(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2008-0049791
(43) 공개일자 2008년06월04일

(51) Int. Cl.
B01D 15/18 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2008-7007504
(22) 출원일자 2008년03월28일
심사청구일자 없음
번역문제출일자 2008년03월28일
(86) 국제출원번호 PCT/US2006/036270
국제출원일자 2006년09월18일
(87) 국제공개번호 WO 2007/040967
국제공개일자 2007년04월12일
(30) 우선권주장
11/241,524 2005년09월30일 미국(US)

(71) 출원인
쓰리엠 이노베이티브 프로퍼티즈 컴파니
미국 55133-3427 미네소타주 세인트 폴 피.오.박스 33427 쓰리엠 센터
(72) 발명자
깁벤스, 켈리 제이.
미국 55133-3427 미네소타주 세인트 폴 포스트 오피스 박스 33427쓰리엠 센터
나까무라, 마사유끼
미국 55133-3427 미네소타주 세인트 폴 포스트 오피스 박스 33427쓰리엠 센터
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
김영, 양영준

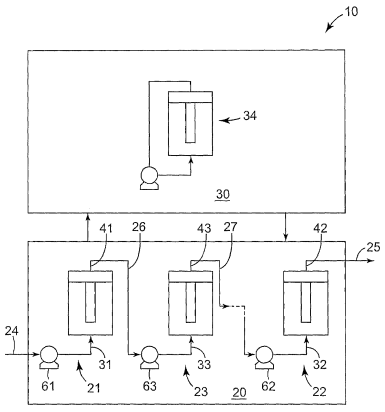
전체 청구항 수 : 총 20 항

(54) 액체 혼합물로부터 목표 분자를 분리하기 위한 단일 경로방법 및 장치

(57) 요 약

가상 이동층 시스템(10)을 사용하여, 액체 혼합물로부터 목표 분자를 연속적으로 분리하기 위한 단일 경로의 가상 이동층 장치 및 방법이 개시된다. 가상 이동층 시스템은 직렬 유체 연통 상태로 있는 복수의 필터 카트리지 모듈(21, 22, 23)을 포함한다. 각각의 필터 카트리지 모듈은 다공성 기재 층에 인접한 일정 부피의 고정상 미립자를 포함한다. 상기 일정 부피의 고정상 미립자는 층 높이가 1 센티미터 미만이다.

대표도 - 도1



(72) 발명자

세샤드리, 칸난

미국 55133-3427 미네소타주 세인트 폴 포스트 오피스 박스 33427쓰리엠 센터

라빈스, 앤드류 더블유.

미국 55133-3427 미네소타주 세인트 폴 포스트 오피스 박스 33427쓰리엠 센터

카슨, 래리 제이.

미국 55133-3427 미네소타주 세인트 폴 포스트 오피스 박스 33427쓰리엠 센터

피츠시몬스, 로버트, 티. 쥬니어

미국 55133-3427 미네소타주 세인트 폴 포스트 오피스 박스 33427쓰리엠 센터

특허청구의 범위

청구항 1

복수의 필터 카트리지 모듈을 포함하는 가상 이동층(simulated moving bed) 장치 - 여기서, 각각의 필터 카트리지 모듈은 다공성 기재 층에 인접한 일정 부피의 고정상 미립자를 포함하고, 일정 부피의 고정상 미립자는 층 높이가 1 센티미터 미만이며, 각각의 필터 카트리지 모듈은 필터 카트리지 모듈 유입구 및 필터 카트리지 모듈 유출구를 포함하고, 복수의 필터 카트리지 모듈은 직렬 유체 연결(serial fluid connection) 상태로 있음 - 를 제공하는 단계와;

목표 분자를 포함하는 용액 혼합물을 복수의 필터 카트리지 모듈을 통해 연속적으로 유동시키는 단계와;

목표 분자를 일정 부피의 고정상 미립자에 결합시켜 목표 분자:고정상 미립자 생성물을 형성하는 단계와;

목표 분자:고정상 미립자 생성물을 포함하는 로딩된 필터 카트리지 모듈을 용액 혼합물 유동물로부터 제거하는 단계와;

로딩된 필터 카트리지로부터의 목표 분자:고정상 미립자 생성물로부터 목표 분자를 분리하여 단리된 목표 분자 생성물 및 재생된 필터 카트리지를 형성하는 단계와;

재생된 필터 카트리지 모듈을 용액 혼합물 유동물에 부가하는 단계를 포함하는, 용액 혼합물로부터 목표 분자를 연속적으로 분리하는 단일 경로 방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 제공 단계는 복수의 필터 카트리지 모듈을 포함하는 가상 이동층 장치를 제공하는 것을 포함하고, 각각의 필터 카트리지 모듈은 다공성 기재 층에 인접한 일정 부피의 고정상 미립자를 포함하며, 상기 일정 부피의 고정상 미립자는 층 높이가 0.04 내지 0.10 센티미터 범위인 방법.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 제공 단계는 복수의 필터 카트리지 모듈을 포함하는 가상 이동층 장치를 제공하는 것을 포함하고, 각각의 필터 카트리지 모듈은 다공성 기재 층에 인접한 일정 부피의 고정상 미립자를 포함하며, 상기 일정 부피의 고정상 미립자는 평균 직경이 5 내지 30 마이크로미터 범위인 방법.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 유동 단계는 목표 분자를 포함하는 용액 혼합물을 유동시키는 것을 포함하며, 상기 목표 분자는 생체 거대 분자를 포함하는 방법.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 유동 단계는 목표 분자를 포함하는 용액 혼합물을 유동시키는 것을 포함하며, 상기 목표 분자는 단백질을 포함하는 방법.

청구항 6

제1항에 있어서, 상기 제거 단계 및 부가 단계가 동시에 일어나는 방법.

청구항 7

제1항에 있어서, 상기 제거 단계, 유동 단계 및 부가 단계가 동시에 일어나는 방법.

청구항 8

제1항에 있어서, 상기 분리 단계 및 결합 단계가 동시에 일어나는 방법.

청구항 9

제1항에 있어서, 상기 제거 단계, 분리 단계, 유동 단계, 결합 단계 및 부가 단계가 동시에 일어나는 방법.

청구항 10

제1항에 있어서, 상기 제거 단계는 고정상 미립자 1 밀리리터 당 제1 농도의 목표 분자를 포함하는 로딩된 필터 카트리지 모듈을 제거하는 것을 포함하고, 상기 부가 단계는 고정상 미립자 1 밀리리터 당 제2 농도의 목표 분자를 포함하는 재생된 필터 카트리지 모듈을 부가하는 것을 포함하며, 고정상 미립자 1 밀리리터 당 목표 분자의 제1 농도는 고정상 미립자 1 밀리리터 당 목표 분자의 제2 농도보다 큰 방법.

청구항 11

제3항에 있어서, 상기 유동 단계는 목표 분자를 포함하는 용액 혼합물을 상기 복수의 필터 카트리지 모듈을 통해 연속적으로 유동시키는 것을 포함하고, 상기 용액 혼합물은 각각의 필터 카트리지 모듈에서 고정상 미립자 1 리터 당 적어도 5리터/분의 속도로 각각의 필터 카트리지를 관통하며, 각각의 필터 카트리지는 필터 카트리지 모듈 유입구로부터 필터 카트리지 모듈 유출구까지의 압력 강하가 69 ㎪(10 psi) 이하인 방법.

청구항 12

제3항에 있어서, 상기 유동 단계는 목표 분자를 포함하는 용액 혼합물을 상기 복수의 필터 카트리지 모듈을 통해 연속적으로 유동시키는 것을 포함하고, 상기 용액 혼합물은 각각의 필터 카트리지 모듈에서 고정상 미립자 1 리터 당 적어도 3리터/분의 속도로 각각의 필터 카트리지를 관통하며, 각각의 필터 카트리지는 필터 카트리지 모듈 유입구로부터 필터 카트리지 모듈 유출구까지의 압력 강하가 34 ㎸(5 psi) 이하인 방법.

청구항 13

제1항에 있어서, 상기 유동 단계는 목표 분자를 포함하는 용액 혼합물을 상기 복수의 필터 카트리지 모듈을 통해 연속적으로 유동시키는 것을 포함하고, 공급 유량과 필터 카트리지 모듈 유량은 사실상 동일한 방법.

