



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 103906708 B

(45) 授权公告日 2015. 09. 23

(21) 申请号 201280052688. 7

C01B 33/193(2006. 01)

(22) 申请日 2012. 10. 26

G01N 30/88(2006. 01)

(30) 优先权数据

2011-237204 2011. 10. 28 JP

(56) 对比文件

CN 1787874 A, 2006. 06. 14,

JP 特开 2006-225226 A, 2006. 08. 31,

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2014. 04. 25

审查员 吴洋

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/JP2012/077788 2012. 10. 26

(87) PCT国际申请的公布数据

W02013/062105 JA 2013. 05. 02

(73) 专利权人 旭硝子硅素技术株式会社

地址 日本福冈县

(72) 发明人 宫原浩嘉 中岛亮 东贤志

(74) 专利代理机构 上海专利商标事务所有限公

司 31100

代理人 胡烨

(51) Int. Cl.

C07K 17/14(2006. 01)

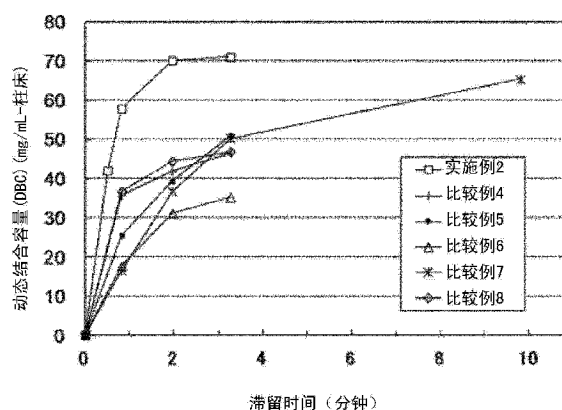
权利要求书1页 说明书14页 附图2页

(54) 发明名称

二氧化硅球状体及亲和载体

(57) 摘要

本发明提供一种即使在流通溶液的线流速快的情况下压力损失也小、结合容量大的亲和载体。一种二氧化硅球状体,其特征在于,(a) 利用激光式光散射法的测定方法中,平均粒径为 $30\ \mu\text{m} \sim 40\ \mu\text{m}$; (b) 利用库尔特计数法的测定方法中,粒径分布的体积换算的累积量从较小侧开始为 10% 的粒径 (D10) 与 90% 的粒子径 (D90) 之比 (D10/D90) 在 1.50 以下; (c) 利用水银压入法的测定方法中,平均细孔径在 $85\text{nm} \sim 115\text{nm}$ 的范围内,细孔容积在 1.5mL/g 以上。



1. 一种亲和载体,其特征在於,含有二氧化硅球状体,且在所述的二氧化硅球状体上固定有配体,

所述二氧化硅球状体具有如下特征:

- (a) 利用激光式光散射法的测定方法中,平均粒径为 $30\ \mu\text{m} \sim 40\ \mu\text{m}$;
- (b) 利用库尔特计数法的测定方法中,粒径分布的体积换算的累积量从较小侧开始为 10% 的粒径 D10 与 90% 的粒径 D90 之比、即 D90/D10 在 1.50 以下;
- (c) 利用水银压入法的测定方法中,平均细孔径在 85nm $\sim$ 115nm 的范围内,细孔容积在 1.5mL/g 以上,

所述配体为 A 蛋白,该 A 蛋白的固定化量在 10mg/mL- 柱床以上,

所述亲和载体具有 50mg/mL- 柱床以上的动态结合容量。

2. 如权利要求 1 所述的亲和载体,其特征在於,所述二氧化硅球状体的粒径分布的体积换算的累积量从较小侧开始为 10% 的粒径 D10 与 90% 的粒子径 D90 之比、即 D90/D10 在 1.35 以下。

3. 如权利要求 1 或 2 所述的亲和载体,其特征在於,所述二氧化硅球状体的平均粒径为 $33\ \mu\text{m} \sim 37\ \mu\text{m}$ 。

4. 如权利要求 1 或 2 所述的亲和载体,其特征在於,所述二氧化硅球状体具有 $55\text{m}^2/\text{g} \sim 75\text{m}^2/\text{g}$ 的比表面积。

5. 如权利要求 3 所述的亲和载体,其特征在於,所述二氧化硅球状体具有 $55\text{m}^2/\text{g} \sim 75\text{m}^2/\text{g}$ 的比表面积。

二氧化硅球状体及亲和载体

技术领域

[0001] 本发明涉及一种二氧化硅球状体及亲和载体。

背景技术

[0002] 近年,高精度地纯化或除去特定的蛋白质在医药领域以及医疗领域中得到了重视。例如,在纯化具有特定功能的药物的情况下,需要高精度地纯化特定的蛋白质。

[0003] 亲和色谱法广泛使用作为配体有特异结合性的 A 蛋白。A 蛋白是来源于作为革兰氏阳性球菌的真细菌葡萄球菌 (Staphylococcus) 的蛋白质,具有与来源于各种动物的 IgG 的 Fc 区域特异结合的性质,广泛使用于 IgG 的纯化。众所周知将 A 蛋白固定于不溶性载体上,通过使用该不溶性载体的亲和色谱法特异地分离纯化 IgG 的方法。

[0004] 在亲和色谱法中使用的亲和载体中,通常,使称为连接物(日文:リンカー)的结构介于不溶性载体和配体之间,使连接物的一端与载体结合,并且使连接物的另一端与配体结合,以此将配体固定在不溶性载体上(专利文献 1)。

[0005] 专利文献 2 中,提出了通过含有具有大于 630Å 小于 1000Å 的细孔径以及大于 55 μm 小于 70 μm 的平均粒径的二氧化硅粒子的、适于亲和色谱法的实施的固相载体,提供一种具有改善了的动态容量、在更短的滞留时间下的大流量的色谱法。然而,在专利文献 2 中,如果为了增多二氧化硅粒子的填充量而减小平均二氧化硅粒径则存在压力损失上升的问题,如果压力损失高则线流速的上限受到限制。

[0006] 现有技术文献

[0007] 专利文献

[0008] 专利文献 1:日本专利特开 2011-1336 号公报

[0009] 专利文献 2:日本专利特开 2009-31277 号公报

发明内容

[0010] 发明所要解决的技术问题

[0011] 本发明的目的是提供一种即使在流通溶液的线流速快的情况下压力损失也小、结合容量大的亲和载体。

[0012] 解决技术问题所采用的技术方案

[0013] 本发明的一个方面为一种二氧化硅球状体,其特征在于,(a) 利用激光式光散射法的测定方法中,平均粒径为 30 μm ~ 40 μm;(b) 利用库尔特计数法的测定方法中,粒径分布的体积换算的累积量从较小侧开始 10% 的粒径 (D10) 与 90% 的粒子径 (D90) 之比 (D10/D90) 在 1.50 以下;(c) 利用水银压入法的测定方法中,平均细孔径在 85nm ~ 115nm 的范围内,细孔容积在 1.5mL/g 以上。

