

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第5336368号  
(P5336368)

(45) 発行日 平成25年11月6日 (2013. 11. 6)

(24) 登録日 平成25年8月9日 (2013. 8. 9)

(51) Int. Cl.

F I

C O 8 J 9/28 (2006. 01)

B O 1 J 39/20 (2006. 01)

B O 1 J 39/26 (2006. 01)

B O 1 D 39/14 (2006. 01)

B O 1 J 39/04 (2006. 01)

C O 8 J 9/28 C E R

B O 1 J 39/20 G

B O 1 J 39/06

B O 1 D 39/14 B

B O 1 J 39/04 H

請求項の数 5 (全 31 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2009-522920 (P2009-522920)  
 (86) (22) 出願日 平成19年7月16日 (2007. 7. 16)  
 (65) 公表番号 特表2009-544835 (P2009-544835A)  
 (43) 公表日 平成21年12月17日 (2009. 12. 17)  
 (86) 国際出願番号 PCT/US2007/073571  
 (87) 国際公開番号 W02008/014137  
 (87) 国際公開日 平成20年1月31日 (2008. 1. 31)  
 審査請求日 平成22年7月16日 (2010. 7. 16)  
 (31) 優先権主張番号 11/460, 826  
 (32) 優先日 平成18年7月28日 (2006. 7. 28)  
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(73) 特許権者 505005049  
 スリーエム イノベイティブ プロパティ  
 ズ カンパニー  
 アメリカ合衆国, ミネソタ州 55133  
 -3427, セント ポール, ポスト オ  
 フィス ボックス 33427, スリーエ  
 ム センター  
 (74) 代理人 100099759  
 弁理士 青木 篤  
 (74) 代理人 100077517  
 弁理士 石田 敬  
 (74) 代理人 100087413  
 弁理士 古賀 哲次  
 (74) 代理人 100111903  
 弁理士 永坂 友康

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 マクロ孔質カチオン交換樹脂を製造する方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

a )

i ) N , N ' - アルキレンビス (メタ) アクリルアミド、N , N ' - ヘテロアルキレン  
 ビス (メタ) アクリルアミド、又はこれらの組合せを含む架橋モノマーと、

i i ) 負に帯電したイオン性モノマーと、を含むモノマー混合物；

b ) 少なくとも 3 個のヒドロキシ基を有する脂肪族水溶性ポロゲン；及び

c ) 水と 1 ~ 4 個の炭素原子を有するモノアルコールとを含む水相溶媒混合物であって、  
 前記モノアルコールが前記水相溶媒混合物の総重量を基準にして少なくとも 20 重量 %  
 の量で存在する水相溶媒混合物；

を含む水相組成物を形成する工程と、

非極性有機溶媒中で前記水相組成物を懸濁する工程と、

前記モノマー混合物を重合してポリマー材料の粒子を形成する工程と、

前記粒子から前記ポロゲンを除去して免疫グロブリン G について 30 mg / mL を超える  
 容量を有するマクロ孔質カチオン交換樹脂を形成する工程と、を含むマクロ孔質カチオ  
 ン交換樹脂を調製する方法。

【請求項 2】

a )

i ) N , N ' - アルキレンビス (メタ) アクリルアミド、N , N ' - ヘテロアルキレン  
 ビス (メタ) アクリルアミド、又はこれらの組合せを含む架橋モノマーと、

i i) 負に帯電したイオン性モノマーと、を含むモノマー混合物と、  
 b) 少なくとも3個のヒドロキシ基を有する脂肪族水溶性ポロゲンと、  
 c) 水と1～4個の炭素原子を有するモノアルコールとを含む水相溶媒混合物であって、前記モノアルコールが前記水相溶媒混合物の総重量を基準にして少なくとも20重量%の量で存在する水相溶媒混合物と、を含む水相組成物を形成する工程と、  
 非極性有機溶媒中で前記水相組成物を懸濁する工程と、  
 前記モノマー混合物を重合してポリマー材料の粒子を形成する工程と、  
 前記粒子から前記ポロゲンを除去して免疫グロブリンGについて30mg/mLを超える容量を有するマクロ孔質カチオン交換樹脂を形成する工程と、を含むマクロ孔質カチオン交換樹脂を調製する工程；  
 前記マクロ孔質カチオン交換樹脂を正に帯電した材料に接触させる工程；及び  
 前記マクロ孔質カチオン交換樹脂上に、前記正に帯電した材料の少なくとも一部を吸着させる工程を含む、正に帯電した材料を分離又は精製する方法。

10

## 【請求項3】

a)  
 i) N, N' - アルキレンビス(メタ)アクリルアミド、N, N' - ヘテロアルキレンビス(メタ)アクリルアミド、又はこれらの組合せを含む架橋モノマーと、  
 i i) 負に帯電したイオン性モノマーと、を含むモノマー混合物と、  
 b) 少なくとも3個のヒドロキシ基を有する脂肪族水溶性ポロゲンと、  
 c) 水と1～4個の炭素原子を有するモノアルコールとを含む水相溶媒混合物であって、前記モノアルコールが前記水相溶媒混合物の総重量を基準にして少なくとも20重量%の量で存在する水相溶媒混合物と、を含む水相組成物を形成する工程と、  
 非極性有機溶媒中で前記水相組成物を懸濁する工程と、  
 前記モノマー混合物を重合してポリマー材料の粒子を形成する工程と、  
 前記粒子から前記ポロゲンを除去して免疫グロブリンGについて30mg/mLを超える容量を有するマクロ孔質カチオン交換樹脂を形成する工程と、を含むマクロ孔質カチオン交換樹脂を調製する工程；及び  
 前記マクロ孔質カチオン交換樹脂をカラムに設ける工程を含む、クロマトグラフィーカラムを調製する方法。

20

## 【請求項4】

30

a)  
 i) N, N' - アルキレンビス(メタ)アクリルアミド、N, N' - ヘテロアルキレンビス(メタ)アクリルアミド、又はこれらの組合せを含む架橋モノマーと、  
 i i) 負に帯電したイオン性モノマーと、を含むモノマー混合物と、  
 b) 少なくとも3個のヒドロキシ基を有する脂肪族水溶性ポロゲンと、  
 c) 水と1～4個の炭素原子を有するモノアルコールとを含む水相溶媒混合物であって、前記モノアルコールが前記水相溶媒混合物の総重量を基準にして少なくとも20重量%の量で存在する水相溶媒混合物と、を含む水相組成物を形成する工程と、  
 非極性有機溶媒中で前記水相組成物を懸濁する工程と、  
 前記モノマー混合物を重合してポリマー材料の粒子を形成する工程と、  
 前記粒子から前記ポロゲンを除去して免疫グロブリンGについて30mg/mLを超える容量を有するマクロ孔質カチオン交換樹脂を形成する工程と、を含むマクロ孔質カチオン交換樹脂を調製する工程；及び  
 前記マクロ孔質カチオン交換樹脂を濾過媒体の表面上に配置する工程を含む、濾過エレメントを調製する方法。

40

## 【請求項5】

a)  
 i) N, N' - アルキレンビス(メタ)アクリルアミド、N, N' - ヘテロアルキレンビス(メタ)アクリルアミド、又はこれらの組合せを含む架橋モノマーと、  
 i i) 負に帯電したイオン性モノマーと、を含むモノマー混合物と、

50

b) 少なくとも3個のヒドロキシ基を有する脂肪族水溶性ポロゲンと、  
c) 水と1～4個の炭素原子を有するモノアルコールとを含む水相溶媒混合物であって、前記モノアルコールが前記水相溶媒混合物の総重量を基準にして少なくとも20重量%の量で存在する水相溶媒混合物と、を含む水相組成物を形成する工程と、  
非極性有機溶媒中で前記水相組成物を懸濁する工程と、  
前記モノマー混合物を重合してポリマー材料の粒子を形成する工程と、  
前記粒子から前記ポロゲンを除去して免疫グロブリンGについて30mg/mLを超える容量を有するマクロ孔質カチオン交換樹脂を形成する工程と、を含むマクロ孔質カチオン交換樹脂を調製する工程；及び  
前記マクロ孔質カチオン交換樹脂を連続多孔質マトリクス中に組み込む工程を含む、多孔質複合材料を製造する方法。

10

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

マクロ孔質カチオン交換樹脂の製造方法及び使用方法が記載される。

【背景技術】

【0002】

イオン交換樹脂は、タンパク質、酵素、ワクチン、DNA、RNAなどのような様々な生体分子の大規模な分離及び/又は精製のためのバイオテクノロジー産業において広く使用されている。カチオン交換樹脂の圧倒的多数は、スチレン/ジビニルベンゼンコポリマー又は架橋されたアガロースのいずれかに基づく。スチレン/ジビニルベンゼンコポリマーの疎水性主鎖は、不純製品をもたらす多くの材料と、非特異性相互作用の傾向があり得る。一般に、架橋されたアガロース樹脂は、非特異性相互作用に影響されにくい、これらの材料はかなり柔らかいゲルである傾向があり、通常、高流量を使用するクロマトグラフィークラム中で行われる精製に不適當である。

20

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0003】

いくつかの既知のカチオン交換樹脂は、(メタ)アクリル系ポリマー材料に基づく。しかし、これらのカチオン交換樹脂の多くは、ゲルであるか、或いは、比較的低容量又は低多孔性を有する。

30

【課題を解決するための手段】

【0004】

マクロ孔質カチオン交換樹脂を製造する方法、マクロ孔質カチオン交換樹脂を使用する正に帯電した材料を精製する方法、マクロ孔質カチオン交換樹脂を含有するクロマトグラフィークラムの製造する方法、マクロ孔質カチオン交換樹脂を含有する濾過エレメントの製造方法、及びマクロ孔質カチオン交換樹脂を含有する多孔質複合材料の製造方法が記載される。

【0005】

1つの態様では、マクロ孔質カチオン交換樹脂を形成する方法が記載される。この方法は、(a)モノマー混合物と、(b)少なくとも3個のヒドロキシ基を有する脂肪族水溶性ポロゲンと、(c)水と1～4個の炭素原子を有するモノアルコールとを含む水相溶媒混合物と、を含む水相組成物を調製する工程を含む。モノアルコールは、水相溶媒混合物の総重量を基準にして少なくとも20重量%の量で存在する。モノマー混合物は、(1)N,N'-アルキレンビス(メタ)アクリルアミド、N,N'-ヘテロアルキレンビス(メタ)アクリルアミド、又はこれらの組合せを含有する架橋モノマーと、(2)負に帯電したイオン性モノマーと、を含む。この方法は、非極性有機溶媒中で水相組成物を懸濁する工程と、モノマー混合物を重合してポリマー材料の粒子を形成する工程と、粒子からポロゲンを除去する工程と、を更に含む。このマクロ孔質カチオン交換樹脂は免疫グロブリンG(IgG)について30mg/mLを超える容量を有する。

40

50

## 【 0 0 0 6 】

第二の態様では、正に帯電した材料を分離又は精製する方法が記載される。この方法は、マクロ孔質カチオン交換樹脂を形成する工程と、マクロ孔質カチオン交換樹脂を正に帯電した材料に接触させる工程と、マクロ孔質カチオン交換樹脂上に正に帯電した材料の少なくとも一部を吸着させる工程と、を含む。

## 【 0 0 0 7 】

第三の態様では、クロマトグラフィーカラムを調製する方法が記載される。この方法は、マクロ孔質カチオン交換樹脂を形成し、マクロ孔質カチオン交換樹脂をカラムに設置することを含む。

## 【 0 0 0 8 】

第四の態様では、濾過エレメントを調製する方法が記載される。この方法は、マクロ孔質カチオン交換樹脂を形成し、マクロ孔質カチオン交換樹脂を濾過媒体の表面上に配置することを含む。

## 【 0 0 0 9 】

第五の態様では、多孔質複合材料を製造する方法が記載される。この方法は、マクロ孔質カチオン交換樹脂を形成する工程と、マクロ孔質カチオン交換樹脂を連続多孔質マトリクスに組み込む工程を含む。

## 【 0 0 1 0 】

本発明の上述の「課題を解決するための手段」は、本発明の開示された各実施形態又はあらゆる実施を記載することを意図していない。下記の図面、「発明を実施するための形態」、及び実施例は、これらの実施形態をより具体的に例示する。

## 【図面の簡単な説明】

## 【 0 0 1 1 】

添付図面と併せて以下の本発明の様々な実施形態の「発明を実施するための形態」を検討することにより、本発明をより完全に理解することができる。

【図 1】1つの代表的なマクロ孔質カチオン交換樹脂についての倍率 50,000 倍の走査型電子顕微鏡写真。モノマー混合物は、モノマーの総重量を基準にして約 2 重量パーセントのグルコースをポロゲンとして含有した。

【図 2】別の代表的なマクロ孔質カチオン交換樹脂についての倍率 50,000 倍の走査型電子顕微鏡写真。モノマー混合物は、モノマーの総重量を基準にして約 9 重量パーセントのグルコースをポロゲンとして含有した。

【図 3】マクロ孔質ではなかった比較カチオン交換樹脂についての倍率 50,000 倍の走査型電子顕微鏡写真。

## 【 0 0 1 2 】

本発明は様々な変更例及び代替形状に柔軟に従うことができるが、それらの細目は図面で例を用いてこれまでに示したし、また詳細に記述されるであろう。しかしながら、その意図は、記述した特定の実施形態に本発明を限定することではないことを理解するべきである。逆に本発明は、本発明の趣旨及び範囲内にある全ての変更形態、等価形態、及び代替形態を網羅することを意図する。

## 【発明を実施するための形態】

## 【 0 0 1 3 】

マクロ孔質カチオン交換樹脂の製造方法が記載される。マクロ孔質カチオン交換樹脂は、親水性の架橋された（メタ）アクリル系ポリマー材料を含有するビーズのような粒子の形態である。より具体的には、マクロ孔質カチオン交換樹脂は、少なくとも 3 個のヒドロキシ基を有する水溶性有機脂肪族ポロゲンの存在下で逆懸濁重合プロセスを使用して調製される。

