



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2023년10월05일
(11) 등록번호 10-2584321
(24) 등록일자 2023년09월25일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
B01F 35/71 (2022.01) B01F 27/00 (2022.01)
B01F 27/96 (2022.01) B01F 35/00 (2022.01)
B01J 19/00 (2018.01) B01J 8/00 (2018.01)
- (52) CPC특허분류
B01F 35/712 (2022.01)
B01F 27/1125 (2022.01)
- (21) 출원번호 10-2020-7005970
- (22) 출원일자(국제) 2018년07월30일
심사청구일자 2021년07월23일
- (85) 번역문제출일자 2020년02월28일
- (65) 공개번호 10-2020-0035294
- (43) 공개일자 2020년04월02일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2018/044324
- (87) 국제공개번호 WO 2019/027876
국제공개일자 2019년02월07일
- (30) 우선권주장
62/541,601 2017년08월04일 미국(US)
- (56) 선행기술조사문헌
US04869595 A*
US05356213 A*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

- (73) 특허권자
다케다 야쿠힌 교교 가부시키키가이샤
일본 오사카시 주오구 도쇼마찌 4-1-1
- (72) 발명자
토소, 로버트
미국 02421 매사추세츠주 렉싱턴 샐리어 웨이 300
스판고드, 리처드
미국 02421 매사추세츠주 렉싱턴 샐리어 웨이 300
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
양영준

전체 청구항 수 : 총 36 항

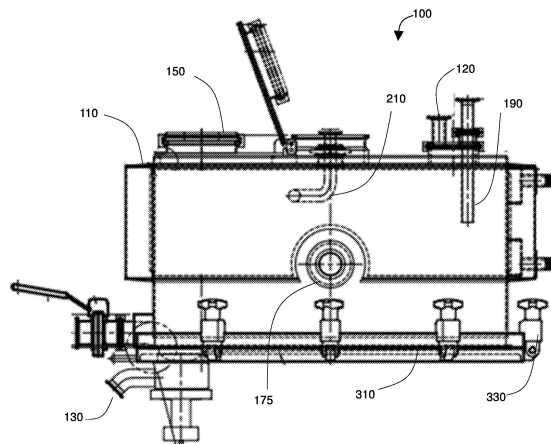
심사관 : 박영근

(54) 발명의 명칭 항체-수지 커플링 장치 및 방법

(57) 요약

항체-수지 커플링 장치가, 비드의 파괴 및 가교결합을 방지하면서, 수지 비드를 신속하게 그리고 효과적으로 활성화시키고 이들을 항체에 커플링시키며, 그에 의해서 하류의 컬럼 정제 프로세스를 개선하고, 수지 비드의 가용 수명을 연장시키며, 결과적인 수지-항체 복합체의 분자 캡처 효율을 증가시켜, 팩터 VIII 분자 또는 다른 약물 화합물의 격리 및 정제를 개선할 수 있게 한다.

대표도



(52) CPC특허분류

B01F 27/13 (2022.01)
B01F 27/96 (2022.01)
B01F 35/181 (2022.01)
B01F 35/717 (2022.01)
B01J 19/0066 (2013.01)
B01J 8/006 (2013.01)
B01F 2215/0422 (2013.01)
B01F 2215/0431 (2013.01)
B01J 2208/00805 (2013.01)

(72) 발명자

탄, 메이

미국 02421 매사추세츠주 렉싱턴 샤이어 웨이 300

타이아리울, 반

미국 02421 매사추세츠주 렉싱턴 샤이어 웨이 300

린, 예카테리나

미국 02421 매사추세츠주 렉싱턴 샤이어 웨이 300

명세서

청구범위

청구항 1

분산 장치이며:

원형 횡단면을 가지는 내강을 형성하는 세장형의 관형 구조물을 포함하고, 관형 구조물은: (a) 상향-대면 유입구를 갖는 근위 부분; (b) 폐쇄 단부를 갖는 원위 부분으로서, 원위 부분은 원위 부분의 축에 평행한 3개의 행으로 배열된 복수의 하향-대면 홀을 포함하고, 3개의 행은 원위 부분 상에서 서로 15 내지 60도로 이격되어 배치되고, 원위 부분의 모든 홀은 상기 세장형의 관형 구조물 아래에 놓인 메시 스크린에 대면하여 배치되는, 원위 부분; 및 (c) 원위 부분과 근위 부분 사이의 엘보로서, 원위 부분의 축으로부터 실질적으로 수직인 방향으로 개방되도록 유입구를 배향시키는 관형 구조물 내의 굽힘부를 포함하는, 엘보를 포함하는, 분산 장치.

청구항 2

제1항에 있어서,

원위 부분이 8개 내지 30개의 하향-대면 홀을 포함하는, 분산 장치.

청구항 3

제2항에 있어서,

원위 부분이 정확히 21개의 하향-대면 홀을 포함하는, 분산 장치.

청구항 4

제3항에 있어서,

3개의 행 중 제1 행이 10개의 홀을 가지고, 3개의 행 중 제2 행이 8개의 홀을 가지고, 3개의 행 중 제3 행이 3개의 홀을 가지는, 분산 장치.

청구항 5

제1항에 있어서,

3개의 행이 상이한 수의 홀을 가지는, 분산 장치.

청구항 6

제1항에 있어서,

3개의 행이 동일한 수의 홀을 가지는, 분산 장치.

청구항 7

제1항에 있어서,

3개의 행이 30 내지 60도로 분리되어 각각 배치되는, 분산 장치.

청구항 8

제7항에 있어서,

3개의 행이 45도로 분리되어 각각 배치되는, 분산 장치.

청구항 9

제1항에 있어서,

엘보 내의 굽힘부가 원위 부분 및 근위 부분을 서로에 대해서 60 내지 120도로 배향시키는, 분산 장치.

청구항 10

제9항에 있어서,

엘보 내의 굽힘부가 원위 부분 및 근위 부분을 서로에 대해서 80 내지 100도로 배향시키는, 분산 장치.

청구항 11

제10항에 있어서,

엘보 내의 굽힘부가 원위 부분 및 근위 부분을 서로에 대해서 정확히 90도로 배향시키는, 분산 장치.

청구항 12

제1항에 있어서,

관형 구조물이 스테인레스 강을 포함하는, 분산 장치.

청구항 13

제1항에 있어서,

유입구를 개방 및 폐쇄하기 위한 밸브를 더 포함하는, 분산 장치.

청구항 14

제1항에 있어서,

유입구에 연결될 수 있는 깔때기를 더 포함하는, 분산 장치.

청구항 15

항체를 수지에 커플링시키기 위한 디바이스이며:

용기에 걸쳐 연장되는 메시 스크린에 의해서 상부 부분 및 하부 부분으로 분할되는 혼합 용기로서, 상부 부분은 유입구를 포함하고, 하부 부분은 배출구를 포함하며, 메시 스크린은 5 μm 내지 80 μm 의 소공 크기를 가지는, 혼합 용기;

상부 부분 내에 배치되는 교반기; 및

내강을 형성하는 세장형의 관형 구조물을 포함하는 분산 장치로서, 관형 구조물은: 상향 개방된 유입구를 갖는 혼합 용기의 외측에서 수직으로 연장되는 근위 부분; 교반기 위의 상부 부분 내에서 수평으로 배치되고 폐쇄 단부 및 메시 스크린을 향해서 대면되는 복수의 하향-대면 홀을 포함하는 원위 부분; 및 원위 부분과 근위 부분을 연결하는 엘보를 포함하는, 분산 장치를 포함하는, 디바이스.

청구항 16

제15항에 있어서,

교반기가 회전자 및 회전 임펠러를 포함하는, 디바이스.

청구항 17

제16항에 있어서,

임펠러가 허브, 제1 블레이드, 및 제2 블레이드를 포함하고, 제1 및 제2 블레이드는 허브로부터 수직으로 반대방향들로 연장되고, 각각의 블레이드는 그 위에서 허브가 회전되도록 구성되는 축에 횡방향인 축을 갖는, 디바이스.

청구항 18

제17항에 있어서,

각각의 블레이드가 고정된 피치를 가지는, 디바이스.

청구항 19

제17항에 있어서,

블레이드가 둥근 연부를 가지는, 디바이스.

청구항 20

제15항에 있어서,

교반기는 용기 내의 유체에 힘을 부여하도록 구성되고, 힘은 스크린으로부터 멀어지는 쪽으로 지향되는, 디바이스.

청구항 21

제15항에 있어서,

관형 구조물이 원형 횡단면을 가지는, 디바이스.

청구항 22

제15항에 있어서,

원위 부분이 8개 내지 30개의 홀을 가지는, 디바이스.

청구항 23

제15항에 있어서,

원위 부분이 정확히 21개의 하향-대면 홀을 포함하는, 디바이스.

청구항 24

제15항에 있어서,

홀이 원위 부분의 축에 평행한 3개의 행으로 배열되는, 디바이스.

청구항 25

제24항에 있어서,

각각의 행이 동일한 수의 홀을 가지는, 디바이스.

청구항 26

제24항에 있어서,

각각의 행이 상이한 수의 홀을 가지는, 디바이스.

청구항 27

제26항에 있어서,

3개의 행 중 제1 행이 10개의 홀을 가지고, 3개의 행 중 제2 행이 8개의 홀을 가지고, 3개의 행 중 제3 행이 3개의 홀을 가지는, 디바이스.

청구항 28

제24항에 있어서,

3개의 행이 30 내지 60도로 분리되어 각각 배치되는, 디바이스.

청구항 29

제24항에 있어서,
3개의 행이 45도로 분리되어 각각 배치되는, 디바이스.

청구항 30

제15항에 있어서,
유입구를 개방 및 폐쇄하기 위한 밸브를 더 포함하는, 디바이스.

청구항 31

제15항에 있어서,
유입구에 연결될 수 있는 깔때기를 더 포함하는, 디바이스.

청구항 32

제15항에 있어서,
메시 스크린을 지지하도록 그리고 메시 스크린의 휘어짐을 방지하도록 구성된 지지 빔을 더 포함하는,
디바이스.

청구항 33

제15항에 있어서,
스크린이 혼합 용기로부터 제거될 수 있는, 디바이스.

청구항 34

제15항에 있어서,
엘보는, 유입구가 원위 부분의 축으로부터 실질적으로 수직인 방향으로 개방되도록 유입구를 배향시키는 관형 구조물 내의 굽힘부를 포함하는, 디바이스.

청구항 35

제15항에 있어서,
메시 소공 크기가 20 내지 50 μm 인, 디바이스.

청구항 36

제15항에 있어서,
메시 소공 크기가 30 μm 인, 디바이스.