[0014] 本发明的另一方面为一种亲和载体,其特征在于,含有所述的二氧化硅球状体,配体固定于所述的二氧化硅球状体上。

[0015] 发明的效果

[0016] 如果采用本发明,可提供一种即使在流通溶液的线流速快的情况下压力损失也小、结合容量大的亲和载体。

附图说明

[0017] 图 1 是本发明的一实施方式的乳化装置的简要剖视图。

[0018] 图 2 是表示实施例以及比较例的柱的线流速和压力损失的关系的图。

[0019] 图 3 是表示实施例以及比较例的柱的滞留时间和动态结合容量的关系的图。

具体实施方式

[0020] 以下对本发明的实施方式进行说明,但本发明不受本实施方式中例示的限定。

[0021] 本发明的一实施方式的二氧化硅球状体的特征在于,(a) 利用激光式光散射法的测定方法中,平均粒径为 $30\ \mu\text{m} \sim 40\ \mu\text{m}$; (b) 利用库尔特计数法的测定方法中,粒径分布的体积换算的累积量从较小侧开始 10% 的粒径 (D10) 与 90% 的粒子径 (D90) 之比 (D10/D90) 在 1.50 以下; (c) 利用水银压入法的测定方法中,平均细孔径在 $85\text{nm} \sim 115\text{nm}$ 的范围内,细孔容积在 1.5mL/g 以上。如果采用这样的二氧化硅球状体,可提供一种即使在流通溶液的线流速快的情况下压力损失也小、结合容量大的亲和载体。

[0022] 如果是相同体积的柱,虽然认为使用平均粒径更小的二氧化硅球状体的一方由于单位二氧化硅球状体的有效容积增加,因而单位载体的作为抗体分子(蛋白质等)结合能力的结合容量增大,但另一方面也有压力损失变高的问题。如果采用本发明,通过使用具备特定的小平均粒径,并且上述 (D10/D90) 的比例小的二氧化硅球状体、即粒径分布尖锐(日文:シャープ)的二氧化硅球状体,可提供低压力损失且高容量的亲和载体。

[0023] 另一方面,作为亲和载体的基材,如果使用琼脂糖或聚甲基丙烯酸酯等树脂类填充剂,由于其柔软性,压力损失容易变高,特别是高线流速下压力损失容易变高。此外,作为亲和载体的基材,如果使用粉碎状的玻璃或陶瓷,由于其形状的原因,压力损失容易变高。

[0024] 进一步,如果采用本实施方式的二氧化硅球状体,由于平均粒径以及 (D10/D90) 的比例小,平均细孔径在适当的范围内,细孔容积大,因此可提供结合容量大的亲和载体。通常,认为线流速越高则结合容量降低,但如果采用本实施方式的二氧化硅球状体,在高线流速下也可得到大的结合容量。即,本实施方式的二氧化硅球状体在动态结合容量方面优良。进一步,由于本实施方式的二氧化硅球状体在高线流速压力损失也低,可进一步增大动态结合容量。

[0025] 这里,结合容量指静态结合容量 (Static Binding Capacity, SBC) 和动态结合容量 (Dynamic Binding Capacity, DBC)。静态结合容量表示载体可吸附抗体分子的上限的量,动态结合容量表示在柱中流动着含有抗体分子的溶液的状态下,抗体分子可以回收的程度。动态结合容量大的载体,在高线流速下也可有效地吸附抗体分子,可在短时间内纯化抗体分子。

[0026] 理想地,如果采用本实施方式的二氧化硅球状体,可提供在滞留时间为 1 分钟的高流速区域(在 20cm 柱中相当于 1200cm/小时)下,抗体分子的动态结合容量在 50mg/mL -柱床以上,更优选在 60mg/mL -柱床以上,并且,压力损失在 5 巴 (bar) 以下,更优选在 3 巴以下的亲和载体。

[0027] 作为二氧化硅球状体形状,如果是球状则没有特别的限定,可以是包括正球体以及椭圆体的球状,从对柱的填充性、抑制使用时的压力损失的观点考虑,优选近似于正球体的形状。

[0028] 作为二氧化硅球状体的平均粒径,为 $30\ \mu\text{m} \sim 40\ \mu\text{m}$,优选 $32\ \mu\text{m} \sim 38\ \mu\text{m}$,进一步优选 $33\ \mu\text{m} \sim 37\ \mu\text{m}$ 。通过使平均粒径在 $30\ \mu\text{m}$ 以上,可在将结合容量保持在较大值的同时防止压力损失的上升。此外,通过使平均粒径在 $40\ \mu\text{m}$ 以下,可增加各粒子的单位有效容积,增大结合容量。这里,二氧化硅球状体的平均粒径为使用激光式光散射法的测定方法下的体积换算的平均粒径。具体而言,作为二氧化硅球状体的平均粒径,可使用堀场制作所株式会社(堀場製作所)制“LA-950V2”等进行测定。

[0029] 在库尔特计数法中,作为粒径分布的体积换算的累积量从较小侧开始的 10% 的粒径(D10)和粒径分布的体积换算的累积量从较小侧开始的粒径 90% 的粒径(D90)的比值(D10/D90)(以下,有时称为“均匀系数”),为 1.50 以下,优选 1.40 以下,进一步优选 1.35 以下。通过使均匀系数在 1.50 以下,即使是平均粒径小的二氧化硅球状体也可防止压力损失的增大。此外,均匀系数越接近 1 左右粒径分布越均匀,因而优选。

[0030] 此处,二氧化硅球状体的均匀系数通过利用库尔特计数法的测定方法测定。D10 为在利用库尔特计数法的粒径分布中,从粒径小的一侧开始累计粒径的体积的情况下,达到合计体积的 10% 时的粒径;D90 为同样地累计体积达到 90% 时的粒径。由于均匀系数(D10/D90)是这些粒径的比值,可由贝克曼库尔特有限公司(ベックマン・コールター社)制“Multisizer III”等对二氧化硅球状体测定所得的 D10 以及 D90 求得。

[0031] 作为二氧化硅球状体的平均细孔径,在水银压入法中,为 $85\text{nm} \sim 115\text{nm}$,优选 $90\text{nm} \sim 110\text{nm}$,更优选 $95\text{nm} \sim 105\text{nm}$ 。通过使平均细孔径在 85nm 以上,可提高吸附抗体分子的能力,提供大容量的载体。此外,通过使平均细孔径在 115nm 以下,可在将抗体分子的吸附量保持在较大值的同时防止二氧化硅球状体的强度的下降。

[0032] 作为二氧化硅球状体的细孔容积,在水银压入法中,为 1.5mL/g 以上,优选 1.55mL/g 以上,更优选 1.6mL/g 以上。通过使细孔容积在 1.5mL/g 以上,可提高吸附抗体分子的能力,提供大容量的载体。此外,从二氧化硅球状体强度的观点考虑,细孔容积优选 1.8mL/g 以下。

[0033] 作为二氧化硅球状体的比表面积,在水银压入法中,优选 $55\text{m}^2/\text{g} \sim 75\text{m}^2/\text{g}$,更优选 $60\text{m}^2/\text{g} \sim 75\text{m}^2/\text{g}$ 。作为比表面积,可与上述的平均细孔径以及细孔容积一起根据目的进行合理化。由于通过增大比表面积将提高吸附抗体分子的能力,因而是理想的,但如果增大则会降低二氧化硅球状体的强度,因此设定在上述范围内即可。

[0034] 这些基于水银压入法的细孔物性可使用岛津制作所株式会社(島津製作所社)制“汞孔度计 Autopore IV9510”等测定。

[0035] 作为上述二氧化硅球状体,可作为亲和载体使用。作为亲和载体,可使用将上述二氧化硅球状体包含在内作为基材并在该二氧化硅球状体上固定配体而得的亲和载体。作为配体,可使用 A 蛋白、G 蛋白、伴刀豆球蛋白 A、抗原、抗体等。

[0036] 使用 A 蛋白作为配体的情况下,亲和载体通过使用上述二氧化硅球状体作为基材,可使 A 蛋白的固定化量达到 10.0g/L -柱床以上,更理想的为 11.0g/L -柱床以上,进一步理想的为 11.5g/L -柱床以上。

