されることなく、操作圧力に耐えかつ液用シールを維持するのに十分なフープ張力を生じさせ、前記方法はさらに、

(i) 前記第2のフローディストリビュータが前記カラム管の内部の所望の場所に達す

10

20

るまで、前記第2のフローディストリビュータに付加的な軸方向力を加えることによって、または(i i)前記チャンバに液体を押入れて水圧力を加え、前記第2のフローディストリビュータを前記カラム管の前記第2の端に向けて戻すことによって、または(i)と(i i)との任意の組み合わせによって、前記カラム管の内部の前記第2のフローディストリビュータの長手方向の最初の位置を調整するステップと、

前記第2のフローディストリビュータが適切に位置決めされると、前記第2のフローディストリビュータを前記カラム管の内部に永久的に固定するステップとを備える、方法。

【請求項2】

前記カラム管はプラスチックを含む、請求項1に記載の方法。

【請求項3】

前記第2のフローディストリビュータは溶接によって永久的に固定される、請求項1および2のいずれか一項に記載の方法。

【請求項4】

前記第2のフローディストリビュータの前記直径は、前記カラム管の前記内径よりも約0.25%~5%大きい、請求項1から3のいずれか一項に記載の方法。

【請求項5】

前記締め込みの結果、前記第2のフローディストリビュータの外周面と前記カラム管の内面との間には隙間が形成されない、請求項1から4のいずれか一項に記載の方法。

【請求項6】

前記第1のフローディストリビュータは、前記カラム管の前記内径よりも大きい直径を有し、前記第1のフローディストリビュータを前記カラム管の第1の端に固定するステップは、軸方向力を加えて前記第1のフローディストリビュータを前記カラム管の前記第1の端に挿入して前記第1のフローディストリビュータを前記カラム管に押し込んで締め込みを確立するステップを含む、請求項1から5のいずれか一項に記載の方法。

【請求項7】

クロマトグラフィカラムを作製および装填する方法であって、

適切な弾性と、所望の体積の充填媒体を収容するための内径および長さとを有するカラム管を選択するステップと、

適切にサイズ決めされた第1および第2のフローディストリビュータを選択するステップとを備え、少なくとも前記第2のフローディストリビュータは、前記カラム管の前記内径よりも大きい直径を有し、前記方法はさらに、

前記第1のフローディストリビュータを前記カラム管の第1の端に永久的に固定するステップと、

前記カラム管の中に充填媒体を装填するステップと、

軸方向力を加えて前記第2のフローディストリビュータを前記カラム管の第2の端に挿入して前記第2のフローディストリビュータを前記カラム管に押し込んで締め込みを確立し、前記カラム管の内部で前記第1および第2のフローディストリビュータ同士の間を封止されたチャンバを形成するステップと、

(i)前記第2のフローディストリビュータが前記カラム管の内部の所望の場所に達するまで、前記第2のフローディストリビュータに付加的な軸方向力を加えることによって、または(i i)前記チャンバに液体を押入れて水圧力を加え、前記第2のフローディストリビュータを前記カラム管の前記第2の端に向けて戻すことによって、または(i)と(i i)との任意の組み合わせによって、前記カラム管の内部の前記第2のフローディストリビュータの長手方向の位置を調整するステップと、

前記第2のフローディストリビュータが適切に位置決めされると、前記第2のフローディストリビュータを前記カラム管の内部に永久的に固定するステップとを備え、

前記第2のフローディストリビュータを前記カラム管に押し込んで前記カラム管の内部に前記締め込みを確立するための前記軸方向力は、約4448.2N~約44482Nである、方法。

【請求項8】

10

20

30

40

50

前記カラム管の内面は、前記カラム管の少なくとも一端の周りに形成される面取部を含む、請求項 1 から 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9】

前記第 1 のフローディストリビュータは、前記カラム管の一体部品として形成される、請求項 1 から 8 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 10】

前記充填媒体は、約 40% ~ 約 70% の固体を含むスラリーを含む、請求項 1 から 9 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 11】

前記軸方向力は、静圧シールを生成するのに十分な誘起フープ張力を確立する、請求項 1 から 10 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 12】

クロマトグラフィカラムを作製および装填する方法であって、
 特定の体積の充填媒体を収容するための内径および長さ、特有の弾性および壁厚とを有するカラム管を選択するステップと、
 前記カラム管に液体を運び込むノカラム管から液体を運び出す第 1 および第 2 のフローディストリビュータを選択するステップとを備え、少なくとも前記第 2 のフローディストリビュータは、前記カラム管の前記内径よりも大きい外径を有し、前記方法はさらに、
 前記第 1 のフローディストリビュータを前記カラム管の第 1 の端に永久的に固定するステップと、

前記カラム管の中に充填媒体を装填するステップと、
 軸方向力を加えて前記第 2 のフローディストリビュータを前記カラム管の第 2 の端に挿入して、前記カラム管の内面と前記第 2 のフローディストリビュータの外周面との間の締め込みで、前記第 2 のフローディストリビュータを最初の長手方向の位置にまで前記カラム管に押込むステップとを備え、前記締め込みは、前記カラム管が永久的に固定されることなく、操作圧力に耐えかつ液用シールを維持するのに十分なフープ張力を生じさせ、前記方法はさらに、

装填された前記クロマトグラフィカラムの性能を試験するステップと、
 (i) 前記第 2 のフローディストリビュータに付加的な軸方向力を加えることによって、または (i i) チャンバに液体を押し入れて水圧力を加え、前記第 2 のフローディストリビュータを前記カラム管の前記第 2 の端に向けて戻すことによって、または (i) と (i i) との任意の組み合わせによって、前記カラム管の内部の前記第 2 のフローディストリビュータの最初の長手方向の位置を随意に調整するステップと、

前記第 2 のフローディストリビュータが最終の長手方向の位置に動かされると、前記第 2 のフローディストリビュータを前記最終の長手方向の位置で前記カラム管の内部に永久的に固定するステップとを備える、方法。

【請求項 13】

前記第 2 のフローディストリビュータの前記最初の長手方向の位置は、前記最終の長手方向の位置と異なる、請求項 12 に記載の方法。

【請求項 14】

前記第 2 のフローディストリビュータの前記最初の長手方向の位置は、前記最終の長手方向の位置と同じである、請求項 12 に記載の方法。

【請求項 15】

前記第 2 のフローディストリビュータが前記カラム管の内部に永久的に固定される前、前記クロマトグラフィカラムの性能を試験するステップをさらに備える、請求項 12 に記載の方法。

【請求項 16】

前記第 2 のフローディストリビュータの前記カラム管の内部の長手方向の位置を調整した後、前記クロマトグラフィカラムの性能を再試験するステップをさらに備える、請求項 12 に記載の方法。

10

20

30

40

50

【請求項 17】

前記クロマトグラフィカラムの性能が指定された性能レベルを満たすと、前記第2のフローディストリビュータが永久的に固定される、請求項12に記載の方法。

【請求項 18】

前記クロマトグラフィカラムの性能試験は、(i)理論段相当高さ試験、(ii)非対称性分析試験、または(i)と(ii)との任意の組合わせを含む、請求項12に記載の方法。

【請求項 19】

前記軸方向力は、前記第2のフローディストリビュータの外径が圧縮され、前記カラム管の内径が圧縮されることにより誘起される誘起フープ張力を克服するのに十分大きい、請求項1から10のいずれか一項に記載の方法。

10

【請求項 20】

前記カラム管には前記第2のフローディストリビュータとの間にリングが設けられない、請求項1から10のいずれか一項に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願との相互参照

本願は、2012年1月30日に出願された米国仮出願番号第61/592,569号の利益を主張し、この米国仮出願番号第61/592,569号は、全文が引用によって本明細書に援用される。

20

【0002】

技術分野

本発明は、クロマトグラフィカラム、ならびに製造および使用の方法に関する。

【背景技術】

【0003】

背景

カラムクロマトグラフィは、充填媒体の固定「ベッド」が剛性管に入れられる分離および/または精製技術である。充填媒体は、固体(「固定相」)または液体固定相でコーティングされた固体担体材料の粒子の形態であり得る。いずれにせよ、充填媒体は典型的にカラム管の内部体積を満たす。

30

【0004】

分離クロマトグラフィでは、液体試料(「移動相」)がカラムを通過する際、試料中の異なる化合物が固定相と異なって結び付き得るため、移動相に対して減速してカラムの中を異なる速度で進む。ゆえに、固定相とより結び付くそれらの化合物は、それほど結び付かない化合物よりもカラムの中をゆっくりと進み、この速度差によって、化合物はカラムを通過してカラムから出る際に互いに分離される。異なる結び付きを促進する固定相の特徴は、イオン電荷(イオン交換クロマトグラフィ)、疎水性(疎水性相互作用クロマトグラフィ)、および多孔率(サイズ排除クロマトグラフィ)であり得る。

【0005】

40

さらに別の種類のカラムクロマトグラフィであるアフィニティクロマトグラフィでは、充填媒体は、液体試料中の1つ以上の所望の化合物または分子と特異的に結合する結合剤、たとえば抗原、抗体、またはリガンドを含む。ゆえに、液体試料が充填媒体を流れると、所望の化合物または分子のみがカラム内に残る。その後、溶出液が充填媒体を流れて、充填媒体に付着した結合剤から所望の化合物もしくは分子を分離するか、または充填媒体から結合剤を分離する。いずれにせよ、所望の化合物または分子がカラムからすすぎ落とされて溶出流体に収集される。アフィニティクロマトグラフィは、核酸精製、無細胞抽出液からのタンパク質精製、および血液からの精製を含む多数の用途に用いることができる。

【発明の概要】

50

【発明が解決しようとする課題】

【0006】

クロマトグラフィカラムの主な構成要素は、金属、ガラス、または高剛性のプラスチック材料からなることが多い管と、一对のフローディストリビュータとであり、フローディストリビュータは典型的に管の2つの端に挿入されて、管の内部でフローディストリビュータ同士の間空間またはチャンバを形成し、この中に充填媒体が装填される。そのようなカラム内では、小さな空間または空隙が、リングがフローディストリビュータとカラム管の内壁との間にシールを形成している点まで、フローディストリビュータの外縁とカラム管の内壁との間に形成され得る。この空隙は、いわゆる「デッドゾーン」または「デッドスペース」を作り出し、流体および汚染物質は、カラム管内の媒体を流れるのではなく、これらのゾーンまたはスペースに入り、閉込められて停滞し得る。また、そのようなデッドゾーンは汚染されることがあり、カラムを再利用しようとするときに洗浄するのが困難である。

10

【課題を解決するための手段】

【0007】

要約

発明は、弾性的プラスチック/熱可塑性物質ならびに/または複合材料(ポリプロピレン(PP)、ポリエチレン(PE)、ポリアミド、アセタール、またはガラス充填もしくは炭素充填プラスチック、たとえばガラス繊維および炭素繊維プラスチック等)でクロマトグラフィカラム管を製造し、2つのフローディストリビュータの少なくとも一方を緊密な締め込みまたはプレス嵌めでカラム管の内部に固定する場合、フローディストリビュータと管壁との間の締め込みに対抗する誘起フープ張力によって、漏れを防止するのに十分な密封が提供され、結果として得られるクロマトグラフィカラムを、プレス嵌めされたフローディストリビュータの周りのデッドゾーンを大幅に減少させて製造できるという発明に少なくとも一部基づいている。発明の第2の有用な特徴は、本明細書中の説明に従って作製されたカラムは、媒体「ベッド高さ」としても公知の、無限に調整可能な充填媒体体積を有することである。

20

【0008】

一局面では、開示は、クロマトグラフィカラムを作製および充填する方法を特徴とする。これらの方法は、1)所望の体積の充填媒体を収容するのに適切な内径および長さを有する、たとえばプラスチックまたは別の適切な弾性材料からなるカラム管を選択するステップと、2)適切にサイズ決めされた第1および第2のフローディストリビュータを選択するステップとを含み、少なくとも第2のフローディストリビュータ(または第1および第2のフローディストリビュータの両方)は、管の内径よりも大きい、たとえば管の内径よりも約0.25~5.0%大きい直径を有し、方法はさらに、3)第1のフローディストリビュータを管の第1の端に永久的に固定するステップと、4)カラム管に充填媒体を添加するステップと、5)軸方向力を加えて第2のフローディストリビュータを管の第2の端に挿入して第2のフローディストリビュータをカラム管に押し込んで締め込みを確立し、たとえばそれによって、管の内部で第1および第2のフローディストリビュータ同士の間封止された、たとえば静圧封止されたチャンバを形成するのに十分効果的なフープ張力を誘起するステップと、6)(i)第2のフローディストリビュータがカラム管の内部の所望の場所に達するまで、第2のフローディストリビュータに付加的な軸方向力を加えることによって、または(ii)チャンバに液体を押し入れて水圧力を加え、第2のフローディストリビュータを管の第2の端に向けて戻すことによって、または(i)と(ii)との任意の組み合わせによって、管の内部の第2のフローディストリビュータの長手方向の位置を調整するステップと、7)第2のフローディストリビュータが適切に位置決めされると、第2のフローディストリビュータを管の内部に永久的に固定するステップとを含む。

30

40

【0009】

この新たな方法は、軸方向力を加えて第1および第2のフローディストリビュータを管

50

に押し込んで、静圧シールを生成するのに十分な誘起フープ張力を確立することによって、両フローディストリビュータを管の内部に固定するステップを含んでもよい。フローディストリビュータと管壁との間の締め込みによって生じるこの誘起フープ張力は、第1および/または第2のフローディストリビュータの外周面と管の内面との間のすべての隙間の形成を減少させるか回避する。いくつかの実施形態では、第1および/または第2のフローディストリビュータは、たとえば溶接または他の手段によって管の内部に永久的に固定されてもよい。

【0010】

いくつかの実施形態では、第2のフローディストリビュータを管に押し込んで管の内部に締め込みを確立するための軸方向力は、約1000 lbf ~ 約10,000 lbfである。

10

【0011】

いくつかの実施形態では、管の内面は、管の少なくとも一端の周りに形成される面取部を含み、フローディストリビュータをカラム管に挿入して中央に置くことを助ける。新たな方法のうちいくつかでは、第1のフローディストリビュータは、管の一体部品として形成されてもよい。

