(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2019-0079662
(43) 공개일자 2019년07월05일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12M 1/00 (2006.01) *C12M 1/12* (2006.01)
C12M 1/34 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C12M 47/12 (2013.01)
C12M 29/04 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2019-7016227
(22) 출원일자(국제) 2017년11월03일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2019년06월05일
(86) 국제출원번호 PCT/EP2017/078143
(87) 국제공개번호 WO 2018/086997
국제공개일자 2018년05월17일
(30) 우선권주장
16198334.1 2016년11월11일
유럽특허청(EPO)(EP)
17191961.6 2017년09월19일
유럽특허청(EPO)(EP)

(71) 출원인
바이엘 악티엔게젤샤프트
독일 51373 레버쿠젠, 카이저-빌헬름-알리 1
(72) 발명자
슈반, 페터
독일 51373 레버쿠젠 칼-룸프-스트라쎄 75
키슬러, 빅토리아
독일 45470 뮐하임 안 데어 루어 슈타잉크나펜 81
로베단, 마틴
독일 51069 쾰른 도르프하이데스트라쎄 32아
(74) 대리인
장덕순, 정진일

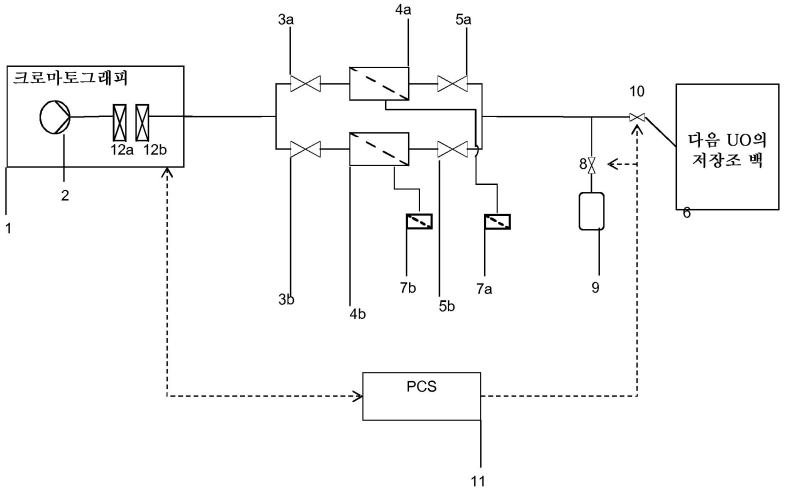
전체 청구항 수 : 총 15 항

(54) 발명의 명칭 **연속적 유동 내의 오염물을 모니터링하기 위한 유체 스트림의 샘플링 방법**

(57) 요 약

유체 스트림 내의 적어도 1종의 오염물의 농도를 모니터링하는 방법으로서, 적어도 2개의 유닛 작동을 제공하는 단계, 유동 경로 내의 상기 적어도 2개의 유닛 작동을 통과하는 유체 스트림을 제공하는 단계, 유체 스트림을 미리 결정된 유효한 방식으로 샘플링하는 단계, 유체 스트림 내의 오염물 농도를 모니터링하기 위해 샘플 내의 오염물 농도를 결정하는 단계를 포함하며, 여기서 방법은 연속적, 폐쇄된 및 병원체-감소된 조건 하에 수행되는 것인 방법이 본원에 개시된다.

대 표 도



(52) CPC특허분류
C12M 37/02 (2013.01)
C12M 41/30 (2013.01)
C12M 41/40 (2013.01)

명 세 서

청구범위

청구항 1

하기 단계를 포함하는, 유체 스트림 내의 적어도 1종의 오염물의 농도를 모니터링하는 방법으로서:

- 적어도 2개의 유닛 작동을 제공하는 단계,
- 유동 경로 내의 상기 적어도 2개의 유닛 작동을 통과하는 유체 스트림을 제공하는 단계,
- 유체 스트림을 미리 결정된 유효한 방식으로 샘플링하는 단계,
- 유체 스트림 내의 오염물 농도를 모니터링하기 위해 샘플 내의 오염물 농도를 결정하는 단계,

여기서 방법은 연속적, 폐쇄된 및 병원체-감소된 조건 하에 수행되는 것인

방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 적어도 1종의 오염물이 미생물 오염물 및/또는 유독성 오염물이고, 방법은 하기 단계를 추가로 포함하며:

- 적어도 2개의 유닛 작동을 분리하며 0.05 - 2 μm의 기공 크기를 갖는 적어도 1개의 필터를 제공하는 단계,
- 여기서 유체 스트림은 하나의 유닛 작동으로부터 다른 하나로 유동할 때 0.05 - 2 μm의 기공 크기를 갖는 상기 필터를 통과하고,
- 여기서 유체 스트림을 미리 결정된 유효한 방식으로 샘플링하는 것은, 유체 스트림이 0.05 - 2 μm의 기공 크기를 갖는 상기 필터를 통과하기 직전에 샘플링함으로써 달성되는 것인

방법.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 유체 스트림을 미리 결정된 유효한 방식으로 샘플링하는 것이, 제1 및/또는 제2 유닛 작동에 대해 미리 결정된 시점에 유체 스트림을 샘플링하고/거나, 유체 스트림의 주어진 특징이 미리 결정된 임계치에 도달할 때 유체 스트림을 샘플링함으로써 달성되는 것인 방법.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 유체 스트림을 미리 결정된 유효한 방식으로 샘플링하는 것이, 유체 스트림의 주어진 특징이 미리 결정된 임계치에 도달할 때 유체 스트림을 샘플링함으로써 달성되며, 여기서 상기 샘플링은 통합 샘플 수집인 방법.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 유체 스트림이 생성물 스트림인 방법.

청구항 6

제3항에 있어서, 유체 스트림의 주어진 특징이, 칼럼 부피당 미리 결정된 항체 로드 및/또는 유동 관통 유형 크로마토그래피 칼럼의 미리 결정된 로딩 부피 및/또는 결합 및 용리 유형 크로마토그래피 칼럼의 미리 결정된 용리 부피인 방법.

청구항 7

제1항에 있어서, 방법이 오염물 농도를 미리 결정된 참조 값과 비교하는 단계를 추가로 포함하는 것인 방법.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 방법이 샘플을 자동적으로 인출하는 자동화 공정 제어 시스템에 의해 수행 및 제어되는 것인 방법.

청구항 9

제8항에 있어서, 제1 필터가 세균-감소된 조건 하에 자동적으로 교환될 수 있도록, 0.05 - 0.2 μm의 기공 크기를 갖는 적어도 2개의 필터가 병렬로 제공되며, 여기서 자동 필터 교체는 바람직하게는 하기 단계를 포함하며:

(i) 비-여과물 측 상의 압력 센서에서 임계치 값이 초과할 때, 유동 경로의 폐쇄와 함께, 유동 경로를 제2의, 즉, 새로운 필터로 전환시키는 단계이며, 여기서 제1의, 즉, 사용된 필터 내의 생성물은 바람직하게는 기체 또는 액체에 의해, 또는 유동 경로 내의 제1의 사용된 필터의 최대 시간이 초과할 때, 또는 제1의 사용된 필터를 통과하는 최대 여과물 부피가 초과할 때 여과물 측으로 이동되는 것인 단계,

(ii) 제2의 새로운 필터를 새로운 필터의 배기 밸브에서 공기 필터를 통해 배기시키는 단계이며, 바람직하게는 생성물은 공급 펌프에 의해 새로운 필터 내로, 또는 세균-감소된 방식으로 부착된 폐쇄된 백 내에 수송되는 것인 단계,

(iii) 비-여과물 측 상의 제2의 새로운 필터의 배기의 완료를 압력 센서 또는 충전 수준 센서 또는 밸런스 또는 액체 검출기에 의해 검출하는 단계,

(iv) 밸브를 통해 여과물 유출구를 개방하고 블리더 밸브와 공기 필터 사이의 유동 경로를 폐쇄하는 단계, 및

(v) 이전 필터를 새로운 필터로 교체하는 단계,

새로운 필터 내로의 생성물의 동시 또는 하류 수송은 예를 들어 공급 펌프를 사용하여 수행될 수 있는 것인

방법.

청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 유체 스트림이 저장 백 내에 임시 보유되고, 상기 저장 백 내에서 유체 스트림이 일시적으로 혼합된 후 유체 스트림을 미리 결정된 유효한 방식으로 샘플링하는 것인 방법.

청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, 유체 스트림과 접촉하는 모든 구성요소가 일회용 물품이거나 또는 일회용 물품으로서 사용되는 것인 방법.

청구항 12

생물제약적, 생물학적 거대분자 생성물의 생산을 위한 연속적 공정에서의 제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 따른 방법의 용도.

청구항 13

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, 방법이, 하기 단계를 포함하는, 불균질 세포 배양 유체 혼합물로부터의 생물제약적, 생물학적 거대분자 생성물의 연속적, 세균-감소된 생산 및/또는 가공을 위한 공정에 적용되며:

(a) 생성물 스트림의 형태의 생성물을 함유하는 불균질 세포 배양 유체 혼합물로부터의 입자-무함유 유체의 제조,

(b) 여과물을 함유하는 적어도 1개의 여과,

(c) 생성물의 세정을 위한 적어도 2개의 크로마토그래피 단계,

(d) 적어도 1회의 바이러스 클리어런스, 및

(e) 단계 (b), (c) 및/또는 (d)의 생성물 유동에 대한 적어도 1개의 한외여과 및/또는 적어도 1개의 투석여과,

(c)의 적어도 2개의 크로마토그래피 단계는, 각각 적어도 2개의 크로마토그래피 칼럼 및/또는 멤브레인 흡착기에 의한 세정을 포함하는 것을 특징으로 하는 것인

방법.