청구항 14

로딩된 제1 필터 카트리지 모듈 및 재생된 최종 필터 카트리지 모듈을 포함하는, 직렬로 연결된 복수의 필터 카트리지 모듈을 포함하는 포획 영역 - 여기서, 상기 로딩된 제1 필터 카트리지 모듈은 용액 혼합물 공급원에 연결되고, 상기 재생된 최종 필터 카트리지 모듈은 목표 분자가 고갈된 용액 혼합물의 용기에 연결되며, 각각의 필터 카트리지 모듈은 층 높이가 1 센티미터 미만이고 다공성 기재 층에 인접한 목표 분자와 결합할 수 있는 일정 부피의 고정상 미립자를 포함하고, 각각의 필터 카트리지는 필터 카트리지 모듈 유입구 및 필터 카트리지 모듈 유출구를 포함하며, 상기 필터 카트리지 모듈 유출구는 후속적인 하류의 필터 카트리지 모듈의 필터 카트리지 모듈 유입구에 연결됨 - 과;

로딩된 필터 카트리지 모듈에서 목표 분자가 일정 부피의 고정상 미립자로부터 분리되어 재생된 필터 카트리지 모듈을 형성하는 회수 영역 - 여기서, 상기 회수 영역은 적어도 하나의 필터 카트리지 모듈을 포함함 - 을 포함하는, 용액 혼합물로부터 목표 분자를 연속적으로 분리하기 위한 단일 경로의 가상 이동층 장치.

청구항 15

제14항에 있어서, 상기 일정 부피의 고정상 미립자는 층 높이가 0.02 내지 0.20 센티미터 범위인 단일 경로의 가상 이동층.

청구항 16

제14항에 있어서, 상기 포획 영역은 상기 필터 카트리지 모듈 유입구와 유체 연결 상태로 있는 용액 혼합물 펌프를 추가로 포함하는 단일 경로의 가상 이동층.

청구항 17

제14항에 있어서, 상기 복수의 필터 카트리지 모듈은 로딩된 제1 필터 카트리지 모듈과 재생된 최종 필터 카트리지 모듈 사이에 직렬로 연결된 하나 이상의 중간 필터 카트리지 모듈을 추가로 포함하는 단일 경로의 가상 이동층.

청구항 18

제14항에 있어서, 포획 영역은 복수의 필터 카트리지 모듈 각각과 유체 연결 상태로 있는 적어도 하나의 용액

혼합물 펌프를 추가로 포함하는 단일 경로의 가상 이동층.

청구항 19

제14항에 있어서, 고정상 미립자는 평균 입자 크기가 5 내지 30 마이크로미터 범위인 단일 경로의 가상 이동층.

청구항 20

제14항에 있어서, 복수의 필터 카트리지 모듈 각각은 목표 분자와 결합할 수 있는 5 내지 25리터 부피의 고정상 미립자를 포함하는 단일 경로의 가상 이동층.

명 세 서

배 경 기 술

<1> 본 발명은 복수의 카트리지 필터 모듈을 포함하는 가상 이동층(simulated moving bed)을 사용하여 액체 혼합물로부터 목표 분자를 분리하기 위한 방법 및 장치에 관한 것이다.

<2> 예를 들어, 생체 거대 분자와 같은 목표 분자는 생세포의 구성요소 또는 산물이며, 예를 들어, 단백질, 탄수화물, 지질 및 핵산을 포함한다. 이들 물질의 단리 및 정제뿐만 아니라 검출 및 정량화도 오랫동안 연구자들의 목적이 되어 왔다. 검출 및 정량화는, 예를 들어, 질환과 같은 다양한 생리학적 상태의 척도로서, 진단적으로 중요하다. 생체 거대 분자의 단리 및 정제는 특정 생체 거대 분자에 결함을 갖는 환자에 투여될 때 또는 몇몇 의약품의 생체적합성 담체로서 그리고 생의학 연구에 이용될 때와 같이 치료 목적에 중요하다. 화학 반응을 촉매할 수 있는 특별한 부류의 단백질인 효소와 같은 생체 거대 분자가 또한 산업적으로 유용하며, 효소는 단리, 정제된 후 감미료, 항생제, 및 다양한 유기 화합물, 예를 들어 에탄올, 아세트산, 라이신, 아스파르트산, 및 생물학적으로 유용한 산물, 예를 들어 항체 및 스테로이드의 제조에 이용되어 왔다.

<3> 생체 내에서의 자연 상태에서, 이들 생체 거대 분자의 구조 및 상응하는 생물학적 활성은 일반적으로 상당히 좁은 범위의 pH 및 이온 강도 내에서 유지된다. 따라서, 임의의 분리 및 정제 작업에서는, 수득되는 프로세싱된 생체 거대 분자가 효능(potency)을 갖도록 하기 위하여 그러한 요인들이 고려되어야 한다.

<4> 크로마토그래피가 생물학적 산물의 혼합물에 수행될 수 있는 분리 및 정제 작업이다. 이는 기체 또는 액체일 수 있는 이동상과 고정상 사이에서의 용질의 상호교환에 기초한 기술이다. 용액 혼합물의 다양한 용질의 분리는 고정상과의 각각의 용질의 다양한 결합 상호작용 때문에 이루어지며, 더 강한 결합 상호작용은, 덜 강하게 상호 작용하는 용질과 비교하여 이동상의 해리(dissociation) 또는 전치(displacement) 영향을 받을 때 일반적으로 더 긴 체류 시간으로 이어지며, 이러한 방식으로, 분리 및 정제가 행해질 수 있다.

<5> 대부분의 현재 포획 또는 정제 크로마토그래피는 통상의 컬럼 기술에 의해 행해진다. 이들 기술은, 이 기술을 사용한 처리량이 적기 때문에, 하류의 정제에서 심각한 병목 문제를 갖는다. 이들 문제를 완화시키기 위한 시도는 크로마토그래피 컬럼의 직경을 증가시키는 것을 포함하지만, 이는 컬럼을 효과적으로 그리고 재현가능하게 패킹하는 것의 어려움으로 인하여 다시 문제를 일으킨다. 더 큰 컬럼 직경은 또한 문제가 있는 채널링(channeling)의 발생을 증가시킨다. 또한, 종래의 크로마토그래피 컬럼에서는, 특정 수준 초과의 원하는 생성물의 돌파(breakthrough)가 탐지될 때 흡수 작업이 중지된다. 이는 흡착 매체의 동적 또는 효과적 용량이 전체 또는 정적 용량보다 유의하게 더 작아지게 한다. 몇몇 크로마토그래피 수지의 가격이 높다면, 이러한 유효성 감소는 심각한 경제적 결과를 초래한다.

<6> 발명의 개요

<7> 일반적으로, 본 발명은 가상 이동층 시스템을 사용하여, 용액 혼합물로부터 목표 분자를 연속적으로 분리하기 위한 가상 이동층 장치 및 방법에 관한 것이다. 가상 이동층 장치는 직렬 유체 연통식(serial fluid communication)의 복수의 필터 카트리지 모듈을 포함한다. 각각의 필터 카트리지 모듈은 다공성 기재 층에 인접한 일정 부피의 고정상 미립자를 포함한다. 상기 일정 부피의 고정상 미립자는 층 높이가 1 센티미터 미만이다.

<8> 일 실시 형태에서, 용액 혼합물로부터 목표 분자를 연속적으로 분리하는 단일 경로 방법은 복수의 필터 카트리지 모듈을 포함하는 가상 이동층 장치를 제공하는 단계, 목표 분자를 포함하는 용액 혼합물을 복수의 필터 카트리지 모듈을 통해 연속적으로 유동시키는 단계, 목표 분자를 일정 부피의 고정상 미립자에 결합시켜 목표 분자:고정상 미립자 생성물을 형성하는 단계, 목표 분자:고정상 미립자 생성물을 포함하는 로딩된 필터 카트리지

모듈을 용액 혼합물 유동물로부터 제거하는 단계, 로딩된 필터 카트리지 내의 목표 분자:고정상 미립자 생성물로부터 목표 분자를 분리하여 단리된 목표 분자 생성물 및 재생된 필터 카트리지를 형성하는 단계, 및 재생된 필터 카트리지 모듈을 용액 혼합물 유동물에 부가하는 단계를 포함한다. 각각의 필터 카트리지 모듈은 다공성 기재 층에 인접한 일정 부피의 고정상 미립자, 필터 카트리지 모듈 유입구 및 필터 카트리지 모듈 유출구를 포함한다. 일정 부피의 고정상 미립자는 층 높이가 1 센티미터 미만이다. 복수의 필터 카트리지 모듈은 직렬 유체 연결(serial fluid connection) 상태로 있다.