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

청구항 41

삭제

청구항 42

삭제

청구항 43

삭제

청구항 44

삭제

청구항 45

삭제

청구항 46

삭제

청구항 47

삭제

청구항 48

삭제

청구항 49

삭제

청구항 50

삭제

청구항 51

삭제

청구항 52

삭제

청구항 53

삭제

청구항 54

삭제

청구항 55

삭제

청구항 56

삭제

발명의 설명

기술분야

- [0001] 관련 출원에 대한 상호 참조
- [0002] 본원은, 내용의 전부가 참조로 포함되는, 2017년 8월 4일자로 출원된 미국 출원 제62/541,601호의 이익 향유 및 우선권을 주장한다.
- [0003] 본 개시 내용은 수지를 활성화시키기 위한 그리고 항체를 수지에 커플링시키기 위한 디바이스 및 방법에 관한 것이다.

배경기술

- [0004] 혈우병은, 사소한 외상과 동시에 또는 그 이후에 발생할 수 있는, 혈액이 정상적으로 응고되는 것을 방지하는 그리고 출혈을 특징으로 하는 유전적 응고 장애이다. 이는 종종, 항-혈우병성 인자(AHF)라고도 알려져 있는, 필수 혈액-응고 단백질인, 팩터(factor) VIII의 결핍과 연관된다. 인간에서, 팩터 VIII는 F8 유전자에 의해서 인코딩된다. 이러한 유전자의 결함은, 긴 시간의 혈장 응고 시간을 초래하는 열성 X-링크형 지혈기전 이상인, 혈우병 A("전형적인" 혈우병)을 초래한다. 다른 유형의 혈우병은, 정상 F8 유전자를 가지나 팩터 VIII를 방지하는 자기 항체가 발현되어 지혈을 방해하는 기능적 결함을 생성하는 환자에서 발생하는 후천성 혈우병 A(AHA)이다.
- [0005] 혈우병을 가지는 환자에게 팩터 VIII를 정맥 주입하는 것이 응고를 일시적으로 개선할 수 있다. Shire Plc(Lexington, MA)로부터 입수할 수 있는 상표명 RECOMBINATE, ADVATE, ADYNOVATE, HEMOFIL, 및 OBIZUR로 판매되는 혈우병 치료제와 같은 혈우병을 위한 많은 치료제는 실험실에서 합성되고 정제된 재조합 팩터 VIII 단백질 포함한다.
- [0006] 그러나, 그러한 치료제 생산에서의 중요 제한 인자는 팩터 VIII 분자를 격리하고 정제할 수 있는 능력이다. 하나의 방법은 분자를 컬럼(column) 내에서 포획하기 위해서 팩터 VIII의 항체를 이용하는 것이다. 항체가 수지에 커플링되고 컬럼 내로 로딩되며, 나타난 팩터 VIII 분자를 포함하는 매체가 이를 통과한다.
- [0007] 이러한 정제 프로세스는 수지의 적절한 조작을 위한 높은 정밀도를 요구한다. 이러한 것의 실시는 매우 고비용일 수 있는데, 이는, 수지가 고가이고, 정확하게 프로세스되지 않는 경우에 쉽게 손상되거나 폐기될 수 있기 때문이다. 수지가 항체에 적절히 커플링되지 않을 때, 수지 비드들 사이에서 가교-결합이 발생할 수 있다. 또한, 수지가 주의 깊게 취급되지 않는 경우에, 비드가 파괴될 수 있다. 파괴된 또는 가교결합된 수지 비드는 컬럼을 응고시킬 수 있고, 과도한 배압을 생성하고 추출 프로세스의 실패를 유발할 수 있다. 따라서, 수지 취급 과정에서의 어려움 및 수지-항체 커플링 기술의 한계는 혈우병 약물의 제조 프로세스가 고비용이 되게 하고 복잡하게 만든다.

발명의 내용

해결하려는 과제

과제의 해결 수단

- [0008] 본원에서 설명된 장치는, 비드의 파괴 및 가교결합을 방지하면서, 수지 비드를 효과적으로 활성화시키고 이들을 항체에 커플링시키며, 그에 의해서 하류의 컬럼 정제 프로세스를 개선하고, 수지 비드의 가용 수명을 연장시키며, 결과적인 수지-항체 복합체의 분자 캡처 효율을 증가시켜, 팩터 VIII 분자를 포함하는, 매우 다양한 생물학적 화합물의 격리 및 정제를 개선할 수 있게 한다.
- [0009] 비록 장치가 일반적으로 본원에서 FVIII 정제에서의 이용을 참조하여 설명되지만, 장치 및 관련 방법은 모든 유형의 항체를 다공성 수지에 커플링시키는데 있어서 유용하다는 것을 이해하여야 한다. 본 개시 내용의 발명은 다른 친화성 수지, 특히 관심의 대상인 다른 효소 대체 요법 제품 또는 임의의 다른 약물 또는 생체 분자에 적용될 수 있다. 이는, 단백질-함유 또는 아민-함유 리간드와 수지 지지체 사이의 가교결합 화학물질에 적용될 수 있다. 수지는 아가로스, 유리, 또는 다양한 밀도의 다른 알려진 다공성 수지일 수 있다. 사용되는 항체는 다클론성 또는 단일클론성일 수 있다. 비록 디바이스가 항체를 수지에 커플링시키는데 유용한 것으로 주로 설명되지만, 본 발명은, 히드록실기가 아미노기에 커플링되는 임의의 화학 반응과도 양립될 수 있다. 본 발명이,

펩타이드, 핵산, 탄수화물, 및 아미노기를 가지는 임의의 리간드를 포함하는, 임의의 생물학적 화합물의 친화성 크로마토그래피 정제를 위해서 이용될 수 있는 임의의 알려진 항체와 함께 유용하게 사용될 수 있다는 것을 이해하여야 한다.

- [0010] 장치는 일반적으로 혼합 디바이스이고, 그러한 혼합 디바이스는 수지 비드 및 다양한 유체를 도입하기 위한 유입구를 갖는 용기, 활성화 용액의 정밀한 인가를 위한 분산 관, 수지 비드를 지지하기 위한 그리고 유체가 통과하여 유동할 수 있게 하기 위한 메시 스크린, 유체가 통과하여 유동할 때 비드들을 혼합하기 위한 교반기, 및 유체 배액을 위한 스크린 아래의 배출구를 포함한다. 장치의 구성요소는 스테인레스 강 또는 다른 탄성 재료로 제조될 수 있다. 동작 시에, 버퍼 용액 내의 수지 비드는, 분산 관을 통한 CNBr 및 아세트오니트릴의 분산에 의해서 활성화되기 전에, 용기 내로 주입된다. 비드는, 유체가 배출구를 통해서 배액되기 전에, 교반기를 이용하여 짧은 시간(약 3분 이하) 동안 저어진다. 커플링 용액 및 단일클론성 항체를 첨가하기 전에, 비드가 물 또는 다른 버퍼로 세척될 수 있다. 디바이스를 저온에서 유지하면서 그리고 용액의 pH를 모니터링하면서, 비드 및 항체가 미리 설정된 시간 동안 교반되면서 배양된다. 항체-커플링된 수지가 스크린 상에서 캡처되고 사용을 위해서 디바이스로부터 제거된다. 디바이스는 다양한 수지 및 항체의 유형을 위해서 사용될 수 있다. 시스템은, 수지 비드의 파괴가 없이 그리고 비드들 사이의 가교-결합을 방지하면서, 큰 부피의 수지가 신속하고 균일하게 활성화될 수 있게 한다. 이는, 수지 비드의 가용 수명을 연장시키기 위해서 화학반응을 제어하면서, 더 효과적인 인 수지-항체 커플링을 제공한다.
- [0011] 디바이스의 중요한 양태는 분산 관이고, 그러한 분산 관은 수지에 대한 CNBr 활성화 용액의 분산을 위해서 최적화된다. 이는 제어된 기간 하에서 CNBr의 균일한 분산을 가능하게 하고 활성화 용액의 첨가가 신속하게, 바람직하게 약 3분 이내에 달성되도록 돕는다. 이러한 인자는 항체 및 수지의 균질한 커플링에 있어서 중요한데, 이는, 버퍼의 버퍼링 용량을 일시적으로 초과할 수 있는, 수지/버퍼 혼합물에 대한 용액 첨가의 변동을 그러한 인자가 감소시키기 때문이다. 그러한 변동성은, 항체를 가수분해할 수 있고 항체 침출을 증가시킬 수 있거나 잠재적으로 다른 친핵체(nucleophile)와의 교환을 유발하여 수지를 오염시키거나 침출 증가를 유발할 수 있는, 바람직하지 못한 이소-우레아(iso-urea) 가교-결합을 초래할 수 있다. 활성화 용액의 타이밍 제어는 항체 커플링을 위한 하류 프로세스 제어에 도움을 주는데, 이는, 그러한 제어가, 수지에서 상당한 수의 활성화된 기(group)가 손실되기 전에, 최적화된 수지 활성화 및 후속되는 항체의 신속한 첨가를 가능하게 하기 때문이다.
- [0012] 특정 양태에서, 개시 내용은 항체를 수지에 커플링시키기 위한 디바이스에 관한 것이다. 그러한 디바이스는 용기에 걸쳐진 메시 스크린에 의해서 상부 부분 및 하부 부분으로 분할된 혼합 용기를 포함하고, 상부 부분은 적어도 하나의 유입구를 가지고, 하부 부분은 적어도 하나의 배출구를 가지며, 메시 스크린은 5 내지 80 μm 이 소공 크기를 갖는다. 디바이스는 상부 부분 내에 배치된 교반기 및 교반기 위의 분산 장치를 더 포함한다. 분산 장치는 내강(lumen)을 형성하는 세장형의 관형 구조물을 포함한다. 관형 구조물은 위쪽으로 개방된 유입구를 가지는 혼합 용기의 외측에서 수직으로 연장되는 근위 부분, 폐쇄 단부 및 상부 부분 내에서 수평으로 배치되는 복수의 하향-대면 홀을 가지는 원위 부분, 및 원위 부분과 근위 부분을 연결하는 엘보(elbow)를 갖는다.
- [0013] 교반기는 회전자 및 회전 임펠러를 포함할 수 있고, 임펠러는 허브 및 허브로부터 수직으로 반대 방향으로 연장되는 적어도 2개의 블레이드를 포함한다. 각각의 블레이드는 회전자의 축에 대략적으로 횡방향인 축을 가지며, 회전자의 축 상에서 허브가 회전되도록 구성된다. 교반기는, 상승력을 제공하기 위한 그리고 스크린을 가로질러 비드를 계속 이동시키기 위한 힘을 용기 내의 유체에 부여하기 위해서 회전되도록 구성된다. 스크린은 또한, 스크린을 지지하도록 그리고 스크린이 휘어지는 것을 방지하도록 구성된 지지 빔을 가질 수 있다. 스크린은 용기로부터 제거 가능하도록 구성될 수 있다.
- [0014] 교반기는 수지 비드를, 파괴 없이, 신속하게 혼합할 수 있는 충분한 속력으로 회전된다. 교반기 회전 속력은 약 10 내지 50 RPM일 수 있고, 특정 실시예에서, 속력은 20 또는 35 RPM이다. 실시예에서, 블레이드는 고정된 피치 및 둥근 연부를 갖는다.
- [0015] 관련된 양태에서, 개시 내용은, 원형 횡단면의 내강을 형성하는 세장형의 관형 구조물을 포함하는 분산 관 장치와 관련된다. 관형 구조물은 상향-대면 유입구를 갖는 근위 부분, 폐쇄 단부를 갖는 원위 부분, 및 원위 부분의 축에 평행한 둘 이상의 행(row)으로 배열된 4개 내지 100개 - 그리고 바람직하게 약 8개 내지 30개 - 의 하향-대면 홀을 포함한다. 그러한 행들은 원위 부분 상에서 서로 약 15도 내지 약 60도로 배치된다. 관형 구조물은 또한 원위 부분과 근위 부분 사이에서 엘보를 포함하고, 엘보는 관형 구조물 내의 굽힘부를 포함하여, 유입구가 원위 부분의 축에 실질적으로 수직인 방향으로 개방되도록 유입구를 배향시킨다.
- [0016] 일부 실시예에서, 분산 장치의 원위 부분은 하향-대면 홀의 3개의 평행한 행들을 갖는다. 일부 실시예에서, 12

