

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第3616012号
(P3616012)

(45) 発行日 平成17年2月2日(2005.2.2)

(24) 登録日 平成16年11月12日(2004.11.12)

(51) Int. Cl.⁷

F I

G O 1 N 30/56

G O 1 N 30/56

A

B O 1 D 15/08

B O 1 D 15/08

請求項の数 9 (全 14 頁)

(21) 出願番号	特願2000-586423 (P2000-586423)	(73) 特許権者	390019585
(86) (22) 出願日	平成11年11月10日 (1999.11.10)		ミリポア・コーポレーション
(65) 公表番号	特表2002-531848 (P2002-531848A)		MILLIPORE CORPORATION
(43) 公表日	平成14年9月24日 (2002.9.24)		アメリカ合衆国、マサチューセッツ・O1
(86) 国際出願番号	PCT/GB1999/003736		821、ビレリカ、コンコード・ロード・
(87) 国際公開番号	W02000/033935		290
(87) 国際公開日	平成12年6月15日 (2000.6.15)	(74) 代理人	100123788
審査請求日	平成15年6月17日 (2003.6.17)		弁理士 宮崎 昭夫
(31) 優先権主張番号	9827164.6	(74) 代理人	100088328
(32) 優先日	平成10年12月10日 (1998.12.10)		弁理士 金田 暢之
(33) 優先権主張国	英国 (GB)	(74) 代理人	100106297
			弁理士 伊藤 克博
		(74) 代理人	100106138
			弁理士 石橋 政幸

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 クロマトグラフィーカラム系およびクロマトグラフィーカラムの充填方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

スラリー容器 (102) からクロマトグラフィー媒体をクロマトグラフィーカラム (101) に充填する方法であって、前記クロマトグラフィー媒体を含むスラリー (104) をクロマトグラフィーカラム (101) にポンプ送りしてカラムを充填し、充填時のクロマトグラフィーカラムからの過剰の流体をスラリー容器 (102) に還流すること、および、クロマトグラフィーカラム (101) を充填している間連続的に、またはクロマトグラフィーカラムの充填を一時的に停止している間、前記スラリー容器 (102) から前記スラリー (104) を循環し前記スラリー容器 (102) に還流することをさらに含む、クロマトグラフィーカラムの充填方法。

【請求項2】

クロマトグラフィー媒体をクロマトグラフィーカラム (101) に充填するに先だってクロマトグラフィー媒体を含むスラリーを調製する方法であって、スラリー (104) 成分をスラリー容器 (102) に仕込む段階、次に前記スラリー (104) 成分を前記スラリー容器 (102) から循環させる段階ならびに前記スラリー成分を前記スラリー容器 (102) に還流する段階を有するクロマトグラフィー媒体を含むスラリーの調製方法。

【請求項3】

クロマトグラフィー媒体をクロマトグラフィーカラムへ充填する方法であって、請求項2に記載の方法によって、クロマトグラフィーカラム (101) の充填に先だって、前記クロマトグラフィー媒体を含むスラリー (104) を調製する段階、次に前記クロマトグラ

フィー媒体を前記クロマトグラフィーカラム (101) に充填する段階を有するクロマトグラフィーカラムの充填方法。

【請求項4】

前記スラリー成分が標的分子を含み、前記標的分子のクロマトグラフィー媒体への十分な吸着が達成されるまで、前記スラリー成分が前記スラリー容器 (102) から循環され前記スラリー容器 (102) に還流される、請求項2または3に記載の方法。

【請求項5】

上記いずれかの請求項に記載の方法であって、前記クロマトグラフィーカラム (101) が、上側スラリーバルブと底スラリーバルブを有し、前記各々のスラリーバルブが開口1、開口2および開口3を備えており、

前記方法が、前記一方のスラリーバルブの開口3から過剰の液体を除きながら、前記他方のスラリーバルブの開口1から前記クロマトグラフィーカラム (101) に前記クロマトグラフィー媒体を導入することを含む方法。

【請求項6】

請求項5に記載の方法であって、さらに、次いで前記スラリーバルブのうちの一方のスラリーバルブの開口3を経由して移動相を前記クロマトグラフィーカラム (101) に導入し、他方の前記スラリーバルブの開口3から前記移動相を除去することを含む方法。

【請求項7】

請求項5または6に記載の方法であって、前記クロマトグラフィーカラム (101) をクロマトグラフィー媒体で充填した後に、前記スラリーバルブの一方のもしくは双方のスラリーバルブの開口1および開口2を経由してクリーニング溶液を通すことをさらに含む方法。

【請求項8】

請求項5から7のいずれか1項に記載の方法であって、清浄な液体を前記一方のスラリーバルブの開口1を経由して前記クロマトグラフィーカラム (101) に導入し、クロマトグラフィーカラム (101) から再スラリー化したクロマトグラフィー媒体を前記他方のスラリーバルブの開口2から除去することをさらに含む方法。

【請求項9】

クロマトグラフィーカラム (101) およびスラリー容器 (102) ; 前記クロマトグラフィー媒体を含むスラリー (104) を前記スラリー容器から前記クロマトグラフィーカラム (101) にポンプ送りして前記クロマトグラフィーカラムに充填するために配置されたポンプ装置 (110、124) ; および充填時の過剰の流体排出液を前記クロマトグラフィーカラムから前記スラリー容器に輸送するよう配置された輸送装置、並びに前記クロマトグラフィーカラム (101) を通さずに前記スラリー容器から前記スラリーを循環し前記スラリー容器に還流させるよう動作可能なポンプ装置を有するクロマトグラフィーカラム系。

【発明の詳細な説明】

【0001】

(技術分野)