청구항 14

제13항에 있어서, 단계 a)의 불균질 세포 배양 유체 혼합물이 페드-뱃치 조건 하에 제조되고, 버퍼 플러쉬가 상이한 수확 뱃치의 가공 사이에 수행되는 것인 방법.

청구항 15

제13항에 있어서, 단계 a)의 불균질 세포 배양 유체 혼합물이 페드-뱃치 조건 하에 또는 연속 세포 배양으로서 제조되고, 버퍼 플러쉬가 상이한 규정된 수확 부피 간격 및/또는 시간 간격의 가공 사이에 수행되는 것인 방법.

발명의 설명

기 술 분 야

배 경 기 술

[0001] 종래, 생명공학적 생산 시 단백질은 뱃치 내에서 정제된다. 이는 개별 생산 사이클이 뱃치식 및 불연속적으로 취급됨을 의미하며, 여기서 생성물은 대체로 생산 사이클의 완료 후 제거된다. 이어서, 새로운 생산 사이클을 위해, 새로운 생성물 사이클 또는 뱃치가 시작되어야 한다. 동일한 방식으로 개별 공정 단계는 뱃치식으로 취급되며, 여기서 대개의 경우에 뱃치의 중간체는 대체로 하나의 공급 탱크로부터, 다음 공정 단계를 위한 공급 탱크로서 사용되는 제2 탱크까지 가공된다.

[0002] 엄격히 규제되는 제약적 생산에 있어서, 이와 같은 뱃치식 생산 방식은, 무균 생성물을 보장하도록 그리고 2개의 생성물 뱃치 사이에 또는 다목적 시스템 내의 생성물 교체 동안 교차-오염을 신뢰성있게 막도록 예를 들어 정제된 및 멸균된 생물반응기의 제조를 위해 시간, 기술 및 인원 면에서 막대한 비용이 든다. 이는 상류 가공(USP: upstream processing) (즉, 발효조 내의 생물학적 생성물의 생산) 및 하류 가공(DSP: downstream processing) (즉, 발효 생성물의 정제) 둘 다에 적용된다. 특히 발효 시, 성공적 배양을 위해 무균 환경은 필수적이다. 보통, 뱃치 또는 페드 뱃치 발효조의 멸균을 위해 SIP (SIP = 정치 멸균(Sterilization-In-Place)) 기법이 사용된다. 그러나, 제조 절차로 인한 반응기 정지시간은, 반응기가 생산을 위해 이용불가능할 경우에 고비용으로 이어질 수 있다.

[0003] 따라서, 치료 단백질의 생산을 위한 연속적 가공은 중요성이 점차 커지고, 사실상 연속적 시스템의 실현을 위한 첫번째 해결책이 나오고 있다. 부가적으로, 단일 사용 기술의 사용을 허용하는 치료 단백질의 생산을 위한 연속적 공정이 특히 흥미롭다.

[0004] GMP와 같은 표준 및 가이드라인에 따른 치료 단백질의 생산에 있어서 연속적 가공을 사용하기 위해, 통상적인 뱃치-유형 공정에서 바로 그러하듯이 예를 들어 병원체에 의한 오염이 신뢰성있게 방지되어야 한다. 아울러, 상기 오염이 신뢰성있게 방지됨이 또한 입증되어야 한다. 즉, 가능한 오염물에 대한 모니터링이 요구된다. 치료 단백질을 위한 통상적인 뱃치-유형 생산 공정에서 미생물 로드 및 기타 오염물은 완전한 생성물 뱃치를 샘플링함으로써 시험한다. 예를 들어, 크로마토그래피 단계 후의 숙주 세포 단백질 (HCP) 농도가 중요한 기준일 수 있다. 따라서, 크로마토그래피가 수행된 후 샘플을 취하며, 이는 완전한 생성물 뱃치의 평균 숙주 세포 단백질 농도를 나타내는 것으로 여겨진다.

[0005] 그러나, 예를 들어 치료 단백질을 위한 연속적 생산 공정의 특징은, 완전한 생성물 뱃치가 아닌 것이 주어진 유닛 작동을 관통한 후에 상기 완전한 생성물 뱃치의 임의의 부분이 다음 유닛 작동에 진입한다는 것이다. 그 결과, 자동적으로 평균 오염물 농도를 나타내는 샘플을 취할 시점이 존재하지 않는다. 그로 인하여, 주어진 생산 사이클 내의 병원체 및/또는 기타 오염물의 농도가 요구되는 기준을 만족시킨다는 것을 입증하기 위한 통상적인 접근법이 적용불가능하다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0006] 따라서, 본 발명의 목적은, 연속적 유동 내의 주어진 오염물의 농도가 규제 파라미터와 같은 요구되는 기준을 만족시킨다는 필요한 입증을 위해 간단하고 저렴한 해결책을 제공하는 것이었다.

과제의 해결 수단

[0007] 본 발명은 하기 단계를 포함하는, 유체 스트림 내의 적어도 1종의 오염물의 농도를 모니터링하는 방법으로서:

[0008] • 적어도 2개의 유닛 작동을 제공하는 단계,

[0009] • 유동 경로 내의 상기 적어도 2개의 유닛 작동을 통과하는 유체 스트림을 제공하는 단계,

[0010] • 유체 스트림을 미리 결정된 유효한 방식으로 샘플링하는 단계,

[0011] • 유체 스트림 내의 오염물 농도를 모니터링하기 위해 샘플 내의 오염물 농도를 결정하는 단계,

[0012] 여기서 방법은 연속적, 폐쇄된 및 병원체-감소된 조건 하에 수행되는 것인

[0013] 방법을 제공함으로써 상기 목적을 달성한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0014] 적어도 1종의 오염물의 농도를 모니터링하는 상기 방법은, 주어진 연속적 유동 내의 병원체와 같은 오염물의 농도가 예를 들어 규제 기관에 의해 고정된, 및/또는GMP와 같은 가이드라인에 의해 명시된, 및/또는 공정 특징분석 연구 동안 결정된 기준, 예를 들어, 특정한 생산 조건 하에 주어진 공정에 특이적인 기준을 만족시킨다는 것을 입증하기 위한 간단하고 저렴한 해결책이 가능하다는 이점을 갖는다.

[0015] 본원에 사용된 용어 "미리 결정된 유효한 방식"이란, 샘플링이 재현성있게 수행되어야 하며, 샘플링 위치 및/또는 시점은 항상, 주어진 생산 공정의 유체 스트림이 예를 들어 규제 기관에 의해 미리 결정되거나 GMP와 같은 가이드라인에 의해 명시된 기준을 만족시킨다는 결론이 가능하기 위해 샘플이 평균 오염물 농도보다 더 높거나 또는 평균 오염물 농도를 나타내도록 해야한다는 것을 지칭한다.

[0016] 즉, 뱃치-유형 생산 조건 하에 그러하듯이 모든 생성물 뱃치 내의 평균 오염물 농도를 나타내는 샘플을 취하는 대신에, 샘플은 연속적 유동 조건 하에 그리고 생산 공정 내에 주어진 미리 결정된 지점에서 유체 스트림의 평균 오염물 농도 내지는 최고 오염물 농도까지 나타낸다. 따라서, 미리 결정된 유효한 방식으로 취한 상기 샘플 내의 오염물 농도가 허용된 임계 값보다 낮으면, 이는 완전 가공된 유체 스트림의 오염물 농도가 임계 값보다 낮음을 의미한다.

[0017] 아울러, 유체 스트림을 미리 결정된 유효한 방식으로 샘플링하는 것은, 주어진 특정한 생산 공정 사이클의 오염물 농도가 동일한 조건 하에, 예를 들어 동일한 설비에서 및 동일한 회사에 의해 동일한 유형 및 가동의 다른 생성물 공정 사이클에 대등하도록 한다.

[0018] 본원에 사용된 용어 "연속적"이란, 적어도 2개의 가공 단계 및/또는 유닛 작동을 직렬로 수행하는 방법을 지칭하며, 여기서 상류 단계의 유출 유체 스트림 (유체 유동)은 하류 단계로 수송된다. 하류 단계는 상류 단계가 완료되기 전 유체 유동의 가공을 시작한다. 따라서, 유체 유동의 상류 유닛으로부터 하류 유닛으로의 연속적 수송 또는 전달은, 상류가 셧다운되기 전에 하류 유닛이 이미 작동 중임을 의미한다 (즉, 직렬로 연결된 2개의 유닛이 그것들을 유동 관통하는 유체 유동을 동시에 가공함).

[0019] 본원에 사용된 용어 "유체 스트림" 또는 "유체 유동"이란 액체 및/또는 기체의 연속적 유동을 지칭한다.

[0020] 바람직한 실시양태에서 생성물 스트림 또는 생성물 유동은, 생성물을 함유하는 불균질 세포 배양 유체 혼합물에서부터, 본 발명에 따른 공정의 임의의 다른 단계의 결과물 (즉, 여과 후, 크로마토그래피 후, 바이러스 클리어런스 후, 한외여과 후, 투석여과 후, 또는 본 발명에 따른 공정의 추가 단계 후의 생성물 유동)까지의 무세포 유체이며, 여기서 이들 생성물 유동은 이어서 상이한 농도 및 순도를 보일 수 있다.