[0037] 这里,作为 A 蛋白的固定化量的测定方法,可干燥固定了 A 蛋白的载体,对该载体进行元素分析求得。

[0038] 如果采用这样的亲和载体,可使滞留时间为 1 分钟的高线流速区域中(在 20cm 柱中相当于 1200cm/小时)的抗体分子的动态结合容量在 50mg/mL-柱床以上,进一步可使其在 60mg/mL-柱床以上,并且,压力损失在 5 巴以下,进一步可使其在 3 巴以下。此外,作为这样的亲和载体的静态结合容量在 80mg/mL-柱床以上,进一步可使其在 85mg/mL-柱床以上。

[0039] 作为压力损失的测定方法,是在柱内填充亲和载体,将该柱装填在色谱装置中,使蒸馏水以各种线流速通过,求出运转压力。接着,将空柱装填在色谱装置中,同样地使蒸馏水以各种线流速通过,通过将求得的运转压力从之前的填充了亲和载体的柱的运转压力中扣除来测定压力损失。

[0040] 作为动态结合容量,可在柱内填充亲和载体,将该柱装填在色谱装置中,使含有抗体分子的样品溶液以规定的线流速在柱内通过,测定溶出液的吸光度,由测定到所添加的样品溶液的吸光度的规定比例(例如 10%)的穿透(日文:ブレイクスルー)时的添加抗体分子的质量求得。吸光度可使用岛津制作所株式会社制“UV-1800”等测定。

[0041] 此外,作为静态结合容量,可在亲和载体中加入含有规定浓度的抗体分子的溶液,在适当的混合以及搅拌之后,离心分离,通过测定吸光度使上清液的抗体分子的量少量化,使用朗缪尔曲线法(日文:ラングミュアプロット法)求得。吸光度可使用岛津制作所株式会社制“UV-1800”等测定。

[0042] 接着,对二氧化硅球状体以及亲和载体的制造方法进行说明。以下,作为一例,说明上述物性的二氧化硅球状体的制作、在该二氧化硅球状体上固定 A 蛋白的方法。

[0043] 作为上述物性的二氧化硅球状体的制造方法,没有特别的限定,作为一例,可乳化含有二氧化硅前体的分散相和连续相,使所得的乳液凝胶化以获得二氧化硅球状体。如果有必要,可适当进行用于增大二氧化硅球状体的平均细孔径以及细孔容积的处理。

[0044] 作为乳化工序,理想的是介由微孔或多孔质膜向连续相供给含有二氧化硅前体的分散相以制作乳液的方法。据此制作均匀的液滴径的乳液,作为结果可获得均匀系数在 1.5 以下的均匀粒径的二氧化硅球状体。作为这样的乳化工序,作为一例可使用微混合器法或膜乳化法。

[0045] 以下,对使用含有二氧化硅前体的水性液体作为含有二氧化硅前体的分散相、使用有机液体作为连续相来制作 W/O 型乳液的例子进行说明。另外,也可将有机液体作为含有二氧化硅前体的分散相、将水性液体作为连续相来制作 O/W 型乳液。

[0046] 作为含有二氧化硅前体的水性液体,如果可通过凝固形成沉淀物,则均可采用。具体而言,可例举溶解了水溶性二氧化硅的水溶液、水解有机硅化合物所得的硅溶胶以及市售的硅溶胶等将固体二氧化硅分散了的水性分散液。尤其优选使用碱金属硅酸盐的水溶液。作为碱金属可例举锂、钠、钾、铷等,其中根据获得的容易度、经济的理由最优选钠。钠和硅酸的比例以 $\text{SiO}_2/\text{Na}_2\text{O}$ (摩尔比)计优选 2.0 ~ 3.8,进一步优选 2.0 ~ 3.5。此外,碱金属硅酸盐水溶液的浓度以 SiO_2 浓度计优选 5 ~ 30 质量%,进一步优选 5 ~ 25 质量%。

[0047] 作为有机液体没有特别的限定,可使用在水性液体中为不溶性的物质,例如,可将以下所例举的物质中的 1 种或 2 种以上组合使用。

[0048] 正己烷、异己烷、正庚烷、异庚烷、正辛烷、异辛烷、壬烷、癸烷等脂肪族烃类,环戊烷、环己烷、环己烯等的脂环族烃类,苯、甲苯、二甲苯、乙苯、丙苯、异丙苯、均三甲苯、四氢化萘、苯乙烯等芳香族烃类,丙醚、异丙醚等醚类,乙酸乙酯、乙酸正丙酯、乙酸异丙酯、乙酸正丁酯、乙酸异丁酯、乙酸正戊酯、乙酸异戊酯、乳酸丁酯、丙酸甲酯、丙酸乙酯、丙酸丁酯、丁酸甲酯、丁酸乙酯、丁酸丁酯等酯类等。

[0049] 作为有机液体,优选碳数 9 ~ 12 的饱和烃,综合考虑操作性、火灾安全性、凝固粒子与有机液体的分离性、二氧化硅球状体的形状特性、有机液体在水中的溶解性等进行选择。可单独使用碳数 9 ~ 12 的饱和烃,也可将其中二种以上混合使用。此外,如果碳数 9 ~ 12 的饱和烃的化学稳定性良好,可以是直链状烃,也可以是有侧链的烃。

[0050] 作为碳数 9 ~ 12 的饱和烃的闪点,优选 20 ~ 80℃,更优选 30 ~ 60℃。在以闪点不足 20℃的饱和烃作为有机液体的情况下,由于闪点过低,需要在防火上、操作环境上的应对。此外,闪点超过 80℃的饱和烃则由于挥发性小,有附着在得到的二氧化硅球状体上的烃的量变多的可能性。

[0051] 本实施方式中,乳液凝固之后的二氧化硅球状体和有机液体通常固液分离。分离后的二氧化硅球状体上附着或者吸附的有机液体优选通过过滤操作、清洗操作、干燥操作等进行分离。

[0052] 本实施方式中,优选在形成 W/O 型乳液时,使用表面活性剂。作为表面活性剂,例如,可使用以下所列举的物质中的 1 种、或者将 2 种以上组合使用。

[0053] 可列举失水山梨糖醇单硬脂酸酯、失水山梨糖醇单月桂酸酯、失水山梨糖醇单棕榈酸酯、失水山梨糖醇单硬脂酸酯、失水山梨糖醇三硬脂酸酯、失水山梨糖醇单油酸酯、失水山梨糖醇三油酸酯等失水山梨糖醇脂肪酸酯类;

[0054] 聚氧乙烯失水山梨糖醇单月桂酸酯、聚氧乙烯失水山梨糖醇单棕榈酸酯、聚氧乙烯失水山梨糖醇单硬脂酸酯、聚氧乙烯失水山梨糖醇三硬脂酸酯、聚氧乙烯失水山梨糖醇单油酸酯、聚氧乙烯失水山梨糖醇硬脂酸酯等聚氧乙烯失水山梨糖醇脂肪酸酯类;

[0055] 聚氧乙烯十二烷基醚、聚氧乙烯十六烷基醚、聚氧乙烯十八烷基醚、聚氧乙烯油基醚、聚氧乙烯辛基酚醚、聚氧乙烯壬基酚醚等聚氧乙烯高级醇醚类;

[0056] 聚氧乙烯乙二醇单月桂酸酯、聚氧乙烯乙二醇单硬脂酸酯、聚氧乙烯乙二醇单油酸酯等聚氧乙烯脂肪族酯类;