本発明は、クロマトグラフィーカラムに関し、詳細にはクロマトグラフィーカラム系およびクロマトグラフィーカラムの充填方法に関する。

【0002】

(背景技術)

有用でなかったり価値の低い可能性のある他の成分を含む流体混合物から1以上の有用な成分を分離することが望ましい場合が非常に多い。それを行うには、そのような流体混合物の分別を行って、有用もしくは所望の成分を分離することが必要または望ましい場合が多い。それは、液体クロマトグラフィー系を用いることで行うことができる。液体クロマトグラフィーは、成分の物理的もしくは化学的特性における差に基づいた混合物の成分の分別と説明することができる。各種液体クロマトグラフィー系は分別基材を用いて成分の分別を行う。一部の液体クロマトグラフィー基材系は、分子量などの物理的なパラメータ

10

20

30

40

50

に基づいて混合物の成分を分別する。さらに他の液体クロマトグラフィー系は、イオン電荷、疎水性ならびに成分上の抗原決定基もしくはレクチン結合部位などのある種の化学部分の存在などの化学的基準に基づいて混合物の成分分別を行う。

【0003】

実験室的分析操作ならびに工業的規模の生産操作の両方で各種大きさのクロマトグラフィー系が用いられ、そこではヒト血液からの分画の分離または医薬品からの不純物の分離などの分離段階をバッチ法で大規模に行うことができる。

【0004】

クロマトグラフィーカラムの開発は、操作の簡便性ならびに特定の商業的重要性がある各種の別の利点を提供することを目的としたものであった。それには、(a)オートクレーブ処理による滅菌性、(b)あるバッチから次のバッチへの製品のキャリーオーバーを減らす設計的特徴による衛生改善、(c)耐溶剤性、(d)食品関係のFDA規格への材料適合性、(e)耐圧性改善、(f)比較的低いコスト、(g)完全もしくは部分自動化の可能性などがある。

10

【0005】

これまでクロマトグラフィーカラムは分解して、クロマトグラフィー媒体の再スラリー化および除去を行うことで、新鮮なクロマトグラフィー媒体またはある特定用途に特有の異なるクロマトグラフィー媒体をクロマトグラフィーカラムに充填し直す必要がある。この手順にはいくつかの問題がある。第1に、この操作を行うのにかなりの時間を要し、特に大型の工業用カラムではかなりの時間を要し、商業的運転での生産性低下につながる。第2に、クロマトグラフィーカラムを常時組み立て・分解することで、部品に過度の摩耗が生じて、クロマトグラフィー系の寿命が短くなる。第3に、機械式巻上げ装置ならびにかなりの床およびヘッドスペースが必要である。最後に、クロマトグラフィーカラムを分解する都度、望ましくない汚染物がカラム中に入る機会が多くなり、それによって対象とする流体混合物および分画が汚染される場合がある。

20

【0006】

一部の種類のクロマトグラフィーカラムに関連する別の問題は、クリーニング溶液と充填クロマトグラフィー媒体との間の障壁を維持しつつ、クロマトグラフィーカラム中にクロマトグラフィー媒体を導入するのに用いる流路をクリーニングすることができない点である。

30

【0007】

図1には公知のクロマトグラフィーカラムを示してあり、このカラムでは、2個のバルブを用いており、一方はカラム頂部にあり、他方はそれから離れて底部にある。各バルブには3個の開口がある。開口1は充填時にカラムにスラリーを供給し、充填物排出時の再スラリー化のためにカラム中に液体をポンプ送りするためのものである。開口2は、充填後のスラリー配管を流し出すために開口1を経由してポンプ送りされたクリーンな液体を排出したり、充填物排出時に再スラリー化したゲルを除去するためのものである。開口3は、移動相の注入口および排出口であり、分配セルとのみ直接連絡している。

【0008】

バルブ11を、図2にさらに詳細に示してあり、その図では、空気圧駆動バルブスリーブは操作モードに応じて3つの異なる位置を取ることができる。充填時には底バルブは、バルブスリーブが図2に示したように半引き込み充填位置にあり、開口2のカラム内部との連通が閉じられている。この位置にある時は、スラリーは底バルブの開口1からカラム中にポンプ送りされ、空気または過剰の液体は頂部バルブの開口2から除去される。カラムを空気パージする際には、頂部バルブのバルブスリーブは閉位置にある（すなわち、筐体中に完全に延長した状態）。

40

【0009】

運転位置では、頂部および底部の両バルブ11のバルブスリーブが非駆動位置にあって、両バルブの開口1および開口2はカラム内側と遮断されている。この位置にある時には、清浄な液体が開口1から開口2にポンプ送りされて、スラリー配管中に残っている媒体（

50

ゲル)を除去したり、あるいはその配管についてのクリーン・イン・プレイス(c l e a n - i n - p l a c e) (「C I P」)を行うことができる。次に、開口3から分配セルへ(およびそのセルから)移動相をポンプ送りすることで、カラムを運転する。

【0010】

これらバルブを用いて充填床を再スラリー化するには3つの方法がある。第1の方法では、底バルブが充填(バルブスリーブが部分的に引き込まれている)位置にあり、頂部バルブが排液位置にあって、頂部バルブのバルブスリーブがカラム筐体から完全に引き込まれている。頂部バルブのバルブスリーブがこの位置にあると、清浄な液体を管の末端にあるノズルから開口1を通してポンプ送りしてゲルを再スラリー化することができ、それを次に開口2から除去する。第2の方法では、底部と頂部の両方のバルブを排液位置とする(スリーブは完全に引き込まれている)。清浄な液体が、頂部もしくは底部のいずれかのバルブの開口1からカラム中にポンプ送りされて、ゲルを再スラリー化する。再スラリー化された材料はカラム底部から排出される。第3の方法では、頂部バルブが充填(スリーブが部分的に引き込まれている)位置にあり、底バルブが排液(スリーブが完全に引き込まれている)位置にある。これによって、充填床頂部のスラリー化が可能となり、スラリーは底バルブから排出される。これら3種類の全ての方法を、再スラリー操作時に併用することができる。

