



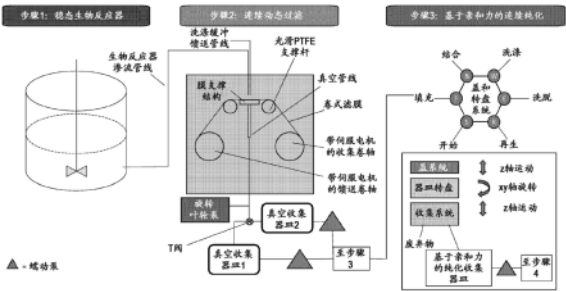
(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 116367903 B
(45) 授权公告日 2024. 10. 25

(21) 申请号 202180076318.6	(73) 专利权人 恩奎斯特技术公司
(22) 申请日 2021.09.14	地址 美国马萨诸塞州
(65) 同一申请的已公布的文献号 申请公布号 CN 116367903 A	(72) 发明人 J·克里肖内 A·埃尔森 J·R·林顿 S·S·达特瓦尼
(43) 申请公布日 2023.06.30	(74) 专利代理机构 北京市金杜律师事务所 11256
(30) 优先权数据 63/077,766 2020.09.14 US 63/154,108 2021.02.26 US 63/154,109 2021.02.26 US	专利代理师 李辉
(85) PCT国际申请进入国家阶段日 2023.05.11	(51) Int.Cl. B01D 15/18 (2006.01) C07K 1/36 (2006.01) B01D 15/38 (2006.01)
(86) PCT国际申请的申请数据 PCT/US2021/050274 2021.09.14	(56) 对比文件 CN 105283548 A,2016.01.27 CN 108885189 A,2018.11.23
(87) PCT国际申请的公布数据 W02022/056466 EN 2022.03.17	审查员 贾宁
	权利要求书5页 说明书128页 附图69页

(54) 发明名称
生物制剂制造及下游纯化工艺技术

(57) 摘要
本文尤其提供了生物制造和下游纯化工艺。



1. 一种用于纯化生物制剂的方法,包括:

经由输入管线接收包含所述生物制剂的非均相混合物;

通过以下述方式在动态过滤模块中过滤,从所述非均相混合物中去除杂质:在负压下将所述生物制剂从与所述输入管线流体连通的至少一个输出头馈送至所述动态过滤模块,从而产生包括所述生物制剂的滤液,所述动态过滤模块包括动态过滤设备,所述动态过滤设备具有在馈送卷筒和收集卷筒之间延伸的滤膜、带有具有基本上光滑的接触表面的至少一个支撑构件、被配置为从所述至少一个输出头接收所述非均相混合物的滤膜的目标区域、以及膜支撑构件,所述膜支撑构件具有与真空收集系统连通的基本上光滑的接触表面,所述真空收集系统定位在所述馈送卷筒和所述收集卷筒之间;

将所述滤液传递至第一模块,所述第一模块能够将溶液分离成两个或更多个部分,其中至少一个部分包含所述生物制剂,所述第一模块包括基于亲和力的纯化设备,其中所述第一模块具有至少一个第一入口和至少一个第一出口,被配置为允许经由机械旋转系统在所述至少一个第一入口与所述至少一个第一出口之间的流体流,所述机械旋转系统包括器皿转盘,所述器皿转盘包含包括珠粒悬浮液的至少一个离散器皿;

将包含所述生物制剂的所述部分从所述第一模块的所述至少一个出口传递至第二模块,所述第二模块具有用于接收来自所述第一模块的所述至少一个第一出口的流的至少一个入口,所述第二模块包括至少一个自由流电泳设备,其中所述第二模块具有至少一个第二入口和至少一个第二出口,并且被配置为允许所述第二入口与所述第二出口之间的连续流体流;以及

回收所述生物制剂。

2. 根据权利要求1所述的方法,其中所述基于亲和力的纯化设备还包括盖系统和收集器皿系统,所述收集器皿系统与所述至少一个离散器皿流体连通。

3. 根据权利要求2所述的方法,其中所述盖系统包括具有垫圈的至少一个盖、至少两个缓冲入口、填充入口、气体入口和通气阀。

4. 根据权利要求2所述的方法,其中所述盖系统能够沿z轴运动,所述器皿转盘能够在横向于所述z轴的平面内旋转运动,并且所述收集器皿能够沿所述z轴运动。

5. 根据权利要求1所述的方法,其中所述器皿转盘包括用于结合所述生物制剂的至少一个位置、用于洗涤以去除未结合制品的至少一个位置、用于洗脱和收集所述生物制剂的至少一个位置、以及用于实现所述珠粒的回收的至少一个再生位置。

6. 根据权利要求1所述的方法,其中所述珠粒的所述表面被偶联到蛋白质A、蛋白质G、蛋白质L、抗原蛋白、受体、抗体或被配置为选择性地结合所述生物制剂的适体。

7. 根据权利要求1所述的方法,其中所述珠粒的初始浓度在0.01重量%至25重量%的范围内。

8. 根据权利要求1所述的方法,其中所述珠粒具有在0.2 μm 至200 μm 的范围内的直径。

9. 根据权利要求1所述的方法,其中所述珠粒在所述方法过程中保持可移动,以维持增加的可用于结合的表面积。

10. 根据权利要求1所述的方法,其中所述自由流电泳设备包括电极通道,所述电极通道包括阳极电极通道和阴极电极通道,并且经由壁间隙与主分离通道液体接触,所述设备还具有至少一个电极通道去泡器和至少一个液体断路器,所述至少一个电极通道去泡器包

括至少一个透气疏水膜,所述至少一个透气疏水膜被配置为通过产生无气泡主分离通道的真空系统去除气泡。

11.根据权利要求1所述的方法,其中所述方法在所述动态过滤模块、所述第一模块和所述第二模块中维持近似恒定的流速,并且其中所述流速的范围是0.1mL/分钟至50mL/分钟。

12.根据权利要求1所述的方法,其中所述用于纯化生物制剂的方法在4℃至37℃范围内的温度进行。

13.根据权利要求1所述的方法,还包括至少两个动态过滤模块,其中每个动态过滤模块具有滤膜,所述滤膜包括相同或不同孔径。

14.根据权利要求1所述的方法,还包括至少两个自由流电泳模块,所述至少两个自由流电泳模块被配置为以等电聚焦模式、区带电泳模式、等速电泳模式或其组合进行操作。

15.根据权利要求1所述的方法,还包括并行操作的至少两个动态过滤模块、至少两个基于亲和力的纯化模块,或至少两个自由流电泳模块。

16.一种自由流电泳设备,用于将混合物分离成两个或更多个部分,其中至少一个部分包含生物制剂,所述设备包括:

至少一个入口和至少一个出口,被配置为允许所述至少一个入口与所述至少一个出口之间的连续流体流;

形成在两个平行板之间的至少一个流体通道,被配置为形成与所述流体流的方向正交的电场梯度;

电极通道,包括阳极电极通道和阴极电极通道,其中所述电极通道被配置为经由通过壁间隙的液体接触而连接至主分离通道,所述壁间隙定位在所述电极通道和所述主分离通道之间;

至少一个电极通道去泡器,包括至少一个透气疏水膜或多孔材料,被配置为通过真空系统在生成点附近去除电解气泡,从而形成无气泡的主分离通道;

至少一个液体断路器,被配置为在与至少一个传感器或检测器相互作用之前断开连接至电压的溶液;

主动冷却系统;以及

至少一个收集器皿。

17.根据权利要求16所述的设备,其中所述电极通道的顶部部分用与真空系统连通的至少一个透气疏水膜密封以去除气泡,并且其中所述电极通道在所述通道的底部开口,并且被配置为使电极溶液能够通过壁间隙与所述主分离通道溶液液体接触。

18.根据权利要求16所述的设备,其中壁间隙为0.01mm至0.25mm。

19.根据权利要求16所述的设备,其中所述液体断路器包括加压器皿,所述加压器皿被配置为保持流速并形成液滴,所述液滴使电路与连接至电压的所述溶液断开。

20.根据权利要求16所述的设备,其中所述至少一个传感器是管线内传感器。

21.根据权利要求16所述的设备,还包括串联连接的至少两个自由流电泳设备,所述自由流电泳设备以等电聚焦模式、区带电泳模式、等速电泳模式或其组合进行操作,以实现分级纯化。

22.一种自由流电泳设备,包括:

主分离通道,具有在两个相对的板之间的至少一个流体通道,并且所述主分离通道被配置为形成与在所述主分离通道中的流体流的方向正交的电场梯度;

电极通道,包括阳极电极通道和阴极电极通道,其中所述电极通道被配置为经由通过壁间隙的液体接触而连接至所述主分离通道,所述壁间隙定位在所述电极通道和所述主分离通道之间;

至少一个电极通道去泡器,包括至少一个透气疏水膜,所述至少一个电极通道去泡器被配置为通过真空系统去除气泡;

至少一个液体断路器,被配置为在与至少一个传感器或检测器相互作用之前断开连接至电压的液体;以及

冷却系统。

23. 根据权利要求22所述的设备,其中所述电极通道的顶部部分用与真空系统连通的至少一个透气疏水膜密封,并且其中所述电极通道在所述通道的底部部分开口,并且被配置为使电极溶液能够通过壁间隙与主分离通道溶液液体接触。

24. 根据权利要求22所述的设备,其中壁间隙为0.01mm至0.25mm。

25. 根据权利要求22所述的设备,其中所述液体断路器包括加压器皿,所述加压器皿被配置为保持流速并形成液滴,所述液滴使电路与连接至电压的溶液断开。

26. 根据权利要求22所述的设备,其中所述至少一个传感器是管线内传感器。

27. 根据权利要求22所述的设备,还包括串联连接的至少两个自由流电泳设备,所述至少两个自由流电泳设备以等电聚焦模式、区带电泳模式、等速电泳模式或其组合进行操作。

28. 根据权利要求22所述的设备,其中所述去泡器被配置为去除 O_2 和 H_2 气泡。

29. 根据权利要求22所述的设备,其中所述去泡器被配置为去除电解气泡。

30. 根据权利要求22所述的设备,其中所述去泡器被配置为形成无气泡主分离通道。

31. 根据权利要求22所述的设备,其中所述设备还包括至少一个收集器皿。

32. 一种用于纯化生物制剂的方法,包括:

经由输入管线接收包含所述生物制剂的非均相混合物;

由动态过滤模块通过细胞净化过程、经由以下方式从所述非均相混合物中去除杂质:从与所述输入管线流体连通的至少一个输出头馈送所述生物制剂,从而产生包括所述生物制剂的渗透物;

将包含所述生物制剂的所述渗透物从第一模块的至少一个第一出口传递至第二模块,所述第二模块具有至少一个用于接收来自所述第一模块的所述至少一个第一出口的流的入口,所述第二模块包括至少一个自由流电泳设备,其中所述第二模块具有至少一个第二入口和至少一个第二出口,并且被配置为允许第二入口与所述第二出口之间的连续流体流;其中所述自由流电泳设备包括电极通道,所述电极通道包括阳极电极通道和阴极电极通道,所述电极通道通过壁间隙与主分离通道进行液体接触,所述设备还具有至少一个电极通道去泡器和至少一个液体断路器,所述至少一个电极通道去泡器包括至少一个透气疏水膜,被配置为通过真空系统去除气泡,从而形成无气泡的主分离通道;以及

回收所述生物制剂。

33. 根据权利要求32所述的方法,其中所述方法在所述动态过滤模块、所述第一模块和所述第二模块中维持恒定的流速,并且其中所述流速的范围为0.1mL/分钟至50mL/分钟。

34. 根据权利要求32所述的方法,其中用于纯化生物制剂的所述方法在4℃至37℃的范围内的温度进行。

35. 根据权利要求32所述的方法,还包括至少两个动态过滤模块,其中每个动态过滤模块具有包括相同或不同孔径的滤膜。

36. 根据权利要求32所述的方法,还包括至少两个自由流电泳模块,所述至少两个自由流电泳模块被配置为以等电聚焦模式、区带电泳模式、等速电泳模式或其组合进行操作。

37. 根据权利要求32所述的方法,还包括并行操作的:至少两个动态过滤模块、或至少两个自由流电泳模块。

38. 一种用于纯化生物制剂的方法,包括:

经由输入管线接收包含所述生物制剂的非均相混合物;

由动态过滤模块、通过细胞净化过程、经由以下方式从所述非均相混合物中去除杂质:从与所述输入管线流体连通的至少一个输出头馈送所述生物制剂,从而产生包括所述生物制剂的滤液,其中所述动态过滤模块包括在馈送卷筒和收集卷筒之间延伸的滤膜、带有具有基本上光滑的接触表面的至少一个支撑构件、被配置为从至少一个输出头接收所述非均相混合物的所述滤膜的目标区域、以及膜支撑构件,所述膜支撑构件具有与真空收集系统连通的基本上光滑的接触表面,所述真空收集系统定位在所述馈送卷筒和所述收集卷筒之间;

将所述滤液传递至第一模块,所述第一模块能够将所述滤液交换,从而产生包含所述生物制剂的渗透物,所述第一模块包括切向流过滤设备、交叉流过滤设备、以及渗滤设备中的至少一项,其中所述第一模块具有至少一个第二入口和至少一个第二出口,被配置为允许所述至少一个第二入口与所述至少一个第二出口之间的流体流;

将包含所述生物制剂的所述渗透物从所述第一模块的至少一个出口传递至第二模块,所述第二模块具有至少一个用于接收来自所述第一模块的所述至少一个第二出口的流的入口,所述第二模块包括至少一个自由流电泳设备,其中所述第二模块具有至少一个第二入口和至少一个第三出口,并且被配置为允许第三入口与所述第三出口之间的连续流体流;以及

回收所述生物制剂。

39. 根据权利要求38所述的方法,其中所述自由流电泳设备包括电极通道,所述电极通道包括阳极电极通道和阴极电极通道,所述电极通道通过壁间隙与主分离通道进行液体接触,所述设备还具有至少一个电极通道去泡器和至少一个液体断路器,所述至少一个电极通道去泡器包括至少一个透气疏水膜,被配置为通过真空系统去除气泡,从而形成无气泡的主分离通道。

40. 根据权利要求38所述的方法,其中所述方法在所述动态过滤模块、所述第一模块和所述第二模块中维持大致恒定的流速,并且其中所述流速的范围为0.1mL/分钟至50mL/分钟。

41. 根据权利要求40所述的方法,其中用于纯化生物制剂的所述方法在4℃至37℃的范围内的温度进行。

42. 根据权利要求38所述的方法,还包括至少两个动态过滤模块,其中每个动态过滤模块具有包括相同或不同孔径的滤膜。

43. 根据权利要求38所述的方法, 还包括至少两个自由流动电泳模块, 所述至少两个自由电泳模块被配置为以等电聚焦模式、区带电泳模式、等速电泳模式或其组合进行操作。

44. 根据权利要求38所述的方法, 还包括并行操作的: 至少两个动态过滤模块、或至少两个自由电泳模块。

生物制剂制造及下游纯化工艺技术

[0001] 相关申请

[0002] 本申请根据35U.S.C.§119(e) 要求2020年9月14日提交的美国临时申请第63/077,766号,2021年2月26日提交的美国临时申请第63/154,108号,以及2021年2月26日提交的美国临时申请第63/154,109号的优先权,上述各申请以整体内容通过引用整体并入本文。

技术领域

[0003] 本公开提供了用于生物制剂的制造和下游纯化的新工艺和方法。

发明内容

[0004] 本文尤其提供了用于生物制剂的纯化工艺和设备。在一些方面,本文提供了一种用于纯化生物制剂的工艺,其中该工艺包括经由输入管线接收包含生物制剂的非均相混合物,通过在动态过滤模块中过滤,从非均相混合物中去除杂质。通过在负压下将生物制剂从与输入管线流体连通的至少一个输出头馈送至动态过滤模块,从非均相混合物中去除杂质,从而产生包含生物制剂的滤液。

[0005] 动态过滤模块包括动态过滤设备;目标区域,目标区域被配置为从至少一个输出头接收非均相混合物;以及膜支撑构件,膜支撑构件具有与真空收集系统连通的基本上光滑的接触表面,真空收集系统定位在馈送卷筒和收集卷筒之间。另外,动态过滤设备包括在馈送卷筒和收集卷筒之间延伸的滤膜、带有具有基本上光滑的接触表面的至少一个支撑构件。纯化生物制剂还包括将滤液传递至能够将溶液分离成两个或更多个部分的第一模块,其中至少一个部分包含生物制剂;第一模块包括基于亲和力的纯化设备。基于亲和力的纯化设备具有至少一个第一入口和至少一个第一出口,被配置为允许经由机械旋转系统在至少一个第一入口与至少一个第一出口之间流动的流体流。机械旋转系统包括器皿转盘,器皿转盘包含包括珠粒悬浮液的至少一个离散器皿。如本文所描述,该工艺还包括将包含生物制剂的部分从第一模块的至少一个出口传递至第二模块,第二模块具有至少一个入口,该至少一个入口用于接收来自第一模块的至少一个第一出口的流。第二模块包括至少一个自由流电泳设备,并且第二模块具有至少一个第二入口和至少一个第二出口,并且被配置为允许第二入口与第二出口之间的连续流体流;以及从而回收生物制剂。

[0006] 在一些实施例中,基于亲和力的纯化设备还包括盖系统,以及与至少一个离散器皿流体连通的收集器皿系统。例如,盖系统包括至少一个盖,盖具有垫圈、至少两个缓冲入口、填充入口、气体入口和通气阀。此外,盖系统能够沿z轴运动。基于亲和力的纯化设备的器皿转盘能够在横向于z轴的平面内旋转运动,并且收集器皿能够沿z轴运动。

[0007] 如本文所描述,基于亲和力的纯化方法的器皿转盘包括用于结合生物制剂的至少一个位置、用于洗涤以去除未结合产品的至少一个位置、用于洗脱和收集生物制剂的至少一个位置、以及用于实现珠粒回收的至少一个再生位置。

[0008] 在一些示例中,基于亲和力的纯化的珠粒表面与蛋白质A、蛋白质G、蛋白质L、抗原蛋白、蛋白质、受体、抗体或被配置为选择性地结合生物制剂的适体偶联。珠粒的初始浓度

(例如在离散器皿中与生物制剂接合的位置处)在约0.01重量%至约25重量%的浓度范围内。替代地,珠粒的初始浓度在约0.01重量%至约20重量%,或约0.01重量%至约10重量%,或约0.01重量%至约5重量%,或约1重量%至约20重量%,或约5重量%至约10重量%的范围内)。在一些示例中,珠粒的直径在约0.2 μm 至约200 μm 的范围内。在其它示例中,珠粒的直径为约0.2 μm 至约100 μm ,或约1 μm 至约200 μm ,或约10 μm 至约200 μm ,或约20 μm 至约200 μm ,或约30 μm 至约200 μm ,或约50 μm 至约200 μm ,或约150 μm 至约200 μm 。替代地,珠粒的直径为约1 μm 至约100 μm ,或约50 μm 至约100 μm 。

[0009] 在一些实施例中,(例如基于亲和力的纯化的)珠粒在工艺过程中保持可移动,以维持增加的可用于结合的表面积。例如,在该工艺过程中,珠粒在溶液中保持分离(循环或分散)(例如是离散珠粒)。此外,可移动珠粒还可以意味着珠粒不聚集在一起,例如至少两个或更多个珠粒聚集或集合在一起。另外,可移动珠粒还可以意味着珠粒可以形成保持分散并且在溶液内自由移动的小聚集体。相反,本文所用的珠粒不是堵塞的,而是保持可移动,并且在溶液内自由移动。

[0010] 在一些实施例中,自由流电泳设备包括电极通道,电极通道包括阳极电极通道和阴极电极通道,并且经由壁间隙与主分离通道液体接触。

[0011] 自由流电泳设备具有至少一个电极通道去泡器和至少一个液体断路器,至少一个电极通道去泡器包括至少一个透气疏水膜,该至少一个透气疏水膜被配置为通过产生无气泡主分离通道的真空系统来去除气泡。在一些实施例中,自由流电泳设备的至少一个去泡器被配置为连续去除施加电压下的电极通道中放出的 O_2 和 H_2 气泡。在一些实施例中,从电极通道去除电解气泡对于实现相当长时间段的连续操作来说是必要的。在一些示例中,去泡系统利用疏水性PTFE膜在电极通道顶部形成防水密封,从而允许通过暴露于真空系统而在生成点连续去除电解气泡。在一些示例中,真空表压的范围是约-0.05巴至约-0.4巴。与现有方法不同,本文所描述的工艺在气泡进入主分离通道之前将其去除。

[0012] 在一些实施例中,自由流电泳设备的液体断路器包括加压器皿,加压器皿被配置为保持流速并形成液滴,液滴使电路与连接至电压的溶液断开。

[0013] 在一些实施例中,纯化工艺在动态过滤模块、第一模块和第二模块中维持近似恒定的流速。例如,该流速的范围是约0.1mL/分钟至约50mL/分钟,或约5mL/分钟至约10mL/分钟。

[0014] 在一些实施例中,用于纯化生物制剂的工艺在约4 $^{\circ}\text{C}$ 至约37 $^{\circ}\text{C}$ 范围内的温度下进行。

[0015] 在其它实施例中,上述工艺可以包括至少两个动态过滤模块,其中每个动态过滤模块具有相同或不同孔径的滤膜(例如其中非均相混合物首先接触较大孔径(例如0.45 μm)滤膜,然后接触较小孔径(例如0.2 μm)滤膜)。

[0016] 在一些实施例中,该工艺包括至少两个自由流电泳模块,该至少两个自由流电泳模块被配置为以等电聚焦模式、区带电泳模式、等速电泳模式或其组合进行操作。本文所描述工艺还包括并行操作的至少两个动态过滤模块、至少两个基于亲和力的纯化模块,或至少两个自由流电泳模块。

[0017] 在一些方面,本文提供了一种用于从非均相混合物中的生物制剂中去除杂质的动态过滤设备。该设备包括在馈送卷筒和收集卷筒之间延伸的滤膜,滤膜具有目标区域,目标

区域被配置为从至少一个输出头接收非均相混合物,输出头被配置为将非均相混合物分配到目标区域上。设备的膜支撑结构具有基本上光滑的接触表面,以在结构上支撑滤膜的定位在馈送卷筒和收集卷筒之间的部分,从而形成目标区域。此外,动态过滤设备包括具有基本上光滑的接触表面的至少一个支撑构件,用于稳定滤膜跨膜支撑结构的输送。动态过滤设备具有被配置为控制滤膜的输送速度的系统。动态过滤设备包括真空系统,真空系统具有与膜支撑结构连通的至少一个真空管线,并且被配置为跨动态滤膜施加负压,其中负压使得能够收集包含生物制剂的滤液。在其它示例中,动态过滤设备包括洗涤缓冲管线。

[0018] 在一些实施例中,动态过滤设备具有滤膜,滤膜可以包括聚醚砜(PES)、亲水性聚砜、纤维素酯、醋酸纤维素、聚偏二氟乙烯(PVDF)、亲水性PVDF、聚碳酸酯、尼龙、聚四氟乙烯(PTFE)、亲水性PTFE或其任意组合。滤膜的孔径在约0.1 μm 至约1 μm 的范围内。在其它示例中,该孔径在约0.1 μm 至约0.9 μm ,或约0.1 μm 至约0.8 μm ,或约0.1 μm 至约0.7 μm ,或约0.1 μm 至约0.6 μm ,或约0.1 μm 至约0.5 μm ,或约0.1 μm 至约0.4 μm ,或约0.1 μm 至约0.3 μm ,或约0.1 μm 至约0.2 μm 的范围内。如本文所描述的,如果使用两个或更多个动态过滤设备,则其可以包括相似或不同尺寸的滤膜。

[0019] 本文所描述的动态过滤设备包括膜支撑结构,膜支撑结构具有一系列平行槽,例如约1个至约10个平行槽。在一些具体示例中,膜支撑结构具有5个平行槽。

[0020] 本文所描述的动态过滤设备包括具有基本上光滑的接触表面的膜支撑结构,其中接触表面是其静摩擦系数的量度,例如为约0.01至约0.1,或约0.01至约0.05,或约0.05至约0.1。在一些具体示例中,静摩擦系数为0.04。

[0021] 在一些实施例中,动态过滤模块的真空系统被配置为施加例如约-0.05巴至约-0.98巴范围内的负压。

[0022] 在一些方面,本文提供了一种自由流电泳设备,用于将混合物分离成两个或更多个部分,其中至少一个部分包含生物制剂。自由流电泳设备包括:至少一个入口和至少一个出口,被配置为允许至少一个入口与至少一个出口之间的连续流体流;形成在两个平行板之间的至少一个流体通道,被配置为形成与流体流方向正交的电场梯度;电极通道,包括阳极电极通道和阴极电极通道,其中电极通道被配置为通过定位在电极通道和主分离通道之间的壁间隙进行液体接触而连接至主分离通道;至少一个电极通道去泡器,包括至少一个透气疏水膜或多孔材料,被配置为通过真空系统在生成点附近去除电解气泡,从而形成无气泡的主分离通道;至少一个液体断路器,被配置为在与至少一个传感器或检测器相互作用之前断开连接至电压的溶液;主动冷却系统;以及至少一个收集器皿。

[0023] 本文所描述的自由流电泳设备提供了具有去泡器的电极通道,其中电极通道的顶部部分用与真空系统连通的至少一个透气疏水膜密封以去除气泡,并且其中电极通道在通道底部开口,并且被配置为使电极溶液能够通过壁间隙与主分离通道溶液液体接触。

[0024] 自由流电泳设备具有至少一个电极通道去泡器和至少一个液体断路器,至少一个电极通道去泡器包括至少一个透气疏水膜,被配置为通过产生无气泡主分离通道的真空系统去除气泡。

[0025] 在一些实施例中,自由流电泳设备还包括至少一个去泡系统,该去泡系统用于连续去除施加电压下的电极通道中放出的 O_2 和 H_2 气泡。在一些实施例中,去除电解气泡对于实现相当长时间段的连续操作来说是必要的。在一些示例中,去泡系统利用疏水性PTFE膜在

电极通道顶部形成防水密封,从而允许通过暴露于真空系统而在生成点连续去除电解气泡。在一些示例中,真空表压的范围是约-0.05巴至约-0.4巴。与现有方法不同,本文所描述的工艺在气泡进入主分离通道之前将其去除。

[0026] 在一些实施例中,壁间隙(例如电极通道在其中在通道底部开口、并且被配置为使得电极溶液与主分离通道溶液能够液体接触的空间)为约0.01mm至约0.25mm。在一些示例中,壁间隙为约0.01mm至约0.2mm,或约0.01mm至约0.015mm,或约0.01mm至约0.01mm。

[0027] 在其它实施例中,自由电泳设备的液体断路器包括加压器皿,加压器皿被配置为保持流速并形成液滴,液滴使电路与连接至电压的溶液断开。

[0028] 在一些实施例中,自由电泳设备还包括管线内传感器。在一些示例中,管线内传感器可以包括流传感器、pH传感器、电导率传感器或其任意组合。

[0029] 在一些实施例中,本文所描述的自由电泳设备可以包括串联连接的至少两个自由电泳设备,这些自由电泳设备以等电聚焦模式、区带电泳模式、等速电泳模式或其组合进行操作,以实现分级纯化。

[0030] 本文还提供了自由电泳设备从混合物中纯化生物制剂的用途。本公开还提供了动态过滤设备从非均相混合物中纯化生物制剂的用途。

[0031] 在一些方面,本文提供了一种用于纯化生物制剂的工艺。该工艺包括经由输入管线接收包含生物制剂的非均相混合物。在一些实施例中,该工艺包括经由输入管线连续接收包含生物制剂的非均相混合物。在一些实施例中,生物制剂包括蛋白质或其片段(多肽)、抗体或其片段、细胞因子、趋化因子、生长因子、酶、寡核苷酸、病毒、腺病毒、腺伴随病毒(AAV)或慢病毒。

[0032] 在一些实施例中,该工艺包括通过动态过滤从非均相混合物中去除杂质(例如大杂质,诸如细胞、细胞碎片和聚集体)。在一些实施例中,动态过滤过程可以是用于从非均相混合物中去除大杂质的连续工艺。上述动态过滤过程包括至少一个动态过滤模块,动态过滤模块在负压下将包含生物制剂的非均相混合物从与输入管线流体连通的至少一个输出头连续地馈送至动态过滤模块,从而产生包含生物制剂的滤液。

[0033] 在一些实施例中,该工艺包括将滤液传递至能够将溶液分离成两个或更多个部分的第一模块,其中至少一个部分包含生物制剂。在其它实施例中,该工艺包括将滤液连续传递至能够将溶液分离成两个或更多个部分的第一模块,其中至少一个部分包含生物制剂。例如,将溶液分离成两个或更多个部分可以包括包含生物制剂的一个部分,以及包含小杂质(例如宿主细胞蛋白质、不期望的蛋白质和肽、不期望的抗体、不期望的核酸和寡核苷酸、病毒、盐、缓冲组分、表面活性剂、糖、金属污染物、可浸出物、培养基组分和/或与其天然结合的天然存在的有机分子)的至少一个其它部分。

[0034] 在一些实施例中,第一模块包括基于亲和力的磁性纯化设备。在一些示例中,第一模块具有至少一个第一入口和至少一个第一出口,并且被配置为允许经由回路传送系统在第一入口与第一出口之间流动连续流体流。在其它示例中,第一模块具有至少一个第一入口和至少一个第一出口,并且被配置为允许经由拾取和放置机器人系统在第一入口和第一出口之间流动连续流体流。

[0035] 在一些实施例中,该工艺包括将包含生物制剂的部分从第一模块的至少一个第一出口传递至第二模块,第二模块具有用于接收来自第一模块的至少一个第一出口的流的至

少一个入口,并且第二模块包括基于电荷的磁性纯化设备或基于等电点的流体纯化设备(在本文中也称自由流电泳设备)。在其它实施例中,该工艺包括将包含生物制剂的部分从第一模块的至少一个第一出口连续传递至第二模块,第二模块具有用于接收来自第一模块的至少一个第一出口的流的至少一个入口,并且第二模块包括基于电荷的磁性纯化设备或基于等电点的流体纯化设备,在本文中也称自由流电泳设备。在一些示例中,第二模块包括基于电荷的磁性纯化设备,该设备具有至少一个第二入口和至少一个第二出口,并且被配置为允许经由回路传送系统在第二入口与第二出口之间流动的连续流体流。在一些示例中,第二模块包括基于电荷的磁性纯化设备,该设备具有至少一个第二入口和至少一个第二出口,并且被配置为允许经由拾取和放置机器人系统在第二入口和第二出口之间流动的连续流体流。在其它示例中,第二模块包括自由流电泳设备,该设备具有至少一个第二入口和至少一个第二出口,并且被配置为允许第二入口与第二出口之间的连续流体流。在一些实施例中,本文所描述的工艺由此纯化生物制剂。

[0036] 在一些实施例中,本文还提供了一种用于纯化生物制剂的工艺,包括经由输入管线连续接收包含生物制剂的非均相混合物,以及通过动态过滤从非均相混合物中去除大杂质。在一些实施例中,动态过滤过程可以是用于从非均相混合物中去除大杂质的连续工艺。上述动态过滤过程包括动态过滤模块,动态过滤模块在负压下将生物制剂从与输入管线流体连通的至少一个输出头连续地馈送至动态过滤模块,从而产生包含生物制剂的滤液。

[0037] 在一些实施例中,该工艺包括将滤液传递至能够将溶液分离成两个或更多个部分的第一模块,其中至少一个部分包含生物制剂。在其它实施例中,该工艺包括将滤液连续传递至能够将溶液分离成两个或更多个部分的第一模块,其中至少一个部分包含生物制剂。在一些示例中,第一模块包括基于亲和力的纯化设备。在一些示例中,第一模块具有至少一个第一入口和至少一个第一出口,并且被配置为允许经由机械旋转系统在第一入口和第一出口之间的连续流体流。在其它示例中,第一模块具有至少一个第一入口和至少一个第一出口,并且被配置为允许经由分级线性系统在第一入口和第一出口之间流动的连续流体流。

[0038] 在一些实施例中,该工艺包括将包含生物制剂的部分从第一模块的至少一个第一出口传递至第二模块,第二模块具有用于接收来自第一模块的至少一个第一出口的流的至少一个入口,并且第二模块包括基于电荷的纯化设备或基于等电点的流体纯化设备,在本文中也称自由流电泳设备。在其它实施例中,该工艺包括将包含生物制剂的部分从第一模块的至少一个第一出口连续传递至第二模块,第二模块具有用于接收来自第一模块的至少一个第一出口的流的至少一个入口,并且第二模块包括基于电荷的纯化设备或基于等电点的流体纯化设备,在本文中也称自由流电泳设备。在一些示例中,第二模块包括基于电荷的纯化设备,该纯化设备具有至少一个第二入口和至少一个第二出口,并且被配置为允许经由机械旋转系统在第二入口和第二出口之间的连续流体流。在一些示例中,第二模块具有至少一个第二入口和至少一个第二出口,并且被配置为允许经由分级线性系统在第二入口和第二出口之间流动的连续流体流。在其它示例中,第二模块包括自由流电泳设备,该设备具有至少一个第二入口和至少一个第二出口,并且被配置为允许第二入口与第二出口之间的连续流体流。在一些实施例中,本文所描述的工艺由此纯化生物制剂。

[0039] 在一些实施例中,本文还提供了一种用于纯化生物制剂的工艺,包括经由输入管

线连续接收包含生物制剂的非均相混合物,以及通过动态过滤从非均相混合物中去除大杂质。在一些实施例中,动态过滤过程可以是用于从非均相混合物中去除大杂质的连续工艺。上述动态过滤过程包括动态过滤模块,动态过滤模块在负压下将生物制剂从与输入管线流体连通的至少一个输出头连续地馈送至动态过滤模块,从而产生包含生物制剂的滤液。

[0040] 在一些实施例中,该工艺包括将滤液传递至能够将溶液分离成两个或更多个部分的第一模块,其中至少一个部分包含生物制剂。在其它实施例中,该工艺包括将滤液连续传递至能够将溶液分离成两个或更多个部分的第一模块,其中至少一个部分包含生物制剂。在一些实施例中,第一模块包括基于亲和力的流体纯化设备。在一些示例中,第一模块具有至少一个第一入口和至少一个第一出口,并且被配置为允许第一入口与第一出口之间的连续流体流。

