

明 細 書

発明の名称：吸着剤および吸着装置

技術分野

[0001] 本発明は、カラム用吸着剤および吸着装置に関する。

背景技術

[0002] 近年、ハイドロキシアパタイトは、例えば、生体適合性が高く安全性に優れる等の理由から、抗体、ワクチンのようなバイオ系医薬品等を精製・単離する際に用いられる、クロマトグラフィーの固定層用材料すなわち吸着剤として、広く使用されている。

[0003] このようにクロマトグラフィーの固定層用材料として使用されるハイドロキシアパタイト（HAP）は、例えば、次のようにして製造される。

[0004] 水酸化カルシウムを含有する第1の液とリン酸を含有する第2の液とを、攪拌しつつ反応させることによりハイドロキシアパタイトの一次粒子を得、この一次粒子およびその凝集体を含有するスラリーを乾燥して、これらを造粒することにより、ハイドロキシアパタイトを、その二次粒子（粉体）として得る。

[0005] そして、この粉体を焼成することにより、焼結された焼結粉体を得られ、未焼成の粉体または焼結粉体を、カラム（吸着装置）等に充填して、固定層用材料（吸着剤）として使用される（例えば、特許文献1参照。）。

[0006] 特許文献1に記載のハイドロキシアパタイト吸着剤は、湿式ジェットミル法を用いて粉碎したハイドロキシアパタイトの一次粒子から二次粒子を造粒し、さらにその二次粒子を分級すること等により、高い圧縮粒子強度とそれに起因した高い耐久性を有するものである。しかしながら、特許文献1に記載の粉体は、高い耐久性に加えて、粉体が吸着することができる被吸着物質の量、すなわち、粉体の吸着能力をさらに高める余地があった。つまり、特許文献1に記載の粉体は、耐久性と吸着能力の両方を優れたものとする点においてさらなる改良の余地があった。

[0007] 一方、ハイドロキシアパタイトの原料として使われる水酸化カルシウムは、例えば、石灰石を焼成して得られる生石灰（酸化カルシウム）に水を反応させることにより、調製することができることが知られている（例えば、特許文献2参照。）。特許文献2に開示されているように、水酸化カルシウムの物理的性質は、原料として用いる石灰石の不純物金属含有量およびシュウ酸反応性等によって変化する。また、合成されるハイドロキシアパタイト粉体の物理的性質は、原料として用いる水酸化カルシウムの物理的性質、ハイドロキシアパタイト合成反応時の条件、および、粒子造粒時の条件等によって変化する。そのため、合成されるハイドロキシアパタイト粉体は、それらの条件の変化に起因して異なる物理的特性を有し、さらにそれに起因して性能にバラツキを有する場合があった。

先行技術文献

特許文献

[0008] 特許文献1：特開2011-68539号公報

特許文献2：特開2018-065715号公報

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0009] 本発明の目的は、吸着能力と耐久性とのバランスにおいて優れたカラム用吸着剤、および、吸着装置を提供することである。

課題を解決するための手段

[0010] このような目的は、下記（1）～（4）に記載の本発明により達成される。

[0011] [1]

ハイドロキシアパタイト又はハイドロキシアパタイトが有する水酸基の少なくとも一部がフッ素原子で置換されたフッ素アパタイトの多孔質粒子の集合体からなる粉体で構成されたカラム用吸着剤であって、

前記多孔質粒子の集合体は、異なる粒子径を有する多数の多孔質粒子の集

合体であり、

前記多孔質粒子の集合体は、平均粒子径が D_{Av} (μm) であるときに、粒度分布において小さい側から粒子径をカウントして体積累積が10%となる粒径 D_{10} (μm) が、

$D_{Av} \times 45 / 100 \leq D_{10} \leq D_{Av} \times 75 / 100$ を満たすカラム用吸着剤。

[2]

ハイドロキシアパタイト又はハイドロキシアパタイトが有する水酸基の少なくとも一部がフッ素原子で置換されたフッ素アパタイトの多孔質粒子の集合体からなる粉体で構成されたカラム用吸着剤であって、

前記多孔質粒子の集合体は、異なる粒子径を有する多数の多孔質粒子の集合体であり、

前記多孔質粒子の集合体は、平均粒子径が D_{Av} (μm) であるときに、粒度分布において小さい側から粒子径をカウントして体積累積が90%となる粒径 D_{90} (μm) が、

$D_{Av} \times 135 / 100 \leq D_{90} \leq D_{Av} \times 165 / 100$ を満たすカラム用吸着剤。

[3]

ハイドロキシアパタイト又はハイドロキシアパタイトが有する水酸基の少なくとも一部がフッ素原子で置換されたフッ素アパタイトの多孔質粒子の集合体からなる粉体で構成されたカラム用の吸着剤であって、

前記多孔質粒子の集合体は、異なる粒子径を有する粒子の集合体であり、

前記吸着剤は、平均粒子径が $40 \pm 4 \mu\text{m}$ になるように分級したものを、カラム内径 $\phi 4.0 \text{ mm}$ ×カラム長 100 mm のステンレスカラムに乾式充填し、当該カラムに、 10 mM リン酸ナトリウム水溶液 ($\text{pH } 6.5$) を 1.0 ml / 分 の流速で流したときに、当該カラムの背圧が $13 \sim 24 \text{ psi}$ となるものであるカラム用吸着材。