10

【0011】

カラムを排液または排出するには、頂部および底部の両方のバルブを排液位置とし、いずれかのポンプを逆送りして、カラムから液体を抜き取る。別法として、ポンプの組合せを用いて、いずれかのバルブ上の開口2から同時にカラムの注入および排液を行うことができる。さらに、スラリーをカラムに循環させて、カラムの洗い流しに要する清浄な液体の量を大幅に減らすことができる。

20

【0012】

上記の先行技術のバルブは、スリーブが必要な操作位置を取るようにするためにかなり複雑な構造を有しており、信頼性および製造コストが問題となる可能性があることを示唆している。

【0013】

P C T / G B 9 7 / 0 2 9 4 3 のクロマトグラフィーカラムは、上記先行技術のカラムと同じ機能的能力を提供することができ、複雑さが軽減されたバルブとなっていることから、製造の経済性が高く、信頼性が向上して、偶発的な過剰加圧が起こった場合に一定体積を排出する操作が可能なクロマトグラフィーカラムを開示している。このカラムを図3および4に示してある。

30

【0014】

このバルブには操作位置が2種類のみあることから、バルブの複雑さが軽減される。中央の内腔および通路は常時流体で連通していることから、長手方向部材において通路を介して充填時にカラムの偶発的過剰加圧があると、媒体が中央内腔に進入することで、カラムから放出されることにより過剰圧力抜きを行うことができる。それは、充填時に通路と中央内腔が流体連通していないことから、1個のみのバルブが存在する場合には放出ができないために、上記の先行技術のバルブを用いたときには、充填時に過剰加圧が生じる状況とは対照的である。

40

【0015】

そのようなカラムの公知の充填方法は、1以上の溶質を、それが吸着される固相の表面に流体から移動させるスラリーの調製方法であって、充填されたクロマトグラフィー床に流し通して溶質を固体粒子と接触させる方法、攪拌したタンク中で回分的に溶質を吸着させまたはその場(i n - s i t u)反応によって反応生成物を固体粒子上に生成させる段階、次に、重力沈降その他の従来のカラム充填法によって充填床を形成する段階を有する方法である。

【0016】

(発明の開示)

50

本発明は、改良されたクロマトグラフィーカラム系、スラリーの調製方法およびクロマトグラフィーカラムの充填方法を提供することを目的とするものである。

【0017】

本発明の第1の態様による方法は、スラリー容器(102)からクロマトグラフィー媒体をクロマトグラフィーカラム(101)に充填する方法であって、前記クロマトグラフィー媒体を含むスラリー(104)をクロマトグラフィーカラム(101)にポンプ送りしてカラムを充填し、充填時のクロマトグラフィーカラムからの過剰の流体をスラリー容器(102)に還流すること、および、クロマトグラフィーカラム(101)を充填している間連続的に、またはクロマトグラフィーカラムの充填を一時的に停止している間、前記スラリー容器(102)から前記スラリー(104)を循環し前記スラリー容器(102)に還流することをさらに含む、クロマトグラフィーカラムの充填方法である。

10

【0018】

前記媒体は、カラムが十分に充填されるまで少量ずつ容器に加えることができるので、充填が完了する前に容器から媒体が尽きてしまわないように、媒体の初期量を少なくとも充填に必要な量としなければならない先行技術の充填方法に伴うことがある廃棄物を減らすことができる。

【0019】

本発明の第2の態様による方法は、クロマトグラフィー媒体をクロマトグラフィーカラム(101)に充填するに先だってクロマトグラフィー媒体を含むスラリーを調製する方法であって、スラリー(104)成分をスラリー容器(102)に仕込む段階、次に前記スラリー(104)成分を前記スラリー容器(102)から循環させる段階、ならびに前記スラリー成分を前記スラリー容器(102)に還流する段階を有するクロマトグラフィー媒体を含むスラリーの調製方法である。

20

また、上記本発明の方法は、本発明の第2の態様による方法によって、クロマトグラフィーカラム(101)の充填に先だって、前記クロマトグラフィー媒体を含むスラリー(104)を調製する段階、次に前記クロマトグラフィー媒体を前記クロマトグラフィーカラム(101)に充填する段階を有する。

また、上記本発明の方法は、前記スラリー成分が標的分子を含み、前記標的分子のクロマトグラフィー媒体への十分な吸着が達成されるまで、前記スラリー成分が前記スラリー容器(102)から循環され前記スラリー容器(102)に還流されることを含む。

30

また、上記本発明の方法は、前記クロマトグラフィーカラム(101)が、上側スラリーバルブと底スラリーバルブを有し、前記各々のスラリーバルブが開口1、開口2および開口3を備えており、

前記方法が、前記一方のスラリーバルブの開口3から過剰の液体を除きながら、前記他方のスラリーバルブの開口1から前記クロマトグラフィーカラム(101)に前記クロマトグラフィー媒体を導入することを含む。

また、上記いずれかに記載の本発明は、さらに、次いで前記スラリーバルブのうちの一方のスラリーバルブの開口3を経由して移動相を前記クロマトグラフィーカラム(101)に導入し、他方の前記スラリーバルブの開口3から前記移動相を除去することを含む。

また、上記いずれかに記載の本発明は、前記クロマトグラフィーカラム(101)をクロマトグラフィー媒体で充填した後に、前記スラリーバルブの一方のもしくは双方のスラリーバルブの開口1および開口2を経由してクリーニング溶液を通すことをさらに含む。