[0041] 在一些实施例中,该工艺包括将包含生物制剂的部分从第一模块的至少一个第一出口传递至第二模块,第二模块具有用于接收来自第一模块的至少一个第一出口的流的至少一个入口,并且第二模块包括基于电荷的流体纯化设备或基于等电点的流体纯化设备,在本文中也称自由流电泳设备。在一些实施例中,该工艺包括将包含生物制剂的部分从第一模块的至少一个第一出口连续传递至第二模块,第二模块具有用于接收来自第一模块的至少一个第一出口的流的至少一个入口,并且第二模块包括基于电荷的流体纯化设备或基于等电点的流体纯化设备,在本文中也称自由流电泳设备。在一些示例中,第二模块包括基于电荷的流体纯化设备,该设备具有至少一个第二入口和至少一个第二出口,并且被配置为允许第二入口与第二出口之间的连续流体流。在其它示例中,第二模块包括自由流电泳设备,该设备具有至少一个第二入口和至少一个第二出口,并且被配置为允许第二入口与第二出口之间的连续流体流。在一些实施例中,本文所描述的工艺由此纯化生物制剂。

[0042] 在一些实施例中,该工艺包括将滤液传递至能够将溶液分离成两个或更多个部分的第一模块,其中至少一个部分包含生物制剂。在其它实施例中,该工艺包括将滤液连续传递至能够将溶液分离成两个或更多个部分的第一模块,其中至少一个部分包含生物制剂。在一些实施例中,第一模块包括基于亲和力的切向流过滤(TFF)纯化设备。在一些示例中,第一模块具有至少一个第一入口和至少一个第一出口,并且被配置为允许第一入口与第一出口之间的连续流体流。

[0043] 在一些实施例中,该工艺包括将包含生物制剂的部分从第一模块的至少一个第一出口传递至第二模块,第二模块具有用于接收来自第一模块的至少一个第一出口的流的至少一个入口,并且第二模块包括基于电荷的TFF纯化设备或基于等电点的流体纯化设备,在本文中也称自由流电泳设备。在其它实施例中,该工艺包括将包含生物制剂的部分从第一模块的至少一个第一出口连续传递至第二模块,第二模块具有用于接收来自第一模块的至少一个第一出口的流的至少一个入口,并且第二模块包括基于电荷的TFF纯化设备或基于等电点的流体纯化设备,在本文中也称自由流电泳设备。在一些示例中,第二模块包括基于电荷的TFF纯化设备,该设备具有至少一个第二入口和至少一个第二出口,并且被配置为允许第二入口与第二出口之间的连续流体流。在其它示例中,第二模块包括自由流电泳设备,该设备具有至少一个第二入口和至少一个第二出口,并且被配置为允许第二入口与第二出口之间的连续流体流。在一些实施例中,本文所描述的工艺由此纯化生物制剂。

[0044] 如本文所描述的,从非均相混合物中去除大杂质的方法不包括离心、圆盘堆叠离

心、深层过滤、静态过滤、切向流过滤或其任意组合。替代地,本文所描述的工艺可以经由源自任何大杂质去除输入的输入管线接收包含生物制剂的非均相混合物,例如但不限于离心和深层过滤工艺。

[0045] 如本文所描述的,从非均相混合物中连续去除大杂质的工艺不包括离心、圆盘堆叠离心、深层过滤、静态过滤、切向流过滤、水力旋流或其任意组合。替代地,本文所描述的工艺可以经由源自任何连续大杂质去除输入的输入管线连续接收包含生物制剂的非均相混合物,例如但不限于连续圆盘堆叠离心和深层过滤工艺或水力旋流工艺。

[0046] 在一些实施例中,本文所描述的工艺包括纯化在生物反应器中产生的生物制剂(例如单克隆抗体)。在一些实施例中,本文所描述的工艺包括纯化在生物反应器中连续产生的生物制剂。例如,生物反应器包括生物反应器馈送管线和输出渗流管线,以实现稳态细胞培养生长条件,并且输出渗流管线用作输入管线,以允许从生物反应器到动态过滤模块的连续流体流。在一些示例中,生物反应器类型包括但不限于补料分批生物反应器、灌注生物反应器、恒化器生物反应器或多室生物反应器。例如,来自生物反应器渗流管线的流总是被馈送至下游纯化系统。替代地,本文所描述的工艺包括纯化不在生物反应器中产生的生物制剂(例如mRNA)。

[0047] 在一些实施例中,本文提供了一种用于纯化生物制剂的工艺,该方法包括经由输入管线接收包含生物制剂的非均相混合物,通过在负压下将生物制剂从与输入管线流体连通的至少一个输出头馈送至动态过滤模块,在动态过滤模块中通过动态过滤从非均相混合物中去除杂质,从而产生包含生物制剂的滤液;将滤液传递至能够将溶液分离成两个或更多个部分的第一模块,该两个或更多个部分包括包含生物制剂的至少一个部分,其中第一模块包括基于亲和力的磁性纯化设备,并且其中第一模块具有至少一个第一入口和至少一个第一出口,并且被配置为允许经由回路传送系统或拾取和放置机器人系统在第一入口和第一出口之间的流体流;将包含生物制剂的部分从第一模块的至少一个第一出口传递至第二模块,第二模块具有用于接收来自第一模块的至少一个第一出口的流的至少一个入口,其中第二模块包括基于电荷的磁性纯化设备,并且其中第二模块具有至少一个第二入口和至少一个第二出口,并且被配置为允许经由回路传送系统或拾取和放置机器人系统在第二入口和第二出口之间连续流体流;并且从而纯化生物制剂。

[0048] 在其它实施例中,提供了一种用于纯化生物制剂的工艺。该方法包括经由输入管线接收包含生物制剂的非均相混合物;通过在负压下将生物制剂从与输入管线流体连通的至少一个输出头馈送至动态过滤模块,在动态过滤模块中通过动态过滤从非均相混合物中去除杂质,从而产生包含生物制剂的滤液;将滤液传递至能够将溶液分离成两个或更多个部分的第一模块,该两个或更多个部分包括包含生物制剂的至少一个部分,其中第一模块包括基于亲和力的磁性纯化设备,并且其中第一模块具有至少一个第一入口和至少一个第一出口,并且被配置为允许经由回路传送系统或拾取和放置机器人系统在第一入口和第一出口之间的流体流;将包含生物制剂的部分从第一模块的至少一个第一出口传递至第二模块,第二模块具有用于接收来自第一模块的至少一个第一出口的流的至少一个入口,其中第二模块包括基于等电点的流体纯化设备,在本文中也称自由流电泳设备,并且其中第二模块具有至少一个第二入口和至少一个第二出口,并且被配置为允许第二入口与第二出口之间的连续流体流;并且从而纯化生物制剂。

[0049] 在一些实施例中,包括一种用于纯化生物制剂的工艺,该方法包括经由输入管线接收包含生物制剂的非均相混合物;通过在负压下将生物制剂从与输入管线流体连通的至少一个输出头馈送至动态过滤模块,在动态过滤模块中通过动态过滤从非均相混合物中去除杂质,从而产生包含生物制剂的滤液;将滤液传递至能够将溶液分离成两个或更多个部分的第一模块,该两个或更多个部分包括包含生物制剂的至少一个部分,其中第一模块包括基于亲和力的纯化设备,并且其中第一模块具有至少一个第一入口和至少一个第一出口,并且被配置为允许经由机械旋转系统在第一入口和第一出口之间的流体流;将包含生物制剂的部分从第一模块的至少一个第一出口传递至第二模块,第二模块具有用于接收来自第一模块的至少一个第一出口的流的至少一个入口,其中第二模块包括基于电荷的纯化设备,并且其中第二模块具有至少一个第二入口和至少一个第二出口,并且被配置为允许经由机械旋转系统在第二入口和第二出口之间的流体流;并且从而纯化生物制剂。

[0050] 在其它实施例中,提供了一种用于纯化生物制剂的工艺,该方法包括经由输入管线接收包含生物制剂的非均相混合物;通过在负压下将生物制剂从与输入管线流体连通的至少一个输出头馈送至动态过滤模块,在动态过滤模块中通过动态过滤从非均相混合物中去除杂质,从而产生包含生物制剂的滤液;将滤液传递至能够将溶液分离成两个或更多个部分的第一模块,该两个或更多个部分包括包含生物制剂的至少一个部分,其中第一模块包括基于亲和力的纯化设备,并且其中第一模块具有至少一个第一入口和至少一个第一出口,并且被配置为允许经由机械旋转系统在第一入口和第一出口之间的流体流;将包含生物制剂的部分从第一模块的至少一个第一出口传递至第二模块,第二模块具有至少一个入口,用于接收来自第一模块的至少一个第一出口的流,其中第二模块包括基于等电点的流体纯化设备,在本文中也称自由流电泳设备,并且其中第二模块具有至少一个第二入口和至少一个第二出口,并且被配置为允许第二入口与第二出口之间的连续流体流;并且从而纯化生物制剂。

[0051] 在一些实施例中,包括一种用于纯化生物制剂的工艺,该方法包括经由输入管线接收包含生物制剂的非均相混合物;通过在负压下将生物制剂从与输入管线流体连通的至少一个输出头馈送至动态过滤模块,在动态过滤模块中通过动态过滤从非均相混合物中去除杂质,从而产生包含生物制剂的滤液;将滤液传递至能够将溶液分离成两个或更多个部分的第一模块,该两个或更多个部分包括包含生物制剂的至少一个部分,其中第一模块包括基于亲和力的纯化设备,并且其中第一模块具有至少一个第一入口和至少一个第一出口,并且被配置为允许经由分级线性系统在第一入口和第一出口之间的流体流;将包含生物制剂的部分从第一模块的至少一个第一出口传递至第二模块,第二模块具有用于接收来自第一模块的至少一个第一出口的流的至少一个入口,其中第二模块包括基于电荷的纯化设备,并且其中第二模块具有至少一个第二入口和至少一个第二出口,并且被配置为允许经由分级线性系统在第二入口和第二出口之间的流体流;并且从而纯化生物制剂。

[0052] 在其它实施例中,提供了一种用于纯化生物制剂的工艺,该方法包括经由输入管线接收包含生物制剂的非均相混合物;通过在负压下将生物制剂从与输入管线流体连通的至少一个输出头馈送至动态过滤模块,在动态过滤模块中通过动态过滤从非均相混合物中去除杂质,从而产生包含生物制剂的滤液;将滤液传递至能够将溶液分离成两个或更多个部分的第一模块,该两个或更多个部分包括包含生物制剂的至少一个部分,其中第一模块

包括基于亲和力的纯化设备,并且其中第一模块具有至少一个第一入口和至少一个第一出口,并且被配置为允许经由分级线性系统在第一入口和第一出口之间的流体流;将包含生物制剂的部分从第一模块的至少一个第一出口传递至第二模块,第二模块具有用于接收来自第一模块的至少一个第一出口的流的至少一个入口,其中第二模块包括基于等电点的流体纯化设备,在本文中也称自由流电泳设备,并且其中第二模块具有至少一个第二入口和至少一个第二出口,并且被配置为允许第二入口与第二出口之间的连续流体流;并且从而纯化生物制剂。

[0053] 在一些实施例中,包括一种用于纯化生物制剂的工艺,该方法包括经由输入管线接收包含生物制剂的非均相混合物;通过在负压下将生物制剂从与输入管线流体连通的至少一个输出头馈送至动态过滤模块,在动态过滤模块中通过动态过滤从非均相混合物中去除杂质,从而产生包含生物制剂的滤液;将滤液传递至能够将溶液分离成两个或更多个部分的第一模块,该两个或更多个部分包括包含生物制剂的至少一个部分,其中第一模块包括基于亲和力的流体纯化设备,并且其中第一模块具有至少一个第一入口和至少一个第一出口,并且被配置为允许第一入口与第一出口之间的流体流;将包含生物制剂的部分从第一模块的至少一个第一出口传递至第二模块,第二模块具有用于接收来自第一模块的至少一个第一出口的流的至少一个入口,其中第二模块包括基于电荷的流体纯化设备,并且其中第二模块具有至少一个第二入口和至少一个第二出口,并且被配置为允许第二入口与第二出口之间的流体流;并且从而纯化生物制剂。

[0054] 在其它实施例中,提供了一种用于纯化生物制剂的工艺,该方法包括经由输入管线接收包含生物制剂的非均相混合物;通过在负压下将生物制剂从与输入管线流体连通的至少一个输出头馈送至动态过滤模块,在动态过滤模块中通过动态过滤从非均相混合物中去除杂质,从而产生包含生物制剂的滤液;将滤液传递至能够将溶液分离成两个或更多个部分的第一模块,该两个或更多个部分包括包含生物制剂的至少一个部分,其中第一模块包括基于亲和力的流体纯化设备,并且其中第一模块具有至少一个第一入口和至少一个第一出口,并且被配置为允许第一入口与第一出口之间的流体流;将包含生物制剂的部分从第一模块的至少一个第一出口传递至第二模块,第二模块具有用于接收来自第一模块的至少一个第一出口的流的至少一个入口,其中第二模块包括基于等电点的流体纯化设备,在本文中也称自由流电泳设备,并且其中第二模块具有至少一个第二入口和至少一个第二出口,并且被配置为允许第二入口与第二出口之间的连续流体流;并且从而纯化生物制剂。

[0055] 在一些实施例中,包括一种用于纯化生物制剂的工艺,该方法包括经由输入管线接收包含生物制剂的非均相混合物;通过在负压下将生物制剂从与输入管线流体连通的至少一个输出头馈送至动态过滤模块,在动态过滤模块中通过动态过滤从非均相混合物中去除杂质,从而产生包含生物制剂的滤液;将滤液传递至能够将溶液分离成两个或更多个部分的第一模块,包括包含生物制剂的至少一个部分,其中第一模块包括基于亲和力的TFF纯化设备,并且其中第一模块具有至少一个第一入口和至少一个第一出口,并且被配置为允许第一入口与第一出口之间的流体流;将包含生物制剂的部分从第一模块的至少一个第一出口传递至第二模块,第二模块具有用于接收来自第一模块的至少一个第一出口的流的至少一个入口,其中第二模块包括基于电荷的TFF纯化设备,并且其中第二模块具有至少一个第二入口和至少一个第二出口,并且被配置为允许第二入口与第二出口之间的流体流;并

且从而纯化生物制剂。

[0056] 在其它实施例中,提供了一种用于纯化生物制剂的工艺,该方法包括经由输入管线接收包含生物制剂的非均相混合物;通过在负压下将生物制剂从与输入管线流体连通的至少一个输出头馈送至动态过滤模块,在动态过滤模块中通过动态过滤从非均相混合物中去除杂质,从而产生包含生物制剂的滤液;将滤液传递至能够将溶液分离成两个或更多个部分的第一模块,该两个或更多个部分包括包含生物制剂的至少一个部分,其中第一模块包括基于亲和力的TFF纯化设备,并且其中第一模块具有至少一个第一入口和至少一个第一出口,并且被配置为允许第一入口与第一出口之间的流体流;将包含生物制剂的部分从第一模块的至少一个第一出口传递至第二模块,第二模块具有用于接收来自第一模块的至少一个第一出口的流的至少一个入口,其中第二模块包括基于等电点的流体纯化设备,在本文中也称自由流电泳设备,并且其中第二模块具有至少一个第二入口和至少一个第二出口,并且被配置为允许第二入口与第二出口之间的连续流体流;并且从而纯化生物制剂。

[0057] 本文所描述的工艺和方法的优点包括能够在不导致膜结垢或堵塞的情况下去除大杂质(例如细胞、细胞碎片和聚集体)。例如,本领域已知用传统过滤或切向流过滤系统从细胞培养基中净化细胞、细胞碎片和聚集体通常会导致滤膜结垢或堵塞,使得这些方法不适合作为在长期连续处理中从包含生物制剂的非均相混合物中连续去除大杂质的手段。相反,由于滤膜的活性目标区域是不断更新的,因此本文所描述的动态过滤设备实现了在不发生膜结垢的情况下从包含生物制剂的非均相混合物中连续去除大杂质。

[0058] 另外,由于用于生产和纯化生物制剂的整个过程可以是连续的,并且能够在整个工艺中保持约0.1mL/分钟至约50mL/分钟范围内的流速,工艺设备和整个工艺占地面积能够明显小于当前标准工艺的占地面积,同时不会牺牲以千克/年为基础的产品通量或产量。例如,如本文所描述的单克隆抗体生产和纯化工艺在占据高达约30,000平方英尺占地面积的情况下操作。相比之下,目前的单克隆抗体生产和下游工艺需要至少200,000平方英尺。在一些示例中,用于纯化生物制剂的工艺流速在约1mL/分钟至约10mL/分钟的范围内。在一些示例中,从非均相混合物中连续去除大杂质的步骤中的流速在约0.1mL/分钟至约50mL/分钟的范围内。在其它示例中,从非均相混合物中连续去除大杂质的步骤中的流速等同于来自生物反应器渗流管线的流速。在其它示例中,该工艺提供的将滤液连续传递至第一模块的步骤中的流速在约0.1mL/分钟至约50mL/分钟的范围内。在其它示例中,该工艺提供的将包含生物制剂的部分从第一出口连续传递至第二模块的步骤中的流速在约0.1mL/分钟至约50mL/分钟的范围内。

[0059] 本文所描述的利用磁性树脂珠粒(例如磁性琼脂糖)或传统树脂珠粒(例如琼脂糖)的工艺和方法的一个重要优点包括:这些系统不需要传统的固定相或堵塞树脂柱(例如用于标准层析法)以进行消毒、回收和/或再生。例如,这些系统提供树脂珠粒(例如磁性或非磁性树脂珠粒)的回收和/或再生,以在操作期间形成树脂珠粒的无限表面积,并且进而提供连续且成本有效的方法。

[0060] 换句话说,本文所描述的模块不具有固定的结合或缔合能力。在一些具体示例中,如本文所描述的,在生物制剂纯化期间使用的树脂珠粒不断地回收和再生,因此能够接受来自前一步骤(即动态过滤模块或纯化模块)的流,而不中断来自生物反应器渗流管线的流。换句话说,由于本发明所述的模块连续地经历这些步骤,所以在运行之后不必为了消

毒、再生和/或回收而闲置。该方法与目前的连续层析方法的不同之处在于,由于树脂填塞约束,目前的方法限定了柱容量极限,并且因此需要多个填塞柱进行柱切换以接受连续输入流,并使已经达到全容量的柱能够再生和/或回收。

[0061] 本文所描述的方法的另一个优点包括:树脂珠粒不填塞至固定相内,而是具有流动性。珠粒的这种流动性增加了可用于结合或缔合的表面积,因为明显更多的树脂珠粒表面被暴露并且自由结合,例如,更多生物制剂可以结合至珠粒。另外,传统填塞柱中的树脂珠粒(例如珠粒缺乏流动性,表面积减小)暴露于高压差,形成穿过柱的流。这种高压差破坏了珠粒的完整性,从而降低了柱的寿命。在本发明中,可移动树脂珠粒经受明显更低、对于易碎珠粒更温和的压力,从而延长了寿命。另外,这种流动性使得珠粒更可能再生(例如完全再生),并回到其初始状态。这进一步增加了本文所描述的方法的成本效益,例如因为树脂被更有效地利用。

[0062] 如本文所描述的,所要求保护的方法和设备的树脂珠粒在整个工艺中是可移动的。传统的层析纯化方法需要柱填塞,例如其中珠粒被充分填塞在一起,产生固定相和高密度。例如,在该工艺过程中,珠粒在溶液中保持分离(循环或分散)(例如是离散珠粒)。此外,可移动珠粒还可以意味着珠粒不聚集在一起,例如至少两个或更多个珠粒聚集或集合在一起。另外,可移动珠粒还可以意味着珠粒可以形成保持分散并且在溶液内自由移动的小聚集体。相反,本文所用的珠粒不是填塞的,而是保持可移动,并且在溶液内自由移动。

[0063] 本文所描述的利用自由流电泳的工艺和方法的一个重要优点包括:该系统代表“无产物损失”工艺,因为在这种工艺中,分离是根据目标生物制剂的物理化学性质通过与电场相互作用而在水溶液中发生,因此不需要产物与树脂或其它纯化部分进行相互作用。观察到该方法的另一个优点在于其分辨能力(例如纯化物理化学相似度高的产物的能力),因为与传统的离子交换层析法相比,能够得到更高纯度的产物。例如,使用本文的自由流电泳模块和方法可以得到纯度为至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高纯度的生物制剂。此外,相对于传统的纯化和层析方法,本文所描述的方法和设备可以提高(生物制剂的)纯度。例如,关于水平的术语“提高”是指高于对照水平(例如使用传统方法进行纯化得到的纯度水平)的任何%增加。在各种实施例中,相对于传统纯化方法,水平提高可以是纯度提高至少或约1%、2%、3%、4%或5%、提高至少或约10%、提高至少或约15%、提高至少或约20%、提高至少或约25%、提高至少或约30%、提高至少或约35%、提高至少或约40%、提高至少或约45%、提高至少或约50%、提高至少或约55%、提高至少或约60%、提高至少或约65%、提高至少或约70%、提高至少或约75%、提高至少或约80%、提高至少或约85%、提高至少或约90%、提高至少或约95%。在本公开的其它示例中,与使用标准商业或层析技术的生物制剂的纯度相比,利用本文所描述的方法和设备得到的生物制剂的纯度提高了约1.1x、1.2x、1.3x、1.4x、1.5x、1.6x、1.7x、1.8x、1.9x、2x、2.1x、2.2x、2.3x、2.4x、2.5x、2.6x、2.7x、2.8x、2.9x或3.0x。

[0064] 另外,基于生物制剂的固有物理化学性质(例如等电点、表面电荷、净电荷、 ζ 电势、电泳迁移率、静电相互作用等)的分离将该方法扩展至用于纯化多种生物制剂的用途,包括但不限于蛋白质或其片段(多肽)、抗体或其片段、细胞因子、趋化因子、生长因子、酶、寡核苷酸、病毒、腺病毒、腺伴随病毒(AAV)或慢病毒。

[0065] 此外,模块化方法提供了工艺设计方面的灵活性,以适应各种各样的生物制剂。

[0066] 在一些实施例中,根据本文所描述的工艺中,在通过动态过滤进行纯化期间形成包含生物制剂的滤液,并在负压下将其馈送至能够收集约50mL至约100L的真空收集器皿中。在一些示例中,真空收集器皿能够收集约1L至约10L的滤液。在其它示例中,真空收集器皿能够收集约1L至约50L的滤液。

[0067] 在一些实施例中,动态过滤模块包括至少一个输出头,该输出头用于调节非均相混合物的流动,并将非均相混合物分配到滤膜的活性目标区域上。在一些示例中,至少一个输出头是管或槽模。

[0068] 在一些实施例中,至少一个动态过滤模块还可以包括至少一个附加输入管线,以经由同轴输出头、单独的单轴输出头、单独的槽模输出头、具有多个开口的槽模输出头,或其任意组合供应洗涤缓冲。

[0069] 在一些实施例中,动态过滤模块包括本领域技术人员已知的元件,例如但不限于主动或被动边缘引导件、张力控制器(例如浮动辊)、断裂和张检测器,或其任意组合。

[0070] 在一些实施例中,本文的方法包括至少一个输出头(与动态过滤模块的输入管线流体连通)能够进行xy光栅扫描或r θ 光栅扫描。在一些示例中,至少一个输出头能够进行xy光栅扫描。在一些示例中,至少一个输出头能够进行r θ 光栅扫描。在其它示例中,至少一个输出头能够沿z轴运动。在其它示例中,至少一个输出头能够进行xy光栅扫描并沿z轴运动。

[0071] 在一些实施例中,动态过滤模块包括滤膜卷、膜支撑结构、至少一个支撑杆或辊、至少一个真空管线、真空系统和至少一个真空收集器皿。

[0072] 在一些实施例中,滤膜卷包括卷式滤膜,其中滤膜包括但不限于聚醚砜(PES)、亲水性聚砜、纤维素酯、醋酸纤维素、聚偏二氟乙烯(PVDF)、亲水性PVDF、聚碳酸酯、尼龙、聚四氟乙烯(PTFE)、亲水性PTFE或其任意组合。

[0073] 在一些实施例中,卷式滤膜的孔径大小取决于被纯化的生物制剂。在一些示例中,卷式滤膜具有在0.1 μ m至1 μ m的范围内的孔径。替代地,孔径在约0.2 μ m至约0.45 μ m的范围内,或者孔径小于约0.45 μ m。在其它示例中,当纯化抗体时,卷式滤膜的孔径在0.2 μ m至约0.45 μ m的范围内。

[0074] 在一些实施例中,滤膜卷的宽度为约10mm至约600mm。滤膜卷的宽度例如可以取决于动态过滤系统的尺寸、至少一个输出头的尺寸,或膜支撑结构。

[0075] 在一些实施例中,滤膜卷还用作与收集卷筒连通的馈送卷筒,这意味着滤膜源自预制卷,并且跨越至初始为空的收集卷,从而形成卷对卷系统。

[0076] 在一些实施例中,动态过滤模块的膜支撑结构包括来源于具有低静摩擦系数的材料(例如聚四氟乙烯(PTFE))的机械光滑接触表面,以及与真空管线具有连续性的开口。例如,静摩擦系数在约0.01至约0.1,或约0.01至约0.05,或约0.05至约0.1的范围内。在一些示例中,动态过滤模块的膜支撑结构包括开口。例如,开口可以包括网格、至少一个槽、至少一个孔、玻璃料、多孔材料或其任意组合。

[0077] 在一些实施例中,动态过滤模块的膜支撑结构包括温度控制机构。温度控制机构将温度维持在4 $^{\circ}$ C至37 $^{\circ}$ C。例如,在抗体纯化期间,温度控制机构将温度维持在15 $^{\circ}$ C至37 $^{\circ}$ C。示例性温度控制机构包括但不限于单环控制器、多环控制器、闭环控制器、比例-积分-微分(PID)控制器、Peltier装置、电阻加热元件和/或具有循环水/丙二醇护套的热卡盘。

[0078] 在一些实施例中,动态过滤模块的至少一个支撑杆或辊具有来源于具有低静摩擦

系数的材料(例如PTFE、全氟烷氧基烷烃(PFA))的机械光滑接触表面。例如,静摩擦系数在约0.01至约0.1,或约0.01至约0.05,或约0.05至约0.1的范围内。在一些示例中,支撑杆或辊可以是固定的,或者可以旋转。在一些示例中,支撑杆还可以包括轴承,例如套筒轴承。

[0079] 在一些实施例中,动态过滤模块的真空系统维持约-0.05巴至约-0.98巴的表压。

[0080] 在一些实施例中,通过动态过滤从非均相混合物中连续去除大杂质(例如细胞、细胞碎片和聚集体)的工艺包括使用具有不同孔径的至少两个离散卷式滤膜进行多级过滤。在一些示例中,该多级动态过滤过程包括至少一个第一动态过滤设备,第一动态过滤设备与第二动态过滤设备流体连通,第一动态过滤设备具有带有大孔径(例如0.45 μm)的卷式滤膜,第二动态过滤设备具有带有小孔径(例如0.2 μm)的卷式滤膜,从而产生包含生物制剂的滤液。替代地,类似的结果可以通过单个动态过滤设备实现,该动态过滤设备具有由单独的馈送卷筒馈送的至少两个卷式滤膜,从而形成跨目标区域(例如活性目标区域)的分层滤膜组,其中非均相混合物首先接触大孔径(例如0.45 μm)滤膜,然后接触小孔径(例如0.2 μm)滤膜。

[0081] 在一些实施例中,本文所描述的工艺包括将滤液连续传递至能够将溶液分离成两个或更多个部分的第一模块,该两个或更多个部分包括包含生物制剂的至少一个部分,并且第一模块包括基于亲和力的磁性纯化设备。例如,基于亲和力的磁性纯化设备还包括磁性树脂珠粒悬浮液。磁性树脂珠粒的表面,例如但不限于,与蛋白质A、蛋白质G、蛋白质L、抗原蛋白、蛋白质、受体、抗体或适体偶联。在一些示例中,磁性树脂珠粒可以是顺磁性的或超顺磁性的。

[0082] 在一些示例中,基于亲和力的磁性纯化设备的磁性树脂珠粒的直径为约0.2微米至约200微米。在其它示例中,珠粒的直径为约0.2 μm 至约100 μm ,或约1 μm 至约200 μm ,或约10 μm 至约200 μm ,或约20 μm 至约200 μm ,或约30 μm 至约200 μm ,或约50 μm 至约200 μm ,或约150 μm 至约200 μm 。替代地,珠粒的直径为约1 μm 至约100 μm ,或约50 μm 至约100 μm 。磁性树脂珠粒的直径可以取决于被纯化的生物制剂和工艺中的总流速。例如,单克隆抗体的纯化可以包括大小为约40至约90微米的磁性树脂珠粒。此外,磁性树脂珠粒的浓度可以在约0.01重量%至约25重量%的范围内。例如,磁性树脂珠粒的浓度可以是约1重量%。在一些示例中,单克隆抗体的纯化可以包括浓度为约1重量%至约10重量%的磁性树脂珠粒。在其它示例中,磁性树脂珠粒的结合能力取决于珠粒浓度、表面积与体积比、亲和配体密度或其任意组合。在其它示例中,磁性树脂珠粒可以是实心珠粒、多孔珠粒、纳米多孔珠粒、微孔珠粒或其任意组合。

[0083] 在一些实施例中,本文所描述的工艺包括将包含生物制剂的部分从第一模块的至少一个第一出口连续传递至第二模块,并且其中第二模块包括基于电荷的磁性纯化设备(例如基于正电荷和/或负电荷的磁性纯化设备),基于电荷的磁性纯化设备还包括磁性树脂珠粒。例如,磁性树脂珠粒的表面可以具有阳离子官能团,其来源于带正电荷的官能团的偶联,从而能够实现基于电荷或静电相互作用的纯化。例如,带正电荷的官能团包括胺、阳离子聚合物、净正电荷肽、净正电荷蛋白质或其任意组合。替代地,磁性树脂珠粒的表面可以具有阴离子官能团,来源于带负电荷的官能团的偶联,从而能够实现基于电荷或静电相互作用的纯化。例如,带负电荷的官能团包括羧基、阴离子聚合物、净负电荷肽、净负电荷蛋白质、寡核苷酸或其任意组合。在一些示例中,磁性树脂珠粒可以是顺磁性的或超顺磁性

的。

[0084] 在一些实施例中,基于电荷的磁性纯化设备的磁性树脂珠粒的直径为约0.2微米至约200微米。磁性树脂珠粒的直径可以取决于被纯化的生物制剂和工艺中的总流速。例如,单克隆抗体的纯化可以包括大小为约40至约90微米的磁性树脂珠粒。此外,磁性树脂珠粒的浓度可以在约0.01重量%至约25重量%的范围内。例如,磁性树脂珠粒的浓度可以是约1重量%。在一些示例中,单克隆抗体的纯化可以包括浓度为约1重量%至约10重量%的磁性树脂珠粒。在其它示例中,磁性树脂珠粒的电荷或静电缔合能力取决于珠粒浓度、表面积与体积比、表面电荷密度、净电荷或其任意组合。在其它示例中,磁性树脂珠粒可以是实心珠粒、多孔珠粒、纳米多孔珠粒、微孔珠粒或其任意组合。

[0085] 在一些实施例中,如本文所描述的,第一(基于亲和力的磁性纯化)模块和/或第二(基于电荷的磁性纯化,包括基于正电荷和/或负电荷的磁性纯化设备)模块中的一者或两者还可以包括至少一个外部磁场。例如,至少一个外部磁场包括永磁体或电磁体。至少一个外部磁场的磁场强度为约0.01特斯拉至约1特斯拉(例如高达1特斯拉)。替代地,屏蔽至少一个外部磁场。

[0086] 在一些实施例中,回路传送系统具有装有磁性树脂珠粒的至少两个运输器皿,运输器皿被配置为连续接收包含生物制剂的混合物,并且随后运输所得到的包含生物制剂、磁性树脂珠粒、缓冲或其任意组合的非均相混合物。例如,至少两个运输器皿中的至少一个定位在外部磁场中或其附近,以吸引磁性树脂珠粒。

[0087] 在一些实施例中,拾取和放置机器人系统具有装有磁性树脂珠粒的至少两个运输器皿,运输器皿被配置为连续接收包含生物制剂的混合物,并且随后运输所得到的包含生物制剂、磁性树脂珠粒、缓冲或其任意组合的非均相混合物。例如,至少两个运输器皿中的至少一个放置在外部磁场中或其附近,以吸引磁性树脂珠粒。

[0088] 在一些实施例中,第一(基于亲和力的磁性纯化)模块和/或第二(基于电荷的磁性纯化,包括基于正电荷和/或负电荷的磁性纯化设备)模块还包括以补料分批或灌注模式操作的至少一个切向流过滤系统。在一些示例中,切向流过滤系统可以用于浓缩和缓冲置换包含生物制剂的部分。

[0089] 在一些实施例中,本文所描述的工艺包括将滤液连续传递至能够将溶液分离成两个或更多个部分的第一模块,该两个或更多个部分包括包含生物制剂的至少一个部分,并且第一模块包括基于亲和力的纯化设备。例如,基于亲和力的纯化设备还包括树脂珠粒悬浮液。树脂珠粒的表面,例如但不限于,与蛋白质A、蛋白质G、蛋白质L、抗原蛋白、蛋白质、受体、抗体或适体偶联。

[0090] 在一些示例中,基于亲和力的纯化设备的树脂珠粒的直径为约0.2微米至约200微米。树脂珠粒的直径可以取决于被纯化的生物制剂和工艺中的总流速。例如,单克隆抗体的纯化可以包括大小为约90微米的树脂珠粒。此外,树脂珠粒的浓度可以在约0.01重量%至约25重量%的范围内。例如,树脂珠粒的浓度可以是约1重量%。在一些示例中,单克隆抗体的纯化可以包括浓度为约1重量%至约10重量%的树脂珠粒。在其它示例中,树脂珠粒的结合能力取决于珠粒浓度、表面积与体积比、亲和配体密度或其任意组合。