개 내지 25개의 하향-대면 홀이 있고, 바람직한 실시예에서 21개의 홀이 있고, 행들은 10개, 8개, 및 3개의 홀을 갖는다. 일부 실시예에서, 행들은 상이한 수의 홀들을 가지며, 다른 실시예에서 행들은 동일한 수의 홀들을 갖는다. 홀의 행들은 약 15 내지 105도로 분리되어 배치될 수 있다. 엘보 부분 내의 굽힘부는 원위 부분 및 근위 부분을 서로 60 내지 120도로, 일부 실시예에서 약 80 내지 100도로, 그리고 바람직한 실시예에서 약 90도로 배향시킨다. 관형 구조물은 스테인레스 강으로 제조될 수 있다. 분산 장치는 또한, 사용에 앞서서 분산 유체를 유지하기 위해서, 유입구를 개방 및 폐쇄하기 위한 밸브, 및 유입구에 연결될 수 있는 깔때기를 포함할 수 있다.

[0017] 관련 양태에서, 개시 내용은 수지를 활성화시키기 위한 방법에 관한 것이다. 방법은, 물 내에서 부유된, 수지 비드를 혼합 용기 내로 삽입하는 단계를 포함하고, 혼합 용기는 분산 장치, 수지 비드보다 작은 홀을 갖는 메시 스크린, 및 메시 스크린 위에 배치된 교반기를 포함한다. 수지 비드는, GE Healthcare Life Sciences(Marlborough, MA)가 상표명 CAPTO로 판매하는, 아가로스, 예를 들어 CL-4B 또는 CL-2B 비드 또는 아가로스 비드를 포함할 수 있다. 그러한 방법은 CNBr 및 아세토니트릴을 포함하는 활성화 용액을 분산 장치를 통해서 수지 비드 상으로 분산시키는 단계 및 5분 미만 동안 교반기를 켜는 단계를 더 포함한다. 이어서, 방법은 메시 스크린을 통해서 활성화 용액을 배액하고, 그에 의해서 스크린 상에서 지지된 활성화된 수지 비드를 남기는 단계를 포함한다.

[0018] 일부 실시예에서, 방법은 또한 활성화된 수지 비드를 유체로 세척하는 단계를 포함한다. 세척하는 단계는 혼합 용기를 유체로 충전하는 단계, 교반기를 저으면서 배양하는 단계, 및 유체를 혼합 용기로부터 배액하는 단계를 포함할 수 있다. 유체는 버퍼, 물, 또는 중탄산 나트륨 및 염화 나트륨을 포함하는 용액일 수 있다. 켜는 것이 10 RPM 내지 40 RPM, 그리고 바람직하게 약 20 RPM 또는 35 RPM일 수 있다. 저으면서 배양하는 단계가 4분 미만 동안, 바람직하게 3분 미만 동안 지속될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0019] 도 1a 내지 도 1c는 혼합 용기의 도면을 도시한다. 도 1a는 측면 횡단면도를 도시하고; 도 1b는 상면 횡단면도를 도시하고; 도 1c는 정면 횡단면도를 도시한다.

도 2a 내지 도 2g는 분산 관, 및 분산 관을 위한 홀의 바람직한 배열을 도시한다. 도 2a는 분산 관의 측면도를 도시한다. 도 2b는 특정의 홀의 구성을 가지는 분산 관의 측면도를 도시한다. 도 2c는 홀들이 드릴 가공되는 각도를 보여주는, 분산 관의 반경방향 횡단면을 도시한다. 도 2d는 8개의 홀의 행의 위치와 함께 분산 관의 측면도를 도시한다. 도 2e는, 도 2d의 홀이 드릴 가공되는 각도를 보여주는, 분산 관의 반경방향 횡단면을 도시한다. 도 2f는 10개의 홀의 행의 위치와 함께 분산 관의 측면도를 도시한다. 도 2g는, 도 2f의 홀이 드릴 가공되는 각도를 보여주는, 분산 관의 반경방향 횡단면을 도시한다.

도 3은 활성화 용액을 위한 탈착 가능한 유지 용기 또는 깔때기, 및 깔때기를 분산 관에 연결하는 밸브를 도시한다.

도 4a 내지 도 4c는 교반기의 도면을 도시한다. 도 4a는 교반기의 측면 횡단면도를 도시한다. 도 4b는 교반기 및 블레이드의 위에서 본 사시도이다. 도 4c는 도 4b의 허브 및 블레이드의 근접도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0020] 배양 매체로부터 분자를 격리 및 정제하기 위한 디바이스가 약물 제조와 일체화되어 있다. 많은 약물은, 배양에서 성장되고 이어서 반드시 매체로부터 정제되고 추출되는, 제조합 단백질을 포함한다. 이러한 화합물의 정제는 시약 및 재료, 그리고 특별한 장비의 정밀한 제어를 요구한다. 이러한 재료의 준비 및 이용의 복잡성으로 인해서, 디바이스는 더 효율적으로, 정확하게, 그리고 비용-효과적인 방식으로 약물을 추출하기 위해서 정제 매트릭스를 생성할 필요가 있다. 그러한 디바이스는, 다양한 질병을 치료하는데 필요한 제조합 단백질의 이용 가능성을 개선한다.

[0021] 많은 약물은, 환자에게 도입될 때 희망하는 생화학적 응답을 전달하는 제조합 단백질을 포함한다. 예를 들어, RECOMBINATE™ 및 ADVATE®와 같은 혈우병 약물은, 혈우병 환자의 혈액 응고를 개선하여 출혈 에피소드를 제어 및 방지하는, 정맥 주입 가능한 팩터 VIII 분자이다. 이러한 약물을 이용한 치료는, 팩터 VIII의 혈장 레벨을 증가시켜 해당 환자의 지혈 결함을 일시적으로 교정함으로써, 유효 투여 기간에 걸쳐 응고 시간을 정상화시킨다. 팩터 VIII 대체 약물이 일반적인 출혈의 방지 및 감소를 위해서 사용될 수 있거나, 그러한 약물이 수술 이전, 도중, 및 이후에 투약되어 혈액 응고를 관리할 수 있다. 그러한 치료의 목적은 혈장 팩터 VIII

활동도 레벨을 희망 레벨 이상에서 유지하는 것이다. 예를 들어, 초기 관절혈증, 적은 근육 출혈, 또는 적은 구강 출혈 에피소드와 같은 사소한 출혈 에피소드에서, 정상 팩터 VIII 레벨의 약 20 내지 40%에 도달하도록 투여량을 투약하는 것이 바람직할 수 있다. 근육 출혈, 구강 공동 내로의 출혈, 명백한 관절혈증, 및 알려진 외상과 같은 중간 출혈에서, 정상 팩터 VIII 활동도의 30 내지 60%가 요구될 수 있다. 심각한 위장 출혈, 두개 내, 복부 내 또는 흉강 내 출혈, 중앙 신경계 출혈, 후두 또는 후복막 공간 또는 장요근 외피 내의 출혈, 골절 또는 두부 외상과 같은, 큰 출혈을 치료하기 위해서, 팩터 VIII 레벨의 60 내지 100%가 요구될 수 있다.

[0022] RECOMBINATE™, ADVATE®, ADYNOVATE®, HEMOFIL®, 및 OBIZUR®는, 지혈을 달성하기 위해서 환자의 부족한 팩터 VIII를 일시적으로 대체하기 위해서 이용될 수 있는 재조합 팩터 VIII 분자의 예이다. 예를 들어, ADVATE®는 유전학적으로 조작된 중국 햄스터 난소 세포 라인에 의해서 합성된 2,332개의 아미노산으로 구성된, 정제된 당단백질이다. ADYNOVATE®는, 생리적 팩터 VIII 간극 수용체(LRP1)에 대한 결합을 감소시키고 연장된 말단 반감기(terminal half-life)를 나타내는, 폴리에틸렌 글리콜의 하나 이상의 분자와 공유적으로 공액 결합된(covalently conjugated), 정제된 ADVATE® 분자이다. OBIZUR®는 돼지 팩터 VIII의 재조합 유사체이다. 자연 발생 돼지 팩터 VIII에 존재하는 B-도메인은 24 아미노산 연결체와 대체된다. 활성화되면, 결과적인 약물은 내생적 인간 팩터 VIII와 유사한 활동도를 갖는다.

[0023] 이러한 약물 - 그리고 재조합 단백질을 포함하는 다른 약물 - 을 제조하기 위해서, 분자가 배양 매체로부터 정제되어야 한다. 일반적으로, 재조합 세포 라인은 팩터 VIII 단백질을 나타내고, 이를 세포 배양 매체 내로 분비한다. 이어서, 분자가 배양 매체로부터 정제된다. 정제 프로세스는 매체를 하나 이상의 면역친화성 크로마토그래피 컬럼에 도입하는 단계를 포함하고, 여기에서, 수지에 대한 단일클론성 항체의 부동화에 의해서 제조되는, 정제 매트릭스가 팩터 VIII를 선택적으로 격리시킨다. 그러한 방법은 또한 하나 이상의 여과 단계를 포함할 수 있다. 예를 들어, HEMOFIL®는, 팩터 VIII에 대한 쥐 단일클론성 항체를 이용한 면역친화성 크로마토그래피에 의해서 혼합(pooled) 인간 혈장으로부터 격리된, 그리고 이어서 추가적인 정제를 위한 이온 교환 크로마토그래피 단계를 거친 팩터 VIII 단백질이다.

