



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 118973684 A

(43) 申请公布日 2024. 11. 15

(21) 申请号 202380032190.2

(22) 申请日 2023.04.06

(30) 优先权数据

22167454.2 2022.04.08 EP

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2024.09.30

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/IB2023/053515 2023.04.06

(87) PCT国际申请的公布数据

W02023/194944 EN 2023.10.12

(71) 申请人 瑞士杰特贝林生物制品有限公司

地址 瑞士

(72) 发明人 P·多林格 D·斯考特尼卡

R·阿南迪

(74) 专利代理机构 中国贸促会专利商标事务所
有限公司 11038

专利代理师 李程达

(51) Int.Cl.

B01D 15/20 (2006.01)

B01D 15/36 (2006.01)

B01D 15/38 (2006.01)

B01J 20/34 (2006.01)

A61L 2/18 (2006.01)

B01J 20/286 (2006.01)

B01J 39/26 (2006.01)

B01J 41/20 (2006.01)

B01J 49/07 (2006.01)

B01J 49/57 (2006.01)

B01J 49/53 (2006.01)

B01J 49/06 (2006.01)

权利要求书2页 说明书38页
序列表(电子公布) 附图7页

(54) 发明名称

对色谱介质进行消毒和/或再生色谱介质的
方法

(57) 摘要

本公开涉及对色谱介质进行消毒的方法。本
公开还涉及再生所述色谱介质。

1. 一种对色谱介质进行消毒的方法,所述方法包括使所述介质与碱性洗涤剂接触。
2. 根据权利要求1所述的方法,其中所述碱性洗涤剂包括碱性盐、一种或多种表面活性剂和任选地螯合剂。
3. 根据权利要求2所述的方法,其中所述碱性盐选自自由以下组成的组:氢氧化钾、氢氧化钠、碳酸钠、乙酸钠、硫化钠和碳酸氢钠,例如,所述碱性盐是氢氧化钾或氢氧化钠。
4. 根据权利要求2或3所述的方法,其中所述一种或多种表面活性剂选自自由以下组成的组:胺乙氧基化物、两性甲酸酯、三乙醇胺、辛基- β -D吡喃葡萄糖苷(OGP)、聚山梨醇酯、泊洛沙姆(Poloxamer)、月桂基二甲基-胺(LDAO)、肉豆蔻基二甲胺-N-氧化物(TDAO)、胆酸钠、癸基- β -D-吡喃葡萄糖苷和十二烷基麦芽糖苷。
5. 根据权利要求2至4中任一项所述的方法,其中所述螯合剂是乙二胺四乙酸(EDTA)、乙二醇-双(β -氨基乙基醚)-N,N',N'-四乙酸(EGTA)、乙二胺-N,N'-二琥珀酸(EDDS)、亚氨基二琥珀酸(IDS)、甲基甘氨酸二乙酸(MGDA)、三亚乙基四胺(Trien)、亚氨基二乙酸(IDA)、次氨基三乙酸(NTA)、三聚磷酸酯(TPP)、二亚乙基三胺五乙酸(DTPA)、二乙基二硫代氨基甲酸钠(DDC)、L-谷氨酸N,N-二乙酸、四钠盐(GLDA)和青霉胺(penicillamine)、葡萄糖酸钠、柠檬酸三钠、DMSA、DMPS、BAPTA、ALA以及其盐,例如,所述螯合剂是可生物降解的螯合剂,如选自自由以下组成的组的可生物降解的螯合剂:乙二胺-N,N'-二琥珀酸(EDDS)、亚氨基二琥珀酸(IDS)、甲基甘氨酸二乙酸(MGDA)、次氨基三乙酸(NTA)以及其盐。
6. 根据权利要求1至5中任一项所述的方法,其中所述碱性洗涤剂包括0.01%至10%(w/v)的一种或多种表面活性剂。
7. 根据权利要求1至6中任一项所述的方法,其中所述碱性洗涤剂包括0.01%至1%(w/v)的一种或多种表面活性剂。
8. 根据权利要求1至7中任一项所述的方法,其中所述碱性洗涤剂包括10mM至150mM的碱性盐。
9. 根据权利要求1至8中任一项所述的方法,其中所述碱性洗涤剂包括50mM至100mM的碱性盐。
10. 根据权利要求2至9中任一项所述的方法,其中所述碱性盐的浓度为75mM。
11. 根据权利要求1至10中任一项所述的方法,其中所述碱性洗涤剂包括TDAO和选自氢氧化钠和氢氧化钾的碱性盐。
12. 根据权利要求11所述的方法,其中所述碱性洗涤剂包括10mM至150mM的氢氧化钾或氢氧化钠以及0.01%至0.1%(w/v)的TDAO。
13. 根据权利要求12所述的方法,其中所述碱性洗涤剂包括75mM的氢氧化钾或氢氧化钠以及0.02%(w/v)的TDAO。
14. 根据权利要求1至13中任一项所述的方法,其中所述方法包括使所述介质与所述碱性洗涤剂接触60分钟。
15. 根据权利要求1至14中任一项所述的方法,其另外地包括再生所述色谱介质,例如,在对所述色谱介质进行消毒之前再生所述色谱介质。
16. 根据权利要求15所述的方法,其包括通过使所述介质与包括以下的溶液接触来再生所述色谱介质:乙二醇、氯化钠、氢氧化钠或氢氧化钠和乙醇的组合。
17. 根据权利要求1至16中任一项所述的方法,其中所述色谱介质是离子交换介质、亲

和介质、疏水性相互作用色谱介质、尺寸排阻柱或混合模式色谱介质。

18. 根据权利要求17所述的方法, 其中所述介质是亲和色谱介质。

19. 根据权利要求18所述的方法, 其中所述亲和色谱介质与抗体的Fc区结合, 例如, 所述亲和色谱介质包括蛋白A或其抗体结合片段、蛋白G或其抗体结合片段或能够与人IgG的CH1或CH3结构域特异性结合的配体, 例如, 能够与人IgG的CH3结构域特异性结合的所述配体包括骆驼科源性单结构域[VHH]抗体片段。

20. 根据权利要求1至19中任一项所述的方法, 其中所述色谱介质包括选自以下组成的组的基质: 聚(苯乙烯-二乙烯基苯)、交联聚(苯乙烯-二乙烯基苯)、二氧化硅、琼脂糖、交联琼脂糖、可控孔度玻璃、聚甲基丙烯酸酯和纤维素, 例如, 所述色谱介质包括交联聚(苯乙烯-二乙烯基苯), 例如, 所述色谱介质包括能够与人IgG的CH3结构域特异性结合的VHH抗体片段, 所述人IgG与交联聚(苯乙烯-二乙烯基苯)基质缀合。

21. 根据权利要求1至20中任一项所述的方法, 其包括使包括能够与人IgG的CH3结构域特异性结合的VHH抗体片段的色谱介质与碱性洗涤剂接触, 所述人IgG与交联聚(苯乙烯-二乙烯基苯)基质缀合, 所述碱性洗涤剂包括碱性盐、一种或多种表面活性剂和任选地螯合剂。

22. 根据权利要求1至21中任一项所述的方法, 其包括通过使包括能够与人IgG的CH3结构域特异性结合的VHH抗体片段的色谱介质与包括氢氧化钠和乙醇的組合的溶液接触来再生所述色谱介质, 以及通过使所述介质与碱性洗涤剂接触来对所述介质进行消毒, 所述人IgG与交联聚(苯乙烯-二乙烯基苯)基质缀合, 所述碱性洗涤剂包括碱性盐、一种或多种表面活性剂和任选地螯合剂。

23. 根据权利要求1至22中任一项所述的方法, 其中所述色谱介质先前已经与样品接触, 例如, 所述样品是血浆或其级分。

24. 根据权利要求1至23中任一项所述的方法, 其中所述方法作为连续色谱的过程的一部分进行。

25. 一种再生色谱介质并对色谱介质进行消毒的方法, 所述方法包括:

(i) 通过使所述色谱介质与再生溶液接触来再生所述介质, 所述再生溶液包括乙二醇、氯化钠、氢氧化钠或氢氧化钠和乙醇的組合; 以及

(ii) 通过使所述色谱介质与碱性洗涤剂接触来对所述介质进行消毒。

26. 根据权利要求25所述的方法, 其中所述方法包括:

(i) 通过使所述色谱介质与再生溶液接触来再生所述介质, 所述再生溶液包括5-30mM氢氧化钠和5-30%乙醇的組合; 以及

(ii) 通过使所述色谱介质与碱性洗涤剂接触来对所述介质进行消毒, 所述碱性洗涤剂包括0.01%至1% (w/v) 的一种或多种表面活性剂和/或60mM至80mM的选自氢氧化钠和氢氧化钾的碱性盐。

27. 根据权利要求25或26所述的方法, 其中所述碱性洗涤剂包括75mM的氢氧化钾或氢氧化钠以及0.02% (w/v) 的TDAO。

28. 根据权利要求25或26所述的方法, 其中所述碱性洗涤剂包括2% CIP-100。

29. 根据权利要求25至28中任一项所述的方法, 其中所述再生溶液包括5mM或20mM氢氧化钠和20%乙醇的組合。

对色谱介质进行消毒和/或再生色谱介质的方法

[0001] 相关申请数据

[0002] 本申请要求于2022年4月8日提交的题为“对色谱介质进行消毒和再生色谱介质的方法(Methods of sanitizing and regenerating a chromatography medium)”的欧洲专利申请第EP22167454.2号的优先权。所述欧洲专利申请特此通过引用并入。

[0003] 序列表

[0004] 本申请与电子形式的序列表一起提交。序列表的全部内容特此通过引用并入。

技术领域

[0005] 本公开涉及对色谱介质进行消毒和/或再生色谱介质的方法。

背景技术

[0006] 蛋白质的纯化(来自天然来源,例如来自血浆的白蛋白和通过重组技术产生的所述白蛋白)是蛋白质的制备中的重要步骤,特别是在蛋白质用于治疗用途的情况下。在此类制备过程中,通常会涉及若干个纯化步骤,以确保蛋白质具有合适的质量(例如纯度和稳定性)。

[0007] 基于色谱的纯化方法被广泛用于蛋白质的纯化。现有的基于色谱的纯化蛋白质方法包含亲和色谱(例如蛋白A色谱)、阴离子交换色谱、疏水性相互作用色谱和阳离子交换色谱。在蛋白质的商业规模纯化中使用的现有方法的一个障碍是,由于需要大量的色谱介质,成本很高。为了解决这个问题,色谱介质通常被重复使用。在使用循环之间,处理色谱介质以去除任何非特异性结合的蛋白质(所述蛋白质可能会降低介质纯化所关注的蛋白质(即介质被再生)和对介质进行消毒的能力)以防止未来批次的所关注的蛋白质的污染(即介质被消毒)。然而,用于再生色谱介质和/或对色谱介质进行消毒的苛刻的方法可能会缩短树脂的寿命。若干种基于蛋白质的色谱树脂对苛刻的消毒条件敏感。例如,除了较新的耐腐蚀性配体外,蛋白A配体对腐蚀性清洁条件(如高氢氧化钠(NaOH)浓度)敏感,随着时间的推移,这会破坏配体并降低其重复使用的能力。因此,本领域需要用于再生色谱介质和/或对色谱介质进行消毒的方法,所述方法维持介质在多个循环的纯化中纯化所关注的蛋白质的能力。

发明内容

[0008] 在本发明之前的工作中,本发明人试图鉴定一种用于对被用于纯化蛋白质(例如,从血清或血浆中纯化免疫球蛋白)的色谱介质进行消毒和/或再生色谱介质的方法。具体地,本发明人认识到,包括蛋白质配体的色谱介质对缩短树脂寿命的苛刻的或腐蚀性消毒方法敏感。因此,本发明人试图鉴定对包括对腐蚀性条件敏感的配体(例如蛋白质配体)的色谱介质进行消毒的方法。本发明人测试了若干种选择并鉴定了一种用于使用碱性洗涤剂对色谱树脂进行消毒的方法。令人惊讶地,本发明人发现,使用传统上用作表面消毒剂的碱性洗涤剂能够充分灭活和清除色谱介质中的病原体,而不会缩短树脂的寿命和/或降解配

体和/或配体的结合活性没有显著损失。本发明人另外地研究了用于再生色谱介质的选择,并且发现乙醇和氢氧化钠的组合对于从介质中去除残留的结合的蛋白质最有效,例如,当与碱性洗涤剂结合用于对树脂进行消毒时。本发明人还发现,使用低浓度的氢氧化钠与乙醇组合进行再生在从色谱介质中去除残留的结合的蛋白质方面特别有效,并且这种组合不会引起树脂的沉淀或堵塞(这是使用标准高浓度的氢氧化钠进行再生时常观察到的问题)。此外,本发明人发现,将乙醇和氢氧化钠合并成单一溶液通过减少溶液的体积和/或再生色谱介质所需的接触时间进一步改进了所述方法。本发明人产生的方法允许多个色谱介质的使用循环。通过增加色谱介质可以有效使用的循环数量,本发明人还实现了色谱介质的每次使用的显著降低的成本。

[0009] 本发明人的发现提供了一种对色谱介质进行消毒的方法,所述方法包括使所述介质与碱性洗涤剂接触。在一个实例中,所述碱性洗涤剂包括碱性盐、一种或多种表面活性剂和/或螯合剂。在一个实例中,所述碱性洗涤剂包括碱性盐、一种或多种表面活性剂和任选地螯合剂。在一个实例中,所述碱性洗涤剂包括碱性盐和一种或多种表面活性剂。在一个实例中,所述碱性洗涤剂包括碱性盐、一种或多种表面活性剂和螯合剂。

[0010] 在一个实例中,所述碱性洗涤剂混合在溶液内。在一个实例中,所述溶液包括0.01%至10%。例如,所述溶液包括0.1%至10%碱性洗涤剂。在一个实例中,所述溶液包括0.01%至5%碱性洗涤剂。在一个实例中,所述溶液包括0.05%至5%碱性洗涤剂。在一个实例中,所述溶液包括0.01%至5%碱性洗涤剂。例如,所述溶液包括0.01%至2.5%碱性洗涤剂。在另一个实例中,所述溶液包括0.01%至0.1%碱性洗涤剂。例如,所述溶液包括约0.02%碱性洗涤剂。在一个实例中,所述溶液包括约0.02%至0.1%碱性洗涤剂。在另外的实例中,所述溶液包括0.05%至0.15%碱性洗涤剂。在一个实例中,所述溶液包括0.5%至2.5%碱性洗涤剂。在一个实例中,所述溶液包括1%至2.5%碱性洗涤剂。例如,所述溶液包括2%碱性洗涤剂。

[0011] 在一个实例中,所述碱性洗涤剂是CIP-100。例如,所述溶液包括0.1%至10% CIP-100。在一个实例中,所述溶液包括0.1%至5% CIP-100。在一个实例中,所述溶液包括0.5%至5% CIP-100。在一个实例中,所述溶液包括1%至5% CIP-100。例如,所述溶液包括0.01%至2.5% CIP-100。在另一个实例中,所述溶液包括1%至2.5% CIP-100。例如,所述溶液包括约2% CIP-100。在另外的实例中,所述溶液包括1.5%至2.5% CIP-100。在一个实例中,所述溶液包括0.5%至2.5% CIP-100。

[0012] 在一个实例中,所述碱性盐选自由以下组成的组:氢氧化钾、氢氧化钠、碳酸钠、乙酸钠、硫化钠和碳酸氢钠。例如,所述碱性盐是氢氧化钾或氢氧化钠。在一个实例中,所述碱性盐是氢氧化钾。在另一个实例中,所述碱性盐是氢氧化钠。

[0013] 在一个实例中,所述碱性洗涤剂包括10mM至150mM的碱性盐。例如,所述碱性洗涤剂包括20mM至150mM的碱性盐。在另一个实例中,所述碱性洗涤剂包括30mM至140mM的碱性盐。在另外的实例中,所述碱性洗涤剂包括40mM至130mM的碱性盐。例如,所述碱性洗涤剂包括50mM至120mM的碱性盐。在一个实例中,所述碱性洗涤剂包括50mM至100mM的碱性盐。在另一个实例中,所述碱性洗涤剂包括60mM至90mM的碱性盐。在另外的实例中,所述碱性洗涤剂包括60mM至80mM的碱性盐。例如,所述碱性洗涤剂包括70mM至80mM的碱性盐。在一个实例中,所述碱性洗涤剂包括约75mM碱性盐。

[0014] 在一个实例中,所述碱性洗涤剂包括10mM、或15mM、或20mM、或25mM、或30mM、或35mM、或40mM、或45mM、或50mM、或55mM、或60mM、或65mM、或70mM、或75mM、或80mM、或85mM、或90mM、95mM、或100mM、或105mM、或110mM、或115mM、或120mM、或125mM、或130mM、或135mM、或140mM、或145mM、或150mM的碱性盐。

[0015] 在一个实例中,所述碱性盐是氢氧化钾或氢氧化钠,其中所述碱性盐的浓度20mM至150mM。例如,所述碱性盐是氢氧化钾或氢氧化钠,其中所述碱性盐的浓度50mM至100mM。在一个实例中,所述碱性盐是氢氧化钾或氢氧化钠,其中所述碱性盐的浓度60mM至80mM。例如,所述碱性盐是氢氧化钾或氢氧化钠,其中所述碱性盐的浓度为约75mM。

[0016] 在一个实例中,所述碱性盐是浓度20mM至150mM的氢氧化钾。例如,所述碱性盐是浓度50mM至100mM的氢氧化钾。在一个实例中,所述碱性盐是浓度60mM至80mM的氢氧化钾。例如,所述碱性盐是浓度为约75mM的氢氧化钾。

[0017] 在一个实例中,所述碱性盐是浓度为20mM至150mM的氢氧化钠。例如,所述碱性盐是浓度50mM至100mM的氢氧化钠。在一个实例中,所述碱性盐是浓度60mM至80mM的氢氧化钠。例如,所述碱性盐是浓度为约75mM的氢氧化钠。

[0018] 在一个实例中,所述一种或多种表面活性剂选自自由以下组成的组:胺乙氧基化物、两性甲酸酯、三乙醇胺、辛基- β -D吡喃葡萄糖苷(OGP)、聚山梨醇酯、泊洛沙姆(Poloxamer)、月桂基二甲基-胺(LDAO)、肉豆蔻基二甲胺-N-氧化物(TDAO)、胆酸钠、癸基- β -D-吡喃葡萄糖苷和十二烷基麦芽糖苷。例如,所述聚山梨醇酯是聚山梨醇酯80或聚山梨醇酯20。

[0019] 在一个实例中,所述表面活性剂是聚山梨醇酯,如聚山梨醇酯20。

[0020] 在一个实例中,所述表面活性剂是TDAO。可商购获得的TDAO溶液对技术人员来说是显而易见的,并且包含例如Deviron®C16。在一个实例中,所述表面活性剂是Deviron®C16。

[0021] 在一个实例中,所述表面活性剂是浓度为0.1%至10% (w/v)的TDAO。在一个实例中,所述表面活性剂是浓度为0.1%至5% (w/v)的TDAO。例如,所述表面活性剂是浓度为0.01%至2% (w/v)的TDAO。在另一个实例中,所述表面活性剂是浓度为0.01%至0.1% (w/v)的TDAO。在一个实例中,所述表面活性剂是浓度为0.02%至0.1% (w/v)的TDAO。例如,所述表面活性剂是浓度为0.02% (w/v)的TDAO。在另外的实例中,所述表面活性剂是浓度为0.05%至0.15% (w/v)的TDAO。在一个实例中,所述表面活性剂是浓度为0.5%至2% (w/v)的TDAO。

[0022] 在一个实例中,所述碱性洗涤剂包括TDAO和选自氢氧化钾和氢氧化钠的碱性盐。

[0023] 在一个实例中,所述碱性洗涤剂包括TDAO和氢氧化钾。在一个实例中,所述碱性洗涤剂包括10mM至150mM的氢氧化钾和0.01%至2% (w/v)的TDAO。在一个实例中,所述碱性洗涤剂包括60mM至80mM的氢氧化钾和0.01%至0.1% (w/v)的TDAO。在一个实例中,所述碱性洗涤剂包括60mM至80mM的氢氧化钾和0.02%至0.1% (w/v)的TDAO。在一个实例中,所述碱性洗涤剂包括75mM的氢氧化钾和0.02%至0.1% (w/v)的TDAO。例如,所述碱性洗涤剂包括约0.02% TDAO和约75mM的氢氧化钾。

[0024] 在一个实例中,所述碱性洗涤剂包括TDAO和氢氧化钠。在一个实例中,所述碱性洗涤剂包括10mM至150mM的氢氧化钠和0.01%至2% (w/v)的TDAO。在一个实例中,所述碱性洗涤剂包括60mM至80mM的氢氧化钠和0.01%至0.1% (w/v)的TDAO。在一个实例中,所述碱性

洗涤剂包括60mM至80mM的氢氧化钠和0.02%至0.1% (w/v) 的TDAO。在一个实例中,所述碱性洗涤剂包括75mM的氢氧化钠和0.02%至0.1% (w/v) 的TDAO。例如,所述碱性洗涤剂包括约0.02% TDAO和约75mM的氢氧化钠。

[0025] 在一个实例中,所述表面活性剂和所述碱性盐混合成组合。例如,所述表面活性剂和所述碱性盐在相同的溶液中(即,在所述相同溶液中混合成组合)。在另一个实例中,所述表面活性剂和所述碱性盐在单独的溶液中。根据本文的公开内容,对于技术人员而言将显而易见的是,当所述表面活性剂和所述碱性盐在单独的溶液中时,通过使所述介质同时或顺序地与所述表面活性剂和所述碱性盐接触来对所述介质进行消毒。例如,通过使所述介质与所述碱性盐接触,随后与所述表面活性剂接触来对所述介质进行消毒。在另一个实例中,通过使所述介质与所述表面活性剂接触,随后与所述碱性盐接触来对所述介质进行消毒。在本公开的示例性方法中,通过使所述介质与0.02%至0.1%表面活性剂接触,随后与75mM的选自氢氧化钠和氢氧化钾的所述碱性盐接触来对所述介质进行消毒。

