I767930

(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本 **(11)證書號數：TW I767930 B**

(45)公告日： 中華民國 111 (2022) 年 06 月 21 日

(21)申請案號：106127646 (22)申請日： 中華民國 106 (2017) 年 08 月 15 日

(51)Int. Cl.： ***C07K1/34 (2006.01)*** ***B01D35/02 (2006.01)***

(30)優先權：2016/08/16 美國 62/375,689

(71)申請人：美商健臻公司 (美國) GENZYME CORPORATION (US)
美國

(72)發明人：維特 塔爾 VETTER, TARL (US)；庫爾包區 麥可 COOLBAUGH, MICHAEL (US)；瓦利寇 維納 WARIKOO, VEENA (US)；康斯坦丁諾夫 康斯坦丁 KONSTANTINOV, KONSTANTIN (US)

(74)代理人：陳彥希；何愛文

(56)參考文獻：

US 2008/0207487A1

期刊 Grein et al., "Virus Separation Using Membranes", Animal Cell Biotechnology , 2014 , pp 459-491.

審查人員：方冠岳

申請專利範圍項數：19 項 圖式數：16 共 310 頁

(54)名稱

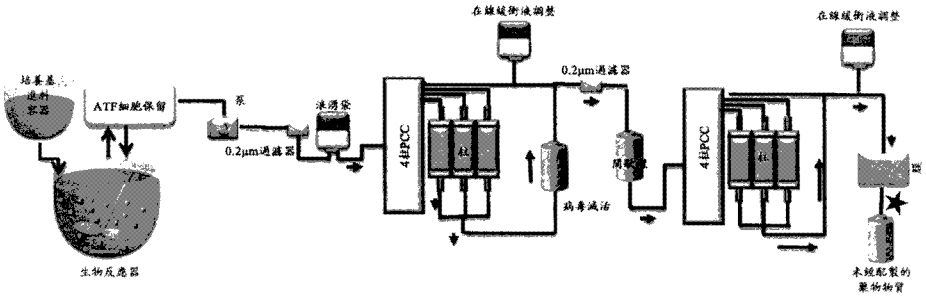
處理包括重組治療性蛋白之流體的方法及其用途

(57)摘要

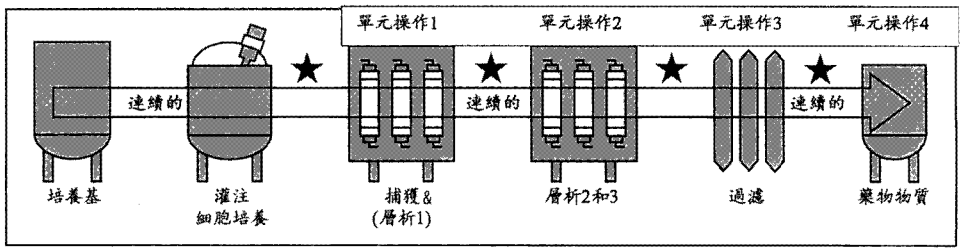
本發明提供處理流體的方法，包括使用包括切向流過濾(TFF)單元的環路系統和包括切向流病毒過濾(TFVF)單元的環路系統之一或二者。還提供了用於製備治療性蛋白藥物物質的整合和連續的方法，包括使用本申請提供的任何方法處理包括重組治療性蛋白的步驟。

Provided herein are methods of processing a fluid that include the use of one or both of a circuit system including a tangential flow filtration (TFF) unit and a circuit system including a tangential flow virus filtration (TFVF) unit. Also provided are integrated and continuous processes for manufacturing a therapeutic protein drug substance that include a step of processing a fluid including the recombinant therapeutic protein using any of the methods provided herein.

指定代表圖：


在線緩衝液調整
在線緩衝液調整
培養基
ATF細胞保留
泵
0.2μm過濾器
液滴器
4柱PCC
0.2μm過濾器
柱
病毒滅活
4柱PCC
柱
生物反應器
未經配製的
藥物物質

第1圖


單元操作1
單元操作2
單元操作3
單元操作4
連續的
連續的
連續的
培養基
灌注
細胞培養
捕獲&
(層析1)
層析2和3
過濾
藥物物質

第2圖

公告本

I767930

發明摘要

※ 申請案號：

※ 申請日：　　※IPC 分類：

【發明名稱】

處理包括重組治療性蛋白之流體的方法及其用途

METHODS OF PROCESSING A FLUID INCLUDING A RECOMBINANT THERAPEUTIC PROTEIN AND USE THEREOF

【中文】

本發明提供處理流體的方法，包括使用包括切向流過濾(TFF)單元的環路系統和包括切向流病毒過濾(TFVF)單元的環路系統之一或二者。還提供了用於製備治療性蛋白藥物物質的整合和連續的方法，包括使用本申請提供的任何方法處理包括重組治療性蛋白的步驟。

【英文】

Provided herein are methods of processing a fluid that include the use of one or both of a circuit system including a tangential flow filtration (TFF) unit and a circuit system including a tangential flow virus filtration (TFVF) unit. Also provided are integrated and continuous processes for manufacturing a therapeutic protein drug substance that include a step of processing a fluid including the recombinant therapeutic protein using any of the methods provided herein.

【代表圖】

【本案指定代表圖】：第1圖、第2圖。

【本代表圖之符號簡單說明】：

無。

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：

無。

發明專利說明書

（本說明書格式、順序，請勿任意更動）

【發明名稱】（中文/英文）

處理包括重組治療性蛋白之流體的方法及其用途

METHODS OF PROCESSING A FLUID INCLUDING A RECOMBINANT THERAPEUTIC PROTEIN AND USE THEREOF

【相關申請的交叉引用】

本申請案主張2016年8月16日提交的美國臨時專利申請系列編號62/375,689的優先權；將其全部內容通過提述併入本文。

【技術領域】

本發明涉及生物技術方法和重組蛋白的生物製造。

【先前技術】

含有編碼重組蛋白的核酸的哺乳動物細胞通常被用於生產在治療上或商業上重要的蛋白質。在目前多樣化產品線的環境中，生物技術公司有越來越多的動機去開發創新的解決方案用於高度靈活且成本有效地製造治療性蛋白藥物物質。

【發明內容】

本發明至少部分基於如下發現，包含切向流過濾(TFF)單元或切向流病毒過濾(TFVF)單元的環路系統能夠用於分別連續進行超濾/滲濾和病毒過濾的單元操作。鑑於這項發現，本文提供處理流體的方法，所述方法包括使用包含切向流過濾(TFF)單元的環路系統或包含切向流病毒過濾(TFVF)單元的環路系統中的一者或二者。還提供用於製造治療性蛋白藥物物質的整合(integrated)和連續方法，其包括使用本文提供的任何方法處理包含重組治療性蛋白的流體的步驟。

本文提供處理包含重組治療性蛋白的流體的方法，所述方法包括：

(a)提供包含(i)具有第一和第二入口的切向流過濾(TFF)單元和(ii)在所述第一和第二入口之間流體連通的管道的環路系統，其包含至少一個用於使流體流入和/或流出所述系統的端口，其中所述系統配置成使得流體能夠流動通過所述管道和所述TFF單元，並且不包含所述重組治療性蛋白的濾出液能夠從所述TFF單元收集；(b)在第一時間段內，使包含重組治療性蛋白的流體通過所述至少一個端口之一連續流入所述環路系統並且棄去不含所述重組治療性蛋白的濾出液；(c)在第二時間段內，使滲濾介質通過所述至少一個端口之一連續流入所述環路系統並且棄去不含所述重組治療性蛋白的濾出液；和(d)通過所述至少一個端口之一在所述第一時間段和第二時間段之後收集存在於所述環路系統中的包含所述重組治療性蛋白的流體。在這些方法的一些實施方式中，步驟(b)包括以約0.1 mL/分鐘至約100 L/分鐘(例如，約0.5 mL/分鐘至約200 mL/分鐘)的流速使所述流體連續流入所述環路系統。在這些方法的一些實施方式中，所述第一時間段為約0.1 分鐘至約12小時(例如，約10分鐘至約4小時)。在這些方法的一些實施方式中，步驟(b)中使所述流體流入所述環路系統是單向進行的。在這些方法的一些實施方式中，步驟(c)包括以約0.1 mL/分鐘至約100 L/分鐘(例如，約0.5 mL/分鐘至約200 mL/分鐘)的速率使所述滲濾介質連續流入所述環路系統。在這些方法的一些實施方式中，所述第二時間段為約5分鐘至約12小時(例如，約10分鐘至約4小時)。在這些方法的一些實施方式中，步驟(c)中使所述滲濾介質流入所述環路系統是單向進行的。在這些方法的一些實施方式中，管道具有約5 mm至約5 cm (例如，約10 mm 至約3 cm)的內徑。在這些方法的一些實施方式中，所述TFF單元包含表面積為約0.1 cm^2 至約50 cm^2 (例如，約0.5 cm^2 至約20 cm^2)的一個或多個切向過濾器。在這些方法的一些實施方式中，所述環路系統進一步包含置於所述管道中的泵(例如，蠕動泵)。

這些方法的一些實施方式進一步包括：(e)提供包含(i)具有第一和第二入口的切向流病毒過濾(TFVF)單元和(ii)在所述TFVF單元的第一和第二入口之間流體連通的管道的第二環路系統，其包含至少一個用於使流體流入和/或流出所述第二系統的端口，其中所述第二系統配置成使得流體能夠

流動通過所述管道和所述TFVF單元，並且所述重組治療性蛋白的濾出液能夠從所述TFVF單元收集；和(f)在第三時間段內，使用在所述系統的端口和所述第二系統的端口之間流體連通的連接管道使步驟(d)中收集的流體流入所述第二系統，並從所述TFVF單元收集包含所述重組治療性蛋白的濾出液。在這些方法的一些實施方式中，步驟(f)包括以約0.1 mL/分鐘至約100 L/分鐘(例如，約0.5 mL/分鐘至約200 mL/分鐘)的流速使所述流體流入所述第二系統。在這些方法的一些實施方式中，所述第三時間段為約0.1分鐘至約12小時(例如，約10分鐘至約2小時)。在這些方法的一些實施方式中，步驟(f)中使所述流體流入所述第二系統是單向進行的。在這些方法的一些實施方式中，在所述TFVF單元的第一和第二入口之間流體連通的管道具有約5 mm至約5 cm (例如，約10 mm 至約3 cm)的內徑。在這些方法的一些實施方式中，所述TFVF單元包含表面積為約0.1 cm^2 至約100 m^2 (例如，約0.5 cm^2 至約200 cm^2) 的一個或多個切向病毒過濾器。在這些方法的一些實施方式中，所述連接管道具有約5 mm至約10 cm (例如，約10 mm至約5 cm)的內徑。在這些方法的一些實施方式中，所述第二系統進一步包含置於在所述TFVF單元的第一和第二入口之間流體連通的管道中的泵(例如，蠕動泵)。

還提供用於處理包含重組治療性蛋白的流體的方法，其包括：(a)提供包含(i)具有第一和第二入口的切向流病毒過濾(TFVF)單元和(ii)在所述TFVF單元的第一和第二入口之間流體連通的管道的環路系統，其包含至少一個用於使流體流入和/或流出所述系統的端口，其中所述系統配置成使得流體能夠流動通過所述管道和所述TFVF單元，並且包含所述重組治療性蛋白的濾出液能夠從所述TFVF單元收集；(b)在一段時間內，使包含重組治療性蛋白的流體通過所述至少一個端口之一連續流入所述環路系統並且從所述TFVF單元收集包含所述重組治療性蛋白的濾出液。在這些方法的一些實施方式中，步驟(b)包括以約0.1 mL/分鐘至約100 L/分鐘(例如，約0.5 mL/分鐘至約200 mL/分鐘)的流速使所述流體連續流入所述系統。在這些方法的一些實施方式中，所述一段時間為約5分鐘至約12小時(例如，約10分鐘至約3小時)。在這些方法的一些實施方式中，步驟(b)中使所述流體

流入所述系統是單向進行的。在這些方法的一些實施方式中，所述管道具有約5 mm至約5 cm的內徑(例如，約10 mm至約3 cm)。在這些方法的一些實施方式中，所述TFVF單元包含表面積為約0.1 cm^2 至約100 m^2(例如，約0.5 cm^2 至約200 cm^2). 的一個或多個切向病毒過濾器。在這些方法的一些實施方式中，所述系統進一步包含置於所述管道中的泵(例如，蠕動泵)。

還提供用於製造治療性蛋白藥物物質的整合且連續的方法，所述方法包括：(a)提供基本上不含細胞的包含重組治療性蛋白的液體培養基，其中將所述液體培養基進料至第一多管柱層析系統(MCCS1)中；(b)使用所述MCCS1捕獲所述液體培養基中的所述重組治療性蛋白，其中將含有所述重組治療性蛋白的所述MCCS1的洗脫液連續進料至第二多管柱層析系統(MCCS2)；(c)使用所述MCCS2純化和精製(polish)所述重組治療性蛋白，其中來自所述MCCS2的洗脫液是包含所述重組治療性蛋白的流體；(d)使用本文所述的方法處理包含所述重組治療性蛋白的所述流體；其中所述方法是整合的，並且從所述液體培養基連續運行至收集的包含所述重組治療性蛋白的流體或濾出液，其中所述收集的流體或濾出液是治療性蛋白藥物物質。在這些方法的一些實施方式中，所述MCCS1進行至少兩個不同的單元操作。在這些方法的一些實施方式中，所述MCCS1進行捕獲所述重組治療性蛋白和滅活病毒的單元操作。在這些方法的一些實施方式中，所述MCCS1和/或所述MCCS2的使用涉及管柱切換。在這些方法的一些實施方式中，所述MCCS1和/或所述MCCS2利用至少兩個層析管柱。在這些方法的一些實施方式中，所述MCCS1和/或所述MCCS2利用至少兩個層析膜。在這些方法的一些實施方式中，所述MCCS1和/或所述MCCS2利用至少一個層析管柱和至少一個層析膜。在這些方法的一些實施方式中，所述MCCS1是第一週期性逆流層析系統(PCCS1)。在這些方法的一些實施方式中，所述PCCS1包含四管柱PCCS。在這些方法的一些實施方式中，所述四管柱PCCS平臺中的四個管柱中的三個進行從所述液體培養基捕獲所述重組治療性蛋白的單元操作。在這些方法的一些實施方式中，所述捕獲使用親和層析、陽離子交換層析、陰離子交換層析或分子篩層析進行。在這些

方法的一些實施方式中，親和層析使用選自下組的捕獲機制進行：蛋白A-結合捕獲機制、受質-結合捕獲機制、抗體-或抗體片段-結合捕獲機制、適體-結合捕獲機制和輔因子-結合捕獲機制。在這些方法的一些實施方式中，親和層析使用蛋白A結合捕獲機制進行，並且所述重組治療性蛋白是抗體或抗體片段。在這些方法的一些實施方式中，中將來自所述四管柱PCCS中的四個管柱中的三個的含有所述重組治療性蛋白的洗脫液進料至所述四管柱PCCS的第四個管柱。在這些方法的一些實施方式中，所述四管柱PCCS的第四個管柱通過將含有重組治療性蛋白的洗脫液保持在用於病毒滅活的低pH來進行滅活病毒的單元操作。在這些方法的一些實施方式中，所述四管柱PCCS的第四個管柱將含有重組蛋白的洗脫液在用於病毒滅活的低pH保持約10分鐘至約1.5小時的一段時間。

在這些方法的一些實施方式中，所述MCCS2是第二週期性逆流層析系統(PCCS2)。這些方法的一些實施方式進一步包括在將來自四管柱PCCS的第四管柱的洗脫液進料至PCCS2之前使用在線(in-line)緩衝液調整儲器調整來自所述四管柱PCCS的第四管柱的洗脫液的pH。在這些方法的一些實施方式中，所述PCCS2包含三個層析管柱和一個層析膜。在這些方法的一些實施方式中，所述PCCS2中的三個層析管柱通過陽離子或陰離子交換層析進行純化來自所述PCCS1的洗脫液的重組治療性蛋白的單元操作。在這些方法的一些實施方式中，將來自所述PCCS2中的三個層析管柱的洗脫液進料至所述PCCS2中的層析膜。在這些方法的一些實施方式中，所述PCCS2中的層析膜通過陽離子或陰離子交換層析進行精製來自所述PCCS2中的三個層析管柱的洗脫液中存在的重組治療性蛋白的單元操作。在這些方法的一些實施方式中，所述PCCS2中的層析膜通過陽離子交換層析進行精製的單元操作。在這些方法的一些實施方式中，所述層析膜的流過液(flow through)和洗出液(wash)包含所述重組治療性蛋白。這些方法的一些實施方式進一步包括在將來自PCCS2的三個管柱的洗脫液進料至PCCS2中的層析膜之前使用在線緩衝液調整來調整來自所述PCCS2的三個管柱的洗脫液的離子濃度。這些方法的一些實施方式進一步包括在PCCS1和PCCS2之間使用間歇罐。這些方法的一些實施方式進一步包括在將來自PCCS1的

洗脫液進料至PCCS2之前對其進行過濾。這些方法的一些實施方式進一步包括將所述治療性蛋白藥物物質配製成藥物組合物。在本文所述的任何方法或方法的一些事實方式中，所述重組治療性蛋白是抗體或抗體片段、酶、工程化蛋白或免疫原性蛋白或蛋白片段。

如用於本文，名詞之前的詞語“一/一個”代表一個或多個特定名詞。例如，短語“一/一個哺乳動物細胞”代表“一個或多個哺乳動物細胞”。

術語“切向流過濾單元”或“TFF單元”為本領域已知且意指包括至少一個外罩(如圓筒)和至少一個置於外罩中的交叉流(切向)過濾器進而大部分的過濾器表面處於與通過所述單元的流體(例如細胞培養物)流動平行位置的裝置。TFF單元為本領域已知且可商業獲得。外罩可包括第一入口/出口和第二入口/出口，其處於例如允許流體通過第一入口/出口、穿過至少一個交叉流過濾器並通過第二入口/出口的位置。在一些實例中，環路系統可包括多個TFF單元，例如串聯和/或並聯連接。舉例來說，包括兩個或多個TFF單元的環路系統可包括流體性連接系統中鄰近的TFF單元對的流體管道。在其他實例中，環路系統可包括兩組或多組由流體管道流體性連接的兩個或多個TFF單元。任何本文所述或本領域已知的TFF單元能夠接受第一流動方向和第二流動方向的流體。

術語“切向流病毒過濾單元”或“TFVF單元”為本領域已知且意指包括至少一個外罩(如圓筒)和至少一個置於外罩中的交叉流(切向)病毒過濾器進而大部分的病毒過濾器表面處於與通過所述單元的流體(例如細胞培養物)流動平行位置的裝置。外罩可包括第一入口/出口和第二入口/出口，其處於例如允許流體通過第一入口/出口、穿過至少一個交叉流過濾器並通過第二入口/出口的位置。在一些實例中，環路系統可包括多個TFVF單元，例如串聯和/或並聯連接。舉例來說，包括兩個或多個TFVF單元的環路系統可包括流體性連接系統中鄰近的TFVF單元對的流體管道。在其他實例中，環路系統可包括兩組或多組由流體管道流體性連接的兩個或多個TFVF單元。任何本文所述或本領域已知的TFVF單元能夠接受第一流動方向和第二流動方向的流體。

術語“交叉流過濾器”或“切向過濾器”為本領域已知且意指經設計進而其可位於TFF或TFVF單元中進而大部分的過濾器表面與流體(例如，包含重組治療性蛋白的流體)的流動(例如第一和第二流動方向)平行的過濾器。舉例來說，交叉流過濾器可具有任何允許切向流過濾的形狀，例如管狀或矩形形狀。特別有用的交叉流過濾器經設計使得當流體流過(例如，單向流過成雙向流過)交叉流過濾器的表面時，導致流體(例如細胞培養物)中具有少量的流體湍流或剪切應力。交叉流過濾器為商業可獲得，例如來自Sartorius、MembraPure、Millipore和Pall Corporation。

術語“低湍流泵”或“LTP”為本領域已知且意指可在系統或循環內以單方向(例如第一或第二流動方向)移動流體(例如，包含重組治療性蛋白的流體)或使流體(例如，包含重組治療性蛋白的流體)在系統內以兩個方向(第一和第二流動方向)可逆流動但不在流體(例如，包含重組治療性蛋白的流體)中引發大量的剪切應力或流體湍流的裝置。當將LTP用於使流體(例如，包含重組治療性蛋白的流體)以交替的第一和第二流動方向流動時，第二流動方向與第一流動方向大致相反。LTP的一個實例是蠕動泵。LTP的其他實例為本領域已知。

術語“哺乳動物細胞”意指任何來自或源自任何哺乳動物(例如人、倉鼠、小鼠、綠猴、大鼠、豬、牛或兔)的細胞。例如，哺乳動物細胞可以是永生化細胞。在一些實施方案中，哺乳動物細胞是分化的細胞。在一些實施方案中，哺乳動物細胞是未分化的細胞。本文記載了哺乳動物細胞的非限定性實例。哺乳動物細胞的其他實例是本領域已知的。

術語“基本上不含”意指至少或約90%不含(例如，至少或約95%、96%、97%、98%或至少或約99%不含，或約100%不含)指定物質(例如，哺乳動物細胞)的組合物(例如，液體培養基)。

術語“0.5x體積”意指約50%的體積。術語“0.6x體積”意指約60%的體積。類似地，0.7x、0.8x、0.9x和1.0x分別意指約70%、80%、90%或100%體積。

術語“培養”或“細胞培養”意指在一組受控的物理條件下維持或增殖哺乳動物細胞。

術語“哺乳動物細胞的培養物”意指含有在一組受控的物理條件下維持或增殖的多個哺乳動物細胞的液體培養基。

術語“液體培養基”意指包含允許細胞(例如，哺乳動物細胞)在體外生長或增殖的充足營養物的流體。例如，液體培養基可以包含下列中的一種或多種：胺基酸(例如，20種胺基酸)，嘌呤(例如，次黃嘌呤)，嘧啶(例如，胸苷)， 膽鹼，肌醇，硫胺，葉酸，生物素，鈣，煙醯胺，吡哆醇，核黃素，胸苷，氰鈷胺，丙酮酸鹽，硫辛酸，鎂，葡萄糖，鈉，鉀，鐵，銅，鋅和碳酸氫鈉。在一些實施方案中，液體培養基可以包含來自哺乳動物的血清。在一些實施方案中，液體培養基不包含血清或來自哺乳動物的別的提取物(限定的液體培養基)。在一些實施方案中，液體培養基可以包含痕量金屬、哺乳動物生長激素和/或哺乳動物生長因子。液體培養基的另一實例是基本培養基(minimal medium) (例如，僅包含無機鹽、碳源和水的培養基)。本文描述了液體培養基的非限定性實例。液體培養基的其他實例是本領域已知的並且是商業上可以獲得的。液體培養基可以包含任何密度的哺乳動物細胞。例如，如用於本文，從生物反應器去除的一定體積的液體培養基可以基本上不含哺乳動物細胞

術語“無動物來源組分的液體培養基”意指不含任何來源於哺乳動物的組分(例如，蛋白質或血清)的液體培養基。

術語“無血清的液體培養基”意指不含哺乳動物血清的液體培養基。

術語“含血清的液體培養基”意指含有哺乳動物血清的液體培養基。

術語“化學上限定的液體培養基”是技術術語並且意指其中全部化學組分已知的液體培養基。例如，化學上限定的液體培養基不含胎牛血清、牛血清白蛋白或人血清白蛋白，因為這些製備物通常含有白蛋白和脂質的複雜混合。

術語“無蛋白液體培養基”意指不含任何蛋白質(例如，任何可檢測的蛋白質)的液體培養基。

術語“攪拌(agitation)”意指攪動或以其他方式移動生物反應器中的

一部分液體培養基。進行攪拌從而例如增加生物反應器中所述液體液體培養基的溶解O_2濃度。攪拌可以使用任何本領域已知的方法進行，例如，儀器或槳葉(propeller)。能夠用於對生物反應器中的一部分液體培養基進行攪拌的例示性裝置和方法是本領域已知的。

術語“治療性蛋白藥物物質”意指重組蛋白(例如，免疫球蛋白、蛋白片段、工程化蛋白或酶)，其已經從污染性蛋白質、脂質和核酸(例如，液體培養基中存在的或來自宿主細胞(例如，來自哺乳動物、酵母或細菌宿主細胞)的污染性蛋白質、脂質和核酸)和生物污染物(例如，病毒和細菌污染物)充分純化或分離，並且可以配製成藥劑而不用任何進一步的實質性純化和/或去污染步驟。

術語“整合的方法”意指使用合作發揮功能以實現特定結果(例如，從液體培養基生成治療性蛋白藥物物質)的結構元件進行的方法。

術語“連續的方法”意指連續進料流體通過至少系統的一部分的方法。例如，在任何本文所述的例示性連續生物製造系統中，在其處於操作中的同時將含有重組治療性蛋白的液體培養基連續進料至所述系統中並且將治療性蛋白藥物物質送出所述系統。在另一實例中，連續的方法是從生物反應器連續進料含有重組治療性蛋白的液體培養基通過第一MCCS的方法。連續的方法的另一實例是從生物反應器連續進料含有重組治療性蛋白的液體培養基通過第一和第二MCCS的方法。其他的實例包括連續進料含有重組治療性蛋白的液體培養基通過第一MCCS的方法，連續進料含有重組治療性蛋白的液體培養基通過第一和第二MCCS的方法，或連續進料含有重組治療性蛋白的流體通過第二MCCS的方法。

術語“免疫球蛋白”意指含有免疫球蛋白(例如，可變結構域序列、框架序列或恒定結構域序列)的至少15個胺基酸(例如，至少20、30、40、50、60、70、80、90或100個胺基酸)的胺基酸序列的多肽。免疫球蛋白可以例如包括輕鏈免疫球蛋白的至少15個胺基酸，例如，重鏈免疫球蛋白的至少15個胺基酸。免疫球蛋白可以是分離的抗體(例如，IgG、IgE、IgD、IgA或IgM)。免疫球蛋白可以是IgG的亞類(例如，IgG1、IgG2、IgG3或IgG4)。免疫球蛋白可以是抗體片段，例如，Fab 片段、$F(ab')_2$片段或

scFv片段。免疫球蛋白也可以是雙特異性抗體或三特異性抗體，或二聚體、三聚體或多聚體抗體，或雙抗體、Affibody®或Nanobody®。免疫球蛋白也可以是含有至少一個免疫球蛋白結構域(例如，融合蛋白)的工程化蛋白。本文描述了免疫球蛋白的非限定性實例並且免疫球蛋白的其他實例是本領域已知的。

術語“蛋白片段”或“多肽片段”意指多肽序列中長度為至少或約4個胺基酸、至少或約5個胺基酸、至少或約6個胺基酸、至少或約7個胺基酸、至少或約8個胺基酸、至少或約9個胺基酸、至少或約10個胺基酸、至少或約11個胺基酸、至少或約12個胺基酸、至少或約13個胺基酸、至少或約14個胺基酸、至少或約15個胺基酸、至少或約16個胺基酸、至少或約17個胺基酸、至少或約18個胺基酸、至少或約19個胺基酸或至少或約20個胺基酸或超過20個胺基酸的一部分。重組蛋白片段可以使用本文所述的任何方法產生。

術語“工程化蛋白”意指不是生物體(例如，哺乳動物)內存在的內源核酸天然編碼的多肽。工程化蛋白的實例包括酶(例如，具有導致工程化酶的穩定性和/或催化活性增加的一個或多個胺基酸取代、缺失、插入或添加)、融合蛋白、抗體(例如，二價抗體、三價抗體或雙抗體)，和包括至少一個重組支架序列的抗原結合蛋白。

術語“多柱層析系統”或“MCCS”意指總共兩個或更多個相互連接或切換的層析管柱和/或層析膜的系統。多柱層析系統的非限定性實例是含有總共兩個或更多個相互連接或切換的層析管柱和/或層析膜的週期性逆流層析系統(PCC)。多柱層析系統的其他實例在本文描述並且是本領域已知的。

術語“捕獲”意指為了從液體培養基或稀釋的液體培養基中存在的一種或多種其他組分(例如，培養基蛋白或一種或多種哺乳動物細胞中存在的或從哺乳動物細胞分泌的其他組分(例如，DNA、RNA或其他蛋白質))部分純化或分離(例如，至少或約5%，例如，至少或約10%、15%、20%、25%、30%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或至少或約95%純的，按重量計)、濃縮並穩定化重組治療性蛋

白而進行的步驟。通常，捕獲使用結合重組治療性蛋白的樹脂進行(例如，通過使用親和層析)。本文描述了用於從液體培養基或稀釋的液體培養基捕獲重組治療性蛋白的非限定性方法，並且其他方法是本領域已知的。可以使用至少一個層析管柱和/或層析膜(例如，本文所述的任何層析管柱和/或層析膜)從液體培養基捕獲重組治療性蛋白。

術語“純化”意指為了將重組治療性蛋白從一種或多種其他雜質(例如，大塊雜質(bulk impurities))或含有重組治療性蛋白的流體中存在的組分(例如，液體培養基蛋白或一種或多種哺乳動物細胞中存在的或從哺乳動物細胞分泌的其他組分(例如，DNA、RNA、其他蛋白質、內毒素、病毒等))分離而進行的步驟。例如，純化可以在初始捕獲步驟的過程中或之後進行。純化可以使用結合重組治療性蛋白或污染物的層析樹脂、膜或任何其他固體支持物進行(例如，通過使用親和層析、疏水相互作用層析、陰離子或陽離子交換層析或分子篩層析)。可以使用至少一種層析管柱和/或層析膜(例如，本文所述的任何層析管柱或層析膜)從包括重組治療性蛋白的流體純化重組蛋白。

術語“精製”是技術術語並且意指為了從接近最終期望純度的含有重組治療性蛋白的流體去除殘餘的痕量或小量污染物或雜質而進行的步驟。例如，精製可以通過使含有重組治療性蛋白的流體通過層析管柱或膜吸附劑來進行，所述層析管柱或膜吸附劑選擇性結合目標重組治療性蛋白或含有重組治療性蛋白的流體中存在的小量污染物或雜質。在這樣的實例中，層析管柱或膜吸附劑的洗脫液/濾出液包括所述重組治療性蛋白。

術語“洗脫液/濾出液”是技術術語並且意指從層析管柱或層析膜排出的含有可檢測量的重組治療性蛋白的流體。

術語“過濾”意指從液體(例如，液體培養基或本文所述任何系統或方法中存在的流體)去除至少部分(例如，至少80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%)不想要的生物污染物(例如，哺乳動物細胞、細菌、酵母細胞、病毒或分枝桿菌)和/或顆粒物質(例如，沉澱的蛋白質)。

術語“分泌的蛋白質”或“分泌的重組蛋白”意指當在哺乳動物細胞內翻譯時原始含有至少一個分泌信號序列並且至少部分通過哺乳動物細

胞中對分泌信號序列的酶促切割至少部分分泌至細胞外空間(例如，液體培養基)中的蛋白質(例如，重組蛋白)。本領域技術人員會理解“分泌的”蛋白質不需要完全從細胞脫離即可被認為是分泌的蛋白質。

術語“灌注生物反應器”意指含有在第一液體培養基中的多個細胞(例如，哺乳動物細胞)的生物反應器，其中培養所述生物反應器中存在的細胞包括週期性或連續去除第一液體培養基並同時或在稍後不久添加基本上相同體積的第二液體培養基至所述生物反應器。在一些實例中，在培養期過程中在漸進的時間段內(例如，約24小時的時間段、約1分鐘至約24小時的時間段或大於24小時的時間段)在去除和添加的第一培養基的體積方面存在漸進變化(例如，增加或減少) (例如，以天為基礎培養基再補料速率)。每天去除和替換的培養基比例可以依賴於培養的特定細胞、初始接種密度和特定時間的細胞密度變化。“RV”或“反應器體積”意指在培養過程開始時存在的培養基體積(例如，接種後存在的培養基總體積)。

術語“補料分批生物反應器”是技術術語並且意指含有在第一液體培養基中的多個細胞(例如，哺乳動物細胞)的生物反應器，其中培養所述生物反應器中存在的細胞包括週期性或連續添加第二液體培養基至所述第一液體培養基，而不從細胞培養物實質性或顯著去除所述第一液體培養基或第二液體培養基。第二液體培養基可以與第一液體培養基相同。在補料分批培養的一些實例中，第二液體培養基是第一液體培養基的濃縮形式。在補料分批培養的一些實例中，第二液體培養基作為乾粉添加。

術語“澄清的液體培養基”意指從細菌或酵母細胞培養物獲得的、基本上不含(例如，至少80%、85%、90%、92%、94%、96%、98%或99%不含)細菌或酵母細胞的液體培養基。

術語“單元操作”是技術術語並且意指可以在從液體培養基製造治療性蛋白藥物物質的方法中進行的功能性步驟。例如，操作的一單元可以是過濾(例如，從含有重組治療性蛋白的流體去除污染細菌、酵母、病毒或分枝桿菌，和/或顆粒物質)、捕獲、表位標簽去除、純化、保持或儲存、精製、病毒滅活、調節含有重組治療性蛋白的流體的離子濃度和/或pH和去除不想要的鹽。

“比生產率”或“SPR”是技術術語並且意指每哺乳動物細胞每天產生的重組治療性蛋白的質量或酶活性。重組治療性抗體的SPR經常以質量/細胞/天測量。重組治療性酶的SPR經常以單位/細胞/天或(單位/質量)/細胞/天測量。

“體積生產率”或“VPR”是技術術語並且意指每體積的培養物(例如每L的生物反應器、容器或管體積)每天產生的重組治療性蛋白的質量或酶活性。重組治療性抗體的VPR經常以質量/L/天測量。重組治療性酶的VPR經常以單位/L/天或質量/L/天測量。

除非另行定義，否則本文使用的任何技術和科學術語與本發明所屬領域的普通技術人員通常理解的具有含義相同。本文描述了用於在本發明中使用的方法和材料；其他本領域已知的合適的方法和材料也可以使用。所述材料、方法和實例只是例示性的，而不旨在進行限制。本文提及的全部公開文本、專利申請、專利、序列、數據庫條目和其他參考文件通過提述以其整體併入。如有衝突，以包括定義在內的本說明書為准。

本發明的其他特徵和優勢將由下文的詳述和附圖並由申請專利範圍變得顯而易見。

【圖式簡單說明】

第1圖是一示意圖，顯示了與灌注培養生物反應器連接的雙PCCS製造系統，其導致治療性蛋白藥物物質的連續製造。星號指示出在這種例示性製造系統中可以設置包括切向流過濾(TFF)單元的環路系統(例如，本文所述的任何包括TFF單元的環路系統)和包括切向流病毒過濾(TFVF)單元的環路系統(例如，本文所述的任何包括TFVF單元的環路系統)之一或二者的例示性位置。

第2圖是一示意圖，顯示了與灌注培養生物反應器連接的製造系統，其導致治療性蛋白藥物物質的連續製造。星號指示出在這種例示性製造系統中可以設置包括TFF單元的環路系統(例如，本文所述的任何包括TFF單元的環路系統)和包括切向流病毒過濾(TFVF)單元的環路系統(例如，本文所述的任何包括TFVF單元的環路系統)之一或二者的例示性位置。

第3圖是含有三個層析管柱的PCC系統循環的圖。在循環開始時，將進料溶液加載至柱1上，流過液進入廢料直到產物突破發生(步驟1)。此時，將來自柱1的流過液引導至柱2以捕獲來自柱1的未結合的重組治療性蛋白(步驟2)。一旦柱1被完全加載，當下就將進料引導加載至柱2，同時清洗、洗脫、再生並重新平衡柱1用於下一循環(步驟3和4)。當下柱2經歷步驟3-5，其與柱1的步驟1-3相同。最終，柱3經歷步驟5-6，與柱1和柱2相同。一旦全部三個管柱都完成了這些步驟，就從柱1重新開始循環。

第4圖是一示意圖，示範了基於-UV的柱切換原理。T1指定了-UV達到預定閾值水平的時間。一旦達到了這一閾值水平，就將來自柱1的流過液引導至柱2上，而非引導至廢料。T2指定了產物將柱飽和的時間。對於T1和T2的-UV值是方法特異性的。

第5圖是包括切向流過濾單元的環路系統在第一時間段期間的示意圖(在使包括重組治療性蛋白的流體連續流過進入所述系統(“轉移”)並且棄去不包括重組治療性蛋白的濾出液(“滲透液”)時)(左圖)，和顯示在所述第一時間段期間隨著時間(h)變化的質量流量(g/h)的圖(右圖)。在所述第一時間段期間將所述重組治療性蛋白保持在所述環路系統內並且再循環通過所述環路系統(“保留物(retentate)”)。

第6圖是包括切向流過濾單元的環路系統在第二時間段期間的示意圖(在使滲濾介質連續流過進入所述系統(“DF緩衝液”)並且棄去不包括重組治療性蛋白的濾出液(“滲透液”)時)(左圖)，和顯示在所述第二時間段期間隨著時間(h)變化的質量流量(g/h)的圖(右圖)。在所述第二時間段期間將所述重組治療性蛋白保持在所述環路系統內並且再循環通過所述環路系統(“保留物(retentate)”)。

第7圖是闡釋使用包括切向流過濾單元的例示性環路系統對包括重組治療性蛋白的流體進行超濾/滲濾的結果的圖。顯示了包括切向流過濾單元的環路系統隨著時間變化的流量(LMH)、重組治療性蛋白的濃縮倍數(倍數)、環路系統中流體的體積、滲透體積(diavolume)和跨膜壓力(TMP)。

第8圖是闡釋使用包括切向流過濾單元的例示性環路系統對包括重組治療性蛋白的流體進行超濾/滲濾的結果的圖。顯示了包括切向流過濾單元

的環路系統隨著時間變化的流量(LMH)、重組治療性蛋白的濃縮倍數(倍數)、環路系統中流體的體積、滲透體積和跨膜壓力(TMP)。

第9圖是闡釋使用包括切向流過濾單元的例示性環路系統對包括重組治療性蛋白的流體進行超濾/滲濾的結果的圖。顯示了包括切向流過濾單元的環路系統隨著時間變化的流量(LMH)、重組治療性蛋白的濃縮倍數(倍數)、環路系統中流體的體積、滲透體積和跨膜壓力(TMP)。

第10圖是在將包括重組治療性蛋白的流體連續流入所述系統(“來自UF”)和連續收集包括重組治療性蛋白的濾出液(“VF產物”)時包括切向流病毒過濾單元的環路系統的示意圖。

第11圖是顯示包括切向流病毒過濾單元的例示性環路系統的示意圖。

第12圖是顯示獲得自使用包括切向流病毒過濾單元的環路系統進行病毒過濾的數據的圖。黑色線條代表壓力(psi)而灰色線條代表滲透液的質量(kg)，其隨著時間變化。

第13圖是闡釋使用包括TFVF單元的例示性環路系統進行從重組人抗體(mAb)對鼠類細小病毒(MMV)進行病毒過濾的結果的圖，其使用Planova™ 20N過濾器在12 psi以及從1-2 mL/min變化的再循環速率進行。顯示了2.5小時期間包括TFVF單元的環路系統的質量和壓力概貌。

第14圖是闡釋使用包括TFVF單元的例示性環路系統進行從重組人抗體(mAb)對鼠類細小病毒(MMV)進行連續病毒過濾的結果的圖，其使用Planova™ 20N過濾器在6.6 psi以及2 mL/min的變化的再循環速率進行。顯示了22小時期間TFVF單元的質量和壓力概貌。

第15圖是闡釋使用包括TFVF單元的例示性環路系統進行從重組人抗體(mAb)對鼠類細小病毒(MMV)進行伴隨再進料的連續病毒過濾的結果的圖，其使用Planova™ BioEx (3 cm^2 面積)在19.8 psi以及1 mL/min的變化的再循環速率進行。顯示了29小時期間TFVF單元的質量和壓力概貌。

第16圖是闡釋使用包括TFVF單元的例示性環路系統進行從重組人抗體(mAb)對鼠類細小病毒(MMV)進行伴隨再進料的連續病毒過濾的結果的圖，其使用Planova™ BioEx (10 cm^2 面積)在19.8 psi以及3 mL/min的變化的再循環速率進行。顯示了29小時期間TFVF單元的質量和壓力概貌。

【實施方式】

發明詳述

本文提供處理包含重組治療性蛋白的流體的方法，所述方法包括：(a)提供包含(i)具有第一和第二入口的切向流過濾(TFF)單元和(ii)在所述第一和第二入口之間流體連通的管道的環路系統，其包含至少一個用於使流體流入和/或流出所述系統的端口，其中所述系統配置成使得流體能夠流動通過所述管道和所述TFF單元，並且不包含所述重組治療性蛋白的濾出液能夠從所述TFF單元收集；(b)在第一時間段內，使包含重組治療性蛋白的流體通過所述至少一個端口之一連續流入所述環路系統並且棄去不含所述重組治療性蛋白的濾出液；(c)在第二時間段內，使滲濾介質通過所述至少一個端口之一連續流入所述環路系統並且棄去不含所述重組治療性蛋白的濾出液；和(d)通過所述至少一個端口之一在所述第一時間段和第二時間段之後收集存在於所述環路系統中的包含所述重組治療性蛋白的流體。

還提供用於處理包含重組治療性蛋白的流體的方法，其包括：(a)提供包含(i)具有第一和第二入口的切向流病毒過濾(TFVF)單元和(ii)在所述TFVF單元的第一和第二入口之間流體連通的管道的環路系統，其包含至少一個用於使流體流入和/或流出所述系統的端口，其中所述系統配置成使得流體能夠流動通過所述管道和所述TFVF單元，並且包含所述重組治療性蛋白的濾出液能夠從所述TFVF單元收集；和(b)在一段時間內，使包含重組治療性蛋白的流體通過所述至少一個端口之一連續流入所述環路系統並且從所述TFVF單元收集包含所述重組治療性蛋白的濾出液。正如本領域技術人員能夠理解的，這些方法的一些實施方式包括在包括TFVF單元的環路系統的管道中再循環沒有通過所述TFVF單元中的一個或多個切向病毒過濾器的任何包含重組治療性蛋白的流體(例如，當一新體積的包含重組治療性蛋白的流體流入包含TFVF單元的環路系統的管道中時充當緩衝液)。

還提供用於製造治療性蛋白藥物物質的整合且連續的方法，所述方法包括：(a)提供基本上不含細胞的包含重組治療性蛋白的液體培養基，其中將所述液體培養基進料至第一多管柱層析系統(MCCS1)中；(b)使用所

述MCCS1捕獲所述液體培養基中的所述重組治療性蛋白，其中將含有所述重組治療性蛋白的所述MCCS1的洗脫液連續進料至第二多管柱層析系統(MCCS2)；(c)使用所述MCCS2純化和精製所述重組治療性蛋白，其中來自所述MCCS2的洗脫液是包含所述重組治療性蛋白的流體；(d)使用本文所述的任何方法處理包含所述重組治療性蛋白的所述流體；其中所述方法是整合的，並且從所述液體培養基連續運行至收集的包含所述重組治療性蛋白的流體或濾出液，其中所述收集的流體或濾出液是治療性蛋白藥物物質。

包括使用包括TFF單元的環路系統的處理包含重組治療性蛋白的流體的方法

本文提供處理包含重組治療性蛋白的流體的方法，所述方法包括：(a)提供環路系統，其包含(a)具有第一和第二入口的切向流過濾(TFF)單元和(ii)在所述第一和第二入口之間流體連通的管道的環路系統，其包含至少一個用於使流體流入和/或流出所述系統的端口，(b)在第一時間段內，使包含重組治療性蛋白的流體通過所述至少一個端口之一連續流入所述環路系統並且棄去不含所述重組治療性蛋白的濾出液；(c)在第二時間段內，使滲濾介質通過所述至少一個端口之一連續流入所述環路系統並且棄去不含所述重組治療性蛋白的濾出液；和(d)通過所述至少一個端口之一在所述第一時間段和第二時間點之後收集存在於所述環路系統中的包含所述重組治療性蛋白的流體。正如本領域技術人員能夠理解的，這些方法的一些實施方式包括在包括TFF單元的環路系統的管道中再循環沒有通過所述TFF單元中的一個或多個切向過濾器的任何包含重組治療性蛋白的流體(例如，當一新體積的包含重組治療性蛋白的流體和/或滲濾介質流入包含TFF單元的環路系統的管道中時充當緩衝液)。

在一些實施方案中，所述TFF單元包括一個、兩個、三個、四個、五個、六個、七個、八個、九個、十個、十一個或十二個切向過濾器。在這些方法的一些實例中，所述TFF單元可以包括一個或多個切向過濾器，其具有約0.05 cm^2至約50 cm^2、約48 cm^2、約46 cm^2、約44 cm^2、約42 cm^2、約40 cm^2、約38 cm^2、約36 cm^2、約34 cm^2、約32 cm^2、約30 cm^2、約28

cm^2、約26 cm^2、約24 cm^2、約22 cm^2、約20 cm^2、約18 cm^2、約16 cm^2、約14 cm^2、約12 cm^2、約10 cm^2、約9.5 cm^2、約9.0 cm^2、約8.5 cm^2、約8.0 cm^2、約7.5 cm^2、約7.0 cm^2、約6.5 cm^2、約6.0 cm^2、約5.5 cm^2、約5.0 cm^2、約4.5 cm^2、約4.0 cm^2、約3.5 cm^2、約3.0 cm^2、約2.5 cm^2、約2.0 cm^2、約1.5 cm^2、約1.0 cm^2、約0.5 cm^2或約0.1 cm^2；約0.1 cm^2至約50 cm^2、約48 cm^2、約46 cm^2、約44 cm^2、約42 cm^2、約40 cm^2、約38 cm^2、約36 cm^2、約34 cm^2、約32 cm^2、約30 cm^2、約28 cm^2、約26 cm^2、約24 cm^2、約22 cm^2、約20 cm^2、約18 cm^2、約16 cm^2、約14 cm^2、約12 cm^2、約10 cm^2、約9.5 cm^2、約9.0 cm^2、約8.5 cm^2、約8.0 cm^2、約7.5 cm^2、約7.0 cm^2、約6.5 cm^2、約6.0 cm^2、約5.5 cm^2、約5.0 cm^2、約4.5 cm^2、約4.0 cm^2、約3.5 cm^2、約3.0 cm^2、約2.5 cm^2、約2.0 cm^2、約1.5 cm^2、約1.0 cm^2或約0.5 cm^2；約0.5 cm^2至約50 cm^2、約48 cm^2、約46 cm^2、約44 cm^2、約42 cm^2、約40 cm^2、約38 cm^2、約36 cm^2、約34 cm^2、約32 cm^2、約30 cm^2、約28 cm^2、約26 cm^2、約24 cm^2、約22 cm^2、約20 cm^2、約18 cm^2、約16 cm^2、約14 cm^2、約12 cm^2、約10 cm^2、約9.5 cm^2、約9.0 cm^2、約8.5 cm^2、約8.0 cm^2、約7.5 cm^2、約7.0 cm^2、約6.5 cm^2、約6.0 cm^2、約5.5 cm^2、約5.0 cm^2、約4.5 cm^2、約4.0 cm^2、約3.5 cm^2、約3.0 cm^2、約2.5 cm^2、約2.0 cm^2、約1.5 cm^2或約1.0 cm^2；約1.0 cm^2至約50 cm^2、約48 cm^2、約46 cm^2、約44 cm^2、約42 cm^2、約40 cm^2、約38 cm^2、約36 cm^2、約34 cm^2、約32 cm^2、約30 cm^2、約28 cm^2、約26 cm^2、約24 cm^2、約22 cm^2、約20 cm^2、約18 cm^2、約16 cm^2、約14 cm^2、約12 cm^2、約10 cm^2、約9.5 cm^2、約9.0 cm^2、約8.5 cm^2、約8.0 cm^2、約7.5 cm^2、約7.0 cm^2、約6.5 cm^2、約6.0 cm^2、約5.5 cm^2、約5.0 cm^2、約4.5 cm^2、約4.0 cm^2、約3.5 cm^2、約3.0 cm^2、約2.5 cm^2、約2.0 cm^2、約1.5 cm^2；約1.5 cm^2至約50 cm^2、約48 cm^2、約46 cm^2、約44 cm^2、約42 cm^2、約40 cm^2、約38 cm^2、約36 cm^2、約34 cm^2、約32 cm^2、約30 cm^2、約28 cm^2、約26 cm^2、約24 cm^2、約22 cm^2、約20 cm^2、約18 cm^2、約16 cm^2、約14 cm^2、約12 cm^2、約10 cm^2、約9.5 cm^2、約9.0 cm^2、約8.5 cm^2、約8.0 cm^2、約7.5 cm^2、約7.0 cm^2、約6.5 cm^2、約6.0 cm^2、約5.5 cm^2、約5.0 cm^2、約4.5 cm^2、約4.0

cm^2、約3.5 cm^2、約3.0 cm^2、約2.5 cm^2或約2.0 cm^2；約2.0 cm^2至約50 cm^2、約48 cm^2、約46 cm^2、約44 cm^2、約42 cm^2、約40 cm^2、約38 cm^2、約36 cm^2、約34 cm^2、約32 cm^2、約30 cm^2、約28 cm^2、約26 cm^2、約24 cm^2、約22 cm^2、約20 cm^2、約18 cm^2、約16 cm^2、約14 cm^2、約12 cm^2、約10 cm^2、約9.5 cm^2、約9.0 cm^2、約8.5 cm^2、約8.0 cm^2、約7.5 cm^2、約7.0 cm^2、約6.5 cm^2、約6.0 cm^2、約5.5 cm^2、約5.0 cm^2、約4.5 cm^2、約4.0 cm^2、約3.5 cm^2、約3.0 cm^2或約2.5 cm^2；約2.5 cm^2至約50 cm^2、約48 cm^2、約46 cm^2、約44 cm^2、約42 cm^2、約40 cm^2、約38 cm^2、約36 cm^2、約34 cm^2、約32 cm^2、約30 cm^2、約28 cm^2、約26 cm^2、約24 cm^2、約22 cm^2、約20 cm^2、約18 cm^2、約16 cm^2、約14 cm^2、約12 cm^2、約10 cm^2、約9.5 cm^2、約9.0 cm^2、約8.5 cm^2、約8.0 cm^2、約7.5 cm^2、約7.0 cm^2、約6.5 cm^2、約6.0 cm^2、約5.5 cm^2、約5.0 cm^2、約4.5 cm^2、約4.0 cm^2、約3.5 cm^2或約3.0 cm^2；約3.0 cm^2至約50 cm^2、約48 cm^2、約46 cm^2、約44 cm^2、約42 cm^2、約40 cm^2、約38 cm^2、約36 cm^2、約34 cm^2、約32 cm^2、約30 cm^2、約28 cm^2、約26 cm^2、約24 cm^2、約22 cm^2、約20 cm^2、約18 cm^2、約16 cm^2、約14 cm^2、約12 cm^2、約10 cm^2、約9.5 cm^2、約9.0 cm^2、約8.5 cm^2、約8.0 cm^2、約7.5 cm^2、約7.0 cm^2、約6.5 cm^2、約6.0 cm^2、約5.5 cm^2、約5.0 cm^2、約4.5 cm^2或約4.0 cm^2；約4.0 cm^2至約50 cm^2、約48 cm^2、約46 cm^2、約44 cm^2、約42 cm^2、約40 cm^2、約38 cm^2、約36 cm^2、約34 cm^2、約32 cm^2、約30 cm^2、約28 cm^2、約26 cm^2、約24 cm^2、約22 cm^2、約20 cm^2、約18 cm^2、約16 cm^2、約14 cm^2、約12 cm^2、約10 cm^2、約9.5 cm^2、約9.0 cm^2、約8.5 cm^2、約8.0 cm^2、約7.5 cm^2、約7.0 cm^2、約6.5 cm^2、約6.0 cm^2、約5.5 cm^2、約5.0 cm^2、約4.5 cm^2或約4.0 cm^2；約4.0 cm^2至約50 cm^2、約48 cm^2、約46 cm^2、約44 cm^2、約42 cm^2、約40 cm^2、約38 cm^2、約36 cm^2、約34 cm^2、約32 cm^2、約30 cm^2、約28 cm^2、約26 cm^2、約24 cm^2、約22 cm^2、約20 cm^2、約18 cm^2、約16 cm^2、約14 cm^2、約12 cm^2、約10 cm^2、約9.5 cm^2、約9.0 cm^2、約8.5 cm^2、約8.0 cm^2、約7.5 cm^2、約7.0 cm^2、約6.5 cm^2、約6.0 cm^2、約5.5 cm^2、約5.0 cm^2或約4.5 cm^2；約4.5 cm^2至約50 cm^2、約48 cm^2、約46 cm^2、約44 cm^2、

約42 cm^2、約40 cm^2、約38 cm^2、約36 cm^2、約34 cm^2、約32 cm^2、約30 cm^2、約28 cm^2、約26 cm^2、約24 cm^2、約22 cm^2、約20 cm^2、約18 cm^2、約16 cm^2、約14 cm^2、約12 cm^2、約10 cm^2、約9.5 cm^2、約9.0 cm^2、約8.5 cm^2、約8.0 cm^2、約7.5 cm^2、約7.0 cm^2、約6.5 cm^2、約6.0 cm^2、約5.5 cm^2或約5.0 cm^2；約5.0 cm^2至約50 cm^2、約48 cm^2、約46 cm^2、約44 cm^2、約42 cm^2、約40 cm^2、約38 cm^2、約36 cm^2、約34 cm^2、約32 cm^2、約30 cm^2、約28 cm^2、約26 cm^2、約24 cm^2、約22 cm^2、約20 cm^2、約18 cm^2、約16 cm^2、約14 cm^2、約12 cm^2、約10 cm^2、約9.5 cm^2、約9.0 cm^2、約8.5 cm^2、約8.0 cm^2、約7.5 cm^2、約7.0 cm^2、約6.5 cm^2、約6.0 cm^2或約5.5 cm^2；約5.5 cm^2至約50 cm^2、約48 cm^2、約46 cm^2、約44 cm^2、約42 cm^2、約40 cm^2、約38 cm^2、約36 cm^2、約34 cm^2、約32 cm^2、約30 cm^2、約28 cm^2、約26 cm^2、約24 cm^2、約22 cm^2、約20 cm^2、約18 cm^2、約16 cm^2、約14 cm^2、約12 cm^2、約10 cm^2、約9.5 cm^2、約9.0 cm^2、約8.5 cm^2、約8.0 cm^2、約7.5 cm^2、約7.0 cm^2或約6.5 cm^2；約6.5 cm^2至約50 cm^2、約48 cm^2、約46 cm^2、約44 cm^2、約42 cm^2、約40 cm^2、約38 cm^2、約36 cm^2、約34 cm^2、約32 cm^2、約30 cm^2、約28 cm^2、約26 cm^2、約24 cm^2、約22 cm^2、約20 cm^2、約18 cm^2、約16 cm^2、約14 cm^2、約12 cm^2、約10 cm^2、約9.5 cm^2、約9.0 cm^2、約8.5 cm^2、約8.0 cm^2、約7.5 cm^2或約7.0 cm^2；約7.0 cm^2至約50 cm^2、約48 cm^2、約46 cm^2、約44 cm^2、約42 cm^2、約40 cm^2、約38 cm^2、約36 cm^2、約34 cm^2、約32 cm^2、約30 cm^2、約28 cm^2、約26 cm^2、約24 cm^2、約22 cm^2、約20 cm^2、約18 cm^2、約16 cm^2、約14 cm^2、約12 cm^2、約10 cm^2、約9.5 cm^2、約9.0 cm^2、約8.5 cm^2、約8.0 cm^2或約7.5 cm^2；約7.5 cm^2至約50 cm^2、約48 cm^2、約46 cm^2、約44 cm^2、約42 cm^2、約40 cm^2、約38 cm^2、約36 cm^2、約34 cm^2、約32 cm^2、約30 cm^2、約28 cm^2、約26 cm^2、約24 cm^2、

約22 cm^2、約20 cm^2、約18 cm^2、約16 cm^2、約14 cm^2、約12 cm^2、約10 cm^2、約9.5 cm^2、約9.0 cm^2、約8.5 cm^2或約8.0 cm^2；約8.0 cm^2至約50 cm^2、約48 cm^2、約46 cm^2、約44 cm^2、約42 cm^2、約40 cm^2、約38 cm^2、約36 cm^2、約34 cm^2、約32 cm^2、約30 cm^2、約28 cm^2、約26 cm^2、約24 cm^2、約22 cm^2、約20 cm^2、約18 cm^2、約16 cm^2、約14 cm^2、約12 cm^2、約10 cm^2、約9.5 cm^2、約9.0 cm^2或約8.5 cm^2；約8.5 cm^2至約50 cm^2、約48 cm^2、約46 cm^2、約44 cm^2、約42 cm^2、約40 cm^2、約38 cm^2、約36 cm^2、約34 cm^2、約32 cm^2、約30 cm^2、約28 cm^2、約26 cm^2、約24 cm^2、約22 cm^2、約20 cm^2、約18 cm^2、約16 cm^2、約14 cm^2、約12 cm^2、約10 cm^2、約9.5 cm^2或約9.0 cm^2；約9.0 cm^2至約50 cm^2、約48 cm^2、約46 cm^2、約44 cm^2、約42 cm^2、約40 cm^2、約38 cm^2、約36 cm^2、約34 cm^2、約32 cm^2、約30 cm^2、約28 cm^2、約26 cm^2、約24 cm^2、約22 cm^2、約20 cm^2、約18 cm^2、約16 cm^2、約14 cm^2、約12 cm^2、約10 cm^2或約9.5 cm^2；約9.5 cm^2至約50 cm^2、約48 cm^2、約46 cm^2、約44 cm^2、約42 cm^2、約40 cm^2、約38 cm^2、約36 cm^2、約34 cm^2、約32 cm^2、約30 cm^2、約28 cm^2、約26 cm^2、約24 cm^2、約22 cm^2、約20 cm^2、約18 cm^2、約16 cm^2、約14 cm^2或約12 cm^2；約12 cm^2至約50 cm^2、約48 cm^2、約46 cm^2、約44 cm^2、約42 cm^2、約40 cm^2、約38 cm^2、約36 cm^2、約34 cm^2、約32 cm^2、約30 cm^2、約28 cm^2、約26 cm^2、約24 cm^2、約22 cm^2、約20 cm^2、約18 cm^2、約16 cm^2或約14 cm^2；約14 cm^2至約50 cm^2、約48 cm^2、約46 cm^2、約44 cm^2、約42 cm^2、約40 cm^2、約38 cm^2、約36 cm^2、約34 cm^2、約32 cm^2、約30 cm^2、約28 cm^2、約26 cm^2、約24 cm^2、約22 cm^2、約20 cm^2、約18 cm^2或約16 cm^2；約16 cm^2至約50 cm^2、約48 cm^2、約46 cm^2、約44 cm^2、約42 cm^2、約40 cm^2、約38 cm^2、約36 cm^2、約34 cm^2、約32 cm^2、約30 cm^2、約28 cm^2、約26 cm^2、約24 cm^2、約22 cm^2、約20 cm^2或約18 cm^2；約18 cm^2至約50 cm^2、約48 cm^2、約46 cm^2、約44 cm^2、約42 cm^2、約40 cm^2、約38 cm^2、約36

cm^2、約34 cm^2、約32 cm^2、約30 cm^2、約28 cm^2、約26 cm^2、約24 cm^2、約22 cm^2或約20 cm^2；約20 cm^2至約50 cm^2、約48 cm^2、約46 cm^2、約44 cm^2、約42 cm^2、約40 cm^2、約38 cm^2、約36 cm^2、約34 cm^2、約32 cm^2、約30 cm^2、約28 cm^2、約26 cm^2、約24 cm^2或約22 cm^2；約22 cm^2至約50 cm^2、約48 cm^2、約46 cm^2、約44 cm^2、約42 cm^2、約40 cm^2、約38 cm^2、約36 cm^2、約34 cm^2、約32 cm^2、約30 cm^2、約28 cm^2、約26 cm^2或約24 cm^2；約24 cm^2至約50 cm^2、約48 cm^2、約46 cm^2、約44 cm^2、約42 cm^2、約40 cm^2、約38 cm^2、約36 cm^2、約34 cm^2、約32 cm^2、約30 cm^2、約28 cm^2或約26 cm^2；約26 cm^2至約50 cm^2、約48 cm^2、約46 cm^2、約44 cm^2、約42 cm^2、約40 cm^2、約38 cm^2、約36 cm^2、約34 cm^2、約32 cm^2、約30 cm^2或約28 cm^2；約28 cm^2至約50 cm^2、約48 cm^2、約46 cm^2、約44 cm^2、約42 cm^2、約40 cm^2、約38 cm^2、約36 cm^2、約34 cm^2、約32 cm^2或約30 cm^2；約30 cm^2至約50 cm^2、約48 cm^2、約46 cm^2、約44 cm^2、約42 cm^2、約40 cm^2、約38 cm^2、約36 cm^2、約34 cm^2或約32 cm^2；約32 cm^2至約50 cm^2、約48 cm^2、約46 cm^2、約44 cm^2、約42 cm^2、約40 cm^2、約38 cm^2、約36 cm^2或約34 cm^2；約34 cm^2至約50 cm^2、約48 cm^2、約46 cm^2、約44 cm^2、約42 cm^2、約40 cm^2、約38 cm^2或約36 cm^2；約36 cm^2至約50 cm^2、約48 cm^2、約46 cm^2、約44 cm^2、約42 cm^2、約40 cm^2或約38 cm^2；約38 cm^2至約50 cm^2、約48 cm^2、約46 cm^2、約44 cm^2、約42 cm^2或約40 cm^2；約40 cm^2至約50 cm^2、約48 cm^2、約46 cm^2、約44 cm^2或約42 cm^2；約42 cm^2至約50 cm^2、約48 cm^2、約46 cm^2或約44 cm^2；約44 cm^2至約50 cm^2、約48 cm^2或約46 cm^2；約46 cm^2至約50 cm^2 或約48 cm^2；或約48 cm^2至約50 cm^2的表面積。

在一些實施方案中，所述TFF單元中的一個或多個切向過濾器可以具有約1 kDa至約25,000 kDa、約24,000 kDa、約22,000 kDa、約20,000 kDa、約18,000 kDa、約16,000 kDa、約14,000 kDa、約12,000 kDa、約10,000 kDa、約8,000 kDa、約6,000 kDa、約4,000 kDa、約2,000 kDa、約1,800 kDa、約1,600 kDa、約1,400 kDa、約1,200 kDa、約1,000 kDa、約950 kDa、約900 kDa、約850 kDa、約800 kDa、約750 kDa、約700 kDa、約650 kDa、約600 kDa、約550 kDa、約500 kDa、約450 kDa、

約400 kDa、約350 kDa、約300 kDa、約250 kDa、約200 kDa、約150 kDa、約100 kDa、約80 kDa、約60 kDa、約40 kDa、約20 kDa、約10 kDa或約5 kDa；約5 kDa至約25,000 kDa、約24,000 kDa、約22,000 kDa、約20,000 kDa、約18,000 kDa、約16,000 kDa、約14,000 kDa、約12,000 kDa、約10,000 kDa、約8,000 kDa、約6,000 kDa、約4,000 kDa、約2,000 kDa、約1,800 kDa、約1,600 kDa、約1,400 kDa、約1,200 kDa、約1,000 kDa、約950 kDa、約900 kDa、約850 kDa、約800 kDa、約750 kDa、約700 kDa、約650 kDa、約600 kDa、約550 kDa、約500 kDa、約450 kDa、約400 kDa、約350 kDa、約300 kDa、約250 kDa、約200 kDa、約150 kDa、約100 kDa、約80 kDa、約60 kDa、約40 kDa、約20 kDa或約10 kDa；約10 kDa至約25,000 kDa、約24,000 kDa、約22,000 kDa、約20,000 kDa、約18,000 kDa、約16,000 kDa、約14,000 kDa、約12,000 kDa、約10,000 kDa、約8,000 kDa、約6,000 kDa、約4,000 kDa、約2,000 kDa、約1,800 kDa、約1,600 kDa、約1,400 kDa、約1,200 kDa、約1,000 kDa、約950 kDa、約900 kDa、約850 kDa、約800 kDa、約750 kDa、約700 kDa、約650 kDa、約600 kDa、約550 kDa、約500 kDa、約450 kDa、約400 kDa、約350 kDa、約300 kDa、約250 kDa、約200 kDa、約150 kDa、約100 kDa、約80 kDa、約60 kDa、約40 kDa或約20 kDa；約20 kDa至約25,000 kDa、約24,000 kDa、約22,000 kDa、約20,000 kDa、約18,000 kDa、約16,000 kDa、約14,000 kDa、約12,000 kDa、約10,000 kDa、約8,000 kDa、約6,000 kDa、約4,000 kDa、約2,000 kDa、約1,800 kDa、約1,600 kDa、約1,400 kDa、約1,200 kDa、約1,000 kDa、約950 kDa、約900 kDa、約850 kDa、約800 kDa、約750 kDa、約700 kDa、約650 kDa、約600 kDa、約550 kDa、約500 kDa、約450 kDa、約400 kDa、約350 kDa、約300 kDa、約250 kDa、約200 kDa、約150 kDa、約100 kDa、約80 kDa、約60 kDa或約40 kDa；約40 kDa至約25,000 kDa、約24,000 kDa、約22,000 kDa、約20,000 kDa、約18,000 kDa、約16,000 kDa、約14,000 kDa、約12,000 kDa、約10,000 kDa、約8,000 kDa、約6,000 kDa、約4,000 kDa、約2,000 kDa、約1,800 kDa、約1,600 kDa、

約1,400 kDa、約1,200 kDa、約1,000 kDa、約950 kDa、約900 kDa、約850 kDa、約800 kDa、約750 kDa、約700 kDa、約650 kDa、約600 kDa、約550 kDa、約500 kDa、約450 kDa、約400 kDa、約350 kDa、約300 kDa、約250 kDa、約200 kDa、約150 kDa、約100 kDa、約80 kDa或約60 kDa；約60 kDa至約25,000 kDa、約24,000 kDa、約22,000 kDa、約20,000 kDa、約18,000 kDa、約16,000 kDa、約14,000 kDa、約12,000 kDa、約10,000 kDa、約8,000 kDa、約6,000 kDa、約4,000 kDa、約2,000 kDa、約1,800 kDa、約1,600 kDa、約1,400 kDa、約1,200 kDa、約1,000 kDa、約950 kDa、約900 kDa、約850 kDa、約800 kDa、約750 kDa、約700 kDa、約650 kDa、約600 kDa、約550 kDa、約500 kDa、約450 kDa、約400 kDa、約350 kDa、約300 kDa、約250 kDa、約200 kDa、約150 kDa、約100 kDa或約80 kDa；約80 kDa至約25,000 kDa、約24,000 kDa、約22,000 kDa、約20,000 kDa、約18,000 kDa、約16,000 kDa、約14,000 kDa、約12,000 kDa、約10,000 kDa、約8,000 kDa、約6,000 kDa、約4,000 kDa、約2,000 kDa、約1,800 kDa、約1,600 kDa、約1,400 kDa、約1,200 kDa、約1,000 kDa、約950 kDa、約900 kDa、約850 kDa、約800 kDa、約750 kDa、約700 kDa、約650 kDa、約600 kDa、約550 kDa、約500 kDa、約450 kDa、約400 kDa、約350 kDa、約300 kDa、約250 kDa、約200 kDa、約150 kDa或約100 kDa；約100 kDa至約25,000 kDa、約24,000 kDa、約22,000 kDa、約20,000 kDa、約18,000 kDa、約16,000 kDa、約14,000 kDa、約12,000 kDa、約10,000 kDa、約8,000 kDa、約6,000 kDa、約4,000 kDa、約2,000 kDa、約1,800 kDa、約1,600 kDa、約1,400 kDa、約1,200 kDa、約1,000 kDa、約950 kDa、約900 kDa、約850 kDa、約800 kDa、約750 kDa、約700 kDa、約650 kDa、約600 kDa、約550 kDa、約500 kDa、約450 kDa、約400 kDa、約350 kDa、約300 kDa、約250 kDa、約200 kDa或約150 kDa；約150 kDa至約25,000 kDa、約24,000 kDa、約22,000 kDa、約20,000 kDa、約18,000 kDa、約16,000 kDa、約14,000 kDa、約12,000 kDa、約10,000 kDa、約8,000 kDa、約6,000 kDa、約4,000 kDa、約2,000 kDa、約1,800 kDa、約1,600

kDa、約1,400 kDa、約1,200 kDa、約1,000 kDa、約950 kDa、約900 kDa、約850 kDa、約800 kDa、約750 kDa、約700 kDa、約650 kDa、約600 kDa、約550 kDa、約500 kDa、約450 kDa、約400 kDa、約350 kDa、約300 kDa、約250 kDa或約200 kDa；約200 kDa至約25,000 kDa、約24,000 kDa、約22,000 kDa、約20,000 kDa、約18,000 kDa、約16,000 kDa、約14,000 kDa、約12,000 kDa、約10,000 kDa、約8,000 kDa、約6,000 kDa、約4,000 kDa、約2,000 kDa、約1,800 kDa、約1,600 kDa、約1,400 kDa、約1,200 kDa、約1,000 kDa、約950 kDa、約900 kDa、約850 kDa、約800 kDa、約750 kDa、約700 kDa、約650 kDa、約600 kDa、約550 kDa、約500 kDa、約450 kDa、約400 kDa、約350 kDa、約300 kDa或約250 kDa；約250 kDa至約25,000 kDa、約24,000 kDa、約22,000 kDa、約20,000 kDa、約18,000 kDa、約16,000 kDa、約14,000 kDa、約12,000 kDa、約10,000 kDa、約8,000 kDa、約6,000 kDa、約4,000 kDa、約2,000 kDa、約1,800 kDa、約1,600 kDa、約1,400 kDa、約1,200 kDa、約1,000 kDa、約950 kDa、約900 kDa、約850 kDa、約800 kDa、約750 kDa、約700 kDa、約650 kDa、約600 kDa、約550 kDa、約500 kDa、約450 kDa、約400 kDa或約350 kDa；約300 kDa至約25,000 kDa、約24,000 kDa、約22,000 kDa、約20,000 kDa、約18,000 kDa、約16,000 kDa、約14,000 kDa、約12,000 kDa、約10,000 kDa、約8,000 kDa、約6,000 kDa、約4,000 kDa、約2,000 kDa、約1,800 kDa、約1,600 kDa、約1,400 kDa、約1,200 kDa、約1,000 kDa、約950 kDa、約900 kDa、約850 kDa、約800 kDa、約750 kDa、約700 kDa、約650 kDa、約600 kDa、約550 kDa、約500 kDa、約450 kDa或約350 kDa；約350 kDa至約25,000 kDa、約24,000 kDa、約22,000 kDa、約20,000 kDa、約18,000 kDa、約16,000 kDa、約14,000 kDa、約12,000 kDa、約10,000 kDa、約8,000 kDa、約6,000 kDa、約4,000 kDa、約2,000 kDa、約1,800 kDa、約1,600 kDa、約1,400 kDa、約1,200 kDa、約1,000 kDa、約950 kDa、約900 kDa、約850 kDa、約800 kDa、約750 kDa、約700 kDa、約650 kDa、約600 kDa、約550 kDa、約500 kDa、約450 kDa或

約400 kDa；約400 kDa至約25,000 kDa、約24,000 kDa、約22,000 kDa、約20,000 kDa、約18,000 kDa、約16,000 kDa、約14,000 kDa、約12,000 kDa、約10,000 kDa、約8,000 kDa、約6,000 kDa、約4,000 kDa、約2,000 kDa、約1,800 kDa、約1,600 kDa、約1,400 kDa、約1,200 kDa、約1,000 kDa、約950 kDa、約900 kDa、約850 kDa、約800 kDa、約750 kDa、約700 kDa、約650 kDa、約600 kDa、約550 kDa、約500 kDa或約450 kDa；約450 kDa至約25,000 kDa、約24,000 kDa、約22,000 kDa、約20,000 kDa、約18,000 kDa、約16,000 kDa、約14,000 kDa、約12,000 kDa、約10,000 kDa、約8,000 kDa、約6,000 kDa、約4,000 kDa、約2,000 kDa、約1,800 kDa、約1,600 kDa、約1,400 kDa、約1,200 kDa、約1,000 kDa、約950 kDa、約900 kDa、約850 kDa、約800 kDa、約750 kDa、約700 kDa、約650 kDa、約600 kDa、約550 kDa或約500 kDa；約500 kDa至約25,000 kDa、約24,000 kDa、約22,000 kDa、約20,000 kDa、約18,000 kDa、約16,000 kDa、約14,000 kDa、約12,000 kDa、約10,000 kDa、約8,000 kDa、約6,000 kDa、約4,000 kDa、約2,000 kDa、約1,800 kDa、約1,600 kDa、約1,400 kDa、約1,200 kDa、約1,000 kDa、約950 kDa、約900 kDa、約850 kDa、約800 kDa、約750 kDa、約700 kDa、約650 kDa、約600 kDa或約550 kDa；約550 kDa至約25,000 kDa、約24,000 kDa、約22,000 kDa、約20,000 kDa、約18,000 kDa、約16,000 kDa、約14,000 kDa、約12,000 kDa、約10,000 kDa、約8,000 kDa、約6,000 kDa、約4,000 kDa、約2,000 kDa、約1,800 kDa、約1,600 kDa、約1,400 kDa、約1,200 kDa、約1,000 kDa、約950 kDa、約900 kDa、約850 kDa、約800 kDa、約750 kDa、約700 kDa、約650 kDa或約600 kDa；約600 kDa至約25,000 kDa、約24,000 kDa、約22,000 kDa、約20,000 kDa、約18,000 kDa、約16,000 kDa、約14,000 kDa、約12,000 kDa、約10,000 kDa、約8,000 kDa、約6,000 kDa、約4,000 kDa、約2,000 kDa、約1,800 kDa、約1,600 kDa、約1,400 kDa、約1,200 kDa、約1,000 kDa、約950 kDa、約900 kDa、約850 kDa、約800 kDa、約750 kDa、約700 kDa或約650 kDa；約650 kDa至約25,000 kDa、約24,000

kDa、約22,000 kDa、約20,000 kDa、約18,000 kDa、約16,000 kDa、約14,000 kDa、約12,000 kDa、約10,000 kDa、約8,000 kDa、約6,000 kDa、約4,000 kDa、約2,000 kDa、約1,800 kDa、約1,600 kDa、約1,400 kDa、約1,200 kDa、約1,000 kDa、約950 kDa、約900 kDa、約850 kDa、約800 kDa、約750 kDa或約700 kDa；約700 kDa至約25,000 kDa、約24,000 kDa、約22,000 kDa、約20,000 kDa、約18,000 kDa、約16,000 kDa、約14,000 kDa、約12,000 kDa、約10,000 kDa、約8,000 kDa、約6,000 kDa、約4,000 kDa、約2,000 kDa、約1,800 kDa、約1,600 kDa、約1,400 kDa、約1,200 kDa、約1,000 kDa、約950 kDa、約900 kDa、約850 kDa、約800 kDa或約750 kDa；約750 kDa至約25,000 kDa、約24,000 kDa、約22,000 kDa、約20,000 kDa、約18,000 kDa、約16,000 kDa、約14,000 kDa、約12,000 kDa、約10,000 kDa、約8,000 kDa、約6,000 kDa、約4,000 kDa、約2,000 kDa、約1,800 kDa、約1,600 kDa、約1,400 kDa、約1,200 kDa、約1,000 kDa、約950 kDa、約900 kDa、約850 kDa或約800 kDa；約800 kDa至約25,000 kDa、約24,000 kDa、約22,000 kDa、約20,000 kDa、約18,000 kDa、約16,000 kDa、約14,000 kDa、約12,000 kDa、約10,000 kDa、約8,000 kDa、約6,000 kDa、約4,000 kDa、約2,000 kDa、約1,800 kDa、約1,600 kDa、約1,400 kDa、約1,200 kDa、約1,000 kDa、約950 kDa、約900 kDa或約850 kDa；約850 kDa至約25,000 kDa、約24,000 kDa、約22,000 kDa、約20,000 kDa、約18,000 kDa、約16,000 kDa、約14,000 kDa、約12,000 kDa、約10,000 kDa、約8,000 kDa、約6,000 kDa、約4,000 kDa、約2,000 kDa、約1,800 kDa、約1,600 kDa、約1,400 kDa、約1,200 kDa、約1,000 kDa或約950 kDa；約950 kDa至約25,000 kDa、約24,000 kDa、約22,000 kDa、約20,000 kDa、約18,000 kDa、約16,000 kDa、約14,000

kDa、約12,000 kDa、約10,000 kDa、約8,000 kDa、約6,000 kDa、約4,000 kDa、約2,000 kDa、約1,800 kDa、約1,600 kDa、約1,400 kDa、約1,200 kDa或約1,000 kDa；約1,000 kDa至約25,000 kDa、約24,000 kDa、約22,000 kDa、約20,000 kDa、約18,000 kDa、約16,000 kDa、約14,000 kDa、約12,000 kDa、約10,000 kDa、約8,000 kDa、約6,000 kDa、約4,000 kDa、約2,000 kDa、約1,800 kDa、約1,600 kDa、約1,400 kDa或約1,200 kDa；約1,200 kDa至約25,000 kDa、約24,000 kDa、約22,000 kDa、約20,000 kDa、約18,000 kDa、約16,000 kDa、約14,000 kDa、約12,000 kDa、約10,000 kDa、約8,000 kDa、約6,000 kDa、約4,000 kDa、約2,000 kDa、約1,800 kDa、約1,600 kDa或約1,400 kDa；約1,400 kDa至約25,000 kDa、約24,000 kDa、約22,000 kDa、約20,000 kDa、約18,000 kDa、約16,000 kDa、約14,000 kDa、約12,000 kDa、約10,000 kDa、約8,000 kDa、約6,000 kDa、約4,000 kDa、約2,000 kDa、約1,800 kDa或約1,600 kDa；約1,600 kDa至約25,000 kDa、約24,000 kDa、約22,000 kDa、約20,000 kDa、約18,000 kDa、約16,000 kDa、約14,000 kDa、約12,000 kDa、約10,000 kDa、約8,000 kDa、約6,000 kDa、約4,000 kDa、約2,000 kDa或約1,800 kDa；約1,800 kDa至約25,000 kDa、約24,000 kDa、約22,000 kDa、約20,000 kDa、約18,000 kDa、約16,000 kDa、約14,000 kDa、約12,000 kDa、約10,000 kDa、約8,000 kDa、約6,000 kDa、約4,000 kDa或約2,000 kDa；約2,000 kDa至約25,000 kDa、約24,000 kDa、約22,000 kDa、約20,000 kDa、約18,000 kDa、約16,000 kDa、約14,000 kDa、約12,000 kDa、約10,000 kDa、約8,000 kDa、約6,000 kDa或約4,000 kDa；約4,000 kDa至約25,000 kDa、約24,000 kDa、約22,000 kDa、約20,000 kDa、約18,000 kDa、約16,000 kDa、約14,000 kDa、約12,000 kDa、約10,000 kDa、約8,000 kDa或約6,000 kDa；約6,000 kDa至約25,000 kDa、約24,000 kDa、約22,000 kDa、約20,000 kDa、約18,000 kDa、約16,000 kDa、約14,000 kDa、約12,000 kDa、約10,000 kDa或約8,000 kDa；約8,000 kDa至約25,000 kDa、約24,000 kDa、約22,000 kDa、約20,000 kDa、約18,000 kDa、約

16,000 kDa、約14,000 kDa、約12,000 kDa或約10,000 kDa；約10,000 kDa至約25,000 kDa、約24,000 kDa、約22,000 kDa、約20,000 kDa、約18,000 kDa、約16,000 kDa、約14,000 kDa或約12,000 kDa；約12,000 kDa至約25,000 kDa、約24,000 kDa、約22,000 kDa、約20,000 kDa、約18,000 kDa、約16,000 kDa或約14,000 kDa；約14,000 kDa至約25,000 kDa、約24,000 kDa、約22,000 kDa、約20,000 kDa、約18,000 kDa或約16,000 kDa；約16,000 kDa至約25,000 kDa、約24,000 kDa、約22,000 kDa、約20,000 kDa或約18,000 kDa；約18,000 kDa至約25,000 kDa、約24,000 kDa、約22,000 kDa或約20,000 kDa；約20,000 kDa至約25,000 kDa、約24,000 kDa或約22,000 kDa；約22,000 kDa至約25,000 kDa 或約24,000 kDa；或約23,000 kDa至約25,000 kDa的分子量截留值。在一些實施方案中，所述TFF單元包括一個或多個切向過濾器，其例如纖維素(例如，再生纖維素)或聚醚碸製成。可以在所述TFF單元中使用的一個或多個切向過濾器的非限定性實例可從Millipore以商業方法獲得(例如，Ultracel®和Biomax®)。其他能夠在所述TFF單元中使用的一個或多個切向過濾器的商業來源是本領域已知的。

管道可以是簡單管道例如生物相容性管道。有用的管道的非限制性實例包括矽橡膠、聚氨酯、聚二噁烷酮(PDO)、聚羥基烷酸酯、聚羥基丁酸酯、聚(癸二酸甘油酯)、聚乙醇酸交酯、聚交酯、聚己酸內酯或聚酸酐，或包括這些和/或其它聚合物的共聚物或衍生物。可替換地或除此此外，任何本文所述的管道可包括聚氯乙烯。管道可以是可焊接輸送管道。

在一些實施方案中，所述管道的內徑(internal diameter)可以為約5 mm至約50 mm、約48 mm、約46 mm、約44 mm、約42 mm、約40 mm、約38 mm、約36 mm、約34 mm、約32 mm、約30 mm、約28 mm、約26 mm、約24 mm、約22 mm、約20 mm、約18 mm、約16 mm、約14 mm、約12 mm、約10 mm、約8 mm或約6 mm；約6 mm至約50 mm、約48 mm、約46 mm、約44 mm、約42 mm、約40 mm、約38 mm、約36 mm、約34 mm、約32 mm、約30 mm、約28 mm、約26 mm、約24 mm、約22 mm、約20 mm、約18 mm、約16 mm、約14 mm、約12 mm、約10 mm或約8 mm；約8 mm至約50 mm、約48 mm、約

46 mm、約44 mm、約42 mm、約40 mm、約38 mm、約36 mm、約34 mm、約32 mm、約30 mm、約28 mm、約26 mm、約24 mm、約22 mm、約20 mm、約18 mm、約16 mm、約14 mm、約12 mm或約10 mm；約10 mm至約50 mm、約48 mm、約46 mm、約44 mm、約42 mm、約40 mm、約38 mm、約36 mm、約34 mm、約32 mm、約30 mm、約28 mm、約26 mm、約24 mm、約22 mm、約20 mm、約18 mm、約16 mm、約14 mm或約12 mm；約12 mm至約50 mm、約48 mm、約46 mm、約44 mm、約42 mm、約40 mm、約38 mm、約36 mm、約34 mm、約32 mm、約30 mm、約28 mm、約26 mm、約24 mm、約22 mm、約20 mm、約18 mm、約16 mm或約14 mm；約14 mm至約50 mm、約48 mm、約46 mm、約44 mm、約42 mm、約40 mm、約38 mm、約36 mm、約34 mm、約32 mm、約30 mm、約28 mm、約26 mm、約24 mm、約22 mm、約20 mm、約18 mm或約16 mm；約16 mm至約50 mm、約48 mm、約46 mm、約44 mm、約42 mm、約40 mm、約38 mm、約36 mm、約34 mm、約32 mm、約30 mm、約28 mm、約26 mm、約24 mm、約22 mm、約20 mm或約18 mm；約18 mm至約50 mm、約48 mm、約46 mm、約44 mm、約42 mm、約40 mm、約38 mm、約36 mm、約34 mm、約32 mm、約30 mm、約28 mm、約26 mm、約24 mm、約22 mm或約20 mm；約20 mm至約50 mm、約48 mm、約46 mm、約44 mm、約42 mm、約40 mm、約38 mm、約36 mm、約34 mm、約32 mm、約30 mm、約28 mm、約26 mm、約24 mm或約22 mm；約22 mm至約50 mm、約48 mm、約46 mm、約44 mm、約42 mm、約40 mm、約38 mm、約36 mm、約34 mm、約32 mm、約30 mm、約28 mm、約26 mm或約24 mm；約24 mm至約50 mm、約48 mm、約46 mm、約44 mm、約42 mm、約40 mm、約38 mm、約36 mm、約34 mm、約32 mm、約30 mm、約28 mm或約26 mm；約26 mm至約50 mm、約48 mm、約46 mm、約44 mm、約42 mm、約40 mm、約38 mm、約36 mm、約34 mm、約32 mm、約30 mm或約28 mm；約28 mm至約50 mm、約48 mm、約46 mm、約44 mm、約42 mm、約40 mm、約38 mm、約36 mm、約34 mm、約32 mm或約30 mm；約30 mm至約50 mm、約48 mm、約46 mm、約44 mm、約42 mm、約40 mm、約38 mm、約36 mm、約34 mm或約32 mm；約32 mm至約50 mm、約48 mm、約46 mm、約44 mm、約42 mm、約40 mm、約38 mm、約

36 mm或約34 mm；約34 mm至約50 mm、約48 mm、約46 mm、約44 mm、約42 mm、約40 mm、約38 mm或約36 mm；約36 mm至約50 mm、約48 mm、約46 mm、約44 mm、約42 mm、約40 mm,至約38 mm；約38 mm至約50 mm、約48 mm、約46 mm、約44 mm、約42 mm或約40 mm；約40 mm至約50 mm、約48 mm、約46 mm、約44 mm或約42 mm；約42 mm至約50 mm、約48 mm、約46 mm或約44 mm；約44 mm至約50 mm、約48 mm或約46 mm；約46 mm至約50 mm 或約48 mm；或約48 mm至約50 mm。