<9> 다른 실시 형태에서, 용액 혼합물로부터 목표 분자를 연속적으로 분리하기 위한 단일 경로의 가상 이동층 장치는 포획 영역(zone) 및 회수 영역을 포함한다. 포획 영역은, 로딩된 제1 필터 카트리지 모듈 및 재생된 최종 필터 카트리지 모듈을 포함하는, 직렬로 연결된 복수의 필터 카트리지 모듈을 포함한다. 로딩된 제1 필터 카트리지 모듈은 용액 혼합물 공급원에 연결되고, 재생된 최종 필터 카트리지 모듈은 목표 분자가 고갈된 용액 혼합물의 용기에 연결된다. 각각의 필터 카트리지 모듈은 다공성 기재 층에 인접한 목표 분자와 결합할 수 있는 일정 부피의 고정상 미립자, 필터 카트리지 모듈 유입구 및 필터 카트리지 모듈 유출구를 포함한다. 일정 부피의 고정상 미립자는 층 높이가 1 센티미터 미만이다. 필터 카트리지 모듈 유출구는 또한 후속적인 하류의 필터 카트리지 모듈의 필터 카트리지 모듈 유입구에 연결된다. 회수 영역은 로딩된 필터 카트리지 모듈의 목표 분자가 일정 부피의 고정상 미립자로부터 분리되어 재생된 필터 카트리지 모듈을 형성하는 곳이다. 회수 영역은 적어도 하나의 필터 카트리지 모듈을 포함한다.

<10> 상기 본 발명의 개요는 본 발명의 각각의 개시된 실시 형태 또는 모든 구현예를 설명하고자 하는 것은 아니다. 하기한 도면들, 상세한 설명 및 실시예는 이들 실시 형태를 더욱 구체적으로 예시한다.

발명의 상세한 설명

<18> 하기의 정의된 용어에 있어서, 청구의 범위 또는 본 명세서의 다른 곳에서 상이한 정의가 주어지지 않는다면, 다음 정의가 적용될 것이다.

<19> "여과 층" 또는 "다공성 기재 층"이라는 용어는 조합되어 단일 시트를 제공할 수 있는 하나 이상의 개별 층을 포함할 수 있는 시트 유사 직조 또는 부직 다공성 물질을 말하고, 그 평균 기공 크기는 1 마이크로미터 초과, 최대 50 마이크로미터일 수 있다.

<20> "복합 여과 매체"라는 용어는 그의 상류 표면 상에 위치한 고정상 미립자의 층을 포함하는 여과 층을 말하고, 이 매체는 0.25 메가파스칼(㎫) 이하의 필터 카트리지 압력에서 적어도 0.01 ㎝/분의 유속을 유지할 수 있다.

<21> "필터 요소" 또는 "여과하는 요소" 또는 "여과 요소"라는 용어는 유체 통과를 위해 구성된 복합 여과 매체를 의미한다.

<22> "필터 카트리지"라는 용어는 바람직하게는 형상이 원통형인 끝이 막힌(dead end) 여과 기구를 의미한다.

<23> "필터 카트리지 하우징"이라는 용어는 필터 카트리지를 위한 지지 구조체를 의미한다.

<24> "분리 필터 어셈블리"라는 용어는 그 상류 표면 상에 고정상 미립자가 위치한 복합 필터 매체를 포함하는 끝이 막힌 필터 카트리지를 수용하는 하우징을 의미한다.

<25> "끝이 막힌 필터" 또는 "끝이 막힌 여과하는 기구"라는 용어는 100%의 유체가 필터를 통과하는 여과 요소를 의미한다.

<26> "유속"(flux rate)이라는 용어는 여과 요소를 통과하는 액체 스트림의 속도를 말하고, 유량을 여과 층의 표면적으로 나눈 것과 같다. 이러한 식으로 설명하여, 액체 스트림의 유동을 특성화할 수 있으며, 액체 스트림의 유동은 여과 층의 크기와는 관계가 없다. 유속은 또한 필터를 가로지르는 압력 강하의 원인이 되며, 즉, 증가된 유속은 일반적으로 증가된 시스템 압력을 의미한다. 상업적인 필터 카트리지 응용에서, 최대 양의 액체 스트림을 처리할 최소 크기의 필터를 제공하는 것이 바람직할 수 있다. 그러므로, 유속은 유량을 증가시킴으로써 증가되는 것이 바람직하다.

<27> "고정상 미립자"라는 용어는 용액 혼합물 중의 관심있는 목표 분자와 결합 회합(binding association)을 형성할 수 있는 불용성 미립자를 의미한다. 구체적인 결합 회합은 흡착, 이온 교환, 소수성, 및 친화성 상호작용을 포함할 수 있다.

<28> "목표 분자"라는 용어는 하나 이상의 화학종으로서, 상기 화학종을 액체 공급 스트림 또는 용액 혼합물 공급 스트림으로부터 분리하도록 본 명세서에 기재된 가상 이동층 장치가 고안된 것을 말한다. 목표 분자는 예를

들어, 약학적 화학종; 박테리아, 효모, 포유류, 식물 또는 곤충 세포에 의해 발현되는, 단백질, 항체 (단클론성 또는 다클론성), DNA 및 RNA와 같은 생체 거대 분자; 광물질; 및 예를 들어, 소형 합성 유기 분자, 펩티드 및 폴리펩티드, 올리고당 및 당-개질된 단백질과 같은 인공 화학종을 포함할 수 있다. 몇몇 실시 형태에서, 목표 분자는 단백질; 무기 화학종, 예를 들어 금속, 금속 이온, 또는 카르보네이트, 설페이트, 옥사이드, 포스페이트, 바이카르보네이트와 같은 이온, 및 산업, 주거 및 생물학적 공급 스트림에서 통상적으로 발견되는 기타 이온들; 염료, 살충제, 비료, 첨가제 및 안정제를 포함하지만 이에 제한되지는 않는 것들과 같은 소형 유기 분자; 공정 부산물 및 오염물; DNA, RNA, 인지질, 바이러스, 또는 생물 공정으로부터의 기타 세포 잔해를 포함하는 하나 이상의 불순물 또는 폐기물일 수 있다. 또 다른 실시 형태에서, 예를 들어, 상류의 친화성 분리 공정으로부터의 단백질 A와 같은 침출된 리간드가 또한 목표 분자일 수 있다. 다른 실시 형태에서, 본 명세서에 개시된 가상 이동층 장치는 예를 들어 흡착 또는 효소 반응 중 어느 하나를 통해 폐수 또는 음용수 스트림으로부터 다양한 화학종 또는 생물종을 제거하는 데 사용될 수 있다.

<29> "불용성"이라는 용어는 섭씨 23도에서 용매 100부 당 1부 이하의 고체가 용해됨을 말한다.

<30> "필터 카트리지 차압(differential pressure)"이라는 용어는 분리 시스템에서 필터 카트리지 유닛을 가로지르는 유입구 또는 상류 압력과 유출구 또는 하류 압력 사이의 차이를 말한다.

<31> "층 높이"(bed height)라는 용어는 고정상 미립자의 부피를 다공성 기재 표면적으로 나눈 것으로서 정의된다.

<32> 종점(endpoint)에 의한 수치 범위의 설명은 그 범위 이내에 포함된 모든 수를 포함한다 (예를 들어, 1 내지 5는 1, 1.5, 2, 2.75, 3, 3.80, 4 및 5를 포함함).