[0091] 在其它示例中,树脂珠粒可以是实心珠粒、多孔珠粒、纳米多孔珠粒、微孔珠粒或其任意组合。

[0092] 在一些实施例中,本文所描述的工艺包括将包含生物制剂的部分从第一模块的至少一个第一出口连续传递至第二模块,并且其中第二模块包括基于电荷的纯化设备(例如基于正电荷和/或负电荷的纯化设备),基于电荷的纯化设备还包括树脂珠粒。例如,树脂珠粒的表面可以具有阳离子官能团,其来源于带正电荷的官能团的偶联,从而能够实现基于电荷或静电相互作用的纯化。例如,带正电荷的官能团包括胺、阳离子聚合物、净正电荷肽、净正电荷蛋白质或其任意组合。替代地,树脂珠粒的表面可以具有阴离子官能团,来源于带负电荷的官能团的偶联,从而能够实现基于电荷或静电相互作用的纯化。例如,带负电荷的官能团包括羧基、阴离子聚合物、净负电荷肽、净负电荷蛋白质、寡核苷酸或其任意组合。

[0093] 在一些实施例中,基于电荷的纯化设备的树脂珠粒的直径为约0.2微米至约200微米。树脂珠粒的直径可以取决于被纯化的生物制剂和工艺中的总流速。例如,单克隆抗体的纯化可以包括大小为约90微米的树脂珠粒。此外,树脂珠粒的浓度可以在约0.01重量%至约25重量%的范围内。例如,树脂珠粒的浓度可以是约1重量%。在一些示例中,单克隆抗体的纯化可以包括浓度为约1重量%至约10重量%的树脂珠粒。在其它示例中,树脂珠粒的电荷或静电缔合能力取决于珠粒浓度、表面积与体积比、表面电荷密度、净电荷或其任意组合。在其它示例中,树脂珠粒可以是实心珠粒、多孔珠粒、纳米多孔珠粒、微孔珠粒或其任意组合。

[0094] 在一些实施例中,机械旋转系统(例如允许第一入口和/或第二入口与第一出口和/或第二出口之间的连续流体流)具有包括移动树脂珠粒(例如填充有移动树脂珠粒)的至少两个器皿,该器皿被配置为接收(例如连续接收)包含生物制剂的混合物,并且随后将所得到的包含生物制剂、树脂珠粒、缓冲或其任意组合的非均相混合物运输至指定纯化位置。

[0095] 在其它实施例中,系统(例如允许第一入口和/或第二入口与第一出口和/或第二出口之间的连续流体流的分级线性系统)具有包含移动树脂珠粒(例如填充有移动树脂珠粒)的至少两个器皿,该器皿被配置为接收(例如连续接收)包含生物制剂的混合物,并且随后处理所得到的包含生物制剂、树脂珠粒、缓冲或其任意组合的混合物。

[0096] 在一些实施例中,第一(基于亲和力的纯化)模块和/或第二(基于电荷的纯化,包括基于正电荷和/或负电荷的纯化设备)模块还包括以补料分批或灌注模式操作的至少一个切向流过滤系统,以浓缩和缓冲置换包含生物制剂的部分。

[0097] 在一些实施例中,本文所描述的工艺包括将滤液连续传递至能够将溶液分离成两个或更多个部分的第一模块,该两个或更多个部分包括包含生物制剂的至少一个部分,其中第一模块是基于亲和力的流体纯化设备,该设备具有至少一个混合流体装置或芯片。在一些实施例中,至少一个混合流体装置或芯片具有交叉流通道、至少一个磁场和至少一个机械力发生器。此外,至少一个机械力发生器可以包括能够生成限定单向力的超声换能器或压电部件。在其它示例中,至少一个外部磁场包括永磁体、电磁体、图案化磁体或其组合。例如,至少一个外部磁场的磁场强度可以是约0.01特斯拉(T)至约1特斯拉(例如高达1特斯拉)。在其它示例中,磁场强度为约0.01T、约0.1T或约1T。在其它实施例中,至少一个混合流体装置或芯片具有交叉流通道、至少一个磁场和至少一个介电泳电极。至少一个介电泳电极能够引起限定单向力。此外,至少一个外部磁场包括永磁体、电磁体、图案化磁体或其组合。例如,至少一个外部磁场的磁场强度可以是约0.01特斯拉至约1特斯拉(例如高达约1特

斯拉)。

[0098] 在一些实施例中,基于亲和力的流体纯化设备还包括磁性树脂珠粒。磁性树脂珠粒的表面,例如但不限于,与蛋白质A、蛋白质G、蛋白质L、抗原蛋白、蛋白质、受体、抗体或适体偶联。在一些示例中,磁性树脂珠粒可以是顺磁性的或超顺磁性的。

[0099] 在一些实施例中,基于亲和力的流体纯化设备的磁性树脂珠粒的直径为约0.2微米至约200微米。例如,单克隆抗体的纯化可以包括大小为约40微米的磁性树脂珠粒。此外,磁性树脂珠粒的浓度可以在约0.01重量%至约25重量%的范围内。例如,磁性树脂珠粒的初始浓度可以是约1重量%。在一些示例中,单克隆抗体的纯化可以包括浓度为约1重量%至约10重量%的磁性树脂珠粒。在其它示例中,磁性树脂珠粒的结合能力取决于珠粒浓度、表面积与体积比、亲和配体密度或其任意组合。在其它示例中,磁性树脂珠粒可以是实心珠粒、多孔珠粒、纳米多孔珠粒、微孔珠粒或其任意组合。

[0100] 在一些实施例中,本文所描述的工艺包括将包含生物制剂的部分从第一模块的至少一个第一出口连续传递至第二模块,其中第二模块包括基于电荷的流体纯化设备。例如,基于电荷的流体纯化设备具有至少一个混合流体装置或芯片。至少一个混合流体装置或芯片可以具有交叉流通道、至少一个磁场和至少一个机械力发生器。此外,至少一个机械力发生器包括能够生成限定单向力的超声换能器或压电部件。在其它示例中,至少一个外部磁场包括永磁体、电磁体、图案化磁体或其组合。例如,至少一个外部磁场的磁场强度可以是约0.01特斯拉(T)至约1特斯拉(例如高达约1特斯拉)。在其它示例中,磁场强度为约0.01T、约0.1T或约1T。在其它实施例中,混合流体装置或芯片可以具有交叉流通道、至少一个磁场和至少一个介电泳电极,其中至少一个介电泳电极能够引起限定单向力。此外,至少一个外部磁场包括永磁体或电磁体。在一些示例中,至少一个外部磁场的磁场强度为约0.01特斯拉至约1特斯拉(例如高达约1特斯拉)。

[0101] 在一些实施例中,基于电荷的流体纯化设备(例如基于正电荷和/或负电荷的流体纯化设备)还包括磁性树脂珠粒悬浮液。磁性树脂珠粒的表面具有阳离子官能团,其来源于带正电荷的官能团的偶联,从而能够实现基于电荷或静电相互作用的纯化。带正电荷的官能团包括胺、阳离子聚合物、净正电荷肽、净正电荷蛋白质或其任意组合。替代地,磁性树脂珠粒可以包括阴离子官能团,来源于带负电荷的官能团的偶联,从而能够实现基于电荷或静电相互作用的纯化。带负电荷的官能团包括羧基、阴离子聚合物、净负电荷肽、净负电荷蛋白质、寡核苷酸或其任意组合。在一些示例中,磁性树脂珠粒可以是顺磁性的或超顺磁性的。

[0102] 在一些示例中,基于电荷的流体纯化设备的磁性树脂珠粒的直径为约0.2微米至约200微米。磁性树脂珠粒的直径可以取决于被纯化的生物制剂和工艺中的流速。例如,单克隆抗体的纯化可以包括大小为约40微米的磁性树脂珠粒。此外,磁性树脂珠粒的浓度可以在约0.01重量%至约25重量%的范围内。例如,磁性树脂珠粒的浓度可以是约1重量%。在一些示例中,单克隆抗体的纯化可以包括浓度为约1重量%至约10重量%的磁性树脂珠粒。在其它示例中,磁性树脂珠粒的电荷或静电缔合能力取决于珠粒浓度、表面积与体积比、表面电荷密度、净电荷或其任意组合。在其它示例中,磁性树脂珠粒可以是实心珠粒、多孔珠粒、纳米多孔珠粒、微孔珠粒或其任意组合。

[0103] 在一些实施例中,第一(基于亲和力的流体纯化)模块还具有至少一个平衡器皿,

以允许生物制剂结合至磁性树脂珠粒表面;以及至少一个低pH平衡器皿,以允许生物制剂从磁性树脂珠粒表面的去结合相互作用。

[0104] 在一些实施例中,第二(基于电荷的流体纯化,包括基于正电荷和/或负电荷的流体纯化设备)模块还具有至少一个缔合平衡器皿,以允许生物制剂与磁性树脂珠粒表面基于电荷或静电相互作用缔合;以及至少一个解离平衡器皿,以允许生物制剂从磁性树脂珠粒表面解离。在一些示例中,多个解离平衡器皿与多个基于电荷的流体纯化设备一起使用,以实现梯度解离,例如pH梯度或离子强度梯度。

[0105] 在一些实施例中,如本文所描述的磁性树脂珠粒被回收且重复利用。例如,珠粒可以重复使用至少2次、3次、4次或更多次,以纯化生物制剂。为了实现磁性树脂珠粒的回收和重复利用,至少一个再生平衡器皿可以与切向流过滤系统组合使用,以浓缩和缓冲置换磁性树脂珠粒,从而使磁性树脂珠粒恢复其初始状态。

[0106] 如本文所描述的,第一(基于亲和力的流体纯化)模块和/或第二(基于电荷的流体纯化,包括基于正电荷和/或负电荷的流体纯化设备)模块包括混合微流体、中流体、毫流体、宏流体装置或芯片或其任意组合,以纯化生物制剂,例如包括至少一个磁场以及压电部件或介电泳电极中的至少一者的混合微流体装置。

[0107] 在一些实施例中,第一(基于亲和力的流体纯化)模块和/或第二(基于电荷的流体纯化,包括基于正电荷和/或负电荷的流体纯化设备)模块还包括以补料分批或灌注模式操作的至少一个切向流过滤系统,以浓缩和缓冲置换包含生物制剂的部分。

[0108] 在一些实施例中,本文所描述的工艺包括将滤液连续传递至能够将溶液分离成两个或更多个部分的第一模块,该两个或更多个部分包括包含生物制剂的至少一个部分,并且第一模块包括基于亲和力的TFF纯化设备。例如,基于亲和力的TFF纯化设备具有流体连通的至少三个切向流过滤系统。

[0109] 在一些实施例中,基于亲和力的TFF纯化设备还包括树脂珠粒悬浮液。树脂珠粒的表面,例如但不限于,与蛋白质A、蛋白质G、蛋白质L、抗原蛋白、蛋白质、受体、抗体或适体偶联。

[0110] 在一些实施例中,基于亲和力的TFF纯化设备的树脂珠粒的直径为约10微米至约200微米。树脂珠粒的直径可以取决于被纯化的生物制剂和工艺中的总流速。例如,单克隆抗体的纯化可以包括大小为约90微米的树脂珠粒。此外,树脂珠粒的浓度可以在约0.01重量%至约25重量%的范围内。例如,树脂珠粒的浓度可以是约1重量%至约20重量%。在其它示例中,树脂珠粒的结合能力取决于珠粒浓度、表面积与体积比、亲和配体密度或其任意组合。在其它示例中,树脂珠粒可以是实心珠粒、多孔珠粒、纳米多孔珠粒、微孔珠粒或其任意组合。

[0111] 在一些实施例中,本文所描述的工艺包括将包含生物制剂的部分从第一模块的至少一个第一出口连续传递至第二模块,并且其中第二模块包括基于电荷的TFF纯化设备(例如基于正电荷和/或负电荷的TFF纯化设备)。例如,基于电荷的TFF纯化设备具有流体连通的至少三个切向流过滤系统。

[0112] 在一些实施例中,基于电荷的TFF纯化设备还包括树脂珠粒悬浮液。例如,树脂珠粒的表面可以具有阳离子官能团,其来源于带正电荷的官能团的偶联,从而能够实现基于电荷或静电相互作用的纯化。例如,带正电荷的官能团包括胺、阳离子聚合物、净正电荷肽、

净正电荷蛋白质或其任意组合。替代地,树脂珠粒的表面可以具有阴离子官能团,来源于带负电荷的官能团的偶联,从而能够实现基于电荷或静电相互作用的纯化。例如,带负电荷的官能团包括羧基、阴离子聚合物、净负电荷肽、净负电荷蛋白质、寡核苷酸或其任意组合。

[0113] 在一些实施例中,基于电荷的TFF纯化设备的树脂珠粒的直径为约0.2微米至约200微米。树脂珠粒的直径可以取决于被纯化的生物制剂和工艺中的总流速。例如,单克隆抗体的纯化可以包括大小为约90微米的树脂珠粒。此外,树脂珠粒的浓度可以在约0.01重量%至约25重量%的范围内。例如,树脂珠粒的浓度可以是约1重量%至约20重量%。在其它示例中,树脂珠粒的电荷或静电缔合能力取决于珠粒浓度、表面积与体积比、表面电荷密度、净电荷或其任意组合。在其它示例中,树脂珠粒可以是实心珠粒、多孔珠粒、纳米多孔珠粒、微孔珠粒或其任意组合。

[0114] 在一些实施例中,第一(基于亲和力的TFF纯化)模块还具有至少一个平衡器皿,以允许生物制剂结合至树脂珠粒表面;以及至少一个低pH平衡器皿,以允许生物制剂从树脂珠粒表面的去结合相互作用。

[0115] 在一些实施例中,第二(基于电荷的TFF纯化,包括基于正电荷和/或负电荷的TFF纯化设备)模块还具有至少一个缔合平衡器皿,以允许生物制剂与树脂珠粒表面基于电荷或静电相互作用缔合;以及至少一个解离平衡器皿,以允许生物制剂从树脂珠粒表面解离。在一些示例中,多个解离平衡器皿与多个基于电荷的流体纯化设备一起使用,以实现梯度解离,例如pH梯度或离子强度梯度。

[0116] 在一些实施例中,如本文所描述的树脂珠粒被回收且重复利用。例如,珠粒可以重复使用至少2次、3次、4次或更多次,以纯化生物制剂。为了实现树脂珠粒的回收和重复利用,至少一个再生平衡器皿可以与切向流过滤系统组合使用,以浓缩和缓冲置换树脂珠粒,从而使树脂珠粒恢复其初始状态。

[0117] 在一些实施例中,第一(基于亲和力的TFF纯化)模块和/或第二(基于电荷的TFF纯化,包括基于正电荷和/或负电荷的TFF纯化设备)模块还包括至少一个切向流过滤系统,用于浓缩和缓冲置换包含生物制剂的部分。

[0118] 在其它实施例中,本文所描述的工艺包括将包含生物制剂的部分从第一模块的至少一个第一出口连续传递至第二模块,其中第二模块包括基于等电点的流体纯化设备,在本文中也称自由流电泳设备。例如,自由流电泳设备具有至少一个流体装置,该流体装置包括形成在两个平行板之间的流体通道、与流体流方向正交的电场或电场梯度、以及pH梯度,以在等电聚焦操作模式下进行操作。在其它示例中,基于等电点的流体纯化模块包括至少一个第一流体装置,该第一流体装置包括形成在两个平行板之间的流体通道、与流体流方向正交的电场或电场梯度、以及跨主分离通道的粗pH梯度(例如约2至约10的pH范围);以及至少一个第二流体装置,包括形成在两个平行板之间的流体通道、与流体流方向正交的电场或电场梯度、以及跨主分离通道的细pH梯度(例如约5至约8的pH范围)。在一些示例中,附加的后续流体装置或芯片包括形成在两个平行板之间的流体通道以及与流体流方向正交的电场或电场梯度,并且附加的后续流体装置或芯片可以用于进一步细化整个主分离通道上的pH梯度(例如约7.1至约7.6的pH范围)。替代地,自由流电泳设备具有至少一个流体装置,该流体装置包括形成在两个平行板之间的流体通道、与流体流方向正交的电场或电场梯度,并且没有pH梯度,以在区带电泳或电荷分离操作模式下进行操作。

[0119] 在其它示例中,基于等电点的流体纯化模块包括至少一个第一流体装置,该第一流体装置包括形成在两个平行板之间的流体通道、与流体流方向正交的电场或电场梯度、以及恒定碱性pH(例如大于7的pH);以及至少一个第二流体装置,包括形成在两个平行板之间的流体通道、与流体流方向正交的电场或电场梯度、以及恒定酸性pH(例如小于7的pH)。

[0120] 此外,自由流电泳设备具有至少一个流体装置,该流体装置包括形成在两个平行板之间的流体通道、与流体流方向正交的电场或电场梯度、以及由间隔溶液(例如NaCl溶液)分开的酸性pH梯度和碱性pH梯度两者,以在等速电泳操作模式下进行操作。

[0121] 在一些实施例中,基于等电点的流体纯化模块包括至少一个第一流体装置,该第一流体装置包括形成在两个平行板之间的流体通道,以及与流体流方向正交的电场或电场梯度;以及至少一个第二流体装置,该第二流体装置包括形成在两个平行板之间的流体通道和与流体流方向正交的电场或电场梯度,其中各装置串联连接,并且能够以独立的操作模式进行操作以实现纯化。例如,至少一个第一自由流电泳设备可以在等电聚焦模式下进行操作,并且至少一个第二自由流电泳设备可以在等速电泳模式下进行操作,第一自由流电泳设备和第二自由流电泳设备通过串联连接顺序进行操作,以提高分离分辨率。

[0122] 在其它实施例中,并非旨在限制地,基于等电点的流体纯化模块包括至少一个第一流体装置,该第一流体装置包括流体通道,流体通道具有能够引起限定单向力的至少一个介电泳电极;至少一个第二流体装置,该第二流体装置包括形成在两个平行板之间的流体通道、与流体流方向正交的电场或电场梯度、以及跨主分离通道的粗pH梯度(例如约2至约10的pH范围);以及至少一个第三流体装置,该第三流体装置包括形成在两个平行板之间的流体通道、与流体流方向正交的电场或电场梯度、以及跨主分离通道的细pH梯度(例如约5至约8的pH范围)。在一些示例中,附加的后续流体装置或芯片包括形成在两个平行板之间的流体通道和与流体流方向正交的电场或电场梯度,并且可以用于进一步细化跨主分离通道的pH梯度(例如约7.1至约7.6的pH范围)。

[0123] 在其它实施例中,基于等电点的流体纯化设备还包括主动冷却系统(例如Peltier装置、具有循环水/丙二醇夹套的热卡盘),以实现温度控制和焦耳散热。例如,主动冷却系统可以控制冷却和/或焦耳热耗散,从而能够在约4℃至约50℃的范围内,优选约4℃至约37℃的范围内进行操作。例如,在分离生物制剂(例如单克隆抗体)时,温度维持在约4℃至约37℃。

[0124] 在其它实施例中,用于纯化生物制剂的工艺还可以包括半连续地在第二模块下游进行的病毒灭活、病毒过滤、切向流过滤(TFF)、高性能切向流过滤(HP-TFF)、超滤/渗滤(UF/DF)、过滤灭菌、填充精加工、冻干或其任意组合。

[0125] 在一些示例中,本文所描述的整个工艺(生物制剂纯化工艺)在约4℃至约50℃,优选约4℃至约37℃范围内的温度下进行。此外,商业生产规模的用于纯化生物制剂的工艺在占地面积明显小于现有技术建筑面积的系统中进行,同时不会牺牲以千克/年为基础的产品通量或产量。例如,如本文所描述的用于生产和纯化单克隆抗体的工艺在占据高达约30,000平方英尺占地面积的情况下操作。相比之下,目前的单克隆抗体生产和下游工艺需要至少200,000平方英尺。

[0126] 本文所描述的工艺用于纯化生物制剂,生物制剂包括但不限于蛋白质或其片段(多肽)、抗体或其片段、细胞因子、趋化因子、酶、生长因子、寡核苷酸、病毒、腺病毒、腺伴随

病毒或慢病毒。

[0127] 动态过滤模块

[0128] 在一些方面,本文提供了一种用于从非均相混合物中的生物制剂中去除大杂质的动态过滤模块。动态过滤模块在负压下将生物制剂从与输入管线流体连通的至少一个输出头连续地馈送至动态过滤模块。

[0129] 在一些实施例中,动态过滤模块包括滤膜卷、膜支撑结构、至少一个支撑杆或辊、至少一个真空管线、真空系统和至少一个真空收集器皿。

[0130] 动态过滤模块包括在馈送卷筒和收集卷筒之间延伸的卷式滤膜,滤膜具有被配置为接收非均相混合物的目标区域(例如活性目标区域)。例如,滤膜卷的滤膜由适当材料制成,包括但不限于聚醚砜(PES)、亲水性聚砜、纤维素酯、醋酸纤维素、聚偏二氟乙烯(PVDF)、亲水性PVDF、聚碳酸酯、尼龙、聚四氟乙烯(PTFE)、或亲水性PTFE。

[0131] 在一些实施例中,卷式滤膜的孔径大小取决于被纯化的生物制剂。在一些示例中,卷式滤膜的孔径在 $0.1\mu\text{m}$ 至 $1\mu\text{m}$ 的范围内。替代地,孔径在约 $0.2\mu\text{m}$ 至约 $0.45\mu\text{m}$ 的范围内,或者孔径小于约 $0.45\mu\text{m}$ 。在其它示例中,当纯化抗体时,卷式滤膜的孔径在 $0.2\mu\text{m}$ 至约 $0.45\mu\text{m}$ 的范围内。

[0132] 在一些实施例中,滤膜卷的宽度为约10mm至约600mm。滤膜卷的宽度例如可以取决于诸如动态过滤系统的尺寸和膜支撑结构的尺寸的因素。

[0133] 在一些实施例中,滤膜卷还用作与收集卷筒连通的馈送卷筒,从而形成卷对卷系统。在操作中,将非均相混合物施加至滤膜新的未使用目标区域,本文也称“目标区域”(或“活性目标区域”),其中由于收集卷筒收集已使用的滤膜部分,滤膜以适当的输送速度连续移动穿过膜支撑结构。在一些示例中,馈送卷筒运动由与齿轮箱耦接的伺服电机控制,以将每分钟转数(RPM)限制为200:1,从而实现高扭矩下的低膜输送速度。收集卷筒运动由与齿轮箱耦接的伺服电机控制,以将数(RPM)限制为200:1,从而实现高扭矩下的低膜输送速度。此外,馈送卷筒电机和收集卷筒电机由操作反馈机构的闭环控制器来控制,以确保在操作期间馈送卷筒和收集卷筒两者上的滤膜卷的直径不断变化的情况下,膜输送速度保持一致。

[0134] 例如,确保膜输送速度保持一致可以使用厚度监测系统或旋转编码器来实现。在一些示例中,馈送卷筒和收集卷筒以相等的速度在相同的方向上进行操作。在其它示例中,馈送卷筒和收集卷筒以不同速度在相同的方向上进行操作。将滤膜从馈送卷筒输送至收集卷筒的其它方法是涂覆和转化工业领域的技术人员能够想到的。在其它示例中,两个动态过滤系统并行运行。例如,两个并行的动态过滤系统可以实现在更换用完的滤膜卷期间流过系统的连续流。此外,两个并行的动态过滤系统可以允许完全真空收集器皿平衡至大气压力,使得流体流能够到达第一纯化模块,而不中断从生物反应器渗流管线连续接收非均相混合物的过程。

[0135] 另外,动态过滤模块包括膜支撑结构,以在滤膜经历负压时支撑滤膜的目标区域(例如活性目标区域)。膜支撑结构定位在馈送卷筒和收集卷筒之间,具有来源于具有低静摩擦系数的材料(例如PTFE)的机械光滑接触表面,并且具有与真空管线具有连续性的开口。在一些示例中,开口可以包括网格、至少一个槽、至少一个孔、玻璃料、多孔材料或其任意组合。

[0136] 在一些实施例中,动态过滤模块的至少一个支撑杆或辊具有来源于具有低静摩擦系数的材料(例如PTFE、PFA)的机械光滑的接触表面。在一些示例中,动态过滤模块包括具有机械光滑的接触表面的至少一个支撑杆或辊,以稳定滤膜跨膜支撑结构的运动。

[0137] 在一些实施例中,动态过滤模块的膜支撑结构包括温度控制机构,以在存在蒸发冷却的情况下维持期望温度。温度控制机构将温度维持在约4℃至约37℃。例如,在抗体的纯化期间,温度控制机构将温度维持在约15℃至约37℃的范围内。

[0138] 在一些实施例中,动态过滤模块包括至少一个输出头,输出头用于调节非均相混合物的流动,并将非均相混合物分配到滤膜的目标区域(例如活性目标区域)上。在一些示例中,至少一个输出头是管或槽模。

[0139] 在一些实施例中,动态过滤模块还包括至少一个附加输入管线,以经由同轴输出头、单独的单轴输出头、单独的槽模输出头或具有多个开口的槽模输出头供应洗涤缓冲。

[0140] 在一些实施例中,动态过滤模块包括涂覆和转化工业中已知的元件,例如但不限于主动或被动边缘引导件、张力控制器(例如浮动辊)、断裂和张力的检测器,或其任意组合。

[0141] 在一些实施例中,动态过滤模块包括与膜支撑结构具有连续性的真空系统,以跨滤膜的目标区域(例如活性目标区域)而施加负压,其中负压允许实现跨越膜支撑结构的滤膜的目标区域(例如活性目标区域),并且使得能够收集包含生物制剂的滤液。在一些示例中,动态过滤模块的真空系统维持约-0.05巴至约-0.98巴的表压,以用于连续过滤。

[0142] 在一些实施例中,动态过滤模块还包括被配置为收集滤液的至少一个真空收集器皿,以及至少一个传感器或检测器。在一些示例中,两个并行动态过滤系统在时间上交错运行,以允许在第一真空收集器皿完全填充并平衡至大气压之后连续流过系统的流。

[0143] 在一些实施例中,通过动态过滤从非均相混合物中连续去除大杂质(例如细胞、细胞碎片和聚集体)的工艺包括使用不同孔径的至少两个离散卷式滤膜进行多级过滤。在一些示例中,该多级动态过滤过程包括至少一个第一动态过滤设备,第一动态过滤设备与第二动态过滤设备流体连通,第一动态过滤设备具有带有大孔径(例如0.45μm)的卷式滤膜,第二动态过滤设备具有带有小孔径(例如0.2μm)的卷式滤膜,从而产生包含生物制剂的滤液。替代地,类似的结果可以通过单个动态过滤设备实现,该动态过滤设备具有由单独的馈送卷筒馈送的至少两个卷式滤膜,从而形成跨活性目标区域的分层滤膜组,其中非均相混合物首先接触大孔径(例如0.45μm)滤膜,然后接触小孔径(例如0.2μm)滤膜。

[0144] 基于亲和力的磁性纯化模块

[0145] 在一些方面,本文提供了一种基于亲和力的磁性纯化模块,用于将混合物分离成两个或更多个部分,其中至少一个部分包含生物制剂。基于亲和力的磁性纯化模块包括至少一个入口和至少一个出口,被配置为允许至少一个入口与至少一个出口之间的连续流体流,并且其中流速在稳态操作期间可以是例如一致且恒定的。

[0146] 在一些实施例中,基于亲和力的磁性纯化模块包括磁性树脂珠粒悬浮液,其中磁性树脂珠粒表面(非限制性地)与蛋白质A、蛋白质G、蛋白质L、抗原蛋白、蛋白质、受体、抗体或被配置为选择性地结合生物制剂的适体偶联。在一些示例中,磁性树脂珠粒是可移动的。

[0147] 此外,基于亲和力的磁性纯化模块包括回路传送系统,回路传送系统包括装有磁性树脂珠粒的至少两个运输器皿,运输器皿被配置为连续接收包含生物制剂的混合物,并且随后运输所得到的包含生物制剂、磁性树脂珠粒、缓冲或其任意组合的非均相混合物。

[0148] 替代地,基于亲和力的磁性纯化模块包括拾取和放置机器人系统,拾取和放置机器人系统包括装有磁性树脂珠粒的至少两个运输器皿,运输器皿被配置为连续接收包含生物制剂的混合物,并且随后运输所得到的包含生物制剂、磁性树脂珠粒、缓冲或其任意组合的非均相混合物。

[0149] 在一些实施例中,基于亲和力的磁性纯化模块包括至少一个外部磁场,外部磁场可以用于从非均相混合物中吸引并进而分离磁性树脂珠粒,以实现洗涤。此外,至少一个外部磁场可以用于从非均相混合物中吸引并进而分离磁性树脂珠粒,以实现生物制剂的洗脱。替代地,至少一个外部磁场可以用于实现磁性树脂珠粒的回收再利用。在一些示例中,磁性树脂珠粒的混合可以通过将至少一个运输器皿放置在两个独立且相对的磁场之间来实现,磁场在开启状态与关闭状态之间切换。

[0150] 在一些实施例中,基于亲和力的磁性纯化模块包括至少一个结合/洗涤缓冲系统。

[0151] 在一些实施例中,基于亲和力的磁性纯化模块包括至少一个洗脱缓冲系统。

[0152] 在一些实施例中,基于亲和力的磁性纯化模块包括至少一个磁性树脂珠粒再生缓冲系统。

[0153] 在一些实施例中,基于亲和力的磁性纯化模块包括至少一个抽吸器系统,以从至少两个运输器皿中去除废溶液。

[0154] 在一些实施例中,基于亲和力的磁性纯化模块包括至少一个传感器或检测器。

[0155] 在一些实施例中,基于亲和力的磁性纯化模块包括至少一个流体处理泵。

[0156] 基于正电荷的磁性纯化模块

[0157] 在一些方面,本文提供了一种基于正电荷的磁性纯化模块,用于将混合物分离成两个或更多个部分,其中至少一个部分包含生物制剂。基于正电荷的磁性纯化模块包括至少一个入口和至少一个出口,被配置为允许至少一个入口与至少一个出口之间的连续流体流,并且其中流速在稳态操作期间可以是例如一致且恒定的。

[0158] 在一些实施例中,基于正电荷的磁性纯化模块包括磁性树脂珠粒悬浮液,其中磁性树脂珠粒表面包含阳离子官能团,阳离子官能团被配置为以特定pH和离子强度与生物制剂选择性地缔合。在一些示例中,磁性树脂珠粒是可移动的。

[0159] 此外,基于正电荷的磁性纯化模块包括回路传送系统,回路传送系统包括装有磁性树脂珠粒的至少两个运输器皿,运输器皿被配置为连续接收包含生物制剂的混合物,并且随后运输所得到的包含生物制剂、磁性树脂珠粒、缓冲或其任意组合的非均相混合物。

[0160] 替代地,基于正电荷的磁性纯化模块包括拾取和放置机器人系统,拾取和放置机器人系统包括装有磁性树脂珠粒的至少两个运输器皿,运输器皿被配置为连续接收包含生物制剂的混合物,并且随后运输所得到的包含生物制剂、磁性树脂珠粒、缓冲或其任意组合的非均相混合物。

[0161] 在一些实施例中,基于正电荷的磁性纯化模块包括至少一个外部磁场,外部磁场可以用于从非均相混合物中吸引并进而分离磁性树脂珠粒,以实现洗涤。此外,至少一个外部磁场可以用于从非均相混合物中吸引并进而分离磁性树脂珠粒,以实现生物制剂的解离和纯化。替代地,至少一个外部磁场可以用于实现磁性树脂珠粒的回收再利用。在一些示例中,磁性树脂珠粒的混合可以通过将至少一个运输器皿放置在两个独立且相对的磁场之间来实现,磁场在开启状态与关闭状态之间切换。

- [0162] 在一些实施例中,基于正电荷的磁性纯化模块包括至少一个缔合/洗涤缓冲系统。
- [0163] 在一些实施例中,基于正电荷的磁性纯化模块包括至少一个解离缓冲系统。在一些示例中,顺序使用改变pH、离子强度或其任意组合的多种解离缓冲,以形成梯度解离效果。
- [0164] 在一些实施例中,基于正电荷的磁性纯化模块包括至少一个磁性树脂珠粒再生缓冲系统。
- [0165] 在一些实施例中,基于正电荷的磁性纯化模块包括至少一个抽吸器系统,以从至少两个运输器皿中去除废溶液。
- [0166] 在一些实施例中,基于正电荷的磁性纯化模块包括至少一个传感器或检测器。
- [0167] 在一些实施例中,基于正电荷的磁性纯化模块包括至少一个流体处理泵。
- [0168] 基于负电荷的磁性纯化模块
- [0169] 在一些方面,本文提供了一种基于负电荷的磁性纯化模块,用于将混合物分离成两个或更多个部分,其中至少一个部分包含生物制剂。基于负电荷的磁性纯化模块包括至少一个入口和至少一个出口,被配置为允许至少一个入口与至少一个出口之间的连续流体流,并且其中流速在稳态操作期间可以是例如一致且恒定的。
- [0170] 在一些实施例中,基于负电荷的磁性纯化模块包括磁性树脂珠粒悬浮液,其中磁性树脂珠粒表面包含阴离子官能团,阳离子官能团被配置为以特定pH和离子强度与生物制剂选择性地缔合。在一些示例中,磁性树脂珠粒是可移动的。
- [0171] 此外,基于负电荷的磁性纯化模块包括回路传送系统,回路传送系统包括装有磁性树脂珠粒的至少两个运输器皿,运输器皿被配置为连续接收包含生物制剂的混合物,并且随后运输所得到的包含生物制剂、磁性树脂珠粒、缓冲或其任意组合的非均相混合物。
- [0172] 替代地,基于负电荷的磁性纯化模块包括拾取和放置机器人系统,拾取和放置机器人系统包括装有磁性树脂珠粒的至少两个运输器皿,运输器皿被配置为连续接收包含生物制剂的混合物,并且随后运输所得到的包含生物制剂、磁性树脂珠粒、缓冲或其任意组合的非均相混合物。
- [0173] 在一些实施例中,基于负电荷的磁性纯化模块包括至少一个外部磁场,外部磁场可以用于从非均相混合物中吸引并进而分离磁性树脂珠粒,以实现洗涤。此外,至少一个外部磁场可以用于从非均相混合物中吸引并进而分离磁性树脂珠粒,以实现生物制剂的解离和纯化。替代地,至少一个外部磁场可以用于实现磁性树脂珠粒的回收再利用。在一些示例中,磁性树脂珠粒的混合可以通过将至少一个运输器皿放置在两个独立且相对的磁场之间来实现,磁场在开启状态与关闭状态之间切换。
- [0174] 在一些实施例中,基于负电荷的磁性纯化模块包括至少一个缔合/洗涤缓冲系统。
- [0175] 在一些实施例中,基于负电荷的磁性纯化模块包括至少一个解离缓冲系统。在一些示例中,顺序使用改变pH、离子强度或其任意组合的多种解离缓冲,以形成梯度解离效果。
- [0176] 在一些实施例中,基于负电荷的磁性纯化模块包括至少一个磁性树脂珠粒再生缓冲系统。
- [0177] 在一些实施例中,基于负电荷的磁性纯化模块包括至少一个抽吸器系统,以从至少两个运输器皿中去除废溶液。