[0026] 在一个实例中,所述螯合剂是乙二胺四乙酸(EDTA)、乙二醇-双(β -氨基乙基醚)-N,N,N',N'-四乙酸(EGTA)、乙二胺-N,N'-二琥珀酸(EDDS)、亚氨基二琥珀酸(IDS)、甲基甘氨酸二乙酸(MGDA)、三亚乙基四胺(Trien)、亚氨基二乙酸(IDA)、次氨基三乙酸(NTA)、三聚磷酸酯(TPP)、二亚乙基三胺五乙酸(DTPA)、二乙基二硫代氨基甲酸钠(DDC)、L-谷氨酸N,N-二乙酸、四钠盐(GLDA)和青霉胺(penicillamine)、葡萄糖酸钠、柠檬酸三钠、DMSA、DMPS、BAPTA、ALA以及其盐。

[0027] 在一个实例中,所述螯合剂是可生物降解的螯合剂,如乙二胺-N,N'-二琥珀酸(EDDS)、亚氨基二琥珀酸(IDS)、甲基甘氨酸二乙酸(MGDA)或次氨基三乙酸(NTA)。

[0028] 在一些实例中,所述色谱介质与多个柱体积(CV)的所述碱性洗涤剂接触以对所述介质进行消毒。在此方面,流过所述介质的大约等于所述色谱介质的体积的碱性洗涤剂的体积等于一个CV。在一些实例中,1或2或3或4或5或6或7或8或9或10柱体积的溶液流过所述色谱介质。

[0029] 在一些实例中,色谱介质与碱性洗涤剂接触以在限定的时段内对所述介质进行消毒。例如,所述时段是10分钟或15分钟或20分钟或30分钟或45分钟或60分钟。在一个实例中,所述时段是10分钟或15分钟或20分钟或30分钟或45分钟或60分钟或75分钟或90分钟。在一个实例中,所述时段是10分钟。在一个实例中,所述时段是15分钟。在一个实例中,所述时段是20分钟。在一个实例中,所述时段是30分钟。在一个实例中,所述时段是45分钟。在一个实例中,所述时段是60分钟。在一个实例中,所述时段是75分钟。在一个实例中,所述时段是90分钟。

[0030] 在一个实例中,所述方法包括使所述介质与碱性洗涤剂接触限定的时段。例如,所述时段是10分钟或15分钟或20分钟或30分钟或45分钟或60分钟。在一个实例中,所述方法包括使所述介质与碱性洗涤剂接触10分钟或15分钟或20分钟或30分钟或45分钟或60分钟或75分钟或90分钟。在一个实例中,所述时段是10分钟。在一个实例中,所述方法包括使所述介质与碱性洗涤剂接触15分钟。在一个实例中,所述方法包括使所述介质与碱性洗涤剂接触20分钟。在一个实例中,所述方法包括使所述介质与碱性洗涤剂接触30分钟。在一个实例中,所述方法包括使所述介质与碱性洗涤剂接触45分钟。在一个实例中,所述方法包括使所述介质与碱性洗涤剂接触60分钟。在一个实例中,所述方法包括使所述介质与碱性洗涤剂

剂接触75分钟。在一个实例中,所述方法包括使所述介质与碱性洗涤剂接触90分钟。

[0031] 在本公开的一些形式中,如本文所描述的方法另外地包括再生所述色谱介质。例如,所述方法包括在对所述色谱介质进行消毒之前再生所述色谱介质。

[0032] 用于再生色谱介质的方法是本领域已知的,并且对技术人员来说是显而易见的。例如,再生色谱介质包含使色谱介质与溶液接触,所述溶液包含但不限于盐溶液(例如,NaCl)、腐蚀性溶液(例如,至多1.5M氢氧化钠)、溶剂(例如,盐酸、乙酸、乙醇、甲醇、异丙醇和乙腈、Tris或Tris EDTA)或化合物(如尿素或盐酸胍)。在一个实例中,再生色谱介质包含使色谱介质与极性溶液接触。

[0033] 一些再生方法包含使所述介质与包括以下的溶液接触:乙二醇、氯化钠、氢氧化钠或氢氧化钠和乙醇的组合。

[0034] 在一些实例中,通过使所述介质与包括乙醇(例如,5-30%乙醇,如20%乙醇)的溶液接触来再生所述介质。在一些实例中,通过包含以下的一个或多个步骤来再生所述介质:用一个或多个柱体积的乙醇洗涤所述树脂;随后用一个或多个柱体积的超纯水洗涤所述树脂。

[0035] 在一些实例中,再生色谱介质包括使所述介质与溶液的组合接触。在一些实例中,通过包含以下的一个或多个步骤来再生所述介质:用一个或多个柱体积的1M NaCl和1M氢氧化钠洗涤所述树脂;用一个或多个柱体积的超纯水洗涤所述树脂;用一个或多个柱体积的1M乙酸洗涤所述树脂;随后用一个或多个柱体积的超纯水洗涤所述树脂。本文描述了用于再生色谱树脂的另外的方法和试剂。

[0036] 在一些实例中,通过使用NaCl和氢氧化钠的组合来再生所述介质,例如通过用一个或多个柱体积的2.0M NaCl和一个或多个柱体积的NaOH的组合进行洗涤。

[0037] 在一些实例中,通过使所述介质与乙醇(例如,5-30%乙醇,如20%乙醇)接触,随后与氢氧化钠(例如,5-30mM氢氧化钠,例如,20mM氢氧化钠)接触来再生所述介质。

[0038] 在一些实例中,顺序地施加所述乙醇和所述氢氧化钠。例如,通过使所述介质与乙醇接触,随后与氢氧化钠接触来再生所述介质。在另一个实例中,通过使所述介质与氢氧化钠接触,随后与乙醇接触来再生所述介质。在一些实例中,所述乙醇和所述氢氧化钠作为单独的溶液同时施加。在一个实例中,所述乙醇和所述氢氧化钠作为单一溶液施加。

[0039] 在一些实例中,通过使所述树脂与0.2M NaOH接触来再生所述介质。在一个实例中,通过使所述树脂与5mM NaOH接触来再生所述介质。

[0040] 在一些实例中,色谱介质与多个柱体积(CV)的溶液的接触以再生所述柱。在此方面,流过所述介质的大约等于所述色谱介质的体积的溶液的体积等于一个CV。在一些实例中,1或2或3或4或5或6或7或8或9或10柱体积的溶液流过所述色谱介质。

[0041] 在一些实例中,色谱介质与溶液接触以在限定的时段内再生所述柱。例如,所述时段是10分钟或15分钟或20分钟或30分钟或45分钟或60分钟。

[0042] 本公开另外地提供了一种对色谱介质进行消毒和再生色谱介质的方法。例如,所述方法包括对所述色谱介质进行消毒,随后再生所述色谱介质。在另一个实例中,所述方法包括再生所述色谱介质,随后对所述色谱介质进行消毒。

[0043] 本公开提供了一种对色谱介质进行消毒和再生色谱介质的方法,所述方法包括:

[0044] (i) 通过使所述色谱介质与碱性洗涤剂接触来对所述介质进行消毒,以及

[0045] (ii) 通过使所述色谱介质与再生溶液接触来再生所述介质,所述再生溶液包括乙二醇、氯化钠、氢氧化钠或氢氧化钠和乙醇的组合。

[0046] 在一个实例中,所述方法包括:

[0047] (i) 通过使所述色谱介质与碱性洗涤剂接触来对所述介质进行消毒,所述碱性洗涤剂包括碱性盐、一种或多种表面活性剂和任选地螯合剂;以及

[0048] (ii) 通过使所述色谱介质与再生溶液接触来再生所述介质,所述再生溶液包括氢氧化钠和乙醇的组合。

[0049] 在一个实例中,所述方法包括:

[0050] (i) 通过使所述色谱介质与碱性洗涤剂接触来对所述介质进行消毒,所述碱性洗涤剂包括0.01%至10% (w/v) 的一种或多种表面活性剂和/或10mM至150mM的碱性盐;以及

[0051] (ii) 通过使所述色谱介质与再生溶液接触来再生所述介质,所述再生溶液包括5-30mM氢氧化钠和5-30%乙醇的组合。

[0052] 在一个实例中,所述方法包括:

[0053] (i) 通过使所述色谱介质与碱性洗涤剂接触来对所述介质进行消毒,所述碱性洗涤剂包括0.01%至10% (w/v) 的一种或多种表面活性剂和/或10mM至150mM的选自氢氧化钠和氢氧化钾的碱性盐;以及

[0054] (ii) 通过使所述色谱介质与再生溶液接触来再生所述介质,所述再生溶液包括5-30mM氢氧化钠和5-30%乙醇的组合。

[0055] 在一个实例中,所述方法包括:

[0056] (i) 通过使所述色谱介质与碱性洗涤剂接触来对所述介质进行消毒,所述碱性洗涤剂包括0.01%至5% (w/v) 的一种或多种表面活性剂和/或50mM至100mM的选自氢氧化钠和氢氧化钾的碱性盐;以及

[0057] (ii) 通过使所述色谱介质与再生溶液接触来再生所述介质,所述再生溶液包括5-30mM氢氧化钠和5-30%乙醇的组合。

[0058] 在一个实例中,所述方法包括:

[0059] (i) 通过使所述色谱介质与碱性洗涤剂接触来对所述介质进行消毒,所述碱性洗涤剂包括0.01%至1% (w/v) 的一种或多种表面活性剂和/或60mM至80mM的选自氢氧化钠和氢氧化钾的碱性盐;以及

[0060] (ii) 通过使所述色谱介质与再生溶液接触来再生所述介质,所述再生溶液包括5-30mM氢氧化钠和5-30%乙醇的组合。

[0061] 在一个实例中,所述方法包括:

[0062] (i) 通过使所述色谱介质与碱性洗涤剂接触来对所述介质进行消毒,所述碱性洗涤剂包括0.02%至0.1% (w/v) 的一种或多种表面活性剂和/或60mM至80mM的选自氢氧化钠和氢氧化钾的碱性盐;以及

[0063] (ii) 通过使所述色谱介质与再生溶液接触来再生所述介质,所述再生溶液包括5-30mM氢氧化钠和5-30%乙醇的组合。

[0064] 在一个实例中,所述方法包括:

[0065] (i) 通过使所述色谱介质与碱性洗涤剂接触来对所述介质进行消毒,所述碱性洗涤剂包括0.02% (w/v) 的一种或多种表面活性剂和/或75mM的选自氢氧化钠和氢氧化钾的

碱性盐;以及

[0066] (ii) 通过使所述色谱介质与再生溶液接触来再生所述介质,所述再生溶液包括5mM氢氧化钠和20%乙醇的组合。

[0067] 在一个实例中,所述方法包括:

[0068] (i) 通过使所述色谱介质与碱性洗涤剂接触来对所述介质进行消毒,所述碱性洗涤剂包括0.02% (w/v) 的一种或多种表面活性剂和/或75mM的氢氧化钠;以及

[0069] (ii) 通过使所述色谱介质与再生溶液接触来再生所述介质,所述再生溶液包括5mM氢氧化钠和20%乙醇的组合。

[0070] 在一个实例中,所述方法包括:

[0071] (i) 通过使所述色谱介质与碱性洗涤剂接触来对所述介质进行消毒,所述碱性洗涤剂包括0.02% (w/v) 的一种或多种表面活性剂和/或75mM的氢氧化钾;以及

[0072] (ii) 通过使所述色谱介质与再生溶液接触来再生所述介质,所述再生溶液包括5mM氢氧化钠和20%乙醇的组合。

[0073] 在一个实例中,所述方法包括:

[0074] (i) 通过使所述色谱介质与碱性洗涤剂接触来对所述介质进行消毒,所述碱性洗涤剂包括0.02% (w/v) 的一种或多种表面活性剂和/或75mM的氢氧化钠;以及

[0075] (ii) 通过使所述色谱介质与再生溶液接触来再生所述介质,所述再生溶液包括20mM氢氧化钠和20%乙醇的组合。

[0076] 在一个实例中,所述方法包括:

[0077] (i) 通过使所述色谱介质与碱性洗涤剂接触来对所述介质进行消毒,所述碱性洗涤剂包括0.02% (w/v) 的一种或多种表面活性剂和/或75mM的氢氧化钾;以及

[0078] (ii) 通过使所述色谱介质与再生溶液接触来再生所述介质,所述再生溶液包括20mM氢氧化钠和20%乙醇的组合。

[0079] 在一个实例中,所述方法包括:

[0080] (i) 通过使所述色谱介质与包括CIP-100的碱性洗涤剂接触来对所述介质进行消毒,以及

[0081] (ii) 通过使所述色谱介质与再生溶液接触来再生所述介质,所述再生溶液包括氢氧化钠和乙醇的组合。

[0082] 在一个实例中,所述方法包括:

[0083] (i) 通过使所述色谱介质与包括1% - 5% CIP-100的碱性洗涤剂接触来对所述介质进行消毒,以及

[0084] (ii) 通过使所述色谱介质与再生溶液接触来再生所述介质,所述再生溶液包括5-30mM氢氧化钠和5-30%乙醇的组合。

[0085] 在一个实例中,所述方法包括:

[0086] (i) 通过使所述色谱介质与包括2% CIP-100的碱性洗涤剂接触来对所述介质进行消毒,以及

[0087] (ii) 通过使所述色谱介质与再生溶液接触来再生所述介质,所述再生溶液包括5mM或20mM氢氧化钠和20%乙醇的组合。

[0088] 在一个实例中,所述方法包括:

[0089] (i) 通过使所述色谱介质与包括2% CIP-100的碱性洗涤剂接触来对所述介质进行消毒,以及

[0090] (ii) 通过使所述色谱介质与再生溶液接触来再生所述介质,所述再生溶液包括5mM氢氧化钠和20%乙醇的组合。

[0091] 在一个实例中,所述方法包括:

[0092] (i) 通过使所述色谱介质与包括2% CIP-100的碱性洗涤剂接触来对所述介质进行消毒,以及

[0093] (ii) 通过使所述色谱介质与再生溶液接触来再生所述介质,所述再生溶液包括20mM氢氧化钠和20%乙醇的组合。

[0094] 在一个实例中,所述方法包括:

[0095] (i) 通过使所述色谱介质与碱性洗涤剂接触来对所述介质进行消毒,所述碱性洗涤剂包括肉豆蔻基二甲胺-N-氧化物(TDAO)和选自氢氧化钾和氢氧化钠的碱性盐;以及

[0096] (ii) 通过使所述色谱介质与再生溶液接触来再生所述介质,所述再生溶液包括氢氧化钠和乙醇的组合。

[0097] 在一个实例中,所述方法包括:

[0098] (i) 通过使所述色谱介质与碱性洗涤剂接触来对所述介质进行消毒,所述碱性洗涤剂包括0.01%至10% (w/v) 的肉豆蔻基二甲胺-N-氧化物(TDAO)和10mM至150mM的选自氢氧化钾和氢氧化钠的碱性盐;以及

[0099] (ii) 通过使所述色谱介质与再生溶液接触来再生所述介质,所述再生溶液包括5-30mM氢氧化钠和5-30%乙醇的组合。

[0100] 在一个实例中,所述方法包括:

[0101] (i) 通过使所述色谱介质与碱性洗涤剂接触来对所述介质进行消毒,所述碱性洗涤剂包括0.01%至1% (w/v) 的肉豆蔻基二甲胺-N-氧化物(TDAO)和60mM至80mM的选自氢氧化钾和氢氧化钠的碱性盐;以及

[0102] (ii) 通过使所述色谱介质与再生溶液接触来再生所述介质,所述再生溶液包括5或20mM氢氧化钠和20%乙醇的组合。

[0103] 在一个实例中,所述方法包括:

[0104] (i) 通过使所述色谱介质与碱性洗涤剂接触来对所述介质进行消毒,所述碱性洗涤剂包括0.02%至0.1% (w/v) 的肉豆蔻基二甲胺-N-氧化物(TDAO)和60mM至80mM的选自氢氧化钾和氢氧化钠的碱性盐;以及

[0105] (ii) 通过使所述色谱介质与再生溶液接触来再生所述介质,所述再生溶液包括5或20mM氢氧化钠和20%乙醇的组合。

[0106] 在一个实例中,所述方法包括:

[0107] (i) 通过使所述色谱介质与碱性洗涤剂接触来对所述介质进行消毒,所述碱性洗涤剂包括0.01%至1% (w/v) 的肉豆蔻基二甲胺-N-氧化物(TDAO)和60mM至80mM的氢氧化钾;以及

[0108] (ii) 通过使所述色谱介质与再生溶液接触来再生所述介质,所述再生溶液包括5或20mM氢氧化钠和20%乙醇的组合。

[0109] 在一个实例中,所述方法包括:

[0110] (i) 通过使所述色谱介质与碱性洗涤剂接触来对所述介质进行消毒,所述碱性洗涤剂包括0.02%至0.1% (w/v) 的肉豆蔻基二甲胺-N-氧化物(TDAO) 和60mM至80mM的氢氧化钾;以及

[0111] (ii) 通过使所述色谱介质与再生溶液接触来再生所述介质,所述再生溶液包括5或20mM氢氧化钠和20%乙醇的组合。

[0112] 在一个实例中,所述方法包括:

[0113] (i) 通过使所述色谱介质与碱性洗涤剂接触来对所述介质进行消毒,所述碱性洗涤剂包括0.01%至1% (w/v) 的肉豆蔻基二甲胺-N-氧化物(TDAO) 和60mM至80mM的氢氧化钠;以及

[0114] (ii) 通过使所述色谱介质与再生溶液接触来再生所述介质,所述再生溶液包括5或20mM氢氧化钠和20%乙醇的组合。

[0115] 在一个实例中,所述方法包括:

[0116] (i) 通过使所述色谱介质与碱性洗涤剂接触来对所述介质进行消毒,所述碱性洗涤剂包括0.02%至0.1% (w/v) 的肉豆蔻基二甲胺-N-氧化物(TDAO) 和60mM至80mM的氢氧化钠;以及

[0117] (ii) 通过使所述色谱介质与再生溶液接触来再生所述介质,所述再生溶液包括5或20mM氢氧化钠和20%乙醇的组合。

[0118] 在一个实例中,所述方法包括:

[0119] (i) 通过使所述色谱介质与碱性洗涤剂接触来对所述介质进行消毒,所述碱性洗涤剂包括0.02% (w/v) 的肉豆蔻基二甲胺-N-氧化物(TDAO) 和75mM的选自氢氧化钾和氢氧化钠的碱性盐;以及

[0120] (ii) 通过使所述色谱介质与再生溶液接触来再生所述介质,所述再生溶液包括20mM氢氧化钠和20%乙醇的组合。

[0121] 在一个实例中,所述方法包括:

[0122] (i) 通过使所述色谱介质与碱性洗涤剂接触来对所述介质进行消毒,所述碱性洗涤剂包括0.02% (w/v) 的肉豆蔻基二甲胺-N-氧化物(TDAO) 和75mM的氢氧化钾;以及

[0123] (ii) 通过使所述色谱介质与再生溶液接触来再生所述介质,所述再生溶液包括20mM氢氧化钠和20%乙醇的组合。

[0124] 在一个实例中,所述方法包括:

[0125] (i) 通过使所述色谱介质与碱性洗涤剂接触来对所述介质进行消毒,所述碱性洗涤剂包括0.02% (w/v) 的肉豆蔻基二甲胺-N-氧化物(TDAO) 和75mM的氢氧化钠;以及

[0126] (ii) 通过使所述色谱介质与再生溶液接触来再生所述介质,所述再生溶液包括20mM氢氧化钠和20%乙醇的组合。

[0127] 在一个实例中,所述方法包括:

[0128] (i) 通过使所述色谱介质与碱性洗涤剂接触来对所述介质进行消毒,所述碱性洗涤剂包括0.02% (w/v) 的肉豆蔻基二甲胺-N-氧化物(TDAO) 和75mM的氢氧化钾;以及

[0129] (ii) 通过使所述色谱介质与再生溶液接触来再生所述介质,所述再生溶液包括5mM氢氧化钠和20%乙醇的组合。

[0130] 在一个实例中,所述方法包括:

[0131] (i) 通过使所述色谱介质与碱性洗涤剂接触来对所述介质进行消毒,所述碱性洗涤剂包括0.02% (w/v) 的肉豆蔻基二甲胺-N-氧化物(TDAO) 和75mM的氢氧化钠;以及

[0132] (ii) 通过使所述色谱介质与再生溶液接触来再生所述介质,所述再生溶液包括5mM氢氧化钠和20%乙醇的组合。

[0133] 本公开提供了一种再生色谱介质和对色谱介质进行消毒的方法,所述方法包括:

[0134] (i) 通过使所述色谱介质与再生溶液接触来再生所述介质,所述再生溶液包括乙二醇、氯化钠、氢氧化钠或氢氧化钠和乙醇的组合;以及

[0135] (ii) 通过使所述色谱介质与碱性洗涤剂接触来对所述介质进行消毒。

[0136] 在一个实例中,所述方法包括:

[0137] (i) 通过使所述色谱介质与再生溶液接触来再生所述介质,所述再生溶液包括氢氧化钠和乙醇的组合;以及

[0138] (ii) 通过使所述色谱介质与碱性洗涤剂接触来对所述介质进行消毒,所述碱性洗涤剂包括碱性盐、一种或多种表面活性剂和任选地螯合剂。

[0139] 在一个实例中,所述方法包括:

[0140] (i) 通过使所述色谱介质与再生溶液接触来再生所述介质,所述再生溶液包括5-30mM氢氧化钠和5-30%乙醇的组合;以及

[0141] (ii) 通过使所述色谱介质与碱性洗涤剂接触来对所述介质进行消毒,所述碱性洗涤剂包括0.01%至10% (w/v) 的一种或多种表面活性剂和/或10mM至150mM的碱性盐。