[0021] 적어도 1종의 오염물의 농도를 모니터링하는 방법의 대안적 실시양태에서, 유체 스트림은 생성물을 함유하지 않는다. 이 유체 스트림은 예를 들어 생산 공정에 진입하는 유체 스트림일 수 있다.

[0022] 본원에 사용된 표현 "적어도 하나"란 하나 이상을 의미한다.

[0023] 또한, 본원에 사용된 단수 표현은 "적어도 하나"를 의미하는 것으로 이해되어야 하며, 단수 뿐만 아니라 복수를 포괄하는 것으로 이해되고, 명확히 반대로 나타내지 않는 한, "단지 하나"로 제한되지 않아야 한다.

[0024] 본원에 사용된 용어 "오염물"이란, 주요 품질 속성에 해당되어 치료 단백질의 생산 시 모니터링해야 하는 병원체를 포함한 모든 구성요소를 지칭한다.

[0025] 본원에 사용된 용어 "병원체"란 미생물 및 바이러스를 지칭한다.

[0026] 주요 품질 속성 (CQA)은, 최종 생성물 산출물이 허용 품질 한계 내에 있도록 규정되고, 측정되고, 계속 모니터링될 수 있는 화학적, 물리적, 생물학적 및 미생물학적 속성이다.

[0027] 본원에 사용된 용어 "유닛" 또는 "유닛 작동"이란, 생물제약적 및 생물학적 거대분자 생성물의 생산 공정 내 1개의 공정 단계를 수행하는 장치, 및 그와 같은 특정한 장치 (즉, 유닛 작동)가 수행하는 공정을 지칭한다. 즉, 최종 생물제약적 및/또는 생물학적 거대분자 생성물을 제공하기 위해, 생성물이 목적하는 특징 및/또는 순도를 가질 때까지 유체 스트림은 수개의 유닛을 통과해야 할 것이다.

[0028] 본원에 사용된 용어 "모듈러 시스템"이란, 유체 스트림이 수송될 수 있는 적어도 2개의 하류 및/또는 상류 단계를 수행하기 위한 일련의 상호연결된 모듈 ("유닛")을 지칭한다. 본 발명에 따르면, 유닛은 단계를 연속적으로 수행하기에 적합하며, 유체 유동이라고도 지칭되는 (생성물을 포함하는 경우에 "생성물 유동"이라고도 지칭되는) 연속적 유체 스트림을 사용하여 작동될 수 있다. 상기 "모듈러 시스템"의 개별 모듈은 임의의 조합으로 상호연결될 수 있다. 본 발명의 의미 내에서 모듈의 예는 여과 모듈, 크로마토그래피 모듈, 한외여과 모듈, 투석여과 모듈 및 투석 모듈이다.

[0029] 본원에 사용된 용어 "모듈러"란, 개별 유닛 작동이 별도의 상호연결된 모듈에서 수행될 수 있음을 의미하며, 여기서 모듈은 미리 구성되고, 세균-감소되고, 폐쇄되어 있으며, 다양한 조합으로 상호연결될 수 있다.

[0030] 본원에 사용된 용어 "유동 경로"란, 그를 통해 생성물이 유동하거나 또는 그와 접촉하는 임의의 어셈블리 또는 컨테인먼트를 지칭한다.

[0031] 본원에 사용된 용어 "병원체-감소된"이란, 감소된 병원체 수 (즉, 적합한 세균-감소 방법에 의해 달성가능한 제로에 가까운, 면적 또는 부피 단위당 병원체 수)의 상태를 지칭하며, 여기서 상기 세균-감소 방법은 감마 조사, 베타 조사, 오토클레이빙, 에틸렌 옥시드 (ETO) 처리, 및 "정치 스팀 (Steam-In-Place)" (SIP) 및/또는 정치 가열 (Heat in Place) 처리로부터 선택될 수 있다.

[0032] 본원에 사용된 용어 "일회용 물품"이란, 유체 스트림과 접촉하는 각 구성요소, 특히 장비, 용기, 필터, 및 연결 요소가 1회 사용 후 처분에 적합함을 의미하며, 여기서 이들 용기는 플라스틱 및 금속 둘 다로 제조될 수 있다. 본 발명의 범주 내에서, 상기 용어는 또한, 본 발명에 따른 공정에서 한번만 사용되고 공정에서 다시 사용되지 않는 스틸로 제조된 것들과 같은 일회용 물품을 포함한다. 이어서, 이들 일회용 물품, 예를 들어 스틸로 제조된 것들은 또한, 본 발명의 범주 내에서 "일회용 물품으로서 사용된" 물체로서 지정된다. 이어서, 이러한 사용된 일회용 물품은 또한, 본 발명에 따른 공정에서 "일회용" 또는 "단일 사용" 물품 ("SU 기술")으로서 지정될 수 있다. 이와 같은 방식으로, 본 발명에 따른 공정 및 모듈러 시스템의 병원체-감소된 상태가 더욱 더 개선된다.

[0033] 본원에 사용된 용어 "폐쇄된"이란, 기재된 방법이 유체 스트림이 룸 환경에 노출되지 않도록 작동됨을 의미한다. 재료, 물체, 버퍼 등이 외부로부터 부가될 수 있으나, 여기서 이러한 부가는 유체 스트림의 룸 환경에의 노출이 방지되도록 실시된다.

[0034] 본원에 사용된 용어 "폐쇄된"이란, "폐쇄된" 뿐만 아니라 "기능상 폐쇄된" 둘 다를 지칭한다.

[0035] 상세하게는, 폐쇄된 공정 시스템은 생성물이 주변 환경에 결코 노출되지 않도록 설계 및 작동된다. 폐쇄된 시스템에의 부가 및 그로부터의 인출은 완전 폐쇄된 방식으로 수행되어야 한다. 환경 내 오염물로부터의 효과적인 배리어를 제공하기 위해 멸균 필터가 사용될 수 있다. 용어 "기능상 폐쇄된"이란, 개방될 수는 있지만, 공정 요건 (멸균, 무균 또는 낮은 바이오버든)과 일관되거나 또는 그와 적절한 세정, 소독 및/또는 멸균에 의해 "폐쇄화된" 공정을 지칭한다. 이들 시스템은 시스템 내에서 생산 동안 폐쇄된 채 있어야 한다. 예는 미사용 시 CIP 및 SIP될 수 있는 공정 용기를 포함한다. 비-멸균 시스템, 예컨대 크로마토그래피 또는 일부 여과 시스템은 또한, 특정 시스템 셋업 동안 적절한 조치가 취해지는 경우에 낮은 바이오버든 작동 시 폐쇄화될 수 있다.

[0036] 특정 상황 하에, 유체 스트림이 미리 결정된 유효한 방식으로 샘플링되기 전에 이미 그것을 샘플링하는 것이 유용할 수 있다. 예를 들어, 제1 유닛 작동이 친화 크로마토그래피인 경우에 그러할 수 있다. 이와 같은 셋팅에서, 유체 스트림은 또한 제1 칼럼으로부터 용리 시 샘플링될 수 있다.

[0037] 적어도 1종의 오염물의 농도를 모니터링하는 방법의 한 실시양태에서, 적어도 오염물의 종류가 미생물 오염물 및/또는 유독성 오염물이고, 방법은 하기 단계를 추가로 포함하며:

[0038] • 적어도 2개의 유닛 작동을 분리하며 0.05 - 2 μm의 기공 크기를 갖는 적어도 1개의 필터를 제공하는 단계,

[0039] • 여기서 유체 스트림은 하나의 유닛 작동으로부터 다른 하나로 유동할 때 0.05 - 2 μm의 기공 크기를 갖는 상기 필터를 통과하고,

[0040] • 여기서 유체 스트림을 미리 결정된 유효한 방식으로 샘플링하는 것은, 유체 스트림이 0.05 - 2 μm의 기공 크기를 갖는 상기 필터를 통과하기 직전에 샘플링함으로써 달성된다.

[0041] 이 실시양태는, 미생물 오염물 및/또는 유독성 오염물의 농도가 0.05 μm - 2 μm의 기공 크기를 갖는 필터의 바로 전방에서 가장 높다는 이점을 갖는다. 따라서, 상기 샘플링 지점에서 취한 샘플 내의 미생물 오염물 및/또는 유독성 오염물의 농도가 적용가능한 임계치보다 낮은 경우, 유체 스트림 내의 상기 미생물 오염물 및/또는 유독성 오염물의 농도는 그러한 적용가능한 임계치보다 낮아야 한다.

[0042] 즉, 완전한 유체 스트림은 후속 유닛 작동에 도달하기 위해 0.05 - 2 μm의 기공 크기를 갖는 필터를 통과해야 하기 때문에, 미생물 농도 및 다른 오염물의 농도는 필터의 비-여과물 측에서 가장 높다. 그로 인하여, 이와 같은 경우에 샘플은 뱃치 공정에서 그러하듯이 평균 오염물 농도를 더 이상 나타내지 않으며, 그보다는 특정 기간에 걸쳐 수집된 최고 오염물 농도를 나타낸다. 따라서, 상기 샘플 내의 오염물 농도가 적용가능한 임계치보다 낮은 경우, 완전 가공된 유체 스트림의 오염물 농도는 적용가능한 임계치보다 낮다.

[0043] 미생물 오염물의 농도를 결정하는 단계는 예를 들어 필터가 교환될 때 또는 미리 결정된 간격으로 또는 유체 스트림 또는 필터의 주어진 특징이 미리 결정된 임계치에 도달할 때 수행될 수 있다.

[0044] 본원에 사용된 용어 "비-여과물"이란, 주어진 필터에 의해 보유되는 물질을 지칭한다. 즉, 여과물은 필터를 통과하는 반면, 비-여과물은 필터 내에 또는 그 앞에 잔류한다.

