



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0050232
(43) 공개일자 2022년04월22일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
B01D 61/14 (2006.01) B01D 61/22 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
B01D 61/142 (2013.01)
B01D 61/22 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2022-7011789(분할)
- (22) 출원일자(국제) 2018년11월01일
심사청구일자 없음
- (62) 원출원 특허 10-2020-7013242
원출원일자(국제) 2018년11월01일
심사청구일자 2020년05월08일
- (85) 번역문제출일자 2022년04월08일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2018/058660
- (87) 국제공개번호 WO 2019/094249
국제공개일자 2019년05월16일
- (30) 우선권주장
62/585,132 2017년11월13일 미국(US)

- (71) 출원인
이엠디 밀리포어 코포레이션
미국 매사추세츠 01803, 벌링턴, 서밋 드라이브 400
- (72) 발명자
구리치 엘리자베스 엠
미국 01803 매사추세츠주 벌링턴 서밋 드라이브 400 이엠디 밀리포어 코포레이션 내
굽타 아크샤트
미국 01803 매사추세츠주 벌링턴 서밋 드라이브 400 이엠디 밀리포어 코포레이션 내
루츠 허버트
미국 01803 매사추세츠주 벌링턴 서밋 드라이브 400 이엠디 밀리포어 코포레이션 내
- (74) 대리인
양영준, 김영

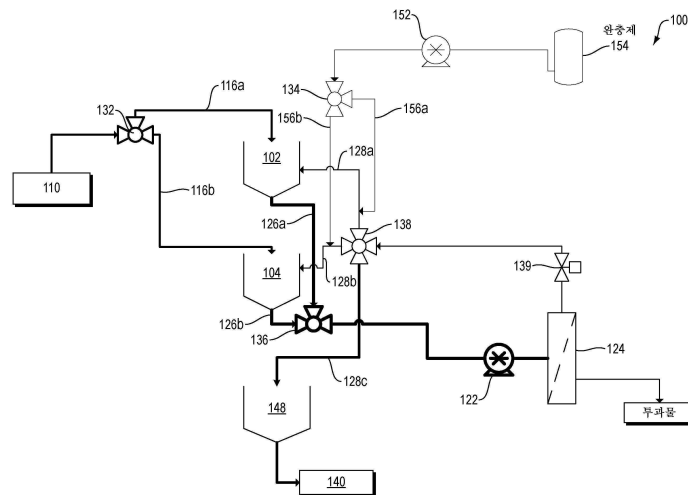
전체 청구항 수 : 총 1 항

(54) 발명의 명칭 탱크 사이클링에 의한 연속 정용여과

(57) 요약

액체 샘플을 여과하기 위한 공정 및 시스템이 제공된다. 액체 샘플의 배치는 둘 이상의 사이클링 탱크(예를 들어, 제1 및 제2 사이클링 탱크)로 보내질 수 있다. 제1 사이클링 탱크를 충전할 때, 액체 샘플의 제1 배치는 생성된 잔류물을 제1 사이클링 탱크로 또는 수집 베셀로 다시 보내는 것을 포함하는 연속 정용여과 공정에 의해 여과 어셈블리로 보내질 수 있다. 제2 사이클링 탱크를 충전할 때, 액체 샘플의 제2 배치는 생성된 잔류물을 제2 사이클링 탱크로 또는 수집 베셀로 다시 보내는 것을 포함하는 연속 정용여과 공정에 의해 여과 어셈블리로 보내진다. 액체 샘플의 배치의 충전, 연속 정용여과는 총 생성물 부피가 처리될 때까지 둘 이상의 사이클링 탱크 사이에서 교대로 계속된다.

대표도



(52) CPC특허분류

B01D 2311/04 (2013.01)
B01D 2311/08 (2013.01)
B01D 2311/12 (2013.01)
B01D 2311/25 (2013.01)
B01D 2313/18 (2013.01)
B01D 2313/48 (2013.01)
B01D 2313/50 (2013.01)
B01D 2315/10 (2013.01)
B01D 2315/14 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

액체 샘플의 제1 배치를 샘플 용기에서 제1 사이클링 탱크로 보내는 단계;

상기 제1 사이클링 탱크를 충전할 때, 상기 액체 샘플의 제1 배치를 액체 샘플의 제1 배치의 정용여과에 의해 생성된 잔류물을 제1 사이클링 탱크로 또는 농축 여과 어셈블리로 다시 보내는 것을 포함하는 연속 정용여과 공정에 의해 상기 제1 사이클링 탱크에서 정용여과 어셈블리로 보내는 단계;

상기 액체 샘플의 제1 배치의 정용여과 동안, 액체 샘플의 제2 배치를 상기 샘플 용기에서 제2 사이클링 탱크로 보내는 단계;

상기 제2 사이클링 탱크를 충전할 때, 상기 액체 샘플의 제2 배치를 액체 샘플의 제2 배치의 정용여과에 의해 생성된 잔류물을 제2 사이클링 탱크로 또는 상기 농축 여과 어셈블리로 다시 보내는 것을 포함하는 연속 정용여과 공정에 의해 제2 사이클링 탱크에서 상기 정용여과 어셈블리로 보내는 단계; 및

배치의 충전, 연속 정용여과, 및 액체 샘플의 배출을 총 생성물 부피가 처리될 때까지 제1 및 제2 사이클링 탱크 사이에서 교대로 계속하는 단계를 포함하는 액체 샘플을 여과하기 위한 공정의 용도.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 출원은 2017년 11월 13일에 출원된 미국 특허 가출원 제 62/585,132호의 우선권의 이익을 주장하며, 그 내용 전체가 본 명세서에 전체로서 포함된다.

배경 기술

[0002] 정용여과는 전형적으로 단백질, 펩타이드, 핵산, 또는 항체와 같은 표적 분자가 존재하는 바이오생산 샘플로부터 염, 그리고 임의로 다른 저분자량 종의 제거를 포함한다. 정용여과의 다른 용도는 생성물이 잔류물 또는 투과물(또는 둘 다)에 존재할 수 있는 정제를 포함한다. 정용여과는 바이오생산 공정 전반에 걸쳐 여러 단계에서 수행될 수 있지만, 이는 종종 완충제 종을 교환하고 표적 분자를 함유하는 최종 생성물 풀의 pH 및/또는 전도도를 변경하기 위해 이러한 공정의 최종 단계에서 수행된다.

[0003] 정용여과 동안, 교대의 및/또는 동시의 농축 및 희석 단계는 샘플로부터 염을 "세척"한다. 정용여과는 전형적으로 배치(batch) 작업(즉, 배치 정용여과)으로 수행되고, 여기서 샘플 부피는 여과 어셈블리를 통과하는 여러 번의 반복을 거치며, 여과 어셈블리로부터의 잔류물 스트림은 공급물 탱크로 다시 재순환되고, 새로운 완충 용액은 여과 동안 손실된 용매를 교체하기 위해 공급물 탱크로 유입된다. 샘플의 반복되는 여과는 최종 공정 조건이 충족될 때까지 계속되고, 이 시점에서 생성물이 시스템으로부터 회수된다. 대안적으로, 샘플 부피는 일련의 단일-통과(single-pass) 여과 어셈블리(즉, 인-라인(in-line) 정용여과)를 통해 이동할 수 있고, 각각의 여과 단계 사이에 완충 용액이 유입된다. 일련의 단일-통과 여과 단계로 정용여과를 수행함으로써, 정용여과 시스템으로의 샘플의 유입과 정용여과 시스템으로부터의 샘플의 유출이 연속적일 수 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0004] 요약

[0005] 배치 여과 공정 및 어셈블리를 사용하여 바이오생산 샘플(대안적으로 "생성물"로 지칭됨)의 연속적인 유입 및 유출이 달성될 수 있는 정용여과 방법 및 시스템이 제공된다. 이러한 방법 및 시스템은 연속적인 생산을 제공할 수 있지만, 인-라인 정용여과에 전형적으로 요구되는 것보다 적은 막 면적 및/또는 완충제 부피를 요구한다.

과제의 해결 수단

- [0006] 일 실시양태에서, 본 발명은 액체 샘플의 제1 배치를 샘플 용기(또는 공급원)로부터 제1 사이클링 탱크로 보내는 단계를 포함하는 액체 샘플을 여과하기 위한 공정에 관한 것이다. 제1 사이클링 탱크를 충전할 때, 제1 배치는 액체 샘플의 제1 배치의 정용여과에 의해 생성된 잔류물을 제1 사이클링 탱크 또는 농축 여과 어셈블리 또는 생성물 회수를 위한 베셀(vessel)으로 다시 보내는 단계를 포함하는 연속 정용여과 공정에 의해 제1 사이클링 탱크로부터 정용여과 어셈블리로 보내진다. 공정은 제1 배치가 정용여과를 거치는 동안, 액체 샘플의 제2 배치를 샘플 용기 또는 공급원으로부터 제2 사이클링 탱크로 보내는 단계를 추가로 포함한다. 제2 사이클링 탱크를 충전할 때, 액체 샘플의 제2 배치는 액체 샘플의 제2 배치의 연속 정용여과에 의해 생성된 잔류물을 제2 사이클링 탱크 또는 농축 여과 어셈블리 또는 생성물 회수를 위한 베셀으로 다시 보내는 단계를 추가로 포함하는 연속 정용여과 공정에 의해 제2 사이클링 탱크로부터 정용여과 어셈블리로 보내진다. 액체 샘플의 배치의 충전, 연속 정용여과, 및 액체 샘플의 배출은 총 생성물 부피가 처리될 때까지 제1 및 제2 사이클링 탱크 사이에서 교대로 계속된다.
- [0007] 모든 실시양태에서, 연속 정용여과 공정은 접선 유동 여과(TFF) 단계를 포함한다. 연속 정용여과 공정은 예를 들어, 일정 부피 정용여과 공정이거나 최적 부피 정용여과 공정일 수 있다. 추가로, 완충제 교환을 수행하기 위해 일련의 교대하는 농축 및 회석 단계를 사용하는 불연속 정용여과를 사용할 수 있다.
- [0008] 추가의 실시양태에서, 액체 샘플은 예컨대 단일-통과 접선 유동 여과(SPTFF) 공정에 의해 제1 또는 제2 사이클링 탱크로 전달되기 전에 농축될 수 있다. 공정은 잔류물을 후속 농축 여과 어셈블리로 전달하기 전에 잔류물을 액체 샘플의 제1 및 제2 배치로부터 홀딩(holding) 탱크로 교대로 보내는 단계를 임의로 추가로 포함할 수 있다. 각각의 배치의 정용여과에 의해 생성된 잔류물은 총 생성물 부피가 회수될 때까지 단일-통과 접선 유동 여과(SPTFF)에 의해서와 같은 농축 여과 어셈블리에 의해 교대로 여과될 수 있다. 공정은 제1 및 제2 사이클링 탱크 중 하나의 연속 정용여과 공정 동안에 제1 및 제2 사이클링 탱크 중 다른 하나를 세정하는 단계를 추가로 포함할 수 있다. 여과 어셈블리는 제1 또는 제2 정용여과 탱크의 충전 동안에 세정 및/또는 플러싱(flushing) 될 수 있다.
- [0009] 또 다른 추가의 실시양태에서, 공정은 액체 샘플의 제3 배치를 샘플 용기로부터 제3 사이클링 탱크로 보내고, 총 생성물 부피가 회수될 때까지 제1, 제2, 및 제3 사이클링 탱크 사이에서 액체 샘플의 배치의 연속 정용여과와 충전을 교대시키는 단계를 포함한다. 액체 샘플의 제3 배치는 액체 샘플의 제3 배치의 연속 정용여과에 의해 생성된 잔류물을 제3 사이클링 탱크 또는 농축 여과 어셈블리 또는 생성물 회수를 위한 베셀으로 다시 보내는 단계를 포함하는 연속 정용여과 공정에 의해 제3 사이클링 탱크로부터 제2 정용여과 어셈블리로 보내질 수 있다. 2개의 정용여과 어셈블리는 병렬로 작업하도록 구성될 수 있다.
- [0010] 다른 실시양태에서, 발명은 제1 및 제2 사이클링 탱크, 액체 샘플의 유동을 제1 또는 제2 사이클링 탱크로 유도하도록 구성된 제1 밸브, 연속 정용여과(CDF) 어셈블리, 액체 샘플의 유동을 제1 또는 제2 사이클링 탱크로부터 CDF 어셈블리로 유도하도록 구성된 제2 밸브, 정용여과 펌프, 완충 용액의 유동을 제1 또는 제2 사이클링 탱크로 되돌아가는 CDF 어셈블리의 잔류물로 유도하도록 구성된 제3 밸브를 포함하는 액체 샘플을 여과하기 위한 시스템에 관한 것이다. 시스템은 액체 샘플을 제1 및 제2 사이클링 탱크 중 하나에 교대로 유도하도록 제1 밸브를 토글링(toggling)하고, 그동안 연속 정용여과 공정을 통해 액체 샘플을 제1 및 제2 사이클링 탱크 중 다른 하나로부터 CDF 어셈블리로 유도하며, 완충 용액을 제1 및 제2 사이클링 탱크 중 다른 하나로 되돌아가는 잔류물로 보내는 제2 및 제3 밸브를 토글링하도록 구성되는 제어기(controller)를 추가로 포함할 수 있다.
- [0011] 일부 실시양태에서, CDF 어셈블리는 접선 유동 여과(TFF) 어셈블리를 포함한다. 시스템은 정용여과 전 및/또는 후에 샘플을 농축하기 위해 제1 및 제2 정용여과 탱크의 상류 및/또는 제1 및 제2 정용여과 탱크의 하류에 단일-통과 접선 유동 여과(SPTFF) 어셈블리를 추가로 포함할 수 있다. 시스템은 제1 및 제2 정용여과 탱크의 상류 또는 하류에 서지(surge) 부피를 함유하기 위한 수단 또는 홀딩 탱크를 추가로 포함할 수 있다.
- [0012] 추가의 실시양태에서, 시스템은 제어기가 CDF 어셈블리에서의 연속 정용여과 공정에서 제1, 제2, 및 제3 사이클링 탱크 중의 액체 샘플의 배치를 사이클링하도록 추가로 구성되는 제3 사이클링 탱크를 포함한다. 제1 CDF 어셈블리와 병렬로 작업되도록 구성되는 제2 CDF 어셈블리가 포함될 수 있다. 제어기가 제1 및 제2 CDF 어셈블리 둘 다에서의 연속 정용여과 공정에서 제1, 제2, 및 제3 사이클링 탱크 중의 액체 샘플의 배치를 사이클링 하도록 추가로 구성될 수 있다. 제3 사이클링 탱크를 넘어서는 추가의 사이클링 탱크는 주어진 용도에 실용적일 수 있는 한 많은 사이클링 탱크가 추가될 수 있다. 각각의 사이클링 탱크는 다른 사이클링 탱크가 CDF를 거치는

동안 상이한 기능(예를 들어, 불순물의 정용여과를 위한 상이한 완충제 또는 반응 화학)을 수행하도록 구성될 수 있다.

[0013] 또 다른 실시양태에서, 시스템은 정용여과 완충제 탱크를 포함한다. 정용여과 펌프는 정용여과 완충제 탱크 및 제1 및 제2 사이클링 탱크와 유체 연통되거나 잔류물을 제1 및 제2 사이클링 탱크로 유도하도록 구성된 유체 도관과 유체 연통될 수 있다. 시스템은 동일하거나 상이한 완충 용액을 가질 수 있는 다수의 정용여과 완충제 탱크를 추가로 포함할 수 있다. 제어기가 예를 들어, 유량, 탱크 레벨(level), 탱크 중량, 또는 다른 측정 가능한 파라미터일 수 있는 설정점을 유지하기 위해 정용여과 펌프에서 완충 용액의 유동을 제어하도록 추가로 구성될 수 있다. 시스템은 또한 제1 및 제2 사이클링 탱크 및 CDF 어셈블리와 유체 연통되는 공급물 펌프를 추가로 포함할 수 있고, 여기서 제어기가 예를 들어, 유량, 막 입구 압력, 막 압력 하락, 또는 다른 측정 가능한 파라미터일 수 있는 설정점을 유지하기 위해 공급물 펌프에서 액체 샘플의 유동을 제어하도록 추가로 구성될 수 있다.

[0014] 또 다른 추가의 실시양태에서, 시스템의 유체 접촉 유동 경로는 폐쇄 시스템을 생성하기 위해 멸균 또는 살균되고, 감마선 조사, ETO, NaOH 또는 다른 방법을 사용하여 멸균/살균되고, 튜브 용접 또는 무균성 커넥터를 사용하고 및 바이오버든(bioburden) 제어를 위해 연속 정용여과 시스템으로의 입구 및 출구 라인 상에 멸균 필터를 사용하여 무균성 연결된 멸균/살균 어셈블리를 포함한다.

발명의 효과

[0015] 배치 여과 공정 및 어셈블리를 사용하여 바이오생산 샘플(대안적으로 "생성물"로 지칭됨)의 연속적인 유입 및 유출이 달성될 수 있는 정용여과 방법 및 시스템이 제공된다. 이러한 방법 및 시스템은 연속적인 생산을 제공할 수 있지만, 인-라인 정용여과에 전형적으로 요구되는 것보다 적은 막 면적 및/또는 완충제 부피를 요구한다.

도면의 간단한 설명

[0016] 상기 내용은, 유사한 참조 부호가 상이한 도면에 걸쳐 동일한 부분을 지칭하는 첨부 도면에 도시된 바와 같이, 하기 예시적인 실시양태의 보다 구체적인 설명에 의해 명백해질 것이다. 도면은 반드시 축적대로 도시된 것이 아니며, 대신에 실시양태를 도시할 때 강조된다.

도 1은 연속 정용여과 공정을 여전히 달성하면서 최소의 부품을 포함하는 본 발명의 연속 정용여과 시스템의 개략도이다.