## 【 0 0 1 4 】

用語「a」、「an」、及び「the」は、「少なくとも 1 つの」と同じ意味で用いられ、記載された要素の 1 以上を意味する。

## 【 0 0 1 5 】

用語「アルキル」は、飽和炭化水素であるアルカンのラジカルである一価の基を指す。アルキル基は、直鎖状、分枝状、環状又はこれらの組合せであることが可能で、典型的には1～20個の炭素有する。いくつかの実施形態では、アルキル基は、1～10個の炭素原子、1～8個の炭素原子、1～6個の炭素原子、又は1～4個の炭素原子を含有する。アルキル基の例としては、メチル、エチル、n-プロピル、イソプロピル、n-ブチル、イソブチル、tert-ブチル、n-ペンチル、n-ヘキシル、シクロヘキシル、n-ヘプチル、n-オクチル、及びエチルヘキシルが挙げられるが、これらに限定されない。

【0016】

用語「アルキレン」は、アルカンのラジカルである二価の基を意味する。前記アルキレンは、直鎖状、分枝状、環状、又はこれらの組合せであることが可能である。典型的にはアルキレンは、1～20個の炭素原子を有する。いくつかの実施形態では、アルキレン基は、1～10個、1～8個、1～6個、又は1～4個の炭素原子を含有する。このアルキレンのラジカル中心は、同一炭素原子上に（すなわち、アルキリデン）又は異なる炭素原子上にあることができる。

10

【0017】

用語「アシルオキシ」は、式： $-O-(CO)-R$ の一価の基を指し、式中、Rはアルキルであり、(CO)は、炭素が酸素に二重結合で付着していることを意味する。代表的なアシルオキシ基は、Rがメチルであるアセトキシである。

【0018】

用語「アシル」は、式： $-(CO)-R$ の一価の基を指し、式中、Rはアルキルであり、(CO)は、炭素が酸素に二重結合で付着していることを意味する。代表的なアシル基は、Rがメチルであるアセチルである。

20

【0019】

用語「カルボキシ」は、式： $-(CO)OH$ の一価の基を指し、式中、(CO)は、炭素が酸素に二重結合で付着していることを意味する。

【0020】

用語「カルボキシアシル」は、カルボキシ基で置換されたアルキルを指す。

【0021】

用語「ハロ」は、フルオロ、クロロ、ブロモ、又はヨードを意味する。

【0022】

用語「ハロアルキル」は、ハロ基で置換されたアルキルを指す。

30

【0023】

用語「(メタ)アクリル」は、アクリル酸、メタクリル酸、アクリル酸又はメタクリル酸の誘導体、或いはこれらの組合せを含むモノマー組成物の反応生成物であるポリマー材料を指す。本明細書で使用する時、用語「(メタ)アクリレート」は、アクリル酸、メタクリル酸、アクリル酸又はメタクリル酸の誘導体、或いはこれらの組合せであるモノマーを指す。好適な誘導体としては、置換されていない又は置換されていることができるエステル、塩、アミド及びニトリルなどが挙げられる。これらの誘導体のいくつかは、イオン基を含むことができる。

【0024】

用語「(メタ)アクリロイル」は、下記式：

$H_2C=CR^b-(CO)-$  (式中、 $R^b$ は水素又はメチルであり、(CO)は、炭素が酸素に二重結合で付着していることを意味する)の一価の基を指す。

【0025】

用語「モノアルコール」は、単一ヒドロキシ基を有するアルコールを指す。アルコールは、式 $R-OH$ であることが多く、式中Rはアルキルである。

【0026】

用語「ポリマー」又は「ポリマーの」は、ホモポリマー、コポリマー、ターポリマーなどである材料を指す。同様に、用語「重合する」又は「重合」は、ホモポリマー、コポリマーなどの製造プロセスを指す。

40

50

## 【 0 0 2 7 】

用語「帯電した」は、その化学構造の一部としてイオン基を有する物質を指す。負に帯電した物質はアニオンであり、正に帯電した物質はカチオンである。典型的に、逆帯電した対イオンは、イオン基に関連する。pH調整は、あるイオン基の電荷を変化し得る。

## 【 0 0 2 8 】

ポロゲンに関して使用される用語「脂肪族」は、ポロゲンが、共役炭素 - 炭素二重結合を有さないとともに炭素、酸素及び水素を含有する有機化合物であることを意味する。所望により、この有機化合物はまた、窒素、イオウ、又はその両方を含有することができる。

## 【 0 0 2 9 】

語句「～の範囲で」は、端点、及び端点間の全ての数を含む。例えば、語句「1～10の範囲で」は、1、10、及び1～10の全ての数を含む。

## 【 0 0 3 0 】

ポロゲンに関して使用される用語「水溶性」は、ポロゲンが、水相組成物と混和性であり、任意の感知できる範囲に水溶液から非極性有機溶媒へと分配されないことを意味する。例えば、5重量%未満、4重量%未満、3重量%未満、2重量%未満、又は1重量%未満のポロゲンが、水溶液から、例えば、トルエン及びヘプタンのような非極性有機溶媒へ抽出されることができる。

## 【 0 0 3 1 】

用語「室温」は、20 ～ 25 の範囲の温度を指す。

## 【 0 0 3 2 】

特に指示がない限り、本明細書及び請求項において使用される形状、量、及び物理的性質を表す全ての数字は、全ての場合において「約」という語句によって修正されるものとして理解されるべきである。それゆえに、特に異議を唱えない限り、記載した数字は、本明細書にて開示した教示を使用した所望の性質に応じて変化することがある概算である。

## 【 0 0 3 3 】

カチオン交換樹脂は、マクロ孔質粒子の形態である。本明細書で用いられる時、用語「マクロ孔質」は、乾燥状態においてさえ永続的な多孔質構造を有する粒子を指す。樹脂は、溶媒に接触させた時に膨潤し得るが、多孔質構造を通して粒子の内部に接近することを可能にするために膨潤は必要とされない。逆に、ゲル型樹脂は、乾燥状態において永続的な多孔質構造を有さないが、粒子の内部に接近することを可能にするために適した溶媒によって膨潤されなければならない。マクロ孔質粒子は、シェリントン (Sherrington) の Chem. Commun. 2275～2286 ページ (1998年)、及びマッキンタイア (Macintyre) ら Macromolecules、第37巻、7628～7636 ページ (2004年) に更に記載される。

## 【 0 0 3 4 】

マクロ孔質カチオン交換樹脂の製造方法は、平均孔径、表面積、カチオン交換容量、又はこれらの組合せを変える又は制御するために、ポロゲンの使用を包含する。平均孔径、表面積、及びカチオン交換容量は、標的分子を分離及び/又は精製するための、カチオン交換樹脂の効果を変化させることができる変数である。平均の孔直径により特徴付けられる平均孔径、及び表面積はともに、典型的には極低温条件下での窒素の吸着により測定される。カチオン交換容量とは、カチオン交換樹脂上に吸着できる、正に帯電した材料 (すなわち、標的分子) の量を指す。代表的な標的分子としては、タンパク質、酵素、核酸などのような生体分子が挙げられるが、これらに限定されない。カチオン交換容量は、例えば溶媒中で膨潤した樹脂の単位容積又は乾燥樹脂の単位重量につき吸着できるタンパク質 (例えば、リゾチーム又はインスリン) などの生体分子の量に換算して与えられてもよい。

## 【 0 0 3 5 】

関心の分子 (すなわち、標的分子) に適応するために孔が十分に大きい時、カチオン交換容量は増加する傾向がある。拡散による標的分子の接近を可能にするのに十分大きい孔

10

20

30

40

50

の形態で、カチオン交換樹脂の総表面積の大きい画分を提供することによって、生体分子についての最大のカチオン交換容量は、多くの場合達成され得る。典型的にそれぞれ平均分子量約14,400 g/mol及び6,000 g/molを有するリゾチーム又はインスリンのような比較的小さいタンパク質の分離及び/又は精製のために設計されたカチオン交換樹脂は、平均分子量約150,000 g/molを有することが多い免疫グロブリン（例えば、免疫グロブリンG（IgG））のような、より大きいタンパク質の分離及び/又は精製のために設計されたカチオン交換樹脂よりも、より小さい平均孔径を有することができる。

#### 【0036】

多くの生物学的標的分子の分離のために、最大カチオン交換容量は、典型的には、カチオン交換樹脂が孔径の分布を有する時、達成され得る。孔の直径は、典型的に約5ナノメートル～約500ナノメートルの範囲内である。多くの生物学的標的分子の分離及び/又は精製のために、カチオン交換樹脂の少なくともいくつかの孔は、直径200ナノメートル以下であることが多くの場合望ましい。本明細書に記載されるマクロ孔質カチオン交換樹脂の調製方法は、少なくともいくつかの孔が、直径200ナノメートル以下（例えば、2～200ナノメートルの範囲）、150ナノメートル以下（例えば、2～150ナノメートルの範囲）、又は100ナノメートル以下（例えば、2～100ナノメートルの範囲）である粒子を提供する。このサイズ範囲の孔は多くの場合、走査電子顕微鏡を使用して検知できる。

#### 【0037】

マクロ孔質カチオン交換樹脂を調製する方法は、（a）架橋モノマーと負に帯電したイオン性モノマーとを含有するモノマー混合物、（b）少なくとも3個のヒドロキシ基を有する脂肪族水溶性ポロゲン、及び（c）水とモノアルコールとを含む水相溶媒混合物、を含む水相組成物を形成する工程を含む。マクロ孔質カチオン交換樹脂を調製する方法は、水相組成物を非極性有機溶媒中で懸濁する工程と、モノマー混合物を重合してポリマー材料の粒子を形成する工程と、カチオン交換樹脂からポロゲンを除去する工程とを、更に含む。

#### 【0038】

カチオン交換樹脂は、架橋モノマー及び負に帯電したイオン性モノマーを含有するモノマー混合物の反応生成物である。架橋モノマーは、N,N'-アルキレンビス（メタ）アクリルアミド、N,N'-ヘテロアルキレンビス（メタ）アクリルアミド、又はこれらの組合せを含む。これらの架橋モノマーは、1つのポリマー鎖と別のポリマー鎖とが架橋するように反応し得る、或いは、一部分のポリマー鎖と別の部分の同一ポリマー鎖とが架橋するように反応し得る、2個の（メタ）アクリロイル基を有する。負に帯電したモノマーは、フリーラジカル重合反応を受けることが可能なエチレン性不飽和基、及び、正に帯電した材料と相互作用することが可能な負に帯電した基を有する。

#### 【0039】

好適なN,N'-アルキレンビス（メタ）アクリルアミド架橋モノマーとしては、N,N'-メチレンビスアクリルアミド、N,N'-メチレンビスメタクリルアミド、N,N'-エチレンビスアクリルアミド、N,N'-エチレンビスメタクリルアミド、N,N'-プロピレンビスアクリルアミド、N,N'-プロピレンビスメタクリルアミド、N,N'-ヘキサメチレンビスアクリルアミド、及びN,N'-ヘキサメチレンビスメタクリルアミドのような、1～10個、1～8個、1～6個、又は1～4個の炭素原子を持つアルキレン基を有するものが挙げられるが、これらに限定されない。好適なN,N'-ヘテロアルキレンビス（メタ）アクリルアミド架橋モノマーとしては、N,N'-シスタミンビスアクリルアミド、N,N'-ピペラジンビスアクリルアミド、及びN,N'-ピペラジンビスメタクリルアミドが挙げられるが、これらに限定されない。これらの架橋モノマーは、シグマ・アルドリッチ（Sigma-Aldrich）（ウィスコンシン州、ミルウォーキー（Milwaukee））及びポリサイエンス社（Polysciences, Inc.）（ペンシルベニア州、ウォリントン（Warrington））のような様々な供給元から市販されている。或いは、これらの架橋

モノマーは、例えば、ラスムッセン (Rasmussen) らの「反応性ポリマー (Reactive Polymers)」第 16 巻、199 ~ 212 ページ (1991 年 / 1992 年) のような、当該技術分野において記載される手順により、合成できる。いくつかの代表的なモノマー混合物では、架橋モノマーはメチレンビスアクリルアミドを含む。

【0040】

モノマー混合物は、モノマー混合物中のモノマーの総重量を基準にして少なくとも 10 重量%の架橋モノマーを含む。より少ない量の架橋モノマーを使用すると、カチオン交換樹脂は、マクロ孔質粒子形態よりも、ゲル形態になる傾向がある。剛性又は機械的強度は、材料が耐え得る様々な圧力にて測定され、モノマー混合物に含まれる架橋モノマーの量と共に上昇する傾向がある。いくつかのモノマー混合物は、少なくとも 10 重量%、少なくとも 15 重量%、少なくとも 20 重量%、少なくとも 25 重量%、又は少なくとも 30 重量%の架橋モノマーを含有する。

10

【0041】

モノマー混合物は、多くの場合、モノマー混合物中のモノマーの総重量を基準にして 95 重量%以下の架橋モノマーを含有する。架橋モノマーの量が 95 重量%を超過すると、モノマー混合物中に存在する負に帯電したイオン性モノマーの量が対応して低下するので、カチオン交換樹脂のカチオン交換容量は多くの場合減少する。いくつかのモノマー混合物は、90 重量%以下、85 重量%以下、80 重量%以下、70 重量%以下、65 重量%以下、60 重量%以下、55 重量%以下、50 重量%以下、45 重量%、又は 40 重量%以下の架橋モノマーを含有する。

20

【0042】

モノマー混合物は、モノマーの総重量を基準にして 10 重量% ~ 95 重量%、10 重量% ~ 90 重量%、20 重量% ~ 90 重量%、20 重量% ~ 80 重量%、25 重量% ~ 80 重量%、25 重量% ~ 75 重量%、25 重量% ~ 70 重量%、25 重量% ~ 60 重量%、又は 25 重量% ~ 50 重量%の架橋モノマーを多くの場合、含有する。

