

(19) 日本国特許庁(JP)

## (12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2016-517341

(P2016-517341A)

(43) 公表日 平成28年6月16日(2016.6.16)

(51) Int.Cl.	F 1				テーマコード (参考)
<b>B01J 20/281</b> (2006.01)	B01J	20/26	L	4B024	
<b>G01N 30/88</b> (2006.01)	G01N	30/88	201G	4B063	
<b>B01J 20/26</b> (2006.01)	B01J	20/26	H	4D017	
<b>B01J 20/28</b> (2006.01)	B01J	20/28	A	4G066	
<b>B01D 15/04</b> (2006.01)	B01D	15/04		4H045	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 50 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2015-562384 (P2015-562384)	(71) 出願人	510212764 ナトリックス セパレイションズ インコ ーポレーテッド カナダ国 エルフエル 6エー8 オンタ リオ州、バーリントン、ユニット 6、ジ ョン ルーカス ドライブ 5295
(86) (22) 出願日	平成26年3月7日 (2014.3.7)	(74) 代理人	100091096 弁理士 平木 祐輔
(85) 翻訳文提出日	平成27年10月27日 (2015.10.27)	(74) 代理人	100118773 弁理士 藤田 節
(86) 國際出願番号	PCT/IB2014/001022	(74) 代理人	100122389 弁理士 新井 栄一
(87) 國際公開番号	W02014/140860	(74) 代理人	100111741 弁理士 田中 夏夫
(87) 國際公開日	平成26年9月18日 (2014.9.18)		
(31) 優先権主張番号	61/781,321		
(32) 優先日	平成25年3月14日 (2013.3.14)		
(33) 優先権主張国	米国(US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】腐食条件下で安定しているクロマトグラフィー膜

## (57) 【要約】

複合材料、及びそれをクロマトグラフィーに用いる方法が開示される。複合材料は、結合能、流束又は回収率などの性能特性を、腐食条件(例えば24時間にわたる1MのNaOH)下において保持する。ある実施形態において、複合材料又は膜は、支持部材を貫いて伸びている複数の孔と、架橋ゲルとを含む、支持部材を含む。重要なことに、架橋剤及びモノマーは骨格エステル結合(backbone ester linkages)を含有しない。複合材料は、生物学的分子又は生物学的イオンの分離又は精製において用いられ得る。

【選択図】なし

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項1】

支持部材を貫いて伸びている複数の孔を含む支持部材と、モノマー及び架橋剤に由来するポリマーを含み、モノマーがエステル官能性を含まず、架橋剤がエステル官能性を含まない、架橋ゲルとを含み、

架橋ゲルが支持部材の孔中に位置する、複合材料。

## 【請求項2】

架橋ゲルがマクロ多孔性である、請求項1に記載の複合材料。

## 【請求項3】

モノマーがアクリル酸、アクリルアミド、N-アクリルオキシスクシンイミド、N,N-ジエチルアクリルアミド、N,N-ジメチルアクリルアミド、N-[3-(N,N-ジメチルアミノ)プロピル]メタクリルアミド、N,N-ジメチルアクリルアミド、メタクリルアミド、N-イソプロピルアクリルアミド、スチレン、4-ビニルピリジン、ビニルスルホン酸、N-ビニル-2-ビロリジノン(VP)、アクリルアミド-2-メチル-1-プロパンスルホン酸、N-(ヒドロキシメチル)アクリルアミド、N-(イソブトキシメチル)アクリルアミド、N-(ヒドロキシエチル)アクリルアミド、N-(3-メトキシプロピル)アクリルアミド、2-アクリルアミドグリコール酸、N-ビニルホルムアミド、N-[トリス(ヒドロキシメチル)メチル]アクリルアミド、3-アクリロイルアミノ-1-プロパノール、スチレンスルホン酸、(3-アクリルアミドプロピル)トリメチルアンモニウムハロゲン化物、ジアリルジメチルアンモニウムハロゲン化物、4-ビニル-N-メチルピリジニウムハロゲン化物、ビニルベンジル-N-トリメチルアンモニウムハロゲン化物、メタクリルオキシエチルトリメチルアンモニウムハロゲン化物、N-アクリルアミドポリエチレンイミン、N-メタクリルアミドポリエチレンイミン、N-アクリルアミド4鎖アミン末端ポリ(エチレンオキシド)、N-メタクリルアミド4鎖アミン末端ポリ(エチレンオキシド)、N-アクリルアミドトリメチロールプロパントリス[ポリ(プロピレングリコール)アミン末端]エーテル、N-メタクリルアミドトリメチロールプロパントリス[ポリ(プロピレングリコール)アミン末端]エーテル、N-アクリルアミドアミン末端ポリ(N-イソプロピルアクリルアミド)、N-メタクリルアミドアミン末端ポリ(N-イソプロピルアクリルアミド)、N-アクリルアミドポリ-L-アルギニンヒドロクロリド、N-メタクリルアミドポリ-L-アルギニンヒドロクロリド、N-アクリルアミドポリ(エチレングリコール)ビス(アミン)、N-メタクリルアミドポリ(エチレングリコール)ビス(アミン)、N-アクリルアミドポリ(アリルアミンヒドロクロリド)、N-メタクリルアミドポリ(アリルアミンヒドロクロリド)、N-アクリルアミドポリ(ジメチルアミン-co-エピクロロヒドリン-co-エチレンジアンミン)、N-メタクリルアミドポリ(ジメチルアミン-co-エピクロロヒドリン-co-エチレンジアンミン)、又はジアセトンアクリルアミドである、請求項1又は2に記載の複合材料。

## 【請求項4】

モノマーがアミン含有化合物及びアクリロイルクロリド、3-エトキシアクリロイルクロリド、4-メトキシシンナモイルクロリド、又は3-アクリロイル-1,3-オキサゾリジン-2-オノンに由来する、請求項1又は2に記載の複合材料。ある実施形態において、アミン含有化合物はポリエチレンイミン、4鎖アミン末端ポリ(エチレンオキシド)、トリメチロールプロパントリス[ポリ(プロピレングリコール)アミン末端]エーテル、アミン末端ポリ(N-イソプロピルアクリルアミド)、ポリ-L-アルギニンヒドロクロリド、ポリ(エチレングリコール)ビス(アミン)、ポリ(アリルアミンヒドロクロリド)、又はポリ(ジメチルアミン-co-エピクロロヒドリン-co-エチレンジアンミン)である。

## 【請求項5】

モノマーがN,N-ジエチルアクリルアミド、N,N-ジメチルアクリルアミド、N-イソプロピルアクリルアミド、アクリルアミド-2-メチル-1-プロパンスルホン酸、N-(ヒドロキシメチル)アクリルアミド、N-(イソブトキシメチル)アクリルアミド、N-(ヒドロキシエチル)アクリルアミド、N-(3-メトキシプロピル)アクリルアミド、2-アクリルアミドグリコール酸、N-ビニルホルムアミド、N-[トリス(ヒドロキシメチル)メチル]アクリルアミド、3-ア

10

20

30

40

50

クリロイルアミノ-1-プロパノール、又はジアセトンアクリルアミドである、請求項1又は2に記載の複合材料。

**【請求項6】**

架橋ゲルが2以上のモノマー及び架橋剤に由来するポリマーを含み、モノマーがいずれもエステル官能性を含まない、請求項1から5のいずれか一項に記載の複合材料。

**【請求項7】**

架橋剤が、ビスアクリルアミド酢酸、2,2-ビス[4-(2-アクリルオキシエトキシ)フェニル]プロパン、2,2-ビス(4-メタクリルオキシフェニル)プロパン、1,4-ブタンジオールジビニルエーテル、1,4-ジアクリロイルピペラジン、ジアリルフタレート、N,N-ドデカメチレンビスアクリルアミド、ジビニルベンゼン、グリセロールトリス(アクリルオキシプロピル)エーテル、N,N'-ヘキサメチレンビスアクリルアミド、トリエチレングリコールジビニルエーテル、ジアリルジグリコールカーボネット、ポリ(エチレングリコール)ジビニルエーテル、N,N'-ジメタクリロイルピペラジン、ジビニルグリコール、N,N'-メチレンビスアクリルアミド、N,N'-エチレンビス(アクリルアミド)、N,N'-(1,2-ジヒドロキシエチレン)ビス-アクリルアミド、N,N'-ヘキサメチレンビス(メタクリルアミド)、N,N'-オクタメチレンビスアクリルアミド、N,N'-ジメタクリロイルピペラジン、1,3,5-トリアクリロイルヘキサヒドロ-1,3,5-トリアジン、及びジビニルベンゼンからなる群から選択される、請求項1から6のいずれか一項に記載の複合材料。

10

**【請求項8】**

架橋剤がN,N'-メチレンビスアクリルアミド、N,N'-ヘキサメチレンビス(メタクリルアミド)、1,3,5-トリアクリロイルヘキサヒドロ-1,3,5-トリアジン、又はジビニルベンゼンである、請求項1から6のいずれか一項に記載の複合材料。

20

**【請求項9】**

複合材料が膜である、請求項1から8のいずれか一項に記載の複合材料。

**【請求項10】**

支持部材が空隙容積を有し、支持部材の空隙容積はマクロ多孔性架橋ゲルで実質的に充填される、請求項1から9のいずれか一項に記載の複合材料。

**【請求項11】**

支持部材の厚さが約10 μmから約1000 μmである、請求項1から10のいずれか一項に記載の複合材料。

30

**【請求項12】**

支持部材がポリオレフィンを含む、請求項1から11のいずれか一項に記載の複合材料。

**【請求項13】**

支持部材がポリスルホン、ポリエーテルスルホン、ポリフェニレンオキシド、ポリカーボネット、ポリエステル、セルロース及びセルロース誘導体からなる群から選択されるポリマー材料を含む、請求項1から11のいずれか一項に記載の複合材料。

**【請求項14】**

第1の流速で、物質を含む第1の流体を請求項1から13のいずれか一項に記載の複合材料と接触させ、それによって物質の一部分を複合材料上に吸着又は吸収させるステップを含む方法。

40

**【請求項15】**

第1の流体が、断片化した抗体、凝集した抗体、宿主細胞タンパク質、ポリヌクレオチド、内毒素、又はウイルスをさらに含む、請求項14に記載の方法。

**【請求項16】**

第1の流体の流体流路が複合材料のマクロ孔を実質的に通る、請求項14又は15に記載の方法。

**【請求項17】**

第2の流速で、第2の流体を、複合材料上に吸着又は吸収されている物質と接触させ、それによって物質の第1の部分を複合材料から放出するステップをさらに含む、請求項14から16のいずれか一項に記載の方法。

50

**【請求項 18】**

第2の流体の流体流路が複合材料のマクロ孔を実質的に通る、請求項17に記載の方法。

**【請求項 19】**

物質が生物学的分子又は生物学的イオンである、請求項14から18のいずれか一項に記載の方法。

**【請求項 20】**

生物学的分子又は生物学的イオンが、アルブミン、リゾチーム、ウイルス、細胞、ヒト及び動物起源の - グロブリン、ヒト及び動物起源の免疫グロブリン、組換え及び天然起源のタンパク質、合成及び天然起源のポリペプチド、インターロイキン-2及びその受容体、酵素、モノクローナル抗体、トリプシン及びその阻害物質、チトクロームC、ミオグロビン、ミオグロブリン、 - キモトリプシノーゲン、組換えヒトイントロイキン、組換え融合タンパク質、核酸由来生成物、合成及び天然起源のDNA、並びに合成及び天然起源のRNAからなる群から選択される、請求項19に記載の方法。

10

**【請求項 21】**

生物学的分子又は生物学的イオンが、リゾチーム、hIgG、ミオグロビン、ヒト血清アルブミン、ダイズトリプシン阻害物質、トランスファーリング(transferring)、エノラーゼ、オバルブミン、リボヌクレアーゼ、卵トリプシン阻害物質、チトクロームC、アネキシンV、又は - キモトリプシノーゲンである、請求項19に記載の方法。

20

**【請求項 22】**

第1の流体がバッファーである、請求項14から21のいずれか一項に記載の方法。

**【請求項 23】**

第1の流体中の物質濃度が約0.2mg/mLから約10mg/mLである、請求項14から22のいずれか一項に記載の方法。

**【請求項 24】**

複合材料を洗浄するステップと、  
前記ステップを繰り返すステップと  
をさらに含む、請求項14から23のいずれか一項に記載の方法。

**【請求項 25】**

複合材料が塩基性溶液で洗浄される、請求項24に記載の方法。

30

**【請求項 26】**

複合材料が第4の流体で洗浄され、第4の流体が水酸化ナトリウムを含む、請求項24に記載の方法。

**【請求項 27】**

物質及び不要材料を含む第1の流体を請求項1から13のいずれか一項に記載の複合材料と第1の流速で接触させ、それによって不要材料の一部分を複合材料上に吸着又は吸収させるステップを含む方法。

**【請求項 28】**

不要材料が、断片化した抗体、凝集した抗体、宿主細胞タンパク質、ポリヌクレオチド、内毒素、又はウイルスを含む、請求項27に記載の方法。

40

**【請求項 29】**

第1の流体の流体流路が複合材料のマクロ孔を実質的に通る、請求項27又は28に記載の方法。

**【請求項 30】**

物質が生物学的分子又は生物学的イオンである、請求項27から29のいずれか一項に記載の方法。

**【請求項 31】**

生物学的分子又は生物学的イオンが、アルブミン、リゾチーム、ウイルス、細胞、ヒト及び動物起源の - グロブリン、ヒト及び動物起源の免疫グロブリン、組換え及び天然起源のタンパク質、合成及び天然起源のポリペプチド、インターロイキン-2及びその受容体、酵素、モノクローナル抗体、トリプシン及びその阻害物質、チトクロームC、ミオグロビン、ミオグロブリン、 - キモトリプシノーゲン、組換えヒトイントロイキン、組換え融合タンパク質、核酸由来生成物、合成及び天然起源のDNA、並びに合成及び天然起源のRNAからなる群から選択される、請求項19に記載の方法。

50

ビン、ミオグロブリン、 $\alpha$ -キモトリプシノーゲン、組換えヒトインターロイキン、組換え融合タンパク質、核酸由来生成物、合成及び天然起源のDNA、並びに合成及び天然起源のRNAからなる群から選択される、請求項30に記載の方法。

【請求項32】

生物学的分子又は生物学的イオンが、リゾチーム、hIgG、ミオグロビン、ヒト血清アルブミン、ダイズトリプシン阻害物質、トランスファーリング(transferring)、エノラーゼ、オバルブミン、リボヌクレアーゼ、卵トリプシン阻害物質、チトクロームC、アネキシンV、又は $\alpha$ -キモトリプシノーゲンである、請求項30に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願

本出願は、その内容が本明細書に組み入れられる、2013年3月14日出願の米国仮特許出願第61/781,321号の優先権の利益を主張するものである。

【背景技術】

【0002】

腐食洗浄溶液の使用は多数の医薬品製造業者及び加工業者における洗浄/消毒要件を満たすことから、如何なる分離媒体又はクロマトグラフィー媒体においても重要な特徴は、水酸化ナトリウム又は他のアルカリ金属水酸化物、若しくはアルカリ土類水酸化物を含有する溶液など、腐食溶液との適合性である。加えて、塩基性pH条件を含む広範な操作条件下において、分離媒体又はクロマトグラフィー媒体が有用であることも重要である。こうした条件下で有用な媒体は、様々な免疫学的生物学的分子についてのpIなど、固有の特性が変動する一定範囲の標的分子の分離に使用することができる。

【0003】

不運なことに、現在出回っているクロマトグラフィー膜は、塩基性溶液に曝露されると分解又は不可逆的変化を起こしやすいものが多い。その上、塩基に対する曝露の範囲(例:時間及び濃度)も次第に、膜のクロマトグラフィー性能を低下させる。特に、エステル結合を有するポリマーから作成された膜は、アルカリ加水分解を起こしやすい。アクリレートモノマーが塩基性条件下で加水分解されることは既知であり、またアクリレートモノマーから構築されたポリマーも塩基性溶液によって加水分解されやすいたと合理的に予想できる。この加水分解は、膜の構造的完全性及び化学的性質の両方を変えることになる。著しく加水分解された状態の膜は、変化した結合能及び透過性はもとより、浄化能力の低下も呈することになる。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0004】

塩基性条件に対する増進された安定性を示す、分離又はクロマトグラフィー媒体及び方法が必要とされている。これらの媒体はさらに、高い選択性及び高い流速を示し、低い背圧を示し、廉価であり、そしてカラムの長い耐用期間、短い処理時間及び総体的な操作柔軟性を可能にするものでなければならない。

【課題を解決するための手段】

【0005】

ある実施形態において、本発明は、  
支持部材を貫いて伸びている複数の孔を含む支持部材と、  
モノマー及び架橋剤に由来するポリマーを含み、モノマーがエステル官能性を含まず、  
架橋剤がエステル官能性を含まない、架橋ゲルと  
を含み、架橋ゲルが支持部材の孔中に位置する、複合材料に関する。

【0006】

ある実施形態において、本発明は、モノマーがアクリル酸、アクリルアミド、N-アクリルオキシスクシンイミド、N,N-ジエチルアクリルアミド、N,N-ジメチルアクリルアミド、

10

20

30

40

50

N-[3-(N,N-ジメチルアミノ)プロピル]メタクリルアミド、N,N-ジメチルアクリルアミド、メタクリルアミド、N-イソプロピルアクリルアミド、スチレン、4-ビニルピリジン、ビニルスルホン酸、N-ビニル-2-ピロリジノン(VP)、アクリルアミド-2-メチル-1-プロパンスルホン酸、N-(ヒドロキシメチル)アクリルアミド、N-(イソブトキシメチル)アクリルアミド、N-(ヒドロキシエチル)アクリルアミド、N-(3-メトキシプロピル)アクリルアミド、2-アクリルアミドグリコール酸、N-ビニルホルムアミド、N-[トリス(ヒドロキシメチル)メチル]アクリルアミド、3-アクリロイルアミノ-1-プロパノール、スチレンスルホン酸、(3-アクリルアミドプロピル)トリメチルアンモニウムハロゲン化物、ジアリルジメチルアンモニウムハロゲン化物、4-ビニル-N-メチルピリジニウムハロゲン化物、ビニルベンジル-N-トリメチルアンモニウムハロゲン化物、メタクリルオキシエチルトリメチルアンモニウムハロゲン化物、N-アクリルアミドポリエチレンイミン、N-メタクリルアミドポリエチレンイミン、N-アクリルアミド4鎖アミン末端ポリ(エチレンオキシド)、N-メタクリルアミド4鎖アミン末端ポリ(エチレンオキシド)、N-アクリルアミドトリメチロールプロパントリス[ポリ(プロピレングリコール)アミン末端]エーテル、N-メタクリルアミドトリメチロールプロパントリス[ポリ(プロピレングリコール)アミン末端]エーテル、N-アクリルアミドアミン末端ポリ(N-イソプロピルアクリルアミド)、N-メタクリルアミドアミン末端ポリ(N-イソプロピルアクリルアミド)、N-アクリルアミドポリ-L-アルギニンヒドロクロリド、N-メタクリルアミドポリ-L-アルギニンヒドロクロリド、N-アクリルアミドポリ(エチングリコール)ビス(アミン)、N-メタクリルアミドポリ(エチングリコール)ビス(アミン)、N-アクリルアミドポリ(アリルアミンヒドロクロリド)、N-メタクリルアミドポリ(アリルアミンヒドロクロリド)、N-アクリルアミドポリ(ジメチルアミン-co-エピクロロヒドリン-co-エチレンジアンミン)、N-メタクリルアミドポリ(ジメチルアミン-co-エピクロロヒドリン-co-エチレンジアンミン)、又はジアセトンアクリルアミドである、前述の複合材料のいずれか1つに関する。  
10

## 【0007】

ある実施形態において、本発明は、

第1の流速で、物質を含む第1の流体を前述の複合材料のいずれか1つと接触させ、それによって物質の一部分を複合材料上に吸着又は吸収させるステップを含む方法に関する。

## 【0008】

ある実施形態において、本発明は、

物質及び不要材料を含む第1の流体を前述の複合材料のいずれか1つと第1の流速で接触させることにより、不要材料の一部分を複合材料上に吸着又は吸収させるステップを含む方法に関する。

## 【図面の簡単な説明】

## 【0009】

【図1】配合A1-1のS膜の環境走査型電子顕微鏡(ESEM)画像を示す図である。

【図2】配合A1-4のS膜のESEM画像を示す図である。

【図3】配合A2-3のS膜のESEM画像を示す図である。

【図4】配合A2-9のS膜のESEM画像を示す図である。

【図5】配合A3-2のS膜のESEM画像を示す図である。

【図6】配合A3-5のS膜のESEM画像を示す図である。

【図7】配合B2のS膜のESEM画像を示す図である。

【図8】配合B3のS膜のESEM画像を示す図である。

【図9】配合C1-3のS膜のESEM画像を示す図である。

【図10】配合C1-4のS膜のESEM画像を示す図である。

【図11】配合D1のS膜のESEM画像を示す図である。

【図12】配合D3のS膜のESEM画像を示す図である。

【図13】アクリレート架橋剤を使用して作成されたS膜に関する腐食安定性評価結果を示す表である。

【図14】アクリレート架橋剤を使用して作成されたC膜(弱陽イオン交換)に関する腐食

10

20

20

30

40

50

安定性評価結果を示す表である。

【図15】溶媒系A1におけるAMPSモノマー及びBis架橋剤から作成された様々な膜の成分及び重量%を示す表である。

【図16】AMPSモノマー及びBis架橋剤から作成された膜に関する腐食安定性評価結果を示す表である。BC=結合能。

【図17】溶媒系A2におけるAMPSモノマー及びBis架橋剤から作成された様々な膜の成分及び重量%を示す表である。

【図18】AMPSモノマー及びBis架橋剤から作成された膜に関する腐食安定性評価結果を示す表である。BC=結合能。

【図19】溶媒系A3におけるAMPSモノマー及びBis架橋剤から作成された様々な膜の成分及び重量%を示す表である。

【図20】AMPSモノマー及びBis架橋剤から作成された膜に関する腐食安定性評価結果を示す表である。BC=結合能。

【図21】AMPSモノマー、Bis架橋剤及び追加のアクリルアミド架橋剤から作成された様々な膜の成分及び重量%を示す表である。

【図22】AMPSモノマー、Bis架橋剤及び追加のアクリルアミド架橋剤から作成された膜に関する腐食安定性評価結果を示す表である。BC=結合能。

【図23】AMPSモノマー及びTACHTA架橋剤から作成された様々な膜の成分及び重量%を示す表である。

【図24】AMPSモノマー及びTACHTA架橋剤から作成された膜に関する腐食安定性評価結果を示す表である。BC=結合能。

【図25】AMPSモノマー及びHMBis架橋剤から作成された様々な膜の成分及び重量%を示す表である。

【図26】AMPSモノマー及びHMBis架橋剤から作成された膜に関する腐食安定性評価結果を示す表である。BC=結合能。

【図27】Bis架橋剤を使用して作成された膜の40サイクルにわたる使用時の結合能及び回収率を示す図である。各サイクルにおいて、結合/溶出プロセス開始時に膜を塩基性溶液へ曝露させた。

【図28】HMBis架橋剤を使用して作成された膜の40サイクルにわたる使用時の結合能及び回収率を示す図である。各サイクルにおいて、結合/溶出プロセス開始時に膜を塩基性溶液へ曝露させた。