在一些實施方案中，所述管道的總長度為約1.0 cm至約75 cm、約70 cm、約65 cm、約60 cm、約55 cm、約50 cm、約45 cm、約40 cm、約35 cm、約30 cm、約25 cm、約20 cm、約18 cm、約16 cm、約14 cm、約12 cm、約10 cm、約8.0 cm、約6.0 cm、約4.0 cm或約2.0 cm；約2.0 cm至約75 cm、約70 cm、約65 cm、約60 cm、約55 cm、約50 cm、約45 cm、約40 cm、約35 cm、約30 cm、約25 cm、約20 cm、約18 cm、約16 cm、約14 cm、約12 cm、約10 cm、約8.0 cm、約6.0 cm或約4.0 cm；約4.0 cm至約75 cm、約70 cm、約65 cm、約60 cm、約55 cm、約50 cm、約45 cm、約40 cm、約35 cm、約30 cm、約25 cm、約20 cm、約18 cm、約16 cm、約14 cm、約12 cm、約10 cm、約8.0 cm或約6.0 cm；約6.0 cm至約75 cm、約70 cm、約65 cm、約60 cm、約55 cm、約50 cm、約45 cm、約40 cm、約35 cm、約30 cm、約25 cm、約20 cm、約18 cm、約16 cm、約14 cm、約12 cm、約10 cm或約8.0 cm；約8.0 cm至約75 cm、約70 cm、約65 cm、約60 cm、約55 cm、約50 cm、約45 cm、約40 cm、約35 cm、約30 cm、約25 cm、約20 cm、約18 cm、約16 cm、約14 cm、約12 cm或約10 cm；約10 cm至約75 cm、約70 cm、約65 cm、約60 cm、約55 cm、約50 cm、約45 cm、約40 cm、約35 cm、約30 cm、約25 cm、約20 cm、約18 cm、約16 cm、約14 cm或約12 cm；約12 cm至約75 cm、約70 cm、約65 cm、約60 cm、約55 cm、約50 cm、約45 cm、約40 cm、約35 cm、約30 cm、約25 cm、約20 cm、約18 cm、約16 cm或約14 cm；約14 cm至約75 cm、約70 cm、約65 cm、約60 cm、約55 cm、約50 cm、約45 cm、約40 cm、約35 cm、約30 cm、約25 cm、約20 cm、約18 cm或約16 cm；

約16 cm至約75 cm、約70 cm、約65 cm、約60 cm、約55 cm、約50 cm、約45 cm、約40 cm、約35 cm、約30 cm、約25 cm、約20 cm或約18 cm；約18 cm至約75 cm、約70 cm、約65 cm、約60 cm、約55 cm、約50 cm、約45 cm、約40 cm、約35 cm、約30 cm、約25 cm或約20 cm；約20 cm至約75 cm、約70 cm、約65 cm、約60 cm、約55 cm、約50 cm、約45 cm、約40 cm、約35 cm、約30 cm或約25 cm；約25 cm至約75 cm、約70 cm、約65 cm、約60 cm、約55 cm、約50 cm、約45 cm、約40 cm、約35 cm或約30 cm；約30 cm至約75 cm、約70 cm、約65 cm、約60 cm、約55 cm、約50 cm、約45 cm、約40 cm或約35 cm；約35 cm至約75 cm、約70 cm、約65 cm、約60 cm、約55 cm、約50 cm、約45 cm或約40 cm；約40 cm至約75 cm、約70 cm、約65 cm、約60 cm、約55 cm、約50 cm或約45 cm；約45 cm至約75 cm、約70 cm、約65 cm、約60 cm、約55 cm或約50 cm；約50 cm至約75 cm、約70 cm、約65 cm、約60 cm或約55 cm；約55 cm至約75 cm、約70 cm、約65 cm或約60 cm；約60 cm至約75 cm、約70 cm或約65 cm；約65 cm至約75 cm 或約70 cm；或約70 cm至約75 cm。

能夠用於所述環路系統中的其他管道的實例和管道的性質是本領域人員熟知的。

在一些實例中，所述環路系統包括一個、兩個、三個、四個或五個端口。在一些實例中，所述至少一個端口可以是閥門。在其他實例中，所述至少一個端口可以是注射端口或者可以具有帶肋螺紋(ribbed threading)。所述至少一個端口可以是任何類型的本領域公知的端口。

在一些實例中，所述環路系統可以進一步包括設置在所述管道中的泵(例如，低湍流泵，例如，蠕動泵)。

在一些實例中，步驟(b)包括使包含重組治療性蛋白的流體以如下速率連續流入(例如，單向流入或雙向流入)所述環路系統，所述速率為約0.05 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/

分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約24 mL/分鐘、約22 mL/分鐘、約20 mL/分鐘、約18 mL/分鐘、約16 mL/分鐘、約14 mL/分鐘、約12 mL/分鐘、約10 mL/分鐘、約9.5 mL/分鐘、約9.0 mL/分鐘、約8.5 mL/分鐘、約8.0 mL/分鐘、約7.5 mL/分鐘、約7.0 mL/分鐘、約6.5 mL/分鐘、約6.0 mL/分鐘、約5.5 mL/分鐘、約5.0 mL/分鐘、約4.5 mL/分鐘、約4.0 mL/分鐘、約3.5 mL/分鐘、約3.0 mL/分鐘、約2.5 mL/分鐘、約2.0 mL/分鐘、約1.5 mL/分鐘、約1.0 mL/分鐘、約0.5 mL/分鐘或約0.1 mL/分鐘；約0.1 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約24 mL/分鐘、約22 mL/分鐘、約20 mL/分鐘、約18 mL/分鐘、約16 mL/分鐘、約14 mL/分鐘、約12 mL/分鐘、約10 mL/分鐘、約9.5 mL/分鐘、約9.0 mL/分鐘、約8.5 mL/分鐘、約8.0 mL/分鐘、約7.5 mL/分鐘、約7.0 mL/分鐘、約6.5 mL/分鐘、約6.0 mL/分鐘、約5.5 mL/分鐘、約5.0 mL/分鐘、約4.5 mL/分鐘、約4.0 mL/分鐘、約3.5 mL/分鐘、約3.0 mL/分鐘、約2.5 mL/分鐘、約2.0 mL/分鐘、約1.5 mL/分鐘、約1.0 mL/分鐘或約0.5 mL/分鐘；約0.5 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400

mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約24 mL/分鐘、約22 mL/分鐘、約20 mL/分鐘、約18 mL/分鐘、約16 mL/分鐘、約14 mL/分鐘、約12 mL/分鐘、約10 mL/分鐘、約9.5 mL/分鐘、約9.0 mL/分鐘、約8.5 mL/分鐘、約8.0 mL/分鐘、約7.5 mL/分鐘、約7.0 mL/分鐘、約6.5 mL/分鐘、約6.0 mL/分鐘、約5.5 mL/分鐘、約5.0 mL/分鐘、約4.5 mL/分鐘、約4.0 mL/分鐘、約3.5 mL/分鐘、約3.0 mL/分鐘、約2.5 mL/分鐘、約2.0 mL/分鐘、約1.5 mL/分鐘或約1.0 mL/分鐘；約1.0 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約24 mL/分鐘、約22 mL/分鐘、約20 mL/分鐘、約18 mL/分鐘、約16 mL/分鐘、約14 mL/分鐘、約12 mL/分鐘、約10 mL/分鐘、約9.5 mL/分鐘、約9.0 mL/分鐘、約8.5 mL/分鐘、約8.0 mL/分鐘、約7.5 mL/分鐘、約7.0 mL/分鐘、約6.5 mL/分鐘、約6.0 mL/分鐘、約5.5 mL/分鐘、約5.0 mL/分鐘、約4.5 mL/分鐘、約4.0 mL/分鐘、約3.5 mL/分鐘、約3.0 mL/分鐘、約2.5 mL/分鐘、約2.0 mL/分鐘或約1.5 mL/分鐘；約1.5 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約24 mL/分鐘、約22 mL/

分鐘、約20 mL/分鐘、約18 mL/分鐘、約16 mL/分鐘、約14 mL/分鐘、約12 mL/分鐘、約10 mL/分鐘、約9.5 mL/分鐘、約9.0 mL/分鐘、約8.5 mL/分鐘、約8.0 mL/分鐘、約7.5 mL/分鐘、約7.0 mL/分鐘、約6.5 mL/分鐘、約6.0 mL/分鐘、約5.5 mL/分鐘、約5.0 mL/分鐘、約4.5 mL/分鐘、約4.0 mL/分鐘、約3.5 mL/分鐘、約3.0 mL/分鐘、約2.5 mL/分鐘或約2.0 mL/分鐘；約2.0 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約24 mL/分鐘、約22 mL/分鐘、約20 mL/分鐘、約18 mL/分鐘、約16 mL/分鐘、約14 mL/分鐘、約12 mL/分鐘、約10 mL/分鐘、約9.5 mL/分鐘、約9.0 mL/分鐘、約8.5 mL/分鐘、約8.0 mL/分鐘、約7.5 mL/分鐘、約7.0 mL/分鐘、約6.5 mL/分鐘、約6.0 mL/分鐘、約5.5 mL/分鐘、約5.0 mL/分鐘、約4.5 mL/分鐘、約4.0 mL/分鐘、約3.5 mL/分鐘、約3.0 mL/分鐘或約2.5 mL/分鐘；約2.5 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約24 mL/分鐘、約22 mL/分鐘、約20 mL/分鐘、約18 mL/分鐘、約16 mL/分鐘、約14 mL/分鐘、約12 mL/分鐘、約10 mL/分鐘、約9.5 mL/分鐘、約9.0 mL/分鐘、約8.5 mL/分鐘、約8.0 mL/分鐘、約7.5 mL/分鐘、約7.0 mL/分鐘、約6.5 mL/分鐘、約6.0 mL/分

鐘、約5.5 mL/分鐘、約5.0 mL/分鐘、約4.5 mL/分鐘、約4.0 mL/分鐘、約3.5 mL/分鐘或約3.0 mL/分鐘；約3.0 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約24 mL/分鐘、約22 mL/分鐘、約20 mL/分鐘、約18 mL/分鐘、約16 mL/分鐘、約14 mL/分鐘、約12 mL/分鐘、約10 mL/分鐘、約9.5 mL/分鐘、約9.0 mL/分鐘、約8.5 mL/分鐘、約8.0 mL/分鐘、約7.5 mL/分鐘、約7.0 mL/分鐘、約6.5 mL/分鐘、約6.0 mL/分鐘、約5.5 mL/分鐘、約5.0 mL/分鐘、約4.5 mL/分鐘、約4.0 mL/分鐘或約3.5 mL/分鐘；約3.5 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約24 mL/分鐘、約22 mL/分鐘、約20 mL/分鐘、約18 mL/分鐘、約16 mL/分鐘、約14 mL/分鐘、約12 mL/分鐘、約10 mL/分鐘、約9.5 mL/分鐘、約9.0 mL/分鐘、約8.5 mL/分鐘、約8.0 mL/分鐘、約7.5 mL/分鐘、約7.0 mL/分鐘、約6.5 mL/分鐘、約6.0 mL/分鐘、約5.5 mL/分鐘、約5.0 mL/分鐘、約4.5 mL/分鐘或約4.0 mL/分鐘；約4.0 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分

鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約24 mL/分鐘、約22 mL/分鐘、約20 mL/分鐘、約18 mL/分鐘、約16 mL/分鐘、約14 mL/分鐘、約12 mL/分鐘、約10 mL/分鐘、約9.5 mL/分鐘、約9.0 mL/分鐘、約8.5 mL/分鐘、約8.0 mL/分鐘、約7.5 mL/分鐘、約7.0 mL/分鐘、約6.5 mL/分鐘、約6.0 mL/分鐘、約5.5 mL/分鐘、約5.0 mL/分鐘或約4.5 mL/分鐘；約4.5 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約24 mL/分鐘、約22 mL/分鐘、約20 mL/分鐘、約18 mL/分鐘、約16 mL/分鐘、約14 mL/分鐘、約12 mL/分鐘、約10 mL/分鐘、約9.5 mL/分鐘、約9.0 mL/分鐘、約8.5 mL/分鐘、約8.0 mL/分鐘、約7.5 mL/分鐘、約7.0 mL/分鐘、約6.5 mL/分鐘、約6.0 mL/分鐘、約5.5 mL/分鐘或約5.0 mL/分鐘；約5.0 mL/分鐘至約25 mL/分鐘、約24 mL/分鐘、約22 mL/分鐘、約20 mL/分鐘、約18 mL/分鐘、約16 mL/分鐘、約14 mL/分鐘、約12 mL/分鐘、約10 mL/分鐘、約9.5 mL/分鐘、約9.0 mL/分鐘、約8.5 mL/分鐘、約8.0 mL/分鐘、約7.5 mL/分鐘、約7.0 mL/分鐘、約6.5 mL/分鐘、約6.0 mL/分鐘或約5.5 mL/分鐘；約5.5 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約

550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約24 mL/分鐘、約22 mL/分鐘、約20 mL/分鐘、約18 mL/分鐘、約16 mL/分鐘、約14 mL/分鐘、約12 mL/分鐘、約10 mL/分鐘、約9.5 mL/分鐘、約9.0 mL/分鐘、約8.5 mL/分鐘、約8.0 mL/分鐘、約7.5 mL/分鐘、約7.0 mL/分鐘、約6.5 mL/分鐘或約6.0 mL/分鐘；約6.0 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約24 mL/分鐘、約22 mL/分鐘、約20 mL/分鐘、約18 mL/分鐘、約16 mL/分鐘、約14 mL/分鐘、約12 mL/分鐘、約10 mL/分鐘、約9.5 mL/分鐘、約9.0 mL/分鐘、約8.5 mL/分鐘、約8.0 mL/分鐘、約7.5 mL/分鐘、約7.0 mL/分鐘或約6.5 mL/分鐘；約6.5 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約24 mL/分鐘、約22 mL/分鐘、約20 mL/分鐘、約18 mL/分鐘、約16 mL/分鐘、約14 mL/分鐘、約12 mL/分鐘、約10 mL/分鐘、約9.5 mL/分鐘、約9.0 mL/分鐘、約8.5 mL/分鐘、約8.0 mL/分鐘、約7.5 mL/分鐘或約7.0 mL/分鐘；約7.0 mL/分鐘至約25 mL/分鐘、約24 mL/分鐘、約22 mL/分鐘、約20 mL/分鐘、約

18 mL/分鐘、約16 mL/分鐘、約14 mL/分鐘、約12 mL/分鐘、約10 mL/分鐘、約9.5 mL/分鐘、約9.0 mL/分鐘、約8.5 mL/分鐘、約8.0 mL/分鐘或約7.5 mL/分鐘；約7.5 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約24 mL/分鐘、約22 mL/分鐘、約20 mL/分鐘、約18 mL/分鐘、約16 mL/分鐘、約14 mL/分鐘、約12 mL/分鐘、約10 mL/分鐘、約9.5 mL/分鐘、約9.0 mL/分鐘、約8.5 mL/分鐘或約8.0 mL/分鐘；約8.0 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約24 mL/分鐘、約22 mL/分鐘、約20 mL/分鐘、約18 mL/分鐘、約16 mL/分鐘、約14 mL/分鐘、約12 mL/分鐘、約10 mL/分鐘、約9.5 mL/分鐘、約9.0 mL/分鐘或約8.5 mL/分鐘；約8.5 mL/分鐘至約25 mL/分鐘、約24 mL/分鐘、約22 mL/分鐘、約20 mL/分鐘、約18 mL/分鐘、約16 mL/分鐘、約14 mL/分鐘、約12 mL/分鐘、約10 mL/分鐘、約9.5 mL/分鐘或約9.0 mL/分鐘；約9.0 mL/分鐘至約25 mL/分鐘、約24 mL/分鐘、約22 mL/分鐘、約20 mL/分鐘、約18 mL/分鐘、約16 mL/分鐘、約14 mL/分鐘、約12 mL/分鐘、約10 mL/分鐘或約9.5 mL/分鐘；約9.5 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40

L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約24 mL/分鐘、約22 mL/分鐘、約20 mL/分鐘、約18 mL/分鐘、約16 mL/分鐘、約14 mL/分鐘、約12 mL/分鐘或約10 mL/分鐘；約10 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約24 mL/分鐘、約22 mL/分鐘、約20 mL/分鐘、約18 mL/分鐘、約16 mL/分鐘、約14 mL/分鐘或約12 mL/分鐘；約12 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約24 mL/分鐘、約22 mL/分鐘、約20 mL/分鐘、約18 mL/分鐘、約16 mL/分鐘或約14 mL/分鐘；約14 mL/分鐘至約25 mL/分鐘、約24 mL/分鐘、約22 mL/分鐘、約20 mL/分鐘、約18 mL/分鐘或約16 mL/分鐘；約16 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/

分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約24 mL/分鐘、約22 mL/分鐘、約20 mL/分鐘或約18 mL/分鐘；約18 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約24 mL/分鐘、約22 mL/分鐘或約20 mL/分鐘；約20 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約24 mL/分鐘或約22 mL/分鐘；約22 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、

約25 mL/分鐘 或約24 mL/分鐘；約23 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘或約50 mL/分鐘；約25 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘或約50 mL/分鐘；約50 mL至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘或約100 mL/分鐘；約100 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘或約150 mL/分鐘；約150 mL/分鐘至約100 L/分鐘、

約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘或約200 mL/分鐘；約200 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘或約250 mL/分鐘；約250 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘或約300 mL/分鐘；約300 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘或約350 mL/分鐘；約350 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分

鐘、約450 mL/分鐘或約400 mL/分鐘；約400 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘或約450 mL/分鐘；約450 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘或約500 mL/分鐘；約500 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘或約550 mL/分鐘；約550 mL至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘或約600 mL/分鐘；約600 mL至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘或約650 mL/分鐘；約650 mL至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘或約700 mL/分鐘；約700 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/

分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘或約750 mL/分鐘；約750 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘或約800 mL/分鐘；約800 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘或約850 mL/分鐘；約850 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘或約900 mL/分鐘；約900 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘或約950 mL/分鐘；約950 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘或約1 L/分鐘；約1 L/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘或約5 L/分鐘；約5 L/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘或約10 L/分鐘；約10 L/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘或約20 L/分鐘；約20 L/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘或約30 L/分鐘；約30 L/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60

L/分鐘、約50 L/分鐘或約40 L/分鐘；約40 L/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘或約50 L/分鐘；約50 L/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘或約60 L/分鐘；約60 L/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘或約70 L/分鐘；約70 L/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘或約80 L/分鐘；約80 L/分鐘至約100 L/分鐘或約90 L/分鐘；或約90 L/分鐘至約100 L/分鐘。

在一些實例中，步驟(b)包括使流體流入(例如，單向或雙向流入)所述環路系統，所述流體包括約0.01 mg/mL至約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL、約40 mg/mL、約38 mg/mL、約36 mg/mL、約34 mg/mL、約32 mg/mL、約30 mg/mL、約28 mg/mL、約26 mg/mL、約24 mg/mL、約22 mg/mL、約20 mg/mL、約18 mg/mL、約16 mg/mL、約14 mg/mL、約12 mg/mL、約10 mg/mL, 9.5 mg/mL、約9.0 mg/mL、約8.5 mg/mL、約8.0 mg/mL、約7.5 mg/mL、約7.0 mg/mL、約6.5 mg/mL、約6.0 mg/mL、約5.5 mg/mL、約5.0 mg/mL、約4.5 mg/mL、約4.0 mg/mL、約3.5 mg/mL、約3.0 mg/mL、約2.5 mg/mL、約2.0 mg/mL、約1.5 mg/mL、約1.0 mg/mL、約0.5 mg/mL、約0.1 mg/mL或約0.05 mg/mL；約0.05 mg/mL至約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL、約40 mg/mL、約38 mg/mL、約36 mg/mL、約34 mg/mL、約32 mg/mL、約30 mg/mL、約28 mg/mL、約26 mg/mL、約24 mg/mL、約22 mg/mL、約20 mg/mL、約18 mg/mL、約16 mg/mL、約14 mg/mL、約12 mg/mL、約10 mg/mL, 9.5 mg/mL、約9.0 mg/mL、約8.5 mg/mL、約8.0 mg/mL、約7.5 mg/mL、約7.0 mg/mL、約6.5 mg/mL、約6.0 mg/mL、約5.5 mg/mL、約5.0 mg/mL、約4.5 mg/mL、約4.0 mg/mL、約3.5 mg/mL、約3.0 mg/mL、約2.5 mg/mL、約2.0 mg/mL、約1.5 mg/mL、約1.0 mg/mL、約0.5 mg/mL或約0.1 mg/mL；約0.1 mg/mL至約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL、約40 mg/mL、約38 mg/mL、約36 mg/mL、約34 mg/mL、約32 mg/mL、約30 mg/mL、約28 mg/mL、約26 mg/mL、約24 mg/mL、約22 mg/mL、約20 mg/mL、約18 mg/mL、約16

mg/mL、約14 mg/mL、約12 mg/mL、約10 mg/mL, 9.5 mg/mL、約9.0 mg/mL、約8.5 mg/mL、約8.0 mg/mL、約7.5 mg/mL、約7.0 mg/mL、約6.5 mg/mL、約6.0 mg/mL、約5.5 mg/mL、約5.0 mg/mL、約4.5 mg/mL、約4.0 mg/mL、約3.5 mg/mL、約3.0 mg/mL、約2.5 mg/mL、約2.0 mg/mL、約1.5 mg/mL、約1.0 mg/mL或約0.5 mg/mL；約0.5 mg/mL至約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL、約40 mg/mL、約38 mg/mL、約36 mg/mL、約34 mg/mL、約32 mg/mL、約30 mg/mL、約28 mg/mL、約26 mg/mL、約24 mg/mL、約22 mg/mL、約20 mg/mL、約18 mg/mL、約16 mg/mL、約14 mg/mL、約12 mg/mL、約10 mg/mL, 9.5 mg/mL、約9.0 mg/mL、約8.5 mg/mL、約8.0 mg/mL、約7.5 mg/mL、約7.0 mg/mL、約6.5 mg/mL、約6.0 mg/mL、約5.5 mg/mL、約5.0 mg/mL、約4.5 mg/mL、約4.0 mg/mL、約3.5 mg/mL、約3.0 mg/mL、約2.5 mg/mL、約2.0 mg/mL、約1.5 mg/mL或約1.0 mg/mL；約1.0 mg/mL至約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL、約40 mg/mL、約38 mg/mL、約36 mg/mL、約34 mg/mL、約32 mg/mL、約30 mg/mL、約28 mg/mL、約26 mg/mL、約24 mg/mL、約22 mg/mL、約20 mg/mL、約18 mg/mL、約16 mg/mL、約14 mg/mL、約12 mg/mL、約10 mg/mL, 9.5 mg/mL、約9.0 mg/mL、約8.5 mg/mL、約8.0 mg/mL、約7.5 mg/mL、約7.0 mg/mL、約6.5 mg/mL、約6.0 mg/mL、約5.5 mg/mL、約5.0 mg/mL、約4.5 mg/mL、約4.0 mg/mL、約3.5 mg/mL、約3.0 mg/mL、約2.5 mg/mL、約2.0 mg/mL或約1.5 mg/mL；約1.5 mg/mL至約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL、約40 mg/mL、約38 mg/mL、約36 mg/mL、約34 mg/mL、約32 mg/mL、約30 mg/mL、約28 mg/mL、約26 mg/mL、約24 mg/mL、約22 mg/mL、約20 mg/mL、約18 mg/mL、約16 mg/mL、約14 mg/mL、約12 mg/mL、約10 mg/mL, 9.5 mg/mL、約9.0 mg/mL、約8.5 mg/mL、約8.0 mg/mL、約7.5 mg/mL、約7.0 mg/mL、約6.5 mg/mL、約6.0 mg/mL、約5.5 mg/mL、約5.0 mg/mL、約4.5 mg/mL、約4.0 mg/mL、約3.5 mg/mL、約3.0 mg/mL、約2.5 mg/mL或約2.0 mg/mL；約2.0 mg/mL至約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42

mg/mL、約40 mg/mL、約38 mg/mL、約36 mg/mL、約34 mg/mL、約32 mg/mL、約30 mg/mL、約28 mg/mL、約26 mg/mL、約24 mg/mL、約22 mg/mL、約20 mg/mL、約18 mg/mL、約16 mg/mL、約14 mg/mL、約12 mg/mL、約10 mg/mL, 9.5 mg/mL、約9.0 mg/mL、約8.5 mg/mL、約8.0 mg/mL、約7.5 mg/mL、約7.0 mg/mL、約6.5 mg/mL、約6.0 mg/mL、約5.5 mg/mL、約5.0 mg/mL、約4.5 mg/mL、約4.0 mg/mL、約3.5 mg/mL、約3.0 mg/mL或約2.5 mg/mL；約2.5 mg/mL至約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL、約40 mg/mL、約38 mg/mL、約36 mg/mL、約34 mg/mL、約32 mg/mL、約30 mg/mL、約28 mg/mL、約26 mg/mL、約24 mg/mL、約22 mg/mL、約20 mg/mL、約18 mg/mL、約16 mg/mL、約14 mg/mL、約12 mg/mL、約10 mg/mL, 9.5 mg/mL、約9.0 mg/mL、約8.5 mg/mL、約8.0 mg/mL、約7.5 mg/mL、約7.0 mg/mL、約6.5 mg/mL、約6.0 mg/mL、約5.5 mg/mL、約5.0 mg/mL、約4.5 mg/mL、約4.0 mg/mL、約3.5 mg/mL或約3.0 mg/mL；約3.0 mg/mL至約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL、約40 mg/mL、約38 mg/mL、約36 mg/mL、約34 mg/mL、約32 mg/mL、約30 mg/mL、約28 mg/mL、約26 mg/mL、約24 mg/mL、約22 mg/mL、約20 mg/mL、約18 mg/mL、約16 mg/mL、約14 mg/mL、約12 mg/mL、約10 mg/mL, 9.5 mg/mL、約9.0 mg/mL、約8.5 mg/mL、約8.0 mg/mL、約7.5 mg/mL、約7.0 mg/mL、約6.5 mg/mL、約6.0 mg/mL、約5.5 mg/mL、約5.0 mg/mL、約4.5 mg/mL、約4.0 mg/mL或約3.5 mg/mL；約3.5 mg/mL至約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL、約40 mg/mL、約38 mg/mL、約36 mg/mL、約34 mg/mL、約32 mg/mL、約30 mg/mL、約28 mg/mL、約26 mg/mL、約24 mg/mL、約22 mg/mL、約20 mg/mL、約18 mg/mL、約16 mg/mL、約14 mg/mL、約12 mg/mL、約10 mg/mL, 9.5 mg/mL、約9.0 mg/mL、約8.5 mg/mL、約8.0 mg/mL、約7.5 mg/mL、約7.0 mg/mL、約6.5 mg/mL、約6.0 mg/mL、約5.5 mg/mL、約5.0 mg/mL、約4.5 mg/mL或約4.0 mg/mL；約4.0 mg/mL至約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL、約40 mg/mL、約38 mg/mL、約36

mg/mL、約34 mg/mL、約32 mg/mL、約30 mg/mL、約28 mg/mL、約26 mg/mL、約24 mg/mL、約22 mg/mL、約20 mg/mL、約18 mg/mL、約16 mg/mL、約14 mg/mL、約12 mg/mL、約10 mg/mL, 9.5 mg/mL、約9.0 mg/mL、約8.5 mg/mL、約8.0 mg/mL、約7.5 mg/mL、約7.0 mg/mL、約6.5 mg/mL、約6.0 mg/mL、約5.5 mg/mL、約5.0 mg/mL或約4.5 mg/mL；約4.5 mg/mL至約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL、約40 mg/mL、約38 mg/mL、約36 mg/mL、約34 mg/mL、約32 mg/mL、約30 mg/mL、約28 mg/mL、約26 mg/mL、約24 mg/mL、約22 mg/mL、約20 mg/mL、約18 mg/mL、約16 mg/mL、約14 mg/mL、約12 mg/mL、約10 mg/mL, 9.5 mg/mL、約9.0 mg/mL、約8.5 mg/mL、約8.0 mg/mL、約7.5 mg/mL、約7.0 mg/mL、約6.5 mg/mL、約6.0 mg/mL、約5.5 mg/mL或約5.0 mg/mL；約5.0 mg/mL至約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL、約40 mg/mL、約38 mg/mL、約36 mg/mL、約34 mg/mL、約32 mg/mL、約30 mg/mL、約28 mg/mL、約26 mg/mL、約24 mg/mL、約22 mg/mL、約20 mg/mL、約18 mg/mL、約16 mg/mL、約14 mg/mL、約12 mg/mL、約10 mg/mL, 9.5 mg/mL、約9.0 mg/mL、約8.5 mg/mL、約8.0 mg/mL、約7.5 mg/mL、約7.0 mg/mL、約6.5 mg/mL、約6.0 mg/mL或約5.5 mg/mL；約5.5 mg/mL至約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL、約40 mg/mL、約38 mg/mL、約36 mg/mL、約34 mg/mL、約32 mg/mL、約30 mg/mL、約28 mg/mL、約26 mg/mL、約24 mg/mL、約22 mg/mL、約20 mg/mL、約18 mg/mL、約16 mg/mL、約14 mg/mL、約12 mg/mL、約10 mg/mL, 9.5 mg/mL、約9.0 mg/mL、約8.5 mg/mL、約8.0 mg/mL、約7.5 mg/mL、約7.0 mg/mL、約6.5 mg/mL或約6.0 mg/mL；約6.0 mg/mL至約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL、約40 mg/mL、約38 mg/mL、約36 mg/mL、約34 mg/mL、約32 mg/mL、約30 mg/mL、約28 mg/mL、約26 mg/mL、約24 mg/mL、約22 mg/mL、約20 mg/mL、約18 mg/mL、約16 mg/mL、約14 mg/mL、約12 mg/mL、約10 mg/mL, 9.5 mg/mL、約9.0 mg/mL、約8.5 mg/mL、約8.0 mg/mL、約7.5 mg/mL、約7.0

mg/mL或約6.5 mg/mL；約6.5 mg/mL至約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL、約40 mg/mL、約38 mg/mL、約36 mg/mL、約34 mg/mL、約32 mg/mL、約30 mg/mL、約28 mg/mL、約26 mg/mL、約24 mg/mL、約22 mg/mL、約20 mg/mL、約18 mg/mL、約16 mg/mL、約14 mg/mL、約12 mg/mL、約10 mg/mL, 9.5 mg/mL、約9.0 mg/mL、約8.5 mg/mL、約8.0 mg/mL、約7.5 mg/mL或約7.0 mg/mL；約7.0 mg/mL至約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL、約40 mg/mL、約38 mg/mL、約36 mg/mL、約34 mg/mL、約32 mg/mL、約30 mg/mL、約28 mg/mL、約26 mg/mL、約24 mg/mL、約22 mg/mL、約20 mg/mL、約18 mg/mL、約16 mg/mL、約14 mg/mL、約12 mg/mL、約10 mg/mL, 9.5 mg/mL、約9.0 mg/mL、約8.5 mg/mL或約7.5 mg/mL；約7.5 mg/mL至約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL、約40 mg/mL、約38 mg/mL、約36 mg/mL、約34 mg/mL、約32 mg/mL、約30 mg/mL、約28 mg/mL、約26 mg/mL、約24 mg/mL、約22 mg/mL、約20 mg/mL、約18 mg/mL、約16 mg/mL、約14 mg/mL、約12 mg/mL、約10 mg/mL, 9.5 mg/mL、約9.0 mg/mL、約8.5 mg/mL或約8.0 mg/mL；約8.0 mg/mL至約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL、約40 mg/mL、約38 mg/mL、約36 mg/mL、約34 mg/mL、約32 mg/mL、約30 mg/mL、約28 mg/mL、約26 mg/mL、約24 mg/mL、約22 mg/mL、約20 mg/mL、約18 mg/mL、約16 mg/mL、約14 mg/mL、約12 mg/mL、約10 mg/mL, 9.5 mg/mL、約9.0 mg/mL或約8.5 mg/mL；約8.5 mg/mL至約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL、約40 mg/mL、約38 mg/mL、約36 mg/mL、約34 mg/mL、約32 mg/mL、約30 mg/mL、約28 mg/mL、約26 mg/mL、約24 mg/mL、約22 mg/mL、約20 mg/mL、約18 mg/mL、約16 mg/mL、約14 mg/mL、約12 mg/mL、約10 mg/mL, 9.5 mg/mL或約9.0 mg/mL；約9.0 mg/mL至約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL、約40 mg/mL、約38 mg/mL、約36 mg/mL、約34 mg/mL、約32 mg/mL、約30 mg/mL、約28 mg/mL、約26 mg/mL、約24

mg/mL、約22 mg/mL、約20 mg/mL、約18 mg/mL、約16 mg/mL、約14 mg/mL、約12 mg/mL、約10 mg/mL或9.5 mg/mL；約9.5 mg/mL至約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL、約40 mg/mL、約38 mg/mL、約36 mg/mL、約34 mg/mL、約32 mg/mL、約30 mg/mL、約28 mg/mL、約26 mg/mL、約24 mg/mL、約22 mg/mL、約20 mg/mL、約18 mg/mL、約16 mg/mL、約14 mg/mL、約12 mg/mL或約10 mg/mL；約10 mg/mL至約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL、約40 mg/mL、約38 mg/mL、約36 mg/mL、約34 mg/mL、約32 mg/mL、約30 mg/mL、約28 mg/mL、約26 mg/mL、約24 mg/mL、約22 mg/mL、約20 mg/mL、約18 mg/mL、約16 mg/mL、約14 mg/mL或約12 mg/mL；約12 mg/mL至約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL、約40 mg/mL、約38 mg/mL、約36 mg/mL、約34 mg/mL、約32 mg/mL、約30 mg/mL、約28 mg/mL、約26 mg/mL、約24 mg/mL、約22 mg/mL、約20 mg/mL、約18 mg/mL、約16 mg/mL或約14 mg/mL；約14 mg/mL至約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL、約40 mg/mL、約38 mg/mL、約36 mg/mL、約34 mg/mL、約32 mg/mL、約30 mg/mL、約28 mg/mL、約26 mg/mL、約24 mg/mL、約22 mg/mL、約20 mg/mL、約18 mg/mL或約16 mg/mL；約16 mg/mL至約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL、約40 mg/mL、約38 mg/mL、約36 mg/mL、約34 mg/mL、約32 mg/mL、約30 mg/mL、約28 mg/mL、約26 mg/mL、約24 mg/mL、約22 mg/mL、約20 mg/mL或約18 mg/mL；約18 mg/mL至約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL、約40 mg/mL、約38 mg/mL、約36 mg/mL、約34 mg/mL、約32 mg/mL、約30 mg/mL、約28 mg/mL、約26 mg/mL、約24 mg/mL、約22 mg/mL或約20 mg/mL；約20 mg/mL至約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL、約40 mg/mL、約38 mg/mL、約36 mg/mL、約34 mg/mL、約32 mg/mL、約30 mg/mL、約28 mg/mL、約26 mg/mL、約24 mg/mL或約22 mg/mL；約22 mg/mL至約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46

mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL、約40 mg/mL、約38 mg/mL、約36 mg/mL、約34 mg/mL、約32 mg/mL、約30 mg/mL、約28 mg/mL、約26 mg/mL或約24 mg/mL；約24 mg/mL至約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL、約40 mg/mL、約38 mg/mL、約36 mg/mL、約34 mg/mL、約32 mg/mL、約30 mg/mL、約28 mg/mL或約26 mg/mL；約26 mg/mL至約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL、約40 mg/mL、約38 mg/mL、約36 mg/mL、約34 mg/mL、約32 mg/mL、約30 mg/mL或約28 mg/mL；約28 mg/mL至約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL、約40 mg/mL、約38 mg/mL、約36 mg/mL、約34 mg/mL、約32 mg/mL或約30 mg/mL；約30 mg/mL至約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL、約40 mg/mL、約38 mg/mL、約36 mg/mL、約34 mg/mL或約32 mg/mL；約32 mg/mL至約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL、約40 mg/mL、約38 mg/mL、約36 mg/mL或約34 mg/mL；約34 mg/mL至約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL、約40 mg/mL、約38 mg/mL或約36 mg/mL；約36 mg/mL至約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL、約40 mg/mL或約38 mg/mL；約38 mg/mL至約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL或約40 mg/mL；約40 mg/mL至約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL或約42 mg/mL；約42 mg/mL至約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL或約44 mg/mL；約44 mg/mL至約50 mg/mL、約48 mg/mL或約46 mg/mL；約46 mg/mL至約50 mg/mL 或約48 mg/mL；或約48 mg/mL至約50 mg/mL的重組治療性蛋白。

在一些實施方案中，所述第一時間段可以為約0.1分鐘至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時、約9.5小時、約9.0小時、約8.5小時、約8.0小時、約7.5小時、約7小時、約6.5小時、約6.0小時、約5.5小時、約5.0小時、約4.5小時、約4.0小時、約3.5小時、約3.0小時、約2.5小時、約2.0小時、約1.5小時、約1.0小時、約55分鐘、約50

分鐘、約45分鐘、約40分鐘、約35分鐘、約30分鐘、約25分鐘、約20分鐘、約15分鐘、約10分鐘、約5分鐘、約2分鐘或約1分鐘；約1分鐘至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時、約9.5小時、約9.0小時、約8.5小時、約8.0小時、約7.5小時、約7小時、約6.5小時、約6.0小時、約5.5小時、約5.0小時、約4.5小時、約4.0小時、約3.5小時、約3.0小時、約2.5小時、約2.0小時、約1.5小時、約1.0小時、約55分鐘、約50分鐘、約45分鐘、約40分鐘、約35分鐘、約30分鐘、約25分鐘、約20分鐘、約15分鐘、約10分鐘、約5分鐘或約2分鐘；約2分鐘至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時、約9.5小時、約9.0小時、約8.5小時、約8.0小時、約7.5小時、約7小時、約6.5小時、約6.0小時、約5.5小時、約5.0小時、約4.5小時、約4.0小時、約3.5小時、約3.0小時、約2.5小時、約2.0小時、約1.5小時、約1.0小時、約55分鐘、約50分鐘、約45分鐘、約40分鐘、約35分鐘、約30分鐘、約25分鐘、約20分鐘、約15分鐘、約10分鐘或約5分鐘；約5分鐘至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時、約9.5小時、約9.0小時、約8.5小時、約8.0小時、約7.5小時、約7小時、約6.5小時、約6.0小時、約5.5小時、約5.0小時、約4.5小時、約4.0小時、約3.5小時、約3.0小時、約2.5小時、約2.0小時、約1.5小時、約1.0小時、約55分鐘、約50分鐘、約45分鐘、約40分鐘、約35分鐘、約30分鐘、約25分鐘、約20分鐘、約15分鐘或約10分鐘；約10分鐘至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時、約9.5小時、約9.0小時、約8.5小時、約8.0小時、約7.5小時、約7小時、約6.5小時、約6.0小時、約5.5小時、約5.0小時、約4.5小時、約4.0小時、約3.5小時、約3.0小時、約2.5小時、約2.0小時、約1.5小時、約1.0小時、約55分鐘、約50分鐘、約45分鐘、約40分鐘、約35分鐘、約30分鐘、約25分鐘、約20分鐘或約15分鐘；約15分鐘至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時、約9.5小時、約9.0小時、約8.5小時、約8.0小時、約7.5小時、約7小時、約6.5小時、約6.0小時、約5.5小時、約5.0小時、約4.5小時、約4.0小時、約3.5小時、約3.0小時、約2.5小時、約2.0小時、約1.5小時、約1.0小時、約55分鐘、

約50分鐘、約45分鐘、約40分鐘、約35分鐘、約30分鐘、約25分鐘或約20分鐘；約20分鐘至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時、約9.5小時、約9.0小時、約8.5小時、約8.0小時、約7.5小時、約7小時、約6.5小時、約6.0小時、約5.5小時、約5.0小時、約4.5小時、約4.0小時、約3.5小時、約3.0小時、約2.5小時、約2.0小時、約1.5小時、約1.0小時、約55分鐘、約50分鐘、約45分鐘、約40分鐘、約35分鐘、約30分鐘或約25分鐘；約25分鐘至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時、約9.5小時、約9.0小時、約8.5小時、約8.0小時、約7.5小時、約7小時、約6.5小時、約6.0小時、約5.5小時、約5.0小時、約4.5小時、約4.0小時、約3.5小時、約3.0小時、約2.5小時、約2.0小時、約1.5小時、約1.0小時、約55分鐘、約50分鐘、約45分鐘、約40分鐘、約35分鐘或約30分鐘；約30分鐘至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時、約9.5小時、約9.0小時、約8.5小時、約8.0小時、約7.5小時、約7小時、約6.5小時、約6.0小時、約5.5小時、約5.0小時、約4.5小時、約4.0小時、約3.5小時、約3.0小時、約2.5小時、約2.0小時、約1.5小時、約1.0小時、約55分鐘、約50分鐘、約45分鐘、約40分鐘或約35分鐘；約35分鐘至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時、約9.5小時、約9.0小時、約8.5小時、約8.0小時、約7.5小時、約7小時、約6.5小時、約6.0小時、約5.5小時、約5.0小時、約4.5小時、約4.0小時、約3.5小時、約3.0小時、約2.5小時、約2.0小時、約1.5小時、約1.0小時、約55分鐘、約50分鐘、約45分鐘或約40分鐘；約40分鐘至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時、約9.5小時、約9.0小時、約8.5小時、約8.0小時、約7.5小時、約7小時、約6.5小時、約6.0小時、約5.5小時、約5.0小時、約4.5小時、約4.0小時、約3.5小時、約3.0小時、約2.5小時、約2.0小時、約1.5小時、約1.0小時、約55分鐘、約50分鐘或約45分鐘；約45分鐘至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時、約9.5小時、約9.0小時、約8.5小時、約8.0小時、約7.5小時、約7小時、約6.5小時、約6.0小時、約5.5小時、約5.0小時、約4.5小時、約4.0小時、約3.5小時、約3.0小

時、約2.5小時、約2.0小時、約1.5小時、約1.0小時、約55分鐘或約50分鐘；約50分鐘至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時、約9.5小時、約9.0小時、約8.5小時、約8.0小時、約7.5小時、約7小時、約6.5小時、約6.0小時、約5.5小時、約5.0小時、約4.5小時、約4.0小時、約3.5小時、約3.0小時、約2.5小時、約2.0小時、約1.5小時、約1.0小時或約55分鐘；約55分鐘至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時、約9.5小時、約9.0小時、約8.5小時、約8.0小時、約7.5小時、約7小時、約6.5小時、約6.0小時、約5.5小時、約5.0小時、約4.5小時、約4.0小時、約3.5小時、約3.0小時、約2.5小時、約2.0小時、約1.5小時或約1.0小時；約1.0小時至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時、約9.5小時、約9.0小時、約8.5小時、約8.0小時、約7.5小時、約7小時、約6.5小時、約6.0小時、約5.5小時、約5.0小時、約4.5小時、約4.0小時、約3.5小時、約3.0小時、約2.5小時、約2.0小時或約1.5小時；約1.5小時至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時、約9.5小時、約9.0小時、約8.5小時、約8.0小時、約7.5小時、約7小時、約6.5小時、約6.0小時、約5.5小時、約5.0小時、約4.5小時、約4.0小時、約3.5小時、約3.0小時、約2.5小時或約2.0小時；約2.0小時至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時、約9.5小時、約9.0小時、約8.5小時、約8.0小時、約7.5小時、約7小時、約6.5小時、約6.0小時、約5.5小時、約5.0小時、約4.5小時、約4.0小時、約3.5小時、約3.0小時或約2.5小時；約2.5小時至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時、約9.5小時、約9.0小時、約8.5小時、約8.0小時、約7.5小時、約7小時、約6.5小時、約6.0小時、約5.5小時、約5.0小時、約4.5小時、約4.0小時、約3.5小時或約3.0小時；約3.0小時至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時、約9.5小時、約9.0小時、約8.5小時、約8.0小時、約7.5小時、約7小時、約6.5小時、約6.0小時、約5.5小時、約5.0小時、約4.5小時、約4.0小時或約3.5小時；約3.5小時至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時、約9.5小時、約9.0小時、約8.5小時、

約8.0小時、約7.5小時、約7小時、約6.5小時、約6.0小時、約5.5小時、約5.0小時、約4.5小時或約4.0小時；約4.0小時至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時、約9.5小時、約9.0小時、約8.5小時、約8.0小時、約7.5小時、約7小時、約6.5小時、約6.0小時、約5.5小時、約5.0小時或約4.5小時；約4.5小時至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時、約9.5小時、約9.0小時、約8.5小時、約8.0小時、約7.5小時、約7小時、約6.5小時、約6.0小時、約5.5小時或約5.0小時；約5.0小時至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時、約9.5小時、約9.0小時、約8.5小時、約8.0小時、約7.5小時、約7小時、約6.5小時、約6.0小時或約5.5小時；約5.5小時至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時、約9.5小時、約9.0小時、約8.5小時、約8.0小時、約7.5小時、約7小時、約6.5小時或約6.0小時；約6.0小時至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時、約9.5小時、約9.0小時、約8.5小時、約8.0小時、約7.5小時、約7小時或約6.5小時；約6.5小時至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時、約9.5小時、約9.0小時、約8.5小時、約8.0小時、約7.5小時或約7小時；約7小時至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時、約9.5小時、約9.0小時、約8.5小時、約8.0小時或約7.5小時；約7.5小時至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時、約9.5小時、約9.0小時、約8.5小時或約8.0小時；約8.0小時至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時、約9.5小時、約9.0小時或約8.5小時；約8.5小時至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時、約9.5小時或約9.0小時；約9.0小時至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時或約9.5小時；約9.5小時至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時或約10小時；約10小時至約12小時、約11.5小時、約11小時或約10.5小時；約10.5小時至約12小時、約11.5小時或約11小時；約11小時至約12小時或約11.5小時。

在一些實例中，步驟(c)包括使滲濾介質以如下速率流入(例如，單

向或雙向流入)所述環路系統，所述速率為約0.05 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約24 mL/分鐘、約22 mL/分鐘、約20 mL/分鐘、約18 mL/分鐘、約16 mL/分鐘、約14 mL/分鐘、約12 mL/分鐘、約10 mL/分鐘、約9.5 mL/分鐘、約9.0 mL/分鐘、約8.5 mL/分鐘、約8.0 mL/分鐘、約7.5 mL/分鐘、約7.0 mL/分鐘、約6.5 mL/分鐘、約6.0 mL/分鐘、約5.5 mL/分鐘、約5.0 mL/分鐘、約4.5 mL/分鐘、約4.0 mL/分鐘、約3.5 mL/分鐘、約3.0 mL/分鐘、約2.5 mL/分鐘、約2.0 mL/分鐘、約1.5 mL/分鐘、約1.0 mL/分鐘、約0.5 mL/分鐘或約0.1 mL/分鐘；約0.1 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約24 mL/分鐘、約22 mL/分鐘、約20 mL/分鐘、約18 mL/分鐘、約16 mL/分鐘、約14 mL/分鐘、約12 mL/分鐘、約10 mL/分鐘、約9.5 mL/分鐘、約9.0 mL/分鐘、約8.5 mL/分鐘、約8.0 mL/分鐘、約7.5 mL/分鐘、約7.0 mL/分鐘、約6.5 mL/分鐘、約6.0 mL/分鐘、約5.5 mL/分鐘、約5.0 mL/分鐘、約4.5 mL/分鐘、約4.0 mL/分鐘、約3.5 mL/分鐘、約3.0 mL/分鐘、約2.5 mL/分鐘、約2.0 mL/分鐘、約1.5 mL/分鐘、約1.0 mL/分鐘或約0.5 mL/分鐘；約0.5 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/

分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約24 mL/分鐘、約22 mL/分鐘、約20 mL/分鐘、約18 mL/分鐘、約16 mL/分鐘、約14 mL/分鐘、約12 mL/分鐘、約10 mL/分鐘、約9.5 mL/分鐘、約9.0 mL/分鐘、約8.5 mL/分鐘、約8.0 mL/分鐘、約7.5 mL/分鐘、約7.0 mL/分鐘、約6.5 mL/分鐘、約6.0 mL/分鐘、約5.5 mL/分鐘、約5.0 mL/分鐘、約4.5 mL/分鐘、約4.0 mL/分鐘、約3.5 mL/分鐘、約3.0 mL/分鐘、約2.5 mL/分鐘、約2.0 mL/分鐘、約1.5 mL/分鐘或約1.0 mL/分鐘；約1.0 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約24 mL/分鐘、約22 mL/分鐘、約20 mL/分鐘、約18 mL/分鐘、約16 mL/分鐘、約14 mL/分鐘、約12 mL/分鐘、約10 mL/分鐘、約9.5 mL/分鐘、約9.0 mL/分鐘、約8.5 mL/分鐘、約8.0 mL/分鐘、約7.5 mL/分鐘、約7.0 mL/分鐘、約6.5 mL/分鐘、約6.0 mL/分鐘、約5.5 mL/分鐘、約5.0 mL/分鐘、約4.5 mL/分鐘、約4.0 mL/分鐘、約3.5 mL/分鐘、約3.0 mL/分鐘、約2.5 mL/分鐘、約2.0 mL/分鐘或約1.5 mL/分鐘；約1.5 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900

mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約24 mL/分鐘、約22 mL/分鐘、約20 mL/分鐘、約18 mL/分鐘、約16 mL/分鐘、約14 mL/分鐘、約12 mL/分鐘、約10 mL/分鐘、約9.5 mL/分鐘、約9.0 mL/分鐘、約8.5 mL/分鐘、約8.0 mL/分鐘、約7.5 mL/分鐘、約7.0 mL/分鐘、約6.5 mL/分鐘、約6.0 mL/分鐘、約5.5 mL/分鐘、約5.0 mL/分鐘、約4.5 mL/分鐘、約4.0 mL/分鐘、約3.5 mL/分鐘、約3.0 mL/分鐘、約2.5 mL/分鐘或約2.0 mL/分鐘；約2.0 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約24 mL/分鐘、約22 mL/分鐘、約20 mL/分鐘、約18 mL/分鐘、約16 mL/分鐘、約14 mL/分鐘、約12 mL/分鐘、約10 mL/分鐘、約9.5 mL/分鐘、約9.0 mL/分鐘、約8.5 mL/分鐘、約8.0 mL/分鐘、約7.5 mL/分鐘、約7.0 mL/分鐘、約6.5 mL/分鐘、約6.0 mL/分鐘、約5.5 mL/分鐘、約5.0 mL/分鐘、約4.5 mL/分鐘、約4.0 mL/分鐘、約3.5 mL/分鐘、約3.0 mL/分鐘或約2.5 mL/分鐘；約2.5 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、

約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約24 mL/分鐘、約22 mL/分鐘、約20 mL/分鐘、約18 mL/分鐘、約16 mL/分鐘、約14 mL/分鐘、約12 mL/分鐘、約10 mL/分鐘、約9.5 mL/分鐘、約9.0 mL/分鐘、約8.5 mL/分鐘、約8.0 mL/分鐘、約7.5 mL/分鐘、約7.0 mL/分鐘、約6.5 mL/分鐘、約6.0 mL/分鐘、約5.5 mL/分鐘、約5.0 mL/分鐘、約4.5 mL/分鐘、約4.0 mL/分鐘、約3.5 mL/分鐘或約3.0 mL/分鐘；約3.0 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約24 mL/分鐘、約22 mL/分鐘、約20 mL/分鐘、約18 mL/分鐘、約16 mL/分鐘、約14 mL/分鐘、約12 mL/分鐘、約10 mL/分鐘、約9.5 mL/分鐘、約9.0 mL/分鐘、約8.5 mL/分鐘、約8.0 mL/分鐘、約7.5 mL/分鐘、約7.0 mL/分鐘、約6.5 mL/分鐘、約6.0 mL/分鐘、約5.5 mL/分鐘、約5.0 mL/分鐘、約4.5 mL/分鐘、約4.0 mL/分鐘或約3.5 mL/分鐘；約3.5 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約24 mL/分鐘、約22 mL/分鐘、約20 mL/分鐘、約18 mL/分鐘、約16 mL/分鐘、約14 mL/分鐘、約12 mL/分鐘、約10 mL/分鐘、約9.5 mL/分鐘、約9.0 mL/分鐘、約8.5 mL/分鐘、約8.0 mL/分鐘、約7.5 mL/分鐘、約7.0

mL/分鐘、約6.5 mL/分鐘、約6.0 mL/分鐘、約5.5 mL/分鐘、約5.0 mL/分鐘、約4.5 mL/分鐘或約4.0 mL/分鐘；約4.0 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約24 mL/分鐘、約22 mL/分鐘、約20 mL/分鐘、約18 mL/分鐘、約16 mL/分鐘、約14 mL/分鐘、約12 mL/分鐘、約10 mL/分鐘、約9.5 mL/分鐘、約9.0 mL/分鐘、約8.5 mL/分鐘、約8.0 mL/分鐘、約7.5 mL/分鐘、約7.0 mL/分鐘、約6.5 mL/分鐘、約6.0 mL/分鐘、約5.5 mL/分鐘、約5.0 mL/分鐘或約4.5 mL/分鐘；約4.5 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約24 mL/分鐘、約22 mL/分鐘、約20 mL/分鐘、約18 mL/分鐘、約16 mL/分鐘、約14 mL/分鐘、約12 mL/分鐘、約10 mL/分鐘、約9.5 mL/分鐘、約9.0 mL/分鐘、約8.5 mL/分鐘、約8.0 mL/分鐘、約7.5 mL/分鐘、約7.0 mL/分鐘、約6.5 mL/分鐘、約6.0 mL/分鐘、約5.5 mL/分鐘或約5.0 mL/分鐘；約5.0 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/

分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約24 mL/分鐘、約22 mL/分鐘、約20 mL/分鐘、約18 mL/分鐘、約16 mL/分鐘、約14 mL/分鐘、約12 mL/分鐘、約10 mL/分鐘、約9.5 mL/分鐘、約9.0 mL/分鐘、約8.5 mL/分鐘、約8.0 mL/分鐘、約7.5 mL/分鐘、約7.0 mL/分鐘、約6.5 mL/分鐘、約6.0 mL/分鐘或約5.5 mL/分鐘；約5.5 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約24 mL/分鐘、約22 mL/分鐘、約20 mL/分鐘、約18 mL/分鐘、約16 mL/分鐘、約14 mL/分鐘、約12 mL/分鐘、約10 mL/分鐘、約9.5 mL/分鐘、約9.0 mL/分鐘、約8.5 mL/分鐘、約8.0 mL/分鐘、約7.5 mL/分鐘、約7.0 mL/分鐘、約6.5 mL/分鐘或約6.0 mL/分鐘；約6.0 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約24 mL/分鐘、約22 mL/分鐘、約20 mL/分鐘、約18 mL/分鐘、約16 mL/分鐘、約14 mL/分鐘、約12 mL/分鐘、約10 mL/分鐘、約9.5 mL/分鐘、約9.0 mL/分鐘、約8.5 mL/分鐘、約8.0 mL/分鐘、約7.5 mL/分鐘、約7.0 mL/分鐘或約

6.5 mL/分鐘；約6.5 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約24 mL/分鐘、約22 mL/分鐘、約20 mL/分鐘、約18 mL/分鐘、約16 mL/分鐘、約14 mL/分鐘、約12 mL/分鐘、約10 mL/分鐘、約9.5 mL/分鐘、約9.0 mL/分鐘、約8.5 mL/分鐘、約8.0 mL/分鐘、約7.5 mL/分鐘或約7.0 mL/分鐘；約7.0 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約24 mL/分鐘、約22 mL/分鐘、約20 mL/分鐘、約18 mL/分鐘、約16 mL/分鐘、約14 mL/分鐘、約12 mL/分鐘、約10 mL/分鐘、約9.5 mL/分鐘、約9.0 mL/分鐘、約8.5 mL/分鐘、約8.0 mL/分鐘或約7.5 mL/分鐘；約7.5 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約24 mL/分鐘、約22 mL/分

鐘、約20 mL/分鐘、約18 mL/分鐘、約16 mL/分鐘、約14 mL/分鐘、約12 mL/分鐘、約10 mL/分鐘、約9.5 mL/分鐘、約9.0 mL/分鐘、約8.5 mL/分鐘或約8.0 mL/分鐘；約8.0 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約24 mL/分鐘、約22 mL/分鐘、約20 mL/分鐘、約18 mL/分鐘、約16 mL/分鐘、約14 mL/分鐘、約12 mL/分鐘、約10 mL/分鐘、約9.5 mL/分鐘或約9.0 mL/分鐘；約9.0 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約50 mL/分

鐘、約25 mL/分鐘、約24 mL/分鐘、約22 mL/分鐘、約20 mL/分鐘、約18 mL/分鐘、約16 mL/分鐘、約14 mL/分鐘、約12 mL/分鐘、約10 mL/分鐘或約9.5 mL/分鐘；約9.5 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約24 mL/分鐘、約22 mL/分鐘、約20 mL/分鐘、約18 mL/分鐘、約16 mL/分鐘、約14 mL/分鐘、約12 mL/分鐘或約10 mL/分鐘；約10 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約24 mL/分鐘、約22 mL/分鐘、約20 mL/分鐘、約18 mL/分鐘、約16 mL/分鐘、約14 mL/分鐘或約12 mL/分鐘；約12 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約24 mL/分鐘、約22 mL/分鐘、約20 mL/分鐘、約18 mL/分鐘、約16 mL/分鐘或約14 mL/

分鐘；約14 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約24 mL/分鐘、約22 mL/分鐘、約20 mL/分鐘、約18 mL/分鐘或約16 mL/分鐘；約16 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約24 mL/分鐘、約22 mL/分鐘、約20 mL/分鐘或約18 mL/分鐘；約18 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約24 mL/分鐘、約22 mL/分鐘或約20 mL/分鐘；約20 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650

mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約24 mL/分鐘或約22 mL/分鐘；約22 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約50 mL/分鐘或約25 mL/分鐘；約23 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約50 mL/分鐘或約25 mL/分鐘；約25 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘或約50 mL/分鐘；約50 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約

850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘或約100 mL/分鐘；約100 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘或約150 mL/分鐘；約150 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘或約200 mL/分鐘；約200 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘或約300 mL/分鐘或約250 mL/分鐘；約250 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘或

約300 mL/分鐘；約300 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘或約350 mL/分鐘；約350 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘或約400 mL/分鐘；約400 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘或約450 mL/分鐘；約450 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘或約500 mL/分鐘；約500 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘或約550 mL/分鐘；約550 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/

分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘或約600 mL/分鐘；約600 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘或約650 mL/分鐘；約650 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘或約700 mL/分鐘；約700 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘或約750 mL/分鐘；約750 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘或約800 mL/分鐘；約800 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘或約850 mL/分鐘；約850 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘或約900 mL/分鐘；約900 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘或約950 mL/分鐘；約950 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、

約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘或約1 L/分鐘；約1 L/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘或約5 L/分鐘；約5 L/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘或約10 L/分鐘；約10 L/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘或約20 L/分鐘；約20 L/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘或約30 L/分鐘；約30 L/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘或約40 L/分鐘；約40 L/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘或約50 L/分鐘；約50 L/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘或約60 L/分鐘；約60 L/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘或約70 L/分鐘；約70 L/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘或約80 L/分鐘；約80 L/分鐘至約100 L/分鐘 或約90 L/分鐘；或約90 L/分鐘至約100 L/分鐘。

滲濾介質可以是例如，生理可接受的緩衝液(例如，磷酸鹽緩衝鹽水或用於配製所述重組治療性蛋白的緩衝液，例如，包含甘氨酸、磷酸鹽、乙酸鹽、檸檬酸鹽、填充劑(例如，非還原型糖類，例如，蔗糖)、表面活性劑(例如，聚山梨酯80、Triton X-100和吐溫)中的一種或多種的緩衝液。

在這些方法的一些實例中，所述第二時間段可以為約0.1分鐘至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時、約9.5小時、約9.0小時、約8.5小時、約8.0小時、約7.5小時、約7小時、約6.5小時、約6.0小時、約5.5小時、約5.0小時、約4.5小時、約4.0小時、約3.5小時、約3.0小時、約2.5小時、約2.0小時、約1.5小時、約1.0小時、約55分鐘、約50分鐘、約45分鐘、約40分鐘、約35分鐘、約30分鐘、約25分鐘、

約20分鐘、約15分鐘、約10分鐘、約5分鐘、約2分鐘或約1分鐘；約1分鐘至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時、約9.5小時、約9.0小時、約8.5小時、約8.0小時、約7.5小時、約7小時、約6.5小時、約6.0小時、約5.5小時、約5.0小時、約4.5小時、約4.0小時、約3.5小時、約3.0小時、約2.5小時、約2.0小時、約1.5小時、約1.0小時、約55分鐘、約50分鐘、約45分鐘、約40分鐘、約35分鐘、約30分鐘、約25分鐘、約20分鐘、約15分鐘、約10分鐘、約5分鐘或約2分鐘；約2分鐘至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時、約9.5小時、約9.0小時、約8.5小時、約8.0小時、約7.5小時、約7小時、約6.5小時、約6.0小時、約5.5小時、約5.0小時、約4.5小時、約4.0小時、約3.5小時、約3.0小時、約2.5小時、約2.0小時、約1.5小時、約1.0小時、約55分鐘、約50分鐘、約45分鐘、約40分鐘、約35分鐘、約30分鐘、約25分鐘、約20分鐘、約15分鐘、約10分鐘或約5分鐘；約5分鐘至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時、約9.5小時、約9.0小時、約8.5小時、約8.0小時、約7.5小時、約7小時、約6.5小時、約6.0小時、約5.5小時、約5.0小時、約4.5小時、約4.0小時、約3.5小時、約3.0小時、約2.5小時、約2.0小時、約1.5小時、約1.0小時、約55分鐘、約50分鐘、約45分鐘、約40分鐘、約35分鐘、約30分鐘、約25分鐘、約20分鐘、約15分鐘或約10分鐘；約10分鐘至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時、約9.5小時、約9.0小時、約8.5小時、約8.0小時、約7.5小時、約7小時、約6.5小時、約6.0小時、約5.5小時、約5.0小時、約4.5小時、約4.0小時、約3.5小時、約3.0小時、約2.5小時、約2.0小時、約1.5小時、約1.0小時、約55分鐘、約50分鐘、約45分鐘、約40分鐘、約35分鐘、約30分鐘、約25分鐘、約20分鐘或約15分鐘；約15分鐘至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時、約9.5小時、約9.0小時、約8.5小時、約8.0小時、約7.5小時、約7小時、約6.5小時、約6.0小時、約5.5小時、約5.0小時、約4.5小時、約4.0小時、約3.5小時、約3.0小時、約2.5小時、約2.0小時、約1.5小時、約1.0小時、約55分鐘、約50分鐘、約45分鐘、約40分鐘、約35分鐘、約30分鐘、約25分

鐘或約20分鐘；約20分鐘至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時、約9.5小時、約9.0小時、約8.5小時、約8.0小時、約7.5小時、約7小時、約6.5小時、約6.0小時、約5.5小時、約5.0小時、約4.5小時、約4.0小時、約3.5小時、約3.0小時、約2.5小時、約2.0小時、約1.5小時、約1.0小時、約55分鐘、約50分鐘、約45分鐘、約40分鐘、約35分鐘、約30分鐘或約25分鐘；約25分鐘至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時、約9.5小時、約9.0小時、約8.5小時、約8.0小時、約7.5小時、約7小時、約6.5小時、約6.0小時、約5.5小時、約5.0小時、約4.5小時、約4.0小時、約3.5小時、約3.0小時、約2.5小時、約2.0小時、約1.5小時、約1.0小時、約55分鐘、約50分鐘、約45分鐘、約40分鐘、約35分鐘或約30分鐘；約30分鐘至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時、約9.5小時、約9.0小時、約8.5小時、約8.0小時、約7.5小時、約7小時、約6.5小時、約6.0小時、約5.5小時、約5.0小時、約4.5小時、約4.0小時、約3.5小時、約3.0小時、約2.5小時、約2.0小時、約1.5小時、約1.0小時、約55分鐘、約50分鐘、約45分鐘、約40分鐘或約35分鐘；約35分鐘至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時、約9.5小時、約9.0小時、約8.5小時、約8.0小時、約7.5小時、約7小時、約6.5小時、約6.0小時、約5.5小時、約5.0小時、約4.5小時、約4.0小時、約3.5小時、約3.0小時、約2.5小時、約2.0小時、約1.5小時、約1.0小時、約55分鐘、約50分鐘、約45分鐘或約40分鐘；約40分鐘至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時、約9.5小時、約9.0小時、約8.5小時、約8.0小時、約7.5小時、約7小時、約6.5小時、約6.0小時、約5.5小時、約5.0小時、約4.5小時、約4.0小時、約3.5小時、約3.0小時、約2.5小時、約2.0小時、約1.5小時、約1.0小時、約55分鐘、約50分鐘或約45分鐘；約45分鐘至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時、約9.5小時、約9.0小時、約8.5小時、約8.0小時、約7.5小時、約7小時、約6.5小時、約6.0小時、約5.5小時、約5.0小時、約4.5小時、約4.0小時、約3.5小時、約3.0小時、約2.5小時、約2.0小時、約1.5小時、約1.0小時、約55分鐘或約50分

鐘；約50分鐘至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時、約9.5小時、約9.0小時、約8.5小時、約8.0小時、約7.5小時、約7小時、約6.5小時、約6.0小時、約5.5小時、約5.0小時、約4.5小時、約4.0小時、約3.5小時、約3.0小時、約2.5小時、約2.0小時、約1.5小時、約1.0小時或約55分鐘；約55分鐘至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時、約9.5小時、約9.0小時、約8.5小時、約8.0小時、約7.5小時、約7小時、約6.5小時、約6.0小時、約5.5小時、約5.0小時、約4.5小時、約4.0小時、約3.5小時、約3.0小時、約2.5小時、約2.0小時、約1.5小時或約1.0小時；約1.0小時至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時、約9.5小時、約9.0小時、約8.5小時、約8.0小時、約7.5小時、約7小時、約6.5小時、約6.0小時、約5.5小時、約5.0小時、約4.5小時、約4.0小時、約3.5小時、約3.0小時、約2.5小時、約2.0小時或約1.5小時；約1.5小時至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時、約9.5小時、約9.0小時、約8.5小時、約8.0小時、約7.5小時、約7小時、約6.5小時、約6.0小時、約5.5小時、約5.0小時、約4.5小時、約4.0小時、約3.5小時、約3.0小時、約2.5小時或約2.0小時；約2.0小時至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時、約9.5小時、約9.0小時、約8.5小時、約8.0小時、約7.5小時、約7小時、約6.5小時、約6.0小時、約5.5小時、約5.0小時、約4.5小時、約4.0小時、約3.5小時、約3.0小時或約2.5小時；約2.5小時至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時、約9.5小時、約9.0小時、約8.5小時、約8.0小時、約7.5小時、約7小時、約6.5小時、約6.0小時、約5.5小時、約5.0小時、約4.5小時、約4.0小時、約3.5小時或約3.0小時；約3.0小時至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時、約9.5小時、約9.0小時、約8.5小時、約8.0小時、約7.5小時、約7小時、約6.5小時、約6.0小時、約5.5小時、約5.0小時、約4.5小時、約4.0小時或約3.5小時；約3.5小時至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時、約9.5小時、約9.0小時、約8.5小時、約8.0小時、約7.5小時、約7小時、約6.5小時、約6.0小時、約5.5小時、

約5.0小時、約4.5小時或約4.0小時；約4.0小時至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時、約9.5小時、約9.0小時、約8.5小時、約8.0小時、約7.5小時、約7小時、約6.5小時、約6.0小時、約5.5小時、約5.0小時或約4.5小時；約4.5小時至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時、約9.5小時、約9.0小時、約8.5小時、約8.0小時、約7.5小時、約7小時、約6.5小時、約6.0小時、約5.5小時或約5.0小時；約5.0小時至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時、約9.5小時、約9.0小時、約8.5小時、約8.0小時、約7.5小時、約7小時、約6.5小時、約6.0小時或約5.5小時；約5.5小時至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時、約9.5小時、約9.0小時、約8.5小時、約8.0小時、約7.5小時、約7小時、約6.5小時或約6.0小時；約6.0小時至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時、約9.5小時、約9.0小時、約8.5小時、約8.0小時、約7.5小時、約7小時或約6.5小時；約6.5小時至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時、約9.5小時、約9.0小時、約8.5小時、約8.0小時、約7.5小時或約7小時；約7小時至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時、約9.5小時、約9.0小時、約8.5小時、約8.0小時或約7.5小時；約7.5小時至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時、約9.5小時、約9.0小時、約8.5小時或約8.0小時；約8.0小時至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時、約9.5小時、約9.0小時或約8.5小時；約8.5小時至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時、約9.5小時或約9.0小時；約9.0小時至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時或約9.5小時；約9.5小時至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時或約10小時；約10小時至約12小時、約11.5小時、約11小時或約10.5小時；約10.5小時至約12小時、約11.5小時或約11小時；約11小時至約12小時或約11.5小時。

在一些實施方案中，在步驟(d)中收集的包含重組治療性蛋白的流體包括濃度為約0.1 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94

mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL、約76 mg/mL、約74 mg/mL、約72 mg/mL、約70 mg/mL、約68 mg/mL、約66 mg/mL、約64 mg/mL、約62 mg/mL、約60 mg/mL、約58 mg/mL、約56 mg/mL、約54 mg/mL、約52 mg/mL、約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL、約40 mg/mL、約38 mg/mL、約36 mg/mL、約34 mg/mL、約32 mg/mL、約30 mg/mL、約28 mg/mL、約26 mg/mL、約24 mg/mL、約22 mg/mL、約20 mg/mL、約18 mg/mL、約16 mg/mL、約14 mg/mL、約12 mg/mL、約10 mg/mL、約9 mg/mL、約8 mg/mL、約7 mg/mL、約6 mg/mL、約5 mg/mL、約4 mg/mL、約3 mg/mL、約2.5 mg/mL、約2.0 mg/mL、約1.5 mg/mL、約1.0 mg/mL或約0.5 mg/mL；約0.5 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL、約76 mg/mL、約74 mg/mL、約72 mg/mL、約70 mg/mL、約68 mg/mL、約66 mg/mL、約64 mg/mL、約62 mg/mL、約60 mg/mL、約58 mg/mL、約56 mg/mL、約54 mg/mL、約52 mg/mL、約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL、約40 mg/mL、約38 mg/mL、約36 mg/mL、約34 mg/mL、約32 mg/mL、約30 mg/mL、約28 mg/mL、約26 mg/mL、約24 mg/mL、約22 mg/mL、約20 mg/mL、約18 mg/mL、約16 mg/mL、約14 mg/mL、約12 mg/mL、約10 mg/mL、約9 mg/mL、約8 mg/mL、約7 mg/mL、約6 mg/mL、約5 mg/mL、約4 mg/mL、約3 mg/mL、約2.5 mg/mL、約2.0 mg/mL、約1.5 mg/mL或約1.0 mg/mL；約1.0 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL、約76 mg/mL、約74 mg/mL、約72 mg/mL、約70 mg/mL、約68 mg/mL、約66 mg/mL、約64 mg/mL、約62 mg/mL、約60 mg/mL、約58 mg/mL、約56 mg/mL、約54 mg/mL、約52 mg/mL、約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL、約40 mg/mL、約38 mg/mL、約36 mg/mL、約34

mg/mL、約32 mg/mL、約30 mg/mL、約28 mg/mL、約26 mg/mL、約24 mg/mL、約22 mg/mL、約20 mg/mL、約18 mg/mL、約16 mg/mL、約14 mg/mL、約12 mg/mL、約10 mg/mL、約9 mg/mL、約8 mg/mL、約7 mg/mL、約6 mg/mL、約5 mg/mL、約4 mg/mL、約3 mg/mL、約2.5 mg/mL、約2.0 mg/mL或約1.5 mg/mL；約1.5 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL、約76 mg/mL、約74 mg/mL、約72 mg/mL、約70 mg/mL、約68 mg/mL、約66 mg/mL、約64 mg/mL、約62 mg/mL、約60 mg/mL、約58 mg/mL、約56 mg/mL、約54 mg/mL、約52 mg/mL、約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL、約40 mg/mL、約38 mg/mL、約36 mg/mL、約34 mg/mL、約32 mg/mL、約30 mg/mL、約28 mg/mL、約26 mg/mL、約24 mg/mL、約22 mg/mL、約20 mg/mL、約18 mg/mL、約16 mg/mL、約14 mg/mL、約12 mg/mL、約10 mg/mL、約9 mg/mL、約8 mg/mL、約7 mg/mL、約6 mg/mL、約5 mg/mL、約4 mg/mL、約3 mg/mL、約2.5 mg/mL或約2.0 mg/mL；約2.0 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL、約76 mg/mL、約74 mg/mL、約72 mg/mL、約70 mg/mL、約68 mg/mL、約66 mg/mL、約64 mg/mL、約62 mg/mL、約60 mg/mL、約58 mg/mL、約56 mg/mL、約54 mg/mL、約52 mg/mL、約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL、約40 mg/mL、約38 mg/mL、約36 mg/mL、約34 mg/mL、約32 mg/mL、約30 mg/mL、約28 mg/mL、約26 mg/mL、約24 mg/mL、約22 mg/mL、約20 mg/mL、約18 mg/mL、約16 mg/mL、約14 mg/mL、約12 mg/mL、約10 mg/mL、約9 mg/mL、約8 mg/mL、約7 mg/mL、約6 mg/mL、約5 mg/mL、約4 mg/mL、約3 mg/mL或約2.5 mg/mL；約2.5 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL、約76 mg/mL、約74

mg/mL、約72 mg/mL、約70 mg/mL、約68 mg/mL、約66 mg/mL、約64 mg/mL、約62 mg/mL、約60 mg/mL、約58 mg/mL、約56 mg/mL、約54 mg/mL、約52 mg/mL、約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL、約40 mg/mL、約38 mg/mL、約36 mg/mL、約34 mg/mL、約32 mg/mL、約30 mg/mL、約28 mg/mL、約26 mg/mL、約24 mg/mL、約22 mg/mL、約20 mg/mL、約18 mg/mL、約16 mg/mL、約14 mg/mL、約12 mg/mL、約10 mg/mL、約9 mg/mL、約8 mg/mL、約7 mg/mL、約6 mg/mL、約5 mg/mL、約4 mg/mL或約3 mg/mL；約3 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL、約76 mg/mL、約74 mg/mL、約72 mg/mL、約70 mg/mL、約68 mg/mL、約66 mg/mL、約64 mg/mL、約62 mg/mL、約60 mg/mL、約58 mg/mL、約56 mg/mL、約54 mg/mL、約52 mg/mL、約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL、約40 mg/mL、約38 mg/mL、約36 mg/mL、約34 mg/mL、約32 mg/mL、約30 mg/mL、約28 mg/mL、約26 mg/mL、約24 mg/mL、約22 mg/mL、約20 mg/mL、約18 mg/mL、約16 mg/mL、約14 mg/mL、約12 mg/mL、約10 mg/mL、約9 mg/mL、約8 mg/mL、約7 mg/mL、約6 mg/mL、約5 mg/mL或約4 mg/mL；約4 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL、約76 mg/mL、約74 mg/mL、約72 mg/mL、約70 mg/mL、約68 mg/mL、約66 mg/mL、約64 mg/mL、約62 mg/mL、約60 mg/mL、約58 mg/mL、約56 mg/mL、約54 mg/mL、約52 mg/mL、約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL、約40 mg/mL、約38 mg/mL、約36 mg/mL、約34 mg/mL、約32 mg/mL、約30 mg/mL、約28 mg/mL、約26 mg/mL、約24 mg/mL、約22 mg/mL、約20 mg/mL、約18 mg/mL、約16 mg/mL、約14 mg/mL、約12 mg/mL、約10 mg/mL、約9 mg/mL、約8 mg/mL、約7 mg/mL、約6 mg/mL或約5 mg/mL；約5 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96

mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL、約76 mg/mL、約74 mg/mL、約72 mg/mL、約70 mg/mL、約68 mg/mL、約66 mg/mL、約64 mg/mL、約62 mg/mL、約60 mg/mL、約58 mg/mL、約56 mg/mL、約54 mg/mL、約52 mg/mL、約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL、約40 mg/mL、約38 mg/mL、約36 mg/mL、約34 mg/mL、約32 mg/mL、約30 mg/mL、約28 mg/mL、約26 mg/mL、約24 mg/mL、約22 mg/mL、約20 mg/mL、約18 mg/mL、約16 mg/mL、約14 mg/mL、約12 mg/mL、約10 mg/mL、約9 mg/mL、約8 mg/mL、約7 mg/mL或約6 mg/mL；約6 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL、約76 mg/mL、約74 mg/mL、約72 mg/mL、約70 mg/mL、約68 mg/mL、約66 mg/mL、約64 mg/mL、約62 mg/mL、約60 mg/mL、約58 mg/mL、約56 mg/mL、約54 mg/mL、約52 mg/mL、約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL、約40 mg/mL、約38 mg/mL、約36 mg/mL、約34 mg/mL、約32 mg/mL、約30 mg/mL、約28 mg/mL、約26 mg/mL、約24 mg/mL、約22 mg/mL、約20 mg/mL、約18 mg/mL、約16 mg/mL、約14 mg/mL、約12 mg/mL、約10 mg/mL、約9 mg/mL、約8 mg/mL或約7 mg/mL；約7 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL、約76 mg/mL、約74 mg/mL、約72 mg/mL、約70 mg/mL、約68 mg/mL、約66 mg/mL、約64 mg/mL、約62 mg/mL、約60 mg/mL、約58 mg/mL、約56 mg/mL、約54 mg/mL、約52 mg/mL、約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL、約40 mg/mL、約38 mg/mL、約36 mg/mL、約34 mg/mL、約32 mg/mL、約30 mg/mL、約28 mg/mL、約26 mg/mL、約24 mg/mL、約22 mg/mL、約20 mg/mL、約18 mg/mL、約16 mg/mL、約14 mg/mL、約12 mg/mL、約10 mg/mL、約9 mg/mL或約8 mg/mL；約8 mg/mL至

約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL、約76 mg/mL、約74 mg/mL、約72 mg/mL、約70 mg/mL、約68 mg/mL、約66 mg/mL、約64 mg/mL、約62 mg/mL、約60 mg/mL、約58 mg/mL、約56 mg/mL、約54 mg/mL、約52 mg/mL、約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL、約40 mg/mL、約38 mg/mL、約36 mg/mL、約34 mg/mL、約32 mg/mL、約30 mg/mL、約28 mg/mL、約26 mg/mL、約24 mg/mL、約22 mg/mL、約20 mg/mL、約18 mg/mL、約16 mg/mL、約14 mg/mL、約12 mg/mL、約10 mg/mL或約9 mg/mL；約9 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL、約76 mg/mL、約74 mg/mL、約72 mg/mL、約70 mg/mL、約68 mg/mL、約66 mg/mL、約64 mg/mL、約62 mg/mL、約60 mg/mL、約58 mg/mL、約56 mg/mL、約54 mg/mL、約52 mg/mL、約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL、約40 mg/mL、約38 mg/mL、約36 mg/mL、約34 mg/mL、約32 mg/mL、約30 mg/mL、約28 mg/mL、約26 mg/mL、約24 mg/mL、約22 mg/mL、約20 mg/mL、約18 mg/mL、約16 mg/mL、約14 mg/mL、約12 mg/mL或約10 mg/mL；約10 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL、約76 mg/mL、約74 mg/mL、約72 mg/mL、約70 mg/mL、約68 mg/mL、約66 mg/mL、約64 mg/mL、約62 mg/mL、約60 mg/mL、約58 mg/mL、約56 mg/mL、約54 mg/mL、約52 mg/mL、約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL、約40 mg/mL、約38 mg/mL、約36 mg/mL、約34 mg/mL、約32 mg/mL、約30 mg/mL、約28 mg/mL、約26 mg/mL、約24 mg/mL、約22 mg/mL、約20 mg/mL、約18 mg/mL、約16 mg/mL、約14 mg/mL或約12 mg/mL；約12 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90

mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL、約76 mg/mL、約74 mg/mL、約72 mg/mL、約70 mg/mL、約68 mg/mL、約66 mg/mL、約64 mg/mL、約62 mg/mL、約60 mg/mL、約58 mg/mL、約56 mg/mL、約54 mg/mL、約52 mg/mL、約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL、約40 mg/mL、約38 mg/mL、約36 mg/mL、約34 mg/mL、約32 mg/mL、約30 mg/mL、約28 mg/mL、約26 mg/mL、約24 mg/mL、約22 mg/mL、約20 mg/mL、約18 mg/mL、約16 mg/mL或約14 mg/mL；約14 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL、約76 mg/mL、約74 mg/mL、約72 mg/mL、約70 mg/mL、約68 mg/mL、約66 mg/mL、約64 mg/mL、約62 mg/mL、約60 mg/mL、約58 mg/mL、約56 mg/mL、約54 mg/mL、約52 mg/mL、約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL、約40 mg/mL、約38 mg/mL、約36 mg/mL、約34 mg/mL、約32 mg/mL、約30 mg/mL、約28 mg/mL、約26 mg/mL、約24 mg/mL、約22 mg/mL、約20 mg/mL、約18 mg/mL或約16 mg/mL；約16 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL、約76 mg/mL、約74 mg/mL、約72 mg/mL、約70 mg/mL、約68 mg/mL、約66 mg/mL、約64 mg/mL、約62 mg/mL、約60 mg/mL、約58 mg/mL、約56 mg/mL、約54 mg/mL、約52 mg/mL、約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL、約40 mg/mL、約38 mg/mL、約36 mg/mL、約34 mg/mL、約32 mg/mL、約30 mg/mL、約28 mg/mL、約26 mg/mL、約24 mg/mL、約22 mg/mL、約20 mg/mL或約18 mg/mL；約18 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL、約76 mg/mL、約74 mg/mL、約72 mg/mL、約70 mg/mL、約68 mg/mL、約66 mg/mL、約64

mg/mL、約62 mg/mL、約60 mg/mL、約58 mg/mL、約56 mg/mL、約54 mg/mL、約52 mg/mL、約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL、約40 mg/mL、約38 mg/mL、約36 mg/mL、約34 mg/mL、約32 mg/mL、約30 mg/mL、約28 mg/mL、約26 mg/mL、約24 mg/mL、約22 mg/mL或約20 mg/mL；約20 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL、約76 mg/mL、約74 mg/mL、約72 mg/mL、約70 mg/mL、約68 mg/mL、約66 mg/mL、約64 mg/mL、約62 mg/mL、約60 mg/mL、約58 mg/mL、約56 mg/mL、約54 mg/mL、約52 mg/mL、約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL、約40 mg/mL、約38 mg/mL、約36 mg/mL、約34 mg/mL、約32 mg/mL、約30 mg/mL、約28 mg/mL、約26 mg/mL、約24 mg/mL或約22 mg/mL；約22 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL、約76 mg/mL、約74 mg/mL、約72 mg/mL、約70 mg/mL、約68 mg/mL、約66 mg/mL、約64 mg/mL、約62 mg/mL、約60 mg/mL、約58 mg/mL、約56 mg/mL、約54 mg/mL、約52 mg/mL、約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL、約40 mg/mL、約38 mg/mL、約36 mg/mL、約34 mg/mL、約32 mg/mL、約30 mg/mL、約28 mg/mL、約26 mg/mL或約24 mg/mL；約24 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL、約76 mg/mL、約74 mg/mL、約72 mg/mL、約70 mg/mL、約68 mg/mL、約66 mg/mL、約64 mg/mL、約62 mg/mL、約60 mg/mL、約58 mg/mL、約56 mg/mL、約54 mg/mL、約52 mg/mL、約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL、約40 mg/mL、約38 mg/mL、約36 mg/mL、約34 mg/mL、約32 mg/mL、約30 mg/mL、約28 mg/mL或約26 mg/mL；約26 mg/mL至約100 mg/mL、約98

mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL、約76 mg/mL、約74 mg/mL、約72 mg/mL、約70 mg/mL、約68 mg/mL、約66 mg/mL、約64 mg/mL、約62 mg/mL、約60 mg/mL、約58 mg/mL、約56 mg/mL、約54 mg/mL、約52 mg/mL、約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL、約40 mg/mL、約38 mg/mL、約36 mg/mL、約34 mg/mL、約32 mg/mL、約30 mg/mL或約28 mg/mL；約28 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL、約76 mg/mL、約74 mg/mL、約72 mg/mL、約70 mg/mL、約68 mg/mL、約66 mg/mL、約64 mg/mL、約62 mg/mL、約60 mg/mL、約58 mg/mL、約56 mg/mL、約54 mg/mL、約52 mg/mL、約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL、約40 mg/mL、約38 mg/mL、約36 mg/mL、約34 mg/mL、約32 mg/mL或約30 mg/mL；約30 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL、約76 mg/mL、約74 mg/mL、約72 mg/mL、約70 mg/mL、約68 mg/mL、約66 mg/mL、約64 mg/mL、約62 mg/mL、約60 mg/mL、約58 mg/mL、約56 mg/mL、約54 mg/mL、約52 mg/mL、約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL、約40 mg/mL、約38 mg/mL、約36 mg/mL、約34 mg/mL或約32 mg/mL；約32 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL、約76 mg/mL、約74 mg/mL、約72 mg/mL、約70 mg/mL、約68 mg/mL、約66 mg/mL、約64 mg/mL、約62 mg/mL、約60 mg/mL、約58 mg/mL、約56 mg/mL、約54 mg/mL、約52 mg/mL、約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL、約40 mg/mL、約38 mg/mL、約36 mg/mL或約34 mg/mL；約34 mg/mL至約100

mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL、約76 mg/mL、約74 mg/mL、約72 mg/mL、約70 mg/mL、約68 mg/mL、約66 mg/mL、約64 mg/mL、約62 mg/mL、約60 mg/mL、約58 mg/mL、約56 mg/mL、約54 mg/mL、約52 mg/mL、約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL、約40 mg/mL、約38 mg/mL或約36 mg/mL；約36 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL、約76 mg/mL、約74 mg/mL、約72 mg/mL、約70 mg/mL、約68 mg/mL、約66 mg/mL、約64 mg/mL、約62 mg/mL、約60 mg/mL、約58 mg/mL、約56 mg/mL、約54 mg/mL、約52 mg/mL、約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL、約40 mg/mL或約38 mg/mL；約38 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL、約76 mg/mL、約74 mg/mL、約72 mg/mL、約70 mg/mL、約68 mg/mL、約66 mg/mL、約64 mg/mL、約62 mg/mL、約60 mg/mL、約58 mg/mL、約56 mg/mL、約54 mg/mL、約52 mg/mL、約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL或約40 mg/mL；約40 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL、約76 mg/mL、約74 mg/mL、約72 mg/mL、約70 mg/mL、約68 mg/mL、約66 mg/mL、約64 mg/mL、約62 mg/mL、約60 mg/mL、約58 mg/mL、約56 mg/mL、約54 mg/mL、約52 mg/mL、約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL或約42 mg/mL；約42 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL、約76 mg/mL、約74 mg/mL、約72 mg/mL、約70

mg/mL、約68 mg/mL、約66 mg/mL、約64 mg/mL、約62 mg/mL、約60 mg/mL、約58 mg/mL、約56 mg/mL、約54 mg/mL、約52 mg/mL、約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL或約44 mg/mL；約44 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL、約76 mg/mL、約74 mg/mL、約72 mg/mL、約70 mg/mL、約68 mg/mL、約66 mg/mL、約64 mg/mL、約62 mg/mL、約60 mg/mL、約58 mg/mL、約56 mg/mL、約54 mg/mL、約52 mg/mL、約50 mg/mL、約48 mg/mL或約46 mg/mL；約46 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL、約76 mg/mL、約74 mg/mL、約72 mg/mL、約70 mg/mL、約68 mg/mL、約66 mg/mL、約64 mg/mL、約62 mg/mL、約60 mg/mL、約58 mg/mL、約56 mg/mL、約54 mg/mL、約52 mg/mL、約50 mg/mL或約48 mg/mL；約48 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL、約76 mg/mL、約74 mg/mL、約72 mg/mL、約70 mg/mL、約68 mg/mL、約66 mg/mL、約64 mg/mL、約62 mg/mL、約60 mg/mL、約58 mg/mL、約56 mg/mL、約54 mg/mL、約52 mg/mL或約50 mg/mL；約50 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL、約76 mg/mL、約74 mg/mL、約72 mg/mL、約70 mg/mL、約68 mg/mL、約66 mg/mL、約64 mg/mL、約62 mg/mL、約60 mg/mL、約58 mg/mL、約56 mg/mL、約54 mg/mL或約52 mg/mL；約52 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL、約76 mg/mL、約74 mg/mL、約72 mg/mL、約70 mg/mL、約68 mg/mL、約66 mg/mL、約64 mg/mL、約62 mg/mL、約60

mg/mL、約58 mg/mL、約56 mg/mL或約54 mg/mL；約54 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL、約76 mg/mL、約74 mg/mL、約72 mg/mL、約70 mg/mL、約68 mg/mL、約66 mg/mL、約64 mg/mL、約62 mg/mL、約60 mg/mL、約58 mg/mL或約56 mg/mL；約56 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL、約76 mg/mL、約74 mg/mL、約72 mg/mL、約70 mg/mL、約68 mg/mL、約66 mg/mL、約64 mg/mL、約62 mg/mL、約60 mg/mL或約58 mg/mL；約58 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL、約76 mg/mL、約74 mg/mL、約72 mg/mL、約70 mg/mL、約68 mg/mL、約66 mg/mL、約64 mg/mL、約62 mg/mL或約60 mg/mL；約60 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL、約76 mg/mL、約74 mg/mL、約72 mg/mL、約70 mg/mL、約68 mg/mL、約66 mg/mL、約64 mg/mL或約62 mg/mL；約62 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL、約76 mg/mL、約74 mg/mL、約72 mg/mL、約70 mg/mL、約68 mg/mL、約66 mg/mL或約64 mg/mL；約64 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL、約76 mg/mL、約74 mg/mL、約72 mg/mL、約70 mg/mL、約68 mg/mL或約66 mg/mL；約66 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78

mg/mL、約76 mg/mL、約74 mg/mL、約72 mg/mL、約70 mg/mL或約68 mg/mL；約68 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL、約76 mg/mL、約74 mg/mL、約72 mg/mL或約70 mg/mL；約70 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL、約76 mg/mL、約74 mg/mL或約72 mg/mL；約72 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL、約76 mg/mL或約74 mg/mL；約74 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL或約76 mg/mL；約76 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL或約78 mg/mL；約78 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL或約80 mg/mL；約80 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL或約82 mg/mL；約82 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL或約84 mg/mL；約84 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL或約86 mg/mL；約86 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL或約88 mg/mL；約88 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL或約90 mg/mL；約90 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL或約92 mg/mL；約92 mg/mL至約100

mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL或約94 mg/mL；約94 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL或96 mg/mL；約96 mg/mL至約100 mg/mL 或約98 mg/mL；或約98 mg/mL至約100 mg/mL的所述重組治療性蛋白。