도 2는 플러싱 및 세정 작업을 위한 추가 장비를 포함하고, 또한 연속 정용여과 전후 둘 다에 어떻게 SPTFF 유닛 작업이 배치될 수 있는지의 예시를 제공하는 본 발명의 연속 정용여과 시스템의 다른 예시에 대한 개략도이다.

도 3a 내지 3n은 도 2의 시스템에서의 연속 정용여과 공정의 단계를 도시한다.

도 4는 제3 사이클링 탱크를 포함하는 연속 정용여과 시스템의 다른 예의 개략도이다.

도 5는 공급물 플럭스(flux) 대 펌프 통과, 및 TFF 필터의 병렬 구성을 사용한 소형 배치 실험 결과의 요구되는 면적/유량의 그래프이다.

도 6은 공급물 플럭스 대 펌프 통과, 및 TFF 필터의 직렬 구성을 사용한 소형 배치 실험 결과의 요구되는 면적/유량의 그래프이다.

도 7은 포워드-모드 회수 공정을 도시하는 개략도이다.

도 8은 리버스-모드 회수 공정을 도시하는 개략도이다.

도 9는 2개의 사이클링 탱크를 갖는 실험적인 정용여과 시스템을 도시하는 개략도이다.

도 10은 실험적인 제1 연속 정용여과 사이클의 시간 경과에 따른 압력, 막횡단 압력, 생성물 회수 UV-판독, 및 투과물/완충제 소모 부피의 변화를 나타내는 그래프이다.

도 11은 4회의 실험적인 연속 정용여과 사이클의 시간 경과에 따른 압력, 막횡단 압력, 생성물 회수 UV-판독, 및 투과물/완충제 소모 부피의 변화를 나타내는 그래프이다.

도 12는 동일한 막 상의 4회의 연속 DF의 사이클의 TMP 및 누적 투과물 부피 대 정용여과 시간의 그래프이다.

도 13은 도 9 내지 12에 기술된 실험에서 수행된 4회의 연속 정용여과 사이클의 사이클 변동성 결과의 표이다.

도 14는 도 9 내지 13의 4회의 연속 정용여과 사이클의 수율 및 질량 균형 결과의 표이다.

도 15는 도 9 내지 14의 4회의 연속 정용여과 사이클 후 세정 없이 얻은 막 투과도의 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

정의

- [0017] 다르게 정의되지 않는 한, 본 명세서에 사용된 모든 기술 및 과학 용어는 본 발명이 속하는 분야의 통상의 기술자에 의해 일반적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는다.
- [0018] 본 명세서에서 사용된 바와 같이, 단수 형태는 문맥상 명확하게 다르게 지시하지 않는 한 복수형을 포함한다.
- [0019] "연속 정용여과 공정" 또는 "CDF 공정"은 본 명세서에서 정용여과 어셈블리로 및 그로부터의 최소한으로 중단되지 않은 유입 및 유출과 함께 투과물을 제거하고 완충체를 첨가함으로써 액체 샘플의 완충체 교환이 발생하는 공정을 지칭하기 위해 사용된다.
- [0020] "연속 정용여과 어셈블리" 또는 "CDF 어셈블리"는 본 명세서에서 연속 정용여과 공정에서 사용하기 위해 구성되고 하나 이상의 여과 모듈(예를 들어, TFF 어셈블리)을 포함하는 여과 어셈블리를 지칭하기 위해 사용된다.
- [0021] "TFF 어셈블리" 및 "TFF 시스템"은 본 명세서에서 유체가 시스템의 여과 모듈에서 여과막의 표면을 따라 접선 방향으로 이동하는 접선 유동 여과 어셈블리를 지칭하기 위해 상호교환적으로 사용된다.
- [0022] "SPTFF 어셈블리" 및 "SPTFF 시스템"은 본 명세서에서 유체가 시스템을 한번 통과하는 단일-통과 모드에서 작업하도록 구성된 단일-통과 접선 유동 여과 시스템을 지칭하기 위해 상호교환적으로 사용된다.
- [0023] "여과 어셈블리"는 하나 이상의 여과 유닛 또는 여과 모듈, 예를 들어(포함하지만 이에 제한되지는 않음), 카세트(cassette), 나선형 필터(spiral-wound filter), 캡슐, 또는 중공섬유 필터(hollow-fiber filter)를 포함하는 어셈블리를 지칭한다. 여과 어셈블리는 병렬로 또는 직렬로 작업하는 하나 이상의 여과 유닛 또는 여과 모듈을 포함할 수 있다. 직렬 작업은 이전 모듈의 잔류물이 후속 모듈의 공급물이 되는 모듈을 지칭한다.
- [0024] "카세트"는 적층된 여과(예를 들어, 한외여과 또는 정밀여과) 막 시트(들)를 포함하는 카트리지(cartridge) 또는 평판 필터 엘리먼트(element)를 지칭한다.
- [0025] "나선형 필터 엘리먼트"는 여과막 시트(들)과, 임의로, 중심 코어 주위에 권취된 분리기 재료(separator material)를 포함하는 필터 엘리먼트를 지칭한다.
- [0026] "캡슐"은 홀더 없는 카트리지 내의 여과 재료 또는 여과막 시트(들)의 매트릭스(matrix)를 포함하는 여과 엘리먼트를 지칭한다.
- [0027] "중공섬유 필터 엘리먼트"는 여과막 튜브 번들을 포함하는 필터 엘리먼트를 지칭한다.
- [0028] "여과막"은 여과 공정(예를 들어, TFF 공정, 정용여과 공정)에서 공급물을 투과물 스트림과 잔류물 스트림으로 분리하기 위한 선택적 투과막을 지칭한다. 여과막은 한외여과(UF)막, 정밀여과(MF)막, 역삼투(RO)막, 및 나노여과(NF)막을 포함하지만 이에 제한되지는 않는다.
- [0029] 용어 "한외여과막" 및 "UF막"은 일반적으로 약 1 나노미터 내지 약 100 나노미터 범위의 기공(pore) 크기를 갖는 막으로 정의되거나, 다르게는 달톤(Dalton)의 단위로 표현되고 MWCO로 약칭되는 막의 "분자량 컷오프"에 의해 정의된다. 다양한 실시양태에서, 본 발명은 약 1,000 달톤 내지 1,000,000 달톤 범위의 MWCO 등급을 갖는 한외여과막을 이용한다.
- [0030] 용어 "정밀여과막" 및 "MF막"은 본 명세서에서 약 0.1 마이크로미터 내지 약 10 마이크로미터 사이 범위의 기공 크기를 갖는 막을 지칭하기 위해 사용된다.
- [0031] 용어 "공급물", "공급물 샘플" 및 "공급물 스트림"은 여과되기 위해 여과 모듈로 전달(예를 들어, 연속적으로, 배치로서)되는 용액을 지칭한다. 여과를 위해 여과 모듈로 전달되는 공급물은, 예를 들어, 시스템 내부 또는 외부의 공급물 용기(예를 들어, 베셀, 탱크)로부터의 공급물일 수 있거나 정용여과 시스템 상류의 선행 여과 모듈로부터 튜브 내에서 흐르는 잔류물일 수 있다.
- [0032] "생성물"은 공급물 샘플 내의 표적 화합물을 지칭한다. 전형적으로, 생성물은 단일 클론 항체(mAb)와 같은 관

심 생체분자(예를 들어, 단백질)일 것이다. 이는 잔류물 또는 투과물에 존재할 수 있거나, 둘 다에 존재할 수 있다.

- [0034] 용어 "여과"는 일반적으로 막을 사용하여 공급물 샘플을 투과물과 잔류물의 2개의 스트림으로 분리하는 작용을 지칭한다.
- [0035] 용어 "투과물" 및 "여과물"은 막을 통하여 투과된 공급물의 일부분을 지칭한다.
- [0036] 용어 "잔류물"은 막에 의해 잔류된 용액의 일부분을 지칭하며, 잔류물은 잔류되는 종이 풍부한 스트림이다.
- [0037] "공급물 라인" 또는 "공급물 유로"는 공급원(예를 들어, 공급물 용기)으로부터 여과 어셈블리 내의 하나 이상의 처리 유닛으로 공급물을 이송하기 위한 도관을 지칭한다.
- [0038] "잔류물 라인" 또는 "잔류물 유로"는 잔류물을 운반하기 위한 여과 어셈블리 내의 도관을 지칭한다.
- [0039] "투과물 라인" 또는 "투과물 유로"는 투과물을 운반하기 위한 여과 어셈블리 내의 도관을 지칭한다.
- [0040] 용어 "복수"는 본 명세서에서 처리 유닛을 기술하는데 사용되는 경우, 둘 이상의 처리 유닛(예를 들어, 둘 이상의 여과 유닛)을 지칭한다.
- [0041] "유체 연결된"은 액체가 하나의 부품으로부터 다른 부품으로 유동할 수 있도록 하나 이상의 도관(예를 들어, 공급물 유로, 잔류물 유로, 투과물 유로)에 의해 연결되는 여과 어셈블리의 둘 이상의 부품을 지칭한다.
- [0042] "처리"는 관심 생성물을 함유하는 공급물을 여과하고(예를 들어, TFF에 의해) 후속적으로 농축된 또는 정제된 형태의 생성물을 회수하는 작용을 지칭한다.
- [0043] "사이클 탱크" 또는 "사이클링 탱크"는 본 명세서에서 예를 들어 일회용 또는 다회용이며 플라스틱, 유리, 또는 금속으로 이루어질 수 있는, 유체를 저장하도록 구성된 그리고 예를 들어, 통상적인 배치 탱크, 백 및 일회용 백을 포함하는 보유 유체를 혼합하기 위해 내부 믹서를 수용하거나 포함할 수 있는 베셀을 지칭하기 위해 사용된다. 사이클 탱크 또는 사이클링 탱크는 또한 공급물의 서지 부피를 포획할 수 있고 분리된 별개의 부품일 필요가 없도록 공급물 라인 또는 공급물 유로에 일체로 구성될 수 있다. 여기에 기술된 탱크는 성능 효율을 달성하기 위해 우수한 혼합을 나타내는 것이 바람직하다. 이는 예를 들어, 내부 믹서의 사용 및/또는 혼합을 돕기 위한 잔류물 유동 입구 및 탱크의 설계에 의해 달성될 수 있다. 정용여과물은 탱크에 직접 첨가될 수 있지만, 합쳐진 유체가 탱크에 유입되기 전에 잔류물 라인에 첨가되는 것이 바람직하다.
- [0044] 본 명세서에서 "펌프"는 유체에 압력차를 적용하여 중력 유동을 유도하는 것과 같이 유동을 부여하도록 구성된, 예를 들어 다이어프램(diaphragm) 펌프, 연동 펌프, 자기 부상 펌프를 포함하는 장치 및 방법을 지칭하기 위해 사용된다.
- [0045] "막간 차압 하락"은 여과막에 걸친 모듈 평균 압력 하락이다.
- [0046] "교차 유동"은 여과 모듈의 입구와 출구 사이의 잔류물 유량이다. 달리 언급하지 않는 한, "교차 유동"은 평균 교차 유동을 지칭한다.
- [0047] "투과물 플럭스"는 여과 모듈의 투과물 유로에서의 투과물의 면적 정규화된 유량(예를 들어, Liters/hr/m², LMH)을 지칭한다.
- [0048] "교차 유동 플럭스"는 여과 모듈의 공급물 유로에서의 잔류물의 면적 정규화된 유량(예를 들어, Liters/min/m², l mm)을 지칭한다.
- [0049] "밸브"는 유체 유동을 멈추고 시스템 도관을 통해 유체 유동을 다시 유도하는 방법 또는 어셈블리를 지칭한다. 이는 개방 시스템의 탱크 사이에서 물리적으로 움직이는 튜브, "핀칭(pinching)" 튜브, 온-오프 밸브, 제어 밸브 및 멀티포트 밸브를 포함할 수 있다.
- [0050] 예시적인 실시양태의 설명은 다음과 같다.
- [0051] *연속적인 생산을 위한 정용여과 시스템 및 방법*
- [0052] 바이오제약 산업에서, 정용여과는 전통적으로는 샘플이 여러 번의 반복 여과를 거치고, 여러 번의 반복에 걸쳐 완충제 교환이 점진적으로 발생하는 배치 공정으로 수행된다. 전통적인 배치 정용여과는 샘플이 여러 번의 반복 여과를 거치는 동안 정용여과 시스템으로의 및 시스템으로부터의 생성물의 유입과 유출이 중단되는, 본질적으로 불연속적인 생산 공정이다. 바이오제약 산업이 여러 유닛 작업(예를 들어, 관류 생산 및 수확, 관류 크로

마토그래피, 단일-통과 농축)을 위한 연속적인 처리로 이동함에 따라, 생성물의 연속적인 유입 및 유출을 제공할 수 있는 정용여과 방법 및 시스템에 대한 필요성이 존재한다. 인-라인 정용여과가 생성물의 연속적인 유입과 유출을 제공할 수 있지만, 이러한 시스템은 바람직하지 않게 큰 막 면적과 완충제 부피를 요구하고 cGMP 환경에서 다수의 유동이 균형을 이루도록 작업하기 매우 어려워진다. 바람직하지 않게 큰 막 면적 및 완충제 부피를 필요로 하지 않고 작업하기 쉬운, 연속적인 생산 공정에서 정용여과를 수행할 수 있는 정용여과 시스템 및 방법에 대한 필요성이 존재한다.

[0053] 통상적인 배치 정용여과는 전형적으로 다수의 펌프 통과를 통한 단백질 분해를 최소화하고, 바이오버튼을 관리하고, 배치 생산 라인이 시간과 균형을 이루어 전-처리 및 후-처리 작업 단계를 허용하도록 수 시간 동안만 수행된다. 사이클링의 사용은 균형 생산 라인으로의 연속 작업, 감소된 면적 요건을 위한 막의 더 긴 이용을 가능하게 하고, 무균 또는 살균 부품을 갖는 소형 시스템이 상당한 복잡성을 추가하지 않으면서 바이오버튼을 관리할 수 있게 한다.

[0054] 본 발명에 따른 방법 및 시스템에서, 배치 정용여과는 둘 이상의 사이클링 탱크에 의해 제공되는 공급물 샘플 사이의 작업 사이클링과 함께, 완충제 교환을 수행하기 위한 코어 작업으로서 수행될 수 있다. 이와 같이, 총 배치 부피의 다수의 분량이 정용여과에 제공되어 정용여과 시스템으로의 및 정용여과 시스템으로부터의 생성물의 연속적인 유입과 유출이 발생한다. 이러한 정용여과 시스템은 예를 들어, SPTFF, 반응, 크로마토그래피, 정화 및/또는 바이러스 여과 유닛 작업 사이의 상류 또는 하류에 존재하는 임의의 공정 또는 유닛 작업 사이에 배치될 수 있다. 다수의 이러한 정용여과 시스템은 직렬로 또는 병렬로 수행될 수 있으며, 크로마토그래피 비드, 세포 기질 또는 흡착 중합체와 같은 결합된 생성물을 포함할 수 있고, 생성물은 분리 및 잔류를 용이하게 하기 위해 막을 사용하여 수행되고 순차적으로 흡착, 세척, 용리, 및 재생되는 일련의 연속적인 단계를 거치게 된다.

[0055] 정용여과 시스템(100)의 일 예가 도 1에 도시되어 있고, 제1 및 제2 사이클링 탱크(102, 104) 및 연속 정용여과 어셈블리(124)를 포함한다. 각각의 사이클링 탱크(102, 104)는 유체 도관(116a, 116b)에 의해 샘플 용기(110)에 연결된다. 샘플 용기(110)는 상류 위치로부터 샘플을 저장 또는 보내도록 구성된 임의의 베셀일 수 있다. 샘플 용기(110)는 또한 상류 공정에 연결된 큰 부피를 보유하도록 크기가 구성된 일정 길이의 유체 도관일 수 있다.

[0056] 정용여과 시스템(100)은 밸브(132, 134, 136, 138)를 추가로 포함한다. 샘플 밸브(132)는 샘플이 제1 사이클링 탱크(102) 또는 제2 사이클링 탱크(104)로 보내지도록 유체 도관(116a, 116b) 중 하나를 통해 샘플의 유동을 제어할 수 있도록 토글링될 수 있다. 완충제 밸브(134)는 완충 용액이 제1 사이클링 탱크(102) 또는 제2 사이클링 탱크(104)로 전달되도록 유체 도관(156a, 156b) 중 하나를 통해 완충제 용기(154), 정용여과 펌프(152)로부터의 완충 용액의 유동을 제어하도록 토글링될 수 있다. 공급물 밸브(136)는 제1 또는 제2 사이클링 탱크(102, 104)로부터 연속 정용여과 어셈블리(124)로의 유체 도관(126a, 126b)를 통한 샘플 용액의 유동을 제어하도록 토글링될 수 있다. 마지막으로, 잔류물 밸브(138)는 유체 도관(128a, 128b) 중 하나를 통해 사이클링 탱크(102, 104)로 되돌아가거나 유체 도관(128c)을 통해 시스템을 빠져나가도록 연속 정용여과 어셈블리(124)를 빠져나가는 잔류물의 유동을 유도하기 위해 토글링될 수 있고, 임의로 생성물 용기(140)를 통과하기 전에 홀딩 탱크(148) 내에 저장될 수 있다. 생성물 용기(140)는 잔류물이 최종 형태로 포획되어 최종 사용자에게 의해 사용되기 위한 최종 충전 단계일 수 있다. 임의로 잔류물 압력 제어 밸브(139)는 연속 여과 어셈블리(124)와 잔류물 밸브(138) 사이에 위치한다.