【図29】NaOHへ曝露させたC膜についての流束及び結合能を示す表である。\*85mM、pH5.0の酢酸ナトリウム。

【図30】AAモノマー、NIBOMAAコモノマー及びBis架橋剤から作成された様々な膜の成分及び重量%を示す表である。

【図31】図30に記載の膜のNaOH曝露後における流束及び結合能を示す表である。

【図32】配合1-A2のC膜のESEM画像を示す図である。

【図33】配合1-A4のC膜のESEM画像を示す図である。

【図34】AAモノマー、NMOPAAコモノマー及びBis架橋剤から作成された様々な膜の成分及び重量%を示す表である。

【図35】図34に記載の膜のNaOH曝露後における流束及び結合能を示す表である。

【図36】配合1-B6のC膜のESEM画像を示す図である。

【図37】配合1-B8のC膜のESEM画像を示す図である。

【図38】AAモノマー、NIPAAコモノマー及びBis架橋剤から作成された様々な膜の成分及び重量%を示す表である。

【図39】図38に記載の膜のNaOH曝露後における流束及び結合能を示す表である。

【図40】配合1-C4のC膜のESEM画像を示す図である。

【図41】配合1-C7のC膜のESEM画像を示す図である。

【図42】AAモノマー、NIBOMAA及びNHEAAコモノマー及びBis架橋剤から作成された様々な膜の成分及び重量%を示す表である。

10

20

30

40

50

【図43】図42に記載の膜のNaOH曝露後における流束及び結合能を示す表である。

【図44】配合2-A1のC膜のESEM画像を示す図である。

【図45】配合2-A4のC膜のESEM画像を示す図である。

【図46】AAモノマー、NIPAA及びNHEAAコモノマー及びBis架橋剤から作成された様々な膜の成分及び重量%を示す表である。

【図47】図46に記載の膜のNaOH曝露後における流束及び結合能を示す表である。

【図48】配合2-B1のC膜のESEM画像を示す図である。

【図49】配合2-B5のC膜のESEM画像を示す図である。

【図50】AAモノマー、NIPAA及びNHEAAコモノマー及びBis架橋剤から作成された様々な膜の成分及び重量%を示す表である。

10

【図51】図50に記載の膜のNaOH曝露後における流束及び結合能を示す表である。

【図52】配合2-C1のC膜のESEM画像を示す図である。

【図53】配合2-C2のC膜のESEM画像を示す図である。

【図54】AAモノマー、NIPAA及びNHEAAコモノマー及びBis架橋剤から作成された様々な膜の成分及び重量%を示す表である。

【図55】図54に記載の膜のNaOH曝露後における流束及び結合能を示す表である。

【図56】配合3-A1のC膜のESEM画像を示す図である。

【図57】配合3-A2のC膜のESEM画像を示す図である。

【図58】AA及びAAGAモノマー、NNDMAAコモノマー及びBis架橋剤から作成された様々な膜の成分及び重量%を示す表である。

20

【図59】図58に記載の膜のNaOH曝露後における流束及び結合能を示す表である。

【図60】AAモノマー、NMoPAAコモノマー及びBis架橋剤から作成された膜の成分及び重量%を示す表である。

【図61】図60に記載の膜のNaOH曝露後における流束及び結合能を示す表である。

【図62】AA、NMoPAA及びBisを使用して作成されたC膜1-B6のIgG捕捉に関する、10%ブレークスルーでの結合能(上側のデータポイント、左側の軸)及び回収率(下側のデータポイント、右側の軸)を示す図である。

【図63】AA、NIPAA、NHEAA及びBisを使用して作成されたC膜2-A4のIgG捕捉に関する、10%ブレークスルーでの結合能(上側のデータポイント、左側の軸)及び回収率(下側のデータポイント、右側の軸)を示す図である。

30

【図64】本発明の一部の複合材料の平均孔直径、流束及び10%ブレークスルーでの動的結合能( $DBC_{10\%BT}$ )を示す表である。

【発明を実施するための形態】

【0010】

#### 概要

清浄で安全なバイオ分離プロセスに対する需要が、特に多重サイクルモードでの操作向に、高まっている。生物医薬品生成プロセスにおいて最も一般的な衛生化ステップの1つは、サイクル間で媒体を衛生化するための腐食溶液(例:水酸化ナトリウム水溶液又は他のアルカリ金属水酸化物、若しくはアルカリ土類水酸化物)の使用である。加えて、腐食溶液は、吸着された分子が次の分離サイクル開始前に媒体から完全に除去されることを確保するための剥離ステップとしても使用され得る。従って、分離媒体の腐食安定性が不可欠である。改善された材料は、苛酷な腐食条件に耐える一方、様々な分離条件下で作用するために必要な柔軟性を維持する能力を有することになる。

40

【0011】

2-アクリルアミド-2-メチル-1-プロパンスルホン酸(AMPS)モノマー及び架橋剤としてのトリメチロールプロパントリアクリレート(TRIM-A)から作成された従来型のS膜(強陽イオン交換膜)を、1Mの水酸化ナトリウム溶液に24時間浸漬したところ、膜透過性が完全に失われた(即ち膜を通過する水流束がゼロにまで低下した)。同様の透過性劣化が、エステル官能性を有するC膜(弱陽イオン交換)を、ある透過性(流束)試験で示されているように、同じ塩基性条件に曝した際にも観察された。実施例2を参照のこと。

50

## 【0012】

新規のスルホン(S)官能化媒体膜が、アクリルアミド及びメタクリルアミドのモノマー及び架橋剤をアクリレート及びメタクリレートのモノマー及び架橋剤の代わりに組み入れた様々な配合により作成された。

## 【0013】

ある実施形態において、本発明は、2-アクリルアミド-2-メチル-1-プロパンスルホン酸(AMPS)をS官能化モノマーとして、及びN,N'-メチレンビス(アクリルアミド)(Bis)を架橋剤として使用して作成されたマクロ多孔性架橋ゲルを含む、複合材料に関する。ある実施形態において、透過性又は結合能は、複合材料を作成するための様々な溶媒系の使用により微調整され得る。ある実施形態において、複合材料又は膜の透過性は、長時間にわたり腐食溶液へ曝露(例:24時間にわたる1MのNaOHへの曝露)されても不变の状態を維持する。10

## 【0014】

ある実施形態において、本発明は、S官能化モノマーとしての2-アクリルアミド-2-メチル-1-プロパンスルホン酸(AMPS)、架橋剤としてのN,N'-メチレンビス(アクリルアミド)(Bis)、並びに2つの付加的コモノマー、即ちN-(ヒドロキシメチル)アクリルアミド(NHMAA)及びN-(イソブトキシメチル)アクリルアミド(NIBoMAA)から作成されたマクロ多孔性架橋ゲルを含む、複合材料に関する。これらの膜を検証した結果やはり、これらは同じ塩基性条件への曝露後も透過性を保持することが分かった。

## 【0015】

ある実施形態において、本発明は、S官能化モノマーとしての2-アクリルアミド-2-メチル-1-プロパンスルホン酸(AMPS)及び架橋剤としての1,3,5-トリアクリロイルヘキサヒドロ-1,3,5-トリアジン(TACHTA)から作成されたマクロ多孔性架橋ゲルを含む、複合材料に関する。ある実施形態において、本発明は、S官能化モノマーとしての2-アクリルアミド-2-メチル-1-プロパンスルホン酸(AMPS)及び架橋剤としてのN,N'-ヘキサメチレンビス(メタクリルアミド)から作成されたマクロ多孔性架橋ゲルを含む、複合材料に関する。膜性能検証の結果、これらの膜は塩基への曝露(24時間にわたる1MのNaOHへの曝露)後も透過性を維持することが分かった。20

## 【0016】

ある実施形態において、本発明の複合材料は、継続的な操作条件下での腐食安定性を実証する。複数の膜を、各サイクルの開始時における腐食曝露(0.5MのNaOHを使用)ステップを含む、多重サイクル実験(40サイクルにわたる結合/溶出)に曝した。その結果、これらの膜は腐食劣化に対して明確な抵抗性を有する一貫した性能を提供することが分かった。30

## 【0017】

ある実施形態において、環境走査型電子顕微鏡法(ESEM)を使用して検証したところ、複合材料は、良好に連結されたゲルネットワークが基質纖維内に組み込まれている状態を示した。

## 【0018】

ある実施形態において、本発明の複合材料は「結合・溶出」モード及び「流入」モードの両方で効果的に使用され得る。

## 【0019】

「結合・溶出モード」は、本発明に関する範囲で、クロマトグラフィー支持体又は複合材料に対して標的タンパク質及び不要汚染物質の両方が結合するようにバッファー条件が確立される、クロマトグラフィーへの操作アプローチを指す。他の成分からの標的タンパク質の分別は結果的に、標的タンパク質及び汚染物質が別々に溶出されるよう条件を変えることによって達成される。ある実施形態において、本発明の多モード陽イオン交換膜は、高い伝導性、高い容量スループット及び選択性での高い動的結合能を特徴とする「結合・溶出モード」で使用され得る。ある実施形態において、溶出液中の標的タンパク質の量は約50%から約99%減少する。ある実施形態において、溶出液で標的タンパク質の凝集物が約90%、約91%、約92%、約93%、約94%、約95%、約96%、約97%、約98%、又は約99%減少する。40

## 【0020】

本発明に関する範囲で、「流入モード」という用語は、適用後の膜を通過して未処理の標的タンパク質が流入する一方で汚染物質が選択的に保持されるようにバッファー条件が確立される、クロマトグラフィーへの操作アプローチを指す。ある実施形態において、本発明の多モード陰イオン交換膜は、DNA、宿主細胞(HCP)、浸出タンパク質A、望ましくない凝集物及びウイルスなど主要汚染物質を1回のステップで除去するための、処理後タンパク質A精製プロセスにおける「流入モード」で使用され得る。

## 【0021】

## 例示的複合材料の様々な特性

## ゲルの組成

10

ある実施形態において、ゲルは1つ以上の架橋性ポリマーと1つ以上の架橋剤との反応を通じて形成され得る。ある実施形態において、架橋ゲルは1つ以上の重合性モノマーと1つ以上の架橋剤との原位置での反応を通じて形成され得る。ある実施形態において、適切なサイズのマクロ孔を有する架橋ゲルが形成される。

## 【0022】

ゲルは特定の官能性を有する特定のモノマーを含むよう選択され得る。追加のモノマーをこれらのモノマーと反応させて、コポリマーゲルを生成することができる。

## 【0023】

20

ある実施形態において、複合材料の特性は、マクロ多孔性ゲルの平均孔直径の調節によって微調整され得る。マクロ孔のサイズは、一般に、架橋剤の性質及び濃度、ゲルが形成される溶媒又は溶媒(複数)の性質、あらゆる重合開始剤又は触媒の量、並びに、存在する場合は、ポロジエン(porogen)の性質及び濃度に依存する。ある実施形態において、複合材料は、狭い孔サイズ分布を有することがある。

## 【0024】

## 多孔性支持部材

ある実施形態において、多孔性支持部材は平均直径が約0.1 μmから約50 μmの間の孔を含有する。

## 【0025】

ある実施形態において、多孔性支持部材は約40%から約90%の間の気孔率を有する。

30

## 【0026】

ある実施形態において、多孔性支持体は平坦である。

## 【0027】

ある実施形態において、多孔性支持体はディスクの形態である。

## 【0028】

40

多数の多孔性の基質又は膜が、支持部材として使用され得る。ある実施形態において、多孔性支持部材はポリマー材料でできている。ある実施形態において、支持体は、低コストで入手可能なポリオレフィンであってもよい。ある実施形態において、ポリオレフィンはポリ(エチレン)、ポリ(プロピレン)、又はポリ(ビニリデンジフルオリド)であってよい。熱誘起相分離(TIPS)、又は非溶媒誘起相分離によって作られた拡張されたポリオレフィン膜が言及される。ある実施形態において、支持部材は、セルロース又はその誘導体などの天然ポリマーから作られていてよい。ある実施形態において、適切な支持体には、ポリエーテルスルホン膜、ポリ(テトラフルオロエチレン)膜、ナイロン膜、セルロースエスチル膜、繊維ガラス、又はろ紙が含まれる。

## 【0029】

ある実施形態において、多孔性支持体は、ポリオレフィン(例えば、ポリプロピレン)などの織又は不織の線維状材料から構成される。このような繊維状の織又は不織の支持部材は、ある場合には最高約75 μmの、TIPS支持部材を超える孔サイズを有することができる。支持部材における孔が大きいほど、マクロ多孔性ゲルにおいてより大きなマクロ孔を有する複合材料の形成が可能になる。セラミックベースの支持体など、非ポリマー支持部材も用いることができる。多孔性の支持部材は様々な形状及びサイズをとることができる。

50

**【 0 0 3 0 】**

いくつかの実施形態において、支持部材は、膜の形態である。

**【 0 0 3 1 】**

いくつかの実施形態において、支持部材は、厚さ約 $10\text{ }\mu\text{m}$ から約 $2000\text{ }\mu\text{m}$ まで、約 $10\text{ }\mu\text{m}$ から約 $1000\text{ }\mu\text{m}$ まで、又は約 $10\text{ }\mu\text{m}$ から約 $500\text{ }\mu\text{m}$ までである。

**【 0 0 3 2 】**

他の実施形態において、複数の多孔性の支持ユニットを、例えば、スタッキングによって組み合わせることができる。一実施形態において、例えば、膜2枚から10枚までの多孔性の支持部材のスタックを構築した後に、多孔性の支持体の空隙内にゲルを形成してもよい。別の実施形態において、単一の支持部材のユニットを用いて複合材料の膜を形成し、次いでこれを使用前に積み重ねる。

10

**【 0 0 3 3 】****ゲルと支持部材との間の関係**

ゲルは支持部材内にアンカーされていてよい。「アンカーされている」の語は、ゲルが支持部材の孔内に保持されることを意味することが意図されるが、この語はゲルが支持部材の孔に化学的に結合していることを意味することに必ずしも限定されない。ゲルは、支持部材の構造エレメントに絡ませることによって、又は構造エレメントと撚り合わせることによって、支持部材に対して実際に化学的にグラフトィングされず、ゲル上に課せられた物理的束縛によって保持され得るが、いくつかの実施形態において、ゲルは支持部材の孔の表面に対してグラフトィングされてよい。

20

**【 0 0 3 4 】**

マクロ孔は支持部材の孔を占めるゲル中に存在するので、ゲルのマクロ孔は支持部材の孔よりも小さくなければならない。その結果、複合材料の流動特性及び分離特性はゲルの特徴に依存するが、支持部材中に存在する孔のサイズはゲルのマクロ孔のサイズより大きいという条件で、多孔性の支持部材の特徴とはほとんど無関係である。複合材料の多孔性は、支持部材を、その多孔性が、モノマー又はポリマー、架橋剤、反応溶媒、及び用いる場合はポロジエンの性質及び量によって部分的又は完全に決定されるゲルで充填することによってあつらえることができる。複合材料の特質は、完全ではなくとも部分的に、ゲルの特質によって決定される。最終結果は、本発明が複合材料のマクロ孔サイズ、透過性、及び表面積にわたる制御を提供することである。

30

**【 0 0 3 5 】**

複合材料中のマクロ孔の数は、支持材料中の孔の数によって決定されない。マクロ孔は支持部材中の孔より小さいので、複合材料中のマクロ孔の数は支持部材中の孔の数よりも多くなり得る。上記で言及した通り、支持材料の孔サイズの、マクロ多孔性ゲルの孔サイズに対する影響は概ね無視できる。例外は、支持部材が孔サイズ及び孔サイズ分布において大きな相違を有する場合、並びに非常に小さな孔サイズを有し、孔サイズの分布の範囲が狭いマクロ多孔性ゲルが探求される場合に見られる。このような場合において、支持部材の孔サイズ分布における大きな変動が、マクロ多孔性ゲルの孔サイズ分布にわずかに反映される。ある実施形態において、孔サイズ範囲がいくぶん狭い支持部材を、このような状況において用いることができる。

40

**【 0 0 3 6 】**

ある実施形態において、本発明は、複合材料が相対的に非毒性である、前述の複合材料のいすれか1つに関する。

**【 0 0 3 7 】****複合材料の調製**

ある実施形態において、本発明の複合材料は一段階法によって調製することができる。ある実施形態において、これらの方法は、水、又は他の環境的に温和な溶媒を反応溶媒として用いることができる。ある実施形態において、方法は急速であるため、簡易及び/又は急速な製造プロセスに繋がり得る。ある実施形態において、複合材料の調製は廉価であり得る。

50

## 【0038】

ある実施形態において、本発明の複合材料は、2以上のモノマー、1つ以上の架橋剤、1つ以上の開始剤、及び場合により1つ以上のポロジエン(porogen)を、1つ以上の適切な溶媒中で混合することにより調製され得る。ある実施形態において、結果として生じる混合物は均一のことがある。ある実施形態において、混合物は不均一のことがある。ある実施形態において、混合物を、次いで、適切な多孔性の支持体中に導入してよく、そこでゲル形成反応が起こることがある。

## 【0039】

ある実施形態において、ゲル形成反応に適する溶媒には、1,3-ブタンジオール、ジ(プロピレングリコール)プロピルエーテル、N,N-ジメチルアセトアミド、ジ(プロピレングリコール)ジメチルエーテル、1,2-プロパンジオール、ジ(プロピレングリコール)メチルエーテルアセテート(DPMA)、水、ジオキサン、ジメチルスルホキシド(DMSO)、ジメチルホルムアミド(DMF)、アセトン、エタノール、N-メチルピロリドン(NMP)、テトラヒドロフラン(THF)、酢酸エチル、アセトニトリル、N-メチルアセトアミド、プロパノール、メタノール、トリ(エチレングリコール)ジメチルエーテル、トリ(プロピレングリコール)ブチルエーテル、トリ(プロピレングリコール)プロピルエーテル又はこれらの混合物が含まれる。ある実施形態において、より高い沸点を有する溶媒は引火性を低減し、製造を促進するので、このような溶媒を用いてもよい。ある実施形態において、毒性の低い溶媒を用いてもよく、そのためこれらは使用後容易に廃棄することができる。このような溶媒の一例はジプロピレングリコールモノメチルエーテル(DPM)である。

10

20

30

40

## 【0040】

ある実施形態において、ポロジエンを反応混合物に加えてもよく、この場合ポロジエンは孔産生添加剤(pore-generating additives)と広く記載することができる。ある実施形態において、ポロジエンは、熱力学的に劣る溶媒及び抽出可能なポリマー(例えば、ポリ(エチレングリコール))、界面活性剤、及び塩からなる群から選択することができる。

## 【0041】

いくつかの実施形態において、ゲル形成反応の成分は室温で自発的に反応してゲルを形成する。他の実施形態において、ゲル形成反応は開始されなければならない。ある実施形態において、ゲル形成反応は、熱活性化又はUV照射によるなど、あらゆる知られている方法によって開始することができる。ある実施形態において、反応は、光開始剤の存在下UV照射によって開始することができる。ある実施形態において、光開始剤は、2-ヒドロキシ-1-[4-2(ヒドロキシエトキシ)フェニル]-2-メチル-1-プロパノン(Irgacure(登録商標)2959)、2,2-ジメトキシ-2-フェニルアセトフェノン(DMPA)、ベンゾフェノン、ベンゾイン及びベンゾインエーテル、例えば、ベンゾインエチルエーテル及びベンゾインメチルエーテル、ジアルコキシアセトフェノン、ヒドロキシアルキルフェノン、並びに-ヒドロキシメチルベンゾインスルホン酸エステルからなる群から選択されてよい。熱活性化は熱開始剤の添加を必要とすることがある。ある実施形態において、熱開始剤は、1,1'-アゾビス(シクロヘキサンカーボニトリル)(VAZO(登録商標)触媒88)、アゾビス(イソブチロニトリル)(AIBN)、過硫酸カリウム、過硫酸アンモニウム、及び過酸化ベンゾイルからなる群から選択されてよい。

## 【0042】

ある実施形態において、ゲル形成反応はUV照射によって開始することができる。ある実施形態において、光開始剤をゲル形成反応の反応物に加えることができ、モノマー、架橋剤、及び光開始剤の混合物を含む支持部材を、約250nmから約400nmまでの波長のUV照射に数秒から数時間の期間曝露してもよい。ある実施形態において、モノマー、架橋剤、及び光開始剤の混合物を含む支持部材を、約350nmのUV照射に数秒から数時間の期間曝露してもよい。ある実施形態において、モノマー、架橋剤、及び光開始剤の混合物を含む支持部材を、約350nmのUV照射に約10分間曝露してもよい。ある実施形態において、可視波長の光を用いて重合化を開始することができる。ある実施形態において、支持部材は用いられる波長で低吸光度を有さなければならないので、エネルギーを支持部材によって伝達して

50

もよい。

**【0043】**

ある実施形態において、重合化を行う速度は、マクロ多孔性ゲルにおいて得られるマクロ孔のサイズに対して影響を及ぼすことがある。ある実施形態において、ゲル中の架橋剤の濃度を十分な濃度まで増大すると、ゲルの構成成分は凝集を開始して高ポリマー密度の領域、及びポリマーがほとんどなく、又は全くない領域を生成し、この後者の領域を本明細書において「マクロ孔」と呼ぶ。このメカニズムは重合化の速度によって影響を受ける。ある実施形態において、重合化は、光重合において低光強度が用いられる場合などにゆっくりと行われることがある。この場合、ゲルの構成成分の凝集は起こるのにより時間がかかり、ゲル中の孔はより大型となる。ある実施形態において、重合化は、高強度の光源を用いた場合などに高速で行われることがある。この場合、凝集に利用できる時間があまりないことがあり、より小型の孔が生成される。

10

**【0044】**

ある実施形態において、複合材料が調製された後は、複合材料を様々な溶媒で洗浄してあらゆる未反応の成分、及び支持体内にアンカーされないあらゆるポリマー又はオリゴマーを除去することがある。ある実施形態において、複合材料の洗浄に適する溶媒には、水、アセトン、メタノール、エタノール、プロパノール及びDMFが含まれる。

20

**【0045】**

複合材料の例示的使用

ある実施形態において、本発明は、流体が、前述の複合材料のいずれか1つの架橋ゲルを通過する方法に関する。結合又は分取のための条件を仕立てることによって、良好な選択性を得ることができる。

30

**【0046】**

ある実施形態において、本発明は、溶液からタンパク質又は免疫グロブリンなどの生体分子を分離する方法に関する。ある実施形態において、本発明は、タンパク質又は免疫グロブリンなどの生体分子を精製する方法に関する。ある実施形態において、本発明は、高選択性でタンパク質又はモノクローナル抗体を精製する方法に関する。ある実施形態において、本発明は、生物学的分子又は生物学的イオンがその三次構造又は四次構造を保持し、これらの構造は生物学的活性を保持する上で重要であり得る方法に関する。ある実施形態において、分離又は精製され得る生物学的分子又は生物学的イオンには、アルブミン、例えば、ウシ血清アルブミン、及びリゾチームなどのタンパク質が含まれる。ある実施形態において、分離され得る生物学的分子又は生物学的イオンには、ヒト及び動物起源の - グロブリン、ヒト及び動物起源の IgG、IgM、又は IgE などの免疫グロブリン、タンパク質 A を含めた組換え及び天然起源のタンパク質、フィトクローム、好塩性プロテアーゼ、ポリ(3-ヒドロキシブチレート)デポリメラーゼ、アクレシン-A(aculaecin-A)アシラーゼ、合成及び天然起源のポリペプチド、インターロイキン-2 及びその受容体、ホスファターゼ、デヒドロゲナーゼ、リボヌクレアーゼAなどの酵素、モノクローナル抗体、抗体のフラグメント、トリプシン及びその阻害物質、様々な起源のアルブミン、例えば、 - ラクトアルブミン、ヒト血清アルブミン、鶏卵アルブミン、オバルブミンなど、チトクロームC、免疫グロブリン、ミオグロブリン、組換えヒトインターロイキン、組換え融合タンパク質、核酸由来の生成物、合成及び天然起源のDNA及びRNA、DNAプラスマド、レクチン、 - キモトリプシノーゲン、並びに小分子を含めた天然生成物が含まれる。ある実施形態において、本発明は、変異体、不純物、又はこれらに付随する汚染物から抗体フラグメントを回収する方法に関する。ある実施形態において、生物学的分子の分離又は精製は、実質的に架橋ゲル中で発生し得る。ある実施形態において、生体分子の分離又は精製は、マクロ多孔性架橋ゲルのマクロ孔において実質的に生じることがある。