[0024] 단일클론성 항체는 팩터 VIII 및 다른 목표 분자를 캡처하는데 있어서 특히 유용하다. 목표 분자를 선택적으로 정제하는 정제 매트릭스는, 항체를 수지에 커플링시키는 것에 의해서 만들어진다. 수지를 제조하는 것 그리고 항체를 커플링시키는 것이 어려운데, 이는, 화학반응의 사소한 변화가 결합 프로세스에 그리고 결과적인 정제 매트릭스에 영향을 미치기 때문이다. 본원에서 개시된 디바이스는 수지 비드에 대한 항체의 개선된 결합을 제공한다. 더 높은 효율 및 긴 수명을 가지는 항체-수지 복합체를 생성하도록, 수지 커플링 프로세스의 화학반응이 제어된다. 적절한 제조 및 취급으로, 수지는 몇 년 동안 지속될 수 있고 대체가 필요할 때까지 수백 번 재사용될 수 있다. 수지 비드가 리터당 수만 달러의 가격일 수 있기 때문에, 불필요하게 수지의 양을 폐기하지 않으면서 오래-지속되는 항체-수지 복합체를 생성하기 위한 신뢰 가능한 프로세스를 가지는 것이 제조업자에게 중요하다.

[0025] 전술한 바와 같이, 화학반응에서의 작은 편차가 수지 제품의 기능을 감소시킬 수 있다. 수지는, 균질한 제품의 대량 생산을 달성하기 위해서, 신속하고 정밀하게 제조되어야 한다. 개시된 디바이스는, 반복 가능하고 표준화된 제품을 산출하는 신속한 균질 반응을 가능하게 한다. 그러한 디바이스가 없는 경우에, 결과적인 수지 제품은, 수지에서 침출 문제를 생성하는 미세-이질성을 가질 수 있다. 수지가 균질하게 활성화되지 않는 경우에, 비드들이 서로 가교-결합되어, 수지 내에서 덩어리를 생성할 수 있다. 수지 내의 덩어리 형성 및 이질성은 하류의 정제 프로토콜에서 팩킹(packing) 문제를 초래한다. 예를 들어, 함께 뭉친 수지는 통과 유체의 적은 침투를 유발할 수 있고, 컬럼 내에서 압력 축적을 유발할 수 있다. 이질적인 수지는 목표 분자의 비효율적인 캡처를 초래할 수 있거나, 이는 단순히 사용되지 못할 수 있고 폐기될 필요가 있을 수 있다.

[0026] 개시된 디바이스는 또한 프로세싱 단계 중에 비드가 과도하게 파괴되는 것을 방지한다. 약 2 퍼센트 초과 비드가 파괴되는 경우에, 결과적인 수지가 너무 조밀할 수 있고 컬럼 내로 로딩될 때 과다-압축이 될 수 있다. 그에 따라, 파괴된 비드는 컬럼 내에서 배압을 유발한다. 제조 중에 너무 많은 수지가 파괴되는 경우에, 그 수지의 일부 또는 전부를 폐기하여야 할 필요가 있을 수 있고, 이는 과다 폐기물 및 비용을 초래할 수 있다. 본원에서 개시된 디바이스는 그러한 문제 및 다른 문제를 방지한다. 디바이스는 수지 제조를 최적화하여, 하류의 컬럼에서 수지의 적절한 팩킹을 보장한다.

[0027] 개선된 컬럼 유체 역학에 더하여, 개시된 장치를 이용하여 수지를 커플링시키는 것에서 부가적인 이점이 있다. 장치는, 종래 기술의 디바이스보다 더 큰 수지의 재현성을 가능하게 한다. 결과적인 수지는 리간드 밀도, 비드 가교-결합, 및 비드 무결성과 관련하여 더 균일하다. 이는 더 큰 안정성, 제조 프로세스에서의 변동의 감소,

및 더 큰 수득을 제공한다. 결과적으로 더 긴 가용 수명을 갖는 제품이 초래되고, 이는, 항체/리간드 침출이 없이 그리고 결합능의 손실이 없이, 더 많은 수의 생산 사이클 동안 이용될 수 있다. 이는 효소 또는 다른 생물학적 제품의 생산비를 감소시킨다.

- [0028] 디바이스는 많은 유형의 커플링 화학반응과 함께 이용될 수 있다. 항체의 경우, 커플링은 종종 아민-기반이다. 항체는 20 내지 30개의 아미노기 및 다른 20 내지 30개의 카르복실기를 가질 수 있다. 본원에서 개시된 커플링 기술은 임의의 항체를 위해서 또는 심지어 더 작은 분자 커플링을 위해서 이용될 수 있다. 일부 실시예에서, 단일클론성 항체가 커플링되고, 다른 실시예에서, 다클론성 항체가 커플링되어 수지를 형성한다. 그러한 기술은 또한 펩타이드를 커플링시키기 위해서 이용될 수 있다. 어떠한 경우에도, 그러한 기술의 목적은 수지 비드에 대한 분자(항체, 펩타이드, 또는 기타)의 균질한 커플링을 달성하는 것이다. 분자들을 수지에 균질하게 결합시키는 것은, 예측 가능한 침출 거동 및 더 긴 이용 가능성을 갖는 결과적인 제품을 제공한다.
- [0029] 첨부 도면에 도시된 커플링 디바이스는 수지를 신속하고 효과적으로 활성화시키고 항체를 커플링시켜, 폐기물을 감소시키고, 커플링 효율 및 약물 회수를 개선한다. 전술한 바와 같이, 디바이스는 일반적으로 혼합 용기, 분산 관, 그리고 교반기 및 스크린을 포함한다.
- [0030] 도 1a 내지 도 1c는 커플링 장치(100)를 도시한다. 도 1a는 측면 횡단면도를 도시하고; 도 1b는 상면 횡단면도를 도시하고; 도 1c는 정면 횡단면도를 도시한다. 장치(100)는 혼합 용기(110)를 포함하고, 혼합 용기는 이하에서 설명되는 다른 요소를 수용하고 다양한 혼합 단계를 위한 혼합 컨테이너로서의 역할을 한다. 용기(110)는 다수의 유입구(120) 및 배출구(130)를 갖는다. 수지 비드가 삽입될 수 있는 용기(110)의 상단부에, 경첩형 출입구(150)가 위치된다. 수지 비드는, GE Healthcare Life Sciences(Marlborough, MA)로부터 입수할 수 있는 CAPTO™, CL-4B, 또는 CL-2B 비드와 같은 아가로스 비드일 수 있고 일반적으로 물 현탁체로 용기(110) 내로 삽입된다. 50 리터 이하 - 그리고 일반적으로 약 22 내지 39 리터 - 의 수지 비드가 용기(110) 내에서 한 번에 활성화될 수 있다. 용기(110)의 내측에서 비드가 스크린(310)에 의해서 지지되고, 그러한 스크린은, 수지 비드가 용기(110)의 하부 부분 내로 진행되는 것을 방지할 수 있을 정도로 충분히 작은, 약 10 내지 80 μm의 홀을 갖는 메시 재료로 제조된다. 바람직한 실시예에서, 홀은 약 30 μm이다. 활성화 및 커플링 프로세스 중에, 비드는 교반기(410)(도 4a 내지 도 4c에 도시됨)에 의해서 혼합되고, 이는 비드가 스크린 상에 정착되는 것을 방지하고 균질성을 유지하는데 도움을 준다.
- [0031] 용기는, 도 2a 내지 도 2g에서 더 구체적으로 설명되는 분산 관(210)을 포함하고, 분산 관을 통해서 CNBr 및 아세트니트릴의 활성화 용액이 비드에 첨가된다. 분산 관(210)은, 수지 뭉침을 방지하기 위해서 교반기(410)가 계속 이동되는 동안, 활성화 용액을 비드 위에 균일하게 분배한다. 이하에서 설명되는 바와 같이, 교반기(410)는, 비드에 상승력을 제공하는데 그리고 비드를 계속 이동시키는데 충분한, 그러나 비드의 파괴를 방지할 수 있을 정도로 느린 속력으로 회전된다. 활성화 후에, 활성화 용액은 배액 주둥이(130)를 통해서 배액될 수 있고, 그에 따라 활성화된 비드를 스크린(310) 상에 남길 수 있다.
- [0032] 다양한 유체 및 버퍼가, 희망에 따라, 분산 관(210), 유입구(120) 또는 출입구(150)를 통해서 용기(110) 내로 삽입될 수 있다. 활성화 프로세스, 세척 프로세스, 및 커플링 프로세스를 위해서, 상이한 용액들이 요구된다. 예시적인 수지 커플링 프로세스는, 출입구(150)를 통해서 용기(110) 내로 주입되는 수지로 시작된다. 수지는 물 현탁체 내의 수지 비드를 포함한다. 교반기(410)가 수지를 혼합하여 비드가 스크린(310) 위에서 계속 이동되게 하는 동안, CNBr 및 아세트니트릴의 활성화 용액이 분산 관(210)을 통해서 수지 위로 분산된다. 적은 양의 아세트니트릴을 이용하여 분산 관 내의 활성화 용액을 방출(chase)할 수 있다. 비드는 수지 활성화를 위해서 5분 이하 동안 활성화 용액으로 세척될 수 있다. 바람직하게, 활성화는 3분 미만에 발생된다.
- [0033] 항체를 비드에 커플링시키기 위해서, 커플링 용액 내에 부유된 항체와 함께, 다양한 버퍼 및 커플링 용액이 첨가될 수 있다. 활성화 중에서도와 같이, 모든 세척 및 커플링 단계에서, 교반기가 회전되어 비드의 일정한 이동을 유지하며, 그에 따라 비드가 스크린에 고착되는 것을 방지하고, 다양한 유체 및 버퍼를 균일하게 분배하고 모든 비드 표면이 접촉되게 보장한다. 세척 단계 및 다른 혼합 단계가 연속적일 수 있고, 이때 유체가 유입구 내로 그리고 배출구 외부로 연속적으로 유동될 수 있고, 또는 용기가 충전될 수 있고 혼합이, 몇 초로부터 몇 분까지, 또는 심지어 몇 시간까지, 설정된 기간 동안 실시될 수 있다. 내용물이 혼합 중에 희망 온도에서 배양될 수 있도록, 용기(110)는 또한 온도 제어를 포함한다. 장치(100)는 또한, 동작 중에 용기 내측의 조건을 모니터링하기 위해서, 하나 이상의 탐침(190), 예를 들어 온도 게이지 및/또는 pH 탐침을 포함할 수 있다.
- [0034] 스크린(310)은 제거 가능하도록 설계되고 일련의 클램프(330)에 의해서 제 위치에서 유지된다. 장치가 피벗 상에 장착될 수 있도록, 용기(110)가 트러니언(trunnion)(175)을 또한 포함한다. 이는 장치가 경사지게 할 수 있

고, 그에 따라 사용자는 필요에 따라 용기를 충전하거나 그 외부로 액체를 따라 낼 수 있다. 경사 기능은 프로세스된 수지를, 수작업으로 떠 내는 대신, 출입구 외부로 따라 낼 수 있게 하고, 이는 비드 및 스크린에 가해지는 부가적인 응력을 방지한다. 혼합 중에 트러니언이 정지적으로 유지되도록, 트러니언(175)은 사용 중에 제 위치에서 잠금될 수 있다. 용기 내의 비드의 적절한 이동을 달성하기 위해서 그리고 비드가 다양한 유체 혼합물에 균일하게 노출되도록 보장하기 위해서, 스크린(310) 및 교반기(410)가 혼합 중에 실질적으로 수평으로 유지되는 것이 중요하다.