【0012】

ある実施形態では、充填媒体は、約40% ~ 約70%の固体を含むスラリーを含んでもよい。

【0013】

別の局面では、開示は、第1の端、第2の端、および内径 D_{Ti} を有するプラスチック管を含むクロマトグラフィカラムを特徴とし、内径 D_{Ti} は、管の第2の端において端直径 D_{Te} まで徐々に増加して面取部を形成し、クロマトグラフィカラムはさらに、プラスチック管の第1の端に固定される第1のフローディストリビュータと、 D_{Ti} よりも大きい(たとえば少なくとも0.25%、たとえば約0.05 ~ 約3.0, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0または3.5%大きい)外径 D_{fd} を有する第2のフローディストリビュータとを含み、第2のフローディストリビュータは、締め込みによって管の第2の端の内部に固定され、十分な誘起フープ張力を直接生じさせ、管の内部で第1および第2のフローディストリビュータ同士の間で静圧封止されたチャンバを形成する。

20

【0014】

いくつかの実施形態では、プラスチック管はさらに、第1の端において増加した端直径 D_{Te} を有して面取部を形成し、第1のフローディストリビュータは、 D_{Ti} よりも大きい外径 D_{fd} を有し、第1のフローディストリビュータは締め込みによって管の第1の端の内部に固定され、十分な誘起フープ張力を直接に生じさせる。ある実施形態では、第1のフローディストリビュータは管に永久的に接着されるか、または第1および第2のフローディストリビュータの両方が溶接接合部などの永久的な接着部によって管の内壁に固定されてもよい。

30

【0015】

ある実施形態では、この新たなクロマトグラフィカラムは、チャンバの内部に充填媒体を含んでもよい。いくつかの実施形態では、チャンバは静圧封止される。ある実施形態では、チャンバは、少なくとも50ポンド/平方インチの内圧に耐えるように構成される。いくつかの実施形態では、これら3つの特徴のすべてが存在する。

40

【0016】

いくつかの実施形態では、プラスチック管および第2のフローディストリビュータは同じ種類のプラスチックからなり、第1のフローディストリビュータは、管と一体化した特徴である。

【0017】

本明細書中に用いられる「ベッド高さ」という用語は、完成したクロマトグラフィカラムに入れられた充填クロマトグラフィ媒体粒子のベッドの直線高さを指す。

【0018】

50

本明細書中に用いられる「充填ベッド」とは、クロマトグラフィカラムの内部のクロマトグラフィ媒体粒子の最終状態を指す。この最終状態はさまざまな方法で達成される。たとえば、1つの方法は、流体の流れを組合せた後、フローディストリビュータの一方または両方によってベッドを軸圧縮することである。当該技術において公知の他の方法は、粒子の重力沈降、振動沈降、および/または機械的な軸圧縮のみを含む。

【0019】

本明細書中に用いられる「フローディストリビュータ」とは、クロマトグラフィカラムの各端でまたは各端の近くに固定される部品、たとえば円筒形部品である。フローディストリビュータは、複数の目的を果たす複数の部分からなる組立品であってもよい。1つの機能は、カラムに液体を送り込むかカラムから液体を送り出す異なるパイプ/配管と噛合うことが可能な出入口によって、カラムに液体を運び込む/カラムから液体を運び出すことである。別の機能は、1つまたは複数のより小さなチャネルからの液体の流入を導いて、充填ベッドの断面積全体にわたってできるだけ均一に液体を広げることである。逆に、カラムの出口側のフローディストリビュータは、断面積全体にわたって広がった液体を効率的に集め、当該液体を1つまたは複数のより小さなチャネル（たとえば200mmのカラムは直径6mmの入口/出口を有し得る）を通じてカラムから運び出さなければならない。

10

【0020】

本明細書中に用いられる「ベッドサポート」とは、さまざまな液体の通過を許可するが、充填ベッドを含む充填媒体の小粒子を保持するネット、スクリーン、メッシュ、またはフリットである。これらのベッドサポートは、フローディストリビュータに直接に接続されてもよい。

20

【0021】

本明細書中に用いられる「永久的な接着部」および「永久的に接着される」という用語は、2つの構成要素同士の間的那种な接着部を、その接着部または接着された構成要素（たとえば管およびフローディストリビュータ）の一方または両方を壊さない限り切離すことができないことを示すために用いられる。

【0022】

本明細書中に用いられる「誘起フープ張力」という用語は、管の内径よりも大きい外径を有するフローディストリビュータを挿入することによって管の壁に生じる周方向応力を指す。本明細書中では、これらの値同士の直径差を締め込みと称する。誘起フープ張力は、フローディストリビュータが強制的に圧縮して内向きにたわみ、管壁が外向きに延びると、締め込みによる内部応力によって引き起こされる。

30

【発明の効果】

【0023】

誘起フープ張力によって生じるフローディストリビュータと管壁との緊密な嵌合によって、新たなクロマトグラフィカラムは、フローディストリビュータの近傍にデッドゾーンが形成されることを回避し、流れ効率、およびカラムを再利用のために適正に洗浄する能力の面で大きい利点をもたらす。

【0024】

40

新たな製造方法の別の特有の利点は、完全にカスタマイズ化可能な可変のベッド高さおよび直径を有する、予め充填された使い捨てのカラムを構成する能力である。特定のカラムベッド高さの変化は、フローディストリビュータをカラム管の長さにあわせてプレス嵌めするために用いられる、利用可能なプレスおよび線形アクチュエータ技術によってのみ制限される。現在の技術は、管内のフローディストリビュータの正確な場所を、千分の数インチよりも小さく変化可能である。フローディストリビュータが所望の位置に入り込むと、誘起フープ張力によって、カラムは、所定の位置に永久的に固着されることなく、大きい操作圧力に耐え、かつ液用シールを維持することができる。この当初のシールによって、第2のフローディストリビュータを永久的に固定する前にカラムの性能を試験する機会が与えられる。フローディストリビュータの位置を軸方向に調整することによってカラ

50

ム性能を向上可能であることが試験によって明らかになった場合、そのような調整を行ってカラムを再試験してもよい。所望の位置が確定すると、フローディストリビュータは所定の位置に永久的に固定されてもよい。フローディストリビュータを所定の位置に永久的に固定するため、いくつかの実施形態では、フローディストリビュータは管壁に頑強に溶接されてもよい。フローディストリビュータを永久的に固着する他の方法を用いてもよい。

【0025】

特に定義がない限り、本明細書中に用いられるすべての技術科学用語は、本発明が属する技術の当業者によって一般的に理解されるのと同じ意味を持つ。本明細書中に記載されるのと同様または均等の方法および材料が本発明の実施または試験において用いられ得るが、好適な方法および材料を以下に記載する。本明細書中に言及されるすべての刊行物、特許出願、特許、および他の引例は、全文が引用によって援用される。抵触する場合、定義を含む本願明細書が支配する。また、材料、方法、および例は例示的なものに過ぎず、限定的であるように意図されていない。

10

【0026】

発明の1つ以上の実施形態の詳細を、添付の図面および以下の説明に記載する。発明の他の特徴、目的および利点は、説明および図面から、ならびに請求項から明らかになるであろう。

【0027】

さまざまな図面における同様の参照符号は同様の要素を示す。

20

図面の説明

【図面の簡単な説明】

【0028】

【図1】本明細書中に記載されるクロマトグラフィカラムのうちの1つの概略図である。

【図2a】図1のカラムの概略断面図である。

【図2b】図1のカラムの分解概略断面図である。

【図3a】カラム管の概略図である。

【図3b】断面で示すカラム管の概略図である。

【図4a】本明細書中に記載される新たなクロマトグラフィカラムにおいて使用され得るフローディストリビュータの一例の概略上面図である。

30

【図4b】本明細書中に記載される新たなクロマトグラフィカラムにおいて使用され得るフローディストリビュータの一例の概略正面図である。

【図4c】本明細書中に記載される新たなクロマトグラフィカラムにおいて使用され得るフローディストリビュータの一例の概略底面図である。

【図5】断面で示す、カラム管に挿入された後のフローディストリビュータの概略図である。

【図6】断面で示す、上部フローディストリビュータに軸方向力を加えてカラム管に押し込んで緊密な締め込みを提供するために用いられるプレス中のカラム管の概略図である。

【図7】上部フローディストリビュータが所定の位置に溶接された後のクロマトグラフィカラムの概略図である。

40

【図8】本明細書中に記載されるクロマトグラフィカラムのうちの1つの製造時の基本的なステップのフローチャート図である。

【図9a】面取り端部を有する管にフローディストリビュータを圧入して締め込みを形成するときに生じる力の概略図である。

【図9b】面取り端部を有する管にOリングを用いてフローディストリビュータを圧入して締め込みを形成するときに生じる力の概略図である。

【図10a】締め込みを形成した後に管にフローディストリビュータを圧入するときに生じる力の概略図である。

【図10b】締め込みを形成した後にOリングを用いて管にフローディストリビュータを圧入するときに生じる力の概略図である。

50

【図 1 1】管にフローディストリビュータを圧入して締り嵌めを形成するとき生じる力の例を示すプロット図である。

【図 1 2】管に押込まれているときのフローディストリビュータの概略図である。

【図 1 3】圧力試験時に用いられるエンドピースの概略図である。

【図 1 4 a】管およびエンドピースの異なるプレス嵌め構成についてのプレス嵌めシール性能を示すプロット図である。

【図 1 4 b】誘起フープ張力に対する、管にフローディストリビュータを挿入するのに必要な漏れ圧力および軸方向力を示すプロット図である。

【図 1 5】管およびエンドピースの異なるプレス嵌め構成についての溶接強度性能を示すプロット図である。

10

【図 1 6】媒体材料で充填された管にフローディストリビュータを圧入するのに必要な、観察された軸方向力のプロット図である。

【図 1 7】図 1 6 に示されるデータの拡大プロット図である。

【図 1 8】100cm/時の充填評価のクロマトグラムプロット図である。

【図 1 9】カラムからの小分子除去を示すプロット図である。

【発明を実施するための形態】

【0029】

詳細な説明

本明細書中に記載される新たなクロマトグラフィカラムは比較的安価なプラスチック材料で作ることができるため、使い捨てであると思なすことができるが、繰返しの洗浄および再利用を可能にするのに十分頑強であるように特別に設計される。本明細書中に記載される新たな製造方法は、プレス嵌めされたフローディストリビュータの周りのデッドゾーンの形成を減少させ、および/または回避することによって、新たなクロマトグラフィカラムを現在入手可能なクロマトグラフィカラムよりもはるかに効果的で、有用で、容易に洗浄できるようにする。

20

【0030】

クロマトグラフィカラム

発明の目的は、広く入手可能なプラスチック/熱可塑性物質ならびに/または複合物(ポリプロピレン(PP)、ポリエチレン(PE)、ポリアミド(さまざまなナイロン等)、アセタール、またはガラス充填もしくは炭素充填プラスチック、たとえばガラス繊維および炭素繊維プラスチック)またはエラストマー成分で完全に作られる、生物薬剤用途に用いられる予め充填されたクロマトグラフィカラムである。カラムの設計は、たとえば限定されないが、10、20、30、40、50または60cm以上、最大で約80、90または100cm以上であり得る所与の内径の範囲内で、0~50cm以上の間で無限に変動する「ベッド高さ」まで、カラムにさまざまな種類のクロマトグラフィ充填媒体または樹脂を充填できるようなものである。

30

【0031】

本明細書中に記載されるクロマトグラフィカラムは、主に、カラム管と一对のフローディストリビュータ(または1つのフローディストリビュータおよび1つのエンドキャップ)とからなる。フローディストリビュータは、円筒形の円盤と、液体が円盤に流れ込んで円盤の中を流れることができるようにする1つ以上の入口/出口パイプとを含む。さらに、フローディストリビュータは、フローディストリビュータ円盤の充填媒体側に取付けられるベッドサポート、スクリーン、および/またはフィルタを含んでもよい。カラムはさらに、フローディストリビュータとカラム管との間にOリングを組込んでもよいし組込まなくてもよいが、本発明は概してOリングの必要性を完全に回避するために用いられ得る。

40

【0032】

フローディストリビュータの流路は、標準的な技法および公知の設計に従って設計することができ、フローディストリビュータ自体は、たとえば、管と同一または同様のプラスチック材料で作られてもよいが、カラムに流す液体および試薬に対して不活性な金属、セ

50

ラミック、および他の材料で作られてもよい。

【0033】

管は中空の円筒部材であり、典型的に、第1の端（たとえば上端）から第2の端（たとえば下端）に流体（たとえば液体）が流れることを可能にする円形シリンダである。管の内径は、管に流体を送って管から流体を取出すためのフローディストリビュータを受けるようにサイズ決めされ、構成される。さまざまなクロマトグラフィカラム性能仕様に基づいて、管は多様な異なるサイズおよび構成で作ることができる。いくつかの実施形態では、管は、最大で約185 psi（たとえば約20, 30, 40, 50または60 psi）もの内圧に耐えることが可能である一方で、システムの誘起内部操作圧力下で構造的完全性を維持するようにサイズ決めされ、構成される。いくつかの実施形態では、管は典型的に、内径が約10 cm～約100 cmで長さが約10～約90 cmの円筒部材である。管は当初、所望の最終的なベッド高さの約2倍であるように選択され、両フローディストリビュータがカラム管の内部の所定の位置に固定されると、切断して短くされる。

10

【0034】

一般に、さまざまな要因に基づく管の全体的な誘起フープ張力は、クロマトグラフィカラムがさらされる予想内圧などの、エンドユーザの仕様に基づいて異なり得る。たとえば、管は、フローディストリビュータの挿入時に管が降伏するのを回避するのに十分厚いまたは頑強な壁を有する必要がある。たとえば、管の壁厚は、管が所望の誘起フープ張力を得ることによって最大操作圧力よりも高い適正な安全係数に耐え得るように十分大きくてもよい。たとえば、材料の性質に依存して、たとえばポリプロピレンについては、20 cmの20 cmのカラムは、公称内径が199.90 mmで公称壁厚が10.0 mmの管を有する。30 cmのポリプロピレンカラムは、公称内径が300.00 mmで公称壁厚が13.0 mmの管を有する。いくつかの例では、材料の性質に依存して、内径が200 mmの管の壁厚は、約7.5 mm～15 mm、たとえば約8, 9, 10, 11, 12または13 mmであるべきである。直径が300 mmの管の壁厚は、約10～20 mm、たとえば約12, 13, 14, 15, 16, 17または18 mmであるべきである。管の壁厚は、管が使用時の内圧（たとえば約20 psi～約40 psi、たとえば20, 25, 30または35 psi）に耐えるのに好適な強度を有するように指定されてもよい。さらに、適正な壁厚は、意図された操作圧力の範囲全体にわたってカラム形状（たとえば体積）を維持するのに役立つ、これによってカラム壁のたわみ量を制限することができるため、カラムの適切な機能を保証するのに役立つ。ガラスまたは炭素繊維または粒子などの付加的な構造材料で強化される熱可塑性物質からなる管においては、壁はより薄くてもよい。