[0057] 硬脂酸单甘油酯、油酸单甘油酯等甘油脂肪酸酯类等。

[0058] 进一步,也可使用聚氧乙烯山梨糖醇脂肪酸酯类、蔗糖脂肪酸酯类、聚甘油脂肪酸酯类聚氧乙烯氢化蓖麻油类等。

[0059] 表面活性剂的使用量,根据表面活性剂种类、表示表面活性剂的亲水性或疏水性程度的指标 HLB(Hydrophile-lipophile balance:亲水亲油平衡)、目标二氧化硅球状体的粒径等条件而不同,但优选在上述有机液体中含有 500 ~ 20000ppm,更优选含有 1000 ~ 10000ppm。如果不足 500ppm,乳液有变得不稳定的可能性。另外,如果超过 20000ppm,作为制品的二氧化硅球状体上附着的表面活性剂量将变多,因此不优选。

[0060] 理想的是将含有二氧化硅前体的水性液体和有机液体在室温(20 ~ 23℃)下的体积比值,作为得到的乳液中的 W/O 比值设为 1 ~ 100 左右。

[0061] 作为乳化工序一个实施方式,将含有二氧化硅前体的水性液体通过微孔挤出至以

层流流动的有机液体中,可形成以有机液体为连续相、其中的含有二氧化硅前体的水性液体的液滴为分散相构成的乳液,即 W/O 型乳液(例如可使用日本专利第 4193626 号公报记载的方法)。

[0062] 本实施方式中,通过使有机液体的流速在 $0.001 \sim 5\text{m/s}$,形成液滴径分布狭窄的乳液液滴,可使得到的二氧化硅球状体的液滴径分布也狭窄。进一步优选有机液体的流速为 $0.1 \sim 4\text{m/s}$ 的情况。

[0063] 优选使流道中流动的有机液体的雷诺数(日文:レイノルズ数)在 2100 以下。此处,在流道的截面为圆形的情况下雷诺数以式 2 计算,流道的内径 D 使用流道的截面中的最小径。这里, D (流道的内径:m), u (平均流速:m/秒), ρ (流体密度: kg/m^3), μ (流体粘度:帕·秒)。

[0064] 雷诺数(一) = $D \cdot u \cdot \rho / \mu$. . . 式 2

[0065] 另外,在流道的截面不是圆形的情况下雷诺数以式 3 计算。这里, r 为流道水力半径(m) = 流道的截面积(m^2) / 流道截面的与流体接触的周长(m), u 、 ρ 、 μ 与式 2 相同。

[0066] 雷诺数(一) = $4 \times r \cdot u \cdot \rho / \mu$. . . 式 3

[0067] 在雷诺数为 2100 以下的情况下,由于有机液体流动为层流状态,有机液体流动稳定。其结果是,由于通过微孔供给的含有二氧化硅前体的水性液体总是构成具有一定的液滴径的 W/O 型乳液,因此实质上液滴径均匀的二氧化硅球状体易于制造。相反地,在雷诺数超过 2100 的情况下,由于有机液体流动为紊流,与以往一样构成液滴径不规则的 W/O 型乳液,其结果是,二氧化硅球状体的粒径也不规则。此外,对于该有机液体的流道的形状没有特别的限定。

[0068] 图 1 是表示用于进行乳化工序的乳化装置的一例的简要剖视图。图 1 中,1 以及 2 是丙烯酸树脂制部件,3 是在蚀刻处理下形成了流道 3a 的不锈钢板,4 是对形成了多个微孔 4a 的表面进行了疏水化处理的不锈钢板。于是,有机液体以从连续相供给部 5 供给、从连续层排出部 6 排出的方式在流道 3a 以层流状态流动,含有二氧化硅前体的水性液体从分散相供给部 7 供给,经由微孔 4a 被压入有机液体中。不锈钢板 3 的流道 3a,可沿着液体流动方向形成多条流道 3a。

[0069] 图 1 所示的例子中,有机液体的流道以间隔壁划分形成,通过沿间隔壁的厚度方向贯通的微孔压入水性液体。藉此,由于水性液体与有机液体以直角交流(日文:直交流)方式混合,通过有机液体的流动易于得到乳液液滴被切离的效果,因此容易稳定得到粒径小的二氧化硅球状体。

[0070] 此外,优选在每个流道设置多个微孔。在该情况下,在有机液体的流道上,优选以与微孔的截面形状外切的圆的直径的 $1/2$ 以上为间隔设置多个微孔。进一步优选以与微孔的截面形状外切的圆的直径以上为间隔设置。如果将微孔的间隔仅仅设置为短于外切圆的直径的 $1/2$,则乳液的液滴合并,其结果是,液滴径有变得不均匀的可能性,因而不优选。但是,在不发生合并的范围内尽可能密集地设置则可提高生产性,因而优选。

[0071] 本实施方式中,作为设有微孔的间隔壁的材料,优选使用对含有二氧化硅前体的水性液体以及有机液体具有耐受性的材料。以金属为主体的材料由于加工性以及强度优良因而优选,但也可优选使用其它以树脂为主体的材料。作为树脂,如果使用选自聚苯硫醚、聚醚醚酮、聚酰亚胺、聚酰胺酰亚胺、芳香族聚酯以及氟树脂的 1 种以上,则因加工性、尺寸

稳定性优良而优选。

[0072] 此外,作为设置微孔的间隔壁的材料,优选为亲连续相(该情况下为亲有机液体)性的材料。因此,在金属材质的情况下,希望通过烧上油(日文:油を焼き付ける)、或者与疏水处理剂进行反应、用疏水性聚合物进行涂覆等方法,实施使其具有亲有机液体性的处理。这是为了促使含有二氧化硅前体的水性液体通过微孔之后自间隔壁发生液体分离,使用高速相机的观察表明,在间隔壁为亲水性的情况下,通过微孔后,水性液体沿着间隔壁流动,容易形成大的乳液。

[0073] 作为乳化工序的其它实施方式,也可以使用多孔质膜来代替上述微孔。介由多孔质膜向有机液体供给含有二氧化硅前体的水性液体,从而可与微孔同样地制作均匀的液滴径的乳液。多孔质膜优选表面为疏分散相(该情况下为疏水性)的多孔质膜。藉此,使含有二氧化硅前体的水性液体成为均匀的液滴分散在有机液体中。

[0074] 作为多孔质膜的一例,可例举多孔质玻璃、高分子材料过滤器、金属烧结过滤器等。

[0075] 作为在乳液中添加胶凝剂获得二氧化硅球状体的工序,有从1滴乳液分散相制造1粒二氧化硅球状体的方法。

[0076] 通过将乳液凝胶化,球状的水溶液的分散液滴在保持该球状的状态下被凝胶化,得到球状的二氧化硅水凝胶。凝胶化优选在乳液中导入胶凝剂的方法。作为胶凝剂,可使用无机酸或有机酸等酸,特别地,优选作为无机酸的硫酸、盐酸、硝酸、碳酸等。从操作的容易性等方面看,最简便且优选的是使用二氧化碳的方法。关于二氧化碳,可导入100%浓度的纯二氧化碳,也可导入空气或用惰性气体稀释了的二氧化碳。凝胶化所需的时间通常优选4~30分钟,凝胶化时的温度优选5~30℃。

[0077] 凝胶化结束后,优选静置反应体系,使有机液体的相和含有二氧化硅水凝胶的水性相2相分离来分离硅胶。在使用饱和烃有机液体的情况下,由于在上层的有机液体的相和在下部的含有二氧化硅水凝胶的水性液体相发生分离,因此通过公知的方法分离两者。