[0045] 본원에 사용된 용어 "독물질" 또는 "유독성 오염물"이란, 예를 들어 분자 규모로 화학 반응 또는 다른 활성을 통해, 유기체가 충분한 양을 흡수할 때 인간, 동물 및 식물에 잠재적으로 유해한 모든 구성요소를 지칭한다.

[0046] 본원에 사용된 용어 "독소"란, 박테리아성 내독소, 박테리아성 외독소 및 진균 생물독소와 같은 세포 수용체 또는 효소와 같은 생물학적 거대분자와 상호작용하는 신체 조직에 의한 흡수 또는 그와의 접촉 시 질환을 야기할 수 있는 소분자, 펩티드 또는 단백질을 지칭한다. 즉, 독소는 살아있는 세포 또는 유기체 내에서 생성되는 유독성 물질의 유형이다.

[0047] 상기 서술된 바와 같이 필터는 유체 스트림을 여과하기 위해, 그리고 특히 응집된 생성물 입자와 같은 입자를 여과해 내기 위해 0.05 μm - 2 μm, 바람직하게는 0.05 - 0.6 μm, 가장 바람직하게는 0.1 - 0.2 μm의 기공 크기를 갖는다. 본원에 사용된 표현 "0.05 μm - 2 μm의 기공 크기"란, 주어진 필터 내에 대부분의 기공이 주어진 크기를 갖고, 상기 주어진 크기는 0.05 μm - 2 μm이며, 예를 들어 대부분의 기공이 0.2 μm의 크기를 갖는다는 것을 지칭한다.

[0048] 바람직한 실시양태에서 유체 스트림의 샘플링은 유체 스트림이 0.05 μm - 2 μm의 기공 크기를 갖는 필터를 통과하기 전에 수행되며, 상기 샘플링은 필터의 배기 유출구 내에서 또는 필터의 바로 전방에서 실시된다.

[0049] 오염물의 농도를 모니터링하는 방법의 또 다른 바람직한 실시양태에서, 0.05 μm - 2 μm의 기공 크기를 갖는 적어도 1개의 필터는 사르토포어(Sartopore) 2 XLG 크기 8 0.2 μm (사르토리우스(Sartorius), 5445307G8G)이다.

[0050] 오염물의 농도를 모니터링하는 방법의 추가의 바람직한 실시양태에서, 멀티-포트 및/또는 멸균 백은 0.05 - 2 μm의 기공 크기를 갖는 필터의 비-여과물 측에 연결되고, 상기 멸균 백은 샘플을 취하기 위해 폐쇄된 또는 기능상 폐쇄된 방식으로 연결될 수 있다.

[0051] 적어도 1종의 오염물의 농도를 모니터링하는 상기 기재된 방법의 바람직한 실시양태에서, 제1 필터가 세균-감소

된 조건 하에 교환될 수 있으면서 유체 스트림이 제2 필터를 관통하도록, 0.05 μm - 2 μm의 기공 크기를 갖는 적어도 2개의 필터가 병렬로 제공된다.

[0052] 적어도 1종의 오염물의 농도를 모니터링하는 상기 기재된 방법의 또 다른 실시양태에서, 유체 스트림을 미리 결정된 유효한 방식으로 샘플링하는 것은, 제1 및/또는 제2 유닛 작동에 대해 미리 결정된 시점에 유체 스트림을 샘플링하고/거나, 유체 스트림의 주어진 특징이 미리 결정된 임계치에 도달할 때 유체 스트림을 샘플링함으로써 달성된다.

[0053] 이 실시양태는, 반드시 필터를 포함하는 것은 생산 공정 동안의 지점에서 - 즉, 위치 및/또는 시점에서 - "미리 결정된 유효한 방식"으로 샘플링할 수 있게 하는 이점을 갖는다.

[0054] 아울러, 여과된 재료가 분석되는 경우에 - 예를 들어, 유체 스트림이 제1 유닛 작동에 진입하기 전에 여과되는 셋팅에서 - 이 실시양태는 여과된 재료의 분석을 허용한다. 이는 미리 결정된 유효한 방식으로 취한 샘플을 분석하기 위한 장치가 여과된 재료를 분석할 수 있기만 하면 되고, 더 큰 (비-여과된) 입자의 존재로 인해 분석 장치를 잠재적으로 폐색시킬 수 있는 비-여과된 재료는 분석할 필요가 없기 때문에 유리하다.

[0055] 본원에 기재된 상이한 실시양태는 임의의 적합한 방식으로 조합될 수 있음을 주지해야 한다. 따라서, 1개의 동일한 생산 공정은 예를 들면, 0.05 μm - 2 μm의 기공 크기를 갖는 필터 바로 앞에서 미리 결정된 유효한 방식으로 1회 이상 샘플링(들)하는 것 뿐만 아니라, 유체 스트림을 제1 및/또는 제2 유닛 작동에 대해 미리 결정된 시점에 샘플링하고/거나 유체 스트림의 주어진 특징이 미리 결정된 임계치에 도달할 때 유체 스트림을 샘플링함으로써 달성되는 미리 결정된 유효한 방식으로 1회 이상 샘플링(들)하는 것을 포함할 수 있다. 따라서, 이론상 샘플링 지점은 0.05 μm - 2 μm의 기공 크기를 갖는 필터 바로 앞 및 뒤에 위치할 수 있다.

[0056] 본원에 사용된 용어 "유동 관통"이란, 불순물은 분리 매체에 특이적으로 결합하는 반면 관심 생성물은 결합하지 않아, "유동 관통" 시 목적하는 생성물의 회수가 가능하고/거나, 관심 생성물 및 1종 이상의 불순물 둘 다가 분리 매체에 결합하는 것인 크로마토그래피 유닛의 작동 모드를 지칭한다. 두번째 경우에는, 불순물이 관심 생성물보다 분리 매체에 더 단단히 결합함으로써, 로딩이 계속됨에 따라 "유동 관통" 시 비결합된 관심 생성물이 회수될 수 있다. 즉, 생성물이 크로마토그래피 유닛 작동 상에 로딩되는 모든 시간 동안 크로마토그래피 유닛 작동을 이탈하는 유체 스트림은 생성물 스트림을 구성한다.

[0057] 본원에 사용된 용어 "결합 및 용리"란, 생성물이 크로마토그래피 매체에 차동적으로 결합하는 것인 크로마토그래피 유닛의 작동 모드를 지칭한다. 그로 인하여, 결합 및 용리 유형 크로마토그래피는 적어도 로딩, 세척, 용리, 및 크로마토그래피 칼럼의 재생의 단계들을 포함하며, 여기서 용리 동안 크로마토그래피 칼럼을 이탈하는 유체 스트림은 생성물 스트림에 해당된다.

[0058] 유체 스트림을 미리 결정된 유효한 방식으로 샘플링하는 것이 제1 및/또는 제2 유닛 작동에 대해 미리 결정된 시점에 유체 스트림을 샘플링하고/거나, 유체 스트림의 주어진 특징이 미리 결정된 임계치에 도달할 때 유체 스트림을 샘플링함으로써 달성되는 것인 적어도 1종의 오염물의 농도를 모니터링하는 방법의 예는, 생성물 사이클이 칼럼을 관통한 후 유동 관통 크로마토그래피 칼럼을 샘플링하는 것이다. 이론에 얽매이고자 하는 의도는 없지만 놀랍게도, 샘플은, 주어진 생산 공정의 유체 스트림이 예를 들어 GMP와 같은 가이드라인에 의해 명시되거나 규제 기관에 의해 미리 결정된 기준을 만족시킨다는 결론이 가능하도록 평균 오염물 농도보다 더 높거나 또는 평균 오염물 농도를 나타내는 것으로 밝혀졌다. 따라서, 미리 결정된 유효한 방식으로 취한 상기 샘플 내의 오염물 농도가 요구되는 임계 값보다 낮은 경우, 이는 완전 가공된 유체 스트림의 오염물 농도가 임계 값보다 낮음을 의미한다.

[0059] 유효한 방식으로 샘플을 취하는 시점은 상이한 방식으로 미리 결정될 수 있다.

[0060] 상기 시점은 공정 특징분석을 위한 실험 동안 수득된 값들에 기반하여 설정될 수 있다. 예를 들어, 유동 관통 모드로 작동되는 이온 교환 크로마토그래피의 경우, 유체 스트림은 2시간 내에 크로마토그래피를 통과하는 것으로 미리 결정되었다. 따라서, 미리 결정된 유효한 방식으로 샘플을 취하는 시점은 1시간 및 55분으로 설정된다.

[0061] 마찬가지로 주어진 특징은 상이한 방식으로 미리 결정될 수 있다.

[0062] 유체 스트림의 주어진 특징이 미리 결정된 임계치에 도달할 때 유체 스트림을 샘플링하는 한 예는 예를 들어 특정한 생성물 양, 예컨대 항체 로드이다. 예를 들어, 유동 관통 모드로 작동되는 크로마토그래피의 경우, 최대 칼럼 로드는 칼럼 1 리터당 항체 2 g인 것으로 미리 결정되었다. 따라서, 새로운 칼럼이 설치될 때, - 예를 들

면, 자동 공정 제어 시스템 내에 통합된 - 계수기는 시작하도록 설정된 다음 예를 들면, 예컨대 280 nm 측정을 통해 유체 스트림 내의 생성물 농도 및 유체 스트림의 유속을 모니터링함으로써 칼럼 로드를 모니터링한다. 칼럼 로드가 칼럼 1 리터당 항체 1.95 g의 임계치에 도달하자마자 샘플을 취한다.