20

30

【0035】

いくつかの例では、管の誘起フープ張力は、25 PSI～250 PSI、たとえば約50, 75, 100, 125, 150, 175, 200, 225または250 PSIであるべきである。管の誘起フープ張力は、管が使用時の内圧（たとえば約20 psi～約40 psi、たとえば20, 25, 30または35 psi）に耐えるのに好適な材料特性を有するように指定されてもよい。さらに、適正な誘起フープ張力は、意図された操作圧力の範囲全体にわたってカラム形状（たとえば体積）を維持するのに役立つ、これによってカラム壁のたわみ量を制限することができるため、カラムの適切な機能を保証するのに役立つ。適正な誘起フープ張力によってさらに、カラムは、所定の位置に永久的に固着されることなく、大きい操作圧力に耐え、かつ液用シールを維持することができる。

40

【0036】

さらに、管の内壁を、両端でまたは少なくとも一端で薄くするか厚みを減少させて、約0.0～約20度、たとえば約1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15または17度の傾斜または面取部を形成してもよく、これによってフローディストリビュータの挿入を容易にすることができる。面取部は、管の端から内向きに約10 mm～約30 mm延びるべきである。以下に詳細に述べるように、フローディストリビュータは管の内径よりも大きい外径を有し、面取部は製造時にフローディストリビュータを管の中に並べるのに役立つ。

【0037】

50

図3 aおよび図3 bに示されるように、いくつかの実施形態では、管20は、管20の各端の内面に沿って形成された面取部22を有するシリンダである。この例では、管20の長さは約68cm、内径は約20cm、および壁厚は約10mmである。面取部22はこの例では約20度であり、管の端から内向きに約20mm延びる。

【0038】

管20に受けられるようにサイズ決めされ構成されるフローディストリビュータは、出口穴に水学的に接続される入口穴と、入口穴からフローディストリビュータの充填媒体側まで延在する溝などの流体分散導管網とを有する。ゆえに、フローディストリビュータは、フローディストリビュータの第1の側から1つ以上の入口場所で流体を受け、管に挿入されると充填媒体に対向するフローディストリビュータの第2の側に沿って径方向外向きに流体を分散させるように構成される。また、典型的に流れ方向を反対にすることによって、フローディストリビュータは自身の第2の側全体に沿って流体を受け、第1の側の1つ以上の出口場所に向けて内向きに流体を導くことができる。

10

【0039】

典型的に、フローディストリビュータは、自身が挿入される管の内径よりもやや大きい外径を有する円形の円盤状部材であるため、フローディストリビュータを挿入すると、最大で所望の内圧まで漏れを防止するのに効果的なフープ張力を誘起するのに十分な締め込みが生じる。フローディストリビュータは比較的非圧縮性であり、管壁は比較的弾性的であるため、締め込みによって管が拡張し、液密シールが形成される。たとえば、内径が200mmのポリプロピレン管については、ポリプロピレンフローディストリビュータの外

20

【0040】

方程式(1)に示すように、フープ張力の値は、プレス嵌めの締め代の大きさ、管壁の厚み、ならびに管20およびフローディストリビュータ24の材料の比ヤング率およびポアソン比に直接関連する。

30

【0041】

【数1】

$$\sigma_{hoop\ tension} = \frac{\delta_{int}}{\frac{D_{fd} (D_{tube,o}^2 + D_{fd}^2)}{\epsilon_{tube} (D_{tube,o}^2 - D_{fd}^2) + \nu_{tube}} + \frac{D_{fd}}{\epsilon_{fd}} (1 - \nu_{fd})} \quad (1)$$

【0042】

式中、 $\sigma_{hoop\ tension}$ は誘起フープ張力であり、 δ_{int} は(フローディストリビュータの外径と管の内径との差である)締め込みであり、 D_{fd} はフローディストリビュータの外径であり、 $D_{tube,o}$ は管の外径であり、 ϵ_{tube} は管材料のヤング率であり、 ν_{fd} はフローディストリビュータ材料のヤング率であり、 ν_{tube} は管材料のポアソン比であり、 ϵ_{fd} はフローディストリビュータ材料のポアソン比である。連続体力学を考慮すると、誘起フープ張力は単に管壁および/またはフローディストリビュータの本体に生じる応力であり、これは、外力の印加、ならびにその後の管壁およびフローディストリビュータの変形の際にしか生じない。

40

【0043】

たとえば、ポリプロピレンを用いる1つの特定の実施では、さまざまな製作方法による利用可能な部品の公差を考慮して漏れなしに60PSI以上の操作条件を保証するのに適正なフープ張力を提供するためには、20cmのカラムは、公称管壁厚が10.0mmの

50

、199.90 mmの公称内径の管20を必要とすることが分かった。フローディストリビュータ24の公称直径は、202.30 mmでなければならない。これによって、最悪の場合の締め代状態において、各フローディストリビュータ24で80PSIの誘起フープ張力が保証される。その対極では、管20の内径公差およびフローディストリビュータ24の外径の許容公差を用いた最大の締め代状態を考慮すると、これによって各フローディストリビュータ24において最大で250PSIの誘起フープ応力が生じる。

【0044】

図4a～図4cは、いくつかの実施において、フローディストリビュータ24は、第1の側28に沿って中心領域に形成されたフィッティング穴26と、第2の側32に沿って形成された複数の溝およびチャネル30のシステムとを有する円盤状部材であることを示す。フィッティング穴26は、フィッティングを受けるようにサイズ決めされ構成された止まり穴である。フィッティング穴26は、フィッティングを受けるための1つ以上の特徴を含む。1つの具体的な実施では、フィッティング穴26は、ねじフィッティング（たとえばM30×3.5のねじフィッティング）を受けるようにねじ山を付けられる。いくつかの実施形態では、フィッティングは、接着剤、溶接、差込ピンもしくはルアー接続、または他の十分な接続技術などのさまざまな他の方法でフローディストリビュータ24に接続される。いくつかの実施形態では、フィッティングはフローディストリビュータ24の一体部品として製造される。フローディストリビュータ24はさらに、フィッティング穴26をフローディストリビュータ24の第2の側32に水力学的に接続して、流体がフローディストリビュータ24の第2の側32とフィッティング穴26に挿入されたフィッティングとの間を通ることができるようにする流体通路34を含む。

【0045】

示されるように、複数の溝およびチャネル30は流体通路34から実質的に径方向に延在し、フローディストリビュータ24の場所に依存して、流体を径方向内向きおよび外向きに導く。溝の高さまたは深さは、中心/送り口（たとえば流体通路34）からフローディストリビュータ24の外周領域におけるより低い高さにかけてテーパ状である。このテーパのアスペクト比は、一般的な設計ガイドラインを提供するさまざまな刊行物の主題である（たとえば、Gebauerら、“Efficiency of Preparative and Process Column Distribution Systems,” *Journal of Chromatography* 1006 (2003) 45-60を参照）。このテーパ形状は、充填ベッドの中を進む標的分子の分散によってカラム性能（たとえば効率）に悪影響を与えることがある圧力勾配を径方向および軸方向において最小化するのに役立つことができる。

【0046】

いくつかの実施形態では、フローディストリビュータ24は、自身の外径に沿って凹部36を規定する。凹部36は、封止部材（たとえばOリング）を受けるようにサイズ決めされ、構成されてもよい。

【0047】

フローディストリビュータ24は、成形、鋳造、機械加工、または他の方法などの任意のさまざまな製造技術によって形成することができ、市販されているものを用いてもよい。いくつかの実施形態では、フローディストリビュータ24の概略形状が鋳造または成形され、その概略形状から溝およびチャネル30が機械加工される。管の内径と密接に噛合うように、いくつかの実施形態では、フローディストリビュータの外径は、外縁が確実に円形で公差に従うように、旋盤を用いて形成される。

【0048】

フィッティングは、フローディストリビュータに締結または固定されて、フローディストリビュータおよびフローディストリビュータが内部に配置される管に液体を送るかフローディストリビュータおよび管から液体を取出すための、機械的なアタッチメントである。流体を送るために、フィッティングは、フィッティングの中心軸に沿ってフィッティングを貫通して形成された流体送り穴を有する。フィッティングはさらに、フローディストリビュータのフィッティング穴に受けられてフィッティングを保持する1つ以上の特徴を

含む。図 1、図 2 a および図 2 b に示されるように、この例では、フィッティング 3 8 は、フィッティング穴 2 6 に係合するねじ端 4 0 (たとえば M 3 0 × 3 . 5 のねじ端) を有する。フィッティング 3 8 はさらに、フィッティング穴 2 6 の中でフィッティング 3 8 を回転させて固定するための工具 (たとえばトルクレンチ) によって把持可能なナット部 4 2 を有する。いくつかの実施形態では、フィッティング 3 8 は、接着剤、溶接、差込ピンもしくはルアー接続、または他の十分な接続技術などの、他の種類の接続機構を含む。

【 0 0 4 9 】

フィッティング 3 8 は、自身の設置場所に基づいて異なる付加的な特徴を有してもよい。たとえば、上部フローディストリビュータ 2 4 a に設置される入口フィッティング 3 8 a は、ねじ端と反対側のフィッティングの端に接続特徴を有してもよい。ホース接続などの接続特徴によって、ホースまたは配管をフィッティングに容易に接続することができる。この例では、入口フィッティング 3 8 a は、衛生フィッティング (たとえば 3 連クランプ接続またはカムロック) 形式のホースフィッティングなどのホースフィッティングに受けられるようにサイズ決めされ構成される凹部 4 4 を規定する。

10

【 0 0 5 0 】

または、下部フローディストリビュータ 2 4 b に接続される出口フィッティング 3 8 b は、入口フィッティングとは異なる形式の接続を有してもよい。この例では、出口フィッティング 3 8 b はホース 4 6 に固定され、出口フィッティング 3 8 b を離れた急速着脱式出口フィッティング 4 8 に水力学的に接続する。離れた急速着脱式出口フィッティング 4 8 は、ユーザが出口フィッティング 3 8 b よりも便利に接近できる領域内に装着または配置されてもよい。

20

【 0 0 5 1 】

説明したクロマトグラフィ構成要素 (たとえば管 2 0、フローディストリビュータ 2 4 a、2 4 b、フィッティング 3 8 a、3 8 b、および他の構成要素) は、さまざまな構造のおよび化学的に好適な材料のいずれかで作られてもよい。たとえば、構成要素は、さまざまなプラスチック、たとえば熱可塑性物質 (たとえばアクリルニトリルブタジエンスチレン (ABS)、アクリル樹脂 (PMMA)、ポリプロピレン (PP)、ポリ塩化ビニル (PVC)、ポリテトラフルオロエチレン (PTFE)、他の熱可塑性物質、または複合材料) および熱硬化性プラスチック (たとえばエポキシ樹脂)、および繊維強化プラスチックで作られてもよい。材料選択の際に考慮すべき事項は、材料の特有の機械的特性、および材料がシステムの誘起内部操作圧力に耐えるか否か、を含んでもよい。

30

【 0 0 5 2 】

ある具体的な実施形態では、管は、効果的な誘起フープ張力を提供する十分な弾性を有する金属、たとえばある一定の鋼、ベリリウム銅合金、チタン合金、ニッケル合金、コバルトクロム、他の種類の金属、またはこれらもしくは他の金属の合金で作られてもよい。金属または他の材料を用いることができるが、プラスチック材料で管を形成するとコストを低減することができ、場合によっては使い捨てのクロマトグラフィカラムを作製することができる。

【 0 0 5 3 】

いくつかの例では、構成要素のほとんど (たとえば管、フローディストリビュータ、およびフィッティング) が熱可塑性および/またはポリオレフィン材料 (たとえばポリプロピレン (PP)、ポリエチレン (PE)、ポリアミド、アセタール、またはガラス充填もしくは炭素充填プラスチック、たとえばガラス繊維および炭素繊維プラスチック等) で作られる。管およびフローディストリビュータなどの構成要素のうちのいくつかは、同じ種類の熱可塑性物質で作られてもよく、ゆえに互いに溶接されてもよい。たとえば、USP Class VI 認定のポリプロピレン (たとえば Flint Hills 社の製品番号 P 9 G 1 Z - 0 4 7) または同等物を使用してもよい。クロマトグラフィカラム構成要素は、成形、鋳造、機械加工、複合テープ布設、または他の方法などの、当該技術において公知の多数の製造工程のうちのいずれかによって製造されてもよい。

40

【 0 0 5 4 】

50

クロマトグラフィカラム 50 はさらに、基部、たとえば、管 20 および他の構成要素をほぼ垂直な向きに好適に支持および配置するようにサイズ決めされ構成されるボトムエンドキャップ 52 を含んでもよい。基部 52 は、管 20 の一部（たとえば下部）を受けて固定するための特徴（たとえば穴または凹部）を含む。

【0055】

実質的に水平な支持面をクロマトグラフィカラム 50 に提供するために、基部 52 の下面から延在する足状の突起部を含んでもよい。ボトムエンドキャップまたは基部 52 はさらに、簡単に持ち上げるおよび/または運ぶことができないより大きいカラム直径の場合には、キャストを含んでもよい。基部 52 は、金属、プラスチック、または複合材料などの、任意のさまざまな構造的に好適な材料で作られる。この例では、基部は、ABS、PE、PP、またはガラス充填もしくは炭素充填プラスチック、たとえばガラス繊維および炭素繊維プラスチック、複合PPで作られる。場合によっては、基部は安定性を増すための滑り止め材料または特徴（たとえば軟質ゴムの足状の突起部）を含む。