[4]

前記 [1] ～ [3] のいずれかに記載のカラム用吸着剤を備える吸着装置

。

これにより、吸着能力と耐久性とのバランスにおいて優れたカラム用吸着剤および吸着装置となる。

[0012]

発明の効果

[0013] 本発明のカラム用吸着剤は、吸着能力と耐久性とのバランスにおいて優れる。また、本発明の吸着剤の製造方法は、そのような吸着剤を製造することができる。

図面の簡単な説明

[0014] [図1]本発明の吸着剤を備える吸着装置の一例を示す縦断面図である。

発明を実施するための形態

[0015] 以下、本発明の吸着剤および吸着剤の製造方法を添付図面に示す好適実施形態に基づいて詳細に説明する。

[0016] まず、本発明の吸着剤および吸着剤の製造方法を説明するのに先立って、本発明の吸着剤を備える吸着装置（分離装置）の一例について説明する。

[0017] <吸着装置>

図1は、本発明の吸着剤を備える吸着装置の一例を示す縦断面図である。なお、以下の説明では、図1中の上側を「流入側」、下側を「流出側」と言う。

[0018] ここで、流入側とは、分離すべきバイオ医薬品等すなわちタンパク質等の単離物としての吸着物質を分離（精製）する際に、例えば、試料液（吸着物質を含む液体）、溶出液であるリン酸系緩衝液や水等の液体を、吸着装置内に供給する側のことを言い、一方、流出側とは、前記流入側と反対側、すなわち、前記液体が吸着装置内から流出する側のことを言う。

[0019] タンパク質等の単離物（吸着物質）を試料液から分離（精製）する、図1に示す吸着装置1は、カラム2と、粒状の吸着剤3（充填剤）と、2枚のフィルタ部材4、5とを有している。

[0020] カラム2は、カラム本体21と、このカラム本体21の流入側端部および

流出側端部に、それぞれ装着される蓋部 2 2（第 1 ポート）および蓋部 2 3（第 2 ポート）とを有している。

[0021] カラム本体 2 1 は、例えば円筒状の部材で構成されている。カラム本体 2 1 を含めカラム 2 を構成する各部（各部材）の構成材料としては、例えば、各種ガラス材料、各種樹脂材料、各種金属材料、各種セラミックス材料等が挙げられる。

[0022] カラム本体 2 1 には、その流入側開口および流出側開口を、それぞれ塞ぐようにフィルタ部材 4、5 を配置した状態で、その流入側端部および流出側端部に、それぞれ蓋部 2 2、2 3 が装着されている。

[0023] このような構成のカラム 2 では、カラム本体 2 1 と、各フィルタ部材 4、5 とにより、吸着剤充填空間 2 0 が画成されている。また、カラム本体 2 1 と、蓋部 2 2、2 3 とにより、吸着剤充填空間 2 0 における液密性が確保されている。そして、この吸着剤充填空間 2 0 の少なくとも一部に（本実施形態では、ほぼ満量で）、吸着剤 3 が充填されている。

[0024] 吸着剤充填空間 2 0 の内径（カラム内径）は、試料液の容量に応じて適宜設定される。内径は、例えば、1.0 mm 以上 1000.0 mm 以下程度が好ましく、2.0 mm 以上 700.0 mm 以下程度がより好ましい。吸着剤充填空間 2 0 の長さ（カラム長）は、例えば、3.0 mm 以上 300.0 mm 以下程度が好ましく、4.0 mm 以上 250.0 mm 以下程度がより好ましい。このような吸着剤充填空間 2 0 の寸法（内径および長さ）を有するカラム 2 を、試料液中に含まれる単離物の単離に用いることにより、単離物を優れた精度で精製することができる。

[0025] 吸着剤充填空間 2 0 の寸法を上記のように設定し、かつ後述する吸着剤 3 の寸法を後述のように設定することにより、試料液中から目的とする単離物を選択的に単離（精製）すること、すなわち、タンパク質のような単離物（吸着物質）と、試料液中に含まれる単離物以外の夾雑物とを確実に分離することができる。

[0026] なお、吸着剤 3 を用いて単離（精製）される精製対象物としては、アルブ

ミン、抗体（抗体分子）等の酸性タンパク質、塩基性タンパク質のようなタンパク質に限定されず、例えば、酸性アミノ酸、DNA、RNA、および負電荷リポソーム等の負帯電物質、ならびに、塩基性アミノ酸、正電荷コレステロールおよび正電荷リポソーム等の正帯電物質が挙げられる。すなわち、抗体、ワクチンのようなバイオ系医薬品等の各種物質を吸着物質として、吸着剤3を用いて精製・単離することができる。