[0178] 在一些实施例中,基于负电荷的磁性纯化模块包括至少一个传感器或检测器。

[0179] 在一些实施例中,基于负电荷的磁性纯化模块包括至少一个流体处理泵。

[0180] 基于亲和力的纯化模块

[0181] 在一些方面,本文提供了一种基于亲和力的纯化模块,用于将混合物分离成两个或更多个部分,其中至少一个部分包含生物制剂。基于亲和力的纯化模块包括至少一个入口和至少一个出口,被配置为允许至少一个入口与至少一个出口之间的连续流体流,并且其中流速在稳态操作期间可以是例如一致且恒定的。

[0182] 在一些实施例中,基于亲和力的纯化模块包括树脂珠粒悬浮液,其中树脂珠粒表面(非限制性地)与蛋白质A、蛋白质G、蛋白质L、抗原蛋白、蛋白质、受体、抗体或被配置为选择性地结合生物制剂的适体偶联。在一些示例中,树脂珠粒是可移动的。

[0183] 在一些实施例中,基于亲和力的纯化模块包括具有至少一个垫圈盖的盖系统,其中至少一个垫圈盖具有用于引入气体以控制正压头压力的至少一个入口。此外,盖系统具有用于平衡至大气压力的至少一个排气口、用于引入树脂珠粒悬浮液的至少一个入口、用于接收包含生物制剂的滤液的至少一个入口、和/或用于引入缓冲系统以分散树脂珠粒,从而实现树脂珠粒的洗涤、洗脱或再生的至少两个入口。在一些实施例中,至少一个垫圈盖还包括用于接纳架空搅拌叶轮以分散树脂珠粒的口。在一些示例中,盖系统控制沿z轴的运动。

[0184] 在一些实施例中,基于亲和力的纯化模块包括机械旋转系统,例如转盘,包括装有树脂珠粒的至少两个器皿,器皿被配置为连续接收包含生物制剂的混合物,并且随后运输所得到的包含生物制剂、树脂珠粒、缓冲或其任意组合的非均相混合物。在一些示例中,转盘是保持至少两个器皿并将其运输至不同工艺位置的旋转结构。在一些示例中,机械旋转系统被配置为与盖系统配合以实现加压和液体处理。在其它示例中,机械旋转系统控制xy平面中的运动或旋转。

[0185] 在一些实施例中,基于亲和力的纯化模块的至少两个器皿分别具有被支撑的基底过滤器或滤膜。在一些示例中,基底过滤器(或滤膜)使得能够在结合、去结合、洗涤、洗脱和/或再生的工艺步骤期间保持树脂珠粒。在一些示例中,至少两个器皿还可以包括用于控制液体流的阀。

[0186] 在其它实施例中,基于亲和力的纯化模块包括分级线性系统,例如装有树脂珠粒的至少两个器皿,器皿被配置为连续接收包含生物制剂的混合物,并且随后处理所得到的包含生物制剂、树脂珠粒、缓冲或其任意组合的非均相混合物。在一些示例中,至少两个器皿被配置为与盖系统配合以实现加压和液体处理。

[0187] 在一些实施例中,基于亲和力的纯化模块包括收集系统,收集系统与机械旋转系统的至少两个器皿中的至少一个进行接合,从而能够收集废弃物、包含生物制剂的部分或其任意组合。在一些示例中,收集系统控制沿z轴的运动。

[0188] 在其它实施例中,基于亲和力的纯化模块包括收集系统,收集系统与分级线性系统的至少两个器皿中的至少一个进行接合,从而能够收集废弃物、包含生物制剂的部分或其任意组合。在一些示例中,收集系统连接至至少两个器皿中的至少一个。

[0189] 在一些实施例中,基于亲和力的纯化模块包括至少一种气体。在一些实施例中,并非旨在限制地,气体包括过滤后的氮气或压缩的干燥空气。在一些示例中,气体形成约0.1

至约30psi的压头。

[0190] 在一些实施例中,基于亲和力的纯化模块包括至少一个结合/洗涤缓冲系统。

[0191] 在一些实施例中,基于亲和力的纯化模块包括至少一个低pH洗脱缓冲系统。

[0192] 在一些实施例中,基于亲和力的纯化模块包括至少一个树脂珠粒再生缓冲系统。

[0193] 在一些实施例中,基于亲和力的纯化模块包括至少一个收集器皿。

[0194] 在一些实施例中,基于亲和力的纯化模块包括至少一个传感器或检测器。

[0195] 在一些实施例中,基于亲和力的纯化模块包括至少一个流体处理泵。

[0196] 基于正电荷的纯化模块

[0197] 本文还提供了一种基于正电荷的纯化模块,用于将混合物分离成两个或更多个部分,其中至少一个部分包含生物制剂。基于正电荷的纯化模块包括至少一个入口和至少一个出口,被配置为允许至少一个入口与至少一个出口之间的连续流体流,并且其中流速在稳态操作期间可以是例如一致且恒定的。

[0198] 在一些实施例中,基于正电荷的纯化模块包括树脂珠粒悬浮液,其中树脂珠粒表面包含阳离子官能团,阳离子官能团被配置为以特定pH和离子强度与生物制剂选择性地缔合。在一些示例中,树脂珠粒是可移动的。

[0199] 在一些实施例中,基于正电荷的纯化模块包括具有至少一个垫圈盖的盖系统,至少一个垫圈盖包括用于引入气体以控制正压头压力的至少一个入口;用于引入树脂珠粒悬浮液的至少一个入口;用于平衡至大气压力的至少一个排气口;用于接收包含生物制剂的滤液的至少一个入口;用于引入缓冲系统以分散树脂珠粒,从而实现树脂珠粒的洗涤、解离或再生的至少两个入口。在一些实施例中,至少一个垫圈盖还包括用于接纳架空搅拌叶轮以分散树脂珠粒的口。在一些示例中,盖系统控制沿z轴的运动。

[0200] 在一些实施例中,基于正电荷的纯化模块包括机械旋转系统,例如转盘,包括装有树脂珠粒的至少两个器皿,器皿被配置为连续接收包含生物制剂的混合物,并且随后运输所得到的包含生物制剂、树脂珠粒、缓冲或其任意组合的非均相混合物。在一些示例中,转盘是保持至少两个器皿并将其运输至不同工艺位置的旋转结构。在一些示例中,机械旋转系统被配置为与盖系统配合以实现加压。在其它示例中,机械旋转系统控制xy平面中的运动或旋转。

[0201] 在一些实施例中,基于正电荷的纯化模块的至少两个器皿分别具有被支撑的基底过滤器或滤膜。在一些示例中,基底过滤器(或滤膜)使得能够在缔合、洗涤、解离和/或再生的工艺步骤期间保持树脂珠粒。在一些示例中,至少两个器皿还可以包括用于控制液体流的阀。

[0202] 在其它实施例中,基于正电荷的纯化模块包括分级线性系统,例如装有树脂珠粒的至少两个器皿,器皿被配置为连续接收包含生物制剂的混合物,并且随后处理所得到的包含生物制剂、树脂珠粒、缓冲或其任意组合的非均相混合物。在一些示例中,至少两个器皿被配置为与盖系统配合以实现加压和液体处理。

[0203] 在一些实施例中,基于正电荷的纯化模块包括收集系统,收集系统与机械旋转系统的至少两个器皿中的至少一个进行接合,从而能够收集废弃物、包含生物制剂的部分或其任意组合。在一些示例中,收集系统控制沿z轴的运动。

[0204] 在其它实施例中,基于正电荷的纯化模块包括收集系统,收集系统与分级线性系

统的至少两个器皿中的至少一个进行接合,从而能够收集废弃物、包含生物制剂的部分或其任意组合。在一些示例中,收集系统连接至至少两个器皿中的至少一个。

[0205] 在一些实施例中,基于亲和力的纯化模块包括至少一种气体。在一些实施例中,并非旨在限制地,气体包括过滤后的氮气或压缩的干燥空气。在一些示例中,气体形成约0.1至约30psi的压头。

[0206] 在一些实施例中,基于正电荷的纯化模块包括至少一个缔合/洗涤缓冲系统。

[0207] 在一些实施例中,基于正电荷的纯化模块包括至少一个解离缓冲系统。在一些示例中,连续或顺序地使用改变pH、离子强度或其任意组合的多种解离缓冲,以形成梯度解离效果。

[0208] 在一些实施例中,基于正电荷的纯化模块包括至少一个树脂珠粒再生缓冲系统。

[0209] 在一些实施例中,基于正电荷的纯化模块包括至少一个收集器皿。

[0210] 在一些实施例中,基于正电荷的纯化模块包括至少一个传感器或检测器。

[0211] 在一些实施例中,基于正电荷的纯化模块包括至少一个流体处理泵。

[0212] 基于负电荷的纯化模块

[0213] 在一些方面,本文提供了一种基于负电荷的纯化模块,用于将混合物分离成两个或更多个部分,其中至少一个部分包含生物制剂。基于负电荷的纯化模块包括至少一个入口和至少一个出口,被配置为允许至少一个入口与至少一个出口之间的连续流体流,并且其中流速在稳态操作期间可以是例如一致且恒定的。

[0214] 在一些实施例中,基于负电荷的纯化模块包括树脂珠粒悬浮液,其中树脂珠粒表面包含阳离子官能团,阳离子官能团被配置为以特定pH和离子强度与生物制剂选择性地缔合。

[0215] 在一些实施例中,基于负电荷的纯化模块包括具有至少一个垫圈盖的盖系统,至少一个垫圈盖包括用于引入气体以控制正压头压力的至少一个入口;用于平衡至大气压力的至少一个排气口;用于引入树脂珠粒悬浮液的至少一个入口;用于接收包含生物制剂的滤液的至少一个入口;用于引入缓冲系统以分散树脂珠粒,从而实现树脂珠粒的洗涤、解离或再生的至少两个入口。在一些实施例中,至少一个垫圈盖还包括用于接纳架空搅拌叶轮以分散树脂珠粒的口。在一些示例中,盖系统控制沿z轴的运动。

[0216] 在一些实施例中,基于负电荷的纯化模块包括机械旋转系统,例如转盘,包括装有树脂珠粒的至少两个器皿,器皿被配置为连续接收包含生物制剂的混合物,并且随后运输所得到的包含生物制剂、树脂珠粒、缓冲或其任意组合的非均相混合物。在一些示例中,转盘是保持至少两个器皿并将其运输至不同工艺位置的旋转结构。在一些示例中,机械旋转系统被配置为与盖系统配合以实现加压。在其它示例中,机械旋转系统控制xy平面中的运动或旋转。

[0217] 在一些实施例中,基于正电荷的纯化模块的至少两个器皿分别具有被支撑的基底过滤器或滤膜。在一些示例中,基底过滤器(或滤膜)使得能够在缔合、洗涤、解离和/或再生的工艺步骤期间保持树脂珠粒。在一些示例中,至少两个器皿还可以包括用于控制液体流动的阀。

[0218] 在其它实施例中,基于正电荷的纯化模块包括分级线性系统,例如装有树脂珠粒的至少两个器皿,器皿被配置为连续接收包含生物制剂的混合物,并且随后处理所得到的

包含生物制剂、树脂珠粒、缓冲或其任意组合的非均相混合物。在一些示例中,至少两个器皿被配置为与盖系统配合以实现加压和液体处理。

[0219] 在一些实施例中,基于正电荷的纯化模块包括收集系统,收集系统与机械旋转系统的至少两个器皿中的至少一个进行接合,从而能够收集废弃物、包含生物制剂的部分或其任意组合。在一些示例中,收集系统控制沿z轴的运动。

[0220] 在其它实施例中,基于正电荷的纯化模块包括收集系统,收集系统与分级线性系统的至少两个器皿中的至少一个进行接合,从而能够收集废弃物、包含生物制剂的部分或其任意组合。在一些示例中,收集系统连接至至少两个器皿中的至少一个。

[0221] 在一些实施例中,基于亲和力的纯化模块包括至少一种气体。在一些实施例中,并非旨在限制地,气体包括过滤后的氮气或压缩的干燥空气。在一些示例中,气体形成约0.1至约30psi的压头。

[0222] 在一些实施例中,基于负电荷的纯化模块包括至少一个缔合/洗涤缓冲系统。

[0223] 在一些实施例中,基于负电荷的纯化模块包括至少一个解离缓冲系统。在一些示例中,连续或顺序地使用改变pH、离子强度或其任意组合的多种解离缓冲,以形成梯度解离效果。

[0224] 在一些实施例中,基于负电荷的纯化模块包括至少一个树脂珠粒再生缓冲系统。

[0225] 在一些实施例中,基于负电荷的纯化模块包括至少一个收集器皿。

[0226] 在一些实施例中,基于负电荷的纯化模块包括至少一个传感器或检测器。

[0227] 在一些实施例中,基于负电荷的纯化模块包括至少一个流体处理泵。

[0228] 基于亲和力的流体纯化模块

[0229] 在一些方面,本文提供了一种基于亲和力的流体纯化模块,用于将混合物分离成两个或更多个部分,其中至少一个部分包含生物制剂。基于亲和力的流体纯化模块包括至少一个入口和至少一个出口,被配置为允许至少一个入口与至少一个出口之间的连续流体流,并且其中流速在稳态操作期间可以是例如一致且恒定的。

[0230] 在一些实施例中,基于亲和力的流体纯化模块包括磁性树脂珠粒悬浮液,其中磁性树脂珠粒表面(非限制性地)与蛋白质A、蛋白质G、蛋白质L、抗原蛋白、蛋白质、受体、抗体或被配置为选择性地结合生物制剂的适体偶联。在一些示例中,磁性树脂珠粒是可移动的。

[0231] 在一些实施例中,基于亲和力的流体纯化模块包括至少一个平衡器皿,以允许生物制剂结合至磁性树脂珠粒表面;以及至少一个第一混合交叉流流体装置,混合交叉流流体装置包括交叉流通道、至少一个磁场、以及压电部件或介电泳电极中的至少一个,被配置为产生或引起单向力,以使结合了生物制剂的磁性树脂珠粒与非均相混合物分离。

[0232] 在一些实施例中,基于亲和力的流体纯化模块还包括至少一个低pH平衡器皿,以允许生物制剂从磁性树脂珠粒表面去结合;以及至少一个第二混合交叉流流体装置,第二混合交叉流流体装置包括交叉流通道、至少一个磁场、以及压电部件或介电泳电极中的至少一个,被配置为产生或引起单向力,以使磁性树脂珠粒与未接合的生物制剂分离并完成其洗脱。

[0233] 在一些实施例中,基于亲和力的流体纯化模块还包括以补料分批或灌注模式进行操作的至少一个切向流过滤系统,以浓缩和缓冲置换包含生物制剂的部分。

[0234] 在一些实施例中,基于亲和力的流体纯化模块包括至少两个缓冲系统。

[0235] 在一些实施例中,基于亲和力的流体纯化模块包括至少一个磁性树脂珠粒再生缓冲系统。

[0236] 在一些实施例中,基于亲和力的流体纯化模块包括至少一个平衡器皿,平衡器皿被配置为实现磁性树脂珠粒的回收再利用。

[0237] 在一些实施例中,基于亲和力的流体纯化模块包括至少一个传感器或检测器。

[0238] 在一些实施例中,基于亲和力的流体纯化模块包括至少一个流体处理泵。

[0239] 基于正电荷的流体纯化模块

[0240] 在一些方面,本文提供了一种基于正电荷的流体纯化模块,用于将混合物分离成两个或更多个部分,其中至少一个部分包含生物制剂。基于正电荷的流体纯化模块包括至少一个入口和至少一个出口,被配置为允许至少一个入口与至少一个出口之间的连续流体流,并且其中流速在稳态操作期间可以是例如一致且恒定的。

[0241] 在一些实施例中,基于正电荷的流体纯化模块包括磁性树脂珠粒悬浮液,其中磁性树脂珠粒表面包含阳离子官能团,阳离子官能团被配置为以特定pH和离子强度与生物制剂选择性地缔合。在一些示例中,磁性树脂珠粒是可移动的。

[0242] 在一些实施例中,基于正电荷的流体纯化模块包括至少一个缔合平衡器皿,以允许生物制剂与磁性树脂珠粒表面缔合;以及至少一个第一混合交叉流流体装置,第一混合交叉流流体装置包括交叉流通道、至少一个磁场、以及压电部件或介电泳电极中的至少一个,被配置为产生或引起单向力,以使缔合了生物制剂的磁性树脂珠粒与非均相混合物分离。

[0243] 在一些实施例中,基于正电荷的流体纯化模块包括至少一个解离平衡器皿,以允许生物制剂从磁性树脂珠粒表面解离;以及至少一个第二混合交叉流流体装置,第二混合交叉流流体装置包括交叉流通道、至少一个磁场、以及压电部件或介电泳电极中的至少一个,被配置为产生或引起单向力,以使磁性树脂珠粒与未接合的生物制剂解离并完成其纯化。在一些示例中,顺序使用包括改变pH、离子强度或其任意组合的离散缓冲的多个解离平衡器皿,以形成梯度解离效果。

[0244] 在一些实施例中,基于正电荷的流体纯化模块还包括以补料分批或灌注模式进行操作的至少一个切向过滤系统,以浓缩和缓冲置换包含生物制剂的部分。

[0245] 在一些实施例中,基于正电荷的流体纯化模块包括至少两个缓冲系统。

[0246] 在一些实施例中,基于正电荷的流体纯化模块包括至少一个磁性树脂珠粒再生缓冲系统。

[0247] 在一些实施例中,基于正电荷的流体纯化模块包括至少一个平衡器皿,平衡器皿被配置为实现磁性树脂珠粒的回收再利用。

[0248] 在一些实施例中,基于正电荷的流体纯化模块包括至少一个传感器或检测器。

[0249] 在一些实施例中,基于正电荷的流体纯化模块包括至少一个流体处理泵。

[0250] 基于负电荷的流体纯化模块

[0251] 在一些方面,本文提供了一种基于负电荷的流体纯化模块,用于将混合物分离成两个或更多个部分,其中至少一个部分包含生物制剂。基于负电荷的流体纯化模块包括至少一个入口和至少一个出口,被配置为允许至少一个入口与至少一个出口之间的连续流体流,并且其中流速在稳态操作期间可以是例如一致且恒定的。

[0252] 在一些实施例中,基于负电荷的流体纯化模块包括磁性树脂珠粒悬浮液,其中磁性树脂珠粒表面包含阴离子官能团,阳离子官能团被配置为以特定pH和离子强度与生物制剂选择性地缔合。在一些示例中,磁性树脂珠粒是可移动的。

[0253] 在一些实施例中,基于负电荷的流体纯化模块包括至少一个缔合平衡器皿,以允许生物制剂与磁性树脂珠粒表面缔合;以及至少一个第一混合交叉流流体装置,第一混合交叉流流体装置包括交叉流通道、至少一个磁场、以及压电部件或介电泳电极中的至少一个,被配置为产生或引起单向力,以使缔合了生物制剂的磁性树脂珠粒与非均相混合物分离。

[0254] 在一些实施例中,基于负电荷的流体纯化模块包括至少一个解离平衡器皿,以允许生物制剂从磁性树脂珠粒表面解离;以及至少一个第二混合交叉流流体装置,第二混合交叉流流体装置包括交叉流通道、至少一个磁场、以及压电部件或介电泳电极中的至少一个,被配置为产生或引起单向力,以使磁性树脂珠粒与未接合的生物制剂解离并完成其纯化。在一些示例中,顺序使用包括改变pH、离子强度或其任意组合的离散缓冲的多个解离平衡器皿,以形成梯度解离效果。

[0255] 在一些实施例中,基于负电荷的流体纯化模块还包括以补料分批或灌注模式进行操作的至少一个切向流过滤系统,以浓缩和缓冲置换包含生物制剂的部分。

[0256] 在一些实施例中,基于负电荷的流体纯化模块包括至少两个缓冲系统。

[0257] 在一些实施例中,基于负电荷的流体纯化模块包括至少一个磁性树脂珠粒再生缓冲系统。

[0258] 在一些实施例中,基于负电荷的流体纯化模块包括至少一个平衡器皿,平衡器皿被配置为实现磁性树脂珠粒的回收再利用。

[0259] 在一些实施例中,基于负电荷的流体纯化模块包括至少一个传感器或检测器。

[0260] 在一些实施例中,基于负电荷的流体纯化模块包括至少一个流体处理泵。

[0261] 基于亲和力的TFF纯化模块

[0262] 在一些方面,本文提供了一种基于亲和力的TFF纯化模块,用于将混合物分离成两个或更多个部分,其中至少一个部分包含生物制剂。基于亲和力的TFF纯化模块包括至少一个入口和至少一个出口,被配置为允许至少一个入口与至少一个出口之间的连续流体流,并且其中流速稳态操作期间是一致且恒定的。

[0263] 在一些实施例中,基于亲和力的TFF纯化模块包括树脂珠粒悬浮液,其中树脂珠粒表面(非限制性地)与蛋白质A、蛋白质G、蛋白质L、抗原蛋白、蛋白质、受体、抗体或被配置为选择性地结合生物制剂的适体偶联。在一些示例中,磁性树脂珠粒是可移动的。

[0264] 在一些实施例中,基于亲和力的TFF纯化模块包括至少一个平衡器皿,以允许生物制剂结合至树脂珠粒表面;以及至少一个第一切向流过滤系统,以使结合了生物制剂的树脂珠粒与非均相混合物分离。

[0265] 在一些实施例中,基于亲和力的TFF纯化模块还包括至少一个低pH平衡器皿,以允许生物制剂从树脂珠粒表面去结合;以及至少一个第二切向流过滤系统,以使树脂珠粒与未接合的生物制剂分离并完成其洗脱。

[0266] 在一些实施例中,基于亲和力的TFF纯化模块包括至少一个再生平衡器皿;以及至少一个第三切向流过滤系统,以允许树脂珠粒的浓缩和缓冲置换,从而使树脂珠粒恢复其

初始状态,进而实现树脂珠粒的回收和重复利用。

[0267] 在一些实施例中,基于亲和力的TFF纯化模块包括至少一个收集器皿;以及至少一个第四切向流过滤系统,以允许生物制剂的浓缩和缓冲置换,进而纯化生物制剂。

[0268] 在一些实施例中,基于亲和力的TFF纯化模块的至少一个平衡器皿、至少一个低pH平衡器皿和至少一个再生平衡器皿可以包括单个器皿,该单个器皿在相应的切向流过滤系统之间转换,从而能够使用适当的缓冲纯化和再生树脂珠粒,同时经由平行流路上的至少一个附加器皿维持滤液的连续流。

[0269] 在一些实施例中,树脂珠粒的再生可以利用基于亲和力的TFF纯化模块的至少一个低pH平衡器皿和至少一个第二切向流过滤系统来实现,基于亲和力的TFF纯化模块被配置为包含低pH洗脱缓冲和再生缓冲两者,以实现纯化、浓缩和缓冲置换,从而再生树脂珠粒而无需单独的再生平衡器皿和相应的切向流过滤系统。

[0270] 在一些实施例中,基于亲和力的TFF纯化模块包括至少两个缓冲系统。

[0271] 在一些实施例中,基于亲和力的TFF纯化模块包括至少一个树脂珠粒再生缓冲系统。

[0272] 在一些实施例中,基于亲和力的TFF纯化模块包括至少一个中空纤维膜过滤器。

[0273] 在一些实施例中,基于亲和力的TFF纯化模块包括至少一个传感器或检测器。

[0274] 在一些实施例中,基于亲和力的TFF纯化模块包括至少一个流体处理泵。

[0275] 基于正电荷的TFF纯化模块

[0276] 在一些方面,本文提供了一种基于正电荷的TFF纯化模块,用于将混合物分离成两个或更多个部分,其中至少一个部分包含生物制剂。基于正电荷的TFF纯化模块包括至少一个入口和至少一个出口,被配置为允许至少一个入口与至少一个出口之间的连续流体流,并且其中流速稳态操作期间是一致且恒定的。

[0277] 在一些实施例中,基于正电荷的TFF纯化模块包括树脂珠粒悬浮液,其中树脂珠粒表面包含阳离子官能团,阳离子官能团被配置为以特定pH和离子强度与生物制剂选择性地缔合。在一些示例中,磁性树脂珠粒是可移动的。

[0278] 在一些实施例中,基于正电荷的TFF纯化模块包括至少一个缔合平衡器皿,以允许生物制剂与树脂珠粒表面缔合;以及至少一个第一切向流过滤系统,以使缔合了生物制剂的树脂珠粒与非均相混合物分离。

[0279] 在一些实施例中,基于正电荷的TFF纯化模块包括至少一个解离平衡器皿,以允许生物制剂从树脂珠粒表面解离;以及至少一个第二切向流过滤系统,以使树脂珠粒与未接合的生物制剂解离并完成其纯化。在一些方面,多个解离平衡器皿与多个切向流过滤系统一起使用,以实现梯度解离,例如pH梯度或离子强度梯度。

[0280] 在一些实施例中,基于正电荷的TFF纯化模块包括至少一个再生平衡器皿;以及至少一个第三切向流过滤系统,以允许树脂珠粒的浓缩和缓冲置换,从而使树脂珠粒恢复其初始状态,进而实现树脂珠粒的回收和重复利用。

[0281] 在一些实施例中,基于正电荷的TFF纯化模块包括至少一个收集器皿;以及至少一个第四切向流过滤系统,以允许生物制剂的浓缩和缓冲置换,进而纯化生物制剂。

[0282] 在一些实施例中,基于正电荷的TFF纯化模块的至少一个缔合平衡器皿、至少一个解离器皿和至少一个再生平衡器皿可以包括单个器皿,该单个器皿在相应的切向流过滤系

统之间转换,从而能够使用适当的缓冲纯化和再生树脂珠粒,同时经由平行流路上的至少一个附加器皿维持滤液的连续流。

[0283] 在一些实施例中,树脂珠粒的再生可以利用基于正电荷的TFF纯化模块的至少一个解离器皿和至少一个第二切向流过滤系统来实现,基于正电荷的TFF纯化模块被配置为包含解离缓冲和再生缓冲两者,以实现纯化、浓缩和缓冲置换,从而再生树脂珠粒而无需单独的再生平衡器皿和相应的切向流过滤系统。

[0284] 在一些实施例中,基于正电荷的TFF纯化模块包括至少两个缓冲系统。

[0285] 在一些实施例中,基于正电荷的TFF纯化模块包括至少一个树脂珠粒再生缓冲系统。

[0286] 在一些实施例中,基于正电荷的TFF纯化模块包括至少一个中空纤维膜过滤器。

[0287] 在一些实施例中,基于正电荷的TFF纯化模块包括至少一个传感器或检测器。

[0288] 在一些实施例中,基于正电荷的TFF纯化模块包括至少一个流体处理泵。

[0289] 基于负电荷的TFF纯化模块

[0290] 在一些方面,本文提供了一种基于负电荷的TFF纯化模块,用于将混合物分离成两个或更多个部分,其中至少一个部分包含生物制剂。基于负电荷的TFF纯化模块包括至少一个入口和至少一个出口,被配置为允许至少一个入口与至少一个出口之间的连续流体流,并且其中流速稳态操作期间是一致且恒定的。

[0291] 在一些实施例中,基于负电荷的TFF纯化模块包括树脂珠粒悬浮液,其中树脂珠粒表面包含阴离子官能团,阳离子官能团被配置为以特定pH和离子强度与生物制剂选择性地缔合。

[0292] 在一些实施例中,基于负电荷的TFF纯化模块包括至少一个缔合平衡器皿,以允许生物制剂与树脂珠粒表面缔合;以及至少一个第一切向流过滤系统,以使缔合了生物制剂的树脂珠粒与非均相混合物分离。

[0293] 在一些实施例中,基于负电荷的TFF纯化模块包括至少一个解离平衡器皿,以允许生物制剂从树脂珠粒表面解离;以及至少一个第二切向流过滤系统,以使树脂珠粒与未接合的生物制剂解离并完成其纯化。在一些方面,多个解离平衡器皿与多个切向流过滤系统一起使用,以实现梯度解离,例如pH梯度或离子强度梯度。

[0294] 在一些实施例中,基于负电荷的TFF纯化模块包括至少一个再生平衡器皿;以及至少一个第三切向流过滤系统,以允许树脂珠粒的浓缩和缓冲置换,从而使树脂珠粒恢复其初始状态,进而实现树脂珠粒的回收和重复利用。

[0295] 在一些实施例中,基于负电荷的TFF纯化模块包括至少一个收集器皿;以及至少一个第四切向流过滤系统,以允许生物制剂的浓缩和缓冲置换,进而纯化生物制剂。

[0296] 在一些实施例中,基于负电荷的TFF纯化模块的至少一个缔合平衡器皿、至少一个解离器皿和至少一个再生平衡器皿可以包括单个器皿,该单个器皿在相应的切向流过滤系统之间转换,从而能够使用适当的缓冲纯化和再生树脂珠粒,同时经由平行流路上的至少一个附加器皿维持滤液的连续流。

[0297] 在一些实施例中,树脂珠粒的再生可以利用基于负电荷的TFF纯化模块的至少一个解离器皿和至少一个第二切向流过滤系统实现,基于基于负电荷的TFF纯化模块被配置为包含解离缓冲和再生缓冲两者,以实现纯化、浓缩和缓冲置换,从而再生树脂珠粒而无需

单独的再生平衡器皿和相应的切向流过滤系统。

[0298] 在一些实施例中,基于负电荷的TFF纯化模块包括至少两个缓冲系统。

[0299] 在一些实施例中,基于负电荷的TFF纯化模块包括至少一个树脂珠粒再生缓冲系统。

[0300] 在一些实施例中,基于负电荷的TFF纯化模块包括至少一个中空纤维膜过滤器。

[0301] 在一些实施例中,基于负电荷的TFF纯化模块包括至少一个传感器或检测器。

[0302] 在一些实施例中,基于负电荷的TFF纯化模块包括至少一个流体处理泵。

[0303] 基于等电点的流体纯化模块

[0304] 在一些方面,本文提供了一种基于等电点的流体纯化模块,用于将混合物分离成两个或更多个部分,其中至少一个部分包含生物制剂。基于等电点的流体纯化模块包括至少一个入口和至少一个出口,被配置为允许至少一个入口与至少一个出口之间的连续流体流,并且其中流速在稳态操作期间可以是例如一致且恒定的。

[0305] 在一些实施例中,本文所描述工艺包括将包含生物制剂的部分从第一模块的至少一个第一出口连续传递至第二模块,其中第二模块包括自由流电泳设备。例如,自由流电泳设备具有至少一个流体装置,流体装置包括形成在两个平行板之间的流体通道、与流体流方向正交的电场或电场梯度、以及水溶液(例如离子溶液,或提供缓冲或两性电解质的溶液)。在一些示例中,两个平行板的溶液接触表面包括玻璃、陶瓷、塑料或其任意组合。在一些示例中,水性离子溶液可以产生pH梯度。在其它示例中,水性离子溶液可以赋予恒定的pH。

[0306] 在一些实施例中,自由流电泳设备具有至少一个流体装置,流体装置包括形成在两个平行板之间的流体通道、与流体流方向正交的电场或电场梯度、以及pH梯度。在一些示例中,基于等电点的流体纯化模块包括至少一个第一流体装置,第一流体装置包括形成在两个平行板之间的流体通道、与流体流方向正交的电场或电场梯度、以及跨主分离通道的粗pH梯度(在一些示例中,粗pH梯度可以是约2至约10的pH范围);以及至少一个第二流体装置,第二流体装置包括形成在两个平行板之间的流体通道、与流体流方向正交的电场或电场梯度、以及跨主分离通道的细pH梯度(在一些示例中,细pH梯度可以是约5至约8的pH范围)。在一些示例中,附加的后续流体装置或芯片包括形成在两个平行板之间的流体通道和与流体流方向正交的电场或电场梯度,并且可以用于进一步细化跨主分离通道的pH梯度(例如约7.1至约7.6的pH范围)。

[0307] 在其它实施例中,自由流电泳设备具有至少一个流体装置,流体装置包括形成在两个平行板之间的流体通道、与流体流方向正交的电场或电场梯度、以及没有pH梯度,以在区带电泳或电荷分离操作模式下进行操作。在一些示例中,基于等电点的流体纯化模块包括至少一个第一流体装置,第一流体装置包括形成在两个平行板之间的流体通道、与流体流方向正交的电场或电场梯度、以及恒定碱性pH(例如大于7的pH);以及至少一个第二流体装置,第二流体装置包括形成在两个平行板之间的流体通道、与流体流方向正交的电场或电场梯度、以及恒定酸性pH(例如小于7的pH)。

[0308] 在其它实施例中,自由流电泳设备具有至少一个流体装置,流体装置包括形成在两个平行板之间的流体通道、与流体流方向正交的电场或电场梯度、以及由间隔溶液(例如NaCl溶液)分开的酸性pH梯度和碱性pH梯度,以在等速电泳操作模式下进行操作。

[0309] 在其它实施例中,基于等电点的流体纯化模块包括至少一个第一自由流电泳设备,第一自由流电泳设备包括形成在两个平行板之间的流体通道和与流体流方向正交的电场或电场梯度;以及至少一个第二自由流电泳设备,第二自由流电泳设备包括形成在两个平行板之间的流体通道和与流体流方向正交的电场或电场梯度,其中各装置串联连接,并且能够以独立的操作模式进行操作以实现纯化。例如,至少一个第一自由流电泳设备可以在等电聚焦模式下进行操作,并且至少一个第二自由流电泳设备可以在等速电泳模式下进行操作,以提高分离分辨率。

[0310] 在其它实施例中,基于等电点的流体纯化模块包括至少一个第一流体装置,第一流体装置包括流体通道,流体通道具有能够引起限定单向力的至少一个介电泳电极;至少一个第二自由流电泳设备,第二自由流电泳设备包括形成在两个平行板之间的流体通道、与流体流方向正交的电场或电场梯度、以及跨主分离通道的粗pH梯度(例如约2至约10的pH范围);以及至少一个第三自由流电泳设备,第三自由流电泳设备包括形成在两个平行板之间的流体通道、与流体流方向正交的电场或电场梯度、以及跨主分离通道的细pH梯度(例如约5至约8的pH范围)。在一些示例中,附加的后续流体装置或芯片包括形成在两个平行板之间的流体通道和与流体流方向正交的电场或电场梯度,并且可以用于进一步细化跨主分离通道的pH梯度(例如约7.1至约7.6的pH范围)。