40

また、上記いずれかに記載の本発明は、清浄な液体を前記一方のスラリーバルブの開口1を経由して前記クロマトグラフィーカラム(101)に導入し、クロマトグラフィーカラム(101)から再スラリー化したクロマトグラフィー媒体を前記他方のスラリーバルブの開口2から除去することをさらに含む。

また、本発明のクロマトグラフィーカラム系は、クロマトグラフィーカラム(101)およびスラリー容器(102)；前記クロマトグラフィー媒体を含むスラリー(104)を前記スラリー容器から前記クロマトグラフィーカラム(101)にポンプ送りして前記クロマトグラフィーカラムに充填するために配置されたポンプ装置(110、124)；お

50

よび充填時の過剰の流体排出液を前記クロマトグラフィーカラムから前記スラリー容器に輸送するよう配置された輸送装置、並びに前記クロマトグラフィーカラム（１０１）を通さずに前記スラリー容器から前記スラリーを循環し前記スラリー容器に還流させるよう動作可能なポンプ装置を有するクロマトグラフィーカラム系である。

【００２０】

前記クロマトグラフィー媒体および標的成分を含む前記液体成分を容器に導入し、混合物を容器から出し入れして循環させることで、スラリーを形成することができる。これは、クロマトグラフィー媒体が流体中の成分と接触し吸着が起こる自給式バッチ吸着操作を提供するものである。次に、スラリーをクロマトグラフィーカラム中にポンプ送りして、カラム充填を行う。前記成分のその後の回収は、選択されるクロマトグラフィー手順によって行うことができる。

10

【００２１】

（図面の簡単な説明）

本発明についての理解を深めるため、単に例示として添付の図面を参照しながら、以下に説明を行う。

【００２２】

図１は、スラリーバルブを含む先行技術のクロマトグラフィーカラムの断面図である。

【００２３】

図２は、図１先行技術のスラリーバルブの長手方向断面図である。

【００２４】

20

図３は、スラリーバルブが運転位置にある P C T / G B 9 7 / 0 2 9 4 3 のクロマトグラフィーカラムの長手方向断面図である。

【００２５】

図４は、スラリーバルブが充填物排出／充填位置にある図３のクロマトグラフィーカラムの長手方向断面図である。

【００２６】

図５は、本発明の方法を実施することができる本発明のクロマトグラフィー系の模式図である。

【００２７】

（発明の詳細な説明）

30

図面について説明すると、図３には、２個のスラリーバルブを取り付けたクロマトグラフィーカラムを示してある。このカラムは、上側調整式セルアセンブリ、好ましくはステンレス製の中空円柱状筐体ならびに下側固定セルアセンブリから構成されている。いずれのセルアセンブリも、中央に位置するスラリーバルブを有する。本発明はその範囲内に、調整式セルアセンブリがカラム底部にあり、固定セルアセンブリが頂部にある実施態様を含むものである。

【００２８】

中央スラリー注入／排出バルブ１１の詳細は、図３および図４を参照することで理解できる。これらのバルブは、３つの開口と連通する中央内腔１５を持つ筐体を有する。固定長手方向部材１８が中央内腔１５内にあり、それ自体がスラリー供給配管３０として機能する中央管腔を有する。スラリー供給配管３０は一方の端で開口１と連通し、他方の端で放射方向に配置された通路２０を介してカラム内部と連通している。長手方向部材は、常時カラム内に延在しているドーム形ヘッド１７に終端を有する。長手方向部材１８は、以下に詳細に説明するバルブスリーブ７を封止的に引き込むよう直径が小さくなっている環状部分１９を有する。

40

【００２９】

各バルブ１１の３つの開口は次のように用いられる。開口１は、スラリーをスラリー供給配管３０からカラム中にポンプ送りし、充填物排出時にカラム中へ液体をポンプ送りして再スラリー化するためのものであり；開口２は、充填物排出時に再スラリー化ゲルを除去するためのものであり；移動相用の注入口および排出口である開口３は、分配セル６と直

50

接、しかもそのセルとのみ連通している。

【0030】

開口1および2は、中央内腔15内にスライド式に位置している環状バルブスリーブ7によって、カラムから閉じることができる。バルブスリーブ7には、断面がL字である上側部分7aがある。上側部分7aには、ピン4'が嵌入されて図4に示したようにバルブスリーブ7をその立上り位置にロックするためのピンホール4がある。バルブスリーブ7にはさらに、環状下側部分7bもある。下側部分7bの底部端には、運転位置にあるヘッド17に当接して封止するよう調節された環状リップ24がある(図3)。環状リップ24および長手方向部材18の寸法は、リップ24と長手方向部材18の間の封止が破壊されると長手方向部材の環状短径部分19とともに間隙が生じることで、スリーブ7と環状リ
10
ップ24の間の封止が破壊されるのと同時に中央内腔15とカラム内部への通路9との間に流体の連通ができるようなものとなっている。バルブスリーブ7は、例えば手動、電動、油圧式または好ましくは空気式などの好適な手段によって動かすことができる。

【0031】

この先行技術バルブではスリーブ7は、2個の空気開口22および23のいずれかから圧縮空気を送り込むことで軸方向に駆動する。

【0032】

詳細にはスリーブ7は、バルブ本体の円柱壁部分25内でスライド可能な外方向に延びるランド部24'と開口2の真上の同じ軸位置にある内方向に延びるランド部26および外方向に延びるランド部27を有することで、外方向に延びるランド部27がバルブ本体の
20
同じ円柱表面25に沿ってスライドし、内方向に延びるランド部26がバルブの固定本体18の上側部分の円柱状外部に沿ってスライドするようになっている。