[0057] 정용여과 시스템(200)의 다른 예가 도 1의 모든 부품을 가진 채로 도 2에 도시되어 있다. 추가로, 이 예에서, 제1 여과 펌프(112)와 제1 여과 어셈블리(114)는 샘플 용기(110)와 사이클링 탱크(102, 104) 사이에 임의로 위치한다. 제2 여과 펌프(142)와 제2 여과 어셈블리(144)는 생성물 용기(140)와 탱크(102, 104) 사이의 사이클링 탱크(102, 104)의 하류에 임의로 위치한다.

[0058] 전-정용여과 준비 및 후-정용여과 세정 부품이 시스템(200) 내에 임의로 포함될 수 있다. 예를 들어, 전-정용여과 준비와 관련하여, 물(예를 들어, 역삼투 탈이온화(RODI) 물)과 재생 용액(예를 들어, 세제, 효소, 산, 염기 등)을 저장하기 위한 용기(180, 182)는 완충제 및 재생 용액의 유동을 연속 여과 어셈블리(124)로 선택적으로 보내는 제1 세정 밸브(172)와 유체 연통된다. 또한, 제2 및 제3 세정 밸브(174, 176)가 연속 여과 어셈블리(124)로의 또는 연속 여과 어셈블리(124)로부터의 세정 용액의 유동을 유도하도록 포함될 수 있다.

[0059] 밸브(132, 134, 136, 138)는 도 2에 점선으로 도시된 바와 같이 임의로 제어기(160)에 연결된다. 제어기(160)는 아래에서 추가로 기술되는 바와 같이 밸브(132, 134, 136, 138)를 토글링하도록 구성될 수 있다. 제어기(160)는 또한 제1 및 제2 여과 펌프(112, 142), 공급물 펌프(122), 정용여과 펌프(152), 및 잔류물 압력 제어

밸브(139) 중 임의의 것의 작업을 제어할 수 있다. 제어기(160)는 또한 임의로 세정 밸브(172, 174, 176)를 포함하는 세정 부품을 제어할 수 있다. 제1 및 제2 여과 펌프(112, 142), 공급물 펌프(122), 정용여과 펌프(152), 잔류물 압력 제어 밸브(139), 및 세정 밸브(172, 174, 176)로부터 제어기(160)로의 연결이 또한 도 2에 점선으로 표시되어 있다. 제어기(160)는 예를 들어, 샘플의 압력, 중량, 부피, 유동, 시간, 및/또는 농도 판독을 제공하는 장치의 부품에 위치한 센서로부터 정보를 수신하여 추가로 정용여과 공정을 모니터링할 수 있다. 예를 들어, 중량 센서는 사이클링 탱크(102, 104) 또는 홀딩 탱크(148)에 포함될 수 있고; 밸브(132, 134, 136, 138, 172, 174, 176)에 또는 그 근처에 위치한 센서는 압력, 유량, 및/또는 유체 부피의 판독을 제공할 수 있다. 도 1의 개략도와 관련하여 명료함을 위해, 이러한 센서 및 그것의 제어기(160)에 대한 각각의 연결은 도시되지 않지만, 센서가 부품 사이에 위치한 유체 도관을 포함하여 시스템의 임의의 부품에 또는 그 근처에 위치할 수 있음을 이해해야 한다. 제어기(160)는 정용여과의 개시, 완충제 첨가 속도 및 부피, 회수 플러시 시간, 및 세정, 플러싱, 완전성 검사, 재생 공정을 포함하는 시스템의 다른 공정을 제어하기 위해 구성될 수 있다.

[0060] 스위칭 밸브 또는 멀티포트 밸브일 수 있는 밸브(132, 134, 136, 138)의 구성은 정용여과 어셈블리(124)가 연속적으로 작동되는 동안, 주 생성물 유동이 충전, 정용여과, 생성물 회수 작업 사이에서 사이클링될 수 있게 한다.

[0061] 도 3a 내지 3n은 도 2의 시스템(200)을 사용한 연속 정용여과 공정의 예를 도시한다. 굵은 화살표(301a, 301b)(도 3a)에 의해 도시된 바와 같이, 임의로 초기 전-사용 막 플러싱 작업이 수행될 수 있다. 특히, 제1, 제2, 및 제3 세정 밸브(172, 174, 176)는 연속 여과 어셈블리(124)를 통해 용기(180)로부터의 물의 유동을 유도하기 위해 토글링된다. 잔류물 밸브(138)가 유체 도관(128a, 128b, 128c)을 따라 폐쇄되고 세정 밸브(176)가 개방된 상태에서, 물은 막 플러시 후에 시스템(200)을 빠져나가도록 유도된다. 추가로, 굵은 화살표(302a, 302b)(도 3b)에 의해 도시된 바와 같이, 선택적인 사용 전 막 평형화 작업이 정용여과 전에 수행될 수 있다. 특히, 제1, 제2 및 제3 세정 밸브(172, 174, 176)는 용기(154)로부터의 완충 용액의 유동을 연속 여과 어셈블리(124)를 통해 유도하도록 토글링된다.

[0062] 정용여과 공정의 개시 시, 굵은 화살표(303a)(도 3c)에 의해 도시된 바와 같이, 밸브(132)는 샘플 용기(110)로부터 제1 사이클링 탱크(102)로 생성물의 유동을 유도하도록 토글링된다. 임의로, 샘플 용액으로 탱크를 충전하기 전에 또는 동시에 완충 용액의 유동은 제1 사이클링 탱크로 유입될 수 있다. 농축 단계는 정용여과 이전에 샘플을 농축하기 위해 제1 여과 어셈블리(114)에 의해 임의로 수행될 수 있다. 도 3c 내지 3n에서 알 수 있는 바와 같이, 정용여과 공정 개시 시에, 정용여과 시스템(200)으로의 유입은 샘플이 처리의 완료에 근접할 때까지 연속적으로 유지될 수 있다.

[0063] 일단, 제1 사이클링 탱크(102)가 샘플의 제1 배치의 정용여과가 시작되기에 충분한 부피를 포함하면, 굵은 화살표(303b)(도 3d)에 의해 도시된 바와 같이, 밸브(132)는 샘플의 유동의 방향을 제2 사이클링 탱크(103)로 변화시키기 위해 토글링되고, 동시에 제1 배치의 정용여과가 시작된다. 굵은 화살표(304a)에 의해 도시된 바와 같이, 특히 밸브(136, 138)는 정용여과 어셈블리(124), 및 제1 사이클 탱크(102)로의 그리고 그로부터의 샘플의 제1 배치의 유동을 보내도록 토글링된다. 제1 배치의 정용여과 동안, 굵은 화살표(304b)에 의해 도시된 바와 같이 밸브(134)는 완충 용액을 제1 사이클링 탱크(102)로 또는 제1 사이클링 탱크로 이어지는 유체 도관으로 유도하도록 토글링된다. 도 3d 내지 3n으로부터 이해되는 바와 같이, 정용여과의 개시 시에 정용여과 어셈블리(124)는 샘플이 처리의 완료에 근접할 때까지 연속 작업으로 유지될 수 있다.

[0064] 일단 샘플의 제1 배치에 대해 처리 조건이 충족되면, 굵은 화살표(305)(도 3e)에 의해 도시된 바와 같이, 샘플은 생성물 회수가 시작될 때까지 저장을 위해 홀딩 탱크(148)로 보내진다. 홀딩 탱크(148)와 여과 어셈블리(144)에 의한 샘플의 임의의 후속 여과는 선택적이다. 샘플은 대안적으로 유체 도관에 의해 다음 처리 또는 회수 단계로 직접적으로 보내질 수 있다. 샘플의 제1 배치의 생성물이 홀딩 탱크(148)로 보내짐에 따라, 굵은 화살표(303b)에 의해 도시된 바와 같이, 시스템(200)으로의 샘플의 유동이 제2 사이클링 탱크(104)로 계속된다. 굵은 화살표(306a, 306b)(도 3f)에 의해 도시된 바와 같이, 그리고 아래에서 추가로 기술되는 바와 같이, 샘플의 제1 배치의 생성물의 회수는 완충제 플러시를 임의로 포함할 수 있다.

[0065] 샘플 배치의 정용여과 사이에서, 아래에서 추가로 기술된 바와 같이, 굵은 화살표(307a, 307b)(도 3g)에 의해 도시된 바와 같이, 사이클링 탱크(102)는 임의로 세척될 수 있다.

[0066] 일단 제2 사이클링 탱크(104)가 샘플의 제2 배치의 정용여과가 시작되기에 충분한 부피를 포함하면, 굵은 화살표(303a)(도 3h)에 의해 도시된 바와 같이, 밸브(132)가 샘플의 유동 방향을 제1 사이클링 탱크(102)로 다시 되돌리도록 토글링되고, 동시에 제2 배치의 정용여과가 시작된다. 굵은 화살표(308a)에 의해 도시된 바와 같이,

특히 밸브(136, 138)는 정용여과 어셈블리(124), 및 제2 사이클 탱크(102)로의 그리고 그로부터의 샘플의 제2 배치의 유동을 보내도록 토글링된다. 제2 배치의 정용여과 동안, 굵은 화살표(308b)에 의해 도시된 바와 같이 밸브(134)는 완충 용액을 제2 사이클링 탱크(104)로 또는 제1 사이클링 탱크로 이어지는 유체 도관으로 유도하도록 토글링된다.

- [0067] 일단 샘플의 제2 배치에 대해 처리 조건이 충족되면, 굵은 화살표(309)(도 3i)에 의해 도시된 바와 같이, 샘플은 추가의 생성물 회수 단계가 시작될 때까지 저장을 위해 홀딩 탱크(148)로 보내진다.
- [0068] 일단 홀딩 탱크(148)가 생성물 회수가 시작되기에 충분한 부피를 포함하면, 굵은 화살표(310)(도 3i)에 의해 도시된 바와 같이, 샘플의 유동은 홀딩 탱크(148)로부터 제2 여과 펌프(142) 및 제2 여과 어셈블리(144)를 통해 용기(140)로 보내진다. 도 3i 내지 3n으로부터 이해되는 바와 같이, 홀딩 탱크(148)에서 생성물 회수의 개시 시에, 정용여과 시스템(200)에서의 유출은 샘플 처리가 완료될 때까지 연속적으로 유지될 수 있다.
- [0069] 굵은 화살표(311a, 311b)(도 3j)에 의해 도시된 바와 같이, 샘플의 제1 배치와 마찬가지로, 샘플의 제2 배치의 생성물의 회수는 완충제 플러시를 임의로 포함할 수 있다. 샘플 배치의 정용여과 사이에서, 굵은 화살표(312a, 312b)(도 3k)에 의해 도시된 바와 같이, 사이클링 탱크(104)는 임의로 세척될 수 있다.
- [0070] 임의로, 굵은 화살표(313a 내지 313d)(도 3l)에 의해 도시된 바와 같이, 정용여과 어셈블리(124)가 완충제, 물, 및/또는 재생 용액으로 플러싱 및/또는 백플러싱되는 샘플 배치의 정용여과 사이에 빠른 막 재생 공정(rapid membrane regeneration process)이 수행될 수 있다. 이러한 재생 공정은 시스템으로부터의 유입과 유출의 중단 없이 발생할 수 있고, 샘플의 유입이 사이클링 탱크 중 하나(예를 들어, 도 3l의 굵은 화살표(303a)에 의해 도시된 바와 같이 제1 사이클링 탱크(102)로)로 계속하여 보내질 수 있으며 샘플의 유출은 홀딩 탱크(148)로부터 계속하여 보내질 수 있다(굵은 화살표(310)에 의해 도시된 바와 같이).
- [0071] 일단 샘플의 제2 배치의 정용여과와 임의의 선택적인 완충제 플러싱 또는 재생 공정이 완료되면, 샘플의 제3 배치의 정용여과가 시작되고, 굵은 화살표(304a, 304b)(도 3m)에 의해 도시된 바와 같이, 샘플이 제1 사이클링 탱크(102)로부터 보내지고 완충 용액이 제1 사이클링 탱크(102)로 보내진다. 시스템은 사이클 탱크(102, 104) 사이의 샘플의 배치의 연속 정용여과와 충전을 교대로 계속한다. 이러한 사이클링 동안에, 정용여과 어셈블리(124)는 연속적으로 작업할 수 있다. 추가로, 시스템으로의 및 그로부터의 유입 및 유출은(굵은 화살표 303a, 303b, 및 310에 의해 도시된 바와 같이) 또한 연속적일 수 있다.
- [0072] 도 3n에 도시된 바와 같이, 샘플의 모든 배치의 정용여과가 완료에 근접하면 시스템으로의 유입과 여과 어셈블리(124)의 작업이 중단될 수 있지만, 생성물의 회수는 완료될 수 있다.
- [0073] 정용여과 시스템(100, 200)이 2개의 사이클링 탱크(102, 104)와 1개의 홀딩 탱크(148)를 포함하는 것으로 도시되어 있지만, 다른 구성도 가능하다. 예를 들어, 3개, 4개, 5개, 또는 그 초과와 사이클링 탱크가 시스템에 포함될 수 있다. 추가로, 상기 언급된 바와 같이, 홀딩 탱크의 포함은 선택적이다. 정용여과 시스템의 대안적인 구성이 도 4에 도시되어 있다. 정용여과 시스템(300)은 제3 사이클링 탱크(106)를 포함한다. 밸브(134a, 136a, 138a)는 3개의 사이클 탱크(102, 104, 106) 중 임의의 것으로/으로부터 완충제 스트림, 공급물 스트림, 및 잔류물 스트림을 각각 보내도록 구성된다. 시스템(300)은 3개의 사이클 탱크(102, 104, 106) 중 임의의 것으로부터의 샘플의 유동을 제어하도록 구성된 출구 밸브(146)를 추가로 포함한다. 이와 같이, 사이클 탱크(102, 104, 106) 중 임의의 것은 정용여과 전 또는 후에 샘플의 배치를 저장할 수 있고, 정용여과 공정은 3개의 탱크 사이에서 사이클링될 수 있다.
- [0074] 시스템(100, 200, 300)은 임의로 추가적인 정용여과 어셈블리를 추가로 포함할 수 있고, 따라서 탱크 사이의 사이클링 외에, 정용여과 공정이 정용여과 어셈블리 사이에서 병렬로 작업될 수 있고/거나 사이클링될 수 있다.
- [0075] 일 실시양태에서, 본 발명에 따른 시스템은 접선 유동 여과(TFF) 어셈블리인 연속 정용여과 어셈블리를 포함한다. TFF 어셈블리는 카세트, 나권형 필터 엘리먼트, 캡슐, 또는 중공섬유 필터 엘리먼트를 포함할 수 있다. TFF는 완충제 교환을 수행하기 위한 효율적인 방법을 제공하는 동시에 또한 동일한 유닛 작업에서의 샘플의 농축을 가능하게 한다. 이와 같이, TFF는 정용여과 공정에서 사용하기에 유리하다.
- [0076] 다른 실시양태에서, 본 발명에 따른 시스템은 정용여과 전/후에 샘플을 농축하기 위해 정용여과 어셈블리(예를 들어, 여과 어셈블리(114, 144))의 상류 및/또는 하류에 위치한 TFF 어셈블리를 포함한다. 이러한 TFF 어셈블리는 단일-통과 TFF 어셈블리(SPTFF)일 수 있다. SPTFF 어셈블리와 정용여과 후에 이것을 사용하는 방법은 아래에 추가로 기술될 바와 같이, 완충제 플러싱 공정의 사용을 통해 더 높은 생성물 회수가 유리하게 가능하게

한다. 완충제 플러싱 공정에서 최종 SPTFF 단계 없이, 회수된 생성물은 과량의 완충제에 의해 희석될 것이다.