40

**【0047】**

ある実施形態において、本発明は、物質を可逆的に吸着する方法に関する。ある実施形態において、吸着された物質は、ゲルを通って流れる液体を変えることによって放出され得る。ある実施形態において、物質の取り込み及び放出は、架橋ゲルの組成における変動

50

によって制御され得る。

【0048】

ある実施形態において、本発明は、物質を緩衝溶液から複合材料に適用することができる方法に関する。

【0049】

ある実施形態において、本発明は、様々な濃度の塩の水溶液を用いて物質を溶出することができる方法に関する。

【0050】

ある実施形態において、本発明は、高結合能を示す方法に関する。ある実施形態において、本発明は、10%のブレークスルーで、約10mg/mL<sub>膜</sub>、約20mg/mL<sub>膜</sub>、約30mg/mL<sub>膜</sub>、約40mg/mL<sub>膜</sub>、約50mg/mL<sub>膜</sub>、約60mg/mL<sub>膜</sub>、約70mg/mL<sub>膜</sub>、約80mg/mL<sub>膜</sub>、約90mg/mL<sub>膜</sub>、約100mg/mL<sub>膜</sub>、約110mg/mL<sub>膜</sub>、約120mg/mL<sub>膜</sub>、約130mg/mL<sub>膜</sub>、約140mg/mL<sub>膜</sub>、約150mg/mL<sub>膜</sub>、約160mg/mL<sub>膜</sub>、約170mg/mL<sub>膜</sub>、約180mg/mL<sub>膜</sub>、約190mg/mL<sub>膜</sub>、約200mg/mL<sub>膜</sub>、約210mg/mL<sub>膜</sub>、約220mg/mL<sub>膜</sub>、約230mg/mL<sub>膜</sub>、約240mg/mL<sub>膜</sub>、約250mg/mL<sub>膜</sub>、約260mg/mL<sub>膜</sub>、約270mg/mL<sub>膜</sub>、約280mg/mL<sub>膜</sub>、約290mg/mL<sub>膜</sub>、約300mg/mL<sub>膜</sub>、約320mg/mL<sub>膜</sub>、約340mg/mL<sub>膜</sub>、約360mg/mL<sub>膜</sub>、約380mg/mL<sub>膜</sub>、又は約400mg/mL<sub>膜</sub>の結合能を示す方法に関する。10

【0051】

ある実施形態において、結合の間の流速(第1の流速)は、約0.1～約10mL/分までであってよい。ある実施形態において、溶出の間の流速(第2の流速)は、約0.1～約10mL/分までであってよい。ある実施形態において、第1の流速又は第2の流速は、約0.1mL/分、約0.5mL/分、約1.0mL/分、約1.5mL/分、約2.0mL/分、約2.5mL/分、約3.0mL/分、約4.0mL/分、約4.5mL/分、約5.0mL/分、約5.5mL/分、約6.0mL/分、約6.5mL/分、約7.0mL/分、約7.5mL/分、約8.0mL/分、約8.5mL/分、約9.0mL/分、約9.5mL/分、又は約10.0mL/分であってよい。20  
ある実施形態において、第1の流速又は第2の流速は約0.5～約5.0mL/分までであってよい。  
。

【0052】

水流束 $Q_{H_2O}$ (kg/m<sup>2</sup>h)は以下の等式を使用して計算され：

【0053】

【数1】

$$Q_{H_2O} = \frac{(m_1 - m_2)}{A \cdot t}$$

式中、 $m_1$ は $t_1$ の時点で膜を介して移送される水の質量であり、 $m_2$ は $t_2$ の時点で膜を介して移送される水の質量であり、Aは膜断面積であり、tは時間(ただし $t_1 > t_2$ )である。30

【0054】

ある実施形態において、溶出する塩溶液(第2の溶液、又は第3若しくはそれ以降の溶液)に添加剤を加えてもよい。ある実施形態において、低濃度(例えば、約2M、約1M、約0.5M、又は約0.2M未満)の添加剤を加える。ある実施形態において、添加剤は、水混和性のアルコール、洗剤、ジメチルスルホキシド、ジメチルホルムアミド、又はカオトロピック塩の水溶液である。40

【0055】

ある実施形態において、pHの変更は、移動相の伝導性を変えることなくタンパク質を溶出するための効果的な溶出手段である。

【0056】

孔サイズ判定

SEM及びESEM

マクロ多孔性架橋ゲル中のマクロ孔の平均直径は、多数の方法の1つによって推定され得る。採用され得る1つの方法は走査型電子顕微鏡法(SEM)である。SEMは孔サイズ及び多孔率の判定全般、特に膜の特性評価について、十分に確立された方法である。Marcel Mulderの著書「Basic Principles of Membrane Technology」((著作権)1996年)(以下「Mulde

「」という)、特に第IV章で言及されている。Mulderには膜の特性評価方法の概要が記載されている。多孔性膜の場合、最初に挙げられる方法は電子顕微鏡法である。SEMは精密ろ過膜の特性評価向けの、非常に簡易且つ有用な技法である。膜の明瞭且つ簡潔な画像を、上層、断面及び下層に関して取得することができる。加えて、多孔率及び孔サイズ分布を写真から推定することができる。

#### 【0057】

環境SEM(ESEM)は、湿った状態の標本について、標本室内の気体環境を考慮することによって非破壊画像処理を可能にする技法である。環境二次検出器(ESD)は、機能するにはガスバックグラウンドを必要とし、また約3トールから約20トールにおいて動作する。これらの圧力制約は、試料室内の湿度を変える能力を制限する。例えば、10トールの時に、特定の温度での相対湿度は以下の通りである。10

#### 【0058】

##### 【表1】

10トールの時の相対湿度(%)	T (°C)
約 80	約 16
約 70	約 18
約 60	約 20
約 40	約 24
約 20	約 40
約 10	約 50
約 2	約 70
約 1	約 100

#### 【0059】

これは試料室内における様々な温度での相対湿度に関する有用な指針である。ある実施形態において、画像処理中の試料室内の相対湿度は約1%から約99%である。ある実施形態において、画像処理中の試料室内の相対湿度は約1%、約2%、約3%、約4%、約5%、約6%、約7%、約8%、約9%、約10%、約15%、約20%、約25%、約30%、約35%、約40%、約45%、約50%、約55%、約60%、約65%、約70%、約75%、約80%、約85%、約90%、約95%、又は約99%である。ある実施形態において、画像処理中の試料室内の相対湿度は約45%である。30

#### 【0060】

ある実施形態において、顕微鏡はナノメートル単位の分解能を有し、倍率は最大約100,000倍である。

#### 【0061】

ある実施形態において、画像処理中の試料室内の温度は約1から約95である。ある実施形態において、画像処理中の試料室内の温度は約2、約3、約4、約5、約6、約7、約8、約9、約10、約12、約14、約16、約18、約20、約25、約30、約35、約40、約45、約50、約55、約60、約65、約70、約75、約80、又は約85である。ある実施形態において、画像処理中の試料室内の温度は約5である。40

#### 【0062】

ある実施形態において、画像処理中の試料室内の圧力は約0.5トールから約20トールである。ある実施形態において、画像処理中の試料室内の圧力は約4トール、約6トール、約8トール、約10トール、約12トール、約14トール、約16トール、約18トール、又は約20ト

10

20

30

40

50

ールである。ある実施形態において、画像処理中の試料室内の圧力は約3トールである。

#### 【0063】

ある実施形態において、電子ビーム源から試料までの作動距離は約6mmから約15mmである。ある実施形態において、電子ビーム源から試料までの作動距離は約6mm、約7mm、約8mm、約9mm、約10mm、約11mm、約12mm、約13mm、約14mm、又は約15mmである。ある実施形態において、電子ビーム源から試料までの作動距離は約10mmである。

#### 【0064】

ある実施形態において、電圧は約1kVから約30kVである。ある実施形態において、電圧は約2kV、約4kV、約6kV、約8kV、約10kV、約12kV、約14kV、約16kV、約18kV、約20kV、約22kV、約24kV、約26kV、約28kV、又は約30kVである。ある実施形態において、電圧は約20kVである。10

#### 【0065】

ある実施形態において、平均孔直径は、複合材料の上部又は下部からの画像の代表的試料における孔直径の推定によって測定され得る。当業者であれば、湿潤膜のESEM画像取得に関連する様々な実験変数を認識及び理解し、相応に実験を設計できるようになる。

#### 【0066】

##### 毛細管流動ポロメトリー

毛細管流動ポロメトリーは、多孔性材料の孔サイズの測定に使用される分析技法である。この分析技法では、湿潤性液体を使用して試験試料の孔を満たし、そして非反応性ガスの圧力を使用して液体を孔から移動させる。試料を通過するガス圧及び流速が正確に測定され、孔直径は以下の等式を使用して判定される。液体を孔から除去するために必要なガス圧は、下記の等式により、孔のサイズに関連付けられる。20

$$D = 4 \times \gamma \cos \theta / P$$

Dは孔直径、

は液体表面張力、

は液体接触角度、

Pは差分ガス圧である。

この等式は、液体を湿潤試料から移動させるために必要な圧力が孔サイズに反比例することを示す。この技法は、加圧状態での試験試料の孔からの液体の流動が関係することから、「貫通孔」(試料の片側から反対側への流体流動を可能にする、相互に連結された孔)の特性評価に有用である。他の種類の孔(閉鎖孔や隠蔽孔)は、この方法では検出できない。30

#### 【0067】

毛細管流動ポロメトリーでは、ある孔の存在を、ガスがその孔を通って流れ始める時点で検出する。これは孔において最も狭窄した部分から液体を移動させるためのガス圧が十分に高い状態に限り発生する。したがって、この方法を使用して計算される孔直径は、孔において最も狭窄した部分の孔の直径であり、また各孔はこの狭窄直径を有する单一の孔として検出される。最大孔直径(バブルポイントと呼ばれる)は、湿潤試料を通過する流動の開始に必要な最低ガス圧によって判定され、平均孔直径は平均流動圧力から計算される。加えて、狭窄孔直径範囲と孔サイズ分布の両方を、この技法を使用して判定することができる。40

#### 【0068】

この方法は、試験流体(例:水、バッファー、アルコール)に浸漬した小さい膜試料(例:直径約2.5cm)でも行うことができる。加えられるガス圧は約0psiから約500psiから選択され得る。

#### 【0069】

##### 他の孔直径判定方法

Mulderには他にも多孔性膜の平均最高サイズ特性評価方法が記載されており、例として原子間力顕微鏡法(AFM)(164頁)、透過性計算(169頁)、ガス吸着・脱離(173頁)、熱ポロメトリー(176頁)、透過ポロメトリー(179頁)、及び液体変位(181頁)が挙げられる。Mulder及び同書に記載の参考文献は、参照により本明細書に組み込まれる。50

## 【0070】

## 例示的複合材料

ある実施形態において、本発明は、

支持部材を貫いて伸びている複数の孔を含む支持部材と、

1つのモノマー又は複数のモノマー及び架橋剤に由来するポリマーを含み、モノマーがエステル官能性を含まず、架橋剤がエステル官能性を含まない、架橋ゲルとを含み、架橋ゲルが支持部材の孔中に位置する、複合材料に関する。

## 【0071】

ある実施形態において、本発明は、架橋ゲルがマクロ多孔性である、前述の複合材料のいずれか1つに関する。

10

## 【0072】

ある実施形態において、本発明は、モノマーがカルボニル部分を含む、前述の複合材料のいずれか1つに関する。ある実施形態において、本発明は、モノマーがカルボキシレート部分を含む、前述の複合材料のいずれか1つに関する。

## 【0073】

ある実施形態において、本発明は、モノマーがアクリル酸、アクリルアミド、N-アクリルオキシスクシンイミド、N,N-ジエチルアクリルアミド、N,N-ジメチルアクリルアミド、N-[3-(N,N-ジメチルアミノ)プロピル]メタクリルアミド、N,N-ジメチルアクリルアミド、メタクリルアミド、N-イソプロピルアクリルアミド、スチレン、4-ビニルピリジン、ビニルスルホン酸、N-ビニル-2-ピロリジノン(VP)、アクリルアミド-2-メチル-1-プロパンスルホン酸、N-(ヒドロキシメチル)アクリルアミド、N-(イソブトキシメチル)アクリルアミド、N-(ヒドロキシエチル)アクリルアミド、N-(3-メトキシプロピル)アクリルアミド、2-アクリルアミドグリコール酸、N-ビニルホルムアミド、N-[トリス(ヒドロキシメチル)メチル]アクリルアミド、3-アクリロイルアミノ-1-プロパノール、スチレンスルホン酸、(3-アクリルアミドプロピル)トリメチルアンモニウムハロゲン化物、ジアリルジメチルアンモニウムハロゲン化物、4-ビニル-N-メチルピリジニウムハロゲン化物、ビニルベンジル-N-トリメチルアンモニウムハロゲン化物、メタクリルオキシエチルトリメチルアンモニウムハロゲン化物、N-アクリルアミドポリエチレンイミン、N-メタクリルアミドポリエチレンイミン、N-アクリルアミド4鎖アミン末端ポリ(エチレンオキシド)、N-メタクリルアミド4鎖アミン末端ポリ(エチレンオキシド)、N-アクリルアミドトリメチロールプロパントリス[ポリ(プロピレングリコール)アミン末端]エーテル、N-メタクリルアミドトリメチロールプロパントリス[ポリ(プロピレングリコール)アミン末端]エーテル、N-アクリルアミドアミン末端ポリ(N-イソプロピルアクリルアミド)、N-メタクリルアミドアミン末端ポリ(N-イソプロピルアクリルアミド)、N-アクリルアミドポリ-L-アルギニンヒドロクロリド、N-メタクリルアミドポリ-L-アルギニンヒドロクロリド、N-アクリルアミドポリ(エチレングリコール)ビス(アミン)、N-メタクリルアミドポリ(エチレングリコール)ビス(アミン)、N-アクリルアミドポリ(アリルアミンヒドロクロリド)、N-メタクリルアミドポリ(アリルアミンヒドロクロリド)、N-アクリルアミドポリ(ジメチルアミン-co-エピクロロヒドリン-co-エチレンジアンミン)、N-メタクリルアミドポリ(ジメチルアミン-co-エピクロロヒドリン-co-エチレンジアンミン)、又はジアセトンアクリルアミドである、前述の複合材料のいずれか1つに関する。

20

30

40

40

## 【0074】

ある実施形態において、本発明は、モノマーがアミン含有化合物及びアクリロイルクロリド、3-エトキシアクリロイルクロリド、4-メトキシシンナモイルクロリド、又は3-アクリロイル-1,3-オキサゾリジン-2-オンに由来する、前述の複合材料のいずれか1つに関する。ある実施形態において、アミン含有化合物はポリエチレンイミン、4鎖アミン末端ポリ(エチレンオキシド)、トリメチロールプロパントリス[ポリ(プロピレングリコール)]、アミン末端]エーテル、アミン末端ポリ(N-イソプロピルアクリルアミド)、ポリ-L-アルギニンヒドロクロリド、ポリ(エチレングリコール)ビス(アミン)、ポリ(アリルアミンヒドロクロリド)、又はポリ(ジメチルアミン-co-エピクロロヒドリン-co-エチレンジアンミン

50

)である。

【0075】

ある実施形態において、本発明は、モノマーがN,N-ジエチルアクリルアミド、N,N-ジメチルアクリルアミド、N-イソプロピルアクリルアミド、アクリルアミド-2-メチル-1-プロパンスルホン酸、N-(ヒドロキシメチル)アクリルアミド、N-(イソブトキシメチル)アクリルアミド、N-(ヒドロキシエチル)アクリルアミド、N-(3-メトキシプロピル)アクリルアミド、2-アクリルアミドグリコール酸、N-ビニルホルムアミド、N-[トリス(ヒドロキシメチル)メチル]アクリルアミド、3-アクリロイルアミノ-1-プロパノール、又はジアセトンアクリルアミドである、前述の複合材料のいずれか1つに関する。

【0076】

ある実施形態において、本発明は、架橋ゲルが複数のモノマー及び架橋剤に由来するポリマーを含み、モノマーがいずれもエステル官能性を含まない、前述の複合材料のいずれか1つに関する。

【0077】

ある実施形態において、本発明は、架橋剤が、ビスアクリルアミド酢酸、2,2-ビス[4-(2-アクリルオキシエトキシ)フェニル]プロパン、2,2-ビス(4-メタクリルオキシフェニル)プロパン、1,4-ブタンジオールジビニルエーテル、1,4-ジアクリロイルピペラジン、ジアリルフタレート、N,N-ドデカメチレンビスアクリルアミド、ジビニルベンゼン、グリセロールトリス(アクリルオキシプロピル)エーテル、N,N'-ヘキサメチレンビスアクリルアミド、トリエチレングリコールジビニルエーテル、ジアリルジグリコールカーボネート、ポリ(エチレングリコール)ジビニルエーテル、N,N'-ジメタクリロイルピペラジン、ジビニルグリコール、N,N'-メチレンビスアクリルアミド、N,N'-エチレンビス(アクリルアミド)、N,N'-(1,2-ジヒドロキシエチレン)ビス-アクリルアミド、N,N'-ヘキサメチレンビス(メタクリルアミド)、N,N'-オクタメチレンビスアクリルアミド、N,N'-ジメタクリロイルピペラジン、1,3,5-トリアクリロイルヘキサヒドロ-1,3,5-トリアジン、及びジビニルベンゼンからなる群から選択される、前述の複合材料のいずれか1つに関する。

【0078】

ある実施形態において、本発明は、架橋剤がN,N'-メチレンビスアクリルアミド、N,N'-ヘキサメチレンビス(メタクリルアミド)、1,3,5-トリアクリロイルヘキサヒドロ-1,3,5-トリアジン、又はジビニルベンゼンである、前述の複合材料のいずれか1つに関する。

【0079】

ある実施形態において、本発明は、架橋ゲルが2-アクリルアミド-2-メチル-1-プロパンスルホン酸(AMPS)及びN,N'-メチレンビス(アクリルアミド)に由来するポリマーを含む、前述の複合材料のいずれか1つに関する。ある実施形態において、本発明はし、架橋ゲルが重量比約20:約1の2-アクリルアミド-2-メチル-1-プロパンスルホン酸(AMPS)及びN,N'-メチレンビス(アクリルアミド)に由来するポリマーを含む、前述の方法のいずれか1つに関する。ある実施形態において、本発明は、架橋ゲルが重量比約10:約1の2-アクリルアミド-2-メチル-1-プロパンスルホン酸(AMPS)及びN,N'-メチレンビス(アクリルアミド)に由来するポリマーを含む、前述の方法のいずれか1つに関する。

【0080】

ある実施形態において、本発明は、架橋ゲルが2-アクリルアミド-2-メチル-1-プロパンスルホン酸(AMPS)、N,N'-メチレンビス(アクリルアミド)、N-(ヒドロキシメチル)アクリルアミド(NHMAA)及びN-(イソブトキシメチル)アクリルアミドに由来するポリマーを含む、前述の複合材料のいずれか1つに関する。ある実施形態において、本発明は、架橋ゲルが重量比約10:約2:約3:約0の2-アクリルアミド-2-メチル-1-プロパンスルホン酸(AMPS)、N,N'-メチレンビス(アクリルアミド)、N-(ヒドロキシメチル)アクリルアミド(NHMAA)及びN-(イソブトキシメチル)アクリルアミドに由来するポリマーを含む、前述の複合材料のいずれか1つに関する。ある実施形態において、本発明は、架橋ゲルが重量比約8:約1:約0:約2の2-アクリルアミド-2-メチル-1-プロパンスルホン酸(AMPS)、N,N'-メチレンビス(アクリルアミド)、N-(ヒドロキシメチル)アクリルアミド(NHMAA)及びN-(イソブトキシメチ

10

20

30

40

50

ル)アクリルアミドに由来するポリマーを含む、前述の複合材料のいずれか1つに関する。ある実施形態において、本発明は、架橋ゲルが重量比約10:約2:約0:約2の2-アクリルアミド-2-メチル-1-プロパンスルホン酸(AMPS)、N,N'-メチレンビス(アクリルアミド)、N-(ヒドロキシメチル)アクリルアミド(NHMAA)及びN-(イソブトキシメチル)アクリルアミドに由来するポリマーを含む、前述の方法のいずれか1つに関する。

#### 【0081】

ある実施形態において、本発明は、架橋ゲルが2-アクリルアミド-2-メチル-1-プロパンスルホン酸(AMPS)及び1,3,5-トリアクリロイルヘキサヒドロ-1,3,5-トリアジンに由来するポリマーを含む、前述の複合材料のいずれか1つに関する。ある実施形態において、本発明は、架橋ゲルが重量比約10:約1の2-アクリルアミド-2-メチル-1-プロパンスルホン酸(AMPS)及び1,3,5-トリアクリロイルヘキサヒドロ-1,3,5-トリアジンに由来するポリマーを含む、前述の方法のいずれか1つに関する。

10

#### 【0082】

ある実施形態において、本発明は、架橋ゲルが2-アクリルアミド-2-メチル-1-プロパンスルホン酸(AMPS)及びN,N'-ヘキサメチレンビス(メタクリルアミド)に由来するポリマーを含む、前述の複合材料のいずれか1つに関する。ある実施形態において、本発明は、架橋ゲルが重量比約10:約1の2-アクリルアミド-2-メチル-1-プロパンスルホン酸(AMPS)及びN,N'-ヘキサメチレンビス(メタクリルアミド)に由来するポリマーを含む、前述の方法のいずれか1つに関する。

20

#### 【0083】

ある実施形態において、本発明は、架橋ゲルがマクロ孔を含み、マクロ孔の平均孔直径が約10nmから約3000nmである、前述の複合材料のいずれか1つに関する。ある実施形態において、マクロ孔の直径は本明細書に記載の技法のいずれか1つにより推定される。ある実施形態において、マクロ孔の直径は毛細管流動ポロメトリーにより計算される。

#### 【0084】

ある実施形態において、本発明は、マクロ孔の平均孔直径が約25nmから約1500nmである、前述の複合材料のいずれか1つに関する。

#### 【0085】

ある実施形態において、本発明は、マクロ孔の平均孔直径が約50nmから約1000nmである、前述の複合材料のいずれか1つに関する。ある実施形態において、本発明は、マクロ孔の平均孔直径が約50nm、約100nm、約150nm、約200nm、約250nm、約300nm、約350nm、約400nm、約450nm、約500nm、約550nm、約600nm、約650nm又は約700nmである、前述の複合材料のいずれか1つに関する。

30

#### 【0086】

ある実施形態において、本発明は、マクロ孔の平均孔直径が約300nmから約400nmである、前述の複合材料のいずれか1つに関する。

#### 【0087】

ある実施形態において、本発明は、複合材料が膜である、前述の複合材料のいずれか1つに関する。

#### 【0088】

ある実施形態において、本発明は、支持部材が空隙容積を有し、支持部材の空隙容積がマクロ多孔性架橋ゲルで実質的に充填される、前述の複合材料のいずれか1つに関する。

40

#### 【0089】

ある実施形態において、本発明は、支持部材がポリマーを含み、支持部材の厚さが約10μmから約500μmであり、支持部材の孔の平均孔直径が約0.1μmから約25μmである、前述の複合材料のいずれか1つに関する。ある実施形態において、支持部材の気孔率は約40%から約90%である。