[0035] 도 2a 내지 도 2g는 분산 관(210)을 도시한다. 도 2a에 도시된 바와 같이, 분산 관(210)은 일반적으로, 긴 수평 부분(230), 수직 부분(220), 및 엘보(240)를 갖는 중공형 파이프이다. 수평 부분(230)은 일반적으로 규칙적인 또는 준(semi)-규칙적인 간격의 홀들이 천공된 금속 배관의 길이부이다. 수평 부분(230)의 길이부는 용기에 걸쳐서 연장된다. 도시된 실시예에서, 분산 관(210)은 복수의 홀(231)을 포함하고, 홀의 위치는 (도 2b, 도 2d, 및 도 2f에서) 관(210)의 길이부 아래의 그 거리에 의해서 표시되어 있다. 홀(231)은 CNBr 활성화 혼합물이 통과하여 유동할 수 있게 한다. 홀들은, 함께, 활성화 혼합물을 아래쪽의 수지에 재현 가능하게 균질하게 분배하는 것을 제공한다. 분산 관(210)은, 특히 교반기(410)와 조합되어, CNBr 분배의 불균일성을 방지하고, 부정확한 커플링 화학반응 및 증가된 리간드 침출을 조래할 수 있는, 국소적인 pH 급증을 방지한다.

[0036] 분산 관(210)의 수직 부분(220)은 용기(110)의 외부로 연장되도록 구성되는 반면, 수평 부분(230)은 용기(110) 내에서 교반기(410) 및 스크린(310) 위에 배치된다. 수직 부분(220)은 유입구(225)를 포함하고, 그러한 유입구를 통해서 CNBr이 유동될 수 있고 혼합 용기(110) 내로 도입될 수 있다. 수평 부분(230)은 폐쇄 단부(235) 및 복수의 홀(231)을 갖는다. 비록 하나의 가능한 홀의 배열이 도 2b 내지 도 2g에 도시되어 있으나, 다른 유사한 홀의 배열이 또한 고려된다. 이하에서 혼합되는 수지의 충분한 피복을 달성하기 위해서, 홀들이 분산 관의 수평 부분을 따라서 분배되어야 한다.

[0037] 도 2b 및 도 2c는 수평 부분(230)의 하단 연부를 따라 드릴 가공된 3개의 홀의 위치를 도시한다. 도 2b는 분산 관의 반경방향 횡단면을 도시한다. 도시된 바와 같이, 홀들은, 수직 부분(220)의 축(229)으로부터 측정된, 11.75 인치, 15.75 인치, 및 26.50 인치에 위치된다. 도 2c는 수평 부분의 횡방향 횡단면을 도시한다. 도 2c에 도시된 바와 같이, 홀은 수평 부분 내의 하단 지점을 통해서 드릴 가공된다.

[0038] 도 2d 및 도 2e는 수평 부분(230)의 하단 연부로부터 45도의 각도로 드릴 가공된 8개의 홀의 위치를 도시한다. 도 2d는, 수직 부분(220)의 축(229)으로부터의 홀의 측정을 보여주는, 분산 관의 반경방향 횡단면을 도시한다. 도시된 바와 같이, 홀들은 3.00 인치, 4.00 인치, 6.00 인치, 8.00 인치, 19.50 인치, 21.50 인치, 23.50 인치, 및 25.00 인치에 위치된다. 도 2e는, 이러한 세트의 홀이 드릴 가공되는 각도를 나타내는, 수평 부분의 횡방향 횡단면을 도시한다.

[0039] 도 2f 및 도 2g는, (도 2d에 도시된) 8개의 홀의 세트와는 다른 분산 관(210)의 측부 상의, 45도 각도로 드릴 가공된 다른 10개의 홀의 위치를 도시한다. 도 2f는, 수직 부분(220)의 축(229)으로부터의 홀의 측정을 보여주는, 분산 관의 반경방향 횡단면을 도시한다. 도시된 바와 같이, 홀들은 2.50 인치, 3.50 인치, 4.50 인치, 6.50 인치, 9.50 인치, 11.50 인치, 21.00 인치, 23.00 인치, 24.00 인치, 및 26.00 인치에 위치된다. 도 2g는, 이러한 세트의 홀이 드릴 가공되는 각도를 나타내는, 수평 부분의 횡방향 횡단면을 도시한다.

[0040] 도 2b 내지 도 2g에 도시된 바와 같이, 홀의 세트는 수평 부분(230)의 하단 절반부 내로 드릴 가공된 3개의 평행한 행으로 배열된다. 3개의 행의 각각은 상이한 수의 홀(231)을 가지며, 각각의 홀은 모든 다른 홀의 거리와 상이한 수평 부분(230)을 따른 거리에서 드릴 가공된다. 활성화 용액을 수지에 균일하게 분배하는 것을 보장하는데 있어서, 홀의 위치는 중요한 고려 사항이다. 이러한 홀의 배열은 염 모델링 실험(salt modeling experiment)을 기초로 최적인 것으로 확인되었다. 그러나, 다른 홀의 배열이 또한 이용될 수 있다. 정확한 홀의 수, 홀들의 서로 간의 관계, 행의 수, 홀이 드릴 가공되는 각도, 홀의 크기, 및 다른 인자가 필요에 따라 조정될 수 있다.

[0041] 분산 관을 이용하여 활성화 혼합물을 첨가하는 것은 수작업적인 첨가보다 우수한데, 이는 결과적인 수지 생산에서 더 큰 균일성을 달성하기 때문이다. 전술한 바와 같이, 개시된 커플링 장치에 의해서 제조된 수지는, 다른 방법을 이용하여 생성된 수지와 비교하여, 컬럼 내에서 상이하게 기능한다. 분산 관을 이용하는 것은 백 번 이상의 사이클을 수지 비드의 가용 수명에 추가할 수 있다.

[0042] 분산 관의 다른 중요한 이점은, 매우 짧은 기간에 활성화 혼합물을 균질하게 분배할 수 있게 한다는 것이다. CNBr을 이용한 수지의 활성화는, 가교-결합의 발생을 감소시키기 위해서, 신속하게 이루어질 필요가 있다. 대

부분의 경우에, 이는 5분 미만에 완료되어야 하고, 이상적으로 이는 약 3분 미만에 완료되어야 한다. 활성화 프로세스가 3분보다 상당히 더 길게 실시되는 경우에, 커플링 효율이 감소되어 과도한 가교-결합을 초래한다. 분산 관은, 특히 후술되는 교반기 시스템과 함께, 활성화 프로세스가 신속히 발생될 수 있게 하여 높은 품질의 수지를 생산할 수 있게 한다. CNBr이 약 40 리터 이하의 수지에 첨가될 수 있고, 혼합될 수 있으며, 3분 미만 에, 그리고 일부 경우에 2분 미만에 제거될 수 있다.

[0043] 도 3은, 장치 내에 포함될 수 있는, CNBr-아세토니트릴 용액을 위한 탈착 가능한 유지 용기 또는 깔때기(290)를 도시한다. 깔때기(290)의 배출구(291)는 분산 관의 수직 부분(220) 상의 유입구(225)와 유체 연통된다. 밸브(280)는 깔때기(290)로부터 분산 관(210) 내로의 유체의 유동을 제어한다. 사용 시에, 탈착 가능한 유지 용기(290)가 CNBr 용액으로 충전되고 분산 관에 부착된다. 깔때기(290)의 제거 가능성은 CNBr이 더 안전하게 취급될 수 있게 하고 유출을 방지한다. CNBr-아세토니트릴 혼합물은 부식성이고 위험하며, 그에 따라 제거 가능 깔때기는, 커플링 장치에 연결되기 전에, 혼합물이 후드 아래에서 혼합될 수 있게 한다.

[0044] 활성화를 위해서 수지가 준비되면, 밸브(280)가 개방되어 용액이 분산 관(210)을 통해서 그리고 수지 위로 이동될 수 있게 한다. 분산에는 전형적으로 2 내지 4분이 소요된다. 용액은 적은 양의 아세토니트릴 용액으로 방출될 수 있고, 그에 따라 잔류 CNBr을 깔때기(290) 및 관(210)의 외부로 행균할 수 있다.

[0045] 용기(110) 내부에서, 수지 비드는 수지 비드를 스크린(310)을 가로질러 계속 이동시키는 교반기(410)에 의해 저어진다. 교반기의 측면 횡단면도가 도 4a에 도시되어 있다. 교반기는, 젓기 모터(stirring motor)(미도시)에 부착된 수직 막대인 회전자(420)를 포함한다. 교반기는 또한 허브(445)에서 막대에 부착된 블레이드(440)를 포함한다. 도 4a에서, 블레이드(440)는 횡단면으로 도시되어 있다. 교반기를 위에서부터 아래로 본 사시도가 도 4b에 도시되어 있고, 블레이드(440) 구성에 관한 보다 명확한 도면을 제공한다. 블레이드(440)가 회전되어 수지 비드를 스크린(310)으로부터 상승시킨다. 교반기는 또한, 블레이드(440)의 최외측 지점을 둘러싸는 원형 프레임(450)을 포함할 수 있고, 교반기는 부가적인 지지대를 위한 스포크(460)를 더 포함할 수 있다. 도 4a를 다시 참조하면, 프레임(450)의 하단 연부는, 교반기(410)의 아래에 배치된, 스크린(미도시)과 평행하도록 구성된다.