[0063] 유체 스트림의 주어진 특징이 미리 결정된 임계치에 도달할 때 유체 스트림을 샘플링하는 또 다른 예는 예를 들어, 특정한 미리 결정된 특정 부피가 크로마토그래피 칼럼 상에 로딩되었을 때이다. 예를 들면, 임계 부피는 칼럼 1 ml당 2 리터인 것으로 미리 결정되었다. 따라서, 칼럼이 유동 경로에 연결될 때, - 예를 들면, 자동 공정 제어 시스템 내에 통합된 - 계수기는 시작하도록 설정된 다음, 예를 들어 특정한 펌프의 펌프 속도를 모니터링함으로써 상기 크로마토그래피 칼럼을 통과하는 유체 스트림의 부피를 모니터링한다. 부피가 칼럼 1 ml당 통과한 유체 스트림 1.95 리터의 임계치에 도달하자마자 샘플을 취한다.

[0064] 유체 스트림의 주어진 특징이 미리 결정된 임계치에 도달할 때 유체 스트림을 샘플링하는 또 다른 예는 예를 들어, 특정한 미리 결정된 부피가 결합 및 용리 크로마토그래피 단계 내의 칼럼으로부터 용리되었을 때이다. 예를 들면, 2-2.5 칼럼 부피의 임계 용리 부피 후 최대 오염물 농도에 도달하는 것으로 미리 결정되었다. 따라서, 칼럼이 유동 경로에 연결될 때, 계수기 (예를 들면, 자동 공정 제어 시스템 내에 통합)는 시작하도록 설정된 다음 용리 부피를 모니터링한다. 용리 부피가 2-2.5 칼럼 부피의 임계 용리 부피에 가까운 임계치에 도달하자마자 샘플을 취한다 (예를 들어, 차동 샘플 또는 통합 샘플). 차동 샘플의 경우, 샘플 수집은 2-2.5 칼럼의 미리 결정된 임계 용리 부피에 도달하는 기간 동안 짧은 지속기간의 것이다. 통합 샘플의 경우, 샘플 수집은 2-2.5 칼럼의 미리 결정된 임계 용리 부피가 달성되는 기간 동안 계속된다. 일반적으로, 통합 샘플의 경우에 샘플 수집은 미리 결정된 기간, 즉, 시간의 지속기간 내내 계속된다. 서로 분리하기가 어려운 수종의 오염물의 농도를 모니터링해야 하는 경우에는 통합 방식의 샘플 수집이 유리할 수 있다. 아울러, 통합 샘플 수집은, 반복적이지만 전체적으로는 영구적인 방식으로 수행될 수 있다 (예를 들어, 제1 통합 샘플을 위한 샘플링 절차는 제1일에 시점 X에서 시작되고 2일 차에 시점 X_1에서 종료되며, 제2 통합 샘플을 위한 샘플링 절차는 2일차에 시점 X_1에서 시작되고 3일차에 시점 X_2에서 종료되는 등). 즉, 연속적 유체 스트림의 서브-뱃치가 수집된다.

[0065] 적어도 1종의 오염물의 농도를 모니터링하는 방법의 한 실시양태에서 유체 스트림은 생성물 스트림이다.

[0066] 이 생성물 스트림은 예를 들어, 생성물이 목적하는 특징에 도달할 때까지 하나의 유닛 작동으로부터 또 다른 유닛 작동으로 유동한다. 이는 예를 들어 모듈러 방식에서 주어진 생성물의 목적하는 특징에 도달하기 위해 요구되는 만큼의 많은 유닛 작동이 연결될 수 있음을 의미한다.

[0067] 유체 스트림이 생성물 스트림인 본원에 기재된 적어도 1종의 오염물의 농도를 모니터링하는 방법, 및 유체 스트림이 생성물을 함유하지 않는 것인 본원에 기재된 적어도 1종의 오염물의 농도를 모니터링하는 방법 둘 다를 동일한 생산 공정이 사용할 수 있다.

[0068] 적어도 1종의 오염물의 농도를 모니터링하는 방법의 한 실시양태에서, 생성물은 펩티드, 단백질, 소분자 약물, 핵산으로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 1종의 구성요소를 포함한다.

[0069] 본원에 사용된 용어 "펩티드"란 비교적 짧은 길이의 아미노산 (예를 들어, 50개 미만의 아미노산)의 중합체를 지칭한다. 중합체는 선형 또는 분지형일 수 있고, 이는 변형된 아미노산을 포함할 수 있으며, 이는 비-아미노산에 의해 개재될 수 있다. 상기 용어는 또한, 예를 들어 디술피드 결합 형성, 글리코실화, 지질화, 아세틸화, 인산화, 또는 임의의 다른 조작, 예컨대, 라벨링 구성요소, 예컨대 이에 제한되지는 않으나 형광성 마커, 입자, 비오틴, 비드, 단백질, 방사성 라벨, 화학발광 태그, 생물발광 라벨 등과의 접합에 의해 변형된 아미노산 중합체를 포괄한다.

[0070] 본원에 사용된 용어 "단백질"이란 아미노산의 폴리펩티드를 지칭한다. 상기 용어는, 전장, 야생형, 또는 그의 단편일 수 있는 단백질을 포괄한다. 단백질은 상응하는 천연 발생 아미노산의 인간, 비-인간, 및 인공 또는 화학 모방체 뿐만 아니라, 천연 발생 아미노산 중합체 및 비-천연 발생 아미노산 중합체일 수 있다.

[0071] 바람직하게는 단백질은 치료 단백질이다.

[0072] 본원에 사용된 용어 "치료 단백질"이란, 유기체에 투여되어 상기 유기체의 조직, 기관 또는 시스템의 생물학적 또는 의학적 반응을 일으킬 수 있는 단백질을 지칭한다.

[0073] 더욱 더 바람직하게는 단백질은 항체이다.

[0074] 본원에 사용된 용어 "항체"란 결합 분자, 예컨대 면역글로불린 또는 면역글로불린의 면역학적 활성 부분, 즉, 항원-결합 부위를 함유하는 분자를 지칭한다.

[0075] 본원에 사용된 용어 "소분자 약물"이란, 생물학적 공정을 조절하는데 도움을 줄 수 있는 저분자량 (<900 달톤) 화합물을 지칭한다.

[0076] 본원에 사용된 용어 "핵산"이란, 데옥시리보뉴클레오티드 또는 리보뉴클레오티드, 및 단일- 또는 이중-가닥 형태의 그의 중합체를 지칭한다. 구체적으로 제한되지 않는 한, 상기 용어는 참조물 핵산과 유사한 결합 특성을 갖는 천연 뉴클레오티드의 유사체를 함유하는 핵산을 포괄하며, 천연 발생 뉴클레오티드와 유사한 방식으로 대사된다. 달리 나타내지 않는 한, 특정 핵산 서열은 또한 내재적으로, 그의 보존적 변형된 변이체 (예를 들어, 축중성 코돈 치환물), 및 명백히 나타낸 상보성 서열 뿐만 아니라 서열을 포괄한다.

[0077] 유체 스트림을 미리 결정된 유효한 방식으로 샘플링하는 것이 제1 및/또는 제2 유닛 작동에 대해 미리 결정된 시점에 유체 스트림을 샘플링하고/거나, 유체 스트림의 주어진 특징이 미리 결정된 임계치에 도달할 때 유체 스트림을 샘플링함으로써 달성되는 것인 적어도 1종의 오염물의 농도를 모니터링하는 방법의 바람직한 실시양태에서, 유체 스트림이 관통하는 적어도 2개의 유닛 작동 중 첫번째는 결합 및 용리 유형 크로마토그래피 유닛 작동이다.

[0078] 유체 스트림을 미리 결정된 유효한 방식으로 샘플링하는 것이 제1 및/또는 제2 유닛 작동에 대해 미리 결정된 시점에 유체 스트림을 샘플링하고/거나, 유체 스트림의 주어진 특징이 미리 결정된 임계치에 도달할 때 유체 스트림을 샘플링함으로써 달성되는 것인 적어도 1종의 오염물의 농도를 모니터링하는 방법의 또 다른 바람직한 실시양태에서, 유체 스트림이 관통하는 적어도 2개의 유닛 작동 중 첫번째는 유동 관통 유형 크로마토그래피 유닛 작동이다.

[0079] 이 실시양태는, 유체 스트림을 미리 결정된 유효한 방식으로 샘플링하는 미리 결정된 시점이, 결합 및 용리 유형 크로마토그래피 유닛 작동의 용리 시간에 대해 선택될 수 있다는 이점을 갖는다.

[0080] 본원에 사용된 용어 "용리 시간"이란, 연속적 크로마토그래피가 특정한 칼럼을 용리하는 시간을 지칭한다.

[0081] 유체 스트림을 미리 결정된 유효한 방식으로 샘플링하는 것이 제1 및/또는 제2 유닛 작동에 대해 미리 결정된 시점에 유체 스트림을 샘플링하고/거나, 유체 스트림의 주어진 특징이 미리 결정된 임계치에 도달할 때 유체 스트림을 샘플링함으로써 달성되는 것인 적어도 1종의 오염물의 농도를 모니터링하는 방법의 바람직한 실시양태에서, 유체 스트림의 주어진 특징은 칼럼 부피당 미리 결정된 항체 로드 및/또는 유동 관통 유형 크로마토그래피 칼럼의 미리 결정된 로딩 부피 및/또는 결합-및-용리 유형 크로마토그래피 칼럼의 미리 결정된 용리 부피이다.