【0043】

負に帯電したイオン性モノマーもモノマー混合物に含まれる。負に帯電したイオン性モノマーは、フリーラジカル重合を受けることが可能な少なくとも 1 個のエチレン性不飽和基を有する。いくつかの実施形態では、エチレン性不飽和基は、(メタ)アクリロイル基又はビニル基である。負に帯電したイオン性モノマーは、弱酸、強酸、弱酸の塩、強酸の塩、又はこれらの組合せであることができる。すなわち、負に帯電したイオン性モノマーは、中性の状態であることができるが、pH を調整すると帯電可能となる。pH が適切に調整されると、得られるカチオン交換樹脂は、正に帯電した材料 (すなわち、カチオン) と相互作用することが可能な、負に帯電した基を有する。カチオン交換樹脂を調製するために用いられるイオン性モノマーが弱酸の塩又は強酸の塩を含む場合、これらの塩の対イオンは、アルカリ金属、アルカリ土類金属、アンモニウムイオン、又はテトラアルキルアンモニウムイオンであることができるが、これらに限定されない。

30

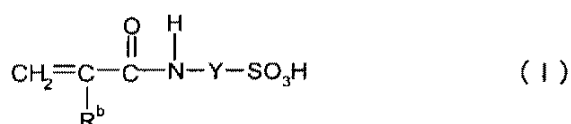
【0044】

負電荷を有するいくつかの代表的なイオン性モノマーとしては、式 (I) の (メタ)アクリルアミドスルホン酸、又はその塩が挙げられる。

40

【0045】

【化 1】



【0046】

50



式 (I) において、Y は、1 ~ 10 個の炭素原子を有する直鎖状又は分枝状アルキレンであり、R<sup>b</sup> は水素又はメチルである。式 (I) による代表的なイオン性モノマーとしては、N - アクリルアミドメタンスルホン酸、2 - アクリルアミドエタンスルホン酸、2 - アクリルアミド - 2 - メチルプロパンスルホン酸、及び 2 - メタクリルアミド - 2 - メチルプロパンスルホン酸が挙げられるが、これらに限定されない。これらの酸性モノマーの塩も使用することができる。

#### 【0047】

カチオン交換樹脂を調製するための他の好適なイオン性モノマーとしては、ビニルスルホン酸及び 4 - スチレンスルホン酸のようなスルホン酸；(メタ)アクリルアミドアルキルホスホン酸（例えば、2 - アクリルアミドエチルホスホン酸及び 3 - メタクリルアミドプロピルホスホン酸）のような(メタ)アクリルアミドホスホン酸；アクリル酸及びメタクリル酸；並びに 2 - カルボキシエチルアクリレート、2 - カルボキシエチルメタクリレート、3 - カルボキシプロピルアクリレート、及び 3 - カルボキシプロピルメタクリレートのようなカルボキシアリル(メタ)アクリレートが挙げられる。更に他の適切な酸性モノマーとしては、米国特許第 4,157,418 号（ヘイルマン (Heilmann)）に記載されているような(メタ)アクリロイルアミノ酸が挙げられる。代表的な(メタ)アクリロイルアミノ酸としては、N - アクリロイルグリシン、N - アクリロイルアスパラギン酸、N - アクリロイル - アラニン、及び 2 - アクリルアミドグリコール酸が挙げられるが、これらに限定されない。これらの酸モノマーの任意の塩も用いることができる。

#### 【0048】

モノマー混合物は、モノマー混合物中のモノマーの総重量を基準にして少なくとも 5 重量%の負に帯電したモノマーを含む。より低い濃度の負に帯電したモノマーが使用されると、カチオン交換樹脂のカチオン交換容量は減少することが多い。いくつかのモノマー混合物は、少なくとも 10 重量%、少なくとも 15 重量%、少なくとも 20 重量%、少なくとも 25 重量%、少なくとも 30 重量%、又は少なくとも 35 重量%の負に帯電したモノマーを含有する。

#### 【0049】

モノマー混合物は、モノマーの総重量を基準にして、90 重量%以下の負に帯電したイオン性モノマーを含有することが多い。より高い濃度の負に帯電したイオン性モノマーが使用されると、カチオン交換樹脂は、マクロ孔質粒子の形態よりも、ゲルの形態になる傾向がある。すなわち、より高い濃度の負に帯電したイオン性モノマーは、架橋モノマーの量の対応する減少を伴うことが多い。カチオン交換樹脂の剛性及び機械的強度は、架橋モノマーの量と相関する傾向がある。いくつかのモノマー混合物は、90 重量%以下、85 重量%以下、80 重量%以下、75 重量%以下、70 重量%以下、65 重量%以下、60 重量%以下、55 重量%以下、50 重量%以下、45 重量%以下、又は 40 重量%以下の負に帯電したモノマーを含有する。

#### 【0050】

いくつかのモノマー混合物は、モノマーの総重量を基準にして、5 重量% ~ 90 重量%、10 重量% ~ 90 重量%、20 重量% ~ 90 重量%、30 重量% ~ 90 重量%、30 重量% ~ 80 重量%、40 重量% ~ 90 重量%、40 重量% ~ 80 重量%、50 重量% ~ 90 重量%、50 重量% ~ 80 重量%、60 重量% ~ 90 重量%、又は 60 重量% ~ 80 重量%の負に帯電したモノマーを含有する。負に帯電したモノマーの量及び架橋モノマーの量は、所望の組合せのカチオン交換容量及び機械的強度を持つカチオン交換樹脂を提供するように、バランスをとることができる。

#### 【0051】

カラム内でのマクロ孔質イオン交換樹脂の使用を含むもののような用途のために、イオン性モノマー 25 重量% ~ 75 重量% 及び架橋モノマー 25 重量% ~ 75 重量%を含有するモノマー混合物は、カチオン交換容量及び機械的強度の最良のバランスを提供することが多い。いくつかの代表的なモノマー混合物は、負に帯電したイオン性モノマー 30 重量% ~ 70 重量%と架橋モノマー 30 重量% ~ 70 重量%、負に帯電したイオン性モノマー

30重量%～60重量%と架橋モノマー40重量%～70重量%、負に帯電したイオン性モノマー30重量%～50重量%と架橋モノマー50重量%～70重量%、又は負に帯電したイオン性モノマー35重量%～45重量%と架橋モノマー55重量%～65重量%を含む。

【0052】

いくつかの具体的なモノマー混合物において、架橋モノマーはメチレンビス(メタ)アクリルアミドなどのN,N'-アルキレンビス(メタ)アクリルアミドであり、負に帯電したイオン性モノマーは式Iを有する。モノマー混合物は、負に帯電したイオン性モノマー25重量%～75重量%と架橋モノマー25重量%～75重量%、負に帯電したイオン性モノマー30重量%～70重量%と架橋モノマー30重量%～70重量%、負に帯電したイオン性モノマー30重量%～60重量%と架橋モノマー40重量%～70重量%、負に帯電したイオン性モノマー30重量%～50重量%と架橋モノマー50重量%～70重量%、又は負に帯電したイオン性モノマー35重量%～45重量%と架橋モノマー55重量%～65重量%を含む。

10

【0053】

いくつかのモノマー混合物には、架橋モノマーと負に帯電したイオン性モノマー以外のモノマーがないが、他のモノマー混合物は、単一エチレン性不飽和基を有する親水性であるが非イオン性のモノマーを含む。例えば、架橋モノマーの量を一定に維持しながらカチオン交換容量を調整する目的で、親水性の非イオン性モノマーを添加することができる。すなわち、架橋の量又はカチオン交換樹脂の剛性を著しく変化することなく、カチオン交換容量は修正できる。加えて、これらの非イオン性モノマーの使用により、カチオン交換樹脂の親水性は修正できる。

20

【0054】

好適な親水性の非イオン性モノマーは、典型的には、モノマー混合物中のモノマーの総重量を基準にして50重量%以下の量で存在する。いくつかのカチオン交換樹脂においては、モノマー混合物は、モノマーの総重量を基準にして、40重量%以下、20重量%以下、10重量%以下、5重量%以下、2重量%以下、又は1重量%以下の親水性の非イオン性モノマーを含有する。

【0055】

架橋モノマー及び負に帯電したモノマーの両方が20以下の親油性指数を有する。ほとんどの実施形態で、モノマー混合物中のモノマーの全て又は実質的に全てが、20以下の親油性指数を有する。本明細書で使用する時、用語「親油性指数」又は「L I」は、モノマーの疎水性又は親水性を特徴付けるための指標を指す。親油性指数は、等体積(1:1)の非極性溶媒(例えば、ヘキサン)と極性溶媒(例えば、75:25のアセトニトリル-水の溶液)の中にモノマーを分配することにより、決定される。親油性指数は、分割後に非極性相に残るモノマーの重量%に等しい。疎水性のより大きなモノマーは、より高い親油性指数を有する傾向がある。同様に、親水性のより大きなモノマーは、より低い親油性指数を有する傾向がある。親油性指数の測定が、更にドーティナ(Dortina)らMacromolecules、第29巻、4486～4489ページ(1996年)に記載されている。

30

40

【0056】

20以下のモノマー混合物の親油性指数に関連して、本明細書で使用する時、用語「実質的に全ての」は、20超過の親油性指数を示す任意のモノマーが、不純物として存在することを意味する。親油性指数が20超過の任意の不純物は、モノマー混合物中のモノマーの総重量を基準にして2重量%未満、1重量%未満、0.5重量%未満、0.2重量%未満、又は0.1重量%未満の量で存在する。あるカチオン交換樹脂においては、モノマー混合物中の全て又は実質的に全てのモノマーは、15以下、10以下、5以下、3以下、又は1以下の親油性指数を有する。

【0057】

十分に低い親油性指数を有する、親水性の非イオン性モノマーの例としては、2-ヒド

50

ロキシエチルアクリレート、3-ヒドロキシプロピルアクリレート、2-ヒドロキシエチルメタクリレート（例えば、L I は 1 である）、及び 3-ヒドロキシプロピルメタクリレート（例えば、L I は 2 である）のようなヒドロキシアルキル（メタ）アクリレート；アクリルアミド（例えば、L I は 1 未満である）及びメタクリルアミド（L I は 1 未満である）；グリセロールモノメタクリレート及びグリセロールモノアクリレート；N-メチルアクリルアミド（例えば、L I は 1 未満である）、N, N-ジメチルアクリルアミド（例えば、L I は 1 未満である）、N-メチルメタクリルアミド、及び N, N-ジメチルメタクリルアミドのような N-アルキル（メタ）アクリルアミド；N-ビニルホルムアミド、N-ビニルアセトアミド、及び N-ビニルピロリドンのような N-ビニルアミド；2-アセトキシエチルアクリレート及び 2-アセトキシエチルメタクリレート（例えば、L I は 9 である）のようなアセトキシアルキル（メタ）アクリレート；グリシジルアクリレート及びグリシジルメタクリレート（例えば、L I は 11 である）のようなグリシジル（メタ）アクリレート；並びにビニルジメチルアズラクトン（例えば、L I は 15 である）のようなビニルアルキルアズラクトンが挙げられるが、これらに限定されない。

#### 【0058】

モノマー混合物は多くの場合、疎水性モノマーを実質的に有さない。より具体的には、モノマー混合物は多くの場合、20 を超える親油性指数を有するモノマーを実質的に有さない。疎水性モノマーが実質的に存在しないカチオン交換樹脂は、非標的タンパク質、脂質などのような非標的材料のような不純物の非特異的吸着が低い傾向がある。20 超過の親油性指数を有し、一般にモノマー混合物にないモノマーとしては、例えば、エチレングリコールジメタクリレート（L I は 25 である）、フェノキシエチルメタクリレート（L I は 32 である）、トリメチロールプロパントリメタクリレート（L I は 37 である）、メチルメタクリレート（L I は 39 である）、エチルメタクリレート（L I は 53 である）、ブチルメタクリレート（L I は 73 である）、シクロヘキシルメタクリレート（L I は 90 である）、及びラウリルメタクリレート（L I は 97 である）などが挙げられる。

#### 【0059】

水相組成物は、通常、水相組成物（例えば、モノマー混合物、ポロゲン、及び水相溶媒混合物）の総重量を基準にして、少なくとも 4 重量%のモノマー混合物を含有する。いくつかの実施形態では、水相溶媒組成物は、少なくとも 5 重量%、少なくとも 10 重量%、又は少なくとも 15 重量%のモノマー混合物を含有できる。水相組成物は、通常、水相組成物の総重量を基準にして 50 重量%以下のモノマー混合物を含有する。いくつかの実施形態では、水相組成物は、40 重量%以下、30 重量%以下、25 重量%以下、又は 20 重量%以下のモノマー混合物を含有できる。例えば、水相組成物は、水相組成物の総重量を基準にして 5 重量%～30 重量%、5 重量%～25 重量%、10 重量%～25 重量%、又は 15 重量%～20 重量%のモノマー混合物を含有できる。

#### 【0060】

モノマー混合物に加えて、水相組成物は脂肪族水溶性ポロゲンを含む。ポロゲンは、生体分子の精製及び/又は分離のために使用することができるマクロ孔質カチオン交換樹脂の形成を促進する。ポロゲンはモノマーでなく、架橋モノマー又は負に帯電したイオン性モノマーによりフリーラジカル重合反応を受けることができるエチレン性不飽和基のような基がない。ポロゲンは、一般に、ポリマー材料に共有結合せず、通常、重合反応が完了した後、除去される。しかし、重合反応の間、ポロゲンは、連鎖移動反応を通じて、カチオン交換樹脂のポリマー材料に共有結合する可能性がある。好ましくは、ポロゲンは、カチオン交換樹脂のポリマー材料に結合しない。