<33> 본 명세서 및 첨부된 청구의 범위에 사용될 때, 단수형은 그 내용이 명백하게 달리 지시하지 않는 한 복수의 지시 대상을 포함한다. 따라서, 예를 들어, "화합물"을 함유하는 조성물에 대한 언급은 2종 이상의 화합물의 혼합물을 포함한다. 본 명세서 및 첨부된 청구의 범위에 사용될 때, "또는"이라는 용어는 그 내용이 명백하게 달리 지시하지 않는 한 "및/또는"을 포함하는 의미로 일반적으로 이용된다.

<34> 달리 표시되지 않는 한, 본 명세서 및 청구의 범위에 사용되는 성분의 양, 특성의 측정 등을 표현하는 모든 숫자는 모든 경우에 "약"이라는 용어로 수식되는 것으로 이해되어야 한다. 따라서, 반대로 표시되지 않는 한, 전술한 명세서 및 첨부된 청구의 범위에 기재된 수치적 파라미터는 당업자가 본 발명의 교시를 이용하여 얻고자 하는 원하는 특성에 따라 변할 수 있는 근사치이다. 최소한, 그리고 청구의 범위의 범주에 대한 등가물의 원칙의 적용을 제한하려고 시도함이 없이, 각각의 수치적 파라미터는 적어도 보고된 유효 숫자의 수의 관점에서 그리고 통상의 반올림 기법을 적용하여 해석되어야 한다. 넓은 범주의 본 발명을 설명하는 수치적 범위 및 파라미터는 근사치이지만, 구체예에 설명된 수치 값은 가능한 한 정확하게 보고된다. 그러나, 임의의 수치 값은 그 개개의 시험 측정에서 발견되는 표준 편차로부터 필수적으로 생기는 특정 오차를 고유하게 포함한다.

<35> 가상 이동층 크로마토그래피는 일련의 패킹된 컬럼이, 원하는 생성물 또는 목표 분자를 포함하는 용액을 공급하는 시스템을 통해서 색인화되거나(indexed) 회전되는 (물리적으로 또는 밸브를 이용하여) 상대적으로 최근의 기술이다. 패킹된 컬럼이 포화되면, 시스템이 색인화되어, 포화된 컬럼을 회수 영역으로 이동시키고, 상기 회수 영역에서 그 컬럼이 세척되고, 용출되고, 선택적으로 세정되고, 재평형화된다. 평형화된 컬럼은 그 후 컬럼 배열(column series)의 마지막에 일렬로(on-line) 둔다. 통상적인 컬럼 크로마토그래피에서, 사용자는 동적 돌파 우려로 인한 크로마토그래피 수지의 열등한 유용성 및 낮은 처리량의 두 가지 제약에 직면한다.

<36> 몇몇 실시 형태에서, 본 명세서에 개시된 가상 이동층(simulated moving bed, SMB) 시스템은, 몇 가지를 들자면, 청징 발효액(clarified fermentation broth) 스트림으로부터 항체, 면역반응 화합물 또는 기타 단백질을 분리하는 데 적합하다. 이는 단리(예를 들어, 부피 감소) 및 정제 단계로서 사용하고자 의도된 것이다. 발효액은 청징된 후 SMB 시스템을 통과할 수 있다. 이는 세포, 지지체 및 세포 잔해가, 예를 들어, 원심 분리, 끝이 막힌 정밀여과(microfiltration), 또는 접선 유동식(tangential flow) 정밀여과와 같은 분리 공정에 의해 적어도 대부분 제거되었음을 의미한다.

<37> 도 1은 단일 경로의 가상 이동층(10)의 개략도이다. 가상 이동층(10)은 포획 영역(20) 및 회수 영역(30)을 포함한다. 포획 영역(20)은, 예를 들어, 제1 필터 카트리지 모듈(21), 최종 필터 카트리지 모듈(22) 및 선택적 중간 필터 카트리지 모듈(23)을 포함하는, 복수의 필터 카트리지 모듈을 포함한다. 몇몇 실시 형태에서, 복수의 필터 카트리지 모듈은 각각 "끝이 막힌" 여과 기구이다. 가상 이동층(10)은 용액 혼합물이 각각의 필터 카트리지 모듈을 통과하여 1회 이동하며 용액 혼합물이 재순환되지 않는 "단일 경로" 시스템이다. 따라서, 각각의 필터 카트리지 모듈을 관통하는 물질의 양은 시스템 유입구 유동량 및 시스템 유출구 유동량과 사실상 동일

하다.

<38> 이들 필터 카트리지는 직렬로 연결되고, 예를 들어 피드포워드(feed forward) 라인(26, 27)을 경유하여 유체 연결(직렬 유체 연결)된다. 각각의 필터 카트리지 모듈은 목표 분자와 결합할 수 있는 일정 부피의 고정상 미립자를 포함한다. 필터 카트리지 모듈을 이하에 더욱 상세히 설명한다. 작동에 있어서, 제1 필터 카트리지 모듈(21)은 "로딩된" 필터 카트리지 모듈이라 할 수 있고, 이는 고체상 위에 포획된 최고 수준의 목표 분자를 포함하는 필터 카트리지 모듈을 말한다. 제1 필터 카트리지 모듈(21)은 공급원(24)에 연결된다.

<39> 회수 영역(30)은 물리적으로 또는 밸브에 의해 포획 영역(20) 밖으로 이동된, 포화된 또는 "로딩된" 필터 카트리지 모듈로 처음에 칭한 적어도 하나의 필터 카트리지 모듈(34)을 포함한다. 회수 영역(30)은 필터 카트리지 모듈(34)을 재생하여 재생된 필터 카트리지 모듈을 형성한다. "재생된 필터 카트리지 모듈"이라는 용어는 세척되고, 용출되고, 선택적으로 세정되고, 재평형화된 필터 카트리지 모듈을 말한다. 세척 단계는 로딩된 필터 카트리지 모듈로부터 용액 혼합물을 제거한다. 용출 단계는 원할 경우 추가의 처리를 위해 고정상으로부터 목적 분자를 제거한다. 세정 단계는 필터 카트리지 모듈로부터 불순물 또는 미량의 오염물을 제거한다. 재평형화는 재생된 필터 카트리지 모듈이 포획 영역 내로 재도입되도록 하는 완충제 교환을 수반할 수 있다. 몇몇 실시 형태에서, 원할 경우 회수 영역(30)으로부터 적어도 일부분의 액체가 공급원 스트림(24) 내로 도입될 수 있다.

<40> 재생된 필터 카트리지 모듈은 물리적으로 또는 매니폴드(manifold) 및 밸브를 이용하여, 포획 영역(20) 내로 다시 이동할 수 있다. 재생된 필터 카트리지 모듈이 최종 필터 카트리지 모듈(22)로서 두어질 수 있다. 그와 같이, 필터 카트리지 모듈(고체상)은 용액 혼합물 유동에 대하여 반대 방향으로 색인화될 수 있다.

<41> 포획 영역(20)은 직렬로 유체 연결된 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7개 또는 8개 또는 그 이상의 중간 필터 카트리지 모듈(23)을 포함할 수 있다. 회수 영역(30)은 0, 1, 2, 3, 4개 또는 그 이상의 필터 카트리지 모듈을 포함할 수 있다. 회수 영역은 예를 들어, 카트리지가 오염물 제거를 위해 사용되고 카트리지가 일회용일 경우, 0 개의 모듈을 포함한다.

<42> 제1 또는 "로딩된" 필터 카트리지 모듈(21)은 유체 유입구(31) 및 유체 유출구(41)를 포함한다. 선택적 펌프(61)는 유체 유입구(31) 및 공급원(24)과 유체 연결 상태로 있다. 펌프(61)는 필터 카트리지 모듈(21)을 통과하여 유체를 적당하게 유동시킬 수 있다. 유체 유출구(41)는 유체 유동물이 직렬식으로 다음 필터 카트리지 모듈(도 1의 필터 카트리지 모듈(23))을 향하여 유동되게 한다. 많은 실시 형태에서, 용액 혼합물 공급 유량은 제1 필터 카트리지 모듈(21)을 통과하는 용액 혼합물 유량과 동일하거나 사실상 동일하다.

