

< 医療・創薬・遺伝子・福祉分野 >

ベクター精製装置及び方法

発明の名称：ベクター精製装置及び方法（特許第 3547715 号）

発明者：琉球大学遺伝子実験センター 長嶺 勝 他

< 発明の背景 >

近年の遺伝子工学業界の急速な発展に伴い、高純度なベクターを大規模で操作する必要性が増加している。しかし、高純度で大量のベクターを得るためには、複雑な装置を使用して精製するため、時間がかかった。また、操作が複雑で、技術的な熟練が要求された。特に、従来、ベクターの精製過程で、ベクターを含む宿主を培養した液を濃縮するのに遠心分離機を用いていた。このため、この培養液を閉鎖系で濃縮できず、また、濃縮のスケールアップが困難である等の問題があった。例えば、「実験医学別冊、遺伝子工学ハンドブック」（羊土社出版、1991年3月20日発行）の21頁～23頁には「ベクターDNAの大量調製」について記載されていて、遠心分離を繰り返して実施することが記載されている。さらに、従来は、ベクターDNAに含まれる、小タンパク質、小DNA等の不要物を除去するためにも、遠心分離機を用いていたため、同様の問題があった。また、エンドトキシンは遠心分離機やイオン交換カラムでは除去できず、疎水性カラム等の特別のカラムを用いて処理しなければならなかった。従って、閉鎖系で、宿主及び/又はベクターを含む液を濃縮、交換及び不要物除去できる装置又は方法が求められていた。また、効果的にエンドトキシンを除去できる装置又は方法が求められていた。さらに、閉鎖系で、容易に、高純度のベクターを大量に得られる装置又は方法が求められていた。一方、濾過膜の一種としてTFF（Tangential Flow Filtration）濾過膜が知られていた。しかし、TFF濾過膜を、遺伝子工学の分野において、宿主及び/又はベクターを含む液の濃縮又は不要物の除去等に用いることは知られていなかった。

< 発明の概要 >

本発明は、ベクターの精製に用いる装置及び方法に関し、特に、宿主及び/又はベクターを含む液の濃縮、交換及び不要物除去する装置及び方法に関する。

< 発明の効果 >

本発明の濃縮、交換及び不要物除去装置及び方法によれば、宿主及び/又はベクターを含む液を閉鎖系で容易に濃縮、交換及び不要物除去できる。また、スケール変更が容易である。本発明のエンドトキシン除去装置及び方法によれば、効果的にエンドトキシンを除去できる。本発明の上記の装置及び方法を組み合わせてベクターを精製すれば、閉鎖系で連続操作により、高純度のベクターを大量に得られる。また、スケール変更が容易である。

< 発明の活用 >

本発明者らは鋭意検討した結果、TFF濾過膜又は界面活性剤を、宿主及び/又はベクターを含む液の濃縮、交換又は不要物の除去に用いれば、これらの操作を容易にできることを見出し、本発明を完成させた。しかも、本発明を用いたベクターの

精製においては、得られるベクターが高純度であることを見出した。特に、本発明は、従来遺伝子操作に使用されたことの無かった T F F 濾過膜を初めて遺伝子操作に効果的に使用するものである。

宿主及び / 又はベクターを含む液を濾過して、液を濃縮する T F F 濾過膜を備えることを特徴とする濃縮装置が提供される。

宿主及び / 又はベクターを含む第 1 の液と第 2 の液の混合液を濾過することにより、第 1 の液を第 2 の液に交換する T F F 濾過膜を備えることを特徴とする交換装置が提供される。

宿主及び / 又はベクターを含む液から、不要物を除去する T F F 濾過膜を備えることを特徴とする不要物除去装置が提供される。

本発明の第 4 の態様によれば、界面活性剤を供給する界面活性剤供給部と、エンドトキシンを含むベクター粗精製液を収容し、界面活性剤と混合させて、主にベクター DNA を含む水層と、エンドトキシンを含む界面活性剤層とに分離させる混合容器と、界面活性剤層を排出する排出部とを備えることを特徴とするエンドトキシン除去装置が提供される。

T F F 濾過膜を用いて、宿主及び / 又はベクターを含む液を濾過して、液を濃縮することを特徴とする濃縮方法が提供される。

T F F 濾過膜を用いて、第 2 の液を供給しながら、宿主及び / 又はベクターを含む第 1 の液と第 2 の液の混合液を濾過して、第 1 の液を第 2 の液に交換することを特徴とする交換方法が提供される。

T F F 濾過膜を用いて、宿主及び / 又はベクターを含む液から不要物を除去することを特徴とする不要物除去方法が提供される。

本発明の第 8 の態様によれば、界面活性剤と、エンドトキシンを含むベクター粗精製液とを混合し、主にベクター DNA を含む水層と、エンドトキシンを含む界面活性剤層とに分離させ、界面活性剤層を排出する工程を含むことを特徴とするエンドトキシン除去方法が提供される。