- [0077] 실시양태에서, 본 발명에 따른 정용여과 시스템은 통상적인 배치 탱크, 펌프, 및 제어 밸브와 같은 표준 바이오 생산 장비를 포함한다. 시스템은 사이클링 탱크와 정용여과 어셈블리와 유체 연통되는 스위칭 밸브 및/또는 멀티포트 밸브를 추가로 포함하여, 정용여과 어셈블리가 연속적으로 작업하는 동안 주 생성물 유동이 충전, 정용여과, 및 생성물 회수 작업 사이에서 사이클링될 수 있도록 한다.
- [0078] 본 발명에 따른 시스템 및 방법은 유리하게는 연속적인 생산을 제공하면서 생성물의 더 적은 분량이 정용여과를 거치게 한다. 더 적은 분량을 정용여과함에 의해, 공정 시간 따라서 통과하는 펌프의 수도 전형적인 배치 정용여과 공정보다 작아질 수 있다. 펌프 및 여과 장비를 통해 이동하는 동안 생체분자가 손상될 수 있고 이는 낮은 생성물 수율을 초래할 수 있기에 샘플의 펌프 통과 수를 제한하는 것이 바람직하다. 추가로, 이러한 시스템 및 방법은 다른 처리 작업과 함께 인-라인으로 사용될 수 있으며, 또한 바이오프로세싱 작업을 위한 높은 완충제 교환 요건을 충족시킨다. 샘플을 다수의 분량으로 분할함으로써, 더 작은 사이클 탱크와 여과 어셈블리가 사용될 수 있고, 더 작은 시스템 풋프린트(footprint) 및 사이클 시간을 제공한다. 또한 연속적으로 작업하는 정용여과 어셈블리를 통해 순차적으로 생성물의 다수의 사이클을 수행함으로써, 전통적인 배치 정용여과에서 발생하는 배치 사이의 유희 시간이 제거된다. 정용여과 어셈블리의 연속 작업으로, 막 면적당 단백질 로딩이 증가될 수 있어서, 공정의 종료시에 막을 폐기하고, 결과적으로 세정 시간, 세정 용액, 및 재사용 및 재검증 노력을 제거하는 것이 특히 대규모 작업의 경우 경제적으로 실현 가능해진다.
- [0079] 실시양태에서, 더 많은 양의 생성물을 회수하도록 완충제 플러싱을 제공하기 위한 충분한 시간이 각각의 정용여과 사이클의 끝에 남는다(도 3f, 3j). 완충제 플러싱(백플러싱 또는 플러싱이라고도 지칭함)은 예를 들어, 완충 용액, 공기, 또는 중력 배수를 도입하여 정용여과 어셈블리의 막 또는 막 내에 위치하거나, 유체 도관/배관 내에 있는 추가적인 생성물을 현재 사이클 탱크로 밀어냄으로써 수행될 수 있다. 사이클 탱크의 내용물은 그 다음에 후속 유닛 작업을 위한 공급물로 제공된다. 대안적으로 샘플은 먼저 사이클 탱크로부터 펌핑되어 나오고, 그 다음에 완충 용액에 의해 별도의 생성물 수집 탱크로 보내질 수 있으며, 그 내용물은 후속적으로 다음 유닛 작업을 위한 공급물로 제공될 수 있다.
- [0080] 추가의 실시양태에서, 연장된 사이클링 작업에 걸쳐 일정한 정용여과 플럭스를 유지하는 것을 도울 수 있는 막 상에서 수행되는 신속 재생 사이클을 제공하기 위한 충분한 시간이 각각의 정용여과 사이클의 끝에 남는다. 신속 재생 사이클은 각각의 정용여과 사이클 후에 수행될 필요가 없을 수 있고, 주기적으로 또는 필요에 따라 적용될 수 있다.
- [0081] 또 다른 추가의 실시양태에서, 모든 정용여과 사이클 후, 시스템은 전체 또는 부분적으로 클린-인-플레이스(CIP) 절차를 거친다. 대안적으로 또는 추가적으로, 유체 도관 및 시스템 부품 전부 또는 일부가 교체된다. 예를 들어, 일회용 모듈을 포함하는 TFF 여과 어셈블리는 이러한 모듈이 제거되거나 폐기될 수 있게 하나, 일회용 백을 포함하는 사이클링 탱크는 이러한 백이 폐기되게 할 수 있다.
- [0082] 정용여과는 다양한 제어 방법에 의해 수행될 수 있다. 일 실시양태에서, 연속 정용여과 공정은 정용여과 전반에 걸쳐 샘플의 총 부피가 일정한 값으로 유지되는 일정-부피 정용여과 공정이다. 일정-부피 정용여과 공정에서 여과물이 제거되는 것과 동일한 속도로 완충제가 사이클 탱크로 첨가된다. 대안적으로 대량의 정용여과 완충제를 사이클 탱크에 첨가하고 특정 잔류물 부피에 도달할 때까지 샘플이 반복적인 농축 여과를 거치는 통상적인 배치 정용여과 공정이 수행될 수 있다. 특정 잔류물 부피에 도달하면, 추가적인 완충제가 첨가되며 공정은 바람직한 완충제의 총 부피가 첨가될 때까지 반복된다.
- [0083] 다른 실시양태에서, 본 발명에 따른 연속 정용여과 공정은 최적 정용여과 공정이다. 최적 정용여과 공정에서, 특정 용도에 대한 완충제 사용, 생성물 수율, 및 완충제 교환을 최적화하기 위해 생성물의 부피 및 농도가 공정 전반에 걸쳐 제어된 경로를 따라 변화할 수 있다. 최적 정용여과 공정은 예를 들어, 완충제 교환 외에, 핵산 생성물을 함유하는 샘플로부터 단백질을 분리하는 것을 포함하는 정용여과 공정과 같이 샘플에 부분적으로 잔류된 성분의 제거가 바람직한 작업에 특히 적합할 수 있다.
- [0084] 정용여과를 위한 제어 방법은 다양한 제어 전략에 의해 수행될 수 있다. 일 실시양태에서 연속 정용여과 공정은 TFF막 교차 유동 및 막횡단 압력(TMP)의 모니터링 및 조정에 의해 제어된다. TFF막 교차 유동은 공급물 유량, 잔류물 유량, 평균 교차 유동 유량, 및/또는 공급물 펌프에 대한 압력 하락 설정점을 조정함으로써 제어될 수 있다. TMP는 잔류물 압력 제어 밸브에 의해 또는 사이클 탱크에 적용되는 오버레이(overlay) 압력에 의해 제어될 수 있다. 정용여과 동안, 재순환 생성물 부피는 일정한 설정점(예를 들어, 일정-부피 정용여과) 또는

사이클 탱크 내의 생성물의 농축 및/또는 완충제 종을 최적화하는 알고리즘에 기초한 가변 설정점(예를 들어, 최적 정용여과)으로 제어될 수 있다. 부피 제어는 사이클 탱크와 연관된 레벨 프로브(level probe) 또는 로드 셀(load cell)에 의해 모니터링 될 수 있다. 대안적으로, 유량계, 토탈라이저(totalizer), 및/또는 계중기(weight scale)가 완충제 첨가 유량 및 투과물 제거 유량을 측정하기 위해 사용될 수 있다. 이러한 측정은 정용여과 공정을 모니터링할 수 있고, 예를 들어 펌프 속도를 조정하거나 밸브를 토글링하여 교차 유동과 TMP에 대한 조정을 수행할 수 있는 제어기(예를 들어 제어기(160))에 제공될 수 있다.

[0085] 정용여과에 대한 종말점 제어는 또한 다양한 종말점 제어 전략에 의해 수행될 수 있다. 일 실시양태에서, 정용여과 종말점은 시스템의 탱크 및 유체 도관에 또는 그 근처에 위치한 유동 토탈라이저 또는 계중기에 의해 측정된 첨가된 정용여과 완충제의 총 부피 및/또는 제거된 투과물의 총 부피에 기초할 수 있거나 시간 기반 측정에 기초할 수 있다. 다른 실시양태에서, 정용여과 종말점은 충분한 완충제 교환이 발생했음을 나타내는 투과물 또는 잔류물 스트림의 측정 가능한 특성에 기초하여 일어날 수 있다. 예를 들어, 정용여과 종말점은 TFF 또는 이온 교환 크로마토그래피 공정과 같은 다음 단계 전에 정용여과가 실행되어 전도도를 감소시키는 전도도 감소와 같은 용액 조정일 수 있다. 측정 가능한 특성의 예는 pH, 전도도, 굴절률, UV, 탁도, 입자 크기 측정, 또는 부형제, 불순물 또는 표적 생성물 농도의 라인 또는 인라인에서의 거의 실시간 직접 측정을 포함한다(예를 들어, 고성능 액체 크로마토그래피(HPLC) 또는 다른 분석 장비에 의해 측정됨).

[0086] 생성물 회수는 또한 다양한 회수 전략에 의해 수행될 수 있다. 일 실시양태에서, 공급물 펌프 및/또는 정용여과 펌프(예를 들어, 펌프(122, 152))에 대해 유량 및/또는 펌프 속도 설정점이 모니터링된다. 추가의 실시양태에서, 탱크 회수 종말점은 레벨, 중량, 및/또는 공기 센서로부터 얻어진 측정값, 측정된 부피 총계, 때에 알맞은 배수 지속 시간, 또는 탱크가 비어 있음을 감지하는 다른 수단에 기초하여 모니터링 및 제어된다.

[0087] 마지막으로, 완충제 플러시 회수는 다양한 회수 전략에 의해 제어될 수 있다. 일부 실시양태에서, 완충제 플러싱은 완충제 펌프 유량, 속도, 및/또는 배출 압력에 기초하여 모니터링 및 제어된다. 완충제 플러시 종말점은 플러시 지속 시간, 총 부피, 완충제 베셀 중량의 회수 베셀, 공기 센서, 또는 자외선(UV) 신호와 같은 단백질/완충 용액의 다른 측정 가능한 특성에 의해 일어날 수 있다.

[0088] 일부 실시양태에서, 완충제 교환을 수행하는 것 이외에, 연속 정용여과 시스템 및 방법은 또한 임의로 다른 샘플 성분으로부터 비교적 저분자량 종의 여과를 제공할 수 있다. 잔류된 성분으로부터의 필터-투과성 성분의 예는 단백질로부터의 염, 핵산으로부터의 단백질, 세포 또는 플록(floc)으로부터의 단백질 생성물, 세포로부터의 바이러스 및 숙주 세포 단백질, 단백질로부터의 리폴딩 시약(refolding reagent), 단백질로부터의 알코올, PEG화된 단백질로부터의 미반응 폴리에틸렌 글리콜(PEG), 항체 약물 접합체(ADC)로부터의 미반응 독소, 및 접합체 백신으로부터의 미반응 탄수화물을 포함한다.

[0089] 본 발명에 따른 시스템 및 방법은 분리하려는 분자에 따라 정밀여과, 한외여과, 역삼투, 또는, 나노여과에 의한 정용여과를 포함할 수 있다. 적합한 정용여과막의 특정 예는 바이오맥스[®]-30kD(Biomax[®]-30kD)막과 울트라셀[®]-30kD(Ultracel[®]-30kD)막(이엠티 밀리포어, 매사추세츠주 베드포드(EMD Millipore, Bedford, MA)) 또는 관심 성분을 잔류시키기 위한 다른 적합한 막 크기 컷오프를 포함한다.

[0090] 본 발명에 따른 시스템 및 방법에서 사용하기 위한 적합한 완충액의 예는 물, 정제된 물, 인산 완충 식염수(phosphate buffered saline, PBS), 아세테이트, 및 히스티딘을 포함한다.

[0091] 예시

[0092] 실시예 1: 소형 배치 처리의 실현 가능성

[0093] 샘플의 소형 배치 처리의 실현 가능성(대략 200 mL)은 직렬 또는 병렬로 배열된 1개 또는 2개의 막 장치를 사용하여 다양한 공급물 플럭스에서 표준 재순환 TFF 시스템을 통해 67 g/L 폴리클로날(polyclonal) IgG 용액의 정용여과를 수행하고, 완충제 교환의 8 투석부피(diavolume)를 달성하기 위해 요구되는 시간, 막 면적, 및 펌프 통과를 결정함으로써 실험실 벤치 규모로 입증되었다.

[0094] 공급물 플럭스의 함수로서 막 면적, 펌프 통과, 및 공급물 유량 사이의 절충이 병렬 장치에 대해 도 5에, 직렬 장치에 대해 도 6에 도시되어 있다. 병렬 구성의 총 수행 시간은 13.33시간/일이며, 동등한 배치 정용여과 시스템의 경우 3시간이었고, 면적은 4.4배 감소하였다. 정용여과를 위한 공급물 플럭스와 최적의 면적의 결정은 도 5의 직사각형 박스에 도시되어 있다. 동등한 배치 정용여과 시스템에 대한 공정 세부사항을 표 1에 나타내었다.

표 1

배치 프로세스 기준치

생물반응기 부피	200	L	
1일당 베셀 부피	1	Vvd	
역가(titer)	1.5	g/L	
정제 수율	85	%	
최종 UFDf 공급물 단백질 농도	20	g/L	
공급물의 부피	12.75	L	
1일당 UFDf 작업 시간	20	hrs	*1일당 4시간의 비작업시간을 가정
SPTFF I 공급물 유량	0.64	L/hr	*또는 10.6 ml/min
SPTFF I로부터의 단백질 농도	67	g/L	*현재의 최적 단백질 농도(C _{opt})에 기초
DF 시스템으로의 공급물 유량	3.2		
DF로의 공급물의 부피	190		*또는 0.190 L *1시간의 충전 시간을 가정
설치 면적	0.22	m ²	*현재 연구를 위한
공정 시간	3	Hrs	
6 mm에서의 투과물 플럭스	29.2	LMH	
배치 부피	3.8	L	
10 DV에 대한 DF 부피	38.1	L	
요구되는 면적	0.4345	m ²	
공급물 플럭스	6	lmm	
펌프 통과	123	통과	

[0096] 전형적인 배치 권장 사항보다 낮은 공급물 플럭스에서 직렬 또는 병렬 유동으로 수행되는 낮은 막 면적은 전형적으로 요구되는 펌프 통과 횟수의 0.3 내지 0.6에서 1일당 2 내지 4배 많은 kg/m²의 처리를 허용한다.

[0097] 실시예 2: 생성물 회수

[0098] 달성 가능한 회수율 대 회수에 요구되는 완충제 희석의 정도를 정량화하기 위해 포워드 모드(비-사이클링 생성물 수집 베셀로, 도 7) 및 리버스 모드(다시 동일한 사이클 재순환 베셀로, 도 8) 둘 다에서 생성물 회수를 평가하였다.

[0099] 단백질 농도의 희석이 대략 30 내지 50%인 4가지 구성 모두에서 수율은 98%를 초과하였다. 이러한 데이터는 표 2에 나타나있다.

표 2

[0100] 2 x 0.11 m² 펠리콘[®] 3 울트라셀 30kD C 스크린(Pellicon[®] 3 Ultracel 30kD C screen) 및 DF 농도= 67 g/L 의 4가지 구성의 생성물 회수

막 구성	회수 방향	회수(%)	폴 농도 (g/L)
병렬	포워드	98.3%	48.9
병렬	리버스	98.2%	46.56
직렬	포워드	98.2%	59.65
직렬	리버스	98.2%	43.9

[0101] 질량 균형은 하나의 사이클로부터 1% 미만의 잔류 단백질이 탱크에 남아 있음을 나타냈고, 이는 후속 사이클로의 캐리-오버(carry-over)가 문제가 되지 않게 가용 시간 윈도우 내에서 배수되도록 쉽게 플러싱될 수 있었다.

[0102] 실시예 3: 공정 성능 및 일관성

[0103] 사이클 사이에 세정이 없는 도 9에 도시된 2-사이클링 탱크 구성의 4회의 연속 사이클에 대해 공정 성능 및 일관성이 입증되었다. 각각의 사이클의 단계는 표 3에 나타나 있다. 결과는 도 10 내지 15에 도시되어 있다.

표 3

[0104] 연속 탱킹 사이클링 정용여과 단계

단계	종말점	단계 지속시간	유량 (ml/min)	코멘트
8 DV 정용여과	정용여과 완충제 =8 DV(1520 ml)	~32.5분	220 ml/min(1 lmm)	10 DV로의 증가는 ~8분을 추가하여 총 DF 시간을 38분으로 증가시킨다. 투과물 부피는 8 DV DF+시스템의 초기 완충제 홀드 업(~85 ml)~1600 ml만큼 더 높았다.
탱크 회수	탱크가 완전히 배수됨	~3분	50 ml/min	
완충제 회수	총 회수 탱크+완충제 회수=290 ml/min	~3분	50 ml/min	회수 연구로부터의 >98% 회수의 회수를 위한 최소 회석에 기초한 종말점
완충제 플러시	190 ml(1 DV)	~4분	50 ml/min	
총 사이클 시간		42.5분		10 DV에 대해 50.5분

[0105] 공급물 유동, 잔류물 압력, 탱크 레벨, 및 정용여과(DF) 완충제 첨가는 모두 4회의 사이클에 걸쳐 설정점으로 성공적으로 제어되었다.

[0106] 사이클 시간, 투석부피의 수, 수율, 최종 단백질 농도, 및 질량 균형은 4회의 사이클 모두에 걸쳐 일관되었다.

[0107] 화살표로 도 14의 셀에 반영된 바와 같이, 실험에 사용된 베셀은 대략 2 ml의 부피가 잔류하는 립(lip)을 가지며, 이는 탱크 회수 동안 회수될 수 없다. 이 실험에서, 부피는 사이클 1 및 2 후에 회수되지 않았고, 사이클 3 및 4에 캐리 오버되며, 따라서 사이클 3 및 4에서 탱크 잔류로서 나타난다. 이 부피를 사이클 3 및 4 후에 수집하였다. 사이클 수율을 계산하기 위해, 사이클 3 및 4 후에 수집된 부피는 사이클 1 및 2로 첨가하였다. 탱크 설계는 배수성을 개선하기 위해 최적화될 수 있거나, 완충제 첨가 회수 방법이 수행될 수 있다.

[0108] 사이클 사이에 세정이 수행되지 않았더라도 공정 플럭스의 열화는 관찰되지 않았으며, 이는 공정이 상당히 더 긴 지속시간 동안 유지될 수 있음을 나타낸다.

[0109] 본 명세서에서 인용된 모든 특허, 공개 출원 및 참고문헌의 교시는 전문이 본 참조로 포함된다.