- [0027] また、カラム本体21に各蓋部22、23を装着した状態とすることで、これらの間の液密性が確保されるように構成されている。
- [0028] 蓋部22（第1ポート）および蓋部23（第2ポート）は、それぞれ、キャップ28およびキャップ29と、流入管24（第1流路）および流出管25（第2流路）と、リッド26およびリッド27とを有している。
- [0029] キャップ28、29は、カラム本体21の流入側端部を鉛直上方、流出側端部を鉛直下方として、カラム本体21の流入側端部（一端部）および流出側端部（他端部）に、それぞれ、螺合により装着され、キャップ28、29とカラム本体21とにより、これら同士間の液密性を確保している。
- [0030] 流入管24および流出管25は、前記液体が流通する管体で構成され、それぞれ、各キャップ28、29のほぼ中央に、液密に固着（固定）されている。また、リッド26、27は、フィルタ部材4、5と、キャップ28、29との間に配置され、流入管24および流出管25に連通する流路41、51を有している。流入管24、リッド26およびフィルタ部材4を介して吸着剤3に、前記液体が供給される。また、吸着剤3に供給された試料液は、吸着剤3同士の間（間隙）を通過して、フィルタ部材5、リッド27および流出管25を介して、カラム2外へ流出する。このとき、試料液（試料）中に含まれる単離物（吸着物質）と単離物以外の夾雑物とは、吸着剤3に対する吸着性の差異および溶出液に対する親和性の差異に基づいて分離される。
- [0031] すなわち、吸着装置1は、蓋部22が蓋部23よりも鉛直上方に位置するような姿勢とした状態で、前記液体を、流入管24を経由して吸着剤充填空間20へ供給し、吸着剤充填空間20に充填された吸着剤3により単離物の

吸着を行い、この単離物の吸着を利用して、単離物の分離を行うものである。

[0032] 各フィルタ部材4、5は、それぞれ、吸着剤充填空間20から吸着剤3が流出するのを防止する機能、すなわち、吸着剤充填空間20に吸着剤3を保持する機能を有するものである。これらのフィルタ部材4、5は、それぞれ、例えば、ポリプロピレンメッシュ、ポリエチレン粒子の焼結フィルタ、ステンレスメッシュフィルタ、ステンレス粒子の焼結フィルタで構成されている。

[0033] 吸着装置1において、吸着剤3は、一定でない粒径を有する微粒子の集合体からなる粉体として、ハイドロキシアパタイトの一次粒子および二次粒子を含む未焼成の粉体（未焼結粉体）を焼成した焼結粉体で構成され、これにより、試料液（試料）中に含まれる単離物（吸着物質）に対する吸着能力を発揮するものである。

[0034] なお、本願明細書中においては、ハイドロキシアパタイトの一次粒子および二次粒子を含む未焼成の粉体（未焼結粉体）を「ハイドロキシアパタイト粉体（または、単に「未焼結粉体」）」と言い、焼成されたハイドロキシアパタイト粉体を「ハイドロキシアパタイト焼結粉体」（または、単に「焼結粉体」）と言う。また、異なる物理的性質を有するハイドロキシアパタイト粉体の複数の集合体を混合することにより得られるハイドロキシアパタイト粉体を「ハイドロキシアパタイト混合粉体」（または、単に「混合粉体」）と言う。

[0035] 以下、ハイドロキシアパタイト焼結粉体について詳述する。

[0036] ハイドロキシアパタイト焼結粉体は、ハイドロキシアパタイト粉体を、300℃以上900℃以下の焼成温度で焼成したものであることが好ましい。また、このハイドロキシアパタイト粉体は、その二次粒子、さらには一次粒子および多次粒子を含み、主として、その二次粒子で構成された、細孔を備える多孔質粒子の集合体である。

[0037] ハイドロキシアパタイト（ $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ）の二次粒子、すな

わち、ハイドロキシアパタイト粉体は、その一次粒子およびその凝集体を含有するスラリーを乾燥して、これらを造粒することにより得られた、主としてハイドロキシアパタイトで構成される多孔質体である。ハイドロキシアパタイトは、化学的に安定なアパタイト構造からなる。なお、ハイドロキシアパタイトは、 Ca/P 比が1.64以上1.70以下程度のものを意図する。

なお、このハイドロキシアパタイトの二次粒子は、その表面において有する、水酸基の少なくとも一部がフッ素原子で置換されたフッ素アパタイトの二次粒子 ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_{2-2x}\text{F}_{2x}$ (ただし、式中、 x は $0 < x \leq 1$ である。)) で構成されていてもよい。なお、本明細書においては、上記のように、ハイドロキシアパタイト ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) が有する、水酸基の少なくとも一部がフッ素原子で置換されたフッ素アパタイト ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_{2-2x}\text{F}_{2x}$ (ただし、式中、 x は $0 < x \leq 1$ である。)) を含めて、「ハイドロキシアパタイト」と言うこととする。

[0038] (D_{10} の値)

本発明の一実施形態において、ハイドロキシアパタイト多孔質粒子の集合体は、平均粒子径が D_{Av} (μm) であるときに、粒度分布において小さい側から粒子径をカウントして体積累積が10%となる粒径 D_{10} (μm) が、 $D_{Av} \times 45 / 100 \leq D_{10} \leq D_{Av} \times 75 / 100$ を満たすことが好ましい。 $D_{Av} \times 55 / 100 \leq D_{10}$ の式が満たされることがより好ましい。また、 $D_{10} \leq D_{Av} \times 70 / 100$ の式が満たされることがより好ましい。