10

【0056】

クロマトグラフィカラム 50 はさらに、管 20 および上部フローディストリビュータ 24a を囲むトップエンドキャップ 54 を含んでもよい。トップキャップ 54 は、管 20 の一部（たとえば上部）を受けて固定する特徴（たとえば穴、凹部、または把持要素）を含む。トップキャップ 54 は、入口フィッティング 38a および離れた急速着脱式出口フィッティング 48 をそれぞれ受けるようにサイズ決めされ構成される入口フィッティング穴 56 および出口フィッティング穴 58 を含む。トップキャップ 54 はさらに、クロマトグラフィカラム 50 を持上げて運ぶために用いられ得るか、または一体型キャストを有するか回転式カート/台車上に一旦置かれたより大きいカラムをある方向に向ける/導くために用いられ得る、1つ以上のハンドル 60 を含んでもよい。トップキャップ 54 は、クロマトグラフィカラムがハンドルによって持上げられたときにカラムの重量を支えることができる金属、プラスチック、または複合材料などの、任意のさまざまな構造的に好適な材料で作られる。この例では、トップキャップは、ABS、PE、PP、またはガラス充填、たとえばガラス繊維プラスチックで作られる。

20

【0057】

シュラウドまたはサイドガード部 62 をさらに含んでもよい。シュラウド部 62 は、基部 52 からトップキャップ 54 まで延在するように、かつクロマトグラフィカラム 50 の内部構成要素のうちいくつか（たとえば出口フィッティング 38b を離れた出口フィッティング 48 に接続するホース 46）を覆うようにサイズ決めされ、構成されてもよい。シュラウド 62 は、金属、プラスチック、または複合材料などの、任意のさまざまな好適な材料で形成されてもよい。

30

【0058】

上部および下部フローディストリビュータ 24a, 24b は、カラムの製造および充填時に管 20 の上部および下部内に設置される（たとえばプレス嵌めされる）。いくつかの実施形態では、管 20 と、フローディストリビュータ 24a, 24b の一方または両方とが、上部フローディストリビュータ 24a の挿入および管 20 への媒体材料の充填の前に永久的に接着される。カラムの満足のいく試験の後、第2の、たとえば上部のフローディストリビュータ 24a が所定の位置に永久的に接着される。

40

【0059】

そのような永久的な接着部は、接着部または接着された物（たとえば管 20 およびフローディストリビュータ 24a, 24b）を壊さない限り、容易に切離すことができない。上端では、付加的なキャップ（たとえばトップキャップ）54 が随意に管 20 に着座して固定され、カラムの上端のフローディストリビュータ 24a に設置された入口フィッティング 38a が付加的なトップエンドキャップ 54 の入口フィッティング穴 56 を通るように並べられてもよい。主として美的な特徴であるそのような随意のトップキャップ 54 は、ファスナ、接着剤、管とトップキャップとの間の摩擦、または他の機構などのさまざまな固定機構を用いて管 20 に固定されてもよい。

50

【 0 0 6 0 】

下端では、管 2 0 は随意にボトムキャップ（たとえば基部）5 2 に着座して固定されてもよい。基部 5 2 は、ファスナ、接着剤、管とボトムキャップとの間の摩擦、または他の機構などのさまざまな固定機構を用いて管 2 0 に固定されてもよい。随意の基部 5 2 を用いる場合、管 2 0 の下部のフローディストリビュータ 2 4 b に設置された出口フィッティング 3 8 b は随意の基部 5 2 の空洞内に延在してもよく、下部フローディストリビュータ 2 4 b から出口フィッティング 3 8 b に接続されるホース 4 6 は、管 2 0 の周囲の外側の領域に向かって外向きに導かれる。示されるように、ホース 4 6 は、随意の基部 5 2 から出て、管 2 0 の側部に沿って上向きに引回されて、カラム 5 0 の上部にまたは上部の近くに固着される離れた急速着脱式出口フィッティング 4 8 に接続してもよい。ホース 4 6 を使用し、離れた出口フィッティング 4 8 をカラム 5 0 の上部の近くに配置することによって、ユーザは管 2 0 の下側に接近する必要がなくなり、クロマトグラフィカラム 5 0 をより容易に使用することができる。

10

【 0 0 6 1 】

本明細書中に記載されるクロマトグラフィカラムの管は、エンドユーザによって指定される、カラムクロマトグラフィで使用される任意の固相媒体材料で充填されてもよい。可能性のある充填媒体材料のこの多様性は、ベース粒子の組成、ならびにそれらの機能的な化学的性質（たとえば親和性、イオン交換、および疎水性相互作用）の両方に及ぶ。充填媒体材料は、溶出溶媒に添加される固定相粒子のスラリーを含んでもよい。固定相粒子は、シリカゲル（ SiO_2 ）、アルミナ（ Al_2O_3 ）、セルロース、およびさまざまなメッシュサイズの他の好適な材料を含んでもよい。溶出剤は、脱イオン水、エタノールまたはアセトンなどの、さまざまな溶媒のうちの 1 つ以上を含んでもよい。

20

【 0 0 6 2 】

充填媒体の例は、アガロース（たとえばGE Health Care社のSepharose（登録商標）Fast FlowおよびCapto（商標））、制御ポアガラス（Millipore社のProSep（登録商標））、セラミックハイドロキシアパタイト、ポリメタクリレート（たとえばTosoh Bioscience社のToyoPearl（登録商標）媒体）、ならびに他の合成高分子樹脂（たとえばEMD社のLife TechnologiesのPoros（商標）媒体およびFractogel（商標）媒体）を含むが、これらに限定されない。

【 0 0 6 3 】

充填クロマトグラフィカラムの作製方法

ある一定のプラスチック/熱可塑性物質の 1 つの公知の特徴は、それらに固有のたわみ性、すなわち力を加えても砕けずに変形する能力である。新たなクロマトグラフィカラムは、カラム管 2 0 を作製するために使用される、誘起フープ張力によって規定されるプラスチックの「流動能力」、たとえば弾性を利用する組立工程を用いて作製される。カラム管 2 0 は、指定された内側および外側寸法を有する、押出成形、鋳造、成形（射出成形、ロトモールド、もしくは他）、または機械加工されたプラスチック/熱可塑性もしくはテープ布設複合材料で作られる。フローディストリビュータ 2 4 について本明細書中に記載される設計および方法は、カラム管 2 0 の公称内径よりも大きい外径を含み、以下ではこれを締め込みと称する。

30

40

【 0 0 6 4 】

円筒カラム管 2 0 とともに用いられる場合、均一な誘起フープ張力と、フローディストリビュータ 2 4 が管 2 0 内にプレス嵌めされると管 2 0 の内壁の表面に対するフローディストリビュータ 2 4 の十分な液密噛合および封止とを保証するために、フローディストリビュータ 2 4 も、外面の不均一性ができる限り少ない（たとえば無い）円形でなければならない。十分な程度の均一な丸みまたは真円度は、フローディストリビュータ 2 4 を旋盤上で回転させることによって容易に達成できるが、この程度の均一な丸みを達成する他の方法も当業者にとって公知である。

【 0 0 6 5 】

許容できる締め込みの程度は、管 2 0 およびフローディストリビュータ 2 4 を囲む特定

50

のプラスチック/熱可塑性物質または複合構成要素の機械的特性、すなわち弾性または流動能力によって、したがってポリプロピレンの場合は管20の壁の厚みによって決定されるが、すべての場合において、フローディストリビュータ24の外径は管20の公称内径よりも大きく、フローディストリビュータ24が管20に押込まれると満足のいく誘起フープ張力を保証するのに必要な締め込みを生じさせる。

【0066】

この組立工程は、特有の利点を新たなクロマトグラフィカラムに提供する。より寸法的に安定した材料(鋼、ガラス等)で構成される従来のカラムは、フローディストリビュータ24がカラム管よりもやや小さいように設計され、これは、組立時にこの構成要素を容易にカラムに挿入してカラム内の所望の位置まで動かすことができるようにするために必要である。リングまたは同様の封止機構をフローディストリビュータ24の周りに用いて、フローディストリビュータ24と管20の壁との間の液密シールを達成する。これらの従来の設計では、管内径よりも小さい外径を有するフローディストリビュータと、リングを含める必要性との組み合わせによって、「デッドスペース」と称される領域が、リングが着座している点まで、フローディストリビュータ24と管20の壁との間に必然的に生じる。これらの「デッドスペース」はカラム流れにさらすのが困難であるため、カラムの清掃性およびその結果として得られる清浄度にとってリスクとなる。締め込み設計は、従来のカラムの「デッドスペース」を無くすか大幅に減少させ、これによって、カラムを再利用する際に汚染物質を持越すリスクを最小限にすることができる。締め込みはさらに、いくつかの実施形態では、リングの完全な除去を可能にし、これによって、カラムの複雑度、コスト、およびシール破壊による完全性に対するリスクを最小限にすることができる。この特徴の別の利点は、カラムクロマトグラフィによって精製中の貴重な製品を、そのようなリング(典型的にエラストマー製)から放出され得る汚染物質にさらすことを減少させることである。汚染物質にさらされると、抽出物および浸出物の調査という形態での高価な時間のかかるリスク評価が必要になる。

【0067】

図8に示されるように、新たなクロマトグラフィカラム50の作製方法はいくつかのステップを含む。

【0068】

第1に、本明細書中の他の箇所の説明されるように、最終的なカラムに望まれる媒体材料の体積を収容するのに適切な直径および長さ、適切な弾性とを有するプラスチックカラム管20を指定する(802)。管の長さは、最終的なカラムの中の媒体材料の長さ、すなわち「ベッド高さ」の約2倍であるべきである。管20の最終的な長さは内径とほぼ同じであってもよく、たとえば、200および/または199.90mmの内径の管20の最終的な長さは、約150~250mm、たとえば約200mmであってもよい。管の各端の内面に沿って形成される面取部も選択される。この面取部は、カラム管20の中に押込まれるフローディストリビュータ24を揃え、挿入するのを助けるために必要である。

【0069】

第2に、適切にサイズ決めされるフローディストリビュータ24は、管の内径(「ID」)よりもやや大きい、たとえば約.25%, 0.05~約3.0, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0または3.5%大きい外径を有するように指定されるべきである。たとえば、内径が200および/または199.90mmのポリプロピレン管については、フローディストリビュータ24の外径(「OD」)は201.90mmよりも大きく、たとえば202~204, 202.5, 203, 203.5, 204, 204.5, 205, 205.5mm)であるべきである。フローディストリビュータ24は、管20の壁内に十分なフープ張力を誘起するように、特定の公称ODに設計される。適切な公称ODを選択する際、考慮すべき要因は、カラム管のIDおよびその壁厚の両方の公差とフローディストリビュータ24のODの公差とを含む形状と組み合わせられた、構成材料の物理的特性(たとえば摩擦係数、ヤング率、弾性率、および降伏点伸び)を含む。組立品を互いに

10

20

30

40

50

プレス嵌めするのに必要な力は（たとえば有限要素解析などの高度な分析ツールによって）理論的に決定することができ、代替案として、この評定は特定の構成材料を用いた実証的研究によって行われてもよい。

【 0 0 7 0 】

いくつかの実施形態では、フローディストリビュータは、使用時の適合性を保証するため、かつ、たとえば溶接時にフローディストリビュータを管の内壁に固定することを単純化するために、管と同じ材料で作られてもよい。

【 0 0 7 1 】

第3に、図5に示されるように、第1の、たとえば下部のフローディストリビュータ24bを、管20の第1の端、たとえばボトムエンドに固定する（806）。これは任意の公知の手段によって行われてもよいし、または、第1のフローディストリビュータと関連付けられるすべてのデッドスペースを回避するか減少させるのに役立つように、本明細書中に記載される締め嵌め法を用いてもよい。たとえば、第1のフローディストリビュータ24bは、金属クランプ、管20（内壁または外壁のいずれか）およびフローディストリビュータ周壁へのねじ切り、接着剤、およびさまざまな種類の溶接を用いて固定することができる。要点は、この第1のフローディストリビュータ24bを管20の第1の端に一旦固定すると動かさなくてもよいことである。いくつかの実施形態では、第1のフローディストリビュータ24bは管20の一体部分として形成される。たとえば、第1のフローディストリビュータは公知の技術を用いて管20の特徴として成形されてもよい。

【 0 0 7 2 】

第1の、たとえば下部のフローディストリビュータに締め嵌め法を用いる場合、当該フローディストリビュータは当初、必要な圧力で効果的な液用シールを提供するための誘起フープ張力によって所望の場所に保持され、次いで、溶接、ねじ、または接着剤を含む任意の公知の手段を用いてその場所に永久的に固定されてもよい。特に、適切な締め嵌めを確立するために、フローディストリビュータ24は管の面取りされたボトムエンドと並べられ、次いで、約1000lbf～10,000lbf（たとえば1000, 2000, 3000, 4000, 5000, 6000, 7000, 8000, 9000または10,000lbf）の軸方向力がフローディストリビュータ24に加えられてフローディストリビュータ24をカラム管20に押し込むことによって、管の内径が広がる。たとえば、フローディストリビュータ24が管20に挿入される間、管20およびフローディストリビュータ24の両方が塑性変形して互いに嵌合し、管20の変形の大きさはフローディストリビュータ24の変形の大きさよりも大きい。

【 0 0 7 3 】

フローディストリビュータを管に押し込むのに必要な力は、数ある要因の中でも、管内に形成される面取部の角度と、（上述の）構成材料の形状寸法と組合わされた当該材料に特有の他の物理的特性とに依存する。たとえば、第2のフローディストリビュータを管に押し込んで管の内部に締め嵌めを確立するための軸方向力は、締め嵌めと、管壁の厚みと、管およびフローディストリビュータの材料の特定の機械的特性との関数である。フローディストリビュータを管のいずれかの端に押し込むのに必要な力は、ロードセル、または同様の張力試験計器によって測定することができ、フローディストリビュータと管壁との間の適正な締め嵌めを保証するために、組立のたびに検査されるべきである。フローディストリビュータを管に押し込むのに必要な軸方向力は、管壁とフローディストリビュータ外周縁との間の接着および変形摩擦力によって生じる対抗力よりも大きく、かつ反対方向でなければならない。

【 0 0 7 4 】

以下の方程式2は、挿入力をさらに説明する。

【 0 0 7 5 】

【数2】

$$F_{\text{applied}} > F_{\text{friction,insertion}} + F_{\text{friction,deformation}} = F_{\text{friction,net}} \quad (2)$$