[0046] 도 4a에 도시된 블레이드(440)는 3.0 인치의 폭, 0.25 인치의 두께, 및 28.0 인치의 길이를 갖는다. 그러나, 다른 용도에서 블레이드(440)의 치수가 다를 수 있다. 일부 실시예에서, 교반기(410)는 2개 초과 블레이드를 포함할 수 있다. 도시된 바와 같이, 각각의 블레이드(440)는 수평에 대해서 40도의 피치를 갖는다. 다른 실시예에서, 블레이드는, 10도, 20도, 30도, 50도, 60도, 70도, 80도, 및 기타와 같은, 다른 피치 각도를 가질 수 있다. 블레이드(440)는 도 4c에 도시된 바와 같이 둥근 연부(449)를 가질 수 있고, 이는 비드 파괴에 도움을 준다. 교반기는 스테인레스 강 또는 다른 탄성 재료로 제조될 수 있다. 도 4a 내지 도 4c에 도시된 실시예에서, 교반기는 시계 방향으로 회전되도록 구성되고, 그에 따라 블레이드는 (유체를 스크린 내로 아래쪽으로 미는 대신) 용기 내의 유체에서 상향 상승력을 생성한다.

[0047] 교반기의 회전 속력은, 사용되는 수지 비드의 유형 및 필요한 혼합의 양을 기초로 조정될 수 있다. 교반기는, 비드를 부유시켜 유지하기 위한 그리고 스크린을 가로질러 지속적으로 이동시키기 위한, 그리고 비드의 파괴 또는 분쇄를 방지하면서 비드를 신속하게 혼합하기 위한, 충분한 상승력을 제공하여야 한다. 상이한 비드들이 상이한 속도들로 정착되기 때문에, 교반기 속력은 상이한 비드의 유형들을 고려하여 조정될 수 있어야 한다. 예를 들어, CAPTO™ 비드는 CL-4B 또는 CL-2B 비드보다 더 빨리 정착된다. 다양한 실시예에서, 교반기는 60 RPM 이하로 회전될 수 있다. 바람직한 교반기 속력은 35 RPM이다. 다른 바람직한 교반기 속력은 20 RPM이다. 그러한 속력은 비드의 유형, 액체의 유형, 액체의 온도, 및 배양 시간의 길이를 기초로 결정될 수 있다. 이러한 인자를 기초로, 교반기는 수지 활성화 프로세스 중에 그리고 항체 커플링 프로세스 중에 수지를 완전히 혼합하도록 설계된다. 이는, 커플링 프로세스 중에, 화학적 분산을 위한 정확한 혼합을 가능하게 하고 수지 비드 분쇄/파괴를 방지한다. 교반기는 또한 수지 회수율을 높이는데, 이는, 수지가 스크린에 고착되는 것을 교반기가 방지하기 때문이다.

[0048] 일부 실시예에서, 교반기의 2개의 블레이드(440)가 반대 방향으로 각도를 이루어, 용기 내의 용액 내의 동적인 수지 교반 및 부유를 제공할 수 있다. 다시 말해서, 하나의 블레이드가 아래쪽으로 경사져서 수지가 아래쪽으로 스크린에 부딪히게 하는 반면, 다른 블레이드는 위쪽으로 경사져서 상승력을 생성한다. 다른 실시예에서, 교반기 블레이드 모두가 동일 방향으로 경사진다. 교반기는, 교반기가 회전될 때 수지 슬러리의 적절한 혼합 및 부유를 유발하는 유동 패턴을 생성하도록 구성된다.

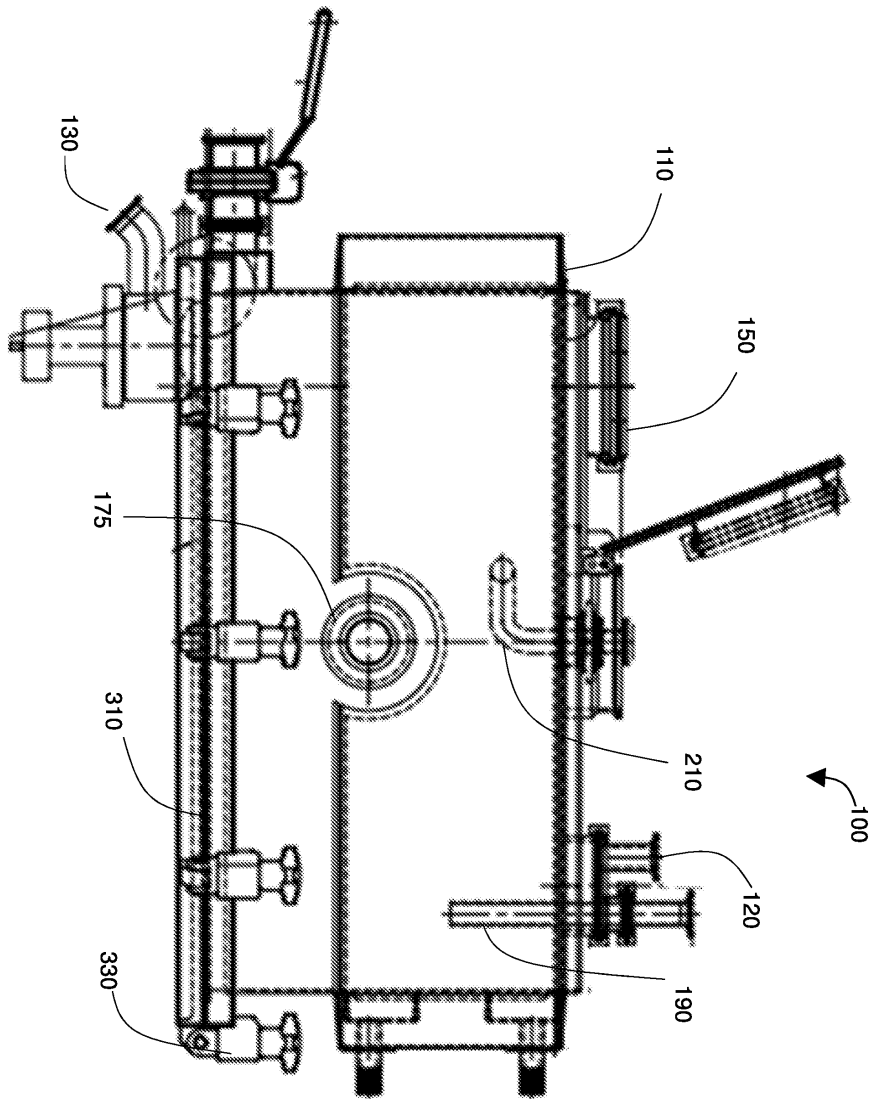
[0049] 수지 활성화 프로세스에서, 비드가 이동되는 동안, 전술한 분산 관(210)을 이용하여 활성화 혼합물을 비드 상으로 분배할 수 있다. 다양한 방법에 따라, 버퍼 및 다른 유체가 활성화, 세척, 및 커플링 프로세스 중에 용기를

통해서 펌핑될 수 있다. 교반기(410)가 비드를 스크린 상에서 계속 이동시키는 동안, 유체는 스크린을 통과하고 용기의 하단부에 위치되는 배출구를 통해서 배액된다.

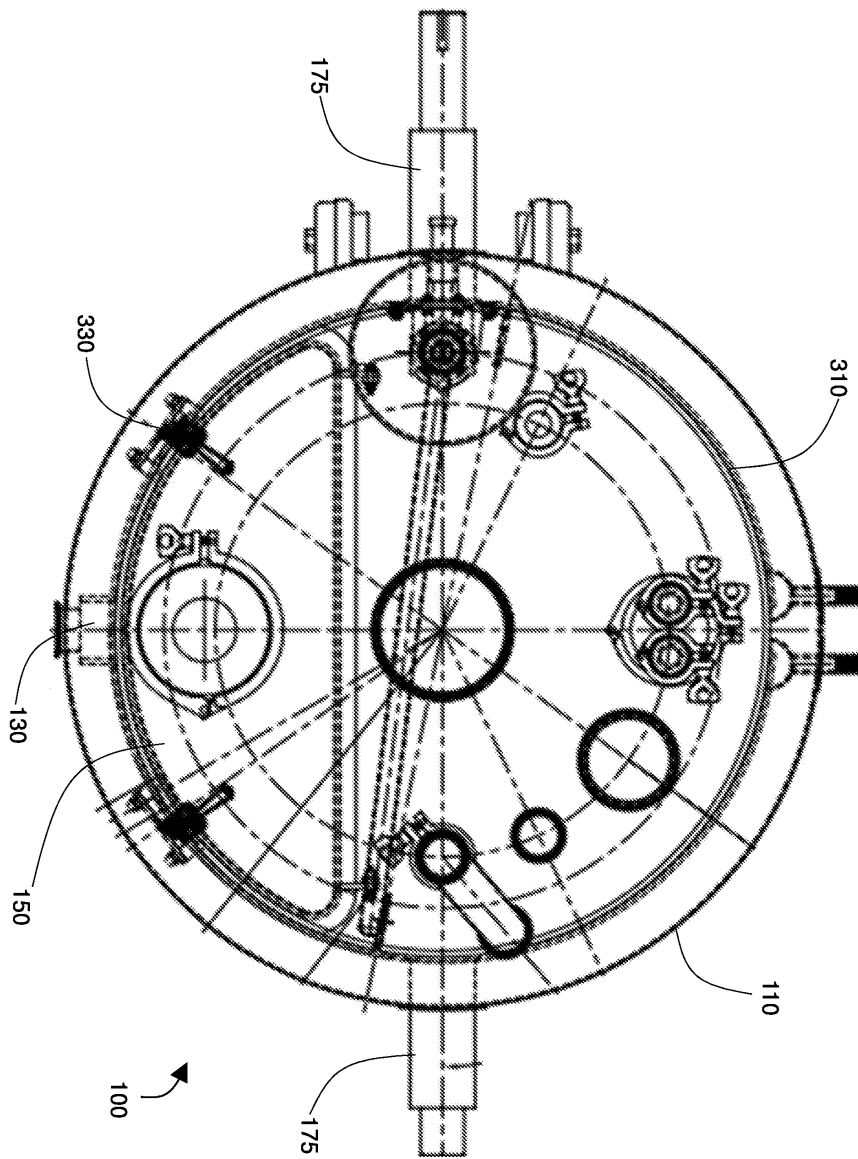
- [0050] 도 1a 내지 도 1c에 도시된 스크린은 30 인치의 직경 및 30 μm 의 메시 소공 크기를 가지며, 그에 따라, 커플링 프로세스 중에, 수지를 보유하고 상이한 용액들 및 버퍼들이 메시를 통해서 여과될 수 있게 한다. 메시는 약 5 μm 정도로 작은 그리고 최대 약 80 μm 까지의 소공 크기를 가질 수 있다. 어떠한 경우에도, 소공 크기는, 비드가 스크린을 통과할 수 없게 할 정도로 충분히 작아야 한다. 스크린이 단일 메시 스크린일 수 있거나, 스크린이 2개, 3개, 또는 그 초과와 소결된 층(sintered layer)일 수 있다. G. BOPP USA, INC.(Wappingers Falls, NY)가 공급하는, Topmesh TM3-BM 30가 본 발명과 양립될 수 있는 메시이다.
- [0051] 실시예에서, 상단 층은, 지지를 위해서 0.850 mm 정사각형 메시 및 2.0 mm 정사각형 메시로 소결된, 30 μm 여과 메시이다. 스크린은 스테인레스 강의 30 인치 프레임에 용접된다. 스크린은, 스크린으로부터 제거될 수 있는 가스켓에 의해서 용기 내의 제 위치에서 유지된다.
- [0052] 전술한 바와 같이, 교반기는, 수지가 파괴되는 것을 방지하면서, 수지를 충분히 혼합하도록 설계되고, 수지의 파괴는 스크린을 막을 수 있고 효율적인 수지 회수를 방해할 수 있다. 그러나, 스크린을 청소할 수 있도록 또는 정상적인 마모 및 파열 이후에 대체할 수 있도록, 스크린은 제거 가능하다. 커플링 활성화 프로세스는, 분단위의, 신속한 버퍼 교환을 요구하고, 스크린의 막힘은 더 느린 버퍼 교환 속도를 초래할 것이고, 그에 따라 프로세스를 적절치 않게 만들 것이고 잠재적으로 로트(lot)가 불량이 되게 할 것이다.
- [0053] 스크린은 탄성적이고 파열 또는 파괴에 대해서 내성을 가지며, 그에 따라 수지가 스크린을 통해서 빠져 나가는 것을 방지한다. 또한, 스크린 구조는, 수지의 중량 하에서 휘어지거나 굽혀지지 않을 정도로 충분히 강하다. 휘어짐은 불균질한 혼합 또는 장치를 통한 양호하지 못한 버퍼 유동을 초래할 수 있고, 메시의 막힘을 유발할 수 있다. 휘어짐은 또한, 스크린의 레벨 아래로 짧은 거리에 위치되는, 용기(110)를 위한 방출 밸브(130)를 막을 수 있다. 일부 실시예에서, 강성도 및 내구성 부가를 위해서, 천공된 지지 판이 층들 사이에 배치될 수 있다. 부가적으로 또는 대안적으로, 스크린은, 중심부를 지지하기 위해서 스크린 아래에 배치되는 스테인레스 강 지지 빔을 포함할 수 있다. 지지 구조물을 포함시키는 것은, 스크린에 걸친 비드 분배의 불균일성을 방지하는데 도움을 준다. 균일하지 못한 분배는 수지 멍침을 초래할 수 있고, 수지의 화학반응 및 침출 특성을 변경할 수 있다.
- [0054] 참조에 의한 포함
- [0055] 본 개시 내용 전반을 통해서 참조되고 인용된, 특허, 특허출원, 특허 공개, 잡지, 서적, 신문, 및 웹 콘텐츠와 같은, 다른 문헌에 대한 임의의 그리고 모든 참조 및 인용은 모든 목적을 위해서 그 전체가 본원에서 참조로 포함된다.
- [0056] 균등물
- [0057] 본 발명의 사상 및 본질적인 특성으로부터 벗어나지 않고도, 본 발명이 다른 구체적인 형태로 이용될 수 있을 것이다. 그에 따라, 전술한 실시예는 모든 측면에서, 본원에서 설명된 발명을 제한하지 않고, 예시적인 것으로 간주된다.