[0142] 在一个实例中,所述方法包括:

[0143] (i) 通过使所述色谱介质与再生溶液接触来再生所述介质,所述再生溶液包括5-30mM氢氧化钠和5-30%乙醇的组合;以及

[0144] (ii) 通过使所述色谱介质与碱性洗涤剂接触来对所述介质进行消毒,所述碱性洗涤剂包括0.01%至10% (w/v) 的一种或多种表面活性剂和/或10mM至150mM的选自氢氧化钠和氢氧化钾的碱性盐。

[0145] 在一个实例中,所述方法包括:

[0146] (i) 通过使所述色谱介质与再生溶液接触来再生所述介质,所述再生溶液包括5-30mM氢氧化钠和5-30%乙醇的组合;以及

[0147] (ii) 通过使所述色谱介质与碱性洗涤剂接触来对所述介质进行消毒,所述碱性洗涤剂包括0.01%至5% (w/v) 的一种或多种表面活性剂和/或50mM至100mM的选自氢氧化钠和氢氧化钾的碱性盐。

[0148] 在一个实例中,所述方法包括:

[0149] (i) 通过使所述色谱介质与再生溶液接触来再生所述介质,所述再生溶液包括5-30mM氢氧化钠和5-30%乙醇的组合;以及

[0150] (ii) 通过使所述色谱介质与碱性洗涤剂接触来对所述介质进行消毒,所述碱性洗涤剂包括0.01%至1% (w/v) 的一种或多种表面活性剂和/或60mM至80mM的选自氢氧化钠和氢氧化钾的碱性盐。

[0151] 在一个实例中,所述方法包括:

[0152] (i) 通过使所述色谱介质与再生溶液接触来再生所述介质,所述再生溶液包括5-30mM氢氧化钠和5-30%乙醇的组合;以及

[0153] (ii) 通过使所述色谱介质与碱性洗涤剂接触来对所述介质进行消毒,所述碱性洗涤剂包括0.02%至0.1% (w/v) 的一种或多种表面活性剂和/或60mM至80mM的选自氢氧化钠和氢氧化钾的碱性盐。

[0154] 在一个实例中,所述方法包括:

[0155] (i) 通过使所述色谱介质与再生溶液接触来再生所述介质,所述再生溶液包括5mM氢氧化钠和20%乙醇的组合;以及

[0156] (ii) 通过使所述色谱介质与碱性洗涤剂接触来对所述介质进行消毒,所述碱性洗涤剂包括0.02% (w/v) 的一种或多种表面活性剂和/或75mM的选自氢氧化钠和氢氧化钾的碱性盐。

[0157] 在一个实例中,所述方法包括:

[0158] (i) 通过使所述色谱介质与再生溶液接触来再生所述介质,所述再生溶液包括5mM氢氧化钠和20%乙醇的组合;以及

[0159] (ii) 通过使所述色谱介质与碱性洗涤剂接触来对所述介质进行消毒,所述碱性洗涤剂包括0.02% (w/v) 的一种或多种表面活性剂和/或75mM的氢氧化钠。

[0160] 在一个实例中,所述方法包括:

[0161] (i) 通过使所述色谱介质与再生溶液接触来再生所述介质,所述再生溶液包括5mM氢氧化钠和20%乙醇的组合;以及

[0162] (ii) 通过使所述色谱介质与碱性洗涤剂接触来对所述介质进行消毒,所述碱性洗涤剂包括0.02% (w/v) 的一种或多种表面活性剂和/或75mM的氢氧化钾。

[0163] 在一个实例中,所述方法包括:

[0164] (i) 通过使所述色谱介质与再生溶液接触来再生所述介质,所述再生溶液包括20mM氢氧化钠和20%乙醇的组合;以及

[0165] (ii) 通过使所述色谱介质与碱性洗涤剂接触来对所述介质进行消毒,所述碱性洗涤剂包括0.02% (w/v) 的一种或多种表面活性剂和/或75mM的氢氧化钠。

[0166] 在一个实例中,所述方法包括:

[0167] (i) 通过使所述色谱介质与再生溶液接触来再生所述介质,所述再生溶液包括20mM氢氧化钠和20%乙醇的组合;以及

[0168] (ii) 通过使所述色谱介质与碱性洗涤剂接触来对所述介质进行消毒,所述碱性洗涤剂包括0.02% (w/v) 的一种或多种表面活性剂和/或75mM的氢氧化钾。

[0169] 在一个实例中,所述方法包括:

[0170] (i) 通过使所述色谱介质与再生溶液接触来再生所述介质,所述再生溶液包括氢氧化钠和乙醇的组合;以及

[0171] (ii) 通过使所述色谱介质与包括CIP-100的碱性洗涤剂接触来对所述介质进行消毒。

[0172] 在一个实例中,所述方法包括:

[0173] (i) 通过使所述色谱介质与再生溶液接触来再生所述介质,所述再生溶液包括5-30mM氢氧化钠和5-30%乙醇的组合;以及

[0174] (ii) 通过使所述色谱介质与包括1%-5% CIP-100的碱性洗涤剂接触来对所述介质进行消毒。

[0175] 在一个实例中,所述方法包括:

[0176] (i) 通过使所述色谱介质与再生溶液接触来再生所述介质,所述再生溶液包括5mM或20mM氢氧化钠和20%乙醇的组合;以及

[0177] (ii) 通过使所述色谱介质与包括2% CIP-100的碱性洗涤剂接触来对所述介质进行消毒。

[0178] 在一个实例中,所述方法包括:

[0179] (i) 通过使所述色谱介质与再生溶液接触来再生所述介质,所述再生溶液包括5mM氢氧化钠和20%乙醇的组合;以及

[0180] (i) 通过使所述色谱介质与包括2% CIP-100的碱性洗涤剂接触来对所述介质进行消毒。

[0181] 在一个实例中,所述方法包括:

[0182] (i) 通过使所述色谱介质与再生溶液接触来再生所述介质,所述再生溶液包括20mM氢氧化钠和20%乙醇的组合;以及

[0183] (ii) 通过使所述色谱介质与包括2% CIP-100的碱性洗涤剂接触来对所述介质进行消毒。

[0184] 在一个实例中,所述方法包括:

[0185] (i) 通过使所述色谱介质与再生溶液接触来再生所述介质,所述再生溶液包括氢氧化钠和乙醇的组合;以及

[0186] (ii) 通过使所述色谱介质与碱性洗涤剂接触来对所述介质进行消毒,所述碱性洗涤剂包括肉豆蔻基二甲胺-N-氧化物(TDAO)和选自氢氧化钾和氢氧化钠的碱性盐。

[0187] 在一个实例中,所述方法包括:

[0188] (i) 通过使所述色谱介质与再生溶液接触来再生所述介质,所述再生溶液包括5-30mM氢氧化钠和5-30%乙醇的组合;以及

[0189] (ii) 通过使所述色谱介质与碱性洗涤剂接触来对所述介质进行消毒,所述碱性洗涤剂包括0.01%至10% (w/v) 的肉豆蔻基二甲胺-N-氧化物(TDAO)和10mM至150mM的选自氢氧化钾和氢氧化钠的碱性盐。

[0190] 在一个实例中,所述方法包括:

[0191] (i) 通过使所述色谱介质与再生溶液接触来再生所述介质,所述再生溶液包括5或20mM氢氧化钠和20%乙醇的组合;以及

[0192] (ii) 通过使所述色谱介质与碱性洗涤剂接触来对所述介质进行消毒,所述碱性洗涤剂包括0.01%至1% (w/v) 的肉豆蔻基二甲胺-N-氧化物(TDAO)和60mM至80mM的选自氢氧化钾和氢氧化钠的碱性盐。

[0193] 在一个实例中,所述方法包括:

[0194] (i) 通过使所述色谱介质与再生溶液接触来再生所述介质,所述再生溶液包括5或20mM氢氧化钠和20%乙醇的组合;以及

[0195] (ii) 通过使所述色谱介质与碱性洗涤剂接触来对所述介质进行消毒,所述碱性洗涤剂包括0.02%至0.1% (w/v) 的肉豆蔻基二甲胺-N-氧化物(TDAO)和60mM至80mM的选自氢氧化钾和氢氧化钠的碱性盐。

[0196] 在一个实例中,所述方法包括:

[0197] (i) 通过使所述色谱介质与再生溶液接触来再生所述介质,所述再生溶液包括5或20mM氢氧化钠和20%乙醇的组合;以及

[0198] (ii) 通过使所述色谱介质与碱性洗涤剂接触来对所述介质进行消毒,所述碱性洗涤剂包括0.01%至1% (w/v) 的肉豆蔻基二甲胺-N-氧化物 (TDAO) 和60mM至80mM的氢氧化钾。

[0199] 在一个实例中,所述方法包括:

[0200] (i) 通过使所述色谱介质与再生溶液接触来再生所述介质,所述再生溶液包括5或20mM氢氧化钠和20%乙醇的组合;以及

[0201] (ii) 通过使所述色谱介质与碱性洗涤剂接触来对所述介质进行消毒,所述碱性洗涤剂包括0.02%至0.1% (w/v) 的肉豆蔻基二甲胺-N-氧化物 (TDAO) 和60mM至80mM的氢氧化钾。

[0202] 在一个实例中,所述方法包括:

[0203] (i) 通过使所述色谱介质与再生溶液接触来再生所述介质,所述再生溶液包括5或20mM氢氧化钠和20%乙醇的组合;以及

[0204] (ii) 通过使所述色谱介质与碱性洗涤剂接触来对所述介质进行消毒,所述碱性洗涤剂包括0.01%至1% (w/v) 的肉豆蔻基二甲胺-N-氧化物 (TDAO) 和60mM至80mM的氢氧化钠。

[0205] 在一个实例中,所述方法包括:

[0206] (i) 通过使所述色谱介质与再生溶液接触来再生所述介质,所述再生溶液包括5或20mM氢氧化钠和20%乙醇的组合;以及

[0207] (ii) 通过使所述色谱介质与碱性洗涤剂接触来对所述介质进行消毒,所述碱性洗涤剂包括0.02%至0.1% (w/v) 的肉豆蔻基二甲胺-N-氧化物 (TDAO) 和60mM至80mM的氢氧化钠。

[0208] 在一个实例中,所述方法包括:

[0209] (i) 通过使所述色谱介质与再生溶液接触来再生所述介质,所述再生溶液包括20mM氢氧化钠和20%乙醇的组合;以及

[0210] (ii) 通过使所述色谱介质与碱性洗涤剂接触来对所述介质进行消毒,所述碱性洗涤剂包括0.02% (w/v) 的肉豆蔻基二甲胺-N-氧化物 (TDAO) 和75mM的选自氢氧化钾和氢氧化钠的碱性盐。

[0211] 在一个实例中,所述方法包括:

[0212] (i) 通过使所述色谱介质与再生溶液接触来再生所述介质,所述再生溶液包括20mM氢氧化钠和20%乙醇的组合;以及

[0213] (ii) 通过使所述色谱介质与碱性洗涤剂接触来对所述介质进行消毒,所述碱性洗涤剂包括0.02% (w/v) 的肉豆蔻基二甲胺-N-氧化物 (TDAO) 和75mM的氢氧化钾。

[0214] 在一个实例中,所述方法包括:

[0215] (i) 通过使所述色谱介质与再生溶液接触来再生所述介质,所述再生溶液包括20mM氢氧化钠和20%乙醇的组合;以及

[0216] (ii) 通过使所述色谱介质与碱性洗涤剂接触来对所述介质进行消毒,所述碱性洗涤剂包括0.02% (w/v) 的肉豆蔻基二甲胺-N-氧化物 (TDAO) 和75mM的氢氧化钠。

[0217] 在一个实例中,所述方法包括:

[0218] (i) 通过使所述色谱介质与再生溶液接触来再生所述介质,所述再生溶液包括5mM氢氧化钠和20%乙醇的组合;以及

[0219] (ii) 通过使所述色谱介质与碱性洗涤剂接触来对所述介质进行消毒,所述碱性洗涤剂包括0.02% (w/v) 的肉豆蔻基二甲胺-N-氧化物(TDAO) 和75mM的氢氧化钾。

[0220] 在一个实例中,所述方法包括:

[0221] (i) 通过使所述色谱介质与再生溶液接触来再生所述介质,所述再生溶液包括5mM氢氧化钠和20%乙醇的组合;以及

[0222] (ii) 通过使所述色谱介质与碱性洗涤剂接触来对所述介质进行消毒,所述碱性洗涤剂包括0.02% (w/v) 的肉豆蔻基二甲胺-N-氧化物(TDAO) 和75mM的氢氧化钠。

[0223] 在一些实例中,所述色谱介质是离子交换介质、亲和介质、疏水性相互作用色谱介质、尺寸排阻柱或混合模式色谱介质。例如,所述介质是亲和色谱介质,例如,与抗体的Fc区结合的亲和色谱介质。示例性亲和色谱介质包括蛋白A或其抗体结合片段、蛋白G或其抗体结合片段或能够与人IgG的CH1或CH3结构域特异性结合的配体。在一个实例中,能够与人IgG的CH3结构域特异性结合的所述配体包括骆驼科源性单结构域[VHH] 抗体片段。

[0224] 在一些实例中,所述介质不是腐蚀性稳定的或碱性稳定的。

[0225] 在一些实例中,所述介质为不是腐蚀性稳定的或碱性稳定的亲和色谱介质。

[0226] 在一个实例中,所述色谱介质包括选自以下组成的组的基质:聚(苯乙烯-二乙烯基苯)、交联聚(苯乙烯-二乙烯基苯)、二氧化硅、琼脂糖、交联琼脂糖、可控孔度玻璃、聚甲基丙烯酸酯和纤维素。在本公开的例示的形式中,所述色谱介质包括交联聚(苯乙烯-二乙烯基苯)。

[0227] 在一个实例中,所述色谱介质包括能够与人IgG的CH3结构域特异性结合的VHH抗体片段,所述人IgG与交联聚(苯乙烯-二乙烯基苯) 基质缀合。

[0228] 本公开提供了一种方法,所述方法包括使包括能够与人IgG的CH3结构域特异性结合的VHH抗体片段的色谱介质与碱性洗涤剂接触,所述人IgG与交联聚(苯乙烯-二乙烯基苯) 基质缀合,所述碱性洗涤剂包括碱性盐、一种或多种表面活性剂和/或螯合剂。

[0229] 在一个实例中,所述碱性洗涤剂包括碱性盐、一种或多种表面活性剂和任选地螯合剂。在一个实例中,所述碱性洗涤剂包括碱性盐和一种或多种表面活性剂。在一个实例中,所述碱性洗涤剂包括碱性盐、一种或多种表面活性剂和螯合剂。

[0230] 本公开另外地提供了一种方法,所述方法包括通过使包括能够与人IgG的CH3结构域特异性结合的VHH抗体片段的色谱介质与包括氢氧化钠和乙醇的組合的溶液接触,并且通过使所述介质与碱性洗涤剂接触以对所述介质进行消毒来再生所述色谱介质,所述人IgG与交联聚(苯乙烯-二乙烯基苯) 基质缀合,所述碱性洗涤剂包括碱性盐、一种或多种表面活性剂和/或螯合剂。

[0231] 在一个实例中,所述碱性洗涤剂包括碱性盐、一种或多种表面活性剂和任选地螯合剂。在一个实例中,所述碱性洗涤剂包括碱性盐和一种或多种表面活性剂。在一个实例中,所述碱性洗涤剂包括碱性盐、一种或多种表面活性剂和螯合剂。

[0232] 在一个实例中,所述色谱介质先前已经与样品接触。例如,所述样品是血浆或其级分。

[0233] 在一个实例中,所述血浆是澄清的富低温血浆。

[0234] 在一个实例中,所述血浆级分是澄清的贫低温血浆。

[0235] 在一些实例中,本文所描述的方法作为连续色谱的过程的一部分进行。

[0236] 在一个实例中,在所述树脂上重复本文所描述的方法,其中将多个批次的血浆或其积分施加到所述树脂。例如,在每个批次的血浆或其级分之后,在所述树脂上重复本文所描述的方法。

[0237] 根据本文的公开内容,对于技术人员而言将显而易见的是,每个批次的血浆或其级分的循环数量将取决于血浆或其级分的体积和/或重量。

[0238] 在一个实例中,在每个批次的血浆或其级分之后对所述树脂进行本文所描述的方法,其中批次包括至少1个循环。在另一个实例中,批次包括至少5个循环。例如,批次包括至少10个循环。在另一个实例中,批次包括至少15个循环。在另一个实例中,批次包括至少20个循环。在一个实例中,批次包括至少25个循环。在一个实例中,批次包括至少30个循环。在另一个实例中,批次包括至少35个循环。在另一个实例中,批次包括至少40个循环。在一个实例中,批次包括至少45个循环。在另一个实例中,批次包括至少50个循环。在另外的实例中,批次包括至少60个循环,或至少70个循环,或至少80个循环,或至少90个循环,或至少100个循环。在一个实例中,批次包括1至100个循环。例如,批次包括10至100个循环。在另一个实例中,批次包括20至80个循环。在另外的实例中,批次包括30至60个循环。

[0239] 在一个实例中,批次包括1个循环。在另一个实例中,批次包括至少5个循环。例如,批次包括10个循环。在另外的实例中,批次包括15个循环。在另一个实例中,批次包括20个循环。在一个实例中,批次包括25个循环。在一个实例中,批次包括30个循环。在另一个实例中,批次包括35个循环。在另外的实例中,批次包括40个循环。在一个实例中,批次包括45个循环。在另一个实例中,批次包括50个循环。在另外的实例中,批次包括60个循环或70个循环或80个循环或90个循环或100个循环。

[0240] 在一个实例中,在至少50个循环的血浆或其级分之后,在所述树脂上重复本文所描述的方法。例如,在每个批次至少50个循环的血浆或其级分之后,在所述树脂上重复所述方法。在一个实施例中,在每个批次的血浆或其级分50至80个循环、60至80个循环或70至80个循环后对所述树脂重复所述方法。例如,在每个批次至少60或65或70或75或80个循环的血浆或其级分之后,在所述树脂上重复所述方法。

[0241] 在一个实例中,在每个批次的血浆或其级分之后在所述树脂上重复所述方法,其中将多个批次的血浆或其级分施加到所述树脂。在一个实例中,在每个批次的血浆或其级分之后在所述树脂上重复所述方法,其中将2或3或4或5或6或7或8或9或10个批次的血浆或其级分施加到所述树脂。在一个实例中,在每个批次的血浆或其级分之后在所述树脂上重复所述方法,其中将4至10个批次的血浆或其级分施加到所述树脂。

[0242] 在一个实例中,本文所描述的再生和/或消毒方法在每个单独的循环后在所述树脂上进行。在另一个实例中,本文所描述的再生和/或消毒方法在多个循环后在所述树脂上进行。例如,本文所描述的所述再生和/或消毒方法在至少50个循环后在所述树脂上进行。在一个实例中,本文所描述的再生和/或消毒方法在至少100个循环后在所述树脂上进行。在另一个实例中,本文所描述的所述再生和/或消毒方法在至少150个循环后在所述树脂上进行。在另外的实例中,本文所描述的所述再生和/或消毒方法在至少200个循环后在所述

树脂上进行。在一个实例中,本文所描述的再生和/或消毒方法在每个批次的血浆或其级分后在所述树脂上进行。例如,本文所描述的再生和/或消毒方法在每个批次的血浆或其级分之间在所述树脂上进行,即在将每个批次的血浆或其级分装载到所述树脂上之前进行。

[0243] 在一个实例中,所述再生步骤作为每个单独循环的一部分在所述树脂上进行。例如,在每个单独的循环之后在所述树脂上进行所述再生步骤。

[0244] 在一个实例中,所述消毒步骤在每个批次的血浆或其级分之后进行。例如,在多个循环的血浆或其级分之后进行所述消毒步骤。在一个实例中,在每个批次的血浆或其级分之后进行所述消毒步骤,其中每个批次包括至少50个循环。

[0245] 在一个实例中,在每个单独的循环后在所述树脂上进行所述再生步骤,并且在每个批次的血浆或其级分后进行所述消毒步骤。

[0246] 根据本文的公开内容,对于技术人员而言将显而易见的是,在每个批次的血浆或其级分之间在所述树脂上进行本公开的方法延长了所述树脂的寿命。例如,本公开的方法延长了所述树脂的寿命,或使所述树脂能够重复使用至多总共800个循环。在一个实例中,本公开的方法延长了所述树脂的寿命,或使所述树脂能够重复使用至多总共100或200或300或400或500或600或700个循环。例如,本公开的方法延长了所述树脂的寿命,或使所述树脂能够重复使用至多总共100个循环。例如,本公开的方法延长了所述树脂的寿命,或使所述树脂能够重复使用至多总共200个循环。例如,本公开的方法延长了所述树脂的寿命,或使所述树脂能够重复使用至多总共300个循环。例如,本公开的方法延长了所述树脂的寿命,或使所述树脂能够重复使用至多总共400个循环。例如,本公开的方法延长了所述树脂的寿命,或使所述树脂能够重复使用至多总共500个循环。例如,本公开的方法延长了所述树脂的寿命,或使所述树脂能够重复使用至多总共600个循环。例如,本公开的方法延长了所述树脂的寿命,或使所述树脂能够重复使用至多总共700个循环。

[0247] 在一个实例中,所述树脂重复使用至多总共500个循环,使用至多10个批次的血浆或其级分,其中在每个批次的血浆或其级分之间在所述树脂上进行本公开的方法。

[0248] 在一个实例中,所述连续色谱是连续亲和色谱。

[0249] 在一个实例中,所述连续亲和色谱选自由以下组成的组:模拟移动床(SMB)色谱、周期性逆流色谱(PCC)、连续逆流切向色谱(CCTC)和连续逆流螺旋色谱(CCSC)。