[0311] 在一些实施例中,基于等电点的流体纯化设备还包括用作阳极或阴极的至少两个电极(例如铂丝电极)。

[0312] 在一些实施例中,基于等电点的流体纯化设备内的背压取决于通道几何形状和尺寸、入口和出口的开口和/或管道直径、以及输入流速。在一些示例中,背压在约0.5psi至约10psi的范围内。在一些示例中,背压由(例如但不限于)针阀控制。

[0313] 在一些实施例中,基于等电点的流体纯化设备还包括至少一个去泡系统,以连续去除施加电压下的电极通道中放出的 O_2 和 H_2 气泡。在一些实施例中,去除电解气泡对于实现相当长时间段的连续操作来说是必要的。在一些示例中,去泡系统利用疏水性PTFE膜在电极通道顶部形成防水密封,从而允许通过暴露于真空系统而在生成点连续去除电解气泡。在一些示例中,真空表压的范围是约-0.05巴至约-0.4巴。

[0314] 在一些实施例中,基于等电点的流体纯化设备还包括主动冷却系统或散热器,以实现温度控制和焦耳散热。在一些示例中,主动冷却系统包括具有冷循环水/丙二醇夹套的铝制热卡盘。

[0315] 在一些实施例中,基于等电点的流体纯化模块包括至少一个缓冲或两性电解质系统。

[0316] 在一些实施例中,基于等电点的流体纯化模块包括至少一种电极溶液。在一些实施例中,至少一种电极溶液包括电解质溶液,电解质溶液被配置为接触阳极或阴极(例如分别为磷酸和氢氧化钠)并实现其适当功能。在其它实施例中,至少一种电极溶液包括至少一种两性电解质溶液,两性电解质溶液被配置为接触阳极或阴极并实现其适当功能,例如流经主分离通道、阳极通道和阴极通道的Tris缓冲盐水。

[0317] 在一些实施例中,基于等电点的流体纯化模块包括至少一个传感器或检测器。在一些示例中,至少一个传感器或检测器被定位为管线内。在一些示例中,至少一个传感器或检测器包括但不限于流传感器、温度传感器、电导率传感器、pH传感器、折射率检测器、UV检

测器或背压传感器。

[0318] 在一些实施例中,基于等电点的流体纯化模块包括至少一个液体断路器或断接器,液体断路器或断接器位于装置的下游并且位于至少一个管线内传感器或检测器的上游,从而确保在无电压溶液中进行感测或检测的能力。

[0319] 在一些实施例中,基于等电点的流体纯化模块包括至少一个流体处理泵。

[0320] 在一些实施例中,基于等电点的流体纯化模块包括至少一个收集器皿。

[0321] 方法

[0322] 本文提供了从非均相混合物中纯化生物制剂的方法,非均相混合物来源于生成生物制剂的生物反应器,该方法包括使用本文所描述的工艺步骤。在一些示例中,生物反应器类型包括但不限于分批生物反应器、补料分批生物反应器、灌注生物反应器、恒化器生物反应器或多室生物反应器。在一些示例中,生物反应器在稳态下生成生物制剂。

[0323] 在一些实施例中,本文提供了一种从非均相混合物中纯化生物制剂的方法,非均相混合物来源于生成生物制剂的生物反应器,该方法包括使用本文所描述的至少一个模块,例如动态过滤模块、基于亲和力的磁性纯化模块、基于正电荷的磁性纯化模块、基于负电荷的磁性纯化模块、基于亲和力的纯化模块、基于正电荷的纯化模块、基于负电荷的纯化模块、基于亲和力的流体纯化模块、基于正电荷的流体纯化模块、基于负电荷的流体纯化模块、基于亲和力的TFF纯化模块、基于正电荷的TFF纯化模块、基于负电荷的TFF纯化模块和/或基于等电点的流体纯化模块。

[0324] 在一些实施例中,本文提供了一种从非均相混合物中连续纯化生物制剂的方法,非均相混合物来源于在稳态下生成生物制剂的生物反应器,该方法包括使用本文所描述的至少一个模块,例如动态过滤模块、基于亲和力的磁性纯化模块、基于正电荷的磁性纯化模块、基于负电荷的磁性纯化模块、基于亲和力的纯化模块、基于正电荷的纯化模块、基于负电荷的纯化模块、基于亲和力的流体纯化模块、基于正电荷的流体纯化模块、基于负电荷的流体纯化模块、基于亲和力的TFF纯化模块、基于正电荷的TFF纯化模块、基于负电荷的TFF纯化模块和/或基于等电点的流体纯化模块。

[0325] 在其它实施例中,本文提供了一种从非均相混合物中纯化生物制剂的方法,非均相混合物不是来源于在稳态下生成生物制剂的生物反应器,该方法包括使用本文所描述的至少一个模块,例如动态过滤模块、基于亲和力的磁性纯化模块、基于正电荷的磁性纯化模块、基于负电荷的磁性纯化模块、基于亲和力的纯化模块、基于正电荷的纯化模块、基于负电荷的纯化模块、基于亲和力的流体纯化模块、基于正电荷的流体纯化模块、基于负电荷的流体纯化模块、基于亲和力的TFF纯化模块、基于正电荷的TFF纯化模块、基于负电荷的TFF纯化模块和/或基于等电点的流体纯化模块。

[0326] 本发明的其它方面公开如下。

附图说明

[0327] 本专利或申请文件包含至少一张彩色附图。具有彩色附图的本专利或专利申请公开的副本将由官方在请求并支付必要的费用后提供。

[0328] 图1A至1D示出了本文所描述的示例性连续工艺流程的示意图。图1A示出了示例性连续工艺流程,其中步骤1包括在稳态下生成生物制剂的生物反应器,步骤2包括连续动态

过滤模块,步骤3包括基于亲和力的磁性纯化模块,步骤4包括至少一个基于电荷的磁性纯化模块,步骤5包括例如以补料分批或灌注模式进行的标准工业病毒灭活和过滤过程,并且步骤6包括例如用荷电膜以补料分批或灌注模式进行的高性能切向流过滤,以针对步骤7中的标准工业填充精加工过程做准备。图1B示出了示例性连续工艺流程,其中步骤1包括在稳态下生成生物制剂的生物反应器,步骤2包括连续动态过滤模块,步骤3包括基于亲和力的磁性纯化模块,步骤4包括基于正电荷的磁性纯化模块,步骤5包括基于负电荷的磁性纯化模块,并且步骤6包括例如用荷电膜以补料分批或灌注模式进行的高性能切向流过滤,以针对步骤7中的标准工业填充精加工过程做准备。图1C示出了示例性连续工艺流程,其中步骤1包括在稳态下生成生物制剂的生物反应器,步骤2包括连续动态过滤模块,步骤3包括基于亲和力的磁性纯化模块,步骤4包括基于等电点的流体纯化模块,步骤5包括例如以补料分批或灌注模式进行的标准工业病毒灭活和过滤过程,并且步骤6包括用荷电膜以补料分批或灌注模式进行的高性能切向流过滤,以针对步骤7中的标准工业填充精加工过程做准备。图1D示出了示例性连续工艺流程,其中步骤1包括在稳态下生成生物制剂的生物反应器,步骤2包括连续动态过滤模块,步骤3包括基于亲和力的磁性纯化模块,步骤4包括基于等电点的流体纯化模块,步骤5包括用荷电膜以补料分批或灌注模式进行的高性能切向流过滤,以针对步骤6中的标准工业填充精加工过程做准备。

[0329] 图2A至2D示出了本文所描述的示例性连续工艺流程的示意图。图2A示出了示例性连续工艺流程,其中步骤1包括在稳态下生成生物制剂的生物反应器,步骤2包括连续动态过滤模块,步骤3包括基于亲和力的纯化模块,步骤4包括至少一个基于电荷的纯化模块,步骤5包括例如以补料分批或灌注模式进行的标准工业病毒灭活和过滤过程,并且步骤6包括例如用荷电膜以补料分批或灌注模式进行的高性能切向流过滤,以针对步骤7中的标准工业填充精加工过程做准备。图2B示出了示例性连续工艺流程,其中步骤1包括在稳态下生成生物制剂的生物反应器,步骤2包括连续动态过滤模块,步骤3包括基于亲和力的纯化模块,步骤4包括基于正电荷的纯化模块,步骤5包括基于负电荷的纯化模块,并且步骤6包括例如用荷电膜以补料分批或灌注模式进行的高性能切向流过滤,以针对步骤7中的标准工业填充精加工过程做准备。图2C示出了示例性连续工艺流程,其中步骤1包括在稳态下生成生物制剂的生物反应器,步骤2包括连续动态过滤模块,步骤3包括基于亲和力的纯化模块,步骤4包括基于等电点的流体纯化模块,步骤5包括例如以补料分批或灌注模式进行的标准工业病毒灭活和过滤过程,并且步骤6包括用荷电膜以补料分批或灌注模式进行的高性能切向流过滤,以针对步骤7中的标准工业填充精加工过程做准备。图2D示出了示例性连续工艺流程,其中步骤1包括在稳态下生成生物制剂的生物反应器,步骤2包括连续动态过滤模块,步骤3包括基于亲和力的纯化模块,步骤4包括基于等电点的流体纯化模块,步骤5包括用荷电膜以补料分批或灌注模式进行的高性能切向流过滤,以针对步骤6中的标准工业填充精加工过程做准备。

[0330] 图3A至3D示出了本文所描述的示例性连续工艺流程的示意图。图3A示出了示例性连续工艺流程,其中步骤1包括在稳态下生成生物制剂的生物反应器,步骤2包括连续动态过滤模块,步骤3包括基于亲和力的流体纯化模块,步骤4包括至少一个基于电荷的流体纯化模块,步骤5包括例如以补料分批或灌注模式进行的标准工业病毒灭活和过滤过程,并且步骤6包括例如用荷电膜以补料分批或灌注模式进行的高性能切向流过滤,以针对步骤7中

的标准工业填充精加工过程做准备。图3B示出了示例性连续工艺流程,其中步骤1包括在稳态下生成生物制剂的生物反应器,步骤2包括连续动态过滤模块,步骤3包括基于亲和力的流体纯化模块,步骤4包括基于正电荷的流体纯化模块,步骤5包括基于负电荷的流体纯化模块,并且步骤6包括例如用荷电膜以补料分批或灌注模式进行的高性能切向流过滤,以针对步骤7中的标准工业填充精加工过程做准备。图3C示出了示例性连续工艺流程,其中步骤1包括在稳态下生成生物制剂的生物反应器,步骤2包括连续动态过滤模块,步骤3包括基于亲和力的流体纯化模块,步骤4包括基于等电点的流体纯化模块,步骤5包括例如以补料分批或灌注模式进行的标准工业病毒灭活和过滤过程,并且步骤6包括用荷电膜以补料分批或灌注模式进行的高性能切向流过滤,以针对步骤7中的标准工业填充精加工过程做准备。图3D示出了示例性连续工艺流程,其中步骤1包括在稳态下生成生物制剂的生物反应器,步骤2包括连续动态过滤模块,步骤3包括基于亲和力的流体纯化模块,步骤4包括基于等电点的流体纯化模块,步骤5包括用荷电膜以补料分批或灌注模式进行的高性能切向流过滤,以针对步骤6中的标准工业填充精加工过程做准备。

[0331] 图4A至4D示出了本文所描述的示例性连续工艺流程的示意图。图4A示出了示例性连续工艺流程,其中步骤1包括在稳态下生成生物制剂的生物反应器,步骤2包括连续动态过滤模块,步骤3包括基于亲和力的TFF纯化模块,步骤4包括至少一个基于电荷的TFF纯化模块,步骤5包括例如以补料分批或灌注模式进行的标准工业病毒灭活和过滤过程,并且步骤6包括例如用荷电膜以补料分批或灌注模式进行的高性能切向流过滤,以针对步骤7中的标准工业填充精加工过程做准备。图4B示出了示例性连续工艺流程,其中步骤1包括在稳态下生成生物制剂的生物反应器,步骤2包括连续动态过滤模块,步骤3包括基于亲和力的TFF纯化模块,步骤4包括基于正电荷的TFF纯化模块,步骤5包括基于负电荷的TFF纯化模块,并且步骤6包括例如用荷电膜以补料分批或灌注模式进行的高性能切向流过滤,以针对步骤7中的标准工业填充精加工过程做准备。图4C示出了示例性连续工艺流程,其中步骤1包括在稳态下生成生物制剂的生物反应器,步骤2包括连续动态过滤模块,步骤3包括基于亲和力的TFF纯化模块,步骤4包括基于等电点的流体纯化模块,步骤5包括例如以补料分批或灌注模式进行的标准工业病毒灭活和过滤过程,并且步骤6包括用荷电膜以补料分批或灌注模式进行的高性能切向流过滤,以针对步骤7中的标准工业填充精加工过程做准备。图4D示出了示例性连续工艺流程,其中步骤1包括在稳态下生成生物制剂的生物反应器,步骤2包括连续动态过滤模块,步骤3包括基于亲和力的TFF纯化模块,步骤4包括基于等电点的流体纯化模块,步骤5包括用荷电膜以补料分批或灌注模式进行的高性能切向流过滤,以针对步骤6中的标准工业填充精加工过程做准备。

[0332] 图5A和5B示出了示例性连续工艺流程,具有本文所描述的下游纯化模块的设计示意图。

[0333] 图6A和6B示出了动态过滤设备的一系列示例性设计,动态过滤设备包括用于连续地传递来自稳态生物反应器渗流输出管线的包含生物制剂的非均相混合物的单个输出头,以及用于供应洗涤缓冲的单独输出头。图6A是动态过滤设备设计的示意图,动态过滤设备设计包括用于连续地传递来自稳态生物反应器渗流输出管线的包含生物制剂的非均相混合物的单个输出头、用于供应洗涤缓冲的单独输出头、用作供应卷筒的卷式滤膜、收集卷筒、用于控制馈送卷筒-收集卷筒系统的两个伺服电机、具有机械光滑的接触表面的两个支

撑杆、具有机械光滑的接触表面和与真空管线连续的开口的膜支撑结构、真空收集器皿、隔膜泵和蠕动泵。图6B是动态过滤设备设计的示意图,动态过滤设备设计包括用于连续地传递来自稳态生物反应器渗流输出管线的包含生物制剂的非均相混合物的单个输出头、用于供应洗涤缓冲的单独输出头、用作馈送卷筒的卷式滤膜、收集卷筒、用于控制馈送卷筒-收集卷筒系统的两个伺服电机、具有机械光滑的接触表面的两个支撑杆、具有机械光滑的接触表面和与真空管线连续的开口的膜支撑结构、可控T阀、两个真空收集器皿、隔膜泵和两个蠕动泵。

[0334] 图7A和7B示出了动态过滤设备的两个示例性设计,动态过滤设备包括用于连续地传递来自稳态生物反应器渗流输出管线的包含生物制剂的非均相混合物的多个输出头,以及用于供应洗涤缓冲的多个单独输出头。图7A描绘了动态过滤设备设计的示意图,动态过滤设备设计包括用于传递来自稳态生物反应器渗流输出管线的包含生物制剂的非均相混合物的多个输出头、用于供应洗涤缓冲的多个单独输出头、用作馈送卷筒的卷式滤膜、收集卷筒、用于控制馈送卷筒-收集卷筒系统的两个伺服电机、具有机械光滑的接触表面的两个支撑杆、具有机械光滑的接触表面和与真空管线连续的开口的膜支撑结构、真空收集器皿、隔膜泵和蠕动泵。图7B描绘了动态过滤设备设计的示意图,动态过滤设备设计包括用于连续地传递来自稳态生物反应器渗流输出管线的包含生物制剂的非均相混合物的多个输出头、用于供应洗涤缓冲的多个单独输出头、用作馈送卷筒的卷式滤膜、收集卷筒、用于控制馈送卷筒-收集卷筒系统的两个伺服电机、具有机械光滑的接触表面的两个支撑杆、具有机械光滑的接触表面和与真空管线连续的开口的膜支撑结构、可控T阀、两个真空收集器皿、隔膜泵和两个蠕动泵。

[0335] 图8示出了开口具有五个平行槽的示例性膜支撑结构的图像。

[0336] 图9A和9B是从1X PBS的非均相混合物中去除聚合珠粒(PolyBeads)(0.05%固体;直径为2 μ m(红色)、6 μ m(红色)和10 μ m(蓝色))的图像。图9A是如下的视觉对比图像(从左到右):1X PBS的聚合珠粒(0.05%固体;直径为2 μ m、6 μ m和10 μ m)的初始非均相混合物、用0.2 μ m的PTFE注射器过滤器纯化非均相混合物得到的滤液、用示例性动态过滤设备纯化非均相混合物得到的滤液(MBM-3代表用0.45 μ m的PVDF滤膜以0.25mL/min的流速动态过滤的样品)、以及用示例性动态过滤设备纯化非均相混合物得到的滤液(MBM-4代表用0.45 μ m的PES滤膜以0.25、0.5、1.0、2.0和5.0mL/min的速率动态过滤的样品)。图9B是示出了如下的UV-Vis分光光度比较的柱状图:1X PBS的聚合珠粒(0.05%固体;直径为2 μ m、6 μ m和10 μ m)的初始非均相混合物、用0.2 μ m的PTFE注射器过滤器纯化非均相混合物得到的滤液、用具有0.45 μ m的PVDF滤膜且流速为0.25mL/min的示例性动态过滤设备纯化非均相混合物得到的滤液(MBM-3)、以及用具有0.45 μ m的PES滤膜且流速为0.25、0.5、1.0、2.0和5.0mL/min的示例性动态过滤设备纯化非均相混合物得到的滤液(MBM-4),从而证明了用示例性动态过滤设备能够成功地从非均相混合物中去除聚合珠粒。

[0337] 图10A至10D是一系列数据,示出了从悬浮于1X PBS的0.5mg/mL BSA-FITC溶液中的聚合珠粒的非均相混合物中去除聚合珠粒(0.05%固体;直径为2 μ m(红色)、6 μ m(红色)和10 μ m(蓝色))。图10A是悬浮于1X PBS的0.5mg/mL BSA-FITC溶液中的连续稀释的非均相混合物(0.05%固体;直径为2 μ m、6 μ m和10 μ m)的UV-Vis分光光度示踪图,其中示出了聚合珠粒特征区并指示存在聚合珠粒。图10B是连续稀释的1X PBS的0.5mg/mL BSA-FITC溶液的UV-

Vis分光光度示踪曲线图,其中示出了聚合珠粒特征区并指示不存在聚合珠粒。图10C描绘了如下的视觉对比图像(从左到右):悬浮于1X PBS的0.5mg/mL BSA-FITC溶液中的聚合珠粒的初始非均相混合物(0.05%固体;直径为2 μ m、6 μ m和10 μ m)、用0.2 μ m的PTFE注射器过滤器纯化非均相混合物得到的滤液、用示例性动态过滤设备纯化非均相混合物得到的滤液(MBM-3a代表用0.45 μ m的PVDF滤膜以0.25mL/min的流速动态过滤的样品)、用示例性动态过滤设备纯化非均相混合物得到的滤液(MBM-4a代表用0.45 μ m的PES滤膜以0.5mL/min的流速动态过滤的样品)、用示例性动态过滤设备纯化非均相混合物得到的滤液(MBM-5a代表用0.45 μ m的PES滤膜以2.0mL/min的流速动态过滤的样品)、以及通过离心作用(10,000xg 5分钟)纯化非均相混合物收集的上层清液。图10D是如下的UV-Vis分光光度对比图:悬浮于1X PBS的0.5mg/mL BSA-FITC溶液中的聚合珠粒的初始非均相混合物(0.05%固体;直径为2 μ m、6 μ m和10 μ m)、用0.2 μ m的PTFE注射器过滤器纯化非均相混合物得到的滤液、用示例性动态过滤设备纯化非均相混合物得到的滤液(MBM-3a)、用示例性动态过滤设备纯化非均相混合物得到的滤液(MBM-4a)、用示例性动态过滤设备纯化非均相混合物得到的滤液(MBM-5a)、以及通过离心作用(10,000xg 5分钟)纯化收集的上层清液,从而证明能够使用示例性动态过滤设备通过去除聚合珠粒(如聚合珠粒特征区不存在聚合珠粒所指示的)成功地纯化BSA-FITC。

[0338] 图11A和11B示出了以10mL/min的输入流速动态过滤悬浮于1X PBS的0.5mg/mL人多克隆IgG(hIgG)溶液中的聚合珠粒的非均相混合物。图12A示出了经由槽模输出头的动态过滤。图11A描绘了如下的视觉对比图像(从左到右):悬浮于1X PBS的0.5mg/mL hIgG溶液中的聚合珠粒(在 1.1×10^8 、 4.2×10^6 和 1.0×10^6 颗粒/mL直径分别为2 μ m、6 μ m和10 μ m)的初始非均相混合物、用具有0.45 μ m的PES滤膜且流速为10mL/min的示例性动态过滤设备纯化非均相混合物得到的滤液、以及通过离心作用(10,000xg 5分钟)纯化非均相混合物收集的上层清液。图11B是通过BCA测定得到的、由动态过滤获得的滤液和由离心作用收集的上层清液的总蛋白质浓度的分光光度对比图。图11C描绘了如下的视觉对比图像(从左到右):悬浮于1X PBS的0.5mg/mL hIgG溶液中的聚合珠粒(在 7.3×10^7 、 1.1×10^8 、 1.1×10^8 、 1.1×10^8 、 3.4×10^7 和 1.0×10^6 颗粒/mL直径分别为0.5 μ m、0.75 μ m、1 μ m、2 μ m、3 μ m和10 μ m)的初始非均相混合物、用具有0.45 μ m的PES滤膜且流速为10mL/min的示例性动态过滤设备纯化非均相混合物得到的滤液、以及通过离心作用(10,000xg 5分钟)纯化非均相混合物收集的上层清液。图11D是通过BCA测定得到的、由动态过滤获得的滤液和由离心作用收集的上层清液的总蛋白质浓度的分光光度对比图。

[0339] 图12A至12D示出了跨不同蛋白质、蛋白质浓度、滤膜材料和孔径和膜支撑结构以及以不同输入流速的连续操作期间的动态过滤的蛋白质回收率。图12A示出了通过对用0.45 μ m的PES滤膜动态过滤而获得的滤液进行BCA测定,得到的不同大小和电荷的蛋白质(分别为0.5-10mg/mL、5mg/mL和0.5mg/mL的牛血清白蛋白(BSA)、溶菌酶和hIgG)的回收率,其中滤膜的输送速度为0.5mm/sec,输入流速为10mL/min。图12B示出了通过对用不同材料和孔径的滤膜(0.45 μ m的PES、0.45 μ m的亲水性PVDF、0.22 μ m的PES)动态过滤而获得的滤液进行BCA测定,得到的0.5mg/mL的hIgG的回收率,其中滤膜的输送速度为0.5mm/sec,输入流速为10mL/min。图12C示出了通过对用不同的膜支撑结构(具有5个平行槽的PTFE膜支撑结构和具有多孔亲水性聚乙烯(PE)插入件的PTFE膜支撑结构)和0.45 μ m的PES滤膜动态过滤

而获得的滤液进行BCA测定,得到的0.5mg/mL的hIgG的回收率,其中滤膜的输送速度为0.5mm/sec,输入流速为10mL/min。图12D示出了在使用输送速度为0.5mm/sec的0.45 μ m的PES滤膜的长期连续操作期间,通过对以不同流速(5和10mL/min)动态过滤获得的滤液进行BCA测定得到的0.5mg/mL的溶菌酶的回收率。

[0340] 图13A至13C示出了通过对输入的非均相混合物进行动态过滤和离心至终浓度1g/L得到的细胞净化对比,非均相混合物包括在掺有hIgG的RPMI培养基中的悬浮细胞培养物。图13A示出了如下的光学成像(从左到右):RPMI培养基(1g/L hIgG/2 $\times$ 10⁶个细胞/mL)中的初始掺有hIgG的小鼠骨髓瘤悬浮细胞培养物、通过用输送速度为0.5mm/sec的0.45 μ m PES滤膜以2mL/min的输入流速的动态过滤获得的滤液(DF-1、DF-2、DF-3)、以及以10,000xg离心5分钟收集的上层清液(C-1、C-2、C-3)。图13B示出了如下的SDS-PAGE分析(从左到右):RPMI培养基(1g/LhIgG/2 $\times$ 10⁶个细胞/mL)中的初始掺有hIgG的小鼠骨髓瘤悬浮细胞培养物、通过用输送速度为0.5mm/sec的0.45 μ m PES滤膜以2mL/min的输入流速的动态过滤得到的滤液(DF-1、DF-2、DF-3)、以及以10,000xg离心5分钟得到的上层清液(C-1、C-2、C-3)。图13C示出了通过对用输送速度为0.5mm/sec的0.45 μ m PES滤膜以2mL/min的输入流速通过动态过滤获得的滤液(蓝色轮廓条)、以及以10,000xg离心5分钟收集的上层清液进行BCA测定得到的非均相混合物(掺有1g/LhIgG的RPMI培养基中的悬浮细胞培养物)的hIgG回收率对比图。

[0341] 图14示出了基于亲和力的磁性纯化设备的示例性设计示意图,基于亲和力的磁性纯化设备包括回路传送系统和永久“开启”的至少一个磁场。

[0342] 图15示出了基于亲和力的磁性纯化设备的示例性设计示意图,基于亲和力的磁性纯化设备包括回路传送系统和能够“开/关”切换的至少一个磁场。

[0343] 图16示出了基于电荷的磁性纯化设备的示例性设计示意图,基于电荷的磁性纯化设备包括回路传送系统和永久“开启”的至少一个磁场。

[0344] 图17示出了基于电荷的磁性纯化设备的示例性设计示意图,基于电荷的磁性纯化设备包括回路传送系统和能够“开/关”切换的至少一个磁场。

[0345] 图18示出了基于亲和力的磁性纯化设备的示例性设计示意图,基于亲和力的磁性纯化设备包括拾取和放置机器人系统和至少一个磁场。

[0346] 图19示出了基于电荷的磁性纯化设备的示例性设计示意图,基于电荷的磁性纯化设备包括拾取和放置机器人系统和至少一个磁场。

[0347] 图20A和20B示出了用基于亲和力的磁性纯化设备对hIgG(靶标,2g/L输入浓度)和溶菌酶(杂质,1g/L输入浓度)的混合物进行基于亲和力的磁性纯化,该设备填充有磁性蛋白A包被的琼脂糖珠粒。图20A示出了通过BCA测定得到的、从3个连续的磁性亲和珠粒使用和回收循环收集的部分的总蛋白质分析,证明了可重复回收和再利用磁性亲和珠粒,而不损害结合能力和性能的能力。图20B示出了从3个连续的磁性亲和珠粒使用和回收循环收集的部分的SDS-PAGE分析,证明了可重复回收和再利用磁性亲和珠粒,而不损害结合能力和性能的能力。

[0348] 图21A至21D示出了包括机械旋转系统的基于亲和力的纯化设备的示例性设计。图21A是盖系统的示意图。图21B是器皿转盘的示意图。图21C是收集系统的示意图。图21D描绘了盖系统和收集系统与器皿转盘的对接方式。

[0349] 图22A至22D示出了包括机械旋转系统的基于电荷的纯化设备的示例性设计。图22A是盖系统的示意图。图22B是器皿转盘的示意图。图22C是收集系统的示意图。图22D描绘了盖系统和收集系统与器皿转盘的对接方式。

[0350] 图23A至23D示出了基于亲和力的纯化设备或基于电荷的纯化设备的各个系统部件。图23A是示例性垫圈盖、器皿和收集器组件的示意图。图23B是示例性垫圈盖的示意图，垫圈盖包括进气口、被配置为生成循环流模式的两个缓冲入口、排气口、以及作为盖系统的部件的填充入口。图23C是器皿的示意图，器皿包括筛网过滤器或玻璃料，以及作为器皿转盘的部件的阀。图23D是作为收集系统的部件的收集器的示意图。

[0351] 图24A和24B示出了包括分级线性系统的基于亲和力的纯化设备的示例性设计。图24A示出了基于亲和力的纯化设备的各个系统部件。图24B示出了包括分级线性系统的基于亲和力的纯化设备的连接性。

[0352] 图25A和25B示出了包括分级线性系统的基于亲和力的纯化设备的示例性设计。图24A示出了基于电荷的纯化设备的各个系统部件。图24B示出了包括分级线性系统的基于电荷的纯化设备的连接性。

[0353] 图26A和26B示出了用基于亲和力的纯化设备对hIgG溶液(2g/L输入浓度)进行基于亲和力的纯化，该设备填充有蛋白A包被的琼脂糖树脂珠粒。图26A示出了通过BCA测定得到的、从3个连续的亲和树脂珠粒使用和回收循环收集的部分的总蛋白质分析，证明了可重复回收和再利用亲和树脂珠粒，而不损害结合能力和性能的能力。图26B示出了从3个连续的亲和树脂珠粒使用和回收循环收集的部分的SDS-PAGE分析，证明了可重复回收和再利用亲和树脂珠粒，而不损害结合能力和性能的能力。

[0354] 图27A和27B示出了用基于亲和力的纯化设备对hIgG(靶标, 2g/L输入浓度)和溶菌酶(杂质, 1g/L输入浓度)的混合物进行基于亲和力的纯化，该设备填充有蛋白A包被的琼脂糖树脂珠粒。图27A示出了通过BCA测定得到的从3个连续的亲和树脂珠粒使用和回收循环收集的部分的总蛋白质分析，证明了可重复回收和再利用亲和树脂珠粒，而不损害结合能力和性能的能力。图27B示出了从3个连续的亲和树脂珠粒使用和回收循环收集的部分的SDS-PAGE分析，证明了可重复回收和再利用亲和树脂珠粒，而不损害结合能力和性能的能力。

[0355] 图28A至28D是混合流体装置的示例性设计的一系列图像。图28A是示出了混合流体装置的图像，混合流体装置包括平行交叉流通道、永磁磁场和两个压电换能器。图28B是一种混合流体装置的图像，混合流体装置包括成角度的交叉流通道、永磁磁场和两个压电换能器。图28C是示出了混合流体装置的图像，混合流体装置包括平行交叉流通道、永磁磁场和两个选择性介电泳电极。图28D是示出了混合流体装置的图像，混合流体装置包括成角度的交叉流通道、永磁磁场和两个选择性介电泳电极。

[0356] 图29示出了基于亲和力的流体纯化设备的示例性设计示意图。

[0357] 图30示出了基于电荷的流体纯化设备的示例性设计示意图。

[0358] 图31示出了基于亲和力的纯化设备的示例性设计示意图，包括至少一个切向流过滤系统。

[0359] 图32示出了基于电荷的纯化设备的示例性设计示意图，包括至少一个切向流过滤系统。

[0360] 图33示出了基于等电点的流体纯化设备的示例性设计示意图,基于等电点的流体纯化设备包括流体装置,流体装置具有形成在两个平行板之间的通道、与流体流方向正交的电场、以及水性离子溶液。

[0361] 图34示出了自由流电泳设备的示例性设计示意图,自由流电泳设备包括第一流体装置,第一流体装置具有形成在两个平行板之间的通道、与流体流方向正交的电场、以及粗pH梯度,并且第一流体装置连接至第二流体装置,第二流体装置具有形成在两个平行板之间的通道、与流体流方向正交的电场、以及细pH梯度,其中该设备能够在等电聚焦模式下进行操作。

[0362] 图35示出了自由流电泳设备的示例性设计示意图,自由流电泳设备包括第一流体装置,第一流体装置具有形成在两个平行板之间的通道、与流体流方向正交的电场、以及跨主分离通道的恒定碱性pH,第一流体装置连接至第二流体装置,第二流体装置具有形成在两个平行板之间的通道、与流体流方向正交的电场、以及跨主分离通道的恒定酸性pH,其中该设备能够以区带电泳模式进行操作。

[0363] 图36示出了自由流电泳设备的示例性设计示意图,自由流电泳设备包括第一流体装置,第一流体装置具有形成在两个平行板之间的通道,以及与流体流方向正交的电场,第一流体装置能够在等电聚焦模式下进行操作,并且连接至第二流体装置,第二流体装置具有形成在两个平行板之间的通道,以及与流体流方向正交的电场,第二流体装置能够在等速电泳模式下进行操作。

[0364] 图37示出了自由流电泳设备的示例性设计示意图,自由流电泳设备包括第一流体装置,第一流体装置具有带选择性介电泳电极以预分类混合物的通道,第一流体装置连接至第二流体装置,第二流体装置具有形成在两个平行板之间的通道,以及与流体流方向正交的电场,第二流体装置能够在等电聚焦模式下进行操作,并且连接至第三流体装置,第三流体装置具有形成在两个平行板之间的通道,以及与流体流方向正交的电场,第三流体装置能够在等速电泳模式下进行操作。

[0365] 图38示出了示例性的去泡和脱气系统设计,该系统从电极通道中直接去除电解气泡,以形成无气泡的主分离通道。

[0366] 图39示出了示例性液体断路器,该液体断路器在溶液中形成断路,溶液连接至施加电压,从自由流电泳设备的出口流到至少一个管线内传感器或检测器。

[0367] 图40A至40E示出了用基于等电点的纯化设备对若丹明6G (0.25mg/mL,净电荷为+1) 和荧光素 (0.25mg/mL,净电荷为-1) 的混合物进行基于等电点的流体纯化,该设备具有阳极通道 (H_2SO_4)、阴极通道 (NaOH)、以及具有五个入口和五个出口的主分离通道,两性电解质溶液在主分离通道内流动,其中在设备的入口的中心(入口3)处引入混合物。图40A示出了以0V、5mL/min从五个出口收集的部份的光学图像。图40B示出了以0V、5mL/min从五个出口收集的部份的吸收光谱。图40C示出了当存在pH梯度时,以1000V、10mL/min从五个出口收集的部份的光学图像。图40D示出了当存在pH梯度时,以1000V、10mL/min从五个出口收集的部份的吸收光谱。图40E示出了对混合物的纯化,得到了包含纯化若丹明6G(出口2,朝阴极)和纯化荧光素(出口4,朝阳极)的部分。

[0368] 图41A至41C示出了在不同的操作条件下,用基于等电点的纯化设备对若丹明6G (0.25mg/mL,净电荷为+1) 和荧光素 (0.25mg/mL,净电荷为-1) 的混合物进行纯化的光学成