#### 【0090】

ある実施形態において、本発明は、支持部材の厚さが約10μmから約1000μmである、前述の複合材料のいずれか1つに関する。ある実施形態において、本発明は、支持部材の厚

50

さが約10 μmから約500 μmである、前述の複合材料のいずれか1つに関する。ある実施形態において、本発明は、支持部材の厚さが約30 μmから約300 μmである、前述の複合材料のいずれか1つに関する。ある実施形態において、本発明は、支持部材の厚さが約30 μm、約50 μm、約100 μm、約150 μm、約200 μm、約250 μm又は約300 μmである、前述の複合材料のいずれか1つに関する。

#### 【0091】

ある実施形態において、本発明は、支持部材の孔の平均孔直径が約0.1 μmから約25 μmである、前述の複合材料のいずれか1つに関する。ある実施形態において、本発明は、支持部材の孔の平均孔直径が約0.5 μmから約15 μmである、前述の複合材料のいずれか1つに関する。ある実施形態において、本発明は、支持部材の孔の平均孔直径が約0.5 μm、約1 μm、約2 μm、約3 μm、約4 μm、約5 μm、約6 μm、約7 μm、約8 μm、約9 μm、約10 μm、約11 μm、約12 μm、約13 μm、約14 μm、又は約15 μmである、前述の複合材料のいずれか1つに関する。

10

#### 【0092】

ある実施形態において、本発明は、支持部材の気孔率が約40%から約90%である、前述の複合材料のいずれか1つに関する。ある実施形態において、本発明は、支持部材の気孔率が約50%から約80%である、前述の複合材料のいずれか1つに関する。ある実施形態において、本発明は、支持部材の気孔率が約50%、約60%、約70%、又は約80%である、前述の複合材料のいずれか1つに関する。

20

#### 【0093】

ある実施形態において、本発明は、支持部材がポリオレフィンを含む、前述の複合材料のいずれか1つに関する。

#### 【0094】

ある実施形態において、本発明は、支持部材が、ポリスルホン、ポリエーテルスルホン、ポリフェニレンオキシド、ポリカーボネート、ポリエステル、セルロース、及びセルロース誘導体からなる群から選択されるポリマー材料を含む、前述の複合材料のいずれか1つに関する。

30

#### 【0095】

ある実施形態において、本発明は、支持部材が、ポリマーを含む繊維状の織布又は不織布を含み、支持部材の厚さが約10 μmから約2000 μmまでであり、支持部材の孔が約0.1 μmから約25 μmの平均孔直径を有し、支持部材が約40%～約90%の気孔率を有する、前述の複合材料のいずれか1つに関する。

30

#### 【0096】

##### 例示的方法

ある実施形態において、本発明は、第1の流速で、物質を含む第1の流体を前述の複合材料のいずれか1つと接触させ、それによって物質の一部分を複合材料上に吸着又は吸収させるステップを含む方法に関する。

#### 【0097】

ある実施形態において、第1の流体は、断片化した抗体、凝集した抗体、宿主細胞タンパク質、ポリヌクレオチド、内毒素、又はウイルスをさらに含む。

40

#### 【0098】

ある実施形態において、本発明は、第1の流体の流体流路が複合材料のマクロ孔を実質的に通る、前述の方法のいずれか1つに関する。

#### 【0099】

ある実施形態において、本発明は、  
第2の流速で、第2の流体を複合材料上に吸着又は吸収されている物質と接触させ、それによって物質の第1の部分を複合材料から放出するステップをさらに含む、前述の方法のいずれか1つに関する。

#### 【0100】

ある実施形態において、本発明は、第2の流体の流体流路が複合材料のマクロ孔を実質

50

的に通る、前述の方法のいずれか1つに関する。

【0101】

ある実施形態において、本発明は、

第3の流速で、第3の流体を、複合材料に吸着又は吸収されている物質と接触させ、それによって物質の第2の部分を複合材料から放出するステップをさらに含む、前述の方法のいずれか1つに関する。

【0102】

ある実施形態において、本発明は、物質が生物学的分子又は生物学的イオンである、前述の方法のいずれか1つに関する。

【0103】

ある実施形態において、本発明は、生物学的分子又は生物学的イオンが、アルブミン、リゾチーム、ウイルス、細胞、ヒト及び動物起源の $\alpha$ -グロブリン、ヒト及び動物起源の免疫グロブリン、組換え及び天然起源のタンパク質、合成及び天然起源のポリペプチド、インターロイキン-2及びその受容体、酵素、モノクローナル抗体、トリプシン及びその阻害物質、チトクロームC、ミオグロビン、ミオグロブリン、 $\alpha$ -キモトリプシノーゲン、組換えヒトインターロイキン、組換え融合タンパク質、核酸由来生成物、合成及び天然起源のDNA、並びに合成及び天然起源のRNAからなる群から選択される、前述の方法のいずれか1つに関する。

【0104】

ある実施形態において、本発明は、生物学的分子又は生物学的イオンが、リゾチーム、hIgG、ミオグロビン、ヒト血清アルブミン、ダイズトリプシン阻害物質、トランスファーリング(transferring)、エノラーゼ、オバルブミン、リボヌクレアーゼ、卵トリプシン阻害物質、チトクロームC、アネキシンV、又は $\alpha$ -キモトリプシノーゲンである、前述の方法のいずれか1つに関する。

【0105】

ある実施形態において、本発明は、第1の流体がバッファーである、前述の方法のいずれか1つに関する。ある実施形態において、本発明は、第1の流体中のバッファーの濃度が約5mM、約10mM、約15mM、約20mM、約25mM、約30mM、約35mM、約40mM、約50mM、約60mM、約70mM、約75mM、約80mM、約85mM、約90mM、約95mM、約0.1M、約0.11M、約0.12M、約0.13M、約0.14M、約0.15M、約0.16M、約0.17M、約0.18M、約0.19M又は約0.2Mである、前述の方法のいずれか1つに関する。ある実施形態において、本発明は、第1の流体のpHが約2、約2.5、約3、約3.5、約4、約4.5、約5、約5.5、約6、約7、約8、又は約9である、前述の方法のいずれか1つに関する。

【0106】

ある実施形態において、本発明は、第1の流体が酢酸ナトリウムを含む、前述の方法のいずれか1つに関する。ある実施形態において、本発明は、第1の流体がクエン酸ナトリウムを含む、前述の方法のいずれか1つに関する。ある実施形態において、本発明は、第1の流体が2-(N-モルフォリノ)エタンスルホン酸を含む、前述の方法のいずれか1つに関する。

【0107】

ある実施形態において、本発明は、第1の流体中の物質濃度が約0.2mg/mLから約10mg/mLである、前述の方法のいずれか1つに関する。ある実施形態において、本発明は、第1の流体中の物質濃度が約0.2mg/mL、約0.3mg/mL、約0.4mg/mL、約0.5mg/mL、約0.6mg/mL、約0.7mg/mL、約0.8mg/mL、約0.9mg/mL、約1mg/mL、約1.2mg/mL、約1.4mg/mL、約1.6mg/mL、約1.8mg/mL、約2mg/mL、約3mg/mL、約4mg/mL、約5mg/mL、約6mg/mL、約7mg/mL、約8mg/mL、約9mg/mL又は約10mg/mLである、前述の方法のいずれか1つに関する。

【0108】

ある実施形態において、本発明は、第1の流速が最大約50総容積(bed volume)/分である、前述の方法のいずれか1つに関する。ある実施形態において、本発明は、第1の流速が約5総容積/分、約10総容積/分、約20総容積/分、約30総容積/分、約40総容積/分、又は約50

10

20

30

40

50

総容積/分である、前述の方法のいずれか1つに関する。

【0109】

ある実施形態において、本発明は、第1の流速が約0.5mL/分から約2mL/分である、前述の方法のいずれか1つに関する。ある実施形態において、本発明は、第1の流速が約0.5mL/分、約0.6mL/分、約0.7mL/分、約0.8mL/分、約0.9mL/分、約1mL/分、約1.1mL/分、約1.2mL/分、約1.3mL/分、約1.4mL/分、約1.5mL/分、約1.6mL/分、約1.7mL/分、又は約1.8mL/分である、前述の方法のいずれか1つに関する。

【0110】

ある実施形態において、本発明は、第2の流体がバッファーである、前述の方法のいずれか1つに関する。ある実施形態において、本発明は、第2の流体が2-(N-モルフォリノ)エタンスルホン酸又は酢酸ナトリウムを含む、前述の方法のいずれか1つに関する。ある実施形態において、本発明は、第2の流体が2-(N-モルフォリノ)エタンスルホン酸又は酢酸ナトリウムを約5mMから約2Mの濃度で含む、前述の方法のいずれか1つに関する。ある実施形態において、本発明は、第2の流体が2-(N-モルフォリノ)エタンスルホン酸又は酢酸ナトリウムを、約5mM、約10mM、約20mM、約30mM、約40mM、約50mM、約60mM、約70mM、約80mM、約90mM、約100mM、約125mM、約150mM、約200mM、約300mM又は約400mMの濃度で含む、前述の方法のいずれか1つに関する。

10

【0111】

ある実施形態において、本発明は、第2の流体のpHが約4から約8である、前述の方法のいずれか1つに関する。ある実施形態において、本発明は、第2の流体のpHが約4、約4.2、約4.4、約4.6、約4.8、約5、約5.2、約5.4、約5.5、約5.6、約5.7、約5.8、約5.9、約6、約6.2、又は約6.4である、前述の方法のいずれか1つに関する。

20

【0112】

ある実施形態において、本発明は、第2の流体が塩を含む、前述の方法のいずれか1つに関する。ある実施形態において、本発明は、塩がグリシン-HCl、NaCl、及びNH<sub>4</sub>Clからなる群から選択される、前述の方法のいずれか1つに関する。ある実施形態において、本発明は、第2の流体中の塩濃度が約70mMから約2Mである、前述の方法のいずれか1つに関する。ある実施形態において、本発明は、塩濃度が約70mM、約80mM、約90mM、約100mM、約110mM、約115mM、約120mM、約125mM、約130mM、約135mM、約140mM、約145mM、約150mM、約160mM、約170mM、約180mM、約190mM、約200mM、約250mM、約300mM、約350mM、約400mM、約450mM、約500mM、約550mM、約600mM、約650mM、約700mM、約750mM、約800mM、約850mM、約900mM、約950mM、約1M、約1.1M、約1.2M、約1.3M、約1.4M、約1.5M、約1.6M、約1.7M、約1.8M、約1.9M、又は約2Mである、前述の方法のいずれか1つに関する。

30

【0113】

ある実施形態において、本発明は、第3の流体がバッファーである、前述の方法のいずれか1つに関する。

【0114】

ある実施形態において、本発明は、複合材料を洗浄するステップと、前述のステップを繰り返すステップとをさらに含む、前述の方法のいずれか1つに関する。

40

【0115】

ある実施形態において、本発明は、複合材料が塩基性溶液で洗浄される、前述の方法のいずれか1つに関する。ある実施形態において、本発明は、複合材料が第4の流体で洗浄され、第4の流体が水酸化ナトリウムを含む、前述の方法のいずれか1つに関する。

【0116】

ある実施形態において、本発明は、実質的に全ての物質が複合材料上に吸着又は吸収される、前述の方法のいずれか1つに関する。

【0117】

ある実施形態において、本発明は、

50

物質及び不要材料を含む第1の流体を前述の複合材料のいずれか1つと第1の流速で接触させ、それによって不要材料の一部分を複合材料上に吸着又は吸収させるステップを含む方法に関する。

【0118】

ある実施形態において、本発明は、不要材料が、断片化した抗体、凝集した抗体、宿主細胞タンパク質、ポリヌクレオチド、内毒素、又はウイルスを含む、前述の方法のいずれか1つに関する。

【0119】

ある実施形態において、本発明は、実質的に全ての不要材料が複合材料上に吸着又は吸収される、前述の方法のいずれか1つに関する。

10

【0120】

ある実施形態において、本発明は、第1の液体の流体流路が複合材料のマクロ孔を実質的に通る、前述の方法のいずれか1つに関する。

【0121】

ある実施形態において、本発明は、物質が生物学的分子又は生物学的イオンである、前述の方法のいずれか1つに関する。

【0122】

ある実施形態において、本発明は、生物学的分子又は生物学的イオンが、アルブミン、リゾチーム、ウイルス、細胞、ヒト及び動物起源の - グロブリン、ヒト及び動物起源の免疫グロブリン、組換え及び天然起源のタンパク質、合成及び天然起源のポリペプチド、インターロイキン-2及びその受容体、酵素、モノクローナル抗体、トリプシン及びその阻害物質、チトクロームC、ミオグロビン、ミオグロブリン、 - キモトリプシノーゲン、組換えヒトインターロイキン、組換え融合タンパク質、核酸由来生成物、合成及び天然起源のDNA、並びに合成及び天然起源のRNAからなる群から選択される、前述の方法のいずれか1つに関する。

20

【0123】

ある実施形態において、本発明は、生物学的分子又は生物学的イオンが、リゾチーム、hIgG、ミオグロビン、ヒト血清アルブミン、ダイズトリプシン阻害物質、トランスファーリング(transferring)、エノラーゼ、オバルブミン、リボヌクレアーゼ、卵トリプシン阻害物質、チトクロームc、アネキシンV、又は - キモトリプシノーゲンである、前述の方法のいずれか1つに関する。

30

【0124】

ある実施形態において、本発明は、第1の流体がバッファーである、前述の方法のいずれか1つに関する。ある実施形態において、本発明は、第1の流体中のバッファーの濃度が約20mM、約30mM、約40mM、約50mM、約60mM、約70mM、約75mM、約80mM、約85mM、約90mM、約95mM、約0.1M、約0.11M、約0.12M、約0.13M、約0.14M、約0.15M、約0.16M、約0.17M、約0.18M、約0.19M又は約0.2Mである、前述の方法のいずれか1つに関する。

40

【0125】

ある実施形態において、本発明は、第1の流体が酢酸ナトリウムを含む、前述の方法のいずれか1つに関する。ある実施形態において、本発明は、第1の流体がクエン酸ナトリウムを含む、前述の方法のいずれか1つに関する。ある実施形態において、本発明は、第1の流体がリン酸ナトリウム、トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタン、トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタンHCl、又は2-(N-モルフォリノ)エタансルホン酸を含む、前述の方法のいずれか1つに関する。

【0126】

ある実施形態において、本発明は、第1の流体が塩を含む、前述の方法のいずれか1つに関する。ある実施形態において、本発明は、塩がグリシン-HCl、NaCl、及びNH<sub>4</sub>Clからなる群から選択される、前述の方法のいずれか1つに関する。ある実施形態において、本発明は、第1の流体が塩化ナトリウムを含む、前述の方法のいずれか1つに関する。ある実施形態において、本発明は、第1の流体が塩化ナトリウムを約10mMから約600mMの濃度で含む

50

、前述の方法のいずれか1つに関する。ある実施形態において、本発明は、第1の流体が塩化ナトリウムを約50mM、約75mM、約100mM、約125mM、約150mM、約175mM、約200mM、約225mM、約250mM、約275mM、約300mM、約325mM、約350mM、約375mM、約400mM、約425mM、約450mM、約475mM、約500mM又は約525mMの濃度で含む、前述の方法のいずれか1つに関する。

#### 【0127】

ある実施形態において、本発明は、第1の流速が約0.5mL/分から約2mL/分である、前述の方法のいずれか1つに関する。ある実施形態において、本発明は、第1の流速が約0.5mL/分、約0.6mL/分、約0.7mL/分、約0.8mL/分、約0.9mL/分、約1mL/分、約1.1mL/分、約1.2mL/分、約1.3mL/分、約1.4mL/分、約1.5mL/分、約1.6mL/分、約1.7mL/分、又は約1.8mL/分である、前述の方法のいずれか1つに関する。

10

#### 【0128】

ある実施形態において、本発明は、第1の流体が浄化された細胞培養上清である、前述の方法のいずれか1つに関する。

#### 【0129】

ある実施形態において、本発明は、  
第1のモノマー、光開始剤、架橋剤及び溶媒を合わせ、但し第1のモノマーはエステル官能性を含まず、架橋剤はエステル官能性を含まず、それによってモノマー混合物を形成するステップと、

支持部材をモノマー混合物と接触させ、それによって修飾された支持部材を形成するステップであって、支持部材が支持部材を貫いて伸びている複数の孔を含み、孔の平均孔直径が約0.1から約25μmであるステップと、

修飾された支持部材をポリマーシートで覆い、それによって、覆われた支持部材を形成するステップと、

覆われた支持部材をある期間照射し、それによって複合材料を形成するステップとを含む、複合材料を作成する方法に関する。

20

#### 【0130】

ある実施形態において、本発明は、複合材料を第2の溶媒で洗浄し、それによって洗浄済み複合材料を形成するステップをさらに含む、前述の方法のいずれか1つに関する。ある実施形態において、第2の溶媒は水である。

30

#### 【0131】

ある実施形態において、本発明は、複合材料又は洗浄済み複合材料を塩溶液と接触させるステップをさらに含む、前述の方法のいずれか1つに関する。

#### 【0132】

ある実施形態において、塩溶液は塩化ナトリウムを含む。ある実施形態において、塩溶液は塩化ナトリウムを約0.05Nから約5Nの濃度で含む。ある実施形態において、塩溶液は塩化ナトリウムを約0.06N、約0.07N、約0.08N、約0.09N、約0.1N、約0.11N、約0.12N、約0.13N、約0.14N、約0.15N、約0.18N、約0.2N、約0.22N、約0.24N、約0.26N、約0.28N、約0.3N、約0.32N、約0.34N、約0.36N、約0.38N、約0.4N、約0.42N、約0.44N、約0.46N、約0.48N、約0.5N、約0.6N、約0.7N、約0.8N、約0.9N、約1N、約1.5N、約2N、約2.5N、約3N、約3.5N、約4N、約4.5N、又は約5Nの濃度で含む。

40

#### 【0133】

ある実施形態において、本発明は、過剰のモノマー混合物を、覆われた支持部材から除去するステップをさらに含む、前述の方法のいずれか1つに関する。

#### 【0134】

ある実施形態において、本発明は、モノマー混合物がアクリル酸、アクリルアミド、N-アクリルオキシスクシンイミド、N,N-ジエチルアクリルアミド、N,N-ジメチルアクリルアミド、N-[3-(N,N-ジメチルアミノ)プロピル]メタクリルアミド、N,N-ジメチルアクリルアミド、メタクリルアミド、N-イソプロピルアクリルアミド、スチレン、4-ビニルピリジン、ビニルスルホン酸、N-ビニル-2-ピロリジノン(VP)、アクリルアミド-2-メチル-1-プロパンスルホン酸、N-(ヒドロキシメチル)アクリルアミド、N-(イソブトキシメチル)アクリ

50

ルアミド、N-(ヒドロキシエチル)アクリルアミド、N-(3-メトキシプロピル)アクリルアミド、2-アクリルアミドグリコール酸、N-ビニルホルムアミド、N-[トリス(ヒドロキシメチル)メチル]アクリルアミド、3-アクリロイルアミノ-1-プロパノール、スチレンスルホン酸、(3-アクリルアミドプロピル)トリメチルアンモニウムハロゲン化物、ジアリルジメチルアンモニウムハロゲン化物、4-ビニル-N-メチルピリジニウムハロゲン化物、ビニルベンジル-N-トリメチルアンモニウムハロゲン化物、メタクリルオキシエチルトリメチルアンモニウムハロゲン化物、N-アクリルアミドポリエチレンイミン、N-メタクリルアミドポリエチレンイミン、N-アクリルアミド4鎖アミン末端ポリ(エチレンオキシド)、N-メタクリルアミド4鎖アミン末端ポリ(エチレンオキシド)、N-アクリルアミドトリメチロールプロパントリス[ポリ(プロピレングリコール)アミン末端]エーテル、N-メタクリルアミドトリメチロールプロパントリス[ポリ(プロピレングリコール)アミン末端]エーテル、N-アクリルアミドアミン末端ポリ(N-イソプロピルアクリルアミド)、N-メタクリルアミドアミン末端ポリ(N-イソプロピルアクリルアミド)、N-アクリルアミドポリ-L-アルギニンヒドロクロリド、N-メタクリルアミドポリ-L-アルギニンヒドロクロリド、N-アクリルアミドポリ(エチレングリコール)ビス(アミン)、N-メタクリルアミドポリ(エチレングリコール)ビス(アミン)、N-アクリルアミドポリ(アリルアミンヒドロクロリド)、N-メタクリルアミドポリ(アリルアミンヒドロクロリド)、N-アクリルアミドポリ(ジメチルアミン-co-エピクロロヒドリン-co-エチレンジアンミン)、N-メタクリルアミドポリ(ジメチルアミン-co-エピクロロヒドリン-co-エチレンジアンミン)、又はジアセトンアクリルアミドを含む、前述の方法のいずれか1つに関する。

10

20

30

40

## 【0135】

ある実施形態において、本発明は、モノマー混合物がアミン含有化合物及びアクリロイルクロリド、3-エトキシアクリロイルクロリド、4-メトキシシンナモイルクロリド、又は3-アクリロイル-1,3-オキサゾリジン-2-オンを含む、前述の方法のいずれか1つに関する。ある実施形態において、アミン含有化合物はポリエチレンイミン、4鎖アミン末端ポリ(エチレンオキシド)、トリメチロールプロパントリス[ポリ(プロピレングリコール)、アミン末端]エーテル、アミン末端ポリ(N-イソプロピルアクリルアミド)、ポリ-L-アルギニンヒドロクロリド、ポリ(エチレングリコール)ビス(アミン)、ポリ(アリルアミンヒドロクロリド)、又はポリ(ジメチルアミン-co-エピクロロヒドリン-co-エチレンジアンミン)である。

## 【0136】

ある実施形態において、本発明は、モノマー混合物が、ビスアクリルアミド酢酸、2,2-ビス[4-(2-アクリルオキシエトキシ)フェニル]プロパン、2,2-ビス(4-メタクリルオキシフェニル)プロパン、1,4-ブタンジオールジビニルエーテル、1,4-ジアクリロイルピペラジン、ジアリルフタレート、N,N-デカメチレンビスアクリルアミド、ジビニルベンゼン、グリセロールトリス(アクリルオキシプロピル)エーテル、N,N'-ヘキサメチレンビスアクリルアミド、トリエチレングリコールジビニルエーテル、ジアリルジグリコールカーボネート、ポリ(エチレングリコール)ジビニルエーテル、N,N'-ジメタクリロイルピペラジン、ジビニルグリコール、N,N'-メチレンビスアクリルアミド、N,N'-エチレンビス(アクリルアミド)、N,N'-(1,2-ジヒドロキシエチレン)ビス-アクリルアミド、N,N'-ヘキサメチレンビス(メタクリルアミド)、N,N'-オクタメチレンビスアクリルアミド、N,N'-ジメタクリロイルピペラジン、1,3,5-トリアクリロイルヘキサヒドロ-1,3,5-トリアジン、及びジビニルベンゼンを含む、前述の方法のいずれか1つに関する。

## 【0137】

ある実施形態において、本発明は、モノマー混合物がN,N'-メチレンビスアクリルアミド、N,N'-ヘキサメチレンビス(メタクリルアミド)、1,3,5-トリアクリロイルヘキサヒドロ-1,3,5-トリアジン、又はジビニルベンゼンを含む、前述の方法のいずれか1つに関する。