[0250] 在一个实例中,所述连续亲和色谱是模拟移动床(SMB)色谱。在另一个实例中,所述连续亲和色谱是周期性逆流色谱(PCC)。在另一个实例中,所述连续亲和色谱是连续逆流切向色谱(CCTC)。在一个实例中,所述连续亲和色谱是连续逆流螺旋色谱(CCSC)。

[0251] 在一个实例中,所述连续亲和色谱过程在范围为约2至约5巴的压力下进行。例如,所述连续亲和色谱过程在范围为约2至约4巴的压力下进行。在一个实例中,所述连续亲和色谱过程在范围为约2至约3.5巴的压力下进行。

[0252] 在一个实例中,如本文所进行的方法用于从血浆或其级分中纯化IgG,并且产生装载到所述色谱介质上的多于85%或90%或95%的总IgG,其中所述色谱介质已暴露于如本文所描述的消毒的方法至少一次或五次或十次。

[0253] 在一个实例中,如本文所进行的方法用于从血浆或其级分中纯化IgG,并且产生装载到所述色谱介质上的多于85%或90%或95%的总IgG,其中所述色谱介质已暴露于如本文所描述的再生和消毒的方法至少一次或五次或十次。

[0254] 在一个实例中,所述方法大规模进行。例如,所述方法在工业或商业规模上进行。在工业或商业规模上进行的方法对技术人员来说是显而易见的和/或是本文所描述的。例如,在工业规模上进行的所述方法包括从所述血浆或其级分中大规模纯化IgG。

[0255] 在一个实例中,使用至少500kg的血浆或其级分进行IgG的大规模纯化。例如,使用500kg至1000kg、或1000kg至2500kg、或2500kg至5000kg、或5000kg至7500kg、或7500kg、或10000kg、或10000kg至12500kg、或12500kg至15000kg的所述血浆或其级分进行IgG的大规模纯化。在一个实例中,使用至少1000kg、或2500kg、或5000kg、或7500kg、或10000kg、或12500kg、或15000kg的其级分的血浆进行IgG的大规模纯化。在一个实例中,使用至少1000kg的其级分的血浆进行IgG的大规模纯化。在一个实例中,使用至少2500kg的其级分的血浆进行IgG的大规模纯化。在一个实例中,使用至少5000kg的其级分的血浆进行IgG的大规模纯化。在一个实例中,使用至少7500kg的其级分的血浆进行IgG的大规模纯化。在一个实例中,使用至少10000kg的其级分的血浆进行IgG的大规模纯化。在一个实例中,使用至少12500kg的其级分的血浆进行IgG的大规模纯化。在一个实例中,使用至少15000kg的其级分的血浆进行IgG的大规模纯化。

[0256] 在一个实例中,如本文所进行的方法用于从血浆或其级分中纯化IgG,并且产生包括小于9mg白蛋白/g IgG和/或小于5mg IgM/g IgG和/或小于7mg IgA/g IgG的溶液。

[0257] 在一个实例中,如本文所进行的方法用于从血浆或其级分中纯化IgG,并且产生纯度大于95%的IgG。

[0258] 在一个实例中,如本文所描述的消毒的方法降低了色谱介质中的病毒或朊病毒的水平。在一个实例中,如本文所描述的消毒的方法降低了色谱介质中的病毒的水平。

[0259] 在一个实例中,所述病毒或朊病毒的水平降低了至少1log或2log或3log或4log或5log。例如,所述病毒或朊病毒的水平降低了至少3log。例如,所述病毒或朊病毒的水平降低了至少4log。例如,所述病毒或朊病毒的水平降低到低于用于检测所述病毒或朊病毒的测定的定量水平。

[0260] 在一个实例中,本公开的方法允许就地清洁,即可以在色谱介质上进行清洁,而无需将所述介质从例如柱中,或将其中含有所述介质的柱从其在设施内的位置中移除。

附图说明

[0261] 图1是色谱图的图示,示出了使用20%乙醇,随后使用20mM氢氧化钠再生FcXP色谱介质,并且然后使用2% CIP-100对介质进行消毒的结果。

[0262] 图2包含两个图示,示出了两种FcXP色谱介质(柱1和2)在从血浆中纯化八个批次的IgG,用20%乙醇,随后用20mM氢氧化钠再生,并且使用2% CIP-100进行消毒后的结合能力。

[0263] 图3是示出来自FcXP色谱介质的洗脱液中的每克IgG的杂质水平(白蛋白、IgM和IgA,如所指示的)的图示,所述洗脱液是在从血浆中纯化十个批次的IgG,用20%乙醇,随后用20mM氢氧化钠再生,并且使用2% CIP-100进行消毒后得到的。示出了第1批、第5批和第10批的数据。

[0264] 图4是示出来自FcXP色谱介质的洗脱液中的IgG的纯度%的图示,所述洗脱液是在从血浆中纯化十个批次的IgG,用20%乙醇,随后用20mM氢氧化钠再生,并且使用2% CIP-

100进行消毒后得到的。示出了第1批、第5批和第10批的数据。

[0265] 图5A和5B是示出在室温 (RT) 下用2% CIP-100处理后BVDV的灭活的图示。样品如所指示的。示出了病毒滴度。

[0266] 图6是示出在室温 (RT) 下用2% CIP-100处理后甲型肝炎病毒的灭活的图示。样品如所指示的。示出了病毒滴度。

[0267] 图7是示出10个批次 (1个批次=50个产物循环) 的连续色谱寿命研究的进料泵压力曲线的图形表示,每个批次之间都进行了再生 (乙醇和氢氧化钠) 和消毒。

[0268] 序列表符号说明

[0269] SEQ ID NO:1 是VHH片段的氨基酸序列

[0270] SEQ ID NO:2 是VHH片段的CDR1的氨基酸序列

[0271] SEQ ID NO:3 是VHH片段的CDR2的氨基酸序列

[0272] SEQ ID NO:4 是VHH片段的CDR3的氨基酸序列

具体实施方式

[0273] 概述

[0274] 贯穿本说明书,除非另有明确说明或上下文另有要求,否则对单个步骤、物质组合物、步骤组或物质组合物组的提及应被视为涵盖这些步骤、物质组合物、步骤组或物质组合物组中的一个和多个 (即一个和多个)。

[0275] 本领域的技术人员将理解,除了具体描述的那些之外,本公开容易进行变化和修改。应当理解,本公开包含所有此类变化和修改。本公开还包含本说明书中个别或共同提及或指出的所有步骤、特征、组合物和化合物,以及任何两个或更多个所述步骤或特征的任何和所有组合。

[0276] 本公开不限于本文所述的具体实例的范围,这些实例旨在仅用于例示的目的。功能等效的产物、组合物和方法显然在本公开的范围之内。

[0277] 除非另有明确说明,否则本文中的本公开的任何实例在进行必要的修改后应被视为适用于本公开的任何其它实例。

[0278] 除非另外特别说明,否则本文所使用的所有技术和科学术语应被视为具有与本领域 (例如,在细胞培养、分子遗传学、免疫学、免疫组织化学、蛋白质化学和生物化学) 的普通技术人员通常所理解的含义相同的含义。

[0279] 术语“和/或”,例如“X和/或Y”应被理解为意指“X和Y”或“X或Y”,并且应被视为对两个含义或任一含义提供明确支持。

[0280] 贯穿本说明书,词语“包括 (comprise)”或如“包括 (comprises)”或“包括 (comprising)”等变体应当被理解为暗示包含所陈述要素、整数或步骤或要素组、整数组或步骤组,但不排除任何其它要素、整数或步骤或要素组、整数组或步骤组。

[0281] 如本文所使用的,术语“源自”应当表示指定的整数可以从特定的来源获得,尽管不一定直接从所述来源获得。

[0282] 此外,如本文所使用的,除非上下文清楚地另外指明,否则单数形式“一个/种 (a)”、“和 (and)”以及“所述 (the)”包含复数指示物。

[0283] 所选定义

[0284] 色谱介质上下文中的术语“消毒”应被视为意指一种过程,所述过程基本上灭活和/或去除色谱介质上和/或色谱介质中的微生物(包含病原菌和其它细菌、营养体形式和孢子)和/或朊病毒。在一个实例中,与未通过本公开的方法消毒的色谱介质相比,色谱介质的消毒将色谱介质上和/或色谱介质中的微生物减少5%、10%、15%、25%、30%、35%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或100%。

[0285] 在一个实例中,与未通过本公开的方法消毒的色谱介质相比,色谱介质的消毒将色谱介质上和/或色谱介质中的微生物灭活5%、10%、15%、25%、30%、35%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或100%。在一个实例中,消毒包含灭菌。可以通过本公开的方法从色谱介质中进行消毒的示例性微生物包含真菌、细菌、病毒、原生生物、霉、霉菌和霉菌孢子。例如,微生物包含病毒(细小病毒B19、人类免疫缺陷病毒(HIV)、肝炎病毒、人类疱疹病毒、巨细胞病毒、爱泼斯坦-巴尔病毒(Epstein-Barr virus)、西尼罗河病毒(West Nile virus))或细菌(梅毒螺旋体(*Treponema pallidum*)、淋病奈瑟菌(*Neisseria gonorrhoea*)、沙眼衣原体(*Chlamydia trachomatis*)、酿脓链球菌(*Streptococcus pyogenes*)、结核分枝杆菌(*Mycobacterium tuberculosis*)、羊布鲁氏菌(*Brucella melitensis*)、羊布鲁氏菌、埃立克体属(*Ehrlichia*)、葡萄球菌属(*Staphylococci*)、铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*))或寄生虫(疟原虫(*Plasmodium*)、克氏锥虫(*Trypanosoma cruzi*)、微小巴贝虫(*Babesia microti*))。如上文所讨论的,“消毒”还包含灭活和/或去除朊病毒。

[0286] 色谱介质上下文中的术语“再生”应被视为意指色谱介质的强度和/或特性部分或基本上恢复的过程,以允许在一个或多个进一步色谱循环中使用色谱介质。再生可以提高色谱介质的有效性,同时延长其使用寿命。在一个实例中,色谱介质的再生涉及从色谱介质中去除吸附的蛋白质。

[0287] 术语“色谱介质”应意指色谱中使用的固相或半固相。在一个实例中,色谱介质由多孔或非多孔载体组成,多个配体附接在其上,本文描述了其实例。例如,色谱介质是色谱树脂。示例性的色谱树脂包含 **MabSelect[®] SuRe[®]** (思拓凡公司(Cytiva))、**MabSelect[®] SuRe[®] LX** (思拓凡公司)、**POROS[®] PI50** (赛默飞世尔公司(ThermoFischer))、**CaptureSelect[®] FcXP**亲和色谱树脂(赛默飞世尔公司)、**CaptureSelect[®] FcXL**亲和树脂(赛默飞世尔公司)、**CaptureSelect[®] IgG-CH1**亲和树脂(赛默飞世尔公司)和**CaptureSelect[®] FcXP**琼脂糖亲和树脂(赛默飞世尔公司)。另外的示例性亲和色谱树脂包含 **IgSelect[®]**亲和树脂(思拓凡公司)、**HiTrap[®] IgSelect[®]**亲和树脂(思拓凡公司)、**Pierce[®]**蛋白G琼脂糖亲和树脂(赛默飞世尔公司)和蛋白G琼脂糖凝胶4快流亲和树脂(思拓凡公司)。例如,色谱介质是色谱膜。示例性色谱膜包含 **Purexa[®] A** (Purilogs公司(Purilogs))、**Mustang Q** (颇尔公司(Pall Corporation))。

[0288] 术语“配体”应被视为意指固定到色谱介质的基质的分子,例如,固定到与人IgG的CH3结构域特异性结合的亲和色谱树脂。例如,配体是骆驼科源性单结构域[VHH]抗体片段。

[0289] 术语“基质”应被视为意指配体所固定到的载体。示例性基质是交联聚(苯乙烯-二乙烯基苯)基质和基于琼脂糖的基质。

[0290] 术语“碱性洗涤剂”应被视为意指具有溶解脂肪、油和油脂的能力的水溶性药剂。

碱性洗涤剂通常包括碱性盐(例如氢氧化钾和氢氧化钠)、一种或多种表面活性剂和/或螯合剂。示例性碱性洗涤剂包含CIP-100(Steris生命科学公司(Steris Life Sciences))、ProKlenz One(Steris生命科学公司)、ProKlenz-100(Steris生命科学公司)和COSA CIP-92(艺康公司(Ecolab))。在一个实例中,碱性洗涤剂包括2% CIP-100。

[0291] 术语“接触”应包含但不限于用碱性洗涤剂洗涤、浸入、浸渍、沐浴、浸泡、储存、喷洒或冲洗色谱介质的方法。

[0292] 术语“碱性盐”应被视为意指碱金属或碱土金属元素的碱性离子盐。示例性碱性盐包含氢氧化钾或氢氧化钠。

[0293] 术语“表面活性剂”应被视为指倾向于降低溶解其的液体的表面张力的物质。表面活性剂可以充当分散剂、发泡剂、乳化剂、润湿剂或洗涤剂。

[0294] 术语“螯合剂”应被视为意指与金属离子形成稳定的水溶性络合物的化合物。

[0295] 术语“离子交换介质”应被视为意指包括带负电荷的或带正电荷的官能团的色谱介质。例如,离子交换介质包含阴离子交换色谱介质和阳离子交换色谱介质。阴离子交换色谱介质是带正电荷的介质,对具有净负表面电荷的分子(例如蛋白质)具有亲和力。示例性阴离子交换色谱介质包含**POROS®**PI50阴离子树脂(赛默飞世尔公司)、**POROS®**XQ阴离子树脂(赛默飞世尔公司)、**POROS®**HQ 50阴离子树脂(赛默飞世尔公司)和**POROS®**D50阴离子树脂(赛默飞世尔公司)。阳离子交换色谱介质是带负电荷的介质,对具有净正表面电荷的分子(例如蛋白质)具有亲和力。示例性阳离子交换色谱介质包含**POROS®**XS强阳离子交换树脂(赛默飞世尔公司)和**POROS®**HS强阳离子交换树脂(赛默飞世尔公司)。

[0296] 术语“亲和色谱介质”应被视为意指包括附接到基质(例如,本文所描述的基质)的亲色谱配体(例如,骆驼科源性单结构域[VHH]抗体片段,或蛋白A或其抗体片段,或蛋白G或其抗体片段)的色谱介质。本文所描述的方法中使用的示例性亲和色谱介质包含**POROS®**CaptureSelect®FcXP亲和树脂(赛默飞世尔公司)和**CaptureSelect®**FcXP琼脂糖亲和树脂(赛默飞世尔公司)。另外的示例性亲和色谱介质包含具有由SEQ ID NO:1编码的氨基酸序列或其与人IgG的CH3结构域特异性结合的变体的介质的介质。在一个实例中,示例性亲和色谱介质包括VHH抗原结合蛋白,所述VHH抗原结合蛋白包括分别具有SEQ ID NO:2、3或4的氨基酸序列的互补决定区(CDR)1、CDR2和/或CDR3。US10259886中也描述了示例性亲和色谱树脂。示例性蛋白A色谱介质包含**MabSelect®**Prisma蛋白A树脂(思拓凡公司)、**Praesto®**Jetted A50蛋白A树脂(漂莱特公司(Purolite Corp.))和**Amsphere®**A3(JSR株式会社(JSR Corp.))、**MabSelect®**SuRe®蛋白A树脂(思拓凡公司)和**MabSelect®**SuRe®LX蛋白A树脂(思拓凡公司)。示例性蛋白G色谱介质包含蛋白G琼脂糖凝胶4快流树脂(思拓凡公司)、蛋白G树脂(abbexa公司(abbexa))、**Dynabeads®**蛋白G磁珠(赛默飞世尔公司)、**Pierce®**蛋白G琼脂糖(赛默飞世尔公司)、**Pierce®**蛋白G加琼脂糖(赛默飞世尔公司)、**POROS®**MabCapture®G Select(赛默飞世尔公司)、**PROTEINDEX®**r蛋白G琼脂糖(Margvelgent生物科学公司(Margvelgent Biosciences)) and **ProteinIso®**蛋白G树脂(北京全式金生物公司(TransGen Biotech Co.,LTD))。

[0297] 术语“疏水性相互作用色谱介质”应被视为意指包括附接到基质(例如,本文所描

述的基质)的疏水性配体的色谱介质。包括疏水性相互作用色谱介质的疏水性相互作用色谱(HIC)基于分子疏水性(即对水的厌恶)分离分子(例如蛋白质)。示例性疏水性相互作用色谱介质包含**POROS®**乙基疏水性相互作用色谱(HIC)树脂(赛默飞世尔公司)和**POROS®**苄基超疏水性相互作用色谱(HIC)树脂(赛默飞世尔公司)。

[0298] 术语“混合模式色谱介质”应被视为意指允许基于分子与介质之间多于一种形式的相互作用来分离分子(例如蛋白质)的色谱介质。例如,混合模式色谱介质可以包括亲和色谱配体和附接到基质的离子交换官能团。示例性混合模式色谱介质包含CMM HyperCel(赛多利斯公司(Satorius))、MEP HyperCel(赛多利斯公司)、HEA HyperCel(赛多利斯公司)、PPA HyperCel(赛多利斯公司)和HA Ultragel®(赛多利斯公司)。

[0299] 术语“特异性结合(specifically binds)”、“特异性结合(specifically binding)”或“特异性结合(binds specifically)”应被视为意指本公开的蛋白质以更久的持续时间和/或更大的亲和力与特定抗原或表达所述抗原的细胞比与替代性抗原或细胞的反应或缔合更频繁地、更快速地反应或缔合。例如,能够与人IgG的CH3结构域特异性结合的配体的亲和力比其与其它抗原结合的亲和力大得多(例如,1.5倍或2倍或5倍或10倍或20倍或40倍或60倍或80倍至100倍或150倍或200倍)。通常但不一定,提及结合意指特异性结合,并且每个术语应理解为为其它术语提供明确支持。

[0300] 术语“免疫球蛋白G(IgG)”(也称为“ γ 球蛋白”或“免疫球蛋白”)应被视为意指同种型G的抗体。IgG有若干个亚类,例如,IgG1、IgG2、IgG3和IgG4。

[0301] 术语“骆驼科源性单结构域[VHH]抗体片段”应被视为意指骆驼科抗体的VHH结构域。骆驼科抗体是由骆驼和美洲驼产生的抗体,并且没有通常存在于人免疫球蛋白中的CH1结构域,并且只有一个VHH结构域。包括骆驼科源性[VHH]抗体片段的示例性亲和色谱树脂包含**CaptureSelect®**抗体亲和色谱树脂(赛默飞世尔公司)。例如,**CaptureSelect®**FcXL亲和树脂、**POROS®****CaptureSelect®**FcXP亲和树脂、**CaptureSelect** IgG-CH1亲和树脂和**CaptureSelect** FcXP琼脂糖亲和树脂。

[0302] 色谱介质的术语“动态结合能力”或“DBC”应被视为指在未结合的蛋白质发生显著穿透之前,操作条件下介质将结合的蛋白质的最大量。

[0303] 术语“血浆”应被视为指从一位或多位血液供体获得的稻草色/淡黄色血液组分。从供体获得血浆的方法对技术人员来说是显而易见的和/或是本文所描述的。例如,血浆是通过从捐献的血液中去掉红细胞而获得的。例如,血浆是通过血浆置换获得的。

[0304] 术语“血浆级分”或“其级分”应指已被分级以从血浆中分离一种或多种期望的蛋白质组分的血浆。例如,血浆可以被分级以分离低温沉淀物(当一单位新鲜冷冻血浆在寒冷中缓慢解冻时从溶液中沉淀出来的蛋白质)和低温上清液(也称为贫低温血浆)。例如,血浆可以通过乙醇沉淀进行分级,以从血浆中产生含IgG的Oncley级分、Cohn级分、硫酸铵沉淀物或沉淀物A(KN A),如美国专利3,301,842所描述的。血浆级分包含根据Cohn方法(如方法6,Cohn等人《美国化学学会杂志(J. Am. Chem. Soc.)》,68(3),459-475(1946),方法9,Oncley等人《美国化学学会杂志》,71,541-550(1946))产生的II+III沉淀物或I+II+III沉淀物(方法10,Cohn等人《美国化学学会杂志》72,465-474(1950)以及Deutsch等人《生物化学杂志(J. Biol. Chem.)》164,109-118(1946)的方法)或沉淀物A(Nitschmann和Kistler《血液之声

(Vox Sang) 》.7, 414-424 (1962) ;《瑞士化学学报 (Helv. Chim. Acta) 》37, 866-873 (1954)) 。例如, 血浆可以通过辛酸级分进行分级, 如欧洲申请 893450 中所描述的。通常, Cohn 级分、Kistler/Nitschmann 沉淀物 A (KN A) 作为悬浮糊状物存在。可以使用包含色谱在的其它纯化技术。

[0305] 术语“低温沉淀物 (cryo-precipitate)”或“低温沉淀物 (cryo-precipitates)”是指血浆中的蛋白质, 当一单位新鲜冷冻血浆在寒冷中缓慢解冻时, 所述蛋白质会从溶液中沉淀出来。冷冻沉淀物包含因子 VIII、纤维蛋白原、冯维勒布兰德氏因子 (von Willebrand factor)、因子 XIII 和血小板膜微粒。

[0306] 术语“贫低温血浆”应被视为意指去除低温沉淀物的血浆。

[0307] 术语“富低温血浆”应被视为意指包括通常在低温沉淀物中发现的组分的水浆。

[0308] 消毒

[0309] 本公开提供了一种对色谱介质进行消毒的方法。用于所述方法的合适的色谱介质对技术人员来说是显而易见的和/或是本文所描述的。在一个实例中, 色谱介质用于离子交换色谱 (例如阴离子或阳离子交换色谱)、亲和色谱 (例如蛋白 A 或蛋白 G 色谱)、混合模式色谱或尺寸排阻色谱。例如, 在色谱循环后, 其中色谱介质用于一轮或多轮平衡、样品装载、结合、洗涤和/或洗脱, 对色谱介质进行消毒。色谱介质的消毒使介质中的微生物灭活和/或从介质中去除微生物。在一个实例中, 色谱介质的消毒使介质上的微生物灭活。在一个实例中, 色谱介质的消毒从介质中去除微生物。