<43> 최종의 또는 "재생된" 필터 카트리지 모듈(22)은 유체 유입구(32) 및 유체 유출구(42)를 포함한다. 선택적 펌프(62)가 직렬식으로 이전의 필터 카트리지 모듈로부터의 유체 유입구(32) 및 유체 유출구(43)와 유체 연결 상태로 있다. 펌프(62)는 필터 카트리지 모듈(22)을 통과하여 유체를 적당하게 유동시킬 수 있다. 유체 유출구(42)는 목표 분자가 고갈된 용액 혼합물 스트림 라인(25)과 유체 연결된 상태로 예시되어 있다. 목표 분자가 고갈된 이 용액 혼합물 스트림 라인(25)은 목표 분자가 고갈된 용액 혼합물 용기(도시되지 않음)와 유체 연결 상태로 있을 수 있다. 많은 실시 형태에서, 상기의 고갈된 용액 혼합물의 유량은 최종 필터 카트리지 모듈(22)을 통과하는 용액 혼합물 유량과 동일하거나 사실상 동일하다.

<44> 선택적 중간 필터 카트리지 모듈(23)은 유체 유입구(33) 및 유체 유출구(43)를 포함한다. 선택적 펌프(63)가 직렬식으로 이전의 필터 카트리지 모듈로부터의 유체 유입구(33) 및 유체 유출구(41)와 유체 연결 상태로 있다. 펌프(63)는 필터 카트리지 모듈(23)을 통과하여 유체를 적당하게 유동시킬 수 있다. 많은 실시 형태에서, 용액 혼합물 공급 유량은 중간 필터 카트리지 모듈(23)을 통과하는 용액 혼합물 유량과 동일하거나 사실상 동일하다.

<45> 일 실시 형태에서, 용액 혼합물로부터 목표 분자를 연속적으로 분리하는 단일 경로 방법은 복수의 필터 카트리지 모듈을 포함하는 가상 이동층 장치를 제공하는 단계, 목표 분자를 포함하는 용액 혼합물을 복수의 필터 카트리지 모듈을 통해 연속적으로 유동시키는 단계, 목표 분자를 일정 부피의 고정상 미립자에 결합시켜 목표 분자:고정상 미립자 생성물을 형성하는 단계, 목표 분자:고정상 미립자 생성물을 포함하는 로딩된 필터 카트리지 모듈을 용액 혼합물 유동물로부터 제거하는 단계, 로딩된 필터 카트리지로부터의 목표 분자:고정상 미립자 생성물로부터 목표 분자를 분리하여 단리된 목표 분자 생성물 및 재생된 필터 카트리지를 형성하는 단계, 및 재생된 필터 카트리지 모듈을 용액 혼합물 유동물에 부가하는 단계를 포함한다. 각각의 필터 카트리지 모듈은 다공성 기재 (즉, 여과) 층에 인접한 일정 부피의 고정상 미립자, 필터 카트리지 모듈 유입구 및 필터 카트리지 모듈 유출구를 포함한다. 몇몇 실시 형태에서, 일정 부피의 고정상 미립자는 층 높이가 1 센티미터 미만이다. 다른 실시 형태에서, 층 높이는 0.02 내지 0.20 센티미터 또는 0.02 내지 0.14 센티미터의 범위이다. 복수의 필터

카트리지 모듈은 직렬 유체 연결 상태로 있다.

<46> 예시적 일 실시 형태에서, 제거 단계 및 부가 단계는 동시에 일어난다. 다른 예시적 실시 형태에서, 제거 단계, 유동 단계 및 부가 단계가 동시에 일어난다. 다른 예시적 실시 형태에서, 분리 단계 및 결합 단계가 동시에 일어난다. 또 다른 예시적 실시 형태에서, 제거 단계, 분리 단계, 유동 단계, 결합 단계 및 부가 단계가 동시에 일어난다.

<47> 하나의 펌프가 하나의 필터 카트리지 모듈과 결부된 것으로 예시되어 있지만, 하나 초과의 펌프가 각각의 필터 카트리지 모듈과 결부될 수 있음이 이해된다. 더구나, 하나 초과의 필터 카트리지 모듈이 각각의 펌프와 결부될 수 있음이 또한 이해된다. 몇몇 실시 형태에서는 펌프가 전혀 사용되지 않을 수도 있다.

<48> 포획 영역에서의 각각의 필터 카트리지 모듈은, 필터 카트리지 모듈 중의 고정상 미립자 1리터 당 용액 혼합물의 리터/분으로 정의되는 명시된 유량으로 그를 관통하는 용액 혼합물을 갖는다. 상기 유량은 임의의 유용한 값일 수 있다. 몇몇 실시 형태에서, 상기 유량은 고정상 미립자 1리터 당 3리터/분 미만이며, 다른 실시 형태에서, 상기 유량은 고정상 미립자 1리터당 적어도 3리터/분, 또는 고정상 미립자 1리터 당 적어도 5리터/분, 또는 고정상 미립자 1리터 당 적어도 7리터/분, 또는 1리터 당 3 내지 20리터/분, 또는 1리터 당 5 내지 20리터/분, 또는 1리터 당 7 내지 20리터/분이다.

<49> 포획 영역 내의 각각의 필터 카트리지 모듈은 필터 카트리지 유입구와 필터 카트리지 유출구를 가로질러 용액 혼합물 압력 강하 또는 차압을 가진다. 몇몇 실시 형태에서, 이러한 압력 강하는 172 ㎪(25 psi) 이하, 138 ㎪(20 psi) 이하, 103 ㎪(15 psi) 이하, 69 ㎪(10 psi) 이하, 또는 34 ㎪(5 psi) 이하이다. 예시적 실시 형태에서, 필터 카트리지 모듈은 103 ㎪(15 psi) 이하의 압력 강하를 가지고 고정상 미립자 (평균 직경 5 내지 30 마이크로미터) 1리터 당 적어도 7리터/분의 유량을 갖는다. 다른 예시적 실시 형태에서, 필터 카트리지 모듈은 69 ㎪(10 psi) 이하의 압력 강하를 가지고 고정상 미립자 (평균 직경 5 내지 30 마이크로미터) 1리터 당 적어도 5리터/분의 유량을 갖는다. 추가의 예시적 실시 형태에서, 필터 카트리지 모듈은 34 ㎪(5 psi) 이하의 압력 강하를 가지고 고정상 미립자(평균 직경 5 내지 30 마이크로미터) 1리터 당 적어도 3리터/분의 유량을 갖는다.

<50> 본 명세서에 개시된 필터 카트리지 모듈은 적어도 여러 가지 점에서 종래의 크로마토그래피 패킹 컬럼과 다르다. 필터 카트리지 모듈은, 낮은 유량에서 작동되는 매체로 충전된 튜브라기보다는 오히려, 높은 유량에서 작동되는 다공성 막 상에 지지된 상대적으로 얇은 층의 매체에 의존한다. 이는 더 낮은 압력 강하, 보다 우수한 외부 물질 전달과, 종래의 크로마토그래피 패킹 컬럼에서 이용될 수 있는 것보다 더 작은 매체 입자의 사용을 허용한다.

<51> 많은 실시 형태에서, 필터 카트리지 모듈은, 원할 경우, 1 센티미터 미만, 또는 0.02 내지 0.20 센티미터, 또는 0.02 내지 0.14 센티미터 또는 0.04 내지 0.10 센티미터, 또는 0.05 내지 0.08 센티미터 범위의 고정상 미립자 층 높이(고정상 미립자의 부피를 다공성 기재 표면적으로 나눈 값)를 갖는다. 예시적 실시 형태에서, 다공성 기재 표면적은 100,000 내지 200,000 제곱센티미터 범위이다.

<52> 예시적 일 실시 형태에서, 필터 카트리지는 다공성 기재 상에 지지된, 5 내지 30 마이크로미터의 평균 직경 및 0.04 내지 0.10 센티미터의 층 높이를 갖는, 1 미터 높이의 15리터의 단백질 A 비드를 갖는다.

<53> 도 2는 하나 이상의 개별 층일 수 있는 표면 여과 층(111)으로서 예시적 부직 웨브를 포함하는 복합 여과 매체(110) 단면의 개략도이며, 상기 개별 층의 상류 표면 상에는 불용성 고정상 미립자(112)가 위치화되어 있다. 여과 층(110)은 상류 프리-필터(pre-filter) 층(113), 점점 더 미세한 하류 다공도를 갖는 복수의 여과 층을 포함할 수 있는 여과 층(114), 및 하류 커버(cover) 층(115)을 포함할 수 있다.