10

20

30

40

50

【 0 0 7 6 】

式中、 $F_{applied}$ はフローディストリビュータの管への挿入に対抗する摩擦力を克服するのに必要な軸方向力であり、 $F_{friction,insertion}$ はフローディストリビュータおよび管壁の材料同士の接着による摩擦力であり、 $F_{friction,deformation}$ はフローディストリビュータおよび/または管壁の変形による摩擦力であり、 $F_{friction,net}$ は正味の摩擦力である。必要であれば、潤滑油を塗布して接着摩擦力を除去し、その結果として得られる、フローディストリビュータを挿入するのに必要な軸方向力を、潤滑油を用いずにフローディストリビュータを挿入するのに必要な全軸方向力から減じることによって、2つの対抗摩擦力を区別することができる。

【 0 0 7 7 】

10

または、フローディストリビュータを管に押込んで、その結果として得られる十分な誘起フープ張力を生じさせるための、最少軸方向力を決定することができる。この誘起フープ張力は、フローディストリビュータを管の内部の指定場所に保持する径方向力として作用する。周知の締め込みの方程式を考慮して、上記の方程式1によって表される、すべての管およびフローディストリビュータのサイズについての誘起フープ張力を表す式を導出した。

【 0 0 7 8 】

誘起フープ張力は、誘起フープ張力に、管壁と接触しているフローディストリビュータの周方向面積を乗じることによって、管壁によってフローディストリビュータの壁に及ぼされる全径方向力と関連し得る。以下の方程式3は、これをさらに説明する。

20

【 0 0 7 9 】

【 数 3 】

$$\sigma_{hoop\ tension} = \frac{F_{radial}}{A_{contact,fd}} \quad (3)$$

【 0 0 8 0 】

式中、 F_{radial} は、フローディストリビュータの壁に向かって径方向内向きに作用する、管壁の回りに等しく分散する径方向力であり、 $A_{contact,fd}$ は、管壁と接触しているフローディストリビュータの面積である。さらに、この径方向力は、フローディストリビュータと管の内壁との間の垂直方向の摩擦力 $F_{friction,net}$ と直接関連することも分かる。ゆえに、摩擦力を克服してフローディストリビュータを管に押込むのに必要な力 $F_{applied}$ を、フローディストリビュータを管の内部の所望の場所に保持する誘起フープ張力 $\sigma_{hoop\ tension}$ と関連させることができる。以下の方程式4、5および6は、この関係をさらに説明する。

30

【 0 0 8 1 】

【 数 4 】

$$F_{friction,net} = F_{radial}(\mu_{friction}) \quad (4)$$

40

$$F_{applied} \geq F_{friction,net} = \sigma_{hoop\ tension}(A_{contact,fd})(\mu_{friction}) \quad (5)$$

および

$$\sigma_{hoop\ tension} \leq \frac{F_{applied}}{(A_{contact,fd})(\mu_{friction})} \quad (6)$$

【 0 0 8 2 】

50

式中、 $\mu_{friction}$ は、フローディストリビュータ材料と管壁材料との間の摩擦係数である。

【0083】

この相関の結果、所与の誘起フープ張力が、推奨される最大操作圧力よりも高い、たとえば2倍、3倍、または4倍の適正な安全係数まで漏れ止めシールを提供することが経験的試験によって保証される限り、カラムの適正な操作圧力を保証し、ロードセルまたは同様の計器を用いて組立時に確認することができる。ほこり、湿度、酸化膜、表面仕上げ、摺動速度、温度、振動、ならびにカラムおよびフローディストリビュータ壁の汚染程度は、摩擦係数 $\mu_{friction}$ の値の変動に寄与することによって、記録された挿入力に影響を及ぼし得ることに留意することが重要である。この誤差を減らすために、必要な誘起フープ張力を達成するための正確な摩擦係数($\mu_{friction}$)および後で加えられる荷重($F_{applied}$)を決定するすべての初期試験は、安定した、繰返し可能な製造/実験環境、すなわちクリーンルームで行われることが推奨される。究極的に、設備はほこりをほとんど有さず、低湿度、最少の紫外線(材料の機械的特性に影響を及ぼし得る)、最少の振動、一定温度(室温状態に近い)、低い汚染程度、および一定の挿入速度を有することが好ましい。

10

【0084】

また、以下の方程式を用いて、結果として得られる締め代に対する表面仕上げの大きさを求め、(我々の場合は材料についての)表面仕上げは全体の締め代に対して無視できることが示された。

20

【0085】

【数5】

$$\delta_{eff} = \delta_{int} - \Delta\delta \quad (7)$$

【0086】

式中、 δ_{eff} は事実上の締め代であり、 δ_{int} は管内壁およびフローディストリビュータの周囲面の表面仕上げを考慮した、測定締め代に対する補正である。

【0087】

【数6】

$$\Delta\delta = 0.1(2)(R_{z,tube} + R_{z,fd}) \quad (8)$$

30

【0088】

式中、 $R_{z,tube}$ は管の内壁の表面仕上げであり、 $R_{z,fd}$ はフローディストリビュータの外壁の表面仕上げである。

【0089】

この圧力を包含するのに十分な誘起フープ応力を保証するため、ある一定の圧力まで漏れを防止するためにフローディストリビュータと管壁との間の締め代の量の関係を展開させるための実験をまず行ってもよい。方程式(1)は、誘起フープ張力がフローディストリビュータと管壁との間の漏れ止めシールを作り出すのに直接関与していることを示す。管およびフローディストリビュータの材料が一定であることを考慮すると、3つの主な変数、すなわち締め代 δ_{int} 、管の外径 $D_{tube,o}$ およびフローディストリビュータの外径 D_{fd} が誘起フープ張力の大きさに寄与する。これらの値のうちの2つが選択されると、3番目の変数を変えることによって、漏れに対する内圧に対する、フローディストリビュータを挿入するために加える力 $F_{applied}$ のいくつかのケースを試験することができる。フローディストリビュータを越えた漏れがまったくない状態で適正な内圧が達成されると、加えた力の値を用いて、所望の圧力を包含するのに必要な誘起フープ張力を逆計算することができる。ある一定のクロマトグラフィカラムサイズ(管内径)について必要な誘起フープ張力が見つかり、誘起フープ張力に寄与する3つの主な変数を再び変更して、それらが同じ最終の誘起フープ張力値を最終的に達成する限り、設計を最適化することができ

40

50

る。

【 0 0 9 0 】

図 9 a および図 9 b は、フローディストリビュータ 2 4 が管 2 0 に最初に押込まれて面取部 2 2 に達する前に生じる力の概略自由物体図を示す。フローディストリビュータ 2 4 が管 2 0 に最初に入ると、管 2 0 はまだ膨張していない。フローディストリビュータ 2 4 と管 2 0 の壁との間の締め代によって、強制的に管 2 0 が拡大され、フローディストリビュータ 2 4 が圧縮する。管 2 0 の壁厚はフローディストリビュータ 2 4 の直径および厚みよりも小さいため、全体的な正味の力によって管壁が膨張する（なお、フローディストリビュータ 2 4 はそれに応じて少量の圧縮を受ける）。これが起こるためには、軸方向の力は、誘起フープ張力によって生じる力を克服するのに十分大きい必要がある。軸方向力は線形アクチュエータからのものであり、水平方向または径方向力は誘起フープ応力からのものである。軸方向力は単に摩擦力を克服している。摩擦力は、誘起フープからの力の値に直接関連する。

10

【 0 0 9 1 】

図 1 0 a および図 1 0 b は、フローディストリビュータ 2 4 が管 2 0 の軸長に沿って押込まれて面取部 2 2 を通過した後生じる力の概略自由物体図を示す。軸方向力のいくつかの成分は管 2 0 を膨張させるのに寄与しているが、応力はフローディストリビュータ 2 4 と管 2 0 との最初の接触点から 3 ~ 5 の特性寸法だけ離れて分散しており、管 2 0 はフローディストリビュータ 2 4 の前ですでに膨張している。ゆえに、フローディストリビュータ 2 4 が管 2 0 の長さに沿ってさらに軸方向に挿入されると、フローディストリビュータ 2 4 を押圧する軸方向力はさらに大きくなり、フローディストリビュータ 2 4 との接触点だけでなく、フローディストリビュータ 2 4 の前の 3 ~ 5 の特性寸法でも生じるより高い誘起フープ張力を克服する。いくつかの実施形態では、面取部は管壁のまさに端で始まり、たとえば管の全長に沿って延在してもよい。

20

【 0 0 9 2 】

図 1 1 は、一実施形態における、フローディストリビュータ 2 4 が管 2 0 内に進む際にフローディストリビュータ 2 4 を管 2 0 に圧入するのに必要な軸方向力を示すチャートである。示されるように、力は当初、フローディストリビュータ 2 4 の第 1 の部分が入って管面取部 2 2 の最初の部分を通過する間、ピークまで増加する。当初、フローディストリビュータ 2 4 および管壁は静摩擦を受けており、静摩擦を克服するための力は最大である。フローディストリビュータ 2 4 および管 2 0 の壁の変形が、フローディストリビュータ 2 4 の管 2 0 内への摺動に取って代わられると、フローディストリビュータ 2 4 を管に圧入し続けるのに必要な力は、動摩擦を受けているため低下する。動摩擦は、克服すべき静摩擦よりもはるかに小さい。このグラフには、2 つのさらなるピークも存在する。約 2 1 mm における第 1 のピークは、面取部 2 2 の下部がフローディストリビュータ 2 4 のリング溝 2 6 内にあるとき（図 1 2 に示す）に対応する。第 2 のピークは、フローディストリビュータ 2 4 全体が面取部を越えて管 2 0 の領域内に係合している点に対応する。示されるように、この例では、最大軸方向力は約 1 2 0 0 ~ 1 3 0 0 l b f である。

30

【 0 0 9 3 】

ある実施形態については、フローディストリビュータ 2 4 の外壁のリング溝 2 6 内に配置されたリングを用いることによってシールを向上させることができる。ある実施形態では、フローディストリビュータを所定の位置に保持するのにプレス嵌めまたは締めで十分であるが、他の実施形態ではより永久的な接着部が望ましい。

40

【 0 0 9 4 】

フローディストリビュータ 2 4 が管の第 1 の端、たとえばボトムエンドに約 1 ~ 1 0 c m、たとえば 6 . 0 , 6 . 5 , 7 . 0 , 7 . 5 , 8 . 0 または 8 . 5 c m 押込まれると、フローディストリビュータ 2 4 は、たとえばフローディストリビュータ 2 4 および管が同一のまたは実質的に同様の材料からなる場合、たとえば溶接によって所定の位置に永久的に固定されてもよい。フローディストリビュータとカラム管との間の溶接を形成するために、熱ジグ溶接、（たとえば 4 2 0 での）熱ガス溶接、超音波、押出成形、レーザ、導

50

電率、高周波数等を含むがこれらに限定されないさまざまな溶接技術を用いてもよい。これら2つの部分が異なる材料からなる場合、それらは、外部に取付けられて管を圧縮し、かつフローディストリビュータを管の内部のその場所にアンカー固定する力を加える金属ホースクランプなどの機械クランプを用いることによって、または接着剤もしくは管壁を通過してフローディストリビュータに入る機械ファスナによって、接続されてもよい。

【0095】

第4に、入口および出口フィッティング38a, 38bを第1の(たとえば下部)および第2の(たとえば上部)フローディストリビュータ24a, 24bに取付ける(808)。入口および出口フィッティング38a, 38bはねじ山領域40を有し、これらは上部および下部フローディストリビュータ24a, 24bのねじフィッティング穴26に螺合される。各フィッティングのボトムエンド(すなわちフローディストリビュータと噛合う端)またはフローディストリビュータのねじフィッティング穴26の末端に、凹部(たとえばリンググランド)が形成されてもよい。この例では、フィッティング38とフローディストリビュータ24との間にリングが配置されて、フィッティング38とフローディストリビュータとが互いにねじ止めされるとそれらの間にシール(たとえば液密シール)が形成される。この境界面に十分なシールを作るためのリングの適正な圧縮を保証するためにトルクレンチを用いてもよい。

10

【0096】

第5に、液体スラリーの形態の充填媒体を、カラム管20の内部の、下部フローディストリビュータ24bの上方の空間(チャンバ)に装填する(810)。

20

【0097】

第6に、図6および図7に示されるように、第2の、たとえば上部のフローディストリビュータ24aを管類で配管すると(かつ随意に液体源にすでに接続すると)、第1のフローディストリビュータ24bを締め込み法を用いて挿入するのとほぼ同じやり方でフローディストリビュータ24aを管20に挿入する(812)。第2のフローディストリビュータに締め込み法を用いることが重要である。なぜなら、この第2の(たとえば上部)フローディストリビュータ24aが管20に押込まれる最初の場所は、第2のフローディストリビュータの最初の位置を試験後に再調整することが望ましい場合があるため、すぐに確定すべきでないからである。ゆえに、第2の、たとえば上部のフローディストリビュータ24aを管20の内部で動かして最終調整を行うことができるように、締め込み法が

30

【0098】

この時点で、充填媒体を、特定の媒体に好適な方法、たとえば、適切に調合された溶液(「移動相」もしくは「充填バッファ」)もしくはカラム出口フィッティング38bから適用される吸引を用いたフロー、または任意の他の好適な公知の技術もしくは方法を用いて、充填ベッドの内部に積極的に沈降させることができる。第2の、たとえば上部のフローディストリビュータは、当該フローディストリビュータが充填媒体に接触して充填媒体を圧縮して所望の位置に達し得るまで当該フローディストリビュータにさらなる軸方向力を加えることによって、管にさらに押込まれ得る。そのような圧縮は、充填媒体の性質に依存して、充填ベッド高さのまったくのゼロ~30%以上に及び得る。HETP(理論段相当高さ)試験および非対称性分析によって測定されるカラムの性能は、一部、ベッドの圧縮の関数である。適切な場合、挿入したフローディストリビュータ24aを管の端に向けて出してベッドの圧縮を減少させることも可能である。これは、第1および第2のフローディストリビュータ同士の間形成されるチャンバの内部の液体に力を加えることによって、静水圧を用いて行われる。第1のフローディストリビュータ24Bは永久的に固定されるため、プレス嵌めを用いて固定される第2のフローディストリビュータ24Aは、プレス嵌めを克服するのに十分な力がカラム管の内部の液体によって自身に及ぼされると移動する。