[0082] 적어도 1종의 오염물의 농도를 모니터링하는 상기 기재된 방법의 바람직한 실시양태에서, 방법은 오염물 농도를 미리 결정된 참조 값과 비교하는 단계를 추가로 포함한다.

[0083] 이 단계는 오염물 농도가 미리 결정된 참조 값보다 더 낮은지 또는 낮지 않은지의 평가를 가능케 한다.

[0084] 적어도 1종의 오염물의 농도를 모니터링하는 방법의 바람직한 실시양태에서, 방법은 샘플을 자동적으로 인출하는 자동화 공정 제어 시스템에 의해 수행 및 제어된다.

[0085] 이 실시양태에서, 0.05 - 2 μm의 기공 크기를 갖는 적어도 2개의 필터는 제1 필터가 세균-감소된 조건 하에 자동적으로 교환될 수 있도록 병렬로 제공되는 것이 바람직하며, 자동 필터 교체는 바람직하게는 하기 단계를 포함한다:

[0086] (i) 비-여과물 측 상의 압력 센서에서 임계치 값이 초과할 때, 유동 경로의 폐쇄와 함께, 유동 경로를 제2의, 즉, 새로운 필터로 전환시키는 단계이며, 여기서 제1의, 즉, 사용된 필터 내의 생성물은 바람직하게는 기체 또는 액체에 의해, 또는 유동 경로 내의 제1의 사용된 필터의 최대 시간이 초과할 때, 또는 제1의 사용된 필터를 통과하는 최대 여과물 부피가 초과할 때 여과물 측으로 이동되는 것인 단계,

[0087] (ii) 제2의 새로운 필터를 새로운 필터의 배기 밸브에서 공기 필터를 통해 배기시키는 단계이며, 바람직하게는 생성물은 공급 펌프에 의해 새로운 필터 내로, 또는 세균-감소된 방식으로 부착된 폐쇄된 백 내에 수송되는 것인 단계,

[0088] (iii) 비-여과물 측 상의 제2의 새로운 필터의 배기의 완료를 압력 센서 또는 충전 수준 센서 또는 밸런스 또는 액체 검출기에 의해 검출하는 단계,

[0089] (iv) 밸브를 통해 여과물 유출구를 개방하고 배기 밸브와 공기 필터 사이의 유동 경로를 폐쇄하는 단계, 및

[0090] (v) 이전 필터를 새로운 필터로 교체하는 단계.

[0091] 새로운 필터 내로의 생성물의 동시 또는 하류 수송은 예를 들어 공급 펌프를 사용하여 수행될 수 있다.

[0092] 적어도 1종의 오염물의 농도를 모니터링하는 방법의 바람직한 실시양태에서, 유체 스트림과 접촉하는 모든 구성요소는 적합한 세균 감소에 의해 멸균되고, 여기서 세균 감소 방법은 바람직하게는 감마 조사, 베타 조사, 오토클레이빙, 에틸렌 옥시드 (ETO) 처리, 오존 처리 (O_3), 과산화수소 처리 (H_2O_2), 및 정치 스팀 (SIP) 처리로 구성된 군으로부터 선택된다.

[0093] 적어도 1종의 오염물의 농도를 모니터링하는 방법의 바람직한 실시양태에서, 유체 스트림은 저장 백 내에 임시 보유되고, 상기 저장 백 내에서 유체 스트림이 일시적으로 혼합된 후 유체 스트림을 미리 결정된 유효한 방식으로 샘플링한다.

[0094] 이러한 저장 용기는, 상이한 유닛 작동에 의해 요구되는 가공 시간의 차이를 감안하기 위해 연속적 공정에서 빈번히 사용된다. 그러나, 상기 저장 백 내의 일정한 혼합은 유체 스트림 내에 포함된 생성물에 - 예를 들어, 전단 응력, 육안으로 가시불가능한 입자의 형성, 및/또는 응집 - 불리한 영향을 미칠 수 있다.

[0095] 이하 놀랍게도, 저장 백 내의 유체 스트림의 일시적 혼합 (즉, 샘플 인출 전 짧은 시간 간격 동안 혼합)은, 유체 스트림 내에 포함된 생성물에 불리한 영향을 미치지 않는 동시에, 유체 스트림의 평균 조성을 나타내는 균질 샘플이 보장되는 것으로 밝혀졌다.

[0096] 일시적 혼합이 실시되는 짧은 시간 간격은 바람직하게는, 생성물에 대한 잠재적 손상을 최소화하도록 30초 - 10분, 보다 바람직하게는 1분 내지 5분, 가장 바람직하게는 2분 - 4분의 지속기간을 갖는다.

[0097] 이러한 일시적 혼합은 예를 들어 재순환 펌프를 통해 자동적으로 수행될 수 있다.

[0098] 적어도 1종의 오염물의 농도를 모니터링하는 방법의 바람직한 실시양태에서, 유체 스트림과 접촉하는 모든 구성요소는 일회용 물품이거나 또는 일회용 물품으로서 사용된다.

[0099] 아울러, 적어도 1종의 오염물의 농도를 모니터링하는 방법의 상이한 실시양태 및 특히 유체 스트림을 미리 결정된 유효한 방식으로 샘플링하는 상이한 방식은, 유체 스트림이 주어진 생산 공정 동안 통과하는 상이한 지점에서 선택되는 것이 가능하다. 즉, 적어도 1종의 오염물의 농도를 모니터링하는 방법의 상이한 실시양태의 조합이 하나의 동일한 생산 공정에서 사용될 수 있다.

[0100] 또 다른 측면에서, 본원에 기재된 것은, 치료 단백질의 생산을 위한 연속적 공정에서 적어도 1종의 오염물의 농도를 모니터링하는 방법을 사용하는 것에 관련된 것이다.

[0101] 상기 용도의 바람직한 실시양태에서, 방법은, 하기 단계를 포함하는, 불균질 세포 배양 유체 혼합물로부터의 항체와 같은 치료 단백질의 연속적, 세균-감소된 생산 및/또는 가공을 위한 공정에 적용되며:

[0102] (a) 생성물 유동의 형태의 생성물을 함유하는 불균질 세포 배양 유체 혼합물로부터의 입자-무함유 유체의 제조,

[0103] (b) 여과물을 함유하는 적어도 1개의 여과,

[0104] (c) 생성물의 세정을 위한 적어도 2개의 크로마토그래피 단계,

[0105] (d) 적어도 1회의 바이러스 클리어런스, 및

[0106] (e) 단계 (b), (c) 및/또는 (d)의 생성물 유동에 대한 적어도 1개의 한외여과 및/또는 적어도 1개의 투석여과,

[0107] (c)의 적어도 2개의 크로마토그래피 단계는, 각각 적어도 2개의 크로마토그래피 칼럼 및/또는 멤브레인 흡착기에 의한 세정을 포함하는 것을 특징으로 한다.

[0108] 상기 용도의 한 실시양태에서, 방법은, 단계 a)의 불균질 세포 배양 유체 혼합물이 페드-뱃치 조건 하에 제조되고, 버퍼 플러쉬가 상이한 수확 뱃치의 가공 사이에 수행되는 것인, 치료 단백질의 연속적, 세균-감소된 생산 및/또는 가공을 위한 공정에 적용된다.

[0109] 본원에 사용된 용어 "페드-뱃치"란, 세포 배양에 세포 배양 매질이 배양 동안 첨가되지만 배양 동안 세포 배양 매질의 연속적 제거가 실시되지 않는 것인 배양 조건을 지칭한다.

[0110] 본원에 사용된 용어 "버퍼 플러쉬"란, 공정 파라미터, 공정 조건 및 측정된 품질 속성이 각 생물반응기 뱃치와

1-대-1 관계를 갖도록 버퍼로 유체 스트림의 완전한 유동 경로를 플러싱하는 것을 지칭한다.

[0111] 따라서, 이와 같은 버퍼 플러쉬는, 주어진 생성물의 품질 속성의 견지에서 비-순응성에 직면하는 경우, 이 비-순응성은 비-순응성이 세포-배양 관련된 것인지의 여부와 각각 어떤 세포 배양이 영향을 받았는지를 평가하기 위해 단일 생물반응기 뱃치까지 소급될 수 있다는 효과를 갖는다. 즉, 세포 배양 조건은 주요 품질 속성에 상당한 영향을 미칠 수 있기 때문에, 이 접근법은 주요 품질 속성 중 비-순응성이 세포 배양 관련된 것인지의 여부와 각각 어떤 특정한 세포 배양에 관련된 것인지에 대한 평가를 가능케 한다.

[0112] 이러한 버퍼 플러쉬는 또한, 예를 들어 상이한 기원 (예를 들어, 수확 뱃치)에서 유래된 불균질 유체 혼합물 - 예를 들어, 불균질 세포 배양 유체 혼합물 -의 가공이 시작되기 전에 언제든지 본원에 기재된 방법과 독립적으로 수행될 수 있다.

[0113] 상기 용도의 또 다른 실시양태에서, 방법은 단계 a)의 불균질 세포 배양 유체 혼합물이 연속 세포 배양 또는 페드 뱃치로서 제조되고, 버퍼 플러쉬가 규정된 수확 부피 간격 및/또는 시간 간격의 가공 사이에 수행되는 것인 치료 단백질의 연속적, 세균-감소된 생산 및/또는 가공을 위한 공정에 적용된다.