【0033】

スリーブ7のランド部24'の下で、バルブ筐体は内側に延びるランド31を有しており、これは、所定位置に固定され、これが可動バルブスリーブ7上のランド24と共に中央内腔の流体圧力チャンバ部分28を規定しており、他の部分とは分離されたチャンバ部分29に、第3の開口部3が開口し分配セル6と連通している。

【0034】

そうして内側空気開口22は、スリーブ7の引き込み(それを図3の位置から相対的に上側に移動)のためのランド部24の下にある封止空間28に圧力を加える手段を提供する
30
。同様に、圧縮空気を外側空気開口23に加えることで、対を形成しているランド部26および27の上に圧力がかかり、スリーブ7が軸方向内側に駆動される(図4の位置から下方向)。このようにして、スリーブの軸方向の動きを行うことができる。

【0035】

しかしながらこの空気駆動によるスリーブ7の軸方向移動によって、それが2つの異なる位置の一方を占有するようになることが必要であり、これらの位置は、バルブスリーブ7の穴4と共動するピン4'によって決まる。

【0036】

図4には、スリーブ7を図4の位置まで上方向に引き込むことでヘッド17のノズル20が露出して、固定長手方向部材18のヘッド17からスラリーを放出することができる「
40
充填」位置を示してある。この位置ではピン4'は引き込まれていなければならない。アクチュエータ8によって駆動されるピン4'が再度穴4中に延長したことを明瞭に確認することで、スリーブが「充填」位置にあることを裏付けるフィードバックを行うことができる。このアクチュエータ8におけるピン4'の位置決めは、アクチュエータのリードスイッチ8'によって確認する。

【0037】

バルブ開口3を分配セル6のフィルターメッシュによって床中の媒体のみに対して開放させるため、バルブスリーブ7を「運転」位置まで延ばす場合、ピン4'を引き込ませて、スリーブ7を下方に降下させて図3の位置まで到達させる必要がある。次にピン4'をアクチュエータ8によって駆動させて、バルブスリーブ7の上側リム上に延長させることで
50

、それを「運転」（図 3）位置に確実に保持する。バルブ位置の明確なフィードバック確認は、やはりリードスイッチ 8' を用いてピン 4' が延長していることを確認することで行う。

【0038】

最後にバルブスリーブ 7 を、やはり図 4 に示した「充填物排出」位置まで完全に引き込む場合、それを図 4 に示したような完全立ち上がり位置に到達させ、そうしてピン 4' をその穴 4 に嵌合させて、リードスイッチ 8' による明確なフィードバックチェック動作によって、ピン 4' が前に出ていることを確認する。

【0039】

図 4 の「充填物排出／充填」位置が選択された時に、アクチュエータ 8 を付勢する空気制御システムによってピン 4' が前に出ていることが検出されない場合は、誤作動が示されて、バルブが完全には開いていないことがわかる。同様に、図 3 の位置でピン 4' が完全に延びた状態となっていない場合もやはり、誤作動が示されて、スリーブが図 3 の「運転」位置まで下がっていないことがわかる。

【0040】

このようにバルブは確実に上方および下方に駆動され、その位置は、この二つの位置において、アクチュエータ 8 によって駆動されるピン 4' によって明瞭に規定され、前記アクチュエータのリードスイッチ 8' によって確認される。

【0041】

さらに、前記バルブ部材は、固定長手方向部材 18 周囲にあるバルブスリーブの内向きランド部 26 に対して下方に圧力をかける適宜の螺旋形圧縮バネ 9 によって軸方向に偏っていても良い（この場合、図 4 にみられるとおりの下方向）。そこで、充填後または保存のために空気制御回路から空気供給 10 を遮断した場合のデフォルト位置は、「運転」の図 3 の位置であり、開口 1 および 2 はカラムから閉じられている。これは、空気開口 23 の空気圧と適宜にバネ 9 の力とによってバルブスリーブ 7 が閉位置とされる場合に生じる（図 3）。上記で示したように、軸方向の力とスリーブ頂部の上に延びている空気式アクチュエータ 8 のロックピン 4' の両方によって、バルブスリーブ 7 は閉位置に保持される。これはスリーブ 7 が、不注意であるいはカラムでの操作圧のために開くのを防止する。当業者であれば、空気駆動バルブスリーブの説明は単に説明を目的としたものであって、添付の特許請求の範囲が、自動化された電氣的な空気バルブの開および／または閉ならびにバルブスリーブ 7 の位置への手動調節の両方を含むバルブ動作を駆動する全ての手段を包含するものであることは明らかであろう。

【0042】

アクチュエータ 8 を動作させるための空気制御回路は当業者には容易に理解できるものであり、本明細書には詳細には記載していない。

【0043】

注入／排出スラリーバルブ 11 の代表的な操作は次の通りである。図 4 に示した充填物排出位置から開始して、下方スラリーバルブ 11 は図 4 に示した位置と同じ位置にある。開口 2 は、できれば、公知の圧抜き装置 V によって装置に対して外部で分離されている。この位置では、開口 1 および 2 の両方がカラム内部と連通している。

【0044】

充填操作時に開口 2 とインーラインで圧抜き装置を設けることで、誤操作があった場合に、カラム 6 を放出する手段が得られる。

【0045】

次に、上側スラリーバルブ 11 を「運転」位置としなければならない（図 3 の位置）。それには、アクチュエータ 8 によってピン 4' を穴 4 から抜き出して、外側空気開口 23 への空気圧によって、図 3 の位置となるまでスリーブをさらに前進駆動させるようにする必要がある。次に、この位置でアクチュエータ 8 を動作させてピン 4' を前進させることで、それがバルブスリーブ 7 の軸方向外側リムの真上に配置され、図 3 位置からの引き込みに対してスリーブを保持する。