[0310] 例如, 与未通过本公开的方法消毒的色谱介质相比, 色谱介质的消毒将色谱介质上和/或色谱介质中的微生物减少 5%。在一个实例中, 与未通过本公开的方法消毒的色谱介质相比, 色谱介质的消毒将色谱介质上和/或色谱介质中的微生物减少 10%。在一个实例中, 与未通过本公开的方法消毒的色谱介质相比, 色谱介质的消毒将色谱介质上和/或色谱介质中的微生物减少 15%。在一个实例中, 与未通过本公开的方法消毒的色谱介质相比, 色谱介质的消毒将色谱介质上和/或色谱介质中的微生物减少 20%。在一个实例中, 与未通过本公开的方法消毒的色谱介质相比, 色谱介质的消毒将色谱介质上和/或色谱介质中的微生物减少 25%。在一个实例中, 与未通过本公开的方法消毒的色谱介质相比, 色谱介质的消毒将色谱介质上和/或色谱介质中的微生物减少 30%。在一个实例中, 与未通过本公开的方法消毒的色谱介质相比, 色谱介质的消毒将色谱介质上和/或色谱介质中的微生物减少 35%。在一个实例中, 与未通过本公开的方法消毒的色谱介质相比, 色谱介质的消毒将色谱介质上和/或色谱介质中的微生物减少 40%。在一个实例中, 与未通过本公开的方法消毒的色谱介质相比, 色谱介质的消毒将色谱介质上和/或色谱介质中的微生物减少 50%。在一个实例中, 与未通过本公开的方法消毒的色谱介质相比, 色谱介质的消毒将色谱介质上和/或色谱介质中的微生物减少 60%。在一个实例中, 与未通过本公开的方法消毒的色谱介质相比, 色谱介质的消毒将色谱介质上和/或色谱介质中的微生物减少 70%。在一个实例中, 与未通过本公开的方法消毒的色谱介质相比, 色谱介质的消毒将色谱介质上和/或色谱介质中的微生物减少 80%。在一个实例中, 与未通过本公开的方法消毒的色谱介质相比, 色谱介质的消毒将色谱介质上和/或色谱介质中的微生物减少 90%。在一个实例中, 与未通过本公开的方法消毒的色谱介质相比, 色谱介质的消毒将色谱介质上和/或色谱介质中的微生物减少 100%。

[0311] 在另一个实例中,与未通过本公开的方法消毒的色谱介质相比,色谱介质的消毒将色谱介质上和/或色谱介质中的微生物灭活5%。在一个实例中,与未通过本公开的方法消毒的色谱介质相比,色谱介质的消毒将色谱介质上和/或色谱介质中的微生物灭活10%。在一个实例中,与未通过本公开的方法消毒的色谱介质相比,色谱介质的消毒将色谱介质上和/或色谱介质中的微生物灭活15%。在一个实例中,与未通过本公开的方法消毒的色谱介质相比,色谱介质的消毒将色谱介质上和/或色谱介质中的微生物灭活20%。在一个实例中,与未通过本公开的方法消毒的色谱介质相比,色谱介质的消毒将色谱介质上和/或色谱介质中的微生物灭活25%。在一个实例中,与未通过本公开的方法消毒的色谱介质相比,色谱介质的消毒将色谱介质上和/或色谱介质中的微生物灭活30%。在一个实例中,与未通过本公开的方法消毒的色谱介质相比,色谱介质的消毒将色谱介质上和/或色谱介质中的微生物灭活35%。在一个实例中,与未通过本公开的方法消毒的色谱介质相比,色谱介质的消毒将色谱介质上和/或色谱介质中的微生物灭活40%。在一个实例中,与未通过本公开的方法消毒的色谱介质相比,色谱介质的消毒将色谱介质上和/或色谱介质中的微生物灭活50%。在一个实例中,与未通过本公开的方法消毒的色谱介质相比,色谱介质的消毒将色谱介质上和/或色谱介质中的微生物灭活60%。在一个实例中,与未通过本公开的方法消毒的色谱介质相比,色谱介质的消毒将色谱介质上和/或色谱介质中的微生物灭活70%。在一个实例中,与未通过本公开的方法消毒的色谱介质相比,色谱介质的消毒将色谱介质上和/或色谱介质中的微生物灭活80%。在一个实例中,与未通过本公开的方法消毒的色谱介质相比,色谱介质的消毒将色谱介质上和/或色谱介质中的微生物灭活90%。在一个实例中,与未通过本公开的方法消毒的色谱介质相比,色谱介质的消毒将色谱介质上和/或色谱介质中的微生物灭活100%。

[0312] 用于本公开的方法的合适的碱性洗涤剂对技术人员来说是显而易见的和/或是本文所描述的。通常,碱性洗涤剂包括碱性盐、一种或多种表面活性剂和/或螯合剂。示例性可商购获得的碱性洗涤剂包含CIP-100 (Steris生命科学公司)、ProKlenz One (Steris生命科学公司)、ProKlenz-100 (Steris生命科学公司) 和COSA CIP-92 (艺康公司)。例如,消毒的方法可以包括使色谱介质与2% CIP-100 (Steris生命科学公司) 接触。

[0313] 在一个实例中,所述碱性洗涤剂混合在溶液内。例如,所述溶液包括0.1%至10%碱性洗涤剂。例如,所述溶液包括0.2%至9%或0.3%至8%或0.4%至7%碱性洗涤剂。在一个实例中,所述溶液包括0.5%至5%碱性洗涤剂。在一个实例中,所述溶液包括1%或2%或3%或4%至5%碱性洗涤剂。在一个实例中,所述溶液包括1%碱性洗涤剂。例如,所述溶液包括2%碱性洗涤剂。在一个实例中,所述溶液包括3%碱性洗涤剂。在一个实例中,所述溶液包括4%碱性洗涤剂。在一个实例中,所述溶液包括5%碱性洗涤剂。

[0314] 在一个实例中,所述碱性洗涤剂包括碱性盐、一种或多种表面活性剂和/或螯合剂。在一个实例中,所述碱性洗涤剂包括碱性盐和一种或多种表面活性剂。在一个实例中,所述碱性洗涤剂包括碱性盐、一种或多种表面活性剂和螯合剂。

[0315] 在一个实例中,所述碱性盐选自由以下组成的组:氢氧化钾、氢氧化钠、碳酸钠、乙酸钠、硫化钠和碳酸氢钠。例如,所述碱性盐是氢氧化钾。例如,所述碱性盐是氢氧化钠。例如,所述碱性盐是碳酸钠。例如,所述碱性盐是乙酸钠。例如,所述碱性盐是硫化钠。例如,所述碱性盐是碳酸氢钠。

[0316] 在一个实例中,所述碱性盐是氢氧化钾或氢氧化钠。

[0317] 在一个实例中,所述碱性洗涤剂包括5%至45%、或5%至10%、或10%至15%、或15%至20%、或20%至25%、或25%至30%、或30%至35%、或35%至40%、或40%至45% (w/v) 的碱性盐。例如,所述碱性洗涤剂包括5%至10% (w/v) 的碱性盐。例如,所述碱性洗涤剂包括10%至15% (w/v) 的碱性盐。例如,所述碱性洗涤剂包括15%至20% (w/v) 的碱性盐。例如,所述碱性洗涤剂包括20%至25% (w/v) 的碱性盐。例如,所述碱性洗涤剂包括25%至30% (w/v) 的碱性盐。例如,碱性洗涤剂包括30%至35% (w/v) 的碱性盐。例如,所述碱性洗涤剂包括35%至40% (w/v) 的碱性盐。例如,所述碱性洗涤剂包括40%至45% (w/v) 的碱性盐。

[0318] 在一个实例中,所述碱性洗涤剂包括至少5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%或45% (w/v) 的碱性盐。例如,所述碱性洗涤剂包括至少5% (w/v) 的碱性盐。例如,所述碱性洗涤剂包括至少10% (w/v) 的碱性盐。例如,所述碱性洗涤剂包括至少15% (w/v) 的碱性盐。例如,所述碱性洗涤剂包括至少20% (w/v) 的碱性盐。例如,所述碱性洗涤剂包括至少25% (w/v) 的碱性盐。例如,所述碱性洗涤剂包括至少30% (w/v) 的碱性盐。例如,所述碱性洗涤剂包括至少35% (w/v) 的碱性盐。例如,所述碱性洗涤剂包括至少40% (w/v) 的碱性盐。例如,所述碱性洗涤剂包括至少45% (w/v) 的碱性盐。

[0319] 在一个实例中,所述碱性洗涤剂包括5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%或45% (w/v) 的碱性盐。例如,所述碱性洗涤剂包括5% (w/v) 的碱性盐。例如,所述碱性洗涤剂包括10% (w/v) 的碱性盐。例如,所述碱性洗涤剂包括15% (w/v) 的碱性盐。例如,所述碱性洗涤剂包括20% (w/v) 的碱性盐。例如,所述碱性洗涤剂包括25% (w/v) 的碱性盐。例如,所述碱性洗涤剂包括30% (w/v) 的碱性盐。例如,所述碱性洗涤剂包括35% (w/v) 的碱性盐。例如,所述碱性洗涤剂包括40% (w/v) 的碱性盐。例如,所述碱性洗涤剂包括45% (w/v) 的碱性盐。

[0320] 在一个实例中,所述碱性洗涤剂包括10mM至15mM、或15mM至20mM、或20mM至30mM、或30mM至40mM、或40mM至50mM、或50mM至60mM、或60mM至70mM、或70mM至80mM或80mM至90mM的碱性盐。在一个实例中,所述碱性洗涤剂包括10mM至15mM、或15mM至20mM、或20mM至30mM、或30mM至40mM、或40mM至50mM、或50mM至60mM、或60mM至70mM、或70mM至80mM、或80mM至90mM、或90mM至100mM、或100mM至110mM、或110mM至120mM、或120mM至130mM、或130mM至140mM、或140mM至150mM的碱性盐。例如,所述碱性洗涤剂包括10mM至15mM的碱性盐。例如,所述碱性洗涤剂包括15mM至20mM的碱性盐。例如,所述碱性洗涤剂包括20mM至30mM的碱性盐。例如,所述碱性洗涤剂包括30mM至40mM的碱性盐。例如,所述碱性洗涤剂包括40mM至50mM的碱性盐。例如,所述碱性洗涤剂包括50mM至60mM的碱性盐。例如,所述碱性洗涤剂包括60mM至70mM的碱性盐。例如,所述碱性洗涤剂包括70mM至80mM的碱性盐。例如,所述碱性洗涤剂包括80mM至90mM的碱性盐。例如,所述碱性洗涤剂包括90mM至100mM的碱性盐。例如,所述碱性洗涤剂包括100mM至110mM的碱性盐。例如,所述碱性洗涤剂包括110mM至120mM的碱性盐。例如,所述碱性洗涤剂包括120mM至130mM的碱性盐。例如,所述碱性洗涤剂包括130mM至140mM的碱性盐。例如,所述碱性洗涤剂包括140mM至150mM的碱性盐。

[0321] 在一个实例中,所述碱性洗涤剂包括至少10mM、15mM、20mM、30mM、40mM、50mM、60mM、70mM、80mM或90mM的碱性盐。在一个实例中,所述碱性洗涤剂包括至少10mM、15mM、

20mM、30mM、40mM、50mM、60mM、70mM、80mM、或90mM、或100mM、或110mM、或120mM、或130mM、或140mM的碱性盐。例如,所述碱性洗涤剂包括至少10mM的碱性盐。例如,所述碱性洗涤剂包括至少15mM的碱性盐。例如,所述碱性洗涤剂包括至少20mM的碱性盐。例如,所述碱性洗涤剂包括至少30mM的碱性盐。例如,所述碱性洗涤剂包括至少40mM的碱性盐。例如,所述碱性洗涤剂包括至少50mM的碱性盐。例如,所述碱性洗涤剂包括至少60mM的碱性盐。例如,所述碱性洗涤剂包括至少70mM的碱性盐。例如,所述碱性洗涤剂包括至少80mM的碱性盐。例如,所述碱性洗涤剂包括至少90mM的碱性盐。例如,所述碱性洗涤剂包括至少100mM的碱性盐。例如,所述碱性洗涤剂包括至少110mM的碱性盐。例如,所述碱性洗涤剂包括至少120mM的碱性盐。例如,所述碱性洗涤剂包括至少130mM的碱性盐。例如,所述碱性洗涤剂包括至少140mM的碱性盐。

[0322] 在一个实例中,所述碱性洗涤剂包括10mM、15mM、20mM、30mM、40mM、50mM、60mM、70mM、80mM或90mM的碱性盐。在一个实例中,所述碱性洗涤剂包括10mM、或15mM、或20mM、或25mM、或30mM、或35mM、或40mM、或45mM、或50mM、或55mM、或60mM、或65mM、或70mM、或75mM、或80mM、或85mM、或90mM、95mM、或100mM、或105mM、或110mM、或115mM、或120mM、或125mM、或130mM、或135mM、或140mM、或145mM、或150mM的碱性盐。例如,所述碱性洗涤剂包括10mM的碱性盐。例如,所述碱性洗涤剂包括15mM的碱性盐。例如,所述碱性洗涤剂包括20mM的碱性盐。例如,所述碱性洗涤剂包括25mM的碱性盐。例如,所述碱性洗涤剂包括30mM的碱性盐。例如,所述碱性洗涤剂包括35mM的碱性盐。例如,所述碱性洗涤剂包括40mM的碱性盐。例如,所述碱性洗涤剂包括45mM的碱性盐。例如,所述碱性洗涤剂包括50mM的碱性盐。例如,所述碱性洗涤剂包括55mM的碱性盐。例如,所述碱性洗涤剂包括60mM的碱性盐。例如,所述碱性洗涤剂包括65mM的碱性盐。例如,所述碱性洗涤剂包括70mM的碱性盐。例如,所述碱性洗涤剂包括75mM的碱性盐。例如,所述碱性洗涤剂包括80mM的碱性盐。例如,所述碱性洗涤剂包括85mM的碱性盐。例如,所述碱性洗涤剂包括90mM的碱性盐。例如,所述碱性洗涤剂包括95mM的碱性盐。例如,所述碱性洗涤剂包括100mM的碱性盐。例如,所述碱性洗涤剂包括105mM的碱性盐。例如,所述碱性洗涤剂包括110mM的碱性盐。例如,所述碱性洗涤剂包括115mM的碱性盐。例如,所述碱性洗涤剂包括120mM的碱性盐。例如,所述碱性洗涤剂包括125mM的碱性盐。例如,所述碱性洗涤剂包括130mM的碱性盐。例如,所述碱性洗涤剂包括135mM的碱性盐。例如,所述碱性洗涤剂包括140mM的碱性盐。例如,所述碱性洗涤剂包括145mM的碱性盐。例如,所述碱性洗涤剂包括150mM的碱性盐。

[0323] 在一个实例中,所述一种或多种表面活性剂选自以下组成的组:胺乙氧基化物、两性甲酸酯、三乙醇胺、辛基- β -D吡喃葡萄糖苷(OGP)、聚山梨醇酯、泊洛沙姆、月桂基二甲基-胺(LDAO)、肉豆蔻基二甲胺-N-氧化物(TDAO)、胆酸钠、癸基- β -D-吡喃葡萄糖苷和十二烷基麦芽糖苷。例如,所述一种或多种表面活性剂是胺乙氧基化物。例如,所述一种或多种表面活性剂是两性甲酸酯。例如,所述一种或多种表面活性剂是三乙醇胺。例如,所述一种或多种表面活性剂是OGP(辛基- β -D吡喃葡萄糖苷)。例如,所述一种或多种表面活性剂是聚山梨醇酯80。例如,所述一种或多种表面活性剂是聚山梨醇酯20。例如,所述一种或多种表面活性剂是LDAO(月桂基二甲基-胺)。例如,一种或多种表面活性剂是TDAO(肉豆蔻基二甲胺-N-氧化物)。例如,所述一种或多种表面活性剂是胆酸钠。例如,所述一种或多种表面活性剂是癸基- β -D-吡喃葡萄糖苷。例如,所述一种或多种表面活性剂是十二烷基麦芽糖苷。

[0324] 在一个实例中,所述碱性洗涤剂包括0.01%至10% (w/v)的一种或多种表面活性剂。例如,所述碱性洗涤剂包括0.01%至5% (w/v)的一种或多种表面活性剂。在一个实例中,所述碱性洗涤剂包括0.01%至1.0% (w/v)的一种或多种表面活性剂。例如,所述碱性洗涤剂包括0.01%至1% (w/v),或0.01%至0.5% (w/v),或0.01%至0.1% (w/v),或0.01%至0.05% (w/v)的一种或多种表面活性剂。例如,所述碱性洗涤剂包括约0.02% (w/v)的一种或多种表面活性剂。在一个实例中,所述碱性洗涤剂包括0.5%至1% (w/v)的一种或多种表面活性剂。

[0325] 在一个实例中,所述碱性洗涤剂包括0.01%至0.10% (w/v)的一种或多种表面活性剂。例如,所述碱性洗涤剂包括0.01%至0.05% (w/v)或0.05%至0.1% (w/v)的一种或多种表面活性剂。在一个实例中,所述碱性洗涤剂包括0.10%至0.15%,或0.15%至0.20%,或0.20%至0.25%,或0.25%至0.30%,或0.30%至0.35%,或0.35%至0.40%,或0.40%至0.45%,或0.45%至0.50%,或0.50%至0.55%,或0.55%至0.60%,或0.60%至0.65%,或0.65%至0.70%,或0.70%至0.75%,或0.75%至0.80%,或0.80%至0.85%,或0.85%至0.90%,或0.90%至0.95%,或0.95%至1.00%,或1.00%至1.05%,或1.05%至1.10%,或1.10%至1.20% (w/v)的一种或多种表面活性剂。例如,所述碱性洗涤剂包括0.10%至0.15% (w/v)的一种或多种表面活性剂。例如,所述碱性洗涤剂包括0.15%至0.20% (w/v)的一种或多种表面活性剂。例如,所述碱性洗涤剂包括0.20%至0.25% (w/v)的一种或多种表面活性剂。例如,所述碱性洗涤剂包括0.25%至0.30% (w/v)的一种或多种表面活性剂。例如,所述碱性洗涤剂包括0.30%至0.35% (w/v)的一种或多种表面活性剂。例如,所述碱性洗涤剂包括0.35%至0.40% (w/v)的一种或多种表面活性剂。例如,所述碱性洗涤剂包括0.40%至0.45% (w/v)的一种或多种表面活性剂。例如,所述碱性洗涤剂包括0.45%至0.50% (w/v)的一种或多种表面活性剂。例如,所述碱性洗涤剂包括0.50%至0.55% (w/v)的一种或多种表面活性剂。例如,所述碱性洗涤剂包括0.55%至0.60% (w/v)的一种或多种表面活性剂。例如,所述碱性洗涤剂包括0.60%至0.65% (w/v)的一种或多种表面活性剂。例如,所述碱性洗涤剂包括0.65%至0.70% (w/v)的一种或多种表面活性剂。例如,所述碱性洗涤剂包括0.70%至0.75% (w/v)的一种或多种表面活性剂。例如,所述碱性洗涤剂包括0.75%至0.80% (w/v)的一种或多种表面活性剂。例如,所述碱性洗涤剂包括0.80%至0.85% (w/v)的一种或多种表面活性剂。例如,所述碱性洗涤剂包括0.85%至0.90% (w/v)的一种或多种表面活性剂。例如,所述碱性洗涤剂包括0.90%至0.95% (w/v)的一种或多种表面活性剂。例如,所述碱性洗涤剂包括0.95%至1.00% (w/v)的一种或多种表面活性剂。例如,所述碱性洗涤剂包括1.00%至1.05% (w/v)的一种或多种洗涤剂。例如,所述碱性洗涤剂包括1.05%至1.10% (w/v)的一种或多种表面活性剂。例如,所述碱性洗涤剂包括1.10%至1.20% (w/v)的一种或多种表面活性剂。

[0326] 在一个实例中,所述碱性洗涤剂包括至少0.01%、0.02%、0.03%、0.04%、0.05%、0.06%、0.07%、0.08%、0.09% (w/v)的一种或多种表面活性剂。在一个实例中,所述碱性洗涤剂包括至少0.10%、0.15%、0.20%、0.25%、0.30%、0.35%、0.40%、0.45%、0.50%、0.55%、0.60%、0.65%、0.70%、0.75%、0.80%、0.85%、0.90%、0.95%、1.00%、1.05%、1.10%或1.20% (w/v)的一种或多种表面活性剂。例如,所述碱性洗涤剂包括至少0.01% (w/v)的一种或多种表面活性剂。例如,所述碱性洗涤剂包括至少0.02% (w/v)的一

[illegible]

[0327] 在一个实例中,所述碱性洗涤剂包括0.01%、0.02%、0.03%、0.04%、0.05%、0.06%、0.07%、0.08%、0.09% (w/v)的一种或多种表面活性剂。在一个实例中,所述碱性洗涤剂包括0.10%、0.15%、0.20%、0.25%、0.30%、0.35%、0.40%、0.45%、0.50%、0.55%、0.60%、0.65%、0.70%、0.75%、0.80%、0.85%、0.90%、0.95%、1.00%、1.05%、1.10%或1.20% (w/v)的一种或多种表面活性剂。例如,所述碱性洗涤剂包括0.01% (w/v)的一种或多种表面活性剂。例如,所述碱性洗涤剂包括0.02% (w/v)的一种或多种表面活性剂。例如,所述碱性洗涤剂包括0.03% (w/v)的一种或多种表面活性剂。例如,所述碱性洗涤剂包括0.04% (w/v)的一种或多种表面活性剂。例如,所述碱性洗涤剂包括0.05% (w/v)的一种或多种表面活性剂。例如,所述碱性洗涤剂包括0.06% (w/v)的一种或多种表面活性剂。例如,所述碱性洗涤剂包括0.07% (w/v)的一种或多种表面活性剂。例如,所述碱性洗涤剂包括0.08% (w/v)的一种或多种表面活性剂。例如,所述碱性洗涤剂包括0.09% (w/v)的一种或多种表面活性剂。例如,所述碱性洗涤剂包括0.10% (w/v)的一种或多种表面活性剂。例如,所述碱性洗涤剂包括0.15% (w/v)的一种或多种表面活性剂。例如,所述碱性洗涤剂包括0.20% (w/v)的一种或多种表面活性剂。例如,所述碱性洗涤剂包括0.25% (w/v)的一种或多种表面活性剂。例如,所述碱性洗涤剂包括0.30% (w/v)的一种或多种表面活性剂。