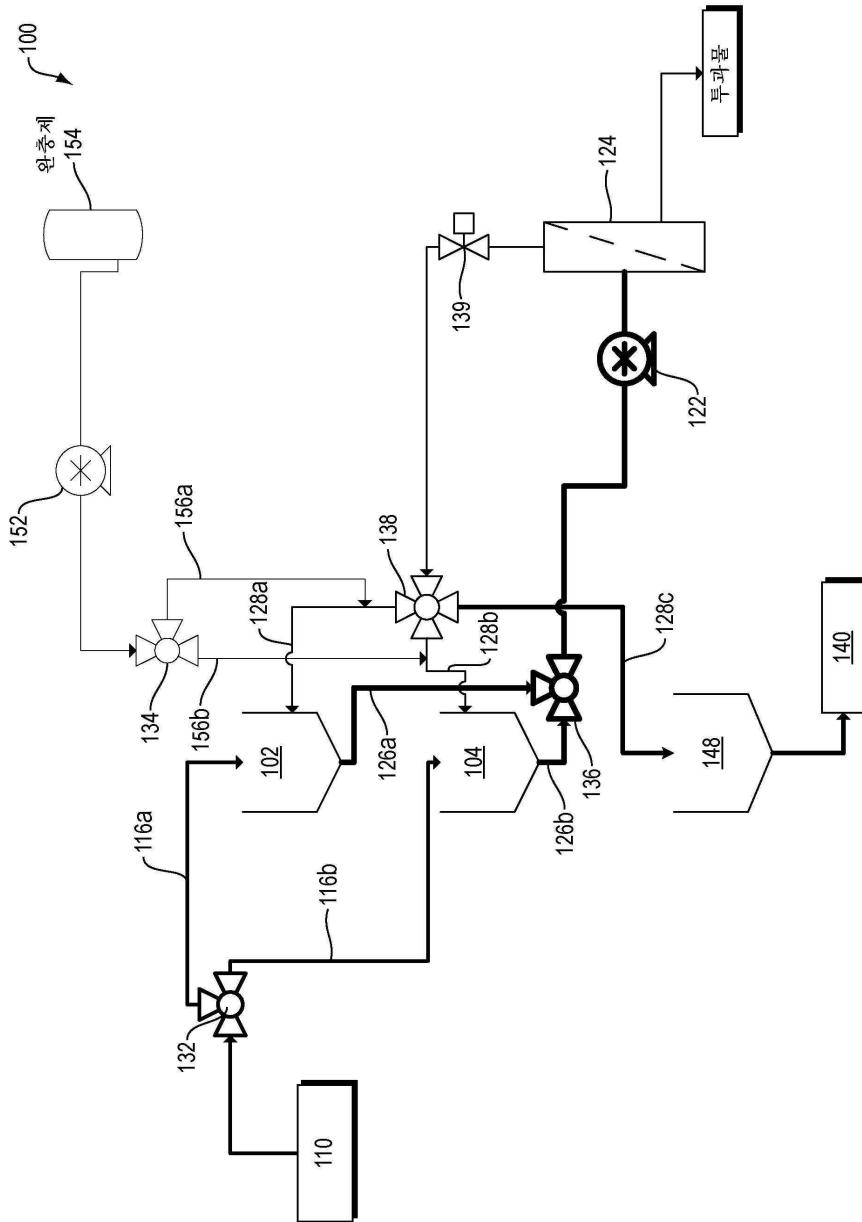
[0110] 예시적인 실시양태가 구체적으로 도시되고 기술되었지만, 당 업자는 첨부된 청구범위에 의해 포함된 실시양태의 범위를 벗어나지 않으면서 형태 및 세부사항의 다양한 변화가 그 안에 만들어질 수 있음을 이해하여야 한다.

부호의 설명

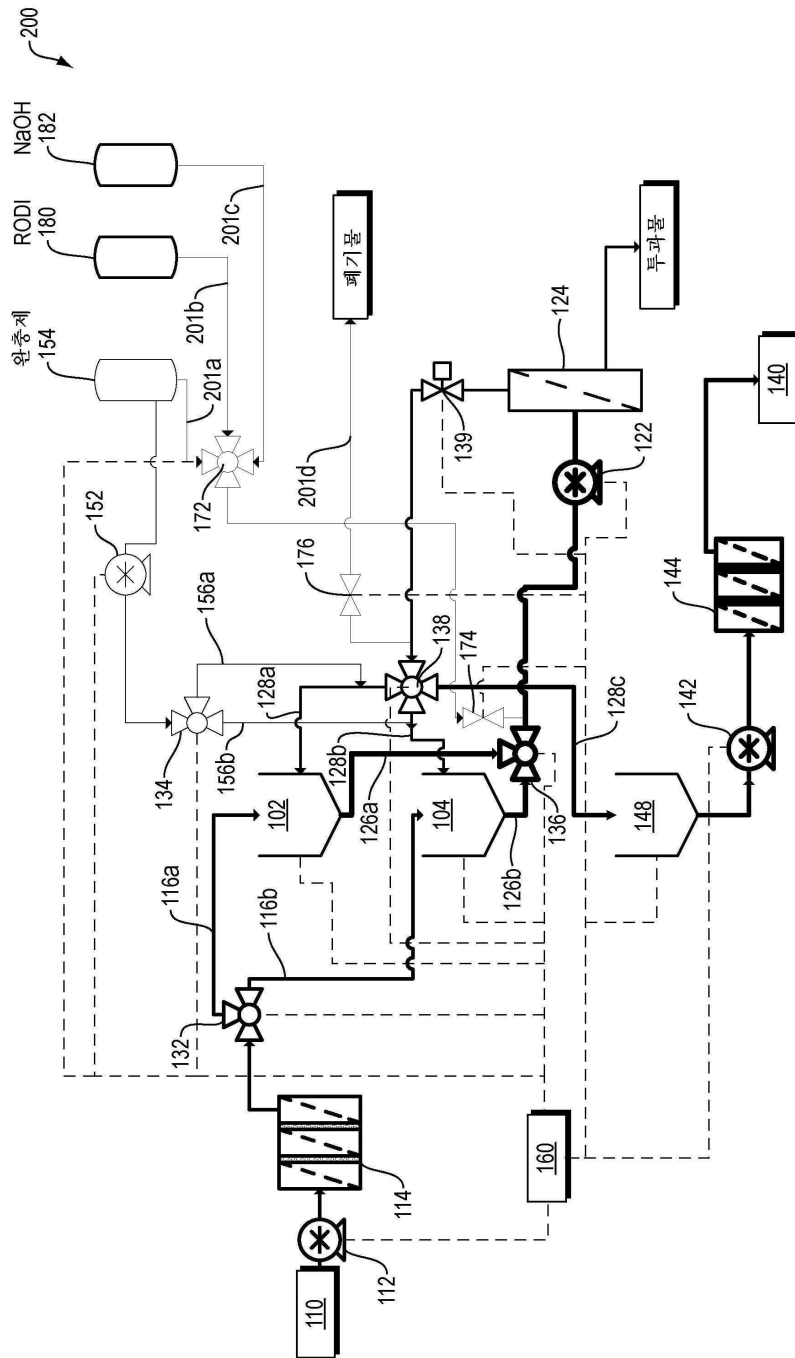
[0111] 100: 정용여과 시스템, 102: 제1 사이클링 탱크, 104: 제2 사이클링 탱크, 110:샘플 용기, 116a, 116b: 유체 도관, 122: 공급물 펌프, 124: 연속 정용여과 어셈블리, 126a, 126b, 128a, 128b, 128c: 유체 도관, 132: 샘플 밸브, 134: 완충제 밸브, 136: 공급물 밸브, 138: 잔류물 밸브, 139: 잔류물 압력 제어 밸브, 140: 생성물 용기, 148: 홀딩 탱크, 150a, 150b: 유체 도관, 152: 정용여과 펌프, 154: 완충제 용기