像,该设备具有阳极通道(H_2SO_4)、阴极通道(NaOH)、以及具有五个入口和五个出口的主分离通道,两性电解质溶液在主分离通道内流动,其中在设备的入口的中心(入口3)处引入混合物。图41A示出了以500V、3mL/min流速的若丹明6G和荧光素的混合物的等电聚焦自由流电泳。图41B示出了在700V、5mL/min流速下,若丹明6G和荧光素的混合物的等电聚焦自由流电泳。图41C示出了以900V、10mL/min流速的若丹明6G和荧光素的混合物的等电聚焦自由流电泳。

[0369] 图42A和42B示出了用基于等电点的纯化设备纯化小分子染料混合物的光学成像,设备包括阳极通道(H_2SO_4)、阴极通道(NaOH)、以及具有五个入口和五个出口的主分离通道,两性电解质溶液在主分离通道内流动,其中在设备的入口的中心(入口3)处引入混合物。图42A示出了以500V、5mL/min流速的碱性品红(0.05mg/mL,净电荷为+3)和荧光素(0.25mg/mL,净电荷为-1)的混合物的等电聚焦自由流电泳。图42B示出了以500V、5mL/min流速的结晶紫(0.05mg/mL,净电荷为+3)和荧光素(0.25mg/mL,净电荷为-1)的混合物的等电聚焦自由流电泳。

[0370] 图43A至43D示出了用基于等电点的纯化设备对碱性品红(0.005mg/mL,净电荷为+3)和荧光素(0.25mg/mL,净电荷为-1)的混合物进行纯化的光学成像,该设备跨增加的施加电压以等电聚焦自由流电泳模式进行操作。混合物以5mL/min的流速由设备引入中心入口(入口3),设备包括阳极通道、阴极通道、以及具有五个入口和十个出口的主分离通道,其中相同的两性电解质溶液在每个通道中以5mL/min的流速流动。当不施加电压时,混合物按照层流流动,并且在中心出口(出口4和5)处离开设备(图43A)。当跨两性电解质和样品输入流速为5mL/min的主分离通道而施加电压时,形成线性pH梯度,碱性品红和荧光素分别迁移至阴极和阳极,与理论电泳迁移率预测(图43B至43D)一致。当施加电压从600V(图43B)增加至900V(图43C)再增加至1100V(图43D),使得电场强度增大时,观察到两个分子的分离在主分离通道的长度上成比例地增加。

[0371] 图44A和44B示出了用基于等电点的纯化设备纯化小分子染料混合物的光学成像,设备包括阳极通道(H_2SO_4)、阴极通道(NaOH)、以及具有五个入口和五个出口的主分离通道,由间隔溶液分开的两种两性电解质溶液在主分离通道内流动,其中在设备的入口的中心(入口3)处将混合物引入间隔溶液中。图44A示出了以250V、5mL/min流速的若丹明6G(0.25mg/mL,净电荷为+1)和荧光素(0.25mg/mL,净电荷为+1)的混合物的等速电泳,使得两种染料浓缩成两条离散的高分辨率线。图44B示出了图46A中所示结果的UV照射。

[0372] 图45A至45E示出了用基于等电点的纯化设备对BSA(0.5mg/mL, pI为4-5)和溶菌酶(0.25mg/mL, pI为11)的混合物进行纯化,该设备包括阳极通道(H_2SO_4)、阴极通道(NaOH)、以及具有五个入口和五个出口的主分离通道,两性电解质溶液在主分离通道内流动,其中在设备的入口的中心(入口3)处引入混合物。图45A示出了以0V、10mL/min流速的、通过对来自五个出口的部分的总蛋白质浓度进行BCA测定得到的分光光度分析。图45B示出了以0V、10mL/min流速的、来自五个出口的部分的SDS-PAGE分析,其中示出了出口3处存在的混合物。图45C示出了在850V、10mL/min流速下,通过对来自五个出口的部分的总蛋白质浓度进行BCA测定得到的分光光度分析,其中示出了出口2、3、4处的蛋白质分布。图45D示出了以850V、10mL/min流速的、来自五个出口的部分的SDS-PAGE分析,其中示出了出口2中存在纯化的溶菌酶,出口4中存在纯化的BSA。图45E示出了BSA(朝向阳极)和溶菌酶(朝向阴极)的

理论电泳迁移方向。

[0373] 图46A至46C示出了用基于等电点的纯化设备对hIgG (0.5mg/mL, pI为6-8) 和溶菌酶 (0.25mg/mL, pI为11) 的混合物进行纯化, 该设备包括阳极通道 (H_2SO_4)、阴极通道 (NaOH)、以及具有五个入口和五个出口的主分离通道, 两性电解质溶液在主分离通道内流动, 其中在设备的入口的中心 (入口3) 处引入混合物。图46A示出了以 (1) 0V、5mL/min; (2) 1000V、5mL/min; (3) 1500V、5mL/min; (4) 0V、10mL/min或 (5) 1000V、10mL/min中的任一条件, 通过对来自五个出口的部分的总蛋白质浓度进行BCA测定得到的分光光度分析。图46B示出了hIgG (朝向阳极、阴极和中心) 和溶菌酶 (朝向阴极) 的理论电泳迁移方向。图46C示出了以 (1) 0V、5mL/min; (2) 1000V、5mL/min; (3) 1500V、5mL/min; (4) 0V、10mL/min或 (5) 1000V、10mL/min中的任一条件, 来自五个出口的部分的SDS-PAGE分析。

[0374] 图47A至47D示出了用基于等电点的纯化设备对BSA (0.5mg/mL, pI为4-5) 和溶菌酶 (0.25mg/mL, pI为11) 的混合物进行纯化, 该设备包括阳极通道 (H_2SO_4)、阴极通道 (NaOH)、以及具有五个入口和五个出口的主分离通道, 两性电解质溶液在主分离通道内流动, 其中在设备的入口的中心 (入口3) 处引入混合物。图47A示出了以0V和500V、3mL/min流速、通过对来自五个出口的部分的总蛋白质浓度进行BCA测定得到的分光光度分析, 其中示出了施加电压下跨出口2、3、4的蛋白质分布。图47B示出了以0V和700V、5mL/min流速、通过对来自五个出口的部分的总蛋白质浓度进行BCA测定得到的分光光度分析, 其中示出了施加电压下跨出口2、3、4的蛋白质分布。图47C示出了以0V和850V、10mL/min流速、通过对来自五个出口的部分的总蛋白质浓度进行BCA测定得到的分光光度分析, 其中示出了施加电压下跨出口2、3、4的蛋白质分布。图47D示出了以 (1) 0V或500V、3mL/min; (2) 0V或700V、5mL/min或 (3) 0V或850V、10mL/min中的任一条件, 来自五个出口的部分的SDS-PAGE分析。

[0375] 图48示出了利用标准工业下游处理设备, 将基于电荷的纯化模块、磁性纯化模块、基于电荷的流体纯化模块、基于电荷的TFF纯化模块或基于等电点的纯化模块连接至本文所描述的示例性半连续工艺的示例性示意图, 标准工业下游处理设备以补料分批或灌注模式进行运行, 以制备生物制剂从而进行填充精加工。

[0376] 图49示出了利用标准工业下游处理设备, 将基于电荷的纯化模块、磁性纯化模块、基于电荷的流体纯化模块、基于电荷的TFF纯化模块或基于等电点的纯化模块连接至本文所描述的示例性半连续工艺的示例性示意图, 标准工业下游处理设备以补料分批或灌注模式运行, 以制备生物制剂从而在不存在独立的病毒灭活和去除工艺步骤的情况下进行填充精加工。

具体实施方式

[0377] 本文尤其提供了一种用于纯化生物制剂的连续工艺。本发明要求保护的工艺提供了优于目前用于纯化生物制剂的下游方法和工艺的许多优点, 生物制剂例如是蛋白质或其片段 (多肽)、抗体或其片段、细胞因子、趋化因子、酶、生长因子、寡核苷酸、病毒、腺病毒、腺伴随病毒或慢病毒。例如但并非旨在限制地, 本文的工艺提供了一种用于纯化单克隆抗体的连续生物工艺, 该工艺通过使初始级过滤包括至少一个如本文所描述的动态过滤模块以去除大杂质 (例如细胞、细胞碎片和聚集体), 消除了传统的多级过滤工艺 (例如多级切向流过滤或深层过滤) 中固有的膜结垢问题。此外, 与分批、单次使用或半连续单克隆抗体制造

的传统方法相比,该连续工艺能够维持通量和产量,同时显著减少生产设施占地面积、设施建设和验证所需的时间、与设施建设相关的成本和资产设备支出。

[0378] 因为连续操作的能力消除了对于传统的下游生物处理中的离心、深层过滤和柱层析法步骤所需的大型处理设备(其尺寸由大生物反应器体积决定)的需求,所以如本文所描述的连续生物处理提供了更小、更流线型的设备(例如更小的生物反应器体积和下游生物处理设备)。此外,连续操作的更小、更流线型的设备实现了在稳态生产单克隆抗体的显著更小的(一个或多个)生物反应器的使用。与传统的单克隆抗体制造方法相比,如本文所描述的连续生物工艺还可以显著减少操作支出、总生物工艺生产线停机时间和生物制剂损失。最后,本文所描述的生物制剂纯化工艺在占地面积比现有技术显著更小的系统中执行,而不会牺牲以千克/年为基础的产品通量或产量。例如,如本文所描述的用于单克隆抗体生产、纯化的工艺在占据高达约30,000平方英尺占地面积的情况下操作。相比之下,目前的单克隆抗体生产和下游工艺需要至少200,000平方英尺。

[0379] 使用动态过滤模块、基于亲和力的磁性纯化模块、以及基于电荷的磁性纯化模块或基于等电点的流体纯化模块中的至少一者的用于纯化生物制剂的连续工艺。

[0380] 描述了一种用于纯化生物制剂的连续工艺;该工艺包括经由输入管线连续接收包含生物制剂的非均相混合物,其中生物制剂包括但不限于蛋白质或其片段(多肽)、抗体或其片段、细胞因子、趋化因子、酶或生长因子。在纯化时,当按重量计至少60%、70%、80%、90%、95%或甚至99%不含杂质(细胞、细胞碎片、聚集体、宿主细胞蛋白质、不期望的蛋白质和肽、不期望的抗体、不期望的核酸和寡核苷酸、病毒、盐、缓冲组分、表面活性剂、糖、金属污染物、可浸出物、培养基组分和/或与其天然相关的天然存在的有机分子)时,生物制剂(例如单克隆抗体)基本上是纯的。

[0381] 该工艺包括通过动态过滤从非均相混合物中连续去除大杂质。上述动态过滤过程包括至少一个动态过滤模块,动态过滤模块在负压下将生物制剂从与输入管线流体连通的至少一个输出头连续地馈送至动态过滤模块,从而产生包含生物制剂的滤液。动态过滤模块还可以包括至少一个附加输入管线,以经由同轴输出头或单独的单轴输出头供应洗涤缓冲。

[0382] 在一些实施例中,本文所描述工艺包括纯化在生物反应器(例如补料分批生物反应器、灌注生物反应器、恒化器生物反应器)中连续产生的生物制剂。例如,生物反应器包括生物反应器馈送管线和输出渗流管线,以实现稳态细胞培养生长条件,并且输出渗流管线用作输入管线,以允许从生物反应器到动态过滤模块的连续流体流。

[0383] 如本文所描述,从非均相混合物(或混合物)中连续去除大杂质的方法不包括离心、圆盘堆叠离心、深层过滤、静态过滤、切向流过滤、水力旋流或其任意组合。术语“静态过滤”是指被过滤的非均相混合物保持静态的过程,这意味着例如滤膜(或深层过滤器)具有限定容量,并且过滤速率随着膜达到其容量而降低(例如膜孔变得堵塞)。在“静态”(与“动态”相反)过滤中,滤膜保持静止(不移动),并且(例如非均相混合物的)流穿过静止的滤膜。这种静态过滤方法在本领域中是常见的,简单且容易理解。

[0384] 与本领域常用的静态过滤方法不同,本文的工艺描述了动态过滤模块,其中动态过滤模块的部件以协调的方式移动(例如膜根据整个工艺的流速移动或前进),以使能够发生连续地跨越滤膜的未使用的新目标区域的过滤。这消除了膜结垢或堵塞,并且允许在操

作期间控制滤饼堵塞和厚度。

[0385] 动态过滤模块包括滤膜卷、膜支撑结构、至少一个支撑杆或辊、真空管线、真空系统和至少一个真空收集器皿。

[0386] 在一些实施例中,滤膜卷包括卷式滤膜,其中并非旨在限制地,滤膜包括聚醚砜(PES)、亲水性聚砜、纤维素酯、醋酸纤维素、聚偏二氟乙烯(PVDF)、亲水性PVDF、聚碳酸酯、尼龙、聚四氟乙烯(PTFE)、亲水性PTFE或其任意组合。

[0387] 卷式滤膜的孔径大小取决于被纯化的生物制剂。在一些示例中,卷式滤膜的孔径在 $0.1\mu\text{m}$ 至 $1\mu\text{m}$ 的范围内。替代地,该孔径在约 $0.2\mu\text{m}$ 至约 $0.45\mu\text{m}$ 的范围内,或者孔径小于约 $0.45\mu\text{m}$ 。在其它示例中,当纯化抗体时,卷式滤膜的孔径在 $0.2\mu\text{m}$ 至约 $0.45\mu\text{m}$ 的范围内。

[0388] 滤膜卷的宽度为约10mm至约600mm。滤膜卷的宽度例如可以取决于动态过滤系统或膜支撑结构的尺寸。

[0389] 在一些实施例中,滤膜卷还用作与收集卷筒连通的馈送卷筒,这意味着滤膜源自预制卷,并且跨越至初始为空的收集卷,从而形成卷对卷系统。在一些方面,动态过滤模块包括在馈送卷筒和收集卷筒之间延伸的卷式滤膜,滤膜具有被配置为接收非均相混合物的目标区域(例如活性目标区域)。在一些示例中,馈送卷筒运动由与齿轮箱耦接的伺服电机控制,以将每分钟转数(RPM)限制为200:1,从而实现具有高扭矩的低膜输送速度。收集卷筒运动由与齿轮箱耦接的伺服电机控制,以将RPM限制为200:1,从而实现具有高扭矩的低膜输送速度。此外,馈送卷筒电机和收集卷筒电机由操作反馈机构的闭环控制器来控制,以确保在操作期间馈送卷筒和收集卷筒两者上的滤膜卷的直径不断变化的情况下,速度保持一致。在一些示例中,馈送卷筒和收集卷筒以相等的速度在相同的方向上进行操作。

[0390] 在一些实施例中,滤膜的输送速度为约 0.1mm/sec 至约 100mm/sec ,优选约 0.1mm/sec 至约 10mm/sec 。

[0391] 动态过滤模块的膜支撑结构包括来源于具有低静摩擦系数的材料(例如PTFE)的机械光滑的接触表面,以及与真空管线具有连续性的开口。如本文所用,“膜支撑结构”是指为滤膜的活性区域提供结构支撑的制造部件,以防止滤膜在穿过负压区域时因开口与真空管线具有连续性而产生变形。此外,如本文所用,“机械光滑的接触表面”是指具有低静摩擦系数的表面,从而产生对抗滤膜传输的低摩擦力(尤其是当被弄湿时)。机械光滑的接触表面可以影响滤膜以动态方式移动容易性。机械光滑的接触表面还可以以表面粗糙度测量,值越低,表面越光滑。此外,由于粗糙表面之间的摩擦大于光滑表面之间的摩擦,所以本文所使用的机械光滑的接触表面是指具有低摩擦(即低静摩擦系数)的表面。

[0392] 在一些实施例中,动态过滤模块的膜支撑结构包括开口。例如,开口可以包括网格、至少一个槽、至少一个孔、玻璃料、多孔材料或其任意组合。例如,开口可以包括一系列规则或不规则间隔的元件(例如网格、至少一个狭槽、至少一个孔或其任意组合)。此外,开口可以包括规则间隔的元件,例如开口可以包括一系列等间隔的平行槽。另外,开口可以包括一个格栅(例如,如上所述的一系列规则或不规则间隔的元件)。在其它示例中,开口可以包括多于一个格栅,其中每个格栅都是垂直的。开口可以是不规则或规则元件(例如一系列平行槽)的集合。开口还可以包括网格,网格具有分割厚度或全厚度,并且网格的行可以是平行或不平行的。开口的元件(例如网格、至少一个槽、至少一个孔、玻璃料、多孔材料或其任意组合)可以具有任何期望厚度。例如但并非旨在限制地,开口可以包括厚度为约 0.25mm

至约5mm的网格。

[0393] 动态过滤模块的膜支撑结构包括温度控制机构。温度控制机构在存在蒸发冷却的情况下将温度维持在约4℃至约37℃。例如,在抗体纯化期间,温度控制机构将温度维持在15℃至37℃。示例性温度控制机构包括但不限于单环控制器、多环控制器、闭环控制器、PID控制器、Peltier装置、电阻加热元件和/或具有循环水/丙二醇护套的热卡盘。

[0394] 在一些实施例中,动态过滤模块的至少一个支撑杆或辊具有来源于具有低静摩擦系数的材料(例如PTFE、PFA)的机械光滑的接触表面。例如,静摩擦系数在约0.01至约0.1,或约0.01至约0.05,或约0.05至约0.1的范围内。在一些具体示例中,静摩擦系数为0.04。在一些示例中,动态过滤模块包括具有机械光滑接触表面的至少一个支撑杆或辊,以稳定滤膜跨膜支撑结构的运动。

[0395] 在一些实施例中,动态过滤模块包括至少一个输出头,以调节非均相混合物的流动,并将非均相混合物分配到滤膜的目标区域(例如活性目标区域)上。在一些示例中,至少一个输出头是管或槽模。

[0396] 在一些实施例中,动态过滤模块还包括至少一个附加输入管线,以经由同轴输出头、单独的单轴输出头、单独的槽模输出头或具有多个开口的槽模输出头来供应洗涤缓冲。

[0397] 在一些实施例中,动态过滤模块包括涂覆和转化工业中已知的元件,例如但不限于主动或被动边缘引导件、张力控制器(例如浮动辊)、断裂和张力的检测器,或其任意组合。

[0398] 在一些实施例中,动态过滤模块包括与膜支撑结构具有连续性的真空系统,以跨滤膜的活性目标区域施加负压,其中负压允许实现滤膜跨膜支撑结构的活性输送,并且使得能够收集包含生物制剂的滤液。在一些示例中,动态过滤模块的真空系统维持约-0.05巴至约0.98巴的表压,以用于连续过滤。

[0399] 在一些实施例中,动态过滤模块还包括被配置为收集滤液的至少一个真空收集器皿,以及至少一个传感器或检测器。在本文描述的一些方面,在通过动态过滤进行纯化期间,将包含生物制剂的滤液在负压下馈送至能够收集约50mL至约100L的真空收集器皿中。在一些示例中,真空收集器皿能够收集约1L至约10L的滤液。在其它示例中,真空收集器皿能够收集约1L至约50L的滤液。

[0400] 在一些实施例中,通过动态过滤从非均相混合物中连续去除大杂质(例如细胞、细胞碎片和聚集体)的工艺包括使用具有不同孔径的至少两个离散卷式滤膜进行多级过滤。在一些示例中,该多级动态过滤过程包括与至少一个第二动态过滤设备流体连通的至少一个第一动态过滤设备,第一动态过滤设备具有带有大孔径(例如0.45 μm)的卷式滤膜,第二动态过滤设备具有带有小孔径(例如0.2 μm)的卷式滤膜,从而产生包含生物制剂的滤液。

[0401] 本文所描述工艺包括将滤液连续传递至能够将溶液分离成两个或更多个部分的第一模块,该两个或更多个部分包括包含生物制剂的至少一个部分。例如,将溶液分离成两个或更多个部分可以包括包含生物制剂的至少一个部分,以及包含小杂质的至少一个其它部分。如本文所描述,第一模块包括基于亲和力的磁性纯化设备。“基于亲和力的磁性纯化设备”是指基于分子构象结合相互作用(例如配体-受体相互作用)的纯化技术,其中选择性表面固定配体识别并结合待纯化的生物制剂。在一些示例中,第一模块具有至少一个第一入口和至少一个第一出口,并且被配置为允许经由回路传送系统或拾取和放置机器人系统在第一入口和第一出口之间的连续流体流。

[0402] 在一些实施例中,基于亲和力的磁性纯化设备还包括磁性树脂珠粒悬浮液。磁性树脂珠粒的表面,例如但不限于,与蛋白质A、蛋白质G、蛋白质L、抗原蛋白、蛋白质、受体、抗体或适体偶联。用亲和磁性树脂珠粒连续纯化生物制剂(例如单克隆抗体)能够避免传统的亲和柱层析法(例如蛋白A亲和层析)中的繁琐处理步骤。

[0403] 在一些实施例中,基于亲和力的磁性纯化设备的磁性树脂珠粒的直径为约0.2微米至约200微米。磁性树脂珠粒的直径可以取决于被纯化的生物制剂和工艺中的流速。此外,磁性树脂珠粒的浓度可以在0.01重量%至25重量%的范围内。例如,磁性树脂珠粒的浓度可以是约1重量%至约10重量%。在其它示例中,磁性树脂珠粒的结合能力取决于珠粒浓度、表面积与体积比、亲和配体密度或其任意组合。在其它示例中,磁性树脂珠粒可以是实心珠粒、多孔珠粒、纳米多孔珠粒、微孔珠粒或其任意组合。

[0404] 回路传送系统可以指例如连续或无限回路。回路传送系统是有利的,因为其允许大体积以高流速连续且有效地移动通过该过程,同时与传统亲和柱层析系统(例如蛋白A亲和层析)相比,占地面积更小。生物制剂直接在轨道上输送,因此所有尺寸的规则和不规则形状的物体都能够被配置为用于运输。在一些方面,物体是具有规则形状(例如立方体、矩形棱柱、圆柱体、圆锥体)的运输器皿。

[0405] 在一些实施例中,回路传送系统具有装有磁性树脂珠粒的至少两个运输器皿,运输器皿被配置为连续接收包括包含生物制剂的混合物的滤液,并且随后运输所得到的包含生物制剂、磁性树脂珠粒、缓冲或其任意组合的非均相混合物。

[0406] 拾取和放置机器人系统可以指例如至少一个机器人或机器人臂。拾取和放置机器人系统是有利的,因为其允许大体积以高流速连续且有效地移动通过该过程,同时与传统亲和柱层析系统(例如蛋白A亲和层析)相比,提供了更小的占地面积。包含在运输器皿中的生物制剂被拾取和放置,因此所有尺寸的规则形状的物体均能够被配置为用于运输和堆叠,无论有没有手柄。在一些方面,物体是具有规则形状(例如立方体、矩形棱柱)的运输器皿。

[0407] 在一些实施例中,拾取和放置机器人系统具有装有磁性树脂珠粒的至少两个运输器皿,运输器皿被配置为连续接收包括包含生物制剂的混合物的滤液,并且随后运输所得到的包含生物制剂、磁性树脂珠粒、缓冲或其任意组合的非均相混合物。

[0408] 基于亲和力的磁性纯化模块还包括至少一个外部磁场,外部磁场可以用于从非均相混合物中吸引并进而分离磁性树脂珠粒,从而能够在至少两个运输器皿中的至少一个运输器皿内进行洗涤。此外,至少一个外部磁场可以用于从非均相混合物中吸引并进而分离磁性树脂珠粒,从而能够在至少两个运输器皿中的至少一个运输器皿内进行生物制剂的洗脱。替代地,至少一个外部磁场可以用于实现磁性树脂珠粒在至少两个运输器皿中的至少一个运输器皿中的回收再利用。在一些示例中,磁性树脂珠粒的混合可以通过将至少一个运输器皿放置在两个独立且相对的磁场之间来实现,磁场在开启状态与关闭状态之间切换。

[0409] 本文所描述的工艺还包括将包含生物制剂的部分从第一模块的至少一个第一出口连续传递至第二模块,第二模块具有至少一个入口,该至少一个入口用于接收来自第一模块的至少一个第一出口的流,并且第二模块包括基于电荷的磁性纯化设备。如本文所用的“基于电荷的磁性纯化设备”包括例如基于生物分子表面电荷、离子特性、静电相互作用

或等电点来纯化生物分子。如本文所描述,基于电荷的磁性纯化包括基于正电荷的磁性纯化设备、基于负电荷的磁性纯化设备或其组合。在一些示例中,第二模块具有至少一个第二入口和至少一个第二出口,并且第二模块被配置为允许经由回路传送系统或拾取和放置机器人系统在第二入口和第二出口之间流动的连续流体流。

[0410] 在一些实施例中,基于电荷的磁性纯化设备(例如基于正电荷和/或负电荷的磁性纯化设备)还包括磁性树脂珠粒悬浮液。磁性树脂珠粒的表面例如可以包含阳离子或阴离子官能团,阳离子或阴离子官能团被配置为以特定pH和离子强度与生物制剂选择性地缔合,以分别实现基于正电荷的磁性纯化或基于负电荷的磁性纯化。用离子磁性树脂珠粒连续纯化生物制剂(例如单克隆抗体)能够避免传统的离子交换柱层析法(例如阳离子交换或阴离子交换层析)中的繁琐处理步骤。

[0411] 在一些实施例中,基于电荷的磁性纯化设备的磁性树脂珠粒具有为约0.2微米至约200微米的直径。磁性树脂珠粒的直径可以取决于被纯化的生物制剂和工艺中的流速。此外,磁性树脂珠粒的浓度可以在0.01重量%至25重量%的范围内。例如,磁性树脂珠粒的浓度可以是约1重量%至约10重量%。在其它示例中,磁性树脂珠粒的电荷或静电缔合能力取决于珠粒浓度、表面积与体积比、表面电荷密度、净电荷或其任意组合。在其它示例中,磁性树脂珠粒可以是实心珠粒、多孔珠粒、纳米多孔珠粒、微孔珠粒或其任意组合。

[0412] 回路传送系统可以指例如连续或无限回路。回路传送系统是有利的,因为其允许大体积以高流速连续且有效地移动通过该过程,同时与传统离子交换柱层析系统相比,提供了更小的占地面积。生物制剂直接在轨道上输送,因此所有尺寸的规则和不规则形状的物体都能够被配置为用于运输。在一些方面,物体是具有规则形状(例如立方体、矩形棱柱、圆柱体、圆锥体)的运输器皿。

[0413] 在一些实施例中,回路传送系统具有装有磁性树脂珠粒的至少两个运输器皿,运输器皿被配置为连续接收包含生物制剂的混合物,并且随后运输所得到的包含生物制剂、磁性树脂珠粒、缓冲或其任意组合的非均相混合物。

[0414] 拾取和放置机器人系统可以指例如至少一个机器人或机器人臂。拾取和放置机器人系统是有利的,因为其允许大体积以高流速连续且有效地移动通过该过程,同时与传统离子交换层析系统相比,提供了更小的占地面积。包含在运输器皿中的生物制剂被拾取和放置,因此所有尺寸的规则形状的物体均能够被配置为用于运输和堆叠,无论有没有手柄。在一些方面,物体是具有规则形状(例如立方体、矩形棱柱)的运输器皿。

[0415] 在一些实施例中,拾取和放置机器人系统具有装有磁性树脂珠粒的至少两个运输器皿,运输器皿被配置为连续接收包括包含生物制剂的混合物的滤液,并且随后运输所得到的包含生物制剂、磁性树脂珠粒、缓冲或其任意组合的非均相混合物。

[0416] 基于电荷的磁性纯化模块还包括至少一个外部磁场,外部磁场可以用于从非均相混合物中吸引并进而分离磁性树脂珠粒,从而能够在至少两个运输器皿中的至少一个运输器皿内进行洗涤。此外,至少一个外部磁场可以用于从非均相混合物中吸引并进而分离磁性树脂珠粒,从而能够在至少两个运输器皿中的至少一个运输器皿内进行生物制剂的解离和收集。替代地,至少一个外部磁场可以用于实现磁性树脂珠粒在至少两个运输器皿中的至少一个运输器皿中的回收再利用。在一些示例中,磁性树脂珠粒的混合可以通过将至少一个运输器皿放置在两个独立且相对的磁场之间来实现,磁场在开启状态与关闭状态之间

切换。

[0417] 在本文所描述的实施例中,第一(基于亲和力的磁性纯化)模块和/或第二(基于电荷的磁性纯化)模块中的一者或两者中的磁性树脂珠粒被回收且重复使用。例如,珠粒可以重复使用至少2次、3次、4次或更多次以纯化生物制剂。

[0418] 替代地,本文所描述工艺包括将包含生物制剂的部分从第一模块的至少一个第一出口连续传递至第二模块,第二模块具有用于接收来自第一模块的至少一个第一出口的流的至少一个入口,并且第二模块包括自由流电泳设备。自由流电泳设备具有形成在两个平行板之间的流体通道、与流体流方向正交的电场或电场梯度、以及水性离子溶液,并且自由流电泳设备可以代替(多个)基于电荷的磁性纯化模块,或作为(多个)基于电荷的磁性纯化模块之外的附加措施,以纯化生物制剂(例如单克隆抗体)。

[0419] 在一些示例中,两个平行板的溶液接触表面包括玻璃、陶瓷、塑料或其任意组合。在一些示例中,水性离子溶液可以引起跨主分离通道的pH梯度。在其它示例中,水性离子溶液可以赋予跨主分离通道的恒定pH。

[0420] 在一些实施例中,自由流电泳设备具有至少一个流体装置,流体装置包括形成在两个平行板之间的流体通道、与流体流方向正交的电场或电场梯度、以及pH梯度。在一些示例中,基于等电点的流体纯化模块包括至少一个第一流体装置,第一流体装置包括形成在两个平行板之间的流体通道、与流体流方向正交的电场或电场梯度、以及跨主分离通道的粗pH梯度(在一些示例中,粗pH梯度可以是约2至约10的pH范围);以及至少一个第二流体装置,第二流体装置包括形成在两个平行板之间的流体通道、与流体流方向正交的电场或电场梯度、以及跨主分离通道的细pH梯度(在一些示例中,细pH梯度可以是约5至约8的pH范围)。在一些示例中,附加的后续流体装置或芯片包括形成在两个平行板之间的流体通道,以及与流体流方向正交的电场或电场梯度,并且附加的后续流体装置或芯片可以用于进一步细化跨主分离通道的pH梯度(例如约7.1至约7.6的pH范围)。

[0421] 在其它实施例中,自由流电泳设备具有至少一个流体装置,流体装置包括形成在两个平行板之间的流体通道、与流体流方向正交的电场或电场梯度,并且没有pH梯度,(例如跨主分离通道的恒定pH),以在区带电泳或电荷分离操作模式下进行操作。在一些示例中,基于等电点的流体纯化模块包括至少一个第一流体装置,第一流体装置包括形成在两个平行板之间的流体通道、与流体流方向正交的电场或电场梯度、以及恒定碱性pH(例如大于7的pH);以及至少一个第二流体装置,第二流体装置包括形成在两个平行板之间的流体通道、与流体流方向正交的电场或电场梯度、以及恒定酸性pH(例如小于7的pH)。

[0422] 在其它实施例中,自由流电泳设备具有至少一个流体装置,流体装置包括形成在两个平行板之间的流体通道、与流体流方向正交的电场或电场梯度、以及由间隔溶液(例如NaCl溶液)分开的酸性pH梯度和碱性pH梯度两者,以在等速电泳操作模式下进行操作。

[0423] 在其它实施例中,基于等电点的流体纯化模块包括至少一个第一自由流电泳设备,第一自由流电泳设备包括形成在两个平行板之间的流体通道,以及与流体流方向正交的电场或电场梯度;以及至少一个第二自由流电泳设备,第二自由流电泳设备包括形成在两个平行板之间的流体通道,以及与流体流方向正交的电场或电场梯度,其中各装置串联连接,并且能够以独立的操作模式进行操作以实现纯化。例如,至少一个第一自由流电泳设备可以在等电聚焦模式下进行操作,并且至少一个第二自由流电泳设备可以在等速电泳模

式下进行操作,以提高分离分辨率。

[0424] 在其它实施例中,基于等电点的流体纯化模块包括至少一个第一流体装置,第一流体装置包括流体通道,流体通道具有能够引起限定单向力的至少一个介电泳电极;至少一个第二自由流电泳设备,第二自由流电泳设备包括形成在两个平行板之间的流体通道、与流体流方向正交的电场或电场梯度、以及跨主分离通道的粗pH梯度(例如约2至约10的pH范围);以及至少一个第三自由流电泳设备,第三自由流电泳设备包括形成在两个平行板之间的流体通道、与流体流方向正交的电场或电场梯度、以及跨主分离通道的细pH梯度(例如约5至约8的pH范围)。在一些示例中,附加的后续流体装置或芯片包括形成在两个平行板之间的流体通道,以及与流体流方向正交的电场或电场梯度,并且附加的后续流体装置或芯片可以用于进一步细化跨主分离通道的pH梯度(例如约7.1至约7.6的pH范围)。

[0425] 在一些实施例中,基于等电点的流体纯化设备还包括用作阳极或阴极的至少两个电极(例如铂丝电极)。

[0426] 在一些实施例中,基于等电点的流体纯化设备内的背压取决于通道几何形状和尺寸、入口和出口的开口和/或管道直径、以及输入流速。在一些示例中,背压在约0.5psi至约10psi的范围内。在一些示例中,背压由(例如但不限于)针阀控制。

[0427] 在一些实施例中,基于等电点的流体纯化设备还包括至少一个去泡系统,以连续去除施加电压下的电极通道中放出的 O_2 和 H_2 气泡。在一些实施例中,去除电解气泡对于实现相当长时间段的连续操作来说是必要的。在一些示例中,去泡系统利用疏水性PTFE膜在电极通道顶部形成防水密封,从而允许通过暴露于真空系统而在生成点连续去除电解气泡。在一些示例中,真空表压的范围是约-0.05巴至约-0.4巴。

[0428] 在一些实施例中,基于等电点的流体纯化设备还包括主动冷却系统或散热器(例如帕尔帖(Peltier)装置、具有循环水/丙二醇夹套的热卡盘),以实现温度控制和焦耳散热。例如,主动冷却系统可以在约4℃至约50℃的范围内,优选约4℃至约37℃的范围内控制冷却和/或散热。理想地,在分离生物制剂(例如单克隆抗体)时,温度维持在约10℃至约25℃。在一些示例中,主动冷却系统包括包含冷循环水/丙二醇夹套的铝制热卡盘。