40

【0099】

50

第7に、保持されておらず、かつ容易に検出可能な試験品（たとえばUVモニタリングによるアセトンまたは導電率モニタリングによる塩化ナトリウム）のパルス注入によって、カラム充填媒体の適合性を試験してもよい（818）。充填試験の結果に基づいて、上部フローディストリビュータ24aは充填ベッド内にさらに進む（たとえば押込まれる）ことができ、充填試験を繰り返すことができる。上部フローディストリビュータが管の中に入り過ぎて充填ベッドの過剰圧縮を引起す可能性がある場合、出口フィッティングを密封した状態で入口フィッティングからチャンバに液体を押し入れることによって、水圧力を用いて上部フローディストリビュータ24aを管のトップエンドに向けて戻し、充填ベッドの圧縮を減少させることができる。カラム充填の適合性が判定されると、カラムは次いで、エンドユーザの仕様に従って、静菌性保存溶液で衛生化され、および/または洗い流され得る。

10

【0100】

第8に、第2の、たとえば上部のフローディストリビュータ24aを適切に位置決めすると、第1のフローディストリビュータを固定するための溶接または上述の他の手段などによってフローディストリビュータ24aを永久的に固定してもよい（818）。いくつかの実施形態では、上部（または第2の）フローディストリビュータ24aを管20の内壁に固定するのに締め込みが十分であり得る。

【0101】

いくつかの実施形態では、装填された最終的なクロマトグラフィカラムは、次いでトップキャップ、基部、および/またはサイドガードが取付けられてもよい。クロマトグラフィカラムは次いで最後の消毒を受け、使用されてもよいし出荷用に包装されてもよい。

20

【0102】

充填カラムの試験

充填カラムの評価は、HETP（理論段相当高さ）試験および非対称性分析を含んでもよい。HETP/非対称性試験は、カラム樹脂と相互に作用しない容易に検出可能な化学試験品（たとえばアセトン、NaCl）を少量注入することによって、充填ベッドの品質を測定する。良好に充填されたベッドでは、試験品はカラムの中を均一に進み、細い対称ピークとして溶出する。結果はプレート/メートル（N/m）として表される。

【0103】

カラム内のプレートの数（N）は

30

【0104】

【数7】

$$N = 5.54 \times \left(\frac{V_e}{W_h} \right)^2 \quad (9)$$

【0105】

によって与えられ、式中、 W_h は保持容量ピーク応答曲線の半分の高さにおけるピーク幅であり、 V_e は保持容量である。

【0106】

プレート/メートル（N/m）は

40

【0107】

【数8】

$$\frac{N}{m} = \left(\frac{N}{L(m)} \right) \quad (10)$$

【0108】

として計算され、式中、 $L(m)$ はメートルで表される充填ベッド高さである。

【0109】

【数 9】

$$HETP = \frac{L}{N} \quad (11)$$

【0110】

式中、Lは充填ベッド高さであり、Nは上記のように計算される理論段数である。

非対称性 (As) は b/a と定義され、「a」は保持容量ピーク応答曲線の立上がりの10%の点からピークの垂直の中心線までの水平方向の距離であり、「b」は垂直の中心線から保持容量ピーク応答曲線の立下りの10%の点までの水平方向の距離である。

【0111】

クロマトグラフィに関するさらなる一般的な詳細については、引用によってここに援用される、Hagel、JagschiesおよびSoferによるHandbook of Process Chromatography第2版を参照されたい。

10

【0112】

使用方法

本明細書中に記載されるシステムおよび方法は、かなりの設備投資を必要とする耐久性のあるハードウェア装置内に典型的に存在する他のクロマトグラフィカラムと性能面で同等の、使い捨ての、予め装填された、事前認定されたクロマトグラフィカラムをエンドユーザに提供する。カラム管が高分子材料で構成されるため、カラム管は、最大で10~20回以上の使用サイクルにわたって頑強な形状および機能および単純な操作を維持しつつ、迅速に、容易に、かつより安価に製造可能である。新たなカラムは他の公知のクロマトグラフィカラムと同じ態様で用いられるが、使い捨て可能性を考えると、新たなカラムは有毒またはそうでなければ有害な試薬、たとえばウイルス、病原体、および爆薬などを分離および精製するのに特に有用である。

20

【0113】

しかし、新たなクロマトグラフィカラムは驚くほど頑強であり、繰返し使用可能である。さらに、新たなクロマトグラフィカラムの設計ではそのような再利用のための洗浄が容易であり、新たなクロマトグラフィカラムは少なくとも5~10回の使用サイクルを提供する。

【0114】

実施例

以下の実施例で発明をさらに説明するが、実施例は請求項に記載の発明の範囲を限定するものではない。

30

【実施例1】

【0115】

実施例1 - プレス嵌めシールおよび溶接シールの圧力試験

この実施例の目的は、Oリングを用いずに、押出成形されたポリプロピレン (PP) カラム管および機械加工されたPPエンドピースのプレス嵌め組立品の圧力試験を行う (たとえばフローディストリビュータをシミュレートするために) ことである。プレス嵌めの封止能力の試験後、カラムを両端で溶接して再加圧し、熱ガス溶接取付法の強度を試した。

40

【0116】

材料

・ID 200 mm (公称) のPPカラム管 (IDおよびOD機械加工済み)

図13に従って200 mm、201 mm、202 mm、203 mm、204 mmのPPエンドピースを2つずつ。エンドピースはフローディストリビュータの構造的特性に似るようにサイズ決めされ構成される。

【0117】

・Exlar社の線形アクチュエータ (GSX 50)、Repligen社のECN番号: E037

6

・Harbor Freight社の20トン油圧プレス

50

- ・Leister社の熱ガス溶接機
- ・5 mm × 3 mmの三角形の溶接ロッド
- ・200 P S I 油圧試験組立品

方法

すべての機械加工したカラム管を8箇所測定して、最少、最大、および平均内径を得た。

【0118】

Exlar社の線形アクチュエータ（ミネソタ州Exlar社）を用いて、第1の（「下部」）エンドピースをカラム管にプレス嵌めした。

【0119】

すべてのカラム組立品について、下部プレス嵌め部分を所定の位置に熱ガス溶接し、水で満たし、再びExlar社の線形アクチュエータを用いて、第2の（「上部」）エンドピースをカラム管にプレス嵌めした。

【0120】

カラム管上端を油圧プレスで拘束し、水がプレス嵌めシールをバイパスするのが目視観察できるまで静水圧を徐々に上昇させた。

【0121】

プレス嵌めシールの破綻後、組立品を減圧し、「上部」エンドピースを所定の位置に熱ガス溶接した。

【0122】

溶接圧力組立品の静水圧試験を再び行い、液用シールを行うための溶接の有効性および機械的強度を評定した。

【0123】

結果

表1は、この一連の実験から得られたデータを要約している。加圧時、管からエンドピースへの接合領域に漏れがないか目視観察しながら内圧を測定した。

【0124】

【表1】

表1

端OD	管ID	嵌め代 (直径、mm)	漏れ圧力 (psi)	溶接圧力保持 (psi)
200	199.5	0.5	15	65+
201	199.5	1.5	45	165
202	199.5	2.5	74	175+
203	199.5	3.5	85	140+
204	200	4	100	190+

+溶接部はこれらの圧力点ではまだ一体化していた。

【0125】

プレス嵌めの液用封止を、直径締め代0.5 mm ~ 2.5 mmの間で直線的に増加させ、ミリメートルを追加する毎に封止能力が約30 psi (~2バール)向上した。締め代が2.5 mmから3.5 mmに増加すると、封止能力が約11 psi (~0.76バール)増加した。図1.4 Bは、直径締め代量に基づいた漏れ圧力のプロットであり、観察された封止傾向をグラフで表している。

【0126】

表1はさらに、完全に溶接された（すなわちトップおよびボトムエンドピースが所定の位置に溶接された）プレス嵌め組立品を再加圧して溶接強度を試したときに得られたデータを要約している。201 mmのエンドピースを有するカラム管の溶接部分は、165 psi (11.4バール)で降伏した。他の組立品の溶接部は、破損に至るまで試験不可能であった。溶接隙間および/またはねじ山入口/出口を越えた過剰な漏れによって、表1

に報告される点を超える加圧は不可能であった。さらに、エンドキャップ直径が202 mmの試験対象を除いたすべてのカラムにおいて、溶接部は、溶接継ぎ目が溶接の前に観察された漏れ圧力で/漏れ圧力のあたりで漏れることを防止しなかった。図15は、4つの組立品の観察溶接強度をグラフで表している。

【0127】

図15は、さまざまな程度の締め代に基づく観察溶接強度のプロットである。圧力に降伏した唯一の組立品は、エンドキャップ直径が201 mmの試験対象であった。他の組立品における溶接隙間および/またはねじ山入口/出口を越えた過剰な漏れによって、さらなる加圧は不可能であった。

【0128】

結論

この調査で収集されたデータに基づいて、プレス嵌めのみで、3.5 mmの直径締め代距離で85 psi (5.9 パール)の、および4.0 mmの直径締め代距離で100 psiもの漏れ圧力(静水封止圧力)を達成することができ、これらは両方とも、正常な操作条件下でのカラム試験に有効なフローディストリビュータの最初のアタッチメントを提供するのに十分過ぎるものである。溶接強度試験(溶接圧力保持)は、165 psiを超えるシールが達成可能であることを示しており、フローディストリビュータをカラム管の内壁面に永久的に固定して、これらのカラムの使用時に生じ得る正常な操作圧力よりもはるかに高い十分な安全係数を提供するための実行可能な方法として、このアプローチを支持している。

【実施例2】

【0129】

実施例2 - 誘起フープ張力および溶接パック(puck)(フローディストリビュータ)の圧力試験

この実施例の目的は、さまざまな外形寸法を有するパック(フローディストリビュータと同様の外形寸法を有する中実円筒形の円盤)を管を用いて組立てることである。パックはポリプロピレン(PP)のブロックから機械加工し、液体の導入を可能にするための出入口を取付けた。すべての管を押し出成形によって公称内径および壁厚にPP製造した。これらの試験は、各締め代について正確な誘起フープ張力値を得ることを目指して、リングまたはリング溝を含まないパックを用いて行った。パックを軸方向に管に押し入れ(各管に2つのパック、各端に1つずつ)、各カラムを水で加圧し、漏れがないか観察した。締め代の封止性能を試験した後、パックを両端で管に溶接し、再加圧し、熱ガス溶接取付法の強度を試した。

【0130】

材料

- ・ 10.0 mmの公称壁厚を有するID 199.90 mm(公称)のPP管
- ・ 図13に従って各々が25.4 mmの厚みの各パックサイズを2つずつ
 - 200.0 mm公称直径
 - 201.0 mm公称直径
 - 202.0 mm公称直径
 - 203.0 mm公称直径
 - 204.0 mm公称直径
- ・ Exlar社の線形アクチュエータ(GSX50)
- ・ Harbor Freight社の20トン油圧プレス
- ・ Leister社の熱ガス溶接機
- ・ 5 mm x 3 mmの三角形のPP溶接ロッド
- ・ 200 PSI油圧試験組立品

方法

すべてのPP管を8箇所測定して、管の軸長に沿って最少、最大、および平均内径を得た。

10

20

30

40

50

【 0 1 3 1 】

Exlar社の線形アクチュエータを用いて、1つのパックを軸方向に管の一端に押入れた。この第1のパックを、すべての組立品について所定の位置に熱ガス溶接した。カラムを水で満たした後、Exlar社の線形アクチュエータを用いて、(同一の公称外径を有する)第2のエンドピースを管の反対の端に押入れた。次いで、油圧プレスで第2のパックと整列させた。第2のパックは、カラムが加圧される際にパックが軸方向の移動をまったく経験しないことを保証するように、所定の位置にまだ溶接されていなかった。油圧プレスは、漏れ源を最小化すること、および漏れがパックと管壁との間の誘起フープ張力を克服する直接の結果であることを保証することに役立った。

【 0 1 3 2 】

漏れを観察した後、カラムを減圧し、第2のパックを所定の位置に溶接した。最後に、カラムを2回目に加圧して、漏れが観察された新たな圧力を調べた。すべての圧力試験の間、内圧を周囲圧力から5PSIずつ増加させ、新たな各圧力で30秒間安定化させてから、漏れないか確認し、漏れが検出されなければ内圧を再び増加させた。

【 0 1 3 3 】

結果

表2は、図14a、図14bおよび図15とともに、この一連の実験から得られたデータを要約している。加圧時、管からエンドピースへの接合領域に漏れないか目視観察しながら内圧を測定した。

【 0 1 3 4 】

【表2】

表2

端OD	管ID	嵌め代 (直径、mm)	漏れ圧力 (psi)	溶接圧力保持 (psi)
200	199.5	0.5	15	65+
201	199.5	1.5	45	165
202	199.5	2.5	74	175+
203	199.5	3.5	85	140+
204	200	4	100	190+

+溶接部はこれらの圧力点ではまだ一体化していた。

【 0 1 3 5 】

プレス嵌めの液用封止を、直径締め代0.5mm~2.5mmの間で直線的に増加させ、ミリメートルを追加する毎に封止能力が約30psi(~2パール)向上した。締め代が2.5mmから3.5mmに増加すると、封止能力が約11psi(~0.76パール)増加した。図14aは、直径締め代量に基づいた漏れ圧力のプロットであり、観察された封止傾向をグラフで表しており、図14bは、観察された漏れ圧力およびパックを挿入するのに必要な軸方向に加える荷重に対する誘起フープ張力(PSI)を示す。実験のこの局面は、操作条件を決定する際に重要である。たとえば、この作業は、最大で85PSIの操作圧力を達成するために、20cmのカラムは150PSI以上の誘起フープ張力を包含するように設計される必要があることを示している。

【 0 1 3 6 】

この値の誘起フープ張力が達成されたことを保証するために、図14bは、組立時に、パックを管に挿入するために5350N以上の軸方向荷重があれば望ましいことを示している。方程式4から、誘起フープ張力の結果として及ぼされる径方向力は、摩擦係数によってパックを管に挿入するのに必要な加えられる力に対して直線的に関連することに留意することが重要である。この作業で用いられる2つの材料について、初期実験を行って、これらの材料同士の間での正確な摩擦係数が0.23であると判定した。これをさらに探究すると、誘起フープ張力、および直接の結果として、パック(フローディストリビュータ)を挿入するための軸方向力が公知の値よりも大きい限り、材料の特性を考慮しつつ、異