도면

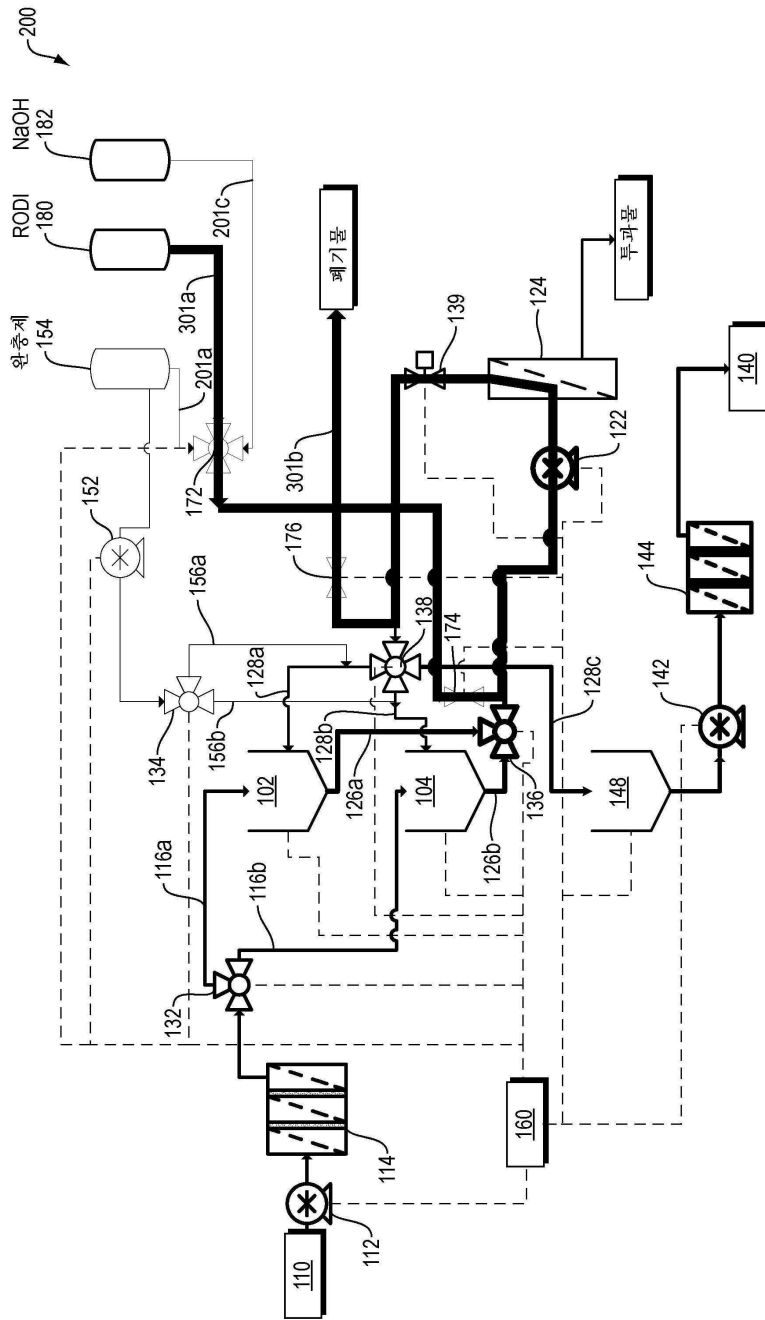
도면1



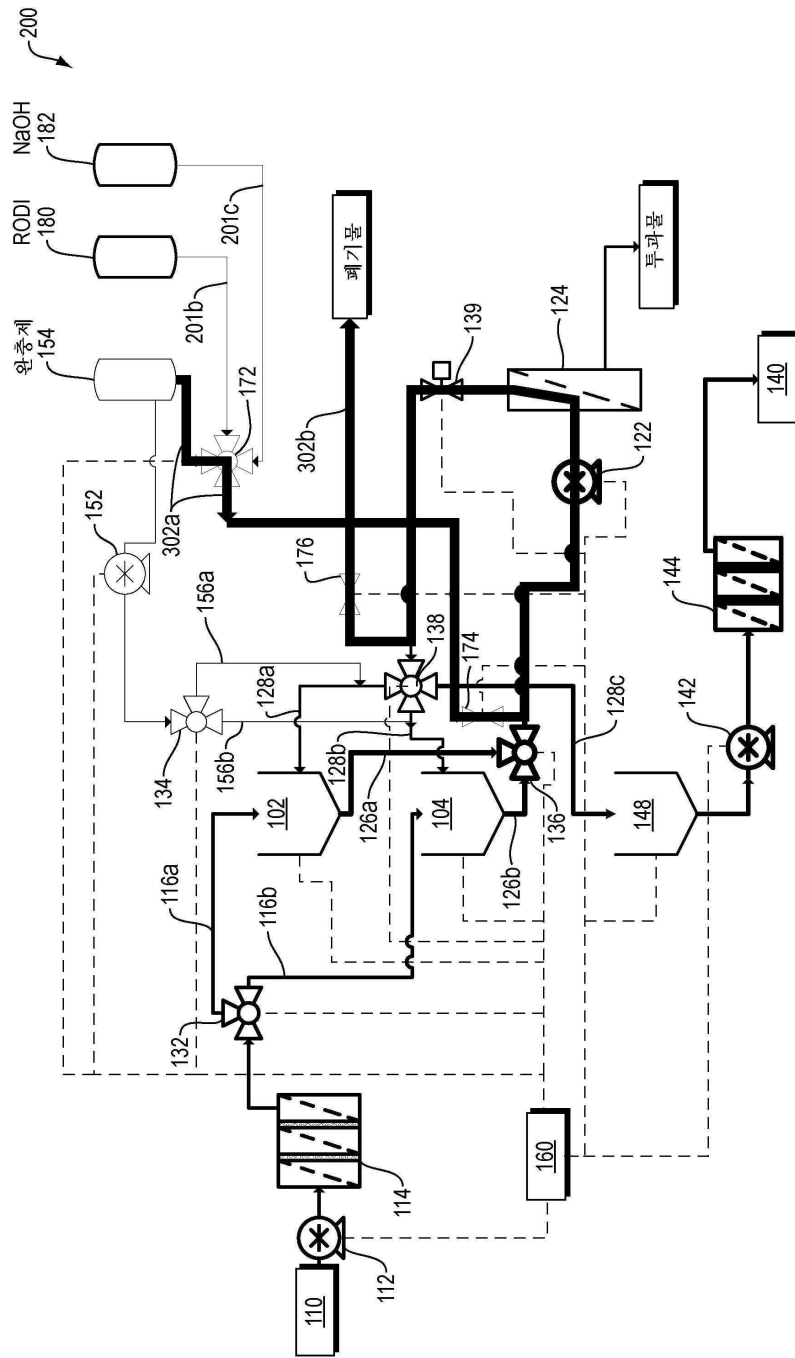
도면2



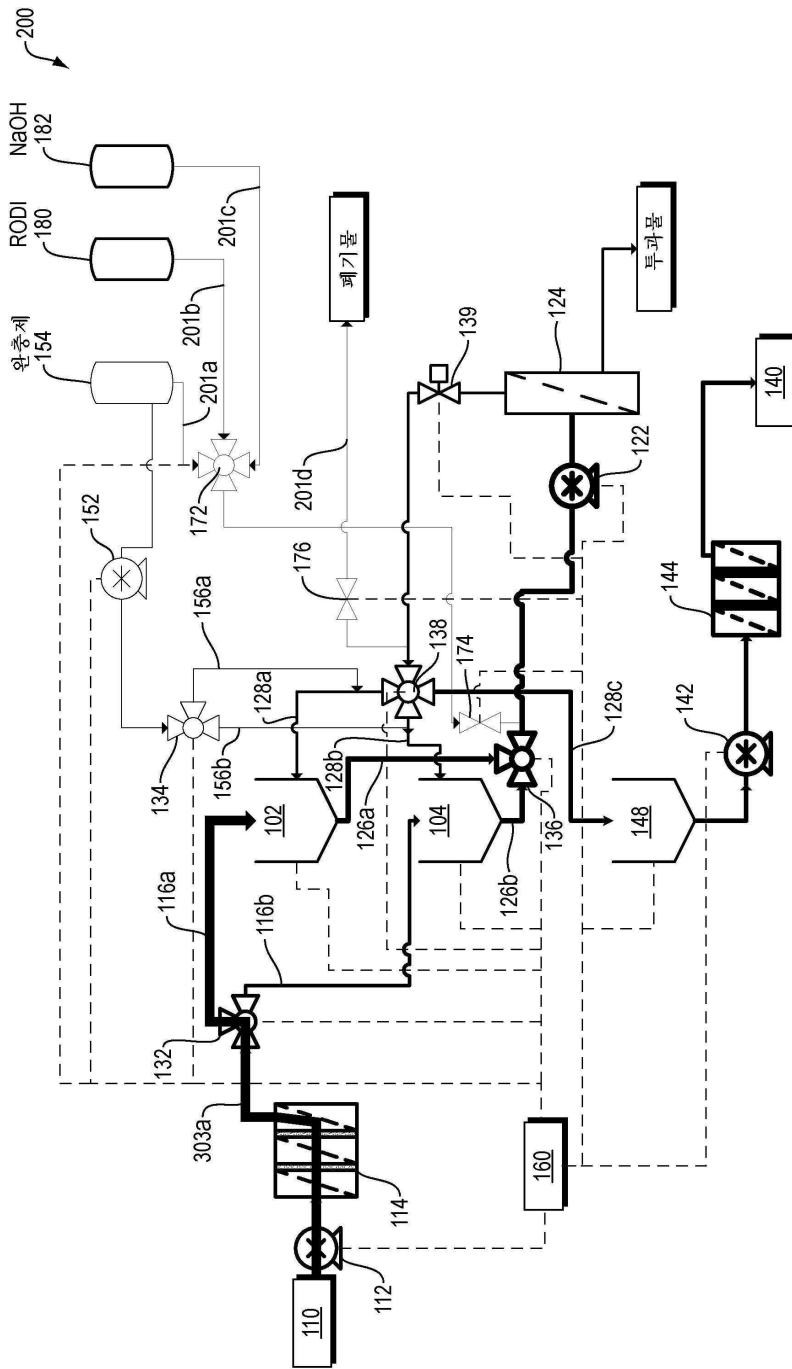
도면3a



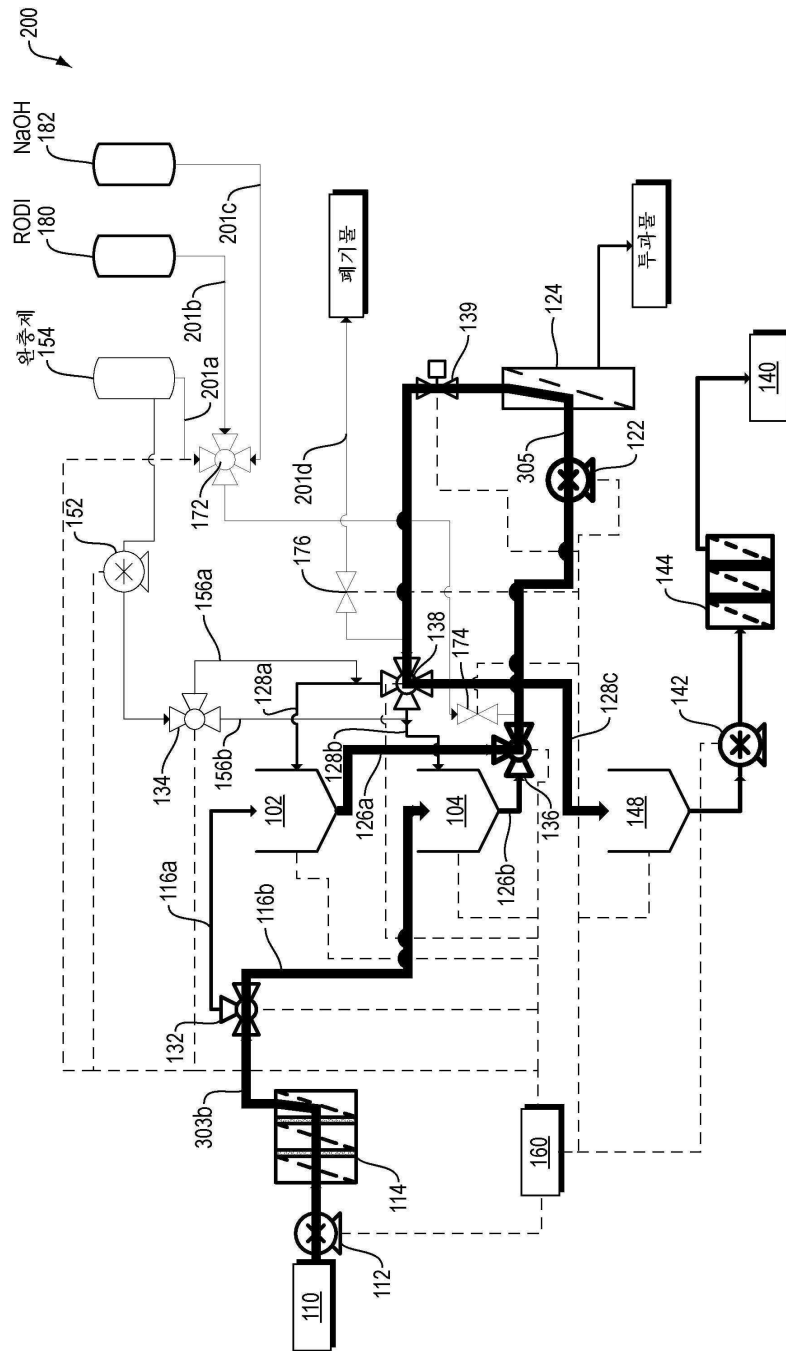
도면3b



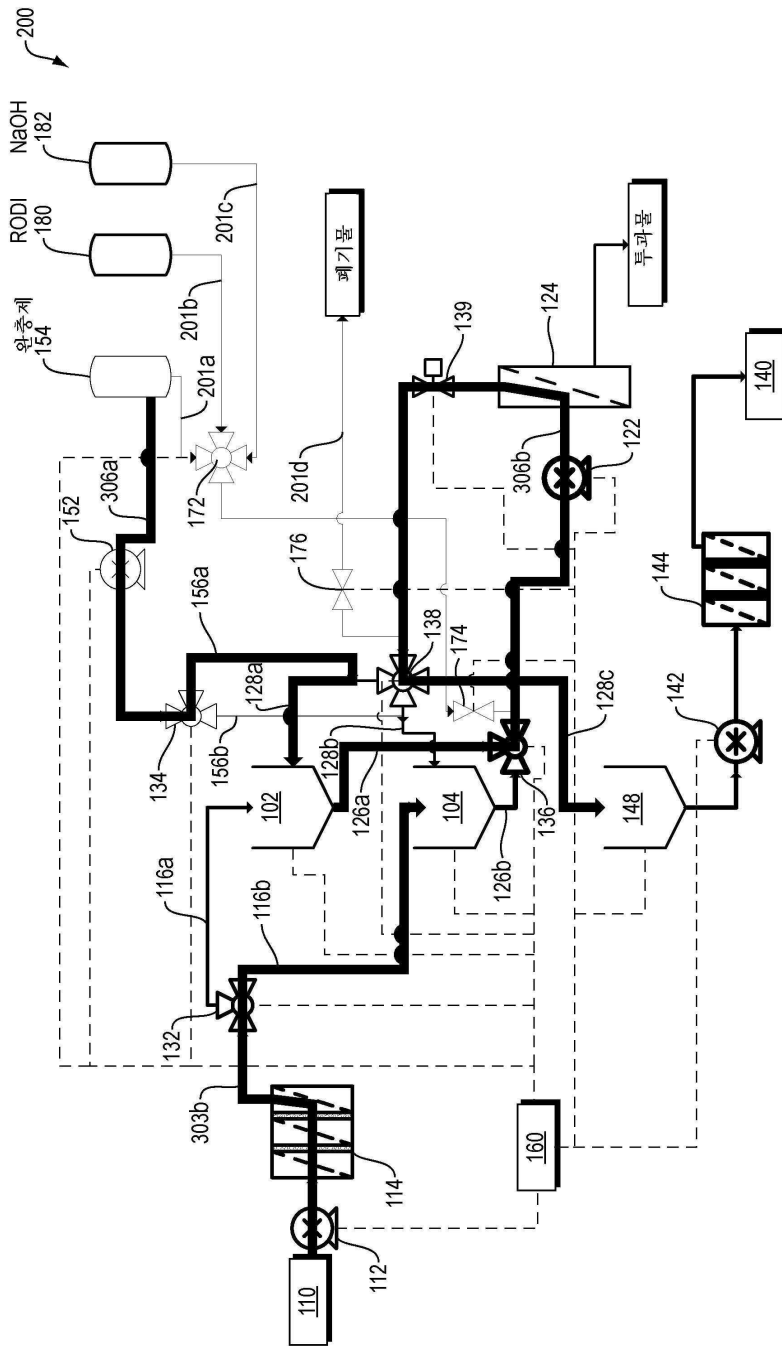
도면3c



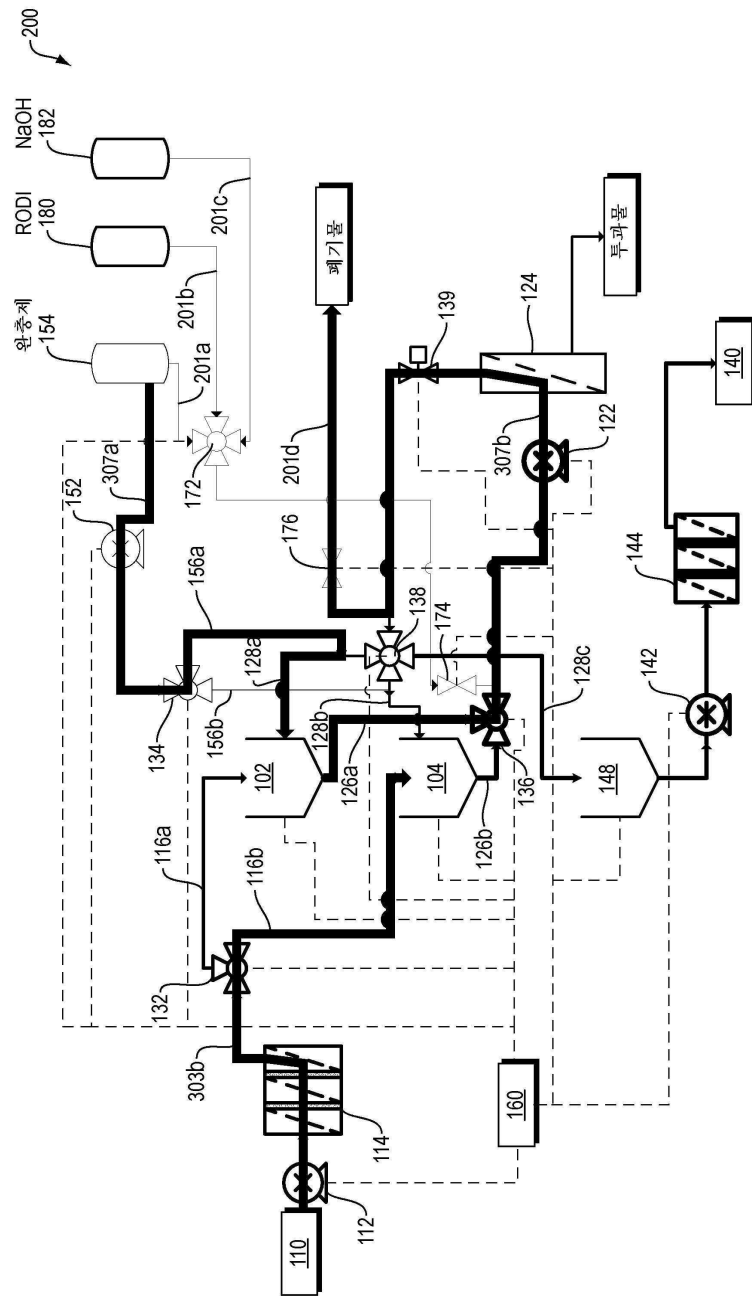
도면3e



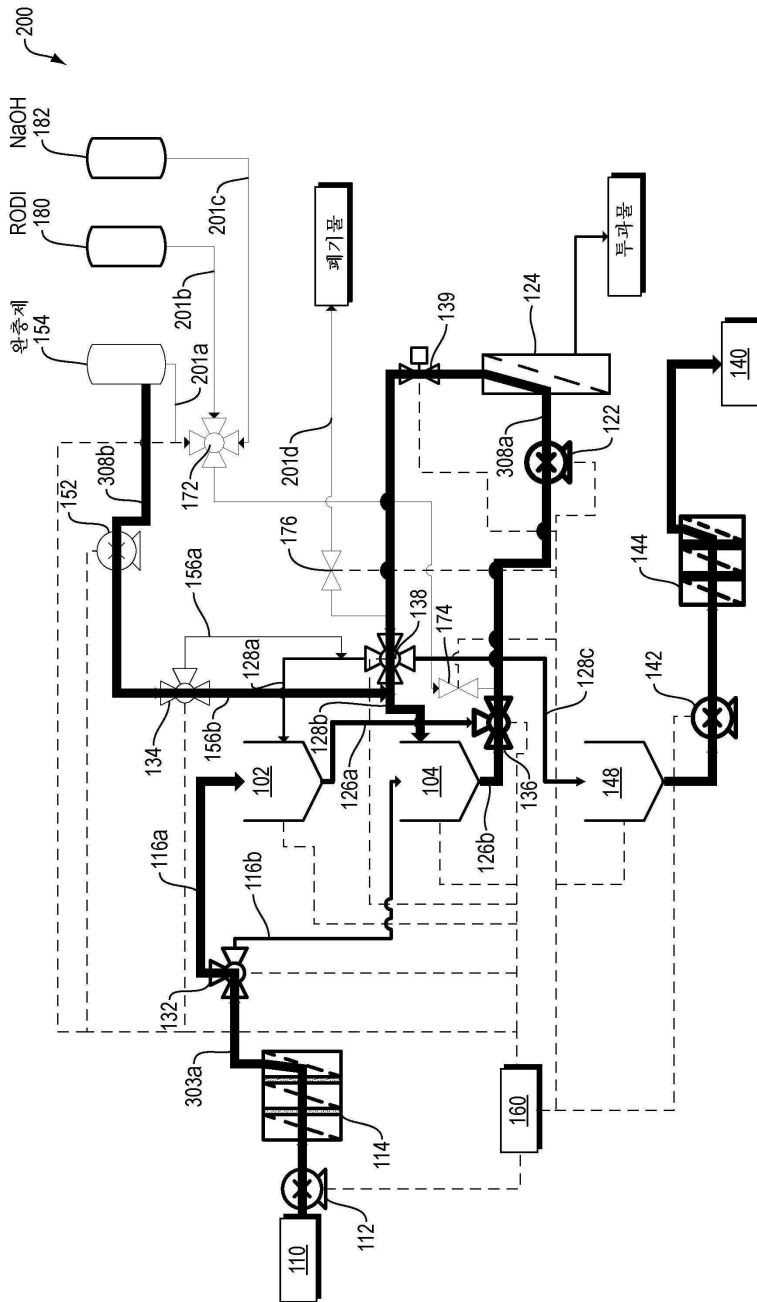
도면3f



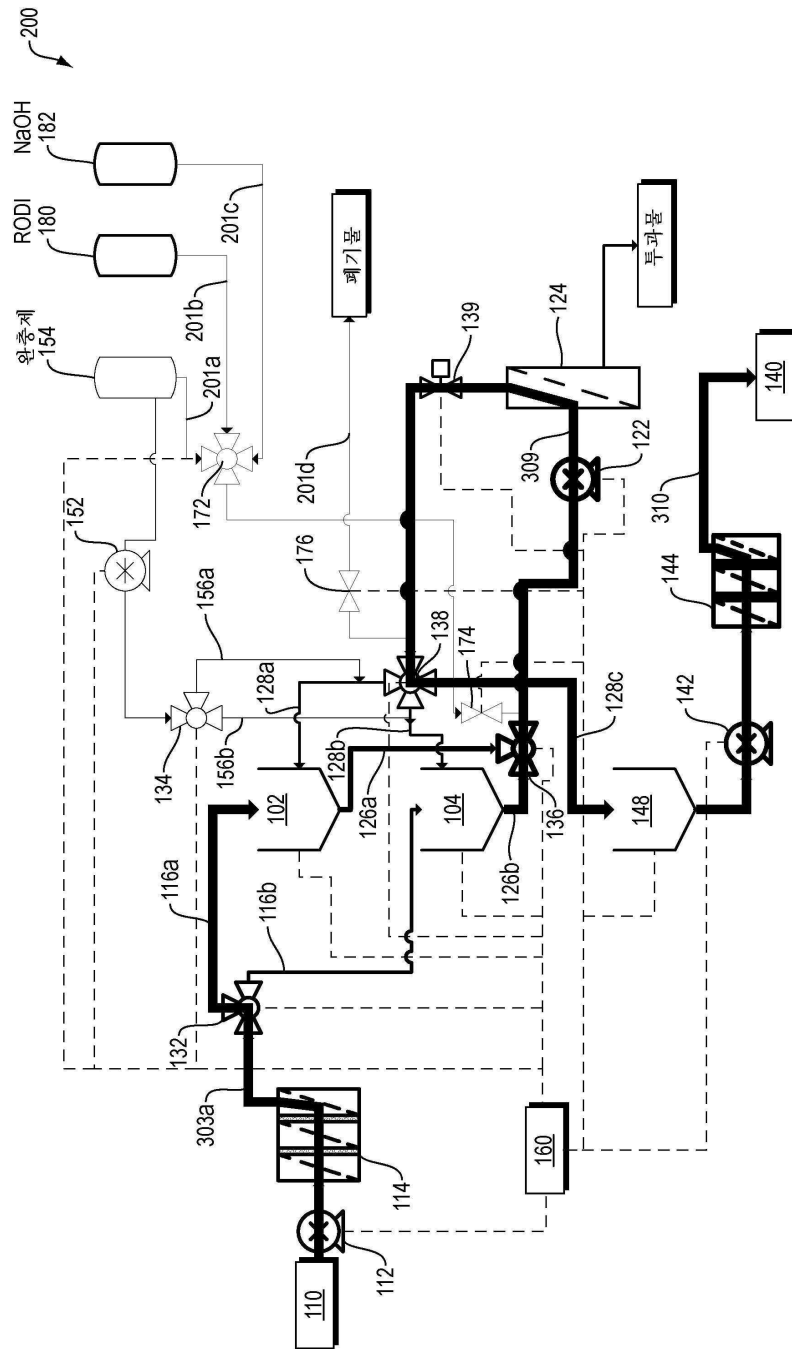
도면3g



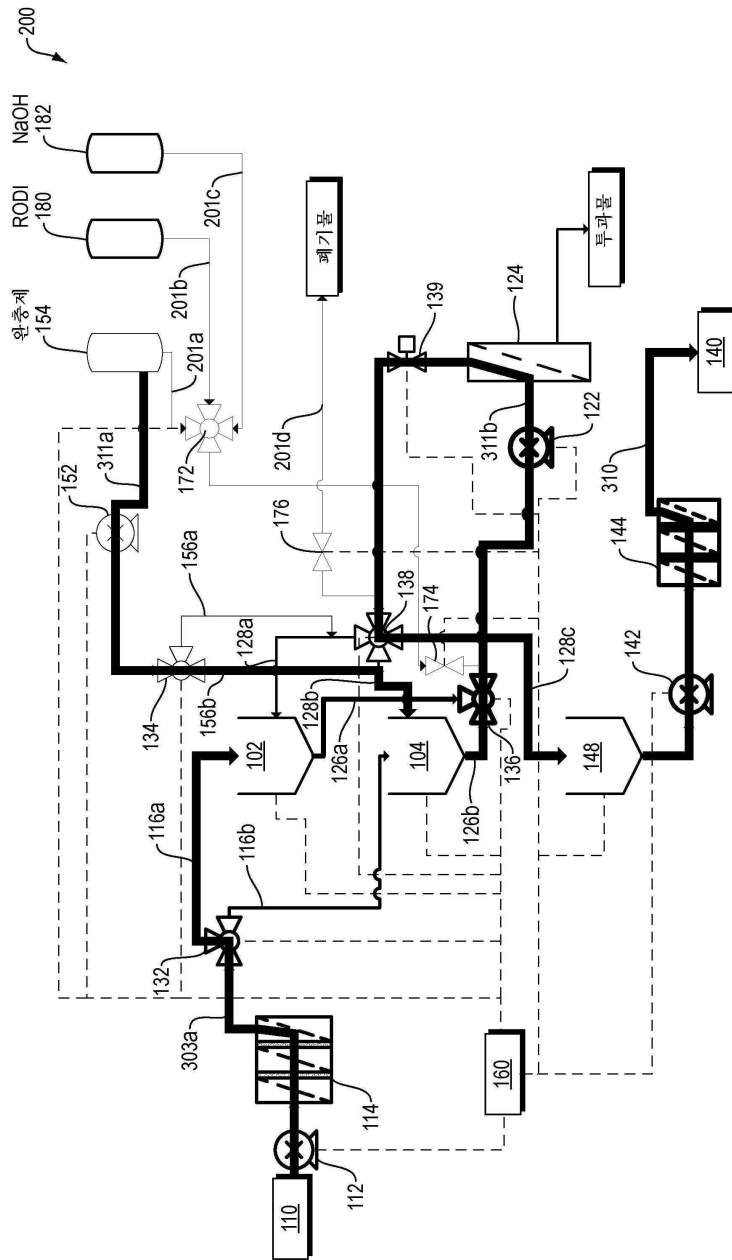
도면3h



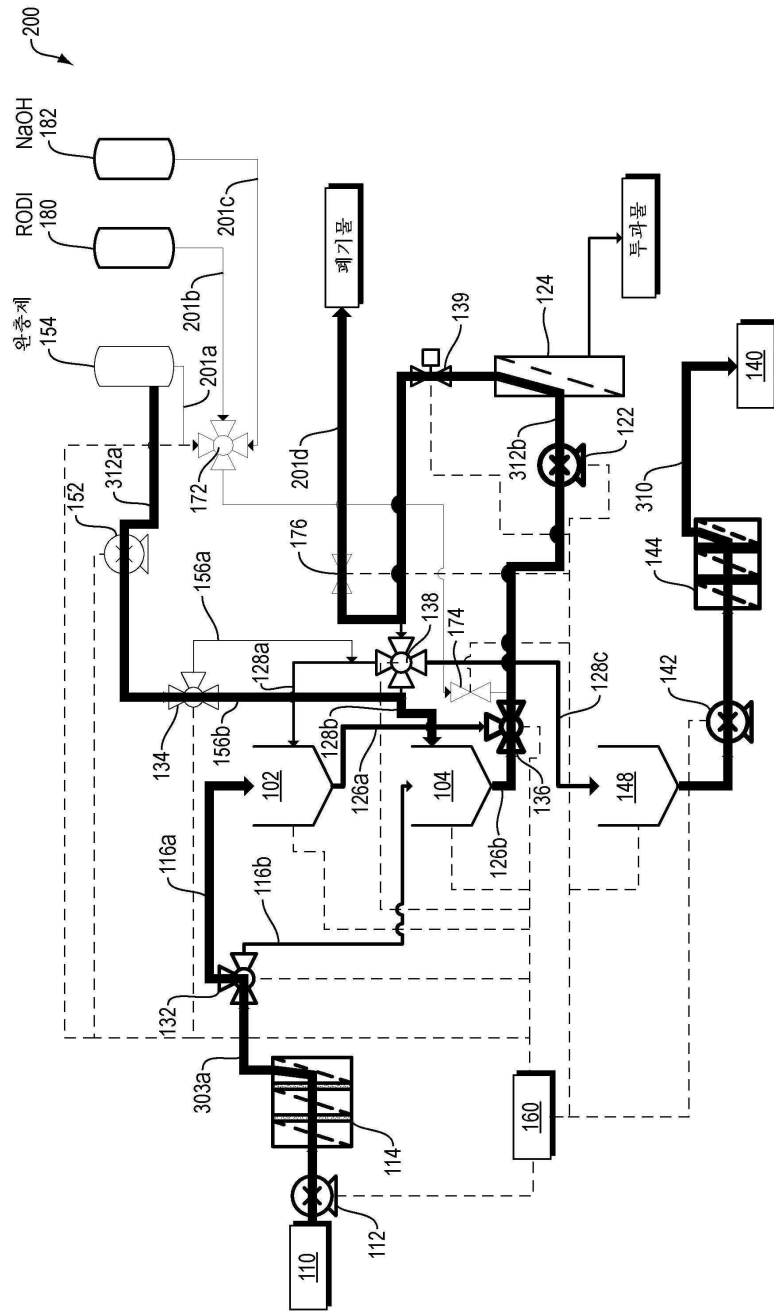
도면3i



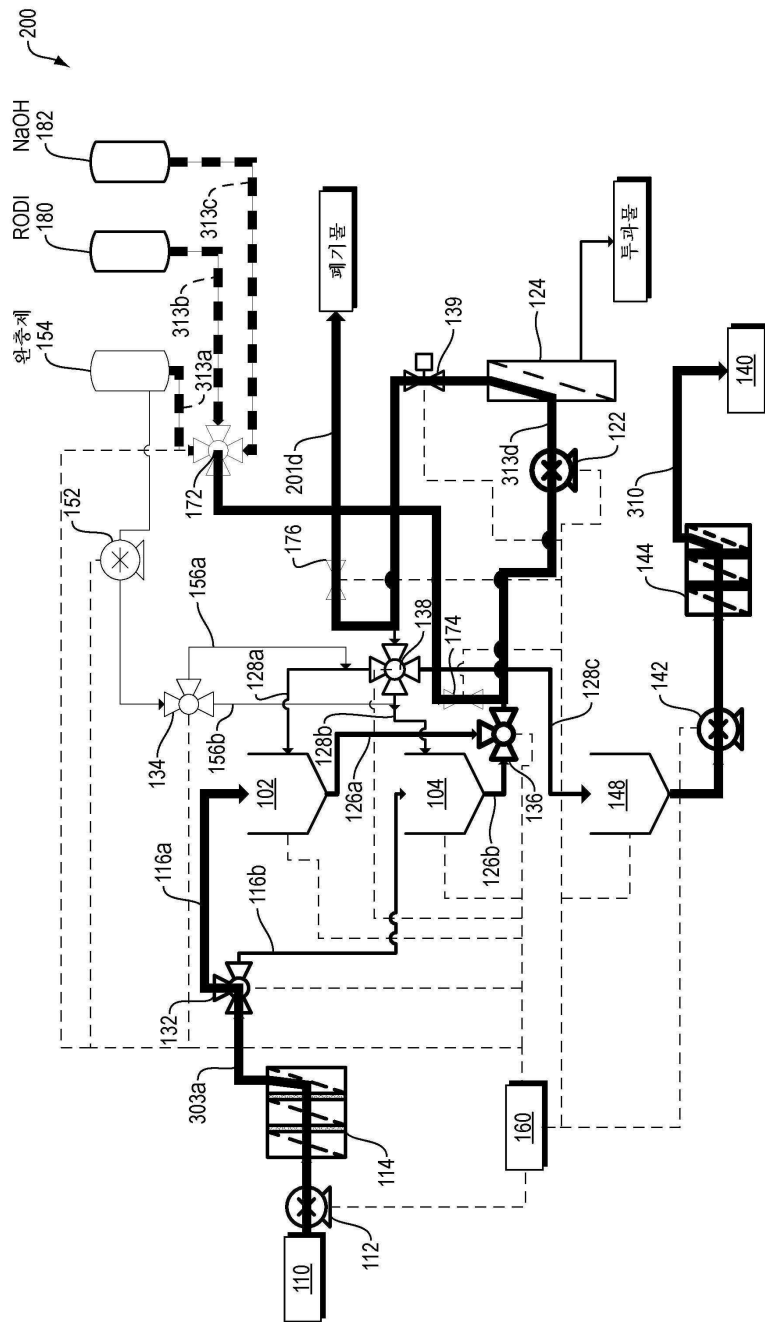
도면3j



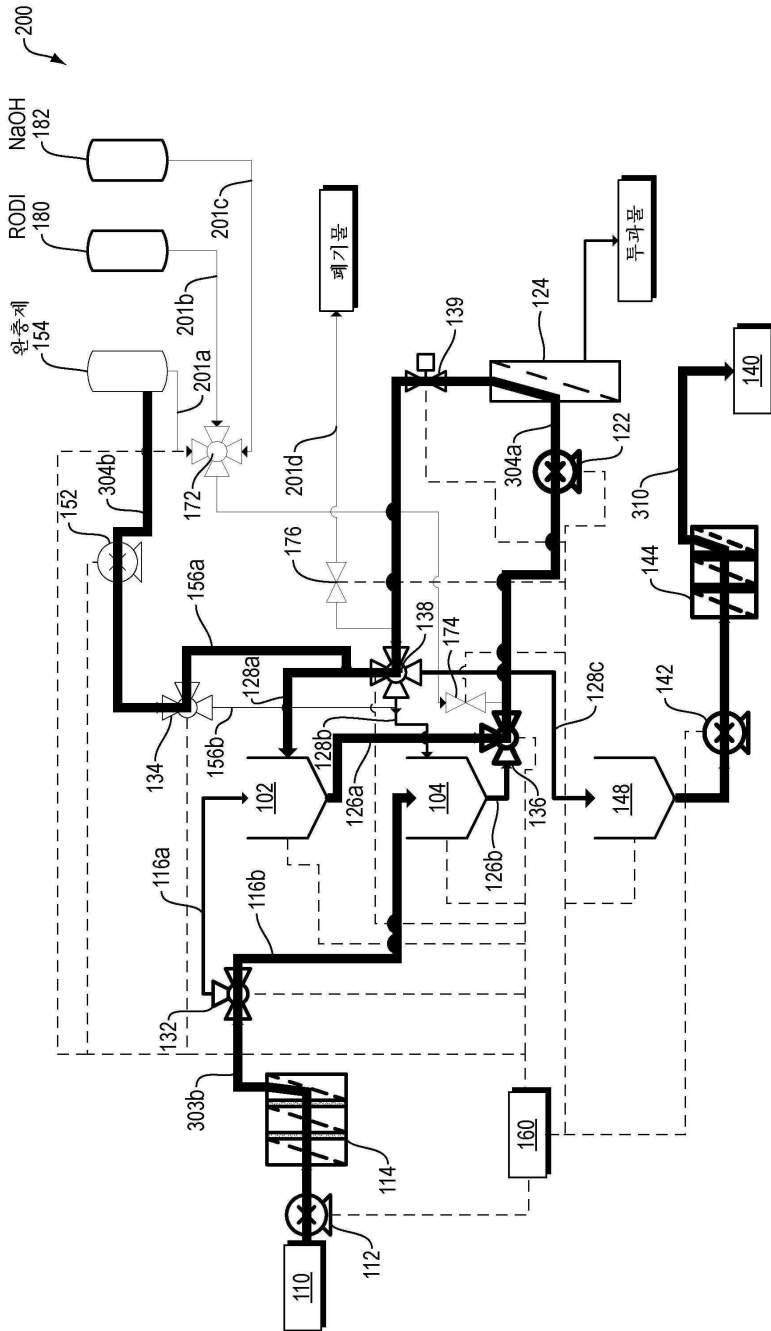