[0114] 버퍼 플러쉬를 위한 이상적인 시점을 결정하기 위해 규정된 수확 부피 간격 및/또는 시간 간격을 사용하면, 비-순응성이 연속 세포 배양 조건 하에서도 세포-배양 관련된 것인지를 평가하는 것이 가능하다.

[0115] 본원에 사용된 용어 "연속 세포 배양"이란, 세포 배양 매질과 같은 용액이 세포 배양에 첨가되고 배양 동안 연속적으로 세포 배양으로부터 흡인되는 것인 배양 조건을 지칭한다.

[0116] 연속 세포 배양의 한 예는 관류 세포 배양이다. 본원에 사용된 용어 "관류"란, 세포 배양 매질이 세포 배양에 첨가되고 배양 동안 연속적으로 세포 배양으로부터 제거되는 것인 연속 세포 배양의 유형을 지칭한다. 세포 밀도 수준을 유지하기 위해, 배양된 세포 중 적어도 일부는, 관류 세포 배양 조건 하에 제거된 매질로부터 분리되거나 또는 세포 배양 용기 내에 보유되어야 한다. 세포 배양 용기 외부에서의 분리의 경우, 세포는 흡인된 용액으로부터 분리되면 세포 배양 용기으로 복귀될 것이다. 또한, 관류 배양 조건 하에서는, 주어진 표적 세포 밀도를 유지하고 생존불가능한 세포를 제거 ("퍼지")하기 위해, 배양된 세포 중 일부가 전형적으로 버려지거나, 즉, 배양 용기 내에 보유되지 않거나, 또는 그로 복귀된다.

[0117] 본원에 사용된 용어 "규정된 수확 부피 간격"이란, 본원에 기재된 방법의 기재된 용도의 단계 a)로부터 수득된 용액의 미리 결정된 부피를 지칭한다. 즉, 생성물 스트림 형태의 생성물을 함유하는 불균질 세포 배양 유체 혼합물로부터의 입자-무함유 유체의 미리 결정된 부피에 도달하거나 또는 그를 초과한 후 버퍼 플러쉬가 수행된다.

[0118] 대안적으로, 일정 기간 (예를 들어, 1일, 1주 등)이 미리 결정될 수 있고, 그러한 시간 간격에 도달 후 버퍼 플러쉬가 수행된다.

[0119] 아울러 또한, 예를 들어 연속 세포 배양 조건 하에 버퍼 플러쉬가 제조되어야 하는 시점을 결정하기 위해 규정된 수확 부피 간격과 시간 간격의 조합이 사용될 수 있다.

[0120] 실시예:

[0121] 실시예 1

[0122] 본원에 기재된 방법이 적용된 생물제약적 및 생물학적 생성물의 생산 방법은 통상, 다음과 같은 통상 함께 연결되는 적어도 하기 생산 단계를 포함한다:

[0123] B. 하류

[0124] • 세포 분리

[0125] • 바람직하게는 농축과 함께, 버퍼 또는 매질 교환

[0126] • 바람직하게는 멸균 필터를 사용한, 바이오버든 감소

[0127] • 포획 크로마토그래피

[0128] • 바이러스 불활성화

[0129] • 중화, 즉, pH 및 전도도 조절

[0130] • 크로마토그래피 중간 및 미세 정제

[0131] • pH 및 전도도 조절

[0132] • 예를 들어 멸균 필터를 사용한, 바이오버든 감소

[0133] • 버퍼 교환 및 바람직하게는 농축

[0134] • 바이러스 여과

[0135] • 멸균 필터를 사용한 여과.

[0136] 3개의 주요 가공 단계가 미생물 시험을 위한 예로서 선택되었다.

[0137] 1. 바이러스 불활성화 후 중화

[0138] 2. 최종 크로마토그래피 단계 후 pH 및 전도도 조절

[0139] 3. 바이러스 여과

[0140] 도 1은, 미생물 및 내독소 샘플링을 위한 3개의 샘플링 스폿에서 사용된 샘플링 장치를 도시하며, 즉, 이는 적어도 오염물의 종류가 미생물 오염물 및/또는 유독성 오염물인 적어도 1종의 오염물의 농도를 모니터링하는 방법의 예이다. 펌프(2)는 이전의 공정 단계(1)로부터의 생성물을 여과 어셈블리 내로 펌핑한다. 생성물은 밸브(3a) 및 (5a)를 통해 필터(4a)를 거쳐 또는 밸브(3b) 및 (5b)를 통해 필터(4b)를 거쳐 1개의 활성 필터만을 관통하여 후속 유닛 작동의 저장 백 (저장조 백(6)이라고도 지칭됨) 내로 유동한다. 필터로는 사르토포어 2 XLG 크기 8 0.2 μm (사르토리우스, 5445307G8G)가 사용되었다. 이들 필터에는 초기 여과에서 탈기를 위한 소수성 0.2 μm 공기 필터(7a, 7b)가 구비된다. 유동 방향은 상단에서부터 하단으로였고, 공기 필터는 상단 배기 밸브 상에 설치되어 있다. 필터의 하단 배기 밸브에는, 1 L의 사전 멸균된 플렉스보이(9a, 9b)가 폐쇄된 방식으로 용접될 수 있는 씨플렉스 튜빙 (ID 3.2 ㎜)이 구비되어 있다. 샘플은 각각 핀치 밸브(8a) 또는 (8b)를 개방하여 취하였다. 자동 멸균 샘플링을 위해 밸브(8a) 및 (8b) - 공압 또는 전기 제어형 핀치 밸브 -가 사용될 수 있고, 이는 중앙 PCS 시스템에 의해 제어될 수 있다.

[0141] **실시예 2:**

[0142] **유동 관통 크로마토그래피**

[0143] 도 2는, 유동 관통 크로마토그래피 공정 단계 후 비-미생물 오염물의 샘플링을 위해 사용될 수 있는 샘플링 장치를 도시하며, 즉, 이는 유체 스트림을 미리 결정된 유효한 방식으로 샘플링하는 것이 제1 및/또는 제2 유닛 작동에 대해 미리 결정된 시점에 유체 스트림을 샘플링함으로써 달성되는 것인 적어도 1종의 오염물의 농도를 모니터링하는 방법의 예이다. 유동 관통 크로마토그래피 단계(1)의 로드 펌프(2)는 크로마토그래피 칼럼(12a) 또는 칼럼(12b)을 통해 생성물을 펌핑한다. 양쪽 칼럼 모두는 동일한 수지 재료를 사용하며, 동일한 칼럼 부피(Vcol)로 충전된다. 특정 수의 칼럼 부피 N 후, 완전 로딩된 크로마토그래피 칼럼은 재생되기 시작하는 반면, 제2 크로마토그래피 칼럼은 로딩된다. 유동 관통 생성물은 여과 어셈블리를 관통하여 다음 유닛 작동의 저장조 백(6) 내로 유동한다. 생성물은 밸브(3a) 및 (5a)를 통해 필터(4a)를 거쳐 또는 밸브(3b) 및 (5b)를 통해 필터(4b)를 거쳐 1개의 활성 필터만을 관통하여 후속 유닛 작동의 저장조 백(6) 내로 유동한다. 필터로는 사르토포어 2 XLG 크기 8 0.2 μm (사르토리우스, 5445307G8G)가 본 실시예에서 사용된다. 이들 필터에는 초기 여과에서 탈기를 위한 소수성 0.2 μm 공기 필터(7a, 7b)가 구비된다. 이어서, 생성물은 생성물 밸브(10)를 통해 저장조 백(6) 내로 또는 샘플링 밸브(8)를 통해 샘플링 백(9) 내로 유동한다. 기능상 폐쇄된 또는 폐쇄된 방식으로, 예컨대 멸균 튜브 용접에 의해 설치/설치해제되는 1 L 플렉스보이와 같은 사전 멸균된 샘플링 백이 사용될 수 있다.

[0144] 도 3은 멤브레인 흡착기 상의 숙주 세포 오염물 (HCP)의 오염물 농도는 크로마토그래피 칼럼 상으로 로딩된 생성물의 부피 또는 양에 따라 증가함을 제시한다. 샘플을 특정한 시점에서만, 그러나 크로마토그래피 칼럼 상으로의 로드에 관계 없이 취한 경우, CQA 시험 시 가변성이 높을 것이다. CQA의 공정 제어를 입증하기 위해, 생성물 샘플은 칼럼 로딩의 최종 칼럼 부피에서 취해야 한다.

[0145] 이는 자동화 공정 제어 시스템을 사용함으로써 달성된다.