## 【0138】

ある実施形態において、本発明は、モノマー混合物が複数のモノマーを含む、前述の方

50

法のいずれか1つに関する。ある実施形態において、本発明は、モノマー混合物が第2のモノマーをさらに含む、前述の方法のいずれか1つに関する。

【0139】

ある実施形態において、本発明は、複合材料が前述の複合材料のいずれか1つである、前述の方法のいずれか1つに関する。

【0140】

ある実施形態において、本発明は、モノマーが溶媒中に合計で約6重量%から約38重量%(w/w)存在する、前述の方法のいずれか1つに関する。

【0141】

ある実施形態において、本発明は、モノマーが溶媒中に合計で約6%、約7%、約8%、約9%、約10%、約11%、約12%、約13%、約14%、約15%、約16%、約17%、約18%、約19%、約20%、約21%、約22%、約23%、約24%、約25%、約26%、約27%、約28%、約29%、約30%、約31%、約32%、約33%、約34%、約35%、約36%、約37%、又は約38%(w/w)の量で存在する、前述の方法のいずれか1つに関する。

【0142】

ある実施形態において、本発明は、光開始剤が、モノマー混合物中にモノマーの全重量に対して約0.1%(w/w)～約2.5%(w/w)の量存在する、前述の方法のいずれか1つに関する。

【0143】

ある実施形態において、本発明は、光開始剤が、モノマー混合物中にモノマーの全重量に対して約0.1%、約0.2%、約0.3%、約0.4%、約0.5%、約0.6%、約0.8%、約1.0%、約1.2%、又は約1.4%(w/w)存在する、前述の方法のいずれか1つに関する。

【0144】

ある実施形態において、本発明は、光開始剤が、1-[4-(2-ヒドロキシエトキシ)-フェニル]-2-ヒドロキシ-2-メチル-1-プロパン-1-オン、2,2-ジメトキシ-2-フェニルアセトフェノン、ベンゾフェノン、ベンゾイン及びベンゾインエーテル、ジアルコキシアセトフェノン、ヒドロキシアルキルフェノン、及び -ヒドロキシメチルベンゾインスルホン酸エステルからなる群から選択される、前述の方法のいずれか1つに関する。

【0145】

ある実施形態において、本発明は、溶媒が1,3-ブタンジオール、ジ(プロピレングリコール)プロピルエーテル、N,N-ジメチルアセトアミド、ジ(プロピレングリコール)ジメチルエーテル、1,2-プロパンジオール、ジ(プロピレングリコール)メチルエーテルアセテート(DPMA)、水、ジオキサン、ジメチルスルホキシド(DMSO)、ジメチルホルムアミド(DMF)、アセトン、エタノール、N-メチルピロリジン(NMP)、テトラヒドロフラン(THF)、酢酸エチル、アセトニトリル、N-メチルアセトアミド、プロパノール、トリ(プロピレングリコール)プロピルエーテル、トリ(プロピレングリコール)ブチルエーテル、ジ(プロピレングリコール)プロピルエーテル、又はメタノールを含む、前述の方法のいずれか1つに関する。

【0146】

ある実施形態において、本発明は、溶媒がN,N-ジメチルアセトアミドを含む、前述の方法のいずれか1つに関する。ある実施形態において、本発明は、溶媒がN,N-ジメチルアセトアミドを約15重量%から約44重量%の量含む、前述の方法のいずれか1つに関する。ある実施形態において、本発明は、溶媒がN,N-ジメチルアセトアミドを約20重量%、約21重量%、約22重量%、約23重量%、約24重量%、約25重量%、約26重量%、約27重量%、約28重量%、約29重量%、約30重量%、約31重量%、約32重量%、約33重量%、約34重量%、約35重量%、約36重量%、約37重量%、約38重量%、約39重量%、約40重量%、約42重量%、又は約44重量%含む、前述の方法のいずれか1つに関する。

【0147】

ある実施形態において、本発明は、溶媒がジ(プロピレングリコール)メチルエーテルアセテートを含む、前述の方法のいずれか1つに関する。ある実施形態において、本発明は、溶媒がジ(プロピレングリコール)メチルエーテルアセテートを約15重量%から約80重量%

の量含む、前述の方法のいずれか1つに関する。ある実施形態において、本発明は、溶媒がジ(プロピレングリコール)メチルエーテルアセテートを約20重量%、約21重量%、約22重量%、約23重量%、約24重量%、約25重量%、約26重量%、約27重量%、約28重量%、約29重量%、約30重量%、約31重量%、約32重量%、約33重量%、約34重量%、約35重量%、約36重量%、約37重量%、約38重量%、約39重量%、約40重量%、約42重量%、約44重量%、約46重量%、約48重量%、約50重量%、約55重量%、約60重量%、約65重量%、約70重量%、約75重量%、又は約80重量%含む、前述の方法のいずれか1つに関する。

#### 【0148】

ある実施形態において、本発明は、溶媒が1,3-ブタンジオールを含む、前述の方法のいずれか1つに関する。ある実施形態において、本発明は、溶媒が1,3-ブタンジオールを約0.5重量%から約6重量%の量含む、前述の方法のいずれか1つに関する。ある実施形態において、本発明は、溶媒が1,3-ブタンジオールを約0.5重量%、約1重量%、約1.5重量%、約2重量%、約2.5重量%、約3重量%、約3.5重量%、約4重量%、約4.5重量%又は約5重量%含む、前述の方法のいずれか1つに関する。

10

#### 【0149】

ある実施形態において、本発明は、溶媒が水を含む、前述の方法のいずれか1つに関する。ある実施形態において、本発明は、溶媒が水を約0.5重量%から約6重量%の量含む、前述の方法のいずれか1つに関する。ある実施形態において、本発明は、溶媒が水を約0.5重量%、約1重量%、約1.5重量%、約2重量%、約2.5重量%、約3重量%、約3.5重量%、約4重量%、約4.5重量%又は約5重量%含む、前述の方法のいずれか1つに関する。

20

#### 【0150】

ある実施形態において、本発明は、溶媒がジ(プロピレングリコール)ジメチルエーテルを含む、前述の方法のいずれか1つに関する。ある実施形態において、本発明は、溶媒がジ(プロピレングリコール)ジメチルエーテルを約1重量%から約75重量%の量含む、前述の方法のいずれか1つに関する。ある実施形態において、本発明は、溶媒がジ(プロピレングリコール)ジメチルエーテルを約1重量%、約1.5重量%、約2重量%、約2.5重量%、約3重量%、約3.5重量%、約4重量%、約4.5重量%、約5重量%、約10重量%、約15重量%、約20重量%、約25重量%、約30重量%、約35重量%、約40重量%、約45重量%、約50重量%、約55重量%、約60重量%、約65重量%、約70重量%又は約75重量%含む、前述の方法のいずれか1つに関する。

30

#### 【0151】

ある実施形態において、本発明は、溶媒がトリ(プロピレングリコール)ブチルエーテルを含む、前述の方法のいずれか1つに関する。ある実施形態において、本発明は、溶媒がトリ(プロピレングリコール)ブチルエーテルを約3重量%から約60重量%の量で含む、前述の方法のいずれか1つに関する。ある実施形態において、本発明は、溶媒がトリ(プロピレングリコール)ブチルエーテルを約3重量%、約3.5重量%、約4重量%、約4.5重量%、約5重量%、約10重量%、約15重量%、約20重量%、約25重量%、約30重量%、約35重量%、約40重量%、約45重量%、約50重量%、約55重量%又は約60重量%含む、前述の方法のいずれか1つに関する。

#### 【0152】

ある実施形態において、本発明は、溶媒がジ(プロピレングリコール)プロピルエーテルを含む、前述の方法のいずれか1つに関する。ある実施形態において、本発明は、溶媒がジ(プロピレングリコール)プロピルエーテルを約1重量%から約30重量%の量含む、前述の方法のいずれか1つに関する。ある実施形態において、本発明は、溶媒がジ(プロピレングリコール)プロピルエーテルを約1重量%、約1.5重量%、約2重量%、約2.5重量%、約3重量%、約3.5重量%、約4重量%、約4.5重量%、約5重量%、約10重量%、約15重量%、約20重量%、約25重量%又は約30重量%含む、前述の方法のいずれか1つに関する。

40

#### 【0153】

ある実施形態において、本発明は、架橋剤が溶媒中に約0.3%から約4%(w/w)存在する、前述の方法のいずれか1つに関する。

#### 【0154】

50

ある実施形態において、本発明は、架橋剤が溶媒中に約0.3%、約0.4%、約0.5%、約0.6%、約0.7%、約0.8%、約0.9%、約1%、約1.1%、約1.2%、約1.3%、約1.4%、約1.5%、約1.6%、約1.7%、約1.8%、約1.9%、約2%、約2.2%、約2.4%、約2.6%、約2.8%、約3%、約3.2%、約3.4%、約3.6%、約3.8%、又は約4%(w/w)の割合で存在する、前述の方法のいずれか1つに関する。

#### 【0155】

ある実施形態において、本発明は、覆われた支持部材が約350nmで照射される、前述の方法のいずれか1つに関する。

#### 【0156】

ある実施形態において、本発明は、期間が約1分、約5分、約10分、約15分、約20分、約30分、約45分、又は約1時間である、前述の方法のいずれか1つに関する。 10

#### 【0157】

ある実施形態において、本発明は、複合材料がマクロ孔を含む、前述の方法のいずれか1つに関する。

#### 【0158】

ある実施形態において、本発明は、マクロ孔の平均孔直径が孔の平均孔直径より小さい、前述の方法のいずれか1つに関する。

#### 【0159】

#### [実施例]

本発明を説明するために以下の実施例を提供する。しかし、各実施例において与える特定の詳細は説明の目的で選択されているものであり、本発明の範囲を限定するものと解釈してはならないことが理解されよう。一般に、実施例は、記載がない場合は同様の条件下で行われたものである。 20

#### 【0160】

#### [実施例1]

##### 一般的な材料及び方法

###### 化学物質(Aldrich社から調達)

2-アクリルアミド-2-メチル-1-プロパンスルホン酸(AMPS)、N-(ヒドロキシメチル)アクリルアミド溶液(48%水溶液)、N-(イソブトキシメチル)アクリルアミド、N,N'-ヘキサメチレンビス(メタクリルアミド)、1,3,5-トリアクリロイルヘキサヒドロ-1,3,5-トリアジン、N,N'-ジメチルアセトアミド(DMAC)、ジ(プロピレングリコール)ジメチルエーテル異性体混合物(DPM)、ジ(プロピレングリコール)メチルエーテルアセテート(DPMA)、トリ(プロピレングリコール)ブチルエーテル異性体混合物、ジ(プロピレングリコール)プロピルエーテル異性体混合物。(±)-1,3-ブタンジオール(Budiol)、4-(2-ヒドロキシエトキシ)フェニル-(2-ヒドロキシ-2-プロピル)ケトン(IRGACURE 2959)。酢酸ナトリウム三水和物、酢酸(氷酢酸)、2-(N-モルフォリノ)エタンスルホン酸(MES)。 30

#### 【0161】

###### タンパク質:

多クローン性免疫 - グロブリン IgG(Equitech社)、卵リゾチーム(Sigma-Aldrich社)。

#### 【0162】

###### 膜の作成

モノマー及び架橋剤を特定の溶媒混合物に添加し、さらにIrgacure開始剤も加え、そして全ての成分が溶液系中で適切に溶解している状態を確保できる十分な時間にわたり混合物を攪拌した。7インチ×7インチの基質シート(ポリプロピレン)をポリエチレンシート上に置き、次いで15gのポリマー溶液を基質シートに取り込んだ後、含浸した基質をもう1枚のポリエチレンシートで覆った。手を円形に動かしながらシートをそっと圧迫して、過剰の溶液と混入気泡を除去した。サンドイッチ状のシートを室に入れて密閉し、10分間にわたりUV照射(約350nm)を加えることにより、重合プロセスを開始した。その結果得られた膜をポリエチレンシート被覆から除去し、RO水を使用して洗浄し、食塩水に浸漬し(2MのNaCl、30分間)、そして攪拌しながらRO水で洗浄した(2-3回)。清浄な膜を、オープン(50 40

)に30分間入れておく、若しくは周囲条件の空中に約16時間吊して放置しておくことにより、乾燥させた。

#### 【0163】

##### 結合能測定

a) IgG結合: 25mmの膜ディスクを25mmのNatrix-SSホルダーに装着し、20mLの結合バッファー(20mM、pH5.0のクエン酸ナトリウム)を通して、平衡状態に到達させた。次いで結合バッファー中0.5mg/mLの多クローン性IgG(Equitech社製)のタンパク質溶液を、流出液のUV吸光度が供給溶液の10%を超えるまで通過させ、次いで10~15mLのバッファーをセルに通して未結合タンパク質を洗い流した。溶出ステップにおいて、10mLの溶出バッファー(20mMの酢酸ナトリウム、1MのNaCl、pH5.0)を通すことにより、結合IgGを溶出させた。

10

#### 【0164】

b) リゾチーム結合: 25mmの膜ディスクを25mmのNatrix-SSホルダーに装着し、20mLの結合バッファー(10mM、pH5.5のMES)を通して、平衡状態に到達させた。次いで結合バッファー中0.5mg/mLの(卵からの)リゾチーム(Sigma-Aldrich社製)のタンパク質溶液を、流出物のUV吸光度が供給溶液の10%を超えるまで通過させ、次いで10~15mLのバッファーをセルに通して未結合タンパク質を洗い流した。溶出ステップにおいて、10mLの溶出バッファー(10mMのMES、1MのNaCl、pH5.5)を通すことにより、結合タンパク質を溶出させた。

#### 【0165】

c) 多重サイクルIgG結合: Akta Explorer(GE社製)という機器を使用して実験を行った。25mmの膜ディスクを25mmのNatrix-SSホルダーに装着し、機器へ接続した。5mLの水酸化ナトリウム溶液(0.5mL)を、1mL/分の流速にて膜に通した。次いで200mMの酢酸ナトリウムバッファー(pH5.0)を10mL、1mL/分で膜に通してゲル内のpHレベルを元に戻し、次いで30mLの結合バッファー(20mM、pH5.0のクエン酸ナトリウム)を通して平衡状態に到達させた。次いで、結合バッファー中0.5mg/mLの多クローン性IgG (Equitech社製)のタンパク質溶液16~18mLを、流出液のUV吸光度が供給溶液の10%を超えるまで通過させ、次いで10mLのバッファーをセルに通して未結合タンパク質を洗い流した。溶出ステップにおいて、10mLの溶出バッファー(20mMの酢酸ナトリウム、1MのNaCl、pH5.0)の通過により、結合IgGを溶出させた。通過、洗浄及び溶出画分を採取し、UV吸光度(280nmでの)を測定して、補足及び溶出されたタンパク質量を判定し、回収率を推定した。

20

#### 【0166】

##### 孔サイズ測定

##### 実験手順

膜の孔サイズ(即ち直径)を、毛細管流動ポロメーターCFP-1500-AE(Porous Materials社(ニューヨーク州イサカ)製)を使用し、CapWin(V.6)というソフトウェアで操作して測定した。蒸留水を試験溶液として使用した。

30

#### 【0167】

膜の小型ディスク(直径2.5cm)を蒸留水に10分間浸漬し、次いでこれを予め湿らせた2枚のろ紙ディスク(Whatman社製、5~70mm)で挟み、そっと絞って過剰の水分を除去し、次いで湿潤膜の厚さをマイクロメーターを使用して測定した。次いで膜ディスクを2.5cmのステンレススチール製メッシュ支持ディスクに装着した。試験膜を取り付けた支持ディスクを指定のホルダーに装着し、膜が上を向く状態にした。次いで金属製カバーをホルダーにそっと取り付け、0~200psiの圧力範囲内で試験を行った。

40

#### 【0168】

##### ポロメトリーデータ

孔サイズ測定を、複数の膜配合試料(配合データは図34と図38に記載)について行った。下記の膜配合それぞれについて、2~3個の試料を検証した。平均流入孔サイズ測定結果を判定し、これらの結果が、対応する10%ブレークスルーでのヒトIgGの動的結合能(DBC)及び緩衝溶液流束と併せて提示されている。記載データは全て、平均測定結果±標準偏差である。図64を参照のこと。

#### 【0169】

50

## [実施例2]

アクリレート架橋剤を使用して作成された膜の腐食安定性

典型的なS膜(強陽イオン交換)重合混合物は、1.695g(11.3重量%)の2-アクリルアミド-2-メチル-1-プロパンスルホン酸(AMPS)、0.194g(1.29重量%)のトリメチロールプロパントリアクリレート(TRIM-A)、0.03g(0.2重量%)のIrgacure開始剤、3.923g(26.15重量%)のN,N'-ジメチルアセトアミド(DMAc)、8,874g(59.16重量%)のジ(プロピレングリコール)メチルエーテルアセテート(DPMA)、及び0.285g(1.9重量%)のDI水からなる。

## 【0170】

S膜及びC膜の膜クーポン(直径77cm)(膜内のマクロ多孔性架橋ゲルがアクリレートベースの架橋剤で架橋されている)を、室温で1M及び0.1Mの水酸化ナトリウム溶液に4時間及び24時間にわたり浸漬し、次いで流束と、一部の事例において結合能を測定した(水及び/又は緩衝溶液を使用)。

## 【0171】

結果から察するに、図13及び図14に記載の通り、水酸化ナトリウム溶液への曝露は、流束低下から示唆される通り、膜透過性を低減させる。塩基が膜に及ぼす劣化効果は、曝露時間及び/又は塩基溶液濃度により増幅された。

## 【0172】

## [実施例3]

AMPS及びBis架橋剤を使用して作成された塩基安定性膜

複数の溶媒系について、官能性モノマーとしての2-アクリルアミド-2-メチル-1-プロパンスルホン酸(AMPS)及び架橋剤としてのN,N'-メチレンビス(アクリルアミド)(Bis)を本質的に基本とする配合で検証した。Irgacure(2959)を、UV照射後に重合を開始するための光開始剤として使用した。

## 【0173】

## 溶媒系A1

この溶媒系は、N,N'-ジメチルアセトアミド(DMAc)、ジ(プロピレングリコール)メチルエーテルアセテート(DPMA)、1,3-ブタンジオール(1,3-Budiol)及び脱イオン水(DI水)を含む。この溶媒系を基本とし、一部の成分が異なる配合が、図15に列記されている。

## 【0174】

各配合の重合混合物を、膜の成形に使用する前に十分に配合及び混合した(前述の通り)。各膜クーポンの初期流束(RO水を溶質として使用)を測定し、次いでクーポンを室温で1Mの水酸化ナトリウムに24時間浸漬した後、膜を水で洗い流し、次いで再び流束を測定し、(前と後の)流束比を計算した。(IgG及び/又はリゾチームの)タンパク質結合能も、前述の通り測定した。

## 【0175】

結果は、図16に記載の通り、配合成分の変動により流束や結合能が異なるという結果に至ったにもかかわらず、膜の流束は長時間にわたる腐食溶液への曝露後も影響を受けず、また腐食曝露後に透過性を完全に失った原初のS膜配合(実施例2)と比べ、新規の膜は原初の透過性を保持したことを示唆するものであった。

## 【0176】

## 溶媒系A2

この溶媒系は、N,N'-ジメチルアセトアミド(DMAc)、ジ(プロピレングリコール)ジメチルエーテル異性体混合物(DPM)、トリ(プロピレングリコール)ブチルエーテル異性体混合物(TPGBE)及び脱イオン水(DI水)を含む。この溶媒系を基本とする配合を図17に従って配合し、前述の通り膜を成形及び重合した。

## 【0177】

各膜クーポン(直径7.7 cm)の初期流束を、RO水を溶質として使用して測定した。その後、膜クーポンを室温で1Mの水酸化ナトリウムに24時間浸漬した後、膜をRO水で洗い流し、流束を再測定した。流束の変化を実証するため、(前と後の)流束比を計算した。(IgG及び/又はリゾチームの)タンパク質結合能も、前述の通り測定した。

10

20

30

40

50

## 【0178】

図18に記載の通り、結果は同じく、量の異なるモノマー及び架橋剤から作成された様々な膜が腐食安定性を実証すること、及び配合成分によって決定付けられる膜透過性の多様性に関係なく、各膜が塩基曝露後も原初の透過性を維持する能力があることを示した。

## 【0179】

## 溶媒系A3

この溶媒系は、N,N'-ジメチルアセトアミド(DMAc)、ジ(プロピレングリコール)ジメチルエーテル異性体混合物(DPM)、ジ(プロピレングリコール)プロピルエーテル異性体混合物(DPGPE)及び脱イオン水(DI水)を含む。前述の系同様に、前述の通り、膜配合(図19)を調製し、十分に混合し、成形及び調製に使用した。

10

## 【0180】

各膜ケーポン(直径77cm)の初期流束を、RO水を溶質として使用して測定し、そして膜ケーポンを室温で1Mの水酸化ナトリウムに24時間浸漬した後、膜をRO水で入念に洗い流し、再び流束を測定し、次いで(曝露の前と後の)流束比を計算した。前述の溶媒系同様、(IgG及び/又はリゾチームの)タンパク質結合能も、前述の手順に従って測定した。

20

## 【0181】

結果は、図20に記載の通り、各膜の透過性が、初期の透過性に関係なく、腐食溶液曝露による影響を受けなかったことから、膜の腐食安定性を裏付けるものであった。主にモノマー含有量、架橋度及び溶媒系の混和性によって制御される、膜透過性の多様性に関係なく、各配合は、塩基曝露後も原初の透過性を維持する能力のある膜を提供する結果となつた。

20

## 【0182】

## [実施例4]

AMPS、Bis及び追加のアクリルアミドコモノマーを使用して作成された塩基安定性膜

この一連の実施例では、2つの付加的コモノマー、即ち基本的にメチルアクリルアミド誘導体であるN-(ヒドロキシメチル)アクリルアミド(NHMAA)及びN-(イソブトキシメチル)アクリルアミド(NIBoMAA)を、官能性モノマーとしての2-アクリルアミド-2-メチル-1-プロパンスルホン酸(AMPS)及び架橋剤としてのN,N'-メチレンビス(アクリルアミド)(Bis)を基本とする膜ゲル配合に含めた。試料にUV照射が加えられる時点で重合反応を開始するため、Irgacure(2959)が配合に添加される。この溶媒系には、N,N'-ジメチルアセトアミド(DMAc)、ジ(プロピレングリコール)メチルエーテルアセテート(DPMA)及び脱イオン水(DI)が含まれた。各ゲル配合の組成が図21に記載されている。

30

## 【0183】

前述の実施例同様、各膜の(IgG及び/又はリゾチームについての)膜結合能を測定し、次いで膜の初期流束を測定した後、膜を室温で1Mの水酸化ナトリウムに24時間静止浸漬し、その後、膜を取り出して水で洗い流し、次いで流束を再検証し、(前と後の)流束比を計算した。

40

## 【0184】

図22に記載の通り、3つの配合は全て、高腐食溶液に長時間にわたり曝露されても透過性が影響を受けないことから、安定性を実証した。これらの実施例もやはり、アクリルアミドの架橋剤及びモノマーを配合に使用した場合に、腐食安定性のあるゲル及び膜を作成可能であることを示した。

40

## 【0185】

## [実施例5]

他のアクリルアミド架橋剤を使用して作成された塩基安定性膜

この一連の実施例では、新規の架橋剤を使用して腐食安定性膜を作成する。環状架橋剤である1,3,5-トリアクリロイルヘキサヒドロ-1,3,5-トリアジン、及び二官能性のN,N'-ヘキサメチレンビス(メタクリルアミド)架橋剤を、N,N'-メチレンビス(アクリルアミド)(Bis)架橋剤の代わりに、ゲル配合に使用する。