[0039] (D_{90} の値)

本発明の一実施形態において、ハイドロキシアパタイト多孔質粒子の集合体は、平均粒子径が D_{Av} (μm) であるときに、粒度分布において小さい側から粒子径をカウントして体積累積が90%となる粒径 D_{90} (μm) が、 $D_{Av} \times 135 / 100 \leq D_{90} \leq D_{Av} \times 165 / 100$ を満たすことが好ましい。 $D_{Av} \times 145 / 100 \leq D_{90}$ が満たされることがより好ましい。

[0040] 本発明の一実施形態において、上記の好ましい粒度分布を満たすハイドロ

キシアパタイト粉体は、(a)噴霧乾燥された乾燥粒子を分級して焼成することによって得てもよいし、(b)噴霧乾燥された乾燥粒子を分級せずに焼成することによって得てもよいし、又は、(c)噴霧乾燥された乾燥粒子を分級せずに焼成したものと、噴霧乾燥された乾燥粒子を分級して焼成したものとを混合することによって得てもよい。

[0041] 本発明の一実施形態において、上記(a)～(c)のいずれかの方法によって得た粉体の粒度分布を測定する工程を行い、所望の粒度分布を有するものを選抜することにより、上記の好ましい粒度分布を満たすハイドロキシアパタイト粉体を得てもよい。

[0042] (背圧)

本発明の一実施形態において、ハイドロキシアパタイト多孔質粒子の集合体は、平均粒子径が $40 \pm 4 \mu\text{m}$ になるように分級したものを、カラム内径 $\phi 4.0 \text{ mm} \times$ カラム長 100 mm のステンレスカラムに乾式充填し、当該カラムに、 10 mM リン酸ナトリウム水溶液($\text{pH } 6.5$)を $1.0 \text{ mL} / \text{分}$ の流速で流したときに、当該カラムの背圧が $13 \sim 24 \text{ psi}$ となるものであることが好ましい。上記背圧はより好ましくは $15 \sim 20 \text{ psi}$ であり、さらに好ましくは $15 \sim 18 \text{ psi}$ である。

なお、乾式充填とは、液体等が入っていない状態のカラムに、該カラムの上部から粉体を加え、カラムを少しずつ回しながら、約 100 回(約 2 分間)軽く上下にタッピングすることによって隙間を埋めるように充填する方法を指す。乾式充填は粉体が飛び跳ねたり破壊されることがないように行う。

[0043] 本発明の一実施形態において、上記の好ましい範囲内の背圧を有するハイドロキシアパタイト多孔質粒子の集合体は、背圧を測定する試験を行い、所定の背圧を満たすものを選抜する工程を行うことによって得てもよい。

[0044] (D_{10} の値、 D_{90} の値、背圧)

本発明の一実施形態において、ハイドロキシアパタイト多孔質粒子の集合体は、上記の好ましい D_{10} の値と上記の好ましい D_{90} の値の両方を満たすことが好ましい。本発明の一実施形態において、ハイドロキシアパタイト多孔

質粒子の集合体は、上記の好ましい D_{10} の値と上記の好ましい D_{90} の値に加えて、上記の好ましい背圧の値を満たすことがより好ましい。

[0045] (吸着能力)

本発明の一実施形態において、ハイドロキシアパタイト多孔質粒子の集合体の吸着能力は、以下の方法で測定することができる。ハイドロキシアパタイト焼結粉体が吸着剤として乾式充填されたカラム ($\phi 4.0\text{ mm} \times$ カラム長 100 mm) を用意するとともに、吸着物質としてのウシ血清アルブミンが 1.0 mg/mL となるように 10 mM リン酸ナトリウム緩衝液 ($\text{pH } 6.5$) で溶解することで調製された試料液を調製する。そして、このカラムに対して、調製した試料液を、 1.0 mL/分 の流速で供給したときに、流速毎に、カラムに供給する試料液における吸光度値 X (280 nm) と、カラムから溶出される溶出液における吸光度値 Y (波長 280 nm) とを測定し、吸光度値 Y (波長 280 nm) が吸光度値 X (波長 280 nm) の 10% となる時点まで送液した試料液量に基づいてハイドロキシアパタイト焼結粉体に対する吸着物質の吸着量 (mg/mL) を算出する。

[0046] また、この抗体吸着量測定試験では、吸着物質の吸着量は 15 mg/mL 以上であることが好ましい。上記吸着量は、より好ましくは 20 mg/mL 以上であり、さらに好ましくは 25 mg/mL 以上であり、最も好ましくは 28 mg/mL 以上である。