#### 【0061】

ポロゲンは、少なくとも 3 個のヒドロキシ基を含有する有機脂肪族化合物である。ポロゲンは水溶性であり、多くの場合、炭素に対するヒドロキシのモル比が少なくとも 0.5 である。いくつかの実施形態では、炭素に対するヒドロキシのモル比は少なくとも 0.6、少なくとも 0.8、又は少なくとも 1.0 である。ポロゲンの重量平均分子量は多くの場合、10,000 g/mol 以下、9,000 g/mol 以下、8,000 g/mol 以下、

6,000 g / モル以下、4,000 g / モル以下、2,000 g / モル以下、1,000 g / モル以下、又は500 g / モル以下であり得る。

【0062】

いくつかの代表的なポロゲンは、単糖、二糖、又は多糖などの砂糖である。好適な単糖としては、エリトース、トレオース、リボース、アラビノース、キシロース、リキソース、アロース、アルトロース、グルコース、マンノース、グロース、イドース、ガラクトース、タロース、フルクトース、ソルボース、リブロース、及びセドヘプツロースが挙げられるが、これらに限定されない。好適な二糖としては、スクロース、マルトース、及びラクトースが挙げられるが、これらに限定されない。好適な多糖としては、マルトトリオース及びデキストランが挙げられるが、これらに限定されない。

10

【0063】

他の代表的なポロゲンは、式  $\text{HOCCH}_2(\text{CHOH})_n\text{CHO}$  (式中、 $n$  は2、3、又は4に等しい整数) を有する単糖の誘導体である。好適な誘導体は少なくとも3個のヒドロキシ基を有する。いくつかの誘導体は単糖の酸化生成物である。酸化生成物は、グルコン酸 (すなわち、グルコース由来) 又はマンノン酸 (すなわち、マンノース由来) などの式  $\text{HOCCH}_2(\text{CHOH})_n\text{COOH}$  を有するモノカルボン酸；グルカル酸 (すなわち、グルコース由来)、マンナル酸 (すなわち、マンノース由来)、キシラル酸 (すなわち、キシロース由来)、又は酒石酸 (すなわち、トレオース由来) などの式  $\text{HOOC}(\text{CHOH})_n\text{COOH}$  を有するジカルボン酸；グルシトール (すなわち、グルコース由来)、マンニトール (すなわち、マンノース由来) 又はリビトール (すなわち、リボース由来) などの式  $\text{HOCCH}_2(\text{CHOH})_n\text{CH}_2\text{OH}$  を有するポリヒドロキシアルコール (polyhydroxy alcohol)；或いは、グルクロン酸 (すなわち、グルコース由来) 又はマンヌロン酸 (すなわち、マンノース由来) などの式  $\text{HOOC}(\text{CHOH})_n\text{CHO}$  を有するアルデヒド酸 (aldehydo acid) であり得る。更に他の単糖誘導体は、少なくとも1個のヒドロキシ基がアミノ基に置換されたアミノ誘導体である。好適な単糖アミノ誘導体としては、グルコサミン及びグルカミンが挙げられるが、これらに限定されない。追加の単糖誘導体は、少なくとも1個のヒドロキシ基がアルコキシ基に置換されたアルコキシ誘導体である。好適な単糖アルコキシ誘導体としては、メチルグルコピラノシド、メチルガラクトピラノシド、及び、3-O-メチルグルコピラノースが挙げられるが、これらに限定されない。

20

【0064】

追加の代表的なポロゲンは、例えば、グリセロール、イノシトール、ペンタエリトリトール、トリメチロールエタン、トリメチロールプロパン (trimethylolpropane)、ジペンタエリトリトール、及びトリペンタエリトリトールなどの、少なくとも3個のヒドロキシ基を有するポリオールである。

30

【0065】

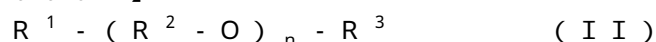
カチオン交換樹脂のいくつかの形成方法においては、ポロゲンの混合物を使用できる。すなわち、ポロゲンの混合物は、各ポロゲンが少なくとも3個のヒドロキシ基を有する脂肪族化合物である場合に、使用できる。このポロゲンは、例えば、1つ以上の単糖、二糖、多糖、単糖誘導体、ポリオール、又はこれらの組合せを含むことができる。

【0066】

少なくとも3個のヒドロキシ基を有する脂肪族ポロゲンは、他の任意のポロゲンと組合せてポロゲンの混合物を提供できる。例えば、少なくとも1つの単糖、二糖、多糖、単糖誘導体、又はポリオールが式 (I I) である任意のポロゲンと組合せて使用できる。

40

【0067】



式 (I I) で、 $\text{R}^1$  基は、ヒドロキシ、アルコキシ、カルボキシ、アシルオキシ又はハロであり、各  $\text{R}^2$  は、独立に1~4個の炭素原子を有するアルキレンであり、 $\text{R}^3$  基は、水素、アルキル、カルボキシアルキル、アシル、又はハロアルキルであり、 $n$  は、1~1,000の整数である。式 (I I) の化合物は、水溶性である。

【0068】

50

いくつかの代表的な式 (I I) を有するポロゲンでは、両末端基 (すなわち、 $-R^1$  基及び  $-OR^3$ ) 基はヒドロキシ基である (すなわち、 $R^1$  はヒドロキシであり、 $R^3$  は水素である)。他の代表的なポロゲンにおいては、 $R^1$  はヒドロキシであり、 $R^3$  はアルキル (例えば、1 ~ 20 個、1 ~ 10 個、1 ~ 6 個、又は 1 ~ 4 個の炭素原子を有するアルキル)、ハロアルキル (例えば、クロロメチルなどのクロロアルキル)、アシル (例えば、アセチル)、或いはカルボキシアルキル (例えば、カルボキシメチル) である。すなわち、1 つの末端基はヒドロキシであり、他の末端基はアルコキシ、ハロアルコキシ、アシルオキシ、又はカルボキシ (例えば、カルボキシで置換されたアルコキシであるカルボキシアルコキシ) である。他の代表的なポロゲンにおいては、 $R^1$  はアルコキシ (例えば、1 ~ 10 個、1 ~ 6 個、又は 1 ~ 4 個の炭素原子を有するアルコキシ) であり、 $R^3$  はアルキル (例えば、1 ~ 10 個、1 ~ 6 個、又は 1 ~ 4 個の炭素原子を有するアルキル) 或いはアシル (例えば、アセチル) である。すなわち、1 つの末端基はアルコキシであり、他の末端基はアルコキシ又はアシルオキシである。なお他の代表的なポロゲンにおいては、 $R^1$  はカルボキシであり、 $R^3$  はカルボキシアルキル (例えば、カルボキシメチル) である。すなわち、両末端基はカルボキシである ( $-OR^3$  は、カルボキシアルコキシである)。

#### 【0069】

式 (I I) 中の  $R^2$  基は、例えば、メチレン、エチレン、又はプロピレンなどのアルキレンである。エチレン  $R^2$  基を持つ好適なポロゲンとしては、エチレングリコール、並びにジエチレングリコール、トリエチレングリコール、及び高級同族体のようなエチレングリコール系材料が挙げられる。エチレングリコールの高級同族体は、ポリエチレングリコール (すなわち、PEG) 又はポリエチレンオキシド (すなわち、PEO) と呼ばれることが多い。プロピレン  $R^2$  基を持つ他の好適なポロゲンは、プロピレングリコール、並びにジプロピレングリコール、トリプロピレングリコール、及び高級同族体のようなプロピレングリコール系材料を含む。プロピレングリコールの高級同族体は、ポリプロピレングリコール (すなわち、PPG) 又はポリプロピレンオキシド (すなわち、PPO) と呼ばれることが多い。ポロゲンは、ポリエチレンオキシド及びポリプロピレンオキシドのランダム又はブロックコポリマーであることができる。

#### 【0070】

式 (I I) の下付文字  $n$  は、1 超過、2 超過、5 超過、10 超過、20 超過、50 超過、100 超過、200 超過、又は 500 超過の整数であることができる。例えば、 $n$  は、1 ~ 1,000 の範囲、1 ~ 800 の範囲、1 ~ 600 の範囲、1 ~ 500 の範囲、1 ~ 200 の範囲、又は 1 ~ 100 の範囲の整数であることができる。

#### 【0071】

少なくとも 3 個のヒドロキシ基を有する脂肪族ポロゲンに加えて式 (I I) を有するポロゲンが含まれるいくつかの実施形態では、式 (I I) を有するポロゲンは、10,000 g / モル以下、8,000 g / モル以下、4,000 g / モル以下、2,000 g / モル以下、又は 1,000 g / モル以下である重量平均分子量を有する。いくつかの例では、式 (I I) を有するポロゲンは、エチレングリコール又はヒドロキシ末端基を有するエチレングリコールの高級同族体である。

#### 【0072】

カチオン交換樹脂を調製する方法は、逆懸濁重合プロセスである。(a) モノマー混合物、(b) ポロゲン、及び (c) 水相溶媒混合物、を含む水相組成物は、典型的に水相組成物の体積を超える非極性有機溶媒中に液滴として、分散又は懸濁される。ポロゲンは、通常、水相組成物中のモノマー混合物のための従来の溶媒として機能することができる液体である。一般に、有用なポロゲンは、水相組成物と非極性有機溶媒の間で、任意の感知可能な範囲に分配しない (すなわち、ポロゲンは、水相組成物から非極性溶媒へと、任意の感知可能な量で抽出されない)。水相組成物からトルエン、ヘプタンなどのような非極性有機溶媒へと、抽出され得るポロゲンは、例えば、5 重量% 未満、4 重量% 未満、3 重量% 未満、2 重量% 未満、又は 1 重量% 未満である。

## 【 0 0 7 3 】

フリーラジカル重合反応が進行すると、多くのポリマー分子が各水相液滴内に形成される。反応が進行すると、ポリマー分子は、成長及び架橋を続ける。分子量が十分に大きくなると、ポリマー相は、液滴内の水相組成物から分離する。理論に束縛されたくないが、分子量が上昇すると、ポリマー材料から水性溶媒が排除されることにより、少なくとも一部の孔が形成されると考えられている。相分離が生じる点は、平均孔径及び孔径分布に影響し得る。より遅い相分離は、より小さい孔及びより大きい表面積を有するカチオン交換樹脂粒子の形成に好都合である。逆に、より早い相分離は、より大きい孔及びより小さい表面積を有するカチオン交換樹脂粒子の形成に好都合である傾向がある。

## 【 0 0 7 4 】

相分離が生じる点は、ポロゲンと形成しているポリマー材料との適合性及びポロゲンの量に影響され得る。加えて、相分離が生じる点は、モノマー混合物中に存在する架橋モノマーの量により影響される可能性があり、典型的には、より多量の架橋モノマーが、ポリマー材料の分子量のより急速な増加に起因して、より早い相分離に好都合である。

## 【 0 0 7 5 】

形成しているポリマー材料と適合性があるポロゲン（すなわち、形成しているポリマー材料にとって良好な溶媒であるポロゲン）は、形成しているポリマー材料との適合性が少ないポロゲン（形成しているポリマー材料にとって劣った溶媒であるポロゲン）と比較して、より遅い相分離をもたらす傾向がある。形成しているポリマー材料の溶解度がより高いポロゲンは、形成しているポリマー材料の溶解度がより低いポロゲンと比較して、より小さい孔及びより大きい表面積を有するカチオン交換樹脂粒子の形成をもたらす傾向がある。逆に、形成しているポリマー材料の溶解度がより低いポロゲンは、形成しているポリマー材料の溶解度がより高いポロゲンと比較して、より大きい孔及びより小さい表面積を有するカチオン交換樹脂粒子の形成をもたらす傾向がある。

## 【 0 0 7 6 】

文献では、ポロゲン溶媒（porogenic solvent）の溶解度パラメータは、それが孔の構造及び多孔質ポリマーの表面積に与える影響力と相関付けられてきている（キャメロン（Cameron）ら「ジャーナル・オブ・マテリアルズ・ケミストリー（J. Mater. Chem.）」2000年、第10巻、2466～2471ページ）。少なくとも3個のヒドロキシ基を有する脂肪族ポロゲンの量が増加するにつれて、水相溶媒混合物の溶解度パラメータ全体は形成しているポリマーの溶解度パラメータに近づいていくことを計算は示している。理論に束縛されたくないが、特定のレベルを超えてポロゲンの量を増加させることは水相を形成しているポリマーにとってより良い溶媒にする傾向があり、その後の相分離を導き、結果としてより小さな孔を生じると考えられている。このことにより、I g Gなどの大きなタンパク質を捕捉する能力に欠損が生じ、ひいては、最高レベルのポロゲンにおいても、孔は窒素吸着でさえ測定されないほど小さくなる（すなわち、ポリマーは微小多孔性になる）。

## 【 0 0 7 7 】

カチオン交換樹脂は、関心の標的分子のために設計されることができる。すなわち、カチオン交換樹脂は、特定の標的分子のためにカチオン交換容量を最適化するように設計され得る。より大きい孔径を持つカチオン交換樹脂は、より大きい標的分子にとって、より好適であることが多い。ポロゲン及びモノマー混合物の量は、孔径、表面積、及び孔容積に影響を与え得る。

## 【 0 0 7 8 】

少なくとも3個のヒドロキシ基を有する脂肪族ポロゲンの添加は、最大結合能力がポロゲンとモノマー組成物の特定の選択が得られるようになるまで、表面積、孔径、及びカチオン交換容量を拡大する傾向がある。ポロゲンを更に添加すると、通常、カチオン交換容量の低下を結果として生じる。典型的には、カチオン交換容量の低下は、表面積の減少及び多孔性の減少に付随して起こる。本明細書で使用する時、用語「最大結合能力」は、特定の標的分子のための、及びポロゲンとモノマー組成物の特定の組合せのための、最大カ