도면

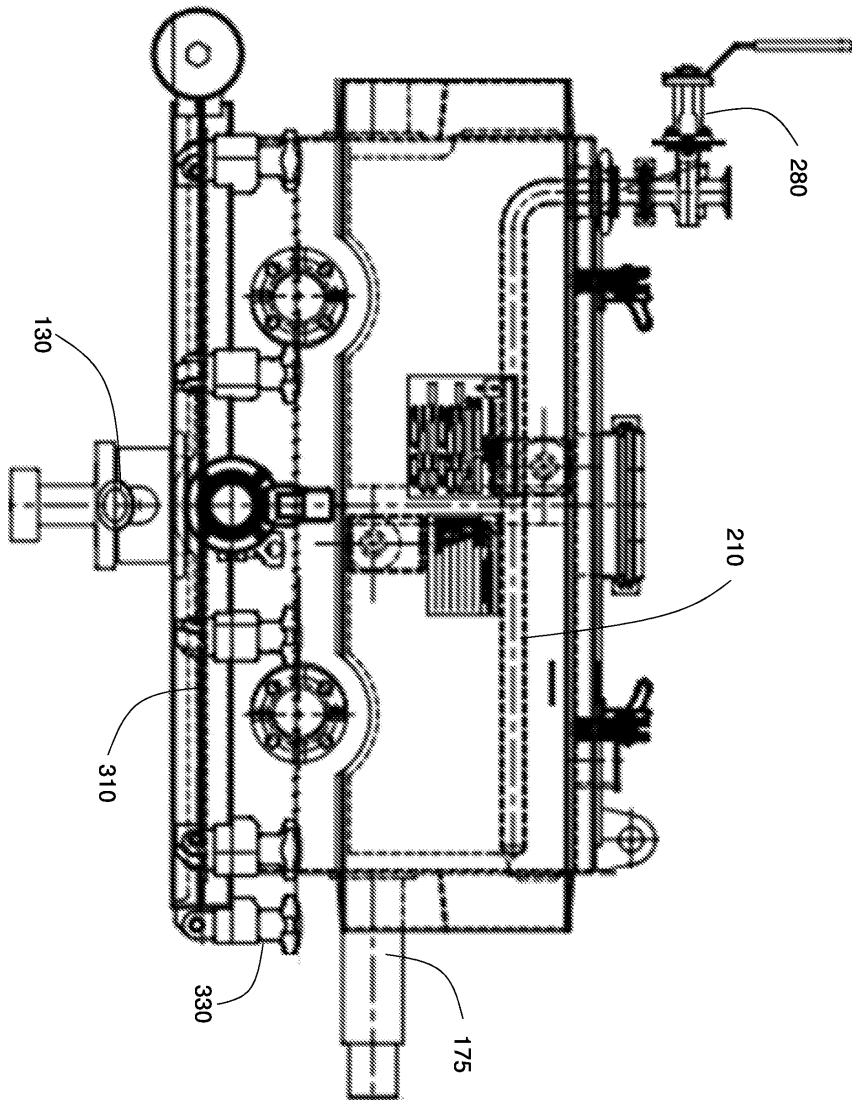
도면1a



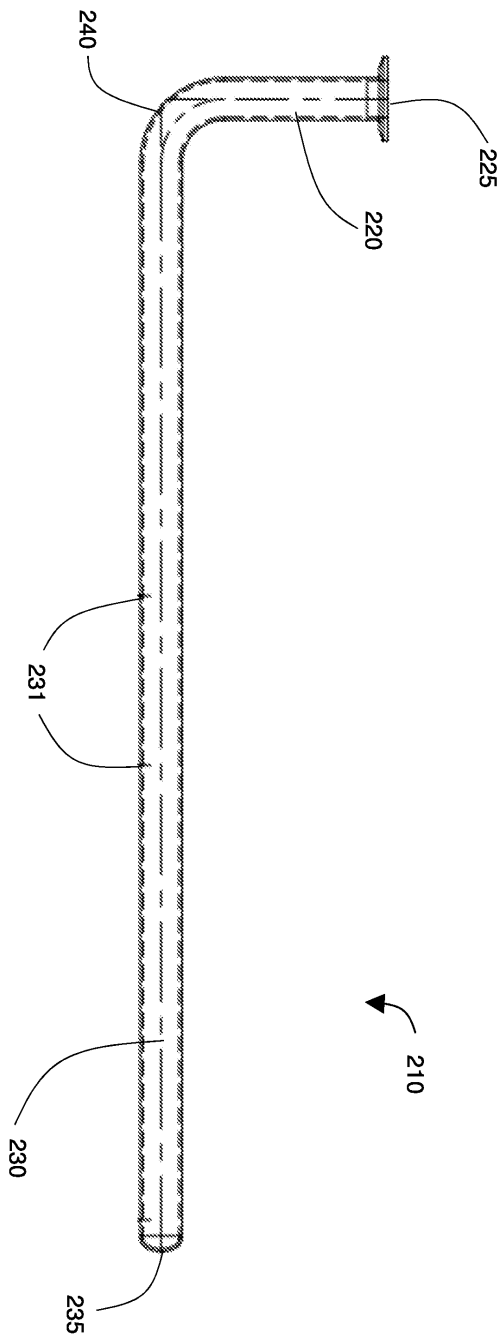
도면1b



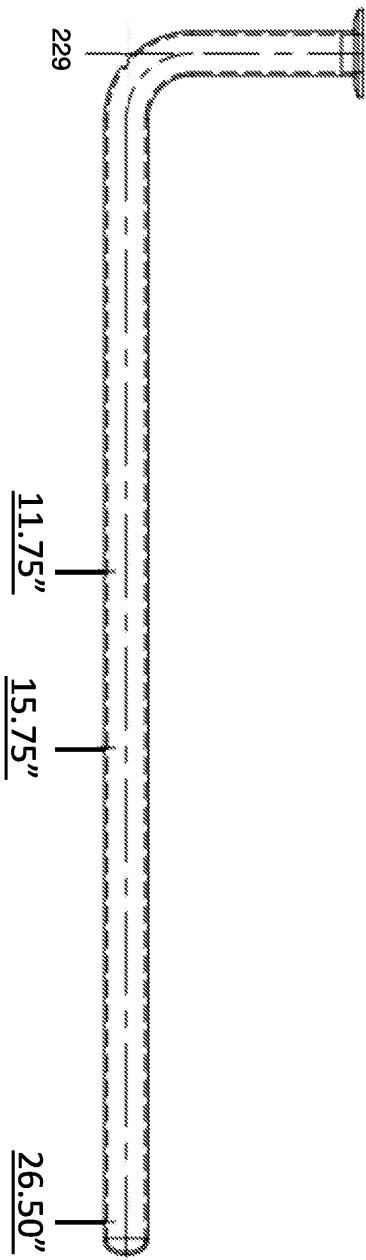
도면1c



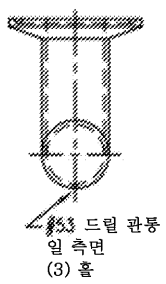
도면2a



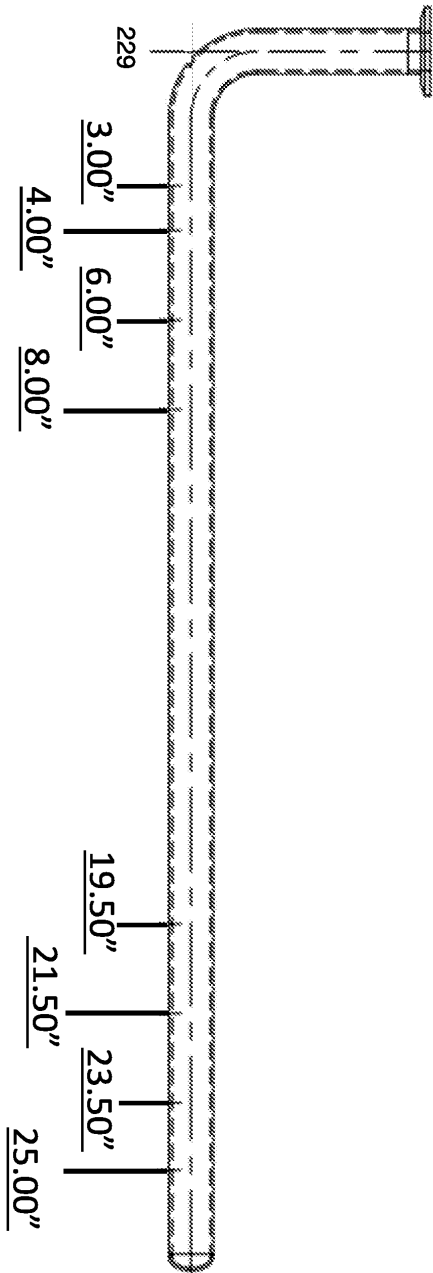
도면2b



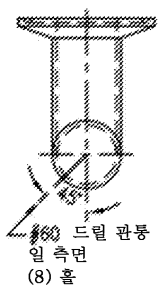