剂。例如,所述碱性洗涤剂包括0.35% (w/v)的一种或多种表面活性剂。例如,所述碱性洗涤剂包括0.40% (w/v)的一种或多种表面活性剂。例如,所述碱性洗涤剂包括0.45% (w/v)的一种或多种表面活性剂。例如,所述碱性洗涤剂包括0.50% (w/v)的一种或多种表面活性剂。例如,所述碱性洗涤剂包括0.55% (w/v)的一种或多种表面活性剂。例如,所述碱性洗涤剂包括0.60% (w/v)的一种或多种表面活性剂。例如,所述碱性洗涤剂包括0.65% (w/v)的一种或多种表面活性剂。例如,所述碱性洗涤剂包括0.70% (w/v)的一种或多种表面活性剂。例如,所述碱性洗涤剂包括0.75% (w/v)的一种或多种表面活性剂。例如,所述碱性洗涤剂包括0.80% (w/v)的一种或多种表面活性剂。例如,所述碱性洗涤剂包括0.85% (w/v)的一种或多种表面活性剂。例如,所述碱性洗涤剂包括0.90% (w/v)的一种或多种表面活性剂。例如,所述碱性洗涤剂包括0.95% (w/v)的一种或多种表面活性剂。例如,所述碱性洗涤剂包括1.00% (w/v)的一种或多种表面活性剂。例如,所述碱性洗涤剂包括1.05% (w/v)的一种或多种表面活性剂。例如,所述碱性洗涤剂包括1.10% (w/v)的一种或多种表面活性剂。例如,所述碱性洗涤剂包括1.20% (w/v)的一种或多种表面活性剂。

[0328] 在一个实例中,螯合剂是乙二胺四乙酸(EDTA)、乙二醇-双(β -氨基乙基醚)-N,N,N',N'-四乙酸(EGTA)、葡萄糖酸钠、柠檬酸三钠、二亚乙基三胺五乙酸(DTPA)、内消旋-2,3-二巯基琥珀酸(DMSA)、2,3-二巯基丙烷-1-磺酸(DMPS)、1,2-双(邻氨基苯氧基)乙烷-N,N,N',N'-四乙酸(BAPTA)、 α -硫辛酸(ALA)、乙二胺-N,N'-二琥珀酸(EDDS)、亚氨基二琥珀酸(IDS)、甲基甘氨酸二乙酸(MGDA)、三亚乙基四胺(Trien)、亚氨基二乙酸(IDA)、次氨基三乙酸(NTA)、三聚磷酸酯(TPP)、二乙基二硫代氨基甲酸钠(DDC)、L-谷氨酸N,N-二乙酸(GLDA)、四钠盐和青霉胺或其任何盐,包含其钙盐或钠盐。例如,螯合剂是乙二胺四乙酸(EDTA)。例如,螯合剂是乙二醇-双(β -氨基乙基醚)-N,N,N',N'-四乙酸(EGTA)。例如,螯合剂是葡萄糖酸钠。例如,螯合剂是柠檬酸三钠。例如,螯合剂是二亚乙基三胺五乙酸(DTPA)。例如,螯合剂是内消旋-2,3-二巯基琥珀酸(DMSA)。例如,螯合剂是2,3-二巯基丙烷-1-磺酸(DMPS)。例如,螯合剂是1,2-双(邻氨基苯氧基)乙烷-N,N,N',N'-四乙酸(BAPTA)。例如,螯合剂是 α -硫辛酸(ALA)。例如,螯合剂是乙二胺-N,N'-二琥珀酸(EDDS)。例如,螯合剂是亚氨基二琥珀酸(IDS)。例如,螯合剂是甲基甘氨酸二乙酸(MGDA)。例如,螯合剂是三亚乙基四胺(Trien)。例如,螯合剂是亚氨基二乙酸(IDA)。例如,螯合剂是次氨基三乙酸(NTA)。例如,螯合剂是三聚磷酸酯(TPP)。例如,螯合剂是二乙基二硫代氨基甲酸钠(DDC)。例如,螯合剂是L-谷氨酸N,N-二乙酸(GLDA)。例如,螯合剂是四钠盐。例如,螯合剂是青霉胺。

[0329] 在一个实例中,螯合剂是EDTA或葡萄糖酸钠。

[0330] 在一个实例中,螯合剂是可生物降解的螯合剂。

[0331] 在一个实例中,可生物降解的螯合剂选自由以下组成的组:

[0332] 乙二胺-N,N'-二琥珀酸(EDDS)、亚氨基二琥珀酸(IDS)、甲基甘氨酸二乙酸(MGDA)和次氨基三乙酸(NTA)。

[0333] 在一个实例中,所述碱性洗涤剂包括0.5%至1%,或1%至1.5%,或1.5%至2.0%,或2.0%至2.5%,或2.5%至3%,或3%至3.5%,或3.5%至4%,或4%至4.5%,或4.5%至5%,或5%至5.5%,或5.5%至6%,或6%至6.5%,或6.5%至7.0%,或7.0%至7.5%,或7.5%至8.0%,或8.0%至8.5% (w/v)的螯合剂。例如,所述碱性洗涤剂包括0.5%至1% (w/v)的螯合剂。例如,所述碱性洗涤剂包括1%至1.5% (w/v)的螯合剂。例如,所述碱

性洗涤剂包括1.5%至2.0% (w/v) 的螯合剂。例如,所述碱性洗涤剂包括2.0%至2.5% (w/v) 的螯合剂。例如,所述碱性洗涤剂包括2.5%至3% (w/v) 的螯合剂。例如,所述碱性洗涤剂包括3%至3.5% (w/v) 的螯合剂。例如,所述碱性洗涤剂包括3.5%至4% (w/v) 的螯合剂。例如,所述碱性洗涤剂包括4%至4.5% (w/v) 的螯合剂。例如,所述碱性洗涤剂包括4.5%至5% (w/v) 的螯合剂。例如,所述碱性洗涤剂包括5%至5.5% (w/v) 的螯合剂。例如,所述碱性洗涤剂包括5.5%至6% (w/v) 的螯合剂。例如,所述碱性洗涤剂包括6%至6.5% (w/v) 的螯合剂。例如,所述碱性洗涤剂包括6.5%至7.0% (w/v) 的螯合剂。例如,所述碱性洗涤剂包括7.0%至7.5% (w/v) 的螯合剂。例如,所述碱性洗涤剂包括7.5%至8.0% (w/v) 的螯合剂。例如,所述碱性洗涤剂包括8.0%至8.5% (w/v) 的螯合剂。

[0334] 在一个实例中,所述碱性洗涤剂包括至少0.5%、1%、1.5%、2%、2.5%、3%、3.5%、4%、4.5%、5%、5.5%、6%、6.5%、7%、7.5%、8%、8.5% (w/v) 的螯合剂。例如,所述碱性洗涤剂包括至少0.5% (w/v) 的螯合剂。例如,所述碱性洗涤剂包括至少1% (w/v) 的螯合剂。例如,所述碱性洗涤剂包括至少1.5% (w/v) 的螯合剂。例如,所述碱性洗涤剂包括至少2% (w/v) 的螯合剂。例如,所述碱性洗涤剂包括至少2.5% (w/v) 的螯合剂。例如,所述碱性洗涤剂包括至少3% (w/v) 的螯合剂。例如,所述碱性洗涤剂包括至少3.5% (w/v) 的螯合剂。例如,所述碱性洗涤剂包括至少4% (w/v) 的螯合剂。例如,所述碱性洗涤剂包括至少4.5% (w/v) 的螯合剂。例如,所述碱性洗涤剂包括至少5% (w/v) 的螯合剂。例如,所述碱性洗涤剂包括至少5.5% (w/v) 的螯合剂。例如,所述碱性洗涤剂包括至少6% (w/v) 的螯合剂。例如,所述碱性洗涤剂包括至少6.5% (w/v) 的螯合剂。例如,所述碱性洗涤剂包括至少7% (w/v) 的螯合剂。例如,所述碱性洗涤剂包括至少7.5% (w/v) 的螯合剂。例如,所述碱性洗涤剂包括至少8% (w/v) 的螯合剂。例如,所述碱性洗涤剂包括至少8.5% (w/v) 的螯合剂。

[0335] 在一个实例中,所述碱性洗涤剂包括0.5%、1%、1.5%、2%、2.5%、3%、3.5%、4%、4.5%、5%、5.5%、6%、6.5%、7%、7.5%、8%、8.5% (w/v) 的螯合剂。例如,所述碱性洗涤剂包括0.5% (w/v) 的螯合剂。例如,所述碱性洗涤剂包括1% (w/v) 的螯合剂。例如,所述碱性洗涤剂包括1.5% (w/v) 的螯合剂。例如,所述碱性洗涤剂包括2% (w/v) 的螯合剂。例如,所述碱性洗涤剂包括2.5% (w/v) 的螯合剂。例如,所述碱性洗涤剂包括3% (w/v) 的螯合剂。例如,所述碱性洗涤剂包括3.5% (w/v) 的螯合剂。例如,所述碱性洗涤剂包括4% (w/v) 的螯合剂。例如,所述碱性洗涤剂包括4.5% (w/v) 的螯合剂。例如,所述碱性洗涤剂包括5% (w/v) 的螯合剂。例如,所述碱性洗涤剂包括5.5% (w/v) 的螯合剂。例如,所述碱性洗涤剂包括6% (w/v) 的螯合剂。例如,所述碱性洗涤剂包括6.5% (w/v) 的螯合剂。例如,所述碱性洗涤剂包括7% (w/v) 的螯合剂。例如,所述碱性洗涤剂包括7.5% (w/v) 的螯合剂。例如,所述碱性洗涤剂包括8% (w/v) 的螯合剂。例如,所述碱性洗涤剂包括8.5% (w/v) 的螯合剂。

[0336] 在一个实例中,所述碱性洗涤剂被稀释,例如,被稀释到水中。例如,色谱树脂与包括0.1至5%碱性洗涤剂(例如,0.5至4%或1至3%碱性洗涤剂)的溶液接触。在一个实例中,色谱树脂与包括0.5%碱性洗涤剂的溶液接触。在另一个实例中,色谱树脂与包括1%碱性洗涤剂的溶液接触。例如,色谱树脂与包括2%碱性洗涤剂的溶液接触。

[0337] 在一个实例中,多个柱体积的碱性洗涤剂通过色谱介质以对介质进行消毒。碱性洗涤剂可以在向下流动方向和/或向上流动方向上通过色谱介质。例如,多个柱体积在向上流动方向上通过色谱介质,并且然后多个柱体积在向下流动方向上通过色谱介质。例如,至

少三或四或五或六个柱体积在向上流动方向上通过色谱介质。例如,至少三或四或五或六个柱体积在向下流动方向上通过色谱介质。

[0338] 在一个实例中,碱性洗涤剂与色谱介质接触至少10分钟以对介质进行消毒。例如,碱性洗涤剂与色谱介质接触至少15分钟或30分钟或40分钟或50分钟或60分钟。在一个实例中,碱性洗涤剂与色谱介质接触不超过120分钟。例如,碱性洗涤剂与色谱介质接触15至120分钟,或30至100分钟,或40至90分钟,或50至70分钟。例如,碱性洗涤剂与色谱介质接触约60分钟。

[0339] 再生

[0340] 本公开进一步提供了一种再生色谱介质的方法,所述方法可以在对色谱介质进行消毒之前或之后进行。例如,色谱介质在消毒前再生。色谱介质的再生恢复了色谱介质的结合能力和/或特性,使其能够在一个或多个进一步的色谱循环中使用。

[0341] 用于再生色谱介质的合适溶液对技术人员来说是显而易见的和/或是本文所描述的。

[0342] 用于再生色谱介质的方法是本领域已知的,并且对技术人员来说是显而易见的。例如,再生色谱介质包含使色谱介质与溶液接触,所述溶液包含但不限于盐溶液(NaCl)、腐蚀性溶液(至多1.5M氢氧化钠)、溶剂(例如,乙酸、乙醇、异丙醇和乙腈、Tris或Tris EDTA)。再生方法还包含使所述介质与包括以下的溶液接触:乙二醇、氯化钠、氢氧化钠或氢氧化钠和乙醇的组合。

[0343] 在一些实例中,再生色谱介质包括使所述介质与溶液的组合接触。溶液的组合可以在与介质接触之前混合,或者连续与介质接触,任选地通过洗涤(例如,用水)分离。

[0344] 对技术人员来说将显而易见的是,用于再生色谱介质的方法可能取决于色谱介质的类型。

[0345] 用于再生阳离子交换色谱介质的示例性方法包含使介质与1M氢氧化钠或1M NaCl或氨基酸(如精氨酸)和NaCl氯化物的组合或醇和氢氧化钠的组合或醇和NaCl的组合接触。

[0346] 用于再生阴离子交换色谱介质的示例性方法包含使介质与1M氢氧化钠或1M NaCl或氢氧化钠或NaCl与尿素和任选地EDTA或柠檬酸的组合接触。

[0347] 用于再生疏水性相互作用色谱介质或混合模式色谱介质的示例性方法包含使介质与柠檬酸(10-200mM)或盐酸(10mM)或氢氧化钠(0.5-1M)或盐酸胍(6M)或尿素(2-8M)或丙醇(40%)或20-100%乙醇或甲醇或Tris、EDTA和NaCl的组合接触。

[0348] 用于再生亲和色谱介质(例如,蛋白A色谱介质)的示例性方法包括使介质与氢氧化钠(10-50mM)和NaCl(1M)或尿素或盐酸胍或柠檬酸的组合接触。

[0349] 用于再生亲和色谱介质(如FcXP)的示例性方法包含在以下段落中。这些方法适用于其它色谱介质。

[0350] 在一个实例中,所述方法包括通过使介质与溶液接触来再生色谱介质,所述溶液包括氯化钠、精氨酸、乙醇、聚合物(如乙二醇)、氢氧化钠或氢氧化钠和乙醇的组合。例如,所述方法包括通过使介质与乙二醇(例如,20%或40%乙二醇)接触来再生色谱介质。例如,所述方法包括通过使介质与包括氢氧化钠的溶液接触来再生色谱介质。例如,所述方法包括通过使介质与氢氧化钠和乙醇的组合接触来再生色谱介质。例如,所述方法包括通过使介质与乙醇接触来再生色谱介质。

[0351] 在一个实例中,所述方法包括通过使介质与乙醇接触,并且然后使树脂与氢氧化钠接触来再生色谱介质。

[0352] 在一个实例中,树脂与5%至50%乙醇(例如,10%至40%乙醇,例如,15%至30%乙醇)接触。例如,树脂与20%乙醇接触。在一个实例中,树脂与5%乙醇接触。在一个实例中,树脂与10%乙醇接触。在一个实例中,树脂与15%乙醇接触。在一个实例中,树脂与20%乙醇接触。在一个实例中,树脂与25%乙醇接触。在一个实例中,树脂与30%乙醇接触。在一个实例中,树脂与35%乙醇接触。在一个实例中,树脂与40%乙醇接触。在一个实例中,树脂与45%乙醇接触。在一个实例中,树脂与50%乙醇接触。

[0353] 在一个实例中,树脂与5mM至50mM氢氧化钠(例如,10mM至40mM氢氧化钠,例如,15mM至30mM氢氧化钠)接触。例如,树脂与20mM氢氧化钠接触。在一个实例中,树脂与5mM氢氧化钠接触。在一个实例中,树脂与10mM氢氧化钠接触。在一个实例中,树脂与15mM氢氧化钠接触。在一个实例中,树脂与25mM氢氧化钠接触。在一个实例中,树脂与30mM氢氧化钠接触。在一个实例中,树脂与35mM氢氧化钠接触。在一个实例中,树脂与40mM氢氧化钠接触。在一个实例中,树脂与45mM氢氧化钠接触。在一个实例中,树脂与50mM氢氧化钠接触。

[0354] 在一个实例中,介质与包括20%乙醇的溶液接触,并且然后与包括5mM或10mM或10mM或15mM或20mM氢氧化钠的溶液接触。在一个实例中,介质与包括20%乙醇的溶液接触,并且然后与包括5mM氢氧化钠的溶液接触。在一个实例中,介质与包括20%乙醇的溶液接触,并且然后与包括20mM氢氧化钠的溶液接触。

[0355] 在一个实例中,乙醇和氢氧化钠包含在同一溶液中。本文描述了乙醇和氢氧化钠的合适的量或浓度。例如,介质与包括20%乙醇和5mM氢氧化钠的溶液接触。在一个实例中,介质与包括20%乙醇和20mM氢氧化钠的溶液接触。

[0356] 在一个实例中,使用乙二醇再生色谱介质。例如,色谱介质与包括20%乙二醇的溶液和/或包括40%乙二醇的溶液接触。例如,介质与包括20%乙二醇的溶液接触,并且然后与包括40%乙二醇的溶液接触。

[0357] 在一个实例中,用于再生色谱介质的溶液的多个柱体积通过色谱介质以再生介质。溶液可以在向下流动方向和/或向上流动方向上通过色谱介质。例如,多个柱体积在向上流动方向上通过色谱介质,并且然后多个柱体积在向下流动方向上通过色谱介质。例如,至少一或二或三或四或五或六个柱体积在向上流动方向上通过色谱介质。例如,至少一或二或三或四或五或六个柱体积在向下流动方向上通过色谱介质。

[0358] 在一个实例中,本公开的方法包括:

[0359] (i) 如本文所描述的再生色谱介质;以及

[0360] (ii) 如本文所描述的对(i)的色谱介质进行消毒。

[0361] 在一个实例中,本公开的方法包括:

[0362] (i) 通过使介质与包括乙醇的溶液和包括氢氧化钠的溶液(例如,如本文所描述的)接触来再生色谱介质;以及

[0363] (ii) 通过使介质与碱性洗涤剂或包括与本文所描述的相同的溶液接触来对(i)的色谱介质进行消毒。

[0364] 在一个实例中,本公开的方法包括:

[0365] (i) 通过使介质与如本文所描述的包括乙醇和氢氧化钠的溶液接触来再生色谱介

质;以及

[0366] (ii)通过使介质与碱性洗涤剂或包括与本文所描述的相同的溶液接触来对(i)的色谱介质进行消毒。

[0367] 使用本公开的方法对色谱介质进行消毒和再生色谱介质的优点是,与常规消毒和/或再生方法相比可以延长色谱介质的有效寿命。例如,与未使用本公开的方法进行消毒和/或再生的色谱介质的使用频率相比,本公开的方法可以允许色谱介质的使用频率可以是其至少1、2、3、4、5、10、25倍或更多。为色谱介质的寿命添加1或2个纯化批次将提供优点,例如,在从样品中纯化期望的蛋白质时节省成本和/或节省时间。

[0368] 连续色谱

[0369] 对色谱介质进行消毒(和任选地再生)的本公开可以作为连续色谱的过程的一部分进行。

[0370] 术语“连续色谱”应被视为意指一种色谱方法,其包括一个或多个填充有色谱介质的柱,其中每个柱包括一个或多个区域。区域是包括色谱介质的柱或柱的区,其中可以进行一个或多个色谱步骤。例如,区域选自由以下组成的组:平衡区域、结合区域、洗涤区域、洗脱区域、汽提区域或其组合。

[0371] 包括多于一个柱的连续色谱涉及以允许柱串联和/或并联操作的布置连接柱。原则上,包括期望的蛋白质的样品可以装载在第一和/或后续柱上,而其它柱(或柱的其它区域)同时进行平衡、洗涤、洗脱、消毒和/或再生。连续色谱的实例对技术人员来说是显而易见的和/或是本文所描述的。

[0372] 可用于进行本公开的方法的柱的实例对技术人员来说是显而易见的和/或是本文所描述的。例如,连续色谱方法可以使用Tricorn 5/100柱(思拓凡公司)或Eco plus 1cm柱(株式会社YMC(YMC))进行。在另一个实例中,连续色谱方法可以使用BioSMB PD System(赛多利斯公司)进行。

[0373] 在一个实例中,所述连续色谱是连续亲和色谱。

[0374] 术语“连续亲和色谱”应被视为意指一种色谱方法,其包括一个或多个填充有相同的亲和色谱介质的柱,其中每个柱包括一个或多个区域。

[0375] 模拟移动床(SMB)色谱

[0376] 在一个实例中,连续色谱是模拟移动床(SMB)色谱。术语“模拟移动床色谱”或“SMB色谱”是指美国专利2,985,589中首次描述的色谱方法。SMB色谱设置和/或设备的实例对技术人员来说是显而易见的和/或是本文所描述的。模拟移动床的概念涉及使用含有固体吸收剂(例如亲和色谱介质)的多个较小柱(而不是一个大柱),并且在连续回路中的不同柱上同时进行一个或多个连续色谱步骤(即平衡、结合、洗涤、洗脱或汽提)。