10

20

30

40

50

チオン交換容量を指す。

【 0 0 7 9 】

いくつかの実施形態では、モノマー混合物中のモノマーの総重量を基準にして約 2 5 重量%以下の、少なくとも 3 個のヒドロキシ基を有する脂肪族ポロゲンが使用できる。例えば、ポロゲンの量は、モノマー混合物中のモノマーの総重量を基準にして、2 0 重量%以下、1 5 重量%以下、1 0 重量%以下、9 重量%以下、又は 8 重量%以下で存在することが可能である。ポロゲンがより多量に使用されると、多孔性が減少する可能性がある。多孔性は、カチオン交換樹脂が多孔性ではないと考えられる程度まで減少する可能性がある。

【 0 0 8 0 】

10

少なくとも 3 個のヒドロキシ基を有する脂肪族ポロゲンは、典型的には、モノマー混合物中のモノマーの総重量を基準にして少なくとも 0 . 2 重量%の量で存在する。これよりも少ない量で使用されると、濃度は多くの場合低すぎて効果的ではない。ポロゲンの量は、多くの場合、モノマー混合物中のモノマーの総重量を基準にして、少なくとも 0 . 5 重量%、少なくとも 1 重量%、少なくとも 2 重量%、又は少なくとも 3 重量%の量で使

【 0 0 8 1 】

少なくとも 3 個のヒドロキシ基を有する脂肪族ポロゲンは、多くの場合、モノマー混合物中のモノマーの総重量を基準にして、0 . 2 重量% ~ 1 5 重量%の範囲、0 . 2 重量% ~ 1 0 重量%の範囲、0 . 5 重量% ~ 1 5 重量%の範囲、0 . 5 重量% ~ 1 0 重量%の範囲、1 重量% ~ 1 5 重量%の範囲、1 重量% ~ 1 0 重量%の範囲、2 ~ 1 5 重量%の範囲、2 ~ 1 0 重量%の範囲で使用される。

20

【 0 0 8 2 】

ポロゲンが、少なくとも 3 個のヒドロキシ基を有する第一のポロゲンと式 ( I I ) を有する第二のポロゲンの混合物である時、モノマー混合物中のモノマーの総重量を基準にして、第一のポロゲンは典型的には 1 5 重量%以下の量で存在し、第二のポロゲンは 1 0 0 重量%以下の量で存在する。例えば、第一のポロゲンは、モノマー混合物中のモノマーの総重量を基準にして、1 2 重量%以下で、1 0 重量%以下で、又は 8 重量%以下で存在できる一方、第二のポロゲンは、モノマー混合物中のモノマーの総重量を基準にして、8 0 重量%以下で、6 0 重量%以下で、4 0 重量%以下で存在できる。

30

【 0 0 8 3 】

水相組成物は、水と 1 ~ 4 個の炭素原子を有するモノアルコールとを含む水性溶媒混合物を含有する。好適なモノアルコールは、メタノール、エタノール、n - プロパノール、イソプロパノール、tert - ブタノール、又はこれらの組合せを含む。モノアルコールは、マクロ孔質カチオン交換樹脂の多孔性全体に、少なくとも一部寄与する。すなわち、イオン交換樹脂の多孔性は、モノアルコールの添加により、より高くなる傾向がある (すなわち、モノアルコールは、溶媒及びコポロゲンの両方として機能し得る)。

【 0 0 8 4 】

水相溶媒混合物の少なくとも 2 0 重量%が、モノアルコールであることができる。ある実施形態では、水相溶媒混合物の少なくとも 3 0 重量%、少なくとも 4 0 重量%、又は少なくとも 5 0 重量%が、モノアルコールであることができる。水相溶媒混合物の 8 0 重量%以下、7 0 重量%以下、又は 6 0 重量%以下が、モノアルコールであることができる。例えば、モノアルコールの量は、水相溶媒混合物の 2 0 重量% ~ 8 0 重量%、3 0 重量% ~ 8 0 重量%、4 0 重量% ~ 8 0 重量%、又は 5 0 重量% ~ 8 0 重量%の範囲であることができる。

40

【 0 0 8 5 】

水相溶媒混合物は、水と、並びにモノアルコールと混和性を有する追加の共溶媒も含有できる。好適な水相共溶媒としては、ジメチルスルホキシド、ジメチルホルムアミド、N - メチルピロリドン、アセトニトリルなどが挙げられるが、これらに限定されない。例えば、共溶媒は、水相組成物中の架橋モノマーのようないくつかのモノマーの溶解度を上昇

50

できる。共溶媒は、形成しているポリマーの相分離挙動に影響することができ、得られたカチオン交換樹脂の多孔性に影響し得る。

【 0 0 8 6 】

水相組成物は、非極性有機溶媒中に分散又は懸濁する。非極性有機溶媒と水相組成物との体積比は、通常 2 : 1 ~ 6 : 1 の範囲である。モノマー混合物及びボロゲンを含む水相組成物は、多くの場合、非極性有機溶媒中に比較的小さい液滴として分散される。懸濁する媒体（すなわち、非極性有機溶媒）の主要な目的は、水相組成物の分散のための不活性媒体として機能する他に、重合反応間に、発生する熱を放散させることである。ある実施形態では、懸濁液媒体の密度は、水相組成物とおおよそ同一であるように選択され得る。これらの密度をおおよそ整合させると、より球状の粒子及び、より均一なサイズの粒子の形成をもたらす傾向がある。

10

【 0 0 8 7 】

好適な非極性溶媒は典型的には、ヘキサン、ヘプタン、n - オクタン、イソオクタン、イソドデカン、及びシクロヘキサンなどのアルカン；エクソン・モービル社（Exxon Mobil）（ヴァージニア州フェアファクス（Fairfax））から商品名「イソパー（ISOPAR）」で市販されているものなどのイソパラフィン；四塩化炭素、クロロホルム、及び塩化メチレンなどのハロゲン化炭化水素；ベンゼン及びトルエンなどの芳香族；低粘性シリコンオイル；鉱物油；メチル - t e r t - ブチルエーテル（M B T E）などのエーテル；又はこれらの組合せである。例えば、非極性有機溶媒は、ヘプタンと塩化メチレン、又はヘプタンとトルエンの混合物であることができる。

20

【 0 0 8 8 】

非極性有機溶媒中への水相組成物液滴の懸濁を促進するために、懸濁剤（すなわち、ポリマー安定剤）を使用することが多い。親水性であるボロゲンとは異なり、懸濁剤は、通常、疎水性部分と親水性部分の両方を有する。懸濁剤は、水相組成物と非極性有機溶媒との間の界面張力を修正するように機能する。更に、懸濁剤は、水相組成物液滴の立体安定性を提供する。この立体安定性は、重合プロセス間における凝集粒子の形成を最小限にする又は防止する傾向がある。

【 0 0 8 9 】

好適な懸濁剤としては、ソルビタンセスキオレエート、ポリエチレンオキシド（20）ソルビタントリオレエート、ポリエチレンオキシド（20）ソルビタンモノオレエート、ソルビタントリオレエート、ジ - 2 - エチルヘキシルスルホコハク酸ナトリウム、イソオクチルアクリレートとアクリル酸のコポリマー、ヘキシルアクリレートとアクリル酸又はアクリル酸ナトリウムのコポリマー、及びイソオクチルアクリレートと2 - アクリルアミドイソブチルアミドのコポリマーなどが挙げられる。懸濁剤の量は、カチオン交換樹脂のサイズに影響し得る（すなわち、より多量の懸濁剤を使用すると、より小さいカチオン交換樹脂粒子が形成されることが多い）。一般的には、懸濁剤の量は、モノマー混合物中のモノマーの総重量を基準にして、0 . 1 重量% ~ 1 0 重量% の範囲である。例えば、モノマー混合物は、モノマーの総重量を基準にして、0 . 1 重量% ~ 8 重量% 又は 0 . 5 重量% ~ 5 重量% の懸濁剤を含むことができる。

30

【 0 0 9 0 】

カチオン交換樹脂のサイズは、大体において、水相組成物液滴のサイズにより決定される。液滴直径は、攪拌速度、温度、懸濁剤の量、懸濁剤の選択、非極性有機溶媒の選択、及び任意の水相共溶媒の選択などの変化により、影響され得る。攪拌速度、懸濁剤の種類、及び懸濁剤の量は多くの場合、得られる粒子の凝集又はアグロメレーションを制御するために、変化され得る。凝集の欠如が、一般的に好ましい。

40

【 0 0 9 1 】

モノマーのフリーラジカル重合反応を開始するために反応開始剤が水相組成物に添加されてもよい。通常、フリーラジカル反応開始剤は、水相溶媒混合物に可溶性である。一旦懸濁液が形成されると、フリーラジカル開始剤は、熱的に、光化学的に、又は酸化還元反応を通して、活性化され得る。フリーラジカル反応開始剤は多くの場合、モノマー混合物

50



中のモノマーの総重量を基準にして、0.02重量%～10重量%の範囲の量で使用される。いくつかの実施例では、フリーラジカル反応開始剤は、モノマーの総重量を基準にして、2重量%～6重量%の量で存在する。

#### 【0092】

好適な水溶性熱反応開始剤としては、例えば、アゾ化合物、ペルオキシド又はヒドロペルオキシド、過硫酸塩などが挙げられる。代表的なアゾ化合物としては、2,2'-アゾビス[2-(2-イミダゾリン-2-イル)プロパン]ジヒドロクロリド、2,2'-アゾビス(2-アミジノプロパン)ジヒドロクロリド、及び4,4'-アゾビス-(4-シアノペンタン酸)が挙げられる。市販の熱的アゾ化合物反応開始剤の例としては、デュポン・スペシャルティ・ケミカル(DuPont Specialty Chemical){デラウェア州、ウィルミントン(Wilmington)}から、バゾ(VAZO)44、バゾ56、及びバゾ68のような取引表記「バゾ」として入手可能な材料が挙げられる。好適なペルオキシド及びヒドロペルオキシドとしては、過酸化アセチル、tert-ブチルヒドロペルオキシド、クメンヒドロペルオキシド、及びペルオキシ酢酸が挙げられる。好適な過硫酸塩としては、例えば、過硫酸ナトリウム及び過硫酸アンモニウムが挙げられる。

#### 【0093】

他の実施例では、フリーラジカル反応開始剤は、過硫酸アンモニウム又は過硫酸ナトリウムとN,N,N',N'-テトラメチルエチレンジアミン(TMEDA);過硫酸アンモニウム又は過硫酸ナトリウムと硫酸第一鉄アンモニウム;過酸化水素と硫酸第一鉄アンモニウム;クメンヒドロペルオキシドとN,N-ジメチルアニリンなどのような酸化還元対である。

#### 【0094】

典型的に、重合温度は、選択された特定のフリーラジカル反応開始剤及び非極性有機溶媒の沸点に依存する。通常、熱開始重合における重合温度は、約50～約150である。ある方法では、温度は約55～約100である。酸化還元又は光化学的開始重合については、温度は、必要ならば室温又はそれ以下に近いことが可能である。重合時間は、約30分間から約24時間以上であることが可能である。典型的には、2～4時間の重合時間が十分である。

#### 【0095】

一旦、ラジカル重合反応が開始したら、形成しているポリマー材料は、水相組成物内に沈殿する傾向がある。ポロゲンなどの一部の水相組成物は、ポリマー材料に捕捉されて孔の形成に至る可能性がある。ポリマー材料の孔は、例えば、濾過又はデカンテーションにより、単離され得る。

#### 【0096】

その後、ポロゲンを除去するために、ポリマー材料の粒子に、1つ以上の洗浄工程を行うことができる。ポロゲンを除去するために好適な溶媒としては、例えば、水、アセトン、アルコール(例えば、メタノール、エタノール、n-プロパノール、及びイソプロパノール)、ジメチルスルホキシド、ジメチルホルムアミド、N-メチルピロリドン、アセトニトリルなどのような極性溶媒が挙げられる。これらの溶媒のいずれかの混合物が、水中における50体積%のアルコールといったように、使用されることができる。洗浄の程度は測定される表面積及び孔容積に影響を与える可能性がある。場合によっては、カチオン交換樹脂を再洗浄することは、ポロゲンのより完全な除去により、測定される表面積及び孔容積を増加させることができる。洗浄の程度は測定される表面積及び孔容積に比べて、I g G容量への影響はずっと小さいように見える。すなわち、場合によっては、I g Gデータは、測定される表面積又は孔容積よりも、マクロ多孔性の良い指標となり得る。I g G容量を測定するのに包含される工程は、残存するポロゲンの少なくとも一部を除去する可能性がある。

#### 【0097】

必要であれば、任意の好適な方法を使用して、得られるカチオン交換樹脂を乾燥することができる。ある方法では、スクリーニング、沈殿、及び空気分級のような技術を使用し

10

20

30

40

50

て、得られるカチオン交換樹脂を分画することができる。

【0098】

マクロ孔質カチオン交換樹脂粒子は、不規則な形状を有することができ、或いは球形又は略球形であることができる。ある実施例では、マクロ孔質カチオン交換樹脂粒子は、ビーズである。粒子の平均寸法（例えば、直径）は、光散乱又は画像解析を伴う電子顕微鏡などの技術を使用して測定できる。通常、粒子は、少なくとも10マイクロメートルの平均サイズを有する。例えば、粒子は、少なくとも20マイクロメートル、少なくとも30マイクロメートル、少なくとも40マイクロメートル、少なくとも50マイクロメートル、又は少なくとも60マイクロメートルの平均寸法を有することができる。通常、粒子は、2,000マイクロメートル以下、1,000マイクロメートル以下、500マイクロメートル以下、又は200マイクロメートル以下の平均寸法を有する。いくつかの用途では、マクロ孔質カチオン交換樹脂は、10~2,000マイクロメートル、20~2,000マイクロメートル、20~1,000マイクロメートル、20~500マイクロメートル、50~500マイクロメートル、20~200マイクロメートル、50~200マイクロメートル、50~100マイクロメートル、50~75マイクロメートル、50~70マイクロメートル、又は60~70マイクロメートルの平均粒子サイズを有する。