[0078] 对二氧化硅水凝胶的水浆料,根据需要添加硫酸等酸将pH调整为1~5左右完成凝胶化,过滤水浆料,水洗得到二氧化硅水凝胶,通过将其在100~150℃左右的温度下干燥1~30小时左右,得到二氧化硅球状体。

[0079] 此外,在使用硅酸碱水溶液作为含有二氧化硅前体的水性液体、使用酸作为胶凝剂的情况下,由于生成副产物碱金属盐(例如胶凝剂为二氧化碳时则是碳酸钠等),为了防止该盐混入二氧化硅球状体,优选在过滤的时候充分水洗二氧化硅水凝胶(湿滤饼)。根据情况,可在水洗后的湿滤饼中再次添加水使之成为浆料,再次过滤,反复水洗。此外此时,根据需要可将该浆料的pH调整到1~5左右进行再次熟化操作。

[0080] 通过上述乳化工序以及凝胶化工序得到的二氧化硅球状体(以下,有时称为“乳化后的二氧化硅球状体”)具有均匀的粒径,通过适当调整乳化以及凝胶化的条件,可提供平均粒径、均匀系数(D10/D90)、平均细孔径以及细孔容积在上述范围内的二氧化硅球状体。

[0081] 上述得到的二氧化硅球状体,在乳化工序以及凝胶化工序之后,根据需要,为了增大平均细孔径以及细孔容积,可进一步进行以下处理。

[0082] 可通过采用以下任一种方法,增大二氧化硅球状体的平均细孔径,例如:将乳化后

的二氧化硅球状体含浸在 2 ~ 50% 磷酸中、于 100 ~ 700℃ 加热处理的方法（磷酸浸渍—加热处理法，例如日本专利特开平 3-23211 号公报记载的方法）；于 270 ~ 350℃ 水热处理的方法（水热处理法，例如日本专利特公昭和 61-20487 号公报记载的方法）；以 NaCl 等无机盐水溶液填充于硅胶的细孔内，干燥后，于 350 ~ 1500℃ 烧成的方法（无机盐填充—烧成法，例如日本专利特开昭 47-5817 号公报记载的方法）。

[0083] 进一步，对于乳化后的二氧化硅球状体或者乳化后进一步增大了细孔径的二氧化硅球状体，通过使其与碱水溶液或者氟水溶液进行接触，可在保持均匀系数的状态下，增加其平均细孔径以及细孔容积（例如可使用日本专利特开 2007-238426 号记载的方法）。

[0084] 在碱水溶液的处理中，作为碱，可使用氢氧化钠、氢氧化钾、氢氧化铷、氢氧化铯等碱金属的氢氧化物，氢氧化镁、氢氧化钙、氢氧化锶、氢氧化钡等碱土金属的氢氧化物等强碱。优选氢氧化钠及 / 或氢氧化钾。

[0085] 使用的碱与硅胶球状体的质量比（碱 (OH) 质量 / 硅胶原体质量）为 0.02/1 ~ 0.2/1，优选 0.05/1 ~ 0.15/1 左右。如果碱的比例不到以上范围则不能充分进行调整硅胶原体细孔物性的反应，比例超过以上范围则难以在控制细孔物性的同时进行调节。

[0086] 碱水溶液的浓度为 0.1 ~ 40 质量%，优选 0.5 ~ 30 质量%，进一步优选 1 ~ 20 质量%。如果浓度不到以上范围则不能充分获得碱的使硅胶原体细孔物性增加的作用，此外如果浓度超过以上范围则反应过度，难以控制细孔物性。此外，碱水溶液中的硅胶原体的浆料浓度例如为 1 ~ 60 质量%，优选 2 ~ 50 质量%，进一步优选 3 ~ 40 质量%。

[0087] 反应温度为 5 ~ 100℃，优选 10 ~ 80℃，进一步优选 20 ~ 50℃ 左右。此外，可不用特地进行加温或冷却，以室温进行反应。

[0088] 处理时间（反应时间）可根据碱水溶液的浓度、反应温度、碱质量和硅胶原体质量比、浆料浓度等因素变化，但通常在 1 分钟 ~ 50 小时，优选 10 分钟 ~ 40 小时，进一步优选 30 分钟 ~ 30 小时，最优选 1 ~ 24 小时左右。

[0089] 将处理工序结束后的浆料通过过滤或离心分离进行固液分离，将分离后的硅胶饼置于搅拌槽中，使之再次分散于水中，添加硫酸、盐酸、硝酸等适当的酸使 pH 达到 1 ~ 3 左右，在浆料状态下搅拌 0.1 ~ 2 小时，充分清洗碱。根据需要，进一步通过将其过滤、清洗、干燥，得到调整了细孔物性的二氧化硅球状体。

[0090] 可使用氟化氢水溶液代替上述碱水溶液。使用氟化氢水溶液的情况下，可与上述使用碱水溶液的情况同样处理。

[0091] 使用的氟化氢与硅胶原体的质量比（氟化氢质量 / 硅胶原体质量）为 0.1/1 ~ 1.8/1，优选 0.2/1 ~ 1.6/1 左右。此外，氟化氢水溶液的浓度为 0.01 ~ 20 质量%，优选 0.5 ~ 15 质量%，进一步优选 1 ~ 10 质量%。在氟化氢水溶液的浓度在上述范围中的情况下，可适度控制细孔物性。

[0092] 作为将 A 蛋白固定于上述二氧化硅球状体的工序，可通过使称为连接物的结构介于二氧化硅球状体和配体之间，使连接物的一端与二氧化硅球状体结合，并且使连接物的另一端与配体结合，以此将配体固定在二氧化硅球状体上。

[0093] 以下，作为一例，对使二氧化硅球状体和含有环氧基的化合物进行反应，进一步与 A 蛋白反应的方法进行说明。

[0094] 通过使二氧化硅球状体与含有环氧基的化合物进行反应，可在二氧化硅球状体表

面固定含有环氧基的化合物,形成连接物。连接物在末端具有环氧基。

[0095] 作为含有环氧基的化合物,优选使用具有环氧基的硅烷偶联剂。作为含有环氧基的硅烷偶联剂,可使用 γ -环氧丙氧基丙基三甲氧基硅烷、 γ -环氧丙氧基丙基甲基二乙氧基硅烷、 β -(3,4-环氧环己基)乙基三甲氧基硅烷等。

[0096] 作为使二氧化硅球状体与含有环氧基的化合物进行反应的方法,没有特别的限定,例如,可使用在溶剂中加热二氧化硅球状体和含有环氧基的化合物的方法。反应温度例如为 30 ~ 400℃左右,优选 100 ~ 300℃。反应时间例如为 0.5 ~ 40 小时左右,优选 3 ~ 20 小时。

[0097] 作为溶剂,只要是不与含有环氧基的化合物发生反应,且在反应温度下稳定的物质,就没有特别的限定。从含有环氧基的化合物的溶解性、沸点,进一步与其它溶剂的亲合性(即清洗时的除去性)等观点考虑,通常,可使用苯、甲苯、二甲苯、辛烷、异辛烷、四氯乙烯、氯苯、溴苯等。此外,反应操作可在溶剂的回流下进行。

[0098] 含有环氧基的化合物的固定化量,通常越多,即达到致密覆盖二氧化硅球状体表面整体的量,可提高二氧化硅球状体的耐碱性,从该观点考虑是优选的。具体而言,优选以使每 1g 二氧化硅球状体上的含有环氧基的化合物的量(含有环氧基的化合物的固定化量除以二氧化硅球状体的质量而得的值)达到 220 $\mu\text{mol/g}$ 以上的条件进行反应。含有环氧基的化合物的固定化量更优选 220 ~ 320 $\mu\text{mol/g}$,特别优选 240 ~ 300 $\mu\text{mol/g}$ 。