<54> 도 3은 필터 카트리지 모듈의 예시적 실시 형태를 제조하기 위해 이용된 복합 여과 매체(120) 상의 엠보싱된 형상(122)의 패턴의 주름잡히지 않은 부분의 사시도이다. 엠보싱은 표면적을 증가시키기 위해 수행될 수 있고 표면 여과 요소를 더 완전하게 규정할 수 있다. 불용성의 고정상 미립자는 명료함을 위하여 도면에서 생략되어 있다.

<55> 도 4는 하나의 종방향으로 연장된 원통형의 주름진 필터 요소(130)의 예시적 실시 형태의 사시도이다. 복합 여과 (다공성 기재) 요소(130)의 방사상 주름(132)이 예시되어 있으며, 명료함을 위하여 고정상 미립자(112)는 생략되어 있다. 몇몇 실시 형태에서, 복합 여과 요소(130)는 10개 이상, 20개 이상, 30개 이상, 40개 이상, 또는 50개 이상의 주름(132)을 포함한다.

<56> 도 5는 원통형 필터 카트리지(140) 내의 복합 여과 요소(130)(도시되지 않음)를 위한 내측 및 외측 추가 지지

부재(supplemental support member)의 일 실시 형태를 도시하는 사시도이다. 복수의 구멍을 갖는 스크림(scrim) 또는 스크린과 같은 외측 지지 구조(141)는 필터 요소의 파열 가능성을 감소시키기 위해 내측에서 외측을 향하는(inward-out) 유체 유동 방식에서 추가적인 지지를 제공할 수 있다. 유사하게는, 스크림 또는 스크린, 또는 다공성 케이싱 또는 유사한 구성으로 이루어진 내측 지지 구조(142)는 필터 요소(130)(도시되지 않음)가 외측에서 내측을 향하는(outward-in) 유체 유동 상황에서 높은 압력 인가 하에 붕괴되는 것을 방지하기 위해 지지를 제공할 수 있다. 둘 모두의 경우, 추가 지지 구조가 필터 카트리지의 엔드피스(endpiece)(143)에 부착되어 일체형 유닛을 제공할 수 있다. 유용한 필터 카트리지 모듈의 일례가 미국 특허 제5,468,847호에 기재되어 있다.

<57> 도 2를 참고하면, 고정상 미립자(112)는 다음 상호 작용 중 하나 또는 그 조합에 의해 용액 혼합물 중의 관심있는 목표 분자와 결합되거나 강력하게 결부된다: 흡착, 이온 교환, 소수성 결부, 크기 배제 및/또는 친화성 결합.

<58> 흡착성 고정상 미립자의 부분적 목록은 하이드록시아파타이트 (바이오래드 래브러토리즈(BioRad Laboratories, 미국 캘리포니아주 리치몬드 소재)로부터 입수가능), 알루미나 (이엠 세퍼레이션즈(EM separations, 미국 뉴저지주 깁스타운 소재)로부터 입수가능), 실리카겔 (이엠 세퍼레이션즈로부터 입수가능), 실리카 (셀라이트(Celite)로부터 입수가능), 지르코니아 (미국 특허 제5,015,373호에 개시됨), 제올라이트, 몬트모릴로나이트 점토, 티타니아, 수산화아연 및 중합체 코팅된 지르코니아를 포함한다.

<59> 이온 교환성 고정상 미립자의 부분적 목록은, 예를 들어, 아머샴 (Amersham), 토소 하스 (Toso Haas), 이엠 세퍼레이션즈, 제이 티 베이커 (J T Baker) 및 사이퍼젠(Ciphergen)으로부터 구매가능하다. 적합한 이온 교환 수지는 각각 다이아미노에틸, 음이온 교환의 경우 4차 암모늄기 및 양이온 교환에 있어서 카르복시메틸, 설포 및 설포프로필 기를 포함하도록 개질된, 아가로스, 덱스트란, 폴리아크릴, 폴리이민, 비닐 중합체, 아크릴아미드 중합체, 다당류, 셀룰로오스 중합체, 및 다이비닐벤젠으로 개질된 폴리스티렌과 같은 기타 중합체, 아크릴레이트/에틸렌 글리콜 공중합체를 포함한다. 이온 교환 수지를 위한 다른 지지체는 순수한 실리카 및 지르코니아와 같은 무기 화학종으로 안정화된 실리카 둘 모두를 포함한다. 혼합된 기능의 흡착제는 예를 들어, 쌍극성 이온 교환 흡착제 (에폭시 활성화된 아가로스에 커플링된 설파닐산)를 포함한다. 폴리에틸렌이민은 핵산을 정제하는데 사용될 수 있고, 핵단백질을 침전시킨다. 소수성 상호작용 미립자는 지방족 단쇄(C_4 - C_{10}) 및 페닐 기를 포함할 수 있는 반면, 더 작은 단백질을 위해서 더 긴 지방족 사슬(C_8-C_{18})을 포함하는 역상 흡착제가 사용될 수 있다. 역상 크로마토그래피 지지체는 유기실란과 커플링된 실리카, 티타니아, 폴리(스티렌-다이비닐벤젠), 산화알루미늄 등을 기재로 하는 것들을 포함한다.

<60> 크기 배제성 미립자의 부분적 목록은 다공성 유리, 다이올에 의해 개질된 실리카 기재 지지체, 지르코니아와 같은 금속 산화물에 의해 후속적으로 개질되는 다이올-결합된 실리카, 가교결합된 아가로스 및 덱스트란, 또는 이 둘 모두를 포함하는 중합체 기재 입자; 메틸렌 비스-아크릴아미드와 가교결합된 알릴 덱스트란, 촉수(tentacle) 중합체로서 합성된 중합체 (머크(Merck)로부터의 프락토젤(Fractogel)), 셀룰로오스, 폴리하이드록시메타크릴레이트, 가교결합된 다당류 및 공중합된 아크릴레이트를 포함한다.

<61> 친화성 크로마토그래피 미립자는 특히 아머샴, 밀리포어 (Millipore), 토소 (Tosoh), 이엠 세퍼레이션즈, 사이퍼젠, 및 어플라이드 바이오시스템즈(Applied Biosystems)로부터 구매가능하다. 기본 지지체는 아가로스, 셀룰로오스 및 비닐 중합체를 포함할 수 있다. 몇몇 미립자는 또한 코어에 실리카(밀리포어(Millipore)로부터의 프로셉(ProSep)) 및 스테인레스 강(아머샴(Amersham)으로부터의 스트림라인(Streamline))과 같은 무기 지지체, 또는 복합재(예를 들어, 바이오세프라(BioSepra)로부터의 세라믹 및 아크릴)를 포함할 수 있다. 기본 지지체는 리간드를 고정시키기 위해 사용될 수 있는 기로 개질되거나 이를 갖추고 있을 수 있다. 이들 기에는 아즈락톤, CNBr, 에폭시, 하이드라지드, NHS, 트레실, 티오친화성 기 및 하이드록시아파타이트가 포함된다. (특정의 생체거대 분자 친화성을 갖는) 리간드는 아르기닌 및 벤즈아미딘 (세린 프로테아제); 칼모듈린 (ATP아제, 단백질 키나아제, 포스포다이에스테라아제 및 신경전달물질); 젤라틴 (파이브로넥틴); 글루타티온 (트랜스퍼라아제, 글루타티온 의존성 단백질 및 융합 단백질); 헤파린 (성장 인자, 응고 단백질, 스테로이드 수용체, 제한 엔도뉴클레아제, 지단백질 및 리파아제); 단백질 A 및 G (IgG 및 서브클래스); 단백질 A 모방성 합성 리간드(IgG, IgM 및 다른 면역글로불린); L-라이신 (플라스미노겐, 플라스미노겐 활성자 및 리보좀 RNA); 콘카나발린 A 및 렉틴 (당단백질, 막 단백질, 당지질 및 다당류); DNA (DNA 폴리머라아제, RNA 폴리머라아제, T-4 폴리뉴클레오티드 키나아제, 및 엑소뉴클레아제); 및 AMP, ADP, NADH 및 NADPH 기재 크로마토그래피(NADH- 및 NADPH-의존성 데하이드로게나아제, 리덕타아제, 키나아제, 포스파타아제 및 트랜스퍼라아제와 같은 효소)를 포함하는 광범위한 목록으

로부터 선택될 수 있다.