[0429] 在一些实施例中,基于等电点的流体纯化模块包括至少一个缓冲或两性电解质系统。

[0430] 在一些实施例中,基于等电点的流体纯化模块包括至少一种电极溶液。在一些实施例中,至少一种电极溶液包括电解质溶液,电解质溶液被配置为接触阳极或阴极(例如分别为磷酸和氢氧化钠)并实现其适当功能。在其它实施例中,至少一种电极溶液包括至少一种两性电解质溶液,两性电解质溶液被配置为接触阳极或阴极并实现其适当功能,例如流经主分离通道、阳极通道和阴极通道的三羟甲基氨基甲烷(Tris)缓冲盐水。

[0431] 在一些实施例中,基于等电点的流体纯化模块包括至少一个传感器或检测器。在一些示例中,至少一个传感器或检测器被定位为管线内。在一些示例中,至少一个传感器或检测器包括但不限于流传感器、温度传感器、电导率传感器、pH传感器、折射率检测器、UV检测器或背压传感器。

[0432] 在一些实施例中,基于等电点的流体纯化模块包括至少一个液体断路器或断接器,液体断路器或断接器位于装置的下游且位于至少一个管线内传感器或检测器的上游,从而确保在无电压溶液中进行感测或检测的能力。

[0433] 本发明要求保护的工艺提供了优于目前用于纯化生物制剂的下游方法和工艺的许多优点,生物制剂例如是蛋白质或其片段(多肽)、抗体或其片段、细胞因子、趋化因子、酶或生长因子。例如但并非旨在限制地,本文所述的工艺提供了一种用于纯化单克隆抗体的连续生物工艺,与分批、单次使用或半连续单克隆抗体制造的传统方法相比,该连续工艺维持通量和产量,同时显著减少生产设施占地面积、设施建设和验证所需的时间、与设施建设相关的成本和资产设备支出。因为连续操作的能力消除了对于传统的下游生物处理中的分批离心、深层过滤和柱层析法步骤所需的大型工艺设备(其尺寸由大生物反应器体积决定)的需求,所以如本文所描述的连续生物工艺提供了更小、更流线型的设备(例如生物反应器体积和下游生物处理设备更小)。此外,连续操作的更小、更流线型的设备实现了使用显著更小的(一个或多个)生物反应器在稳态下生产单克隆抗体。与传统的单克隆抗体制造方法相比,如本文所描述的连续生物工艺还可以显著减少操作支出、总生物工艺生产线停机时间和生物制剂损失。最后,本文所描述的用于纯化生物制剂的工艺在占地面积比现有技术显著更小的系统中执行,同时不会牺牲以千克/年为基础的产品通量或产量。

[0434] 本文所描述工艺和方法的优点包括能够在不导致膜结垢或堵塞的情况下去除大杂质(例如细胞、细胞碎片和聚集体)。膜结垢可以指非均相混合物沉积在膜表面或膜孔中,使得膜的性能随时间降低,并进而对传统过滤系统的应用形成主要限制的工艺。例如,本领域已知用传统过滤或切向流过滤系统从细胞培养基中净化细胞、细胞碎片和聚集体通常会导致滤膜结垢或堵塞,使得这些方法不适合作为在长期连续处理中从包含生物制剂的非均相混合物中连续去除大杂质的手段。相反,由此滤膜的活性目标区域是不断更新的,因此本文所描述的动态过滤设备实现了在不发生膜结垢的情况下从包含生物制剂的非均相混合物中连续去除大杂质。

[0435] 此外,由于生产和纯化生物制剂的整个工艺可以是连续的,并且能够在整个工艺中保持约0.1mL/分钟至约50mL/分钟范围内的流速(例如约5mL/分钟至约10mL/分钟),工艺设备和整个工艺占地面积能够明显小于当前标准工艺的占地面积,同时不会牺牲以千克/年为基础的产品通量或产量。例如,如本文所描述的用于生产和纯化单克隆抗体的工艺在占据高达约30,000平方英尺占地面积的情况下进行操作。相比之下,目前的单克隆抗体生产和下游工艺需要至少200,000平方英尺。在一些示例中,生物制剂纯化工艺的流速在约1mL/分钟至约10mL/分钟的范围内。在一些示例中,从非均相混合物中连续去除大杂质的步骤中的流速在约0.1mL/分钟至约50mL/分钟的范围内。在其它示例中,从非均相混合物中连续去除大杂质的步骤中的流速等同于来自生物反应器渗流管线的流速。在其它示例中,该工艺提供的将滤液连续传递至第一模块的步骤中的流速在约0.1mL/分钟至约50mL/分钟的范围内。在其它示例中,该工艺提供的将包含生物制剂的部分从第一出口连续传递至第二模块的步骤中的流速在约0.1mL/分钟至约50mL/分钟的范围内。

[0436] 本文所描述的利用磁性树脂珠粒(例如磁性琼脂糖)的工艺和方法的一个重要优点包括:这些系统不需要传统的固定相或填塞树脂柱(例如用于标准层析法)以进行消毒、回收和/或再生。例如,这些系统提供磁性树脂珠粒的回收和/或再生,以在操作期间形成磁性树脂珠粒的无限表面积,并且进而提供连续且成本有效的方法。换句话说,本文所描述的模块不具有固定的结合或缔合能力。在一些具体示例中,如本文所描述,在生物制剂的纯化期间使用的磁性树脂珠粒不断地回收和再生,因此能够接受来自前一步骤(即动态过滤模

块或纯化模块)的流,而不中断来自生物反应器渗流管线的流。

[0437] 换句话说,由于本发明所述的模块连续地经历这些步骤,所以在运行之后不必为了消毒、再生和/或回收而闲置。该方法与目前的连续层析方法的不同之处在于,由于树脂填塞约束,目前的柱层析方法限制了柱容量极限,并且因此需要多个填塞柱进行柱切换以接受连续输入流,并使已经达到全容量的柱能够再生和/或回收。本文所描述方法的另一个优点包括:磁性树脂珠粒不填塞至固定相内,而是具有流动性。由于明显更多的磁性树脂珠粒表面被暴露并且自由结合,因此这增加了可用于结合或缔合的树脂珠粒的表面积。此外,填塞柱中的树脂珠粒暴露于高压差,形成穿过柱的流并造成损坏,这是导致柱寿命小于期望寿命的原因之一。在本发明中,可移动树脂珠粒经受大体上更低、对于易碎珠粒更温和的压力,从而延长了寿命。另外,这种流动性使得磁性树脂珠粒更有可能完全再生并恢复其初始状态。由于磁性树脂被更有效地利用,这进一步提高了本文所描述方法的成本效益。

[0438] 本文所描述的利用自由流电泳的工艺和方法的一个重要优点包括:该系统代表“无产物损失”工艺,由于在这种工艺中,分离根据目标生物制剂的物理化学性质通过与电场相互作用而在水溶液中发生,因此不需要产物与树脂或其它纯化部分相互作用。因为与传统的离子交换层析法相比,能够得到理论上更高纯度的产物,因此在该方法的分辨能力中观察到另一个优点。另外,基于固有物理化学性质的分离将该方法扩展至用于纯化多种生物制剂的用途,包括但不限于蛋白质或其片段(多肽)、抗体或其片段、细胞因子、趋化因子、酶、生长因子、寡核苷酸、病毒、腺病毒、腺伴随病毒(AAV)或慢病毒。

[0439] 此外,模块化方法提供了工艺设计方面的灵活性,以适应各种各样的生物制剂。

[0440] 使用动态过滤模块、基于亲和力的纯化模块、以及基于电荷的纯化模块或基于等电点的流体纯化模块中的至少一者的用于纯化生物制剂的连续工艺。

[0441] 描述了一种用于纯化生物制剂的连续工艺;该工艺包括经由输入管线连续接收包含生物制剂的非均相混合物,其中生物制剂包括但不限于蛋白质或其片段(多肽)、抗体或其片段、细胞因子、趋化因子、酶或生长因子。在纯化时,当按重量计至少约60%、70%、80%、90%、95%或甚至99%不含杂质(细胞、细胞碎片、聚集体、宿主细胞蛋白质、不期望的蛋白质和肽、不期望的抗体、不期望的核酸和寡核苷酸、病毒、盐、缓冲组分、表面活性剂、糖、金属污染物、可浸出物、培养基组分和/或与其天然相关的天然存在的有机分子)时,生物制剂(例如单克隆抗体)基本上是纯的。

[0442] 该工艺包括通过动态过滤从非均相混合物中连续去除大杂质。上述动态过滤过程包括至少一个动态过滤模块,动态过滤模块在负压下将生物制剂从与输入管线流体连通的至少一个输出头连续地馈送至动态过滤模块,从而产生包含生物制剂的滤液。动态过滤模块还可以包括至少一个附加输入管线,以经由同轴输出头或单独的单轴输出头供应洗涤缓冲。

[0443] 在一些实施例中,本文所描述工艺包括纯化在生物反应器(例如补料分批生物反应器、灌注生物反应器、恒化器生物反应器)中连续产生的生物制剂。例如,生物反应器包括生物反应器馈送管线和输出渗流管线,以实现稳态细胞培养生长条件,并且输出渗流管线用作输入管线,以允许从生物反应器到动态过滤模块的连续流体流。

[0444] 如本文所描述,从非均相混合物中连续去除大杂质的工艺不包括离心、圆盘堆叠离心、深层过滤、静态过滤、切向流过滤、水力旋流或其任意组合。术语“静态过滤”是指被过

滤的非均相混合物保持静态的过程,这意味着例如滤膜(或深层过滤器)具有限定容量,并且过滤速率随着膜达到其容量而降低(例如膜孔变得堵塞)。在“静态”(与“动态”相反)过滤中,滤膜保持静止(不移动),并且(例如非均相混合物的)流穿过静止的滤膜。这种静态过滤方法在本领域中是常见的,简单且容易理解。

[0445] 与本领域常用的静态过滤方法不同,本文的工艺描述了动态过滤模块,其中动态过滤模块的部件以协调的方式移动(例如膜根据整个工艺的流速移动或前进),以使能够发生连续地跨越滤膜的未使用的新目标区域的过滤。这消除了膜结垢或堵塞,并且允许在操作期间控制滤饼堵塞和厚度。

[0446] 动态过滤模块包括:滤膜卷、膜支撑结构、至少一个支撑杆或辊、真空管线、真空系统和至少一个真空收集器皿。

[0447] 例如,滤膜卷包括卷式滤膜,其中并非旨在限制地,滤膜包括聚醚砜(PES)、亲水性聚砜、纤维素酯、醋酸纤维素、聚偏二氟乙烯(PVDF)、亲水性PVDF、聚碳酸酯、尼龙、聚四氟乙烯(PTFE)、亲水性PTFE或其任意组合。

[0448] 卷式滤膜的孔径大小取决于被纯化的生物制剂。在一些示例中,卷式滤膜的孔径在 $0.1\mu\text{m}$ 至 $1\mu\text{m}$ 的范围内。替代地,该孔径在约 $0.2\mu\text{m}$ 至约 $0.45\mu\text{m}$ 的范围内,或者孔径小于约 $0.45\mu\text{m}$ 。在其它示例中,当纯化抗体时,卷式滤膜的孔径在 $0.2\mu\text{m}$ 至约 $0.45\mu\text{m}$ 的范围内。

[0449] 滤膜卷的宽度为约10mm至约600mm。滤膜卷的宽度例如可以取决于动态过滤系统或膜支撑结构的尺寸。

[0450] 在一些实施例中,滤膜卷还用作与收集卷筒连通的馈送卷筒,这意味着滤膜源自预制卷,并且跨越至初始为空的收集卷,从而形成卷对卷系统。在一些方面,动态过滤模块包括在馈送卷筒和收集卷筒之间延伸的卷式滤膜,滤膜具有活性目标区域,活性目标区域被配置为接收非均相混合物。在一些示例中,馈送卷筒运动由与齿轮箱耦接的伺服电机控制,以将每分钟转数(RPM)限制为200:1,从而实现具有高扭矩的低膜输送速度。收集卷筒运动由与齿轮箱耦接的伺服电机控制,以将RPM限制为200:1,从而实现具有高扭矩的低膜输送速度。此外,馈送卷筒电机和收集卷筒电机由操作反馈机构的闭环控制器来控制,以确保在操作期间馈送卷筒和收集卷筒两者上的滤膜卷的直径不断变化的情况下,速度保持一致。在一些示例中,馈送卷筒和收集卷筒以相等的速度在相同的方向上进行操作。

[0451] 在一些实施例中,滤膜的输送速度为约 0.1mm/sec 至约 100mm/sec ,优选约 0.1mm/sec 至约 10mm/sec 。

[0452] 动态过滤模块的膜支撑结构包括来源于具有低静摩擦系数的材料(例如PTFE)的机械光滑的接触表面,以及与真空管线具有连续性的开口。如本文所用,“膜支撑结构”是指为滤膜的活性区域提供结构支撑的制造部件,以防止滤膜在穿过负压区域时因开口与真空管线具有连续性而产生变形。此外,如本文所用,“机械光滑的接触表面”是指具有低静摩擦系数的表面,从而产生对抗滤膜传输的低摩擦力(尤其是当被弄湿时)。机械光滑的接触表面可以影响滤膜以动态方式移动容易性。机械光滑的接触表面还可以以表面粗糙度测量,值越低,表面越光滑。此外,由于粗糙表面之间的摩擦大于光滑表面之间的摩擦,所以本文所使用的机械光滑的接触表面是指具有低摩擦(即低静摩擦系数)的表面。

[0453] 在一些实施例中,动态过滤模块的膜支撑结构包括开口。例如,开口可以包括网格、至少一个槽、至少一个孔、玻璃料、多孔材料或其任意组合。例如,开口可以包括一系列

规则或不规则间隔的元件(例如网格、至少一个狭槽、至少一个孔或其任意组合)。此外,开口可以包括规则间隔的元件,例如开口可以包括一系列等间隔的平行槽。另外,开口可以包括一个格栅(例如,如上所述的一系列规则或不规则间隔的元件)。在其它示例中,开口可以包括多于一个格栅,其中每个格栅都是垂直的。开口可以是不规则或规则元件(例如一系列平行槽)的集合。开口还可以包括网格,网格具有分割厚度或全厚度,并且网格的行可以是平行或不平行的。开口的元件(例如网格、至少一个槽、至少一个孔、玻璃料、多孔材料或其任意组合)可以具有任何期望厚度。例如但并非旨在限制地,开口可以包括厚度为约0.25mm至约5mm的网格。

[0454] 动态过滤模块的膜支撑结构包括温度控制机构。温度控制机构在存在蒸发冷却的情况下将温度维持在约4℃至约37℃。例如,在抗体纯化期间,温度控制机构将温度维持在约15℃至约37℃。示例性温度控制机构包括但不限于单环控制器、多环控制器、闭环控制器、PID控制器、Peltier装置和/或具有循环水/丙二醇护套的热卡盘。

[0455] 在一些实施例中,动态过滤模块的至少一个支撑杆或辊具有来源于具有低静摩擦系数的材料(例如PTFE、PFA)的机械光滑的接触表面。在一些示例中,动态过滤模块包括具有机械光滑的接触表面的至少一个支撑杆或辊,以稳定滤膜跨膜支撑结构的运动。

[0456] 在一些实施例中,动态过滤模块包括至少一个输出头,用于调节非均相混合物的流动,并将非均相混合物分配到滤膜的活性目标区域上。在一些示例中,至少一个输出头是管或槽模。

[0457] 在一些实施例中,动态过滤模块还包括至少一个附加输入管线,以经由同轴输出头、单独的单轴输出头、单独的槽模输出头或具有多个开口的槽模输出头供应洗涤缓冲。

[0458] 在一些实施例中,动态过滤模块包括涂覆和转化工业中已知的元件,例如但不限于主动或被动边缘引导件、张力控制器(例如浮动辊)、断裂和张检测器,或其任意组合。

[0459] 在一些实施例中,动态过滤模块包括与膜支撑结构具有连续性的真空系统,以跨滤膜的目标区域(例如活性目标区域)施加负压,其中负压允许实现滤膜跨膜支撑结构的活性输送,并且使得能够收集包含生物制剂的滤液。在一些示例中,动态过滤模块的真空系统维持约-0.05巴至约-0.98巴的表压,以用于连续过滤。

[0460] 在一些实施例中,动态过滤模块还包括被配置为收集滤液的至少一个真空收集器皿,以及至少一个传感器或检测器。在本文描述的一些方面,在通过动态过滤进行纯化期间,将包含生物制剂的滤液在负压下馈送至能够收集约50mL至约100L的真空收集器皿中。在一些示例中,真空收集器皿能够收集约1L至约10L的滤液。在其它示例中,真空收集器皿能够收集约1L至约50L的滤液。

[0461] 在一些实施例中,通过动态过滤从非均相混合物中连续去除大杂质(例如细胞、细胞碎片和聚集体)的工艺包括使用具有不同孔径的至少两个离散卷式滤膜进行多级过滤。在一些示例中,该多级动态过滤过程包括与第二动态过滤设备流体连通的至少一个第一动态过滤设备,第一动态过滤设备具有带有大孔径(例如0.45 μm)的卷式滤膜,第二动态过滤设备具有带有小孔径(例如0.2 μm)的卷式滤膜,从而产生包含生物制剂的滤液。

[0462] 本文所描述工艺包括将滤液连续传递至能够将溶液分离成两个或更多个部分的第一模块,该两个或更多个部分包括包含生物制剂的至少一个部分。例如,将溶液分离成两个或更多个部分可以包括包含生物制剂的至少一个部分,以及包含小杂质的至少一个其它

部分。如本文所描述,第一模块包括基于亲和力的纯化设备。“基于亲和力的纯化设备”是指基于分子构象结合相互作用(例如配体-受体相互作用)的纯化技术,其中选择性表面固定配体识别并结合待纯化的生物制剂。在一些示例中,第一模块具有至少一个第一入口和至少一个第一出口,并且被配置为允许经由机械旋转系统在第一入口和第一出口之间的连续流体流,机械旋转系统包括盖系统、器皿转盘和收集系统。

[0463] 在一些实施例中,基于亲和力的纯化设备还包括树脂珠粒悬浮液。树脂珠粒的表面,例如但不限于,与蛋白质A、蛋白质G、蛋白质L、抗原蛋白、蛋白质、受体、抗体或适体偶联。用亲和树脂珠粒连续纯化生物制剂(例如单克隆抗体)能够避免传统的亲和柱层析法(例如蛋白A亲和层析)中的繁琐处理步骤。

[0464] 在一些实施例中,基于亲和力的纯化设备的树脂珠粒的直径为约0.2微米至约200微米。树脂珠粒的直径可以取决于被纯化的生物制剂和工艺中的流速。此外,树脂珠粒的浓度可以在0.01重量%至25重量%的范围内。例如,磁性树脂珠粒的浓度可以是约1重量%至约20重量%。在其它示例中,树脂珠粒的结合能力取决于珠粒浓度、表面积与体积比、亲和配体密度或其任意组合。在其它示例中,树脂珠粒可以是固体、多孔、纳米多孔、微孔或其任意组合。

[0465] 在一些实施例中,基于亲和力的纯化模块包括具有至少一个垫圈盖的盖系统,至少一个垫圈盖包括用于引入气体以控制正压头压力的至少一个入口,用于平衡至大气压力的至少一个排气口,用于引入树脂珠粒悬浮液的至少一个入口;用于接收包含生物制剂的滤液的至少一个入口,用于引入缓冲系统以分散树脂珠粒,从而实现树脂珠粒的洗涤、洗脱或再生的至少两个入口。在一些实施例中,至少一个垫圈盖还包括用于接纳架空搅拌叶轮以分散树脂珠粒的口。在一些示例中,盖系统控制沿z轴的运动。

[0466] 在一些实施例中,基于亲和力的纯化模块包括机械旋转系统,例如转盘,包括装有树脂珠粒的至少两个器皿,器皿被配置为连续接收包含生物制剂的混合物,并且随后运输所得到的包含生物制剂、树脂珠粒、缓冲或其任意组合的非均相混合物。在一些示例中,机械旋转系统被配置为与盖系统配合以实现加压。在其它示例中,机械旋转系统控制xy平面中的运动或旋转。

[0467] 在一些实施例中,基于亲和力的纯化模块的至少两个器皿分别具有被支撑的基底过滤器或滤膜,使得能够在结合、去结合、洗涤、洗脱和再生的工艺步骤期间保持树脂珠粒。在一些示例中,至少两个器皿还包括用于控制液体流的阀。

[0468] 在一些实施例中,基于亲和力的纯化模块包括收集系统,收集系统与机械旋转系统的至少两个器皿中的至少一个进行接合,从而能够收集废弃物、包含生物制剂的部分或其任意组合。在一些示例中,收集系统控制沿z轴的运动。

[0469] 本文所描述的工艺还包括将包含生物制剂的部分从第一模块的至少一个第一出口连续传递至第二模块,第二模块具有用于接收来自第一模块的至少一个第一出口的流的至少一个入口,并且第二模块包括基于电荷的纯化设备。如本文所用的“基于电荷的纯化设备”包括例如基于生物分子的表面电荷、离子特性、静电相互作用或等电点来纯化生物分子。如本文所描述,基于电荷的纯化包括基于正电荷的纯化设备,基于负电荷的纯化设备或其组合。在一些示例中,第二模块具有至少一个第二入口和至少一个第二出口,并且第二模块被配置为允许经由机械旋转系统在第二入口和第二出口之间的连续流体流,机械旋转系

统包括盖系统、器皿转盘和收集系统。

[0470] 在一些实施例中,基于电荷的纯化设备(例如基于正电荷和/或负电荷的纯化设备)还包括树脂珠粒悬浮液。树脂珠粒的表面例如可以包含阳离子或阴离子官能团,阳离子或阴离子官能团被配置为以特定pH和离子强度与生物制剂选择性地缔合,以分别实现基于正电荷的纯化或基于负电荷的纯化。用离子树脂珠粒连续纯化生物制剂(例如单克隆抗体)能够避免传统的离子交换柱层析法(例如阳离子交换或阴离子交换层析)中的繁琐处理步骤。

[0471] 在一些实施例中,基于电荷的纯化设备的树脂珠粒的直径为约0.2微米至约200微米。树脂珠粒的直径可以取决于被纯化的生物制剂和工艺中的流速。此外,树脂珠粒的浓度可以在0.01重量%至25重量%的范围内。例如,磁性树脂珠粒的浓度可以是约1重量%至约20重量%。在其它示例中,树脂珠粒的电荷或静电缔合能力取决于珠粒浓度、表面积与体积比、表面电荷密度、净电荷或其任意组合。在其它示例中,树脂珠粒可以是固体、多孔、纳米多孔、微孔或其任意组合。

[0472] 在一些实施例中,基于电荷的纯化模块包括具有至少一个垫圈盖的盖系统,至少一个垫圈盖包括用于引入气体以控制正压头压力的至少一个入口,用于平衡至大气压力的至少一个排气口,用于引入树脂珠粒悬浮液的至少一个入口;用于接收包含生物制剂的滤液的至少一个入口,用于引入缓冲系统以分散树脂珠粒,从而实现树脂珠粒的洗涤、解离或再生的至少两个入口。在一些实施例中,至少一个垫圈盖还包括用于接纳架空搅拌叶轮以分散树脂珠粒的口。在一些示例中,盖系统控制沿z轴的运动。

[0473] 在一些实施例中,基于电荷的纯化模块包括机械旋转系统,例如转盘,包括装有树脂珠粒的至少两个器皿,器皿被配置为连续接收包含生物制剂的混合物,并且随后运输所得到的包含生物制剂、树脂珠粒、缓冲或其任意组合的非均相混合物。在一些示例中,机械旋转系统被配置为与盖系统配合以实现加压。在其它示例中,机械旋转系统控制xy平面中的运动或旋转。

[0474] 在一些实施例中,基于电荷的纯化模块的至少两个器皿各自具有被支撑的基底过滤器或滤膜,以使得能够在缔合、解离、洗涤和再生的工艺步骤期间保持树脂珠粒。在一些示例中,至少两个器皿还包括用于控制液体流的阀。

[0475] 在一些实施例中,基于电荷的纯化模块包括收集系统,收集系统与机械旋转系统的至少两个器皿中的至少一个器皿进行接合,以使得能够收集废弃物、包含生物制剂的部分或其任意组合。在一些示例中,收集系统控制沿z轴的运动。

[0476] 在本文所描述的实施例中,第一(基于亲和力的纯化)模块和/或第二(基于电荷的纯化)模块中的一者或两者中的树脂珠粒被回收且重复使用。例如,珠粒可以重复使用至少2次、3次、4次或更多次以纯化生物制剂。

[0477] 替代地,本文所描述的工艺包括将包含生物制剂的部分从第一模块的至少一个第一出口连续传递至第二模块,第二模块具有用于接收来自第一模块的至少一个第一出口的流的至少一个入口,并且第二模块包括自由流电泳设备。自由流电泳设备具有形成在两个平行板之间的流体通道、与流体流方向正交的电场或电场梯度、以及水性离子溶液,并且自由流电泳设备可以代替(多个)基于电荷的磁性纯化模块,或作为(多个)基于电荷的磁性纯化模块之外的附加措施,以纯化生物制剂(例如单克隆抗体)。

[0478] 在一些示例中,两个平行板的溶液接触表面包括玻璃、陶瓷、塑料或其任意组合。在一些示例中,水性离子溶液可以引起跨主分离通道的pH梯度。在其它示例中,水性离子溶液可以赋予跨主分离通道的恒定pH。

[0479] 在一些实施例中,自由流电泳设备具有至少一个流体装置,流体装置包括形成在两个平行板之间的流体通道、与流体流方向正交的电场或电场梯度、以及pH梯度。在一些示例中,基于等电点的流体纯化模块包括至少一个第一流体装置,第一流体装置包括形成在两个平行板之间的流体通道、与流体流方向正交的电场或电场梯度、以及跨主分离通道的粗pH梯度(在一些示例中,粗pH梯度可以是约2至约10的pH范围);以及至少一个第二流体装置,第二流体装置包括形成在两个平行板之间的流体通道、与流体流方向正交的电场或电场梯度、以及跨主分离通道的细pH梯度(在一些示例中,细pH梯度可以是约5至约8的pH范围)。在一些示例中,附加的后续流体装置或芯片包括形成在两个平行板之间的流体通道,以及与流体流方向正交的电场或电场梯度,并且附加的后续流体装置或芯片可以用于进一步细化跨主分离通道的pH梯度(例如约7.1至约7.6的pH范围)。

[0480] 在其它实施例中,自由流电泳设备具有至少一个流体装置,流体装置包括形成在两个平行板之间的流体通道、与流体流方向正交的电场或电场梯度,并且没有pH梯度,以在区带电泳或电荷分离操作模式下进行操作。在一些示例中,基于等电点的流体纯化模块包括至少一个第一流体装置,第一流体装置包括形成在两个平行板之间的流体通道、与流体流方向正交的电场或电场梯度、以及恒定碱性pH(例如大于7的pH);以及至少一个第二流体装置,第二流体装置包括形成在两个平行板之间的流体通道、与流体流方向正交的电场或电场梯度、以及恒定酸性pH(例如小于7的pH)。

[0481] 在其它实施例中,自由流电泳设备具有至少一个流体装置,流体装置包括形成在两个平行板之间的流体通道、与流体流方向正交的电场或电场梯度、以及由间隔溶液(例如NaCl溶液)分开的酸性pH梯度和碱性pH梯度两者,以在等速电泳操作模式下进行操作。

[0482] 在其它实施例中,基于等电点的流体纯化模块包括至少一个第一自由流电泳设备,第一自由流电泳设备包括形成在两个平行板之间的流体通道,以及与流体流方向正交的电场或电场梯度;以及至少一个第二自由流电泳设备,第二自由流电泳设备包括形成在两个平行板之间的流体通道,以及与流体流方向正交的电场或电场梯度,其中每个装置串联连接,并且能够以独立的操作模式进行操作以实现纯化。例如,至少一个第一自由流电泳设备可以在等电聚焦模式下进行操作,并且至少一个第二自由流电泳设备可以在等速电泳模式下进行操作,以提高分离分辨率。

[0483] 在其它实施例中,基于等电点的流体纯化模块包括至少一个第一流体装置,第一流体装置包括流体通道,流体通道具有能够引起限定单向力的至少一个介电泳电极;至少一个第二自由流电泳设备,第二自由流电泳设备包括形成在两个平行板之间的流体通道、与流体流方向正交的电场或电场梯度、以及跨主分离通道的粗pH梯度(例如约2至约10的pH范围);以及至少一个第三自由流电泳设备,第三自由流电泳设备包括形成在两个平行板之间的流体通道、与流体流方向正交的电场或电场梯度、以及跨主分离通道的细pH梯度(例如约5至约8的pH范围)。在一些示例中,附加的后续流体装置或芯片包括形成在两个平行板之间的流体通道,以及与流体流方向正交的电场或电场梯度,并且附加的后续流体装置或芯片可以用于进一步细化跨主分离通道的pH梯度(例如约7.1至约7.6的pH范围)。

[0484] 在一些实施例中,基于等电点的流体纯化设备还包括用作阳极或阴极的至少两个电极(例如铂丝电极)。

[0485] 在一些实施例中,基于等电点的流体纯化设备内的背压取决于通道几何形状和尺寸、入口和出口的开口和/或管道直径、以及输入流速。在一些示例中,背压在约0.5psi至约10psi的范围内。在一些示例中,背压由(例如但不限于)针阀控制。

[0486] 在一些实施例中,基于等电点的流体纯化设备还包括至少一个去泡系统,以连续去除施加电压下的电极通道中放出的 O_2 和 H_2 气泡。在一些实施例中,去除电解气泡对于实现相当长时间段的连续操作来说是必要的。在一些示例中,去泡系统利用疏水性PTFE膜在电极通道顶部形成防水密封,从而允许通过暴露于真空系统而在生成点连续去除电解气泡。在一些示例中,真空表压的范围是约-0.05巴至约-0.4巴。

[0487] 在一些实施例中,基于等电点的流体纯化设备还包括主动冷却系统或散热器(例如Peltier装置、具有循环水/丙二醇夹套的热卡盘),以实现温度控制和焦耳散热。例如,主动冷却系统可以在约4℃至约50℃的范围内,优选约4℃至约37℃的范围内,控制冷却和/或散热。理想地,在分离生物制剂(例如单克隆抗体)时,温度维持在约10℃至约25℃。在一些示例中,主动冷却系统包括包含冷循环水/丙二醇夹套的铝制热卡盘。

[0488] 在一些实施例中,基于等电点的流体纯化模块包括至少一个缓冲或两性电解质系统。

[0489] 在一些实施例中,基于等电点的流体纯化模块包括至少一种电极溶液。在一些实施例中,至少一种电极溶液包括电解质溶液,电解质溶液被配置为接触阳极或阴极(例如分别为磷酸和氢氧化钠)并实现其适当功能。在其它实施例中,至少一种电极溶液包括至少一种两性电解质溶液,两性电解质溶液被配置为接触阳极或阴极并实现其适当功能,例如流经主分离通道、阳极通道和阴极通道的Tris缓冲盐水。

[0490] 在一些实施例中,基于等电点的流体纯化模块包括至少一个传感器或检测器。在一些示例中,至少一个传感器或检测器被定位为管线内的。在一些示例中,至少一个传感器或检测器包括但不限于流传感器、温度传感器、电导率传感器、pH传感器、折射率检测器、UV检测器或背压传感器。

[0491] 在一些实施例中,基于等电点的流体纯化模块包括至少一个液体断路器或断接器,液体断路器或断接器位于装置的下游且位于至少一个管线内传感器或检测器的上游,从而确保在无电压溶液中进行感测或检测的能力。

[0492] 本公开要求保护的工艺提供了优于目前用于纯化生物制剂的下游方法和工艺的许多优点,生物制剂例如是蛋白质或其片段(多肽)、抗体或其片段、细胞因子、趋化因子、酶或生长因子。例如但并非旨在限制地,本文的工艺提供了一种用于纯化单克隆抗体的连续生物工艺,与分批、单次使用或半连续单克隆抗体制造的传统方法相比,该连续工艺能够维持通量和产量,同时显著减少生产设施占地面积、设施建设和验证所需的时间、与设施建设相关的成本和资产设备支出。因为连续操作的能力消除了对于传统的下游生物处理中的离心、深层过滤和柱层析法步骤所需的大型工艺设备(其尺寸由大生物反应器体积决定)的需求,如本文所描述的连续生物处理提供了更小、更流线型的设备(例如生物反应器体积和下游生物处理设备更小)。此外,连续操作的更小、更流线型的设备实现了使用显著更小的(多个)生物反应器在稳态下生产单克隆抗体。与传统的单克隆抗体制造方法相比,如本文所描

述的连续生物工艺还可以显著减少操作支出、总生物工艺生产线停机时间和生物制剂损失。最后,本文所描述的生物制剂纯化工艺在占地面积比现有技术显著更小的系统中执行,同时不会牺牲以千克/年为基础的产品通量或产量。

[0493] 本文所描述的工艺和方法的优点包括能够在不导致膜结垢或堵塞的情况下去除大杂质(例如细胞、细胞碎片和聚集体)。例如,本领域已知用传统过滤或切向流过滤系统从细胞培养基中净化细胞、细胞碎片和聚集体通常会导致滤膜结垢或堵塞,因此使得这些方法不适合作为在长期连续处理中从包含生物制剂的非均相混合物中连续去除大杂质的手段。相反,因为滤膜的活性目标区域是不断更新的,本文所描述的动态过滤设备实现了在不发生膜结垢的情况下从包含生物制剂的非均相混合物中连续去除大杂质。另外,由于生产和纯化生物制剂的整个工艺可以是连续的,并且能够跨整个工艺保持约0.1mL/分钟至约50mL/分钟范围内的流速,工艺设备和整个工艺占地面积能够明显小于当前标准工艺的占地面积,同时不会牺牲以千克/年为基础的产品通量或产量。例如,如本文所描述的单克隆抗体生产和纯化工艺在占据高达约30,000平方英尺占地面积的情况下进行操作。相比之下,目前的单克隆抗体生产和下游工艺需要至少200,000平方英尺。在一些示例中,纯化生物制剂的工艺流速在约1mL/分钟至约10mL/分钟的范围内。在一些示例中,从非均相混合物中连续去除大杂质的步骤中的流速在约0.1mL/分钟至约50mL/分钟的范围内。在其它示例中,从非均相混合物中连续去除大杂质的步骤中的流速等同于来自生物反应器渗流管线的流速。在其它示例中,该工艺提供的将滤液连续传递至第一模块的步骤中的流速在约0.1mL/分钟至约50mL/分钟的范围内。在其它示例中,该工艺提供的将包含生物制剂的部分从第一出口连续传递至第二模块的步骤中的流速在约0.1mL/分钟至约50mL/分钟的范围内。