在一些實施方案中，在所述第一和第二時間段之後實現的這些成倍滲濾(fold-diafiltration)為約1-倍至約20-倍、約19-倍、約18-倍、約17-倍、約16-倍、約15-倍、約14-倍、約13-倍、約12-倍、約11-倍、約10-倍、約9-倍、約8-倍、約7-倍、約6-倍、約5-倍、約4-倍、約3-倍或約2-倍；約2-倍至約20-倍、約19-倍、約18-倍、約17-倍、約16-倍、約15-倍、約14-倍、約13-倍、約12-倍、約11-倍、約10-倍、約9-倍、約8-倍、約7-倍、約6-倍、約5-倍、約4-倍或約3-倍；約3-倍至約20-倍、約19-倍、約18-倍、約17-倍、約16-倍、約15-倍、約14-倍、約13-倍、約12-倍、約11-倍、約10-倍、約9-倍、約8-倍、約7-倍、約6-倍、約5-倍或約4-倍；約4-倍至約20-倍、約19-倍、約18-倍、約17-倍、約16-倍、約15-倍、約14-倍、約13-倍、約12-倍、約11-倍、約10-倍、約9-倍、約8-倍、約7-倍、約6-倍或約5-倍；約5-倍至約20-倍、約19-倍、約18-倍、約17-倍、約16-倍、約15-倍、約14-倍、約13-倍、約12-倍、約11-倍、約10-倍、約9-倍、約8-倍、約7-倍或約6-倍；約6-倍至約20-倍、約19-倍、約18-倍、約17-倍、約16-倍、約15-倍、約14-倍、約13-倍、約12-倍、約11-倍、約10-倍、約9-倍、約8-倍或約7-倍；約7-倍至約20-倍、約19-倍、約18-倍、約17-倍、約16-倍、約15-倍、約14-倍、約13-倍、約12-倍、約11-倍、約10-倍、約9-倍或約8-倍；約8-倍至約20-倍、約19-倍、約18-倍、約17-倍、約16-倍、約15-倍、約14-倍、約13-倍、約12-倍、約11-倍、約10-倍或約9-倍；約9-倍至約20-倍、約19-倍、約18-倍、約17-倍、約16-倍、約15-倍、約14-倍、約13-倍、約12-倍、約11-倍或約10-倍；約10-倍至約20-倍、約19-倍、約18-倍、約17-倍、約16-倍、約15-倍、約14-倍、約13-倍、約12-倍或約11-倍；約11-倍至約20-倍、約19-倍、約18-倍、約17-倍、約16-倍、約15-倍、約14-倍、約13-倍或約12-倍；約12-倍至約20-倍、約19-倍、約18-倍、約17-倍、約16-倍、約15-倍、約14-倍或約13-倍；約13-倍至約20-倍、約19-倍、約

18-倍、約17-倍、約16-倍、約15-倍或約14-倍；約14-倍至約20-倍、約19-倍、約18-倍、約17-倍、約16-倍或約15-倍；約15-倍至約20-倍、約19-倍、約18-倍、約17-倍或約16-倍；約16-倍至約20-倍、約19-倍、約18-倍或約17-倍；約17-倍至約20-倍、約19-倍或約18-倍；約18-倍至約20-倍 或約19-倍；或約19-倍至約20-倍。

在一些實施方案中，所述環路系統不包括保持罐(holding tank)。

在這種方法的其他實施方案中，在第一時間段期間，使包含重組治療性蛋白的流體和所述滲濾介質一起連續流入所述環路系統，隨後在第二時間段期間，僅使所述滲濾介質連續流入所述環路系統。

可以使用注射器、重力或泵(例如，置於管道中的蠕動泵)在步驟(d)中收集流體。其他用於在步驟(d)中收集包含重組治療性蛋白的流體的手段是本領域已知的。

這些方法的一些實例進一步包括：(e)提供包含(i)具有第一和第二入口的切向流病毒過濾(TFVF)單元和(ii)在所述TFVF單元的第一和第二入口之間流體連通的管道的第二環路系統，其包含至少一個用於使流體流入和/或流出所述第二系統的端口，其中所述第二系統配置成使得流體能夠流動通過所述管道和所述TFVF單元，並且包含所述重組治療性蛋白的濾出液能夠從所述TFVF單元收集；和(f)在第三時間段內，使用在所述系統的端口和所述第二系統的端口之間流體連通的連接管道使步驟(d)中收集的流體流入所述第二系統，並從所述TFVF單元收集包含所述重組治療性蛋白的濾出液。正如本領域技術人員能夠理解的，這些方法的一些實施方式包括在所述第二環路系統(包含TFVF單元)的管道中再循環沒有通過所述TFVF單元中的一個或多個切向病毒過濾器的任何包含重組治療性蛋白的流體(例如，當一新體積的包含重組治療性蛋白的流體流入包含TFVF單元的環路系統的管道中時充當緩衝液)。

在一些實施方案中，所述TFVF單元包括一個、兩個、三個、四個、五個、六個、七個、八個、九個、十個、十一個或十二個切向病毒過濾器。在這些方法的一些實例中，所述TFVF單元可以包括一個或多個切向病毒過濾器，所述一個或多個切向病毒過濾器的表面積為約0.05 cm^2至約100

m^2、約90 m^2、約80 m^2、約70 m^2、約60 m^2、約50 m^2、約45 m^2、約40 m^2、約35 m^2、約30 m^2、約25 m^2、約20 m^2、約15 m^2、約10 m^2、約5 m^2、約1 m^2、約800 cm^2、約600 cm^2、約400 cm^2、約200 cm^2、約150 cm^2、約100 cm^2、約50 cm^2、約48 cm^2、約46 cm^2、約44 cm^2、約42 cm^2、約40 cm^2、約38 cm^2、約36 cm^2、約34 cm^2、約32 cm^2、約30 cm^2、約28 cm^2、約26 cm^2、約24 cm^2、約22 cm^2、約20 cm^2、約18 cm^2、約16 cm^2、約14 cm^2、約12 cm^2、約10 cm^2、約9.5 cm^2、約9.0 cm^2、約8.5 cm^2、約8.0 cm^2、約7.5 cm^2、約7.0 cm^2、約6.5 cm^2、約6.0 cm^2、約5.5 cm^2、約5.0 cm^2、約4.5 cm^2、約4.0 cm^2、約3.5 cm^2、約3.0 cm^2、約2.5 cm^2、約2.0 cm^2、約1.5 cm^2、約1.0 cm^2、約0.5 cm^2或約0.1 cm^2；約0.1 cm^2至約100 m^2、約90 m^2、約80 m^2、約70 m^2、約60 m^2、約50 m^2、約45 m^2、約40 m^2、約35 m^2、約30 m^2、約25 m^2、約20 m^2、約15 m^2、約10 m^2、約5 m^2、約1 m^2、約800 cm^2、約600 cm^2、約400 cm^2、約200 cm^2、約150 cm^2、約100 cm^2、約50 cm^2、約48 cm^2、約46 cm^2、約44 cm^2、約42 cm^2、約40 cm^2、約38 cm^2、約36 cm^2、約34 cm^2、約32 cm^2、約30 cm^2、約28 cm^2、約26 cm^2、約24 cm^2、約22 cm^2、約20 cm^2、約18 cm^2、約16 cm^2、約14 cm^2、約12 cm^2、約10 cm^2、約9.5 cm^2、約9.0 cm^2、約8.5 cm^2、約8.0 cm^2、約7.5 cm^2、約7.0 cm^2、約6.5 cm^2、約6.0 cm^2、約5.5 cm^2、約5.0 cm^2、約4.5 cm^2、約4.0 cm^2、約3.5 cm^2、約3.0 cm^2、約2.5 cm^2、約2.0 cm^2、約1.5 cm^2或約1.0 cm^2；約0.5 cm^2至約100 m^2、約90 m^2、約80 m^2、約70 m^2、約60 m^2、約50 m^2、約45 m^2、約40 m^2、約35 m^2、約30 m^2、約25 m^2、約20 m^2、約15 m^2、約10 m^2、約5 m^2、約1 m^2、約800 cm^2、約600 cm^2、約400 cm^2、約200 cm^2、約150 cm^2、約100 cm^2、約50 cm^2、約48 cm^2、約46 cm^2、約44 cm^2、約42 cm^2、約40 cm^2、約38 cm^2、約36 cm^2、約34 cm^2、約32 cm^2、約30 cm^2、約28 cm^2、約26 cm^2、約24 cm^2、約22 cm^2、約20 cm^2、約18 cm^2、約16 cm^2、約14 cm^2、約12 cm^2、約10 cm^2、約9.5 cm^2、約9.0 cm^2、約8.5 cm^2、約8.0 cm^2、約7.5 cm^2、約7.0 cm^2、約6.5 cm^2、約6.0 cm^2、約5.5 cm^2、約5.0 cm^2、約4.5 cm^2、約4.0 cm^2、約3.5 cm^2、約3.0 cm^2、約2.5 cm^2、約2.0 cm^2、約1.5 cm^2或約1.0 cm^2；約1.0 cm^2至約100 m^2、約90 m^2、

約80 m^2、約70 m^2、約60 m^2、約50 m^2、約45 m^2、約40 m^2、約35 m^2、約30 m^2、約25 m^2、約20 m^2、約15 m^2、約10 m^2、約5 m^2、約1 m^2、約800 cm^2、約600 cm^2、約400 cm^2、約200 cm^2、約150 cm^2、約100 cm^2、約50 cm^2、約48 cm^2、約46 cm^2、約44 cm^2、約42 cm^2、約40 cm^2、約38 cm^2、約36 cm^2、約34 cm^2、約32 cm^2、約30 cm^2、約28 cm^2、約26 cm^2、約24 cm^2、約22 cm^2、約20 cm^2、約18 cm^2、約16 cm^2、約14 cm^2、約12 cm^2、約10 cm^2、約9.5 cm^2、約9.0 cm^2、約8.5 cm^2、約8.0 cm^2、約7.5 cm^2、約7.0 cm^2、約6.5 cm^2、約6.0 cm^2、約5.5 cm^2、約5.0 cm^2、約4.5 cm^2、約4.0 cm^2、約3.5 cm^2、約3.0 cm^2、約2.5 cm^2、約2.0 cm^2或約1.5 cm^2；約1.5 cm^2至約100 m^2、約90 m^2、約80 m^2、約70 m^2、約60 m^2、約50 m^2、約45 m^2、約40 m^2、約35 m^2、約30 m^2、約25 m^2、約20 m^2、約15 m^2、約10 m^2、約5 m^2、約1 m^2、約800 cm^2、約600 cm^2、約400 cm^2、約200 cm^2、約150 cm^2、約100 cm^2、約50 cm^2、約48 cm^2、約46 cm^2、約44 cm^2、約42 cm^2、約40 cm^2、約38 cm^2、約36 cm^2、約34 cm^2、約32 cm^2、約30 cm^2、約28 cm^2、約26 cm^2、約24 cm^2、約22 cm^2、約20 cm^2、約18 cm^2、約16 cm^2、約14 cm^2、約12 cm^2、約10 cm^2、約9.5 cm^2、約9.0 cm^2、約8.5 cm^2、約8.0 cm^2、約7.5 cm^2、約7.0 cm^2、約6.5 cm^2、約6.0 cm^2、約5.5 cm^2、約5.0 cm^2、約4.5 cm^2、約4.0 cm^2、約3.5 cm^2、約3.0 cm^2、約2.5 cm^2或約2.0 cm^2；約2.0 cm^2至約100 m^2、約90 m^2、約80 m^2、約70 m^2、約60 m^2、約50 m^2、約45 m^2、約40 m^2、約35 m^2、約30 m^2、約25 m^2、約20 m^2、約15 m^2、約10 m^2、約5 m^2、約1 m^2、約800 cm^2、約600 cm^2、約400 cm^2、約200 cm^2、約150 cm^2、約100 cm^2、約50 cm^2、約48 cm^2、約46 cm^2、約44 cm^2、約42 cm^2、約40 cm^2、約38 cm^2、約36 cm^2、約34 cm^2、約32 cm^2、約30 cm^2、約28 cm^2、約26 cm^2、約24 cm^2、約22 cm^2、約20 cm^2、約18 cm^2、約16 cm^2、約14 cm^2、約12 cm^2、約10 cm^2、約9.5 cm^2、約9.0 cm^2、約8.5 cm^2、約8.0 cm^2、約7.5 cm^2、約7.0 cm^2、約6.5 cm^2、約6.0 cm^2、約5.5 cm^2、約5.0 cm^2、約4.5 cm^2、約4.0 cm^2、約3.5 cm^2、約3.0 cm^2或約2.5 cm^2；約2.5 cm^2至約100 m^2、約90 m^2、約80 m^2、約70 m^2、約60 m^2、約50 m^2、約45 m^2、約40 m^2、約35 m^2、約30 m^2、約25 m^2、約20 m^2、約15 m^2、約10 m^2、

約5 m^2、約1 m^2、約800 cm^2、約600 cm^2、約400 cm^2、約200 cm^2、約150 cm^2、約100 cm^2、約50 cm^2、約48 cm^2、約46 cm^2、約44 cm^2、約42 cm^2、約40 cm^2、約38 cm^2、約36 cm^2、約34 cm^2、約32 cm^2、約30 cm^2、約28 cm^2、約26 cm^2、約24 cm^2、約22 cm^2、約20 cm^2、約18 cm^2、約16 cm^2、約14 cm^2、約12 cm^2、約10 cm^2、約9.5 cm^2、約9.0 cm^2、約8.5 cm^2、約8.0 cm^2、約7.5 cm^2、約7.0 cm^2、約6.5 cm^2、約6.0 cm^2、約5.5 cm^2、約5.0 cm^2、約4.5 cm^2、約4.0 cm^2、約3.5 cm^2或約3.0 cm^2；約3.0 cm^2至約100 m^2、約90 m^2、約80 m^2、約70 m^2、約60 m^2、約50 m^2、約45 m^2、約40 m^2、約35 m^2、約30 m^2、約25 m^2、約20 m^2、約15 m^2、約10 m^2、約5 m^2、約1 m^2、約800 cm^2、約600 cm^2、約400 cm^2、約200 cm^2、約150 cm^2、約100 cm^2、約50 cm^2、約48 cm^2、約46 cm^2、約44 cm^2、約42 cm^2、約40 cm^2、約38 cm^2、約36 cm^2、約34 cm^2、約32 cm^2、約30 cm^2、約28 cm^2、約26 cm^2、約24 cm^2、約22 cm^2、約20 cm^2、約18 cm^2、約16 cm^2、約14 cm^2、約12 cm^2、約10 cm^2、約9.5 cm^2、約9.0 cm^2、約8.5 cm^2、約8.0 cm^2、約7.5 cm^2、約7.0 cm^2、約6.5 cm^2、約6.0 cm^2、約5.5 cm^2、約5.0 cm^2、約4.5 cm^2、約4.0 cm^2或約3.5 cm^2；約3.5 cm^2至約100 m^2、約90 m^2、約80 m^2、約70 m^2、約60 m^2、約50 m^2、約45 m^2、約40 m^2、約35 m^2、約30 m^2、約25 m^2、約20 m^2、約15 m^2、約10 m^2、約5 m^2、約1 m^2、約800 cm^2、約600 cm^2、約400 cm^2、約200 cm^2、約150 cm^2、約100 cm^2、約50 cm^2、約48 cm^2、約46 cm^2、約44 cm^2、約42 cm^2、約40 cm^2、約38 cm^2、約36 cm^2、約34 cm^2、約32 cm^2、約30 cm^2、約28 cm^2、約26 cm^2、約24 cm^2、約22 cm^2、約20 cm^2、約18 cm^2、約16 cm^2、約14 cm^2、約12 cm^2、約10 cm^2、約9.5 cm^2、約9.0 cm^2、約8.5 cm^2、約8.0 cm^2、約7.5 cm^2、約7.0 cm^2、約6.5 cm^2、約6.0 cm^2、約5.5 cm^2、約5.0 cm^2、約4.5 cm^2或約4.0 cm^2；約4.0 cm^2至約100 m^2、約90 m^2、約80 m^2、約70 m^2、約60 m^2、約50 m^2、約45 m^2、約40 m^2、約35 m^2、約30 m^2、約25 m^2、約20 m^2、約15 m^2、約10 m^2、約5 m^2、約1 m^2、約800 cm^2、約600 cm^2、約400 cm^2、約200 cm^2、約150 cm^2、約100 cm^2、約50 cm^2、約48 cm^2、約46 cm^2、約44 cm^2、約42 cm^2、約40 cm^2、約38 cm^2、約36 cm^2、約34 cm^2、約32 cm^2、約30 cm^2、約28 cm^2、

約26 cm^2、約24 cm^2、約22 cm^2、約20 cm^2、約18 cm^2、約16 cm^2、約14 cm^2、約12 cm^2、約10 cm^2、約9.5 cm^2、約9.0 cm^2、約8.5 cm^2、約8.0 cm^2、約7.5 cm^2、約7.0 cm^2、約6.5 cm^2、約6.0 cm^2、約5.5 cm^2、約5.0 cm^2或約4.5 cm^2；約4.5 cm^2至約100 m^2、約90 m^2、約80 m^2、約70 m^2、約60 m^2、約50 m^2、約45 m^2、約40 m^2、約35 m^2、約30 m^2、約25 m^2、約20 m^2、約15 m^2、約10 m^2、約5 m^2、約1 m^2、約800 cm^2、約600 cm^2、約400 cm^2、約200 cm^2、約150 cm^2、約100 cm^2、約50 cm^2、約48 cm^2、約46 cm^2、約44 cm^2、約42 cm^2、約40 cm^2、約38 cm^2、約36 cm^2、約34 cm^2、約32 cm^2、約30 cm^2、約28 cm^2、約26 cm^2、約24 cm^2、約22 cm^2、約20 cm^2、約18 cm^2、約16 cm^2、約14 cm^2、約12 cm^2、約10 cm^2、約9.5 cm^2、約9.0 cm^2、約8.5 cm^2、約8.0 cm^2、約7.5 cm^2、約7.0 cm^2、約6.5 cm^2、約6.0 cm^2或約5.5 cm^2；約5.0 cm^2至約100 m^2、約90 m^2、約80 m^2、約70 m^2、約60 m^2、約50 m^2、約45 m^2、約40 m^2、約35 m^2、約30 m^2、約25 m^2、約20 m^2、約15 m^2、約10 m^2、約5 m^2、約1 m^2、約800 cm^2、約600 cm^2、約400 cm^2、約200 cm^2、約150 cm^2、約100 cm^2、約50 cm^2、約48 cm^2、約46 cm^2、約44 cm^2、約42 cm^2、約40 cm^2、約38 cm^2、約36 cm^2、約34 cm^2、約32 cm^2、約30 cm^2、約28 cm^2、約26 cm^2、約24 cm^2、約22 cm^2、約20 cm^2、約18 cm^2、約16 cm^2、約14 cm^2、約12 cm^2、約10 cm^2、約9.5 cm^2、約9.0 cm^2、約8.5 cm^2、約8.0 cm^2、約7.5 cm^2、約7.0 cm^2、約6.5 cm^2、約6.0 cm^2或約5.5 cm^2；約5.5 cm^2至約100 m^2、約90 m^2、約80 m^2、約70 m^2、約60 m^2、約50 m^2、約45 m^2、約40 m^2、約35 m^2、約30 m^2、約25 m^2、約20 m^2、約15 m^2、約10 m^2、約5 m^2、約1 m^2、約800 cm^2、約600 cm^2、約400 cm^2、約200 cm^2、約150 cm^2、約100 cm^2、約50 cm^2、約48 cm^2、約46 cm^2、約44 cm^2、約42 cm^2、約40 cm^2、約38 cm^2、約36 cm^2、約34 cm^2、約32 cm^2、約30 cm^2、約28 cm^2、約26 cm^2、約24 cm^2、約22 cm^2、約20 cm^2、約18 cm^2、約16 cm^2、約14 cm^2、約12 cm^2、約10 cm^2、約9.5 cm^2、約9.0 cm^2、約8.5 cm^2、約8.0 cm^2、約7.5 cm^2、約7.0 cm^2、約6.5 cm^2或約6.0 cm^2；約6.0 cm^2至約100 m^2、約90 m^2、約80 m^2、約70 m^2、約60 m^2、約50 m^2、約45 m^2、約40 m^2、約35 m^2、約30 m^2、約25 m^2、約20 m^2、約15 m^2、約10 m^2、

約5 m^2、約1 m^2、約800 cm^2、約600 cm^2、約400 cm^2、約200 cm^2、約150 cm^2、約100 cm^2、約50 cm^2、約48 cm^2、約46 cm^2、約44 cm^2、約42 cm^2、約40 cm^2、約38 cm^2、約36 cm^2、約34 cm^2、約32 cm^2、約30 cm^2、約28 cm^2、約26 cm^2、約24 cm^2、約22 cm^2、約20 cm^2、約18 cm^2、約16 cm^2、約14 cm^2、約12 cm^2、約10 cm^2、約9.5 cm^2、約9.0 cm^2、約8.5 cm^2、約8.0 cm^2、約7.5 cm^2、約7.0 cm^2或約6.5 cm^2；約6.5 cm^2至約100 m^2、約90 m^2、約80 m^2、約70 m^2、約60 m^2、約50 m^2、約45 m^2、約40 m^2、約35 m^2、約30 m^2、約25 m^2、約20 m^2、約15 m^2、約10 m^2、約5 m^2、約1 m^2、約800 cm^2、約600 cm^2、約400 cm^2、約200 cm^2、約150 cm^2、約100 cm^2、約50 cm^2、約48 cm^2、約46 cm^2、約44 cm^2、約42 cm^2、約40 cm^2、約38 cm^2、約36 cm^2、約34 cm^2、約32 cm^2、約30 cm^2、約28 cm^2、約26 cm^2、約24 cm^2、約22 cm^2、約20 cm^2、約18 cm^2、約16 cm^2、約14 cm^2、約12 cm^2、約10 cm^2、約9.5 cm^2、約9.0 cm^2、約8.5 cm^2、約8.0 cm^2或約7.5 cm^2；約7.5 cm^2至約100 m^2、約90 m^2、約80 m^2、約70 m^2、約60 m^2、約50 m^2、約45 m^2、約40 m^2、約35 m^2、約30 m^2、約25 m^2、約20 m^2、約15 m^2、約10 m^2、約5 m^2、約1 m^2、約800 cm^2、約600 cm^2、約400 cm^2、約200 cm^2、約150 cm^2、約100 cm^2、約50 cm^2、約48 cm^2、約46 cm^2、約44 cm^2、約42 cm^2、約40 cm^2、約38 cm^2、約36 cm^2、約34 cm^2、約32 cm^2、約30 cm^2、約28 cm^2、約26 cm^2、約24 cm^2、約22 cm^2、約20 cm^2、約18 cm^2、約16 cm^2、約14 cm^2、約12 cm^2、約10 cm^2、約9.5 cm^2、約9.0 cm^2、約8.5 cm^2、約8.0 cm^2或約7.5 cm^2；約7.5 cm^2至約100 m^2、約90 m^2、約80 m^2、約70 m^2、約60 m^2、約50 m^2、約45 m^2、約40 m^2、約35 m^2、約30 m^2、約25 m^2、約20 m^2、約15 m^2、約10 m^2、約5 m^2、約1 m^2、約800 cm^2、約600 cm^2、約400 cm^2、約200 cm^2、約150 cm^2、約100 cm^2、約50 cm^2、約48 cm^2、約46 cm^2、約44 cm^2、約42 cm^2、約40 cm^2、約38 cm^2、約36 cm^2、約34 cm^2、約32 cm^2、約30 cm^2、約28 cm^2、約26 cm^2、約24 cm^2、約22 cm^2、約20 cm^2、約18 cm^2、約16 cm^2、約14 cm^2、約12 cm^2、約10 cm^2、約9.5 cm^2、約9.0 cm^2、約8.5 cm^2或約8.0 cm^2；約8.0 cm^2至約100 m^2、約90 m^2、約80 m^2、約70 m^2、約60 m^2、約50 m^2、約45 m^2、約40 m^2、約35 m^2、約30 m^2、約25 m^2、約20 m^2、

約15 m^2、約10 m^2、約5 m^2、約1 m^2、約800 cm^2、約600 cm^2、約400 cm^2、約200 cm^2、約150 cm^2、約100 cm^2、約50 cm^2、約48 cm^2、約46 cm^2、約44 cm^2、約42 cm^2、約40 cm^2、約38 cm^2、約36 cm^2、約34 cm^2、約32 cm^2、約30 cm^2、約28 cm^2、約26 cm^2、約24 cm^2、約22 cm^2、約20 cm^2、約18 cm^2、約16 cm^2、約14 cm^2、約12 cm^2、約10 cm^2、約9.5 cm^2、約9.0 cm^2或約8.5 cm^2；約8.5 cm^2至約100 m^2、約90 m^2、約80 m^2、約70 m^2、約60 m^2、約50 m^2、約45 m^2、約40 m^2、約35 m^2、約30 m^2、約25 m^2、約20 m^2、約15 m^2、約10 m^2、約5 m^2、約1 m^2、約800 cm^2、約600 cm^2、約400 cm^2、約200 cm^2、約150 cm^2、約100 cm^2、約50 cm^2、約48 cm^2、約46 cm^2、約44 cm^2、約42 cm^2、約40 cm^2、約38 cm^2、約36 cm^2、約34 cm^2、約32 cm^2、約30 cm^2、約28 cm^2、約26 cm^2、約24 cm^2、約22 cm^2、約20 cm^2、約18 cm^2、約16 cm^2、約14 cm^2、約12 cm^2、約10 cm^2、約9.5 cm^2或約9.0 cm^2；約9.0 cm^2至約100 m^2、約90 m^2、約80 m^2、約70 m^2、約60 m^2、約50 m^2、約45 m^2、約40 m^2、約35 m^2、約30 m^2、約25 m^2、約20 m^2、約15 m^2、約10 m^2、約5 m^2、約1 m^2、約800 cm^2、約600 cm^2、約400 cm^2、約200 cm^2、約150 cm^2、約100 cm^2、約50 cm^2、約48 cm^2、約46 cm^2、約44 cm^2、約42 cm^2、約40 cm^2、約38 cm^2、約36 cm^2、約34 cm^2、約32 cm^2、約30 cm^2、約28 cm^2、約26 cm^2、約24 cm^2、約22 cm^2、約20 cm^2、約18 cm^2、約16 cm^2、約14 cm^2、約12 cm^2、約10 cm^2或約9.5 cm^2；約9.5 cm^2至約100 m^2、約90 m^2、約80 m^2、約70 m^2、約60 m^2、約50 m^2、約45 m^2、約40 m^2、約35 m^2、約30 m^2、約25 m^2、約20 m^2、約15 m^2、約10 m^2、約5 m^2、約1 m^2、約800 cm^2、約600 cm^2、約400 cm^2、約200 cm^2、約150 cm^2、約100 cm^2、約50 cm^2、約48 cm^2、約46 cm^2、約44 cm^2、約42 cm^2、約40 cm^2、約38 cm^2、約36 cm^2、約34 cm^2、約32 cm^2、約30 cm^2、約28 cm^2、約26 cm^2、約24 cm^2、約22 cm^2、約20 cm^2、約18 cm^2、約16 cm^2、約14 cm^2、約12 cm^2或約10 cm^2；約10 cm^2至約100 m^2、約90 m^2、約80 m^2、約70 m^2、約60 m^2、約50 m^2、約45 m^2、約40 m^2、約35 m^2、約30 m^2、約25 m^2、約20 m^2、約15 m^2、約10 m^2、約5 m^2、約1 m^2、約800 cm^2、約600 cm^2、約400 cm^2、約200 cm^2、約150 cm^2、約100 cm^2、約50 cm^2、約48 cm^2、約46 cm^2、約44 cm^2、約42 cm^2、約

40 cm^2、約38 cm^2、約36 cm^2、約34 cm^2、約32 cm^2、約30 cm^2、約28 cm^2、約26 cm^2、約24 cm^2、約22 cm^2、約20 cm^2、約18 cm^2、約16 cm^2、約14 cm^2或約12 cm^2；約12 cm^2至約100 m^2、約90 m^2、約80 m^2、約70 m^2、約60 m^2、約50 m^2、約45 m^2、約40 m^2、約35 m^2、約30 m^2、約25 m^2、約20 m^2、約15 m^2、約10 m^2、約5 m^2、約1 m^2、約800 cm^2、約600 cm^2、約400 cm^2、約200 cm^2、約150 cm^2、約100 cm^2、約50 cm^2、約48 cm^2、約46 cm^2、約44 cm^2、約42 cm^2、約40 cm^2、約38 cm^2、約36 cm^2、約34 cm^2、約32 cm^2、約30 cm^2、約28 cm^2、約26 cm^2、約24 cm^2、約22 cm^2、約20 cm^2、約18 cm^2、約16 cm^2或約14 cm^2；約14 cm^2至約100 m^2、約90 m^2、約80 m^2、約70 m^2、約60 m^2、約50 m^2、約45 m^2、約40 m^2、約35 m^2、約30 m^2、約25 m^2、約20 m^2、約15 m^2、約10 m^2、約5 m^2、約1 m^2、約800 cm^2、約600 cm^2、約400 cm^2、約200 cm^2、約150 cm^2、約100 cm^2、約50 cm^2、約48 cm^2、約46 cm^2、約44 cm^2、約42 cm^2、約40 cm^2、約38 cm^2、約36 cm^2、約34 cm^2、約32 cm^2、約30 cm^2、約28 cm^2、約26 cm^2、約24 cm^2、約22 cm^2、約20 cm^2、約18 cm^2或約16 cm^2；約16 cm^2至約100 m^2、約90 m^2、約80 m^2、約70 m^2、約60 m^2、約50 m^2、約45 m^2、約40 m^2、約35 m^2、約30 m^2、約25 m^2、約20 m^2、約15 m^2、約10 m^2、約5 m^2、約1 m^2、約800 cm^2、約600 cm^2、約400 cm^2、約200 cm^2、約150 cm^2、約100 cm^2、約50 cm^2、約48 cm^2、約46 cm^2、約44 cm^2、約42 cm^2、約40 cm^2、約38 cm^2、約36 cm^2、約34 cm^2、約32 cm^2、約30 cm^2、約28 cm^2、約26 cm^2、約24 cm^2、約22 cm^2、約20 cm^2或約18 cm^2；約18 cm^2至約100 m^2、約90 m^2、約80 m^2、約70 m^2、約60 m^2、約50 m^2、約45 m^2、約40 m^2、約35 m^2、約30 m^2、約25 m^2、約20 m^2、約15 m^2、約10 m^2、約5 m^2、約1 m^2、約800 cm^2、約600 cm^2、約400 cm^2、約200 cm^2、約150 cm^2、約100 cm^2、約50 cm^2、約48 cm^2、約46 cm^2、約44 cm^2、約42 cm^2、約40 cm^2、約38 cm^2、約36 cm^2、約34 cm^2、約32 cm^2、約30 cm^2、約28 cm^2、約26 cm^2、約24 cm^2、約22 cm^2或約20 cm^2；約20 cm^2至約100 m^2、約90 m^2、約80 m^2、約70 m^2、約60 m^2、約50 m^2、約45 m^2、約40 m^2、約35 m^2、約30 m^2、約25 m^2、約20 m^2、約15 m^2、約10 m^2、約5 m^2、約1 m^2、約800 cm^2、約600 cm^2、約400 cm^2、約200 cm^2、約150 cm^2、約100

cm^2、約50 cm^2、約48 cm^2、約46 cm^2、約44 cm^2、約42 cm^2、約40 cm^2、約38 cm^2、約36 cm^2、約34 cm^2、約32 cm^2、約30 cm^2、約28 cm^2、約26 cm^2、約24 cm^2或約22 cm^2；約22 cm^2至約100 m^2、約90 m^2、約80 m^2、約70 m^2、約60 m^2、約50 m^2、約45 m^2、約40 m^2、約35 m^2、約30 m^2、約25 m^2、約20 m^2、約15 m^2、約10 m^2、約5 m^2、約1 m^2、約800 cm^2、約600 cm^2、約400 cm^2、約200 cm^2、約150 cm^2、約100 cm^2、約50 cm^2、約48 cm^2、約46 cm^2、約44 cm^2、約42 cm^2、約40 cm^2、約38 cm^2、約36 cm^2、約34 cm^2、約32 cm^2、約30 cm^2、約28 cm^2、約26 cm^2或約24 cm^2；約24 cm^2至約100 m^2、約90 m^2、約80 m^2、約70 m^2、約60 m^2、約50 m^2、約45 m^2、約40 m^2、約35 m^2、約30 m^2、約25 m^2、約20 m^2、約15 m^2、約10 m^2、約5 m^2、約1 m^2、約800 cm^2、約600 cm^2、約400 cm^2、約200 cm^2、約150 cm^2、約100 cm^2、約50 cm^2、約48 cm^2、約46 cm^2、約44 cm^2、約42 cm^2、約40 cm^2、約38 cm^2、約36 cm^2、約34 cm^2、約32 cm^2、約30 cm^2、約28 cm^2或約26 cm^2；約26 cm^2至約100 m^2、約90 m^2、約80 m^2、約70 m^2、約60 m^2、約50 m^2、約45 m^2、約40 m^2、約35 m^2、約30 m^2、約25 m^2、約20 m^2、約15 m^2、約10 m^2、約5 m^2、約1 m^2、約800 cm^2、約600 cm^2、約400 cm^2、約200 cm^2、約150 cm^2、約100 cm^2、約50 cm^2、約48 cm^2、約46 cm^2、約44 cm^2、約42 cm^2、約40 cm^2、約38 cm^2、約36 cm^2、約34 cm^2、約32 cm^2、約30 cm^2或約28 cm^2；約28 cm^2至約100 m^2、約90 m^2、約80 m^2、約70 m^2、約60 m^2、約50 m^2、約45 m^2、約40 m^2、約35 m^2、約30 m^2、約25 m^2、約20 m^2、約15 m^2、約10 m^2、約5 m^2、約1 m^2、約800 cm^2、約600 cm^2、約400 cm^2、約200 cm^2、約150 cm^2、約100 cm^2、約50 cm^2、約48 cm^2、約46 cm^2、約44 cm^2、約42 cm^2、約40 cm^2、約38 cm^2、約36 cm^2、約34 cm^2、約32 cm^2或約30 cm^2；約30 cm^2至約100 m^2、約90 m^2、約80 m^2、約70 m^2、約60 m^2、約50 m^2、約45 m^2、約40 m^2、約35 m^2、約30 m^2、約25 m^2、約20 m^2、約15 m^2、約10 m^2、約5 m^2、約1 m^2、約800 cm^2、約600 cm^2、約400 cm^2、約200 cm^2、約150 cm^2、約100 cm^2、約50 cm^2、約48 cm^2、約46 cm^2、約44 cm^2、約42 cm^2、約40 cm^2、約38 cm^2、約36 cm^2、約34 cm^2或約32 cm^2；約32 cm^2至約100 m^2、約90 m^2、約80 m^2、約70 m^2、約60 m^2、約50 m^2、約45 m^2、約40 m^2、約35 m^2、約30

m^2、約25 m^2、約20 m^2、約15 m^2、約10 m^2、約5 m^2、約1 m^2、約800 cm^2、約600 cm^2、約400 cm^2、約200 cm^2、約150 cm^2、約100 cm^2、約50 cm^2、約48 cm^2、約46 cm^2、約44 cm^2、約42 cm^2、約40 cm^2、約38 cm^2、約36 cm^2或約34 cm^2；約34 cm^2至約100 m^2、約90 m^2、約80 m^2、約70 m^2、約60 m^2、約50 m^2、約45 m^2、約40 m^2、約35 m^2、約30 m^2、約25 m^2、約20 m^2、約15 m^2、約10 m^2、約5 m^2、約1 m^2、約800 cm^2、約600 cm^2、約400 cm^2、約200 cm^2、約150 cm^2、約100 cm^2、約50 cm^2、約48 cm^2、約46 cm^2、約44 cm^2、約42 cm^2、約40 cm^2、約38 cm^2或約36 cm^2；約36 cm^2至約100 m^2、約90 m^2、約80 m^2、約70 m^2、約60 m^2、約50 m^2、約45 m^2、約40 m^2、約35 m^2、約30 m^2、約25 m^2、約20 m^2、約15 m^2、約10 m^2、約5 m^2、約1 m^2、約800 cm^2、約600 cm^2、約400 cm^2、約200 cm^2、約150 cm^2、約100 cm^2、約50 cm^2、約48 cm^2、約46 cm^2、約44 cm^2、約42 cm^2、約40 cm^2或約38 cm^2；約38 cm^2至約100 m^2、約90 m^2、約80 m^2、約70 m^2、約60 m^2、約50 m^2、約45 m^2、約40 m^2、約35 m^2、約30 m^2、約25 m^2、約20 m^2、約15 m^2、約10 m^2、約5 m^2、約1 m^2、約800 cm^2、約600 cm^2、約400 cm^2、約200 cm^2、約150 cm^2、約100 cm^2、約50 cm^2、約48 cm^2、約46 cm^2、約44 cm^2、約42 cm^2或約40 cm^2；約40 cm^2至約100 m^2、約90 m^2、約80 m^2、約70 m^2、約60 m^2、約50 m^2、約45 m^2、約40 m^2、約35 m^2、約30 m^2、約25 m^2、約20 m^2、約15 m^2、約10 m^2、約5 m^2、約1 m^2、約800 cm^2、約600 cm^2、約400 cm^2、約200 cm^2、約150 cm^2、約100 cm^2、約50 cm^2、約48 cm^2、約46 cm^2、約44 cm^2或約42 cm^2；約42 cm^2至約100 m^2、約90 m^2、約80 m^2、約70 m^2、約60 m^2、約50 m^2、約45 m^2、約40 m^2、約35 m^2、約30 m^2、約25 m^2、約20 m^2、約15 m^2、約10 m^2、約5 m^2、約1 m^2、約800 cm^2、約600 cm^2、約400 cm^2、約200 cm^2、約150 cm^2、約100 cm^2、約50 cm^2、約48 cm^2、約46 cm^2或約44 cm^2；約44 cm^2至約100 m^2、約90 m^2、約80 m^2、約70 m^2、約60 m^2、約50 m^2、約45 m^2、約40 m^2、約35 m^2、約30 m^2、約25 m^2、約20 m^2、約15 m^2、約10 m^2、約5 m^2、約1 m^2、約800 cm^2、約600 cm^2、約400 cm^2、約200 cm^2、約150 cm^2、約100 cm^2、約50 cm^2、約48 cm^2或約46 cm^2；約46 cm^2至約100 m^2、約90 m^2、約80 m^2、約70 m^2、約60 m^2、約50 m^2、約45 m^2、約40 m^2、

約35 m^2、約30 m^2、約25 m^2、約20 m^2、約15 m^2、約10 m^2、約5 m^2、約1 m^2、約800 cm^2、約600 cm^2、約400 cm^2、約200 cm^2、約150 cm^2、約100 cm^2、約50 cm^2 或約48 cm^2；約48 cm^2至約100 m^2、約90 m^2、約80 m^2、約70 m^2、約60 m^2、約50 m^2、約45 m^2、約40 m^2、約35 m^2、約30 m^2、約25 m^2、約20 m^2、約15 m^2、約10 m^2、約5 m^2、約1 m^2、約800 cm^2、約600 cm^2、約400 cm^2、約200 cm^2、約150 cm^2、約100 cm^2或約50 cm^2；約50 cm^2至約100 m^2、約90 m^2、約80 m^2、約70 m^2、約60 m^2、約50 m^2、約45 m^2、約40 m^2、約35 m^2、約30 m^2、約25 m^2、約20 m^2、約15 m^2、約10 m^2、約5 m^2、約1 m^2、約800 cm^2、約600 cm^2、約400 cm^2、約200 cm^2、約150 cm^2或約100 cm^2；約100 cm^2至約100 m^2、約90 m^2、約80 m^2、約70 m^2、約60 m^2、約50 m^2、約45 m^2、約40 m^2、約35 m^2、約30 m^2、約25 m^2、約20 m^2、約15 m^2、約10 m^2、約5 m^2、約1 m^2、約800 cm^2、約600 cm^2、約400 cm^2、約200 cm^2或約150 cm^2；約150 cm^2至約100 m^2、約90 m^2、約80 m^2、約70 m^2、約60 m^2、約100 m^2、約90 m^2、約80 m^2、約70 m^2、約60 m^2、約50 m^2、約45 m^2、約40 m^2、約35 m^2、約30 m^2、約25 m^2、約20 m^2、約15 m^2、約10 m^2、約5 m^2、約1 m^2、約800 cm^2、約600 cm^2、約400 cm^2或約200 cm^2；約200 cm^2至約100 m^2、約90 m^2、約80 m^2、約70 m^2、約60 m^2、約50 m^2、約45 m^2、約40 m^2、約35 m^2、約30 m^2、約25 m^2、約20 m^2、約15 m^2、約10 m^2、約5 m^2、約1 m^2、約800 cm^2、約600 cm^2或約400 cm^2；約400 cm^2至約100 m^2、約90 m^2、約80 m^2、約70 m^2、約60 m^2,about 50 m^2、約45 m^2、約40 m^2、約35 m^2、約30 m^2、約25 m^2、約20 m^2、約15 m^2、約10 m^2、約5 m^2、約1 m^2、約800 cm^2或約600 cm^2；約600 cm^2至約100 m^2、約90 m^2、約80 m^2、約70 m^2、約60 m^2、約50 m^2、約45 m^2、約40 m^2、約35 m^2、約30 m^2、約25 m^2、約20 m^2、約15 m^2、約10 m^2、約5 m^2、約1 m^2、約800 cm^2；約800 cm^2至約100 m^2、約90 m^2、約80 m^2、約70 m^2、約60 m^2、約50 m^2、約45 m^2、約40 m^2、約35 m^2、約30 m^2、約25 m^2、約20 m^2、約15 m^2、約10 m^2、約5 m^2或約1 m^2；

約1 m^2至約50 m^2、約45 m^2、約40 m^2、約35 m^2、約30 m^2、約25 m^2、約20 m^2、約15 m^2、約10 m^2或約5 m^2；約5 m^2至約100 m^2、約90 m^2、約80

m^2、約70 m^2、約60 m^2、約50 m^2、約45 m^2、約40 m^2、約35 m^2、約30 m^2、約25 m^2、約20 m^2、約15 m^2或約10 m^2；約10 m^2至約100 m^2、約90 m^2、約80 m^2、約70 m^2、約60 m^2、約50 m^2、約45 m^2、約40 m^2、約35 m^2、約30 m^2、約25 m^2、約20 m^2或約15 m^2；約15 m^2至約100 m^2、約90 m^2、約80 m^2、約70 m^2、約60 m^2、約50 m^2、約45 m^2、約40 m^2、約35 m^2、約30 m^2、約25 m^2或約20 m^2；約20 m^2至約100 m^2、約90 m^2、約80 m^2、約70 m^2、約60 m^2、約50 m^2、約45 m^2、約40 m^2、約35 m^2、約30 m^2或約25 m^2；約25 m^2至約100 m^2、約90 m^2、約80 m^2、約70 m^2、約60 m^2、約50 m^2、約45 m^2、約40 m^2、約35 m^2或約30 m^2；約30 m^2至約50 m^2、約45 m^2、約40 m^2或約35 m^2；約35 m^2至約100 m^2、約90 m^2、約80 m^2、約70 m^2、約60 m^2、約50 m^2、約45 m^2或約40 m^2；約40 m^2至約100 m^2、約90 m^2、約80 m^2、約70 m^2、約60 m^2、約50 m^2或約45 m^2；約45 m^2至約100 m^2、約90 m^2、約80 m^2、約70 m^2、約60 m^2或約50 m^2；約50 m^2至約100 m^2、約90 m^2、約80 m^2、約70 m^2或約60 m^2；約60 m^2至約100 m^2、約90 m^2、約80 m^2或約70 m^2；約70 m^2至約100 m^2、約90 m^2或約80 m^2；約80 m^2至約100 m^2或約90 m^2；或約90 m^2至約100 m^2。

在一些實施方案中，所述TFVF單元包括一個或多個切向病毒過濾器，所述一個或多個切向病毒過濾器的孔徑為約5 nm至約220 nm、約210 nm、約200 nm、約190 nm、約180 nm、約170 nm、約160 nm、約150 nm、約140 nm、約130 nm、約120 nm、約110 nm、約100 nm、約95 nm、約90 nm、約85 nm、約80 nm、約75 nm、約70 nm、約65 nm、約60 nm、約55 nm、約50 nm、約45 nm、約40 nm、約35 nm、約30 nm、約25 nm、約20 nm、約15 nm或約10 nm；約10 nm至約220 nm、約210 nm、約200 nm、約190 nm、約180 nm、約170 nm、約160 nm、約150 nm、約140 nm、約130 nm、約120 nm、約110 nm、約100 nm、約95 nm、約90 nm、約85 nm、約80 nm、約75 nm、約70 nm、約65 nm、約60 nm、約55 nm、約50 nm、約45 nm、約40 nm、約35 nm、約30 nm、約25 nm、約20 nm或約15 nm；約15 nm至約220 nm、約210 nm、約200 nm、約190 nm、約180 nm、約170 nm、約160 nm、約150 nm、約140 nm、約130 nm、約120 nm、約110 nm、約100 nm、約95 nm、約90 nm、約85 nm、約80 nm、約75 nm、約70 nm、

約65 nm、約60 nm、約55 nm、約50 nm、約45 nm、約40 nm、約35 nm、約30 nm、約25 nm或約20 nm；約20 nm至約220 nm、約210 nm、約200 nm、約190 nm、約180 nm、約170 nm、約160 nm、約150 nm、約140 nm、約130 nm、約120 nm、約110 nm、約100 nm、約95 nm、約90 nm、約85 nm、約80 nm、約75 nm、約70 nm、約65 nm、約60 nm、約55 nm、約50 nm、約45 nm、約40 nm、約35 nm、約30 nm或約25 nm；約25 nm至約220 nm、約210 nm、約200 nm、約190 nm、約180 nm、約170 nm、約160 nm、約150 nm、約140 nm、約130 nm、約120 nm、約110 nm、約100 nm、約95 nm、約90 nm、約85 nm、約80 nm、約75 nm、約70 nm、約65 nm、約60 nm、約55 nm、約50 nm、約45 nm、約40 nm、約35 nm或約30 nm；約30 nm至約220 nm、約210 nm、約200 nm、約190 nm、約180 nm、約170 nm、約160 nm、約150 nm、約140 nm、約130 nm、約120 nm、約110 nm、約100 nm、約95 nm、約90 nm、約85 nm、約80 nm、約75 nm、約70 nm、約65 nm、約60 nm、約55 nm、約50 nm、約45 nm、約40 nm或約35 nm；約35 nm至約220 nm、約210 nm、約200 nm、約190 nm、約180 nm、約170 nm、約160 nm、約150 nm、約140 nm、約130 nm、約120 nm、約110 nm、約100 nm、約95 nm、約90 nm、約85 nm、約80 nm、約75 nm、約70 nm、約65 nm、約60 nm、約55 nm、約50 nm、約45 nm或約40 nm；約45 nm至約220 nm、約210 nm、約200 nm、約190 nm、約180 nm、約170 nm、約160 nm、約150 nm、約140 nm、約130 nm、約120 nm、約110 nm、約100 nm、約95 nm、約90 nm、約85 nm、約80 nm、約75 nm、約70 nm、約65 nm、約60 nm、約55 nm或約50 nm；約50 nm至約220 nm、約210 nm、約200 nm、約190 nm、約180 nm、約170 nm、約160 nm、約150 nm、約140 nm、約130 nm、約120 nm、約110 nm、約100 nm、約95 nm、約90 nm、約85 nm、約80 nm、約75 nm、約70 nm、約65 nm、約60 nm或約55 nm；約55 nm至約220 nm、約210 nm、約200 nm、約190 nm、約180 nm、約170 nm、約160 nm、約150 nm、約140 nm、約130 nm、約120 nm、約110 nm、約100 nm、約95 nm、約90 nm、約85 nm、約80 nm、約75 nm、約70 nm、約65 nm或約60 nm；約60 nm至約220 nm、約210 nm、約200 nm、約190

nm、約180 nm、約170 nm、約160 nm、約150 nm、約140 nm、約130 nm、約120 nm、約110 nm、約100 nm、約95 nm、約90 nm、約85 nm、約80 nm、約75 nm、約70 nm或約65 nm；約65 nm至約220 nm、約210 nm、約200 nm、約190 nm、約180 nm、約170 nm、約160 nm、約150 nm、約140 nm、約130 nm、約120 nm、約110 nm、約100 nm、約95 nm、約90 nm、約85 nm、約80 nm、約75 nm或約70 nm；約70 nm至約220 nm、約210 nm、約200 nm、約190 nm、約180 nm、約170 nm、約160 nm、約150 nm、約140 nm、約130 nm、約120 nm、約110 nm、約100 nm、約95 nm、約90 nm、約85 nm、約80 nm或約75 nm；約75 nm至約220 nm、約210 nm、約200 nm、約190 nm、約180 nm、約170 nm、約160 nm、約150 nm、約140 nm、約130 nm、約120 nm、約110 nm、約100 nm、約95 nm、約90 nm、約85 nm或約80 nm；約80 nm至約220 nm、約210 nm、約200 nm、約190 nm、約180 nm、約170 nm、約160 nm、約150 nm、約140 nm、約130 nm、約120 nm、約110 nm、約100 nm、約95 nm、約90 nm或約85 nm；約85 nm至約220 nm、約210 nm、約200 nm、約190 nm、約180 nm、約170 nm、約160 nm、約150 nm、約140 nm、約130 nm、約120 nm、約110 nm、約100 nm、約95 nm或約90 nm；約90 nm至約220 nm、約210 nm、約200 nm、約190 nm、約180 nm、約170 nm、約160 nm、約150 nm、約140 nm、約130 nm、約120 nm、約110 nm、約100 nm或約95 nm；約95 nm至約220 nm、約210 nm、約200 nm、約190 nm、約180 nm、約170 nm、約160 nm、約150 nm、約140 nm、約130 nm、約120 nm、約110 nm或約100 nm；約100 nm至約220 nm、約210 nm、約200 nm、約190 nm、約180 nm、約170 nm、約160 nm、約150 nm、約140 nm、約130 nm、約120 nm或約110 nm；約110 nm至約220 nm、約210 nm、約200 nm、約190 nm、約180 nm、約170 nm、約160 nm、約150 nm、約140 nm、約130 nm或約120 nm；約120 nm至約220 nm、約210 nm、約200 nm、約190 nm、約180 nm、約170 nm、約160 nm、約150 nm、約140 nm或約130 nm；約130 nm至約220 nm、約210 nm、約200 nm、約190 nm、約180 nm、約170 nm、約160 nm、約150 nm或約140 nm；約140 nm至約220 nm、約210 nm、約200 nm、約190 nm、約180

nm、約170 nm、約160 nm或約150 nm；約150 nm至約220 nm、約210 nm、約200 nm、約190 nm、約180 nm、約170 nm或約160 nm；約160 nm至約220 nm、約210 nm、約200 nm、約190 nm、約180 nm或約170 nm；約170 nm至約220 nm、約210 nm、約200 nm、約190 nm或約180 nm；約180 nm至約220 nm、約210 nm、約200 nm或約190 nm；約190 nm至約220 nm、約210 nm或約200 nm；約200 nm至約220 nm 或約210 nm；或約210 nm至約220 nm。本領域已知多種能夠用於所述TFVF單元中的病毒過濾器。例如，能夠用於所述TFVF單元中的病毒過濾器可以從Asahi Kasei (日本東京)通過商業方法獲得。在一些實施方案中，所述病毒過濾器為Planova™過濾器(例如，Planova™ 15N、Planova™ 20N、Planova™ 35N或Planova™ 75N)。在一些實施方案中，所述病毒過濾器為Planova™ BioEX過濾器。能夠用於所述TFVF單元中的病毒過濾器可以包括，例如，中空纖維膜。

所述連接管道和所述第二環路系統中的管道可以是簡單管道，例如，生物相容性管道。有用的管道的非限定性實例包括矽橡膠、聚碳酸酯、聚丙烯、聚胺酯、聚二噁烷酮(PDO)、聚羥基烷酸酯(polyhydroxyalkanoate)、聚羥基丁酸酯、聚(甘油基癸二酸酯)、聚乙交酯、聚丙交酯、聚己內酯或聚酐或包括這些和/或其他聚合物的共聚物或衍生物。可選地或另外地，本文所述的任何管道可以包括聚氯乙烯。本文所述的任何管道可以是，例如，可焊接輸送管道(weldable transfer tubing)。

在一些實施方案中，所述連接管道和/或所述第二環路系統中的管道的內省可為約5 mm至約100 mm、約95 mm、約90 mm、約85 mm、約80 mm、約75 mm、約70 mm、約65 mm、約60 mm、約55 mm、約50 mm、約48 mm、約46 mm、約44 mm、約42 mm、約40 mm、約38 mm、約36 mm、約34 mm、約32 mm、約30 mm、約28 mm、約26 mm、約24 mm、約22 mm、約20 mm、約18 mm、約16 mm、約14 mm、約12 mm、約10 mm、約8 mm或約6 mm；約6 mm至約100 mm、約95 mm、約90 mm、約85 mm、約80 mm、約75 mm、約70 mm、約65 mm、約60 mm、約55 mm、約50 mm、約48 mm、約46 mm、約44 mm、約42 mm、約40 mm、約38 mm、約36 mm、約34 mm、約32 mm、約30

mm、約28 mm、約26 mm、約24 mm、約22 mm、約20 mm、約18 mm、約16 mm、約14 mm、約12 mm、約10 mm或約8 mm；約8 mM至約100 mm、約95 mm、約90 mm、約85 mm、約80 mm、約75 mm、約70 mm、約65 mm、約60 mm、約55 mm、約50 mm、約48 mm、約46 mm、約44 mm、約42 mm、約40 mm、約38 mm、約36 mm、約34 mm、約32 mm、約30 mm、約28 mm、約26 mm、約24 mm、約22 mm、約20 mm、約18 mm、約16 mm、約14 mm、約12 mm或約10 mm；約10 mm至約100 mm、約95 mm、約90 mm、約85 mm、約80 mm、約75 mm、約70 mm、約65 mm、約60 mm、約55 mm、約50 mm、約48 mm、約46 mm、約44 mm、約42 mm、約40 mm、約38 mm、約36 mm、約34 mm、約32 mm、約30 mm、約28 mm、約26 mm、約24 mm、約22 mm、約20 mm、約18 mm、約16 mm、約14 mm或約12 mm；約12 mm至約100 mm、約95 mm、約90 mm、約85 mm、約80 mm、約75 mm、約70 mm、約65 mm、約60 mm、約55 mm、約50 mm、約48 mm、約46 mm、約44 mm、約42 mm、約40 mm、約38 mm、約36 mm、約34 mm、約32 mm、約30 mm、約28 mm、約26 mm、約24 mm、約22 mm、約20 mm、約18 mm、約16 mm或約14 mm；約14 mm至約100 mm、約95 mm、約90 mm、約85 mm、約80 mm、約75 mm、約70 mm、約65 mm、約60 mm、約55 mm、約50 mm、約48 mm、約46 mm、約44 mm、約42 mm、約40 mm、約38 mm、約36 mm、約34 mm、約32 mm、約30 mm、約28 mm、約26 mm、約24 mm、約22 mm、約20 mm、約18 mm或約16 mm；約16 mm至約100 mm、約95 mm、約90 mm、約85 mm、約80 mm、約75 mm、約70 mm、約65 mm、約60 mm、約55 mm、約50 mm、約48 mm、約46 mm、約44 mm、約42 mm、約40 mm、約38 mm、約36 mm、約34 mm、約32 mm、約30 mm、約28 mm、約26 mm、約24 mm、約22 mm、約20 mm或約18 mm；約18 mm至約100 mm、約95 mm、約90 mm、約85 mm、約80 mm、約75 mm、約70 mm、約65 mm、約60 mm、約55 mm、約50 mm、約48 mm、約46 mm、約44 mm、約42 mm、約40 mm、約38 mm、約36 mm、約34 mm、約32 mm、約30 mm、約28 mm、約26 mm、約24 mm、約22 mm或約20 mm；約20 mm至約100 mm、約95 mm、約90 mm、約85 mm、約80 mm、約75 mm、約70 mm、約65 mm、約60 mm、約55 mm、約50 mm、約48 mm、約46 mm、約44

mm、約42 mm、約40 mm、約38 mm、約36 mm、約34 mm、約32 mm、約30 mm、約28 mm、約26 mm、約24 mm或約22 mm；約22 mm至約100 mm、約95 mm、約90 mm、約85 mm、約80 mm、約75 mm、約70 mm、約65 mm、約60 mm、約55 mm、約50 mm、約48 mm、約46 mm、約44 mm、約42 mm、約40 mm、約38 mm、約36 mm、約34 mm、約32 mm、約30 mm、約28 mm、約26 mm或約24 mm；約24 mm至約100 mm、約95 mm、約90 mm、約85 mm、約80 mm、約75 mm、約70 mm、約65 mm、約60 mm、約55 mm、約50 mm、約48 mm、約46 mm、約44 mm、約42 mm、約40 mm、約38 mm、約36 mm、約34 mm、約32 mm、約30 mm、約28 mm或約26 mm；約26 mm至約50 mm、約48 mm、約46 mm、約44 mm、約42 mm、約40 mm、約38 mm、約36 mm、約34 mm、約32 mm、約30 mm或約28 mm；約28 mm至約100 mm、約95 mm、約90 mm、約85 mm、約80 mm、約75 mm、約70 mm、約65 mm、約60 mm、約55 mm、約50 mm、約48 mm、約46 mm、約44 mm、約42 mm、約40 mm、約38 mm、約36 mm、約34 mm、約32 mm或約30 mm；約30 mm至約100 mm、約95 mm、約90 mm、約85 mm、約80 mm、約75 mm、約70 mm、約65 mm、約60 mm、約55 mm、約50 mm、約48 mm、約46 mm、約44 mm、約42 mm、約40 mm、約38 mm、約36 mm、約34 mm或約32 mm；約32 mm至約100 mm、約95 mm、約90 mm、約85 mm、約80 mm、約75 mm、約70 mm、約65 mm、約60 mm、約55 mm、約50 mm、約48 mm、約46 mm、約44 mm、約42 mm、約40 mm、約38 mm、約36 mm或約34 mm；約34 mm至約100 mm、約95 mm、約90 mm、約85 mm、約80 mm、約75 mm、約70 mm、約65 mm、約60 mm、約55 mm、約50 mm、約48 mm、約46 mm、約44 mm、約42 mm、約40 mm、約38 mm或約36 mm；約36 mm至約100 mm、約95 mm、約90 mm、約85 mm、約80 mm、約75 mm、約70 mm、約65 mm、約60 mm、約55 mm、約50 mm、約48 mm、約46 mm、約44 mm、約42 mm、約40 mm,至約38 mm；約38 mm至約100 mm、約95 mm、約90 mm、約85 mm、約80 mm、約75 mm、約70 mm、約65 mm、約60 mm、約55 mm、約50 mm、約48 mm、約46 mm、約44 mm、約42 mm或約40 mm；約40 mm至約100 mm、約95 mm、約90 mm、約85 mm、約80 mm、約75 mm、約70 mm、約65 mm、約60 mm、約55 mm、約50 mm、約48

mm、約46 mm、約44 mm或約42 mm；約42 mm至約100 mm、約95 mm、約90 mm、約85 mm、約80 mm、約75 mm、約70 mm、約65 mm、約60 mm、約55 mm、約50 mm、約48 mm、約46 mm或約44 mm；約44 mm至約100 mm、約95 mm、約90 mm、約85 mm、約80 mm、約75 mm、約70 mm、約65 mm、約60 mm、約55 mm、約50 mm、約48 mm或約46 mm；約46 mm至約100 mm、約95 mm、約90 mm、約85 mm、約80 mm、約75 mm、約70 mm、約65 mm、約60 mm、約55 mm、約50 mm或約48 mm；約48 mm至約100 mm、約95 mm、約90 mm、約85 mm、約80 mm、約75 mm、約70 mm、約65 mm、約60 mm、約55 mm或約50 mm；約50 mm至約100 mm、約95 mm、約90 mm、約85 mm、約80 mm、約75 mm、約70 mm、約65 mm、約60 mm或約55 mm；約55 mm至約100 mm、約95 mm、約90 mm、約85 mm、約80 mm、約75 mm、約70 mm、約65 mm或約60 mm；約60 mm至約100 mm、約95 mm、約90 mm、約85 mm、約80 mm、約75 mm、約70 mm或約65 mm；約65 mm至約100 mm、約95 mm、約90 mm、約85 mm、約80 mm、約75 mm或約70 mm；約70 mm至約100 mm、約95 mm、約90 mm、約85 mm、約80 mm或約75 mm；約75 mm至約100 mm、約95 mm、約90 mm、約85 mm或約80 mm；約80 mm至約100 mm、約95 mm、約90 mm或約85 mm；約85 mm至約100 mm、約95 mm或約90 mm；約90 mm至約100 mm 或約95 mm；或約95 mm至約100 mm。

在一些實施方案中，所述連接管道和/或所述第二環路系統中的管道的總長度為約1.0 cm至約75 cm、約70 cm、約65 cm、約60 cm、約55 cm、約50 cm、約45 cm、約40 cm、約35 cm、約30 cm、約25 cm、約20 cm、約18 cm、約16 cm、約14 cm、約12 cm、約10 cm、約8.0 cm、約6.0 cm、約4.0 cm或約2.0 cm；約2.0 cm至約75 cm、約70 cm、約65 cm、約60 cm、約55 cm、約50 cm、約45 cm、約40 cm、約35 cm、約30 cm、約25 cm、約20 cm、約18 cm、約16 cm、約14 cm、約12 cm、約10 cm、約8.0 cm、約6.0 cm或約4.0 cm；約4.0 cm至約75 cm、約70 cm、約65 cm、約60 cm、約55 cm、約50 cm、約45 cm、約40 cm、約35 cm、約30 cm、約25 cm、約20 cm、約18 cm、約16 cm、約14 cm、約12 cm、約10 cm、約8.0 cm或約6.0 cm；約6.0 cm至約75 cm、約70 cm、約65 cm、約

60 cm、約55 cm、約50 cm、約45 cm、約40 cm、約35 cm、約30 cm、約25 cm、約20 cm、約18 cm、約16 cm、約14 cm、約12 cm、約10 cm或約8.0 cm；約8.0 cm至約75 cm、約70 cm、約65 cm、約60 cm、約55 cm、約50 cm、約45 cm、約40 cm、約35 cm、約30 cm、約25 cm、約20 cm、約18 cm、約16 cm、約14 cm、約12 cm或約10 cm；約10 cm至約75 cm、約70 cm、約65 cm、約60 cm、約55 cm、約50 cm、約45 cm、約40 cm、約35 cm、約30 cm、約25 cm、約20 cm、約18 cm、約16 cm、約14 cm或約12 cm；約12 cm至約75 cm、約70 cm、約65 cm、約60 cm、約55 cm、約50 cm、約45 cm、約40 cm、約35 cm、約30 cm、約25 cm、約20 cm、約18 cm、約16 cm或約14 cm；約14 cm至約75 cm、約70 cm、約65 cm、約60 cm、約55 cm、約50 cm、約45 cm、約40 cm、約35 cm、約30 cm、約25 cm、約20 cm、約18 cm或約16 cm；約16 cm至約75 cm、約70 cm、約65 cm、約60 cm、約55 cm、約50 cm、約45 cm、約40 cm、約35 cm、約30 cm、約25 cm、約20 cm或約18 cm；約18 cm至約75 cm、約70 cm、約65 cm、約60 cm、約55 cm、約50 cm、約45 cm、約40 cm、約35 cm、約30 cm、約25 cm或約20 cm；約20 cm至約75 cm、約70 cm、約65 cm、約60 cm、約55 cm、約50 cm、約45 cm、約40 cm、約35 cm、約30 cm或約25 cm；約25 cm至約75 cm、約70 cm、約65 cm、約60 cm、約55 cm、約50 cm、約45 cm、約40 cm、約35 cm或約30 cm；約30 cm至約75 cm、約70 cm、約65 cm、約60 cm、約55 cm、約50 cm、約45 cm、約40 cm或約35 cm；約35 cm至約75 cm、約70 cm、約65 cm、約60 cm、約55 cm、約50 cm、約45 cm或約40 cm；約40 cm至約75 cm、約70 cm、約65 cm、約60 cm、約55 cm、約50 cm或約45 cm；約45 cm至約75 cm、約70 cm、約65 cm、約60 cm、約55 cm或約50 cm；約50 cm至約75 cm、約70 cm、約65 cm、約60 cm或約55 cm；約55 cm至約75 cm、約70 cm、約65 cm或約60 cm；約60 cm至約75 cm、約70 cm或約65 cm；約65 cm至約75 cm 或約70 cm；或約70 cm至約75 cm。

能夠用於所述第二環路系統中的其他管道的實例和管道的性質是本領域人員熟知的。

在一些實例中，所述第二環路系統包括一個、兩個、三個、四個或五個端口。在一些實例中，所述第二環路系統中的所述至少一個端口可以是閥門。在其他實例中，所述第二環路系統中的所述至少一個端口可以是注射端口或者可以具有帶肋螺紋(ribbed threading)。所述第二環路系統中的所述至少一個端口可以是任何類型的本領域公知的端口。

在一些實例中，所述第二環路系統可以進一步包括設置在所述連接管道和/或所述第二系統中的管道中的泵(例如，低湍流泵，例如，蠕動泵)。在一些實施方案中，所述第二環路系統不包括保持罐。在一些實施方案中，所述連接管道不與保持罐流體連接。

在一些實例中，步驟(f)包括使步驟(d)的收集的流體以如下速率連續流入(例如，單向或雙向流動)所述第二系統(使用連接管道)，所述速率為約0.05 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約24 mL/分鐘、約22 mL/分鐘、約20 mL/分鐘、約18 mL/分鐘、約16 mL/分鐘、約14 mL/分鐘、約12 mL/分鐘、約10 mL/分鐘、約9.5 mL/分鐘、約9.0 mL/分鐘、約8.5 mL/分鐘、約8.0 mL/分鐘、約7.5 mL/分鐘、約7.0 mL/分鐘、約6.5 mL/分鐘、約6.0 mL/分鐘、約5.5 mL/分鐘、約5.0 mL/分鐘、約4.5 mL/分鐘、約4.0 mL/分鐘、約3.5 mL/分鐘、約3.0 mL/分鐘、約2.5 mL/分鐘、約2.0 mL/分鐘、約1.5 mL/分鐘、約1.0 mL/分鐘、約0.5 mL/分鐘或約0.1 mL/分鐘；約0.1 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/

分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約24 mL/分鐘、約22 mL/分鐘、約20 mL/分鐘、約18 mL/分鐘、約16 mL/分鐘、約14 mL/分鐘、約12 mL/分鐘、約10 mL/分鐘、約9.5 mL/分鐘、約9.0 mL/分鐘、約8.5 mL/分鐘、約8.0 mL/分鐘、約7.5 mL/分鐘、約7.0 mL/分鐘、約6.5 mL/分鐘、約6.0 mL/分鐘、約5.5 mL/分鐘、約5.0 mL/分鐘、約4.5 mL/分鐘、約4.0 mL/分鐘、約3.5 mL/分鐘、約3.0 mL/分鐘、約2.5 mL/分鐘、約2.0 mL/分鐘、約1.5 mL/分鐘、約1.0 mL/分鐘或約0.5 mL/分鐘；約0.5 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約24 mL/分鐘、約22 mL/分鐘、約20 mL/分鐘、約18 mL/分鐘、約16 mL/分鐘、約14 mL/分鐘、約12 mL/分鐘、約10 mL/分鐘、約9.5 mL/分鐘、約9.0 mL/分鐘、約8.5 mL/分鐘、約8.0 mL/分鐘、約7.5 mL/分鐘、約7.0 mL/分鐘、約6.5 mL/分鐘、約6.0 mL/分鐘、約5.5 mL/分鐘、約5.0 mL/分鐘、約4.5 mL/分鐘、約4.0 mL/分鐘、約3.5 mL/分鐘、約3.0 mL/分鐘、約2.5 mL/分鐘、約2.0 mL/分鐘、約1.5 mL/分鐘或約1.0 mL/分鐘；約1.0 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300

mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約24 mL/分鐘、約22 mL/分鐘、約20 mL/分鐘、約18 mL/分鐘、約16 mL/分鐘、約14 mL/分鐘、約12 mL/分鐘、約10 mL/分鐘、約9.5 mL/分鐘、約9.0 mL/分鐘、約8.5 mL/分鐘、約8.0 mL/分鐘、約7.5 mL/分鐘、約7.0 mL/分鐘、約6.5 mL/分鐘、約6.0 mL/分鐘、約5.5 mL/分鐘、約5.0 mL/分鐘、約4.5 mL/分鐘、約4.0 mL/分鐘、約3.5 mL/分鐘、約3.0 mL/分鐘、約2.5 mL/分鐘、約2.0 mL/分鐘或約1.5 mL/分鐘；約1.5 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約24 mL/分鐘、約22 mL/分鐘、約20 mL/分鐘、約18 mL/分鐘、約16 mL/分鐘、約14 mL/分鐘、約12 mL/分鐘、約10 mL/分鐘、約9.5 mL/分鐘、約9.0 mL/分鐘、約8.5 mL/分鐘、約8.0 mL/分鐘、約7.5 mL/分鐘、約7.0 mL/分鐘、約6.5 mL/分鐘、約6.0 mL/分鐘、約5.5 mL/分鐘、約5.0 mL/分鐘、約4.5 mL/分鐘、約4.0 mL/分鐘、約3.5 mL/分鐘、約3.0 mL/分鐘、約2.5 mL/分鐘或約2.0 mL/分鐘；約2.0 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約24 mL/分鐘、約22 mL/分鐘、約20 mL/分鐘、約18 mL/分鐘、約16 mL/分鐘、約14 mL/

分鐘、約12 mL/分鐘、約10 mL/分鐘、約9.5 mL/分鐘、約9.0 mL/分鐘、約8.5 mL/分鐘、約8.0 mL/分鐘、約7.5 mL/分鐘、約7.0 mL/分鐘、約6.5 mL/分鐘、約6.0 mL/分鐘、約5.5 mL/分鐘、約5.0 mL/分鐘、約4.5 mL/分鐘、約4.0 mL/分鐘、約3.5 mL/分鐘、約3.0 mL/分鐘或約2.5 mL/分鐘；約2.5 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約24 mL/分鐘、約22 mL/分鐘、約20 mL/分鐘、約18 mL/分鐘、約16 mL/分鐘、約14 mL/分鐘、約12 mL/分鐘、約10 mL/分鐘、約9.5 mL/分鐘、約9.0 mL/分鐘、約8.5 mL/分鐘、約8.0 mL/分鐘、約7.5 mL/分鐘、約7.0 mL/分鐘、約6.5 mL/分鐘、約6.0 mL/分鐘、約5.5 mL/分鐘、約5.0 mL/分鐘、約4.5 mL/分鐘、約4.0 mL/分鐘、約3.5 mL/分鐘或約3.0 mL/分鐘；約3.0 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約24 mL/分鐘、約22 mL/分鐘、約20 mL/分鐘、約18 mL/分鐘、約16 mL/分鐘、約14 mL/分鐘、約12 mL/分鐘、約10 mL/分鐘、約9.5 mL/分鐘、約9.0 mL/分鐘、約8.5 mL/分鐘、約8.0 mL/分鐘、約7.5 mL/分鐘、約7.0 mL/分鐘、約6.5 mL/分鐘、約6.0 mL/分鐘、約5.5 mL/分鐘、約5.0 mL/分鐘、約4.5 mL/分鐘、約4.0 mL/分鐘或約3.5 mL/分鐘；約3.5 mL/

分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約24 mL/分鐘、約22 mL/分鐘、約20 mL/分鐘、約18 mL/分鐘、約16 mL/分鐘、約14 mL/分鐘、約12 mL/分鐘、約10 mL/分鐘、約9.5 mL/分鐘、約9.0 mL/分鐘、約8.5 mL/分鐘、約8.0 mL/分鐘、約7.5 mL/分鐘、約7.0 mL/分鐘、約6.5 mL/分鐘、約6.0 mL/分鐘、約5.5 mL/分鐘、約5.0 mL/分鐘、約4.5 mL/分鐘或約4.0 mL/分鐘；約4.0 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約24 mL/分鐘、約22 mL/分鐘、約20 mL/分鐘、約18 mL/分鐘、約16 mL/分鐘、約14 mL/分鐘、約12 mL/分鐘、約10 mL/分鐘、約9.5 mL/分鐘、約9.0 mL/分鐘、約8.5 mL/分鐘、約8.0 mL/分鐘、約7.5 mL/分鐘、約7.0 mL/分鐘、約6.5 mL/分鐘、約6.0 mL/分鐘、約5.5 mL/分鐘、約5.0 mL/分鐘或約4.5 mL/分鐘；約4.5 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400

mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約24 mL/分鐘、約22 mL/分鐘、約20 mL/分鐘、約18 mL/分鐘、約16 mL/分鐘、約14 mL/分鐘、約12 mL/分鐘、約10 mL/分鐘、約9.5 mL/分鐘、約9.0 mL/分鐘、約8.5 mL/分鐘、約8.0 mL/分鐘、約7.5 mL/分鐘、約7.0 mL/分鐘、約6.5 mL/分鐘、約6.0 mL/分鐘、約5.5 mL/分鐘或約5.0 mL/分鐘；約5.0 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約24 mL/分鐘、約22 mL/分鐘、約20 mL/分鐘、約18 mL/分鐘、約16 mL/分鐘、約14 mL/分鐘、約12 mL/分鐘、約10 mL/分鐘、約9.5 mL/分鐘、約9.0 mL/分鐘、約8.5 mL/分鐘、約8.0 mL/分鐘、約7.5 mL/分鐘、約7.0 mL/分鐘、約6.5 mL/分鐘、約6.0 mL/分鐘或約5.5 mL/分鐘；約5.5 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約24 mL/分鐘、約22 mL/分鐘、約20 mL/分鐘、約18 mL/分鐘、約16 mL/分鐘、約14 mL/分鐘、約12 mL/分鐘、約10 mL/分鐘、約9.5 mL/分鐘、約9.0 mL/分鐘、約8.5 mL/分鐘、約8.0 mL/分鐘、約7.5 mL/分鐘、約7.0 mL/分鐘、約6.5 mL/分鐘或約6.0 mL/分鐘；約6.0 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90

L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約24 mL/分鐘、約22 mL/分鐘、約20 mL/分鐘、約18 mL/分鐘、約16 mL/分鐘、約14 mL/分鐘、約12 mL/分鐘、約10 mL/分鐘、約9.5 mL/分鐘、約9.0 mL/分鐘、約8.5 mL/分鐘、約8.0 mL/分鐘、約7.5 mL/分鐘、約7.0 mL/分鐘或約6.5 mL/分鐘；約6.5 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約24 mL/分鐘、約22 mL/分鐘、約20 mL/分鐘、約18 mL/分鐘、約16 mL/分鐘、約14 mL/分鐘、約12 mL/分鐘、約10 mL/分鐘、約9.5 mL/分鐘、約9.0 mL/分鐘、約8.5 mL/分鐘、約8.0 mL/分鐘、約7.5 mL/分鐘或約7.0 mL/分鐘；約7.0 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約24 mL/分鐘、約22 mL/分鐘、約20 mL/分鐘、約18 mL/

分鐘、約16 mL/分鐘、約14 mL/分鐘、約12 mL/分鐘、約10 mL/分鐘、約9.5 mL/分鐘、約9.0 mL/分鐘、約8.5 mL/分鐘、約8.0 mL/分鐘或約7.5 mL/分鐘；約7.5 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約24 mL/分鐘、約22 mL/分鐘、約20 mL/分鐘、約18 mL/分鐘、約16 mL/分鐘、約14 mL/分鐘、約12 mL/分鐘、約10 mL/分鐘、約9.5 mL/分鐘、約9.0 mL/分鐘、約8.5 mL/分鐘或約8.0 mL/分鐘；約8.0 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約24 mL/分鐘、約22 mL/分鐘、約20 mL/分鐘、約18 mL/分鐘、約16 mL/分鐘、約14 mL/分鐘、約12 mL/分鐘、約10 mL/分鐘、約9.5 mL/分鐘、約9.0 mL/分鐘或約8.5 mL/分鐘；約8.5 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約

100 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約24 mL/分鐘、約22 mL/分鐘、約20 mL/分鐘、約18 mL/分鐘、約16 mL/分鐘、約14 mL/分鐘、約12 mL/分鐘、約10 mL/分鐘、約9.5 mL/分鐘或約9.0 mL/分鐘；約9.0 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約24 mL/分鐘、約22 mL/分鐘、約20 mL/分鐘、約18 mL/分鐘、約16 mL/分鐘、約14 mL/分鐘、約12 mL/分鐘、約10 mL/分鐘或約9.5 mL/分鐘；約9.5 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約24 mL/分鐘、約22 mL/分鐘、約20 mL/分鐘、約18 mL/分鐘、約16 mL/分鐘、約14 mL/分鐘、約12 mL/分鐘或約10 mL/分鐘；約10 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約24 mL/分

鐘、約22 mL/分鐘、約20 mL/分鐘、約18 mL/分鐘、約16 mL/分鐘、約14 mL/分鐘或約12 mL/分鐘；約12 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約24 mL/分鐘、約22 mL/分鐘、約20 mL/分鐘、約18 mL/分鐘、約16 mL/分鐘或約14 mL/分鐘；約14 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約24 mL/分鐘、約22 mL/分鐘、約20 mL/分鐘、約18 mL/分鐘或約16 mL/分鐘；約16 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約24 mL/分鐘、約22 mL/分鐘、約20 mL/分鐘或約18 mL/分鐘；約18 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/

分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約24 mL/分鐘、約22 mL/分鐘或約20 mL/分鐘；約20 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約24 mL/分鐘或約22 mL/分鐘；約22 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約25 mL/分鐘 或約24 mL/分鐘；約23 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約50 mL/分鐘或約25 mL/分鐘；約25 mL/分鐘至約100 L/

分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘或約50 mL/分鐘；約50 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘或約100 mL/分鐘；約100 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘或約150 mL/分鐘；約150 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘或約200 mL/分鐘；約200 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20

L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘或約250 mL/分鐘；約250 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘或約300 mL/分鐘；約300 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘或約350 mL/分鐘；約350 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘或約400 mL/分鐘；約400 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘或約450 mL/分鐘；約450 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10

L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘或約500 mL/分鐘；約500 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘或約550 mL/分鐘；約550 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘或約600 mL/分鐘；約600 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘或約650 mL/分鐘；約650 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘或約700 mL/分鐘；約700 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘或約750 mL/分鐘；約750 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘或約800 mL/分鐘；約800 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/

分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘或約850 mL/分鐘；約850 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘或約900 mL/分鐘；約900 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘或約950 mL/分鐘；約950 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘或約1 L/分鐘；約1 L/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘或約5 L/分鐘；約5 L/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘、約20 L/分鐘或約10 L/分鐘；約10 L/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘、約30 L/分鐘或約20 L/分鐘；約20 L/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘、約40 L/分鐘或約30 L/分鐘；約30 L/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘、約50 L/分鐘或約40 L/分鐘；約40 L/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘、約60 L/分鐘或約50 L/分鐘；約50 L/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘、約70 L/分鐘或約60 L/分鐘；約60 L/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘、約80 L/分鐘或約70 L/分鐘；約70 L/分鐘至約100 L/分鐘、約90 L/分鐘或約80 L/分鐘；約80 L/分鐘至約100 L/分鐘 或約90 L/分鐘；或約90 L/分鐘至約100 L/分鐘。