[0047] <ハイドロキシアパタイト粉体の製造方法>

本発明の一実施形態において、ハイドロキシアパタイト多孔質粒子の集合体からなる粉体は、例えば、次のような製造方法により製造される。

[0048] 本発明の一実施形態において、吸着剤の製造方法は、水酸化カルシウム等のカルシウム源とリン酸等のリン源とを反応させて、ハイドロキシアパタイトの一次粒子およびその凝集体を含むスラリーを準備する準備工程 [P1] と、スラリーを噴霧乾燥してハイドロキシアパタイト粉体を得る乾燥工程 [P2] と、必要に応じてハイドロキシアパタイト粉体を分級する分級工程 [P3] と、ハイドロキシアパタイト粉体を焼成することでハイドロキシアパ

タイト焼結粉体を得る焼成工程〔P 4〕と、異なる物理的性質を有するハイドロキシアパタイト焼結粉体の複数の集合体を混合することにより、混合粉体を得る混合工程〔P 5〕と、を有する。

[0049] 以下、これらの工程について、順次説明する。

なお、以下では、カルシウム源として水酸化カルシウムを用い、リン酸源としてリン酸を用いる場合を一例に説明する。

[0050] 〔P 1 : ハイドロキシアパタイトの凝集体を含むスラリーを準備する準備工程〕

この工程では、水酸化カルシウムを含有する水酸化カルシウム分散液（第1の液）と、リン酸を含有するリン酸溶液（第2の液）とを、攪拌しつつ、水酸化カルシウムとリン酸とを反応させ、ハイドロキシアパタイトの一次粒子と、その凝集体を含むスラリーを得る。すなわち、ハイドロキシアパタイトの一次粒子と、その凝集体を含むスラリーを調製する。

[0051] 具体的には、例えば、容器（図示せず）内で、水酸化カルシウム分散液（第1の液）を攪拌しつつ、この分散液に、リン酸溶液（第2の液）を滴下し、水酸化カルシウム分散液とリン酸溶液との混合液を混合し、この混合液中で水酸化カルシウムとリン酸とを反応させて、ハイドロキシアパタイトの一次粒子と、その凝集体を含むスラリーを得る。

[0052] かかる方法では、リン酸を含むリン酸溶液を使用する湿式合成法が用いられる。これにより、高価な製造設備を必要とせず、より容易かつ効率よくハイドロキシアパタイト（合成物）を合成することができる。また、水酸化カルシウムとリン酸との反応では、ハイドロキシアパタイト以外の副生成物は、水のみであるため、形成される二次粒子や焼結粉体内に副生成物が残留することがなく、さらにこの反応が酸塩基反応であるため、水酸化カルシウム分散液およびリン酸溶液のpHを調整することにより、この反応を容易に制御できるという利点がある。

[0053] なお、リン酸を含むリン酸溶液としては、リン酸水溶液の他、リン酸水溶液に、アルコールのような他の液体が若干量添加されているものであっても

よい。

- [0054] また、この反応を攪拌しつつ行うことにより、水酸化カルシウムとリン酸との反応を効率よく進行させること、すなわち、それらの反応の効率を向上させることができる。
- [0055] さらに、水酸化カルシウム分散液とリン酸溶液とを含有する混合液を攪拌する攪拌力は、例えば、混合液（スラリー）1 Lに対して、0.75 W以上2.0 W以下程度の出力であるのが好ましく、0.925 W以上1.85 W以下程度の出力であるのがより好ましい。
- [0056] 水酸化カルシウム分散液中における水酸化カルシウムの含有量は、5 wt %以上15 wt %以下程度であるのが好ましく、10 wt %以上12 wt %以下程度であるのがより好ましい。また、リン酸溶液中におけるリン酸の含有量は、10 wt %以上25 wt %以下程度であるのが好ましく、15 wt %以上20 wt %以下程度であるのがより好ましい。水酸化カルシウムおよびリン酸の含有量を、かかる範囲内に設定することにより、水酸化カルシウム分散液を攪拌しつつ、リン酸溶液を滴下する際の水酸化カルシウムとリン酸との接触機会が増大することから、水酸化カルシウムとリン酸とを効率よく反応させることができ、ハイドロキシアパタイトを確実に合成することができる。
- [0057] リン酸溶液を滴下する速度は、1 L/時間以上40 L/時間以下程度であるのが好ましく、3 L/時間以上30 L/時間以下程度であるのがより好ましい。このような滴下速度でリン酸溶液を水酸化カルシウム分散液中に混合（添加）することにより、水酸化カルシウムとリン酸とを、より穏やかな条件で反応させることができる。
- [0058] この場合、リン酸溶液を滴下する時間（加える時間）は、5時間以上32時間以下程度かけて行うのが好ましく、6時間以上30時間以下程度かけて行うのがより好ましい。このような滴下時間で、水酸化カルシウムとリン酸とを反応させることにより、ハイドロキシアパタイトを十分に合成することができる。なお、滴下時間を上記の上限値を越えて長くしても、水酸化カル

シウムとリン酸との反応の進行は、それ以上期待できない。

[0059] ここで、水酸化カルシウムとリン酸との反応が徐々に進行すると、スラリー中には、ハイドロキシアパタイト（合成物）の微粒子（以下、単に「微粒子」と言う。）が生成する。そして、これらの微粒子同士は、一の微粒子（一次粒子）の正に帯電している部分と、他の微粒子の負に帯電している部分との間にファンデルワールス力（分子間力）が働き、それらが凝集することにより、ハイドロキシアパタイト（合成物）の凝集体（以下、単に「凝集体」と言う。）が生成する。この凝集体の生成に伴い、スラリーの粘度は、徐々に上昇する。