50

## 【0186】

1,3,5-トリアクリロイルヘキサヒドロ-1,3,5-トリアジン(TACHTA)を架橋剤として使用する膜

2-アクリルアミド-2-メチル-1-プロパンスルホン酸(AMPS)を官能性モノマーとして、1,3,5-トリアクリロイルヘキサヒドロ-1,3,5-トリアジンを架橋剤として、そしてIrgacure(2959)を光開始剤として含む膜を作成した。この溶媒系は、N,N'-ジメチルアセトアミド(DMAc)と、以下に挙げる溶媒を1つ以上含む：ジ(プロピレングリコール)メチルエーテルアセテート(DPMA)、1,3-ブタンジオール(1,3-Budiol)、ジ(プロピレングリコール)ジメチルエーテル異性体混合物(DPM)、トリ(プロピレングリコール)ブチルエーテル異性体混合物(TPGBE)及び脱イオン水(DI)。各ゲル配合の組成が図23に記載されている。

#### 【0187】

10

前述の実施例同様、これらの膜(IgG及び/又はリゾチームを標的分子として使用)の結合用量を判定した。加えて、各膜の初期流束を、直径7.7cmのクーポン及び溶質としてのRO水を使用して判定し、次いで膜クーポンを室温で1Mの水酸化ナトリウム溶液に24時間浸漬した後、膜を取り出し、水で洗い流し、次いで各膜の流束を再検証し、(前と後の)流束比を計算した。

#### 【0188】

20

結果は、図24に記載の通り、全ての膜が、配合の変化に関係なく、濃腐食溶液曝露による有意な影響を受けないことから、透過性を保持する能力があることを実証するものであった。基本的にトリアクリルアミド架橋剤であるTACHTAを使用すると、丈夫な腐食安定性膜を得られる結果となることは明らかである。

#### 【0189】

30

N,N'-ヘキサメチレンビス(メタクリルアミド)(HMBis)を架橋剤として使用する膜

2-アクリルアミド-2-メチル-1-プロパンスルホン酸(AMPS)を官能性モノマーとして、N,N'-ヘキサメチレンビス(メタクリルアミド)を架橋剤として、そしてIrgacure(2959)を光開始剤として含む膜を作成した。この溶媒系は、N,N'-ジメチルアセトアミド(DMAc)と、以下に挙げる溶媒を1つ以上含む：ジ(プロピレングリコール)メチルエーテルアセテート(DPMA)、ジ(プロピレングリコール)ジメチルエーテル異性体混合物(DPM)、ジ(プロピレングリコール)プロピルエーテル異性体混合物(DPGPE)、トリ(プロピレングリコール)ブチルエーテル異性体混合物(TPGBE)及び脱イオン水(DI)。各ゲル配合の組成が図25に記載されている。

#### 【0190】

40

各膜について、タンパク質結合能(多クローン性IgGを標的分子として使用)を判定した。前述の通り、各膜の初期流束を、直径7.7cmのクーポン及び溶質としてのRO水を使用して測定した。膜クーポンを室温で1Mの水酸化ナトリウム溶液に24時間浸漬し、次いでこれらを取り出し、大量の水で洗い流し、次いで各膜の流束を再検証し、(前と後の)流束比を計算した。

#### 【0191】

結果は、図26に記載の通り、これも同じく、全ての膜が、配合の変化や膜透過性及び結合能に関係なく、腐食溶液への曝露後も初期の性能特性を維持することを実証するものであった。実際、N,N'-ヘキサメチレンビス(メタクリルアミド)を架橋剤として使用して、膜ゲルに対する改善された腐食安定性をもたらすことは可能である。

#### 【0192】

50

#### [実施例6]

##### 腐食安定性S膜の多重サイクル性能

アクリルアミド及びメタクリルアミドの架橋剤を使用して作成されたS膜の腐食安定性を実証するため、Bis架橋剤を使用して作成された膜(配合A3-2)と、HMBisを架橋剤として使用した膜試料(D-2)を対象に、合計40回の連続サイクルにわたる毎回の結合/溶出サイクルの開始時に塩基性溶液を膜に通す塩基性溶液(0.5MのNaOH)曝露ステップを含む、多重サイクル実験を行った。

#### 【0193】

50

図27及び図28に記載の通り、結合能及び回収率(95%超)がいずれも不变の状態を維持したことから、両方の膜が実験全体にわたり堅牢な性能及び一貫性を示した。

#### 【0194】

##### [実施例7]

###### NaOH曝露時のC膜安定性

他の種類のゲル膜で既に例示した通り、現在のC膜は一般的に以下に挙げる2つの主要部分で構成される：架橋ポリ(メタ)アクリレートゲル、及び不活性の不織纖維状基質(ポリプロピレン)。この膜の従来的形態に使用されるモノマー及び架橋剤は、2-カルボキシエチルアクリレート(CEA)、2-ヒドロキシエチルメタクリレート(HEMA)及びトリメチロールプロパントリアクリレート(TRIM-A)である。これらの成分は全てエステル結合を有し、この結合はアルカリ条件において不安定になると予想される。事実、エステル結合を有するアクリレートモノマーは塩基性条件下で加水分解を受ける場合があり、これにより、エステル結合を有するポリマーゲルは、塩基性加水分解及び劣化をさらに起こしやすくなる。

#### 【0195】

モノマー及び架橋剤分子はアルカリ加水分解反応を通じて劣化することから、より多くのカルボン酸基/カルボキシレート基及びヒドロキシル末端基がゲルマトリックスへ取り込まれ、これが膨張や透過性などゲルの化学的性質及び物理的性質を変化させることになる。これは最終的に、膜のクロマトグラフィー性能に影響を及ぼし、そして結合能、透過性、及びサイクル間での生成物純度を変化させる。

#### 【0196】

膜の腐食安定性を確保するには、全てのモノマー及び架橋剤を、塩基性溶液に曝露されても化学的に安定している代替物に置き換えるなければならない。アクリレート及びメタクリレートの成分の塩基性溶液中における不安定性は、腐食条件において加水分解を起こしやすいエステル結合が原因であり、エステル結合を、安定性と腐食抵抗性がより高い、N,N'-メチレンビス(アクリルアミド)(Bis)などアクリルアミド結合に置き換えることにより、より回復力のある膜を作成することができ、また腐食溶液中の膜の安定性を飛躍的に増進することができる。

#### 【0197】

##### 実験例

###### 化学物質(Aldrich社製)

2-ヒドロキシエチルメタクリレート(HEMA)、2-カルボキシエチルアクリレート(CEA)、トリメチロールプロパントリアクリレート(TRIM-A)、2-アクリルアミドグリコール酸-水和物(AAGA)、アクリル酸(AA)、N-(イソブトキシメチル)アクリルアミド(NIBoMAA)、N-(ヒドロキシエチル)アクリルアミド溶液(97%)(NHEAA)、N,N-ジメチルアクリルアミド(NNDMAA)、N-(3-メトキシプロピル)アクリルアミド(NMoPAA)、N-イソプロピルアクリルアミド(NIPAA又はNIPAM)、N,N'-メチレンビス(アクリルアミド)(Bis)、1,3,5-トリアクリロイルヘキサヒドロ-1,3,5-トリアジン(TACHTA)、N,N'-ジメチルアセトアミド(DMAc)、ジ(プロピレングリコール)ジメチルエーテル異性体混合物(DPM)、ジ(プロピレングリコール)メチルエーテルアセテート(DPMA)、ジ(プロピレングリコール)メチルエーテル(97%)(DPGME)、4-(2-ヒドロキシエトキシ)フェニル-(2-ヒドロキシ-2-プロピル)ケトン(IRGACURE 2959)、酢酸ナトリウム三水和物、酢酸(冰酢酸)。

#### 【0198】

##### タンパク質

多クローン性免疫-GロブリンIgG(Equitech社製)。

#### 【0199】

##### 膜の作成

モノマー及び架橋剤を特定の溶媒混合物に添加し、さらにIrgacure開始剤も加え、そして全ての成分が溶液系中で適切に溶解している状態を確保できる十分な時間にわたり混合物を攪拌する。7インチ×7インチの基質シート(ポリプロピレン)をポリエチレンシート上に置き、次いで15gのポリマー溶液を基質シートに取り込んだ後、含浸した基質をもう一枚

10

20

30

40

50

のポリエチレンシートで覆う。手を円形に動かしながらシートをそっと圧迫して、過剰の溶液と混入気泡を除去する。サンドイッチ状のシートを室に入れて密閉し、10分間にわたりUV照射(約350nm)を加えることにより、重合プロセスを開始する。その結果得られる膜をポリエチレンシート被覆から除去し、RO水を使用した集中的洗浄サイクル及びそれに続く水酸化ナトリウム溶液への浸漬期間(0.25MのNaOH、30分間)のための対象とし、最終的に、搅拌しながらRO水で洗浄する(2-3回)。清浄な膜を、オープン(50 )に30分間入れておく、若しくは室温の空中に約16時間吊して放置しておくことにより、乾燥させる。

#### 【0200】

##### 結合能測定

a) IgG結合: 25mmの膜ディスクを25mmのNatrix-SSホルダーに装着し、20mLの結合バッファー(85mM、pH5.0のクエン酸ナトリウム)を通過し、平衡状態に到達させた。次いで結合バッファー中0.5mg/mLの多クローン性IgG(Equitech社製)のタンパク質溶液を、流出液のUV吸光度が供給溶液の10%を超えるまで通過させ、次いで10~15mLのバッファーをセルに通して未結合タンパク質を洗い流した。溶出ステップにおいて、10~14mLの溶出バッファー(85mMの酢酸ナトリウム、1MのNaCl、pH5.0)を通すことにより、結合IgGを溶出させた。

10

#### 【0201】

b) 多重サイクルIgG結合: Akta Explorer 100という機器(GE社製)を使用して実験を行った。25mmの膜ディスクを25mmのNatrix-SSホルダーに装着し、機器へ接続した。5mLの水酸化ナトリウム溶液(0.5mL)を、1mL/分の流速にて膜に通した。次いで20mLの結合バッファー(85mM、pH5.0のクエン酸ナトリウム)を通して平衡状態に到達させた。その後、結合バッファー中0.5mg/mLの多クローン性IgG(Equitech社製)のタンパク質溶液(26~30mL)を、流出液のUV吸光度が供給溶液の10%を超えるまで通過させ、次いで14mLのバッファーをセルに通して未結合タンパク質を洗い流した。溶出ステップにおいて、10~14mLの溶出バッファー(85mMの酢酸ナトリウム、1MのNaCl、pH5.0)を通すことにより、結合IgGを溶出させた。通過、洗浄及び溶出画分を採取し、UV吸光度(280nmでの)を測定して、補足及び溶出されたタンパク質量を判定し、回収率を推定した。

20

#### 【0202】

##### アクリレート架橋剤を使用する典型的なC膜配合

典型的なC膜配合は、2.07g(13.8重量%)の2-カルボキシエチルアクリレート(CEA)、0.245g(1.63重量%)の2-ヒドロキシエチルメタクリレート(HEMA)、0.536g(3.57重量%)のトリメチロールプロパントリアクリレート(TRIM-A)、0.047g(0.31重量%)のIrgacure開始剤、3.6g(24重量%)のN,N'-ジメチルアセトアミド(DMAc)、8.135g(54.23重量%)のジ(プロピレングリコール)メチルエーテルアセテート(DPMA)及び0.369g(2.46重量%)のDI水からなる。

30

#### 【0203】

##### A. 塩基性溶液が膜に及ぼす効果及び加水分解の証拠

C膜の膜クーポン(直径77cm)を濃度1M及び0.1Mの水酸化ナトリウム溶液中に4時間及び24時間浸漬し、次いで流束と、一部の事例において結合能を測定した(水及び/又は緩衝溶液を使用)。

#### 【0204】

結果から察するに、下記の表に記載の通り、水酸化ナトリウム溶液への曝露は、流束低下から示唆される通り、膜透過性を低減させる。塩基が膜に及ぼす劣化効果は、曝露時間及び/又は塩基溶液濃度により増幅された。図29を参照のこと。

40

#### 【0205】

##### B. 腐食安定性C膜の作成

1) アクリル酸、Bis架橋剤及び1つのアクリルアミドコモノマーを使用して作成される膜 このクラスの膜配合は、官能性モノマーとしてのアクリル酸モノマー(AA)及び1つの付加的なアクリルアミドコモノマーを基本とし、N,N'-メチレンビス(アクリルアミド)(Bis)を架橋剤として使用する。Irgacure(2959)を、UV照射後に重合を開始するための光開始剤として使用した。

#### 【0206】

50

### 配合群1-A

この群は、カルボン酸官能性モノマーとしてのアクリル酸を基本とし、N-(イソブトキシメチル)アクリルアミド(NIBoMAA)をコモノマーとして、そしてN,N'-メチレンビス(アクリルアミド)(Bis)を架橋剤として使用する。この溶媒系は、N,N'-ジメチルアセトアミド(DMAc)、ジ(プロピレングリコール)メチルエーテルアセテート(DPMA)、ジ(プロピレングリコール)ジメチルエーテル(DPM)及び脱イオン水(DI)を含む。この一連の化学物質を基本とし、一部の成分が異なる配合が、図30に記載されている。

#### 【0207】

各配合の重合混合物を、膜の成形に使用する前に十分に配合及び混合した(前述の通り)。各膜クーポンの初期流束(酢酸バッファーを溶質として使用)を測定し、次いでクーポンを1Mの水酸化ナトリウムに24時間浸漬した後、膜を水で洗い流し、次いで再び流束を測定し、(前と後の)流束比を計算した。タンパク質結合能(IgGをタンパク質捕捉モデルとして使用)も、前述の通り測定した。

#### 【0208】

結果は、図31に記載の通り、配合成分の変動により流束や結合能が異なるという結果に至ったにもかかわらず、膜の流束は長時間にわたる腐食溶液への曝露後も有意に変化せず、また腐食曝露後に透過性を完全に失った原初のS膜配合と比べ、新規の膜は原初の透過性を保持したことを示唆するものであった。

#### 【0209】

図32及び図33も参照のこと。

#### 【0210】

### 配合群1-B

この群は、カルボン酸官能性モノマーとしてのアクリル酸を基本とし、N-(3-メトキシプロピル)アクリルアミド(NMoPAA)をコモノマーとして、そしてN,N'-メチレンビス(アクリルアミド)(Bis)を架橋剤として使用する。この溶媒系は、N,N'-ジメチルアセトアミド(DMAc)、ジ(プロピレングリコール)メチルエーテルアセテート(DPMA)、ジ(プロピレングリコール)ジメチルエーテル(DPM)及び脱イオン水(DI)を含む。この溶媒系を基本とする配合を図34に従って配合し、前述の通り膜を成形及び重合した。

#### 【0211】

各膜クーポン(直径7.7cm)の初期流束を、酢酸ナトリウムバッファー(85mM、pH5)を溶質として使用して測定した。その後、膜クーポンを1Mの水酸化ナトリウムに24時間浸漬した後、膜をRO水で洗い流し、流束を再測定した。流束の変化を実証するため、(前と後の)流束比を計算した。タンパク質結合能を、前述の通り測定した。

#### 【0212】

図35に記載の通り、結果は同じく、量の異なるモノマー及び架橋剤から製造された様々な膜が腐食安定性を実証すること、及び配合成分によって決定付けられる膜透過性の多様性に関係なく、各膜が長時間に及ぶ強塩基曝露後も透過性を維持する能力があることを示した。

#### 【0213】

図36及び図37も参照のこと。

#### 【0214】

### 配合群C

この群は、カルボン酸官能性モノマーとしてのアクリル酸を基本とし、N-イソプロピルアクリルアミド(NIPAA)をコモノマーとして、そしてN,N'-メチレンビス(アクリルアミド)(Bis)を架橋剤として使用する。この溶媒系は、N,N'-ジメチルアセトアミド(DMAc)、ジ(プロピレングリコール)メチルエーテルアセテート(DPMA)、ジ(プロピレングリコール)ジメチルエーテル(DPM)及び脱イオン水(DI)を含む。前述の溶媒系同様、図38に従って膜配合を調製及び十分に混合し、反応混合物を前述の通り、膜の成形及び調製に使用した。

#### 【0215】

各膜クーポン(直径77cm)の初期流束を、酢酸バッファー(85mM、pH5)を溶質として使用

10

20

30

40

50

して測定し、そして膜クーポンを1Mの水酸化ナトリウムに24時間浸漬した後、膜をRO水で入念に洗い流し、バッファーを使用して再び流束を測定し、次いで(塩基曝露の前と後の)流束比を計算した。前述の溶媒系同様、タンパク質結合能も、前述の手順に従って測定した。

【0216】

結果は、図39に記載の通り、各膜の透過性が初期の透過性に関係なく、長時間の腐食溶液曝露による影響を受けなかったことから、膜の腐食安定性を裏付けるものであった。主にモノマー含有量、架橋度及び溶媒系の混和性によって制御される、膜透過性の多様性に関係なく、各配合は、塩基曝露後も原初の透過性を維持する能力のある膜を提供する結果となった。

10

【0217】

図40及び図41も参照のこと。

【0218】

2)アクリル酸、Bis架橋剤及び2つの異なるアクリルアミドコモノマーを使用して作成される腐食安定性C膜

この一連の実施例では、ヒドロゲル官能性を受け持つアクリル酸に加え、2つのコモノマーを使用してヒドロゲルを配合した。

【0219】

配合群2-A

この亞群では、基本的にメチルアクリルアミド誘導体であるN-(イソブトキシメチル)アクリルアミド(NIBoMAA)及びN-(ヒドロキシエチル)アクリルアミド(NHEAA)をアクリル酸と配合し、そしてN,N'-メチレンビス(アクリルアミド)(Bis)を架橋剤として含めた。試料にUV照射が加えられる時点で重合反応を開始するため、Irgacure(2959)が配合に添加される。この溶媒系も、前述の実施例で使用された溶媒系同様、N,N'-ジメチルアセトアミド(DMAc)、ジ(プロピレングリコール)メチルエーテルアセテート(DPMA)、ジ(プロピレングリコール)ジメチルエーテル(DPM)及び脱イオン水(DI)が含まれた。各ゲル配合の組成が図42に記載されている。

20

【0220】

各膜の結合能及び初期流束(酢酸バッファーを使用)の両方を測定した後、膜を1Mの水酸化ナトリウム溶液に24時間静止浸漬し、その後、膜を取り出して水で洗い流し、次いで流束を再検証し、(前と後の)流束比を計算した。

30

【0221】

図43に記載の通り、これらの配合は全て、高腐食溶液に長時間にわたり曝露されても透過性が影響を受けないことから、安定性を実証した。これらの実施例もやはり、アクリルアミドの架橋剤及びモノマーを配合に使用する限り、腐食安定性のあるゲル及び膜を作成可能であることを示した。

【0222】

図44及び図45も参照のこと。

【0223】

配合群2-B

この一連の実施例では、アクリル酸及びN-(イソブトキシメチル)アクリルアミド(NIBoMAA)を、N,N-ジメチルアクリルアミド(NNDMAA)と配合し、N,N'-メチレンビス(アクリルアミド)(Bis)を架橋剤として含めた。UV照射が加えられる時点で重合反応を開始するため、Irgacure(2959)が配合に添加される。この溶媒系には、N,N'-ジメチルアセトアミド(DMAc)、ジ(プロピレングリコール)メチルエーテルアセテート(DPMA)、ジ(プロピレングリコール)ジメチルエーテル(DPM)及び脱イオン水(DI)が含まれた。図46では、このセットに属する各ゲル配合の組成を示している。

40

【0224】

前述の膜試料同様、各膜について結合能及びバッファー流束の両方を判定したほか、膜を1Mの水酸化ナトリウム溶液中の24時間にわたる浸漬を通じて腐食曝露させた後のバッフ

50

ター流束を判定し、(前と後の)流束比を計算した。

【0225】

結果はやはり、図47に記載の通り、これらの配合が全て、腐食溶液に長時間にわたり曝露されても透過性が影響を受けないことから、安定性を実証することを示した。これらの実施例は、アクリルアミドの架橋剤及びモノマーを配合に使用し、エステル結合アクリレートモノマーが含まれない限り、腐食安定性のあるゲル及び膜を製造可能であることを実証した。

【0226】

図48及び図49も参照のこと。

【0227】

配合群2-C

この一連の実施例では、アクリル酸をN-イソプロピルアクリルアミド(NIPAA)及びN-(ヒドロキシエチル)アクリルアミド(NHEAA)と配合し、N,N'-メチレンビス(アクリルアミド)(Bis)を架橋剤として含めた。試料にUV照射が加えられる時点で重合反応を開始するため、Irgacure(2959)が配合に添加される。この溶媒系にも、前述の実施例で使用された溶媒系同様、N,N'-ジメチルアセトアミド(DMAc)、ジ(プロピレングリコール)メチルエーテルアセテート(DPMA)、ジ(プロピレングリコール)ジメチルエーテル(DPM)及び脱イオン水(DI)が含まれた。各ゲル配合の組成が図50に記載されている。

【0228】

図51に記載の通り、これらの配合は全て、高腐食溶液に長時間にわたり曝露されても透過性が影響を受けないことから、安定性を実証した。

【0229】

図52及び図53も参照のこと。

【0230】

3)付加的アクリルアミド架橋剤を使用して作成される腐食安定性C膜

この一連の実施例では、環状架橋剤である1,3,5-トリアクリロイルヘキサヒドロ-1,3,5-トリアジン(TACHTA)及びN,N'-メチレンビス(アクリルアミド)(Bis)架橋剤をゲル配合中で併用して、腐食安定性C膜を作成した。

【0231】

膜ゲル配合は、官能性モノマーとしてのアクリル酸と、架橋剤としてのN,N'-メチレンビス(アクリルアミド)(Bis)及び1,3,5-トリアクリロイルヘキサヒドロ-1,3,5-トリアジン(TACHTA)が基本である。これらの配合には、コモノマーとしてのN-(イソブトキシメチル)アクリルアミド(NIBOMAA)及びN,N'-ジメチルアクリルアミド(NNDMAA)も含まれた。Irgacure(2959)を光開始剤として、配合物に添加する。この溶媒系にも、前述の実施例で使用された溶媒系同様、N,N'-ジメチルアセトアミド(DMAc)、ジ(プロピレングリコール)メチルエーテルアセテート(DPMA)、ジ(プロピレングリコール)ジメチルエーテル(DPM)及び脱イオン水(DI)が含まれた。各ゲル配合の組成が図54に記載されている。

【0232】

他の実施例で既に行つた通り、これらの膜の結合能(IgGを使用)を判定した。加えて、各膜の初期流束を、直径7.7cmのクーポン及び溶質としての酢酸ナトリウムバッファー(85 mM、pH5)を使用して判定し、次いで膜クーポンを室温の1Mの水酸化ナトリウム溶液に24時間浸漬した後、膜を取り出し、水で洗い流し、次いでバッファーを使用して各膜の流束を再検証し、(前と後の)流束比を計算した。

【0233】

結果は、図55に記載の通り、TACHTAを追加の架橋剤として使用して製造された膜が、長時間に及ぶ腐食溶液曝露後も透過性を保持する能力があることを実証するものであった。アクリルアミド架橋剤を使用すると、丈夫な腐食安定性膜を得られる結果となることは明らかである。

【0234】

図56及び図57も参照のこと。

10

20

30

40

50

## 【0235】

4)カルボン酸アクリルアミドモノマーを使用して作成される腐食安定性C膜

この実施例では、カルボン酸官能性モノマーとしてのアクリル酸及び2-アクリルアミドグリコール酸、コモノマーとしてのN,N-ジメチルアクリルアミド(NNDMAA)、そして架橋剤としてのN,N'-メチレンビス(アクリルアミド)(Bis)を使用して膜を作成した。この実施例での溶媒系は、図58に従って、N,N'-ジメチルアセトアミド(DMAc)、ジ(プロピレングリコール)メチルエーテルアセテート(DPMA)、ジ(プロピレングリコール)メチルエーテル(DPGM E)及び脱イオン水(DI)を含む。