도면3k



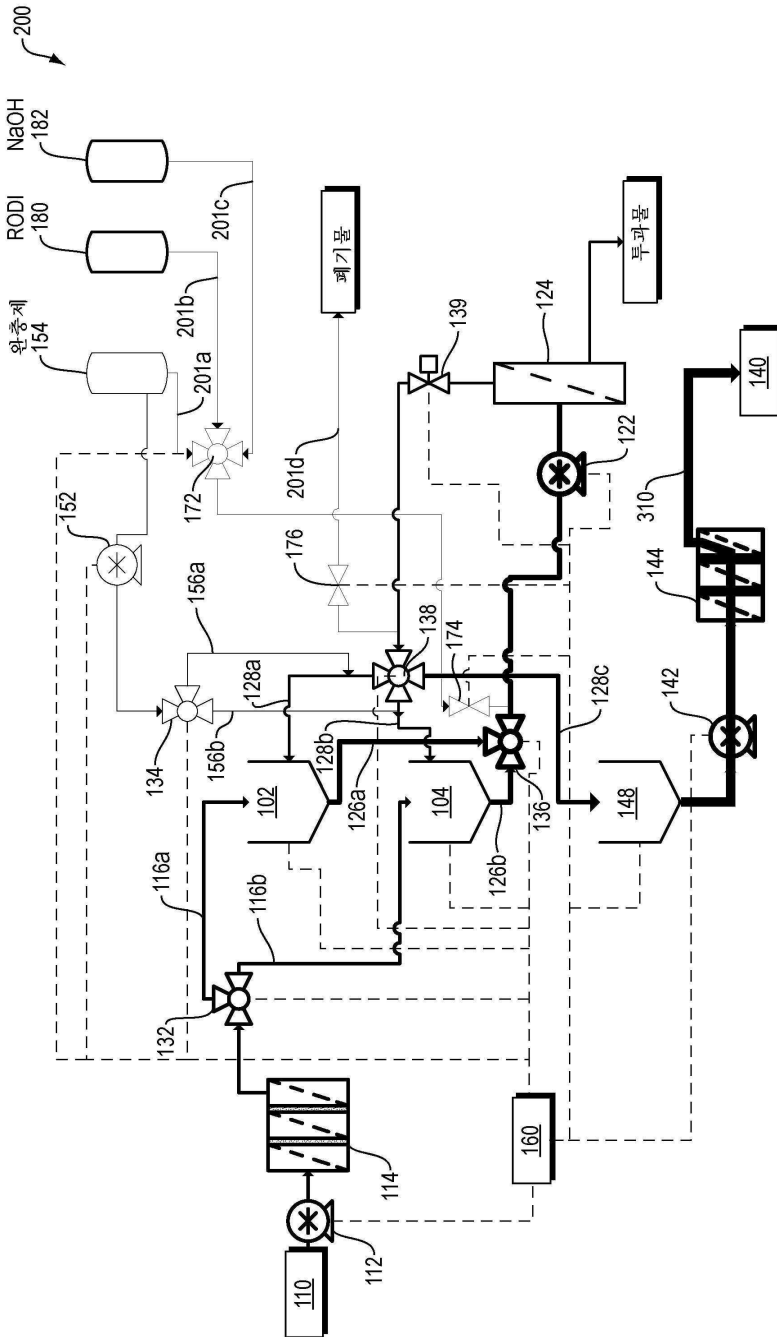
도면31



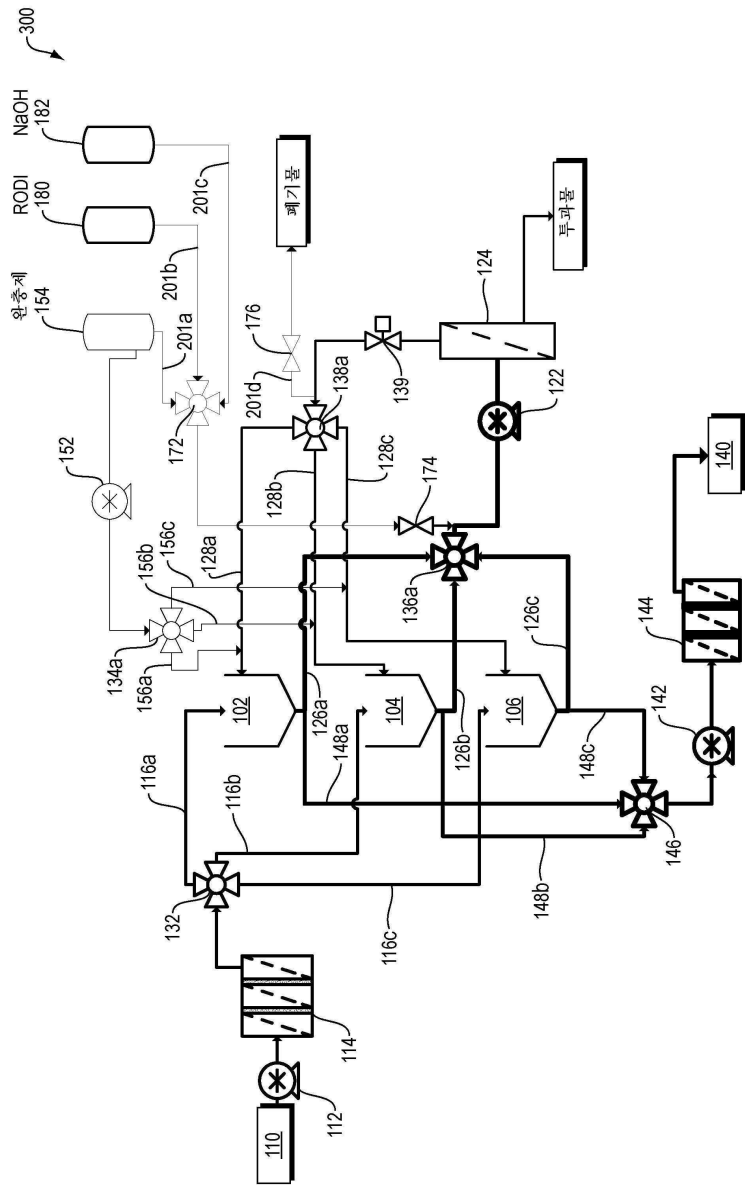
도면 3m



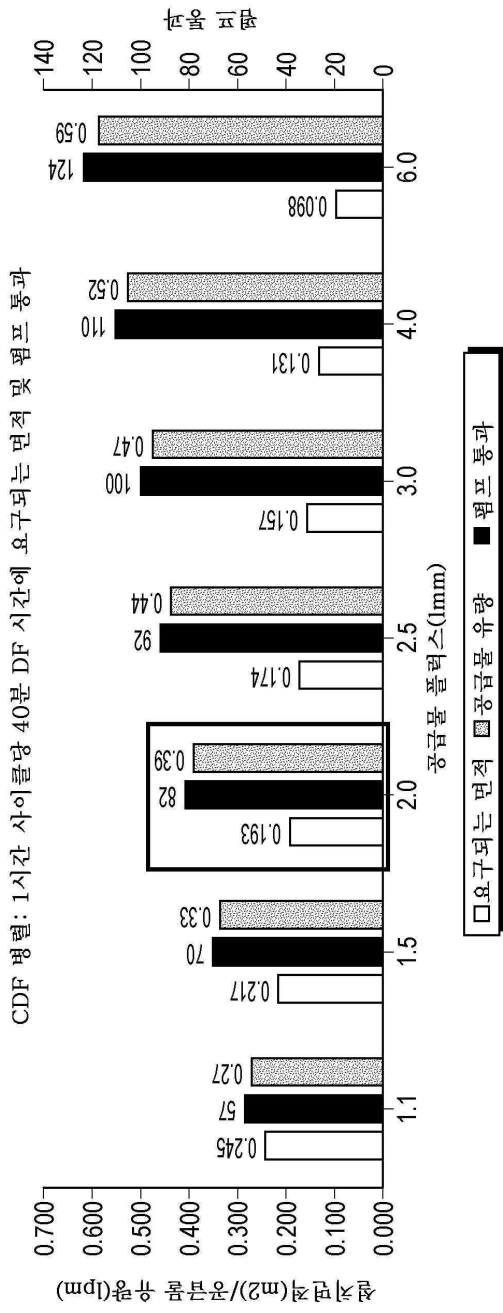
도면3n



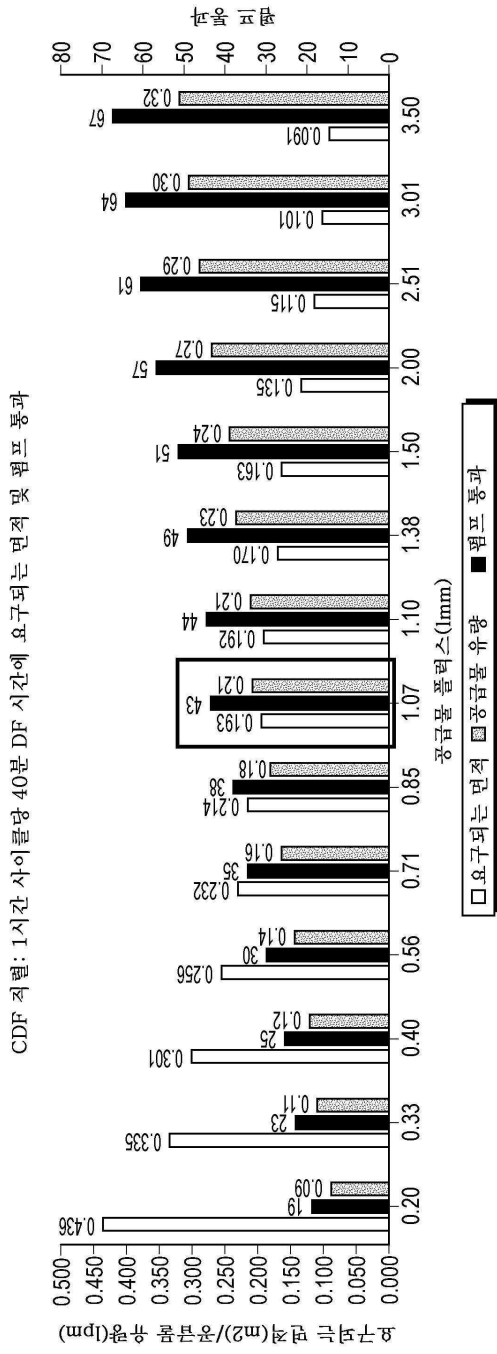
도면4



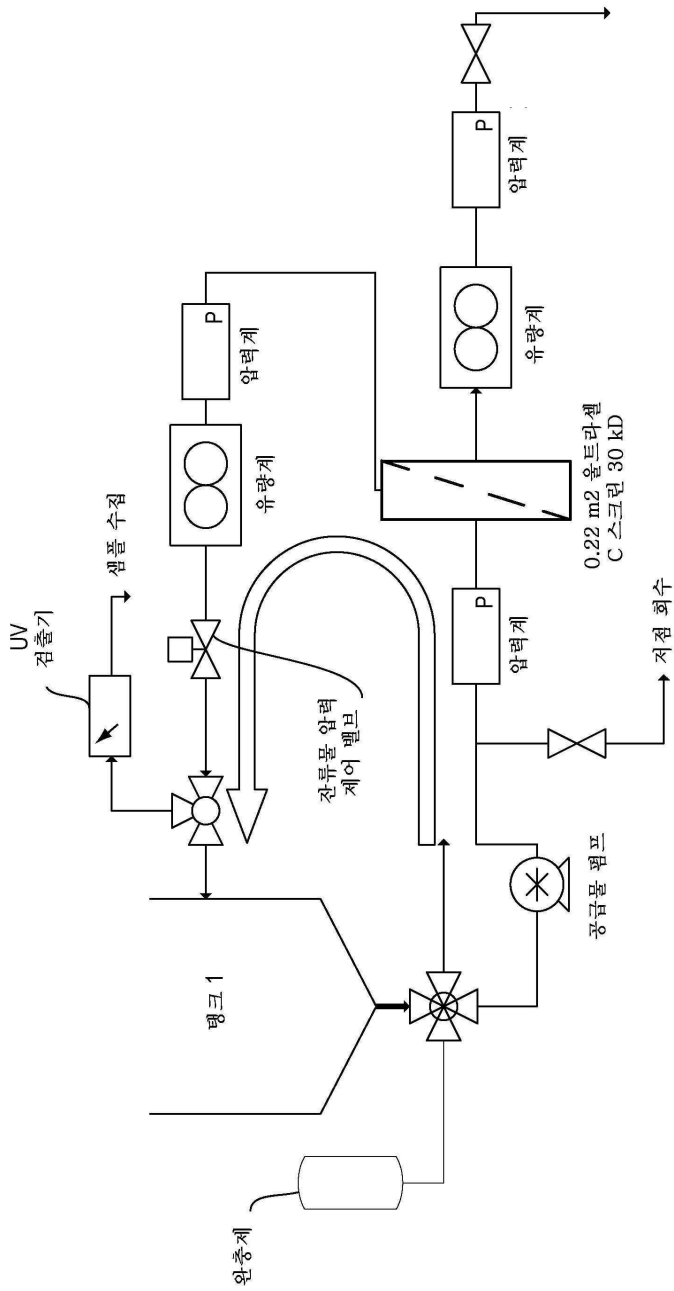
도면5



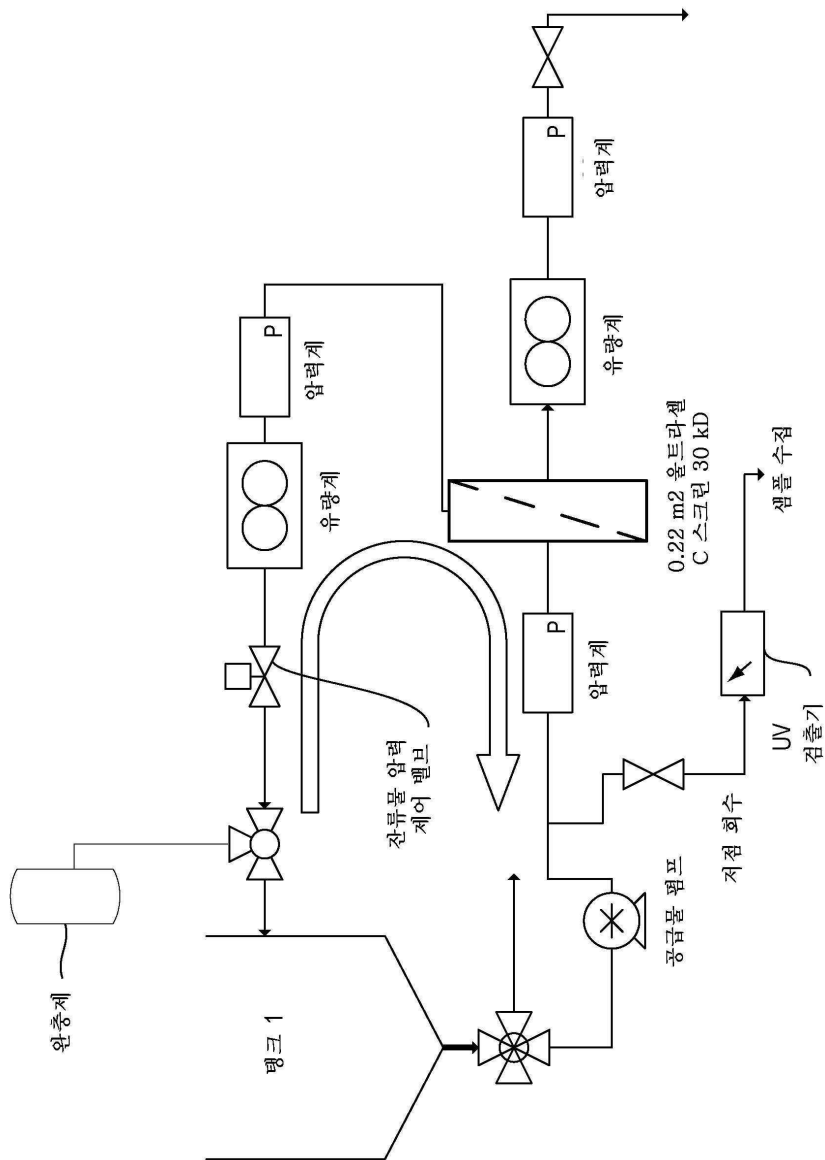
도면6



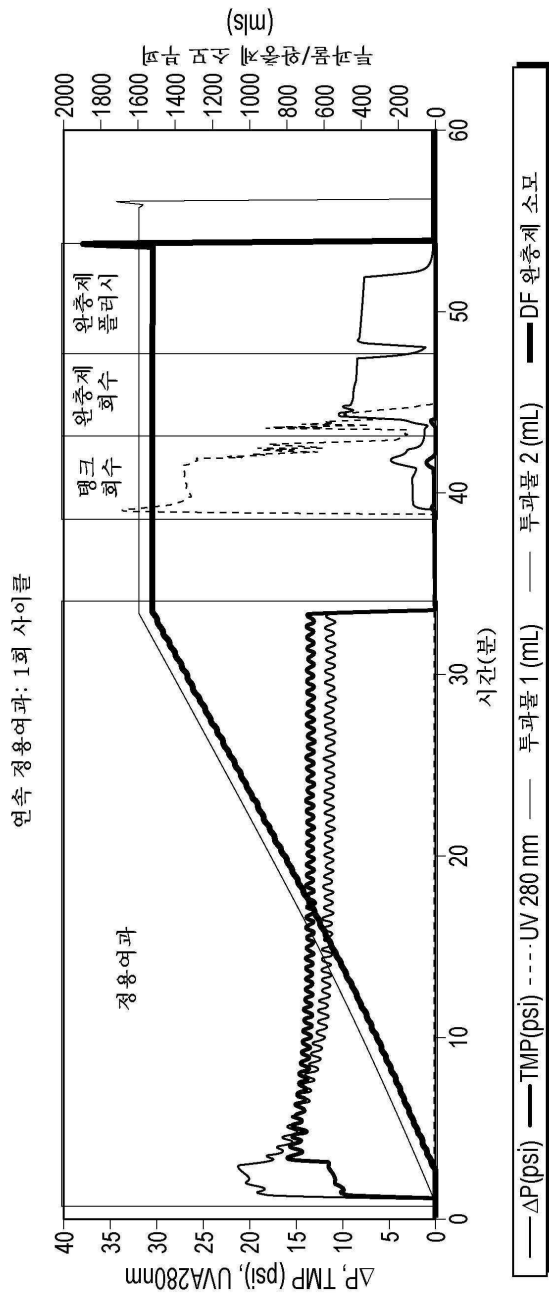
도면7



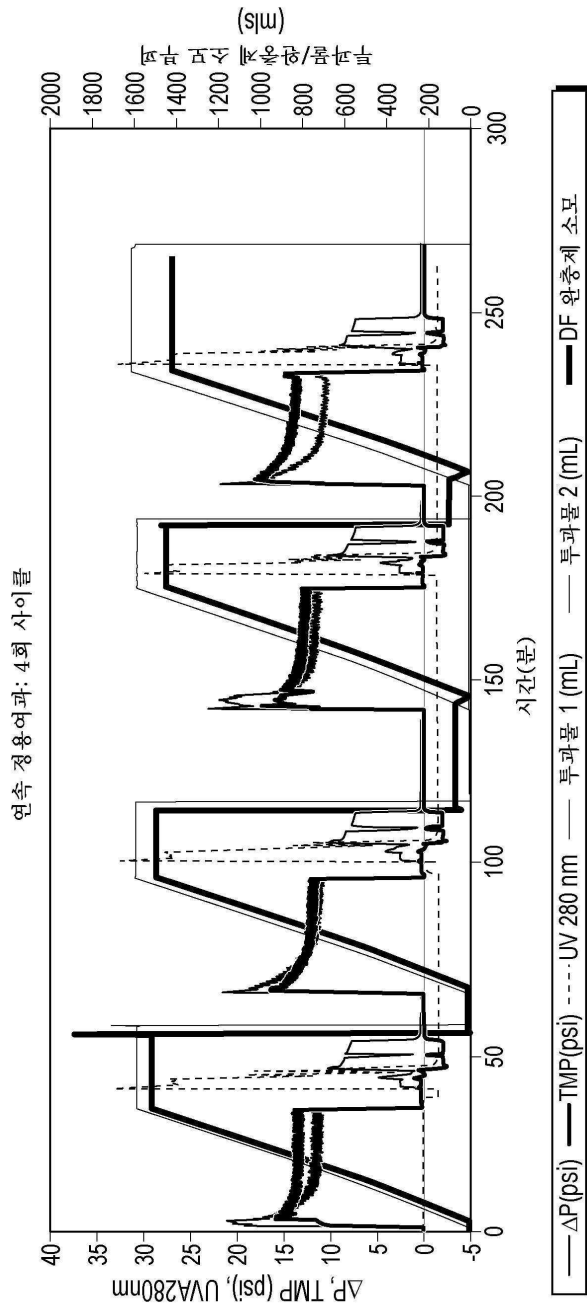
도면8



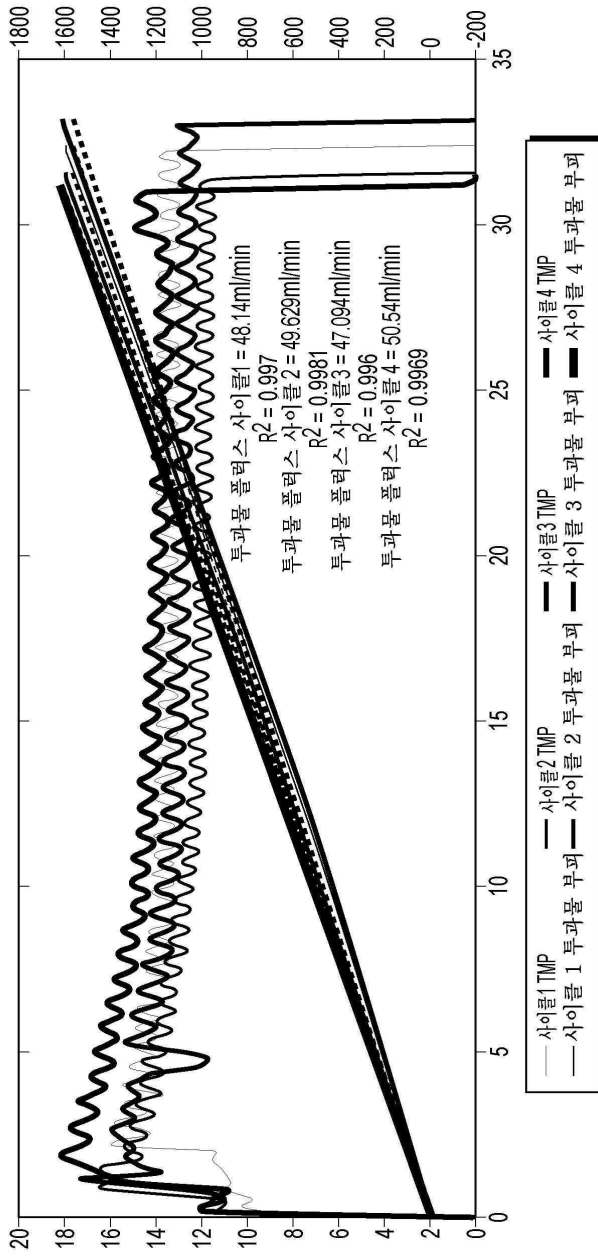
도면10



도면11



도면12



도면13

변수	사이클 1	사이클 2	사이클 3	사이클 4
DF 시간(분)	32.4	31.5	33.0	30.7
DF 부피 (L)	1520	1519	1525	1525
투과물 부피(ml)	1611	1593	1614	1611
시스템 홀드 업	90	74	89	86
투과물 플럭스(LMH)	13.6	13.8	13.3	14.3
공급물 플럭스(LMH)	60	60	60	60
공급물 플럭스(lmm)	1	1	1	1
변환	23%	23%	22%	24%
평균 TMP (psi)	13.4	12.5	12.8	14.5

도면14

사이클 수	공급물		생성물 회수 (탱크+완충제 회수)		탱크 잔류		수율 (%)	완충제 플러시		부과물		결량 균형
	부과 (ml)	농도 (g/L)	부과 (ml)	농도 (g/L)	부과 (ml)	농도 (g/L)		부과 (ml)	농도 (g/L)	부과 (ml)	농도 (g/L)	
1	195.8	73.1	295.4	47.0	NA	NA	98.5%	197.6	0.21	1610.6	0.02	99.0%
2	195.5	73.1	296.1	47.1	NA	NA	99.0%	198.3	0.27	1593.1	0.03	99.8%
3	196.7	73.1	296.1	47.9	2	110.7	98.6%	193.8	0.20	1613.8	0.02	99.1%
4	196.2	73.1	294.9	48.0	2	104	98.7%	195.9	0.19	1610.7	0.03	99.2%

도면15