在一些實例中，步驟(f)中從所述TFVF單元收集的濾出液包括濃度為

約0.1 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL、約76 mg/mL、約74 mg/mL、約72 mg/mL、約70 mg/mL、約68 mg/mL、約66 mg/mL、約64 mg/mL、約62 mg/mL、約60 mg/mL、約58 mg/mL、約56 mg/mL、約54 mg/mL、約52 mg/mL、約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL、約40 mg/mL、約38 mg/mL、約36 mg/mL、約34 mg/mL、約32 mg/mL、約30 mg/mL、約28 mg/mL、約26 mg/mL、約24 mg/mL、約22 mg/mL、約20 mg/mL、約18 mg/mL、約16 mg/mL、約14 mg/mL、約12 mg/mL、約10 mg/mL、約9 mg/mL、約8 mg/mL、約7 mg/mL、約6 mg/mL、約5 mg/mL、約4 mg/mL、約3 mg/mL、約2.5 mg/mL、約2.0 mg/mL、約1.5 mg/mL、約1.0 mg/mL或約0.5 mg/mL；約0.5 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL、約76 mg/mL、約74 mg/mL、約72 mg/mL、約70 mg/mL、約68 mg/mL、約66 mg/mL、約64 mg/mL、約62 mg/mL、約60 mg/mL、約58 mg/mL、約56 mg/mL、約54 mg/mL、約52 mg/mL、約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL、約40 mg/mL、約38 mg/mL、約36 mg/mL、約34 mg/mL、約32 mg/mL、約30 mg/mL、約28 mg/mL、約26 mg/mL、約24 mg/mL、約22 mg/mL、約20 mg/mL、約18 mg/mL、約16 mg/mL、約14 mg/mL、約12 mg/mL、約10 mg/mL、約9 mg/mL、約8 mg/mL、約7 mg/mL、約6 mg/mL、約5 mg/mL、約4 mg/mL、約3 mg/mL、約2.5 mg/mL、約2.0 mg/mL、約1.5 mg/mL或約1.0 mg/mL；約1.0 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL、約76 mg/mL、約74 mg/mL、約72 mg/mL、約70 mg/mL、約68 mg/mL、約66 mg/mL、約64 mg/mL、約62 mg/mL、約60 mg/mL、約58 mg/mL、約56 mg/mL、約54 mg/mL、約52 mg/mL、約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42

mg/mL、約40 mg/mL、約38 mg/mL、約36 mg/mL、約34 mg/mL、約32 mg/mL、約30 mg/mL、約28 mg/mL、約26 mg/mL、約24 mg/mL、約22 mg/mL、約20 mg/mL、約18 mg/mL、約16 mg/mL、約14 mg/mL、約12 mg/mL、約10 mg/mL、約9 mg/mL、約8 mg/mL、約7 mg/mL、約6 mg/mL、約5 mg/mL、約4 mg/mL、約3 mg/mL、約2.5 mg/mL、約2.0 mg/mL或約1.5 mg/mL；約1.5 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL、約76 mg/mL、約74 mg/mL、約72 mg/mL、約70 mg/mL、約68 mg/mL、約66 mg/mL、約64 mg/mL、約62 mg/mL、約60 mg/mL、約58 mg/mL、約56 mg/mL、約54 mg/mL、約52 mg/mL、約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL、約40 mg/mL、約38 mg/mL、約36 mg/mL、約34 mg/mL、約32 mg/mL、約30 mg/mL、約28 mg/mL、約26 mg/mL、約24 mg/mL、約22 mg/mL、約20 mg/mL、約18 mg/mL、約16 mg/mL、約14 mg/mL、約12 mg/mL、約10 mg/mL、約9 mg/mL、約8 mg/mL、約7 mg/mL、約6 mg/mL、約5 mg/mL、約4 mg/mL、約3 mg/mL、約2.5 mg/mL或約2.0 mg/mL；約2.0 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL、約76 mg/mL、約74 mg/mL、約72 mg/mL、約70 mg/mL、約68 mg/mL、約66 mg/mL、約64 mg/mL、約62 mg/mL、約60 mg/mL、約58 mg/mL、約56 mg/mL、約54 mg/mL、約52 mg/mL、約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL、約40 mg/mL、約38 mg/mL、約36 mg/mL、約34 mg/mL、約32 mg/mL、約30 mg/mL、約28 mg/mL、約26 mg/mL、約24 mg/mL、約22 mg/mL、約20 mg/mL、約18 mg/mL、約16 mg/mL、約14 mg/mL、約12 mg/mL、約10 mg/mL、約9 mg/mL、約8 mg/mL、約7 mg/mL、約6 mg/mL、約5 mg/mL、約4 mg/mL、約3 mg/mL或約2.5 mg/mL；約2.5 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82

mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL、約76 mg/mL、約74 mg/mL、約72 mg/mL、約70 mg/mL、約68 mg/mL、約66 mg/mL、約64 mg/mL、約62 mg/mL、約60 mg/mL、約58 mg/mL、約56 mg/mL、約54 mg/mL、約52 mg/mL、約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL、約40 mg/mL、約38 mg/mL、約36 mg/mL、約34 mg/mL、約32 mg/mL、約30 mg/mL、約28 mg/mL、約26 mg/mL、約24 mg/mL、約22 mg/mL、約20 mg/mL、約18 mg/mL、約16 mg/mL、約14 mg/mL、約12 mg/mL、約10 mg/mL、約9 mg/mL、約8 mg/mL、約7 mg/mL、約6 mg/mL、約5 mg/mL、約4 mg/mL或約3 mg/mL；約3 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL、約76 mg/mL、約74 mg/mL、約72 mg/mL、約70 mg/mL、約68 mg/mL、約66 mg/mL、約64 mg/mL、約62 mg/mL、約60 mg/mL、約58 mg/mL、約56 mg/mL、約54 mg/mL、約52 mg/mL、約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL、約40 mg/mL、約38 mg/mL、約36 mg/mL、約34 mg/mL、約32 mg/mL、約30 mg/mL、約28 mg/mL、約26 mg/mL、約24 mg/mL、約22 mg/mL、約20 mg/mL、約18 mg/mL、約16 mg/mL、約14 mg/mL、約12 mg/mL、約10 mg/mL、約9 mg/mL、約8 mg/mL、約7 mg/mL、約6 mg/mL或約5 mg/mL或約4 mg/mL；約4 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL、約76 mg/mL、約74 mg/mL、約72 mg/mL、約70 mg/mL、約68 mg/mL、約66 mg/mL、約64 mg/mL、約62 mg/mL、約60 mg/mL、約58 mg/mL、約56 mg/mL、約54 mg/mL、約52 mg/mL、約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL、約40 mg/mL、約38 mg/mL、約36 mg/mL、約34 mg/mL、約32 mg/mL、約30 mg/mL、約28 mg/mL、約26 mg/mL、約24 mg/mL、約22 mg/mL、約20 mg/mL、約18 mg/mL、約16 mg/mL、約14 mg/mL、約12 mg/mL、約10 mg/mL、約9 mg/mL、約8 mg/mL、約7 mg/mL、約6 mg/mL或

約5 mg/mL；約5 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL、約76 mg/mL、約74 mg/mL、約72 mg/mL、約70 mg/mL、約68 mg/mL、約66 mg/mL、約64 mg/mL、約62 mg/mL、約60 mg/mL、約58 mg/mL、約56 mg/mL、約54 mg/mL、約52 mg/mL、約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL、約40 mg/mL、約38 mg/mL、約36 mg/mL、約34 mg/mL、約32 mg/mL、約30 mg/mL、約28 mg/mL、約26 mg/mL、約24 mg/mL、約22 mg/mL、約20 mg/mL、約18 mg/mL、約16 mg/mL、約14 mg/mL、約12 mg/mL、約10 mg/mL、約9 mg/mL、約8 mg/mL、約7 mg/mL或約6 mg/mL；約6 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL、約76 mg/mL、約74 mg/mL、約72 mg/mL、約70 mg/mL、約68 mg/mL、約66 mg/mL、約64 mg/mL、約62 mg/mL、約60 mg/mL、約58 mg/mL、約56 mg/mL、約54 mg/mL、約52 mg/mL、約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL、約40 mg/mL、約38 mg/mL、約36 mg/mL、約34 mg/mL、約32 mg/mL、約30 mg/mL、約28 mg/mL、約26 mg/mL、約24 mg/mL、約22 mg/mL、約20 mg/mL、約18 mg/mL、約16 mg/mL、約14 mg/mL、約12 mg/mL、約10 mg/mL、約9 mg/mL、約8 mg/mL或約7 mg/mL；約7 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL、約76 mg/mL、約74 mg/mL、約72 mg/mL、約70 mg/mL、約68 mg/mL、約66 mg/mL、約64 mg/mL、約62 mg/mL、約60 mg/mL、約58 mg/mL、約56 mg/mL、約54 mg/mL、約52 mg/mL、約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL、約40 mg/mL、約38 mg/mL、約36 mg/mL、約34 mg/mL、約32 mg/mL、約30 mg/mL、約28 mg/mL、約26 mg/mL、約24 mg/mL、約22 mg/mL、約20 mg/mL、約18 mg/mL、約16 mg/mL、約14 mg/mL、約12

mg/mL、約10 mg/mL、約9 mg/mL或約8 mg/mL；約8 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL、約76 mg/mL、約74 mg/mL、約72 mg/mL、約70 mg/mL、約68 mg/mL、約66 mg/mL、約64 mg/mL、約62 mg/mL、約60 mg/mL、約58 mg/mL、約56 mg/mL、約54 mg/mL、約52 mg/mL、約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL、約40 mg/mL、約38 mg/mL、約36 mg/mL、約34 mg/mL、約32 mg/mL、約30 mg/mL、約28 mg/mL、約26 mg/mL、約24 mg/mL、約22 mg/mL、約20 mg/mL、約18 mg/mL、約16 mg/mL、約14 mg/mL、約12 mg/mL、約10 mg/mL或約9 mg/mL；約9 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL、約76 mg/mL、約74 mg/mL、約72 mg/mL、約70 mg/mL、約68 mg/mL、約66 mg/mL、約64 mg/mL、約62 mg/mL、約60 mg/mL、約58 mg/mL、約56 mg/mL、約54 mg/mL、約52 mg/mL、約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL、約40 mg/mL、約38 mg/mL、約36 mg/mL、約34 mg/mL、約32 mg/mL、約30 mg/mL、約28 mg/mL、約26 mg/mL、約24 mg/mL、約22 mg/mL、約20 mg/mL、約18 mg/mL、約16 mg/mL、約14 mg/mL、約12 mg/mL或約10 mg/mL；約10 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL、約76 mg/mL、約74 mg/mL、約72 mg/mL、約70 mg/mL、約68 mg/mL、約66 mg/mL、約64 mg/mL、約62 mg/mL、約60 mg/mL、約58 mg/mL、約56 mg/mL、約54 mg/mL、約52 mg/mL、約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL、約40 mg/mL、約38 mg/mL、約36 mg/mL、約34 mg/mL、約32 mg/mL、約30 mg/mL、約28 mg/mL、約26 mg/mL、約24 mg/mL、約22 mg/mL、約20 mg/mL、約18 mg/mL、約16 mg/mL、約14 mg/mL或約12 mg/mL；約12 mg/mL至約100

mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL、約76 mg/mL、約74 mg/mL、約72 mg/mL、約70 mg/mL、約68 mg/mL、約66 mg/mL、約64 mg/mL、約62 mg/mL、約60 mg/mL、約58 mg/mL、約56 mg/mL、約54 mg/mL、約52 mg/mL、約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL、約40 mg/mL、約38 mg/mL、約36 mg/mL、約34 mg/mL、約32 mg/mL、約30 mg/mL、約28 mg/mL、約26 mg/mL、約24 mg/mL、約22 mg/mL、約20 mg/mL、約18 mg/mL、約16 mg/mL或約14 mg/mL；約14 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL、約76 mg/mL、約74 mg/mL、約72 mg/mL、約70 mg/mL、約68 mg/mL、約66 mg/mL、約64 mg/mL、約62 mg/mL、約60 mg/mL、約58 mg/mL、約56 mg/mL、約54 mg/mL、約52 mg/mL、約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL、約40 mg/mL、約38 mg/mL、約36 mg/mL、約34 mg/mL、約32 mg/mL、約30 mg/mL、約28 mg/mL、約26 mg/mL、約24 mg/mL、約22 mg/mL、約20 mg/mL、約18 mg/mL或約16 mg/mL；約16 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL、約76 mg/mL、約74 mg/mL、約72 mg/mL、約70 mg/mL、約68 mg/mL、約66 mg/mL、約64 mg/mL、約62 mg/mL、約60 mg/mL、約58 mg/mL、約56 mg/mL、約54 mg/mL、約52 mg/mL、約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL、約40 mg/mL、約38 mg/mL、約36 mg/mL、約34 mg/mL、約32 mg/mL、約30 mg/mL、約28 mg/mL、約26 mg/mL、約24 mg/mL、約22 mg/mL、約20 mg/mL或約18 mg/mL；約18 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL、約76 mg/mL、約74

mg/mL、約72 mg/mL、約70 mg/mL、約68 mg/mL、約66 mg/mL、約64 mg/mL、約62 mg/mL、約60 mg/mL、約58 mg/mL、約56 mg/mL、約54 mg/mL、約52 mg/mL、約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL、約40 mg/mL、約38 mg/mL、約36 mg/mL、約34 mg/mL、約32 mg/mL、約30 mg/mL、約28 mg/mL、約26 mg/mL、約24 mg/mL、約22 mg/mL或約20 mg/mL；約20 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL、約76 mg/mL、約74 mg/mL、約72 mg/mL、約70 mg/mL、約68 mg/mL、約66 mg/mL、約64 mg/mL、約62 mg/mL、約60 mg/mL、約58 mg/mL、約56 mg/mL、約54 mg/mL、約52 mg/mL、約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL、約40 mg/mL、約38 mg/mL、約36 mg/mL、約34 mg/mL、約32 mg/mL、約30 mg/mL、約28 mg/mL、約26 mg/mL、約24 mg/mL或約22 mg/mL；約22 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL、約76 mg/mL、約74 mg/mL、約72 mg/mL、約70 mg/mL、約68 mg/mL、約66 mg/mL、約64 mg/mL、約62 mg/mL、約60 mg/mL、約58 mg/mL、約56 mg/mL、約54 mg/mL、約52 mg/mL、約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL、約40 mg/mL、約38 mg/mL、約36 mg/mL、約34 mg/mL、約32 mg/mL、約30 mg/mL、約28 mg/mL、約26 mg/mL或約24 mg/mL；約24 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL、約76 mg/mL、約74 mg/mL、約72 mg/mL、約70 mg/mL、約68 mg/mL、約66 mg/mL、約64 mg/mL、約62 mg/mL、約60 mg/mL、約58 mg/mL、約56 mg/mL、約54 mg/mL、約52 mg/mL、約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL、約40 mg/mL、約38 mg/mL、約36 mg/mL、約34 mg/mL、約32 mg/mL、約30

mg/mL、約28 mg/mL或約26 mg/mL；約26 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL、約76 mg/mL、約74 mg/mL、約72 mg/mL、約70 mg/mL、約68 mg/mL、約66 mg/mL、約64 mg/mL、約62 mg/mL、約60 mg/mL、約58 mg/mL、約56 mg/mL、約54 mg/mL、約52 mg/mL、約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL、約40 mg/mL、約38 mg/mL、約36 mg/mL、約34 mg/mL、約32 mg/mL、約30 mg/mL或約28 mg/mL；約28 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL、約76 mg/mL、約74 mg/mL、約72 mg/mL、約70 mg/mL、約68 mg/mL、約66 mg/mL、約64 mg/mL、約62 mg/mL、約60 mg/mL、約58 mg/mL、約56 mg/mL、約54 mg/mL、約52 mg/mL、約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL、約40 mg/mL、約38 mg/mL、約36 mg/mL、約34 mg/mL、約32 mg/mL或約30 mg/mL；約30 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL、約76 mg/mL、約74 mg/mL、約72 mg/mL、約70 mg/mL、約68 mg/mL、約66 mg/mL、約64 mg/mL、約62 mg/mL、約60 mg/mL、約58 mg/mL、約56 mg/mL、約54 mg/mL、約52 mg/mL、約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL、約40 mg/mL、約38 mg/mL、約36 mg/mL、約34 mg/mL或約32 mg/mL；約32 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL、約76 mg/mL、約74 mg/mL、約72 mg/mL、約70 mg/mL、約68 mg/mL、約66 mg/mL、約64 mg/mL、約62 mg/mL、約60 mg/mL、約58 mg/mL、約56 mg/mL、約54 mg/mL、約52 mg/mL、約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL、約40

mg/mL、約38 mg/mL、約36 mg/mL或約34 mg/mL；約34 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL、約76 mg/mL、約74 mg/mL、約72 mg/mL、約70 mg/mL、約68 mg/mL、約66 mg/mL、約64 mg/mL、約62 mg/mL、約60 mg/mL、約58 mg/mL、約56 mg/mL、約54 mg/mL、約52 mg/mL、約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL、約40 mg/mL、約38 mg/mL或約36 mg/mL；約36 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL、約76 mg/mL、約74 mg/mL、約72 mg/mL、約70 mg/mL、約68 mg/mL、約66 mg/mL、約64 mg/mL、約62 mg/mL、約60 mg/mL、約58 mg/mL、約56 mg/mL、約54 mg/mL、約52 mg/mL、約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL、約40 mg/mL或約38 mg/mL；約38 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL、約76 mg/mL、約74 mg/mL、約72 mg/mL、約70 mg/mL、約68 mg/mL、約66 mg/mL、約64 mg/mL、約62 mg/mL、約60 mg/mL、約58 mg/mL、約56 mg/mL、約54 mg/mL、約52 mg/mL、約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL、約42 mg/mL或約40 mg/mL；約40 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL、約76 mg/mL、約74 mg/mL、約72 mg/mL、約70 mg/mL、約68 mg/mL、約66 mg/mL、約64 mg/mL、約62 mg/mL、約60 mg/mL、約58 mg/mL、約56 mg/mL、約54 mg/mL、約52 mg/mL、約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL、約44 mg/mL或約42 mg/mL；約42 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80

mg/mL、約78 mg/mL、約76 mg/mL、約74 mg/mL、約72 mg/mL、約70 mg/mL、約68 mg/mL、約66 mg/mL、約64 mg/mL、約62 mg/mL、約60 mg/mL、約58 mg/mL、約56 mg/mL、約54 mg/mL、約52 mg/mL、約50 mg/mL、約48 mg/mL、約46 mg/mL或約44 mg/mL；約44 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL、約76 mg/mL、約74 mg/mL、約72 mg/mL、約70 mg/mL、約68 mg/mL、約66 mg/mL、約64 mg/mL、約62 mg/mL、約60 mg/mL、約58 mg/mL、約56 mg/mL、約54 mg/mL、約52 mg/mL、約50 mg/mL、約48 mg/mL或約46 mg/mL；約46 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL、約76 mg/mL、約74 mg/mL、約72 mg/mL、約70 mg/mL、約68 mg/mL、約66 mg/mL、約64 mg/mL、約62 mg/mL、約60 mg/mL、約58 mg/mL、約56 mg/mL、約54 mg/mL、約52 mg/mL、約50 mg/mL或約48 mg/mL；約48 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL、約76 mg/mL、約74 mg/mL、約72 mg/mL、約70 mg/mL、約68 mg/mL、約66 mg/mL、約64 mg/mL、約62 mg/mL、約60 mg/mL、約58 mg/mL、約56 mg/mL、約54 mg/mL、約52 mg/mL或約50 mg/mL；約50 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL、約76 mg/mL、約74 mg/mL、約72 mg/mL、約70 mg/mL、約68 mg/mL、約66 mg/mL、約64 mg/mL、約62 mg/mL、約60 mg/mL、約58 mg/mL、約56 mg/mL、約54 mg/mL或約52 mg/mL；約52 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL、約76 mg/mL、約74 mg/mL、約72 mg/mL、約70

mg/mL、約68 mg/mL、約66 mg/mL、約64 mg/mL、約62 mg/mL、約60 mg/mL、約58 mg/mL、約56 mg/mL或約54 mg/mL；約54 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL、約76 mg/mL、約74 mg/mL、約72 mg/mL、約70 mg/mL、約68 mg/mL、約66 mg/mL、約64 mg/mL、約62 mg/mL、約60 mg/mL、約58 mg/mL或約56 mg/mL；約56 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL、約76 mg/mL、約74 mg/mL、約72 mg/mL、約70 mg/mL、約68 mg/mL、約66 mg/mL、約64 mg/mL、約62 mg/mL或約60 mg/mL；約58 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL、約76 mg/mL、約74 mg/mL、約72 mg/mL、約70 mg/mL、約68 mg/mL、約66 mg/mL、約64 mg/mL、約62 mg/mL或約60 mg/mL；約60 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL、約76 mg/mL、約74 mg/mL、約72 mg/mL、約70 mg/mL、約68 mg/mL、約66 mg/mL、約64 mg/mL或約62 mg/mL；約62 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL、約76 mg/mL、約74 mg/mL、約72 mg/mL、約70 mg/mL、約68 mg/mL、約66 mg/mL或約64 mg/mL；約64 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL、約76 mg/mL、約74 mg/mL、約72 mg/mL、約70 mg/mL、約68 mg/mL或約66 mg/mL；約66 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88

mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL、約76 mg/mL、約74 mg/mL、約72 mg/mL、約70 mg/mL或約68 mg/mL；約68 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL、約76 mg/mL、約74 mg/mL、約72 mg/mL或約70 mg/mL；約70 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL、約76 mg/mL、約74 mg/mL或約72 mg/mL；約72 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL、約76 mg/mL或約74 mg/mL；約74 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL、約78 mg/mL或約76 mg/mL；約76 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL、約80 mg/mL或約78 mg/mL；約78 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL、約82 mg/mL或約80 mg/mL；約80 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL、約84 mg/mL或約82 mg/mL；約82 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL、約86 mg/mL或約84 mg/mL；約84 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL、約88 mg/mL或約86 mg/mL；約86 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL、約90 mg/mL或約88 mg/mL；約88 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL、約92 mg/mL或約90 mg/mL；約90 mg/mL至約100 mg/mL、約98

mg/mL, 96 mg/mL、約94 mg/mL或約92 mg/mL；約92 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL, 96 mg/mL或約94 mg/mL；約94 mg/mL至約100 mg/mL、約98 mg/mL或96 mg/mL；約96 mg/mL至約100 mg/mL 或約98 mg/mL；或約98 mg/mL至約100 mg/mL的重組治療性蛋白。

在這些方法的一些實例中，所述第三時間段可以為約0.1分鐘至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時、約9.5小時、約9.0小時、約8.5小時、約8.0小時、約7.5小時、約7小時、約6.5小時、約6.0小時、約5.5小時、約5.0小時、約4.5小時、約4.0小時、約3.5小時、約3.0小時、約2.5小時、約2.0小時、約1.5小時、約1.0小時、約55分鐘、約50分鐘、約45分鐘、約40分鐘、約35分鐘、約30分鐘、約25分鐘、約20分鐘、約15分鐘、約10分鐘、約5分鐘、約2分鐘或約1分鐘；約1分鐘至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時、約9.5小時、約9.0小時、約8.5小時、約8.0小時、約7.5小時、約7小時、約6.5小時、約6.0小時、約5.5小時、約5.0小時、約4.5小時、約4.0小時、約3.5小時、約3.0小時、約2.5小時、約2.0小時、約1.5小時、約1.0小時、約55分鐘、約50分鐘、約45分鐘、約40分鐘、約35分鐘、約30分鐘、約25分鐘、約20分鐘、約15分鐘、約10分鐘或約5分鐘；約2分鐘至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時、約9.5小時、約9.0小時、約8.5小時、約8.0小時、約7.5小時、約7小時、約6.5小時、約6.0小時、約5.5小時、約5.0小時、約4.5小時、約4.0小時、約3.5小時、約3.0小時、約2.5小時、約2.0小時、約1.5小時、約1.0小時、約55分鐘、約50分鐘、約45分鐘、約40分鐘、約35分鐘、約30分鐘、約25分鐘、約20分鐘、約15分鐘、約10分鐘或約5分鐘；約5分鐘至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時、約9.5小時、約9.0小時、約8.5小時、約8.0小時、約7.5小時、約7小時、約6.5小時、約6.0小時、約5.5小時、約5.0小時、約4.5小時、約4.0小時、約3.5小時、約3.0小時、約2.5小時、約2.0小時、約1.5小時、約1.0小時、約55分鐘、約50分鐘、約45分鐘、約40分鐘、約35分鐘、約30分鐘、約25分鐘、約20分鐘、約15分鐘或約10分鐘；約10分鐘至約12小時、約11.5小時、約11小時、約

10.5小時、約10小時、約9.5小時、約9.0小時、約8.5小時、約8.0小時、約7.5小時、約7小時、約6.5小時、約6.0小時、約5.5小時、約5.0小時、約4.5小時、約4.0小時、約3.5小時、約3.0小時、約2.5小時、約2.0小時、約1.5小時、約1.0小時、約55分鐘、約50分鐘、約45分鐘、約40分鐘、約35分鐘、約30分鐘、約25分鐘、約20分鐘或約15分鐘；約15分鐘至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時、約9.5小時、約9.0小時、約8.5小時、約8.0小時、約7.5小時、約7小時、約6.5小時、約6.0小時、約5.5小時、約5.0小時、約4.5小時、約4.0小時、約3.5小時、約3.0小時、約2.5小時、約2.0小時、約1.5小時、約1.0小時、約55分鐘、約50分鐘、約45分鐘、約40分鐘、約35分鐘、約30分鐘、約25分鐘或約20分鐘；約20分鐘至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時、約9.5小時、約9.0小時、約8.5小時、約8.0小時、約7.5小時、約7小時、約6.5小時、約6.0小時、約5.5小時、約5.0小時、約4.5小時、約4.0小時、約3.5小時、約3.0小時、約2.5小時、約2.0小時、約1.5小時、約1.0小時、約55分鐘、約50分鐘、約45分鐘、約40分鐘、約35分鐘、約30分鐘或約25分鐘；約25分鐘至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時、約9.5小時、約9.0小時、約8.5小時、約8.0小時、約7.5小時、約7小時、約6.5小時、約6.0小時、約5.5小時、約5.0小時、約4.5小時、約4.0小時、約3.5小時、約3.0小時、約2.5小時、約2.0小時、約1.5小時、約1.0小時、約55分鐘、約50分鐘、約45分鐘、約40分鐘、約35分鐘或約30分鐘；約30分鐘至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時、約9.5小時、約9.0小時、約8.5小時、約8.0小時、約7.5小時、約7小時、約6.5小時、約6.0小時、約5.5小時、約5.0小時、約4.5小時、約4.0小時、約3.5小時、約3.0小時、約2.5小時、約2.0小時、約1.5小時、約1.0小時、約55分鐘、約50分鐘、約45分鐘、約40分鐘或約35分鐘；約35分鐘至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時、約9.5小時、約9.0小時、約8.5小時、約8.0小時、約7.5小時、約7小時、約6.5小時、約6.0小時、約5.5小時、約5.0小時、約4.5小時、約4.0小時、約3.5小時、約3.0小時、約2.5小時、約2.0小

時、約1.5小時、約1.0小時、約55分鐘、約50分鐘、約45分鐘或約40分鐘；約40分鐘至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時、約9.5小時、約9.0小時、約8.5小時、約8.0小時、約7.5小時、約7小時、約6.5小時、約6.0小時、約5.5小時、約5.0小時、約4.5小時、約4.0小時、約3.5小時、約3.0小時、約2.5小時、約2.0小時、約1.5小時、約1.0小時、約55分鐘、約50分鐘或約45分鐘；約45分鐘至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時、約9.5小時、約9.0小時、約8.5小時、約8.0小時、約7.5小時、約7小時、約6.5小時、約6.0小時、約5.5小時、約5.0小時、約4.5小時、約4.0小時、約3.5小時、約3.0小時、約2.5小時、約2.0小時、約1.5小時、約1.0小時、約55分鐘或約50分鐘；約50分鐘至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時、約9.5小時、約9.0小時、約8.5小時、約8.0小時、約7.5小時、約7小時、約6.5小時、約6.0小時、約5.5小時、約5.0小時、約4.5小時、約4.0小時、約3.5小時、約3.0小時、約2.5小時、約2.0小時、約1.5小時、約1.0小時或約55分鐘；約55分鐘至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時、約9.5小時、約9.0小時、約8.5小時、約8.0小時、約7.5小時、約7小時、約6.5小時、約6.0小時、約5.5小時、約5.0小時、約4.5小時、約4.0小時、約3.5小時、約3.0小時、約2.5小時、約2.0小時、約1.5小時或約1.0小時；約1.0小時至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時、約9.5小時、約9.0小時、約8.5小時、約8.0小時、約7.5小時、約7小時、約6.5小時、約6.0小時、約5.5小時、約5.0小時、約4.5小時、約4.0小時、約3.5小時、約3.0小時、約2.5小時、約2.0小時或約1.5小時；約1.5小時至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時、約9.5小時、約9.0小時、約8.5小時、約8.0小時、約7.5小時、約7小時、約6.5小時、約6.0小時、約5.5小時、約5.0小時、約4.5小時、約4.0小時、約3.5小時、約3.0小時、約2.5小時或約2.0小時；約2.0小時至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時、約9.5小時、約9.0小時、約8.5小時、約8.0小時、約7.5小時、約7小時、約6.5小時、約6.0小時、約5.5小時、約5.0小時、約4.5小

時、約4.0小時、約3.5小時、約3.0小時或約2.5小時；約2.5小時至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時、約9.5小時、約9.0小時、約8.5小時、約8.0小時、約7.5小時、約7小時、約6.5小時、約6.0小時、約5.5小時、約5.0小時、約4.5小時、約4.0小時、約3.5小時或約3.0小時；約3.0小時至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時、約9.5小時、約9.0小時、約8.5小時、約8.0小時、約7.5小時、約7小時、約6.5小時、約6.0小時、約5.5小時、約5.0小時、約4.5小時、約4.0小時或約3.5小時；約3.5小時至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時、約9.5小時、約9.0小時、約8.5小時、約8.0小時、約7.5小時、約7小時、約6.5小時、約6.0小時、約5.5小時、約5.0小時、約4.5小時或約4.0小時；約4.0小時至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時、約9.5小時、約9.0小時、約8.5小時、約8.0小時、約7.5小時、約7小時、約6.5小時、約6.0小時、約5.5小時、約5.0小時或約4.5小時；約4.5小時至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時、約9.5小時、約9.0小時、約8.5小時、約8.0小時、約7.5小時、約7小時、約6.5小時、約6.0小時、約5.5小時或約5.0小時；約5.0小時至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時、約9.5小時、約9.0小時、約8.5小時、約8.0小時、約7.5小時、約7小時、約6.5小時、約6.0小時或約5.5小時；約5.5小時至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時、約9.5小時、約9.0小時、約8.5小時、約8.0小時、約7.5小時、約7小時、約6.5小時或約6.0小時；約6.0小時至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時、約9.5小時、約9.0小時、約8.5小時、約8.0小時、約7.5小時、約7小時或約6.5小時；約6.5小時至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時、約9.5小時、約9.0小時、約8.5小時、約8.0小時、約7.5小時或約7小時；約7小時至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時、約9.5小時、約9.0小時、約8.5小時、約8.0小時或約7.5小時；約7.5小時至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時、約9.5小時、約9.0小時、約8.5小時或約8.0小時；

約8.0小時至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時、約9.5小時、約9.0小時或約8.5小時；約8.5小時至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時、約9.5小時或約9.0小時；約9.0小時至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時、約10小時或約9.5小時；約9.5小時至約12小時、約11.5小時、約11小時、約10.5小時或約10小時；約10小時至約12小時、約11.5小時、約11小時或約10.5小時；約10.5小時至約12小時、約11.5小時或約11小時；約11小時至約12小時或約11.5小時。

在這些方法的一些實例中，所述第三時間段可以為，例如，約12小時至約72小時、約12小時至約69小時、約12小時至約66小時、約12小時至約63小時、約12小時至約60小時、約12小時至約57小時、約12小時至約54小時、約12小時至約51小時、約12小時至約48小時、約12小時至約45小時、約12小時至約42小時、約12小時至約39小時、約12小時至約36小時、約12小時至約33小時、約12小時至約30小時、約12小時至約27小時、約12小時至約24小時、約12小時至約21小時、約12小時至約18小時、約12小時至約15小時、約15小時至約72小時、約15小時至約69小時、約15小時至約66小時、約15小時至約63小時、約15小時至約60小時、約15小時至約57小時、約15小時至約54小時、約15小時至約51小時、約15小時至約48小時、約15小時至約45小時、約15小時至約42小時、約15小時至約39小時、約15小時至約36小時、約15小時至約33小時、約15小時至約30小時、約15小時至約27小時、約15小時至約24小時、約15小時至約21小時、約15小時至約18小時、約18小時至約72小時、約18小時至約69小時、約18小時至約66小時、約18小時至約63小時、約18小時至約60小時、約18小時至約57小時、約18小時至約54小時、約18小時至約51小時、約18小時至約48小時、約18小時至約45小時、約18小時至約42小時、約18小時至約39小時、約18小時至約36小時、約18小時至約33小時、約18小時至約30小時、約18小時至約27小時、約18小時至約24小時、約18小時至約21小時、約21小時至約72小時、約21小時至約69小時、約21小時至約66小時、約21小時至約63小時、約21小時至約60小時、約21小時至約57小時、約21小時至約54小時、約21

小時至約51小時、約21小時至約48小時、約21小時至約45小時、約21小時至約42小時、約21小時至約39小時、約21小時至約36小時、約21小時至約33小時、約21小時至約30小時、約21小時至約27小時、約21小時至約24小時、約24小時至約72小時、約24小時至約69小時、約24小時至約66小時、約24小時至約63小時、約24小時至約60小時、約24小時至約57小時、約24小時至約54小時、約24小時至約51小時、約24小時至約48小時、約24小時至約45小時、約24小時至約42小時、約24小時至約39小時、約24小時至約36小時、約24小時至約33小時、約24小時至約30小時、約24小時至約27小時、約27小時至約72小時、約27小時至約69小時、約27小時至約66小時、約27小時至約63小時、約27小時至約60小時、約27小時至約57小時、約27小時至約54小時、約27小時至約51小時、約27小時至約48小時、約27小時至約45小時、約27小時至約42小時、約27小時至約39小時、約27小時至約36小時、約27小時至約33小時、約27小時至約30小時、約30小時至約72小時、約30小時至約69小時、約30小時至約66小時、約30小時至約63小時、約30小時至約60小時、約30小時至約57小時、約30小時至約54小時、約30小時至約51小時、約30小時至約48小時、約30小時至約45小時、約30小時至約42小時、約30小時至約39小時、約30小時至約36小時、約30小時至約33小時、約33小時至約72小時、約33小時至約69小時、約33小時至約66小時、約33小時至約63小時、約33小時至約60小時、約33小時至約57小時、約33小時至約54小時、約33小時至約51小時、約33小時至約48小時、約33小時至約45小時、約33小時至約42小時、約33小時至約39小時、約33小時至約36小時、約36小時至約72小時、約36小時至約69小時、約36小時至約66小時、約36小時至約63小時、約36小時至約60小時、約36小時至約57小時、約36小時至約54小時、約36小時至約51小時、約36小時至約48小時、約36小時至約45小時、約36小時至約42小時、約36小時至約39小時、約39小時至約72小時、約39小時至約69小時、約39小時至約66小時、約39小時至約63小時、約39小時至約60小時、約39小時至約57小時、約39小時至約54小時、約39小時至約51小時、約39小時至約48小時、約39小時至約45小時、約39小時至約42小時、約42小時至約72小時、約42小時至約69小時、

約42小時至約66小時、約42小時至約63小時、約42小時至約60小時、約42小時至約57小時、約42小時至約54小時、約42小時至約51小時、約42小時至約48小時、約42小時至約45小時、約45小時至約72小時、約45小時至約69小時、約45小時至約66小時、約45小時至約63小時、約45小時至約60小時、約45小時至約57小時、約45小時至約54小時、約45小時至約51小時、約45小時至約48小時、約48小時至約72小時、約48小時至約69小時、約48小時至約66小時、約48小時至約63小時、約48小時至約60小時、約48小時至約57小時、約48小時至約54小時、約48小時至約51小時、約51小時至約72小時、約51小時至約69小時、約51小時至約66小時、約51小時至約63小時、約51小時至約60小時、約51小時至約57小時、約51小時至約54小時、約54小時至約72小時、約54小時至約69小時、約54小時至約66小時、約54小時至約63小時、約54小時至約60小時、約54小時至約57小時、約57小時至約72小時、約57小時至約69小時、約57小時至約66小時、約57小時至約63小時、約57小時至約60小時、約60小時至約72小時、約60小時至約69小時、約60小時至約66小時、約60小時至約63小時、約63小時至約72小時、約63小時至約69小時、約63小時至約66小時、約66小時至約72小時、約66小時至約69小時或約69小時至約72小時。

在這些方法的一些實施方案中，連續流入包括所述TFVF單元的所述第二環路系統的步驟(d)的收集的流體包括約10^{-1}至約10^{-20}、約10^{-1}至約10^{-19}、約10^{-1}至約10^{-18}、約10^{-1}至約10^{-17}、約10^{-1}至約10^{-16}、約10^{-1}至約10^{-15}、約10^{-1}至約10^{-14}、約10^{-1}至約10^{-13}、約10^{-1}至約10^{-12}、約10^{-1}至約10^{-11}、約10^{-1}至約10^{-10}、約10^{-1}至約10^{-9}、約10^{-1}至約10^{-8}、約10^{-1}至約10^{-7}、約10^{-1}至約10^{-6}、約10^{-1}至約10^{-5}、約10^{-1}至約10^{-4}、約10^{-1}至約10^{-3}、約10^{-1}至約10^{-2}、約10^{-2}至約10^{-20}、約10^{-2}至約10^{-19}、約10^{-2}至約10^{-18}、約10^{-2}至約10^{-17}、約10^{-2}至約10^{-16}、約10^{-2}至約10^{-15}、約10^{-2}至約10^{-14}、約10^{-2}至約10^{-13}、約10^{-2}至約10^{-12}、約10^{-2}至約10^{-11}、約10^{-2}至約10^{-10}、約10^{-2}至約10^{-9}、約10^{-2}至約10^{-8}、約10^{-2}至約10^{-7}、約10^{-2}至約10^{-6}、約10^{-2}至約10^{-5}、約10^{-2}至約10^{-4}、約10^{-2}至約10^{-3}、約10^{-3}至約10^{-20}、約10^{-3}至約10^{-19}、約10^{-3}至約10^{-18}、約10^{-3}至約10^{-17}、約10^{-3}至約10^{-16}、約10^{-3}至約10^{-15}、約10^{-3}至約10^{-14}、約10^{-3}至約10^{-13}、約10^{-3}至約10^{-}

^{12}、約10^{-3}至約10^{-11}、約10^{-3}至約10^{-10}、約10^{-3}至約10^{-9}、約10^{-3}至約10^{-8}、約10^{-3}至約10^{-7}、約10^{-3}至約10^{-6}、約10^{-3}至約10^{-5}、約10^{-3}至約10^{-4}、約10^{-4}至約10^{-20}、約10^{-4}至約10^{-19}、約10^{-4}至約10^{-18}、約10^{-4}至約10^{-17}、約10^{-4}至約10^{-16}、約10^{-4}至約10^{-15}、約10^{-4}至約10^{-14}、約10^{-4}至約10^{-13}、約10^{-4}至約10^{-12}、約10^{-4}至約10^{-11}、約10^{-4}至約10^{-10}、約10^{-4}至約10^{-9}、約10^{-4}至約10^{-8}、約10^{-4}至約10^{-7}、約10^{-4}至約10^{-6}、約10^{-4}至約10^{-5}、約10^{-5}至約10^{-20}、約10^{-5}至約10^{-19}、約10^{-5}至約10^{-18}、約10^{-5}至約10^{-17}、約10^{-5}至約10^{-16}、約10^{-5}至約10^{-15}、約10^{-5}至約10^{-14}、約10^{-5}至約10^{-13}、約10^{-5}至約10^{-12}、約10^{-5}至約10^{-11}、約10^{-5}至約10^{-10}、約10^{-5}至約10^{-9}、約10^{-5}至約10^{-8}、約10^{-5}至約10^{-7}、約10^{-5}至約10^{-6}、約10^{-6}至約10^{-20}、約10^{-6}至約10^{-19}、約10^{-6}至約10^{-18}、約10^{-6}至約10^{-17}、約10^{-6}至約10^{-16}、約10^{-6}至約10^{-15}、約10^{-6}至約10^{-14}、約10^{-6}至約10^{-13}、約10^{-6}至約10^{-12}、約10^{-6}至約10^{-11}、約10^{-6}至約10^{-10}、約10^{-6}至約10^{-9}、約10^{-6}至約10^{-8}、約10^{-6}至約10^{-7}、約10^{-7}至約10^{-20}、約10^{-7}至約10^{-19}、約10^{-7}至約10^{-18}、約10^{-7}至約10^{-17}、約10^{-7}至約10^{-16}、約10^{-7}至約10^{-15}、約10^{-7}至約10^{-14}、約10^{-7}至約10^{-13}、約10^{-7}至約10^{-12}、約10^{-7}至約10^{-11}、約10^{-7}至約10^{-10}、約10^{-7}至約10^{-9}、約10^{-7}至約10^{-8}、約10^{-8}至約10^{-20}、約10^{-8}至約10^{-19}、約10^{-8}至約10^{-18}、約10^{-8}至約10^{-17}、約10^{-8}至約10^{-16}、約10^{-8}至約10^{-15}、約10^{-8}至約10^{-14}、約10^{-8}至約10^{-13}、約10^{-8}至約10^{-12}、約10^{-8}至約10^{-11}、約10^{-8}至約10^{-10}、約10^{-8}至約10^{-9}、約10^{-9}至約10^{-20}、約10^{-9}至約10^{-19}、約10^{-9}至約10^{-18}、約10^{-9}至約10^{-17}、約10^{-9}至約10^{-16}、約10^{-9}至約10^{-15}、約10^{-9}至約10^{-14}、約10^{-9}至約10^{-13}、約10^{-9}至約10^{-12}、約10^{-9}至約10^{-11}、約10^{-9}至約10^{-10}、約10^{-10}至約10^{-20}、約10^{-10}至約10^{-19}、約10^{-10}至約10^{-18}、約10^{-10}至約10^{-17}、約10^{-10}至約10^{-16}、約10^{-10}至約10^{-15}、約10^{-10}至約10^{-14}、約10^{-10}至約10^{-13}、約10^{-10}至約10^{-12}、約10^{-10}至約10^{-11}、約10^{-11}至約10^{-20}、約10^{-11}至約10^{-19}、約10^{-11}至約10^{-18}、約10^{-11}至約10^{-17}、約10^{-11}至約10^{-16}、約10^{-11}至約10^{-15}、約10^{-11}至約10^{-14}、約10^{-11}至約10^{-13}、約10^{-11}至約10^{-12}、約10^{-12}至約10^{-20}、約10^{-12}至約10^{-19}、約10^{-12}至約10^{-18}、約10^{-12}至約10^{-17}、約10^{-12}至約10^{-16}、約10^{-12}至約10^{-15}、約10^{-12}至約10^{-14}、約10^{-12}至約10^{-13}、約10^{-13}至約10^{-20}、約10^{-13}至約10^{-19}、約10^{-13}至約10^{-18}、約10^{-13}至約10^{-17}、約10^{-13}至約10^{-16}、約10^{-13}至約10^{-15}、約10^{-13}至約10^{-14}、約10^{-14}至約10^{-20}、約10^{-14}至約10^{-19}、約10^{-14}至約10^{-18}、

約10^{-14}至約10^{-17}、約10^{-14}至約10^{-16}、約10^{-14}至約10^{-15}、約10^{-15}至約10^{-20}、約10^{-15}至約10^{-19}、約10^{-15}至約10^{-18}、約10^{-15}至約10^{-17}、約10^{-15}至約10^{-16}、約10^{-16}至約10^{-20}、約10^{-16}至約10^{-19}、約10^{-16}至約10^{-18}、約10^{-16}至約10^{-17}、約10^{-17}至約10^{-20}、約10^{-17}至約10^{-19}、約10^{-17}至約10^{-18}、約10^{-18}至約10^{-20}、約10^{-18}至約10^{-19}或約10^{-19}至約10^{-20}的總病毒力價。

在一些實施方案中，可以實施使步驟(d)收集的流體連續流入包括所述TFVF單元的所述第二環路系統的步驟從而使得經過所述過濾器或TFVF單元中的一個或多個過濾器的流量(flux)為，例如，約10 LMH至約50 LMH、約10 LMB至約48 LMH、約10 LMH至約46 LMH、約10 LMH至約44 LMH、約10 LMH至約42 LMH、約10 LMH至約40 LMH、約10 LMH至約38 LMH、約10 LMH至約36 LMH、約10 LMH至約34 LMH、約10 LMH至約32 LMH、約10 LMH至約30 LMH、約10 LMH至約28 LMH、約10 LMH至約26 LMH、約10 LMH至約24 LMH、約10 LMH至約22 LMH、約10 LMH至約20 LMH、約10 LMH至約18 LMH、約10 LMH至約16 LMH、約10 LMH至約15 LMH、約15 LMH至約50 LMH、約15 LMB至約48 LMH、約15 LMH至約46 LMH、約15 LMH至約44 LMH、約15 LMH至約42 LMH、約15 LMH至約40 LMH、約15 LMH至約38 LMH、約15 LMH至約36 LMH、約15 LMH至約34 LMH、約15 LMH至約32 LMH、約15 LMH至約30 LMH、約15 LMH至約28 LMH、約15 LMH至約26 LMH、約15 LMH至約24 LMH、約15 LMH至約22 LMH、約15 LMH至約20 LMH、約15 LMH至約18 LMH、約20 LMH至約50 LMH、約20 LMB至約48 LMH、約20 LMH至約46 LMH、約20 LMH至約44 LMH、約20 LMH至約42 LMH、約20 LMH至約40 LMH、約20 LMH至約38 LMH、約20 LMH至約36 LMH、約20 LMH至約34 LMH、約20 LMH至約32 LMH、約20 LMH至約30 LMH、約20 LMH至約28 LMH、約20 LMH至約26 LMH、約20 LMH至約24 LMH、約20 LMH至約22 LMH、約22 LMH至約50 LMH、約22 LMB至約48 LMH、約22 LMH至約46 LMH、約22 LMH至約44 LMH、約22 LMH至約42 LMH、約22 LMH至約40 LMH、約22 LMH至約38 LMH、約22 LMH至約36 LMH、約22 LMH至約34 LMH、約22 LMH至約32 LMH、約22 LMH至約30 LMH、約22 LMH至約28 LMH、約22 LMH至約26 LMH、約22 LMH至約24

LMH、約24 LMH至約50 LMH、約24 LMB至約48 LMH、約24 LMH至約46
LMH、約24 LMH至約44 LMH、約24 LMH至約42 LMH、約24 LMH至約40
LMH、約24 LMH至約38 LMH、約24 LMH至約36 LMH、約24 LMH至約34
LMH、約24 LMH至約32 LMH、約24 LMH至約30 LMH、約24 LMH至約28
LMH、約24 LMH至約26 LMH、約26 LMH至約50 LMH、約26 LMB至約48
LMH、約26 LMH至約46 LMH、約26 LMH至約44 LMH、約26 LMH至約42
LMH、約26 LMH至約40 LMH、約26 LMH至約38 LMH、約26 LMH至約36
LMH、約26 LMH至約34 LMH、約26 LMH至約32 LMH、約26 LMH至約30
LMH、約26 LMH至約28 LMH、約28 LMH至約50 LMH、約28 LMB至約48
LMH、約28 LMH至約46 LMH、約28 LMH至約44 LMH、約28 LMH至約42
LMH、約28 LMH至約40 LMH、約28 LMH至約38 LMH、約28 LMH至約36
LMH、約28 LMH至約34 LMH、約28 LMH至約32 LMH、約28 LMH至約30
LMH、約30 LMH至約50 LMH、約30 LMB至約48 LMH、約30 LMH至約46
LMH、約30 LMH至約44 LMH、約30 LMH至約42 LMH、約30 LMH至約40
LMH、約30 LMH至約38 LMH、約30 LMH至約36 LMH、約30 LMH至約34
LMH、約30 LMH至約32 LMH、約32 LMH至約50 LMH、約32 LMB至約48
LMH、約32 LMH至約46 LMH、約32 LMH至約44 LMH、約32 LMH至約42
LMH、約32 LMH至約40 LMH、約32 LMH至約38 LMH、約32 LMH至約36
LMH、約32 LMH至約34 LMH、約34 LMH至約50 LMH、約34 LMB至約48
LMH、約34 LMH至約46 LMH、約34 LMH至約44 LMH、約34 LMH至約42
LMH、約34 LMH至約40 LMH、約34 LMH至約38 LMH、約34 LMH至約36
LMH、約36 LMH至約50 LMH、約36 LMB至約48 LMH、約36 LMH至約46
LMH、約36 LMH至約44 LMH、約36 LMH至約42 LMH、約36 LMH至約40
LMH、約36 LMH至約38 LMH、約38 LMH至約50 LMH、約38 LMB至約48
LMH、約38 LMH至約46 LMH、約38 LMH至約44 LMH、約38 LMH至約42
LMH、約38 LMH至約40 LMH、約40 LMH至約50 LMH、約40 LMB至約48
LMH、約40 LMH至約46 LMH、約40 LMH至約44 LMH、約40 LMH至約42
LMH、約42 LMH至約50 LMH、約42 LMB至約48 LMH、約42 LMH至約46
LMH、約42 LMH至約44 LMH、約44 LMH至約50 LMH、約44 LMB至約48

LMH、約44 LMH至約46 LMH、約46 LMH至約50 LMH、約46 LMB至約48 LMH或約48 LMH至約50 LMH。

在一些實施方案中，可以實施使步驟(d)收集的流體連續流入包括所述TFVF單元的所述第二環路系統的步驟從而使得跨越所述過濾器或所述TFVF單元中的一個或多個過濾器的壓力或包括所述TFVF單元的所述第二系統中的壓力為，例如，約2 psi至約40 psi、約2 psi至約38 psi、約2 psi至約36 psi、約2 psi至約34 psi、約2 psi至約32 psi、約2 psi至約30 psi、約2 psi至約28 psi、約2 psi至約26 psi、約2 psi至約24 psi、約2 psi至約22 psi、約2 psi至約20 psi、約2 psi至約18 psi、約2 psi至約16 psi、約2 psi至約14 psi、約2 psi至約12 psi、約2 psi至約10 psi、約2 psi至約8 psi、約2 psi至約6 psi、約2 psi至約4 psi、約4 psi至約40 psi、約4 psi至約38 psi、約4 psi至約36 psi、約4 psi至約34 psi、約4 psi至約32 psi、約4 psi至約30 psi、約4 psi至約28 psi、約4 psi至約26 psi、約4 psi至約24 psi、約4 psi至約22 psi、約4 psi至約20 psi、約4 psi至約18 psi、約4 psi至約16 psi、約4 psi至約14 psi、約4 psi至約12 psi、約4 psi至約10 psi、約4 psi至約8 psi、約4 psi至約6 psi、約6 psi至約40 psi、約6 psi至約38 psi、約6 psi至約36 psi、約6 psi至約34 psi、約6 psi至約32 psi、約6 psi至約30 psi、約6 psi至約28 psi、約6 psi至約26 psi、約6 psi至約24 psi、約6 psi至約22 psi、約6 psi至約20 psi、約6 psi至約18 psi、約6 psi至約16 psi、約6 psi至約14 psi、約6 psi至約12 psi、約6 psi至約10 psi、約6 psi至約8 psi、約8 psi至約40 psi、約8 psi至約38 psi、約8 psi至約36 psi、約8 psi至約34 psi、約8 psi至約32 psi、約8 psi至約30 psi、約8 psi至約28 psi、約8 psi至約26 psi、約8 psi至約24 psi、約8 psi至約22 psi、約8 psi至約20 psi、約8 psi至約18 psi、約8 psi至約16 psi、約8 psi至約14 psi、約8 psi至約12 psi、約8 psi至約10 psi、約10 psi至約40 psi、約10 psi至約38 psi、約10 psi至約36 psi、約10 psi至約34 psi、約10 psi至約32 psi、約10 psi至約30 psi、約10 psi至約28 psi、約10 psi至約26 psi、約10 psi至約

24 psi、約10 psi至約22 psi、約10 psi至約20 psi、約10 psi至約18 psi、約10 psi至約16 psi、約10 psi至約14 psi、約10 psi至約12 psi、約12 psi至約40 psi、約12 psi至約38 psi、約12 psi至約36 psi、約12 psi至約34 psi、約12 psi至約32 psi、約12 psi至約30 psi、約12 psi至約28 psi、約12 psi至約26 psi、約12 psi至約24 psi、約12 psi至約22 psi、約12 psi至約20 psi、約12 psi至約18 psi、約12 psi至約16 psi、約12 psi至約14 psi、約14 psi至約40 psi、約14 psi至約38 psi、約14 psi至約36 psi、約14 psi至約34 psi、約14 psi至約32 psi、約14 psi至約30 psi、約14 psi至約28 psi、約14 psi至約26 psi、約14 psi至約24 psi、約14 psi至約22 psi、約14 psi至約20 psi、約14 psi至約18 psi、約14 psi至約16 psi、約16 psi至約40 psi、約16 psi至約38 psi、約16 psi至約36 psi、約16 psi至約34 psi、約16 psi至約32 psi、約16 psi至約30 psi、約16 psi至約28 psi、約16 psi至約26 psi、約16 psi至約24 psi、約16 psi至約22 psi、約16 psi至約20 psi、約16 psi至約18 psi、約18 psi至約40 psi、約18 psi至約38 psi、約18 psi至約36 psi、約18 psi至約34 psi、約18 psi至約32 psi、約18 psi至約30 psi、約18 psi至約28 psi、約18 psi至約26 psi、約18 psi至約24 psi、約18 psi至約22 psi、約18 psi至約20 psi、約20 psi至約40 psi、約20 psi至約38 psi、約20 psi至約36 psi、約20 psi至約34 psi、約20 psi至約32 psi、約20 psi至約30 psi、約20 psi至約28 psi、約20 psi至約26 psi、約20 psi至約24 psi、約20 psi至約22 psi、約22 psi至約40 psi、約22 psi至約38 psi、約22 psi至約36 psi、約22 psi至約34 psi、約22 psi至約32 psi、約22 psi至約30 psi、約22 psi至約28 psi、約22 psi至約26 psi、約22 psi至約24 psi、約24 psi至約40 psi、約24 psi至約38 psi、約24 psi至約36 psi、約24 psi至約34 psi、約24 psi至約32 psi、約24 psi至約30 psi、約24 psi至約28 psi、約24 psi至約26 psi、約26 psi至約40 psi、約26 psi至約38 psi、約26 psi至約36 psi、約26 psi至約34

psi、約26 psi至約32 psi、約26 psi至約30 psi、約26 psi至約28 psi、約28 psi至約40 psi、約28 psi至約38 psi、約28 psi至約36 psi、約28 psi至約34 psi、約28 psi至約32 psi、約28 psi至約30 psi、約30 psi至約40 psi、約30 psi至約38 psi、約30 psi至約36 psi、約30 psi至約34 psi、約30 psi至約32 psi、約32 psi至約40 psi、約32 psi至約38 psi、約32 psi至約36 psi、約32 psi至約34 psi、約34 psi至約40 psi、約34 psi至約38 psi、約34 psi至約36 psi、約36 psi至約40 psi、約36 psi至約38 psi或約38 psi至約40 psi。

包括使用包括TFVF單元的環路系統的處理包含重組治療性蛋白的流體的方法

還提供用於處理包含重組治療性蛋白的流體的方法，其包括：(a)提供包含(i)具有第一和第二入口的TFVF單元和(ii)在所述TFVF單元的第一和第二入口之間流體連通的管道的環路系統，其包含至少一個用於使流體流入和/或流出所述系統的端口，其中所述系統配置成使得流體能夠流動通過所述管道和所述TFVF單元，並且不包含所述重組治療性蛋白的濾出液能夠從所述TFVF單元收集；和(b)在一段時間內，使包含重組治療性蛋白的流體通過所述至少一個端口之一連續流入所述環路系統並且從所述TFVF單元收集包含所述重組治療性蛋白的濾出液。正如本領域技術人員能夠理解的，這些方法的一些實施方式可以進一步包括在包括TFVF單元的環路系統的管道中再循環沒有通過所述TFVF單元中的一個或多個切向病毒過濾器的任何包含重組治療性蛋白的流體(例如，當一新體積的包含重組治療性蛋白的流體流入包含TFVF單元的環路系統的管道中時充當緩衝液)。

在一些實施方案中，所述TFVF單元包含一個、兩個、三個、四個、五個、六個、七個、八個、九個、十個、十一個或十二個切向病毒過濾器。在這些方法的一些實例中，所述TFVF單元可以包含一個或多個表面積為約0.05 cm^2至約100 m^2(或本文公開的這種範圍的任何子範圍)的切向病毒過濾器。

在一些實施方案中，所述TFVF單元包括一個或多個孔徑為約5 nm至約220 nm (或本文公開的這種範圍的任何子範圍)的切向病毒過濾器。能夠用在TFVF單元中的多種病毒過濾器是本領域已知的。例如，能夠用於TFVF單元中的病毒過濾器可以從Asahi Kasei (日本東京)以商業方法獲得。在一些實施方案中，所述病毒過濾器是Planova™過濾器(例如，Planova™ 15N、Planova™ 20N、Planova™ 35N、Planova™ 75N)。在一些實施方案中，所述病毒過濾器是Planova™ BioEX過濾器。能夠在TFVF單元中使用的病毒過濾器可以包括，例如，中空纖維膜。

管道可以是簡單管道例如生物相容性管道。有用的管道的非限制性實例包括矽橡膠、聚氨酯、聚二噁烷酮(PDO)、聚羥基烷酸酯、聚羥基丁酸酯、聚(癸二酸甘油酯)、聚乙醇酸交酯、聚交酯、聚己酸內酯或聚酸酐，或包括這些和/或其它聚合物的共聚物或衍生物。可替換地或除此此外，任何本文所述的管道可包括聚氯乙烯。管道可以是可焊接輸送管道。

在一些實施方案中，所述環路系統中的管道的內徑可以是約5 mm至約50 mm (例如或本文所述的其任何子範圍)。在一些實施方案中，所述環路系統中的管道具有約1.0 cm至約75 cm (或本文所述的這種範圍的任何子範圍)的總長度。能夠在所述第二環路系統中使用的導管和導管性質的其他實例是本領域人員熟知的。

在一些實例中，所述環路系統包括一個、兩個、三個、四個或五個端口。在一些實例中，所述環路系統中的至少一個端口可以是閥門。在其他實例中，所述環路系統中的所述至少一個端口可以是注射端口或者可以具有帶肋螺紋。所述環路系統中的所述至少一個端口可以是任何類型的本領域公知的端口。在一些實例中，所述環路系統可以進一步包括設置在所述管道中的泵(例如，低湍流泵，例如，蠕動泵)。在一些實施方案中，所述環路系統不包含保持罐。

在一些實例中，步驟(b)包括使包含重組治療性蛋白的流體以約0.05 mL/分鐘至約25 mL/分鐘(或本文所述的這種範圍的任何子範圍)的速率連續流入(例如，單向流入或雙向流入)所述環路系統。在一些實例中，步驟(b)中從TFVF單元收集的濾出液包含濃度為約0.1 mg/mL至約100 mg/mL

(或本文所述的這種範圍的任何子範圍)的重組治療性蛋白。在這些方法的一些實例中，所述一段時間可以為約5分鐘至約12小時(或本文所述的這種範圍的任何子範圍)。

在這些方法的一些實例中，所述一段時間可以為，例如，約12小時至約72小時(或本文所述的這種範圍的任何子範圍)。

在一些實施方案中，通過所述至少一個端口連續流入包含TFVF單元的環路系統的流體可以包含約10^{-1}至約10^{-20} (或本文所述的這種範圍的任何子範圍)的總病毒力價。

在一些實施方案中，可以進行使流體連續流動通過包含TFVF單元的環路系統的步驟從而使得跨越所述過濾器或TFVF單元中的一個或多個過濾器的流量為例如約10 LMH至約50 LMH (或本文所述的這種範圍的任何子範圍)。

在一些實施方案中，所述方法可以進一步包括對包含重組蛋白的流體進行一種或多種單元操作。這些單元操作的非限定性實例包括：捕獲重組治療性蛋白、純化重組治療性蛋白、精製重組治療性蛋白、病毒滅活、病毒過濾、調節包含重組治療性蛋白的液體的離子濃度和/或pH、過濾包含重組治療性蛋白的流體、沉澱或絮凝、雙水相萃取(aqueous two-phase extraction)、凍乾和結晶。本文描述了這些例示性單元操作中的每一種的非限定性方面。

用於製造治療性蛋白藥物物質的整合和連續方法

提供用於製造治療性蛋白藥物物質的整合且連續的方法。這些方法包括：提供基本上不含細胞的包含重組治療性蛋白的液體培養基，其中將所述液體培養基進料至第一多管柱層析系統(MCCS1)中；使用所述MCCS1捕獲所述液體培養基中的所述重組治療性蛋白，其中將含有所述重組治療性蛋白的所述MCCS1的洗脫液連續進料至第二多管柱層析系統(MCCS2)；使用所述MCCS2純化和精製所述重組治療性蛋白，其中來自所述MCCS2的洗脫液是包含所述重組治療性蛋白的流體；使用本文所述的方法處理包含所述重組治療性蛋白的所述流體；其中所述方法是整合的，並且從所述液體培養

基連續運行至收集的包含所述重組治療性蛋白的流體或濾出液，其中所述收集的流體或濾出液是治療性蛋白藥物物質。能夠用於進行這些方法的系統的實例示於圖1和圖2中(其中星號表明了可以將包括切向流過濾單元和切向流病毒過濾單元的環路系統中一者或二者引入系統的位置)。例如，可以在進行第一單元操作之前，在進行第一和第二單元操作之間，在進行第二和第三單元操作之間，在進行第三和第四單元操作之間，在進行第四和受質單元操作之間，在進行第五和第六單元操作之間，在進行第六和第七單元操作之間，在進行第七和第八單元操作之間，和/或在第八和第九單元操作之間使用包括切向流過濾單元和切向流病毒過濾單元的環路系統中的一者或二者。

本文描述的方法提供了從液體培養基連續且省時(time-efficient)地生產治療性藥物物質。例如，從將含有治療性蛋白的流體(例如，液體培養基)進料至第一MCCS中至從所述第二MCCS洗脫治療性蛋白藥物物質(含有所述治療性蛋白)之間經過的時間可以為，例如，約4小時至約48小時，含端點(inclusive)，例如，約4小時至約40小時，約4小時至約35小時，約4小時至約30小時，約4小時至約28小時，約4小時至約26小時，約4小時至約24小時，約4小時至約22小時，約4小時至約20小時，約4小時至約18小時，約4小時至約16小時，約4小時至約14小時，約4小時至約12小時，約6小時至約12小時，約8小時至約12小時，約6小時至約20小時，約6小時至約18小時，約6小時至約14小時，約8小時至約16小時，約8小時至約14小時，約8小時至約12小時，約10小時至20小時，約10小時至18小時，約10小時至16小時，約10小時至14小時，約12小時至約14小時，約10小時至約40小時，約10小時至約35小時，約10小時至約30小時，約10小時至約25小時，約15小時至約40小時，約15小時至約35小時，約15小時至約30小時，約20小時至約40小時，約20小時至約35小時或約20小時至約30小時，含端點。在其他實例中，從將含有治療性蛋白的流體(例如，液體培養基)進料至第一MCCS中至從所述第二MCCS洗脫治療性蛋白藥物物質(含有所述治療性蛋白)之間經過的時間為，例如，超過約4小時並少於約40小時，含端點，例如，超過約4小時並少於約39小時、約38小時、約37小時、約36

小時、約35小時、約34小時、約33小時、約32小時、約31小時、約30小時、約29小時、約28小時、約27小時、約26小時、約25小時、約24小時、約23小時、約22小時、約21小時、約20小時、約19小時、約18小時、約17小時、約16小時、約15小時、約14小時、約13小時、約12小時、約11小時、約10小時、約9小時、約8小時、約7小時、約6小時、約5小時或約4.5小時，含端點。

一些例示性的方法不使用儲存步驟(例如，在整個方法中不使用儲器(reservoir) (例如，間歇罐(break tank)))。其他在整個方法中可以使用最多1、2、3、4或5個儲器(例如，間歇罐)。本文所述的任何方法可以在整個方法中使用最多1、2、3、4或5個儲器(例如，間歇罐)，其中每個間歇罐只將治療性蛋白保持總共例如約5分鐘且小於約6個小時(含端點)，例如，約5分鐘至約5個小時、約4個小時、約3個小時、約2個小時、約1個小時或約30分鐘(含端點)的一段時間。本文描述的方法中使用的任何儲器(例如，間歇罐)可以具有如下容量，即例如1 mL至約10,000 L、約9,500 L、約9,000 L、約8,500 L、約8,000 L、約7,500 L、約7,000 L、約6,500 L、約6,000 L、約5,500 L、約5,000 L、約4,500 L、約4,000 L、約3,500 L、約3,000 L、約2,500 L、約2,000 L、約1,500 L、約1,000 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL、約600 mL、約550 mL、約500 mL、約450 mL、約400 mL、約350 mL、約300 mL、約280 mL、約260 mL、約240 mL、約220 mL、約200 mL、約180 mL、約160 mL、約140 mL、約120 mL、約100 mL、約80 mL、約60 mL、約40 mL、約20 mL或約10 mL (含端點)；約5 mL至約10,000 L、約9,500 L、約9,000 L、約8,500 L、約8,000 L、約7,500 L、約7,000 L、約6,500 L、約6,000 L、約5,500 L、約5,000 L、約4,500 L、約4,000 L、約3,500 L、約3,000 L、約2,500 L、約2,000 L、約1,500 L、約1,000 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL、約600 mL、約550 mL、約500 mL、約450 mL、約400 mL、約350 mL、約300 mL、約280 mL、約260 mL、約240 mL、約220 mL、約200 mL、約180 mL、約160 mL、約140 mL、約120 mL、約100 mL、

約80 mL、約60 mL、約40 mL、約20 mL或約10 mL（含端點）；約10 mL至約10,000 L、約9,500 L、約9,000 L、約8,500 L、約8,000 L、約7,500 L、約7,000 L、約6,500 L、約6,000 L、約5,500 L、約5,000 L、約4,500 L、約4,000 L、約3,500 L、約3,000 L、約2,500 L、約2,000 L、約1,500 L、約1,000 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL、約600 mL、約550 mL、約500 mL、約450 mL、約400 mL、約350 mL、約300 mL、約280 mL、約260 mL、約240 mL、約220 mL、約200 mL、約180 mL、約160 mL、約140 mL、約120 mL、約100 mL、約80 mL、約60 mL、約40 mL或約20 mL（含端點）；約20 mL至約10,000 L、約9,500 L、約9,000 L、約8,500 L、約8,000 L、約7,500 L、約7,000 L、約6,500 L、約6,000 L、約5,500 L、約5,000 L、約4,500 L、約4,000 L、約3,500 L、約3,000 L、約2,500 L、約2,000 L、約1,500 L、約1,000 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL、約600 mL、約550 mL、約500 mL、約450 mL、約400 mL、約350 mL、約300 mL、約280 mL、約260 mL、約240 mL、約220 mL、約200 mL、約180 mL、約160 mL、約140 mL、約120 mL、約100 mL、約80 mL或約60 mL（含端點）；約60 mL至約10,000 L、約9,500 L、約9,000 L、約8,500 L、約8,000 L、約7,500 L、約7,000 L、約6,500 L、約6,000 L、約5,500 L、約5,000 L、約4,500 L、約4,000 L、約3,500 L、約3,000 L、約2,500 L、約2,000 L、約1,500 L、約1,000 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL、約600 mL、約550 mL、約500 mL、約450 mL、約400 mL、約350 mL、約300 mL、約280 mL、約260 mL、約240 mL、約220 mL、約200 mL、約180 mL、約160 mL、約140 mL、約120 mL、約100 mL、約80 mL或約60 mL（含端點）；約60 mL至約10,000 L、約9,500 L、約9,000 L、約8,500 L、約8,000 L、約7,500 L、約7,000 L、約6,500 L、約6,000 L、約5,500 L、約5,000 L、約4,500 L、約4,000 L、約3,500 L、約3,000 L、約2,500 L、約2,000 L、約1,500 L、約1,000 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL、

約600 mL、約550 mL、約500 mL、約450 mL、約400 mL、約350 mL、約300 mL、約280 mL、約260 mL、約240 mL、約220 mL、約200 mL、約180 mL、約160 mL、約140 mL、約120 mL、約100 mL或約80 mL (含端點)；約80 mL至約10,000 L、約9,500 L、約9,000 L、約8,500 L、約8,000 L、約7,500 L、約7,000 L、約6,500 L、約6,000 L、約5,500 L、約5,000 L、約4,500 L、約4,000 L、約3,500 L、約3,000 L、約2,500 L、約2,000 L、約1,500 L、約1,000 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL、約600 mL、約550 mL、約500 mL、約450 mL、約400 mL、約350 mL、約300 mL、約280 mL、約260 mL、約240 mL、約220 mL、約200 mL、約180 mL、約160 mL、約140 mL或約120 mL (含端點)；約100 mL至約10,000 L、約9,500 L、約9,000 L、約8,500 L、約8,000 L、約7,500 L、約7,000 L、約6,500 L、約6,000 L、約5,500 L、約5,000 L、約4,500 L、約4,000 L、約3,500 L、約3,000 L、約2,500 L、約2,000 L、約1,500 L、約1,000 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL、約600 mL、約550 mL、約500 mL、約450 mL、約400 mL、約350 mL、約300 mL、約280 mL、約260 mL、約240 mL、約220 mL、約200 mL、約180 mL、約160 mL、約140 mL或約120 mL (含端點)；約120 mL至約10,000 L、約9,500 L、約9,000 L、約8,500 L、約8,000 L、約7,500 L、約7,000 L、約6,500 L、約6,000 L、約5,500 L、約5,000 L、約4,500 L、約4,000 L、約3,500 L、約3,000 L、約2,500 L、約2,000 L、約1,500 L、約1,000 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL、約600 mL、約550 mL、約500 mL、約450 mL、約400 mL、約350 mL、約300 mL、約280 mL、約260 mL、約240 mL、約220 mL、約200 mL、約180 mL、約160 mL或約140 mL (含端點)；約140 mL至約10,000 L、約9,500 L、約9,000 L、約8,500 L、約8,000 L、約7,500 L、約7,000 L、約6,500 L、約6,000 L、約5,500 L、約5,000 L、約4,500 L、約4,000 L、約3,500 L、約3,000 L、約2,500 L、約2,000 L、約1,500 L、約1,000 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約

750 mL、約700 mL、約650 mL、約600 mL、約550 mL、約500 mL、約450 mL、約400 mL、約350 mL、約300 mL、約280 mL、約260 mL、約240 mL、約220 mL、約200 mL、約180 mL或約160 mL（含端點）；約160 mL至約10,000 L、約9,500 L、約9,000 L、約8,500 L、約8,000 L、約7,500 L、約7,000 L、約6,500 L、約6,000 L、約5,500 L、約5,000 L、約4,500 L、約4,000 L、約3,500 L、約3,000 L、約2,500 L、約2,000 L、約1,500 L、約1,000 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL、約600 mL、約550 mL、約500 mL、約450 mL、約400 mL、約350 mL、約300 mL、約280 mL、約260 mL、約240 mL、約220 mL、約200 mL或約180 mL（含端點）；約180 mL至約10,000 L、約9,500 L、約9,000 L、約8,500 L、約8,000 L、約7,500 L、約7,000 L、約6,500 L、約6,000 L、約5,500 L、約5,000 L、約4,500 L、約4,000 L、約3,500 L、約3,000 L、約2,500 L、約2,000 L、約1,500 L、約1,000 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL、約600 mL、約550 mL、約500 mL、約450 mL、約400 mL、約350 mL、約300 mL、約280 mL、約260 mL、約240 mL或約220 mL（含端點）；約200 mL至約10,000 L、約9,500 L、約9,000 L、約8,500 L、約8,000 L、約7,500 L、約7,000 L、約6,500 L、約6,000 L、約5,500 L、約5,000 L、約4,500 L、約4,000 L、約3,500 L、約3,000 L、約2,500 L、約2,000 L、約1,500 L、約1,000 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL、約600 mL、約550 mL、約500 mL、約450 mL、約400 mL、約350 mL、約300 mL、約280 mL、約260 mL或約240 mL（含端點）；約220 mL至約10,000 L、約9,500 L、約9,000 L、約8,500 L、約8,000 L、約7,500 L、約7,000 L、約6,500 L、約6,000 L、約5,500 L、約5,000 L、約4,500 L、約4,000 L、約3,500 L、約3,000 L、約2,500 L、約2,000 L、約1,500 L、約1,000 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL、約600 mL、約550 mL、約500 mL、約450 mL、約400 mL、約350 mL、約300 mL、約280 mL、約260 mL或約240 mL

(含端點)；約240 mL至約10,000 L、約9,500 L、約9,000 L、約8,500 L、約8,000 L、約7,500 L、約7,000 L、約6,500 L、約6,000 L、約5,500 L、約5,000 L、約4,500 L、約4,000 L、約3,500 L、約3,000 L、約2,500 L、約2,000 L、約1,500 L、約1,000 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL、約600 mL、約550 mL、約500 mL、約450 mL、約400 mL、約350 mL、約300 mL、約280 mL或約260 mL (含端點)；約260 mL至約10,000 L、約9,500 L、約9,000 L、約8,500 L、約8,000 L、約7,500 L、約7,000 L、約6,500 L、約6,000 L、約5,500 L、約5,000 L、約4,500 L、約4,000 L、約3,500 L、約3,000 L、約2,500 L、約2,000 L、約1,500 L、約1,000 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL、約600 mL、約550 mL、約500 mL、約450 mL、約400 mL、約350 mL、約300 mL或約280 mL (含端點)；約280 mL至約10,000 L、約9,500 L、約9,000 L、約8,500 L、約8,000 L、約7,500 L、約7,000 L、約6,500 L、約6,000 L、約5,500 L、約5,000 L、約4,500 L、約4,000 L、約3,500 L、約3,000 L、約2,500 L、約2,000 L、約1,500 L、約1,000 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL、約600 mL、約550 mL、約500 mL、約450 mL、約400 mL或約350 mL (含端點)；約350 mL至約10,000 L、約9,500 L、約9,000 L、約8,500 L、約8,000 L、約7,500 L、約7,000 L、約6,500 L、約6,000 L、約5,500 L、約5,000 L、約4,500 L、約4,000 L、約3,500 L、約3,000 L、約2,500 L、約2,000 L、約1,500 L、約1,000 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL、約600 mL、約550 mL、約500 mL、

約450 mL或約400 mL (含端點)；約400 mL至約10,000 L、約9,500 L、約9,000 L、約8,500 L、約8,000 L、約7,500 L、約7,000 L、約6,500 L、約6,000 L、約5,500 L、約5,000 L、約4,500 L、約4,000 L、約3,500 L、約3,000 L、約2,500 L、約2,000 L、約1,500 L、約1,000 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL、約600 mL、約550 mL、約500 mL或約450 mL (含端點)；約450 mL至約10,000 L、約9,500 L、約9,000 L、約8,500 L、約8,000 L、約7,500 L、約7,000 L、約6,500 L、約6,000 L、約5,500 L、約5,000 L、約4,500 L、約4,000 L、約3,500 L、約3,000 L、約2,500 L、約2,000 L、約1,500 L、約1,000 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL、約600 mL、約550 mL或約500 mL (含端點)；約500 mL至約10,000 L、約9,500 L、約9,000 L、約8,500 L、約8,000 L、約7,500 L、約7,000 L、約6,500 L、約6,000 L、約5,500 L、約5,000 L、約4,500 L、約4,000 L、約3,500 L、約3,000 L、約2,500 L、約2,000 L、約1,500 L、約1,000 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL、約600 mL或約550 mL (含端點)；約550 mL至約10,000 L、約9,500 L、約9,000 L、約8,500 L、約8,000 L、約7,500 L、約7,000 L、約6,500 L、約6,000 L、約5,500 L、約5,000 L、約4,500 L、約4,000 L、約3,500 L、約3,000 L、約2,500 L、約2,000 L、約1,500 L、約1,000 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL或約600 mL (含端點)；約600 mL至約10,000 L、約9,500 L、約9,000 L、約8,500 L、約8,000 L、約7,500 L、約7,000 L、約6,500 L、約6,000 L、約5,500 L、約5,000 L、約4,500 L、約4,000 L、約3,500 L、約3,000 L、約2,500 L、約2,000 L、約1,500 L、約1,000 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL或約650 mL (含端點)；約650 mL至約10,000 L、約9,500 L、約9,000 L、約8,500 L、約8,000 L、約7,500 L、約7,000 L、約6,500 L、約6,000 L、約5,500 L、約5,000 L、約4,500 L、約4,000 L、約3,500 L、約3,000 L、約2,500 L、約2,000 L、

約1,500 L、約1,000 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL或約700 mL（含端點）；約700 mL至約10,000 L、約9,500 L、約9,000 L、約8,500 L、約8,000 L、約7,500 L、約7,000 L、約6,500 L、約6,000 L、約5,500 L、約5,000 L、約4,500 L、約4,000 L、約3,500 L、約3,000 L、約2,500 L、約2,000 L、約1,500 L、約1,000 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL或約750 mL（含端點）；約750 mL至約10,000 L、約9,500 L、約9,000 L、約8,500 L、約8,000 L、約7,500 L、約7,000 L、約6,500 L、約6,000 L、約5,500 L、約5,000 L、約4,500 L、約4,000 L、約3,500 L、約3,000 L、約2,500 L、約2,000 L、約1,500 L、約1,000 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL或約800 mL（含端點）；約800 mL至約10,000 L、約9,500 L、約9,000 L、約8,500 L、約8,000 L、約7,500 L、約7,000 L、約6,500 L、約6,000 L、約5,500 L、約5,000 L、約4,500 L、約4,000 L、約3,500 L、約3,000 L、約2,500 L、約2,000 L、約1,500 L、約1,000 L、約950 mL、約900 mL或約850 mL（含端點）；約850 mL至約10,000 L、約9,500 L、約9,000 L、約8,500 L、約8,000 L、約7,500 L、約7,000 L、約6,500 L、約6,000 L、約5,500 L、約5,000 L、約4,500 L、約4,000 L、約3,500 L、約3,000 L、約2,500 L、約2,000 L、約1,500 L、約1,000 L、約950 mL或約900 mL（含端點）；約900 mL至約10,000 L、約9,500 L、約9,000 L、約8,500 L、約8,000 L、約7,500 L、約7,000 L、約6,500 L、約6,000 L、約5,500 L、約5,000 L、約4,500 L、約4,000 L、約3,500 L、約3,000 L、約2,500 L、約2,000 L、約1,500 L、約1,000 L或約950 mL（含端點）；約950 mL至約10,000 L、約9,500 L、約9,000 L、約8,500 L、約8,000 L、約7,500 L、約7,000 L、約6,500 L、約6,000 L、約5,500 L、約5,000 L、約4,500 L、約4,000 L、約3,500 L、約3,000 L、約2,500 L、約2,000 L、約1,500 L或約1,000 L（含端點）；約1,000 L至約10,000 L、約9,500 L、約9,000 L、約8,500 L、約8,000 L、約7,500 L、約7,000 L、約6,500 L、約6,000 L、約5,500 L、約5,000 L、約4,500 L、約4,000 L、約3,500 L、約3,000 L、約2,500 L、約2,000 L或約1,500 L

(含端點)；約1,500 L至約10,000 L、約9,500 L、約9,000 L、約8,500 L、約8,000 L、約7,500 L、約7,000 L、約6,500 L、約6,000 L、約5,500 L、約5,000 L、約4,500 L、約4,000 L、約3,500 L、約3,000 L、約2,500 L或約2,000 L (含端點)；約2,000 L至約10,000 L、約9,500 L、約9,000 L、約8,500 L、約8,000 L、約7,500 L、約7,000 L、約6,500 L、約6,000 L、約5,500 L、約5,000 L、約4,500 L、約4,000 L、約3,500 L、約3,000 L或約2,500 L (含端點)；約2,500 L至約10,000 L、約9,500 L、約9,000 L、約8,500 L、約8,000 L、約7,500 L、約7,000 L、約6,500 L、約6,000 L、約5,500 L、約5,000 L、約4,500 L、約4,000 L、約3,500 L或約3,000 L (含端點)；約3,000 L至約10,000 L、約9,500 L、約9,000 L、約8,500 L、約8,000 L、約7,500 L、約7,000 L、約6,500 L、約6,000 L、約5,500 L、約5,000 L、約4,500 L、約4,000 L或約3,500 L (含端點)；約3,500 L至約10,000 L、約9,500 L、約9,000 L、約8,500 L、約8,000 L、約7,500 L、約7,000 L、約6,500 L、約6,000 L、約5,500 L、約5,000 L、約4,500 L或約4,000 L (含端點)；約4,000 L至約10,000 L、約9,500 L、約9,000 L、約8,500 L、約8,000 L、約7,500 L、約7,000 L、約6,500 L、約6,000 L、約5,500 L、約5,000 L或約4,500 L (含端點)；約4,500 L至約10,000 L、約9,500 L、約9,000 L、約8,500 L、約8,000 L、約7,500 L、約7,000 L、約6,500 L、約6,000 L、約5,500 L或約5,000 L (含端點)；約5,000 L至約10,000 L、約9,500 L、約9,000 L、約8,500 L、約8,000 L、約7,500 L、約7,000 L、約6,500 L、約6,000 L或約5,500 L (含端點)；約5,500 L至約10,000 L、約9,500 L、約9,000 L、約8,500 L、約8,000 L、約7,500 L、約7,000 L、約6,500 L或約6,000 L (含端點)；約6,000 L至約10,000 L、約9,500 L、約9,000 L、約8,500 L、約8,000 L、約7,500 L、約7,000 L或約6,500 L (含端點)；約6,500 L至約10,000 L、約9,500 L、約9,000 L、約8,500 L、約8,000 L、約7,500 L或約7,000 L (含端點)；約7,000 L至約10,000 L、約9,500 L、約9,000 L、約8,500 L、約8,000 L或約7,500 L (含端點)；約7,500 L至約10,000 L、約9,500

L、約9,000 L、約8,500 L或約8,000 L（含端點）；約8,000 L至約10,000 L、約9,500 L、約9,000 L或約8,500 L（含端點）；約8,500 L至約10,000 L、約9,500 L或約9,000 L（含端點）；約9,000 L至約10,000 L 或約9,500 L（含端點）；或約9,500 L至約10,000 L（含端點）。

(在本文所述的任何方法中)在流體進入所述第一MCCS之前用於保持所述流體的任何儲器(例如，間歇罐)可以具有例如1 mL至所述第一MCCS的第一柱的加載體積的約100%（含端點），例如1 mL至所述第一MCCS的第一柱的加載體積的約90%、約80%、約70%、約60%、約50%、約40%、約30%、約20%、約10%或約5%（含端點)的容量。(在本文所述的任何方法中)在流體進入所述第二MCCS之前(並且在流體離開所述第一MCCS之後)用於保持所述流體的任何儲器(例如，間歇罐)可以具有例如1 mL至所述第二MCCS的第一柱的加載體積的約100%（含端點），例如1 mL至所述第二MCCS的第一柱的加載體積的約90%、約80%、約70%、約60%、約50%、約40%、約30%、約20%、約10%或約5%（含端點)的容量。

這些方法的多個其他方面在下文詳細描述並且可以以任何組合沒有限制地在本文提供的方法中使用。所提供的方法的例示性方面在下文描述；然而，本領域技術人員會理解可以為本文所述的方法添加額外的步驟(例如，進行額外的單元操作)，並且可以將其他材料用於實施本文所述的方法的任何步驟。

液體培養基

基本上不含細胞的包括重組治療性蛋白的液體培養基可以源自任何來源。例如，所述液體培養基可以獲得自重組細胞培養物(例如，重組細菌、酵母或哺乳動物細胞培養物)。所述液體培養基可以獲得自補料分批細胞(例如，哺乳動物細胞)培養物(例如，含有分泌重組治療性蛋白的哺乳動物細胞的培養物的補料分批生物反應器)或灌注細胞(例如，哺乳動物細胞)培養物(例如，包括分泌重組治療性蛋白的哺乳動物細胞的培養物的灌注生物反應器)。所述液體培養基也可以是來自分泌重組治療性蛋白的細菌或酵母細胞的培養物的澄清的液體培養基。

可以過濾或澄清獲得自重組細胞培養物的液體培養基以獲得基本上不含細胞和/或病毒的液體培養基。用於過濾或澄清液體培養基以去除細胞的方法是本領域已知的(例如，0.2-μm過濾和使用交替切向流(Alternating Tangential Flow (ATF™))系統的過濾)。

用於過濾或澄清液體培養基的其他例示性方法包括，例如，固定化細胞分離(例如，中空纖維膜、平板膜、凝膠封裝、陶瓷基質和流化床，例如，如以下文獻中所述，Kühtreiber等，Springer Science & Business Media, 2013；Meuwly等，*Biotechnol. Adv.* 25(1):45-56, 2007；Jen等，*Biotechnol. Bioeng.* 50(4):357-364, 1996；Piret等，*Biotechnol. Adv.* 8(4):763-783, 1990；和Tyo等，*Enzyme Microb. Technol.* 9(9):514-520, 1987)；基於密度的細胞分離(例如，重力沉降(例如，使用錐形沉澱柱進行的重力沉降(例如，如Kitano等，*Appl. Microbiol. Biotechnol.* 24(4):282-286, 1986；Shintani等，*Cytotechnology* 6(3):197-208, 1991中所述)，反應器內沉降區(intra-reactor settling zone)(例如，如Takazawa等，*Appl. Microbiol. Biotechnol.* 32(3):280-284, 1989中所述)，多特蒙德沉降儀(Dortmund settler)(例如，如Hülscher等，*Biotechnol. Bioeng.* 39(4):442-446, 1992中所述)，以及傾斜沉降儀(inclined settler)(例如，如Boycott等，*Nature* 104:532, 1920；Acrivos等，*J. Fluid Mechanics* 92(3):435-457, 1979；Searles等，*Biotechnol. Prog.* 10(2):198-206, 1994；Kohara等，*J. Chem. Eng. Japan* 28(6):703-707, 1995；Shen等，*Biotechnol. Prog.* 27(5):1282-1296, 2011；Wang等，*Biotechnol. Prog.* 26(5):1361-1366, 2010；Pohlscheidt等，*Biotechnol. Prog.* 29(1):222-229, 2013；Hecht等，*Biotechnol. Prog.* 30(3):607-615, 2014中所述))；離心(例如，連續離心(例如，如Hamamoto等，*J. Ferment. Bioeng.* 67(3):190-194, 1989；Tokashiki等，*Cytotechnology* 3(3):239-244, 1990；和Takamatsu等，*Appl. Microbiol. Biotechnol.* 45(4):454-457, 1996中所述)，Centritech離心(可從Pneumatic Scale Angelus以商業方法獲得，並且如例如，

Johnson 等，*Biotechnol. Prog.* 12(6):855-864, 1996；Kim 等，*Biotechnol. Prog.* 23 (5):1186-1197, 2007；Kim等，*Biotechnol. Prog.* 24(1):166-174, 2008；Hecht 等，*Biotechnol. Prog.* 30 (3):607-615, 2014；Chotteau等，Perfusion Processes, In: Al-Rubeai M (Ed.), Animal Cell Culture, Springer, Cham, Switzerland, 2015中所述)，和利用逆流的離心(例如，如Pattasseril 等，*BioProcess Int.* 11(3):38-47, 2013中所述))；聲沉降(acoustic settling)(例如，使用聲沉降儀，例如，如Kilburn等，*Biotechnol Bioeng.* 34(4):559-562, 1989；Shirgaonkar 等，*Biotechnol. Adv.* 22(6):433-444, 2004；Doblhoff-Dier 等，*Biotechnol. Prog.* 10(4):428-432, 1994；Gaida 等，*Biotechnol. Prog.* 12(1):73-76, 1996；Bierau等，*J. Biotechnol.* 62 (3):195-207, 1998；Crowley等，*BioProcess Int.* 2(3):46-50, 2004；Gorenflo等，*Biotechnol. Prog.* 19(1):30-36, 2003；Pui 等，*Biotechnol. Prog.* 11(2):146-152, 1995；Gorenflo et al, *Biotechnol. Bioeng.* 80 (4):438-444, 2002；Dalm等，*Biotechnol. Bioeng.* 88(5):547-557, 2004；Gorenflo等，*Biotechnol. Prog.* 19(1):30-36, 2005中所述的聲沉降儀)；和水力旋風分離(hydrocyclone separation) (例如，使用如Elsayed等，*Int. J. Biotechnol. Wellness Indust.* 2(4):153, 2013；Castilho 等，Continuous animal cell perfusion processes: the first step toward integrated continuous biomanufacturing, 於Subramanian G. (Ed.), Continuous Processing in Pharmaceutical Manufacturing, Wiley-VCH, Weinheim, Germany, 2014；Jockwer 等，The use of hydroclones for mammalian cell retention in perfusion bioreactors, 於Animal Cell Technology: From Target to Market, Springer, pp. 301-306, 2001；Pinto等，*Cytotechnology* 56(1):57-67, 2008；Elsayed等，*Eng. Life Sci.* 6(4):347-354, 2006；Elsayed 等，*BMC Proceedings* 5(Supp. 8):p65, 2001；Castilho等，Animal cell separation, 於 Castilho et al. (Ed.), Animal Cell