<62> 다른 친화성 방법은, 배위 결합의 형성에 의해 정제가 되는 IMAC(고정화 금속 친화성 크로마토그래피(immobilized metal affinity chromatography))의 기초를 형성하는 Fe, Co, Ni, Cu, Al 및 Zn과 같은 고정된 금속과 같이, 생체 특이적 상호작용이 없는 것들을 포함한다. 다른 친화성 매트릭스에서는, γ-글로불린 및 단클론성 항체에 대하여 친화성을 갖는, 비닐 설폰 결합된 머캅토에탄올, 피리딜 다이설파이드 결합 등과 같은 티오친화성 리간드가 사용된다.

<63> 친화성 매트릭스는 또한 세포의 분리에 이용될 수 있다 (세포 친화성 크로마토그래피(cell affinity chromatography) 또는 CAC). CAC를 위한 매트릭스는 아가로스, 셀룰로오스, 덱스트란, 폴리아크릴아미드, 유리, 폴리스티렌, 트리스아크릴(아비딘, IgG, 항-IgG, 항-IgE 등과 같은 특이적인 단백질을 커플링하여 림프구, 줄기 세포, 신경 세포, 비만 세포, 호염기구, 적혈구 등과 같은 특이적인 세포 유형을 포획하기 위해, -OH, -OCN, -CH-CH_2O, -NH_2와 같은 반응성 기를 갖도록 개질됨)을 포함한다. 다른 변형법은 리간드를 그래프트된 중합체 사슬(예를 들어, 폴리글리시딜메타크릴레이트 그래프트된 젤인 머크로부터의 프락토젤)에 커플링하기 위한 촉수 접근법(tentacle approach)의 사용을 포함하며; 리간드는 상기에 설명한 것들 중 임의의 것으로부터의 것일 수 있고, 직접 (티오친화성 흡착/IMAC의 경우) 또는 간접적으로 (아미노 중간체를 통한 염료-리간드 친화성 크로마토그래피, 또는 아즈락톤 중간체를 통한 고정된 단백질의 경우) 커플링될 수 있다.

<64> 세파덱스(Sephadex) G-25 (파마시아(Pharmacia)로부터 구매가능), 폴리에틸렌 글리콜 또는 카르복시메틸 셀룰로오스와 같은 한외여과 및 농축을 위한 미립자가 또한 사용될 수 있다. 이들 물질은, 슬러리 형태로 카트리지 필터 모듈 내에 로딩될 수 있으며, 이는 수령된 대로의 미립자로부터 제조될 수도 있거나, 약간의 용매 또는 완충제에서의 사전 팽윤을 필요로 할 수도 있거나 사전 처리되어야만 할 수도 있다.

<65> 본 발명에 유용한 고정상 미립자의 크기는 1 내지 200 마이크로미터, 또는 3 내지 50 마이크로미터, 또는 5 내지 40 마이크로미터, 또는 5 내지 30 마이크로미터, 또는 5 내지 15 마이크로미터 범위의 평균 직경을 가질 수 있다. 예시적인 고정상 미립자는 예를 들어, 밀리포어 인크(Millipore Inc., 미국 매사추세츠주 빌레리카 소재)로부터 구매가능한 프로셉-A™ 울트라(Ultra) 수지, 및 지이 헬스케어(GE Healthcare, 영국 칼폰트 세인트 길스 소재)로부터 구매가능한 맙셀렉트(MabSelect)™ 수지를 포함한다. 몇몇 실시 형태에서, 각각의 필터 카트리지 모듈은 5 내지 25리터의 고정상 미립자, 또는 10 내지 20리터의 고정상 미립자를 포함한다.

<66> 본 발명은 본 명세서에 기재된 특정 실시예에 제한되는 것으로 여겨져서는 안되며, 오히려 첨부된 청구의 범위에 분명하게 기재된 것과 같은 본 발명의 모든 태양을 포함하는 것으로 이해되어야 한다. 본 발명이 적용될 수 있는 다수의 구조 뿐만 아니라 다양한 변형, 등가의 방법들이 본 명세서의 개관시 본 발명이 속한 기술 분야의 숙련자에게 쉽게 명백해질 것이다.

실 시 예

<67> 본 실시예는 포획 배열(sequence)에 직렬로 4 개의 모듈 및 회수 영역에 3 개의 모듈을 포함한다. 이 시스템은 단백질 A 친화성 분리에 의하여 PBS 완충제 (10 mM 인산나트륨, 0.9% NaCl, pH 7.4) 중의 이퀴테크-바이오, 인크(EQUITECH-BIO, Inc., 미국 텍사스주 커빌 소재)로부터의 다클론성 인간 IgG를 포함하는 공급 용액으로부터 IgG를 제거하기 위하여 사용하였다. 모듈은 폴(Pall, 파트(part) 번호 12121)에 의해 제조된 필터 캡슐, 및 28 마이크로미터의 평균 입자 직경을 가지는 단백질 A 바이오서포트 매체(Protein A Biosupport Medium) (미국 특허 제5,907,016호의 실시예 4에 따라 제조) 13 ㎖의 고정상으로 구성하였다. 층 높이는 0.04 ㎝였다. 각각의 모듈에 상응하여, 유입 스트림과 유출 스트림이 존재하였다. 유출 스트림은 다음 모듈을 위한 공급물이었다. 모듈 및 배관의 액체 부피는 112 ㎖인 것으로 개산되었다. 4개의 모듈을 포획 영역을 위해 직렬로 연결하였다. 공급 스트림은 제1 모듈로의 유입물이었다. 제4 모듈로부터의 유출물은 폐기, 또는 방출 스트림이었다. 전체 공정은 포획, 세척, 용출, 선택적 세정 및 재평형화를 포함한다. 세정 단계는 배치(batch)를 위한 최종 용출 후에 사용하였고, 그렇지 않으면 모듈을 재평형화하여 다시 포획 트레인(train) 내에 두었다. 색인 시점에, 공정 스트림의 유동을 유도하는 밸브를 변화시킴으로써 모듈을 상기 시스템에서 색인화하고 회전시켰다. 포획 단계에서 가장 상류인 모듈을 상기의 배열(series)에서 취한 다음, 세척 완충제 (10 mM 인산나트륨, 0.9% NaCl, pH 7.4)로 세척한 후, 용출 완충제 (0.5 M 아세트산, pH 2.45)으로 용출한 다음, 평형화 완충제 (100 mM 인산나트륨, 150 mM NaCl, pH 7.2)로 재평형화시켰다. 세척, 용출 및 재평형화의 상기 세 단계는 회수 영역에서 일어난다. 이와 동시에, 재생시킨 모듈을 직렬 배열의 가장 하류 위치에 삽입하고, 상기 포획 배열의 남아있는 모듈을 한 위치씩 상류로 이동시켰다.

<68> 시스템이 시작될 때, 고정상은 어떠한 IgG 항체도 포함하지 않았다. 각각의 모듈에서 액체 상 중의 항체 농도도 0이었다. 모듈은 처음에 세척 완충제로 충전시켰다. 공급 용액은 약 40 ml/분의 유량 및 0.96 mg/ml의 항체 농도로 도입하였다. 시스템을 3회 색인화하였다. 사이클 시간은 사이클 1 내지 4에 대하여 각각 15분, 9분, 9분 및 11분이었다. 마지막 사이클의 끝에서, 시리즈의 모든 카트리지를 세척 완충제로 세척하고, 용출 완충제 (0.5 M 아세트산, pH 2.45)로 용출하고, 평형 완충제(100 mM 인산나트륨, 150 mM NaCl, pH 7.2)로 다시 세척한 다음, 구아니딘 완충제 (2M 구아니딘 HCl, 10 mM TRIS (트리스(하이드록시메틸)아미노에탄), pH 7.5)로 세정하였다. 이따금 방출물로부터 샘플 분취물을 취하고 그에 따라 방출물 스트림의 부피를 감소시켰다. UV-Vis 분광 광도계의 280 nm에서의 흡광도로부터 농도를 계산하였다.