[0099] 此外,含有环氧基的化合物的固定化量可基于公知的方法求出。例如,对于将含有环氧基的化合物固定后的硅胶,利用元素分析法测得碳含有率,基于该测得的碳含有率,使用 1 分子含有环氧基的化合物所含的碳的量以及二氧化硅球状体质量,可算出含有环氧基的化合物的固定化量。

[0100] 在二氧化硅球状体和含有环氧基的化合物的反应体系中,进一步,可混合三乙胺、吡啶、二异丙基乙胺等胺化合物。藉此,通过胺的催化作用,促进二氧化硅球状体和含有环氧基的化合物的反应。

[0101] 接着,将 A 蛋白固定在导入了连接物的二氧化硅球状体上。作为 A 蛋白,可使用具有赖氨酸氨基的 A 蛋白。其中,可优选使用重组蛋白 A。

[0102] 作为使配体结合在上述二氧化硅球状体的连接物结构上的方法,此处没有特别的限定,可将二氧化硅球状体和含有 A 蛋白的溶液混合,使用适当催化剂和反应试剂等在适当的溶剂下进行反应。在连接物结构和配体的反应中,例如,反应温度可为 20 ~ 30℃,反应时间可为 1 ~ 24 小时。反应体系的 pH 优选 8 ~ 9.5,可通过缓冲液调整。

[0103] 作为 A 蛋白的掺含量,单位填充容积优选相当于 10.0mg/mL-柱床以上的量,更优选 11.5mg/mL-柱床以上。

[0104] 此外,为了使连接物结构中残留的环氧基失活,在配体结合了二氧化硅球状体之后,优选使用乙醇胺和三羟甲基氨基甲烷(日文:トリス)进行反应,或者以酸性水溶液进行处理。

[0105] 作为反应后的后处理,没有特别的限制,可通过过滤以及清洗等通常采用的方法进行。

[0106] 此外,固定化配体的载体,优选以 pH5 ~ 6 于 4 ~ 8℃冷藏保存,进一步作为防腐剂可添加丙二醇等。

[0107] 作为A蛋白的固定化量,优选使单位填充容量的A蛋白的量(A蛋白的固定化量除去填充容量后的值)在10mg/mL-柱床以上进行反应。A蛋白的固定化量更优选为11.5mg/mL-柱床以上。

[0108] A蛋白的固定化量可基于公知的方法求出。例如,由掺合了的A蛋白溶液的浓度,和使该溶液与二氧化硅球状体混合、结合了A蛋白后、分离二氧化硅球状体所得的A蛋白溶液的浓度的差,可计算在二氧化硅球状体上固定化了的量。溶液浓度可通过光学方法测定。

[0109] 在用上述亲和载体实施色谱法的情况下,将亲和载体填充于柱中使用。作为柱可适当使用玻璃制、不锈钢制、树脂制等的柱。

[0110] 实施例

[0111] 以下,通过实施例对进行本发明详细说明,但本发明并不限于此。在以下的说明中,共通成分使用相同物质。此外,关于没有特别描述的成分,使用关东化学株式会社(関東化学社)制的产品。

[0112] (制造例1) 实施例的亲和载体的制作

[0113] (1) 分散相以及连续相的制备

[0114] 作为分散相,将3号硅酸钠(AGC Si-Tech株式会社(AGC エスアイテック社)制)用水稀释,制备SiO₂浓度为16.9质量%、Na₂O浓度为6.13质量%(SiO₂/Na₂O摩尔比=2.85)、比重1.222的硅酸钠溶液。

[0115] 作为连续相,制备在比重0.73的直链饱和烃癸烷(C₁₀H₂₂,东曹株式会社(東ソー社)制)中溶解有作为表面活性剂的1.0质量%的失水山梨糖醇单油酸酯(三洋化成工业株式会社(三洋化成工業社)制)而得的溶液。

[0116] (2) 乳化装置的制作

[0117] 用于乳化分散相和连续相的乳化装置示于图1。

[0118] 图1所示的乳化装置中,1以及2是丙烯酸树脂制部件,3是在蚀刻处理下形成了流道(微通道)3a的不锈钢板,4是形成了多个微孔4a的不锈钢板。于是,连续相以从连续相供给部5供给、从连续相排出部6排出的方式在流道3a以层流状态流动,硅酸钠溶液构成的分散相从分散相供给部7供给,介由微孔4a被压入连续相中。

[0119] 通过蚀刻以并列配置2条流道3a的方式对不锈钢板3进行加工。2条流道3a分别为3.0mm(宽)×0.15mm(厚)×63mm(长)。

[0120] 对于不锈钢板4,通过激光加工,以每1条流道3a上有横向26个×纵向510个=总计13260个从排出口侧的面可见的孔直径14μm的微孔4a的方式进行加工。不锈钢板4上,为了使其表面具有拒水性,使用溶剂可溶型氟树脂(旭硝子株式会社(旭硝子社)制:CYTOP CTL-102AE)涂覆表面。

[0121] (3) 乳化后的二氧化硅球状体的制作

[0122] 将上述(2)所制作的乳化装置水平放置进行使用,从连续相供给部5供给上述(1)所制备的连续相,从分散相供给部7通过微孔4a供给上述(1)所制备的由硅酸钠溶液构成的分散相,从而连续制造将硅酸钠溶液分散于连续相中的W/O型乳液。此时,连续相的供给量在每1流道3a中为642mL/小时,流道中流动方向的流速为3m/秒。实验于常温下进行,此时,分散相的供给量在每一个微孔4a中为10.4μL/小时。

[0123] 接着,在搅拌得到的乳液的同时供给15分钟二氧化碳,使二氧化硅球状体析出。

进一步,加水与连续相分离后,添加 20 质量%的硫酸,除去 CO₂后,水洗干燥,得到乳化后的二氧化硅球状体。

[0124] 得到的乳化后的二氧化硅球状体的物性如下所示,具有均匀的粒径。

[0125] 平均粒径 :40.6 μm

[0126] 均匀系数 (D10/90) :1.31

[0127] 平均细孔径 :15.6nm

[0128] 细孔容积 :1.16mL/g

[0129] 比表面积 :298m²/g

[0130] 此处,作为测定方法,利用激光式光散射法使用 LA-950V2(堀场制作所株式会社(堀場製作所社)制)测定平均粒径。此外,使用 Multisizer III(贝克曼库尔特有限公司制)利用库尔特计数法测定 D10 粒径以及 D90 粒径,由其比值 (D10/D90) 求得均匀系数。

[0131] 此外,平均细孔径、细孔容积以及比表面积通过使用 Autopore IV9510(岛津制作所株式会社制)利用水银压入法测定。以下相同。

[0132] (4) 二氧化硅球状体的制作

[0133] 在上述乳化工序所得的乳化后的二氧化硅球状体 34.5g 中,以相对于 SiO₂达到 0.7 质量%的条件添加 1.5 质量%的氯化钠 (NaCl) 水溶液,于 180℃干燥一昼夜。将其投入坩锅,于 180℃保持 6.5 小时后,于 730℃进行 13 小时的烧成。为了除去多余的钠成分,用 18%的盐酸水溶液进行 2 小时的回流处理。过滤、清洗后,在规定量的 0.85M 的氢氧化钠 (NaOH) 水溶液中以 25℃浸渍 24 小时。过滤后,以 pH1.5 的硫酸水溶液清洗,得到二氧化硅球状体的最终产品。