Technology: From Biopharmaceuticals to Gene Therapy, Taylor & Francis, New York, NY, pp. 273-294, 2008中所述的水力旋風分離器(hydroclone separators))。

用於過濾或澄清液體培養基的其他例示性方法包括，例如，基於大小的細胞分離，例如，使用如下手段進行，旋轉離心過濾(spin filtration)(例如，如Himmelfarb等，*Science* 164(3879):555-557, 1969；Tolbert等，*In Vitro* 17(10):885-890, 1981；Reuveny等，*J. Immunol. Methods* 86(1):61-69, 1986；Avgerinos等，*Nat. Biotechnol.* 8 (1):54-58, 1990；Kim等，*Biotechnol. Prog.* 24(1):166-174, 2008；Bierau等，*J. Biotechnol.* 62 (3):195-207, 1998；Castilho等，*Biotechnol. Prog.* 18(4):776-781, 2002；Deo等，*Biotechnol. Prog.* 12(1):57-64, 1996；Emery等，*Appl. Microbiol. Biotechnol.* 43(6):1028-1033, 1995；Hecht等，*Biotechnol. Prog.* 30(3):607-615., 2014；Vallez-Chetreaunu等，*J. Biotechnol.* 130(3):265-273, 2007；Yabannavar等，*Biotechnol. Bioeng.* 40 (8):925-933, 1992；Yabannavar等，*Biotechnol. Bioeng.* 40 (8):925-933, 1994；Deo等，*Biotechnol. Prog.* 12 (1):57-64 1996；and Castilho等，*Biotechnol. Prog.* 18(4):776-781, 2002中所述的旋轉離心過濾)；中空纖維過濾(例如，將中空纖維筒直接置於生物反應器中的設置(例如，如Seamans等，*J. Ferment. Bioeng.* 70(4):241-245, 1990, and Kyung等，*Cytotechnology* 14(3):183-190, 1994中所述)，切向流過濾(TFF)(例如，如Brennan等，*Biotechnol. Tech.* 1(3):169-174, 1987；Velez等，*Biotechnol. Bioeng.* 33(7):938-940, 1989；de la Broise等，*Biotechnol. Bioeng.* 38(7):781-787, 1991；Greenfield等，*Bioprocess Eng.* 6(5):213-219, 1991；Kawahara等，*Cytotechnology* 14(1):61-66, 1994；Karst等，*Biochem. Eng. J.* 110:17-26, 2016；Martin等，*BMC Proceedings* 9:p1, 2015；Clincke等，*Biotechnol. Prog.* 29 (3):754-767, 2013中所述)；交替切向流(ATF)過濾(例如，如Kelly等，*Biotechnol. Prog.* 30 (6):1291-1300,

2014；Karst 等，*Biochem. Eng. J.* 110:17-26, 2016；Kim 等，*Cytotechnology* pp. 1-10, 2015；Xu等，*J. Biotechnol.* 231:149-159, 2016；Warikoo等，*Biotechnol. Bioeng.* 109(12):3018-3029, 2012；Clincke 等，*Biotechnol. Prog.* 29(3):754-767, 2013；Wright 等，*Bioprocess International*, Volume 13, March 10, 2015；Yang等，*Biotechnol. Prog.* 30(3):616-625, 2014；和Padawer等，*Biotechnol. Prog.* 29(3):829-832, 2013中所述)；使用一次性浮動過濾器(例如，Tao等，*Biotechnol. Prog.* 27(3):824-829, 2011)；渦流過濾(vortex flow filtration)(VFF) (例如，如Mercille等，*Biotechnol. Bioeng.* 43 (9):833-846, 1994；Mercille等，*Biotechnol. Bioeng.* 67 (4):435-450, 2000；and Roth等，*Pharmaceutical Technology* 21(10), 1997中所述)；和連續深度過濾(continuous depth filtration) (如Vogel等，*Biotechnol. Bioeng.* 109 (12):3049-3058, 2012和Klutz等，*Chemical Engineering Processing: Process Intensification* 102:88-101, 2015中所述)。

也可以使用離心並去除上清液(其為基本上不含細胞的液體培養基)，或通過允許細胞沉降至含有液體培養基的容器(例如，生物反應器)的重力底部並去除遠離沉降的重組細胞的液體培養基(基本上不含細胞的液體培養基)來將重組細胞從液體培養基去除。

所述液體培養基可以獲得自重組細胞(例如，重組細菌、酵母或哺乳動物細胞)的培養物，所述培養物產生本文所述的任何重組治療性蛋白。本文所述的任何方法的一些實例可以進一步包括培養產生重組治療性蛋白的重組細胞(例如，重組細菌、酵母或哺乳動物細胞)的步驟。

所述液體培養基可以是本文所述的或本領域已知的任何類型的液體培養基。例如，所述液體培養基可以選自下組：無動物來源組分的液體培養基、無血清的液體培養基、含血清的液體培養基、化學上限定的液體培養基和無蛋白液體培養基。在本文所述的任何方法中，獲得自培養物的液體培養基可以通過在將其進料至第一MCCS之前添加第二流體(例如，緩衝液)來稀釋。

基本上不含細胞的包含重組治療性蛋白的液體培養基可以在將所述液體培養基進料至第一MCCS（例如第一PCCS)之前儲存(例如，在約15 ºC以下(例如，約10 ºC以下，約4 ºC以下，約0 ºC以下，約-20 ºC以下，約-50 ºC以下，約-70 Cº以下或約-80 ºC以下)的溫度)至少1天(例如，至少約2天，至少約5天，至少約10天，至少約15天，至少約20天或至少約30天)。或者，在一些實例中，將所述液體培養基直接從生物反應器進料至所述第一MCCS（例如第一PCCS)（例如，在過濾或澄清步驟之後從生物反應器直接進料至第一MCCS（例如第一PCCS))。

重組治療性蛋白

可以通過本文提供的方法產生的重組治療性蛋白的非限定性實例包括免疫球蛋白(包括輕鏈和重鏈免疫球蛋白、抗體或抗體片段(例如本文所述的任何抗體片段)、酶(例如半乳糖苷酶(例如，α-半乳糖苷酶)、Myozyme®或Cerezyme®)、蛋白質(例如，人促紅細胞生成素、腫瘤壞死因子(TNF)或干擾素α或β)或免疫原性或抗原性蛋白或蛋白片段(例如，用於在疫苗中使用的蛋白質)。所述重組治療性蛋白可以是含有至少一個多功能重組蛋白支架的工程化的抗原結合多肽(參見，例如，Gebauer等，*Current Opin. Chem. Biol.* 13:245-255, 2009；和美國專利申請公開號2012/0164066（通過提述將其整體併入本文)中描述的重組抗原結合蛋白)。屬抗體的重組治療性蛋白的非限定性實例包括：帕尼單抗(panitumumab)、奧馬佐單抗(omalizumab)、阿巴伏單抗(abagovomab)、阿昔單抗(abciximab)、Actoxumab、阿達木單抗(adalimumab)、阿德木單抗(adecatumumab)、阿非莫單抗(afelimomab)、Afutuzumab、Alacizumab、Alacizumab、阿侖單抗(alemtuzumab)、Alirocumab、阿妥莫單抗(altumomab)、Amatuximab、Amatuximab、Anatumomab、Anrukinzumab、阿泊珠單抗(apolizumab)、Arcitumomab、Atinumab、托珠單抗(tocilizumab)、Basilizimab、貝妥莫單抗(bectumomab)、貝利單抗(belimumab)、貝伐單抗(bevacizumab)、Besilesomab、Bezlotoxumab、比西單抗(biciromab)、Canakinumab、Certolizumab、西

妥昔單抗(cetuximab)、cixutumumab、達克珠單抗(daclizumab)、denosumab 、Densumab、依庫珠單抗(eculizumab)、依決洛單抗(edrecolomab)、依法珠單抗(efalizumab)、依芬古單抗(efungumab)、epratuzumab 、厄妥索單抗(ertumaxomab) 、Etaracizumab 、figitumumab、戈利木單抗(golimumab)、ibritumomab tiuxetan、igovomab、imgatuzumab、英利昔單抗(infliximab)、inolimomab、inotuzumab、labetuzumab、lebrikizumab、moxetumomab、那他珠單抗(natalizumab) 、obinutuzumab 、oregovomab 、帕利珠單抗(palivizumab)、帕尼單抗(panitumumab)、培妥珠單抗(pertuzumab)、ranibizumab、rituximab、tocilizumab、tositumomab、tralokinumab、tucotuzumab、曲妥單抗(trastuzumab)、veltuzumab、zalutumumab和zatuximab。可以通過本文所述的方法產生的重組治療性抗體的其他實例是本領域已知的。可以通過本發明方法產生/純化的重組治療性蛋白的其他非限定性實例包括：阿葡糖苷酶α (alglucosidase alfa)、Laronidase、阿貝西普(abatacept)、加硫酶(galsulfase)、促黃體素α (lutropin alfa)、抗血友病因子(antihemophilic factor)、Agalsidase beta、干擾素β-1a、阿法達貝泊汀(darbepoetin alfa)、替奈普酶(tenecteplase)、依那西普(etanercept)、凝血因子IX (coagulation factor IX)、促卵泡激素(follicle stimulating hormone)、干擾素β-1a、伊米苷酶(imiglucerase)、阿法鏈道酶(dornase alfa)、阿法依泊汀(epoetin alfa)、胰島素或胰島素類似物、美卡舍明(mecasermin)、因子VIII、因子VIIa、抗凝血酶III、蛋白C、人白蛋白、促紅細胞生成素、粒細胞集落刺激因子、粒細胞巨噬細胞集落刺激因子、白介素-11、L-艾杜糖苷酸酶(laronidase)、艾杜糖醌酸-2-硫酸酯酶(idursuphase)、Galsulphase、α-1-蛋白酶抑制劑、乳糖酶、腺苷脫氨酶、組織纖溶酶原激活物、促甲狀腺激素α (例如，Thyrogen®)和阿替普酶(alteplase)。能夠通過本方法產生的重組蛋白的其他實例包括酸性α-葡糖苷酶、葡糖苷酶α (alglucosidase alpha) (例如，Myozyme®和Lumizyme®)、α-L-艾杜糖苷酸酶(例如，Aldurazyme®)、艾杜糖硫酸酯酶、肝素N-硫酸酯

酶、葡萄糖-6-硫酸酯酶、酸性β-半乳糖苷酶、β-葡糖醛酸酶、 N-乙醯葡糖胺-1-磷酸轉移酶、α-N-乙醯半乳糖胺酶(α-N-acetylgalactosaminidase)、酸性脂肪酶、溶酶體酸性神經醯胺酶(lysosomal acid ceramidase)、酸性鞘磷脂酶(acid sphingomyelinase)、β-葡糖苷酶(例如，Cerezyme®和Ceredase®)、半乳糖基神經醯胺酶(galactosylceramidase)、α-半乳糖苷酶-A (例如，Fabrazyme®)、酸性β-半乳糖苷酶、β-半乳糖苷酶、神經氨酸酶(neuraminidase)、氨基己糖苷酶A (hexosaminidase A)和氨基己糖苷酶B。

分泌的、可溶性重組治療性蛋白可以通過將液體培養基從細胞(例如，哺乳動物細胞)去除或以其他物理方式分離來從液體培養基(例如，第一和/或第二液體培養基)回收。用於將液體培養基從細胞(例如，哺乳動物細胞)去除的多種不同的方法是本領域已知的，包括例如，離心、過濾、移液和/或吸取。然後可以將分泌的重組治療性蛋白使用多種生物化學技術從液體培養基回收並進一步純化，所述生物化學技術包括多種類型的層析(例如，親和層析、分子篩層析、陽離子交換層析或陰離子交換層析)和/或過濾(例如，分子量截留過濾)。

多柱層析系統

本文所述的方法包括使用MCCS或兩個或更多個(例如，兩個、三個、四個、五個或六個)多柱層析系統(MCCS)。MCCS可以包括兩個或多個層析管柱、兩個或多個層析膜或至少一個層析管柱和至少一個層析膜的組合。在非限定性實例中，MCCS (例如，本文的任何方法中的第一和/或第二MCCS)可以包括四個層析管柱、三個層析管柱和一個層析膜、三個層析管柱、兩個層析管柱、兩個層析膜，以及兩個層析管柱和一個層析膜。本領域技術人員可以預見層析管柱和/或層析膜的組合的其他實例以供在MCCS(例如，第一MCCS和/或第二MCCS)中使用而沒有限制。MCCS中存在的各個層析管柱和/或層析膜可以是相同的(例如，具有相同的形狀、容積/體積、樹脂、捕獲機制和單元操作)，或者可以是不同的(例如，具有不同的

形狀、容積/體積、樹脂、捕獲機制和單元操作中的一項或多項)。MCCS(例如，第一MCCS和/或第二MCCS)中存在的各個層析管柱和/或層析膜可以進行相同的單元操作(例如，捕獲、純化或精製的單元操作)或不同的單元操作(例如選自，例如，捕獲、純化、精製、滅活病毒、調節包含重組治療性蛋白的流體的離子濃度和/或pH和過濾的組的不同單元操作)。

可以存在於MCCS中(例如，存在於所述第一和/或第二MCCS中)的一個或多個層析管柱可以具有如下樹脂體積，例如，至少約2 mL、至少約5 mL、至少約10 mL、至少約15 mL、至少約20 mL、至少約25 mL、至少約30 mL、至少約35 mL、至少約40 mL、至少約45 mL、至少約50 mL、至少約55 mL、至少約60 mL、至少約65 mL、至少約70 mL、至少約75 mL、至少約80 mL、至少約85 mL、至少約90 mL、至少約95 mL、至少約100 mL、至少約110 mL、至少約120 mL、至少約130 mL、至少約140 mL、至少約150 mL、至少約160 mL、至少約170 mL、至少約180 mL、至少約190 mL、至少約200 mL、至少約250 mL、至少約300 mL、至少約350 mL、至少約400 mL、至少約450 mL、至少約500 mL、至少約550 mL、至少約600 mL、至少約650 mL、至少約700 mL、至少約750 mL、至少約800 mL、至少約850 mL、至少約900 mL、至少約950 mL、至少約1 L、至少約10 L、至少約20 L、至少約30 L、至少約40 L、至少約50 L、至少約60 L、至少約70 L、至少約80 L、至少約90 L、至少約100 L、至少約110 L、至少約120 L、至少約130 L、至少約140 L、至少約150 L、至少約160 L、至少約170 L、至少約180 L、至少約190 L或至少約200 L。

可以存在於MCCS中(例如，存在於所述第一和/或第二MCCS中)的一個或多個層析管柱可以具有如下樹脂體積，約2 mL至約200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約80 L、約60 L、約40 L、約20 L、約10 L、約5 L、約1 L、約900 mL、約800 mL、約700 mL、約600 mL、約500 mL、約400 mL、約300 mL、約200 mL、約100 mL、約90 mL、約80 mL、約70 mL、約60 mL、約50 mL、約45 mL、約40 mL、約35 mL、約30 mL、約25 mL、約20 mL、約15 mL、約10 mL或約5 mL；約5 mL至約200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約80 L、約60

L、約40 L、約20 L、約10 L、約5 L、約1 L、約900 mL、約800 mL、約700 mL、約600 mL、約500 mL、約400 mL、約300 mL、約200 mL、約100 mL、約90 mL、約80 mL、約70 mL、約60 mL、約50 mL、約45 mL、約40 mL、約35 mL、約30 mL、約25 mL、約20 mL、約15 mL或約10 mL；約10 mL至約200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約80 L、約60 L、約40 L、約20 L、約10 L、約5 L、約1 L、約900 mL、約800 mL、約700 mL、約600 mL、約500 mL、約400 mL、約300 mL、約200 mL、約100 mL、約90 mL、約80 mL、約70 mL、約60 mL、約50 mL、約45 mL、約40 mL、約35 mL、約30 mL、約25 mL、約20 mL或約15 mL；約15 mL至約200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約80 L、約60 L、約40 L、約20 L、約10 L、約5 L、約1 L、約900 mL、約800 mL、約700 mL、約600 mL、約500 mL、約400 mL、約300 mL、約200 mL、約100 mL、約90 mL、約80 mL、約70 mL、約60 mL、約50 mL、約45 mL、約40 mL、約35 mL、約30 mL、約25 mL或約20 mL；約20 mL至約200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約80 L、約60 L、約40 L、約20 L、約10 L、約5 L、約1 L、約900 mL、約800 mL、約700 mL、約600 mL、約500 mL、約400 mL、約300 mL、約200 mL、約100 mL、約90 mL、約80 mL、約70 mL、約60 mL、約50 mL、約45 mL、約40 mL、約35 mL、約30 mL或約25 mL；約25 mL至約200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約80 L、約60 L、約40 L、約20 L、約10 L、約5 L、約1 L、約900 mL、約800 mL、約700 mL、約600 mL、約500 mL、約400 mL、約300 mL、約200 mL、約100 mL、約90 mL、約80 mL、約70 mL、約60 mL、約50 mL、約45 mL、約40 mL、約35 mL或約30 mL；約30 mL至約200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約80 L、約60 L、約40 L、約20 L、約10 L、約5 L、約1 L、約900 mL、約800 mL、約700 mL、約600 mL、約500 mL、約400 mL、約300 mL、約200 mL、約100 mL、約90 mL、約80 mL、約70 mL、約60 mL、約50 mL、約45 mL、約40 mL或約35 mL；約35 mL至約200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約80 L、約60 L、約40 L、約20 L、約10 L、約5

L、約1 L、約900 mL、約800 mL、約700 mL、約600 mL、約500 mL、約400 mL、約300 mL、約200 mL、約100 mL、約90 mL、約80 mL、約70 mL、約60 mL、約50 mL、約45 mL或約40 mL；約40 mL至約200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約80 L、約60 L、約40 L、約20 L、約10 L、約5 L、約1 L、約900 mL、約800 mL、約700 mL、約600 mL、約500 mL、約400 mL、約300 mL、約200 mL、約100 mL、約90 mL、約80 mL、約70 mL、約60 mL、約50 mL或約45 mL；約45 mL至約200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約80 L、約60 L、約40 L、約20 L、約10 L、約5 L、約1 L、約900 mL、約800 mL、約700 mL、約600 mL、約500 mL、約400 mL、約300 mL、約200 mL、約100 mL、約90 mL、約80 mL、約70 mL、約60 mL或約50 mL；約50 mL至約200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約80 L、約60 L、約40 L、約20 L、約10 L、約5 L、約1 L、約900 mL、約800 mL、約700 mL、約600 mL、約500 mL、約400 mL、約300 mL、約200 mL、約100 mL、約90 mL、約80 mL、約70 mL或約60 mL；約60 mL至約200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約80 L、約60 L、約40 L、約20 L、約10 L、約5 L、約1 L、約900 mL、約800 mL、約700 mL、約600 mL、約500 mL、約400 mL、約300 mL、約200 mL、約100 mL、約90 mL、約80 mL或約70 mL；約70 mL至約200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約80 L、約60 L、約40 L、約20 L、約10 L、約5 L、約1 L、約900 mL、約800 mL、約700 mL、約600 mL、約500 mL、約400 mL、約300 mL、約200 mL、約100 mL、約90 mL或約80 mL；約80 mL至約200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約80 L、約60 L、約40 L、約20 L、約10 L、約5 L、約1 L、約900 mL、約800 mL、約700 mL、約600 mL、約500 mL、約400 mL、約300 mL、約200 mL、約100 mL或約90 mL；約90 mL至約200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約80 L、約60 L、約40 L、約20 L、約10 L、約5 L、約1 L、約900 mL、約800 mL、約700 mL、約600 mL、約500 mL、約400 mL、約300 mL、約200 mL或約100 mL；約100 mL至約200 L、約180

L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約80 L、約60 L、約40 L、約20 L、約10 L、約5 L、約1 L、約900 mL、約800 mL、約700 mL、約600 mL、約500 mL、約400 mL、約300 mL或約200 mL；約200 mL至約200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約80 L、約60 L、約40 L、約20 L、約10 L、約5 L、約1 L、約900 mL、約800 mL、約700 mL、約600 mL、約500 mL、約400 mL或約300 mL；約300 mL至約200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約80 L、約60 L、約40 L、約20 L、約10 L、約5 L、約1 L、約900 mL、約800 mL、約700 mL、約600 mL、約500 mL或約400 mL；約400 mL至約200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約80 L、約60 L、約40 L、約20 L、約10 L、約5 L、約1 L、約900 mL、約800 mL、約700 mL、約600 mL或約500 mL；約500 mL至約200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約80 L、約60 L、約40 L、約20 L、約10 L、約5 L、約1 L、約900 mL、約800 mL、約700 mL或約600 mL；約600 mL至約200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約80 L、約60 L、約40 L、約20 L、約10 L、約5 L、約1 L、約900 mL、約800 mL或約700 mL；約700 mL至約200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約80 L、約60 L、約40 L、約20 L、約10 L、約5 L、約1 L、約900 mL或約800 mL；約800 mL至約200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約80 L、約60 L、約40 L、約20 L、約10 L、約5 L、約1 L或約900 mL；約900 mL至約200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約80 L、約60 L、約40 L、約20 L、約10 L、約5 L或約1 L；約1 L至約200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約80 L、約60 L、約40 L、約20 L、約10 L或約5 L；約5 L至約200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約80 L、約60 L、約40 L、約20 L或約10 L；10 L至約200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約80 L、約60 L、約40 L或約20 L；20 L至約200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約80 L、約60 L或約40 L；約40 L至約200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約

100 L、約80 L或約60 L；約60 L至約200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L或約80 L；約80 L至約200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L或約100 L；約100 L至約200 L、約180 L、約160 L、約140 L或約120 L；約120 L至約200 L、約180 L、約160 L或約140 L；約140 L至約200 L、約180 L或約160 L；約160 L至約200 L 或約180 L；或約180 L至約200 L。

在本文描述的方法中使用的MCCS中(例如，所述第一和/或第二MCCS中)的一個或多個層析管柱可以具有基本上相同的樹脂體積或者具有不同的樹脂體積。用於MCCS中(例如，所述第一和/或第二MCCS中)的一個或多個層析管柱的流速可以是，例如，約0.2 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約80 L/分鐘、約60 L/分鐘、約40 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約900 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約90 mL/分鐘、約80 mL/分鐘、約70 mL/分鐘、約60 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約40 mL/分鐘、約30 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約20 mL/分鐘、約15 mL/分鐘、約10 mL/分鐘、約5 mL/分鐘、約2 mL/分鐘或約1 mL/分鐘；約1 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約80 L/分鐘、約60 L/分鐘、約40 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約900 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約90 mL/分鐘、約80 mL/分鐘、約70 mL/分鐘、約60 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約40 mL/分鐘、約30 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約20 mL/分鐘、約15 mL/分鐘、約10 mL/分鐘、約5 mL/分鐘或約2 mL/分鐘；約2 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約80 L/分鐘、約60 L/分鐘、約40 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約900 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約

300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約90 mL/分鐘、約80 mL/分鐘、約70 mL/分鐘、約60 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約40 mL/分鐘、約30 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約20 mL/分鐘、約15 mL/分鐘、約10 mL/分鐘或約5 mL/分鐘；約5 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約80 L/分鐘、約60 L/分鐘、約40 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約900 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約90 mL/分鐘、約80 mL/分鐘、約70 mL/分鐘、約60 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約40 mL/分鐘、約30 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約20 mL/分鐘、約15 mL/分鐘或約10 mL/分鐘；約10 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約80 L/分鐘、約60 L/分鐘、約40 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約900 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約90 mL/分鐘、約80 mL/分鐘、約70 mL/分鐘、約60 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約40 mL/分鐘、約30 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約20 mL/分鐘或約15 mL/分鐘；約15 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約80 L/分鐘、約60 L/分鐘、約40 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約900 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約90 mL/分鐘、約80 mL/分鐘、約70 mL/分鐘、約60 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約40 mL/分鐘、約30 mL/分鐘、約25 mL/分鐘或約20 mL/分鐘；約20 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約80 L/分鐘、約60 L/分鐘、約40 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約900 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、

約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約90 mL/分鐘、約80 mL/分鐘、約70 mL/分鐘、約60 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約40 mL/分鐘、約30 mL/分鐘或約25 mL/分鐘；約25 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約80 L/分鐘、約60 L/分鐘、約40 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約900 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約90 mL/分鐘、約80 mL/分鐘、約70 mL/分鐘、約60 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約40 mL/分鐘或約30 mL/分鐘；約30 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約80 L/分鐘、約60 L/分鐘、約40 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約900 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約90 mL/分鐘、約80 mL/分鐘、約70 mL/分鐘、約60 mL/分鐘、約50 mL/分鐘或約40 mL/分鐘；約40 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約80 L/分鐘、約60 L/分鐘、約40 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約900 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約90 mL/分鐘、約80 mL/分鐘、約70 mL/分鐘、約60 mL/分鐘或約50 mL/分鐘；約50 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約80 L/分鐘、約60 L/分鐘、約40 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約900 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約90 mL/分鐘、約80 mL/分鐘、約70 mL/分鐘或約60 mL/分鐘；約60 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約80 L/分鐘、約60 L/分鐘、約40 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10

L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約900 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約90 mL/分鐘、約80 mL/分鐘或約70 mL/分鐘；約70 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約80 L/分鐘、約60 L/分鐘、約40 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約900 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約90 mL/分鐘或約80 mL/分鐘；約80 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約80 L/分鐘、約60 L/分鐘、約40 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約900 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘或約90 mL/分鐘；約90 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約80 L/分鐘、約60 L/分鐘、約40 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約900 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘或約100 mL/分鐘；約100 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約80 L/分鐘、約60 L/分鐘、約40 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約900 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘或約150 mL/分鐘；約150 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約80 L/分鐘、約60 L/分鐘、約40 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約900 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘或約200 mL/分

鐘；約200 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約80 L/分鐘、約60 L/分鐘、約40 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約900 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘或約250 mL/分鐘；約250 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約80 L/分鐘、約60 L/分鐘、約40 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約900 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘或約300 mL/分鐘；約300 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約80 L/分鐘、約60 L/分鐘、約40 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約900 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘或約350 mL/分鐘；約350 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約80 L/分鐘、約60 L/分鐘、約40 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約900 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘或約400 mL/分鐘；約400 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約80 L/分鐘、約60 L/分鐘、約40 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約900 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約500 mL/分鐘或約450 mL/分鐘；約450 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約80 L/分鐘、約60 L/分鐘、約40 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約900 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約600 mL/分鐘或約500 mL/分鐘；約500 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約80 L/分鐘、約60 L/分鐘、約40 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約900 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約700 mL/分鐘或約600 mL/分鐘；約600 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約80 L/分鐘、約60 L/分鐘、約40 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約900 mL/分鐘、約800 mL/分鐘或約700 mL/分鐘；約700 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約80 L/分鐘、約60 L/分鐘、約40 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約

1 L/分鐘、約900 mL/分鐘或約800 mL/分鐘；約800 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約80 L/分鐘、約60 L/分鐘、約40 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘或約900 mL/分鐘；約900 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約80 L/分鐘、約60 L/分鐘、約40 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘或約1 L/分鐘；約1 L/分鐘至約100 L/分鐘、約80 L/分鐘、約60 L/分鐘、約40 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘或約5 L/分鐘；約5 L/分鐘至約100 L/分鐘、約80 L/分鐘、約60 L/分鐘、約40 L/分鐘、約20 L/分鐘或約10 L/分鐘；約10 L/分鐘至約100 L/分鐘、約80 L/分鐘、約60 L/分鐘、約40 L/分鐘或約20 L/分鐘；約20 L/分鐘至約100 L/分鐘、約80 L/分鐘、約60 L/分鐘或約40 L/分鐘；約40 L/分鐘至約100 L/分鐘、約80 L/分鐘或約60 L/分鐘；約60 L/分鐘至約100 L/分鐘 或約80 L/分鐘；或約80 L/分鐘至約100 L/分鐘。

MCCS中(例如，所述第一和/或第二MCCS中)的一個或多個層析管柱可以具有基本上相同的形狀或者可以具有基本上不同的形狀。例如，MCCS中(例如，所述第一和/或第二MCCS中)的一個或多個層析管柱可以基本上具有圓柱的形狀或者可以基本上具有橢圓柱(oval cylinder)的相同形狀。

可以存在於MCCS (例如，存在於第一和/或第二MCCS)中的一個或多個層析膜可以具有如下柱床體積(bed volume)，例如，約1 mL至約10 L、約9.5 L、約9 L、約8.5 L、約8 L、約7.5 L、約7 L、約6.5 L、約6 L、約5.5 L、約5 L、約4.5 L、約4 L、約3.5 L、約3 L、約2.5 L、約2 L、約1.5 L、約1 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL、約600 mL、約550 mL、約500 mL、約475 mL、約450 mL、約425 mL、約400 mL、約375 mL、約350 mL、約325 mL、約300 mL、約275 mL、約250 mL、約225 mL、約200 mL、約175 mL、約150 mL、約125 mL、約100 mL、約95 mL、約90 mL、約85 mL、約80 mL、約75 mL、約70 mL、約65 mL、約60 mL、約55 mL、約50 mL、約45 mL、約40 mL、約35 mL、約30 mL、約25 mL、約20 mL、約15 mL、約10 mL或約5 mL(含端點)；約2 mL至約10 L、約9.5 L、約9 L、約8.5 L、約8 L、約7.5 L、約7 L、約6.5 L、約6 L、約5.5 L、約5 L、約4.5 L、約4 L、約3.5

L、約3 L、約2.5 L、約2 L、約1.5 L、約1 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL、約600 mL、約550 mL、約500 mL、約475 mL、約450 mL、約425 mL、約400 mL、約375 mL、約350 mL、約325 mL、約300 mL、約275 mL、約250 mL、約225 mL、約200 mL、約175 mL、約150 mL、約125 mL、約100 mL、約95 mL、約90 mL、約85 mL、約80 mL、約75 mL、約70 mL、約65 mL、約60 mL、約55 mL、約50 mL、約45 mL、約40 mL、約35 mL、約30 mL、約25 mL、約20 mL、約15 mL、約10 mL或約5 mL (含端點)；約5 mL至約10 L、約9.5 L、約9 L、約8.5 L、約8 L、約7.5 L、約7 L、約6.5 L、約6 L、約5.5 L、約5 L、約4.5 L、約4 L、約3.5 L、約3 L、約2.5 L、約2 L、約1.5 L、約1 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL、約600 mL、約550 mL、約500 mL、約475 mL、約450 mL、約425 mL、約400 mL、約375 mL、約350 mL、約325 mL、約300 mL、約275 mL、約250 mL、約225 mL、約200 mL、約175 mL、約150 mL、約125 mL、約100 mL、約95 mL、約90 mL、約85 mL、約80 mL、約75 mL、約70 mL、約65 mL、約60 mL、約55 mL、約50 mL、約45 mL、約40 mL、約35 mL、約30 mL、約25 mL、約20 mL、約15 mL或約10 mL (含端點)；約10 mL至約10 L、約9.5 L、約9 L、約8.5 L、約8 L、約7.5 L、約7 L、約6.5 L、約6 L、約5.5 L、約5 L、約4.5 L、約4 L、約3.5 L、約3 L、約2.5 L、約2 L、約1.5 L、約1 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL、約600 mL、約550 mL、約500 mL、約475 mL、約450 mL、約425 mL、約400 mL、約375 mL、約350 mL、約325 mL、約300 mL、約275 mL、約250 mL、約225 mL、約200 mL、約175 mL、約150 mL、約125 mL、約100 mL、約95 mL、約90 mL、約85 mL、約80 mL、約75 mL、約70 mL、約65 mL、約60 mL、約55 mL、約50 mL、約45 mL、約40 mL、約35 mL、約30 mL、約25 mL、約20 mL或約15 mL (含端點)；約15 mL至約10 L、約9.5 L、約9 L、約8.5 L、約8 L、約7.5 L、約7 L、約6.5 L、約6 L、約5.5 L、約5 L、約4.5 L、約4 L、約3.5 L、約3 L、約2.5 L、約2 L、約1.5 L、約1 L、約950 mL、約900

mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL、約600 mL、約550 mL、約500 mL、約475 mL、約450 mL、約425 mL、約400 mL、約375 mL、約350 mL、約325 mL、約300 mL、約275 mL、約250 mL、約225 mL、約200 mL、約175 mL、約150 mL、約125 mL、約100 mL、約95 mL、約90 mL、約85 mL、約80 mL、約75 mL、約70 mL、約65 mL、約60 mL、約55 mL、約50 mL、約45 mL、約40 mL、約35 mL、約30 mL、約25 mL或約20 mL (含端點)；約20 mL至約10 L、約9.5 L、約9 L、約8.5 L、約8 L、約7.5 L、約7 L、約6.5 L、約6 L、約5.5 L、約5 L、約4.5 L、約4 L、約3.5 L、約3 L、約2.5 L、約2 L、約1.5 L、約1 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL、約600 mL、約550 mL、約500 mL、約475 mL、約450 mL、約425 mL、約400 mL、約375 mL、約350 mL、約325 mL、約300 mL、約275 mL、約250 mL、約225 mL、約200 mL、約175 mL、約150 mL、約125 mL、約100 mL、約95 mL、約90 mL、約85 mL、約80 mL、約75 mL、約70 mL、約65 mL、約60 mL、約55 mL、約50 mL、約45 mL、約40 mL、約35 mL、約30 mL或約25 mL (含端點)；約25 mL至約10 L、約9.5 L、約9 L、約8.5 L、約8 L、約7.5 L、約7 L、約6.5 L、約6 L、約5.5 L、約5 L、約4.5 L、約4 L、約3.5 L、約3 L、約2.5 L、約2 L、約1.5 L、約1 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL、約600 mL、約550 mL、約500 mL、約475 mL、約450 mL、約425 mL、約400 mL、約375 mL、約350 mL、約325 mL、約300 mL、約275 mL、約250 mL、約225 mL、約200 mL、約175 mL、約150 mL、約125 mL、約100 mL、約95 mL、約90 mL、約85 mL、約80 mL、約75 mL、約70 mL、約65 mL、約60 mL、約55 mL、約50 mL、約45 mL、約40 mL、約35 mL或約30 mL (含端點)；約30 mL至約10 L、約9.5 L、約9 L、約8.5 L、約8 L、約7.5 L、約7 L、約6.5 L、約6 L、約5.5 L、約5 L、約4.5 L、約4 L、約3.5 L、約3 L、約2.5 L、約2 L、約1.5 L、約1 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL、約600 mL、約550 mL、約500 mL、約475 mL、約450 mL、約425 mL、約400 mL、約375 mL、約

350 mL、約325 mL、約300 mL、約275 mL、約250 mL、約225 mL、約200 mL、約175 mL、約150 mL、約125 mL、約100 mL、約95 mL、約90 mL、約85 mL、約80 mL、約75 mL、約70 mL、約65 mL、約60 mL、約55 mL、約50 mL、約45 mL、約40 mL或約35 mL (含端點)；約35 mL至約10 L、約9.5 L、約9 L、約8.5 L、約8 L、約7.5 L、約7 L、約6.5 L、約6 L、約5.5 L、約5 L、約4.5 L、約4 L、約3.5 L、約3 L、約2.5 L、約2 L、約1.5 L、約1 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL、約600 mL、約550 mL、約500 mL、約475 mL、約450 mL、約425 mL、約400 mL、約375 mL、約350 mL、約325 mL、約300 mL、約275 mL、約250 mL、約225 mL、約200 mL、約175 mL、約150 mL、約125 mL、約100 mL、約95 mL、約90 mL、約85 mL、約80 mL、約75 mL、約70 mL、約65 mL、約60 mL、約55 mL、約50 mL、約45 mL或約40 mL (含端點)；約40 mL至約10 L、約9.5 L、約9 L、約8.5 L、約8 L、約7.5 L、約7 L、約6.5 L、約6 L、約5.5 L、約5 L、約4.5 L、約4 L、約3.5 L、約3 L、約2.5 L、約2 L、約1.5 L、約1 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL、約600 mL、約550 mL、約500 mL、約475 mL、約450 mL、約425 mL、約400 mL、約375 mL、約350 mL、約325 mL、約300 mL、約275 mL、約250 mL、約225 mL、約200 mL、約175 mL、約150 mL、約125 mL、約100 mL、約95 mL、約90 mL、約85 mL、約80 mL、約75 mL、約70 mL、約65 mL、約60 mL、約55 mL、約50 mL或約45 mL (含端點)；約45 mL至約10 L、約9.5 L、約9 L、約8.5 L、約8 L、約7.5 L、約7 L、約6.5 L、約6 L、約5.5 L、約5 L、約4.5 L、約4 L、約3.5 L、約3 L、約2.5 L、約2 L、約1.5 L、約1 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL、約600 mL、約550 mL、約500 mL、約475 mL、約450 mL、約425 mL、約400 mL、約375 mL、約350 mL、約325 mL、約300 mL、約275 mL、約250 mL、約225 mL、約200 mL、約175 mL、約150 mL、約125 mL、約100 mL、約95 mL、約90 mL、約85 mL、約80 mL、約75 mL、約70 mL、約65 mL、約60 mL、約55 mL或約50 mL (含端點)；約50 mL至約10

L、約9.5 L、約9 L、約8.5 L、約8 L、約7.5 L、約7 L、約6.5 L、約6 L、約5.5 L、約5 L、約4.5 L、約4 L、約3.5 L、約3 L、約2.5 L、約2 L、約1.5 L、約1 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL、約600 mL、約550 mL、約500 mL、約475 mL、約450 mL、約425 mL、約400 mL、約375 mL、約350 mL、約325 mL、約300 mL、約275 mL、約250 mL、約225 mL、約200 mL、約175 mL、約150 mL、約125 mL、約100 mL、約95 mL、約90 mL、約85 mL、約80 mL、約75 mL、約70 mL、約65 mL、約60 mL或約55 mL（含端點）；約55 mL至約10 L、約9.5 L、約9 L、約8.5 L、約8 L、約7.5 L、約7 L、約6.5 L、約6 L、約5.5 L、約5 L、約4.5 L、約4 L、約3.5 L、約3 L、約2.5 L、約2 L、約1.5 L、約1 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL、約600 mL、約550 mL、約500 mL、約475 mL、約450 mL、約425 mL、約400 mL、約375 mL、約350 mL、約325 mL、約300 mL、約275 mL、約250 mL、約225 mL、約200 mL、約175 mL、約150 mL、約125 mL、約100 mL、約95 mL、約90 mL、約85 mL、約80 mL、約75 mL、約70 mL、約65 mL或約60 mL（含端點）；約60 mL至約10 L、約9.5 L、約9 L、約8.5 L、約8 L、約7.5 L、約7 L、約6.5 L、約6 L、約5.5 L、約5 L、約4.5 L、約4 L、約3.5 L、約3 L、約2.5 L、約2 L、約1.5 L、約1 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL、約600 mL、約550 mL、約500 mL、約475 mL、約450 mL、約425 mL、約400 mL、約375 mL、約350 mL、約325 mL、約300 mL、約275 mL、約250 mL、約225 mL、約200 mL、約175 mL、約150 mL、約125 mL、約100 mL、約95 mL、約90 mL、約85 mL、約80 mL、約75 mL、約70 mL或約65 mL（含端點）；約65 mL至約10 L、約9.5 L、約9 L、約8.5 L、約8 L、約7.5 L、約7 L、約6.5 L、約6 L、約5.5 L、約5 L、約4.5 L、約4 L、約3.5 L、約3 L、約2.5 L、約2 L、約1.5 L、約1 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL、約600 mL、約550 mL、約500 mL、約475 mL、約450 mL、約425 mL、約400 mL、約375 mL、約350 mL、約325 mL、約300 mL、約275 mL、約

250 mL、約225 mL、約200 mL、約175 mL、約150 mL、約125 mL、約100 mL、約95 mL、約90 mL、約85 mL、約80 mL、約75 mL或約70 mL (含端點)；約70 mL至約10 L、約9.5 L、約9 L、約8.5 L、約8 L、約7.5 L、約7 L、約6.5 L、約6 L、約5.5 L、約5 L、約4.5 L、約4 L、約3.5 L、約3 L、約2.5 L、約2 L、約1.5 L、約1 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL、約600 mL、約550 mL、約500 mL、約475 mL、約450 mL、約425 mL、約400 mL、約375 mL、約350 mL、約325 mL、約300 mL、約275 mL、約250 mL、約225 mL、約200 mL、約175 mL、約150 mL、約125 mL、約100 mL、約95 mL、約90 mL、約85 mL、約80 mL或約75 mL (含端點)；約75 mL至約10 L、約9.5 L、約9 L、約8.5 L、約8 L、約7.5 L、約7 L、約6.5 L、約6 L、約5.5 L、約5 L、約4.5 L、約4 L、約3.5 L、約3 L、約2.5 L、約2 L、約1.5 L、約1 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL、約600 mL、約550 mL、約500 mL、約475 mL、約450 mL、約425 mL、約400 mL、約375 mL、約350 mL、約325 mL、約300 mL、約275 mL、約250 mL、約225 mL、約200 mL、約175 mL、約150 mL、約125 mL、約100 mL、約95 mL、約90 mL或約85 mL (含端點)；約85 mL至約10 L、約9.5 L、約9 L、約8.5 L、約8 L、約7.5 L、約7 L、約6.5 L、約6 L、約5.5 L、約5 L、約4.5 L、約4 L、約3.5 L、約3 L、約2.5 L、約2 L、約1.5 L、約1 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL、約600 mL、約550 mL、約500 mL、約475 mL、約450 mL、約425 mL、約400 mL、約375 mL、

約350 mL、約325 mL、約300 mL、約275 mL、約250 mL、約225 mL、約200 mL、約175 mL、約150 mL、約125 mL、約100 mL、約95 mL或約90 mL (含端點)；約90 mL至約10 L、約9.5 L、約9 L、約8.5 L、約8 L、約7.5 L、約7 L、約6.5 L、約6 L、約5.5 L、約5 L、約4.5 L、約4 L、約3.5 L、約3 L、約2.5 L、約2 L、約1.5 L、約1 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL、約600 mL、約550 mL、約500 mL、約475 mL、約450 mL、約425 mL、約400 mL、約375 mL、約350 mL、約325 mL、約300 mL、約275 mL、約250 mL、約225 mL、約200 mL、約175 mL、約150 mL、約125 mL、約100 mL或約95 mL (含端點)；約95 mL至約10 L、約9.5 L、約9 L、約8.5 L、約8 L、約7.5 L、約7 L、約6.5 L、約6 L、約5.5 L、約5 L、約4.5 L、約4 L、約3.5 L、約3 L、約2.5 L、約2 L、約1.5 L、約1 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL、約600 mL、約550 mL、約500 mL、約475 mL、約450 mL、約425 mL、約400 mL、約375 mL、約350 mL、約325 mL、約300 mL、約275 mL、約250 mL、約225 mL、約200 mL、約175 mL、約150 mL、約125 mL或約100 mL；約100 mL至約10 L、約9.5 L、約9 L、約8.5 L、約8 L、約7.5 L、約7 L、約6.5 L、約6 L、約5.5 L、約5 L、約4.5 L、約4 L、約3.5 L、約3 L、約2.5 L、約2 L、約1.5 L、約1 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL、約600 mL、約550 mL、約500 mL、約475 mL、約450 mL、約425 mL、約400 mL、約375 mL、約350 mL、約325 mL、約300 mL、約275 mL、約250 mL、約225 mL、約200 mL、約175 mL或約150 mL (含端點)；約150 mL至約10 L、約9.5 L、約9 L、約8.5 L、約8 L、約7.5 L、約7 L、約6.5 L、約6 L、約5.5 L、約5 L、約4.5 L、約4 L、約3.5 L、約3 L、約2.5 L、約2 L、約1.5 L、約1 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL、約600 mL、約550 mL、約500 mL、約475 mL、約450 mL、約425 mL、約400 mL、約375 mL、約350 mL、約325 mL、約300 mL、約275 mL、約250 mL、約225 mL、約200 mL、約175 mL或約150 mL (含端點)；約150 mL至約10

L、約9.5 L、約9 L、約8.5 L、約8 L、約7.5 L、約7 L、約6.5 L、約6 L、約5.5 L、約5 L、約4.5 L、約4 L、約3.5 L、約3 L、約2.5 L、約2 L、約1.5 L、約1 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL、約600 mL、約550 mL、約500 mL、約475 mL、約450 mL、約425 mL、約400 mL、約375 mL、約350 mL、約325 mL、約300 mL、約275 mL、約250 mL、約225 mL、約200 mL或約175 mL (含端點)；約175 mL至約10 L、約9.5 L、約9 L、約8.5 L、約8 L、約7.5 L、約7 L、約6.5 L、約6 L、約5.5 L、約5 L、約4.5 L、約4 L、約3.5 L、約3 L、約2.5 L、約2 L、約1.5 L、約1 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL、約600 mL、約550 mL、約500 mL、約475 mL、約450 mL、約425 mL、約400 mL、約375 mL、約350 mL、約325 mL、約300 mL、約275 mL、約250 mL、約225 mL或約200 mL (含端點)；約200 mL至約10 L、約9.5 L、約9 L、約8.5 L、約8 L、約7.5 L、約7 L、約6.5 L、約6 L、約5.5 L、約5 L、約4.5 L、約4 L、約3.5 L、約3 L、約2.5 L、約2 L、約1.5 L、約1 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL、約600 mL、約550 mL、約500 mL、約475 mL、約450 mL、約425 mL、約400 mL、約375 mL、約350 mL、約325 mL、約300 mL、約275 mL、約250 mL或約225 mL (含端點)；約225 mL至約10 L、約9.5 L、約9 L、約8.5 L、約8 L、約7.5 L、約7 L、約6.5 L、約6 L、約5.5 L、約5 L、約4.5 L、約4 L、約3.5 L、約3 L、約2.5 L、約2 L、約1.5 L、約1 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL、約600 mL、約550 mL、約500 mL、約475 mL、約450 mL、約425 mL、約400 mL、約375 mL、約350 mL、約325 mL、約300 mL、約275 mL或約250 mL (含端點)；約250 mL至約10 L、約9.5 L、約9 L、約8.5 L、約8 L、約7.5 L、約7 L、約6.5 L、約6 L、約5.5 L、約5 L、約4.5 L、約4 L、約3.5 L、約3 L、約2.5 L、約2 L、約1.5 L、約1 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL、約600 mL、約550 mL、約500 mL、約475 mL、約450 mL、約425 mL、約400 mL、約375 mL、約

350 mL、約325 mL、約300 mL或約275 mL（含端點）；約275 mL至約10 L、約9.5 L、約9 L、約8.5 L、約8 L、約7.5 L、約7 L、約6.5 L、約6 L、約5.5 L、約5 L、約4.5 L、約4 L、約3.5 L、約3 L、約2.5 L、約2 L、約1.5 L、約1 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL、約600 mL、約550 mL、約500 mL、約475 mL、約450 mL、約425 mL、約400 mL、約375 mL、約350 mL、約325 mL或約300 mL（含端點）；約300 mL至約10 L、約9.5 L、約9 L、約8.5 L、約8 L、約7.5 L、約7 L、約6.5 L、約6 L、約5.5 L、約5 L、約4.5 L、約4 L、約3.5 L、約3 L、約2.5 L、約2 L、約1.5 L、約1 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL、約600 mL、約550 mL、約500 mL、約475 mL、約450 mL、約425 mL、約400 mL、約375 mL、約350 mL或約325 mL（含端點）；約325 mL至約10 L、約9.5 L、約9 L、約8.5 L、約8 L、約7.5 L、約7 L、約6.5 L、約6 L、約5.5 L、約5 L、約4.5 L、約4 L、約3.5 L、約3 L、約2.5 L、約2 L、約1.5 L、約1 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL、約600 mL、約550 mL、約500 mL、約475 mL、約450 mL、約425 mL、約400 mL或約375 mL（含端點）；約350 mL至約10 L、約9.5 L、約9 L、約8.5 L、約8 L、約7.5 L、約7 L、約6.5 L、約6 L、約5.5 L、約5 L、約4.5 L、約4 L、約3.5 L、約3 L、約2.5 L、約2 L、約1.5 L、約1 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL、約600 mL、約550 mL、約500 mL、約475 mL、約450 mL、約425 mL或約400 mL（含端點）；約375 mL至約10 L、約9.5 L、約9 L、約8.5 L、約8 L、約7.5 L、約7 L、約6.5 L、約6 L、約5.5 L、約5 L、約4.5 L、約4 L、約3.5 L、約3 L、約2.5 L、約2 L、約1.5 L、約1 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL、約600 mL、約550 mL、約500 mL、約475 mL、約450 mL、約425 mL或約400 mL（含端點）；約400 mL至約10 L、約9.5 L、約9 L、約8.5 L、約8 L、約7.5 L、約7 L、約6.5 L、約6 L、約5.5 L、約5 L、約4.5 L、約4 L、約3.5 L、約3 L、約2.5

L、約2 L、約1.5 L、約1 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL、約600 mL、約550 mL、約500 mL、約475 mL、約450 mL或約425 mL（含端點）；約425 mL至約10 L、約9.5 L、約9 L、約8.5 L、約8 L、約7.5 L、約7 L、約6.5 L、約6 L、約5.5 L、約5 L、約4.5 L、約4 L、約3.5 L、約3 L、約2.5 L、約2 L、約1.5 L、約1 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL、約600 mL、約550 mL、約500 mL、約475 mL或約450 mL（含端點）；約450 mL至約10 L、約9.5 L、約9 L、約8.5 L、約8 L、約7.5 L、約7 L、約6.5 L、約6 L、約5.5 L、約5 L、約4.5 L、約4 L、約3.5 L、約3 L、約2.5 L、約2 L、約1.5 L、約1 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL、約600 mL、約550 mL、約500 mL或約475 mL（含端點）；約475 mL至約10 L、約9.5 L、約9 L、約8.5 L、約8 L、約7.5 L、約7 L、約6.5 L、約6 L、約5.5 L、約5 L、約4.5 L、約4 L、約3.5 L、約3 L、約2.5 L、約2 L、約1.5 L、約1 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL、約600 mL或約550 mL（含端點）；約500 mL至約10 L、約9.5 L、約9 L、約8.5 L、約8 L、約7.5 L、約7 L、約6.5 L、約6 L、約5.5 L、約5 L、約4.5 L、約4 L、約3.5 L、約3 L、約2.5 L、約2 L、約1.5 L、約1 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL、約600 mL或約550 mL（含端點）；約550 mL至約10 L、約9.5 L、約9 L、約8.5 L、約8 L、約7.5 L、約7 L、約6.5 L、約6 L、約5.5 L、約5 L、約4.5 L、約4 L、約3.5 L、約3 L、約2.5 L、約2 L、約1.5 L、約1 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL或約600 mL（含端點）；約600 mL至約10 L、約9.5 L、約9 L、約8.5 L、約8 L、約7.5 L、約7 L、約6.5 L、約6 L、約5.5 L、約5 L、約4.5 L、約4 L、約3.5 L、約3 L、約2.5 L、約2 L、約1.5 L、約1 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL或約650 mL（含端點）；約650 mL至約10 L、約9.5 L、約9 L、約8.5 L、約8 L、約7.5 L、約7 L、約6.5

L、約6 L、約5.5 L、約5 L、約4.5 L、約4 L、約3.5 L、約3 L、約2.5 L、約2 L、約1.5 L、約1 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL或約700 mL（含端點）；約700 mL至約10 L、約9.5 L、約9 L、約8.5 L、約8 L、約7.5 L、約7 L、約6.5 L、約6 L、約5.5 L、約5 L、約4.5 L、約4 L、約3.5 L、約3 L、約2.5 L、約2 L、約1.5 L、約1 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL或約750 mL（含端點）；約750 mL至約10 L、約9.5 L、約9 L、約8.5 L、約8 L、約7.5 L、約7 L、約6.5 L、約6 L、約5.5 L、約5 L、約4.5 L、約4 L、約3.5 L、約3 L、約2.5 L、約2 L、約1.5 L、約1 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL或約800 mL（含端點）；約800 mL至約10 L、約9.5 L、約9 L、約8.5 L、約8 L、約7.5 L、約7 L、約6.5 L、約6 L、約5.5 L、約5 L、約4.5 L、約4 L、約3.5 L、約3 L、約2.5 L、約2 L、約1.5 L、約1 L、約950 mL、約900 mL或約850 mL（含端點）；約850 mL至約10 L、約9.5 L、約9 L、約8.5 L、約8 L、約7.5 L、約7 L、約6.5 L、約6 L、約5.5 L、約5 L、約4.5 L、約4 L、約3.5 L、約3 L、約2.5 L、約2 L、約1.5 L、約1 L、約950 mL或約900 mL（含端點）；約900 mL至約10 L、約9.5 L、約9 L、約8.5 L、約8 L、約7.5 L、約7 L、約6.5 L、約6 L、約5.5 L、約5 L、約4.5 L、約4 L、約3.5 L、約3 L、約2.5 L、約2 L、約1.5 L、約1 L或約950 mL（含端點）；約950 mL至約10 L、約9.5 L、約9 L、約8.5 L、約8 L、約7.5 L、約7 L、約6.5 L、約6 L、約5.5 L、約5 L、約4.5 L、約4 L、約3.5 L、約3 L、約2.5 L、約2 L、約1.5 L或約1 L（含端點）；約1 L至約10 L、約9.5 L、約9 L、約8.5 L、約8 L、約7.5 L、約7 L、約6.5 L、約6 L、約5.5 L、約5 L、約4.5 L、約4 L、約3.5 L、約3 L、約2.5 L、約2 L或約1.5 L（含端點）；約1.5 L至約10 L、約9.5 L、約9 L、約8.5 L、約8 L、約7.5 L、約7 L、約6.5 L、約6 L、約5.5 L、約5 L、約4.5 L、約4 L、約3.5 L、約3 L、約2.5 L或約2 L（含端點）；約2 L至約10 L、約9.5 L、約9 L、約8.5 L、約8 L、約7.5 L、約7 L、約6.5 L、約6 L、約5.5 L、約5 L、約4.5 L、約4 L、約3.5 L、約3 L或約2.5 L（含端點）；約2.5 L至約10 L、約9.5 L、約9 L、約8.5 L、約8 L、約7.5

L、約7 L、約6.5 L、約6 L、約5.5 L、約5 L、約4.5 L、約4 L、約3.5 L或約3 L（含端點）；約3.0 L至約10 L、約9.5 L、約9 L、約8.5 L、約8 L、約7.5 L、約7 L、約6.5 L、約6 L、約5.5 L、約5 L、約4.5 L、約4 L或約3.5 L（含端點）；約3.5 L至約10 L、約9.5 L、約9 L、約8.5 L、約8 L、約7.5 L、約7 L、約6.5 L、約6 L、約5.5 L、約5 L、約4.5 L或約4 L（含端點）；約4 L至約10 L、約9.5 L、約9 L、約8.5 L、約8 L、約7.5 L、約7 L、約6.5 L、約6 L、約5.5 L、約5 L或約4.5 L（含端點）；約4.5 L至約10 L、約9.5 L、約9 L、約8.5 L、約8 L、約7.5 L、約7 L、約6.5 L、約6 L、約5.5 L或約5 L（含端點）；約5 L至約10 L、約9.5 L、約9 L、約8.5 L、約8 L、約7.5 L、約7 L、約6.5 L、約6 L或約5.5 L（含端點）；約5.5 L至約10 L、約9.5 L、約9 L、約8.5 L、約8 L、約7.5 L、約7 L、約6.5 L或約6 L（含端點）；約6 L至約10 L、約9.5 L、約9 L、約8.5 L、約8 L、約7.5 L、約7 L或約6.5 L（含端點）；約6.5 L至約10 L、約9.5 L、約9 L、約8.5 L、約8 L、約7.5 L或約7 L（含端點）；約7 L至約10 L、約9.5 L、約9 L、約8.5 L、約8 L或約7.5 L（含端點）；約7.5 L至約10 L、約9.5 L、約9 L、約8.5 L或約8 L（含端點）；約8 L至約10 L、約9.5 L、約9 L或約8.5 L（含端點）；約8.5 L至約10 L、約9.5 L或約9 L（含端點）；約9 L至約10 L 或約9.5 L（含端點）；或約9.5 L至約10 L。

在本文所述的任何方法中，可以在使用兩個或多個MCCS的過程中採用一種或多種(例如，三種、四種、五種、六種、七種、八種、九種、十種、十一種、十二種、十三種、十四種、十五種、十六種、十七種、十八種、十九種、二十種、二十一種、二十二種、二十三種或二十四種)不同類型的緩衝液。正如本領域已知的，在本文所述方法中的兩個或多個MCCS中使用的一種或多種類型的緩衝液會依賴於所述兩個或多個MCCS（例如，第一和第二MCCS)的層析管柱和/或層析膜中存在的樹脂、重組治療性蛋白和由所述兩個或多個MCCS的特定層析管柱和/或層析膜進行的單元操作(例如，本文所述的任何例示性單元操作)。在本文所述的任何方法中，在使用兩個或多個MCCS的過程中採用的緩衝液的體積和類型也可以由本領域技

術人員來確定(例如，在下文更詳細討論的)。例如，在本文所述的任何方法中，在使用兩個或多個MCCS的過程中採用的緩衝液的體積和類型可經選擇以優化重組蛋白藥物產物中的以下一項或多項：重組治療性蛋白的整體產率、重組治療性蛋白的活性、重組治療性蛋白的純度水平和生物污染物從包含重組治療性蛋白的流體的去除(例如，不含活性病毒、分枝桿菌、酵母、細菌或哺乳動物細胞)。

第一和/或第二MCCS可以是週期性逆流層析系統(PCCS)。例如，PCCS可以包括兩個或多個層析管柱(例如三個管柱或四個管柱)，切換所述柱以允許從所述兩個或多個層析管柱連續洗脫重組治療性蛋白。PCCS可以包括兩個或多個層析管柱，兩個或多個層析膜，或者至少一個層析管柱和至少一個層析膜。柱操作通常由加載、清洗、洗脫和再生步驟組成。在PCCS中，使用多個柱以循環的方式離散地和連續地運行相同步驟。由於柱串聯操作，來自一個柱的流過物和洗出物(wash)被另一個柱捕獲。PCCS的這種獨特的特徵允許樹脂的加載接近其靜態結合能力而非動態結合能力，正如在分批模式層析過程中通常所見。圖3中示出了含有三個管柱的PCCS中使用的三柱切換技術的實例。一循環定義為三次完整的柱操作，產生來自柱切換技術中使用的三個管柱中每一個的洗脫彙集物(elution pool)。一旦完成了循環中的全部步驟，則重新開始循環。連續循環和洗脫的結果是進入PCCS的流體得到連續處理，並且連續產生含有重組治療性蛋白的洗脫物。

為了在PCCS循環(如圖3中所示的例示性循環)中從一個步驟推進至另一個，採用了柱切換策略。在圖3中所示的例示性PCCS系統中的三個管柱中，柱切換方法採用每個柱兩個的自動切換操作，其中第一個涉及初始產物的穿透(breakthrough)，而第二個與柱飽和相吻合。確定何時應當進行柱切換操作通過監測PCCS中存在的每個層析管柱的洗脫物中的重組治療性蛋白濃度(例如，通過UV監測來進行的監測)來確定。例如，柱切換可以通過任何帶有反饋控制的能夠在線測量產物濃度的PAT工具來確定。所述PAT工具能夠帶有反饋控制地實時在線測量產物濃度。

圖4描繪了例示性PCCS中基於進料入口和柱出口之間的UV吸光度差異

(-UV)的柱切換的實例。例如，在柱加載過程中(步驟1；圖3)，在吸光度穩定時PCC控制系統測定雜質的基線水平。隨著產物的穿透(步驟2；圖3)，出口UV信號增加到雜質基線之上。在-UV達到預定閾值的點(例如，產物的3%穿透)，將來自柱1的流過液引導至柱2而非廢料(t1；圖4)。在柱1的產物接近飽和並且-UV達到預定值時(t2；圖4)，將進料切換至柱2。PCCS中使用的柱切換策略允許均一地加載柱，而與進料產物濃度和容量無關。可以設計基於來自每個柱的洗脫液中檢測到的重組蛋白水平的類似的柱切換。正如本領域已知的，柱切換也可以基於流體(例如，緩衝液)通過第一或第二MCCS中的一個或多個層析管柱和/或層析膜的時間或量來設計。

在PCCS中，可以在不增加柱/膜大小的前提下減少重組治療性蛋白在PCCS中存在的每個層析管柱和/或層析膜上的留駐時間(RT)，因為在PCCS中第一柱/膜的穿透物可以捕獲在另一柱/膜上。連續方法系統可以經設計通過改變柱/膜體積(V)和RT從而以任何灌注速率(D)處理液體培養基，其中使用等式：V = D * RT。

能夠由當前描述的方法中使用的至少兩個MCCS (例如，第一和/或第二MCCS)進行的一個或多個單元操作包括，例如，捕獲重組治療性蛋白、滅活包含重組治療性蛋白的流體中存在的病毒、純化重組治療性蛋白、精製重組治療性蛋白、保持包含重組治療性蛋白的流體(例如，使用本文所述的任何例示性間歇罐)、從包含重組治療性蛋白的流體過濾或去除顆粒物質和/或細胞和調節包含重組治療性蛋白的流體的離子濃度和/或pH。

捕獲的單元操作可以使用包括至少一個層析管柱和/或層析樹脂的一個或多個MCCS (例如，第一和/或第二MCCS)進行，所述層析管柱和/或層析樹脂例如使用捕獲機制。捕獲機制的非限定性實例包括蛋白A-結合捕獲機制、抗體-或抗體片段-結合捕獲機制、受質-結合捕獲機制、適體-結合捕獲機制、標簽-結合捕獲機制(例如，基於多聚-His標簽的捕獲機制)和輔因子-結合捕獲機制。捕獲可以使用能夠用於進行陽離子交換或陰離子交換層析或分子篩層析的樹脂進行。本文描述了能夠用於捕獲重組治療性蛋白的非限定性樹脂。能夠用於捕獲重組治療性蛋白的樹脂的其他實例是

本領域已知的。

滅活含有重組治療性蛋白的流體中存在的病毒的單元操作可以使用一個或多個MCCS (例如，第一MCCS和/或第二MCCS)進行，其包括例如層析管柱、層析膜或保持罐，所述層析管柱、層析膜或保持罐能夠在約3.0至5.0 (例如，約3.5至約4.5、約3.5至約4.25、約3.5至約4.0、約3.5至約3.8或約3.75)的pH下溫育包含重組治療性蛋白的流體一段至少30分鐘的時間(例如，一段約30分鐘至1.5小時的時間，一段約30分鐘至1.25小時的時間，一段約0.75小時至1.25 小時的時間或一段約1小時的時間)進行。

純化重組蛋白的單元操作可以使用一個或多個MCCS (例如，第一和/或第二MCCS)進行，所述MCCS包括，例如，含有樹脂的層析管柱或層析膜，例如，其使用捕獲系統。捕獲機制的非限定性實例包括蛋白A-結合捕獲機制、抗體-或抗體片段-結合捕獲機制、受質-結合捕獲機制、適體-結合捕獲機制、標簽-結合捕獲機制(例如，基於多聚-His標簽的捕獲機制)和輔因子-結合捕獲機制。純化也可以使用能夠用於進行陽離子交換或陰離子交換層析或分子篩層析的樹脂進行。本文描述了能夠用於純化重組治療性蛋白的非限定性樹脂。能夠用於純化重組治療性蛋白的樹脂的其他實例是本領域已知的。

精製重組蛋白的單元操作可以使用一個或多個MCCS (例如，第一和/或第二MCCS)進行，所述MCCS包括，例如，含有樹脂的層析管柱或層析膜，例如，所述樹脂可用於進行陽離子交換、陰離子交換或分子篩層析。本文描述了能夠用於精製重組治療性蛋白的非限定性樹脂。能夠用於精製重組治療性蛋白的樹脂的其他實例是本領域已知的。

保持(holding)含有所述重組治療性蛋白的流體的單元操作可以使用在第一和第二MCCS中總共包括至少一個儲器(例如，間歇罐)或最多1、2、3、4或5個儲器(例如，間歇罐)的MCCS (例如，第一和/或第二MCCS)進行。例如，能夠用於實現這一單元操作的所述儲器(例如，間歇罐)可以各自具有如下容積，例如，約1 mL至約10,000 L、約9,000 L、約8,000 L、約7,000 L、約6,000 L、約5,000 L、約4,000 L、約3,000 L、約2,000 L、約1,000 L、約900 L、約800 L、約700 L、約600 L、約500 L、約400

L、約300 L、約200 L、約100 L、約80 L、約60 L、約40 L、約20 L、約10 L、約5 L、約1 L、約900 mL、約800 mL、約600 mL、約500 mL、約400 mL、約350 mL、約300 mL、約280 mL、約260 mL、約240 mL、約220 mL、約200 mL、約180 mL、約160 mL、約140 mL、約120 mL、約100 mL、約80 mL、約60 mL、約40 mL、約20 mL或約10 mL (含端點)；約5 mL至約10,000 L、約9,000 L、約8,000 L、約7,000 L、約6,000 L、約5,000 L、約4,000 L、約3,000 L、約2,000 L、約1,000 L、約900 L、約800 L、約700 L、約600 L、約500 L、約400 L、約300 L、約200 L、約100 L、約80 L、約60 L、約40 L、約20 L、約10 L、約5 L、約1 L、約900 mL、約800 mL、約600 mL、約500 mL、約400 mL、約350 mL、約300 mL、約280 mL、約260 mL、約240 mL、約220 mL、約200 mL、約180 mL、約160 mL、約140 mL、約120 mL、約100 mL、約80 mL、約60 mL、約40 mL、約20 mL或約10 mL (含端點)；約10 mL至約10,000 L、約9,000 L、約8,000 L、約7,000 L、約6,000 L、約5,000 L、約4,000 L、約3,000 L、約2,000 L、約1,000 L、約900 L、約800 L、約700 L、約600 L、約500 L、約400 L、約300 L、約200 L、約100 L、約80 L、約60 L、約40 L、約20 L、約10 L、約5 L、約1 L、約900 mL、約800 mL、約600 mL、約500 mL、約400 mL、約350 mL、約300 mL、約280 mL、約260 mL、約240 mL、約220 mL、約200 mL、約180 mL、約160 mL、約140 mL、約120 mL、約100 mL、約80 mL、約60 mL、約40 mL或約20 mL (含端點)；約20 mL至約10,000 L、約9,000 L、約8,000 L、約7,000 L、約6,000 L、約5,000 L、約4,000 L、約3,000 L、約2,000 L、約1,000 L、約900 L、約800 L、約700 L、約600 L、約500 L、約400 L、約300 L、約200 L、約100 L、約80 L、約60 L、約40 L、約20 L、約10 L、約5 L、約1 L、約900 mL、約800 mL、約600 mL、約500 mL、約400 mL、約350 mL、約300 mL、約280 mL、約260 mL、約240 mL、約220 mL、約200 mL、約180 mL、約160 mL、約140 mL、約120 mL、約100 mL、約80 mL、約60 mL或約40 mL (含端點)；約40 mL至約10,000 L、約9,000 L、約8,000 L、約7,000 L、約6,000 L、約5,000 L、約4,000 L、約3,000 L、約2,000 L、約

1,000 L、約900 L、約800 L、約700 L、約600 L、約500 L、約400 L、約300 L、約200 L、約100 L、約80 L、約60 L、約40 L、約20 L、約10 L、約5 L、約1 L、約900 mL、約800 mL、約600 mL、約500 mL、約400 mL、約350 mL、約300 mL、約280 mL、約260 mL、約240 mL、約220 mL、約200 mL、約180 mL、約160 mL、約140 mL、約120 mL、約100 mL、約80 mL或約60 mL（含端點）；約60 mL至約10,000 L、約9,000 L、約8,000 L、約7,000 L、約6,000 L、約5,000 L、約4,000 L、約3,000 L、約2,000 L、約1,000 L、約900 L、約800 L、約700 L、約600 L、約500 L、約400 L、約300 L、約200 L、約100 L、約80 L、約60 L、約40 L、約20 L、約10 L、約5 L、約1 L、約900 mL、約800 mL、約600 mL、約500 mL、約400 mL、約350 mL、約300 mL、約280 mL、約260 mL、約240 mL、約220 mL、約200 mL、約180 mL、約160 mL、約140 mL、約120 mL、約100 mL或約80 mL（含端點）；約80 mL至約10,000 L、約9,000 L、約8,000 L、約7,000 L、約6,000 L、約5,000 L、約4,000 L、約3,000 L、約2,000 L、約1,000 L、約900 L、約800 L、約700 L、約600 L、約500 L、約400 L、約300 L、約200 L、約100 L、約80 L、約60 L、約40 L、約20 L、約10 L、約5 L、約1 L、約900 mL、約800 mL、約600 mL、約500 mL、約400 mL、約350 mL、約300 mL、約280 mL、約260 mL、約240 mL、約220 mL、約200 mL、約180 mL、約160 mL、約140 mL、約120 mL或約100 mL（含端點）；約100 mL至約10,000 L、約9,000 L、約8,000 L、約7,000 L、約6,000 L、約5,000 L、約4,000 L、約3,000 L、約2,000 L、約1,000 L、約900 L、約800 L、約700 L、約600 L、約500 L、約400 L、約300 L、約200 L、約100 L、約80 L、約60 L、約40 L、約20 L、約10 L、約5 L、約1 L、約900 mL、約800 mL、約600 mL、約500 mL、約400 mL、約350 mL、約300 mL、約280 mL、約260 mL、約240 mL、約220 mL、約200 mL、約180 mL、約160 mL、約140 mL或約120 mL（含端點）；約120 mL至約10,000 L、約9,000 L、約8,000 L、約7,000 L、約6,000 L、約5,000 L、約4,000 L、約3,000 L、約2,000 L、約1,000 L、約900 L、約800 L、約700 L、約600 L、約500 L、約400 L、約300 L、約200

L、約100 L、約80 L、約60 L、約40 L、約20 L、約10 L、約5 L、約1 L、約900 mL、約800 mL、約600 mL、約500 mL、約400 mL、約350 mL、約300 mL、約280 mL、約260 mL、約240 mL、約220 mL、約200 mL、約180 mL、約160 mL或約140 mL（含端點）；約140 mL至約10,000 L、約9,000 L、約8,000 L、約7,000 L、約6,000 L、約5,000 L、約4,000 L、約3,000 L、約2,000 L、約1,000 L、約900 L、約800 L、約700 L、約600 L、約500 L、約400 L、約300 L、約200 L、約100 L、約80 L、約60 L、約40 L、約20 L、約10 L、約5 L、約1 L、約900 mL、約800 mL、約600 mL、約500 mL、約400 mL、約350 mL、約300 mL、約280 mL、約260 mL、約240 mL、約220 mL、約200 mL、約180 mL或約160 mL（含端點）；約160 mL至約10,000 L、約9,000 L、約8,000 L、約7,000 L、約6,000 L、約5,000 L、約4,000 L、約3,000 L、約2,000 L、約1,000 L、約900 L、約800 L、約700 L、約600 L、約500 L、約400 L、約300 L、約200 L、約100 L、約80 L、約60 L、約40 L、約20 L、約10 L、約5 L、約1 L、約900 mL、約800 mL、約600 mL、約500 mL、約400 mL、約350 mL、約300 mL、約280 mL、約260 mL、約240 mL、約220 mL、約200 mL或約180 mL（含端點）；約180 mL至約10,000 L、約9,000 L、約8,000 L、約7,000 L、約6,000 L、約5,000 L、約4,000 L、約3,000 L、約2,000 L、約1,000 L、約900 L、約800 L、約700 L、約600 L、約500 L、約400 L、約300 L、約200 L、約100 L、約80 L、約60 L、約40 L、約20 L、約10 L、約5 L、約1 L、約900 mL、約800 mL、約600 mL、約500 mL、約400 mL、約350 mL、約300 mL、約280 mL、約260 mL、約240 mL、約220 mL或約200 mL（含端點）；約200 mL至約10,000 L、約9,000 L、約8,000 L、約7,000 L、約6,000 L、約5,000 L、約4,000 L、約3,000 L、約2,000 L、約1,000 L、約900 L、約800 L、約700 L、約600 L、約500 L、約400 L、約300 L、約200 L、約100 L、約80 L、約60 L、約40 L、約20 L、約10 L、約5 L、約1 L、約900 mL、約800 mL、約600 mL、約500 mL、約400 mL、約350 mL、約300 mL、約280 mL、約260 mL、約240 mL或約220 mL（含端點）；約220 mL至約10,000 L、約9,000 L、約8,000

L、約7,000 L、約6,000 L、約5,000 L、約4,000 L、約3,000 L、約2,000 L、約1,000 L、約900 L、約800 L、約700 L、約600 L、約500 L、約400 L、約300 L、約200 L、約100 L、約80 L、約60 L、約40 L、約20 L、約10 L、約5 L、約1 L、約900 mL、約800 mL、約600 mL、約500 mL、約400 mL、約350 mL、約300 mL、約280 mL、約260 mL或約240 mL（含端點）；約240 mL至約10,000 L、約9,000 L、約8,000 L、約7,000 L、約6,000 L、約5,000 L、約4,000 L、約3,000 L、約2,000 L、約1,000 L、約900 L、約800 L、約700 L、約600 L、約500 L、約400 L、約300 L、約200 L、約100 L、約80 L、約60 L、約40 L、約20 L、約10 L、約5 L、約1 L、約900 mL、約800 mL、約600 mL、約500 mL、約400 mL、約350 mL、約300 mL、約280 mL或約260 mL（含端點）；約260 mL至約10,000 L、約9,000 L、約8,000 L、約7,000 L、約6,000 L、約5,000 L、約4,000 L、約3,000 L、約2,000 L、約1,000 L、約900 L、約800 L、約700 L、約600 L、約500 L、約400 L、約300 L、約200 L、約100 L、約80 L、約60 L、約40 L、約20 L、約10 L、約5 L、約1 L、約900 mL、約800 mL、約600 mL、約500 mL、約400 mL、約350 mL、約300 mL或約280 mL（含端點）；約280 mL至約10,000 L、約9,000 L、約8,000 L、約7,000 L、約6,000 L、約5,000 L、約4,000 L、約3,000 L、約2,000 L、約1,000 L、約900 L、約800 L、約700 L、約600 L、約500 L、約400 L、約300 L、約200 L、約100 L、約80 L、約60 L、約40 L、約20 L、約10 L、約5 L、約1 L、約900 mL、約800 mL、約600 mL、約500 mL、約400 mL、約350 mL或約300 mL（含端點）；約300 mL至約10,000 L、約9,000 L、約8,000 L、約7,000 L、約6,000 L、約5,000 L、約4,000 L、約3,000 L、約2,000 L、約1,000 L、約900 L、約800 L、約700 L、約600 L、約500 L、約400 L、約300 L、約200 L、約100 L、約80 L、約60 L、約40 L、約20 L、約10 L、約5 L、約1 L、約900 mL、約800 mL、約600 mL、約500 mL、約400 mL或約350 mL（含端點）；約350 mL至約10,000 L、約9,000 L、約8,000 L、約7,000 L、約6,000 L、約5,000 L、約4,000 L、約3,000 L、約2,000 L、約1,000 L、約900 L、約800

L、約700 L、約600 L、約500 L、約400 L、約300 L、約200 L、約100 L、約80 L、約60 L、約40 L、約20 L、約10 L、約5 L、約1 L、約900 mL、約800 mL、約600 mL、約500 mL或約400 mL（含端點）；約400 mL至約10,000 L、約9,000 L、約8,000 L、約7,000 L、約6,000 L、約5,000 L、約4,000 L、約3,000 L、約2,000 L、約1,000 L、約900 L、約800 L、約700 L、約600 L、約500 L、約400 L、約300 L、約200 L、約100 L、約80 L、約60 L、約40 L、約20 L、約10 L、約5 L、約1 L、約900 mL、約800 mL、約600 mL或約500 mL（含端點）；約500 mL至約10,000 L、約9,000 L、約8,000 L、約7,000 L、約6,000 L、約5,000 L、約4,000 L、約3,000 L、約2,000 L、約1,000 L、約900 L、約800 L、約700 L、約600 L、約500 L、約400 L、約300 L、約200 L、約100 L、約80 L、約60 L、約40 L、約20 L、約10 L、約5 L、約1 L、約900 mL、約800 mL或約600 mL（含端點）；約600 mL至約10,000 L、約9,000 L、約8,000 L、約7,000 L、約6,000 L、約5,000 L、約4,000 L、約3,000 L、約2,000 L、約1,000 L、約900 L、約800 L、約700 L、約600 L、約500 L、約400 L、約300 L、約200 L、約100 L、約80 L、約60 L、約40 L、約20 L、約10 L、約5 L、約1 L、約900 mL或約800 mL（含端點）；約800 mL至約10,000 L、約9,000 L、約8,000 L、約7,000 L、約6,000 L、約5,000 L、約4,000 L、約3,000 L、約2,000 L、約1,000 L、約900 L、約800 L、約700 L、約600 L、約500 L、約400 L、約300 L、約200 L、約100 L、約80 L、約60 L、約40 L、約20 L、約10 L、約5 L、約1 L或約900 mL（含端點）；約900 mL至約10,000 L、約9,000 L、約8,000 L、約7,000 L、約6,000 L、約5,000 L、約4,000 L、約3,000 L、約2,000 L、約1,000 L、約900 L、約800 L、約700 L、約600 L、約500 L、約400 L、約300 L、約200 L、約100 L、約80 L、約60 L、約40 L、約20 L、約10 L、約5 L或約1 L（含端點）；約1 L至約10,000 L、約9,000 L、約8,000 L、約7,000 L、約6,000 L、約5,000 L、約4,000 L、約3,000 L、約2,000 L、約1,000 L、約900 L、約800 L、約700 L、約600 L、約500 L、約400 L、約300 L、約200 L、約100 L、約80 L、約60 L、約40 L、

約20 L、約10 L或約5 L (含端點)；約5 L至約10,000 L、約9,000 L、約8,000 L、約7,000 L、約6,000 L、約5,000 L、約4,000 L、約3,000 L、約2,000 L、約1,000 L、約900 L、約800 L、約700 L、約600 L、約500 L、約400 L、約300 L、約200 L、約100 L、約80 L、約60 L、約40 L、約20 L或約10 L (含端點)；約10 L至約10,000 L、約9,000 L、約8,000 L、約7,000 L、約6,000 L、約5,000 L、約4,000 L、約3,000 L、約2,000 L、約1,000 L、約900 L、約800 L、約700 L、約600 L、約500 L、約400 L、約300 L、約200 L、約100 L、約80 L、約60 L、約40 L或約20 L (含端點)；約20 L至約10,000 L、約9,000 L、約8,000 L、約7,000 L、約6,000 L、約5,000 L、約4,000 L、約3,000 L、約2,000 L、約1,000 L、約900 L、約800 L、約700 L、約600 L、約500 L、約400 L、約300 L、約200 L、約100 L、約80 L、約60 L或約40 L (含端點)；約40 L至約10,000 L、約9,000 L、約8,000 L、約7,000 L、約6,000 L、約5,000 L、約4,000 L、約3,000 L、約2,000 L、約1,000 L、約900 L、約800 L、約700 L、約600 L、約500 L、約400 L、約300 L、約200 L、約100 L、約80 L或約60 L (含端點)；約60 L至約10,000 L、約9,000 L、約8,000 L、約7,000 L、約6,000 L、約5,000 L、約4,000 L、約3,000 L、約2,000 L、約1,000 L、約900 L、約800 L、約700 L、約600 L、約500 L、約400 L、約300 L、約200 L、約100 L或約80 L (含端點)；約80 L至約10,000 L、約9,000 L、約8,000 L、約7,000 L、約6,000 L、約5,000 L、約4,000 L、約3,000 L、約2,000 L、約1,000 L、約900 L、約800 L、約700 L、約600 L、約500 L、約400 L、約300 L、約200 L或約100 L (含端點)；約100 L至約10,000 L、約9,000 L、約8,000 L、約7,000 L、約6,000 L、約5,000 L、約4,000 L、約3,000 L、約2,000 L、約1,000 L、約900 L、約800 L、約700 L、約600 L、約500 L、約400 L、約300 L或約200 L (含端點)；約200 L至約10,000 L、約9,000 L、約8,000 L、約7,000 L、約6,000 L、約5,000 L、約4,000 L、約3,000 L、約2,000 L、約1,000 L、約900 L、約800 L、約700 L、約600 L、約500 L、約400 L或約300 L (含端點)；約300 L至約10,000 L、

約9,000 L、約8,000 L、約7,000 L、約6,000 L、約5,000 L、約4,000 L、約3,000 L、約2,000 L、約1,000 L、約900 L、約800 L、約700 L、約600 L、約500 L或約400 L (含端點)；約400 L至約10,000 L、約9,000 L、約8,000 L、約7,000 L、約6,000 L、約5,000 L、約4,000 L、約3,000 L、約2,000 L、約1,000 L、約900 L、約800 L、約700 L、約600 L或約500 L (含端點)；約500 L至約10,000 L、約9,000 L、約8,000 L、約7,000 L、約6,000 L、約5,000 L、約4,000 L、約3,000 L、約2,000 L、約1,000 L、約900 L、約800 L、約700 L或約600 L (含端點)；約600 L至約10,000 L、約9,000 L、約8,000 L、約7,000 L、約6,000 L、約5,000 L、約4,000 L、約3,000 L、約2,000 L、約1,000 L、約900 L、約800 L或約700 L (含端點)；約700 L至約10,000 L、約9,000 L、約8,000 L、約7,000 L、約6,000 L、約5,000 L、約4,000 L、約3,000 L、約2,000 L、約1,000 L、約900 L或約800 L (含端點)；約800 L至約10,000 L、約9,000 L、約8,000 L、約7,000 L、約6,000 L、約5,000 L、約4,000 L、約3,000 L、約2,000 L、約1,000 L或約900 L (含端點)；約900 L至約10,000 L、約9,000 L、約8,000 L、約7,000 L、約6,000 L、約5,000 L、約4,000 L、約3,000 L、約2,000 L或約1,000 L (含端點)；約1,000 L至約10,000 L、約9,000 L、約8,000 L、約7,000 L、約6,000 L、約5,000 L、約4,000 L、約3,000 L或約2,000 L (含端點)；約2,000 L至約10,000 L、約9,000 L、約8,000 L、約7,000 L、約6,000 L、約5,000 L、約4,000 L或約3,000 L (含端點)；約3,000 L至約10,000 L、約9,000 L、約8,000 L、約7,000 L、約6,000 L、約5,000 L或約4,000 L (含端點)；約4,000 L至約10,000 L、約9,000 L、約8,000 L、約7,000 L、約6,000 L或約5,000 L (含端點)；約5,000 L至約10,000 L、約9,000 L、約8,000 L、約7,000 L或約6,000 L (含端點)；約6,000 L至約10,000 L、約9,000 L、約8,000 L或約7,000 L (含端點)；約7,000 L至約10,000 L、約9,000 L或約8,000 L (含端點)；約8,000 L至約10,000 L 或約9,000 L (含端點)；或約9,000 L至約10,000 L (含端點)。

在本文描述的方法中使用的儲器(例如，間歇罐)可以具有如下容量

(capacity)，其為例如約1 mL至約10,000 L（含端點）（或本文描述的這種容積範圍的任何子範圍）。(在本文描述的任何方法中)用於在流體進入第一MCCS之前保持流體的任何儲器(例如，間歇罐)可以具有如下容量，其為例如1 mL至所述第一MCCS的加載體積的約100%（含端點），約1 mL至所述第一MCCS的第一柱的加載體積的約90%、約80%、約70%、約60%、約50%、約40%、約30%、約20%、約10%或約5%（含端點）。用於在流體進入第二MCCS之前(且在流體離開第一MCCS之後)保持流體的任何儲器(例如，間歇罐)可以具有如下容量，其為例如，1 mL至所述第二MCCS的第一柱的加載體積的約100%（含端點），例如，約1 mL至所述第二MCCS的第一柱的加載體積的約90%、約80%、約70%、約60%、約50%、約40%、約30%、約20%、約10%或約5%（含端點）。

所述儲器(例如，間歇罐)各自能夠保持含有所述重組治療性蛋白的流體達至少10分鐘(例如，至少20分鐘、至少30分鐘、至少1小時、至少2小時、至少4小時、至少6小時、至少8小時、至少10小時、至少12小時、至少14小時、至少16小時、至少18小時、至少20小時、至少22小時、至少24小時、至少26小時、至少28小時、至少30小時、至少32小時、至少34小時、至少36小時、至少38小時、至少40小時、至少42小時、至少44小時、至少46小時或至少48小時)。其他實例中，所述儲器(例如，間歇罐)僅在如下的一段總時間內保持治療性蛋白，例如，約5分鐘至少於約48小時，含端點，例如，約5分鐘至約48小時、約46小時、約44小時、約42小時、約40小時、約38小時、約36小時、約34小時、約32小時、約30小時、約28小時、約26小時、約24小時、約22小時、約20小時、約18小時、約16小時、約14小時、約12小時、約10小時、約9小時、約8小時、約7小時、約6小時、約5小時、約4小時、約3小時、約2小時、約1小時或約30分鐘(含端點)；約30分鐘至約48小時、約46小時、約44小時、約42小時、約40小時、約38小時、約36小時、約34小時、約32小時、約30小時、約28小時、約26小時、約24小時、約22小時、約20小時、約18小時、約16小時、約14小時、約12小時、約10小時、約9小時、約8小時、約7小時、約6小時、約5小時、約4小時、約3小時、約2小時或約1小時(含端點)；約1小時至約48