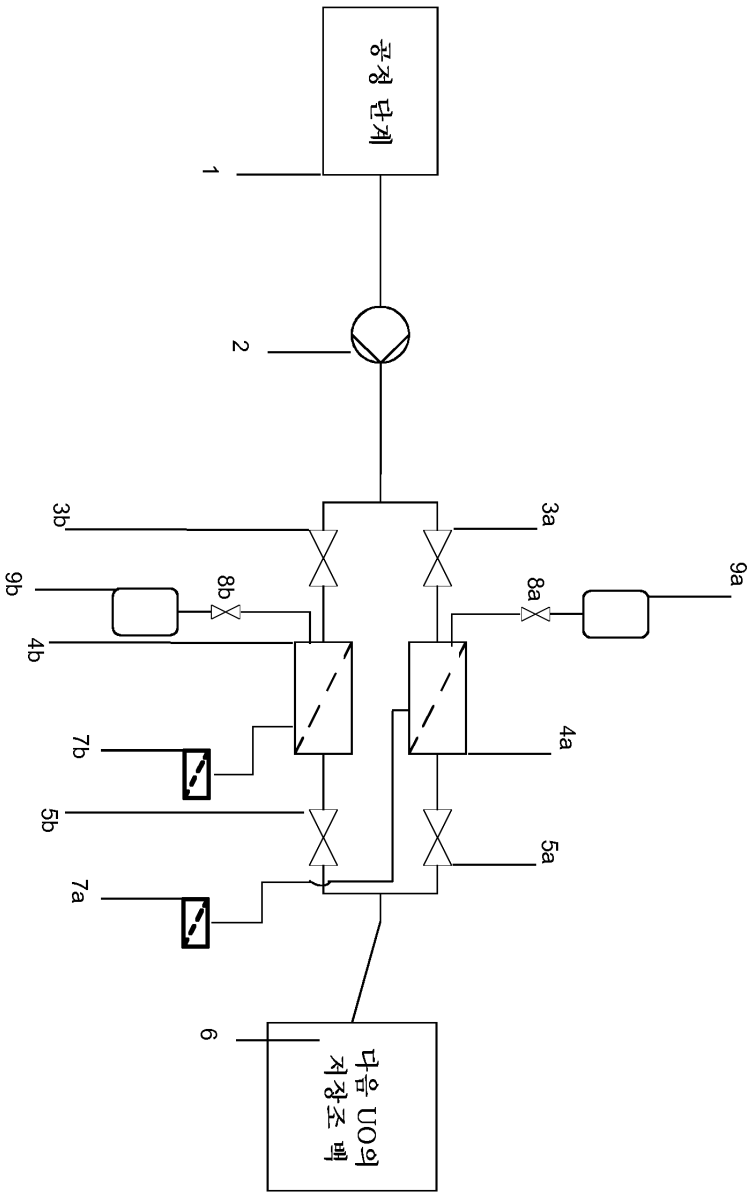
[0146] 크로마토그래피 단계(1)의 국소적 제어 시스템은 로드 단계 내의 칼럼 상으로 적용된 부피를 통합한다. 로드 부피가 아닌 칼럼 상으로 로딩된 단백질의 실제량이 유동 관통 시 CQA에 중요한 경우, UV 280 nm와 같은 온라인 검출 방법이 사용될 수 있다. 이어서, UV 신호는 생성물 유속과 통합된다. 통합된 값은 국소적 PCS로부터, 예를 들어 OPC 또는 프로피버스(Profibus) 프로토콜을 통해 지멘스(Siemens) PCS 7과 같은 중앙 제어 시스템으로 전송된다. 통합 값이 검증된 주요 샘플링 임계치, 즉, 샘플링 사양에 도달하면, 중앙 PCS에서 샘플링 루틴이 시작된다. 따라서, 미리 결정된 유효한 방식의 샘플링은 본 실시예에서 미리 결정된 UV 신호 임계치 값에 좌우된다. 여과 시스템 내의 홀드-업으로 인해 가능한 지연 시간 후, PCS는 밸브(8)를 개방하고 밸브(9)를 폐쇄한다.

[0147] 양쪽 밸브 모두는 공압 또는 전기 제어형 핀치 밸브일 수 있다.

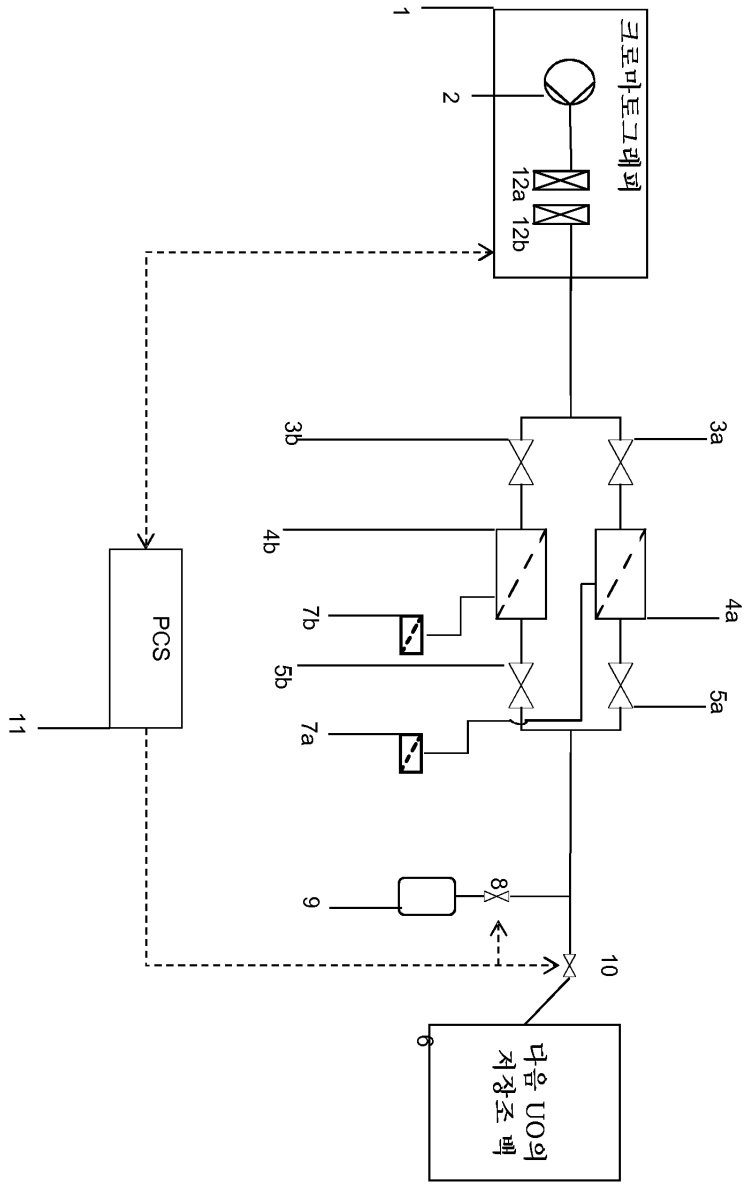
[0148] **본 출원을 초래한 연구는 프로젝트 "Wissensbasierte Prozessintelligenz-Neue Wege zu stabilen Bioprozessen Teilprojekt M"의 일부인 협정 031A616M에 의해 지원되었다.**

도면

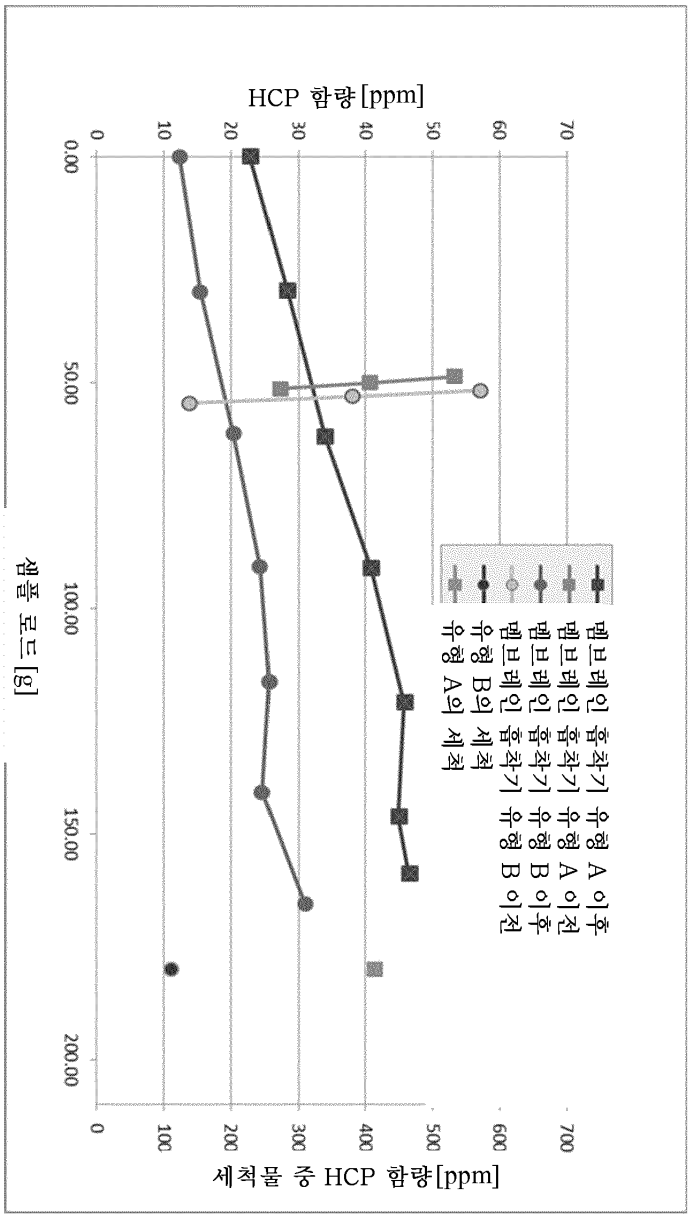
도면1



도면2


1
2
크로마토그래피
12a
12b
3b
3a
4b
4a
7b
5b
5a
7a
PCS
11
9
8
10
6
다음 UO의
저장조 백

도면3


HCP 함량[ppm]
샘플 로드 [g]
세척물 중 HCP 함량[ppm]
0.00
50.00
100.00
150.00
200.00
0
10
20
30
40
50
60
70
0
100
200
300
400
500
600
700
멤브레인 흡착기 유형 A 이후
멤브레인 흡착기 유형 A 이전
멤브레인 흡착기 유형 B 이후
멤브레인 흡착기 유형 B 이전
유형 B의 세척
유형 A의 세척