<69> 사이클 1에 있어서 카트리지 배치:

<70> 유입구-A-B-C-D-유출구

<71> 오프라인 (E,F,G)

사이클 **1**

	부피 (mL)	IgG의 농도 (mg/mL)	IgG (mg)
방출물	581	0.02	12
모듈 A 세척 1	595	0.174	104
모듈 A 용출	1026	0.161	165

공급물 부피	611	mL
사이클 지속 시간	15	분
평균 유량	41	mL/분
공급물 농도	0.96	mg/mL
총 시험량(Total Challenge)	586	mg
용출된 총량	165	mg
샘플	30	mL

<72>

<73> 사이클 2에 있어서 카트리지 배치:

<74> 유입구 -B-C-D-E-유출구

<75> 오프라인 (F,G,A)

사이클 **2**

	부피 (mL)	IgG의 농도 (mg/mL)	IgG (mg)
방출물	340	0.035	12
모듈 B 세척 1	549	NA	NA
모듈 B 용출	481	0.336	162

공급물 부피	355	mL
사이클 지속 시간	9	분
평균 유량	39	mL/분
공급물 농도	0.96	mg/mL
총 시험량	340	mg
용출된 총량	162	mg
샘플	15	mL

<76>

<77> 사이클 3에 있어서 카트리지 배치:

<78> 유입구 -C-D-E-F-유출구

<79> 오프라인 (G,A,B)

사이클 3

	부피 (mL)	IgG의 농도 (mg/mL)	IgG (mg)
방출물	234	0.041	10
모듈 C 세척 1	526	0.085	45
모듈 C 용출	489	0.384	188

공급물 부피	249	mL
사이클 지속 시간	9.3	분
평균 유량	27	mL/분
공급물 농도	0.96	mg/mL
총 시험량	238	mg
용출된 총량	188	mg
샘플	15	mL

<80>

<81> 사이클 4에 있어서 카트리지 배치:

<82> 유입구 -D-E-F-G-유출구

<83> 오프라인 (A,B,C)

사이클 4

	부피 (mL)	IgG의 농도 (mg/mL)	IgG (mg)
방출물	385	0.043	16
집합적 세척 1	3885	0.051	196
모듈 D 용출	499	0.338	168
모듈 E 용출	485	0.322	156
모듈 F 용출	497	0.216	108
모듈 G 용출	483	0.173	83
집합적 세척 2	2018	NA	
구아니딘 세척	1773	0.000	0

공급물 부피	400	mL
사이클 지속 시간	11	분
평균 유량	36	mL/분
공급물 농도	0.96	mg/mL
총 시험량	383	mg
용출된 총량	516	mg
샘플	15	mL

<84>

<85> 시리즈의 마지막 카트리지로부터 매분 샘플을 취하였다.

<86> 방출물 샘플 농도

경과 시간 (분)	사이클	IgG (mg/mL)
1	1	0.022
2	1	0.010
4	1	0.047
5	1	0.073
7	1	0.006
8	1	0.006
9	1	0.006
10	1	0.009
11	1	0.014
12	1	0.020
13	1	0.028
14	1	0.038
15	1	0.053
16	2	0.025
17	2	0.012
18	2	0.014
19	2	0.022
20	2	0.028
21	2	0.035
22	2	0.045
23	2	0.052
24	2	0.061
25	3	0.023
26	3	0.014
27	3	0.015
28	3	0.020
29	3	0.030
30	3	0.037
31	3	0.043
32	3	0.044
33	3	0.051
34	4	0.010
35	4	0.011
36	4	0.016
37	4	0.030
38	4	0.039
39	4	0.040
40	4	0.050
41	4	0.059
42	4	0.069

<87>

도면의 간단한 설명

<11> 본 발명은 첨부 도면과 관련한 본 발명의 다양한 실시 형태의 이하의 상세한 설명을 고려하여 더욱 완전하게 이해될 수 있다.

<12> 도 1은 단일 경로의 가상 이동층의 개략도.

<13> 도 2는 복합 여과 매체의 단면의 개략도.

<14> 도 3은 예시적 복합 여과 매체의 사시도.

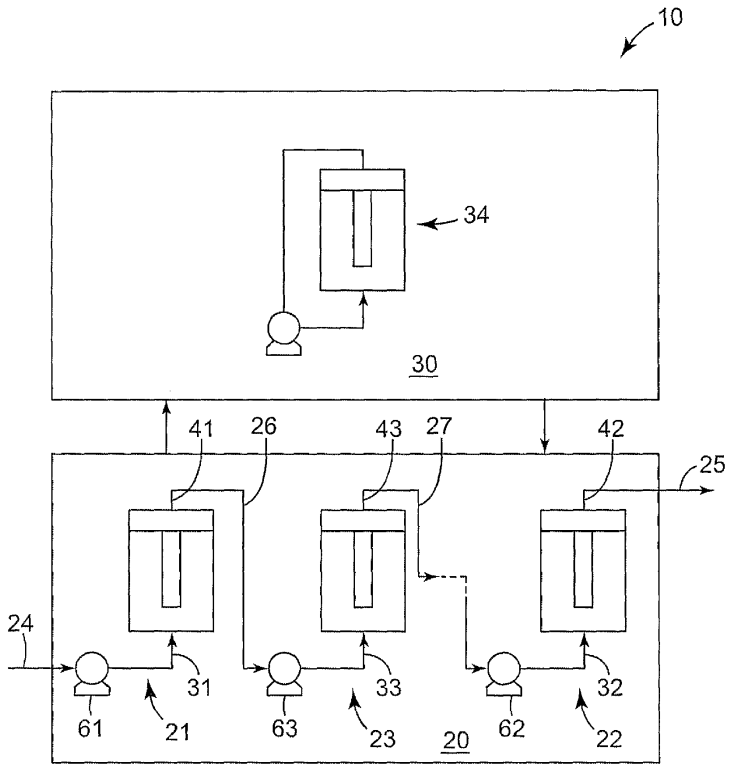
<15> 도 4는 예시적인 원통형의 주름진(cylindrically pleated) 필터 요소의 사시도.

<16> 도 5는 원통형 필터 카트리지의 사시도.

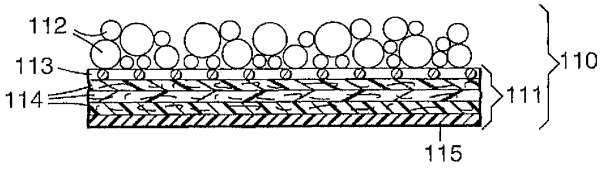
<17> 본 발명은 다양한 변형과 대안적인 형태를 따르고 있지만, 그 특정 실시예는 예로서 도면에 도시되고 상세히 설명될 것이다. 그러나, 본 발명은 본 발명을 설명된 특정 실시 형태들로 제한하는 것이 아님을 알아야 한다. 오히려, 본 발명은 본 발명의 정신 및 범주 내에 포함되는 모든 변형, 등가물 및 대안을 포함하고자 한다.

도면

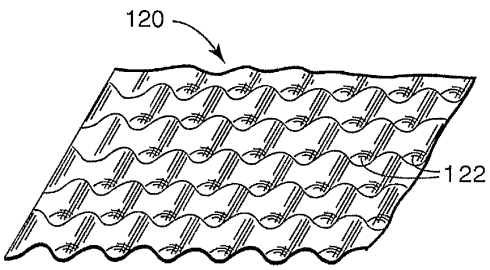
도면1



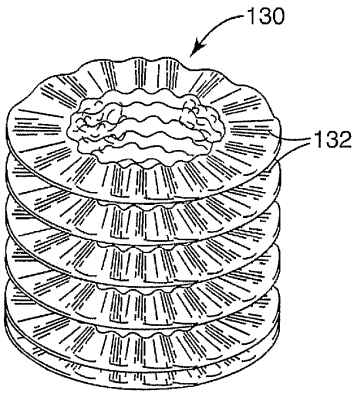
도면2



도면3



도면4



도면5