小時、約46小時、約44小時、約42小時、約40小時、約38小時、約36小時、約34小時、約32小時、約30小時、約28小時、約26小時、約24小時、約22小時、約20小時、約18小時、約16小時、約14小時、約12小時、約10小時、約9小時、約8小時、約7小時、約6小時、約5小時、約4小時、約3小時或約2小時(含端點)；約2小時至約48小時、約46小時、約44小時、約42小時、約40小時、約38小時、約36小時、約34小時、約32小時、約30小時、約28小時、約26小時、約24小時、約22小時、約20小時、約18小時、約16小時、約14小時、約12小時、約10小時、約9小時、約8小時、約7小時、約6小時、約5小時、約4小時或約3小時(含端點)；約3小時至約48小時、約46小時、約44小時、約42小時、約40小時、約38小時、約36小時、約34小時、約32小時、約30小時、約28小時、約26小時、約24小時、約22小時、約20小時、約18小時、約16小時、約14小時、約12小時、約10小時、約9小時、約8小時、約7小時、約6小時、約5小時或約4小時(含端點)；約4小時至約48小時、約46小時、約44小時、約42小時、約40小時、約38小時、約36小時、約34小時、約32小時、約30小時、約28小時、約26小時、約24小時、約22小時、約20小時、約18小時、約16小時、約14小時、約12小時、約10小時、約9小時、約8小時、約7小時、約6小時或約5小時(含端點)；約5小時至約48小時、約46小時、約44小時、約42小時、約40小時、約38小時、約36小時、約34小時、約32小時、約30小時、約28小時、約26小時、約24小時、約22小時、約20小時、約18小時、約16小時、約14小時、約12小時、約10小時、約9小時、約8小時、約7小時或約6小時(含端點)；約6小時至約48小時、約46小時、約44小時、約42小時、約40小時、約38小時、約36小時、約34小時、約32小時、約30小時、約28小時、約26小時、約24小時、約22小時、約20小時、約18小時、約16小時、約14小時、約12小時、約10小時、約9小時、約8小時或約7小時(含端點)；約7小時至約48小時、約46小時、約44小時、約42小時、約40小時、約38小時、約36小時、約34小時、約32小時、約30小時、約28小時、約26小時、約24小時、約22小時、約20小時、約18小時、約16小時、約14小時、約12小時、約10小時、約9小時或約8小時(含端點)；約8小時至約48

小時、約46小時、約44小時、約42小時、約40小時、約38小時、約36小時、約34小時、約32小時、約30小時、約28小時、約26小時、約24小時、約22小時、約20小時、約18小時、約16小時、約14小時、約12小時、約10小時或約9小時(含端點)；約9小時至約48小時、約46小時、約44小時、約42小時、約40小時、約38小時、約36小時、約34小時、約32小時、約30小時、約28小時、約26小時、約24小時、約22小時、約20小時、約18小時、約16小時、約14小時、約12小時或約10小時(含端點)；約10小時至約48小時、約46小時、約44小時、約42小時、約40小時、約38小時、約36小時、約34小時、約32小時、約30小時、約28小時、約26小時、約24小時、約22小時、約20小時、約18小時、約16小時、約14小時或約12小時(含端點)；約12小時至約48小時、約46小時、約44小時、約42小時、約40小時、約38小時、約36小時、約34小時、約32小時、約30小時、約28小時、約26小時、約24小時、約22小時、約20小時、約18小時、約16小時或約14小時(含端點)；約14小時至約48小時、約46小時、約44小時、約42小時、約40小時、約38小時、約36小時、約34小時、約32小時、約30小時、約28小時、約26小時、約24小時、約22小時、約20小時、約18小時或約16小時(含端點)；約16小時至約48小時、約46小時、約44小時、約42小時、約40小時、約38小時、約36小時、約34小時、約32小時、約30小時、約28小時、約26小時、約24小時、約22小時、約20小時或約18小時(含端點)；約18小時至約48小時、約46小時、約44小時、約42小時、約40小時、約38小時、約36小時、約34小時、約32小時、約30小時、約28小時、約26小時、約24小時、約22小時或約20小時(含端點)；約20小時至約48小時、約46小時、約44小時、約42小時、約40小時、約38小時、約36小時、約34小時、約32小時、約30小時、約28小時、約26小時、約24小時或約22小時(含端點)；約22小時至約48小時、約46小時、約44小時、約42小時、約40小時、約38小時、約36小時、約34小時、約32小時、約30小時、約28小時、約26小時或約24小時(含端點)；約24小時至約48小時、約46小時、約44小時、約42小時、約40小時、約38小時、約36小時、約34小時、約32小時、約30小時、約28小時或約26小時(含端點)；約26小時至約48小時、約46小

時、約44小時、約42小時、約40小時、約38小時、約36小時、約34小時、約32小時、約30小時或約28小時(含端點)；約28小時至約48小時、約46小時、約44小時、約42小時、約40小時、約38小時、約36小時、約34小時、約32小時或約30小時(含端點)；約30小時至約48小時、約46小時、約44小時、約42小時、約40小時、約38小時、約36小時、約34小時或約32小時(含端點)；約32小時至約48小時、約46小時、約44小時、約42小時、約40小時、約38小時、約36小時或約34小時(含端點)；約34小時至約48小時、約46小時、約44小時、約42小時、約40小時、約38小時或約36小時(含端點)；約36小時至約48小時、約46小時、約44小時、約42小時、約40小時或約38小時(含端點)；約38小時至約48小時、約46小時、約44小時、約42小時或約40小時(含端點)；約40小時至約48小時、約46小時、約44小時或約42小時(含端點)；約42小時至約48小時、約46小時或約44小時(含端點)；約44小時至約48小時 或約46小時(含端點)；約46小時至約48小時(含端點)。

所述儲器(例如，間歇罐)可用於同時保持和冷藏(例如，在低於25 ºC，低於15 ºC或低於10 ºC的溫度下)含有重組治療性蛋白的流體。所述儲器可以具有任何形狀，包括圓柱、橢圓柱或大致為矩形的密封且非滲透性的袋。

過濾包含重組治療性蛋白的流體的單元操作可以使用包括例如過濾器或層析管柱或層析膜的MCCS (例如，第一和/或第二MCCS)進行，所述層析管柱或層析膜含有分子篩樹脂。正如本領域已知的，多種多樣的亞微米過濾器(例如，具有小於1 μm、小於0.5 μm、小於0.3 μm, 約0.2 μm、小於0.2 μm、小於100 nm、小於80 nm、小於60 nm、小於40 nm、小於20 nm或小於10 nm的孔徑的過濾器)是本領域可得的，其能夠去除任何沉澱的材料和/或細胞(例如，沉澱的、未折疊的蛋白質；沉澱的、不想要的宿主細胞蛋白；沉澱的脂質；細胞；酵母細胞；真菌細胞；分枝桿菌；和/或哺乳動物細胞)。已知具有約0.2 μm或小於0.2 μm的孔徑的過濾器從包含重組治療性蛋白的流體有效去除細菌。正如本領域已知的，包括分子篩樹脂的層析管柱或層析膜也可以在MCCS (例如， 第一和/或第二

MCCS)中使用以進行過濾包含重組治療性蛋白的流體的單元操作。

調節包含重組治療性蛋白的流體的離子濃度和/或pH的單元操作可以使用MCCS（例如，第一MCCS和/或第二MCCS)進行，所述MCCS（例如，第一MCCS和/或第二MCCS)包括並使用緩衝液調節儲器(例如，在線緩衝液調節儲器)，其將新的緩衝溶液添加至包含重組治療性蛋白的流體(例如，在單個MCCS內的柱之間，或在倒數第二個MCCS（例如，第一MCCS)中的最後一個柱之後且在將包含重組治療性蛋白的流體進料入下一MCCS（例如，第二MCCS)的第一個柱之前)。正如本領域所理解的，在線緩衝液調整儲器可以是任何尺寸(例如，大於100 mL)並且可以包括任何緩衝的溶液(例如，具有下列一項或多項的緩衝的溶液：與包含重組治療性蛋白的流體相比增加或減少的pH，與包含重組治療性蛋白的流體相比增加或減少的離子(例如，鹽)濃度，和/或與重組治療性蛋白競爭與MCCS（例如，第一或第二MCCS)中至少一個層析管柱或至少一個層析膜中存在的樹脂進行結合的作用劑的增加或減少的濃度。在其他實例中，調節流體的離子濃度和/或pH的單元操作可以使用尺寸排阻層析和逆流透析進行(參見，例如，Kurnik等，*Biotechnol. Bioeng.* 45(2):149-157, 1995；和Klutz等，*J. Biotechnol.* 213:120-130, 2015)。

所述第一MCCS和/或第二MCCS可以進行兩種或多種單元操作。例如，所述第一MCCS和/或第二MCCS可以各自進行至少以下單元操作：捕獲重組治療性蛋白並滅活包含重組治療性蛋白的流體中存在的病毒；捕獲重組治療性蛋白、滅活包含重組治療性蛋白的流體中存在的病毒並調節包含重組治療性蛋白的液體的離子濃度和/或pH；純化重組治療性蛋白並精製重組治療性蛋白；純化重組治療性蛋白、精製重組治療性蛋白並過濾包含重組治療性蛋白的流體或從包含重組治療性蛋白的流體去除沉澱物和/或顆粒物質；和純化重組治療性蛋白、精製重組治療性蛋白、過濾包含重組治療性蛋白的流體或從包含重組治療性蛋白的流體去除沉澱物和/或顆粒物質並調節包含重組治療性蛋白的液體的離子濃度和/或pH。

捕獲重組治療性蛋白

本方法包括使用第一MCCS捕獲重組治療性蛋白的步驟。正如本領域所理解的，可以使用多種不同的方式將包含重組治療性蛋白的液體培養基連續進料至第一MCCS。例如，可以將所述液體培養基主動泵入第一MCCS，或者可以使用重力將所述液體培養基進料入第一MCCS。可以將所述液體培養基在將其進料入第一MCCS之前儲存在儲器(例如，保持罐)中，或者可以將所述液體培養基從包含細胞(例如，將重組治療性蛋白分泌入培養基的哺乳動物細胞)的培養物的生物反應器主動泵入第一MCCS。

可以將所述液體培養基以如下流速進料(加載)至所述第一MCCS中，例如，約0.2 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約95 L/分鐘、約90 L/分鐘、約85 L/分鐘、約80 L/分鐘、約75 L/分鐘、約70 L/分鐘、約65 L/分鐘、約60 L/分鐘、約55 L/分鐘、約50 L/分鐘、約45 L/分鐘、約40 L/分鐘、約35 L/分鐘、約30 L/分鐘、約25 L/分鐘、約20 L/分鐘、約15 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約95 mL/分鐘、約90 mL/分鐘、約85 mL/分鐘、約80 mL/分鐘、約75 mL/分鐘、約70 mL/分鐘、約65 mL/分鐘、約60 mL/分鐘、約55 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約45 mL/分鐘、約40 mL/分鐘、約35 mL/分鐘、約30 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約20 mL/分鐘、約15 mL/分鐘、約10 mL/分鐘、約5 mL/分鐘或約2 mL/分鐘(含端點)；約0.5 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約95 L/分鐘、約90 L/分鐘、約85 L/分鐘、約80 L/分鐘、約75 L/分鐘、約70 L/分鐘、約65 L/分鐘、約60 L/分鐘、約55 L/分鐘、約50 L/分鐘、約45 L/分鐘、約40 L/分鐘、約35 L/分鐘、約30 L/分鐘、約25 L/分鐘、約20 L/分鐘、約15 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、

約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約95 mL/分鐘、約90 mL/分鐘、約85 mL/分鐘、約80 mL/分鐘、約75 mL/分鐘、約70 mL/分鐘、約65 mL/分鐘、約60 mL/分鐘、約55 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約45 mL/分鐘、約40 mL/分鐘、約35 mL/分鐘、約30 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約20 mL/分鐘、約15 mL/分鐘、約10 mL/分鐘、約5 mL/分鐘或約2 mL/分鐘(含端點)；約1 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約95 L/分鐘、約90 L/分鐘、約85 L/分鐘、約80 L/分鐘、約75 L/分鐘、約70 L/分鐘、約65 L/分鐘、約60 L/分鐘、約55 L/分鐘、約50 L/分鐘、約45 L/分鐘、約40 L/分鐘、約35 L/分鐘、約30 L/分鐘、約25 L/分鐘、約20 L/分鐘、約15 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約95 mL/分鐘、約90 mL/分鐘、約85 mL/分鐘、約80 mL/分鐘、約75 mL/分鐘、約70 mL/分鐘、約65 mL/分鐘、約60 mL/分鐘、約55 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約45 mL/分鐘、約40 mL/分鐘、約35 mL/分鐘、約30 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約20 mL/分鐘、約15 mL/分鐘、約10 mL/分鐘、約5 mL/分鐘或約2 mL/分鐘(含端點)；約2 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約95 L/分鐘、約90 L/分鐘、約85 L/分鐘、約80 L/分鐘、約75 L/分鐘、約70 L/分鐘、約65 L/分鐘、約60 L/分鐘、約55 L/分鐘、約50 L/分鐘、約45 L/分鐘、約40 L/分鐘、約35 L/分鐘、約30 L/分鐘、約25 L/分鐘、約20 L/分鐘、約15 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約95 mL/分鐘、約90 mL/分鐘、約85 mL/分鐘、約80 mL/分鐘、約75 mL/分鐘、約70 mL/分鐘、約65

mL/分鐘、約60 mL/分鐘、約55 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約45 mL/分鐘、約40 mL/分鐘、約35 mL/分鐘、約30 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約20 mL/分鐘、約15 mL/分鐘、約10 mL/分鐘或約5 mL/分鐘(含端點)；約5 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約95 L/分鐘、約90 L/分鐘、約85 L/分鐘、約80 L/分鐘、約75 L/分鐘、約70 L/分鐘、約65 L/分鐘、約60 L/分鐘、約55 L/分鐘、約50 L/分鐘、約45 L/分鐘、約40 L/分鐘、約35 L/分鐘、約30 L/分鐘、約25 L/分鐘、約20 L/分鐘、約15 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約95 mL/分鐘、約90 mL/分鐘、約85 mL/分鐘、約80 mL/分鐘、約75 mL/分鐘、約70 mL/分鐘、約65 mL/分鐘、約60 mL/分鐘、約55 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約45 mL/分鐘、約40 mL/分鐘、約35 mL/分鐘、約30 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約20 mL/分鐘、約15 mL/分鐘或約10 mL/分鐘(含端點)；10 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約95 L/分鐘、約90 L/分鐘、約85 L/分鐘、約80 L/分鐘、約75 L/分鐘、約70 L/分鐘、約65 L/分鐘、約60 L/分鐘、約55 L/分鐘、約50 L/分鐘、約45 L/分鐘、約40 L/分鐘、約35 L/分鐘、約30 L/分鐘、約25 L/分鐘、約20 L/分鐘、約15 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約95 mL/分鐘、約90 mL/分鐘、約85 mL/分鐘、約80 mL/分鐘、約75 mL/分鐘、約70 mL/分鐘、約65 mL/分鐘、約60 mL/分鐘、約55 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約45 mL/分鐘、約40 mL/分鐘、約35 mL/分鐘、約30 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約20 mL/分鐘或約15 mL/分鐘(含端點)；約15 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約95

L/分鐘、約90 L/分鐘、約85 L/分鐘、約80 L/分鐘、約75 L/分鐘、約70 L/分鐘、約65 L/分鐘、約60 L/分鐘、約55 L/分鐘、約50 L/分鐘、約45 L/分鐘、約40 L/分鐘、約35 L/分鐘、約30 L/分鐘、約25 L/分鐘、約20 L/分鐘、約15 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約95 mL/分鐘、約90 mL/分鐘、約85 mL/分鐘、約80 mL/分鐘、約75 mL/分鐘、約70 mL/分鐘、約65 mL/分鐘、約60 mL/分鐘、約55 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約45 mL/分鐘、約40 mL/分鐘、約35 mL/分鐘、約30 mL/分鐘、約25 mL/分鐘或約20 mL/分鐘(含端點)；約20 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約95 L/分鐘、約90 L/分鐘、約85 L/分鐘、約80 L/分鐘、約75 L/分鐘、約70 L/分鐘、約65 L/分鐘、約60 L/分鐘、約55 L/分鐘、約50 L/分鐘、約45 L/分鐘、約40 L/分鐘、約35 L/分鐘、約30 L/分鐘、約25 L/分鐘、約20 L/分鐘、約15 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約95 mL/分鐘、約90 mL/分鐘、約85 mL/分鐘、約80 mL/分鐘、約75 mL/分鐘、約70 mL/分鐘、約65 mL/分鐘、約60 mL/分鐘、約55 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約45 mL/分鐘、約40 mL/分鐘、約35 mL/分鐘、約30 mL/分鐘或約25 mL/分鐘(含端點)；約25 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約95 L/分鐘、約90 L/分鐘、約85 L/分鐘、約80 L/分鐘、約75 L/分鐘、約70 L/分鐘、約65 L/分鐘、約60 L/分鐘、約55 L/分鐘、約50 L/分鐘、約45 L/分鐘、約40 L/分鐘、約35 L/分鐘、約30 L/分鐘、約25 L/分鐘、約20 L/分鐘、約15 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約

850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約95 mL/分鐘、約90 mL/分鐘、約85 mL/分鐘、約80 mL/分鐘、約75 mL/分鐘、約70 mL/分鐘、約65 mL/分鐘、約60 mL/分鐘、約55 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約45 mL/分鐘、約40 mL/分鐘、約35 mL/分鐘或約30 mL/分鐘(含端點)；約30 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約95 L/分鐘、約90 L/分鐘、約85 L/分鐘、約80 L/分鐘、約75 L/分鐘、約70 L/分鐘、約65 L/分鐘、約60 L/分鐘、約55 L/分鐘、約50 L/分鐘、約45 L/分鐘、約40 L/分鐘、約35 L/分鐘、約30 L/分鐘、約25 L/分鐘、約20 L/分鐘、約15 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約95 mL/分鐘、約90 mL/分鐘、約85 mL/分鐘、約80 mL/分鐘、約75 mL/分鐘、約70 mL/分鐘、約65 mL/分鐘、約60 mL/分鐘、約55 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約45 mL/分鐘、約40 mL/分鐘或約35 mL/分鐘(含端點)；約35 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約95 L/分鐘、約90 L/分鐘、約85 L/分鐘、約80 L/分鐘、約75 L/分鐘、約70 L/分鐘、約65 L/分鐘、約60 L/分鐘、約55 L/分鐘、約50 L/分鐘、約45 L/分鐘、約40 L/分鐘、約35 L/分鐘、約30 L/分鐘、約25 L/分鐘、約20 L/分鐘、約15 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約95 mL/分鐘、約90 mL/分鐘、約85 mL/分鐘、約80 mL/分鐘、約75 mL/分鐘、約70 mL/分鐘、約65 mL/

分鐘、約60 mL/分鐘、約55 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約45 mL/分鐘或約40 mL/分鐘(含端點)；約40 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約95 L/分鐘、約90 L/分鐘、約85 L/分鐘、約80 L/分鐘、約75 L/分鐘、約70 L/分鐘、約65 L/分鐘、約60 L/分鐘、約55 L/分鐘、約50 L/分鐘、約45 L/分鐘、約40 L/分鐘、約35 L/分鐘、約30 L/分鐘、約25 L/分鐘、約20 L/分鐘、約15 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約95 mL/分鐘、約90 mL/分鐘、約85 mL/分鐘、約80 mL/分鐘、約75 mL/分鐘、約70 mL/分鐘、約65 mL/分鐘、約60 mL/分鐘、約55 mL/分鐘、約50 mL/分鐘或約45 mL/分鐘(含端點)；約45 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約95 L/分鐘、約90 L/分鐘、約85 L/分鐘、約80 L/分鐘、約75 L/分鐘、約70 L/分鐘、約65 L/分鐘、約60 L/分鐘、約55 L/分鐘、約50 L/分鐘、約45 L/分鐘、約40 L/分鐘、約35 L/分鐘、約30 L/分鐘、約25 L/分鐘、約20 L/分鐘、約15 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約95 mL/分鐘、約90 mL/分鐘、約85 mL/分鐘、約80 mL/分鐘、約75 mL/分鐘、約70 mL/分鐘、約65 mL/分鐘、約60 mL/分鐘、約55 mL/分鐘或約50 mL/分鐘(含端點)；約50 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約95 L/分鐘、約90 L/分鐘、約85 L/分鐘、約80 L/分鐘、約75 L/分鐘、約70 L/分鐘、約65 L/分鐘、約60 L/分鐘、約55 L/分鐘、約50 L/分鐘、約45 L/分鐘、約40 L/分鐘、約35 L/分鐘、約30 L/分鐘、約25 L/分鐘、約20 L/分鐘、約15 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分

鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約95 mL/分鐘、約90 mL/分鐘、約85 mL/分鐘、約80 mL/分鐘、約75 mL/分鐘、約70 mL/分鐘、約65 mL/分鐘、約60 mL/分鐘或約55 mL/分鐘(含端點)；約55 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約95 L/分鐘、約90 L/分鐘、約85 L/分鐘、約80 L/分鐘、約75 L/分鐘、約70 L/分鐘、約65 L/分鐘、約60 L/分鐘、約55 L/分鐘、約50 L/分鐘、約45 L/分鐘、約40 L/分鐘、約35 L/分鐘、約30 L/分鐘、約25 L/分鐘、約20 L/分鐘、約15 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約95 mL/分鐘、約90 mL/分鐘、約85 mL/分鐘、約80 mL/分鐘、約75 mL/分鐘、約70 mL/分鐘、約65 mL/分鐘或約60 mL/分鐘(含端點)；約60 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約95 L/分鐘、約90 L/分鐘、約85 L/分鐘、約80 L/分鐘、約75 L/分鐘、約70 L/分鐘、約65 L/分鐘、約60 L/分鐘、約55 L/分鐘、約50 L/分鐘、約45 L/分鐘、約40 L/分鐘、約35 L/分鐘、約30 L/分鐘、約25 L/分鐘、約20 L/分鐘、約15 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約95 mL/分鐘、約90 mL/分鐘、約85 mL/分鐘、約80 mL/分鐘、約75 mL/分鐘、約70 mL/分鐘或約65 mL/分鐘(含端點)；約65 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約95 L/分鐘、約90 L/分鐘、約85 L/分鐘、約80 L/分鐘、約75 L/分鐘、約70 L/分鐘、約65 L/分鐘、約60 L/分鐘、約55 L/分鐘、約50

L/分鐘、約45 L/分鐘、約40 L/分鐘、約35 L/分鐘、約30 L/分鐘、約25 L/分鐘、約20 L/分鐘、約15 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約95 mL/分鐘、約90 mL/分鐘、約85 mL/分鐘、約80 mL/分鐘、約75 mL/分鐘或約70 mL/分鐘(含端點)；約70 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約95 L/分鐘、約90 L/分鐘、約85 L/分鐘、約80 L/分鐘、約75 L/分鐘、約70 L/分鐘、約65 L/分鐘、約60 L/分鐘、約55 L/分鐘、約50 L/分鐘、約45 L/分鐘、約40 L/分鐘、約35 L/分鐘、約30 L/分鐘、約25 L/分鐘、約20 L/分鐘、約15 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約95 mL/分鐘、約90 mL/分鐘、約85 mL/分鐘、約80 mL/分鐘或約75 mL/分鐘(含端點)；約75 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約95 L/分鐘、約90 L/分鐘、約85 L/分鐘、約80 L/分鐘、約75 L/分鐘、約70 L/分鐘、約65 L/分鐘、約60 L/分鐘、約55 L/分鐘、約50 L/分鐘、約45 L/分鐘、約40 L/分鐘、約35 L/分鐘、約30 L/分鐘、約25 L/分鐘、約20 L/分鐘、約15 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約95 mL/分鐘、約90 mL/分鐘、約85 mL/分鐘或約80 mL/分鐘(含端點)；約80 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約95 L/分鐘、約90 L/分鐘、約85 L/分鐘、約80 L/分鐘、約75 L/

分鐘、約70 L/分鐘、約65 L/分鐘、約60 L/分鐘、約55 L/分鐘、約50 L/分鐘、約45 L/分鐘、約40 L/分鐘、約35 L/分鐘、約30 L/分鐘、約25 L/分鐘、約20 L/分鐘、約15 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約95 mL/分鐘、約90 mL/分鐘或約85 mL/分鐘(含端點)；約85 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約95 L/分鐘、約90 L/分鐘、約85 L/分鐘、約80 L/分鐘、約75 L/分鐘、約70 L/分鐘、約65 L/分鐘、約60 L/分鐘、約55 L/分鐘、約50 L/分鐘、約45 L/分鐘、約40 L/分鐘、約35 L/分鐘、約30 L/分鐘、約25 L/分鐘、約20 L/分鐘、約15 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約95 mL/分鐘或約90 mL/分鐘(含端點)；約90 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約95 L/分鐘、約90 L/分鐘、約85 L/分鐘、約80 L/分鐘、約75 L/分鐘、約70 L/分鐘、約65 L/分鐘、約60 L/分鐘、約55 L/分鐘、約50 L/分鐘、約45 L/分鐘、約40 L/分鐘、約35 L/分鐘、約30 L/分鐘、約25 L/分鐘、約20 L/分鐘、約15 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘、約100 mL/分鐘或約95 mL/分鐘(含端點)；約95 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約95 L/分鐘、約90 L/分鐘、約85 L/分鐘、約80 L/分鐘、約75 L/分鐘、約70 L/分鐘、約65 L/分鐘、約60 L/分鐘、約55 L/分

鐘、約50 L/分鐘、約45 L/分鐘、約40 L/分鐘、約35 L/分鐘、約30 L/分鐘、約25 L/分鐘、約20 L/分鐘、約15 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約150 mL/分鐘或約100 mL/分鐘(含端點)；約100 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約95 L/分鐘、約90 L/分鐘、約85 L/分鐘、約80 L/分鐘、約75 L/分鐘、約70 L/分鐘、約65 L/分鐘、約60 L/分鐘、約55 L/分鐘、約50 L/分鐘、約45 L/分鐘、約40 L/分鐘、約35 L/分鐘、約30 L/分鐘、約25 L/分鐘、約20 L/分鐘、約15 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘、約200 mL/分鐘或約150 mL/分鐘(含端點)；約150 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約95 L/分鐘、約90 L/分鐘、約85 L/分鐘、約80 L/分鐘、約75 L/分鐘、約70 L/分鐘、約65 L/分鐘、約60 L/分鐘、約55 L/分鐘、約50 L/分鐘、約45 L/分鐘、約40 L/分鐘、約35 L/分鐘、約30 L/分鐘、約25 L/分鐘、約20 L/分鐘、約15 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘、約250 mL/分鐘或約200 mL/分鐘(含端點)；約200 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約95 L/分鐘、約90 L/分鐘、約85 L/分鐘、約80 L/分鐘、約75 L/分鐘、約70 L/分鐘、約65 L/分鐘、約60 L/分鐘、約55 L/分鐘、約50 L/分鐘、約45 L/分鐘、約40 L/分鐘、約35 L/分鐘、約30 L/分鐘、約25 L/分鐘、約20 L/分鐘、約15 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分

鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘、約300 mL/分鐘或約250 mL/分鐘(含端點)；約250 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約95 L/分鐘、約90 L/分鐘、約85 L/分鐘、約80 L/分鐘、約75 L/分鐘、約70 L/分鐘、約65 L/分鐘、約60 L/分鐘、約55 L/分鐘、約50 L/分鐘、約45 L/分鐘、約40 L/分鐘、約35 L/分鐘、約30 L/分鐘、約25 L/分鐘、約20 L/分鐘、約15 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約350 mL/分鐘或約300 mL/分鐘(含端點)；約300 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約95 L/分鐘、約90 L/分鐘、約85 L/分鐘、約80 L/分鐘、約75 L/分鐘、約70 L/分鐘、約65 L/分鐘、約60 L/分鐘、約55 L/分鐘、約50 L/分鐘、約45 L/分鐘、約40 L/分鐘、約35 L/分鐘、約30 L/分鐘、約25 L/分鐘、約20 L/分鐘、約15 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘、約400 mL/分鐘或約350 mL/分鐘(含端點)；約350 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約95 L/分鐘、約90 L/分鐘、約85 L/分鐘、約80 L/分鐘、約75 L/分鐘、約70 L/分鐘、約65 L/分鐘、約60 L/分鐘、約55 L/分鐘、約50 L/分鐘、約45 L/分鐘、約40 L/分鐘、約35 L/分鐘、約30 L/分鐘、約25 L/分鐘、約20 L/分鐘、約15 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘、約450 mL/分鐘或約400 mL/分鐘(含端點)；約400 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約95 L/分鐘、約90 L/分鐘、約85 L/分鐘、約80 L/分鐘、約75 L/分鐘、約70 L/分鐘、約65 L/分鐘、約60 L/分鐘、約55 L/分鐘、約50 L/分鐘、約45 L/分鐘、約40 L/分鐘、約35

L/分鐘、約30 L/分鐘、約25 L/分鐘、約20 L/分鐘、約15 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘、約500 mL/分鐘或約450 mL/分鐘(含端點)；約450 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約95 L/分鐘、約90 L/分鐘、約85 L/分鐘、約80 L/分鐘、約75 L/分鐘、約70 L/分鐘、約65 L/分鐘、約60 L/分鐘、約55 L/分鐘、約50 L/分鐘、約45 L/分鐘、約40 L/分鐘、約35 L/分鐘、約30 L/分鐘、約25 L/分鐘、約20 L/分鐘、約15 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約550 mL/分鐘或約500 mL/分鐘(含端點)；約500 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約95 L/分鐘、約90 L/分鐘、約85 L/分鐘、約80 L/分鐘、約75 L/分鐘、約70 L/分鐘、約65 L/分鐘、約60 L/分鐘、約55 L/分鐘、約50 L/分鐘、約45 L/分鐘、約40 L/分鐘、約35 L/分鐘、約30 L/分鐘、約25 L/分鐘、約20 L/分鐘、約15 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘、約600 mL/分鐘或約550 mL/分鐘(含端點)；約550 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約95 L/分鐘、約90 L/分鐘、約85 L/分鐘、約80 L/分鐘、約75 L/分鐘、約70 L/分鐘、約65 L/分鐘、約60 L/分鐘、約55 L/分鐘、約50 L/分鐘、約45 L/分鐘、約40 L/分鐘、約35 L/分鐘、約30 L/分鐘、約25 L/分鐘、約20 L/分鐘、約15 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘、約650 mL/分鐘或約600 mL/分鐘(含端點)；約600 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約95 L/分鐘、約90 L/分鐘、約85 L/分鐘、約80 L/分鐘、約75 L/分鐘、約70 L/分鐘、約65 L/分鐘、約60 L/分鐘、約55 L/分鐘、約50 L/分鐘、約45 L/分鐘、約40 L/分鐘、約35 L/分鐘、約30 L/分鐘、約25 L/分鐘、約20 L/分鐘、約15 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/

分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘、約750 mL/分鐘、約700 mL/分鐘或約650 mL/分鐘(含端點)；約650 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約95 L/分鐘、約90 L/分鐘、約85 L/分鐘、約80 L/分鐘、約75 L/分鐘、約70 L/分鐘、約65 L/分鐘、約60 L/分鐘、約55 L/分鐘、約50 L/分鐘、約45 L/分鐘、約40 L/分鐘、約35 L/分鐘、約30 L/分鐘、約25 L/分鐘、約20 L/分鐘、約15 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘或約750 mL/分鐘(含端點)；約700 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約95 L/分鐘、約90 L/分鐘、約85 L/分鐘、約80 L/分鐘、約75 L/分鐘、約70 L/分鐘、約65 L/分鐘、約60 L/分鐘、約55 L/分鐘、約50 L/分鐘、約45 L/分鐘、約40 L/分鐘、約35 L/分鐘、約30 L/分鐘、約25 L/分鐘、約20 L/分鐘、約15 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘、約800 mL/分鐘或約750 mL/分鐘(含端點)；約750 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約95 L/分鐘、約90 L/分鐘、約85 L/分鐘、約80 L/分鐘、約75 L/分鐘、約70 L/分鐘、約65 L/分鐘、約60 L/分鐘、約55 L/分鐘、約50 L/分鐘、約45 L/分鐘、約40 L/分鐘、約35 L/分鐘、約30 L/分鐘、約25 L/分鐘、約20 L/分鐘、約15 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘、約850 mL/分鐘或約800 mL/分鐘(含端點)；約800 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約95 L/分鐘、約90 L/分鐘、約85 L/分鐘、約80 L/分鐘、約75 L/分鐘、約70 L/分鐘、約65 L/分鐘、約60 L/分鐘、約55 L/分鐘、約50 L/分鐘、約45 L/分鐘、約40 L/分鐘、約35 L/分鐘、約30 L/分鐘、約25 L/分鐘、約20 L/分鐘、約15 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘、約900 mL/分鐘或約850 mL/分鐘(含端點)；約850 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約95 L/分鐘、約90 L/分鐘、約85 L/分鐘、約80 L/分鐘、約75 L/分鐘、約70 L/分鐘、約65 L/分鐘、約60 L/分鐘、約55 L/分鐘、約50 L/分鐘、約45 L/分鐘、約40 L/分鐘、約35 L/分鐘、約30 L/分鐘、約25 L/分鐘、約20 L/分鐘、約15 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/

分鐘、約1 L/分鐘、約950 mL/分鐘或約900 mL/分鐘(含端點)；約900 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約95 L/分鐘、約90 L/分鐘、約85 L/分鐘、約80 L/分鐘、約75 L/分鐘、約70 L/分鐘、約65 L/分鐘、約60 L/分鐘、約55 L/分鐘、約50 L/分鐘、約45 L/分鐘、約40 L/分鐘、約35 L/分鐘、約30 L/分鐘、約25 L/分鐘、約20 L/分鐘、約15 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘或約950 mL/分鐘(含端點)；約950 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約95 L/分鐘、約90 L/分鐘、約85 L/分鐘、約80 L/分鐘、約75 L/分鐘、約70 L/分鐘、約65 L/分鐘、約60 L/分鐘、約55 L/分鐘、約50 L/分鐘、約45 L/分鐘、約40 L/分鐘、約35 L/分鐘、約30 L/分鐘、約25 L/分鐘、約20 L/分鐘、約15 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘或約1 L/分鐘(含端點)；約1 L/分鐘至約100 L/分鐘、約95 L/分鐘、約90 L/分鐘、約85 L/分鐘、約80 L/分鐘、約75 L/分鐘、約70 L/分鐘、約65 L/分鐘、約60 L/分鐘、約55 L/分鐘、約50 L/分鐘、約45 L/分鐘、約40 L/分鐘、約35 L/分鐘、約30 L/分鐘、約25 L/分鐘、約20 L/分鐘、約15 L/分鐘、約10 L/分鐘或約5 L/分鐘(含端點)；約5 L/分鐘至約100 L/分鐘、約95 L/分鐘、約90 L/分鐘、約85 L/分鐘、約80 L/分鐘、約75 L/分鐘、約70 L/分鐘、約65 L/分鐘、約60 L/分鐘、約55 L/分鐘、約50 L/分鐘、約45 L/分鐘、約40 L/分鐘、約35 L/分鐘、約30 L/分鐘、約25 L/分鐘、約20 L/分鐘、約15 L/分鐘或約10 L/分鐘(含端點)；約10 L/分鐘至約100 L/分鐘、約95 L/分鐘、約90 L/分鐘、約85 L/分鐘、約80 L/分鐘、約75 L/分鐘、約70 L/分鐘、約65 L/分鐘、約60 L/分鐘、約55 L/分鐘、約50 L/分鐘、約45 L/分鐘、約40 L/分鐘、約35 L/分鐘、約30 L/分鐘、約25 L/分鐘、約20 L/分鐘或約15 L/分鐘(含端點)；約15 L/分鐘至約100 L/分鐘、約95 L/分鐘、約90 L/分鐘、約85 L/分鐘、約80 L/分鐘、約75 L/分鐘、約70 L/分鐘、約65 L/分鐘、約60 L/分鐘、約55 L/分鐘、約50 L/分鐘、約45 L/分鐘、約40 L/分鐘、約35 L/分鐘、約30 L/分鐘、約25 L/分鐘或約20 L/分鐘(含端點)；約20 L/分鐘至約100 L/分鐘、約95 L/分鐘、約90 L/分鐘、約85 L/分鐘、約80 L/分鐘、約75 L/分鐘、約70 L/分鐘、約65 L/分鐘、約60 L/分鐘、約55

L/分鐘、約50 L/分鐘、約45 L/分鐘、約40 L/分鐘、約35 L/分鐘、約30 L/分鐘或約25 L/分鐘(含端點)；約25 L/分鐘至約100 L/分鐘、約95 L/分鐘、約90 L/分鐘、約85 L/分鐘、約80 L/分鐘、約75 L/分鐘、約70 L/分鐘、約65 L/分鐘、約60 L/分鐘、約55 L/分鐘、約50 L/分鐘、約45 L/分鐘、約40 L/分鐘、約35 L/分鐘或約30 L/分鐘(含端點)；約30 L/分鐘至約100 L/分鐘、約95 L/分鐘、約90 L/分鐘、約85 L/分鐘、約80 L/分鐘、約75 L/分鐘、約70 L/分鐘、約65 L/分鐘、約60 L/分鐘、約55 L/分鐘、約50 L/分鐘、約45 L/分鐘、約40 L/分鐘或約35 L/分鐘(含端點)；約35 L/分鐘至約100 L/分鐘、約95 L/分鐘、約90 L/分鐘、約85 L/分鐘、約80 L/分鐘、約75 L/分鐘、約70 L/分鐘、約65 L/分鐘、約60 L/分鐘、約55 L/分鐘、約50 L/分鐘、約45 L/分鐘或約40 L/分鐘(含端點)；約40 L/分鐘至約100 L/分鐘、約95 L/分鐘、約90 L/分鐘、約85 L/分鐘、約80 L/分鐘、約75 L/分鐘、約70 L/分鐘、約65 L/分鐘、約60 L/分鐘、約55 L/分鐘、約50 L/分鐘或約45 L/分鐘(含端點)；約45 L/分鐘至約100 L/分鐘、約95 L/分鐘、約90 L/分鐘、約85 L/分鐘、約80 L/分鐘、約75 L/分鐘、約70 L/分鐘、約65 L/分鐘、約60 L/分鐘、約55 L/分鐘或約50 L/分鐘(含端點)；約50 L/分鐘至約100 L/分鐘、約95 L/分鐘、約90 L/分鐘、約85 L/分鐘、約80 L/分鐘、約75 L/分鐘、約70 L/分鐘、約65 L/分鐘、約60 L/分鐘或約55 L/分鐘(含端點)；約55 L/分鐘至約100 L/分鐘、約95 L/分鐘、約90 L/分鐘、約85 L/分鐘、約80 L/分鐘、約75 L/分鐘、約70 L/分鐘、約65 L/分鐘或約60 L/分鐘(含端點)；約60 L/分鐘至約100 L/分鐘、約95 L/分鐘、約90 L/分鐘、約85 L/分鐘、約80 L/分鐘、約75 L/分鐘、約70 L/分鐘或約65 L/分鐘(含端點)；約65 L/分鐘至約100 L/分鐘、約95 L/分鐘、約90 L/分鐘、約85 L/分鐘、約80 L/分鐘、約75 L/分鐘或約70 L/分鐘(含端點)；約70 L/分鐘至約100 L/分鐘、約95 L/分鐘、約90 L/分鐘、約85 L/分鐘、約80 L/分鐘或約75 L/分鐘(含端點)；約75 L/分鐘至約100 L/分鐘、約95 L/分鐘、約90 L/分鐘、約85 L/分鐘或約80 L/分鐘(含端點)；約80 L/分鐘至約100 L/分鐘、約95 L/分鐘、約90 L/分鐘或約85 L/分鐘(含端點)；約

85 L/分鐘至約100 L/分鐘、約95 L/分鐘或約90 L/分鐘(含端點)；約90 L/分鐘至約100 L/分鐘 或約95 L/分鐘(含端點)；或約95 L/分鐘至約100 L/分鐘(含端點)。含有所述重組治療性蛋白的液體培養基可以源自本文所述的或本領域已知的任何例示性來源。

一些實例進一步包括在將其進料至第一MCCS上之前過濾液體培養基的任選步驟。本文所述的任何過濾液體培養基或包含重組治療性蛋白的流體的例示性手段，或本領域已知的任何過濾方式，可以用於在將其進料至第一MCCS之前過濾包含重組治療性蛋白的液體培養基。

在本文所述的方法中，從液體培養基捕獲重組治療性蛋白使用第一MCCS進行。正如本領域所理解的，為了實現對重組治療性蛋白的捕獲，第一MCCS中的至少一個層析管柱或至少一個層析膜必須包括使用捕獲機制(例如，本文所述的任何例示性捕獲機制)的樹脂，或包括能夠進行陽離子交換、陰離子交換或分子篩層析的樹脂。例如，如果重組治療性蛋白是抗體或抗體片段，那麼所述捕獲系統可以是蛋白A-結合捕獲機制或抗體-結合捕獲機制(其中捕獲抗原由所述重組治療性抗體或抗體片段特異性識別)。如果重組治療性蛋白是酶，那麼捕獲機制可以使用特異性結合所述酶的抗體或抗體片段以捕獲重組治療性酶，使用酶的受質以捕獲重組治療性酶，使用酶的輔因子以捕獲重組治療性酶，或者，如果重組治療性酶包括標簽，那麼就使用特異性結合所述重組治療性酶中存在的所述標簽的蛋白質、金屬螯合物或抗體(或抗體片段)。本文描述了能夠用於捕獲重組治療性蛋白的非限定性樹脂，並且能夠用於捕獲重組治療性蛋白的其他樹脂是本領域已知的。使用蛋白A-結合捕獲機制的樹脂的一個非限定性實例是Mab Select SuRe樹脂(GE Healthcare, Piscataway, NJ)。

本文描述了能夠用於捕獲重組治療性蛋白的第一MCCS中存在的層析管柱或層析膜的例示性非限定性大小和形狀。進料(加載)至所述第一MCCS的液體培養基可以包括，例如，約0.05 mg/mL至約100 mg/mL重組治療性蛋白(例如，約0.1 mg/mL至約90 mg/mL、約0.1 mg/mL至約80 mg/mL、約0.1 mg/mL至約70 mg/mL、約0.1 mg/mL至約60 mg/mL、約0.1 mg/mL至約50 mg/mL、約0.1 mg/mL至約40 mg/mL、約0.1 mg/mL至約30 mg/mL、約

0.1 mg/mL至約20 mg/mL、0.5 mg/mL至約20 mg/mL、約0.1 mg/mL至約15 mg/mL、約0.5 mg/mL至約15 mg/mL、約0.1 mg/mL至約10 mg/mL或約0.5 mg/mL至約10 mg/mL重組治療性蛋白)。重組治療性蛋白結合至用於進行捕獲的單元操作的樹脂所需的平均時間可以是，例如，約1秒至約24小時、約20小時、約16小時、約12小時、約8小時、約4小時、約3小時、約2小時、約1小時、約55分鐘、約50分鐘、約45分鐘、約40分鐘、約35分鐘、約30分鐘、約25分鐘、約20分鐘、約18分鐘、約16分鐘、約14分鐘、約12分鐘、約10分鐘、約8分鐘、約6分鐘、約5分鐘、約4分鐘、約3分鐘、約2分鐘、約1分鐘、約30秒、約20秒、約10秒或約5秒(含端點)；約5秒至約24小時、約20小時、約16小時、約12小時、約8小時、約4小時、約3小時、約2小時、約1小時、約55分鐘、約50分鐘、約45分鐘、約40分鐘、約35分鐘、約30分鐘、約25分鐘、約20分鐘、約18分鐘、約16分鐘、約14分鐘、約12分鐘、約10分鐘、約8分鐘、約6分鐘、約5分鐘、約4分鐘、約3分鐘、約2分鐘、約1分鐘、約30秒、約20秒或約10秒(含端點)；約10秒至約24小時、約20小時、約16小時、約12小時、約8小時、約4小時、約3小時、約2小時、約1小時、約55分鐘、約50分鐘、約45分鐘、約40分鐘、約35分鐘、約30分鐘、約25分鐘、約20分鐘、約18分鐘、約16分鐘、約14分鐘、約12分鐘、約10分鐘、約8分鐘、約6分鐘、約5分鐘、約4分鐘、約3分鐘、約2分鐘、約1分鐘、約30秒或約20秒(含端點)；約20秒至約24小時、約20小時、約16小時、約12小時、約8小時、約4小時、約3小時、約2小時、約1小時、約55分鐘、約50分鐘、約45分鐘、約40分鐘、約35分鐘、約30分鐘、約25分鐘、約20分鐘、約18分鐘、約16分鐘、約14分鐘、約12分鐘、約10分鐘、約8分鐘、約6分鐘、約5分鐘、約4分鐘、約3分鐘、約2分鐘、約1分鐘或約30秒(含端點)；約30秒至約24小時、約20小時、約16小時、約12小時、約8小時、約4小時、約3小時、約2小時、約1小時、約55分鐘、約50分鐘、約45分鐘、約40分鐘、約35分鐘、約30分鐘、約25分鐘、約20分鐘、約18分鐘、約16分鐘、約14分鐘、約12分鐘、約10分鐘、約8分鐘、約6分鐘、約5分鐘、約4分鐘、約3分鐘、約2分鐘或約1分鐘(含端點)；約1分鐘至約24小時、約20小時、約16小時、約12小

時、約8小時、約4小時、約3小時、約2小時、約1小時、約55分鐘、約50分鐘、約45分鐘、約40分鐘、約35分鐘、約30分鐘、約25分鐘、約20分鐘、約18分鐘、約16分鐘、約14分鐘、約12分鐘、約10分鐘、約8分鐘、約6分鐘、約5分鐘、約4分鐘、約3分鐘或約2分鐘(含端點)；約2分鐘至約24小時、約20小時、約16小時、約12小時、約8小時、約4小時、約3小時、約2小時、約1小時、約55分鐘、約50分鐘、約45分鐘、約40分鐘、約35分鐘、約30分鐘、約25分鐘、約20分鐘、約18分鐘、約16分鐘、約14分鐘、約12分鐘、約10分鐘、約8分鐘、約6分鐘、約5分鐘、約4分鐘或約3分鐘(含端點)；約3分鐘至約24小時、約20小時、約16小時、約12小時、約8小時、約4小時、約3小時、約2小時、約1小時、約55分鐘、約50分鐘、約45分鐘、約40分鐘、約35分鐘、約30分鐘、約25分鐘、約20分鐘、約18分鐘、約16分鐘、約14分鐘、約12分鐘、約10分鐘、約8分鐘、約6分鐘、約5分鐘或約4分鐘(含端點)；約4分鐘至約24小時、約20小時、約16小時、約12小時、約8小時、約4小時、約3小時、約2小時、約1小時、約55分鐘、約50分鐘、約45分鐘、約40分鐘、約35分鐘、約30分鐘、約25分鐘、約20分鐘、約18分鐘、約16分鐘、約14分鐘、約12分鐘、約10分鐘、約8分鐘、約6分鐘或約5分鐘(含端點)；約5分鐘至約24小時、約20小時、約16小時、約12小時、約8小時、約4小時、約3小時、約2小時、約1小時、約55分鐘、約50分鐘、約45分鐘、約40分鐘、約35分鐘、約30分鐘、約25分鐘、約20分鐘、約18分鐘、約16分鐘、約14分鐘、約12分鐘、約10分鐘、約8分鐘或約6分鐘(含端點)；約6分鐘至約24小時、約20小時、約16小時、約12小時、約8小時、約4小時、約3小時、約2小時、約1小時、約55分鐘、約50分鐘、約45分鐘、約40分鐘、約35分鐘、約30分鐘、約25分鐘、約20分鐘、約18分鐘、約16分鐘、約14分鐘、約12分鐘、約10分鐘或約8分鐘(含端點)；約8分鐘至約60分鐘、約55分鐘、約50分鐘、約45分鐘、約40分鐘、約35分鐘、約30分鐘、約25分鐘、約20分鐘、約18分鐘、約16分鐘、約14分鐘、約12分鐘或約10分鐘(含端點)；約10分鐘至約24小時、約20小時、約16小時、約12小時、約8小時、約4小時、約3小時、約2小時、約1小時、約55分鐘、約50分鐘、約45分鐘、約40分鐘、約35分

鐘、約30分鐘、約25分鐘、約20分鐘、約18分鐘、約16分鐘、約14分鐘或約12分鐘(含端點)；約12分鐘至約24小時、約20小時、約16小時、約12小時、約8小時、約4小時、約3小時、約2小時、約1小時、約55分鐘、約50分鐘、約45分鐘、約40分鐘、約35分鐘、約30分鐘、約25分鐘、約20分鐘、約18分鐘、約16分鐘或約14分鐘(含端點)；約14分鐘至約24小時、約20小時、約16小時、約12小時、約8小時、約4小時、約3小時、約2小時、約1小時、約55分鐘、約50分鐘、約45分鐘、約40分鐘、約35分鐘、約30分鐘、約25分鐘、約20分鐘、約18分鐘或約16分鐘(含端點)；約16分鐘至約60分鐘、約55分鐘、約50分鐘、約45分鐘、約40分鐘、約35分鐘、約30分鐘、約25分鐘、約20分鐘或約18分鐘(含端點)；約18分鐘至約24小時、約20小時、約16小時、約12小時、約8小時、約4小時、約3小時、約2小時、約1小時、約55分鐘、約50分鐘、約45分鐘、約40分鐘、約35分鐘、約30分鐘、約25分鐘或約20分鐘(含端點)；約20分鐘至約24小時、約20小時、約16小時、約12小時、約8小時、約4小時、約3小時、約2小時、約1小時、約55分鐘、約50分鐘、約45分鐘、約40分鐘、約35分鐘、約30分鐘或約25分鐘(含端點)；約25分鐘至約24小時、約20小時、約16小時、約12小時、約8小時、約4小時、約3小時、約2小時、約1小時、約55分鐘、約50分鐘、約45分鐘、約40分鐘、約35分鐘或約30分鐘(含端點)；約30分鐘至約24小時、約20小時、約16小時、約12小時、約8小時、約4小時、約3小時、約2小時、約1小時、約55分鐘、約50分鐘、約45分鐘、約40分鐘或約35分鐘(含端點)；約35分鐘至約24小時、約20小時、約16小時、約12小時、約8小時、約4小時、約3小時、約2小時、約1小時、約55分鐘、約50分鐘、約45分鐘或約40分鐘(含端點)；約40分鐘至約24小時、約20小時、約16小時、約12小時、約8小時、約4小時、約3小時、約2小時、約1小時、約55分鐘、約50分鐘或約45分鐘(含端點)；約45分鐘至約24小時、約20小時、約16小時、約12小時、約8小時、約4小時、約3小時、約2小時、約1小時、約55分鐘或約50分鐘(含端點)；約50分鐘至約24小時、約20小時、約16小時、約12小時、約8小時、約4小時、約3小時、約2小時、約1小時或約55分鐘(含端點)；約55分鐘至約24小時、約20小時、約16小時、

約12小時、約8小時、約4小時、約3小時、約2小時、約1小時或約60分鐘(含端點)；約60分鐘至約24小時、約20小時、約16小時、約12小時、約8小時、約4小時、約3小時、約2小時或約1小時(含端點)；約1小時至約24小時、約20小時、約16小時、約12小時、約8小時、約4小時、約3小時或約2小時(含端點)；約2小時至約24小時、約20小時、約16小時、約12小時、約8小時、約4小時或約3小時(含端點)；約3小時至約24小時、約20小時、約16小時、約12小時、約8小時或約4小時(含端點)；約4小時至約24小時、約20小時、約16小時、約12小時或約8小時(含端點)；約8小時至約24小時、約20小時、約16小時或約12小時(含端點)；約12小時至約24小時、約20小時或約16小時(含端點)；約16小時至約24小時或約20小時(含端點)；或約20小時至約24小時(含端點)。

正如本領域所理解的，為了使用第一MCCS中存在的層析管柱或層析膜捕獲重組治療性蛋白，必須進行加載、清洗、洗脫和再生所述第一MCCS中存在的層析管柱或層析膜的貫序層析步驟。任何本文所述的例示性流速、緩衝液體積和/或為各個貫序層析步驟分配的時間長度可在這些不同的貫序層析步驟中的一步或多步中使用(例如，加載、清洗、洗脫和再生用於捕獲重組治療性蛋白的第一MCCS中存在的層析管柱或層析膜的貫序層析步驟中的一步或多步)。下文提供能夠用於捕獲第一MCCS (例如，第一PCC系統)中的層析管柱和/或層析膜的非限定性的流速、緩衝液體積和/或為各個貫序層析步驟分配的時間長度。另外，下文描述能夠用於所述第一MCCS的例示性緩衝液。

包括至少一個包含能夠進行捕獲單元操作的樹脂(例如，本文所述的能夠用於捕獲的任何例示性樹脂)的層析管柱和/或層析膜的第一MCCS可以使用上文所述的任何加載流速(進料速率)用包含重組治療性蛋白的液體培養基加載。在一些實例中，包含能夠進行捕獲單元操作的樹脂的單個層析管柱或單個層析膜在例如如下時間內加載，約10分鐘至約48小時、約44小時、約40小時、約36小時、約32小時、約28小時、約24小時、約20小時、約16小時、約12小時、約8小時、約7小時、約6小時、約5小時、約4小時、約3小時、約2小時、約110分鐘、約100分鐘、約90分鐘、約80分鐘、

約70分鐘、約60分鐘、約50分鐘、約40分鐘、約30分鐘、約20分鐘或約15分鐘(含端點)；約15分鐘至約48小時、約44小時、約40小時、約36小時、約32小時、約28小時、約24小時、約20小時、約16小時、約12小時、約8小時、約7小時、約6小時、約5小時、約4小時、約3小時、約2小時、約110分鐘、約100分鐘、約90分鐘、約80分鐘、約70分鐘、約60分鐘、約50分鐘、約40分鐘、約30分鐘或約20分鐘(含端點)；約20分鐘至約48小時、約44小時、約40小時、約36小時、約32小時、約28小時、約24小時、約20小時、約16小時、約12小時、約8小時、約7小時、約6小時、約5小時、約4小時、約3小時、約2小時、約110分鐘、約100分鐘、約90分鐘、約80分鐘、約70分鐘、約60分鐘、約50分鐘或約30分鐘(含端點)；約30分鐘至約48小時、約44小時、約40小時、約36小時、約32小時、約28小時、約24小時、約20小時、約16小時、約12小時、約8小時、約7小時、約6小時、約5小時、約4小時、約3小時、約2小時、約110分鐘、約100分鐘、約90分鐘、約80分鐘、約70分鐘、約60分鐘、約50分鐘或約40分鐘(含端點)；約40分鐘至約48小時、約44小時、約40小時、約36小時、約32小時、約28小時、約24小時、約20小時、約16小時、約12小時、約8小時、約7小時、約6小時、約5小時、約4小時、約3小時、約2小時、約110分鐘、約100分鐘、約90分鐘、約80分鐘、約70分鐘、約60分鐘或約50分鐘(含端點)；約50分鐘至約48小時、約44小時、約40小時、約36小時、約32小時、約28小時、約24小時、約20小時、約16小時、約12小時、約8小時、約7小時、約6小時、約5小時、約4小時、約3小時、約2小時、約110分鐘、約100分鐘、約90分鐘、約80分鐘、約70分鐘或約60分鐘(含端點)；約60分鐘至約48小時、約44小時、約40小時、約36小時、約32小時、約28小時、約24小時、約20小時、約16小時、約12小時、約8小時、約7小時、約6小時、約5小時、約4小時、約3小時、約2小時、約110分鐘、約100分鐘、約90分鐘、約80分鐘或約70分鐘(含端點)；約70分鐘至約48小時、約44小時、約40小時、約36小時、約32小時、約28小時、約24小時、約20小時、約16小時、約12小時、約8小時、約7小時、約6小時、約5小時、約4小時、約3小時、約2小時、約110分鐘、約100分鐘、約90分

鐘或約80分鐘(含端點)；約80分鐘至約48小時、約44小時、約40小時、約36小時、約32小時、約28小時、約24小時、約20小時、約16小時、約12小時、約8小時、約7小時、約6小時、約5小時、約4小時、約3小時、約2小時、約110分鐘、約100分鐘或約90分鐘(含端點)；約90分鐘至約48小時、約44小時、約40小時、約36小時、約32小時、約28小時、約24小時、約20小時、約16小時、約12小時、約8小時、約7小時、約6小時、約5小時、約4小時、約3小時、約2小時、約110分鐘或約100分鐘(含端點)；約100分鐘至約48小時、約44小時、約40小時、約36小時、約32小時、約28小時、約24小時、約20小時、約16小時、約12小時、約8小時、約7小時、約6小時、約5小時、約4小時、約3小時、約2小時或約110分鐘(含端點)；約110分鐘至約48小時、約44小時、約40小時、約36小時、約32小時、約28小時、約24小時、約20小時、約16小時、約12小時、約8小時、約7小時、約6小時、約5小時、約4小時、約3小時或約2小時(含端點)；約2小時至約48小時、約44小時、約40小時、約36小時、約32小時、約28小時、約24小時、約20小時、約16小時、約12小時、約8小時、約7小時、約6小時、約5小時、約4小時或約3小時(含端點)；約3小時至約48小時、約44小時、約40小時、約36小時、約32小時、約28小時、約24小時、約20小時、約16小時、約12小時、約8小時、約7小時、約6小時、約5小時或約4小時(含端點)；約4小時至約48小時、約44小時、約40小時、約36小時、約32小時、約28小時、約24小時、約20小時、約16小時、約12小時、約8小時、約7小時、約6小時或約5小時(含端點)；約5小時至約48小時、約44小時、約40小時、約36小時、約32小時、約28小時、約24小時、約20小時、約16小時、約12小時、約8小時、約7小時或約6小時(含端點)；約6小時至約48小時、約44小時、約40小時、約36小時、約32小時、約28小時、約24小時、約20小時、約16小時、約12小時、約8小時或約7小時(含端點)；約7小時至約48小時、約44小時、約40小時、約36小時、約32小時、約28小時、約24小時、約20小時、約16小時、約12小時或約8小時(含端點)；約8小時至約48小時、約44小時、約40小時、約36小時、約32小時、約28小時、約24小時、約20小時、約16小時或約12小時(含端點)；約12小時至約48小時、

約44小時、約40小時、約36小時、約32小時、約28小時、約24小時、約20小時或約16小時(含端點)；約16小時至約48小時、約44小時、約40小時、約36小時、約32小時、約28小時、約24小時或約20小時(含端點)；約20小時至約48小時、約44小時、約40小時、約36小時、約32小時、約28小時或約24小時(含端點)；約24小時至約48小時、約44小時、約40小時、約36小時、約32小時或約28小時(含端點)；約28小時至約48小時、約44小時、約40小時、約36小時或約32小時(含端點)；約32小時至約48小時、約44小時、約40小時或約36小時(含端點)；約36小時至約48小時、約44小時或約40小時(含端點)；約40小時至約48小時 或約44小時(含端點)或約44小時至約48小時(含端點)。在一些實例中，其中第一MCCS包括至少兩個串聯的包含能夠進行捕獲單元操作的樹脂的層析管柱，加載串聯的所述兩個層析管柱所需的時間是，例如，約50分鐘至約180分鐘 (例如，約60分鐘至約180分鐘、約70分鐘至約180分鐘、約80分鐘至約180分鐘、約90分鐘至約180分鐘、約100分鐘至約180分鐘、約110分鐘至150分鐘，和約125分鐘至約145分鐘)。

在將重組治療性蛋白加載至包含能夠進行捕獲單元操作的樹脂的第一MCCS中的至少一個層析管柱或層析膜上之後，將所述至少一個層析管柱或層析膜用至少一種清洗緩衝液清洗。正如本領域所理解的，所述至少一種(例如，兩種、三種或四種)清洗緩衝液旨在從所述至少一個層析管柱或層析膜洗脫不是所述重組治療性蛋白的全部蛋白質，同時不干擾所述重組治療性蛋白與樹脂的相互作用。

所述清洗緩衝液可以以例如約0.2 mL/分鐘至約100 L/分鐘(含端點)(例如，本文所述的這種流速範圍的任何子範圍)的流速通過所述至少一個層析管柱或層析膜。使用的清洗緩衝液的體積(例如，當使用超過一種清洗緩衝液時，清洗緩衝液的合併總體積)可以是，例如，約1X 柱體積(CV)至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV、約22X CV、約20X CV、約18X CV、約16X CV、約14X CV、約13X CV、約12X CV、約11X CV、約10X CV、約9X CV、約8X CV、約7X CV、約6X CV、約5X CV、約4X CV或約3X CV(含端點)；約2X CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV、約

22X CV、約20X CV、約18X CV、約16X CV、約14X CV、約13X CV、約12X CV、約11X CV、約10X CV、約9X CV、約8X CV、約7X CV、約6X CV、約5X CV或約4X CV(含端點)；約3X CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV、約22X CV、約20X CV、約18X CV、約16X CV、約14X CV、約13X CV、約12X CV、約11X CV、約10X CV、約9X CV、約8X CV、約7X CV或約5X CV(含端點)；約4X CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV、約22X CV、約20X CV、約18X CV、約16X CV、約14X CV、約13X CV、約12X CV、約11X CV、約10X CV、約9X CV、約8X CV、約7X CV或約6X CV(含端點)；約5X CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV、約22X CV、約20X CV、約18X CV、約16X CV、約14X CV、約13X CV、約12X CV、約11X CV、約10X CV、約9X CV、約8X CV或約7X CV(含端點)；約6X CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV、約22X CV、約20X CV、約18X CV、約16X CV、約14X CV、約13X CV、約12X CV、約11X CV、約10X CV、約9X CV或約8X CV(含端點)；約7X CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV、約22X CV、約20X CV、約18X CV、約16X CV、約14X CV、約13X CV、約12X CV、約11X CV、約10X CV或約9X CV(含端點)；約8X CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV、約22X CV、約20X CV、約18X CV、約16X CV、約14X CV、約13X CV、約12X CV、約11X CV或約10X CV(含端點)；約9 CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV、約22X CV、約20X CV、約18X CV、約16X CV、約14X CV、約13X CV、約12X CV或約11X CV(含端點)；約10X CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV、約22X CV、約20X CV、約18X CV、約16X CV、約14X CV、約13X CV或約12X CV(含端點)；約11X CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV、約22X CV、約20X CV、約18X CV、約16X CV、約14X CV或約13X CV(含端點)；約12X CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV、約22X CV、約20X CV、約18X CV、約16X CV或約14X CV(含端點)；約14X CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV、約22X CV、約20X CV、約18X CV或約16X CV(含端點)；約16X CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV、約22X CV、約20X CV或約18X

CV(含端點)；約18X CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV、約22X CV或約20X CV(含端點)；約20X CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV或約22X CV(含端點)；約22X CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV或約24X CV(含端點)；約24X CV至約30X CV、約28X CV或約26X CV(含端點)；約26X CV至約30X CV 或約28X CV(含端點)；或約28X CV至約30X CV (含端點)。

清洗的總時間可以是，例如，約2分鐘至約24小時、約22小時、約20小時、約18小時、約16小時、約14小時、約12小時、約10小時、約9小時、約8小時、約7小時、約6小時、約5小時、約4.5小時、約4小時、約3.5小時、約3小時、約2.5小時、約2小時、約1.5小時、約1小時、約50分鐘、約40分鐘、約30分鐘、約20分鐘、約10分鐘或約5分鐘(含端點)；約5分鐘至約24小時、約22小時、約20小時、約18小時、約16小時、約14小時、約12小時、約10小時、約9小時、約8小時、約7小時、約6小時、約5小時、約4.5小時、約4小時、約3.5小時、約3小時、約2.5小時、約2小時、約1.5小時、約1小時、約50分鐘、約40分鐘、約30分鐘、約20分鐘或約10分鐘(含端點)；約10分鐘至約24小時、約22小時、約20小時、約18小時、約16小時、約14小時、約12小時、約10小時、約9小時、約8小時、約7小時、約6小時、約5小時、約4.5小時、約4小時、約3.5小時、約3小時、約2.5小時、約2小時、約1.5小時、約1小時、約50分鐘、約40分鐘、約30分鐘或約20分鐘(含端點)；約20分鐘至約24小時、約22小時、約20小時、約18小時、約16小時、約14小時、約12小時、約10小時、約9小時、約8小時、約7小時、約6小時、約5小時、約4.5小時、約4小時、約3.5小時、約3小時、約2.5小時、約2小時、約1.5小時、約1小時、約50分鐘、約40分鐘或約30分鐘(含端點)；約30分鐘至約24小時、約22小時、約20小時、約18小時、約16小時、約14小時、約12小時、約10小時、約9小時、約8小時、約7小時、約6小時、約5小時、約4.5小時、約4小時、約3.5小時、約3小時、約2.5小時、約2小時、約1.5小時、約1小時、約50分鐘或約40分鐘(含端點)；約40分鐘至約24小時、約22小時、約20小時、約18小時、約16小時、約14小時、約12小時、約10小時、約9小時、約8小時、約

7小時、約6小時、約5小時、約4.5小時、約4小時、約3.5小時、約3小時、約2.5小時、約2小時、約1.5小時、約1小時或約50分鐘(含端點)；約50分鐘至約24小時、約22小時、約20小時、約18小時、約16小時、約14小時、約12小時、約10小時、約9小時、約8小時、約7小時、約6小時、約5小時、約4.5小時、約4小時、約3.5小時、約3小時、約2.5小時、約2小時、約1.5小時或約1小時(含端點)；約1小時至約24小時、約22小時、約20小時、約18小時、約16小時、約14小時、約12小時、約10小時、約9小時、約8小時、約7小時、約6小時、約5小時、約4.5小時、約4小時、約3.5小時、約3小時、約2.5小時、約2小時或約1.5小時(含端點)；約1.5小時至約24小時、約22小時、約20小時、約18小時、約16小時、約14小時、約12小時、約10小時、約9小時、約8小時、約7小時、約6小時、約5小時、約4.5小時、約4小時、約3.5小時、約3小時、約2.5小時或約2小時(含端點)；約2小時至約24小時、約22小時、約20小時、約18小時、約16小時、約14小時、約12小時、約10小時、約9小時、約8小時、約7小時、約6小時、約5小時、約4.5小時、約4小時、約3.5小時、約3小時或約2.5小時(含端點)；約2.5小時至約24小時、約22小時、約20小時、約18小時、約16小時、約14小時、約12小時、約10小時、約9小時、約8小時、約7小時、約6小時、約5小時、約4.5小時、約4小時、約3.5小時或約3小時(含端點)；約3小時至約24小時、約22小時、約20小時、約18小時、約16小時、約14小時、約12小時、約10小時、約9小時、約8小時、約7小時、約6小時、約5小時、約4.5小時、約4小時或約3.5小時(含端點)；約3.5小時至約24小時、約22小時、約20小時、約18小時、約16小時、約14小時、約12小時、約10小時、約9小時、約8小時、約7小時、約6小時、約5小時、約4.5小時或約4小時(含端點)；約4小時至約24小時、約22小時、約20小時、約18小時、約16小時、約14小時、約12小時、約10小時、約9小時、約8小時、約7小時、約6小時、約5小時或約4.5小時(含端點)；約4.5小時至約24小時、約22小時、約20小時、約18小時、約16小時、約14小時、約12小時、約10小時、約9小時、約8小時、約7小時、約6小時或約5小時(含端點)；約5小時至約24小時、約22小時、約20小時、約18小時、

約16小時、約14小時、約12小時、約10小時、約9小時、約8小時、約7小時或約6小時(含端點)；約6小時至約24小時、約22小時、約20小時、約18小時、約16小時、約14小時、約12小時、約10小時、約9小時、約8小時或約7小時(含端點)；約7小時至約24小時、約22小時、約20小時、約18小時、約16小時、約14小時、約12小時、約10小時、約9小時或約8小時(含端點)；約8小時至約24小時、約22小時、約20小時、約18小時、約16小時、約14小時、約12小時、約10小時或約9小時(含端點)；約9小時至約24小時、約22小時、約20小時、約18小時、約16小時、約14小時、約12小時或約10小時(含端點)；約10小時至約24小時、約22小時、約20小時、約18小時、約16小時、約14小時或約12小時(含端點)；約12小時至約24小時、約22小時、約20小時、約18小時、約16小時或約14小時(含端點)；約14小時至約24小時、約22小時、約20小時、約18小時或約16小時(含端點)；約16小時至約24小時、約22小時、約20小時或約18小時(含端點)；約18小時至約24小時、約22小時或約20小時(含端點)；約20小時至約24小時 或約22小時(含端點)；或約22小時至約24小時(含端點)。

在清洗包含能夠進行捕獲單元操作的樹脂的第一MCCS中的至少一個層析管柱或層析膜之後，通過使洗脫緩衝液通過所述包含能夠進行捕獲單元操作的樹脂的第一MCCS中的所述至少一個層析管柱或層析膜將重組治療性蛋白從所述至少一個層析管柱或層析膜洗脫。所述洗脫緩衝液可以以約0.2 mL/分鐘至約100 mL/分鐘(含端點)(例如，本文所述的這種流速範圍的任何子範圍)的流速通過所述包含能夠進行捕獲單元操作的樹脂的至少一個層析管柱或層析膜。用於從所述包含能夠進行純化單元操作的樹脂的至少一個層析管柱或層析膜中的每一個洗脫重組治療性蛋白的洗脫緩衝液的體積可以是，例如，約1X 柱體積(CV)至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV、約22X CV、約20X CV、約18X CV、約16X CV、約14X CV、約13X CV、約12X CV、約11X CV、約10X CV、約9X CV、約8X CV、約7X CV、約6X CV、約5X CV、約4X CV或約3X CV(含端點)；約2X CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV、約22X CV、約20X CV、約18X CV、約16X CV、約14X CV、約13X CV、約12X CV、約11X CV、約10X CV、約9X

CV、約8X CV、約7X CV、約6X CV、約5X CV或約4X CV(含端點)；約3X CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV、約22X CV、約20X CV、約18X CV、約16X CV、約14X CV、約13X CV、約12X CV、約11X CV、約10X CV、約9X CV、約8X CV、約7X CV或約5X CV(含端點)；約4X CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV、約22X CV、約20X CV、約18X CV、約16X CV、約14X CV、約13X CV、約12X CV、約11X CV、約10X CV、約9X CV、約8X CV、約7X CV或約6X CV(含端點)；約5X CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV、約22X CV、約20X CV、約18X CV、約16X CV、約14X CV、約13X CV、約12X CV、約11X CV、約10X CV、約9X CV、約8X CV或約7X CV(含端點)；約6X CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV、約22X CV、約20X CV、約18X CV、約16X CV、約14X CV、約13X CV、約12X CV、約11X CV、約10X CV、約9X CV或約8X CV(含端點)；約7X CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV、約22X CV、約20X CV、約18X CV、約16X CV、約14X CV、約13X CV、約12X CV、約11X CV、約10X CV或約9X CV(含端點)；約8X CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV、約22X CV、約20X CV、約18X CV、約16X CV、約14X CV、約13X CV、約12X CV、約11X CV或約10X CV(含端點)；約9 CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV、約22X CV、約20X CV、約18X CV、約16X CV、約14X CV、約13X CV、約12X CV或約11X CV(含端點)；約10X CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV、約22X CV、約20X CV、約18X CV、約16X CV、約14X CV、約13X CV或約12X CV(含端點)；約11X CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV、約22X CV、約20X CV、約18X CV、約16X CV、約14X CV或約13X CV(含端點)；約12X CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV、約22X CV、約20X CV、約18X CV、約16X CV或約14X CV(含端點)；約14X CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV、約22X CV、約20X CV、約18X CV或約16X CV(含端點)；約16X CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV、約22X CV、約20X CV或約18X CV(含端點)；約18X CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV、約22X CV或約20X CV(含端點)；約20X CV至約30X CV、約28X

CV、約26X CV、約24X CV或約22X CV(含端點)；約22X CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV或約24X CV(含端點)；約24X CV至約30X CV、約28X CV或約26X CV(含端點)；約26X CV至約30X CV 或約28X CV(含端點)；或約28X CV至約30X CV (含端點)。

洗脫的總時間可以是，例如，約2分鐘至約24小時、約22小時、約20小時、約18小時、約16小時、約14小時、約12小時、約10小時、約7.5小時、約5小時、約2.5小時、約2.0小時、約1.5小時、約1.5小時、約1.25小時、約1小時、約40分鐘、約30分鐘、約20分鐘、約10分鐘或約5分鐘(含端點)；約5分鐘至約24小時、約22小時、約20小時、約18小時、約16小時、約14小時、約12小時、約10小時、約7.5小時、約5小時、約2.5小時、約2.0小時、約1.5小時、約1.5小時、約1.25小時、約1小時、約40分鐘、約30分鐘、約20分鐘或約10分鐘(含端點)；約10分鐘至約24小時、約22小時、約20小時、約18小時、約16小時、約14小時、約12小時、約10小時、約7.5小時、約5小時、約2.5小時、約2.0小時、約1.5小時、約1.5小時、約1.25小時、約1小時、約40分鐘、約30分鐘或約20分鐘(含端點)；約20分鐘至約24小時、約22小時、約20小時、約18小時、約16小時、約14小時、約12小時、約10小時、約7.5小時、約5小時、約2.5小時、約2.0小時、約1.5小時、約1.5小時、約1.25小時、約1小時、約40分鐘或約30分鐘(含端點)；約30分鐘至約24小時、約22小時、約20小時、約18小時、約16小時、約14小時、約12小時、約10小時、約7.5小時、約5小時、約2.5小時、約2.0小時、約1.5小時、約1.5小時、約1.25小時、約1小時或約40分鐘(含端點)；約40分鐘至約24小時、約22小時、約20小時、約18小時、約16小時、約14小時、約12小時、約10小時、約7.5小時、約5小時、約2.5小時、約2.0小時、約1.5小時、約1.5小時、約1.25小時或約1小時(含端點)；約1小時至約24小時、約22小時、約20小時、約18小時、約16小時、約14小時、約12小時、約10小時、約7.5小時、約5小時、約2.5小時、約2.0小時、約1.5小時、約1.5小時或約1.25小時(含端點)；約1.25小時至約24小時、約22小時、約20小時、約18小時、約16小時、約14小時、約12小時、約10小時、約7.5小時、約5小時、約2.5小時、約2.0小

時、約1.5小時或約1.5小時(含端點)；約1.5小時至約24小時、約22小時、約20小時、約18小時、約16小時、約14小時、約12小時、約10小時、約7.5小時、約5小時、約2.5小時、約2.0小時或約1.5小時(含端點)；約1.5小時至約24小時、約22小時、約20小時、約18小時、約16小時、約14小時、約12小時、約10小時、約7.5小時、約5小時、約2.5小時或約2.0小時(含端點)；約2.0小時至約24小時、約22小時、約20小時、約18小時、約16小時、約14小時、約12小時、約10小時、約7.5小時、約5小時或約2.5小時(含端點)；約2.5小時至約24小時、約22小時、約20小時、約18小時、約16小時、約14小時、約12小時、約10小時、約7.5小時或約5小時(含端點)；約5小時至約24小時、約22小時、約20小時、約18小時、約16小時、約14小時、約12小時、約10小時或約7.5小時(含端點)；約7.5小時至約24小時、約22小時、約20小時、約18小時、約16小時、約14小時、約12小時或約10小時(含端點)；約10小時至約24小時、約22小時、約20小時、約18小時、約16小時、約14小時或約12小時(含端點)；約12小時至約24小時、約22小時、約20小時、約18小時、約16小時或約14小時(含端點)；約14小時至約24小時、約22小時、約20小時、約18小時或約16小時(含端點)；約16小時至約24小時、約22小時、約20小時或約18小時(含端點)；約18小時至約24小時、約22小時或約20小時(含端點)；約20小時至約24小時 或約22小時(含端點)；或約22小時至約24小時(含端點)。能夠用於這些方法中的洗脫緩衝液的非限定性實例會取決於捕獲機制和/或所述治療性蛋白。例如，洗脫緩衝液可以包含不同的鹽濃度(例如，增加的鹽濃度)、不同的pH (例如，增加的或減少的pH)或會與重組治療性蛋白競爭結合能夠進行捕獲單元操作的樹脂的分子。用於本文所述的各個例示性捕獲機制的這些洗脫緩衝液的實例是本領域公知的。

在將重組治療性蛋白從包含能夠進行捕獲單元操作的樹脂的第一MCCS中的至少一個層析管柱或層析膜洗脫之後，並且在將下一體積的液體培養基加載至所述至少一個層析管柱或層析膜之前，必須使用再生緩衝液平衡所述至少一個層析管柱或層析膜。所述再生緩衝液可以以例如約0.2 mL/分鐘至約100 mL/分鐘(含端點) (例如，本文所述的這種流速範圍的任

何子範圍)的流速通過所述包含能夠進行捕獲單元操作的樹脂的至少一個層析管柱或層析膜。用於平衡包含能夠進行捕獲單元操作的樹脂的至少一個層析管柱或層析膜的再生緩衝液的體積可以是，例如，約1X 柱體積(CV)至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV、約22X CV、約20X CV、約18X CV、約16X CV、約14X CV、約13X CV、約12X CV、約11X CV、約10X CV、約9X CV、約8X CV、約7X CV、約6X CV、約5X CV或約4X CV或約3X CV(含端點)；約2X CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV、約22X CV、約20X CV、約18X CV、約16X CV、約14X CV、約13X CV、約12X CV、約11X CV、約10X CV、約9X CV、約8X CV、約7X CV、約6X CV、約5X CV或約4X CV(含端點)；約3X CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV、約22X CV、約20X CV、約18X CV、約16X CV、約14X CV、約13X CV、約12X CV、約11X CV、約10X CV、約9X CV、約8X CV、約7X CV或約5X CV(含端點)；約4X CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV、約22X CV、約20X CV、約18X CV、約16X CV、約14X CV、約13X CV、約12X CV、約11X CV、約10X CV、約9X CV、約8X CV、約7X CV或約6X CV(含端點)；約5X CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV、約22X CV、約20X CV、約18X CV、約16X CV、約14X CV、約13X CV、約12X CV、約11X CV、約10X CV、約9X CV、約8X CV或約7X CV(含端點)；約6X CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV、約22X CV、約20X CV、約18X CV、約16X CV、約14X CV、約13X CV、約12X CV、約11X CV、約10X CV、約9X CV或約8X CV(含端點)；約7X CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV、約22X CV、約20X CV、約18X CV、約16X CV、約14X CV、約13X CV、約12X CV、約11X CV、約10X CV或約9X CV(含端點)；約8X CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV、約22X CV、約20X CV、約18X CV、約16X CV、約14X CV、約13X CV、約12X CV、約11X CV或約10X CV(含端點)；約9 CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV、約22X CV、約20X CV、約18X CV、約16X CV、約14X CV、約13X CV、約12X CV或約11X CV(含端點)；約10X CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV、約22X CV、約20X CV、約18X CV、約16X CV、

約14X CV、約13X CV或約12X CV(含端點)；約11X CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV、約22X CV、約20X CV、約18X CV、約16X CV、約14X CV或約13X CV(含端點)；約12X CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV、約22X CV、約20X CV、約18X CV、約16X CV或約14X CV(含端點)；約14X CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV、約22X CV、約20X CV、約18X CV或約16X CV(含端點)；約16X CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV、約22X CV、約20X CV或約18X CV(含端點)；約18X CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV、約22X CV或約20X CV(含端點)；約20X CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV或約22X CV(含端點)；約22X CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV或約24X CV(含端點)；約24X CV至約30X CV、約28X CV或約26X CV(含端點)；約26X CV至約30X CV 或約28X CV(含端點)；或約28X CV至約30X CV (含端點)。

本文所述的一些方法中，第一MCCS包括儲器，其將包含重組治療性蛋白的流體保持在低 pH (例如，低於4.6、低於4.4、低於4.2、低於4.0、低於3.8、低於3.6、低於3.4、低於3.2或低於3.0的pH)下例如，約1分鐘至3.0小時(例如，約1小時)，並滅活包含重組治療性蛋白的流體中存在的病毒。能夠用於進行滅活病毒的單元操作的儲器的實例是攪拌瓶(例如，500-mL 攪拌瓶, 例如，帶有程控的攪拌板(programmed stir plate)的500-mL攪拌瓶)，其能夠在將所述包含重組治療性蛋白的流體進料至第二MCCS之前將包含重組治療性蛋白的流體保持例如約1分鐘至1.5小時。用於進行滅活病毒的單元操作的儲器可以是帶有程控的攪拌板(例如，程控以混合(例如，週期性混合)儲器內的流體的攪拌板, 例如，每4小時)的500-mL攪拌瓶。能夠用於進行滅活病毒的單元操作的儲器的另一實例是塑料袋(例如，500-mL塑料袋)，其能夠在將所述包含重組治療性蛋白的流體進料至第二MCCS之前將包含重組治療性蛋白的流體保持例如約1分鐘至1.5小時。在一些實例中，所述包含重組治療性蛋白的流體可能在將其進料至用於進行病毒滅活的單元操作的儲器之時已經具有低pH (例如，低於4.6、低於4.4、低於4.2、低於4.0、低於3.8、低於3.6、低於3.4、低於

3.2或低於3.0的pH)。病毒滅活也可以使用管式反應器(例如，如Klutz等，*Chemical Engineering Processing: Process Intensification* 102:88-101, 2016b；Klutz等，*Chemical Engineering Research Design* 95:22-33, 2015中所述)或螺旋流逆變器(coiled flow inverter)(參見，例如，Klutz等，*Chemical Engineering Research Design* 95:22-33, 2015；和Klutz等，*Chemical Engineering Processing: Process Intensification* 102:88-101, 2016b)進行。正如本領域技術人員能夠理解的，多種其他方式可以用於進行滅活病毒的單元操作。例如，UV照射(例如，使用UV-C光)包含重組治療性蛋白的流體也可以用於進行滅活病毒的單元操作(參見，例如，Lorenz等，*Biotechnol. Prog.* 25(2):476-482, 2009；Caillet-Fauquet等，*J. Virol. Methods* 118(2):131-139, 2004；Gunn等，U.S. Patent No. 6,586,172, 2003；Kaiser等，U.S. Patent 7,695,675, 2002；Bae等，*Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* 4:377-382, 2009；Li等，*Biologicals* 33(2):101-110, 2005；和Wang等，*Vox Sang.* 86(4):230-238, 2004)。本文描述了能夠用於進行滅活包含重組治療性蛋白的流體中存在的病毒的單元操作的儲器的非限定性實例。

第一MCCS可以包括包含四個層析管柱的PCCS，其中所述四個層析管柱中的至少三個進行從液體培養基捕獲重組治療性蛋白的單元操作(例如，使用包含至少一個包含能夠進行捕獲單元操作的樹脂的層析管柱中任一種(例如，本文所述的那些中的任一種)的第一MCCS)。在這些實例中，PCC的第四管柱可以進行滅活包含重組治療性蛋白的流體中的病毒的單元操作(例如，能夠用於實現包含重組治療性蛋白的流體的病毒滅活的本文所述的任何例示性柱)。

將包含重組治療性蛋白的流體從第一MCCS (例如，第一PCC系統)連續洗脫，並連續進料至第二MCCS。在第一MCCS (例如，第一PCC系統)的洗脫物中回收的重組治療性蛋白的百分比可以是，例如，至少70%、至少72%、至少74%、至少76%、至少78%、至少80%、至少82%、至少84%、至少86%、至少88%、至少90%、至少92%、至少94%、至少96%或至少98%。可以

將來自第一MCCS（例如，第一PCC系統)的洗脫物使用本領域已知的多種方式(例如，管道(tubing))進料至第二MCCS（例如，PCCS2)。可以將第一MCCS（例如，第一PCC系統)的洗脫物以例如，約0.2 mL/分鐘至約100 L/分鐘（含端點）(例如，本文所述的這種流速範圍的任何子範圍)的流速進料至第二MCCS（例如，第二PCC)。

本文所述的一些方法可以進一步包括在將其進料至第二MCCS（例如，第二PCC系統)之前調節來自第一MCCS（例如，第一PCC系統)的洗脫物的離子濃度和/或pH的步驟。如本文所述，來自第一MCCS（例如，第一PCC系統)的洗脫物的離子濃度和/或pH可以通過向所述洗脫物添加緩衝液(例如，通過使用在線緩衝液調節儲器)來調節(在將其進料至第二MCCS之前)。可以將緩衝液以例如約0.2 mL/分鐘至約100 L/分鐘（含端點）(例如，本文所述的這種流速範圍的任何子範圍)的流速添加至來自第一MCCS的洗脫物。

本文所述的方法可以進一步包括在將來自第一MCCS的洗脫物進料至第二MCCS之前保持或儲存(和任選地還冷藏)來自第一MCCS的洗脫物的步驟。如本文所述，這種保持或儲存步驟可以使用本文所述的任何儲器(例如，備份罐)進行。

本文所述的方法也可以包括在將洗脫物進料至第二MCCS之前過濾來自第一MCCS的洗脫物的步驟。本文所述的用於過濾的任何例示性濾器或方法可用於在將洗脫物進料至第二MCCS之前過濾來自第一MCCS的洗脫物。

精製和純化重組治療性蛋白

本文所述的方法包括使用第二MCCS純化和精製所述充足性治療蛋白的步驟，其中來自MCC2的洗脫物是治療性蛋白藥物物質。第二MCCS可以包括能夠用於進行純化重組治療性蛋白的單元操作的至少一個(例如，兩個、三個或四個)層析管柱或層析膜，和能夠用於進行精製重組治療性蛋白的單元操作的至少一個(例如，兩個、三個或四個)層析管柱或層析膜。

能夠用於進行純化重組治療性蛋白的單元操作的至少一個層析管柱或層析膜可以包括使用捕獲機制(例如，本文所述的或本領域已知的任何

捕獲機制)的樹脂，或能夠用於進行陰離子交換、陽離子交換或分子篩層析的樹脂。能夠用於進行精製重組治療性蛋白的操作單元的至少一個層析管柱或層析膜可以包括能夠用於進行陰離子交換、陽離子交換或分子篩層析的樹脂(例如，本文所述的或本領域已知的用於進行陰離子交換、陽離子交換或分子篩層析的任何例示性樹脂)。

能夠用於進行純化重組治療性蛋白的操作單元的至少一個層析管柱或層析膜的大小、形狀和體積，和/或能夠用於進行精製重組治療性蛋白的操作單元的至少一個層析膜的大小和形狀可以是本文所述的層析管柱或層析膜的例示性大小、形狀和體積的任何組合。正如本領域技術人員所理解的，純化或精製重組治療性蛋白的步驟可以例如包括加載、清洗、洗脫和平衡用於進行純化或精製重組治療性蛋白的操作單元的至少一個層析管柱或層析膜的步驟。通常，從用於進行純化的單元操作的層析管柱或層析膜流出的洗脫緩衝液包含所述重組治療性蛋白。通常，從用於進行精製的單元操作的層析管柱或層析膜流出的加載和/或清洗緩衝液包含所述重組治療性蛋白。