10

【0099】

マクロ孔質カチオン交換樹脂粒子の平均寸法が、約10マイクロメートル未満又は約20マイクロメートル未満である時、特に、大きい生体分子の精製又は分離のために使用され得る大きいカラム（例えば、直径が約5センチメートル超過であるカラム）においては、粒子が充填されたクロマトグラフィーカラムの背圧は、許容不可能なほど大きくなる可能性がある。平均粒子サイズは、2,000マイクロメートルと同じぐらいであり得るが、ある用途（例えば、マクロ孔質カチオン交換樹脂が、大きいカラム内に設置される用途）のための平均粒子サイズは、200マイクロメートル以下であることが多い。平均粒子サイズがより大きいと、クロマトグラフプロセスの効率は、特にマクロ孔質カチオン交換樹脂の孔への拡散速度が遅いことが多いタンパク質のような、より大きい生体分子の精製又は分離において、低い可能性がある。例えば、20~200マイクロメートルのカチオン交換樹脂を使用して得ることができるより大きいカチオン交換樹脂を用いて、同程度の分離又は精製を得るためには、より多量の樹脂、より長いクロマトグラフィーカラム、より遅い流量、又はそれらの組合せが必要である可能性がある。

20

30

【0100】

カチオン交換樹脂粒子の多孔性及び表面積は、極低温条件下において様々な相対圧力で粒子の表面上へ窒素を吸着することによって特徴付けられ得る（すなわち、管内のカチオン交換樹脂の試料は真空にさらされ、管は液体窒素内に設置して冷却される）。窒素は、複数の相対圧力（例えば、約0.0~約1.0）において試料の表面に吸着された後、複数の相対圧力において脱着される。E.P.バレット（Barrett）、L.S.ジョイナー（Joyner）及びP.P.ハレンダ（Halenda）、「米国化学会誌（J. Am. Chem. Soc.）」第73巻、373ページ（1951年）に更に記載される、B.J.H理論は、約2~約200ナノメートルの範囲内の孔直径を有する孔に対して複数の相対圧力で吸着又は脱着される窒素の量と関連づけて使用することができる。孔容積、表面積、及び平均孔径を計算することができる。本明細書で使用する時、用語「孔容積」は、約0.0~約1.0の様々な相対圧力における窒素の吸着についてのB.J.H理論を使用して計算される、累積孔容積を指す。本明細書で使用する時、用語「表面積」は、約0.0~約1.0の様々な相対圧力における窒素の吸着についてのB.J.H理論を使用して計算される、累積表面積を指す。本明細書で使用する時、用語「平均孔径」は、約0.0~約1.0の様々な相対圧力における窒素の吸着についてのB.J.H理論を使用して測定される、平均孔径を指す。

40

【0101】

マクロ孔質カチオン交換樹脂は、孔径の分布を有する。孔径は、500ナノメートルまで又はそれ以上であることができる。カチオン交換樹脂は、窒素吸着技術を使用して測定することができるサイズ範囲内の孔を有する。すなわち、少なくともいくつかの孔は、2

50

00ナノメートル未満、150ナノメートル未満、又は100ナノメートル未満の直径を有する。窒素吸着により測定される平均孔径は、典型的に少なくとも2ナノメートル、少なくとも5ナノメートル、少なくとも10ナノメートル、少なくとも20ナノメートル、又は少なくとも30ナノメートルである。平均孔径は、200ナノメートル以下、100ナノメートル以下、又は80ナノメートル以下であることができる。例えば、平均孔径は、10~200ナノメートルの範囲、10~100ナノメートルの範囲、10~80ナノメートルの範囲、20~100ナノメートルの範囲、又は20~80ナノメートルの範囲であることができる。

#### 【0102】

通常、表面積は、少なくとも $20\text{ m}^2/\text{g}$ 、少なくとも $30\text{ m}^2/\text{g}$ 、又は少なくとも $40\text{ m}^2/\text{g}$ である。表面積は、 $20\sim200\text{ m}^2/\text{g}$ の範囲、 $30\sim200\text{ m}^2/\text{g}$ の範囲、 $20\sim100\text{ m}^2/\text{g}$ の範囲、 $30\sim100\text{ m}^2/\text{g}$ の範囲、又は $40\sim200\text{ m}^2/\text{g}$ の範囲であることが多い。表面積測定値はカチオン交換樹脂がどれだけ徹底的に洗浄されてポロゲンが除去されたかによって変化する可能性がある。すなわち、ポロゲンを除去するのに好適な溶媒によって処理されていないカチオン交換樹脂の領域の表面は、処理されて全て又はかなりの部分のポロゲンを除去されたカチオン交換樹脂と比較して小さな表面積を有する可能性がある。

#### 【0103】

カチオン交換容量は、吸着され得るリゾチーム又は免疫グロブリン（例えば、IgG）などのタンパク質の量によって与えられることができる。より具体的には、一部のカチオン交換樹脂は、 $30\text{ mg/mL}$ 超（すなわち、膨潤カチオン交換樹脂のミリリットルあたり30ミリグラム超）又は $32\text{ mg/mL}$ 超のIgGカチオン交換容量を有する。例えば、一部のカチオン交換樹脂は、少なくとも $35\text{ mg/mL}$ 、少なくとも $40\text{ mg/mL}$ 、少なくとも $50\text{ mg/mL}$ 、又は少なくとも $60\text{ mg/mL}$ のIgGカチオン交換容量を有することができる。一部のカチオン交換樹脂は、 $35\sim150\text{ mg/mL}$ 、 $40\sim150\text{ mg/mL}$ 、 $40\sim120\text{ mg/mL}$ 、 $50\sim150\text{ mg/mL}$ 、又は $50\sim120\text{ mg/mL}$ のIgGカチオン交換容量を有する。カチオン交換容量は吸着できるIgGの量を基準にして表されることができるが、カチオン交換樹脂はカチオン性電荷を有する任意の標的分子の吸着に好適であり、それはIgGの吸着に限らない。

#### 【0104】

本明細書に記載される方法を使用して調製されるカチオン交換樹脂は、親水性であり、通常、低い非特異的吸着を有する（すなわち、低いLIを持つモノマーから調製されるカチオン交換樹脂は、低い非特異的吸着を有する傾向がある）。典型的に、カチオン交換樹脂は、カチオン交換樹脂上の負に帯電した基との相互作用を通じて、様々な正に帯電した材料を吸着し、典型的に、たとえあるとしても材料を、カチオン交換樹脂の非イオン性部分上に、ほとんど吸着しない。この低い非特異的吸着は、試料中の他の材料から、正に帯電した標的材料のより良い分離又は精製を有利にもたらし得る。ある実施例では、帯電した標的材料は、タンパク質又は核酸溶液から除去することが必要なカチオン性タンパク質などのような不純物である。

#### 【0105】

第二の態様では、正に帯電した材料を分離又は精製する方法が記載される。この方法は、マクロ孔質カチオン交換樹脂を形成し、マクロ孔質カチオン交換樹脂と正に帯電した材料とを接触させ、正に帯電した材料の少なくとも一部をマクロ孔質カチオン交換樹脂上に吸着させることを含む。マクロ孔質カチオン交換樹脂は、（a）モノマー混合物、（b）少なくとも3個のヒドロキシ基を有する脂肪族水溶性ポロゲン、及び、（c）水と1~4個の炭素原子を有するモノアルコールとを含む水相溶媒混合物、を含有する水相組成物を調製することにより、形成される。モノアルコールは、水相溶媒混合物の全重量を基準にして少なくとも20重量%の量で存在する。モノマー混合物は、（1）N,N'-アルキレンビス（メタ）アクリルアミド、N,N'-ヘテロアルキレンビス（メタ）アクリルアミド、又はこれらの組合せを含有する架橋モノマーと、（2）負に帯電したイオン性モノ

マーを含む。マクロ孔質カチオン交換樹脂の形成方法は、水相組成物を非極性有機溶媒中に懸濁し、モノマー混合物を重合してポリマー材料の粒子を形成し、粒子からポロゲンを除去することを更に含む。生じるマクロ孔質カチオン交換樹脂は免疫グロブリンGについて30mg/mLを超えるカチオン交換容量を有する。

#### 【0106】

通常、正に帯電した材料を含有する試料は、カチオン交換樹脂が負に帯電した基を有し、標的分子が正に帯電した基を有するpHにおいて、カチオン交換樹脂と接触させる。吸着された材料をカチオン交換樹脂から解放するために、pHを上げることができる(例えば、pHを少なくとも6又は7以上に上げる)。或いは、帯電物質が生体分子である時、試料は、pH約3~10又はpH約4~6において、低イオン強度緩衝剤(例えば、5~50ミリモルの緩衝剤塩と0~200ミリモルの塩化ナトリウム)中でカチオン交換樹脂と接触させることができる。吸着された生体分子を解放するために、高イオン強度緩衝剤を、カチオン交換樹脂に接触させる。ある実施形態においては、高イオン強度緩衝剤は、材料吸着させるために使用されるのと同じ緩衝剤組成物と1モルの塩化ナトリウムを含む。吸着プロセス及び解法プロセスは、典型的には室温に近い温度で行われる。

#### 【0107】

pHを制御するために有用な緩衝塩としては、リン酸ナトリウム、炭酸ナトリウム、炭酸水素ナトリウム、ホウ酸ナトリウム、酢酸ナトリウム及びトリス(ヒドロキシメチル)アミノメタン(TRIS)が挙げられるが、これらに限定されない。適する他の緩衝剤には、MOPS(3-モルホリノプロパンスルホン酸)、EPPS(4-(2-ヒドロキシエチル)ピペラジン-1-プロパンスルホン酸)、MES(2-モルホリノエタンスルホン酸)、及び他のような「グッツ(Good's)」緩衝剤が挙げられる。

#### 【0108】

いくつかの試料は、他の試料構成成分から分離することができ、又は精製することができる生体分子を含む。好適な生体分子としては、例えば、タンパク質、酵素、ワクチン、DNA、及びRNAが挙げられる。試料のpHを調整すると、一部の生体分子の電荷を変えることができる。

#### 【0109】

第三の態様では、クロマトグラフィーカラムを調製する方法が記載される。この方法は、マクロ孔質カチオン交換樹脂を形成し、マクロ孔質カチオン交換樹脂をカラム内に設置することを含む。マクロ孔質カチオン交換樹脂は、(a)モノマー混合物、(b)少なくとも3個のヒドロキシ基を有する脂肪族水溶性ポロゲン、及び、(c)水と1~4個の炭素原子を有するモノアルコールとを含む水相溶媒混合物、を含有する水相組成物を調製することにより、形成される。モノアルコールは、水相溶媒混合物の全重量を基準にして少なくとも20重量%の量で存在する。モノマー混合物は、(1)N,N'-アルキレンビス(メタ)アクリルアミド、N,N'-ヘテロアルキレンビス(メタ)アクリルアミド、又はこれらの組合せを含有する架橋モノマー、及び(2)負に帯電したイオン性モノマーを含む。マクロ孔質カチオン交換樹脂の形成方法は、水相組成物を非極性有機溶媒中に懸濁し、モノマー混合物を重合してポリマー材料の粒子を形成し、粒子からポロゲンを除去することを更に含む。マクロ孔質カチオン交換樹脂は免疫グロブリンGについて30mg/mLを超えるカチオン交換容量を有する。

#### 【0110】

本明細書に記載の方法により調製されるカチオン交換樹脂粒子は、かなり堅い傾向があり、任意の好適な寸法のクロマトグラフィーカラムにおいて、任意の好適な流量及び圧力条件下において、使用するために必要である機械的強度を有する。粒子を、例えば、高流量を持つクロマトグラフィーカラムにおいて、使用することができる。カチオン交換樹脂は、クロマトグラフィーカラム内で一般に生じる差圧条件下で用いるために適する。本明細書で用いられる時、用語「差圧」は、クロマトグラフィーカラムを横切る圧力降下を意味する。例えば、治療用タンパク質の下流精製又は分離のために用いられるクロマトグラフィーカラムを、生産性を増やすために少なくとも150cm/時間、少なくとも250

cm/時間、少なくとも500cm/時間、又は少なくとも700cm/時間のような見掛け速度(流量)で使用することができる。典型的に、より速い流量は、より高い生産性を導く。

#### 【0111】

小さなクロマトグラフィーカラム(例えば、直径約5センチメートル未満のカラム)においては、カチオン交換樹脂の充填床は、カラム壁により、よく支持される。こうしたカラムにおいて、比較的広い範囲の剛性を有するカチオン交換樹脂は、1,380kPa(200psi)を超える差圧に耐えることができる。しかし、大きいクロマトグラフィーカラム(例えば、約5cmを超える直径を有するカラム)内では、カチオン交換樹脂の充填床は、カラム壁による支持がより低い(例えば、カラムの壁面に接触している樹脂の分画がより小さい)。こうしたカラムにおいて、より高い剛性を有するカチオン交換樹脂は、少なくとも173kPa(25psi)の差圧に耐えることができる傾向がある。いくつかのカチオン交換樹脂は、345kPa(50psi)~1,380kPa(200psi)の差圧に耐えることができる。

10

#### 【0112】

好適なカラムは当業界で知られており、ガラス、ポリマー材料、ステンレススチール、チタン及びその合金又はニッケル及びその合金のような材料から作成することができる。カラム中にカチオン交換樹脂を効果的に充填するための、カラム充填方法は当業界で知られている。