[0060] さらに、水酸化カルシウムとリン酸との反応が進行すると、スラリー中における正の電荷と負の電荷との割合が接近する。このとき、スラリー中では、微粒子に働く斥力が減少し、微粒子同士の凝集がさらに加速して、より粒径の大きな凝集体が形成される。

[0061] [P 2：スラリーを乾燥してハイドロキシアパタイト粉体を得る乾燥工程]
この工程では、前記工程[P 1]を経た、スラリーを乾燥することにより造粒させて、主としてハイドロキシアパタイトの二次粒子で構成される未焼結粉体（乾燥粉体）、すなわち、ハイドロキシアパタイト粉体を生成する。

[0062] スラリーを乾燥する方法としては、特に限定されないが、噴霧乾燥法が好適に使用される。かかる方法によれば、粉碎された凝集体を造粒させて、所望の粒径の粉体を、より確実にかつ短時間で得ることができる。

[0063] また、スラリーを乾燥する際の乾燥温度は、75℃以上250℃以下程度であるのが好ましく、95℃以上220℃以下程度であるのがより好ましい。かかる範囲内に設定することにより、嵩密度が高く、かつ比表面積が広い二次粒子を得ることができる。

[0064] 以上のような工程[P 1]～[P 2]により、ハイドロキシアパタイト粉体を準備する第1工程が構成される。

[0065] [P 3：必要に応じてハイドロキシアパタイト粉体を分級する分級工程]
この工程では、前記工程[P 1]および[P 2]を経ることで得た乾燥粉体を

分級する工程である。この分級工程においては、例えば、所定値よりも小さい粒径を有する粒子および所定値よりも大きい粒径を有する粒子を除去することにより、粉体の平均粒径及び粒度分布をコントロールすることができる。粉体の平均粒径及び粒度分布のコントロールが不要である場合には、分級工程を省略することができる。

[0066] [P 4 : ハイドロキシアパタイト粉体を焼成してハイドロキシアパタイト焼結粉体を得る焼結工程]

この工程は、前記工程[P 1]～[P 3]を経ることで得られた粉体を焼成する工程である。粉体を焼成する焼成温度は、300℃以上900℃以下程度に設定されていればよい。前記焼成温度は350℃以上であるのが好ましい。前記焼成温度は850℃以下であるのが好ましく800℃以下であるのがより好ましい。

[0067] ハイドロキシアパタイト粉体を焼成する焼成温度を保持する保持時間は、特に限定されないが、60分以上230分以下程度であることが好ましく、90分以上180分以下程度であることがより好ましい。

[0068] [P 5 : 異なる物理的性質を有するハイドロキシアパタイト多孔質粒子の複数の集合体を混合することにより、混合粉体を得る混合工程]

この工程では、前記工程[P 1]～[P 4]を経て得られる、異なる物理的性質を有するハイドロキシアパタイト焼結粉体の複数の集合体を混合する工程である。ハイドロキシアパタイト多孔質粒子の集合体が、混合工程を行うことなく所望の物理的性質を有している場合には、混合工程を省略してもよい。

[0069] 以上のような工程を経て、主としてハイドロキシアパタイトの二次粒子を含む粒子の焼結体で構成される焼結粉体、すなわち、ハイドロキシアパタイト焼結粉体を得られる。

[0070] このハイドロキシアパタイト焼結粉体を吸着剤3として、カラム2が備える吸着剤充填空間20に充填することにより、吸着装置1を得ることができる。本発明においては、ハイドロキシアパタイト粉体の分級は必須ではない。

が、分級する場合、ハイドロキシアパタイト焼結粉体は、例えば、 $10 \pm 4 \mu\text{m}$ 、 $20 \pm 4 \mu\text{m}$ 、 $40 \pm 4 \mu\text{m}$ 、 $60 \pm 4 \mu\text{m}$ および $80 \pm 4 \mu\text{m}$ 等の平均粒径ならびに粒度分布を有してもよい。

[0071] 以上、本発明の吸着剤および吸着剤の製造方法について説明したが、本発明は、これに限定されるものではない。

[0072] 例えば、本発明の吸着剤において、各構成は、同様の機能を発揮し得る任意のものと置換することができ、あるいは、任意の構成のものを付加することができる。また、本発明の吸着剤の製造方法では、任意の目的で、1以上の工程を追加することができる。

実施例

[0073] 次に、本発明の具体的実施例について説明する。本発明はこれらの実施例の記載に何ら限定されるものではない。

[0074] 1. ハイドロキシアパタイト粉体の製造

(焼結粉体1の製造)

[P1]

まず、水酸化カルシウム2400gを純水60Lに分散させ、この水酸化カルシウム分散液をタンクに入れて攪拌しつつ、このものにリン酸水溶液(リン酸濃度85wt%)4Lを1L/時間の速度で滴下した。これにより、10wt%のハイドロキシアパタイトの一次粒子が凝集した凝集体を含有するスラリーを得た。