[0377] SMB色谱设置的实例是将柱排列成四个区段,每个区段有一个或多个柱。两个入口流(进料和洗脱液)和两个出口流(萃取物和萃余液)以交替的顺序被引导到柱环和从柱环引出。入口位置和出口位置在液体流动的方向上以规则的时间间隔切换,从而模拟柱的逆流移动。将进料(含有可吸附组分(萃取物))装载到SMB色谱设置的一个或多个柱上,并且萃取物与柱内的色谱介质结合。同时,进料中较少被吸附的组分(萃余液)通过柱。萃余液可以装载到一个或多个后续柱上,或者作为废物从SMB色谱系统中去除。洗脱液被装载到柱上以收集萃取物。例如,可以从第一个柱收集洗脱液,同时将更多的进料装载到一个或多个后续

柱上。

[0378] SMB色谱中的色谱介质可以经历多个循环(例如50个循环)的介质平衡、装载、结合和/或所关注的蛋白质的洗脱,以及色谱介质的汽提、消毒和/或再生。可以使用SMB色谱进行多个批次运行(例如4至10个批次)。SMB色谱中的色谱介质的总寿命在色谱介质不可用之前可以在200至500个循环(如果不是更多)的范围内。

[0379] 周期性逆流色谱(PCC)

[0380] 在一个实例中,连续色谱是周期性逆流色谱(PCC)。PCC设置和/或设备的实例对技术人员来说是显而易见的和/或是本文所描述的。PCC的概念涉及使用含有固体吸收剂(例如亲和色谱介质)的多个柱,并且以准连续的方式并行进行色谱步骤。

[0381] PCC设置的实例涉及使用两个柱。在第一步中,将样品装载到色谱介质的DBC上方的第一柱上,使得未结合的产物(例如IgG)穿透第一柱并被第二柱捕获。在第二步中,洗涤、洗脱、清洁和/或重新平衡第一柱,与第二柱装载另外的样品无关。在第三步中,将另外的样品装载到色谱介质的DBC上方的第二柱上,使得未结合的产物穿透第二柱并被第一柱捕获。在第四步中,洗涤、洗脱、清洁和/或重新平衡第二柱,与第一柱装载另外的样品无关。过程步骤在两个柱之间连续循环。

[0382] PCC设置的另一个实例涉及使用多个柱。例如,上述PCC设置的变体可能涉及使用多个柱来捕获未结合的产物,这模拟了大柱的使用。

[0383] 连续逆流切向色谱(CCTC)

[0384] 在一个实例中,连续色谱是连续逆流切向色谱(CCTC)。CCTC设置和/或设备的实例对技术人员来说是显而易见的和/或是本文所描述的。CCTC的概念涉及使用呈浆料形式的色谱介质,其中浆料被连续引导穿过许多静态混合器和中空纤维膜,这将流体相与色谱介质分离。CCTC通常在低压(例如<70kPa)下进行。

[0385] CCTC过程的实例涉及结合、第一次洗涤、第二次洗涤、洗脱、消毒、再生和/或平衡步骤。在结合步骤中,样品(例如血浆或其级分)和色谱介质通过静态混合器和中空纤维膜。在洗涤步骤中,杂质在中空纤维膜的流过中被去除,而色谱介质结合的产物被膜保留。中空纤维保留色谱介质并允许产物在洗脱步骤中流过。对色谱介质进行消毒、再生和/或平衡,并且重复所述过程。

[0386] 连续逆流螺旋色谱(CCSC)

[0387] 在一个实例中,连续色谱是连续逆流螺旋色谱(CCSC)。CCSC设置和/或设备的实例对技术人员来说是显而易见的和/或是本文所描述的。CCSC的概念涉及使用安装到离心机旋转框架上的紧凑型旋转盘管分离柱。目前有两种分离柱设计可用:螺旋盘组合件和螺旋管支撑组合件。

[0388] 示例性CCSC过程涉及绕离心机的中心轴线旋转的盘绕分离柱,同时其围绕其自身的轴线同步旋转(以例如1,000至1,200rpm)。流动相可以在没有旋转密封的情况下通过离心机转子,并且在两相沿柱的长度混合以产生高效溶质分离的同时,保留了大量的固定相。

[0389] 色谱介质的分析

[0390] 消毒

[0391] 确定色谱介质的消毒的方法对技术人员来说是显而易见的和/或是本文所描述的。

[0392] 在一个实例中,通过使用微生物攻击测试测量消毒之前和之后的微生物的量来确定消毒。简而言之,色谱介质中装载有大于 10^6 CFU/ml的微生物(例如铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*))。使用本公开的方法对色谱介质进行消毒,收集消毒后的一个或多个样品,并且确定每mL活微生物(CFU)的数量。

[0393] 在另一个实例中,通过使用病毒加标攻击测量消毒之前和之后的病毒的量来确定消毒。简而言之,在样品中加标已知量的病毒,并且使样品运行穿过色谱基质。使用本公开的方法对色谱基质进行消毒,并且在消毒后收集一个或多个样品。确定消毒后的病毒的量并将其与消毒前的量进行比较。病毒的量的减少,例如减少到低于测定的检测水平的水平指示消毒方法是有效的。

[0394] 再生

[0395] 确定色谱介质的再生的方法对技术人员来说是显而易见的和/或是本文所描述的。

[0396] 在一个实例中,通过使用本公开的方法在再生之前和之后使用已知量的所关注的纯蛋白质(例如,IgG)评估树脂的动态结合能力来确定再生。例如,在再生之前和之后确定类似的动态结合能力。

[0397] 在另一个实例中,通过使用分光光度法监测色谱介质中的蛋白质含量的变化来确定再生。简而言之,在色谱介质的再生之前、期间和/或之后测量UV(A280)峰下的面积以确定介质的蛋白质(例如宿主细胞蛋白质或其它基于蛋白质的污染物)的水平变化。

[0398] 实例

[0399] 实例1:材料和方法

[0400] 样品

[0401] 由汇集血液捐献制备富低温血浆(CRP)并将其储存在 -20°C 下。CRP在 37°C 下解冻,在低于0.5巴的压力下通过 $1.2\mu\text{m}$ Sartopure®(赛多利斯公司)和 $0.45+0.2\mu\text{m}$ Sartobran®P(赛多利斯公司)胶囊过滤器过滤,并且在室温下提供用于本文所描述的色谱方法。

[0402] 用于确定在色谱介质的消毒和再生后色谱介质的结合能力的样品是由来自在ÄKTA系统上的CRP的批次色谱运行的含IgG的洗脱液制备的。在用于确定色谱介质的结合能力之前,用EQB缓冲液(20mM磷酸钠,500mM NaCl,pH 7.4)将含有IgG的溶液的体积调整到光密度(OD)为大约7,pH为约7.4且电导率为约21mS/cm,并且通过 $0.45\mu\text{m}$ 注射器过滤器(Sterives公司(Sterives),SVG010RS)和 $0.22\mu\text{m}$ 注射器过滤器(Sterives公司,SVH010RS)过滤。

[0403] 色谱介质

[0404] 亲和色谱介质CaptureSelect®FcXP(赛默飞世尔公司)用于评估本文所描述的方法。在20毫升/分钟的流速下,用0.1M氯化钠(NaCl)将亲和色谱介质重新悬浮并填充在来自思拓凡公司的Tricorn柱中(柱体积1.31ml且柱高度6.7cm),直到形成色谱介质床为止。在BioSMB PD系统(赛多利斯公司)上,以模拟移动床模式使用填充有CaptureSelect®FcXP(赛默飞世尔公司)的柱进行亲和色谱。

[0405] 结合能力

[0406] 在本公开的色谱介质的寿命研究中(例如,如实例3所描述的),确定了色谱介质的

结合能力。

[0407] 使用 Äktaavant 25 系统 (思拓凡公司) 在 280nm 的 UV 吸光度下确定与 EQB 缓冲液接触的色谱介质 (在寿命研究开始时) 或再生和消毒程序后的穿透曲线 (BTC) 测量结果。

[0408] 使用可商购获得的软件 (例如 UNICORN Evaluation Classic) 基于 BTC 测量结果计算与 EQB 缓冲液或碱性洗涤剂接触的色谱介质的结合能力。色谱介质的结合能力表达为与寿命研究开始时的色谱介质的结合能力 (例如, 与 EQB 缓冲液接触的色谱介质的 BTC 测量结果) 相比的百分比 (%)。

[0409] 产率

[0410] 在从血浆中纯化免疫球蛋白以及随后的再生和消毒后, 使用免疫散射比浊法确定 FcXP 洗脱液、柱流过和废物级分 (EQB 相) 中的 IgG 的浓度。简而言之, 确定了测试样品中的 IgG 的光散射特性并将其与包括已知浓度的 IgG 的一组标准溶液的光散射特性进行了比较。产率表示为相对于起始材料 (即装载到色谱介质上的样品) 中的 IgG 含量的百分比 (%)。

[0411] 免疫球蛋白类分布

[0412] 在从血浆中纯化免疫球蛋白以及随后的再生和消毒后, 使用免疫散射比浊法确定 FcXP 洗脱液中免疫球蛋白亚类和白蛋白的定量。简而言之, 与包括已知浓度的特异性免疫球蛋白或白蛋白的一组标准溶液的光散射特性相比, 确定了 FcXP 洗脱液中的免疫球蛋白 (即 IgG、IgM、IgA) 和白蛋白的光散射特性。

[0413] 纯度

[0414] 在从血浆中纯化免疫球蛋白以及随后的再生和消毒后, 通过 LabChip® 电泳 (珀金埃尔默公司 (Perkin Elmer)) 确定 FcXP 洗脱液的纯度。LabChip 基于传统凝胶电泳原理, 所述原理已被转化为微流体芯片格式以确保高通量分析。芯片格式将分离时间从 90 分钟大幅缩短为约 1 分钟, 并且可以以数字格式提供蛋白质样品的自动化分子量大小、纯度和浓度。为了确定样品的纯度, 使用了来自珀金埃尔默公司 (制造商) 的蛋白质精确测定。

[0415] 简而言之, FcXP 洗脱液被装载到 LabChip® 电泳 (珀金埃尔默公司) 中使用的芯片的各个孔中, 并且芯片被装载到表征系统 (例如 LabChip GXII Touch 蛋白质表征系统) 中, 并且使用 LabChip Reviewer 软件确定纯度。

[0416] SDS-PAGE 分析

[0417] 在从血浆中纯化免疫球蛋白以及随后的再生和消毒后, 通过 SDS-PAGE 定量地确定 FcXP 洗脱液的纯度。简而言之, 在还原和非还原条件下, 将从血浆中纯化免疫球蛋白以及随后的本文所描述的再生和消毒后的一种或多种 FcXP 洗脱液与蛋白质大小标志物和 IgG 的阳性对照 (例如 Privigen) 一起装载到合适的 SDS-PAGE 凝胶上 (例如 8-16% TRIS-甘氨酸)。基于通过考马斯蓝 (Coomassie blue) 染色可视化的大小和条带分离蛋白质。通过分析从血浆中纯化免疫球蛋白以及随后的再生和消毒后 FcXP 洗脱液的条带, 并且与 IgG 的阳性对照 (例如 Privigen) 的条带进行比较来确定纯度。

[0418] 实例 2: 合适的再生和消毒溶液的鉴定

[0419] 为了鉴定适于在从血清或血浆中纯化免疫球蛋白后再生 FcXP 色谱介质的溶液, 对以下溶液进行了测试:

[0420] ● 含 1% 吐温 80 的 EQB 缓冲液

[0421] ● 300mM 精氨酸

[0422] ●0.5%辛酸酯

[0423] ●20%乙醇

[0424] ●40%乙醇

[0425] ●20%和40%乙二醇

[0426] ●20mM氢氧化钠

[0427] ●10mM DTT

[0428] 结果表明,20%乙醇、20%或40%乙二醇和20mM氢氧化钠对再生FcXP树脂最有效。

[0429] 然后测试了20%乙醇,随后是20mM氢氧化钠的顺序,并且证明其对再生FcXP树脂有效。图1示出了FcXP树脂用20%乙醇和20mM氢氧化钠再生的示例性色谱图。

[0430] 使用还原性或非还原性聚丙烯酰胺凝胶电泳对再生期间FcXP色谱介质的流过的分析表明,乙醇主要去除蛋白质簇集蛋白,而氢氧化钠去除剩余的非特异性结合的蛋白质。

[0431] 使用稀释至2%的碱性洗涤剂CIP-100进行消毒。图1还示出了用2% CIP-100对FcXP色谱介质进行消毒的结果。

[0432] 实例3:FcXP寿命研究

[0433] 进行了研究以确定20%乙醇和20mM氢氧化钠再生以及2% CIP-100消毒对FcXP寿命的影响。每个批次的连续色谱后,将树脂暴露于以下再生和消毒条件:

[0434] 20% EtOH(总接触时间:62分钟)

[0435] 1) 5CV, 1.3毫升/分钟,向上流动

[0436] 2) 4CV, 0.1毫升/分钟,向上流动

[0437] 3) 5CV, 1.3毫升/分钟,向下流动

[0438] 20mM NaOH(总接触时间:62分钟)

[0439] 1) 5CV, 1.3毫升/分钟,向上流动

[0440] 2) 4CV, 0.1毫升/分钟,向上流动

[0441] 3) 5CV, 1.3毫升/分钟,向下流动

[0442] 2% CIP-100(在61分钟内进行步骤2-5)

[0443] 1) EQB, 5CV, 1.3毫升/分钟,向上流动

[0444] 2) CIP, 3CV, 1.3毫升/分钟,向上流动

[0445] 3) CIP, 3CV, 1.3毫升/分钟,向下流动

[0446] 4) CIP, 3CV, 1.3毫升/分钟,向上流动

[0447] 5) CIP, 4CV, 0.1毫升/分钟,向上流动

[0448] 6) EQB, 20CV, 1.3毫升/分钟,向上流动

[0449] 7) EQB, 20CV, 1.3毫升/分钟,向下流动

[0450] 表1和图2示出了在从血浆中纯化免疫球蛋白的八个批次中再生和消毒对FcXP色谱介质结合能力的影响。

[0451] 表1:在纯化、再生和消毒的多个循环中FcXP色谱介质的动态结合能力确定。

	新鲜树脂	第1批之后	第2批之后	第3批之后	第4批之后	第5批之后	第6批之后	第7批之后	第8批之后
[0452] 柱1 (%)	100.0	97.8	96.7	93.9	92.9	91.5	89.8	88.9	87.3
柱2 (%)	100.0	96.8	96.2	94.1	93.0	91.7	90.6	89.5	89.2

[0453] 表1和图2中的数据表明,每个批次和再生/消毒循环的结合能力略有下降,约为1.6%。

[0454] 表2和图3-4示出了从来自两个血浆池(池A源自25位供体,并且池B源自10位供体)的10个纯化批次中纯化免疫球蛋白的分析。回收的免疫球蛋白通常也大于95%纯。来自在空白运行洗脱液中测量的BCA测定中的数据另外地表明,再生顺序能有效避免蛋白质遗留。

[0455] 表2:来自从血浆中纯化免疫球蛋白以及随后的再生和消毒的第1批、第5批和第10批的洗脱液的分析。

	第 1 批	第 5 批	第 10 批
血浆池	A	B	A
血浆池/起始材料中的 IgG (g/L)	6.76	7.56	6.88
FcXP 洗脱液中的 IgG 产率 (%)	98.4	93.8	95.5
所有级分中的总回收* (%)	99.2	97.9	97.1
Labchip 纯度 (%)	97.43	98.03	95.93
IgM/IgG (mg/g)	4.5	3.6	3.1
IgA/IgG (mg/g)	6.0	3.2	6.5
白蛋白/IgG (mg/g)	5.5	6.0	6.9
空白运行 BCA (mg/L)	< 0.33	< 0.33	未执行

[0458] *总IgG回收是由从SMB装置中收集的所有输出级分中测量的总IgG量相对于起始材料中的IgG量计算的**蛋白质遗留的估计

[0459] 图7示出了再生和消毒对FcXP色谱介质在从血浆中纯化免疫球蛋白的十个批次中的压力曲线的影响,其中每个批次(1个批次=50个产物循环)后都进行了再生和消毒。

[0460] 实例4:CIP-100作为再生和消毒溶液

[0461] 进行实验以比较单独使用2% CIP-100作为再生和消毒溶液的效率,与20%乙醇20mM氢氧化钠用于再生和2% CIP-100用于消毒进行了比较。结果表明,用于再生/消毒的两种策略的树脂的蛋白质结合能力的降低相似,然而与乙醇/氢氧化钠/CIP-100(11.2%)相比,单独使用CIP-100时的压力增加略高(15.7%)。两种策略的估计的蛋白质遗留相似,然而SDS-PAGE指示,在单独使用CIP-100的再生/消毒后,仍有略多的蛋白质与树脂结合。

[0462] 实例5:再生的优化

[0463] 为了优化FcXP色谱介质在从血浆中纯化免疫球蛋白后的再生,进行了研究以研究减少每个再生步骤的CV的效果。

[0464] 另外地,还进行了研究以评估将乙醇和氢氧化钠合并成单一溶液的效果。这些研究是用恒定的20%乙醇和从5mM至20mM变化的氢氧化钠浓度进行的。

[0465] 实例6:再生和消毒在另外的色谱介质中的应用

[0466] 亲和色谱树脂MabSelect®SuRe和MabSelect®SuRe LX(赛默飞世尔公司)用于评估碱性洗涤剂在色谱介质的消毒中的适用性。每种色谱介质都填充来自思拓凡公司的Tricorn柱(直径5mm)中,并且色谱在Äkta avant 25系统(思拓凡公司)上进行。在纯化所关

注的蛋白质的一个或多个色谱循环之后,确定色谱介质的微生物装载。

[0467] 然后使用20%乙醇,随后是20mM氢氧化钠再生每种色谱介质,并且然后通过使介质与碱性洗涤剂(0.5%至4.5%)接触进行消毒。用于消毒的碱性洗涤剂是浓度为0.5%、2%和4.5%的CIP-100(Steris生命科学公司)。

[0468] 实例7:另外的碱性洗涤剂的评估

[0469] 使用另外的碱性洗涤剂重复如实例2和5中详述的色谱介质的消毒和再生。再生步骤维持为20%乙醇,随后是20mM氢氧化钠。具体地,测试了浓度为浓度为0.5%、2%和4.5%的碱性洗涤剂ProKlenz One(Steris生命科学公司)、ProKlenz-100(Steris生命科学公司)和COSA CIP-92(艺康公司),并且测试了包括氢氧化钾(碱性盐)、EDTA(螯合剂)和表面活性剂的碱性洗涤剂。

[0470] 实例8:通过CIP-100进行病毒灭活

[0471] 为了测试CIP-100用于病毒灭活的功效,将加标牛病毒性腹泻病毒(BVDV;丙型肝炎病毒的模型)或甲型肝炎病毒(HAV)的样品装载到FcXP树脂上。进行色谱分析并用2% CIP-100对柱进行消毒。如图5和6所示出的,CIP-100将BVDV灭活至低于检测限的水平(即完全灭活),并且以3log级灭活HAV。

[0472] 实例9:通过CIP-100进行病毒和朊病毒灭活

[0473] 为了测试CIP-100对病毒和朊病毒灭活的功效,将加标病毒或朊病毒的样品装载到FcXP树脂上。进行色谱分析并用2% CIP-100对柱进行消毒。然后使洗脱液经受第二次未加标的色谱并对洗脱液进行分析。如果来自第二次色谱的样品不含感染性病毒或朊病毒,或者水平大幅降低,则消毒是有效的。