10

20

30

40

50

なる管壁厚、管内径、およびパック（フローディストリビュータ）外形寸法を有するさまざまなカラムを構築することができる。

【0137】

表2はさらに、完全に溶接された（すなわち上部および下部のパックの両方が管壁に溶接された）プレス嵌め組立品を再加圧して溶接強度を試したときに得られたデータを要約している。201mmのエンドピースを有するカラム管の溶接部分は、165psi（11.4バール）で降伏した。他の組立品の溶接部は、破損に至るまで試験不可能であった。溶接隙間および/またはねじ山入口/出口を越えた過剰な漏れによって、表2に報告される点を超える加圧は不可能であった。さらに、エンドキャップ直径が202mmの試験対象を除いたすべてのカラムにおいて、溶接部は、溶接継ぎ目が溶接の前に観察された漏れ圧力で/漏れ圧力のあたりで漏れることを防止しなかった。図15は、4つの組立品の観察溶接強度をグラフで表している。

10

【0138】

図15は、さまざまな大きさの締め代に基づく観察溶接強度のプロットである。圧力に降伏した唯一の組立品は、エンドキャップ直径が201mmの試験対象であった。他の組立品における溶接隙間および/またはねじ山入口/出口を越えた過剰な漏れによって、さらなる加圧は不可能であった。

【0139】

結論

この調査で収集されたデータに基づいて、締め代のみによって生じた誘起フープ張力は、3.5mmの直径締め代で85PSI（5.9バール）の、および4.0mmの直径締め代で100PSI以上の漏れ圧力（静水封止圧力）を達成することができ、これらは両方とも、正常な操作条件下でのカラム試験に有効なフローディストリビュータの最初のアタッチメントを提供するのに十分過ぎるものである。溶接強度試験（溶接圧力保持）は、165PSIを超えるシールが達成可能であることを示しており、フローディストリビュータをカラム管の内壁面に永久的に固定して、これらのカラムの使用時に生じ得る正常な操作圧力よりもはるかに高い十分な安全係数を提供するための実行可能な方法として、このアプローチを支持している。

20

【実施例3】

【0140】

実施例3 - カラム管充填媒体の試験

疎水性相互作用（HIC）性質を有するように官能化された合成ポリマー（たとえばポリメタクリレート）粒子系の市販の充填媒体材料を用いて、カラム管を充填した。カラム管とフローディストリビュータとの間の締め代の大きさの結果として好適な程度の誘起フープ張力を達成するのに必要な軸方向力を記録し、プロットした。カラム充填評価試験は、この特定の媒体種類の機能的要件に従っている。

30

【0141】

材料

- ・ 10.0mmの公称壁厚を有するID199.90mm（公称）のPP管
- ・ OD202.3mm（公称）のPPフローディストリビュータ
- ・ ポリメタクリレート系のHICクロマトグラフィ媒体
- ・ Instron社（登録商標）のカフィールドバック発生ピストン
- ・ 20トン油圧プレス
- ・ Wedgewood社の導電率計
- ・ USBデータ収集モジュール（導電率対時間トレースをプロットするため）

40

方法

図8を参照して本明細書中に記載の順序に従って、カラムを充填した。管に充填媒体を充填した後に第2のフローディストリビュータを管に押し入れるのに必要な連続的な軸方向力を測定し、記録した。また、NaClのパルス注入が充填カラムベッドの長さわたって流れる際に当該パルス注入を検出することによって、第2のフローディストリビュータ

50

の場所を確定した後にカラム充填効率評価を行った。

【 0 1 4 2 】

結果

図 1 6 は、フローディストリビュータを充填管に圧入するのに必要な、観察された軸方向力のプロットである。図 1 7 は、図 1 6 から、管の内部の 4 0 ~ 7 0 m m の変位を拡大している。図 1 6 および図 1 7 から、2 つの重要な結論を引出すことができる。

【 0 1 4 3 】

1 . フローディストリビュータを管に押込むのに必要な軸方向力は、フローディストリビュータを管に押込めば押込むほど増加した。上述のように、かつ図 1 0 a および図 1 0 b に示されるように、これは、フローディストリビュータ壁、およびカラム壁内のフローディストリビュータの上下の 3 ~ 5 の特性寸法の周りで経験する増大したフープ張力（および関連応力）に起因する。

10

【 0 1 4 4 】

2 . フローディストリビュータおよび管壁は 2 . 4 m m の直径締め代を経験することによって、実施例 2 で説明したように、漏れなしで約 7 0 P S I の達成可能な操作内圧に関連する。実施例 2 の妥当性をさらに調べると、7 0 P S I の漏れ圧力に対応する誘起フープ張力は、約 4 0 0 0 N の軸方向力にも関連することが分かる。図 1 6 を見ると、フローディストリビュータが管の中に進むためには約 4 5 0 0 N の軸方向力が必要であった。もちろん、この値は、フローディストリビュータと管との接触点の前後の補助的な誘起応力 3 ~ 5 の特性寸法のために、管にさらに押込まれると増加した。

20

【 0 1 4 5 】

図 1 8 は、充填管に対して行った 1 0 0 c m / 時の充填評価のクロマトグラムプロットである。

【 0 1 4 6 】

表 3 は、カラム充填調査から得られたデータを要約している。

【 0 1 4 7 】

【表 3】

表 3

試験線流速 (c m / 時)	N / m	非対称因子 (A s)
100	3820	1.27
180	2889	1.11
300	1980	1.08

30

【 0 1 4 8 】

結論

収集されたデータは、本明細書中に記載される締め込み接続法の結果としての誘起フープ張力が高性能のクロマトグラフィカラムを充填するのに好適な性能特性を提供することを裏付けている。充填に必要な、観察された軸方向力は、従来の方法を用いて生じ得る力を超えず、媒体製造業者によって示される機能的要件と一致する。

40

【実施例 4】

【 0 1 4 9 】

実施例 4 - ポリプロピレンカラムの認定された洗浄および衛生化

内径 (I D) が 2 0 c m のポリプロピレンカラムの清掃性および衛生化を、小分子、エンドトキシン、および細菌について評定した。

【 0 1 5 0 】

材料

清掃性：予め充填されたポリプロピレンカラム内の小分子間隙の評定

1 . 無機リン酸塩

2 . Sepharose (登録商標) 6FF で充填された 2 0 c m × 2 0 c m のポリプロピレンカ

50

ラム

3. 1 Mリン酸ナトリウム
 4. 脱イオン水
 5. リン酸塩を μM レベルまで検出可能な高感度比色法を行うのに必要な材料
- 予め充填されたポリプロピレンカラムからのエンドトキシンおよびバイオバーデンの除去

1. Sepharose (登録商標) 6FFで充填された $20\text{ cm} \times 20\text{ cm}$ のポリプロピレンカ

ラム

2. 0.5 OD (光学密度) の濃度の病原性大腸菌
3. 逆浸透脱イオン (RODI)
4. 1 M水酸化ナトリウム $0.2\ \mu\text{m}$ フィルタユニット
5. 0.1% ペプトン水
6. トリプシン大豆寒天 (TSA) プレート
7. インキュベータ
8. 感度が $0.25\ \text{EU/mL}$ のゲル凝固リムルスアメボサイトライゼート (LAL)

10

) 試験に必要な材料

方法

1. 清掃性: 予め充填されたポリプロピレンカラム内の小分子間隙の評定

無機リン酸塩を小分子トレーサとして使用した。Sepharose (登録商標) 6FFで充填された $20\text{ cm} \times 20\text{ cm}$ のポリプロピレンカラムを、 $100\text{ cm}^3/\text{時}$ の流量で1カラム体積の1 Mリン酸ナトリウムで装填した。飽和を確実にするため、リン酸を全部で4.5カラム体積分だけ再循環させた。カラムを次いで10カラム体積分だけ脱イオン水で洗い、リン酸の痕跡をすべて除去した。装填、再循環、および洗浄の際に試料を回収し、リン酸塩について化学分析した。リン酸塩を μM レベルまで検出可能な高感度比色法を行った。この方法は当該技術において公知であり、さらなる詳細については、全文が引用によって本明細書に援用される、Chen PS, Toribara TY, Warner H (1956)らのMicrodetermination of phosphorus. Anal Chem 28: 1756-1758を参照されたい。

20

【0151】

2. 予め充填されたポリプロピレンカラムからのエンドトキシンおよびバイオバーデンの除去

30

水酸化ナトリウムを洗浄剤として用いて定量的な洗浄調査を行い、衛生化の有効性を実証した。衛生化処理は以下の通りである。

【0152】

- ・ 1 M水酸化ナトリウムを用いて上降流で $100\text{ cm}^3/\text{時}$ で30分間洗い流す
- ・ 1 M水酸化ナトリウムを用いて下降流で $100\text{ cm}^3/\text{時}$ で30分間洗い流す
- ・ 1 M水酸化ナトリウムを上降流で $100\text{ cm}^3/\text{時}$ で2時間再循環させる
- ・ 1 M水酸化ナトリウムにカラムを1時間インキュベーションする (エンドトキシンを完全に除去するための静的衛生化)

- ・ 中性 pH が達成されるまで RODI 水を用いて $100\text{ cm}^3/\text{時}$ で洗い流す

接種および衛生化の前後の試料を収集し、微生物コロニーフォーミングユニット (CFU) およびエンドトキシンについて化学分析した。

40

【0153】

微生物試験は、試料 1 mL を $0.2\ \mu\text{m}$ のフィルタユニットで濾過し、フィルタを 0.1% ペプトン水 100 mL で洗い、フィルタをユニットから外してトリプシン大豆寒天 (TSA) プレートに置くことによって行った。オーバーナイトインキュベーション後のフロースルーを濾過前に $1:10^6$ に希釈し、衛生化後の水洗浄は希釈なしで濾過した。TSA プレートを4日間32のインキュベータに入れ、2日目および4日目にコロニーを数えた。

【0154】

エンドトキシン試験は、感度が $0.25\ \text{EU/mL}$ のゲル凝固リムルスアメボサイトラ

50

イセート（LAL）試験を用いて行った。

【0155】

結果

1. 清掃性：予め充填されたポリプロピレンカラム内の小分子間隙の評定

図19は、技術的に優れたカラム設計および充填手順の結果、ポリプロピレンカラムから小分子を容易に除去できることを実証するグラフである。2カラム体積未満の洗浄で6ログの減少が達成され、検出不可能なレベルのリン酸塩は2.5カラム体積未満で達成される。

【0156】

2. 予め充填されたポリプロピレンカラムからのエンドトキシンおよびバイオバーデンの除去

微生物チャレンジからのバイオバーデンおよびエンドトキシンレベルについての結果の概要を表4に示す。表4は、衛生化手順によって、衛生化後の水洗浄において何百万ものCFUからCFUゼロにまでバイオバーデンが完全に除去されたことを示す。さらに、エンドトキシンレベルは化学分析の検出限界（0.25EU/mL）未満になった。

【0157】

【表4】

表4

試料	CFU/mL @ 2日	CFU/mL @ 4日	エンドトキシン (EU/mL)
接種前の水洗浄	0	0	< 0.25
フロースルーオーバーナイト インキュベーション	9 x 10 ⁶	9 x 10 ⁶	> 0.25
衛生化後の水洗浄	0	0	< 0.25

【0158】

結果

リン酸塩除去実験によって、本明細書中に記載されるカラムの革新的な設計は、下流処理に必要な洗浄用途に認定された。洗浄実験の結果は、カラム設計における大きなデッドスペースの不在と、予め充填されたポリプロピレンカラムの洗浄の容易さを実証している。そのようなカラムはしたがって、標準的な下流処理用途での使用に好適であり、今日の下流処理用途に必要な洗浄プロトコルに耐え得る。

【0159】

本説明に従って作製したポリプロピレンカラムの衛生化の有効性を試験するために、カラムを過剰な大腸菌培養物（グラム陰性、エンドトキシン産生細菌）で装填した最悪のシナリオを考案した。衛生化プロトコルの結果は、バイオバーデンおよびエンドトキシンの汚染の効果的な除去を実証している。

【0160】

他の実施形態

発明をその詳細な説明とともに記載したが、上記の説明は発明の範囲を限定するのではなく例示するよう意図されており、発明の範囲は添付の請求項の範囲によって定義されると理解される。他の局面、利点、実施形態および修正も、以下の請求項の範囲内にある。