#### 【0113】

20

クロマトグラフィーカラムは、液体クロマトグラフのような分析計器の一部であることができる。カチオン交換樹脂が充填される時、クロマトグラフィーカラムは、非イオン材料からイオン材料を分離するために、又は1つのイオン材料を異なる電荷密度を有するもう1つのイオン材料から分離するために、使用され得る。試料中のイオン材料の量を決定することが可能である。或いは、クロマトグラフィーカラムは、イオン材料を分離又は精製するための分取液体ガスクロマトグラフシステムの一部であることが可能である。分取液体ガスクロマトグラフシステムは、実験室規模のシステム、パイロットプラント規模のシステム又は工業規模のシステムであることが可能である。

#### 【0114】

第四の態様では、濾過エレメントの調製する方法が記載される。この方法は、マクロ孔質カチオン交換樹脂を形成し、マクロ孔質カチオン交換樹脂を濾過媒体の表面上に配置することを含む。マクロ孔質カチオン交換樹脂は、(a)モノマー混合物、(b)少なくとも3個のヒドロキシ基を有する脂肪族水溶性ポロゲン、及び、(c)水と1~4個の炭素原子を有するモノアルコールとを含む水相溶媒混合物、を含有する水相組成物を調製することにより、形成される。モノアルコールは、水相溶媒混合物の全重量を基準にして少なくとも20重量%の量で存在する。モノマー混合物は、(1)N,N'-アルキレンビス(メタ)アクリルアミド、N,N'-ヘテロアルキレンビス(メタ)アクリルアミド、又はそれらの組合せを含有する架橋モノマーと、(2)負に帯電したイオン性モノマーを含む。マクロ孔質カチオン交換樹脂の形成方法は、水相組成物を非極性有機溶媒中に懸濁し、モノマー混合物を重合してポリマー材料の粒子を形成し、粒子からポロゲンを除去することを含む。マクロ孔質カチオン交換樹脂は免疫グロブリンGについて30mg/mLを超えるカチオン交換容量を有する。

30

40

#### 【0115】

フィルターカートリッジを提供するために、濾過エレメントがハウジング内に設置できる。適する濾過媒体及びフィルターカートリッジを含むシステムは、例えば米国特許第5,468,847号明細書(ヘイルマン(Heilmann)ら)に更に記載されている。生体分子を精製又は分離するために、こうしたフィルターカートリッジが使用できる。この態様においては、フィルターカートリッジシステムにおいて固有である圧力低下の低さに起因して、クロマトグラフィーカラム形式よりも、より少ない剛性粒子又はより小さなマクロ孔質粒子が利用できる。

50

## 【 0 1 1 6 】

濾過媒体は、単一の濾過層又は複数の濾過層を有することができ、ガラス又はポリマー繊維（例えば、ポリプロピレン繊維のようなポリオレフィン繊維）から調製できる。いくつかの実施形態においては、濾過媒体は粗い予備濾過層及び少なくとも1つのより細かい濾過層を含む。例えば、濾過媒体は、粗い予備濾過層及び次に段々とより小さい平均孔径を有する一連の追加の濾過層を含むことができる。カチオン交換樹脂を、最小の平均孔径を有する濾過媒体の層上に設置することができる。

## 【 0 1 1 7 】

濾過媒体の孔径の選択は、カチオン交換樹脂のサイズに依存する。典型的には、濾過媒体の孔径は、カチオン交換樹脂の平均直径よりも小さくなるように選択される。しかし、カチオン交換樹脂の一部は、濾過媒体内に貫通することができる。

10

## 【 0 1 1 8 】

濾過媒体は、米国特許第3,058,594号（ハルトグレン（Hultgren））に記載されるもののような垂直にひだの付いたフィルターの形態であることができる。他の実施形態において、濾過媒体は、米国特許第4,842,739号明細書（タン（Tang）ら）に記載されたものなどの水平の複雑な放射状にひだが付いたフィルターの形態を取っている。ひだの水平配置は、濾過媒体を含有するフィルターカートリッジを垂直方向に用いる用途において望ましくあり得る。こうした配置は、使用及び保管の間、濾過エレメントからのカチオン交換樹脂の損失を低減することができる。

## 【 0 1 1 9 】

20

第五の態様では、多孔質複合材料の製造方法が記載される。この方法は、マクロ孔質カチオン交換樹脂を形成し、マクロ孔質カチオン交換樹脂を連続多孔質マトリクスに組み込む工程を含む。マクロ孔質カチオン交換樹脂は、（a）モノマー混合物、（b）少なくとも3個のヒドロキシ基を有する脂肪族水溶性ポロゲン、及び、（c）水と1～4個の炭素原子を有するモノアルコールとを含む水相溶媒混合物、を含有する水相組成物を調製することにより、形成される。モノアルコールは、水相溶媒混合物の全重量を基準にして少なくとも20重量%の量で存在する。モノマー混合物は、（1）N,N'-アルキレンビス（メタ）アクリルアミド、N,N'-ヘテロアルキレンビス（メタ）アクリルアミド、又はこれらの組合せを含有する架橋モノマーと、（2）負に帯電したイオン性モノマーを含む。マクロ孔質カチオン交換樹脂の形成方法は、水相組成物を非極性有機溶媒中に懸濁し、モノマー混合物を重合してポリマー材料の粒子を形成し、粒子からポロゲンを除去することを更に含む。マクロ孔質カチオン交換樹脂は免疫グロブリンGについて30mg/mLを超えるカチオン交換容量を有する。

30

## 【 0 1 2 0 】

連続多孔質マトリックスは、典型的には、繊維ウェブ又は不繊維ウェブ、多孔質繊維、多孔質膜、多孔質フィルム、中空繊維、又は管である。好適な連続多孔質マトリックスは、米国特許第5,993,935号（ラスムッセン（Rasmussen）ら）に更に記載されている。デプスフィルターはマクロ孔質カチオン交換樹脂を湿式構造に好適なマトリックス中に分散することで調製できる。

## 【 0 1 2 1 】

40

繊維ウェブである連続多孔質マトリックスは、例えば、大きい表面積、製造の容易さ、低い材料コスト及び様々な繊維質感及び繊維密度のような利点を提供することができる。広範囲の繊維直径が適するが、繊維は多くの場合、0.05マイクロメートル～50マイクロメートルの平均直径を有する。ウェブの厚さは、最終使用用途に適合するように変えることができる（例えば、約0.2マイクロメートル～約100cm）。

## 【 0 1 2 2 】

複合材料を、例えばメルトブロー法を用いて調製することができる。例えば、熔融高分子材料は押し出されて、メルトブロー繊維のストリームを製造することができる。カチオン交換樹脂は、繊維のストリームに導入でき、繊維と混ぜることができる。繊維とカチオン交換樹脂の混合物は、ウェブを形成するようにスクリーン上に集めることができる。カ

50

チオン交換樹脂は、繊維ウェブ内で分散できる。いくつかの実施形態においては、カチオン交換樹脂を、繊維ウェブ全体を通して均一に分散することができる。

#### 【0123】

複合材料は、フィブリル化ポリテトラフルオロエチレン (PTFE) のようなフィブリル化ポリマーマトリックスにより調製することもできる。適する方法は、米国特許第 4, 153, 661 号 (リー (Ree) ら)、同第 4, 565, 663 号 (エリーデ (Errede) ら)、同第 4, 810, 381 号 (ハーゲン (Hagen) ら) 及び同第 4, 971, 736 号 (ハーゲンら) においてより完全に記載されている。一般に、これらの方法は、カチオン交換樹脂とポリテトラフルオロエチレン分散液をブレンドしてパテ様塊状物を得ることと、パテ様塊状物を 5 ~ 100 で強力な混合に供して PTFE のフィブリル化を引き起こすことと、パテ様塊状物を二軸的にカレンダー加工することと、得られたシートを乾燥させることを含む。

10

#### 【0124】

複合材料を調製する別の方法においては、カチオン交換樹脂は液体に分散された後、均質混合物を形成するのに十分な温度で熱可塑性ポリマーとブレンドすることができる。均質混合物を、所望する形状を有する型に入れることができる。混合物を冷却すると、液体を相分離することができ、分散したカチオン交換樹脂粒子を含有する熱可塑性ポリマーマトリックスが残る。この方法は、米国特許第 4, 957, 943 号 (マックアリスタ (Mc Allister) ら) において更に記載されている。

20

#### 【0125】

連続多孔質マトリックスに組み込まれるカチオン交換樹脂の量は、得られる複合体の体積を基準にして、少なくとも 1 体積パーセント、少なくとも 5 体積パーセント、少なくとも 10 体積パーセント、少なくとも 20 体積パーセント、少なくとも 30 体積パーセント、少なくとも 40 体積パーセント、又は少なくとも 50 体積パーセントである。連続多孔質マトリックスに組み込まれるカチオン交換樹脂の量は、得られる複合物の体積を基準にして、99 体積パーセント以下、95 体積パーセント以下、90 体積パーセント以下、85 体積パーセント以下、又は 80 体積パーセント以下を含有することができる。より多量のカチオン交換樹脂を有する複合体は、より大きいカチオン交換容量を有する傾向がある。

#### 【0126】

現在予見されない本発明の実質的でない修正が、それでもなお本発明の均等物を表す可能性があるにもかかわらず、上記は、本発明者によって、可能性のあるものとして記述され得た予見される実施形態によって本発明を記載している。

30

#### 【実施例】

#### 【0127】

これらの実施例は単にあくまで例示を目的としたものであり、添付した特許請求の範囲に限定することを意味するものではない。特に記載のない限り、実施例及びこれ以降の明細書に記載される部、百分率、比率などは全て、重量による。使用される溶媒及びその他の試薬は、特に記載のない限り、シグマ・アルドリッチ・ケミカル社 (Sigma-Aldrich Chemical Company) (ウィスコンシン州ミルウォーキー (Milwaukee)) より入手した。

#### 【0128】

40

#### 試験方法

#### 免疫グロブリン G (IgG) のためのカチオン交換容量

カチオン交換樹脂ビーズと水を混合し、3000 相対遠心力 (rcf) で 10 分間遠心分離した後、総体積が充填ビーズ床の 2 倍になるように水の量を調節することで、脱イオン (DI) 水中のカチオン交換樹脂ビーズの 50% (体積 / 体積) スラリーを調製した。スラリーをよく混合し、ビーズを懸濁させた後、孔径 0.45 マイクロメートルを有する 5 ミリリットルの酢酸セルロースセントレックス (Centrex) MF 遠心分離機マイクロフィルターに 400 ミクロリットルのスラリー試料をピペットで入れた。VWR (ミネソタ州、イーガン (Eagan)) を通して、スクレイチャー & スクエル (Schleicher & Schuell) から、マイクロフィルターが得られた。水は、3000 rcf で 5 分間の遠心分離に

50

より除去した。80 mM塩化ナトリウムを含有するpH 4.5の50 mM酢酸ナトリウムの溶液4ミリリットルを、マイクロフィルター上のビーズと混合した。再度3000 rcfで10分間の遠心分離にかけ液体を除去した。濾液を廃棄した。次に、同一のアセテート緩衝液中のヒトIgG（約8 mg /ミリリットル）[エキテック - バイオ社（Equitech-Bio）（テキサス州、カーヴィル（Kerrville））から市販] 4.5ミリリットル試料をビーズを含有するマイクロフィルターに添加した。混合物を一晩混転した後、3000 rcfで20分間の遠心分離により、ビーズから上清を除去した。

#### 【0129】

濾液はUV分光法によって分析し、280 nmにおける吸光度を、出発IgG溶液の吸光度と比較し、その差をビーズのIgG容量を計算するために使用した。分析は3回行われ、平均化された。

10

#### 【0130】

##### 孔容積及び表面積

各試料およそ0.1 ~ 1.0 gを、マイクロメリティクス社（Micromeritics, Inc.）（ジョージア州、ノルクロス（Norcross））から入手可能な直径1.3センチメートル（0.5インチ）の試料管に移し、マイクロメリティクスから取引表記バクプレプ（VACPREP）061として市販されているシステムを使用して、100 において真空下（1.32 kPa又は0.20 kPa（10 mTorr又は0.015 mbar）未満）で24時間脱気した。脱気後、試料を、真空下において、室温（すなわち、20 ~ 25 ）で10分間冷却した後、マイクロメリティクス（Micromeritics）から取引表記トリスター（TRISTAR）3000として市販されている表面積及び多孔性分析器に荷重した。

20

#### 【0131】

45点吸着 / 40点脱着等温線は、相対圧力（ $P/P_0$ ）約0で出発し、0.95 ~ 1.0間でより詰まった点の分布で約1.0までセットアップした（標的圧力及び点のための表を参照）。最初の「圧力固定線量（pressure fixed dose）」は、設定しなかった。最大体積増加は、STPで10.00 cc / gで設定し、「絶対圧力公差（absolute pressure tolerance）」は667 Pa（5 mmHg）にて設定し、「相対圧力公差（relative pressure tolerance）」は2.0 %にて設定した。「高速排出（Fast evacuation）」及び「漏れ試験」のオプションは使用しなかった。液体窒素のデュワーが下り（すなわち、試料が液体窒素内になかった）、フリースペース測定間に、0.5時間の排出時間を実行した。デュワーが、分析のために上昇された（すなわち、試料を含有する管を液体窒素内に設置した）。195.8（77.350 K）（液体窒素の温度）において、分析の間、 $P_0$ は120分間隔にて測定した。窒素ガスについての標準Pstat - 対 - 温度の表を使用するガス吸着特性は、以下の値に設定した：非理想性係数（non-ideality factor）0.0000620、密度換算率0.0015468、分子の断面積0.162 nm<sup>2</sup>。BJH吸着 / 脱着累積孔容積及び累積表面積を、直径17 ~ 2,000 の範囲の孔（2 ~ 200 ナノメートルの範囲の孔に相当する）について計算し、これは、45吸着点及び40脱着点の間の各相対圧力において吸着されたN<sub>2</sub>の量に基づく。

30

#### 【0132】

以下の表は、分析のために使用する吸着及び脱着点を示す。様々な実施例について吸着間の累積表面積及び累積孔容積を、以下に報告する。

40

#### 【0133】



【表 1 - 1】

(表 1)