## 【0236】

腐食曝露の前後における膜の結合能及び流束の変化を検証した結果、膜が腐食安定性を有することが分かり、また配合に使用する成分が塩基性溶液に曝露されても安定していることを前提に、安定した膜を作成可能であることが分かった。図59を参照のこと。

10

## 【0237】

5)異なる溶媒系を使用して作成される腐食安定性C膜

この一連の実施例では、カルボン酸官能性モノマーとしてのアクリル酸と、コモノマーとしてのN-(3-メトキシプロピル)アクリルアミド(NMoPAA)及び架橋剤としてのN,N'-メチレンビス(アクリルアミド)(Bis)を使用して、膜を製造した。この実施例での溶媒系は、N,N'-ジメチルアセトアミド(DMAc)、ジ(プロピレングリコール)ジメチルエーテル(DPM)及び脱イオン水(DI)を含む。図60を参照のこと。

20

## 【0238】

結果的に得られた膜を検証した結果やはり、各膜が長時間にわたる腐食溶液曝露の影響を受けないことと、異なる溶媒系の使用及び配合の変化により、膜の性能は透過性及び結合能に関しては変化し得るが、腐食安定性は影響を受けず、これは専ら溶媒系ではなくゲルの構築に使用されるモノマーの化学的性質のみに影響されることが分かった。図61を参照のこと。

## 【0239】

6)腐食安定性C膜の多重サイクル性能

アクリルアミドのモノマー及び架橋剤を使用して作成されたC膜の腐食安定性を実証するため、2つの膜を対象に、合計45回の連続サイクルにわたる毎回の結合/溶出サイクルの開始時に塩基性溶液(0.5MのNaOH)を膜に通す曝露ステップを含む、多重サイクル実験を行った。1つの膜配合(1-B6)は、カルボン酸官能性モノマーとしてのアクリル酸を基本とし、N-(3-メトキシプロピル)アクリルアミド(NMoPAA)をコモノマーとして、そしてN,N'-メチレンビス(アクリルアミド)を架橋剤として使用する。もう1つの膜配合(2-A4)は、アクリル酸を基本とし、N-(イソブトキシメチル)アクリルアミド(NIBoMAA)及びN-(ヒドロキシメチル)アクリルアミド(NHMAA)をコモノマーとして使用し、N,N'-メチレンビス(アクリルアミド)を架橋剤として使用する。

30

## 【0240】

図62及び図63に記載の通り、両方の膜が、最大45回の連続サイクルの毎回のサイクルで水酸化ナトリウムの強塩基性溶液(0.5M)に曝露されたにもかかわらず、結合能と回収率(95%超)がいずれも不变の状態を維持した通り、45サイクルの実験で終始、堅牢な性能と一貫性を示した。

40

## 【0241】

## 論考

陽イオン交換膜Cのゲル部分は、カルボキシレート基へイオン化され得るカルボン酸基を含有し、これらは標的生物学的分子と表面との間でのイオン相互作用に関与する負電荷を提供することから、膜の結合能力を受け持つ。

## 【0242】

一定の溶液pH及び伝導性の条件で、カルボン酸基には酸形態の部分が存在する一方、残りはイオン化形態である。荷電状態にある場合、親水性カルボキシレート基は周囲の水分子を引き寄せることができ、これが膜ゲル膨潤に大きく寄与することになる。従って、膜

50

を高pH溶液に曝すと、膜の透過性が低下すると予想される。しかし、溶液pH値を低くすることにより、又は溶液のイオン含有量を増やす(例:塩の添加)ことにより、この作用を逆転させることができ、そうすると、電荷の遮蔽及び膨張の最小化に繋がる。これは、pH5の酢酸バッファーを膜に通す際に通常は純水よりも流束が高くなる理由の説明となる。この可逆的効果は、膜の完全性と構造が保持され、化学的劣化が起らなかった場合に限り、作用し得る。

#### 【0243】

典型的なC膜は、2-カルボキシエチルアクリレート(CEA)及び2-ヒドロキシエチルメタクリレート(HEMA)のモノマーと、架橋剤としてのトリメチロールプロパントリアクリレート(TRIM-A)からなる。この膜を1Mの水酸化ナトリウム溶液に24時間浸漬したところ、膜の透過性が完全に失われた結果、膜を通る水及びバッファーの流束がゼロにまで低下した。塩基性溶液の濃度を下げるにもなお(例えば0.1MのNaOH)、膜は限られた時間の曝露に耐えられた程度で、長時間の曝露には耐えられなかった。

10

#### 【0244】

分子レベルでの従前の研究で示されている通り、アクリレートモノマー加水分解が塩基性溶液中で発生する。膜を塩基性条件に曝すと、エステル結合が加水分解を受け、そしてカルボキシレート基とヒドロキシル基が生成され、これらが今度はゲルの化学的特性や物理的特性を変化させると考えられる。

#### 【0245】

ゲル膜がアルカリ性溶液に曝されると、エステル結合が加水分解状態となり、そしてカルボキシレート基はもとより、ヒドロキシル基も生成される。新たに生成されるカルボキシレート基は、より多くの、ゲル媒体への負電荷及び膨潤をもたらすことから、このプロセスはゲルの構造に影響を及ぼすだけでなく、架橋度が架橋剤のアルカリ加水分解によって低減されるにつれ、ゲルの完全性にも影響を及ぼす。

20

#### 【0246】

S膜の場合に通用すると証明されている同じアプローチに従って、ゲル腐食安定性は、ゲルにおける塩基に敏感な成分を、エステル結合のような加水分解性結合を有さず、塩基性溶液への苛酷な長時間にわたる曝露に耐えられる、より塩基抵抗性が高い成分に置き換えることによって増進され得る。アミド結合は塩基性条件下ではエステル結合よりも加水分解されにくいことが既知であることから、アクリルアミドのモノマー及び架橋剤を、新規の腐食安定性C膜の配合に使用した。

30

#### 【0247】

最初の一連の実施例では、塩基性溶液による劣化があり得ないアクリル酸と、N-(イソブトキシメチル)アクリルアミド(NIBoMAA)、N-(3-メトキシプロピル)アクリルアミド(NMoPAA)及びN-イソプロピルアクリルアミド(NIPAA)など様々なアクリルアミドモノマーを使用し、N,N'-メチレンビス(アクリルアミド)(Bis)を架橋剤として使用して、膜ゲルポリマーを作成した。

#### 【0248】

配合の変化や、モノマーの構造に由来する様々な親水特性に関係なく、これらの成分を配合して、効率的に作用し、苛酷な塩基性溶液曝露(24時間にわたる1MのNaOH曝露)に耐える能力のある膜ゲルを作成することができた。

40

#### 【0249】

その上、第2の一連の実施例では、2以上のアクリルアミドモノマーを、広範囲に及ぶ透過性と結合能を提供する配合に組み込むことに成功し、得られた全てのゲル膜が、長時間の腐食溶液曝露条件下での安定性を検証した際、丈夫であることが証明された。

#### 【0250】

他の実施例も、追加の架橋剤及び他のカルボン酸アクリルアミドモノマーを配合に含めることが可能であり、結果的に得られる膜がやはり、苛酷な塩基性溶液曝露に耐える能力があることを示した。新たな溶媒系へと移行することさえ可能であり、これは膜の腐食安定性に影響を及ぼさない。

50

## 【0251】

苛酷な操作条件での腐食安定性をさらに実証するため、成分の異なる2つの膜のクロマトグラフィー性能を、長時間の多重サイクル実験全体を通じて検証した。各膜を、毎回のサイクルの開始時における腐食曝露(0.5MのNaOHを使用)ステップを含む、多重サイクル実験(45サイクルにわたる結合/溶出)に使用した。結果は、両方の膜が腐食劣化効果に対して明確な抵抗性を有する一貫した性能を提供することを、明確に示した。従って、腐食衛生化ステップを必要とする如何なるバイオ分離プロセスにおいても、これらの膜が耐え抜き、首尾よく作用する能力があることは明らかである。

## 【0252】

膜のゲル部分にエステル結合を有するモノマー及び架橋剤を、アミド結合を有する別のモノマー及び架橋剤に置き換えた結果、この置き換えにより(i)根底を成す化学的構造の安定性、及び(ii)腐食条件下での性能の一貫性が高まったことから、腐食安定性のある膜がもたらされた。

10

## 【0253】

## 参照による援用

本明細書に引用する米国特許及び米国特許出願公開は全て、参照によって本明細書に援用される。

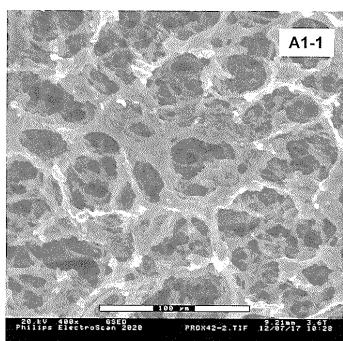
## 【0254】

## 同等物

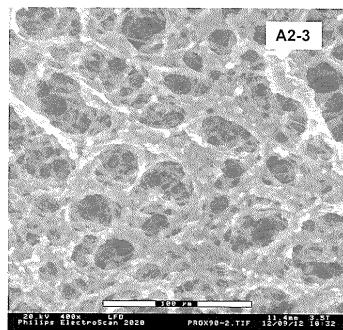
当業者であれば、日常的な実験を用いるだけで、本明細書に記載する本発明の特定の実施形態に対する多くの同等物を認め、確認することができる。このような同等物は、以下の特許請求の範囲によって含まれるものとされる。

20

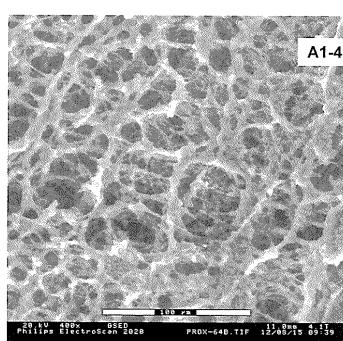
【図1】



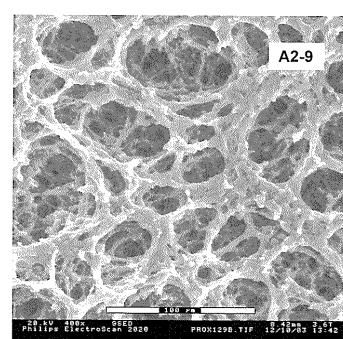
【図3】



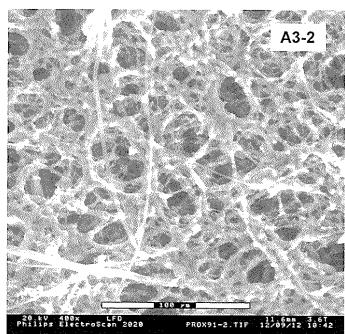
【図2】



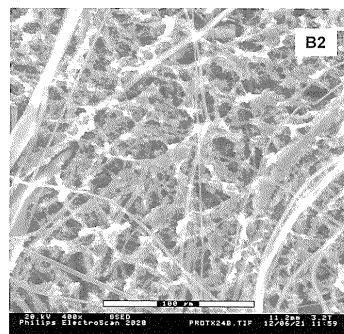
【図4】



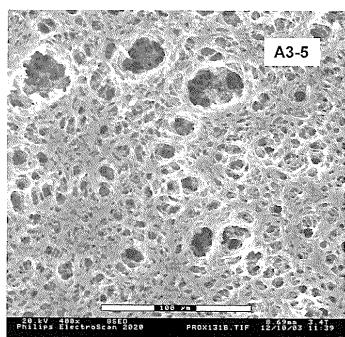
【図5】



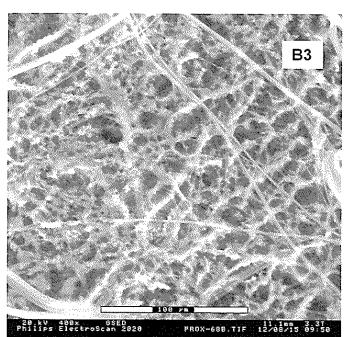
【図7】



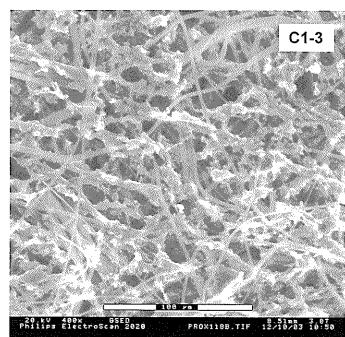
【図6】



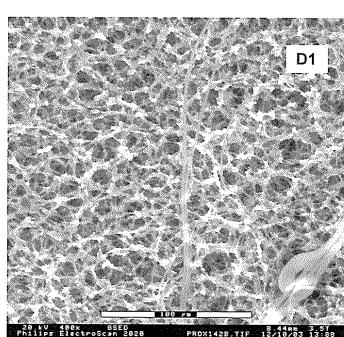
【図8】



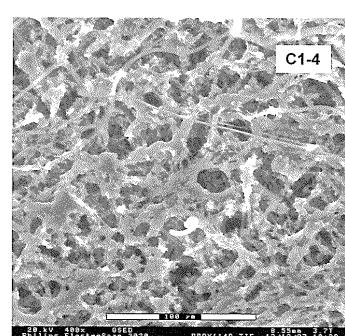
【図9】



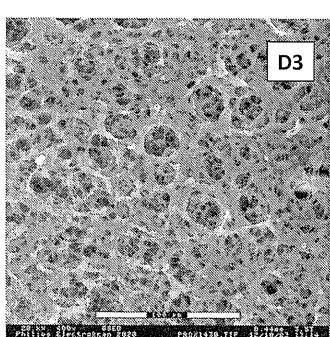
【図11】



【図10】



【図12】



【図13】

化学処理	時間(h)	溶液	流束(Kg/m <sup>2</sup> .h)	結合能10%B.T.(mg/mL)
1.0 M NaOH	4	R.O.水	-	-
0.5 M NaOH	4	R.O.水	-	-
0.1 M NaOH	4	R.O.水	574	-
0.1 M NaOH	24	R.O.水	139	-

【図14】

化学処理	時間(h)	溶液	流束(Kg/m <sup>2</sup> .h)	結合能10%B.T.(mg/mL)
1.0 M NaOH	4	R.O.水	0	NA
		バッファー*	0	NA
0.1 M NaOH	4	R.O.水	166	NA
		バッファー	1514	99
0.1 M NaOH	24	R.O.水	0	NA
		バッファー	190	NA

【図15】

配合	wt%							合計
	AMPS	DMAc	Bis	DPMA	1,3-Budiol	DI水	IRGACURE	
A1-1	9.06	24.40	0.87	62.75	1.16	1.57	0.17	100
A1-2	9.34	26.45	0.78	58.61	2.07	2.59	0.16	100
A1-3	8.62	22.66	1.11	60.81	3.87	2.76	0.17	100
A1-4	8.24	21.20	0.88	64.78	2.94	1.77	0.18	100

【図16】

配合	流束(kg/m <sup>2</sup> .h)			BC(mg/mL)	
	初期	IMのNaOHに24時間浸漬後	流束比(後/前)	(リゾチーム)	(IgG)
A1-1	1067	1159	1.09	108.8	57.7
A1-2	759	846	1.12	103.9	65.8
A1-3	1303	1471	1.13	70.7	57.3
A1-4	1555	1646	1.06	79.6	53.4

【図17】

配合	wt%							合計
	AMPS	DMAc	Bis	DPM	TPGBE	DI水	IRGACURE	
A2-1	9.33	24.88	0.93	40.42	23.01	1.24	0.19	100
A2-2	10.77	23.45	0.95	31.69	31.69	1.27	0.19	100
A2-3	9.73	25.17	0.86	45.77	17.16	1.14	0.17	100
A2-4	10.44	24.57	0.92	18.43	43.00	2.46	0.18	100
A2-5	9.56	26.43	0.84	50.62	11.25	1.12	0.17	100
A2-6	10.57	23.01	0.93	6.22	55.97	3.11	0.19	100
A2-7	9.49	24.72	0.84	40.49	23.14	1.16	0.17	100
A2-8	9.65	24.62	1.00	39.92	23.29	1.33	0.20	100
A2-9	9.29	28.63	0.83	53.44	6.36	1.27	0.19	100
A2-10	8.77	27.64	0.90	42.07	18.03	2.40	0.18	100

【図18】

配合	流束(kg/m <sup>2</sup> .h)			BC(mg/mL)	
	初期	IMのNaOHに24時間浸漬後	流束比(後/前)	(リゾチーム)	(IgG)
A2-1	1733	1872	1.08	103.9	46.9
A2-2	829	810	0.98	169.8	64.3
A2-3	1149	1213	1.06	132.5	59.1
A2-4	1178	1162	0.99	109.2	58.9
A2-5	1346	1379	1.02	115.1	53.1
A2-6	1078	1135	1.05	98.3	58.5
A2-7	877	920	1.05	201.1	74.4
A2-8	1581	1680	1.06	102.7	52.2
A2-9	1379	1504	1.09	120.1	54.6
A2-10	2083	2172	1.04	81.9	NA

【図19】

配合	wt%							合計
	AMPS	DMAc	Bis	DPM	DPGPE	DI水	IRGACURE	
A3-1	10.32	23.06	0.91	39.44	22.45	3.64	0.18	100
A3-2	11.35	28.04	1.00	53.40	4.67	1.34	0.20	100
A3-3	9.88	28.33	0.99	55.99	3.29	1.32	0.20	100
A3-4	9.91	28.49	1.02	54.27	4.75	1.36	0.20	100
A3-5	9.22	27.15	0.95	56.82	4.42	1.26	0.19	100
A3-6	9.58	29.53	0.98	52.49	4.59	2.62	0.20	100
A3-7	8.81	30.66	0.98	52.19	4.57	2.61	0.20	100

【図20】

配合	流束(kg/m <sup>2</sup> .h)			BC(mg/mL)	
	初期	IMのNaOHに24時間浸漬後	流束比(後/前)	(リゾチーム)	(IgG)
A3-1	976	981	1.01	117.1	56.1
A3-2	1031	1039	1.01	146.8	58.4
A3-3	1286	1378	1.07	109.2	48.5
A3-4	1124	1185	1.05	113.6	NA
A3-5	1609	1789	1.11	104.5	52.3
A3-6	1247	1352	1.08	97.5	NA
A3-7	1522	1742	1.14	NA	53.4

【図21】

配合	wt%							合計	
	AMPS	DMAc	Bis	DPMA	NHMAA	NIBoMAA	DI水		
B1	9.73	24.63	1.87	60.47	3.12	0.0	0.0	0.19	100
B2	9.69	24.53	1.86	60.25	0.0	1.55	1.93	0.19	100
B3	7.65	22.37	1.18	64.74	0.0	2.06	1.82	0.18	100

(42)

【図22】

配合	流束(kg/m <sup>2</sup> .h)			BC(mg/mL)	
	初期	IMのNaOHに24時間浸漬後	流束比(後/前)	(リゾチーム)	(IgG)
B1	811	850	1.05	102.7	74.7
B2	1072	1154	1.08	72.1	53.9
B3	1679	1766	1.05	67.7	46.8

【図23】

配合	wt%							合計		
	AMPS	DMAc	TACHTA	DPMA	1,3-Budiol	DPM	TPGBE			
C1-1	11.04	28.56	1.23	57.12	0.0	0.0	1.85	0.19	100	
C1-2	9.45	24.56	1.57	62.97	0.0	0.0	1.26	0.19	100	
C1-3	9.27	31.77	0.99	0.0	0.0	56.26	0.0	1.56	0.15	100
C1-4	9.73	27.90	1.30	0.0	0.0	46.07	12.98	1.82	0.19	100
C1-5	9.18	25.70	0.81	0.0	3.06	42.83	16.52	1.71	0.18	100

【図24】

配合	流束(kg/m <sup>2</sup> .h)			BC(mg/mL)	
	初期	IMのNaOHに24時間浸漬後	流束比(後/前)	(リゾチーム)	(IgG)
C1-1	919	950	1.03	85.5	54.7
C1-2	1481	1552	1.05	NA	36.9
C1-3	2167	2337	1.08	59.1	44.4
C1-4	1599	1671	1.05	65.4	44.3
C1-5	803	830	1.03	98.2	67.1

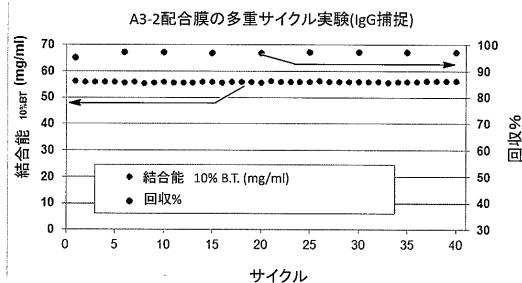
【図25】

配合	wt%								合計
	AMPS	DMAc	HBisMA	DPMA	DPM	DPGPE	TPGEB	DI水	
D1	9.77	27.91	1.40	59.32	0.0	0.0	0.0	1.40	0.21
D2	10.65	26.61	1.33	59.88	0.0	0.0	0.0	1.33	0.20
D3	10.08	26.43	1.39	0.0	55.63	4.87	0.0	1.39	0.21
D4	11.31	27.94	1.33	0.0	53.23	4.66	0.0	1.33	0.20
D5	10.95	28.33	1.29	0.0	48.29	0.0	9.66	1.29	0.19
D6	10.67	26.37	1.26	0.0	30.13	0.0	30.13	1.26	0.19

【図26】

配合	流束(kg/m <sup>2</sup> .h)			BC (mg/mL) (IgG)	合計
	初期	1MのNaOHに 24時間浸漬後	流束比 (後/前)		
D1	2288	2437	1.07	48.8	
D2	1512	1524	1.01	58.4	
D3	3124	3449	1.10	39.6	
D4	1426	1499	1.05	50.3	
D5	1801	1854	1.03	48.6	
D6	1793	1762	0.98	49.9	

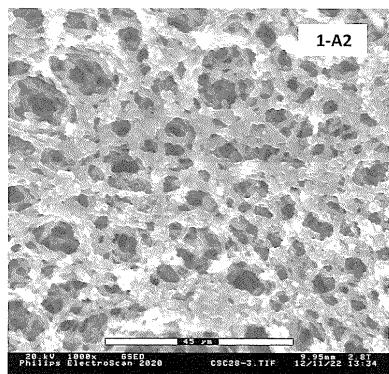
【図27】



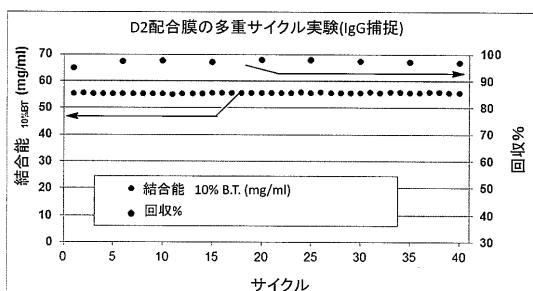
【図31】

配合	流束(kg/m <sup>2</sup> .h)			BC (mg/mL) (IgG)	合計
	初期	1MのNaOHに 24時間浸漬後	流束比 (後/前)		
1-A1	1337	1911	1.43	111.6	
1-A2	2430	3022	1.24	119.2	
1-A3	2111	2730	1.29	105.8	
1-A4	2150	2718	1.26	121.8	