【 図 1 】

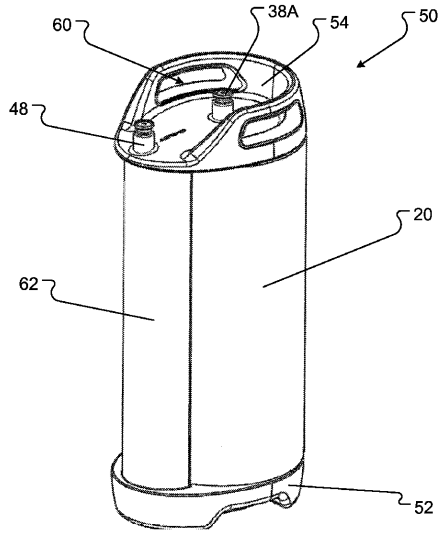


FIG. 1

【 図 2 A 】

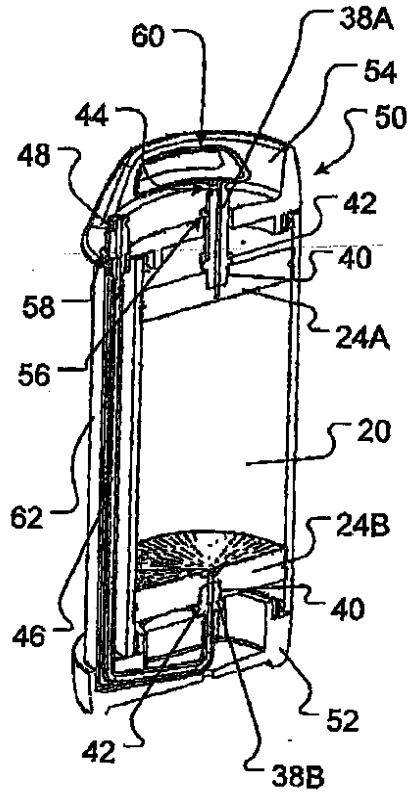


FIG. 2A

【 図 2 B 】

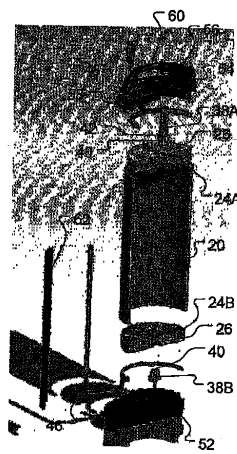


FIG. 2B

【 図 3 A 】

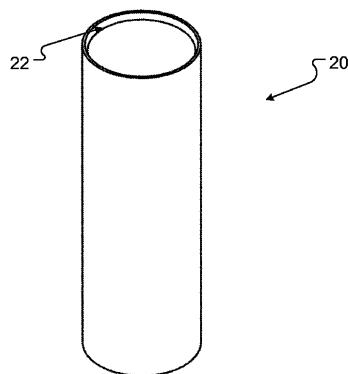


FIG. 3A

【 図 3 B 】

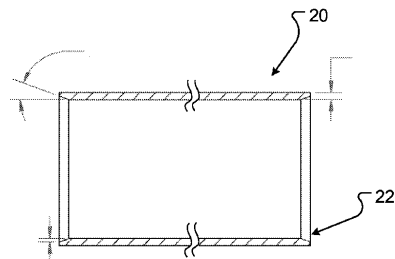


FIG. 3B

【 図 4 A 】

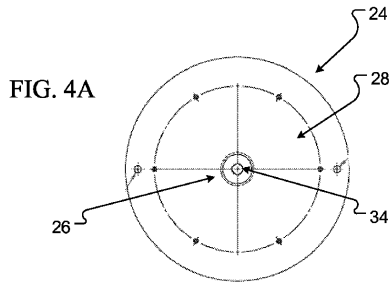


FIG. 4A

【 図 4 B 】

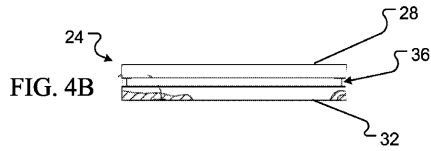


FIG. 4B

【 図 4 C 】

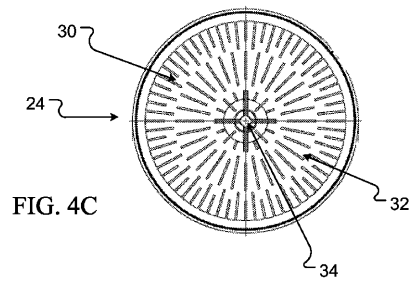


FIG. 4C

【 図 5 】

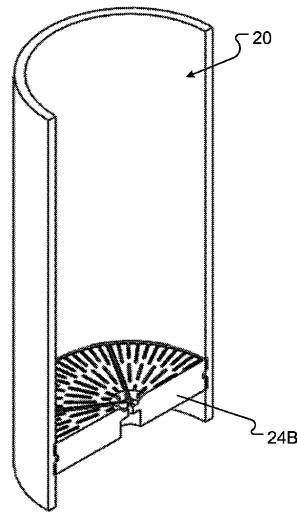


FIG. 5

【 図 6 】

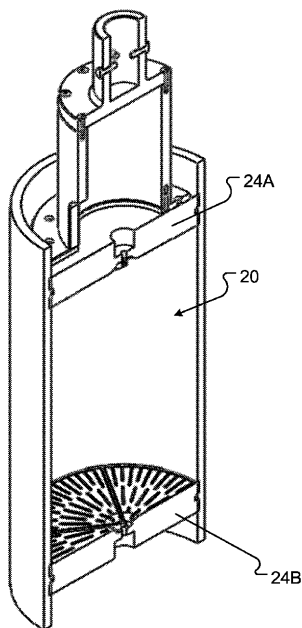


FIG. 6

【 図 7 】

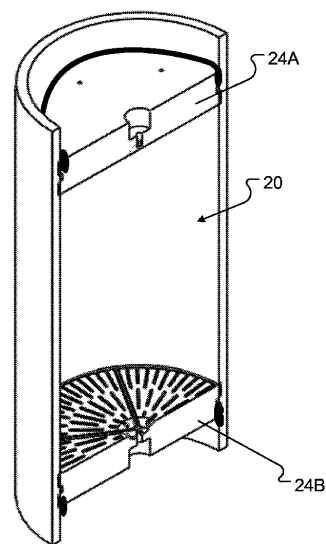


FIG. 7

【 図 8 】

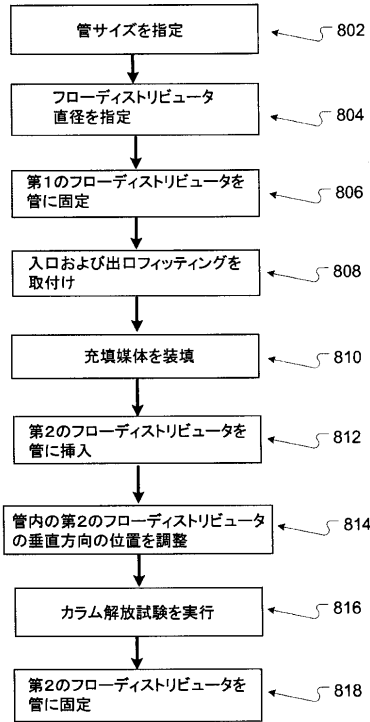


FIG. 8

【 図 9 A 】

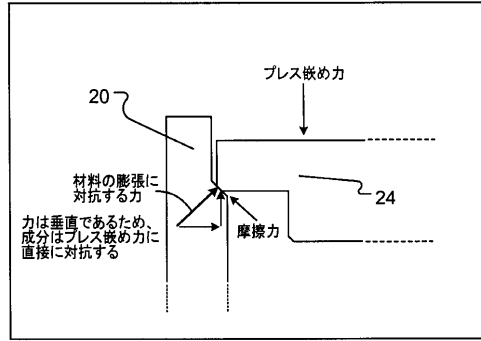


FIG. 9A

【 図 9 B 】

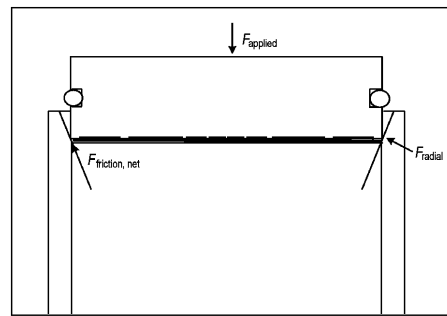


FIG. 9B

【 図 10 A 】

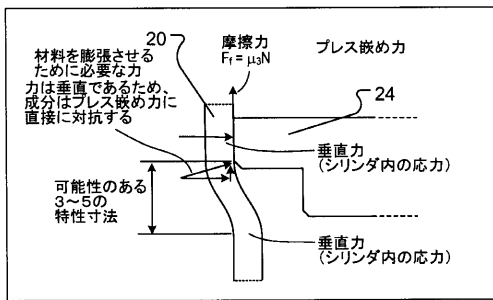


FIG. 10A

【 図 10 B 】

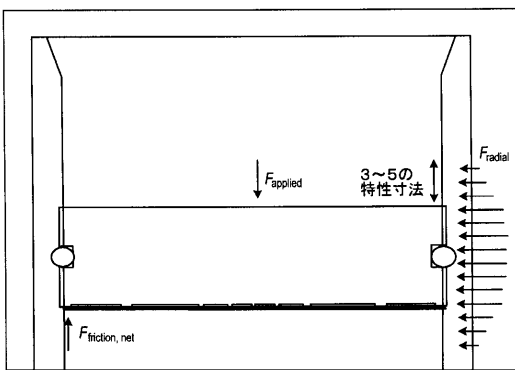


FIG. 10B

【 図 11 】

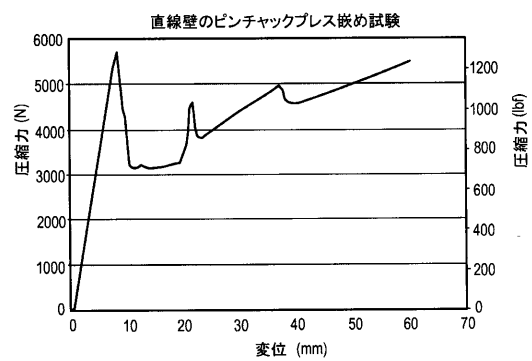


FIG. 11

【 図 12 】

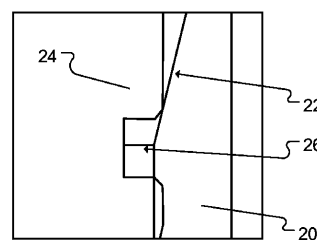


FIG. 12

【 図 1 3 】

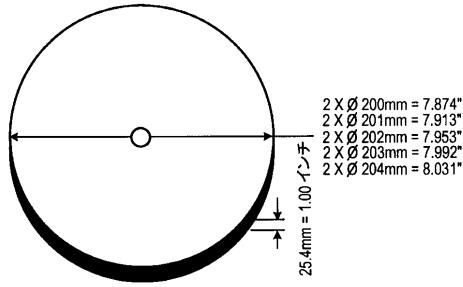


FIG. 13

【 図 1 4 B 】

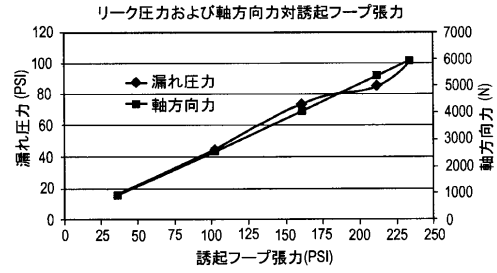


FIG. 14B

【 図 1 4 A 】

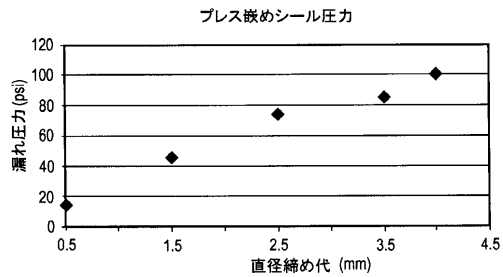


FIG. 14A

【 図 1 5 】

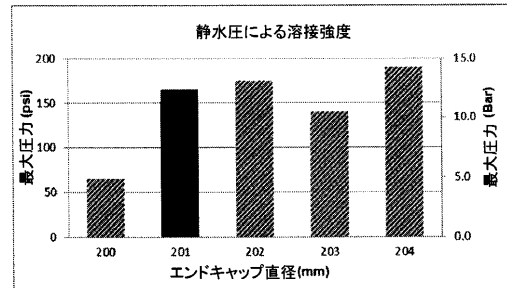


FIG. 15

【 図 1 6 】

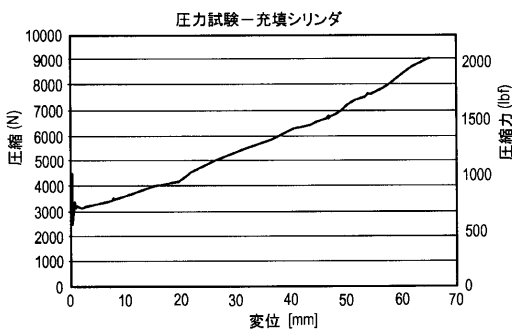


FIG. 16

【 図 1 8 】

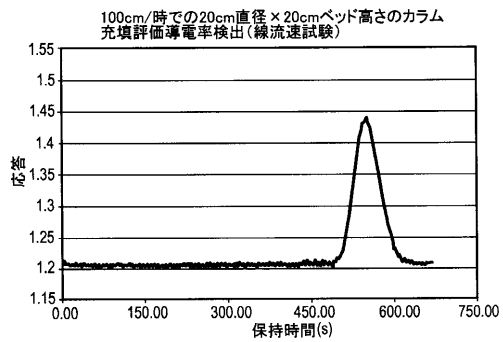


FIG. 18

【 図 1 7 】

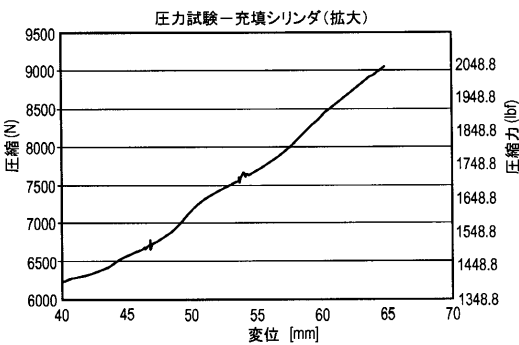


FIG. 17

【 図 19 】

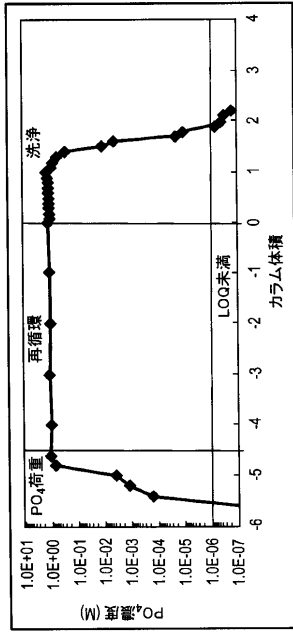


FIG. 19

フロントページの続き

- (72)発明者 ワイルド, ウィリアム・ジェイ
アメリカ合衆国、02472 マサチューセッツ州、ウォータータウン、ボイルストン・ストリート、76
- (72)発明者 ロー, エイドリアン
アメリカ合衆国、02458 マサチューセッツ州、ニュートン、ルイス・ストリート、54
- (72)発明者 シヤマシュキン, マイケル
アメリカ合衆国、01801 マサチューセッツ州、ウォーバン、ラッセル・ストリート、244
- (72)発明者 レザック, ピーター
アメリカ合衆国、01503 マサチューセッツ州、バーリン、ランカスター・ロード、191
- (72)発明者 スローカム, アレクサンダー
アメリカ合衆国、03304 ニュー・ハンプシャー州、ボウ、メリル・クロッシング、1
- (72)発明者 ワード, トラビス
アメリカ合衆国、02458 マサチューセッツ州、ニュートン、ラスティック・ストリート、32・エイ

審査官 高田 亜希

- (56)参考文献 国際公開第2004/024285(WO, A1)
米国特許出願公開第2002/0153294(US, A1)
米国特許第06117329(US, A)
米国特許出願公開第2003/0089662(US, A1)
国際公開第99/025451(WO, A1)
特表2005-538376(JP, A)
特表2001-522710(JP, A)
特表2001-523811(JP, A)
特表2004-505276(JP, A)
特表平03-503212(JP, A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

G01N 30/00 - 30/93
B01D 15/08