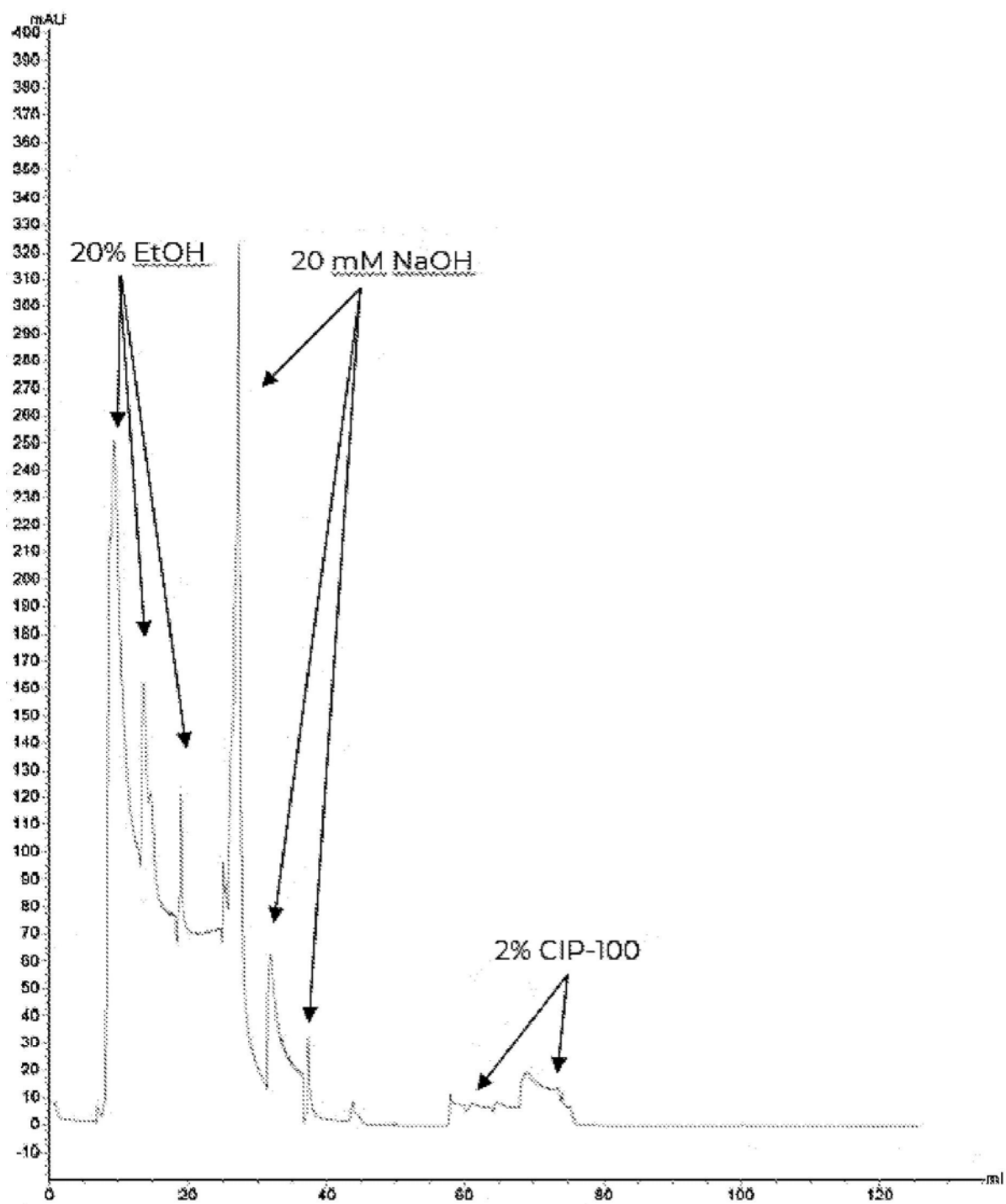
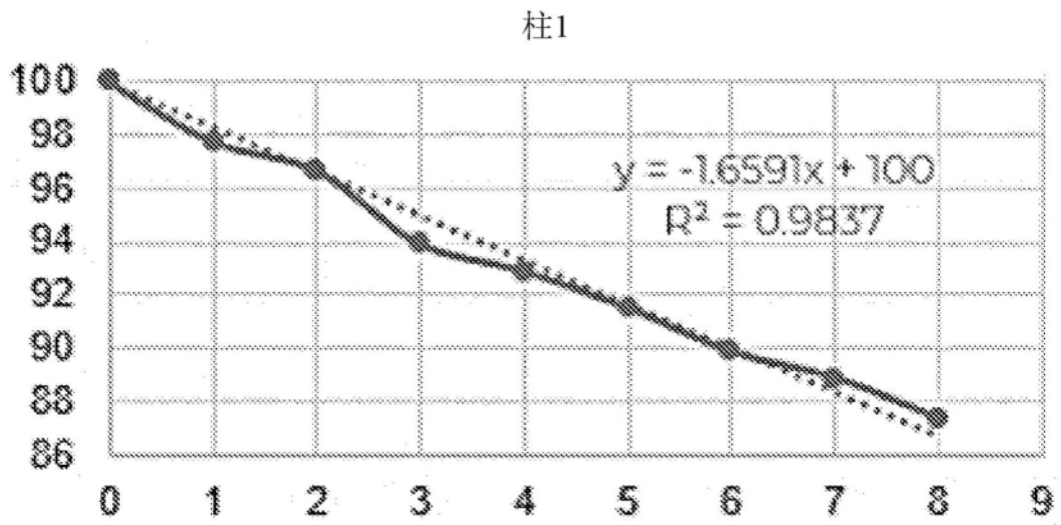


图1

A



B

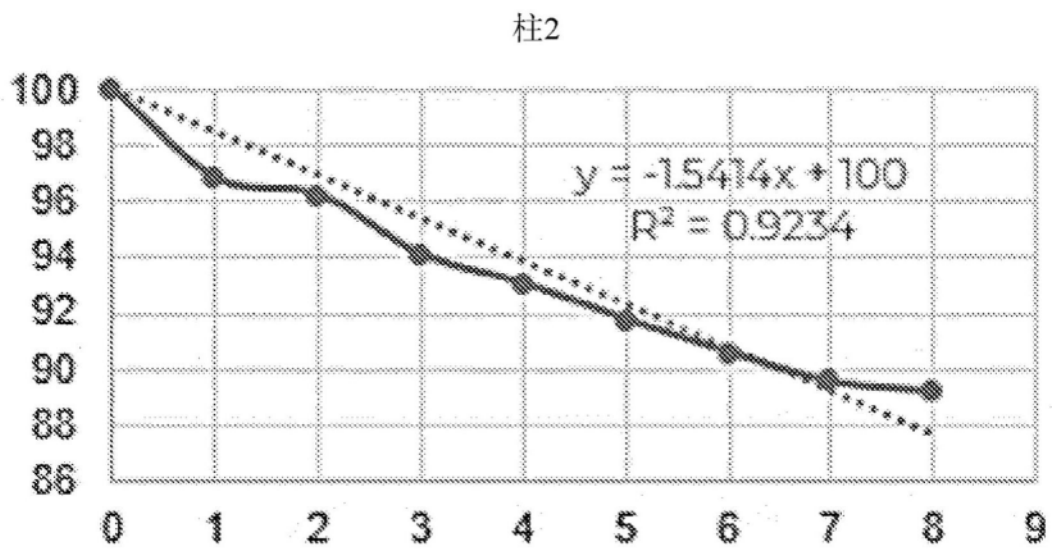


图2

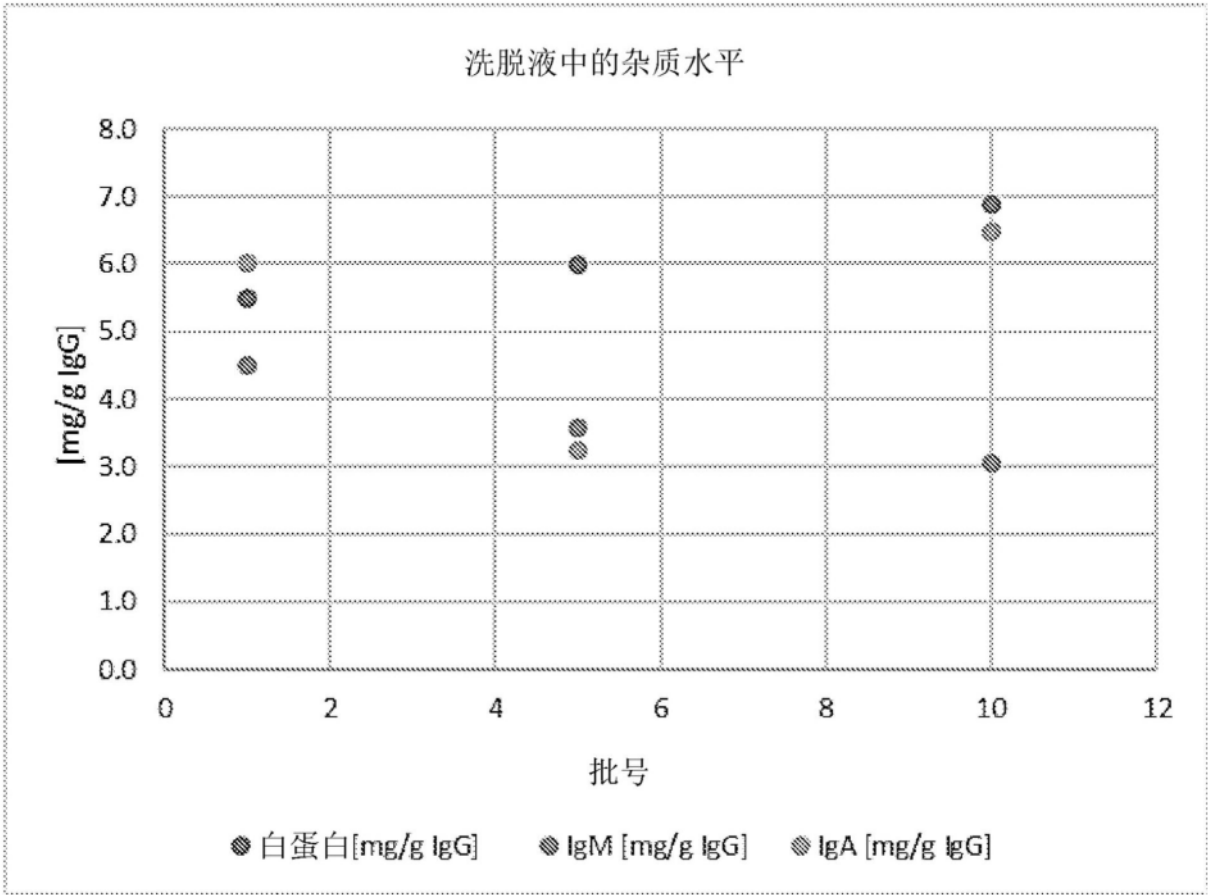


图3

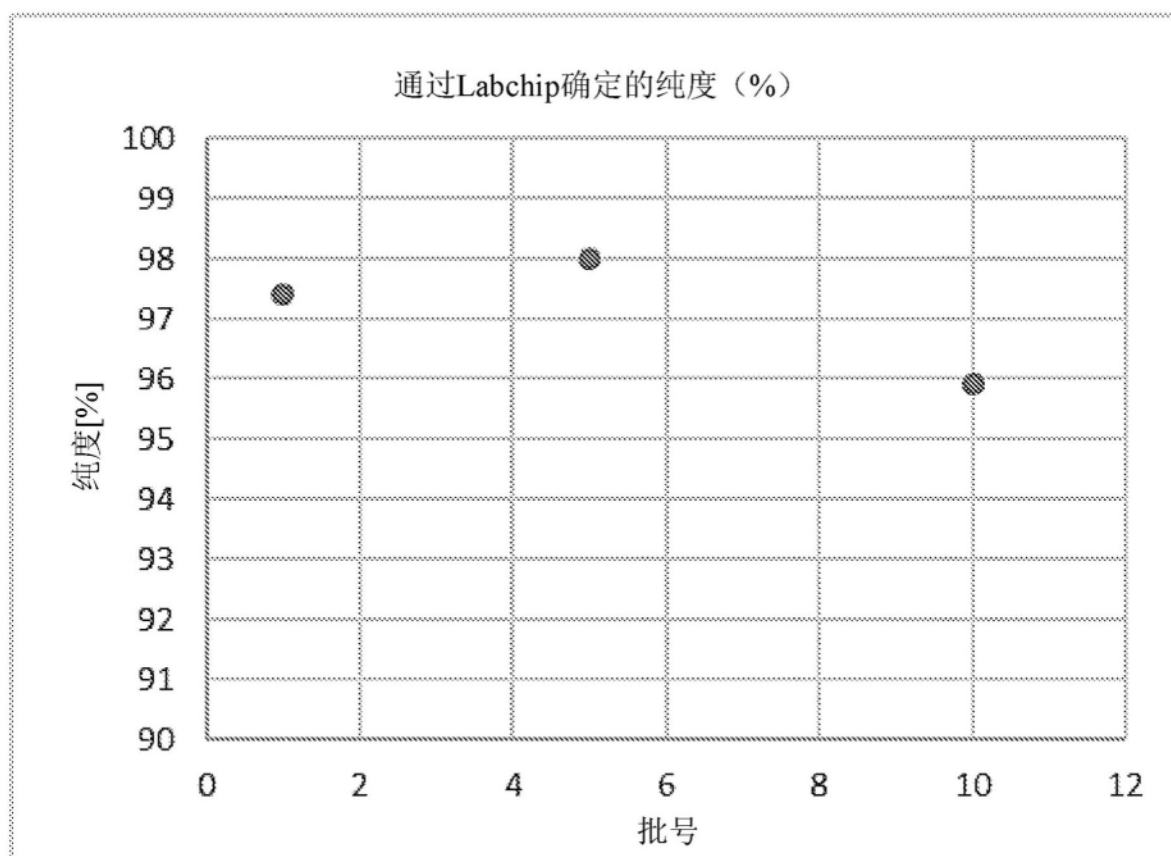
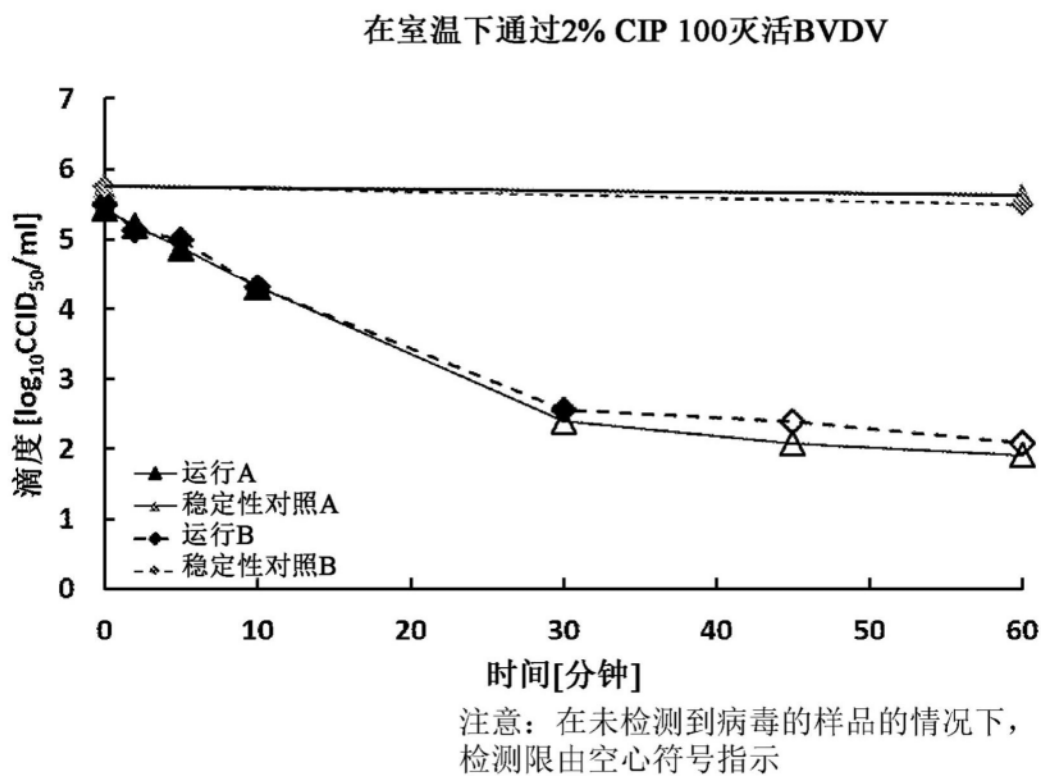


图4

A



B

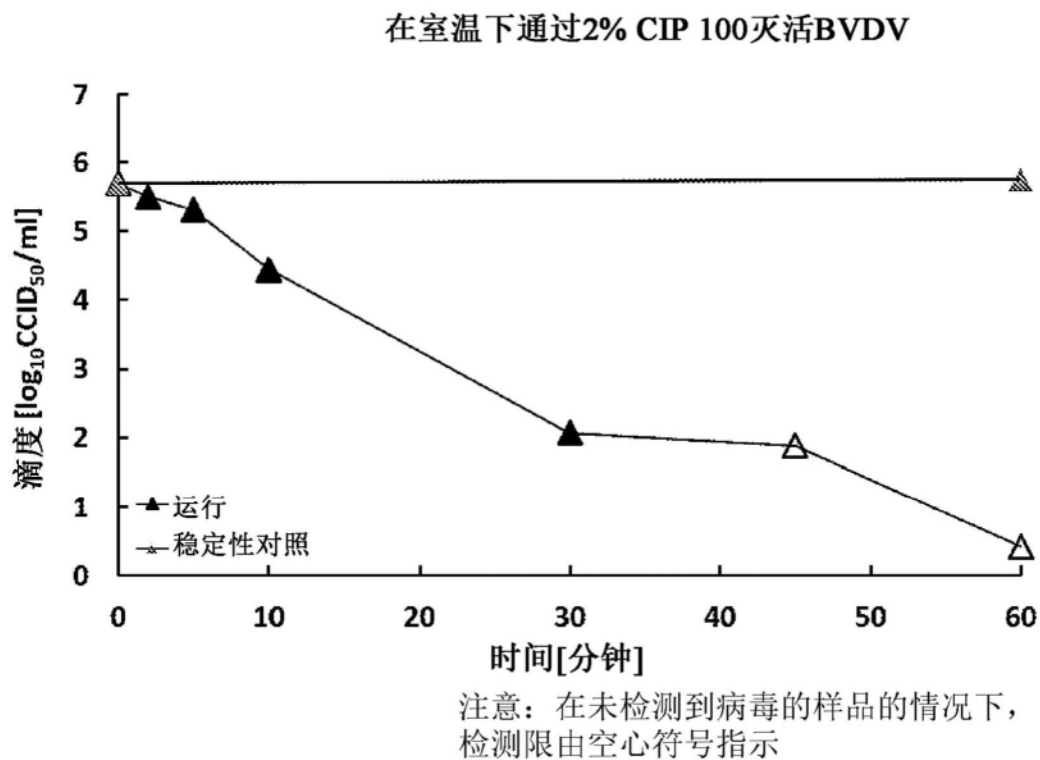


图5

在室温下通过2% CIP 100灭活HAV

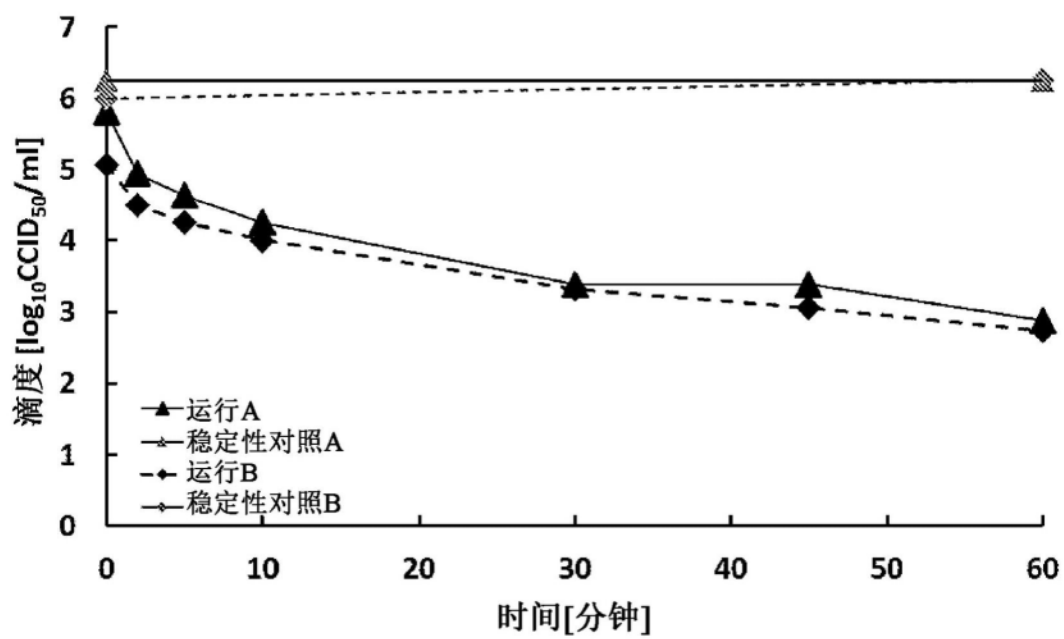


图6

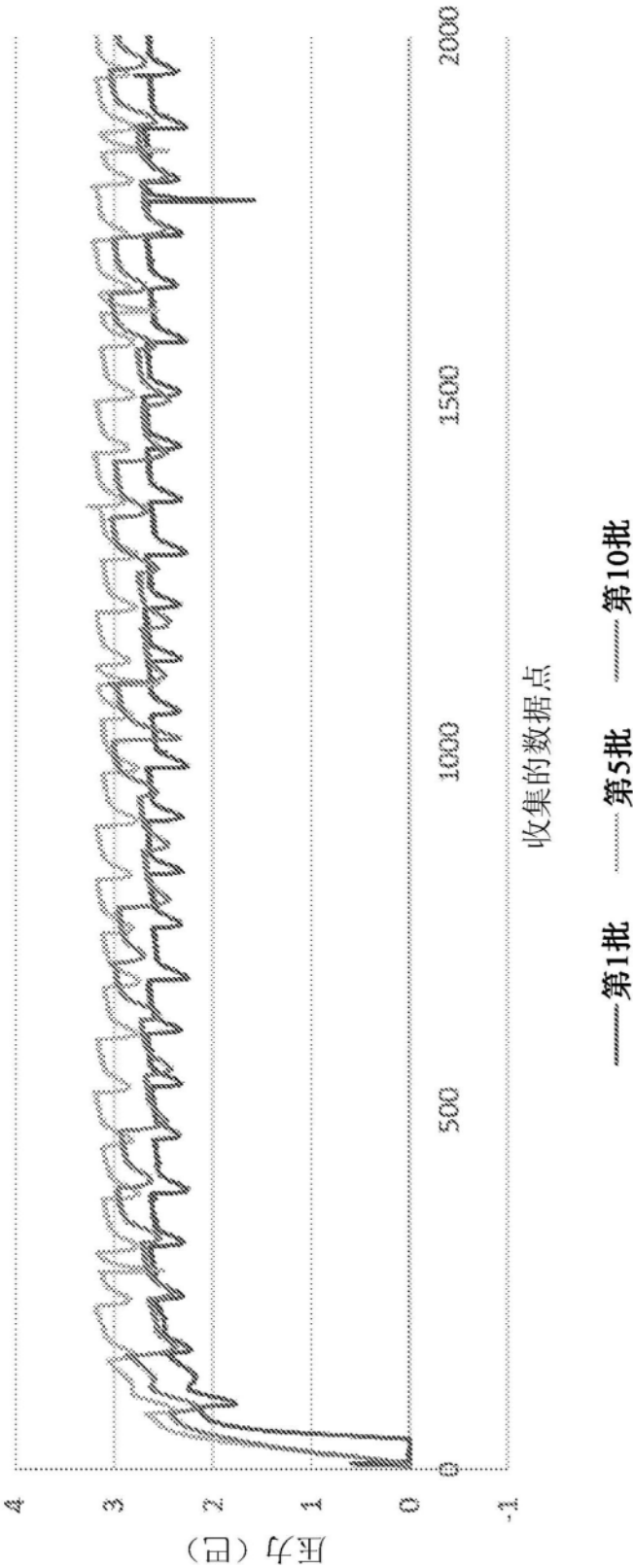


图7