例如，能夠用於進行純化重組治療性蛋白的單元操作的至少一個層析管柱或層析膜的大小可以具有如下體積，例如，約2.0 mL至200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約95 L、約90 L、約85 L、約80 L、約75 L、約70 L、約65 L、約60 L、約55 L、約50 L、約45 L、約40 L、約35 L、約30 L、約25 L、約20 L、約15 L、約10 L、約5 L、約1 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL、約600 mL、約550 mL、約500 mL、約450 mL、約400 mL、約350 mL、約300 mL、約250 mL、約200 mL、約180 mL、約160 mL、約140 mL、約120 mL、約100 mL、約95 mL、約90 mL、約85 mL、約80 mL、約75 mL、約70 mL、約65 mL、約60 mL、約55 mL、約50 mL、約45 mL、約40 mL、約35 mL、約30 mL、約25 mL、約20 mL、約15 mL、約10 mL或約5.0 mL(含端點)；約5.0 mL至200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約95 L、約90 L、約85 L、約80 L、約75 L、約70 L、約65 L、約60 L、約55 L、約50 L、約45 L、約40 L、約35 L、約

30 L、約25 L、約20 L、約15 L、約10 L、約5 L、約1 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL、約600 mL、約550 mL、約500 mL、約450 mL、約400 mL、約350 mL、約300 mL、約250 mL、約200 mL、約180 mL、約160 mL、約140 mL、約120 mL、約100 mL、約95 mL、約90 mL、約85 mL、約80 mL、約75 mL、約70 mL、約65 mL、約60 mL、約55 mL、約50 mL、約45 mL、約40 mL、約35 mL、約30 mL、約25 mL、約20 mL、約15 mL或約10 mL(含端點)；約10 mL至200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約95 L、約90 L、約85 L、約80 L、約75 L、約70 L、約65 L、約60 L、約55 L、約50 L、約45 L、約40 L、約35 L、約30 L、約25 L、約20 L、約15 L、約10 L、約5 L、約1 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL、約600 mL、約550 mL、約500 mL、約450 mL、約400 mL、約350 mL、約300 mL、約250 mL、約200 mL、約180 mL、約160 mL、約140 mL、約120 mL、約100 mL、約95 mL、約90 mL、約85 mL、約80 mL、約75 mL、約70 mL、約65 mL、約60 mL、約55 mL、約50 mL、約45 mL、約40 mL、約35 mL、約30 mL、約25 mL或約20 mL(含端點)；約15 mL至200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約95 L、約90 L、約85 L、約80 L、約75 L、約70 L、約65 L、約60 L、約55 L、約50 L、約45 L、約40 L、約35 L、約30 L、約25 L、約20 L、約15 L、約10 L、約5 L、約1 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL、約600 mL、約550 mL、約500 mL、約450 mL、約400 mL、約350 mL、約300 mL、約250 mL、約200 mL、約180 mL、約160 mL、約140 mL、約120 mL、約100 mL、約95 mL、約90 mL、約85 mL、約80 mL、約75 mL、約70 mL、約65 mL、約60 mL、約55 mL、約50 mL、約45 mL、約40 mL、約35 mL、約30 mL、約25 mL或約20 mL(含端點)；約20 mL至200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約95 L、約90 L、約85 L、約80 L、約75 L、約70 L、約65 L、約60 L、約55 L、約50 L、約45 L、約40 L、約35 L、約30 L、約25 L、約20 L、約15 L、約10 L、約5 L、約1 L、約950 mL、約900

mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL、約600 mL、約550 mL、約500 mL、約450 mL、約400 mL、約350 mL、約300 mL、約250 mL、約200 mL、約180 mL、約160 mL、約140 mL、約120 mL、約100 mL、約95 mL、約90 mL、約85 mL、約80 mL、約75 mL、約70 mL、約65 mL、約60 mL、約55 mL、約50 mL、約45 mL、約40 mL、約35 mL、約30 mL或約25 mL(含端點)；約25 mL至200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約95 L、約90 L、約85 L、約80 L、約75 L、約70 L、約65 L、約60 L、約55 L、約50 L、約45 L、約40 L、約35 L、約30 L、約25 L、約20 L、約15 L、約10 L、約5 L、約1 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL、約600 mL、約550 mL、約500 mL、約450 mL、約400 mL、約350 mL、約300 mL、約250 mL、約200 mL、約180 mL、約160 mL、約140 mL、約120 mL、約100 mL、約95 mL、約90 mL、約85 mL、約80 mL、約75 mL、約70 mL、約65 mL、約60 mL、約55 mL、約50 mL、約45 mL、約40 mL或約35 mL(含端點)；約30 mL至200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約95 L、約90 L、約85 L、約80 L、約75 L、約70 L、約65 L、約60 L、約55 L、約50 L、約45 L、約40 L、約35 L、約30 L、約25 L、約20 L、約15 L、約10 L、約5 L、約1 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL、約600 mL、約550 mL、約500 mL、約450 mL、約400 mL、約350 mL、約300 mL、約250 mL、約200 mL、約180 mL、約160 mL、約140 mL、約120 mL、約100 mL、約95 mL、約90 mL、約85 mL、約80 mL、約75 mL、約70 mL、約65 mL、約60 mL、約55 mL、約50 mL、約45 mL、約40 mL或約35 mL(含端點)；約35 mL至200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約95 L、約90 L、約85 L、約80 L、約75 L、約70 L、約65 L、約60 L、約55 L、約50 L、約45 L、約40 L、約35 L、約30 L、約25 L、約20 L、約15 L、約10 L、約5 L、約1 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL、約600 mL、約550 mL、約500 mL、約450 mL、約400 mL、約350 mL、約300 mL、約250 mL、約200 mL、約180 mL、

約160 mL、約140 mL、約120 mL、約100 mL、約95 mL、約90 mL、約85 mL、約80 mL、約75 mL、約70 mL、約65 mL、約60 mL、約55 mL、約50 mL、約45 mL或約40 mL(含端點)；約40 mL至200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約95 L、約90 L、約85 L、約80 L、約75 L、約70 L、約65 L、約60 L、約55 L、約50 L、約45 L、約40 L、約35 L、約30 L、約25 L、約20 L、約15 L、約10 L、約5 L、約1 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL、約600 mL、約550 mL、約500 mL、約450 mL、約400 mL、約350 mL、約300 mL、約250 mL、約200 mL、約180 mL、約160 mL、約140 mL、約120 mL、約100 mL、約95 mL、約90 mL、約85 mL、約80 mL、約75 mL、約70 mL、約65 mL、約60 mL、約55 mL、約50 mL或約45 mL(含端點)；約45 mL至200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約95 L、約90 L、約85 L、約80 L、約75 L、約70 L、約65 L、約60 L、約55 L、約50 L、約45 L、約40 L、約35 L、約30 L、約25 L、約20 L、約15 L、約10 L、約5 L、約1 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL、約600 mL、約550 mL、約500 mL、約450 mL、約400 mL、約350 mL、約300 mL、約250 mL、約200 mL、約180 mL、約160 mL、約140 mL、約120 mL、約100 mL、約95 mL、約90 mL、約85 mL、約80 mL、約75 mL、約70 mL、約65 mL、約60 mL、約55 mL或約50 mL(含端點)；約50 mL至200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約95 L、約90 L、約85 L、約80 L、約75 L、約70 L、約65 L、約60 L、約55 L、約50 L、約45 L、約40 L、約35 L、約30 L、約25 L、約20 L、約15 L、約10 L、約5 L、約1 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL、約600 mL、約550 mL、約500 mL、約450 mL、約400 mL、約350 mL、約300 mL、約250 mL、約200 mL、約180 mL、約160 mL、約140 mL、約120 mL、約100 mL、約95 mL、約90 mL、約85 mL、約80 mL、約75 mL、約70 mL、約65 mL、約60 mL或約55 mL(含端點)；約55 mL至200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約95 L、約90 L、約85 L、約80 L、約75 L、約70

L、約65 L、約60 L、約55 L、約50 L、約45 L、約40 L、約35 L、約30 L、約25 L、約20 L、約15 L、約10 L、約5 L、約1 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL、約600 mL、約550 mL、約500 mL、約450 mL、約400 mL、約350 mL、約300 mL、約250 mL、約200 mL、約180 mL、約160 mL、約140 mL、約120 mL、約100 mL、約95 mL、約90 mL、約85 mL、約80 mL、約75 mL、約70 mL、約65 mL或約60 mL(含端點)；約60 mL至200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約95 L、約90 L、約85 L、約80 L、約75 L、約70 L、約65 L、約60 L、約55 L、約50 L、約45 L、約40 L、約35 L、約30 L、約25 L、約20 L、約15 L、約10 L、約5 L、約1 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL、約600 mL、約550 mL、約500 mL、約450 mL、約400 mL、約350 mL、約300 mL、約250 mL、約200 mL、約180 mL、約160 mL、約140 mL、約120 mL、約100 mL、約95 mL、約90 mL、約85 mL、約80 mL、約75 mL或約70 mL(含端點)；約65 mL至200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約95 L、約90 L、約85 L、約80 L、約75 L、約70 L、約65 L、約60 L、約55 L、約50 L、約45 L、約40 L、約35 L、約30 L、約25 L、約20 L、約15 L、約10 L、約5 L、約1 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL、約600 mL、約550 mL、約500 mL、約450 mL、約400 mL、約350 mL、約300 mL、約250 mL、約200 mL、約180 mL、約160 mL、約140 mL、約120 mL、約100 mL、約95 mL、約90 mL、約85 mL、約80 mL、約75 mL或約70 mL(含端點)；約70 mL至200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約95 L、約90 L、約85 L、約80 L、約75 L、約70 L、約65 L、約60 L、約55 L、約50 L、約45 L、約40 L、約35 L、約30 L、約25 L、約20 L、約15 L、約10 L、約5 L、約1 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL、約600 mL、約550 mL、約500 mL、約450 mL、約400 mL、約350 mL、約300 mL、約250 mL、約200 mL、約180 mL、約160 mL、約140 mL、約120 mL、約100 mL、約95 mL、約90 mL、約85

mL、約80 mL或約75 mL(含端點)；約75 mL至200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約95 L、約90 L、約85 L、約80 L、約75 L、約70 L、約65 L、約60 L、約55 L、約50 L、約45 L、約40 L、約35 L、約30 L、約25 L、約20 L、約15 L、約10 L、約5 L、約1 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL、約600 mL、約550 mL、約500 mL、約450 mL、約400 mL、約350 mL、約300 mL、約250 mL、約200 mL、約180 mL、約160 mL、約140 mL、約120 mL、約100 mL、約95 mL、約90 mL、約85 mL或約80 mL(含端點)；約80 mL至200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約95 L、約90 L、約85 L、約80 L、約75 L、約70 L、約65 L、約60 L、約55 L、約50 L、約45 L、約40 L、約35 L、約30 L、約25 L、約20 L、約15 L、約10 L、約5 L、約1 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL、約600 mL、約550 mL、約500 mL、約450 mL、約400 mL、約350 mL、約300 mL、約250 mL、約200 mL、約180 mL、約160 mL、約140 mL、約120 mL、約100 mL、約95 mL、約90 mL或約85 mL(含端點)；約85 mL至200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約95 L、約90 L、約85 L、約80 L、約75 L、約70 L、約65 L、約60 L、約55 L、約50 L、約45 L、約40 L、約35 L、約30 L、約25 L、約20 L、約15 L、約10 L、約5 L、約1 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL、約600 mL、約550 mL、約500 mL、約450 mL、約400 mL、約350 mL、約300 mL、約250 mL、約200 mL、約180 mL、約160 mL、約140 mL、約120 mL、約100 mL、約95 mL或約90 mL(含端點)；約90 mL至200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約95 L、約90 L、約85 L、約80 L、約75 L、約70 L、約65 L、約60 L、約55 L、約50 L、約45 L、約40 L、約35 L、約30 L、約25 L、約20 L、約15 L、約10 L、約5 L、約1 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL、約600 mL、約550 mL、約500 mL、約450 mL、約400 mL、約350 mL、約300 mL、約250 mL、約200 mL、約180 mL、約160 mL、約140 mL、約120 mL、約100

mL或約95 mL(含端點)；約95 mL至200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約95 L、約90 L、約85 L、約80 L、約75 L、約70 L、約65 L、約60 L、約55 L、約50 L、約45 L、約40 L、約35 L、約30 L、約25 L、約20 L、約15 L、約10 L、約5 L、約1 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL、約600 mL、約550 mL、約500 mL、約450 mL、約400 mL、約350 mL、約300 mL、約250 mL、約200 mL、約180 mL、約160 mL、約140 mL、約120 mL或約100 mL(含端點)；約100 mL至200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約95 L、約90 L、約85 L、約80 L、約75 L、約70 L、約65 L、約60 L、約55 L、約50 L、約45 L、約40 L、約35 L、約30 L、約25 L、約20 L、約15 L、約10 L、約5 L、約1 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL、約600 mL、約550 mL、約500 mL、約450 mL、約400 mL、約350 mL、約300 mL、約250 mL、約200 mL、約180 mL、約160 mL、約140 mL或約120 mL(含端點)；約120 mL至200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約95 L、約90 L、約85 L、約80 L、約75 L、約70 L、約65 L、約60 L、約55 L、約50 L、約45 L、約40 L、約35 L、約30 L、約25 L、約20 L、約15 L、約10 L、約5 L、約1 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL、約600 mL、約550 mL、約500 mL、約450 mL、約400 mL、約350 mL、約300 mL、約250 mL、約200 mL、約180 mL、約160 mL或約140 mL(含端點)；約140 mL至200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約95 L、約90 L、約85 L、約80 L、約75 L、約70 L、約65 L、約60 L、約55 L、約50 L、約45 L、約40 L、約35 L、約30 L、約25 L、約20 L、約15 L、約10 L、約5 L、約1 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL、約600 mL、約550 mL、約500 mL、約450 mL、約400 mL、約350 mL、約300 mL、約250 mL、約200 mL、約180 mL或約160 mL(含端點)；約160 mL至200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約95 L、約90 L、約85 L、約80 L、約75 L、約70 L、約65 L、約60 L、約55 L、約

50 L、約45 L、約40 L、約35 L、約30 L、約25 L、約20 L、約15 L、約10 L、約5 L、約1 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL、約600 mL、約550 mL、約500 mL、約450 mL、約400 mL、約350 mL、約300 mL、約250 mL、約200 mL或約180 mL(含端點)；約180 mL至200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約95 L、約90 L、約85 L、約80 L、約75 L、約70 L、約65 L、約60 L、約55 L、約50 L、約45 L、約40 L、約35 L、約30 L、約25 L、約20 L、約15 L、約10 L、約5 L、約1 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL、約600 mL、約550 mL、約500 mL、約450 mL、約400 mL、約350 mL、約300 mL、約250 mL或約200 mL(含端點)；約200 mL至200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約95 L、約90 L、約85 L、約80 L、約75 L、約70 L、約65 L、約60 L、約55 L、約50 L、約45 L、約40 L、約35 L、約30 L、約25 L、約20 L、約15 L、約10 L、約5 L、約1 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL、約600 mL、約550 mL、約500 mL、約450 mL、約400 mL、約350 mL、約300 mL或約250 mL(含端點)；約250 mL至200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約95 L、約90 L、約85 L、約80 L、約75 L、約70 L、約65 L、約60 L、約55 L、約50 L、約45 L、約40 L、約35 L、約30 L、約25 L、約20 L、約15 L、約10 L、約5 L、約1 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL、約600 mL、約550 mL、約500 mL、約450 mL、約400 mL、約350 mL或約300 mL(含端點)；約300 mL至200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約95 L、約90 L、約85 L、約80 L、約75 L、約70 L、約65 L、約60 L、約55 L、約50 L、約45 L、約40 L、約35 L、約30 L、約25 L、約20 L、約15 L、約10 L、約5 L、約1 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL、約600 mL、約550 mL、約500 mL、約450 mL、約400 mL或約350 mL(含端點)；約350 mL至200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約95 L、約90 L、約

85 L、約80 L、約75 L、約70 L、約65 L、約60 L、約55 L、約50 L、約45 L、約40 L、約35 L、約30 L、約25 L、約20 L、約15 L、約10 L、約5 L、約1 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL、約600 mL、約550 mL、約500 mL、約450 mL或約400 mL(含端點)；約400 mL至200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約95 L、約90 L、約85 L、約80 L、約75 L、約70 L、約65 L、約60 L、約55 L、約50 L、約45 L、約40 L、約35 L、約30 L、約25 L、約20 L、約15 L、約10 L、約5 L、約1 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL、約600 mL、約550 mL、約500 mL或約450 mL(含端點)；約450 mL至200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約95 L、約90 L、約85 L、約80 L、約75 L、約70 L、約65 L、約60 L、約55 L、約50 L、約45 L、約40 L、約35 L、約30 L、約25 L、約20 L、約15 L、約10 L、約5 L、約1 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL、約600 mL、約550 mL或約500 mL(含端點)；約500 mL至200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約95 L、約90 L、約85 L、約80 L、約75 L、約70 L、約65 L、約60 L、約55 L、約50 L、約45 L、約40 L、約35 L、約30 L、約25 L、約20 L、約15 L、約10 L、約5 L、約1 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL、約600 mL或約550 mL(含端點)；約550 mL至200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約95 L、約90 L、約85 L、約80 L、約75 L、約70 L、約65 L、約60 L、約55 L、約50 L、約45 L、約40 L、約35 L、約30 L、約25 L、約20 L、約15 L、約10 L、約5 L、約1 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL、約650 mL或約600 mL(含端點)；約600 mL至200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約95 L、約90 L、約85 L、約80 L、約75 L、約70 L、約65 L、約60 L、約55 L、約50 L、約45 L、約40 L、約35 L、約30 L、約25 L、約20 L、約15 L、約10 L、約5 L、約1 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL、約700 mL或約650

mL；約650 mL至200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約95 L、約90 L、約85 L、約80 L、約75 L、約70 L、約65 L、約60 L、約55 L、約50 L、約45 L、約40 L、約35 L、約30 L、約25 L、約20 L、約15 L、約10 L、約5 L、約1 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL、約750 mL或約700 mL(含端點)；約700 mL至200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約95 L、約90 L、約85 L、約80 L、約75 L、約70 L、約65 L、約60 L、約55 L、約50 L、約45 L、約40 L、約35 L、約30 L、約25 L、約20 L、約15 L、約10 L、約5 L、約1 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL、約800 mL或約750 mL(含端點)；約750 mL至200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約95 L、約90 L、約85 L、約80 L、約75 L、約70 L、約65 L、約60 L、約55 L、約50 L、約45 L、約40 L、約35 L、約30 L、約25 L、約20 L、約15 L、約10 L、約5 L、約1 L、約950 mL、約900 mL、約850 mL或約800 mL(含端點)；約800 mL至200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約95 L、約90 L、約85 L、約80 L、約75 L、約70 L、約65 L、約60 L、約55 L、約50 L、約45 L、約40 L、約35 L、約30 L、約25 L、約20 L、約15 L、約10 L、約5 L、約1 L、約950 mL、約900 mL或約850 mL(含端點)；約850 mL至200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約95 L、約90 L、約85 L、約80 L、約75 L、約70 L、約65 L、約60 L、約55 L、約50 L、約45 L、約40 L、約35 L、約30 L、約25 L、約20 L、約15 L、約10 L、約5 L、約1 L、約950 mL或約900 mL(含端點)；約900 mL至200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約95 L、約90 L、約85 L、約80 L、約75 L、約70 L、約65 L、約60 L、約55 L、約50 L、約45 L、約40 L、約35 L、約30 L、約25 L、約20 L、約15 L、約10 L、約5 L、約1 L或約950 mL(含端點)；約950 mL至200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約95 L、約90 L、約85 L、約80 L、約75 L、約70 L、約65 L、約60 L、約55 L、約50 L、約45 L、約40 L、約35 L、約30 L、約25 L、約20 L、約15 L、約10 L、約5 L或約1 L(含端點)；約1 L至200 L、約180 L、約160 L、約

140 L、約120 L、約100 L、約95 L、約90 L、約85 L、約80 L、約75 L、約70 L、約65 L、約60 L、約55 L、約50 L、約45 L、約40 L、約35 L、約30 L、約25 L、約20 L、約15 L、約10 L或約5 L(含端點)；約5 L至200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約95 L、約90 L、約85 L、約80 L、約75 L、約70 L、約65 L、約60 L、約55 L、約50 L、約45 L、約40 L、約35 L、約30 L、約25 L、約20 L、約15 L或約10 L(含端點)；約10 L至200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約95 L、約90 L、約85 L、約80 L、約75 L、約70 L、約65 L、約60 L、約55 L、約50 L、約45 L、約40 L、約35 L、約30 L、約25 L、約20 L或約15 L(含端點)；約15 L至200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約95 L、約90 L、約85 L、約80 L、約75 L、約70 L、約65 L、約60 L、約55 L、約50 L、約45 L、約40 L、約35 L、約30 L、約25 L或約20 L(含端點)；約20 L至200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約95 L、約90 L、約85 L、約80 L、約75 L、約70 L、約65 L、約60 L、約55 L、約50 L、約45 L、約40 L、約35 L、約30 L或約25 L(含端點)；約25 L至200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約95 L、約90 L、約85 L、約80 L、約75 L、約70 L、約65 L、約60 L、約55 L、約50 L、約45 L、約40 L、約35 L或約30 L(含端點)；約30 L至200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約95 L、約90 L、約85 L、約80 L、約75 L、約70 L、約65 L、約60 L、約55 L、約50 L、約45 L、約40 L或約35 L(含端點)；約35 L至200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約95 L、約90 L、約85 L、約80 L、約75 L、約70 L、約65 L、約60 L、約55 L、約50 L、約45 L或約40 L(含端點)；約40 L至200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約95 L、約90 L、約85 L、約80 L、約75 L、約70 L、約65 L、約60 L、約55 L、約50 L或約45 L(含端點)；約45 L至200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約95 L、約90 L、約85 L、約80 L、約75 L、約70 L、約65 L、約60 L、約55 L或約50 L(含端點)；約50 L至200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約

120 L、約100 L、約95 L、約90 L、約85 L、約80 L、約75 L、約70 L、約65 L、約60 L或約55 L(含端點)；約55 L至200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約95 L、約90 L、約85 L、約80 L、約75 L、約70 L、約65 L或約60 L(含端點)；約60 L至200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約95 L、約90 L、約85 L、約80 L、約75 L、約70 L或約65 L(含端點)；約65 L至200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約95 L、約90 L、約85 L、約80 L、約75 L或約70 L(含端點)；約70 L至200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約95 L、約90 L、約85 L、約80 L或約75 L(含端點)；約75 L至200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約95 L、約90 L、約85 L或約80 L(含端點)；約80 L至200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約95 L、約90 L或約85 L(含端點)；約85 L至200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約95 L或約90 L(含端點)；約90 L至200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L或約95 L(含端點)；約95 L至200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L或約100 L(含端點)；約100 L至200 L、約180 L、約160 L、約140 L或約120 L(含端點)；約120 L至200 L、約180 L、約160 L或約140 L(含端點)；約140 L至200 L、約180 L或約160 L(含端點)；約160 L至約200 L 或約180 L(含端點)；或約180 L至約200 L (含端點)。

包含重組治療性蛋白的流體在被加載至能夠用於進行純化重組治療性蛋白的單元操作的至少一個層析管柱或至少一個層析膜上的流速可以是，例如，約0.1 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約80 L/分鐘、約60 L/分鐘、約40 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約800 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約12.5 mL/分鐘、約10.0 mL/分鐘、約8.0 mL/分鐘、約6 mL/分鐘、約4 mL/分鐘、約3 mL/分鐘、約2 mL/分鐘、約1 mL/分鐘或約0.5 mL/分鐘(含端點)；約0.5 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約80 L/分鐘、約60 L/分鐘、約40 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10

L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約800 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約12.5 mL/分鐘、約10.0 mL/分鐘、約8.0 mL/分鐘、約6 mL/分鐘、約4 mL/分鐘、約3 mL/分鐘、約2 mL/分鐘或約1 mL/分鐘(含端點)；約1 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約80 L/分鐘、約60 L/分鐘、約40 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約800 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約12.5 mL/分鐘、約10.0 mL/分鐘、約8.0 mL/分鐘、約6 mL/分鐘、約4 mL/分鐘、約3 mL/分鐘或約2 mL/分鐘(含端點)；約2 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約80 L/分鐘、約60 L/分鐘、約40 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約800 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約12.5 mL/分鐘、約10.0 mL/分鐘、約8.0 mL/分鐘、約6 mL/分鐘或約4 mL/分鐘(含端點)；約3 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約80 L/分鐘、約60 L/分鐘、約40 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約800 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約12.5 mL/分鐘、約10.0 mL/分鐘、約8.0 mL/分鐘、約6 mL/分鐘或約4 mL/分鐘(含端點)；約4 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約80 L/分鐘、約60 L/分鐘、約40 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約800 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約12.5 mL/分鐘、約10.0 mL/分鐘、約8.0 mL/分鐘或約6 mL/分鐘(含端點)；約6 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約80 L/分鐘、約60 L/分鐘、約40 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約800 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約12.5 mL/分鐘、約10.0 mL/分鐘或約8.0 mL/分鐘(含端點)；約8 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約80 L/分鐘、約60 L/分鐘、約40 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約800 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、

約200 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約12.5 mL/分鐘或約10.0 mL/分鐘(含端點)；約10 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約80 L/分鐘、約60 L/分鐘、約40 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約800 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約25 mL/分鐘或約12.5 mL/分鐘(含端點)；約12.5 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約80 L/分鐘、約60 L/分鐘、約40 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約800 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約100 mL/分鐘或約25 mL/分鐘(含端點)；約25 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約80 L/分鐘、約60 L/分鐘、約40 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約800 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約200 mL/分鐘或約100 mL/分鐘(含端點)；約100 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約80 L/分鐘、約60 L/分鐘、約40 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約800 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約400 mL/分鐘或約200 mL/分鐘(含端點)；約200 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約80 L/分鐘、約60 L/分鐘、約40 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約800 mL/分鐘、約600 mL/分鐘或約400 mL/分鐘(含端點)；約400 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約80 L/分鐘、約60 L/分鐘、約40 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約800 mL/分鐘或約600 mL/分鐘(含端點)；約600 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約80 L/分鐘、約60 L/分鐘、約40 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘或約800 mL/分鐘(含端點)；約800 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約80 L/分鐘、約60 L/分鐘、約40 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘或約1 L/分鐘(含端點)；約1 L/分鐘至約100 L/分鐘、約80 L/分鐘、約60 L/分鐘、約40 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘或約5 L/分鐘(含端點)；約5 L/分鐘至約100 L/分鐘、約80 L/分鐘、約60 L/分鐘、約40 L/分鐘、約20 L/分鐘或約10 L/分鐘(含端點)；約10 L/分鐘至約100 L/分鐘、約80 L/分鐘、約60 L/分鐘、約40 L/分鐘或約20 L/分鐘(含端點)；約20 L/分鐘至約100 L/分

鐘、約80 L/分鐘、約60 L/分鐘或約40 L/分鐘(含端點)；約40 L/分鐘至約100 L/分鐘、約80 L/分鐘或約60 L/分鐘(含端點)；約60 L/分鐘 to 100 L/分鐘 或約80 L/分鐘(含端點)；或約80 L/分鐘至約100 L/分鐘(含端點)。

加載至能夠用於進行純化重組治療性蛋白的單元操作的至少一個層析管柱或層析膜上的流體中的重組治療性蛋白的濃度可以是例如約0.05 mg/mL至約100 mg/mL recombinant protein (例如，約0.1 mg/mL至約90 mg/mL，約0.1 mg/mL至約80 mg/mL，約0.1 mg/mL至約70 mg/mL，約0.1 mg/mL至約60 mg/mL，約0.1 mg/mL至約50 mg/mL，約0.1 mg/mL至約40 mg/mL，約0.1 mg/mL至約30 mg/mL，約0.1 mg/mL至約20 mg/mL，0.5 mg/mL至約20 mg/mL，約0.1 mg/mL至約15 mg/mL，約0.5 mg/mL至約15 mg/mL，約0.1 mg/mL至約10 mg/mL或約0.5 mg/mL至約10 mg/mL 重組治療性蛋白)。用於進行純化的單元操作的至少一個層析管柱或層析膜中的樹脂可以是能夠用於進行陰離子交換或陽離子交換層析的樹脂。用於進行純化的單元操作的至少一個層析管柱或層析膜中的樹脂可以是陽離子交換樹脂(例如，Capto-S樹脂, GE Healthcare Life Sciences, Piscataway, NJ)。

在將重組治療性蛋白加載至能夠用於進行純化重組治療性蛋白的單元操作的第二MCCS中的至少一個層析管柱或層析膜上之後，將所述至少一個層析管柱或層析膜用至少一種清洗緩衝液清洗。正如本領域所理解的，所述至少一種(例如，兩種、三種或四種)清洗緩衝液旨在從至少一個層析管柱或層析膜洗脫不是重組治療性蛋白的全部蛋白質，同時不干擾所述重組治療性蛋白與樹脂的相互作用，或者以其他方式洗脫所述重組治療性蛋白。

清洗緩衝液可以例如，約0.2 mL/分鐘至約100 L/分鐘(含端點) (例如，本文所述的這種流速範圍的任何子範圍)的流速通過至少一個層析管柱或層析膜。使用的清洗緩衝液的體積(例如，當使用超過一種清洗緩衝液時，清洗緩衝液的合併總體積)可以是例如約1X柱體積(CV)至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV、約22X CV、約20X CV、約18X CV、

約16X CV、約14X CV、約13X CV、約12X CV、約11X CV、約10X CV、約9X CV、約8X CV、約7X CV、約6X CV、約5X CV、約4X CV或約3X CV(含端點)；約2X CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV、約22X CV、約20X CV、約18X CV、約16X CV、約14X CV、約13X CV、約12X CV、約11X CV、約10X CV、約9X CV、約8X CV、約7X CV、約6X CV、約5X CV或約4X CV(含端點)；約3X CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV、約22X CV、約20X CV、約18X CV、約16X CV、約14X CV、約13X CV、約12X CV、約11X CV、約10X CV、約9X CV、約8X CV、約7X CV或約5X CV(含端點)；約4X CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV、約22X CV、約20X CV、約18X CV、約16X CV、約14X CV、約13X CV、約12X CV、約11X CV、約10X CV、約9X CV、約8X CV、約7X CV或約6X CV(含端點)；約5X CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV、約22X CV、約20X CV、約18X CV、約16X CV、約14X CV、約13X CV、約12X CV、約11X CV、約10X CV、約9X CV、約8X CV或約7X CV(含端點)；約6X CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV、約22X CV、約20X CV、約18X CV、約16X CV、約14X CV、約13X CV、約12X CV、約11X CV、約10X CV、約9X CV或約8X CV(含端點)；約7X CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV、約22X CV、約20X CV、約18X CV、約16X CV、約14X CV、約13X CV、約12X CV、約11X CV、約10X CV或約9X CV(含端點)；約8X CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV、約22X CV、約20X CV、約18X CV、約16X CV、約14X CV、約13X CV、約12X CV、約11X CV或約10X CV(含端點)；約9 CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV、約22X CV、約20X CV、約18X CV、約16X CV、約14X CV、約13X CV、約12X CV或約11X CV(含端點)；約10X CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV、約22X CV、約20X CV、約18X CV、約16X CV、約14X CV、約13X CV或約12X CV(含端點)；約11X CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV、約22X CV、約20X CV、約18X CV、約16X CV、約14X CV或約13X CV(含端點)；約12X CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV、約22X CV、約20X CV、約18X CV、約16X CV或約14X CV(含端點)；約14X CV

至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV、約22X CV、約20X CV、約18X CV或約16X CV(含端點)；約16X CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV、約22X CV、約20X CV或約18X CV(含端點)；約18X CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV、約22X CV或約20X CV(含端點)；約20X CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV或約22X CV(含端點)；約22X CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV或約24X CV(含端點)；約24X CV至約30X CV、約28X CV或約26X CV(含端點)；約26X CV至約30X CV 或約28X CV(含端點)；或約28X CV至約30X CV (含端點)。清洗的總時間可以是例如，約2分鐘至約48小時、約40小時、約36小時、約32小時、約28小時、約24小時、約20小時、約16小時、約12小時、約8小時、約4小時、約2.5小時、約2.0小時、約1.5小時、約1.25小時、約1小時、約30分鐘、約20分鐘、約10分鐘或約5分鐘(含端點)；約5分鐘至約48小時、約40小時、約36小時、約32小時、約28小時、約24小時、約20小時、約16小時、約12小時、約8小時、約4小時、約2.5小時、約2.0小時、約1.5小時、約1.25小時、約1小時、約30分鐘、約20分鐘或約10分鐘(含端點)；約10分鐘至約48小時、約40小時、約36小時、約32小時、約28小時、約24小時、約20小時、約16小時、約12小時、約8小時、約4小時、約2.5小時、約2.0小時、約1.5小時、約1.25小時、約1小時、約30分鐘或約20分鐘(含端點)；約20分鐘至約48小時、約40小時、約36小時、約32小時、約28小時、約24小時、約20小時、約16小時、約12小時、約8小時、約4小時、約2.5小時、約2.0小時、約1.5小時、約1.25小時、約1小時或約30分鐘(含端點)；約30分鐘至約48小時、約40小時、約36小時、約32小時、約28小時、約24小時、約20小時、約16小時、約12小時、約8小時、約4小時、約2.5小時、約2.0小時、約1.5小時、約1.25小時或約1小時(含端點)；約1小時至約48小時、約40小時、約36小時、約32小時、約28小時、約24小時、約20小時、約16小時、約12小時、約8小時、約4小時、約2.5小時、約2.0小時、約1.5小時或約1.25小時(含端點)；約1.25小時至約48小時、約40小時、約36小時、約32小時、約28小時、約24小時、約20小時、約16小時、約12小時、約8小時、約4小時、約2.5小時、約2.0小時

或約1.5小時(含端點)；約1.5小時至約48小時、約40小時、約36小時、約32小時、約28小時、約24小時、約20小時、約16小時、約12小時、約8小時、約4小時、約2.5小時或約2.0小時(含端點)；約2.0小時至約48小時、約40小時、約36小時、約32小時、約28小時、約24小時、約20小時、約16小時、約12小時、約8小時、約4小時或約2.5小時(含端點)；約2.5小時至約48小時、約40小時、約36小時、約32小時、約28小時、約24小時、約20小時、約16小時、約12小時、約8小時或約4小時(含端點)；約4小時至約48小時、約40小時、約36小時、約32小時、約28小時、約24小時、約20小時、約16小時、約12小時或約8小時(含端點)；約8小時至約48小時、約40小時、約36小時、約32小時、約28小時、約24小時、約20小時、約16小時或約12小時(含端點)；約12小時至約48小時、約40小時、約36小時、約32小時、約28小時、約24小時、約20小時或約16小時(含端點)；約16小時至約48小時、約40小時、約36小時、約32小時、約28小時、約24小時或約20小時(含端點)；約20小時至約48小時、約40小時、約36小時、約32小時、約28小時或約24小時(含端點)；約24小時至約48小時、約40小時、約36小時、約32小時或約28小時(含端點)；約28小時至約48小時、約40小時、約36小時或約32小時(含端點)；約32小時至約48小時、約40小時或約36小時(含端點)；約36小時至約48小時 或約40小時(含端點)；或約40小時至約48小時(含端點)。

在清洗用於進行純化重組治療性蛋白的單元操作的所述第二MCCS中的至少一個層析管柱或層析膜之後，通過使洗脫緩衝液通過用於進行純化重組治療性蛋白的單元操作的所述第二MCCS中的至少一個層析管柱或層析膜來將重組治療性蛋白從所述至少一個層析管柱或層析膜洗脫。可以使洗脫緩衝液以例如約0.2 mL/分鐘至約100 L/分鐘(含端點) (例如，本文所述的這種流速範圍的任何子範圍)的流速通過能夠用於進行純化重組治療性蛋白的單元操作的至少一個層析管柱或層析膜。用於將重組治療性蛋白從能夠用於進行純化重組治療性蛋白的單元操作的至少一個層析管柱或層析膜中的每一個洗脫的洗脫緩衝液的體積可以是例如約1X 柱體積(CV)至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV、約22X CV、約20X CV、約

18X CV、約16X CV、約14X CV、約13X CV、約12X CV、約11X CV、約10X CV、約9X CV、約8X CV、約7X CV、約6X CV、約5X CV、約4X CV或約3X CV(含端點)；約2X CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV、約22X CV、約20X CV、約18X CV、約16X CV、約14X CV、約13X CV、約12X CV、約11X CV、約10X CV、約9X CV、約8X CV、約7X CV、約6X CV、約5X CV或約4X CV(含端點)；約3X CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV、約22X CV、約20X CV、約18X CV、約16X CV、約14X CV、約13X CV、約12X CV、約11X CV、約10X CV、約9X CV、約8X CV、約7X CV或約5X CV(含端點)；約4X CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV、約22X CV、約20X CV、約18X CV、約16X CV、約14X CV、約13X CV、約12X CV、約11X CV、約10X CV、約9X CV、約8X CV、約7X CV或約6X CV(含端點)；約5X CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV、約22X CV、約20X CV、約18X CV、約16X CV、約14X CV、約13X CV、約12X CV、約11X CV、約10X CV、約9X CV、約8X CV或約7X CV(含端點)；約6X CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV、約22X CV、約20X CV、約18X CV、約16X CV、約14X CV、約13X CV、約12X CV、約11X CV、約10X CV、約9X CV或約8X CV(含端點)；約7X CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV、約22X CV、約20X CV、約18X CV、約16X CV、約14X CV、約13X CV、約12X CV、約11X CV、約10X CV或約9X CV(含端點)；約8X CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV、約22X CV、約20X CV、約18X CV、約16X CV、約14X CV、約13X CV、約12X CV、約11X CV或約10X CV(含端點)；約9 CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV、約22X CV、約20X CV、約18X CV、約16X CV、約14X CV、約13X CV、約12X CV或約11X CV(含端點)；約10X CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV、約22X CV、約20X CV、約18X CV、約16X CV、約14X CV、約13X CV或約12X CV(含端點)；約11X CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV、約22X CV、約20X CV、約18X CV、約16X CV、約14X CV或約13X CV(含端點)；約12X CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV、約22X CV、約20X CV、約18X CV、約16X CV或約14X

CV(含端點)；約14X CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV、約22X CV、約20X CV、約18X CV或約16X CV(含端點)；約16X CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV、約22X CV、約20X CV或約18X CV(含端點)；約18X CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV、約22X CV或約20X CV(含端點)；約20X CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV或約22X CV(含端點)；約22X CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV或約24X CV(含端點)；約24X CV至約30X CV、約28X CV或約26X CV(含端點)；約26X CV至約30X CV 或約28X CV(含端點)；或約28X CV至約30X CV (含端點)。洗脫的總時間可以是例如約2分鐘至約3小時 (例如，約2分鐘至約2.5小時，約2分鐘至約2.0小時，約2分鐘至約1.5小時，約2分鐘至約1.5小時，約2分鐘至約1.25小時，約2分鐘至約1.25小時，約2分鐘至約1小時，約2分鐘至約40分鐘，約10分鐘至約40分鐘，約20分鐘至約40分鐘或約30分鐘至1.0小時)。可以在這些方法中使用的洗脫緩衝液的非限定性實例會取決於樹脂和/或所述治療性蛋白。例如，洗脫緩衝液可以包含不同濃度的鹽(例如，增加的鹽濃度)、不同的pH (例如，增加的或減少的pH)或會與重組治療性蛋白競爭結合至樹脂的分子。用於本文所述的各種例示性捕獲機制的這些洗脫緩衝液的實例是本領域公知的。

在將重組治療性蛋白從用於進行純化所述重組治療性蛋白的單元操作的所述第二MCCS中的至少一個層析管柱或層析膜洗脫之後，並且在下一體積包含重組治療性蛋白的流體能夠加載至所述至少一個層析管柱或層析膜之前，必須使用再生緩衝液平衡所述至少一個層析管柱或層析膜。所述再生緩衝液可以以例如約0.2 mL/分鐘至約100 L/分鐘(含端點) (例如，本文所述的這種流速範圍的任何子範圍)的流速通過用於進行純化重組治療性蛋白的單元操作的至少一個層析管柱或層析膜。用於平衡包括能夠用於進行純化重組治療性蛋白的單元操作的樹脂的至少一個層析管柱或層析膜的再生緩衝液的體積可以是例如約1X 柱體積(CV)至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV、約22X CV、約20X CV、約18X CV、約16X CV、約14X CV、約13X CV、約12X CV、約11X CV、約10X CV、約9X CV、約8X CV、約7X CV、約6X CV、約5X CV、約4X CV或約3X CV(含端點)；約2X CV

至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV、約22X CV、約20X CV、約18X CV、約16X CV、約14X CV、約13X CV、約12X CV、約11X CV、約10X CV、約9X CV、約8X CV、約7X CV、約6X CV、約5X CV或約4X CV(含端點)；約3X CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV、約22X CV、約20X CV、約18X CV、約16X CV、約14X CV、約13X CV、約12X CV、約11X CV、約10X CV、約9X CV、約8X CV、約7X CV或約5X CV(含端點)；約4X CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV、約22X CV、約20X CV、約18X CV、約16X CV、約14X CV、約13X CV、約12X CV、約11X CV、約10X CV、約9X CV、約8X CV、約7X CV或約6X CV(含端點)；約5X CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV、約22X CV、約20X CV、約18X CV、約16X CV、約14X CV、約13X CV、約12X CV、約11X CV、約10X CV、約9X CV、約8X CV或約7X CV(含端點)；約6X CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV、約22X CV、約20X CV、約18X CV、約16X CV、約14X CV、約13X CV、約12X CV、約11X CV、約10X CV、約9X CV或約8X CV(含端點)；約7X CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV、約22X CV、約20X CV、約18X CV、約16X CV、約14X CV、約13X CV、約12X CV、約11X CV、約10X CV或約9X CV(含端點)；約8X CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV、約22X CV、約20X CV、約18X CV、約16X CV、約14X CV、約13X CV、約12X CV、約11X CV或約10X CV(含端點)；約9 CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV、約22X CV、約20X CV、約18X CV、約16X CV、約14X CV、約13X CV、約12X CV或約11X CV(含端點)；約10X CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV、約22X CV、約20X CV、約18X CV、約16X CV、約14X CV、約13X CV或約12X CV(含端點)；約11X CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV、約22X CV、約20X CV、約18X CV、約16X CV、約14X CV或約13X CV(含端點)；約12X CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV、約22X CV、約20X CV、約18X CV、約16X CV或約14X CV(含端點)；約14X CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV、約22X CV、約20X CV、約18X CV或約16X CV(含端點)；約16X CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約

24X CV、約22X CV、約20X CV或約18X CV(含端點)；約18X CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV、約22X CV或約20X CV(含端點)；約20X CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV、約24X CV或約22X CV(含端點)；約22X CV至約30X CV、約28X CV、約26X CV或約24X CV(含端點)；約24X CV至約30X CV、約28X CV或約26X CV(含端點)；約26X CV至約30X CV 或約28X CV(含端點)；或約28X CV至約30X CV (含端點)。能夠用於進行純化重組治療性蛋白的單元操作的至少一個層析管柱或層析膜的洗脫物中的重組治療性蛋白的濃度可以是例如約0.05 mg/mL至約100 mg/mL重組治療性蛋白 (例如，約0.1 mg/mL至約90 mg/mL，約0.1 mg/mL至約80 mg/mL，約0.1 mg/mL至約70 mg/mL，約0.1 mg/mL至約60 mg/mL，約0.1 mg/mL至約50 mg/mL，約0.1 mg/mL至約40 mg/mL，約2.5 mg/mL and約7.5 mg/mL，約0.1 mg/mL至約30 mg/mL，約0.1 mg/mL至約20 mg/mL, 0.5 mg/mL至約20 mg/mL，約0.1 mg/mL至約15 mg/mL，約0.5 mg/mL至約15 mg/mL，約0.1 mg/mL至約10 mg/mL，約0.5 mg/mL至約10 mg/mL，約10 mg/mL至約200 mg/mL，約10 mg/mL至約150 mg/mL，約10 mg/mL至約100 mg/mL，約10 mg/mL至約50 mg/mL，約50 mg/mL至約200 mg/mL，約50 mg/mL至約150 mg/mL，約50 mg/mL至約100 mg/mL，約100 mg/mL至約200 mg/mL，約100 mg/mL至約150 mg/mL或約150 mg/mL至約200 mg/mL 重組治療性蛋白)。

能夠用於進行精製重組治療性蛋白的單元操作的至少一個層析管柱或層析膜可以包括能夠用於進行陽離子交換、陰離子交換或分子篩層析的樹脂。正如本領域所理解的，使用能夠用於進行精製重組治療性蛋白的單元操作的第二MCCS中的至少一個層析管柱或層析膜精製重組治療性蛋白可以包括例如加載、追逐(chasing)和再生能夠用於進行精製重組治療性蛋白的單元操作的至少一個層析管柱或層析膜的步驟。例如，當使用加載、追逐和再生步驟進行精製時，重組治療性蛋白不結合用於進行精製重組治療性蛋白的單元操作的所述第二MCCS中的至少一個層析管柱或層析膜中的樹脂，並且所述重組治療性蛋白從所述加載和追逐步驟中的至少一個層析管柱或層析膜洗脫，並且使用再生步驟在額外的包含重組治療性蛋白的流

體可以加載至至少一個層析管柱或層析膜之上之前從所述至少一個層析管柱或層析膜去除任何雜質。下文描述了要在加載、追逐和再生步驟中的每一步中使用的例示性流速和緩衝液體積。

能夠用於進行精製重組治療性蛋白的單元操作的至少一個層析管柱或層析膜的大小、形狀和體積，和/或能夠用於進行精製重組治療性蛋白的單元操作的至少一個層析膜的大小和形狀可以是本文所述的層析管柱或層析膜的例示性大小、形狀和體積的任何組合。例如，能夠用於進行精製重組治療性蛋白的單元操作的至少一個層析管柱或層析膜的大小可以具有如下體積，例如約0.5 mL至約200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約80 L、約60 L、約40 L、約20 L、約10 L、約1 L、約800 mL、約600 mL、約400 mL、約200 mL、約180 mL、約160 mL、約140 mL、約120 mL、約100 mL、約80 mL、約60 mL、約40 mL、約30 mL、約20 mL、約10 mL、約5 mL或約2.5 mL(含端點)；約2.5 mL至約200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約80 L、約60 L、約40 L、約20 L、約10 L、約1 L、約800 mL、約600 mL、約400 mL、約200 mL、約180 mL、約160 mL、約140 mL、約120 mL、約100 mL、約80 mL、約60 mL、約40 mL、約30 mL、約20 mL、約10 mL或約5 mL(含端點)；約5 mL至約200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約80 L、約60 L、約40 L、約20 L、約10 L、約1 L、約800 mL、約600 mL、約400 mL、約200 mL、約180 mL、約160 mL、約140 mL、約120 mL、約100 mL、約80 mL、約60 mL、約40 mL、約30 mL、約20 mL或約10 mL(含端點)；約10 mL至約200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約80 L、約60 L、約40 L、約20 L、約10 L、約1 L、約800 mL、約600 mL、約400 mL、約200 mL、約180 mL、約160 mL、約140 mL、約120 mL、約100 mL、約80 mL、約60 mL、約40 mL、約30 mL或約20 mL(含端點)；約20 mL至約200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約80 L、約60 L、約40 L、約20 L、約10 L、約1 L、約800 mL、約600 mL、約400 mL、約200 mL、約180 mL、約160 mL、約140 mL、約120 mL、約100 mL、約80 mL、約60 mL、約40 mL或約30 mL(含端點)；約30

mL至約200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約80 L、約60 L、約40 L、約20 L、約10 L、約1 L、約800 mL、約600 mL、約400 mL、約200 mL、約180 mL、約160 mL、約140 mL、約120 mL、約100 mL、約80 mL、約60 mL或約40 mL(含端點)；約40 mL至約200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約80 L、約60 L、約40 L、約20 L、約10 L、約1 L、約800 mL、約600 mL、約400 mL、約200 mL、約180 mL、約160 mL、約140 mL、約120 mL、約100 mL、約80 mL或約60 mL(含端點)；約60 mL至約200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約80 L、約60 L、約40 L、約20 L、約10 L、約1 L、約800 mL、約600 mL、約400 mL、約200 mL、約180 mL、約160 mL、約140 mL、約120 mL、約100 mL或約80 mL(含端點)；約80 mL至約200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約80 L、約60 L、約40 L、約20 L、約10 L、約1 L、約800 mL、約600 mL、約400 mL、約200 mL、約180 mL、約160 mL、約140 mL、約120 mL或約100 mL(含端點)；約100 mL至約200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約80 L、約60 L、約40 L、約20 L、約10 L、約1 L、約800 mL、約600 mL、約400 mL、約200 mL、約180 mL、約160 mL或約140 mL(含端點)；約140 mL至約200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約80 L、約60 L、約40 L、約20 L、約10 L、約1 L、約800 mL、約600 mL、約400 mL、約200 mL、約180 mL或約160 mL(含端點)；約160 mL至約200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約80 L、約60 L、約40 L、約20 L、約10 L、約1 L、約800 mL、約600 mL、約400 mL、約200 mL或約180 mL(含端點)；約180 mL至約200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約80 L、約60 L、約40 L、約20 L、約10 L、約1 L、約800 mL、約600 mL、約400 mL或約200 mL(含端點)；約200 mL至約200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約80 L、約60 L、約40 L、約20 L、約10 L、約1 L、約800 mL、約600 mL或約400 mL(含端點)；約400 mL至約200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約80 L、約60 L、約40 L、約20 L、約10 L、約1 L、約800 mL或約600

mL(含端點)；約600 mL至約200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約80 L、約60 L、約40 L、約20 L、約10 L、約1 L或約800 mL(含端點)；約800 mL至約200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約80 L、約60 L、約40 L、約20 L、約10 L或約1 L(含端點)；約1 L至約200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約80 L、約60 L、約40 L、約20 L或約10 L(含端點)；約10 L至約200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約80 L、約60 L、約40 L或約20 L(含端點)；約20 L至約200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約80 L、約60 L或約40 L(含端點)；約40 L至約200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L、約80 L或約60 L(含端點)；約60 L至約200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L、約100 L或約80 L(含端點)；約80 L至約200 L、約180 L、約160 L、約140 L、約120 L或約100 L(含端點)；約100 L至約200 L、約180 L、約160 L、約140 L或約120 L(含端點)；約120 L至約200 L、約180 L、約160 L或約140 L(含端點)；約140 L至約200 L、約180 L或約160 L(含端點)；約160 L至約200 L 或約180 L(含端點)；或約180 L至約200 L (含端點)。包含重組治療性蛋白的流體在將其加載至能夠用於進行精製重組治療性蛋白的單元操作的至少一個層析管柱或層析膜上的流速可以是例如約0.1 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約80 L/分鐘、約60 L/分鐘、約40 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約800 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約12.5 mL/分鐘、約10.0 mL/分鐘、約8.0 mL/分鐘、約6 mL/分鐘、約4 mL/分鐘、約3 mL/分鐘、約2 mL/分鐘、約1 mL/分鐘、約0.5 mL/分鐘或約0.2 mL/分鐘(含端點)；約0.2 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約80 L/分鐘、約60 L/分鐘、約40 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約800 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約12.5 mL/分鐘、約10.0 mL/分鐘、約8.0 mL/分鐘、約6 mL/分鐘、約4 mL/分鐘、約3 mL/分鐘、約2 mL/分鐘或約1

mL/分鐘(含端點)；約1 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約80 L/分鐘、約60 L/分鐘、約40 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約800 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約12.5 mL/分鐘、約10.0 mL/分鐘、約8.0 mL/分鐘、約6 mL/分鐘、約4 mL/分鐘、約3 mL/分鐘或約2 mL/分鐘(含端點)；約2 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約80 L/分鐘、約60 L/分鐘、約40 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約800 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約12.5 mL/分鐘、約10.0 mL/分鐘、約8.0 mL/分鐘、約6 mL/分鐘、約4 mL/分鐘或約3 mL/分鐘(含端點)；約3 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約80 L/分鐘、約60 L/分鐘、約40 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約800 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約12.5 mL/分鐘、約10.0 mL/分鐘、約8.0 mL/分鐘、約6 mL/分鐘或約4 mL/分鐘(含端點)；約4 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約80 L/分鐘、約60 L/分鐘、約40 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約800 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約12.5 mL/分鐘、約10.0 mL/分鐘、約8.0 mL/分鐘或約6 mL/分鐘(含端點)；約6 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約80 L/分鐘、約60 L/分鐘、約40 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約800 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約12.5 mL/分鐘、約10.0 mL/分鐘或約8.0 mL/分鐘(含端點)；約8 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約80 L/分鐘、約60 L/分鐘、約40 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約800 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約25 mL/分鐘、約12.5 mL/分鐘或約10.0 mL/分鐘(含端點)；約10 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約80 L/分鐘、約60 L/分鐘、

約40 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約800 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約50 mL/分鐘、約25 mL/分鐘或約12.5 mL/分鐘(含端點)；約12.5 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約80 L/分鐘、約60 L/分鐘、約40 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約800 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約100 mL/分鐘、約50 mL/分鐘或約25 mL/分鐘(含端點)；約25 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約80 L/分鐘、約60 L/分鐘、約40 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約800 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約200 mL/分鐘、約100 mL/分鐘或約50 mL/分鐘(含端點)；約50 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約80 L/分鐘、約60 L/分鐘、約40 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約800 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約400 mL/分鐘、約200 mL/分鐘或約100 mL/分鐘(含端點)；約100 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約80 L/分鐘、約60 L/分鐘、約40 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約800 mL/分鐘、約600 mL/分鐘、約400 mL/分鐘或約200 mL/分鐘(含端點)；約200 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約80 L/分鐘、約60 L/分鐘、約40 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約800 mL/分鐘、約600 mL/分鐘或約400 mL/分鐘(含端點)；約400 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約80 L/分鐘、約60 L/分鐘、約40 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘、約800 mL/分鐘或約600 mL/分鐘(含端點)；約600 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約80 L/分鐘、約60 L/分鐘、約40 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘、約1 L/分鐘或約800 mL/分鐘(含端點)；約800 mL/分鐘至約100 L/分鐘、約80 L/分鐘、約60 L/分鐘、約40 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘、約5 L/分鐘或約1 L/分鐘(含端點)；約1 L/分鐘至約100 L/分鐘、約80 L/分鐘、約60 L/分鐘、約40 L/分鐘、約20 L/分鐘、約10 L/分鐘或約5 L/分鐘(含端點)；約5 L/分鐘至約100 L/分鐘、約80 L/分鐘、約60 L/分鐘、約40 L/分鐘、約20 L/分鐘或約10 L/分鐘(含端點)；約10

L/分鐘至約100 L/分鐘、約80 L/分鐘、約60 L/分鐘、約40 L/分鐘或約20 L/分鐘(含端點)；約20 L/分鐘至約100 L/分鐘、約80 L/分鐘、約60 L/分鐘或約40 L/分鐘(含端點)；約40 L/分鐘至約100 L/分鐘、約80 L/分鐘或約60 L/分鐘(含端點)；約60 L/分鐘至約100 L/分鐘或約80 L/分鐘(含端點)；或約80 L/分鐘至約100 L/分鐘(含端點)。加載至能夠用於進行精製重組治療性蛋白的單元操作的至少一個層析管柱或層析膜上的包含重組治療性蛋白的流體的總體積可以是例如約1.0 mL至約1,000L、約900 L、約800 L、約700 L、約600 L、約500 L、約400 L、約300 L、約200 L、約100 L、約50 L、約25 L、約10 L、約5 L、約1 L、約800 mL、約600 mL、約400 mL、約250 mL、約225 mL、約200 mL、約175 mL、約150 mL、約125 mL、約100 mL、約75 mL、約50 mL、約25 mL、約10 mL或約5 mL(含端點)；約5 mL至約1,000L、約900 L、約800 L、約700 L、約600 L、約500 L、約400 L、約300 L、約200 L、約100 L、約50 L、約25 L、約10 L、約5 L、約1 L、約800 mL、約600 mL、約400 mL、約250 mL、約225 mL、約200 mL、約175 mL、約150 mL、約125 mL、約100 mL、約75 mL、約50 mL、約25 mL或約10 mL(含端點)；約10 mL至約1,000L、約900 L、約800 L、約700 L、約600 L、約500 L、約400 L、約300 L、約200 L、約100 L、約50 L、約25 L、約10 L、約5 L、約1 L、約800 mL、約600 mL、約400 mL、約250 mL、約225 mL、約200 mL、約175 mL、約150 mL、約125 mL、約100 mL、約75 mL、約50 mL或約25 mL(含端點)；約25 mL至約1,000L、約900 L、約800 L、約700 L、約600 L、約500 L、約400 L、約300 L、約200 L、約100 L、約50 L、約25 L、約10 L、約5 L、約1 L、約800 mL、約600 mL、約400 mL、約250 mL、約225 mL、約200 mL、約175 mL、約150 mL、約125 mL、約100 mL、約75 mL或約50 mL(含端點)；約50 mL至約1,000L、約900 L、約800 L、約700 L、約600 L、約500 L、約400 L、約300 L、約200 L、約100 L、約50 L、約25 L、約10 L、約5 L、約1 L、約800 mL、約600 mL、約400 mL、約250 mL、約225 mL、約200 mL、約175 mL、約150 mL、約125 mL、約100 mL或約75 mL(含端點)；約75 mL至約1,000L、約900 L、約800 L、約700 L、

約600 L、約500 L、約400 L、約300 L、約200 L、約100 L、約50 L、約25 L、約10 L、約5 L、約1 L、約800 mL、約600 mL、約400 mL、約250 mL、約225 mL、約200 mL、約175 mL、約150 mL、約125 mL或約100 mL(含端點)；約100 mL至約1,000L、約900 L、約800 L、約700 L、約600 L、約500 L、約400 L、約300 L、約200 L、約100 L、約50 L、約25 L、約10 L、約5 L、約1 L、約800 mL、約600 mL、約400 mL、約250 mL、約225 mL、約200 mL、約175 mL、約150 mL或約125 mL(含端點)；約125 mL至約1,000L、約900 L、約800 L、約700 L、約600 L、約500 L、約400 L、約300 L、約200 L、約100 L、約50 L、約25 L、約10 L、約5 L、約1 L、約800 mL、約600 mL、約400 mL、約250 mL、約225 mL、約200 mL、約175 mL或約150 mL(含端點)；約150 mL至約1,000L、約900 L、約800 L、約700 L、約600 L、約500 L、約400 L、約300 L、約200 L、約100 L、約50 L、約25 L、約10 L、約5 L、約1 L、約800 mL、約600 mL、約400 mL、約250 mL、約225 mL、約200 mL或約175 mL(含端點)；約175 mL至約1,000L、約900 L、約800 L、約700 L、約600 L、約500 L、約400 L、約300 L、約200 L、約100 L、約50 L、約25 L、約10 L、約5 L、約1 L、約800 mL、約600 mL、約400 mL、約250 mL、約225 mL或約200 mL(含端點)；約200 mL至約1,000L、約900 L、約800 L、約700 L、約600 L、約500 L、約400 L、約300 L、約200 L、約100 L、約50 L、約25 L、約10 L、約5 L、約1 L、約800 mL、約600 mL、約400 mL、約250 mL或約225 mL(含端點)；約225 mL至約1,000L、約900 L、約800 L、約700 L、約600 L、約500 L、約400 L、約300 L、約200 L、約100 L、約50 L、約25 L、約10 L、約5 L、約1 L、約800 mL、約600 mL、約400 mL或約250 mL(含端點)；約250 mL至約1,000L、約900 L、約800 L、約700 L、約600 L、約500 L、約400 L、約300 L、約200 L、約100 L、約50 L、約25 L、約10 L、約5 L、約1 L、約800 mL、約600 mL或約400 mL(含端點)；約400 mL至約1,000L、約900 L、約800 L、約700 L、約600 L、約500 L、約400 L、約300 L、約200 L、約100 L、約50 L、約25 L、約10 L、約5 L、約1 L、約800 mL或約600 mL(含端點)；約600 mL至約1,000L、約900

L、約800 L、約700 L、約600 L、約500 L、約400 L、約300 L、約200 L、約100 L、約50 L、約25 L、約10 L、約5 L、約1 L或約800 mL(含端點)；約800 mL至約1,000L、約900 L、約800 L、約700 L、約600 L、約500 L、約400 L、約300 L、約200 L、約100 L、約50 L、約25 L、約10 L、約5 L或約1 L(含端點)；約1 L至約1,000L、約900 L、約800 L、約700 L、約600 L、約500 L、約400 L、約300 L、約200 L、約100 L、約50 L、約25 L、約10 L或約5 L(含端點)；約5 L至約1,000L、約900 L、約800 L、約700 L、約600 L、約500 L、約400 L、約300 L、約200 L、約100 L、約50 L、約25 L或約10 L(含端點)；約10 L至約1,000L、約900 L、約800 L、約700 L、約600 L、約500 L、約400 L、約300 L、約200 L、約100 L、約50 L或約25 L(含端點)；約25 L至約1,000L、約900 L、約800 L、約700 L、約600 L、約500 L、約400 L、約300 L、約200 L、約100 L或約50 L(含端點)；約50 L至約1,000L、約900 L、約800 L、約700 L、約600 L、約500 L、約400 L、約300 L、約200 L或約100 L(含端點)；約100 L至約1,000L、約900 L、約800 L、約700 L、約600 L、約500 L、約400 L、約300 L或約200 L(含端點)；約200 L至約1,000L、約900 L、約800 L、約700 L、約600 L、約500 L或約400 L(含端點)；約400 L至約1,000L、約900 L、約800 L、約700 L、約600 L或約500 L(含端點)；約500 L至約1,000L、約900 L、約800 L、約700 L或約600 L(含端點)；約600 L至約1,000L、約900 L、約800 L或約700 L(含端點)；約700 L至約1,000L、約900 L或約800 L(含端點)；約800 L至約1,000 L 或約900 L(含端點)；或約900 L至約1,000 L (含端點)。用於進行精製的至少一個層析管柱或層析膜中的樹脂可以是陰離子交換或陽離子交換樹脂。用於進行精製的單元操作的至少一個層析管柱或層析膜中的樹脂可以是陽離子交換樹脂(例如，Sartobind® Q樹脂, Sartorius, Goettingen, Germany)。

在加載步驟之後，能夠用於進行精製所述重組治療性蛋白的單元操作的第二MCCS中的至少一個層析管柱或層析膜，進行追逐步驟(例如，使追逐緩衝液通過至少一個層析管柱或層析膜以收集基本上不結合所述至少

一個層析管柱或層析膜的重組治療性蛋白)。在這些實例中，追逐緩衝液可以以例如約0.2 mL/分鐘至約100 L/分鐘(含端點) (例如，本文所述的這種流速範圍的任何子範圍)的流速通過至少一個層析管柱或層析膜。使用的追逐緩衝液的體積可以是例如約1X 柱體積(CV)至約100X CV (例如，約1X CV至約90X CV，約1X CV至約80X CV，約1X CV至約70X CV，約1X CV至約60X CV，約1X至約50X CV，約1X CV至約40X CV，約1X CV至約30X CV，約1X CV至約20X CV，約1X CV至約15X CV，約5X CV至約20X CV，約5X CV至約30X CV，約1X CV至約14X CV、約1X CV至約13X CV、約1X CV至約12X CV、約1X CV至約11X CV、約2X CV至約11X CV、約3X CV至約11X CV、約4X CV至約11X CV、約2.5X CV至約5.0X CV、約5X CV至約11X CV或約5X CV至約10X CV)。追逐的總時間可以是例如約1分鐘至約24小時、約22小時、約20小時、約18小時、約16小時、約14小時、約12小時、約10小時、約8小時、約6小時、約4小時、約3小時、約2小時、約1.5小時、約1.25小時、約1小時、約30分鐘、約20分鐘、約10分鐘、約5分鐘或約2分鐘(含端點)；約2分鐘至約24小時、約22小時、約20小時、約18小時、約16小時、約14小時、約12小時、約10小時、約8小時、約6小時、約4小時、約3小時、約2小時、約1.5小時、約1.25小時、約1小時、約30分鐘、約20分鐘、約10分鐘或約5分鐘(含端點)；約5分鐘至約24小時、約22小時、約20小時、約18小時、約16小時、約14小時、約12小時、約10小時、約8小時、約6小時、約4小時、約3小時、約2小時、約1.5小時、約1.25小時、約1小時、約30分鐘、約20分鐘或約10分鐘(含端點)；約10分鐘至約24小時、約22小時、約20小時、約18小時、約16小時、約14小時、約12小時、約10小時、約8小時、約6小時、約4小時、約3小時、約2小時、約1.5小時、約1.25小時、約1小時、約30分鐘或約20分鐘(含端點)；約20分鐘至約24小時、約22小時、約20小時、約18小時、約16小時、約14小時、約12小時、約10小時、約8小時、約6小時、約4小時、約3小時、約2小時、約1.5小時、約1.25小時、約1小時或約30分鐘(含端點)；約30分鐘至約24小時、約22小時、約20小時、約18小時、約16小時、約14小時、約12小時、約10小時、約8小時、約6小時、約4小時、約3小時、約2小時、約1.5

小時、約1.25小時或約1小時(含端點)；約1小時至約24小時、約22小時、約20小時、約18小時、約16小時、約14小時、約12小時、約10小時、約8小時、約6小時、約4小時、約3小時、約2小時、約1.5小時或約1.25小時(含端點)；約1.25小時至約24小時、約22小時、約20小時、約18小時、約16小時、約14小時、約12小時、約10小時、約8小時、約6小時、約4小時、約3小時、約2小時或約1.5小時(含端點)；約1.5小時至約24小時、約22小時、約20小時、約18小時、約16小時、約14小時、約12小時、約10小時、約8小時、約6小時、約4小時、約3小時或約2小時(含端點)；約2小時至約24小時、約22小時、約20小時、約18小時、約16小時、約14小時、約12小時、約10小時、約8小時、約6小時、約4小時或約3小時(含端點)；約3小時至約24小時、約22小時、約20小時、約18小時、約16小時、約14小時、約12小時、約10小時、約8小時、約6小時或約4小時(含端點)；約4小時至約24小時、約22小時、約20小時、約18小時、約16小時、約14小時、約12小時、約10小時、約8小時或約6小時(含端點)；約6小時至約24小時、約22小時、約20小時、約18小時、約16小時、約14小時、約12小時、約10小時或約8小時(含端點)；約8小時至約24小時、約22小時、約20小時、約18小時、約16小時、約14小時、約12小時或約10小時(含端點)；約10小時至約24小時、約22小時、約20小時、約18小時、約16小時、約14小時或約12小時(含端點)；約12小時至約24小時、約22小時、約20小時、約18小時、約16小時或約14小時(含端點)；約14小時至約24小時、約22小時、約20小時、約18小時或約16小時(含端點)；約16小時至約24小時、約22小時、約20小時或約18小時(含端點)；約18小時至約24小時、約22小時或約20小時(含端點)；約20小時至約24小時至約22小時(含端點)；或約22小時至約24小時（含端點)。通過加載步驟和追逐步驟中的柱的洗脫物中存在的重組治療性蛋白的合併濃度可以是例如約0.1 mg/mL至約100 mg/mL重組蛋白(例如，約0.1 mg/mL至約90 mg/mL，約0.1 mg/mL至約80 mg/mL，約0.1 mg/mL至約70 mg/mL，約0.1 mg/mL至約60 mg/mL，約0.1 mg/mL至約50 mg/mL，約0.1 mg/mL至約40 mg/mL，約2.5 mg/mL至約7.5 mg/mL，約0.1 mg/mL至約30 mg/mL，約0.1 mg/mL至約20 mg/mL，0.5

mg/mL至約20 mg/mL，約0.1 mg/mL至約15 mg/mL，約0.5 mg/mL至約15 mg/mL，約0.1 mg/mL至約10 mg/mL，約0.5 mg/mL至約10 mg/mL或約1 mg/mL至約5 mg/mL重組治療性蛋白)。

在追逐步驟之後並且在下一體積的包含重組治療性蛋白的流體可以加載至能夠用於進行精製的單元操作的至少一個層析管柱或層析膜之上之前，所述至少一個層析管柱或層析膜必需使用再生緩衝液再生。可以使所述再生緩衝液以例如約0.2 mL/分鐘至約100 L/分鐘(含端點)(例如，本文所述的這種流速範圍的任何子範圍)的流速通過能夠用於進行精製重組治療性蛋白的單元操作的至少一個層析管柱或層析膜。用於再生能夠用於進行精製單元操作的至少一個層析管柱或層析膜的再生緩衝液的體積可以是，例如，約1X 柱體積(CV)至約500X CV (例如，約1X CV至約450X CV，約1X CV至約400X CV，約1X CV至約350X CV，約1X CV至約300X CV，約1X CV至約250X CV，約1X CV至約200X CV，約1X CV至約150X CV，約1X CV至約100 X CV，約1X CV至約90X CV，約1X CV至約80X CV，約1X CV至約70X CV，約1X CV至約60X CV，約1X至約50X CV，約1X CV至約40X CV，約1X CV至約30X CV，約1X CV至約20X CV，約1X CV至約15X CV，約5X CV至約20X CV，約5 X CV至約30X CV，約1X CV至約14X CV、約1X CV至約13X CV、約1X CV至約12X CV、約1X CV至約11X CV、約2X CV至約11X CV、約3X CV至約11X CV、約4X CV至約11X CV、約2.5X CV至約5.0X CV、約5X CV至約11X CV或約5X CV至約10X CV)。

在其他實例中，用於進行精製的單元操作的一個或多個層析管柱和/或層析膜包括選擇性結合或保留包含重組治療性蛋白的流體中存在的雜質的樹脂，並且一旦已經達到或基本上接近達到一個或多個柱和/或膜中的樹脂的結合能力時，就替換所述一個或多個柱和/或膜(例如，用基本上相似的柱和/或膜替換)，而不是再生所述一個或多個柱和/或膜。

在這些方法的一些實例中，第二MCCS包括了包括三個層析管柱和一個層析膜的PCCS，例如，其中PCCS中的所述三個層析管柱進行純化重組治療性蛋白的單元操作(例如，使用能夠用於進行純化蛋白的操作單元的至少一個層析管柱)，而PCCS中的所述層析膜進行精製重組治療性蛋白的單

元操作。在這些實例中，能夠用於進行精製重組治療性蛋白的單元操作的PCCS中的層析膜可以是能夠用於進行精製所述重組治療性蛋白的單元操作的本文所述的任何例示性層析膜。可以使用本文所述的任何柱切換方法來決定在這種實例中何時可以切換PCCS中的前三個層析管柱和層析膜。

這種實例的一些實施方案可以進一步包括在將洗脫物進料至PCCS中的層析膜之前，調整來自PCCS中三個層析管柱的洗脫物的離子濃度和/或pH的步驟。如本文所述，可以通過向PCCS中的三個層析管柱的洗脫物添加緩衝液(例如，通過使用在線緩衝液調節儲器)來調節來自PCCS中三個層析管柱的所述洗脫物的離子濃度和/或pH (在這種實例中在將其進料至PCCS中的層析膜之前)。可以以例如，約0.2 mL/分鐘至約100 L/分鐘(含端點)(例如，本文所述的這種流速範圍的任何子範圍)的流速向所述洗脫物添加緩衝液。

這些實例可以進一步包括在將洗脫物進料至層析膜(能夠用於進行精製重組治療性蛋白的單元操作的層析膜)之前保持或儲存在這種實例中來自PCCS中三個層析管柱的洗脫物的步驟。如本文所述，這種保持或儲存步驟可以使用本文所述的任何儲器(例如，備份罐)進行。

這些實例還可以包括過濾來自例示性PCCS系統中的層析膜的洗脫物(能夠用於進行精製重組治療性蛋白的單元操作的層析膜的洗脫物)的步驟。本文所述的用於過濾的任何例示性過濾器或方法可以用於過濾來自這種例示性PCCS中的層析膜的洗脫物(能夠用於進行精製重組治療性蛋白的單元操作的層析膜的洗脫物)。

正如本領域人員能夠理解的，可以使用本文所述的任何方法將純化的治療性蛋白藥物物質從第二MCCS週期性洗脫。例如，本文所述的任何方法可以持續如下一段時間來洗脫所述治療性蛋白藥物物質，例如，約30秒至約48小時、約44小時、約40小時、約36小時、約32小時、約28小時、約24小時、約20小時、約16小時、約12小時、約8小時、約5小時、約4小時、約3小時、約2小時、約1.5小時、約1小時、約30分鐘、約20分鐘、約10分鐘、約5分鐘或約1分鐘(含端點)；約1分鐘至約48小時、約44小時、約40小時、約36小時、約32小時、約28小時、約24小時、約20小時、約16

小時、約12小時、約8小時、約5小時、約4小時、約3小時、約2小時、約1.5小時、約1小時、約30分鐘、約20分鐘、約10分鐘和約5分鐘(含端點)；約5分鐘至約48小時、約44小時、約40小時、約36小時、約32小時、約28小時、約24小時、約20小時、約16小時、約12小時、約8小時、約5小時、約4小時、約3小時、約2小時、約1.5小時、約1小時、約30分鐘、約20分鐘或約10分鐘(含端點)；約10分鐘至約48小時、約44小時、約40小時、約36小時、約32小時、約28小時、約24小時、約20小時、約16小時、約12小時、約8小時、約5小時、約4小時、約3小時、約2小時、約1.5小時、約1小時、約30分鐘或約20分鐘(含端點)；約20分鐘至約48小時、約44小時、約40小時、約36小時、約32小時、約28小時、約24小時、約20小時、約16小時、約12小時、約8小時、約5小時、約4小時、約3小時、約2小時、約1.5小時、約1小時或約30分鐘(含端點)；約30分鐘至約48小時、約44小時、約40小時、約36小時、約32小時、約28小時、約24小時、約20小時、約16小時、約12小時、約8小時、約5小時、約4小時、約3小時、約2小時、約1.5小時或約1小時(含端點)；約1小時至約48小時、約44小時、約40小時、約36小時、約32小時、約28小時、約24小時、約20小時、約16小時、約12小時、約8小時、約5小時、約4小時、約3小時、約2小時或約1.5小時(含端點)；約1.5小時至約48小時、約44小時、約40小時、約36小時、約32小時、約28小時、約24小時、約20小時、約16小時、約12小時、約8小時、約5小時、約4小時、約3小時或約2小時(含端點)；約2小時至約48小時、約44小時、約40小時、約36小時、約32小時、約28小時、約24小時、約20小時、約16小時、約12小時、約8小時、約5小時、約4小時或約3小時(含端點)；約3小時至約48小時、約44小時、約40小時、約36小時、約32小時、約28小時、約24小時、約20小時、約16小時、約12小時、約8小時、約5小時或約4小時(含端點)；約4小時至約48小時、約44小時、約40小時、約36小時、約32小時、約28小時、約24小時、約20小時、約16小時、約12小時、約8小時或約5小時(含端點)；約5小時至約48小時、約44小時、約40小時、約36小時、約32小時、約28小時、約24小時、約20小時、約16小時、約12小時或約8小時(含端點)；約8小時至約48小時、約44

小時、約40小時、約36小時、約32小時、約28小時、約24小時、約20小時、約16小時或約12小時(含端點)；約12小時至約48小時、約44小時、約40小時、約36小時、約32小時、約28小時、約24小時、約20小時或約16小時(含端點)；約16小時至約48小時、約44小時、約40小時、約36小時、約32小時、約28小時、約24小時或約20小時(含端點)；約20小時至約48小時、約44小時、約40小時、約36小時、約32小時、約28小時或約24小時(含端點)；約24小時至約48小時、約44小時、約40小時、約36小時、約32小時或約28小時(含端點)；約28小時至約48小時、約44小時、約40小時、約36小時或約32小時(含端點)；約32小時至約48小時、約44小時、約40小時或約36小時(含端點)；約36小時至約48小時、約44小時或約40小時(含端點)；約40小時至約48小時 或約44小時(含端點)；或約44小時至約48小時(含端點)，其取決於例如，所述第一和第二MCCS中使用的層析管柱和/或層析膜。

培養方法

本文所述的一些方法進一步包括在包含液體培養基的生物反應器(例如，灌注或補料分批生物反應器)中培養分泌重組治療性蛋白的細胞(例如，重組哺乳動物細胞)的步驟，其中連續或週期性地從所述生物反應器移出一定體積的基本上不含細胞(例如，哺乳動物細胞)的液體培養基並進料至第一多管柱層析系統(MCC1)。所述生物反應器可以具有例如，約1 L至約10,000 L的體積(例如，約1 L至約50 L，約50 L至約500 L，約500 L至約1000 L，500 L至約5000L，約500 L至約10,000 L，約5000 L至約10,000 L，約1 L至約10,000 L，約1L至約8,000 L，約1 L至約6,000 L，約1 L至約5,000 L，約100 L至約5,000 L，約10 L至約100 L，約10 L至約4,000 L，約10 L至約3,000 L，約10 L至約2,000 L或約10 L至約1,000 L)。生物反應器中存在的液體培養基的量可以是例如約0.5 L至約5,000 L(例如，約0.5 L至約25 L，約25 L至約250 L，約250 L至約500 L，250 L至約2500 L，約250 L至約5,000 L，約2500 L至約5,000 L，約0.5 L至約5,000 L，約0.5 L至約4,000 L，約0.5 L至約3,000 L，約0.5 L至約

2,500 L，約50 L至約2,500 L，約5 L至約50 L，約5 L至約2,000 L，約5 L至約1,500 L，約5 L至約1,000 L或約5 L至約500 L)。培養細胞可以例如使用補料分批生物反應器或灌注生物反應器進行。培養細胞(例如，培養哺乳動物細胞)的非限定性實例和不同方面在下文描述，並且可以以任何組合使用。

細胞

在本文所述的一些方法中培養的細胞可以是細菌(例如，革蘭氏陰性細菌)、酵母(例如，釀酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)、巴斯德畢赤酵母(*Pichia pastoris*)、多形漢遜酵母(*Hansenula polymorpha*)、乳酸克魯維酵母(*Kluyveromyces lactis*)、粟酒裂殖酵母(*Schizosaccharomyces pombe*)、解脂耶氏酵母(*Yarrowia lipolytica*)或*Arxula adeninivorans*)或哺乳動物細胞。所述哺乳動物細胞可以生長在懸浮物中的細胞或者是貼壁細胞。可以在本文所述的任何方法中培養的哺乳動物細胞的非限定性實例包括：中華倉鼠卵巢(CHO)細胞(例如，CHO DG44細胞或CHO-K1s細胞)、Sp2.0、骨髓瘤細胞(例如，NS/0)、B-細胞、雜交瘤細胞、T-細胞、人胚胎腎(HEK)細胞(例如，HEK 293E和HEK 293F)、非洲綠猴腎上皮細胞(Vero)細胞和Madin-Darby犬(可卡犬(Cocker Spaniel))腎上皮細胞(MDCK)細胞。在培養貼壁細胞的一些實例中，培養物還可以包括多種微載體(例如，包括一個或多個孔的微載體)。其他可以在本文所述的任何方法中培養的哺乳動物細胞是本領域已知的。

哺乳動物細胞可以包含編碼重組治療性蛋白的重組核酸(例如，穩定整合至哺乳動物細胞基因組中的核酸)。編碼例示性重組治療性蛋白的重組核酸的非限定性實例在下文描述，還描述了能夠使用本文所述方法產生的重組治療性蛋白。在一些實例中，在生物反應器(例如，本文所述的任何生物反應器)中培養的哺乳動物細胞源自更大的培養物。

可以將編碼重組治療性蛋白的核酸使用分子生物學和分子遺傳學領域已知的多種多樣的方法引入哺乳動物細胞。非限定性實例包括轉染(例如，脂質體轉染(lipofection))、轉導(例如，慢病毒、腺病毒或逆轉錄

病毒感染)和電穿孔。在一些情況下，編碼重組治療性蛋白的核酸並不穩定整合至哺乳動物細胞的染色體中(瞬時轉染)，而在其他情況下核酸是整合的。另一種情況或者在此之上，編碼重組治療性蛋白的核酸可以存在於質粒和/或哺乳動物人工染色體(例如，人的人工染色體)中。另一種情況或者在此之上，可以將核酸使用病毒載體(例如，慢病毒、逆轉錄病毒或腺病毒載體)引入細胞。可以將核酸可操作地與啟動子序列(例如，強啟動子，如β-肌動蛋白啟動子和CMV啟動子，或誘導型啟動子)連接。包含核酸的載體視需要還可包含選擇性標記(例如，為哺乳動物細胞賦予潮黴素、嘌呤黴素或新黴素抗性的基因)。

在一些情況中，所述重組治療性蛋白是分泌的蛋白並且由哺乳動物細胞釋放至細胞外培養基(例如，第一和/或第二液體培養基)。例如，編碼可溶性重組治療性蛋白的核酸序列可以在重組治療性蛋白的N-或C-末端包含編碼分泌信號肽的序列，該序列由哺乳動物細胞中存在的酶切割，並且隨後釋放至細胞外培養基(例如，第一和/或第二液體培養基)中。

培養基

液體培養基是本領域已知的。液體培養基(例如，第一和/或第二組織培養基)可以補充有哺乳動物血清(例如，胎牛血清和牛血清)和/或生長激素或生長因子(例如，胰島素、轉鐵蛋白和表皮生長因子)。另一種情況或者在此之上，所述液體培養基(例如，第一和/或第二液體培養基)可以是化學上限定的液體培養基、無動物來源組分的液體培養基、無血清的液體培養基或含血清的液體培養基。化學上限定的液體培養基、無動物來源組分的液體培養基、無血清的液體培養基和含血清的液體培養基的非限定性實例是可以通過商業方法獲得的。

液體培養基通常包含能量來源(例如，糖類，如葡萄糖)、必需的胺基酸(例如，二十種胺基酸的基本組加半胱氨酸)、維生素和/或其他以低濃度需要的有機化合物、游離脂肪酸和/或痕量元素。液體培養基(例如，第一和/或第二液體培養基)可以視需要補充有例如哺乳動物激素或生長因子(例如，胰島素、轉鐵蛋白或表皮生長因子)、鹽和緩衝液(例如，鈣

鹽、鎂鹽和磷酸鹽)、核苷和城基(例如，腺苷、胸苷和次黃嘌呤)、蛋白質和組織水解物和/或這些添加劑的任何組合。

能夠用於在本文所述的任何方法中培養細胞(例如，哺乳動物細胞)的多種不同液體培養基是本領域已知的。在本方法中也可能有用的培養基組分包括但不限於化學上限定的(CD)水解物，例如，CD蛋白腺、CD多肽(兩種或多種胺基酸)和CD生長因子。液體組織培養基和培養基組分的其他實例是本領域已知的。

本領域技術人員會理解本文所述的第一液體培養基和第二液體培養基可以是相同類型的培養基或不同的培養基。

例示性生物反應器的其他特徵

本文所述的任何生物反應器的內表面可以具有至少一層塗層(例如，至少一層明膠、膠原、聚-L-鳥氨酸、聚苯乙烯和層粘連蛋白的塗層)，和正如本領域已知的一個或多個用於向液體培養基中噴射O_2、CO_2和N_2的端口，和用於攪拌液體培養基的攪拌機構。生物反應器可以在受控的加濕氣氛(例如，以大於20%、30%、40%、50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%或95%的濕度或100%的濕度)中溫育細胞培養物。生物反應器也可以配備有能夠將一定體積的液體培養基從生物反應器取出的機械裝置，和任選的在所述機械裝置內在將液體培養基轉移出生物反應器的過程中從液體培養基去除細胞的濾器(例如，ATF系統)。

溫度

培養哺乳動物細胞的步驟可以在約31 ºC至約40 ºC的溫度下進行。熟練的操作者會理解在培養步驟過程中在指定的時間點可以改變所述溫度，例如，以每小時或每天為基礎。例如，可以在用細胞(例如，哺乳動物細胞)初始接種生物反應器之後約一天、兩天、三天、四天、五天、六天、七天、八天、九天、十天、十一天、十二天、十四天、十五天、十六天、十七天、十八天、十九天或約二十天或更多天改變或變換(shift)(例如，增加或減少)溫度。例如，可以將溫度向上變換(例如，高達或大約

0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5、4.0、4.5、5.0、5.5、6.0、6.5、7.0、7.5、8.0、8.5、9.0、9.5、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或高達或大約20攝氏度的變化)。例如，可以將溫度向下變換(例如，高達或大約0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5、4.0、4.5、5.0、5.5、6.0、6.5、7.0、7.5、8.0、8.5、9.0、9.5、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或高達或大約20 ºC的變化)。

CO_2

本文所述的培養步驟可以進一步包括使生物反應器中的液體培養基暴露於包含至多或大約15% CO_2 (例如，至多或大約14% CO_2、12% CO_2、10% CO_2、8% CO_2、6% CO_2、5% CO_2、4% CO_2、3% CO_2、2% CO_2或至多或大約1% CO_2)的氣氛。

灌注生物反應器

本文所述的培養步驟可以使用灌注生物反應器進行。在灌注生物反應器中培養細胞(例如，哺乳動物細胞)包括從生物反應器取出第一體積的第一液體培養基(例如，含有任何濃度的哺乳動物細胞，例如，基本上不含細胞的第一體積的第一液體培養基)，並且向第一液體培養基添加第二體積的第二液體培養基。取出和添加可以同時或順序進行，或以兩者的組合進行。此外，取出和添加可以連續(例如，在任何給定的時間段內(例如，在24-小時時間段內，在約1小時至約24小時的漸進時間段內，或在大於24小時的漸進時間段內)以取出和替換生物反應器體積或第一液體培養基體積的0.1%至800% (例如， 1%至700%，1%至600%，1%至500%，1%至400%，1%至350%，1%至300%，1%至250%，1%至100%，100%至200%，5%至150%，10%至50%，15%至40%，8%至80%，和4%至30%)的體積的速率)或週期性(例如，每三天一次、每兩天一次、每天一次、一天兩次、一天三次、一天四次或一天五次)進行，或其任何組合。在週期性進行的情況下，去