10

20

30

40

50

【0046】

この位置では、環状リップ24がヘッド17に対し封止することから、開口1および2がカラム6から閉じられる。スラリーは、例えばポンプによって、底スラリーバルブ11の開口1およびスラリー供給配管30を通してカラム内に供給される。クロマトグラフィー媒体は、調整式セルアセンブリ13の分配セル6によってカラム内に保持され、クロマトグラフィー媒体とともにスラリーを形成する空気および液体は、最初にカラムの空気を除去するまで頂部バルブ11の開口2から流出させ、次に上側スラリーバルブ11の開口3から除去される。

【0047】

クロマトグラフィー媒体14のカラムへの充填が完了すると、空気制御回路は下側スラリーバルブ11のバルブスリーブ7を、上側バルブ11について説明した通りの形で閉／運転位置（図3）に置き、それによって開口1および2はカラムから閉じられる。これによって、開口1から開口2まで、スラリー供給配管30および中央内腔15を通る流路が形成され、それを通してクリーニング溶液を例えばポンプによって供給して、インプレースで開口1、開口2およびスラリー供給配管30をクリーニングすることができる。このクリーニング操作は、分離すべき液体の処理と同時に行って、スラリー供給配管30での残留クロマトグラフィー媒体14の沈降や硬化を防止することができる。このクリーニング操作は、スラリーバルブを閉／運転位置に設定したら自動的に行われるようにして、オペレータの便宜を図ることができる。

【0048】

こうしてクロマトグラフィーカラムは、対象の混合物を分離する準備が整う。分離すべき混合物（移動相）は、例えばポンプ（不図示）によって、上側もしくは底スラリーバルブ11のいずれかの開口3を通り、分配セル6からカラム内に供給され、クロマトグラフィー媒体14を通過し、他方のスラリーバルブ11の開口3から排出される。

【0049】

対象混合物が分離されたら、あるいは他の何らかの理由でクロマトグラフィー媒体14の再スラリー化と除去が必要もしくは望ましくなった場合は、上側スラリーバルブ11および底スラリーバルブ11を充填物排出位置（図4）とし、その位置ではピン4'はピン穴4に嵌合されている。これによってバルブスリーブの底部分7bは完全に引き込まれた状態となり、カラム内部と中央内腔15との間の連通が可能となる。この充填物排出位置は、運転位置から、最初にアクチュエータ8を動作させてピン4'を穴4から引き込み、次に内側空気開口22に圧力を加えて、スリーブ7が完全に引き込まれた行程の終端位置に達するまでバルブスリーブ7を引き込むことで（さらには、そうすることで適宜のパネ9のパネ力に勝る）達成される。この時点でアクチュエータ21を動作させて、ピン4'をスリーブの穴4内に進入させることができる。ピンが進入した場合にのみ、リードスイッチ8'からの明瞭なフィードバック信号が得られる。

【0050】

最初に底スラリーバルブ11の開口1から、清浄な液体をカラム中に（例えばポンプによって）導入し、それによってクロマトグラフィー媒体14を再スラリー化して、底スラリーバルブの開口2から除去する。開口2によるクロマトグラフィー媒体スラリーの除去は第2のポンプ（不図示）によって支援することができ、その場合に上側スラリーバルブ11は充填物排出位置に置かれる。次に、清浄な液を頂部バルブの開口1から導入されるように切り換える。その効果は、頂部バルブ付近からおよび底バルブ付近からの充填クロマトグラフィー媒体の中核部分を洗い出すことにある。適宜であるが別の充填物排出方法は、下側分配セル6のフィルターメッシュから逆に流すことによって、媒体（ゲル）を流動化して、カラムからのスラリー排出を助けるというものである。

【0051】

短時間の後、カラムから洗い出した希スラリーを清浄液体に代えて頂部バルブの開口1に循環させることで、必要な清浄液体の量を減らすことができる。

【0052】

清浄液体または消毒剤を、カラムの最終洗浄に用いることができる。上側および底部の両方のセルアセンブリでスラリーバルブ 11 を使用することで、カラムの頂部または底部からのクロマトグラフィー媒体の充填および除去が容易となる。上側および底部の両方のセルアセンブリ上でスラリーバルブを用いることの別の利点は、混合物を上から底または底から上の流路で分離できるという点である。スラリーまたは新鮮な緩衝液を妥当に用いることで、カラム内容物を再スラリー化し、ゲルのカラムを空とする上で必要な液体の容量を低減することができる。好ましい実施態様での 2 個のバルブの使用は、バルブの多様な使用の多くを示すことを目的としたものであって、限定するものではないことは明らかである。当業者であれば、上側または底のいずれかのセルアセンブリ上で 1 個のみのスラリーバルブを用いることが可能であることは理解できよう。ただし、性能の選択肢は比較的に限られたものとなると考えられる。本発明の精神を逸脱しないそのような変更は全て、添付の特許請求の範囲に含まれるものである。

10

【0053】

以上、バルブのクリーニング性について特に述べてきた。ホース連結のタイプ、材料選択および仕上げ、封止法ならびにクリーン・イン・プレース（C I P）の方法に対して衛生設計を適用している。運転位置にある場合に（図 3）バルブのクリーン・イン・プレースを行うことで、浄化されない表面が残らないようにすることができる。シール 21 について使用される形状、位置、数および材料が特に重要である。好適な材料には、E P D M、P T F E または封止材料用の複合材料などがある。