【図32】



【図28】



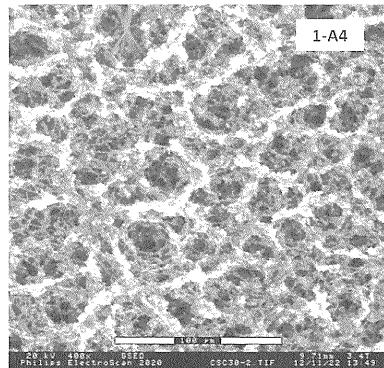
【図29】

化学処理	時間 (h)	溶液	流束 (kg/m <sup>2</sup> .h)		結合能 10% B.T.(mg/mL)	合計
			D.O.水	バッファー		
1.0 M NaOH	4	R.O.水	0	NA		
		バッファー	0	NA		
0.1 M NaOH	4	R.O.水	166	NA		
		バッファー	1514	99		
0.1 M NaOH	24	R.O.水	0	NA		
		バッファー	190	NA		

【図30】

配合	wt%								合計
	AA	NIBoMAA	Bis	DMAc	DPMA	DPM	DI水	IRGA-CURE	
1-A1	10.36	3.05	2.74	27.42	24.38	27.42	4.27	0.37	100
1-A2	9.55	3.18	2.86	28.64	22.28	28.64	4.46	0.38	100
1-A3	9.46	3.78	3.15	28.37	22.07	28.37	4.41	0.38	100
1-A4	10.30	2.98	3.63	32.54	19.32	27.04	3.80	0.39	100

【図31】



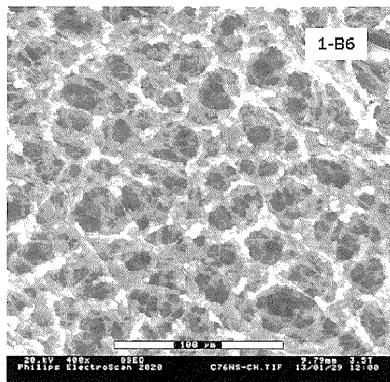
【図34】

配合	wt%								合計
	AA	NMoPAA	Bis	DMAc	DPMA	DPM	DI水	IRGA-CURE	
1-B1	9.55	3.18	2.86	28.64	22.28	28.64	4.46	0.38	100
1-B2	9.98	3.45	3.33	28.43	21.78	28.43	4.23	0.36	100
1-B3	11.10	2.94	2.94	26.13	22.86	29.39	4.25	0.39	100
1-B4	10.22	2.87	2.55	31.93	19.16	28.74	4.15	0.38	100
1-B5	10.47	2.86	2.86	31.73	19.04	28.55	4.12	0.38	100
1-B6	10.37	3.14	3.14	26.40	22.00	30.17	4.40	0.38	100
1-B7	10.82	2.86	3.18	28.64	19.10	30.55	4.46	0.38	100
1-B8	10.44	2.85	3.16	31.63	18.98	28.46	4.11	0.38	100

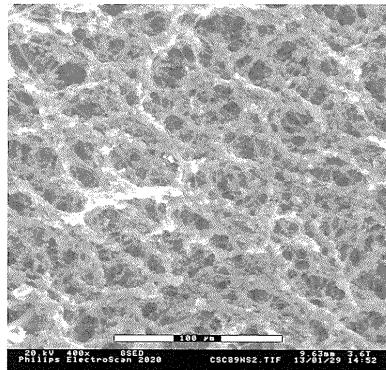
【図35】

配合	流束(kg/m <sup>2</sup> .h)			BC (mg/mL) (IgG)
	初期	1MのNaOHに 24時間浸漬後	流束比 (後/前)	
1-B1	3356	3832	1.14	74.4
1-B2	2585	3105	1.20	105.3
1-B3	1813	2067	1.14	113
1-B4	1683	2110	1.25	113
1-B5	1847	2095	1.13	123.7
1-B6	2034	2246	1.10	110.5
1-B7	3487	3994	1.15	92.3
1-B8	3056	3587	1.17	102.7

【図36】



【図37】



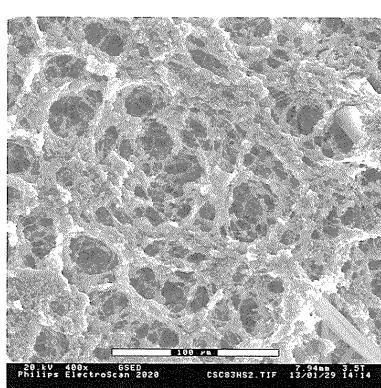
【図38】

配合	wt%								合計
	AA	NIPAA	Bis	DMAc	DPMA	DPM	DI水	IRGA-CURE	
1-C1	9.87	3.18	2.86	28.64	22.28	28.64	4.14	0.38	100
1-C2	10.22	2.87	2.87	28.74	22.35	28.74	3.83	0.38	100
1-C3	9.90	2.78	2.78	27.85	21.66	30.94	3.71	0.37	100
1-C4	10.79	2.86	2.86	28.55	22.21	28.55	3.81	0.38	100
1-C5	11.14	2.95	2.95	36.04	6.55	36.04	3.93	0.39	100
1-C6	11.57	3.21	3.53	32.13	16.07	28.92	4.18	0.39	100
1-C7	10.17	2.86	2.67	28.61	22.25	28.61	4.45	0.38	100
1-C8	10.15	2.86	2.86	28.55	22.21	28.55	4.44	0.38	100

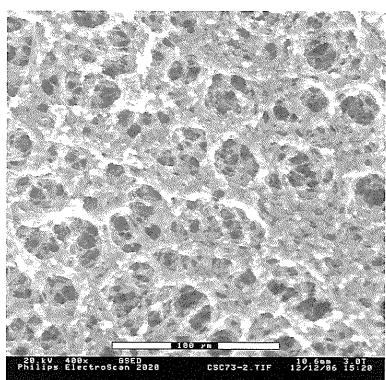
【図39】

配合	流束(kg/m <sup>2</sup> .h)			BC (mg/mL) (IgG)
	初期	1MのNaOHに 24時間浸漬後	流束比 (後/前)	
1-C1	2909	3199	1.10	90.3
1-C2	2876	3098	1.08	103.7
1-C3	3431	3813	1.11	84.0
1-C4	2166	2624	1.21	102.8
1-C5	1417	1503	1.06	117.5
1-C6	1782	1943	1.09	113.5
1-C7	1717	2013	1.17	119.7
1-C8	1500	1664	1.11	123.2

【図40】



【図41】



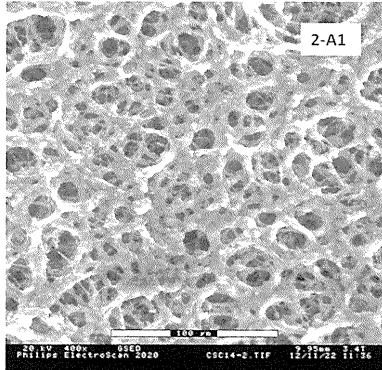
【図42】

配合	wt%								合計
	AA	NIBoMAA	NHEAA	Bis	DMAc	DPMA	DPM	DI水	
2-A1	7.81	3.12	1.56	1.87	24.98	31.23	24.98	4.06	0.37 100
2-A2	7.86	3.14	0.94	1.89	25.14	31.43	25.14	4.09	0.38 100
2-A3	7.27	3.16	0.95	1.90	25.30	31.63	25.30	4.11	0.38 100
2-A4	7.78	3.11	1.56	2.18	24.91	31.13	24.91	4.05	0.37 100
2-A5	7.91	3.16	2.21	2.85	25.30	28.46	25.30	4.43	0.38 100

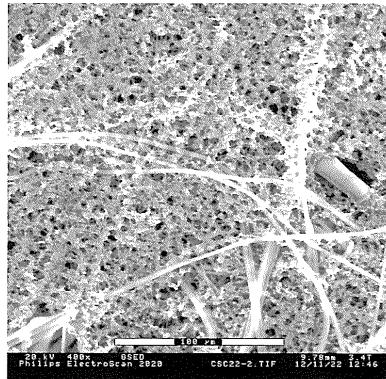
【図43】

配合	流束(kg/m <sup>2</sup> .h)			BC (mg/mL)
	初期	1MのNaOHに 24時間浸漬後	流束比 (後/前)	
2-A1	1053	1246	1.18	140.1
2-A2	1005	1424	1.42	134.7
2-A3	1823	2360	1.29	107.8
2-A4	1825	2207	1.21	116
2-A5	2182	2719	1.25	92.7

【図44】



【図45】



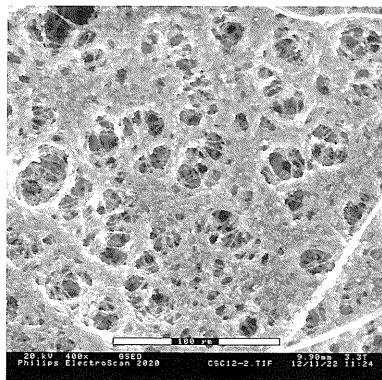
【図46】

配合	wt%								合計
	AA	NIPAA	NNDMAA	Bis	DMAc	DPMA	DPM	DI水	
2-B1	6.33	3.16	1.58	1.90	25.30	31.63	25.30	4.43	0.38 100
2-B2	7.18	3.12	1.87	1.87	24.98	31.23	24.98	4.37	0.37 100
2-B3	6.98	2.54	1.59	1.59	25.38	31.73	25.38	4.44	0.38 100
2-B4	6.31	4.73	3.15	2.21	25.22	28.37	25.22	4.41	0.38 100
2-B5	7.96	3.18	1.91	2.55	25.46	28.64	25.46	4.46	0.38 100
2-B6	6.27	3.13	4.70	2.82	25.06	25.06	28.20	4.39	0.38 100

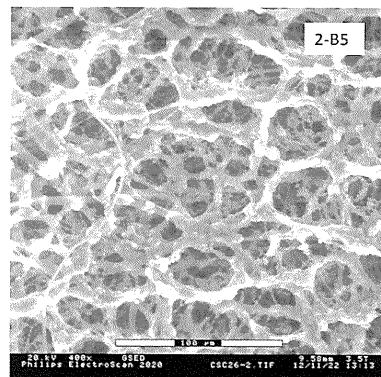
【図47】

配合	流束(kg/m <sup>2</sup> .h)			BC (mg/mL)
	初期	1MのNaOHに 24時間浸漬後	流束比 (後/前)	
2-B1	3452	3568	1.03	101.8
2-B2	2207	2882	1.31	111.6
2-B3	2078	2761	1.33	110.5
2-B4	1933	2073	1.07	100.1
2-B5	3913	4679	1.20	92.8
2-B6	5185	6177	1.19	46.3

【図48】



【図49】



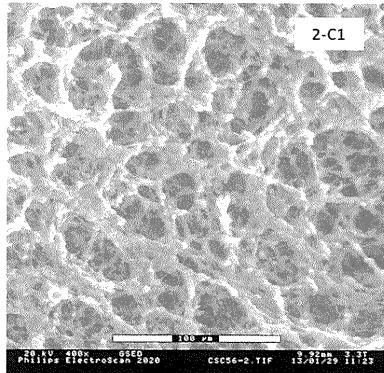
【図50】

配合	wt%								合計
	AA	NIPAA	NHEAA	Bis	DMAc	DPMA	DPM	DI水	
2-C1	7.91	2.21	0.95	2.21	25.30	31.63	25.30	4.11	0.38 100
2-C2	7.83	2.51	1.57	2.19	25.06	31.33	25.06	4.07	0.38 100
2-C3	9.87	1.98	1.24	2.96	27.18	22.24	29.65	4.45	0.44 100
2-C4	7.86	2.20	1.57	2.20	25.14	28.28	28.28	4.09	0.38 100

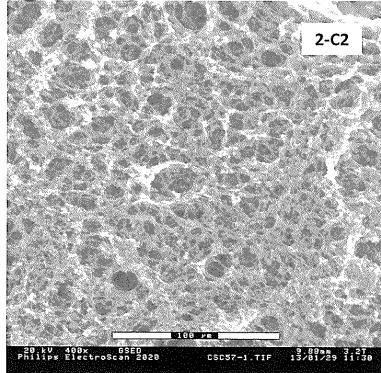
【図5-1】

配合	流束(kg/m <sup>2</sup> .h)			BC (mg/mL) (IgG)
	初期	IMのNaOHに 24時間浸漬後	流束比 (後/前)	
2-C1	2807	3286	1.17	81.7
2-C2	1934	2225	1.15	89.2
2-C3	2247	2567	1.14	81.7
2-C4	2064	2476	1.20	91.8

【図5-2】



【図5-3】



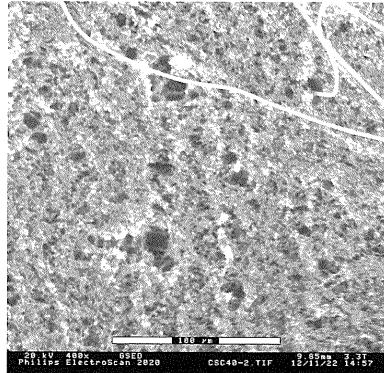
【図5-4】

配合	wt%								合計
	AA	NIBoM AA	NN DMAA	Bis	TACHTA	DMAc	DPMA	DPM	
3-A1	8.46	3.26	1.95	1.95	1.30	29.30	26.04	22.79	4.56 0.39 100
3-A2	8.46	3.25	1.95	1.30	2.05	29.27	26.02	22.76	4.55 0.39 100

【図5-5】

配合	流束(kg/m <sup>2</sup> .h)					BC (mg/mL) (IgG)
	初期	IMのNaOHに 24時間浸漬後	流束比 (後/前)	(IgG)	合計	
3-A1	3697	4271	1.16	98.1		
3-A2	4267	4835	1.13	94.9		

【図5-6】



【図5-8】

配合	wt%								合計
	AAGA	AA	NNDMAA	Bis	DMAc	DPMA	DPGME	DI 水	
4-A1	3.23	3.23	3.23	1.29	29.11	6.47	51.75	1.29	0.39 100

【図5-9】

配合	流束(kg/m <sup>2</sup> .h)					BC (mg/mL) (IgG)
	初期	IMのNaOHに 24時間浸漬後	流束比 (後/前)	(IgG)	合計	
4-A1	648	724	1.12	80.3		

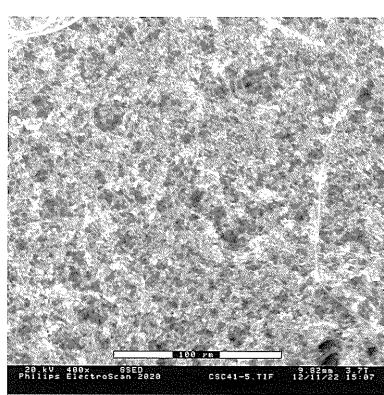
【図6-0】

配合	wt%								合計
	AA	NMoPAA	Bis	DMAc	DPM	DI 水	IRGA-CURE		
5-A1	11.07	3.35	3.35	33.53	43.59	4.69	0.40	100	
5-A2	11.95	3.32	3.32	33.20	43.16	4.65	0.40	100	
5-A3	11.66	3.33	3.33	33.31	43.30	4.66	0.40	100	
5-A4	11.36	3.34	3.34	33.42	43.45	4.68	0.40	100	
5-A5	11.66	3.33	3.33	29.98	46.64	4.66	0.40	100	

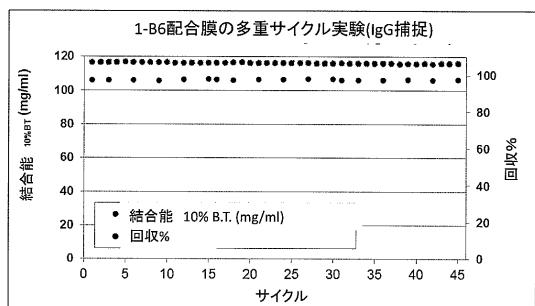
【図6-1】

配合	流束(kg/m <sup>2</sup> .h)					BC (mg/mL) (IgG)
	初期	IMのNaOHに 24時間浸漬後	流束比 (後/前)	(IgG)	合計	
5-A1	2326	2597	1.12	101.5		
5-A2	1373	1536	1.12	128.5		
5-A3	1492	1670	1.12	124.6		
5-A4	1775	1981	1.12	122.9		
5-A5	2315	2560	1.11	107.3		

【図5-7】



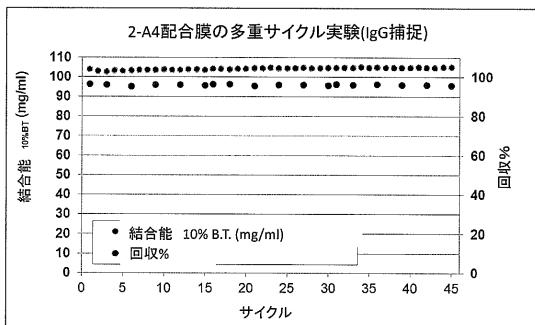
【図 6 2】



【図 6 4】

配合	平均孔直径 (μm)	流束 (kg/m <sup>2</sup> h)	DBC <sub>10%BT</sub> (mg/mL)
1-B7	0.63 ± 0.12	2364 ± 38	98.9 ± 0.9
1-B8	0.65 ± 0.04	3054 ± 105	97.8 ± 3.1
1-C1	0.55 ± 0.07	2633 ± 253	98.7 ± 2.8
1-C2	0.62 ± 0.05	2648 ± 271	99.2 ± 1.0
1-C7	0.60 ± 0.02	1840 ± 14	116.9 ± 0.7

【図 6 3】



## 【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. <b>PCT/IB2014/001022</b>									
<p><b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> IPC: <b>B01D 15/08</b> (2006.01), <b>B01D 65/02</b> (2006.01), <b>B01D 69/12</b> (2006.01), <b>B01D 71/56</b> (2006.01)</p> <p>According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC</p>											
<p><b>B. FIELDS SEARCHED</b></p> <p>Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC: <b>B01D 15</b> (2006.01), <b>B01D 65</b> (2006.01), <b>B01D 69</b> (2006.01), <b>B01D 71</b> (2006.01)</p>											
<p>Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched</p>											
<p>Electronic database(s) consulted during the international search (name of database(s) and, where practicable, search terms used) Orbit, Internet keywords: adsorption, composite material, membrane, gel, sodium hydroxide, chromatography membrane</p>											
<p><b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b></p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="text-align: left; padding: 2px;">Category*</th> <th style="text-align: left; padding: 2px;">Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages</th> <th style="text-align: left; padding: 2px;">Relevant to claim No.</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="text-align: center; padding: 2px;">X</td> <td style="padding: 2px;">WO2010027955A2 (SHIELDS, C.S, et al.) 11 March 2010 (11-03-2010) * the whole document *</td> <td style="text-align: center; padding: 2px;">1-32</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center; padding: 2px;">X</td> <td style="padding: 2px;">Youtube video titled "Membrane Chromatography for MAB Purification - Natrix Separations 2010", uploaded 18 January 2011 and retrieved from the Internet on August 15, 2014 (URL: <a href="https://www.youtube.com/watch?v=uKTEby4n2lg">https://www.youtube.com/watch?v=uKTEby4n2lg</a>)</td> <td style="text-align: center; padding: 2px;">1-32</td> </tr> </tbody> </table>			Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.	X	WO2010027955A2 (SHIELDS, C.S, et al.) 11 March 2010 (11-03-2010) * the whole document *	1-32	X	Youtube video titled "Membrane Chromatography for MAB Purification - Natrix Separations 2010", uploaded 18 January 2011 and retrieved from the Internet on August 15, 2014 (URL: <a href="https://www.youtube.com/watch?v=uKTEby4n2lg">https://www.youtube.com/watch?v=uKTEby4n2lg</a> )	1-32
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.									
X	WO2010027955A2 (SHIELDS, C.S, et al.) 11 March 2010 (11-03-2010) * the whole document *	1-32									
X	Youtube video titled "Membrane Chromatography for MAB Purification - Natrix Separations 2010", uploaded 18 January 2011 and retrieved from the Internet on August 15, 2014 (URL: <a href="https://www.youtube.com/watch?v=uKTEby4n2lg">https://www.youtube.com/watch?v=uKTEby4n2lg</a> )	1-32									
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C.		<input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.									
<p>* Special categories of cited documents:            "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance            "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date            "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)            "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means            "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed         </p>	<p>"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention            "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone            "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art            "&amp;" document member of the same patent family         </p>										
Date of the actual completion of the international search 25 August 2014 (25-08-2014)		Date of mailing of the international search report 18 September 2014 (18-09-2014)									
Name and mailing address of the ISA/CA Canadian Intellectual Property Office Place du Portage I, C114 - 1st Floor, Box PCT 50 Victoria Street Gatineau, Quebec K1A 0C9 Facsimile No.: 001-819-953-2476		Authorized officer Pierre Cuerrier (819) 997-4379									

<b>INTERNATIONAL SEARCH REPORT</b> Information on patent family members			International application No. <b>PCT/IB2014/001022</b>
Patent Document Cited in Search Report	Publication Date	Patent Family Member(s)	Publication Date
WO2010027955A2	11 March 2010 (11-03-2010)	WO2010027955A2 WO2010027955A3 AU2009288234A1 CA2736814A1 EP2334413A2 EP2334413A4 JP2012501245A KR20110066157A US2010059443A1	11 March 2010 (11-03-2010) 10 June 2010 (10-06-2010) 11 March 2010 (11-03-2010) 11 March 2010 (11-03-2010) 22 June 2011 (22-06-2011) 18 September 2013 (18-09-2013) 19 January 2012 (19-01-2012) 16 June 2011 (16-06-2011) 11 March 2010 (11-03-2010)

## フロントページの続き

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
B 0 1 D 15/08 (2006.01)	B 0 1 D 15/08	4 J 1 0 0
B 0 1 J 39/20 (2006.01)	B 0 1 J 39/20	
B 0 1 J 47/12 (2006.01)	B 0 1 J 47/12	
B 0 1 J 20/34 (2006.01)	B 0 1 J 20/34	G
B 0 1 J 39/26 (2006.01)	B 0 1 J 39/26	
B 0 1 J 49/00 (2006.01)	B 0 1 J 49/00	1 6 1
G 0 1 N 30/26 (2006.01)	B 0 1 J 49/00	1 3 0
C 0 8 F 220/56 (2006.01)	G 0 1 N 30/88	1 0 1 S
C 1 2 N 15/09 (2006.01)	G 0 1 N 30/88	1 0 1 M
C 0 7 K 1/16 (2006.01)	G 0 1 N 30/88	2 0 1 X
C 1 2 Q 1/68 (2006.01)	G 0 1 N 30/88	J
	G 0 1 N 30/88	D
	G 0 1 N 30/88	E
	G 0 1 N 30/26	A
	C 0 8 F 220/56	
	C 1 2 N 15/00	A
	C 0 7 K 1/16	
	C 1 2 Q 1/68	A

(81) 指定国 AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,R,S,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,H,R,HU,ID,IL,IN,IR,IS,JP,KE,KG,KN,KP,KR,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US

(74) 代理人 100169971

弁理士 菊田 尚子

(74) 代理人 100168893

弁理士 岩崎 正路

(72) 発明者 ラグブ,アムロ

カナダ国 エル5エー 4エー5 オンタリオ,ミシサガ,ミシサガ バレー ブルバード ナンバー1020-1423

F ターム(参考) 4B024 AA11 AA20 HA03

4B063 QS17

4D017 AA09 BA07 CA14 CA17 CB05 DA03 EA05

4G066 AA13D AB03D AB05A AB05D AB06D AB07A AB07D AB09A AB09D AB10A

AB12A AB21A AC02C AC13C AC14C AC17B AC17D AC21C AC23C AC31C

AC33B AC35C BA03 BA05 BA16 BA22 BA28 CA54 DA07 DA11

EA01

4H045 AA20 GA21

4J100 AJ02P AL63S AM21P AM21Q AM21R AM23T AM24S BA03Q BA04R BA56P

BC73T CA03 CA04 EA03 FA19 JA17