除或替換的體積(例如，在約24-小時的時間段內，在約1 小時至約24 小時的漸進時間段內，或在超過24小時的漸進時間段內)可以是例如，生物反應器體積或第一液體培養基體積的0.1%至800% (例如，1%至700%，1%至600%，1%至500%，1%至400%，1%至300%，1%至200%，1%至100%，100%至200%，5%至150%，10%至50%，15%至40%，8%至80%和4%至30%)。在一些情況下，取出的第一液體培養基的第一體積和添加的第二液體培養基的第二體積可以在整個或部分培養期在每24小時時間段(或者，可供選擇地，約1小時至約24 小時的漸進時間段或大於24小時的漸進時間段)內保持大致相同。如本文領域已知的，取出第一體積的第一液體培養基的速率(體積/單位時間)和添加第二體積的第二液體培養基的速率(體積/單位時間)可以變化。取出第一體積的第一液體培養基的速率(體積/單位時間)和添加第二體積的第二液體培養基的速率(體積/單位時間)可以大約相同或者可以不同。

可供選擇地，取出的和添加的體積可以在培養期期間在每24小時時間段內(或者，可供選擇地，1 小時至約24 小時的漸進時間段或大於24小時的漸進時間段)變化(例如，逐漸增加)。例如，在培養期內在每24小時時間段(或者可供選擇地，約1小時至24小時以上的漸進時間段或大於24小時的漸進時間段)內取出的第一液體培養基的體積和添加的第二液體培養基的體積可以在培養期內從生物反應器體積或第一液體培養基體積的0.5%至約20%的體積增加至(例如，逐漸或通過交錯增量(staggered increment))生物反應器體積或第一液體培養基體積的約25%至約150%。

熟練的操作者會理解第一液體培養基和第二液體培養基可以是相同類型的培養基。在其他情況中，第一液體培養基和第二液體培養基可以不同。

第一體積的第一液體培養基可以例如通過能夠從生物反應器取出第一體積的第一培養基(例如，從生物反應器取出基本上不含細胞的第一體積的第一液體培養基)的機械系統取出。另一種情況或者在此之上，第一體積的第一液體培養基可以通過使所述第一體積的第一液體培養基滲透或重力流動通過無菌膜來取出，所述無菌膜具有排除細胞(例如，哺乳動物

細胞)的分子量截留值。

第二體積的第二液體培養基可以以自動化方式例如通過灌注泵添加至第一液體培養基。

在一些情況中，取出第一體積的第一液體培養基(例如，基本上不含哺乳動物細胞的第一體積的第一液體培養基)和向第一液體培養基添加第二體積的第二液體培養基不在用哺乳動物細胞接種生物反應器的至少1 小時內(例如，2小時內，3小時內，4小時內，5小時內，6小時內，7小時內，8小時內，9小時內，10小時內，12小時內，14小時內，16小時內，18小時內，24小時內，36小時內，48小時內，72小時內，96 小時內或96 小時之後)發生。

補料分批生物反應器

本文所述的培養步驟可以使用補料分批生物反應器進行。在補料分批生物反應器中培養細胞包括，在培養期的大多數時間內，向第一液體培養基添加(例如，週期性或連續添加)第二體積的第二液體培養基。第二液體培養基的添加可以連續(例如，在任何給定的時間段內(例如，在24-小時時間段內，在約1小時至約24小時的漸進時間段內，或在大於24小時的漸進時間段內)以添加生物反應器體積或第一液體培養基體積的0.1%至300% (例如， 1%至250%，1%至100%，100%至200%，5%至150%，10%至50%，15%至40%，8%至80%，和4%至30%)的體積的速率)或週期性(例如，每三天一次、每兩天一次、每天一次、一天兩次、一天三次、一天四次或一天五次)進行，或其任何組合。在週期性進行的情況下，添加的體積(例如，在24-小時的時間段內，在約1 小時至約24 小時的漸進時間段內，或在大於24小時的漸進時間段內)可以是例如，生物反應器體積或第一液體培養基體積的0.1%至300% (例如， 1%至200%，1%至100%，100%至200%，5%至150%，10%至50%，15%至40%，8%至80%，和4%至30%)。在一些情況下，添加的第二液體培養基的第二體積可以在整個或部分培養期在每24小時時間段(或者，可供選擇地，約1 小時至約24 小時的漸進時間段或大於24小時的漸進時間段)內保持大致相同。如本文領域已知的，在整個或部

分培養期內添加第二體積的第二液體培養基的速率(體積/單位時間)可以變化。例如，在培養期期間在每24小時時間段內(或者可供選擇地，在1小時至約24 小時的漸進時間段內，或在大於24小時的漸進時間段內)可以改變(例如，逐漸增加)添加的第二培養基的體積。例如，在培養期內在每24小時時間段內(或者可供選擇地，在約1小時至24小時以上的漸進時間段或大於24小時的漸進時間段)內添加的第二液體培養基的體積可以在培養期內從生物反應器體積或第一液體培養基體積的0.5%至約20%的體積增加(例如，逐漸或通過交錯增量)至生物反應器體積或第一液體培養基體積的約25%至約150%。添加第二體積的第二液體培養基的速率(體積/單位時間)在整個或部分培養期內可以大約相同。

熟練的操作者會理解第一液體培養基和第二液體培養基可以是相同類型的培養基。在其他情況中，第一液體培養基和第二液體培養基可以不同。所述體積的第二液體培養基可以以自動化方式例如通過灌注泵添加至第一液體培養基。

在一些情況中，向第一液體培養基添加第二體積的第二液體培養基不在用哺乳動物細胞接種生物反應器的至少1 小時內(例如，2小時內，3小時內，4小時內，5小時內，6小時內，7小時內，8小時內，9小時內，10小時內，12小時內，14小時內，16小時內，18小時內，24小時內，36小時內，48小時內，72小時內，96 小時內或96 小時之後)發生。補料分批培養中的細胞培養基通常在培養期結束時收穫並且在本文所述的任何方法中使用，然而，補料分批培養中的細胞培養基也可以在培養期期間的一個或多個時間點收穫並且在本文所述的任何方法中使用。

熟練的操作者會理解可以以任何組合使用多種培養參數中的任一項(例如，容器、體積、替換培養物體積的速率或頻率、攪拌頻率、溫度、培養基和CO_2濃度)以進行這些方法。此外，本文所述的或本領域已知的任何哺乳動物細胞可以用於產生重組蛋白。

單元操作的其他實例

處理包含重組治療性蛋白的流體的方法的一些實例可以進一步包括

進行一種或多種其他單元操作(例如，捕獲重組治療性蛋白、純化重組治療性蛋白、精製重組治療性蛋白、病毒滅活、病毒過濾、調節包含重組治療性蛋白的流體的離子濃度和/或pH、過濾包含重組治療性蛋白的流體、沉澱和絮凝、雙水相萃取(aqueous two-phase extraction)、凍乾和結晶中的一種或多種)。整合且連續的製造治療性蛋白藥物物質的一些實例可以進一步包括一種或多種其他單元操作，例如，沉澱和絮凝、雙水相萃取、凍乾和結晶中的一種或多種。

沉澱和絮凝

在一些實例中，本文所述的方法和方法進一步包括進行沉澱和/或絮凝的單元操作。用於進行沉澱的方法在如下文獻中描述，例如，McNerney等，PDADMAC flocculation of Chinese Hamster Ovary Cells: Enabling a Centrifuge-Less Harvest Process for Monoclonal Antibodies, 於MAbs, vol. 2, Taylor & Francis, pp. 413-427, 2015, Roush等，*Biotechnol. Prog.* 24(3):488-495, 2008；Liu等，Recovery and Purification Process Development for Monoclonal Antibody Production, 於 MAbs, vol. 5, Taylor & Francis, pp. 480-499, 2010；Tscheliessnig等，*J. Biotechnol.* 188:17-28, 2014；Sommer等，*Process Biochem.* 49 (11):2001-2009, 2014；Brodsky等，*Biotechnol. Bioeng.* 109 (10):2589-2598, 2012；Lydersen等，Ann. NY Acad. Sci. 745(1):222-231, 1994；和Ito等，*J. Chromatogr. B* 878(2):154-164, 2010。沉澱方法可以通過改變如pH和/或電導率(鹽溶(salting-in)或鹽析(salting out))等溶液的因素或通過添加沉澱劑例如乙醇、硫酸銨、聚乙二醇(PEG)、辛酸和二價離子來實現。用於進行絮凝的方法在如下文獻中描述，例如，Riske等，*J. Biotechnol.* 128(4):813-823, 2007；Kang等，*Biotechnol. Bioeng.* 110(11):2928-2937, 2013；Singh等，*Biotechnol. Bioeng.* 113(4):698-716, 2015；Gagnon等，*J. Chromatogr. A* 1221:57-70, 2012；Buchacher等，*Biotechnol. J.* 1(2):148-163, 2006；Watt等，*Vox Sang.* 18(1):42-

61, 1970；Bell 等，The formation of protein precipitates and their centrifugal recovery, 於Downstream Processing, Springer, pp. 1-72, 1983；Chang 等，*Biotechnol. Bioeng.* 31(8):841-846, 1988；Ito 等，*J. Chromatogr. B* 878(2):154-164, 2010；Hammerschmidt 等，*Biotechnol. J.* 10(8):1196-1205, 2015；Hammerschmidt 等，*Process Biochem.* 51(2):325-332, 2016；Hammerschmidt 等，*Biotechnol. J.* 9(6):766-775, 2014；和Warikoo 等，*Biotechnol. J.* 10(8):1101-1102, 2015)。絮凝依賴於絮凝劑，例如，聚合電解質，其引起分散的顆粒粘連成較大尺寸的簇，導致平均粒徑分佈的增加。隨後絮凝物可以通過過濾、沉降或離心來收集。

連續雙水相萃取

在一些實例中，本文描述的方法和方法進一步包括進行雙水相萃取的單元操作，例如，如Azevedo等，*Sep. Purif. Technol.* 65(1):14-21, 2009；Gomes等，*Sep. Purif. Technol.* 65(1):22-30, 2009；Kumar等，*Biotechnol. Bioeng.* 75(5):570-580, 2001；Mashayekhi 等，*Biotechnol. Bioeng.* 102(6):1613-1623, 2009；Rosa 等，*J. Chromatogr. A* 1217(16):2296-2305, 2010；Haraguchi等，*Fluid Phase Equilibria* 215(1):1-15, 2004；Hart 等，*Nat. Biotechnol.* 12(11):1113-1117, 1994；和 Azevedo 等，*Trends Biotechnol.* 27(4):240-247, 2009b)中所述。

雙水相萃取依賴於兩種不混溶的水相的形成，如此一來所述重組治療性蛋白分入一相，而雜質分入另一相。有機溶劑混合物不適用，因為蛋白質在有機相中會變性。因此，用於重組治療性蛋白的雙水相萃取通常使用聚合物-聚合物或聚合物-鹽以高於臨界濃度溶于水中來進行(Azevedo 等，*Trends Biotechnol.* 27(4):240-247, 2009)。已經使用過聚合物如PEG、聚乙烯醇、葡聚糖和澱粉以及緩衝鹽如磷酸鹽、硫酸鹽和檸檬酸鹽來創造過雙相。為了改善重組治療想蛋白對於某一特定相的特異性，形成相的組分的官能化也是可能的(Ruiz-Ruiz等，*J. Chromatogr. A* 1244:1-

13, 2012)。

雙水相體系中和常規有機-水體系中的相萃取機制類似；因此化學工業中使用的大多數標準萃取設備可以用於雙水相萃取(Kula and Selber, Encyclopedia of Bioprocess Technology, 2002，和Vázquez-Villegas等，*Sep. Purif. Technol.* 141:263-268, 2015)。雙水相萃取可以使用適當的柱接觸器、噴霧柱、轉盤接觸器(rotating disk contactor)或混合器-沉降器單元來進行(Rosa等，*J. Chromatogr. B* 880:148-156, 2012；Muendges等，*Biotechnol. Prog.* 31 (4):925-936, 2015；和Espitia-Saloma等，*Food Bioprod. Process* 92(2):101-112, 2014)。多階段雙水相萃取裝置如多板式柱接觸器(multi-plate column contactor)和混合器-沉降器配置可以通過改進的回收率和/或純度克服單階段萃取的局限性(Espitia-Saloma等，*Biotechnol. J.* 11(5):708-716, 2016，和Rosa等，*J. Biotechnol.* 139(4):306-313, 2009)。多階段雙水相萃取已經經評估成功用於純化mAb (Muendges等，*Biotechnol. Prog.* 31(4):925-936, 2015；Rosa等，*Biotechnol. J.* 8(3):352-362, 2013；Rosa等，*J. Biotechnol.* 139(4):306-313, 2009；Eggersgluess等，*Chemical Engineering & Technology* 37(4):675-682, 2014)。連續ATPE裝置為在單克隆抗體的下游處理使用提供了一種有前景的非層析替代法；允許在一個單元中同時澄清、濃縮和部分純化。對於ATPE在工業規模的應用的一個考量涉及聚合物的高消耗和方法中需要的鹽以及由此帶來的它們對水處理的影響(Espitia-Saloma等，*Biotechnol. J.* 11(5):708-716, 2016)。

凍乾

在一些實例中，本文描述的方法和方法進一步包括進行凍乾的單元操作(例如，連續凍乾)。進行連續凍乾的方法記載在De Meyer等，*Int. J. Pharm.* 496(1):75-85, 2015；Weisselberg, 美國專利8,528,225, 2013；和Rey等，Glimpses into the Realm of Freeze-Drying: Classical Issues and New Ventures, 於 Freeze

Drying/Lyophilization of Pharmaceutical and Biological Products, Informa Healthcare, London, UK, 第1-28頁, 2010中。

結晶

在一些實例中，本文描述的方法和方法進一步包括進行結晶的單元操作(例如連續結晶)。用於進行結晶的方法記載於例如Peters等，*Protein Expression Purif.* 39(1):43-53, 2005；Schmidt等，*Eng. Life Sci.* 5(3):273-276, 2005；Hekmat, *Bioprocess Biosystems Eng.* 38(7):1209-1231, 2015；Basu等，*Expert Opin. Biol. Ther.* 4(3):301-317, 2004；Hekmat, *Bioprocess Biosystems Eng.* 38(7):1209-1231, 2015；Power等，*Chem. Eng. Sci.* 133:125-139, 2015；Lawton等，*Organic Process Research Development* 13(6):1357-1363, 2009；Wong等，*Crystal Growth Design* 12(11):5701-5707, 2012；Li等，*Organic Process Research Development* 20(2):510-516, 2015；Poechlauer等，*Organic Process Research Development* 16(10):1586-1590, 2012；Mascia等，*Angewandte Chemie International Edition* 52(47):12359-12363, 2013；Furuta等，*Chem. Eng. Process* 102:210-218, 2016；Power等，*Chem. Eng. Sci.* 133:125-139, 2015；和Neugebauer等，*Crystal Growth Design* 15(3):1089-1095, 2015)中。連續結晶可以使用混合懸浮混合產物去除反應器(mixed-suspension mixed-product removal reactors) (MSMPR)、活塞流反應器(PFR)和連續振盪擋板式結晶器(COBC) (參見，例如，Su等，*Chemical Engineering Processing: Process Intensification* 89:41-53, 2015)。

例示性層析類型

能夠用於本方法和方法中(例如，在本文描述的方法和方法中進行的單元操作中)的例示性層析類型包括連續交叉流層析(流入，連續環式層析(continuous annular chromatography)和連續徑向流層析(continuous

radial flow chromatography))、連續逆流層析(例如，模擬移動床層析、週期性逆流層析、連續逆流切向層析和多柱逆流溶劑梯度純化)以及流通層析(flow-through chromatography)(例如，擴展床層析)。

在交叉流層析中，樹脂床垂直於床內的液體流的方向移動。在連續交叉流層析中，穩態分離發生在軸向和圓周向，相比之下常規批量系統中的分離只發生在軸向(Bridges and Barker, Continuous Cross-Current Chromatographic Refiners, 於Ganetsos等(編輯), Preparative and Production Scale Chromatography, Vol. 61, Marcel Dekker, Inc., New York, NY, pp. 113-126, 1992)。交叉流層析的非限定性實例是連續環式層析和連續徑向流層析。

連續環式層析使用層析基質的旋轉環式床允許連續分離多組分混合物。用於進行連續環式層析的方法記載於例如，Martin, *Discussions of the Faraday Society* 7:332-336, 1949；Giddings, *Anal. Chem.* 34 (3):314-319, 1962；Fox等，*J. Chromatogr. A* 43:48-54, 1969；Fox, *J. Chromatogr. A* 43:55-60, 1969；和Nicholas and Fox, *J. Chromatogr. A* 43:61-65, 1969；Giovannini and Freitag, *Biotechnol. Bioeng.* 73 (6):522-529, 2001；Bloomingburg and Carta, *Chem. Eng. J.* 55(1-2):B19-B27, 1994；Takahashi and Goto, *Separation Sci. Technol.* 26(1):1-13, 1991；和Vogel等，*Biotechnol. Bioeng.* 80(5):559-568, 2002中。連續環式層析通常使用常規吸附劑的床，其填充在形成環的兩個同心圓柱之間。環式床緩慢地沿著其垂直軸旋轉。待分離的進料混合物被連續引入通過移動的吸附床頂部的固定噴嘴。在最簡單的等度層析的情況下，用以進料方向流動(交叉流流動)的洗脫緩衝液沖刷旋轉環。隨著時間的推移，進料中的不同組分在軸向上分開並形成從固定入口指向環式床底部的螺旋條帶。在床的底部保持幾個固定的出口，在那裡連續回收分開的組分。每種組分條帶自進料點的角位移，即螺旋條帶的斜率，依賴於流速、環的旋轉速度和對於固定相的組分親和力。

連續徑向流層析的操作類似於連續環式層析，除了進料和全部必需

的緩衝液以徑向(在水平方向上從外周向內或從中心向外)而非以軸向(沿著軸)流動。徑向流柱的有效床高是內外圓柱之間的距離，而橫截面面積與管的表面積相關。床深度短和柱橫截面面積大使得在高流速分離的同時保持低壓降成為可能(Besselink等，*J. Chromatogr. A* 1271(1):105-114, 2013)。連續徑向流層析的其他方面記載於，例如，Cabanne等，*J. Chromatogr. B* 845 (2):191-199, 2007；Kinna等，*Biotechnol. Bioeng.* 113 (1):130-140, 2016；Weaver等，*BioPharm* 3(7):25-28, 1990；Sun等，*Biomed. Chromatogr.* 14(7):478-482, 2000；Tharakan and Belizaire, *J. Chromatogr. A* 702(1):191-196, 1995；Gu等，*Chem. Eng. Sci.* 46(5):1279-1288, 1991；Huang等，*Chem. Eng. J.* 38(3):179-186, 1988；Kinna等，*Biotechnol. Bioeng.* 113(1):130-140, 2016；和Lay等，*Food Bioprod. Process.* 84(1):78-83, 2006。

連續逆流層析的非限定性實例包括模擬移動床層析、週期性逆流層析、連續逆流切向層析和多柱逆流溶劑梯度純化。

逆流層析允許更有效地使用靜止相，與批量層析相比改進生產率並減少溶劑/緩衝液消耗。液固逆流移動能夠通過與液相流動相反的方向旋轉固相吸附劑(層析樹脂)來獲得。這可以通過以與液體流動相反的方向物理旋轉固體吸附劑/柱(真實移動床)或以週期或半連續方式使用精巧的柱和閥門移動通過模擬固相的連續移動來實現(模擬移動床)。

模擬移動床層析採用的流動方案利用了連續和逆流移動液相和固相而不實際移動吸附劑的優勢。代替傳統批量層析中使用的大填充床，SMB層析系統的特徵在於多個較小填充床的連接。模擬逆流流動通過位於柱之間的複雜閥門系統進行，如此一來入口和出口位置在液體流動方向閃在柱與柱之間週期性切換。使用模擬移動床層析的方法記載於，例如，Jungbauer等，*Trends Biotechnol.* 31(8):479-492, 2013；Low等，*J. Chromatogr. B* 848(1):48-63, 2007；Xie等，*Biotechnol. Bioprocess Eng.* 6(6):363-375, 2001；Imamoglu, Simulated Moving Bed Chromatography (SMB) for Application in Bioseparation, in Modern Advances in Chromatography, Springer, pp. 211-231, 2002；Mun等，

Ind. Eng. Chem. Res. 42 (9):1977-1993, 2003；Rajendran等，*J. Chromatogr. A* 1216 (4):709-738, 2009；Gottschlich and Kashe, *J. Chromatogr. A* 765(2):201-206, 1997；Keβler等，*J. Chromatogr. A* 1176 (1):69-78, 2007；Kröber等，*J. Chromatogr. A* 1307:99-110, 2013；Rodrigues, Simulated Moving Bed Technology: Principles, Design, and Process Applications, Butterworth-Heinemann, 2015；和Aniceto等，*Separation Purification Reviews* 44(1):41-73, 2015。

逆流層析的另一實例是週期性逆流層析。用於進行逆流層析的例示性方法在本文描述。用於進行逆流層析的其他方法記載於，例如，Mahajan等，*J. Chromatogr. A* 1227:154-162, 2012；Warikoo等，*Biotechnol. Bioeng.* 109(12):3018-3029, 2012；和Godawat等，*Biotechnol. J.* 7(12):1496-1508, 2012。

連續逆流切向層析是一種逆流層析類型，其中代替將樹脂顆粒裝填在固定床柱中的是使樹脂(以漿料的形式)流過一系列靜止混合器和中空纖維膜模塊。微孔中空纖維膜保留了大樹脂顆粒的同時使得全部溶解的物質種類(species) (蛋白質和緩衝液組分)通過膜並進入滲透液。在結合、清洗、洗脫、剝離(stripping)和平衡步驟中使用的緩衝液在多階段配置中相對於樹脂漿料逆流流動。進行連續逆流切向層析的方法記載於例如，Dutta等，*Biotechnol. Prog.* 32(2):430-439, 2016；Shinkazh等，U.S. Patent 7,988,859, 2011；Napadensky等，*Separation Science Technology* 48(9):1289-1297, 2013；和Dutta等，*J. Biotechnol.* 213:54-64, 2015。

多柱逆流溶劑梯度純化是一種能夠使用線性梯度以供高解析率分離三種組分級分的多柱層析方法。用於進行多柱逆流溶劑梯度純化的方法記載於Aumann and Morbidelli, *Biotechnol. Bioeng.* 98 (5):1043-1055, 2007；Müller-Spath等，*Biotechnol. Bioeng.* 100(6):1166-1177, 2008；和Aumann and Morbidelli, *Biotechnol. Bioeng.* 99 (3):728-733, 2008。

流通層析的實例是擴展床層析。擴展床層析(EBC)利用流化層析吸附

床，其允許直接從粗制(例如，含有顆粒的)原料純化期望的蛋白質(Chase, *Trends Biotechnol.* 12(8):296-303, 1994；Thömmes, Fluidized Bed Absorption as a Primary Recovery Step in Protein Purification, 於New Enzymes for Organic Synthesis, Springer, pp. 185-230, 1997；Anspach等，*J. Chromatogr. A* 865 (1):129-144, 1999；和Gagnon, *J. Chromatogr. A* 1221:57-70, 2012)。與傳統層析管柱相比，擴展床層析設置中的主要區別在於頂層流適配器(top flow adapter)被適當地放置，如此一來允許所述床在液體流動方向上向上擴展。用於進行擴展床層析的方法記載於例如，Kinna等，*Biotechnol. Bioeng.* 113(1):130-140, 2016；Farid, *J. Chromatogr. B* 848(1):8-18, 2007；Chhatre等，*Bioprocess Biosystems Eng.* 30(1):1-11, 2007；Lin等，*J. Chromatogr. A* 1304:78-84, 2013；Zhao等，*Chinese J. Chem. Eng.* 17(4):678-687, 2009；Smith等，*J. Chromatogr. A* 968 (1):121-128, 2002；Feuser等，*Process Biochem.* 34(2):159-165, 1999；Ozyurt等，*J. Chromatogr. A* 944(1):203-210, 2002；Anspach等，*J. Chromatogr. A* 865(1):129-144, 1999；Owen and Chase, *J. Chromatogr. A* 757 (1):41-49, 1997；和Owen and Chase, *Chem. Eng. Sci.* 54(17):3765-3781, 1999。

例示性優勢

本文描述的方法能夠導致治療性蛋白藥物物質中存在的重組治療性蛋白的體積生產率的實質性增加。例如，本文描述的方法能夠導致治療性蛋白藥物物質中存在的重組治療性蛋白的體積生產率至少2-倍、3-倍、4-倍、5-倍、6-倍、7-倍、8-倍、9-倍和10-倍增加。重組治療性蛋白的生物活性可以使用多種本領域已知的方法評估，並且會依賴於特定重組治療性蛋白的活性。例如，作為免疫球蛋白(例如，抗體或抗體片段)的重組治療性蛋白的生物學活性可以通過測量該重組治療性抗體與其特異性表位結合的親和力來測定(例如，使用Biocore或競爭性酶聯免疫吸附測定)。重組治療性蛋白可以是酶(例如重組半乳糖苷酶，例如，重組α-半乳糖苷

酶)，而生物學活性可以通過測量重組治療性酶的活性來測定(例如，通過測量可檢測受質濃度的減少或可檢測產物濃度的增加來測定(例如，使用分光光度法或發光(light emission))重組治療性酶的催化速率常數)。例如，重組治療性半乳糖苷酶的生物學活性可以通過測量神經醯胺三己糖苷(GL-3)或半乳糖二糖基神經醯胺(galabiosylceramide)水平的增加或神經醯胺二級糖苷或半乳糖水平的增加來檢測。

本文描述的方法可以導致重組治療性蛋白回收百分比增加(例如，治療性蛋白藥物物質中液體培養基中存在的重組治療性蛋白產率的百分比增加)。例如，本方法能夠導致大於約70%，大於約80%，大於約82%，大於約84%，大於約86%，大於約88%，大於約90%，大於約92%，大於約94%，大於約96%或大於約98%的重組治療性蛋白的百分比產率。本方法能夠導致約80%至約90%，約82%至約90%，約84%至約90%，約84%至約88%，約84%至約94%，約82%至約92%或約85%至約95%的百分比產率。

治療性蛋白藥物物質中存在的重組治療性蛋白的濃度可以為大於約1.0 mg/mL、大於約1.5 mg/mL、大於約2.0 mg/mL、大於約2.5 mg/mL、大於約3.0 mg/mL、大於約3.5 mg/mL、大於約4.0 mg/mL、大於約4.5 mg/mL、大於約5.0 mg/mL、大於約5.5 mg/mL、大於約6.0 mg/mL、大於約6.5 mg/mL、大於約7.0 mg/mL、大於約7.5 mg/mL、大於約8.0 mg/mL、大於約8.5 mg/mL、大於約9.0 mg/mL、大於約10.0 mg/mL、大於約12.5 mg/mL或大於約15.0 mg/mL。

本文描述的方法可以在至少約5天、至少約10天、至少約15天、 至少約20天、至少約25天、至少約30天、至少約35天、至少約40天、至少約45天、至少約50天、至少約55天、至少約60天、至少約65天、至少約70天、至少約75天、至少約80天、至少約85天、至少約90天、至少約95天、至少約100天、至少約110天、至少約120天、至少約130天、至少約140天、至少約150天、至少約160天、至少約170天、至少約180天、至少約190天、至少約200天、至少約210天、至少約220天、至少約230天、至少約240天、至少約250天、至少約260天、至少約270天、至少約280天、至少約290天、至少約300天、至少約310天、至少約320天、至少約330天、

至少約340天、至少約350天或至少約365天的連續時間段內產生至少約5 g/天、至少約6 g/天、至少約7 g/天、至少約8 g/天、至少約9 g/天、至少約10 g/天、至少約11 g/天、至少約12 g/天、至少約13 g/天、至少約14 g/天、至少約15 g/天、至少約16 g/天、至少約17 g/天、至少約18 g/天、至少約19 g/天、至少約20 g/天、至少約25 g/天、至少約30 g/天、至少約35 g/天或至少約40 g/天的治療性蛋白藥物物質中的重組治療性蛋白的淨產率。

本文提供的方法能夠導致顯著改進的比生產率(specific productivity rate)。例如，重組蛋白藥物物質中實現的比生產率是使用不同方法(例如，分批純化方法或非整合和/或連續的方法)實現的比生產率的至少2-倍、3-倍、4-倍、5-倍、6-倍、7-倍、8-倍、9-倍、10-倍、20-倍、30-倍、40-倍、50-倍、60-倍、70-倍、80-倍、90-倍、100-倍、110-倍、120-倍、130-倍、140-倍、150-倍、160-倍、170-倍、180-倍、190-倍或200-倍高。通過本方法實現的重組蛋白藥物物質中的生產率可以為至少10,000單位/L、至少15,000單位/L、至少約20,000單位/L、至少約25,000單位/L、至少約30,000單位/L、至少約35,000單位/L或至少約40,000單位/L (在第一和/或第二液體培養基中)。本方法中實現的重組蛋白藥物物質的生產率可以是至少1 g/L、至少1.5 g/L、至少2.0 g/L、至少2.5 g/L、至少3.0 g/L、至少4.0 g/L、至少4.5 g/L或至少5.0 g/L。

本文描述的方法還提供從液體培養基節省時間地生產治療性藥物物質。例如，從將含有治療性蛋白的流體(例如，液體培養基)進料至第一MCCS到從第二MCCS的出口洗脫治療性蛋白藥物物質(含有治療性蛋白)之間經過的時間為，例如，約4小時至約48小時，含端點，例如，約4小時至約40小時，約4小時至約35小時，約4小時至約30小時，約4小時至約28小時，約4小時至約26小時，約4小時至約24小時，約4小時至約22小時，約4小時至約20小時，約4小時至約18小時，約4小時至約16小時，約4小時至約14小時，約4小時至約12小時，約6小時至約12小時，約8小時至約12小時，約6小時至約20小時，約6小時至約18小時，約6小時至約14小時，約8小時至約16小時，約8小時至約14小時，約8小時至約12小時，約10小時至

20小時，約10小時至18小時，約10小時至16小時，約10小時至14小時，約12小時至約14小時，約10小時至約40小時，約10小時至約35小時，約10小時至約30小時，約10小時至約25小時，約15小時至約40小時，約15小時至約35小時，約15小時至約30小時，約20小時至約40小時，約20小時至約35小時或約20小時至約30小時(含端點)。在其他實例中，從將含有治療性蛋白的流體(例如，液體培養基)進料至第一MCCS到從第二MCCS的出口洗脫治療性蛋白藥物物質(含有治療性蛋白)之間經過的時間為例如，超過約4小時並短於約40小時，含端點，例如，超過4小時並短於約39小時、約38小時、約37小時、約36小時、約35小時、約34小時、約33小時、約32小時、約31小時、約30小時、約29小時、約28小時、約27小時、約26小時、約25小時、約24小時、約23小時、約22小時、約21小時、約20小時、約19小時、約18小時、約17小時、約16小時、約15小時、約14小時、約13小時、約12小時、約11小時、約10小時、約9小時、約8小時、約7小時、約6小時、約5小時或約4.5小時(含端點)。

在以下實施例中進一步描述本發明，以下實施例對申請專利範圍中記載的本發明的範圍沒有限制作用。

【實施例】

實施例1. 使用環路系統進行超濾/滲濾

創造了一超濾/滲濾環路系統來連續濃縮和緩衝液交換包含重組雙特異性抗體的流體。首先將所述重組雙特異性抗體在蛋白A柱上純化，然後將濃度為24 g/L的洗脫液用於所述超濾/滲濾環路系統。所述環路系統包括具有第一和第二入口的切向流過濾(TFF)單元，和在所述第一和第二入口之間流體連通的管道，其包含用於使流體流入和/或流出所述系統的端口。在第一時間段內，使包含所述重組雙特異性抗體的流體連續流動通過所述環路系統，並且棄去不含所述重組雙特異性抗體的濾出液(參見圖5中的“滲透液”)。在第一時間段期間將恒定體積的流體保持在管道內。

在這步之後，在第二時間段內，使滲濾介質通過所述至少一個端口連續流入所述環路系統並且棄去不含所述重組雙特異性抗體的濾出液(圖

6)。在第一時間段期間將恒定體積的流體保持在管道內。這種方法中的這種環路系統的質量流量(mass flow)示於圖5和圖6中。

然後在所述第二時間段結束時從所述環路系統收集環路系統中包含重組雙特異性蛋白的流體。這種方法獲得了96%的重組雙特異性抗體回收率。來自使用包括切向流過濾單元的例示性環路系統的實驗的數據示於圖7-9。

實施例2. 使用環路系統的病毒過濾的性能

然後創造了一包含切向流病毒過濾單元的環路系統來提供從回收自實施例1中描述的包含切向流過濾單元的環路系統的包含重組雙特異性抗體的流體中連續去除病毒。所述切向流病毒過濾單元中過濾器的孔徑大約為20 nm，從而提供對細小病毒的去除。

將從實施例1中所述環路系統移出的經過濃縮和緩衝液交換的包含重組雙特異性抗體的流體進料至包含切向流病毒過濾單元的第二環路系統，如圖10中所示。(包含切向流病毒過濾單元的環路系統的另一實例示於圖11。)使所述流體連續流過所述第二環路系統，並且從所述切向流病毒過濾單元回收包含重組雙特異性抗體的流體(參見圖10中“不含病毒的”VF產物)。將流入所述環路系統的流體中存在的任何病毒顆粒保持在所述環路系統中，並且從所述切向流病毒過濾單元收集包含重組雙特異性抗體的流體。將這種環路系統操作大約24小時，在這段時間內沒有觀察到流量衰減或壓力增加(參見圖12)。

實施例3. 使用包含TFVF單元的環路系統的病毒清除性能

使用鼠類細小病毒(MMV)在多個實驗中檢測了包含TFVF單元的環路系統的病毒清除能力。使用測試流體進行了過濾，所述測試流體包含5 mg/mL的重組人抗體，其摻有0.5%病毒物質以生成大約6 log的最終MMV力價，除非下文另行指明。測試的TFVF單位包括3 cm^2 Planova™ BioEX過濾器或10 cm^2 Planova™ 20N或Planova™ BioEX過濾器。

實驗經過設計以測試當測試流體流動通過所述TFVF單元一次時被測

試的系統中所述TFVF單元保留的MMV病毒的量。對於這項實驗，將保留物收集在單獨的壓力容器中，而不是流回至主進料容器中，從而允許測定保留物中的病毒力價。具有包括10 cm^2 Planova™ 20N過濾器的TFVF單元的系統在12 psi下操作，流速在1至2 mL/min之間變化。如圖13中由相對於濾出液重量的線性擬合所示，流速對45.6 LMH的過濾器流量速率(flux rate)沒有影響，意味著流速可以獨立調節以最大化膜壽命。在實驗結束時，發現濾出液占測試流體體積的28%，而測試流體體積的72%收集在保留物收集容器中。濾出液的病毒力價低於檢出限，而保留物力價高於起始測試流體中的力價。病毒的質量平衡表明在操作系統時，大部分病毒沒有被TFVF單元中的過濾器捕獲，而是流過濃縮在保留物中。

測試包含包括10 cm^2 Planova™ 20N過濾器的TFVF單元的環路系統的病毒清除達22小時的時間段，同時在6.6 psi下進行，使用2 mL/min的再循環速率(圖14)。將所述系統用579 mL測試流體的初始加載量裝載，而接下來的操作(5.95 log力價)在系統停止收集樣品之前產生了510 mL濾出液。在沒有任何流量衰減的情況下實現了510 L/m^2的加載，其中通過過濾器的流量保持在恒定的23.0 LMH。在實驗結束時留在保留物容器中的69 mL被發現在視覺上非常混濁，儘管在運行過程中的任何時間點都沒有發現過濾器流量衰減。濾出液的病毒力價在檢出限以下(< 0.83 log)，而保留物力價為6.48 log，高於測試流體中的力價0.53 log。這一結果代表加載/保留物容器中3.4x濃縮的病毒。約有一半的總病毒加載量沒有被過濾器捕獲，但是沒有繼續再循環，而是降低過濾器的捕獲負荷和防止流量衰減。

當在20 psi分別以1 mL/min或3 mL/min的再循環速率、伴有週期性新鮮流體再進料的條件下運行29小時時，測試了包含包括3 cm^2或10 cm^2 Planova™ BioEX過濾器的TFVF單元的環路系統的病毒清除(分別參見圖15和16)。使用具有3 cm^2過濾器的TFVF單元進行實驗，將其設計成複製這樣一種場景，其中高力價的大團病毒被引入到系統中(例如，藉由外部污染)，並且後續用不含病毒的材料稀釋。將這種系統用摻有6.13 log病毒的~400 mL首次注入(initial bolus)的測試流體裝載，並過濾20小時。來自最初20小時的過濾的濾出液中的病毒力價在檢出限以下(<1.09 log)。在~20小時

過濾之後，添加~ 400 mL新鮮注入的不含病毒的抗體溶液。將這種材料再過濾9小時，並且濾出液中的病毒力價在檢出限以下。圖15顯示了使用包含包括3 cm^2 Planova™ BioEX過濾器的TFVF的環路系統的壓力和質量概貌。在最初20小時期間流量保持恒定在42.8 LMH，但在再進料之後跌落至新的36.4 LMH的恒定速率。過濾器的總通量為1190 L/m^2。

使用包含包括10 cm^2 Planova™ BioEX過濾器的TFVF單元的環路系統進行了實驗，將其設計成複製這樣一種場景，其中向系統中連續引入低力價的病毒流(例如，來自污染的緩衝液)。將初始病毒摻入材料(6.13 log的MMV力價)1:30稀釋成新鮮重組抗體溶液以創造出稀釋的儲液。稀釋的儲液的病毒力價為4.66 log。將這種稀釋的儲液過濾通過所述系統達29小時，其間週期性添加新鮮的稀釋的儲液以維持工作體積在最小閾值之上。在最初20小時和接下來的9小時測定濾出液的病毒力價，並且兩種樣品均低於檢出限(<0.83 log)。圖16顯示了實驗的壓力和質量概貌。流量在最初20個小時期間保持恒定在39.4 LMH，但在進料之後跌落至新的34.5 LMH的速率。過濾器的總通量為1120 L/m^2。

這些結果表明使用連續再循環操作病毒過濾通過降低捕獲病毒的堵塞延長了膜的使用壽命。調節滲透速率(通過系統壓力)和再循環速率(通過泵的速度)的能力獨立地使得方法優化成為可能，以使單個過濾器的操作延長數日。

其他實施方案

應理解儘管本發明已經結合其詳述進行了描述，但是前文的描述旨在示例說明而非限制發明的範圍，發明的範圍由所附請求項的範圍來限定。其他方面、優勢和修改在請求項的範圍之內。

【符號說明】

無。

2021 年 11 月 16 日修正

申請專利範圍

1. 一種處理包含重組治療性蛋白的流體的方法，所述方法包括：

(a)提供包含(i)具有第一和第二入口的切向流過濾(TFF)單元和(ii)在所述 TFF 單元之第一和第二入口之間流體連通的第一管道的第一環路系統，其包含至少一個用於使流體流入和/或流出所述第一環路系統的端口，

其中所述第一環路系統配置成使得流體能夠流動通過所述第一管道和所述 TFF 單元，並且不包含所述重組治療性蛋白的濾出液能夠從所述 TFF 單元收集；

(b)提供包含(i)具有第一和第二入口的切向流病毒過濾(TFVF)單元和(ii)在所述 TFVF 單元的第一和第二入口之間流體連通的第二管道的第二環路系統，其包含至少一個用於使流體流入和/或流出所述第二環路系統的端口，

其中所述第二環路系統配置成使得流體能夠流動通過所述第二管道和所述 TFVF 單元，並且包含所述重組治療性蛋白的濾出液能夠從所述 TFVF 單元收集；

(c)在第一時間段內，使包含重組治療性蛋白的流體通過所述至少一個端口之一連續流入所述第一環路系統並且棄去不含所述重組治療性蛋白的濾出液；

(d)在第二時間段內，使滲濾介質通過所述至少一個端口之一連續流入所述第一環路系統並且棄去不含所述重組治療性蛋白的濾出液；

(e)通過所述至少一個端口之一在所述第一時間段和第二時間段之後收集存在於所述第一環路系統中的包含所述重組治療性蛋白的流體；以及

(f) 在第三時間段內，使用在所述第一環路系統的端口和所述第二環路系統的端口之間流體連通的連接管道使步驟(e)收集的流體流入所述第二環路系統，於所述第二環路系統再循環(recirculating)保留物(retentate)，以及從所述 TFVF 單元收集包含所述重組治療性蛋白的濾出液；

其中於所述第二環路系統再循環保留物之速率及使步驟(e)收集的流體流入所述第二環路系統之速率係獨立地控制。

2. 如請求項 1 所述的方法，其中步驟(c)包括以約 0.1 mL/分鐘至約

100 L/分鐘的速率使所述流體連續流入所述第一環路系統。

3. 如請求項 1 的方法，其中步驟(c)中使所述流體流入所述第一環路系統是單向進行的。

4. 如請求項 1 所述的方法，其中步驟(d)包括以約 0.1 mL/分鐘至約 100 L/分鐘的速率使所述滲濾介質連續流入所述第一環路系統。

5. 如請求項 1 所述的方法，其中步驟(d)中使所述滲濾介質流入所述第一環路系統是單向進行的。

6. 如請求項 1 所述的方法，其中所述 TFF 單元包含表面積為約 0.1 cm^2 至約 50 cm^2 的一個或多個切向過濾器。

7. 如請求項 1 所述的方法，其中所述第一環路系統進一步包含置於所述第一管道中的泵。

8. 如請求項 7 所述的方法，其中所述泵是蠕動泵。

9. 如請求項 1 所述的方法，其中步驟(f)包括以約 0.1 mL/分鐘至約 100 L/分鐘的速率使所述流體流入所述第二環路系統。

10. 如請求項 1 所述的方法，其中步驟(f)中使所述流體流入所述第二環路系統是單向進行的。

11. 如請求項 1 所述的方法，其中所述 TFVF 單元包含表面積為約 0.1 cm^2 至約 100 m^2 的一個或多個切向病毒過濾器。

12. 如請求項 1 所述的方法，其中第二環路系統進一步包含置於在所述 TFVF 單元的第一和第二入口之間流體連通的第二管道中的泵。

13. 如請求項 12 所述的方法，其中置於在所述 TFVF 單元的第一和第二入口之間流體連通的第二管道中的泵是蠕動泵。

14. 一種處理包含重組治療性蛋白的流體的方法，所述方法包括：

(a)提供包含(i)具有第一和第二入口的切向流病毒過濾(TFVF)單元和(ii)在所述 TFVF 單元的第一和第二入口之間流體連通的管道的環路系統，其包含至少一個用於使流體流入和/或流出所述環路系統的端口，

其中所述環路系統配置成使得流體能夠流動通過所述管道和所述 TFVF 單元，並且包含所述重組治療性蛋白的濾出液能夠從所述 TFVF 單元收集；以及

(b)在一段時間內，使包含重組治療性蛋白的流體通過所述至少一個端口之一連續流入所述環路系統，於所述環路系統再循環保留物，並且從所述 TFVF 單元收集包含所述重組治療性蛋白的濾出液；

其中於所述環路系統再循環保留物之速率及使流體流入所述環路系統之速率係獨立地控制。

15. 如請求項 14 所述的方法，其中步驟(b)包括以約 0.1 mL/分鐘至約 100 L/分鐘的速率使所述流體連續流入所述環路系統。

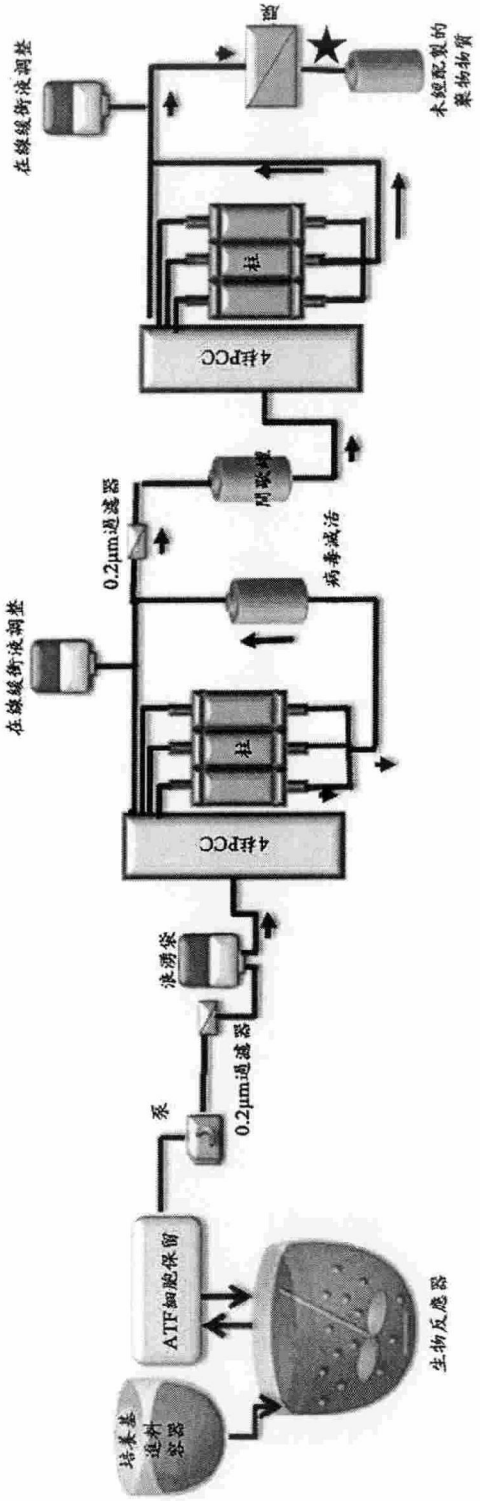
16. 如請求項 14 所述的方法，其中步驟(b)中使所述流體流入所述環路系統是單向進行的。

17. 如請求項 14 所述的方法，其中所述 TFVF 單元包含表面積為約 0.1 cm^2 至約 100 m^2 的一個或多個切向病毒過濾器。

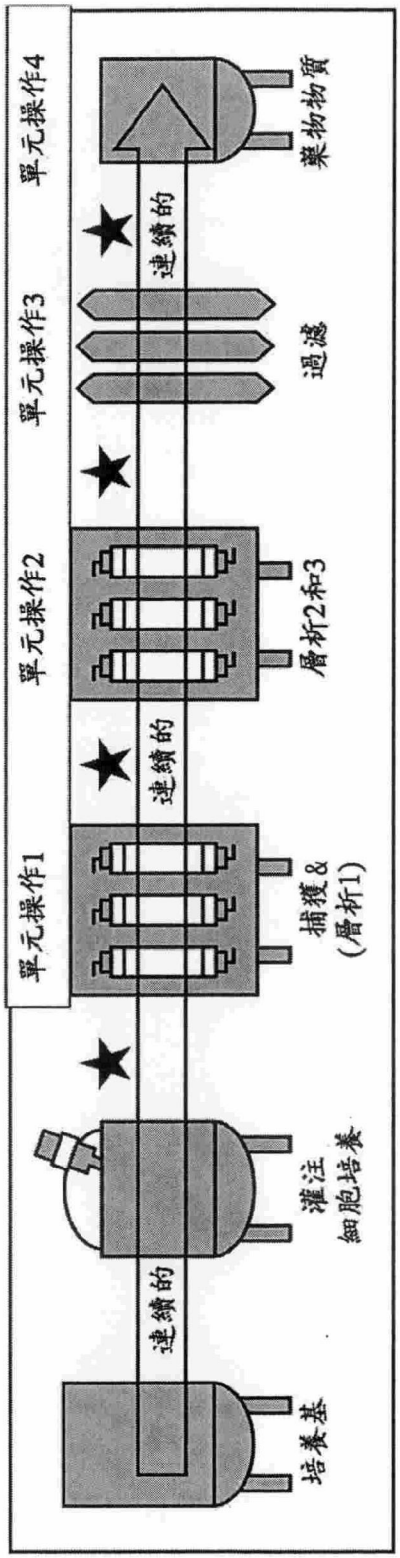
18. 如請求項 14 所述的方法，其中所述環路系統進一步包含置於所述管道中的泵。

19. 如請求項 18 所述的方法，其中置於所述管道中的泵是蠕動泵。

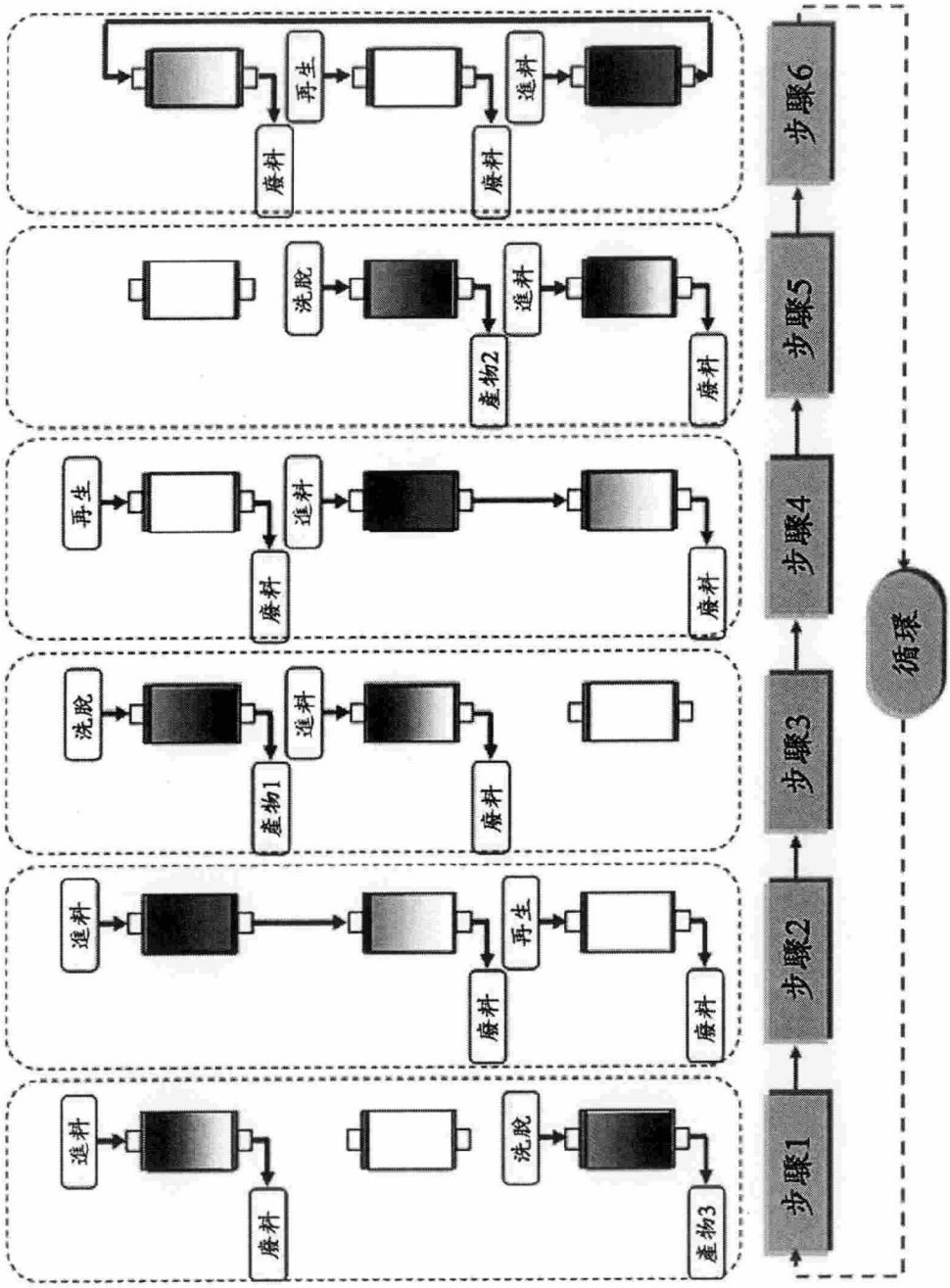
圖式


培養基
進料
容器
ATF細胞保留
生物反應器
泵
0.2μm過濾器
淺捕集
4柱PCC
柱
在線緩衝液調整
0.2μm過濾器
病毒滅活
閉環線
4柱PCC
柱
在線緩衝液調整
膜
未經配製的
藥物物質

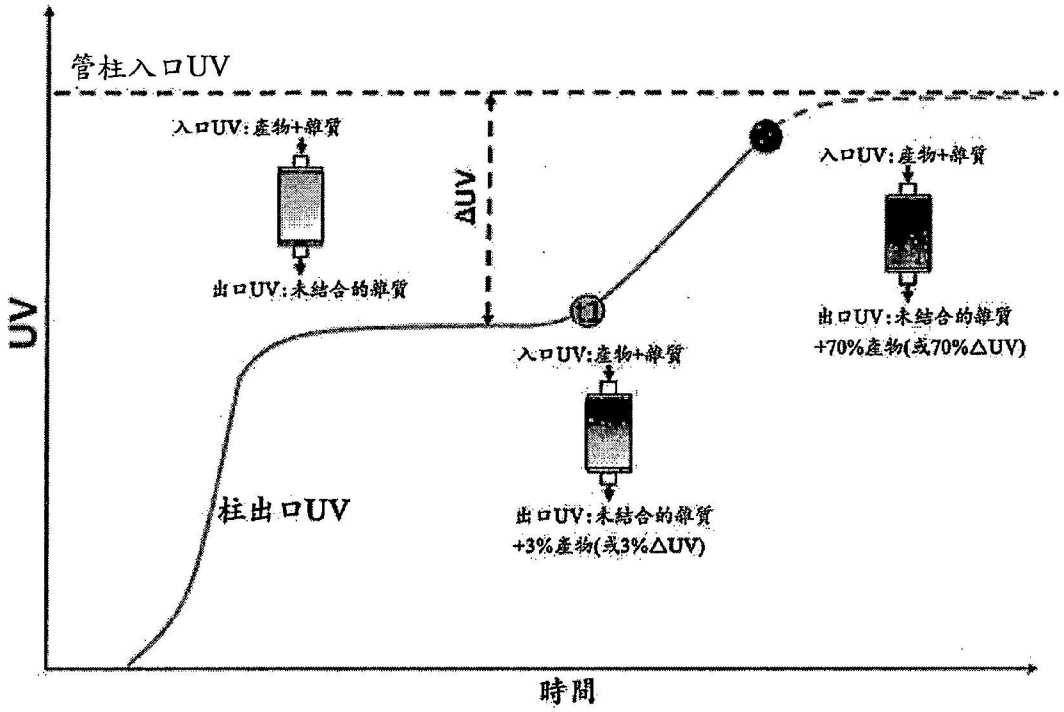
第1圖


單元操作1
單元操作2
單元操作3
單元操作4
連續的
連續的
連續的
培養基
灌注
細胞培養
捕獲&
(層析1)
層析2和3
過濾
藥物物質

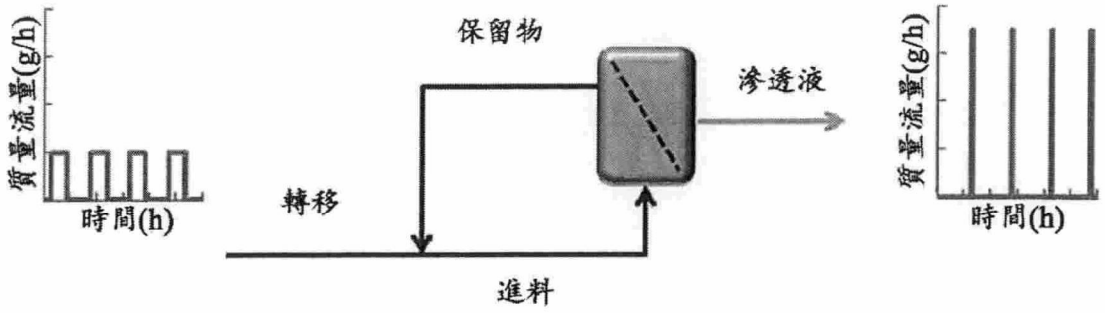
第2圖



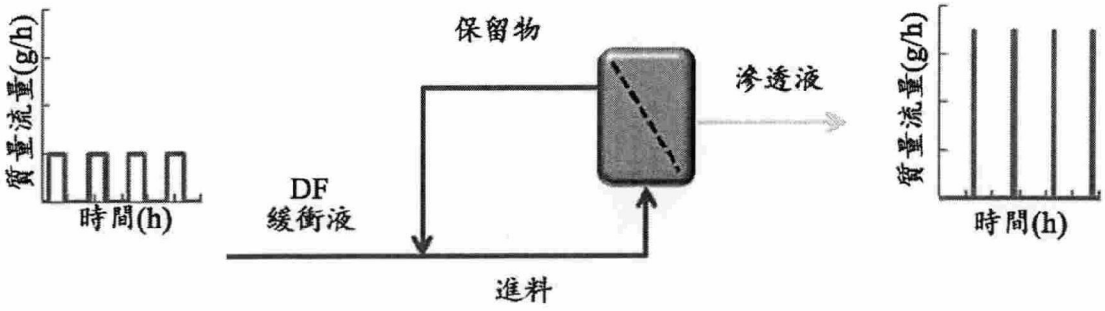
第3圖


管柱入口UV
入口UV:產物+雜質
出口UV:未結合的雜質
ΔUV
UV
入口UV:產物+雜質
出口UV:未結合的雜質
+70%產物(或70%ΔUV)
入口UV:產物+雜質
出口UV:未結合的雜質
+3%產物(或3%ΔUV)
柱出口UV
時間

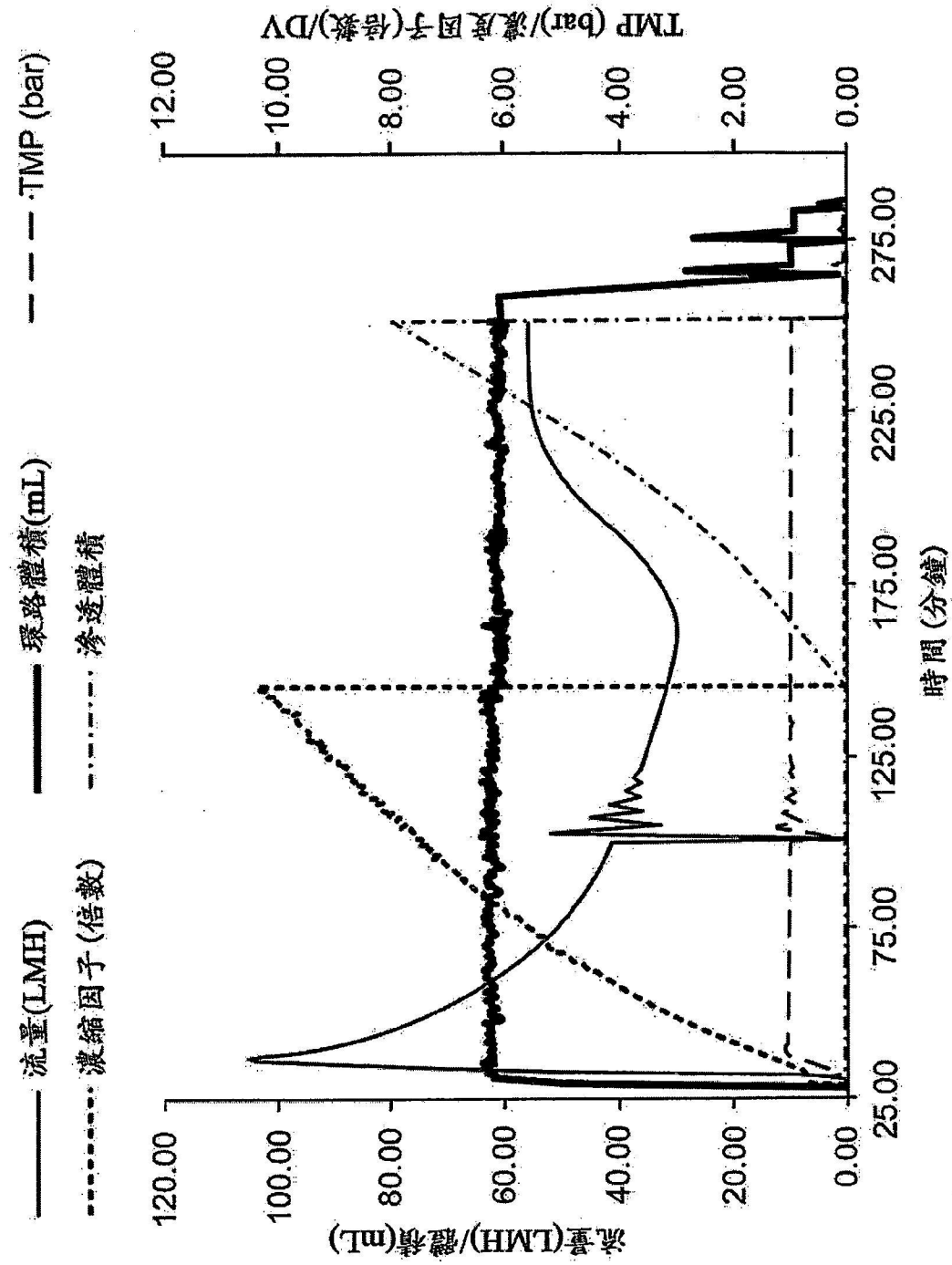
第4圖


質量流量(g/h)
時間(h)
保留物
轉移
滲透液
進料
質量流量(g/h)
時間(h)

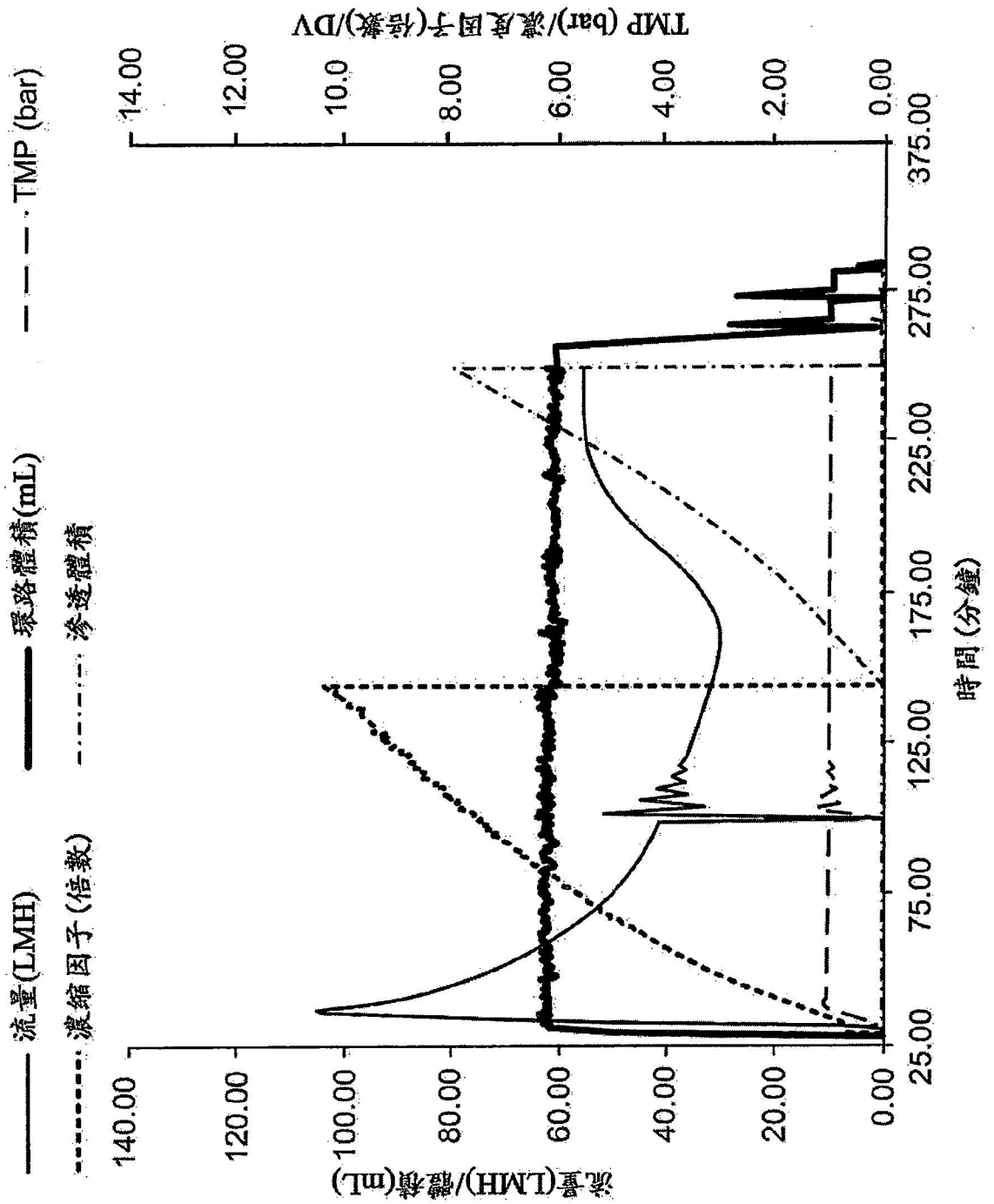
第5圖


質量流量(g/h)
時間(h)
保留物
DF
緩衝液
滲透液
進料
質量流量(g/h)
時間(h)

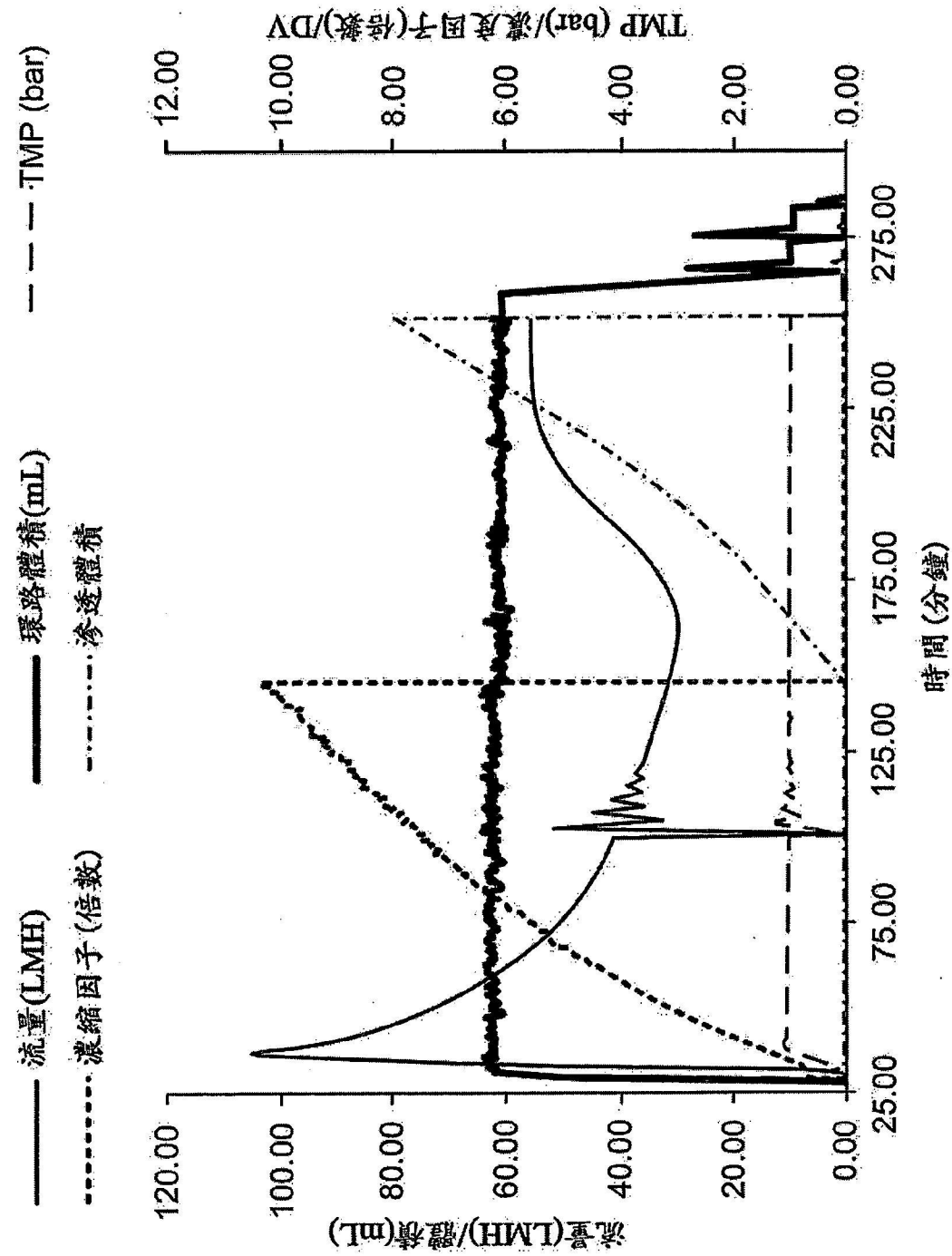
第6圖


流量(LMH)
濃縮因子(倍數)
環路體積(mL)
滲透體積
TMP (bar)
流量(LMH)/體積(mL)
TMP (bar)/濃度因子(倍數)/DV
120.00
100.00
80.00
60.00
40.00
20.00
0.00
12.00
10.00
8.00
6.00
4.00
2.00
0.00
25.00
75.00
125.00
175.00
225.00
275.00
時間(分鐘)

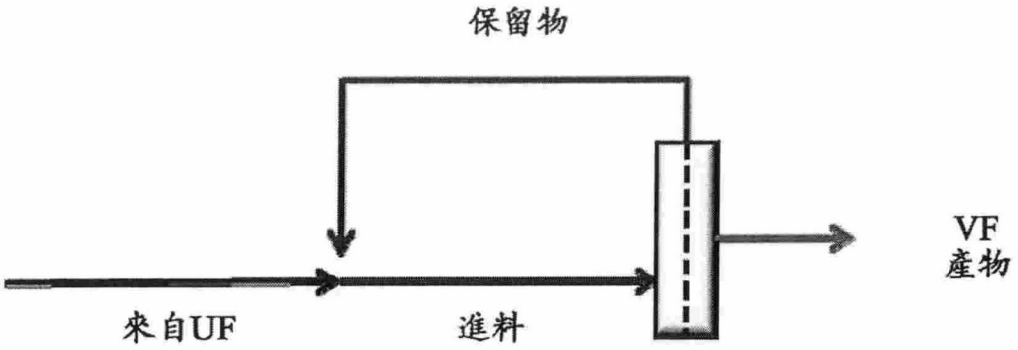
第7圖


流量(LMH)
濃縮因子(倍數)
環路體積(mL)
滲透體積
TMP (bar)
流量(LMH)/體積(mL)
TMP (bar)/濃度因子(倍數)/DV
140.00
120.00
100.00
80.00
60.00
40.00
20.00
0.00
14.00
12.00
10.0
8.00
6.00
4.00
2.00
0.00
25.00
75.00
125.00
175.00
225.00
275.00
375.00
時間(分鐘)

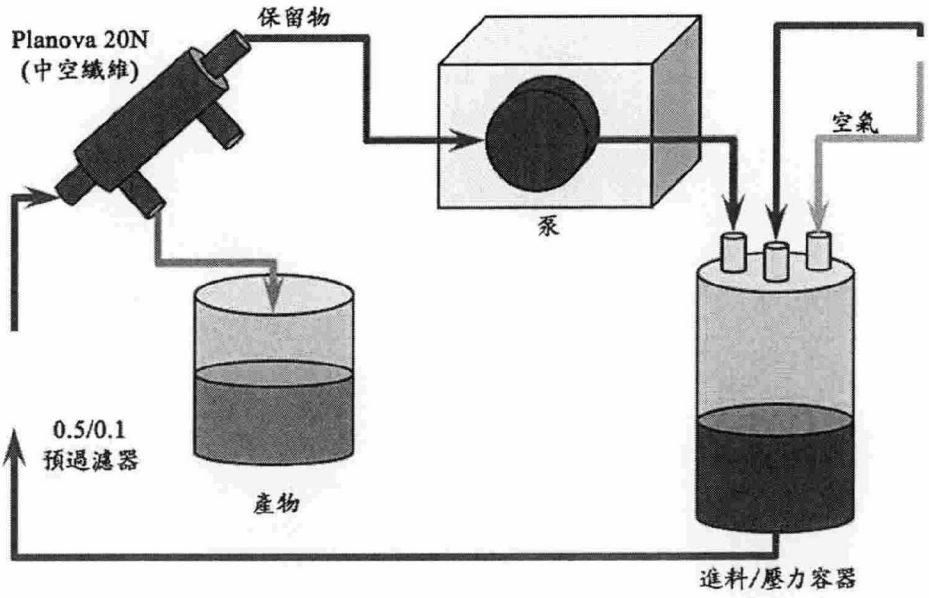
第8圖


流量(LMH)
濃縮因子(倍數)
環路體積(mL)
滲透體積
TMP (bar)
流量(LMH)/體積(mL)
TMP (bar)/濃縮因子(倍數)/DV
120.00
100.00
80.00
60.00
40.00
20.00
0.00
12.00
10.00
8.00
6.00
4.00
2.00
0.00
25.00
75.00
125.00
175.00
225.00
275.00
時間(分鐘)

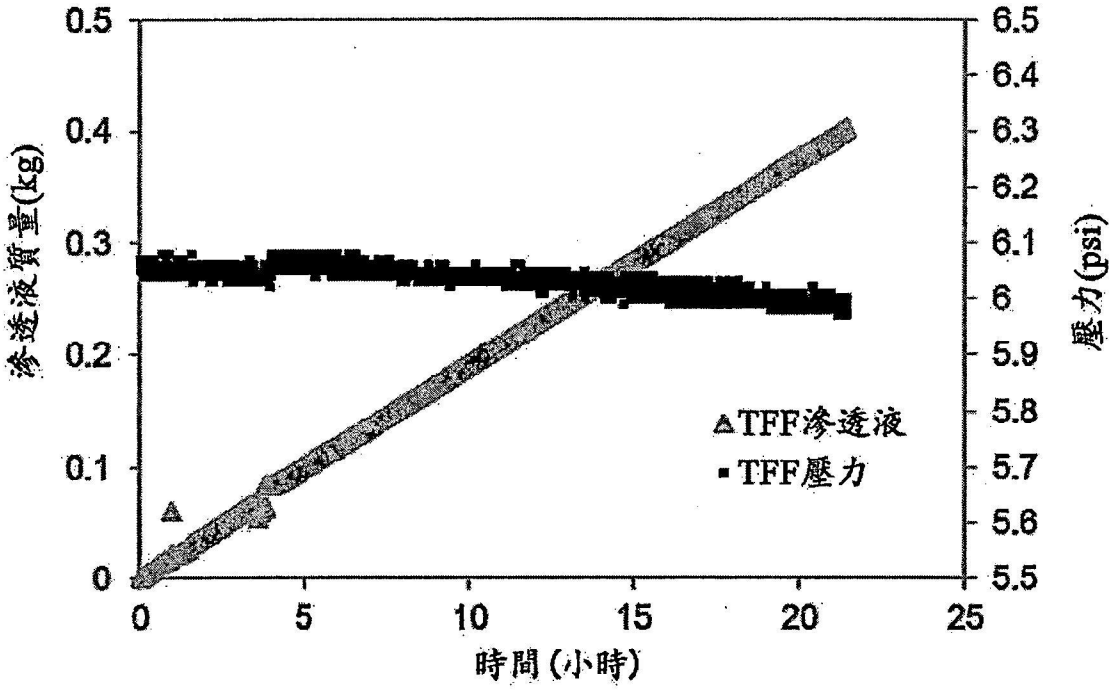
第9圖



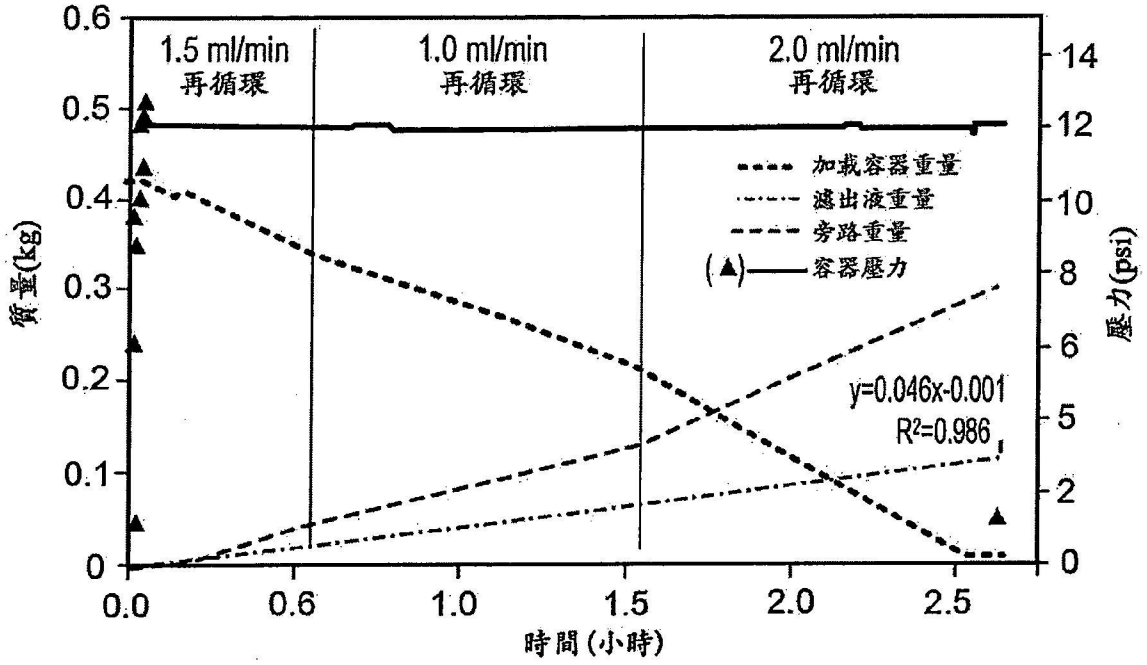
第10圖



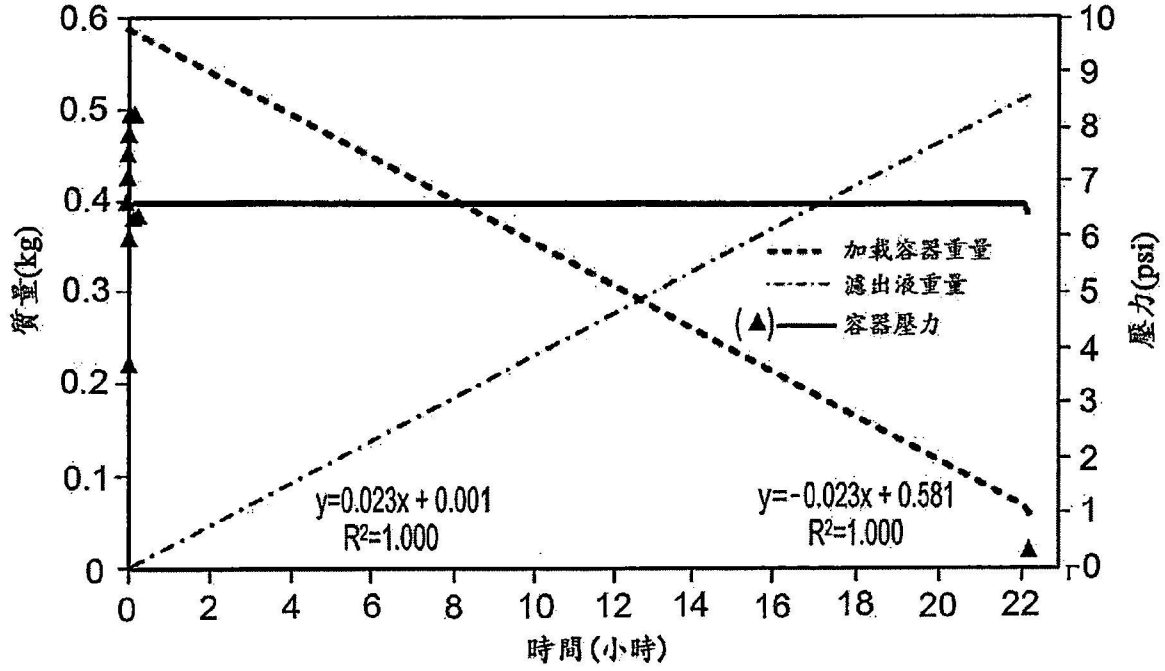
第11圖


0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0
滲透液質量(kg)
6.5
6.4
6.3
6.2
6.1
6
5.9
5.8
5.7
5.6
5.5
壓力(psi)
0
5
10
15
20
25
時間(小時)
△TFF滲透液
▪TFF壓力

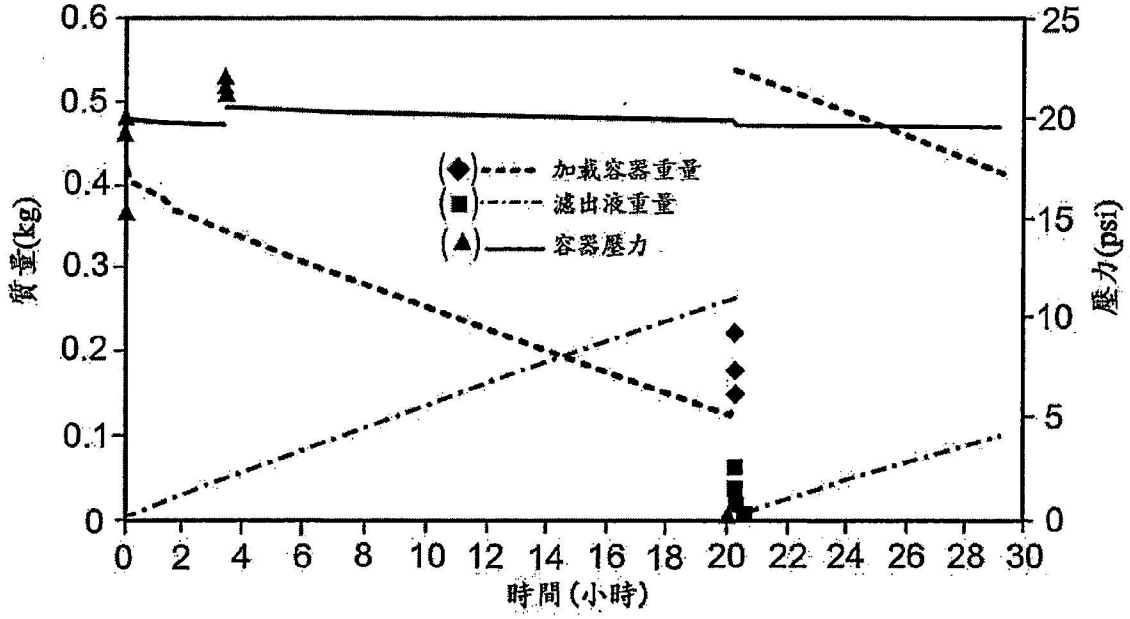
第12圖


1.5 ml/min
再循環
1.0 ml/min
再循環
2.0 ml/min
再循環
加載容器重量
濾出液重量
旁路重量
(▲)——容器壓力
y=0.046x-0.001
R²=0.986
質量(kg)
壓力(psi)
時間(小時)
0.0
0.6
1.0
1.5
2.0
2.5
0
0.1
0.2
0.3
0.4
0.5
0.6
0
2
5
6
8
10
12
14

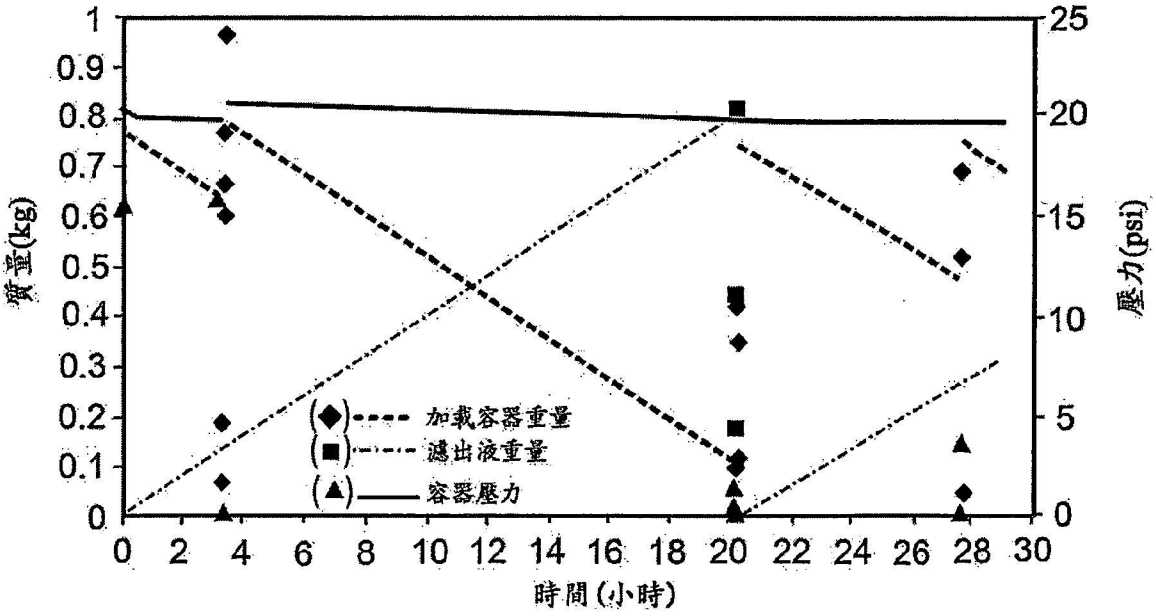
第13圖


加載容器重量
濾出液重量
(▲)——容器壓力
y=0.023x + 0.001
R²=1.000
y=-0.023x + 0.581
R²=1.000
質量(kg)
壓力(psi)
時間(小時)
0
2
4
6
8
10
12
14
16
18
20
22
0
0.1
0.2
0.3
0.4
0.5
0.6
0
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10

第14圖


0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0
質量(kg)
25
20
15
10
5
0
壓力(psi)
(◆)---- 加載容器重量
(■)-·-·- 濾出液重量
(▲)—— 容器壓力
0 2 4 6 8 10 12 14 16 18 20 22 24 26 28 30
時間(小時)

第15圖


1
0.9
0.8
0.7
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0
質量(kg)
25
20
15
10
5
0
壓力(psi)
(◆)---- 加載容器重量
(■)-·-·- 濾出液重量
(▲)—— 容器壓力
0 2 4 6 8 10 12 14 16 18 20 22 24 26 28 30
時間(小時)

第16圖