도면2c



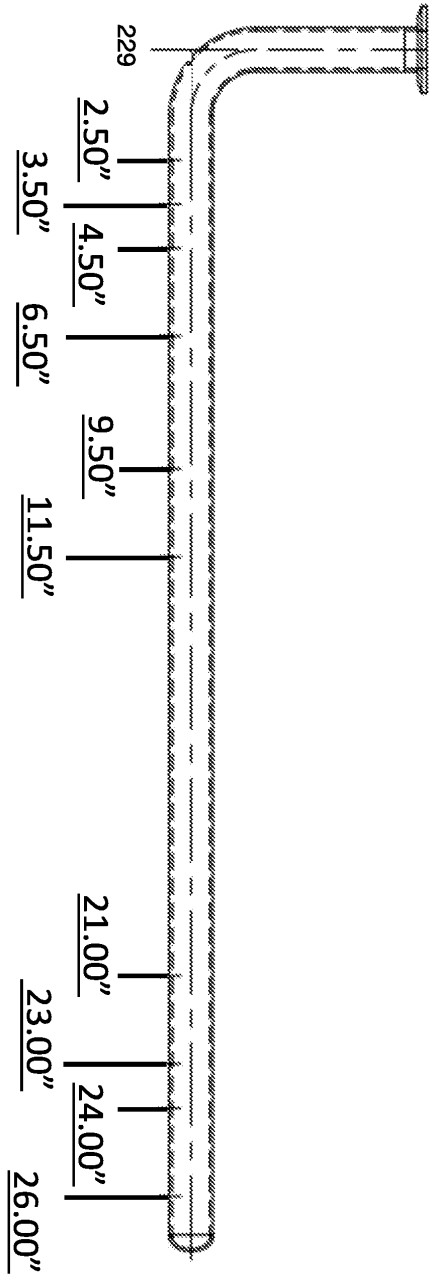
도면2d



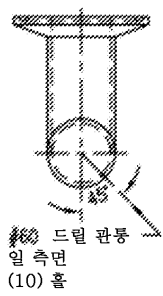
도면2e



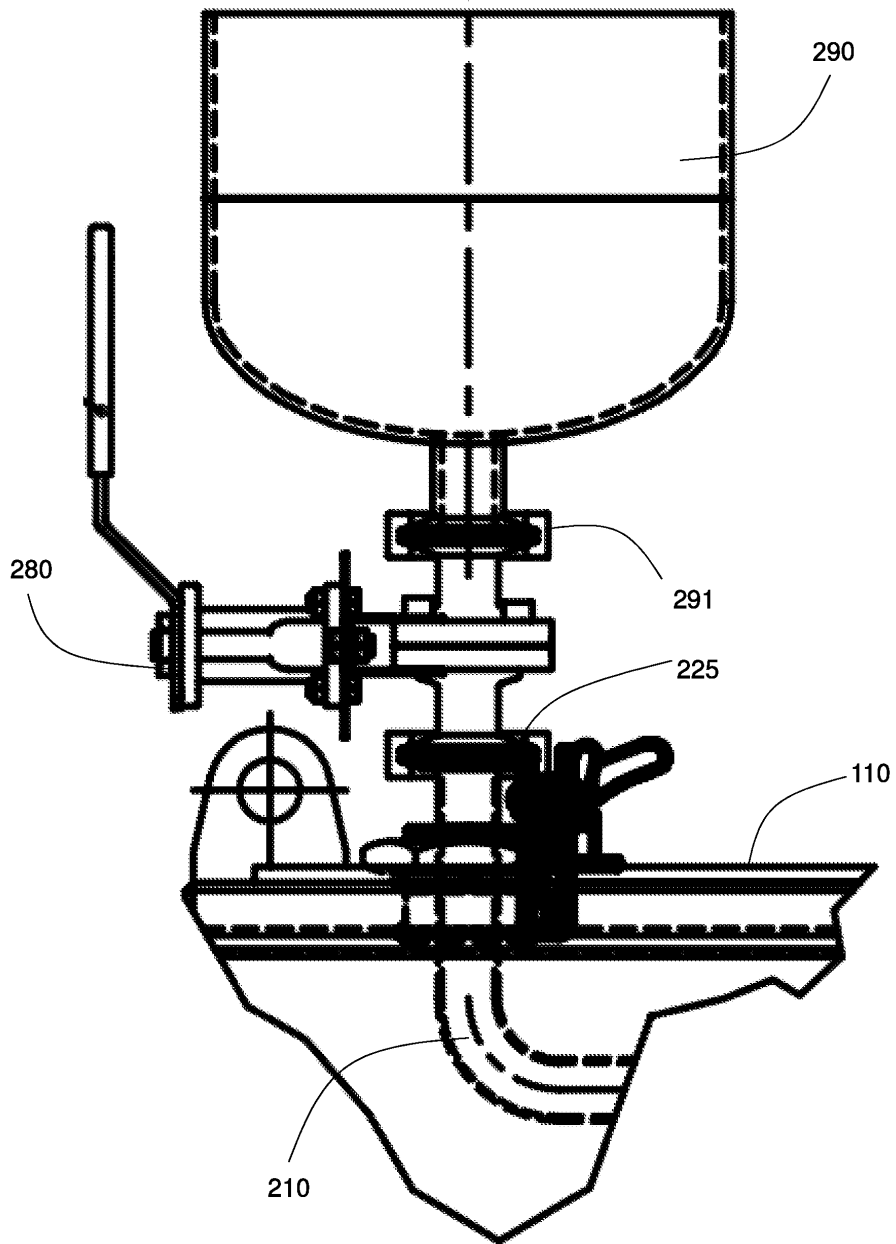
도면2f



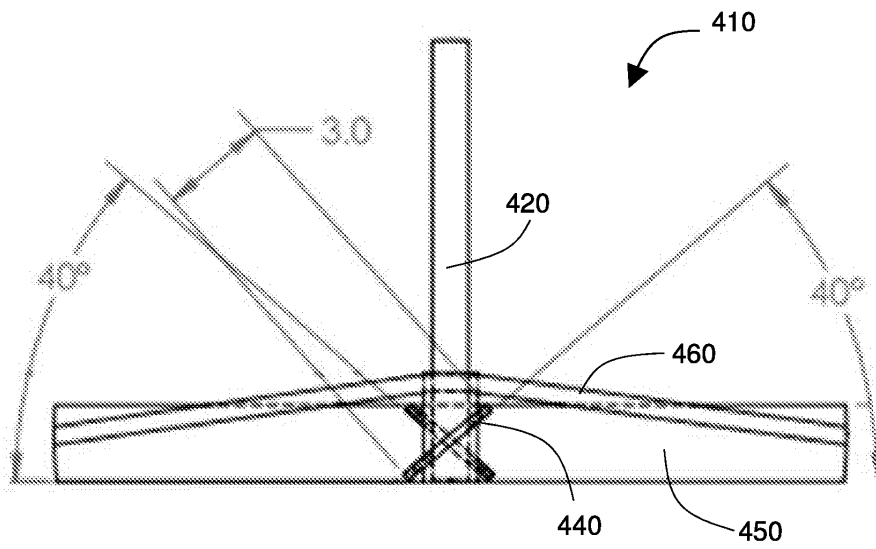
도면2g



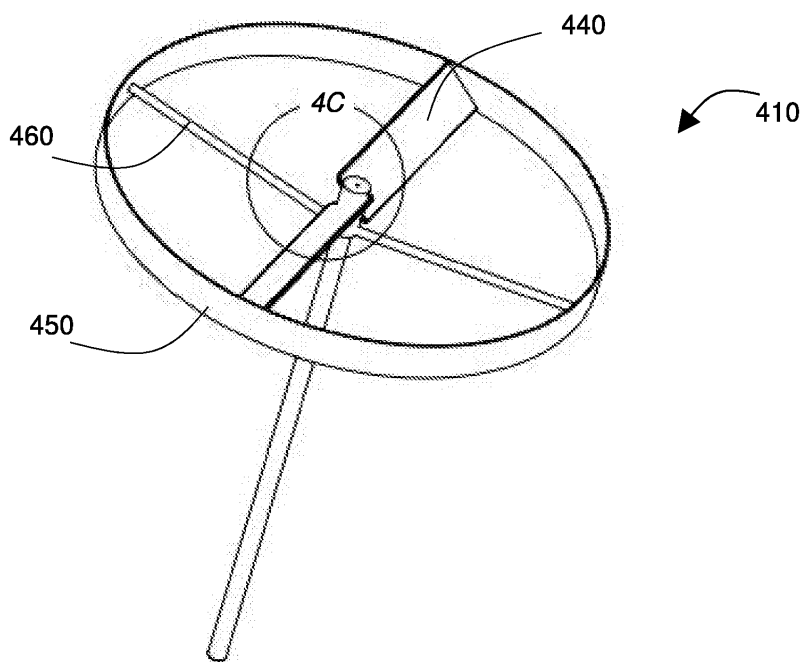
도면3



도면4a



도면4b



도면4c