【0054】

20

開口 2 および 1 を通る内部通路のクリーン・イン・プレースを行ったら、バルブに空気を吹き込むか、あるいはバルブを液体で満たした状態に放置することができ、空気駆動およびスラリースプロセス配管の連結を全て外すことができる。これによって、スラリーをカラムから出し入れするための装置（station）に取り付けることなく、運転図 3 位置でカラムの保存または動作を行うことが可能となる。

【0055】

空気制御回路によって、バルブスリーブ 7 の 3 つの位置のそれぞれに対する明瞭なロック位置とそれらの位置の明瞭なフィードバック確認が得られる。空気制御回路上に位置インジケータを使用することで、スリーブ位置の明瞭なフィードバックを得て、オペレータに確認情報を与えることができる。好ましい実施態様ではそれに対して 1 個のインジケータを用いるが、当業者であれば容易に理解できるように、複数のインジケータを用いることができる。

30

【0056】

図 5 について説明すると、クロマトグラフィーカラム系 100 には、図 1、3 および 4 を参照して述べたとおりクロマトグラフィーカラム 101 があり、開口 1 および 2 について言及した図 3 および 4 に示したように頂部および底部バルブがある。

【0057】

スラリー容器 102 には、部分的にスラリー 104 が充填されている。スラリー容器 102 の底部からの排出パイプ 106 は、T 分岐 108 につながっており、パイプ 113 を介して、充填ポンプ 110 および 3 口バルブ 112 への注入口となっている。

40

【0058】

充填ポンプ 110 の排出口は、パイプ 116 によって 3 口バルブ 114 に、そこからパイプ 118 によってクロマトグラフィーカラム 101 の底部のバルブの開口 1 に連結されている。3 口バルブ 112 はさらに、クロマトグラフィーカラム 101 の底部のバルブの開口 2 につながったパイプ 120 にもつながっており、パイプ 122 によって循環ポンプ 124 にもつながっている。そのポンプの排出口はパイプ 126 につながっていることから、パイプ 128 を介してスラリー容器 102 につながっている。

【0059】

クロマトグラフィーカラム 101 の上側開口 3 は、パイプ 130 によってパイプ 128 につながっている。クロマトグラフィーカラム 101 の上側開口 1 は、パイプ 132 によ

50

て3方バルブ114につながっている。

【0060】

クロマトグラフィー系100は次のように動作する。最初の適宜の段階として、標的分子を含む流体混合物およびクロマトグラフィー媒体を含む懸濁液104をスラリー容器102中に導入する。バルブ112を動作させて、パイプ113と122をつなぎ、ポンプ124を始動することで、パイプ106、113、122、126および128を介してスラリー容器から媒体を出入りさせて循環させて、スラリー104を得る。

【0061】

標的分子とクロマトグラフィー媒体の十分な吸着が起こったら、得られたスラリーはクロマトグラフィーカラム101に通してカラム101を充填して、クロマトグラフィー媒体をカラムに充填する準備が整う。

10

【0062】

次にバルブ112を閉じ、バルブ114を開けて、パイプ116および118を連結させる。ここでポンプ110を運転させると、スラリーが下側開口1からクロマトグラフィーカラム101の底部にポンプ送りされる。

【0063】

そのようなカラムの公知の充填方法では、スラリー104をカラム101に注入し、カラム110がスラリー104で満たされると、過剰の流体は上側床支持部および上側バルブアセンブリのプロセス開口3（図3および4のもの）を通して排出され、吸着された分子を有する粒子は頂部床支持部に保持される。このプロセスが進むと、充填床が頂部焼結物に対して形成され、排出流量がゼロまで低下すると、すなわちカラム内の圧力がポンプについて設定された圧力と等しくなると充填が完了する。この排出液は廃棄のためあるいは充填物排出プロセス時に使用するため液体容器に送られる。留意すべき点として、充填処理中スラリー濃度は一定に維持する。吸着分子を有する全ての媒体粒子がカラム内に充填されるようにする本発明の方法は以下の通りである。

20

【0064】

充填時に上側開口3を開けて、過剰の流体を、他の保存容器用の廃液容器にではなく、パイプ130および128を通してスラリー容器102に還流する。これによって、全ての粒子がカラム内に保持されるまで、充填が進行するに連れてスラリー104中で媒体粒子が希釈される。

30

【0065】

クロマトグラフィー媒体の容器への添加はカラムが充填されるまで徐々に行うことで、充填カラムを得るのに用いられる媒体の量を節減することができる。過剰流体を容器102に還流することは、充填処理中のスラリーの沈降を防止する上でも役立つ。

【0066】

本発明の系および方法の実施態様の利点の一部を以下のようにまとめることができる。

【0067】

a) 流体循環ループを用いて低剪断環境でしかも連続攪拌を行い、電動機械を用いることなく、クロマトグラフィー媒体と標的分子とを回分的に接触させることができる。

【0068】

b) プロセスの接触段階および充填期における完全な封じ込め。

40

【0069】

c) 前記の系および方法は既存の技術に基づいたものであり、封じ込めおよびカラム構成部品の手動操作排除という利点を有する方法によって、カラム内に充填床を形成することができる。

【0070】

d) 有効な充填床を形成するのに要する時間が短縮され、それは生体材料が経時的なコンホメーション変化または生理活性喪失を受けやすいことから重要な点となり得る。プロセス時間短縮は、生成物活性喪失の防止に役立つ。