[0075] なお、滴下中の雰囲気温度は、常温(25℃)とした。

また、前記分散液にリン酸水溶液を滴下した混合液を攪拌する攪拌力は、混合液(スラリー)1Lに対して1.7Wの出力とした。

[0076] [P2]

次に、粉碎された凝集体を含有するスラリーを、噴霧乾燥機(マツボー社製、「MAD-6737R」)を用いて、210℃で噴霧乾燥することにより、スラリー中に含まれるハイドロキシアパタイトを造粒させて球状の二次粒子(乾燥粉体)を得た。

[0077] なお、粉体（二次粒子）がハイドロキシアパタイトであることを粉末X線回折法により確認した。湿式ジェットミルによる攪拌は行わずに次の工程を行った。

[0078] [P 3]

噴霧乾燥工程により得た乾燥粉体を、サイクロン分級機（日清エンジニアリング社製、「TC-15」）を用いて、未分級の粒子における D_{10} より小さい粒径を有する粒子および D_{75} より大きい粒径を有する粒子を除去することを含む分級処理により、中心粒径が約 $40\mu\text{m}$ となるように分級した。

[0079] [P 4]

次に、噴霧乾燥機により得られた乾燥粉体を 400°C で焼成することで焼結粉体を得た。この焼結粉体を「焼結粉体1」とした。

[0080] （焼結粉体2の製造）

[P 1] ~ [P 4]

焼結粉体1の製造の準備工程[P 1]および乾燥工程「P 2」と同様にして、乾燥粉体を得た。この乾燥粉体については分級工程[P 3]を行わなかった。 400°C で焼成することで焼結粉体を得た[P 4]。焼結粉体2の製造においても湿式ジェットミルによる攪拌は行わなかった。このようにして得られた粉体を「焼結粉体2」とした。

[0081] [P 5]

下記表1に示す重量比で焼結粉体1と焼結粉体2を混合した。

[0082] 2. ハイドロキシアパタイト粉体の評価

2-1. 背圧の測定

カラム内径 $\phi 4.0\text{mm}$ ×カラム長 100mm のステンレスカラムに乾式充填し、当該カラムに、 10mM リン酸ナトリウム水溶液（ $\text{pH} 6.5$ ）を $1.0\text{ml}/\text{分}$ の流速で流した際のカラムの背圧を測定した。その結果を下記表1に示す。

[0083] 2-2. 抗体吸着量の評価

各混合粉末を吸着剤として備えるカラムについて、それぞれ、抗体を含む

試料液を、1.0 mL/分の流速でカラムに供給した際の吸着剤に対する抗体吸着量を、以下に示すような手法にて測定した。

[0084] すなわち、まず、ウシ血清アルブミン (γ -Globulins from bovine blood : bIgG) を1.0mg/mLとなるように10 mM NaP (リン酸ナトリウム緩衝液) pH 6.5で溶解することで試料液 (bIgG溶液) を調製した。

次いで、各混合粉体が吸着剤として乾式充填されたステンレスカラム (内径 ϕ 4.0 mm $\times$ カラム長100 mm) を用意し、これらのカラムに対して、それぞれ、調製した試料液を、クロマト装置のポンプから送液し、1.0 mL/分の流速でカラムに供給した。そして、カラムに供給する試料液における吸光度値X (280 nm) と、カラムから溶出される溶出液における吸光度値Y (波長280 nm) とを測定し、吸光度値Y (波長280 nm) が吸光度値X (波長280 nm) の10%となる時点まで送液した。

[0085] 2-3. 耐久性の評価

<A1> まず、混合粉体1を充填した吸着装置を、クロマト装置に装着した。その後、400 mMリン酸ナトリウム緩衝液 (pH 6.5、温度25℃) を、通液速度1.0 mL/min、通液量10 CVで吸着装置に通液することで、吸着装置を400 mMリン酸ナトリウム緩衝液で置換した。

[0086] <A2> 次に、10 mMリン酸ナトリウム緩衝液 (pH 6.5、温度25℃) を、通液速度1.0 mL/min、通液量15 CVで吸着装置に通液することで、吸着装置を平衡化した。

[0087] <A3> 次に、10 mMリン酸ナトリウムと1.0 M塩化ナトリウムとを含むリン酸ナトリウム緩衝液 (pH 6.5、温度25℃) を、通液速度1.0 mL/min、通液量10 CVで吸着装置に通液することで、吸着装置が備える吸着剤に吸着したタンパク質を分離する工程を想定した。

[0088] <A4> 次に、400 mMリン酸ナトリウム緩衝液 (pH 6.5、温度25℃) を、通液速度1.0 mL/min、通液量10 CVで吸着装置に通液することで、吸着装置を洗浄した。