様々な計算を行った標的圧力及び点の表

点	相対圧力 ( $P/P_0$ )	B J H 吸着	B J H 脱着
1	0. 060	X	
2	0. 080	X	
3	0. 120	X	
4	0. 140	X	
5	0. 160	X	10
6	0. 200	X	
7	0. 250	X	
8	0. 300	X	
9	0. 350	X	
10	0. 400	X	
11	0. 450	X	
12	0. 500	X	
13	0. 550	X	
14	0. 600	X	
15	0. 650	X	
16	0. 700	X	
17	0. 740	X	
18	0. 770	X	20
19	0. 800	X	
20	0. 820	X	
21	0. 840	X	
22	0. 860	X	
23	0. 875	X	
24	0. 890	X	
25	0. 905	X	
26	0. 915	X	
27	0. 925	X	
28	0. 933	X	
29	0. 940	X	
30	0. 947	X	30
31	0. 953	X	
32	0. 959	X	
33	0. 964	X	
34	0. 968	X	
35	0. 971	X	
36	0. 974	X	
37	0. 977	X	
38	0. 980	X	
39	0. 982	X	
40	0. 984	X	
41	0. 986	X	
42	0. 988	X	
43	0. 989	X	40
44	0. 990	X	

【 0 1 3 4 】

【表 1 - 2】

(表 1 の続き)

様々な計算を行った標的圧力及び点の表

点	相対圧力 ( $P/P_0$ )	B J H 吸着	B J H 脱着
45	1. 000		
46	0. 990		X
47	0. 989		X
48	0. 988		X
49	0. 986		X
50	0. 984		X
51	0. 982		X
52	0. 980		X
53	0. 977		X
54	0. 974		X
55	0. 971		X
56	0. 968		X
57	0. 964		X
58	0. 959		X
59	0. 953		X
60	0. 947		X
61	0. 940		X
62	0. 933		X
63	0. 925		X
64	0. 915		X
65	0. 905		X
66	0. 890		X
67	0. 875		X
68	0. 860		X
69	0. 840		X
70	0. 820		X
71	0. 800		X
72	0. 770		X
73	0. 740		X
74	0. 700		X
75	0. 650		X
76	0. 600		X
77	0. 550		X
78	0. 500		X
79	0. 450		X
80	0. 400		X
81	0. 350		X
82	0. 300		X
83	0. 250		X
84	0. 200		X
85	0. 140		X

10

20

30

40

【表 2】

略語表	
略語取引表記	説明
MBA	N, N' -メチレンビスアクリルアミド
AMPS	ルブリゾール社 (Lubrizol Corp.) (オハイオ州、ウィクリフ (Wickliffe) から、ナトリウム塩、AMPS 2405モノマーの50%水溶液として市販されている 2-アクリルアミド-2-メチルプロパンスルホン酸
IPA	イソプロパノール
TMEDA	N, N, N', N' -テトラメチルエチレンジアミン
デキストラン	グルコース系多糖、重量平均分子量9,000g/モル
EG	エチレングリコール
PEG400	ヒドロキシ末端基を持つポリエチレングリコール、 重量平均分子量400g/モル
PEG8000	ヒドロキシ末端基を持つポリエチレングリコール、 重量平均分子量8,000g/モル

10

20

## 【0136】

(実施例1)

重量で65:35のAMPS/MBAコポリマーが、水相中でグリセロールをポロゲンとして使用して、逆相懸濁重合により調製した。

## 【0137】

ポリマー安定剤(0.56グラム)、ヘプタン(536ミリリットル)が、機械的攪拌器(攪拌速度450rpm)、窒素入口、温度計、温度制御装置付の加熱マントル、及びコンデンサーを備えるフラスコに添加した。ポリマー安定剤は、アクリル酸イソオクチルと2-アクリルアミドイソブチルアミドとの重量で91.8:8.2のコポリマーであった(ラスムッセン(Rasmussen)らの、「高分子化学、高分子討論会(Makromol. Chem., Macromol. Symp.)」54/55、535~550ページ(1992年)に記載されるように調製した)。フラスコ内の非水性溶液を、攪拌しながら35に加熱し、15分間窒素を散布した。

30

## 【0138】

水溶液は、MBA(9.8グラム)、AMPS(50重量%水溶液の36.4グラム)、IPA(109ミリリットル)、脱イオン水(26.8ミリリットル)、及びグリセロール(1ミリリットル、1.25グラム)を含有するように調製した。この水溶液を30~35で攪拌及び加熱し、MBAを溶解した。脱イオン水(5ミリリットル)に溶解した過硫酸ナトリウム(0.5グラム)を、更に攪拌しながら水溶液に添加した。非水性溶液を含有する反応フラスコに水溶液を添加した。得られた混合物を攪拌し、5分間窒素を散布した。

40

## 【0139】

TMEDA(0.55ミリリットル)を添加して重合を開始させた。反応温度は、急速に43まで上昇した後、ゆっくり戻った。反応混合物を、TMEDA添加時から合計2時間攪拌し、焼結ガラスじょうごを使用して濾過し、アセトン(2×250ミリリットル)、メタノール(2×250ミリリットル)、アセトン(2×250ミリリットル)で洗浄し、室温にて真空下で乾燥し、白い粒子を得た。

## 【0140】

IgG(分子量=150,000g/モル)を使用する上述した方法でカチオン交換容量を測定した。結果を表1に示す。

50

## 【 0 1 4 1 】

実施例 2 ~ 2 2 及び比較実施例 C 1 ~ C 8

添加されるポロゲンの識別及び量を表 1 に示されるように変更したこと以外は、実施例 1 に記載したような逆相懸濁重合により、M B A と A M P S のコポリマーを調製した（1 グラムのポロゲンが 1 ミリリットル体積を水相に与えるものとみなした）。I P A とポロゲンの総体積は、1 1 0 ミリリットルで一定に維持した。実施例 2 及び 1 4 を除き、洗浄工程において脱イオン水はメタノールに替えた。カチオン交換容量が、I g G（分子量 = 1 5 0 , 0 0 0 g / モル）を使用する上述した方法で測定した。結果を表 1 に示す。

## 【 0 1 4 2 】

（実施例 2 3 ~ 2 4）

10

I P A とポロゲンの総体積を 9 5 ミリリットルで維持し、水の総体積を 5 5 ミリリットルで維持したこと以外は、実施例 1 に記載したような逆相懸濁重合により、M B A と A M P S のコポリマーを調製した。更に、実施例 2 3 については、洗浄工程において脱イオン水はメタノールに置換した。I g G（分子量 = 1 5 0 , 0 0 0 g / モル）を使用する上述した方法でカチオン交換容量を測定された。結果を表 1 に示す。

## 【 0 1 4 3 】

【表 3】

表 1

実施例	ポロゲン識別	ポロゲン量 (グラム)	I g G容量 (mg/mL)	BJH累積表面積 (m <sup>2</sup> /g)	BJH累積孔容積 (cc/g)
C 1	なし	0	32	85	0.42
1	グリセロール	1.25	92	100	0.44
2	グリセロール	6.25	39	NM	NM
3	グルコース	0.1	62	56	0.49
4	グルコース	0.5	68	33	0.29
5	グルコース	1	70	12	0.15
5 A *	グルコース	1	70	44	0.29
6	グルコース	2.5	76	43	0.33
C 2	グルコース	5	16	84	0.5
C 3	グルコース	10	6	0.6	0.004
C 4	グルコース	20	22	NM	NM
7	グルコース/PEG8000	0.5/2.5	35	9	0.05
8	マルトース	0.5	75	40	0.36
9	マルトース	1	67	3.4	0.06
9 A **	マルトース	1	67	67	0.37
10	マルトース	2.5	62	28	0.3
C 5	マルトース	10	5	4	0.03
C 6	マルトース	20	21	46	0.1
11	マルトトリオース	0.5	70	NM	NM
12	マルトトリオース	1	74	2.7	0.05
13	マルトトリオース	2.5	73	46	0.33
C 7	マルトトリオース	10	23	NM	NM
14	スクロース	0.5	94	37	0.33
15	スクロース	1	91	NM	NM
16	スクロース	2.5	97	NM	NM
16 A **	スクロース	2.5	97	77	0.5
17	スクロース	5	54	NM	NM
C 8	スクロース	10	7	NM	NM
18	イノシトール	1	51	10	0.14
19	デキストラン	0.5	78	NM	NM
20	ペンタエリトリール	1	82	0.33	0.002
21	N-メチルグルカミン	0.5	48	29	0.30
22	スクロース/PEG400	0.5/15	71	NM	NM
23	グルコース/PEG400	1/15	83	NM	NM
24	EG/グルコース	10/1	126	97.3	0.39

## 【0144】

表1において、「NM」は、試験方法条件下で試料が測定可能ではなかったこと（試料が十分に洗浄されずポロゲンを除去できなかったためか、又は孔径が計器で測定するのに小さすぎたためか）のいずれかを意味し、単一のアスタリスク（\*）は、20体積のメタノールで72時間浸漬して濾過した後に再乾燥することにより試料が再洗浄されたことを意味し、二重アスタリスク（\*\*）は、20体積の水で72時間浸漬して濾過した後に再乾燥することにより試料が再洗浄されたことを意味する。

## 【0145】

実施例25及び比較実施例C9

有機相が132ミリリットルのトルエンと243ミリリットルのヘプタンとからなること、水相溶媒が49.5ミリリットルのメタノールと50ミリリットルの脱イオン水とからなること、及びMBA：AMPSのモノマーの比が50：50であること以外は、実施

例 1 に記載したような逆相懸濁重合により、M B A と A M P S のコポリマーが調製した。比較実施例 C 9 については、ポロゲンを使用しなかった。I g G (分子量 = 150,000 g / モル) を使用する上述した方法でカチオン交換容量は、測定した。結果を表 2 に示す。

【 0 1 4 6 】

実施例 2 6 及び比較実施例 C 1 0

M B A : A M P S のモノマーの比が 6 0 : 4 0 であること以外は、実施例 2 5 に記載したような逆相懸濁重合により、M B A と A M P S のコポリマーを調製した。比較実施例 C 1 0 については、ポロゲンは使用しなかった。I g G (分子量 = 150,000 g / モル) を使用する上述した方法でカチオン交換容量を測定した。結果を表 2 に示す。

10

【 0 1 4 7 】

【表 4】

表 2

実施例	ポロゲン識別	ポロゲン量 (グラム)	I g G 容量 (mg / mL)
C 9	なし	0	1 8
2 5	スクロース	0. 5	8 1
C 1 0	なし	0	2 9
2 6	スクロース	0. 5	1 1 5

20

【 図 1 】

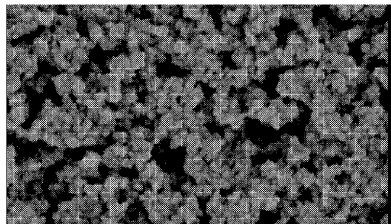


Fig. 1 600 nm

【 図 3 】

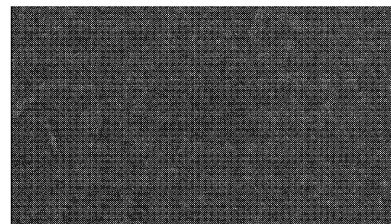


Fig. 3 600 nm

【 図 2 】

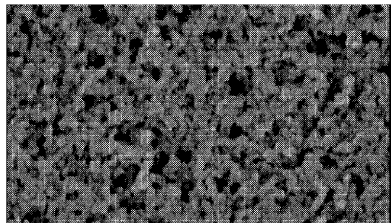


Fig. 2 600 nm

## フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I
C 0 7 K 16/00	(2006.01)	C 0 7 K 16/00
C 0 7 K 1/18	(2006.01)	C 0 7 K 1/18
C 0 7 K 17/08	(2006.01)	C 0 7 K 17/08

(74)代理人 100102990

弁理士 小林 良博

(74)代理人 100093665

弁理士 蛸谷 厚志

(72)発明者 ラスマッセン, ジェラルド ケー.

アメリカ合衆国, ミネソタ 5 5 1 3 3 - 3 4 2 7, セント ポール, ポスト オフィス ボックス 3 3 4 2 7, スリーエム センター

(72)発明者 フィッツサイモンズ ロバート ティー., ジュニア

アメリカ合衆国, ミネソタ 5 5 1 3 3 - 3 4 2 7, セント ポール, ポスト オフィス ボックス 3 3 4 2 7, スリーエム センター

(72)発明者 セシャドリ, カナン

アメリカ合衆国, ミネソタ 5 5 1 3 3 - 3 4 2 7, セント ポール, ポスト オフィス ボックス 3 3 4 2 7, スリーエム センター

(72)発明者 シャノン, サイモン ケー.

アメリカ合衆国, ミネソタ 5 5 1 3 3 - 3 4 2 7, セント ポール, ポスト オフィス ボックス 3 3 4 2 7, スリーエム センター

(72)発明者 ウィッカート, ピーター ディー.

アメリカ合衆国, ミネソタ 5 5 1 3 3 - 3 4 2 7, セント ポール, ポスト オフィス ボックス 3 3 4 2 7, スリーエム センター

(72)発明者 ヘンブル, ジェイムズ アイ.

アメリカ合衆国, ミネソタ 5 5 1 3 3 - 3 4 2 7, セント ポール, ポスト オフィス ボックス 3 3 4 2 7, スリーエム センター

審査官 横島 隆裕

(56)参考文献 国際公開第2005/115618(WO, A1)

国際公開第2006/039455(WO, A1)

特表2003-511659(JP, A)

特表平07-509173(JP, A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C 0 8 J 9 / 0 0 - 9 / 4 2

B 0 1 D 3 9 / 0 0 - 4 1 / 0 4

B 0 1 J 3 9 / 0 4 - 3 9 / 2 0

C 0 7 K 1 / 0 0 - 1 9 / 0 0