【図面の簡単な説明】

50

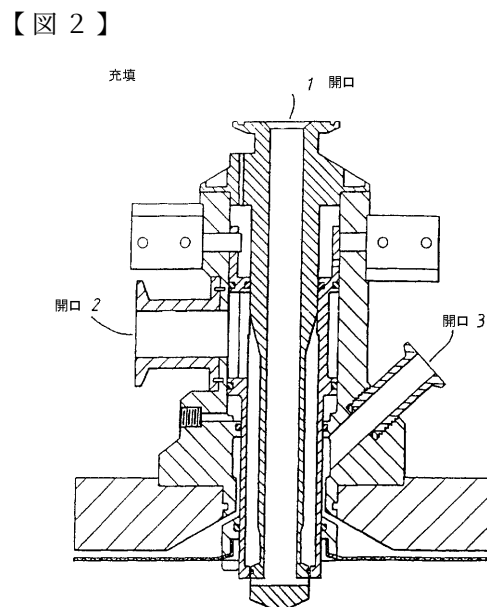
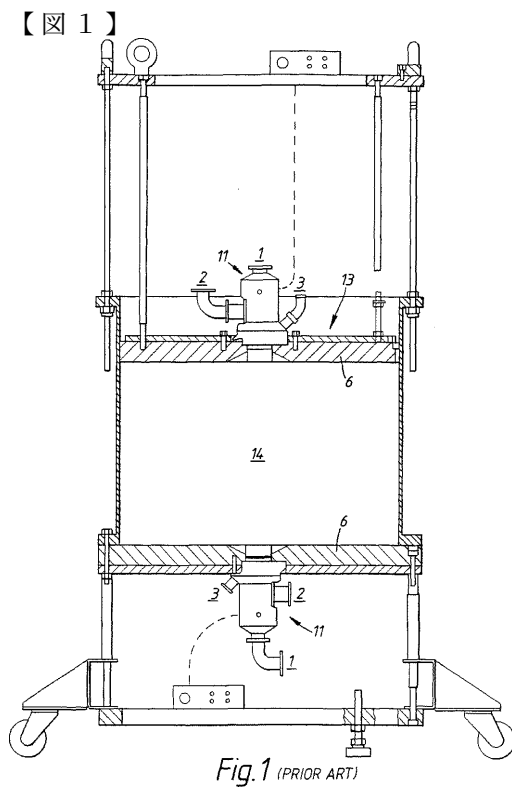
【図 1】 図 1 は、スラリーバルブを含む先行技術のクロマトグラフィーカラムの断面図である。

【図 2】 図 2 は、図 1 先行技術のスラリーバルブの長手方向断面図である。

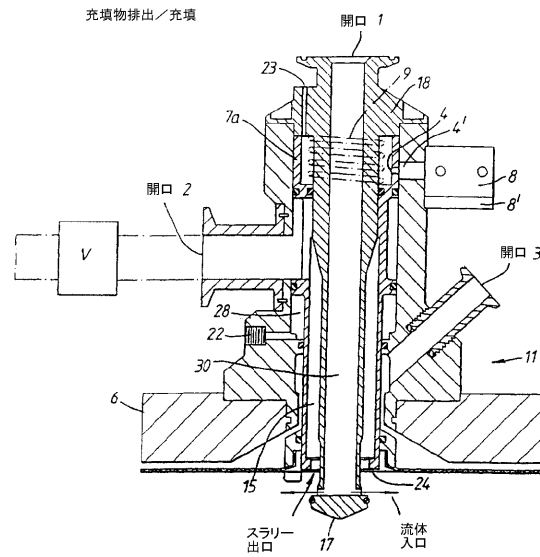
【図 3】 図 3 は、スラリーバルブが運転位置にある P C T / G B 9 7 / 0 2 9 4 3 のクロマトグラフィーカラムの長手方向断面図である。

【図 4】 図 4 は、スラリーバルブが充填物排出／充填位置にある図 3 のクロマトグラフィーカラムの長手方向断面図である。

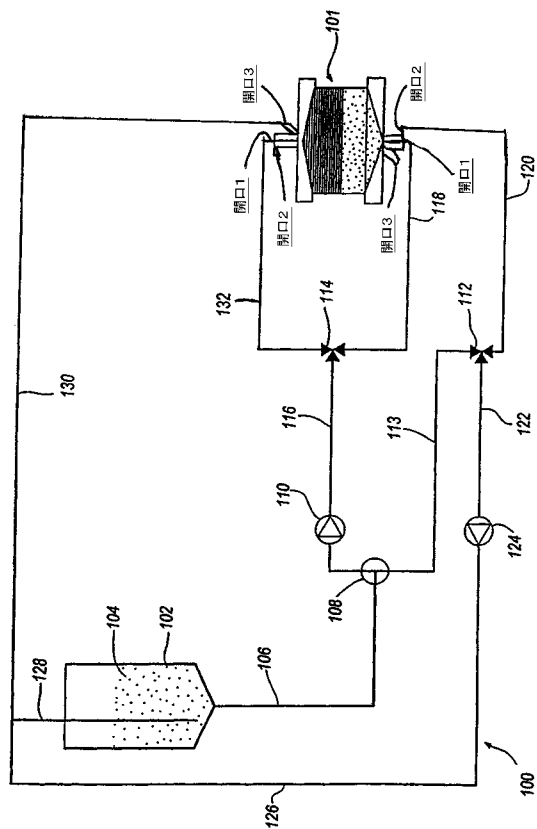
【図 5】 図 5 は、本発明の方法を実施することができる本発明のクロマトグラフィー系の模式図である。



【図 4】



【 図 5 】



フロントページの続き

(72)発明者 ディックソン、ニコロ ジェイン
イギリス国 ジーエル11 6ディーエックス グロスターシャー ノース ニブリー ハイラン
ズ ドライヴ 9

審査官 山村 様子

(56)参考文献 特開平05-157744 (JP, A)
特開平08-094604 (JP, A)

(58)調査した分野(Int.Cl.⁷, DB名)
G01N 30/56
B01D 15/08