[0089] <A5> 次に、1.0 M水酸化ナトリウム水溶液 (温度25℃) を、通

液速度 1.0 mL/min、通流量 1.0 CV で吸着装置に通液することで、吸着装置をアルカリ洗浄した。その他の混合粉体についても同様の試験を行った。

[0090] 各混合粉体の背圧 (psi)、平均粒子径 (μm)、 D_{10} 粒子径 (μm)、 D_{90} 粒子径 (μm)、1 グラム当たりの吸着剤が吸着できる抗体量 (mg/g)、及び、耐久性 (回数) を表 1 に示す。さらに、それらのデータから 1 カラムが処理できる抗体量を計算した。これらの結果を表 1 に示す。

[0091] [表1]

混合粉体 No.	粉体 1 (分級): 粉体 2 (未分級)	平均 粒径 D_{av} (μm)	背圧 (psi)	D_{10} (μm)	D_{90} (μm)	吸着量 (1 gG) (mg/g)	耐久性 (回)	処理抗体量 /カラム (mg)
1	10:0	40	12	31	50	40	30	1200
2	10:1	38	14	30	52	50	28	1400
3	10:1	39	14	30	52	50	27	1350
4	10:1	39	14	30	52	50	28	1400
5	10:2	36	15	25	57	70	26	1820
6	10:2	36	16	23	58	72.5	26	1885
7	10:2	37	15	24	59	72.5	26	1885
8	10:10	36	20	19	61	70	22	1540
9	10:10	36	20	18	81	70	21	1470
10	0:10	36	25	13	65	75	20	1500

[0092] 上記試験により、適切な粒度分布を有する混合粉体は、最も高い処理能力 (つまり、吸着量×耐久性/吸着剤の単位重量) を有していることがわかった。クロマトグラフィー担体は、 D_{10} の値が平均粒子径により近いほうが、粒度分布の幅がより狭く、粒子の径がより揃っているため、分離対象物をより均一なタイミングで溶出させることができると期待される。しかしながら、分離対象物に対して大量の処理を必要とする分取用の担体は、ある程度広い粒度分布を有し、高い充填密度を有することが好ましい。その場合、分取用の担体は、1 カラムあたりのタンパク処理量が増大するため、有用である。しかしながら、粒度分布が広すぎても充填密度が上がりすぎカラム背圧があがってカラムの耐久性が下がる。上記粉体は、分取用の担体として吸着量と耐久性とのバランスにおいて優れていることがわかった。

符号の説明

[0093]	1	吸着装置
	2	カラム
	3	吸着剤
	4	フィルタ部材
	5	フィルタ部材
	2 0	吸着剤充填空間
	2 1	カラム本体
	2 2	蓋部
	2 3	蓋部
	2 4	流入管
	2 5	流出管
	2 6	リッド
	2 7	リッド
	2 8	キャップ
	2 9	キャップ
	3 0	スラリー
	4 1	流路
	5 1	流路
	6 0	ポンプ
	6 5	容器
	6 6	充填液

請求の範囲

- [請求項1] ハイドロキシアパタイト又はハイドロキシアパタイトが有する水酸基の少なくとも一部がフッ素原子で置換されたフッ素アパタイトの多孔質粒子の集合体からなる粉体で構成されたカラム用吸着剤であって、
- 前記多孔質粒子の集合体は、異なる粒子径を有する多数の多孔質粒子の集合体であり、
- 前記多孔質粒子の集合体は、平均粒子径が D_{Av} (μm) であるときに、粒度分布において小さい側から粒子径をカウントして体積累積が10%となる粒径 D_{10} (μm) が、 $D_{Av} \times 45 / 100 \leq D_{10} \leq D_{Av} \times 75 / 100$ を満たすカラム用吸着剤。
- [請求項2] ハイドロキシアパタイト又はハイドロキシアパタイトが有する水酸基の少なくとも一部がフッ素原子で置換されたフッ素アパタイトの多孔質粒子の集合体からなる粉体で構成されたカラム用吸着剤であって、
- 前記多孔質粒子の集合体は、異なる粒子径を有する多数の多孔質粒子の集合体であり、
- 前記多孔質粒子の集合体は、平均粒子径が D_{Av} (μm) であるときに、粒度分布において小さい側から粒子径をカウントして体積累積が90%となる粒径 D_{90} (μm) が、 $D_{Av} \times 135 / 100 \leq D_{90} \leq D_{Av} \times 165 / 100$ を満たすカラム用吸着剤。
- [請求項3] ハイドロキシアパタイト又はハイドロキシアパタイトが有する水酸基の少なくとも一部がフッ素原子で置換されたフッ素アパタイトの多孔質粒子の集合体からなる粉体で構成されたカラム用の吸着剤であって、
- 前記多孔質粒子の集合体は、異なる粒子径を有する粒子の集合体で

あり、

前記吸着剤は、平均粒子径が $40 \pm 4 \mu\text{m}$ になるように分級したものを、カラム内径 $\phi 4.0 \text{ mm}$ ×カラム長 100 mm のステンレスカラムに乾式充填し、当該カラムに、 10 mM リン酸ナトリウム水溶液（ $\text{pH } 6.5$ ）を 1.0 ml/分 の流速で流したときに、当該カラムの背圧が $13 \sim 24 \text{ psi}$ となるものであるカラム用吸着材。

[請求項4]

請求項1～3のいずれか1項に記載のカラム用吸着剤を備える吸着装置。