[0134] 得到的二氧化硅球状体的物性如下。

[0135] 平均粒径 :34.4 μm

[0136] 均匀系数 (D10/90) :1.31

[0137] 平均细孔径 :105.0nm

[0138] 细孔容积 :1.64mL/g

[0139] 比表面积 :60m²/g

[0140] (5) 连接物的导入

[0141] 在得到的二氧化硅球状体 10g 中加入 80mL 甲苯、4.62mL 二异丙基乙胺、6.00mL 的 γ-环氧丙氧基丙基三甲氧基硅烷,回流 4.5 小时。放置冷却后,过滤,以 200mL 甲苯、100mL 四氢呋喃 (THF)、130mL 甲醇清洗,于 70℃干燥。

[0142] 对于得到的二氧化硅球状体每 1g 中的连接物固定化量,使用全自动元素分析装置 (CHNS/O) 2400II(珀金埃尔默股份有限公司 (Perkin Elmer 社) 制) 进行元素分析,结果如下所示。

[0143] 连接物固定化量 :260 μmol/g

[0144] (6) 配体的导入

[0145] 在得到的导入连接物的二氧化硅球状体 4g 中加入 0.2M 碳酸氢盐缓冲液、以及相当于单位填充容积 12mg/mL-柱床的重组蛋白 A(利用 U. S. 5084559 号公报中记载的方法制作),于室温搅拌 3 小时。过滤、水洗后,在 16mL 的 0.5 质量%的盐酸水溶液中于室温下浸渍一昼夜,使残留的环氧基失活。过滤后,以 130mL 磷酸缓冲生理食盐水 (PBS, pH7.4)、

130mL 柠檬酸缓冲液 (pH2.2) 清洗,再以 130mL 的 PBS、60mL 的 50mM NaOH 水溶液、130mL 蒸馏水清洗。在含有 1% 苄醇的 0.1M 乙酸缓冲液 (pH5.2) 中冷藏保存。

[0146] 将得到的亲和载体干燥,对 A 蛋白的配体固定化量使用全自动元素分析装置 (CHNS/O) 2400II (珀金埃尔默股份有限公司制) 进行元素分析,结果单位填充容积如下所示。

[0147] 配体固定化量 :11.5mg/mL- 柱床

[0148] 此外,静态结合容量 (SBC) 如下所示。作为静态结合容量,在 A 蛋白固定化载体 0.1mL- 柱床中加入初始浓度为 0 ~ 1.82mg/mL 的多克隆 human IgG 溶液 (西格玛奥德里奇公司 (シグマアルドリッチ社) 制),在室温下用旋转混合器 (日文:ロータリーミキサー) 搅拌一昼夜,离心分离后,通过上清液的 280nm 吸光度测定 (UV-1800 (岛津制作所社制)) 定量残留的 IgG 浓度,使用朗缪尔曲线法算出。

[0149] 静态结合容量 (SBC) :88mg/mL- 柱床

[0150] (制造例 2) 比较例的亲载体体的制作

[0151] 在根据上述制造例 1 的实施例的亲载体体的制作中,除了作为二氧化硅球状体的最终产品使用 AGC Si-Tech 公司制“M. S. GEL. SIL D-50-1000AW”以外,进行同样的操作,制作亲和载体。

[0152] 使用的二氧化硅球状体“M. S. GEL. SIL D-50-1000AW”的物性如下所示。

[0153] 平均粒径 :45.7 μm

[0154] 均匀系数 (D10/90) :1.93

[0155] 平均细孔径 :99.0nm

[0156] 细孔容积 :1.78mL/g

[0157] 比表面积 :71m²/g

[0158] 此外,亲和载体的物性如下所示。

[0159] 配体固定化量 :11.6mg/mL- 柱床

[0160] 静态结合容量 (SBC) :74mg/mL- 柱床

[0161] (实施例 1)

[0162] 作为实施例 1,将以上述制造例 1 制作的亲和载体填充于内径 5mm × 长 200mm 的玻璃制柱中,制作亲和色谱法用柱。

[0163] (比较例 1 ~ 3)

[0164] 作为比较例 1,除了使用以制造例 2 制作的比较例的亲载体以外,其它与上述实施例 1 一样,制作亲和色谱法用柱。

[0165] 作为比较例 2,除了使用市售的琼脂糖类载体 (MabSelect SuRe, GE 医疗公司 (GE Healthcare 社) 制) 以外,其它与上述实施例 1 一样,制作亲和色谱法用柱。

[0166] 作为比较例 3,除了使用市售的 CPG (受控微孔玻璃 (日文:コントロールポアーガラス)) 类载体 (Prosep Ultra Plus, 密理博有限公司 (Millipore 社) 制) 以外,其它与上述实施例 1 一样,制作亲和色谱法用柱。

[0167] < 评价 >

[0168] 测定在实施例 1 以及比较例 1 ~ 3 的柱中流通水的情况下的线流速和压力损失的关系。结果示于图 2 中。

[0169] 将亲和载体填充于内径 5mm×长 200mm 的玻璃制柱中,将柱装填于色谱装置“AKTA explorer10S”(GE 医疗公司制),在各种线流速下流通蒸馏水,求出运转压力 A。接着,除了不在柱内填充亲和载体外进行同样的操作,求出运转压力 B。在各线流速下从运转压力 A 减去运转压力 B,求出压力损失。

[0170] 如图 2 所示,实施例 1(以实线表示近似直线)与比较例 1(以点虚线表示近似直线)显示出相同的压力损失,在相当于滞留时间为 1 分钟的 1200cm/小时的高线流速下显示出 3 巴以下的低压力损失。虽然实施例 1 的二氧化硅球状体与比较例 1 相比平均粒径更小,但由于均匀系数小,可将压力损失抑制在低水平。另一方面,琼脂糖类载体的比较例 2(以双点划线表示近似直线)在同样的线流速下有 10 巴以上的高压力损失,CPG 类载体的比较例 3(以长虚线表示近似直线)在同样的线流速下有 3 巴以上压力损失。

[0171] (实施例 2)

[0172] 作为实施例 2,将上述制造例 1 的亲和载体填充于内径 5mm×长 50mm 的玻璃制柱中,制作亲和色谱法用柱。

[0173] (比较例 4~8)

[0174] 作为比较例 4,除了使用以制造例 2 制作的亲和载体以外,其它与上述实施例 2 一样,制作亲和色谱法用柱。

[0175] 作为比较例 5,除了使用市售的琼脂糖类载体(MabSelect Xtra, GE 医疗公司制)以外,其它与上述实施例 2 一样,制作亲和色谱法用柱。

[0176] 作为比较例 6,除了使用市售的琼脂糖类载体(MabSelect SuRe, GE 医疗公司制)以外,其它与上述实施例 2 一样,制作亲和色谱法用柱。

[0177] 作为比较例 7,除了使用市售的琼脂糖类载体(MabSelect SuRe XL, GE 医疗公司制)以外,其它与上述实施例 2 一样,制作亲和色谱法用柱。

[0178] 作为比较例 8,除了使用市售的 CPG(受控微孔玻璃)类载体(Prosep Ultra Plus, 密理博有限公司制)以外,其它与上述实施例 2 一样,制作亲和色谱法用柱。

[0179] <评价>

[0180] 按照以下顺序测定动态结合容量(DBC),结果示于图 3 中。将实施例 2 以及比较例 5~8 的柱装填于色谱装置“AKTA explorer10S”(GE 医疗公司制),在各柱中以各种线流速流通含有 0.5mg/mL 多克隆 human IgG 的 PBS(pH7.4)。对流通的含有 0.5mg/mL 多克隆 human IgG 的 PBS(pH7.4),在溶出液的吸光度穿透 10%的时刻,求出添加的多克隆 human IgG 的质量,算出动态结合容量。

[0181] 如图 3 所示,实施例 2 的柱与比较例 4~8 相比,显示出高动态结合容量。在滞留时间为 1 分钟的高线流速区域中,琼脂糖类载体的比较例 5~7 为 20~30mg/mL-柱床,CPG 类载体的比较例 8 以及制造例 2 的柱的比较例 4 为约 40mg/mL-柱床,相对于此,实施例 2 的柱显示出约 60mg/mL-柱床的高性能。

[0182] 产业上利用的可能性

[0183] 本发明的二氧化硅球状体,可用于前述的在二氧化硅球状体上固定有配体的结合容量大的亲和载体的制造。

[0184] 这里引用 2011 年 10 月 28 日提出申请的日本专利申请 2011-237204 号的说明书、权利要求书、附图和摘要的全部内容作为本发明的说明书的揭示。

-
- [0185] 符号说明
- [0186] 1 丙烯酸树脂制板
- [0187] 2 丙烯酸树脂制板
- [0188] 3 不锈钢板
- [0189] 3a 流道
- [0190] 4 不锈钢板
- [0191] 4a 微孔
- [0192] 5 连续相供给部
- [0193] 6 连续相排出部
- [0194] 7 分散相供给部

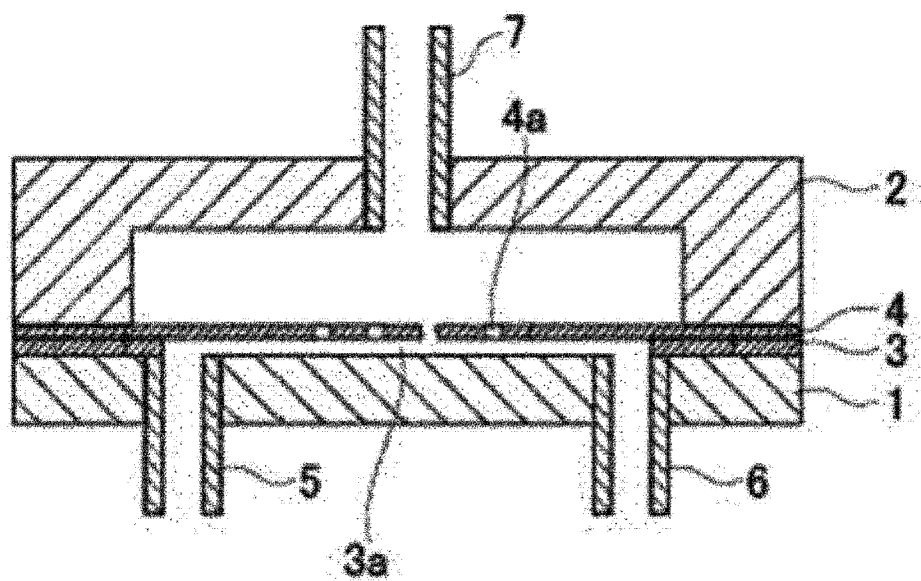


图 1

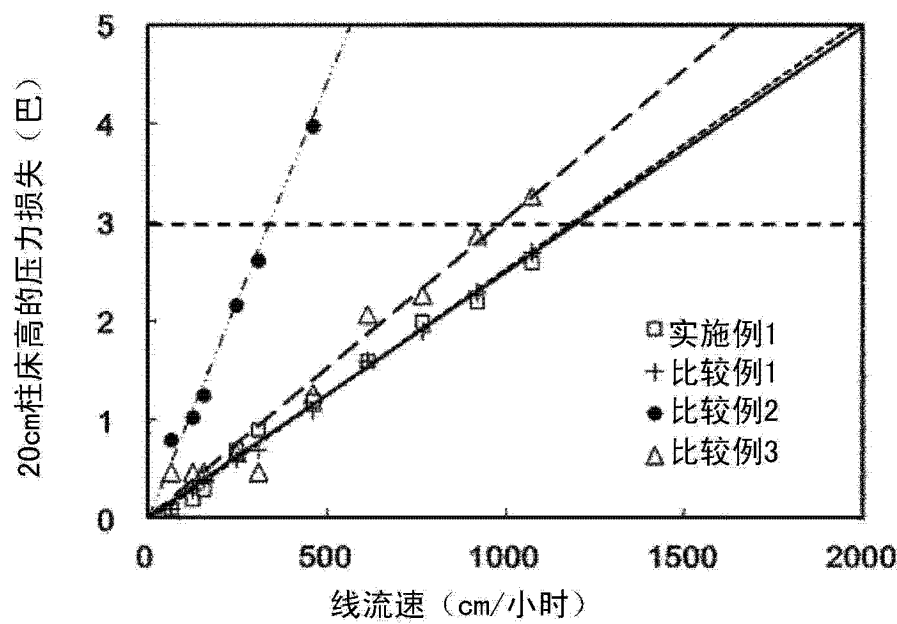


图 2

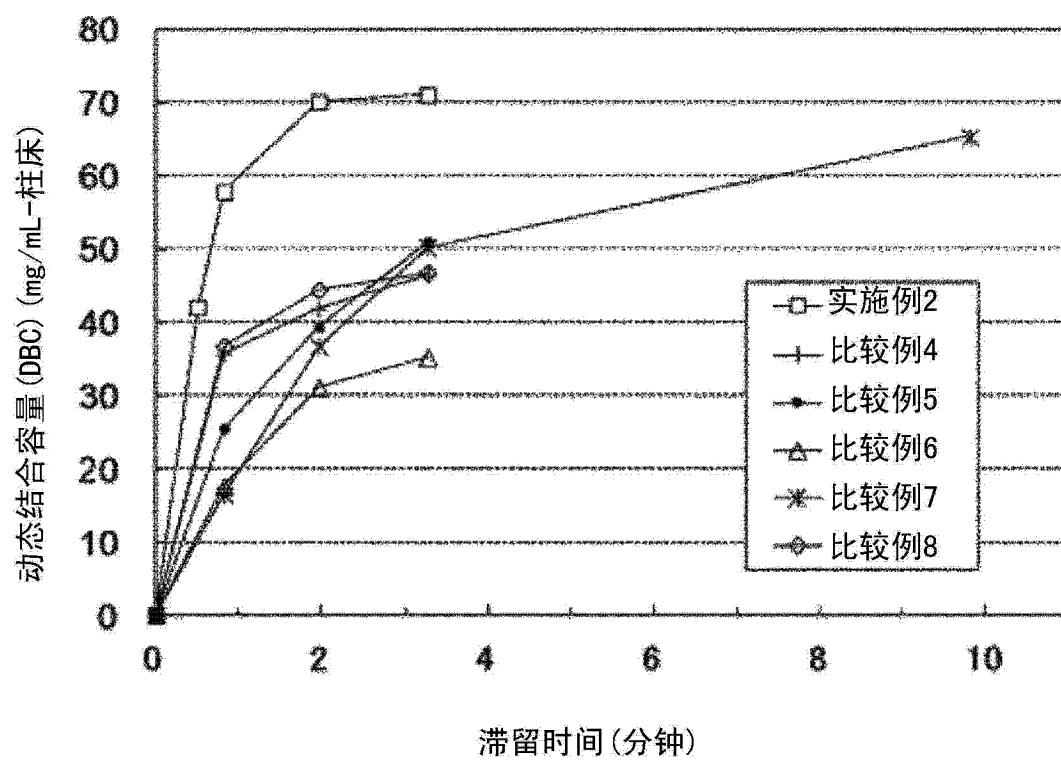


图 3