[0494] 本文所描述的利用树脂珠粒(例如琼脂糖)的工艺和方法的一个重要优点包括:这些系统不需要传统的固定相或填塞树脂柱(例如用于标准层析法)以进行消毒、回收和/或再生。例如,这些系统提供树脂珠粒的回收和/或再生,以在操作期间形成树脂珠粒的无限表面积,并且进而提供连续且成本有效的方法。换句话说,本文所描述的模块不具有固定的结合或缔合能力。在一些具体示例中,如本文所描述,在生物制剂纯化期间使用的树脂珠粒不断地回收和再生,因此能够接受来自前一步骤(即动态过滤模块或纯化模块)的流,而不断来自生物反应器渗流管线的流。换句话说,由于本发明所述的模块连续地经历这些步骤,所以在运行之后不必为了消毒、再生和/或回收而闲置。该方法与目前的连续层析方法的不同之处在于,由于柱填塞约束,目前的柱层析方法限定了柱容量极限,并且因此需要多个填塞柱进行柱切换,以接受连续输入流,并使已经达到全容量的柱能够再生和/或回收。本文所描述的方法的另一个优点包括:树脂珠粒不填塞至固定相内,而是具有流动性。因为明显更多的树脂珠粒表面被暴露并且自由结合,这增加了可用于结合或缔合的树脂珠粒的表面积。另外,填塞柱中的树脂珠粒暴露于高压差,以形成穿过柱的流并造成损坏,这是导致柱寿命小于期望寿命的原因之一。在本发明中,可移动树脂珠粒经受明显更低、对于易碎珠粒更温和的压力,从而延长了寿命。另外,这种流动性使得树脂珠粒更有可能完全再生并恢复其初始状态。这进一步增加了本文所描述方法的成本效益,因为树脂被更有效地利用。

[0495] 本文所描述的利用自由流电泳的工艺和方法的一个重要优点包括:该系统代表

“无产物损失”工艺,因为在这种工艺中,分离根据目标生物制剂的物理化学性质、通过与电场相互作用在水溶液中发生,因此不需要产物与树脂或其它纯化部分相互作用。在该方法的分辨能力中观察到另一个优点,因为与传统的离子交换层析法相比,能够得到理论上更高纯度的产物。

[0496] 另外,基于固有物理化学性质的分离将该方法扩展至用于纯化多种生物制剂的用途,包括但不限于蛋白质或其片段(多肽)、抗体或其片段、细胞因子、趋化因子、酶、生长因子、寡核苷酸、病毒、腺病毒、腺伴随病毒(AAV)或慢病毒。

[0497] 此外,模块化方法提供了工艺设计方面的灵活性,以适应各种各样的生物制剂。

[0498] 用于使用动态过滤模块、基于亲和力的流体纯化模块、以及基于电荷的流体纯化模块或基于等电点的流体纯化模块中的至少一者来纯化生物制剂的连续工艺

[0499] 描述了一种用于纯化生物制剂的连续工艺;该工艺包括经由输入管线连续接收包含生物制剂的非均相混合物,其中生物制剂包括但不限于蛋白质或其片段(多肽)、抗体或其片段、细胞因子、趋化因子、酶或生长因子。当纯化时,当按重量计至少约60%、70%、80%、90%、95%或甚至99%不含杂质(例如细胞、细胞碎片、聚集体、宿主细胞蛋白质、不期望的蛋白质和肽、不期望的抗体、不期望的核酸和寡核苷酸、病毒、盐、缓冲组分、表面活性剂、糖、金属污染物、可浸出物、培养基组分和/或与其天然相关的天然存在的有机分子)时,生物制剂(例如单克隆抗体)基本上是纯的。

[0500] 该工艺包括通过动态过滤从非均相混合物中连续去除大杂质。上述动态过滤过程包括至少一个动态过滤模块,动态过滤模块在负压下将生物制剂从与输入管线流体连通的至少一个输出头连续地馈送至动态过滤模块,从而产生包括生物制剂的滤液。动态过滤模块还可以包括至少一个附加输入管线,以经由同轴输出头或单独的单轴输出头供应洗涤缓冲液。

[0501] 在一些实施例中,本文所描述的工艺包括纯化在生物反应器(例如补料分批生物反应器、灌注生物反应器、恒化器生物反应器)中连续产生的生物制剂。例如,生物反应器包括生物反应器馈送管线和输出渗流管线,以实现稳态细胞培养生长条件,并且输出渗流管线用作输入管线,以允许从生物反应器到动态过滤模块的连续流体流。

[0502] 如本文所描述的,从非均相混合物中连续去除大杂质的工艺不包括离心、圆盘堆叠离心、深层过滤、静态过滤、切向流过滤、水力旋流或其任意组合。术语“静态过滤”是指被过滤的非均相混合物保持静态的过程,这意味着例如滤膜(或深层过滤器)具有限定容量,并且过滤速率随着膜达到其容量而降低(例如膜孔变得堵塞)。在“静态”(与“动态”相反)过滤中,滤膜保持静止(不移动),并且(例如非均相混合物的)流穿过静止的滤膜。这种静态过滤方法在本领域中是常见的,简单且容易理解。

[0503] 与本领域常用的静态过滤方法不同,本文的工艺描述了动态过滤模块,其中动态过滤模块的部件以协调的方式移动(例如膜根据整个工艺的流速移动或前进),以使过滤能够连续地跨越滤膜未使用的新目标区域来发生。这消除了膜结垢或堵塞,并且允许在操作期间控制滤饼填塞和厚度。

[0504] 动态过滤模块包括:滤膜卷、膜支撑结构、至少一个支撑杆或辊、真空管线、真空系统和至少一个真空收集器皿。

[0505] 在一些实施例中,滤膜卷包括过滤卷,其中并非旨在限制地,滤膜包括聚醚砜

(PES)、亲水性聚砜、纤维素酯、醋酸纤维素、聚偏二氟乙烯 (PVDF)、亲水性PVDF、聚碳酸酯、尼龙、聚四氟乙烯 (PTFE)、亲水性PTFE或其任意组合。

[0506] 卷式滤膜的孔径大小取决于被纯化的生物制剂。在一些示例中,卷式滤膜的孔径在 $0.1\mu\text{m}$ 至 $1\mu\text{m}$ 的范围内。替代地,该孔径在约 $0.2\mu\text{m}$ 至约 $0.45\mu\text{m}$ 的范围内,或者孔径小于约 $0.45\mu\text{m}$ 。在其它示例中,当纯化抗体时,卷式滤膜的孔径在 $0.2\mu\text{m}$ 至约 $0.45\mu\text{m}$ 的范围内。

[0507] 滤膜卷的宽度为约10mm至约600mm。滤膜卷的宽度例如可以取决于动态过滤系统或膜支撑结构的尺寸。

[0508] 在一些实施例中,滤膜卷还用作与收集卷筒连通的馈送卷筒,这意味着滤膜源自预制卷,并且跨越至初始为空的收集卷,从而形成卷对卷系统。在一些方面,动态过滤模块包括在馈送卷筒和收集卷筒之间延伸的卷式滤膜,滤膜具有活性目标区域,活性目标区域被配置为接收非均相混合物。在一些示例中,馈送卷筒运动由与齿轮箱耦接的伺服电机控制,以将每分钟转数(RPM)限制为200:1,从而实现具有高扭矩的低膜输送速度。收集卷筒运动由与齿轮箱耦接的伺服电机控制,以将RPM限制为200:1,从而实现具有高扭矩的低膜输送速度。此外,馈送卷筒电机和收集卷筒电机由操作反馈机构的闭环控制器控制,以确保在操作期间馈送卷筒和收集卷筒两者上的滤膜卷的直径不断变化的情况下,速度保持一致。在一些示例中,馈送卷筒和收集卷筒以相等的速度在相同的方向上进行操作。

[0509] 在一些实施例中,滤膜的输送速度为约 0.1mm/sec 至约 100mm/sec ,优选约 0.1mm/sec 至约 10mm/sec 。

[0510] 动态过滤模块的膜支撑结构包括来源于具有低静摩擦系数的材料(例如PTFE)的机械光滑的接触表面,以及与真空管线具有连续性的开口。如本文所用,“膜支撑结构”是指为滤膜的活性区域提供结构支撑的制造部件,以防止滤膜在穿过负压区域时因开口与真空管线具有连续性而产生变形。此外,如本文所用,“机械光滑的接触表面”是指具有低静摩擦系数,从而产生对抗滤膜传输的低摩擦力(尤其是当被弄湿时)的表面。机械光滑的接触表面可以影响滤膜以动态方式移动容易性。机械光滑的接触表面还可以以表面粗糙度测量,值越低,表面越光滑。此外,由于粗糙表面之间的摩擦大于光滑表面之间的摩擦,所以本文所使用的机械光滑接触表面是指具有低摩擦(即低静摩擦系数)的表面。

[0511] 在一些实施例中,动态过滤模块的膜支撑结构包括开口。例如,开口可以包括网格、至少一个槽、至少一个孔、玻璃料、多孔材料或其任意组合。例如,开口可以包括一系列规则或不规则间隔的元件(例如网格、至少一个狭槽、至少一个孔或其任意组合)。此外,开口可以包括规则间隔的元件,例如开口可以包括一系列等间隔的平行槽。另外,开口可以包括一个格栅(例如,如上所述的一系列规则或不规则间隔的元件)。在其它示例中,开口可以包括多于一个格栅,其中每个格栅都是垂直的。开口可以是不规则或规则元件(例如一系列平行槽)的集合。开口还可以包括网格,网格具有分割厚度或全厚度,并且网格的行可以是平行或不平行的。开口的元件(例如网格、至少一个槽、至少一个孔、玻璃料、多孔材料或其任意组合)可以具有任何期望厚度。例如但并非旨在限制地,开口可以包括厚度为约 0.25mm 至约 5mm 的网格。

[0512] 动态过滤模块的膜支撑结构包括温度控制机构。温度控制机构在存在蒸发冷却的情况下将温度维持在约 4°C 至约 37°C 。例如,在抗体纯化期间,温度控制机构将温度维持在 15°C 至 37°C 。示例性温度控制机构包括但不限于单环控制器、多环控制器、闭环控制器、PID

控制器、Peltier装置、电阻加热元件和/或具有循环水护套的热卡盘。

[0513] 在一些实施例中,动态过滤模块的至少一个支撑杆或辊具有来源于具有低静摩擦系数的材料(例如PTFE、PFA)的机械光滑的接触表面。在一些示例中,动态过滤模块包括具有机械光滑的接触表面的至少一个支撑杆或辊,以稳定滤膜跨膜支撑结构的运动。

[0514] 在一些实施例中,动态过滤模块包括至少一个输出头,输出头用于调节非均相混合物的流动,并将非均相混合物分配到滤膜的目标区域(例如活性目标区域)上。在一些示例中,至少一个输出头是管或槽模。

[0515] 在一些实施例中,动态过滤模块还包括至少一个附加输入管线,以经由同轴输出头、单独的单轴输出头、单独的槽模输出头或具有多个开口的槽模输出头供应洗涤缓冲。

[0516] 在一些实施例中,动态过滤模块包括涂覆和转化工业中已知的元件,例如但不限于主动或被动边缘引导件、张力控制器(例如浮动辊)、断裂和张力的检测器,或其任意组合。

[0517] 在一些实施例中,动态过滤模块包括与膜支撑结构具有连续性的真空系统,以跨滤膜的活性目标区域来施加负压,其中负压允许实现滤膜跨膜支撑结构的活性输送,并且使得能够收集包含生物制剂的滤液。在一些示例中,动态过滤模块的真空系统维持约-0.05巴至约-0.98巴的表压以用于连续过滤。

[0518] 在一些实施例中,动态过滤模块还包括被配置为收集滤液的至少一个真空收集器皿,以及至少一个传感器或检测器。在本文描述的一些方面,在通过动态过滤进行纯化期间,将包括生物制剂的滤液在负压下馈送至能够收集约50mL至约100L的真空收集器皿中。在一些示例中,真空收集器皿能够收集约1L至约10L的滤液。在其它示例中,真空收集器皿能够收集约1L至约50L的滤液。

[0519] 在一些实施例中,通过动态过滤从非均相混合物中连续去除大杂质(例如细胞、细胞碎片和聚集体)的工艺包括使用不同孔径的至少两个离散卷式滤膜进行多级过滤。在一些示例中,该多级动态过滤过程包括至少一个第一动态过滤设备,第一动态过滤设备与第二动态过滤设备流体连通,第一动态过滤设备具有带有大孔径(例如0.45 μm)的卷式滤膜,第二动态过滤设备具有带有小孔径(例如0.2 μm)的卷式滤膜,从而产生包括生物制剂的滤液。

[0520] 本文所描述的工艺包括将滤液连续传递至能够将溶液分离成两个或更多个部分的第一模块,两个或更多个部分包括包含生物制剂的至少一个部分。例如,将溶液分离成两个或更多个部分可以包括包含生物制剂的至少一个部分,以及包含小杂质的至少一个其它部分。如本文所描述的,第一模块包括基于亲和力的流体纯化设备。“基于亲和力的流体纯化设备”是指基于利用分子构象结合相互作用(例如配体-受体相互作用)的纯化技术,其中选择性表面固定配体识别并结合待用至少一个混合流体装置或芯片(例如微流体、中流体、毫流体、宏流体)纯化的生物制剂。在一些示例中,第一模块具有至少一个第一入口和至少一个第一出口,并且被配置为允许第一入口与第一出口之间的连续流体流。

[0521] 在一些实施例中,基于亲和力的流体纯化设备还包括磁性树脂珠粒悬浮液。磁性树脂珠粒的表面,例如但不限于,与蛋白质A、蛋白质G、蛋白质L、抗原蛋白、蛋白质、受体、抗体或适体偶联。用亲和磁性树脂珠粒连续纯化生物制剂(例如单克隆抗体)能够避免传统的亲和柱层析法(例如蛋白A亲和层析)中的繁琐处理步骤。

[0522] 在一些实施例中,基于亲和力的流体纯化设备的磁性树脂珠粒的直径为约0.2微

米至约200微米。磁性树脂珠粒的直径可以取决于被纯化的生物制剂和工艺中的流速。此外,磁性树脂珠粒的浓度可以在0.01重量%至25重量%的范围内。例如,磁性树脂珠粒的浓度可以是约1重量%。在其它示例中,磁性树脂珠粒的结合能力取决于珠粒浓度、表面积与体积比、亲和配体密度或其任意组合。在其它示例中,磁性树脂珠粒可以是实心珠粒、多孔珠粒、纳米多孔珠粒、微孔珠粒或其任意组合。

[0523] 基于亲和力的流体纯化设备的至少一个混合流体装置或芯片可以指例如微流体、中流体、毫流体、宏流体装置或芯片或其任意组合。在一些示例中,流体装置或芯片是混合微流体装置或芯片,例如将交叉流体动力学和功能与磁泳和介电泳能力相结合的微流体装置,其中交叉流体动力学由微通道设计控制,磁泳经由外部磁场实现,并且介电泳经由介电泳电极实现。在一些方面,介电泳电极和外部磁场的组合用于操纵交叉流动微通道中的磁性树脂珠粒的流路,从而得能够以高流速(例如大于0.5mL/min)进行有效纯化,这是目前传统上流速限于 $\mu\text{L/hr}$ 或 $\mu\text{L/min}$ 的微流体领域中没有实现的现象。在其它示例中,混合流体是将交叉流体动力学和功能与磁泳和声泳能力相结合的微流体装置,其中交叉流体动力学由微通道设计控制,磁泳经由外部磁场实现,并且声泳经由压电换能器或晶体实现。在一些方面,压电换能器和外部磁场的组合用于操纵交叉流动微通道中的磁性树脂珠粒的流路,从而得能够以高流速(例如大于0.5mL/min)进行有效纯化,这是目前传统上流速限于 $\mu\text{L/hr}$ 或 $\mu\text{L/min}$ 的微流体领域中没有实现的现象。

[0524] 在一些实施例中,基于亲和力的流体纯化模块还包括以补料分批或灌注模式操作的至少一个切向流过滤系统,以浓缩和缓冲置换包含生物制剂的部分。

[0525] 本文所描述的工艺还包括将包含生物制剂的部分从第一模块的至少一个第一出口连续传递至第二模块,第二模块具有用于接收来自第一模块的至少一个第一出口的流的至少一个入口,并且第二模块包括基于电荷的流体纯化设备。如本文所用的“基于电荷的流体纯化设备”包括例如用至少一个混合流体装置或芯片(例如微流体、中流体、毫流体、宏流体装置或芯片或其任意组合)基于生物分子表面电荷、离子特性、静电相互作用或等电点来纯化生物分子。如本文所描述的,基于电荷的流体纯化包括基于正电荷的流体纯化设备、基于负电荷的流体纯化设备或其组合。在一些示例中,第二模块具有至少一个第二入口和至少一个第二出口,并且第二模块被配置为允许第二入口与第二出口之间的连续流体流。

[0526] 在一些实施例中,基于电荷的流体纯化设备还包括磁性树脂珠粒悬浮液。磁性树脂珠粒的表面例如可以包含阳离子或阴离子官能团,阳离子或阴离子官能团被配置为以特定pH和离子强度与生物制剂选择性地缔合,以分别实现基于正电荷的流体纯化或基于负电荷的流体纯化。用离子磁性树脂珠粒连续纯化生物制剂(例如单克隆抗体)能够避免传统的离子交换柱层析法(例如阳离子交换或阴离子交换层析)中的繁琐处理步骤。

[0527] 在一些实施例中,基于电荷的流体纯化设备的磁性树脂珠粒的直径为约0.2微米至约200微米。磁性树脂珠粒的直径可以取决于被纯化的生物制剂和工艺中的流速。此外,磁性树脂珠粒的浓度可以在0.01重量%至25重量%的范围内。例如,磁性树脂珠粒的浓度可以是约1重量%。在其它示例中,磁性树脂珠粒的电荷或静电缔合能力取决于珠粒浓度、表面积与体积比、表面电荷密度、净电荷或其任意组合。在其它示例中,磁性树脂珠粒可以是实心珠粒、多孔珠粒、纳米多孔珠粒、微孔珠粒或其任意组合。

[0528] 基于电荷的流体纯化设备的至少一个混合流体装置或芯片可以指例如微流体、中

流体、毫流体、宏流体装置或芯片或其任意组合。在一些示例中,流体装置或芯片是混合微流体装置或芯片,例如将交叉流体动力学的功能与磁泳和介电泳能力相结合的微流体装置,其中交叉流体动力学由微通道设计控制,磁泳经由外部磁场实现,并且介电泳经由介电泳电极实现。在一些方面,介电泳电极和外部磁场的组合用于操纵交叉流动微通道中的磁性树脂珠粒的流路,从而得能够以高流速(例如大于0.5mL/min)进行有效纯化,这是目前传统上流速限于 $\mu\text{L/hr}$ 或 $\mu\text{L/min}$ 的微流体领域中没有实现的现象。在其它示例中,混合流体是将交叉流体动力学的功能与磁泳和声泳能力相结合的微流体装置,其中交叉流体动力学由微通道设计控制,磁泳经由外部磁场实现,并且声泳经由压电换能器或晶体实现。在一些方面,压电换能器和外部磁场的组合用于操纵交叉流动微通道中的磁性树脂珠粒的流路,从而得能够以高流速(例如大于0.5mL/min)进行有效纯化,这是目前传统上流速限于 $\mu\text{L/hr}$ 或 $\mu\text{L/min}$ 的微流体领域中没有实现的现象。

[0529] 在一些实施例中,基于电荷的流体纯化模块还包括以补料分批或灌注模式操作的至少一个切向过滤系统,用于浓缩和缓冲置换包含生物制剂的部分。

[0530] 在本文所描述的实施例中,第一(基于亲和力的流体纯化)模块和/或第二(基于电荷的流体纯化)模块中的一者或两者中的磁性树脂珠粒被回收且重复使用。例如,珠粒可以重复使用至少2次、3次、4次或更多次以纯化生物制剂。

[0531] 替代地,本文所描述工艺包括将包含生物制剂的部分从第一模块的至少一个第一出口连续传递至第二模块,第二模块具有用于接收来自第一模块的至少一个第一出口的流的至少一个入口,并且第二模块包括自由流电泳设备。自由流电泳设备具有形成在两个平行板之间的流体通道、与流体流方向正交的电场或电场梯度、以及水性离子溶液,并且自由流电泳设备可以代替(多个)基于电荷的磁性纯化模块,或作为(多个)基于电荷的磁性纯化模块之外的附加措施,以纯化生物制剂(例如单克隆抗体)。

[0532] 在示例中,两个平行板的溶液接触表面包括玻璃、陶瓷、塑料或其任意组合。在一些示例中,水性离子溶液可以引起跨主分离通道的pH梯度。在其它示例中,水性离子溶液可以赋予跨主分离通道上的恒定pH。

[0533] 在一些实施例中,自由流电泳设备具有至少一个流体装置,流体装置包括形成在两个平行板之间的流体通道、与流体流方向正交的电场或电场梯度、以及pH梯度。在一些示例中,基于等电点的流体纯化模块包括至少一个第一流体装置,第一流体装置包括形成在两个平行板之间的流体通道、与流体流方向正交的电场或电场梯度、以及跨主分离通道的粗pH梯度(在一些示例中,粗pH梯度可以是约2至约10的pH范围);以及至少一个第二流体装置,第二流体装置包括形成在两个平行板之间的流体通道、与流体流方向正交的电场或电场梯度、以及跨主分离通道的细pH梯度(在一些示例中,细pH梯度可以是约5至约8的pH范围)。在一些示例中,附加的后续流体装置或芯片包括形成在两个平行板之间的流体通道,以及与流体流方向正交的电场或电场梯度,并且附加的后续流体装置或芯片可以用于进一步细化跨主分离通道的pH梯度(例如约7.1至约7.6的pH范围)。

[0534] 在其它实施例中,自由流电泳设备具有至少一个流体装置,包括形成在两个平行板之间的流体通道、与流体流方向正交的电场或电场梯度,以及没有pH梯度,以在区带电泳或电荷分离操作模式下进行操作。在一些示例中,基于等电点的流体纯化模块包括至少一个第一流体装置,第一流体装置包括形成在两个平行板之间的流体通道、与流体流方向正

交的电场或电场梯度、以及恒定碱性pH(例如大于7的pH);以及至少一个第二流体装置,第二流体装置包括形成在两个平行板之间的流体通道、与流体流方向正交的电场或电场梯度、以及恒定酸性pH(例如小于7的pH)。

[0535] 在其它实施例中,自由流电泳设备具有至少一个流体装置,流体装置包括形成在两个平行板之间的流体通道、与流体流方向正交的电场或电场梯度、以及由间隔溶液(例如NaCl溶液)分开的酸性pH梯度和碱性pH梯度,以在等速电泳操作模式下进行操作。

[0536] 在其它实施例中,基于等电点的流体纯化模块包括至少一个第一自由流电泳设备,第一自由流电泳设备包括形成在两个平行板之间的流体通道,以及与流体流方向正交的电场或电场梯度;以及至少一个第二自由流电泳设备,第二自由流电泳设备包括形成在两个平行板之间的流体通道,以及与流体流方向正交的电场或电场梯度,其中每个装置串联连接,并且能够以独立的操作模式进行操作以实现纯化。例如,至少一个第一自由流电泳设备可以在等电聚焦模式下进行操作,并且至少一个第二自由流电泳设备可以在等速电泳模式下进行操作,以提高分离分辨率。

[0537] 在其它实施例中,基于等电点的流体纯化模块包括至少一个第一流体装置,第一流体装置包括流体通道,流体通道具有能够引起限定单向力的至少一个介电泳电极;至少一个第二自由流电泳设备,第二自由流电泳设备包括形成在两个平行板之间的流体通道、与流体流方向正交的电场或电场梯度、以及跨主分离通道的粗pH梯度(例如约2至约10的pH范围);以及至少一个第三自由流电泳设备,第三自由流电泳设备包括形成在两个平行板之间的流体通道、与流体流方向正交的电场或电场梯度、以及跨主分离通道的细pH梯度(例如约5至约8的pH范围)。在一些示例中,附加的后续流体装置或芯片包括形成在两个平行板之间的流体通道,以及与流体流方向正交的电场或电场梯度,并且附加的后续流体装置或芯片可以用于进一步细化跨主分离通道的pH梯度(例如约7.1至约7.6的pH范围)。

[0538] 在一些实施例中,基于等电点的流体纯化设备还包括用作阳极或阴极的至少两个电极(例如铂丝电极)。

[0539] 在一些实施例中,基于等电点的流体纯化设备内的背压取决于通道几何形状和尺寸、入口和出口的开口和/或管道直径、以及输入流速。在一些示例中,背压在约0.5psi至约10psi的范围内。在一些示例中,背压由(例如但不限于)针阀控制。

[0540] 在一些实施例中,基于等电点的流体纯化设备还包括至少一个去泡系统,以连续去除施加电压下的电极通道中放出的 O_2 和 H_2 气泡。在一些实施例中,去除电解气泡对于实现相当长时间段的连续操作来说是必要的。在一些示例中,去泡系统利用疏水性PTFE膜在电极通道顶部形成防水密封,从而允许通过暴露于真空系统而在生成点连续去除电解气泡。在一些示例中,真空表压的范围是约-0.05巴至约-0.4巴。

[0541] 在一些实施例中,基于等电点的流体纯化设备还包括主动冷却系统或散热器(例如Peltier装置、具有循环水/丙二醇夹套的热卡盘),以实现温度控制和焦耳散热。例如,冷却系统可以在约4℃至约50℃的范围内,优选约4℃至约37℃的范围内,控制冷却和/或散热。理想地,在分离生物制剂(例如单克隆抗体)时,温度维持在约10℃至约25℃。在一些示例中,主动冷却系统包括包含冷循环水/丙二醇夹套的铝制热卡盘。

[0542] 在一些实施例中,基于等电点的流体纯化模块包括至少一个缓冲或两性电解质系统。

[0543] 在一些实施例中,基于等电点的流体纯化模块包括至少一种电极溶液。在一些实施例中,至少一种电极溶液包括电解质溶液,电解质溶液被配置为接触阳极或阴极(例如分别为磷酸和氢氧化钠)并实现其适当功能。在其它实施例中,至少一种电极溶液包括至少一种两性电解质溶液,两性电解质溶液被配置为接触阳极或阴极并实现其适当功能,例如流经主分离通道、阳极通道和阴极通道的Tris缓冲盐水。

[0544] 在一些实施例中,基于等电点的流体纯化模块包括至少一个传感器或检测器。在一些示例中,至少一个传感器或检测器被定位为管线内的。在一些示例中,至少一个传感器或检测器包括但不限于流传感器、温度传感器、电导率传感器、pH传感器、折射率检测器、UV检测器或背压传感器。

[0545] 在一些实施例中,基于等电点的流体纯化模块包括至少一个液体断路器或断接器,液体断路器或断接器位于装置的下游且位于至少一个管线内传感器或检测器的上游,从而确保在无电压溶液中进行感测或检测的能力。

[0546] 本发明要求保护的工艺提供了优于目前用于纯化生物制剂的下游方法和工艺的许多优点,生物制剂例如是蛋白质或其片段(多肽)、抗体或其片段、细胞因子、趋化因子、酶或生长因子。例如但并非旨在限制地,本文的工艺提供了一种用于纯化单克隆抗体的连续生物工艺,与分批、单次使用或半连续单克隆抗体制造的传统方法相比,该连续工艺能够维持通量和产量,同时显著减少生产设施占地面积、设施建设和验证所需的时间、与设施建设相关的成本和资产设备支出。因为连续操作的能力消除了对于传统的下游生物处理中的离心、深层过滤和柱层析法步骤所需的大型处理设备(其尺寸由大生物反应器体积决定)的需求,所以如本文所描述的连续生物处理提供了更小、更流线型的设备(例如生物反应器体积和下游生物处理设备更小)。此外,更小、更流线型的设备连续操作实现了使用显著更小的(多个)生物反应器在稳态下生产单克隆抗体。与传统的单克隆抗体制造方法相比,如本文所描述的连续生物工艺还可以显著减少操作支出、总生物工艺生产线停机时间和生物制剂损失。最后,本文所描述的生物制剂纯化工艺在占地面积比现有技术显著更小的系统中执行,同时不会牺牲以千克/年为基础的产品通量或产量。

[0547] 本文所描述的工艺和方法的优点包括能够在不导致膜结垢或堵塞的情况下去除大杂质(例如细胞、细胞碎片和聚集体)。例如,本领域已知用传统过滤或切向流过滤系统从细胞培养基中净化细胞、细胞碎片和聚集体通常会导致滤膜结垢或堵塞,使得这些方法不适合作为在长期连续处理中从包含生物制剂的非均相混合物中连续去除大杂质的手段。相反,因为滤膜的活性目标区域是不断更新的,本文所描述的动态过滤设备实现了在不发生膜结垢的情况下从包含生物制剂的非均相混合物中连续去除大杂质。另外,由于生产和纯化生物制剂的整个过程可以是连续的,并且能够在整个工艺中保持约0.1mL/分钟至约50mL/分钟范围内的流速,工艺设备和整个工艺占地面积能够明显小于当前标准工艺的占地面积,同时不会牺牲以千克/年为基础的产品通量或产量。例如,如本文所描述的单克隆抗体生产和纯化工艺在占据高达约30,000平方英尺占地面积的情况下进行操作。相比之下,目前的单克隆抗体生产和下游工艺需要至少200,000平方英尺。在一些示例中,生物制剂纯化工艺的流速在约1mL/分钟至约10mL/分钟的范围内。在一些示例中,从非均相混合物中连续去除大杂质的步骤中的流速在约0.1mL/分钟至约50mL/分钟的范围内。在其它示例中,从非均相混合物中连续去除大杂质的步骤中的流速等同于来自生物反应器渗流管线的

流速。在其它示例中,该工艺提供的将滤液连续传递至第一模块的步骤中的流速在约0.1mL/分钟至约50mL/分钟的范围。在其它示例中,该工艺提供的将包含生物制剂的部分从第一出口连续传递至第二模块的步骤中的流速在约0.1mL/分钟至约50mL/分钟的范围。此外,用混合微流体装置以约0.1mL/分钟至约50mL/分钟范围内的流速纯化生物制剂的工艺的能力是目前传统上流速限于 $\mu\text{L/hr}$ 或 $\mu\text{L/min}$ 的微流体领域中没有实现的现象。

[0548] 本文所描述的利用磁性树脂珠粒(例如磁性琼脂糖)的工艺和方法的一个重要优点包括:这些系统不需要传统的固定相或堵塞树脂柱(例如用于标准层析法)以进行消毒、回收和/或再生。例如,这些系统提供磁性树脂珠粒的回收和/或再生,以在操作期间形成磁性树脂珠粒的无限表面积,并且进而提供连续且成本有效的方法。换句话说,本文所描述的模块不具有固定的结合或缔合能力。在一些具体示例中,如本文所描述,在生物制剂纯化期间使用的磁性树脂珠粒不断地回收和再生,并且因此能够接受来自前一步骤(即动态过滤模块或纯化模块)的流,而不中断来自生物反应器渗流管线的流。换句话说,由于本发明所述的模块连续地经历这些步骤,所以在运行之后不必为了消毒、再生和/或回收而闲置。该方法与目前的连续层析方法的不同之处在于,由于树脂堵塞约束,目前的柱层析方法限定了柱容量极限,并且因此需要多个堵塞柱进行柱切换,以接受连续输入流,并使已经达到全容量的柱能够再生和/或回收。本文所描述方法的另一个优点包括:磁性树脂珠粒不堵塞至固定相内,而是具有流动性。因为明显更多的磁性树脂珠粒表面被暴露并且自由结合,这增加了可用于结合或缔合的磁性树脂珠粒的表面积。另外,堵塞柱中的树脂珠粒暴露于高压差,以形成穿过柱的流并造成损坏,这是导致柱寿命小于期望寿命的原因之一。在本发明中,可移动树脂珠粒经受明显更低、对于易碎珠粒更温和的压力,从而延长了寿命。另外,这种流动性使得磁性树脂珠粒更有可能完全再生并恢复其初始状态。由于树脂被更有效地利用,这进一步增加了本文方法的成本效益。

[0549] 本文所描述的利用自由流电泳的工艺和方法的一个重要优点包括:该系统代表“无产物损失”工艺,因为在这种工艺中,分离根据目标生物制剂的物理化学性质、通过与电场相互作用在水溶液中发生,因此不需要产物与树脂或其它纯化部分相互作用。在该方法的分辨能力中观察到另一个优点,因为与传统的离子交换层析法相比,能够得到理论上更高纯度的产物。另外,基于固有物理化学性质的分离将该方法扩展至用于纯化多种生物制剂的用途,包括但不限于蛋白质或其片段(多肽)、抗体或其片段、细胞因子、趋化因子、酶、生长因子、寡核苷酸、病毒、腺病毒、腺伴随病毒(AAV)或慢病毒。

[0550] 此外,模块化方法提供了工艺设计方面的灵活性,以适应各种各样的生物制剂。

[0551] 使用动态过滤模块、基于亲和力的TFF纯化模块以及基于电荷的TFF纯化模块或基于等电点的流体纯化模块中的至少一者进行纯化生物制剂的连续工艺

[0552] 描述了一种用于纯化生物制剂的连续工艺;该工艺包括经由输入管线连续接收包含生物制剂的非均相混合物,其中生物制剂包括但不限于蛋白质或其片段(多肽)、抗体或其片段、细胞因子、趋化因子、酶或生长因子。在纯化时,当按重量计至少60%、70%、80%、90%、95%或甚至99%不含杂质(例如细胞、细胞碎片、聚集体、宿主细胞蛋白质、不期望的蛋白质和肽、不期望的抗体、不期望的核酸和寡核苷酸、病毒、盐、缓冲组分、表面活性剂、糖、金属污染物、可浸出物、培养基组分和/或与其天然相关的天然存在的有机分子)时,生物制剂(例如单克隆抗体)基本上是纯的。

[0553] 该工艺包括通过动态过滤从非均相混合物中连续去除大杂质。上述动态过滤过程包括至少一个动态过滤模块,动态过滤模块在负压下将生物制剂从与输入管线流体连通的至少一个输出头连续地馈送至动态过滤模块,从而产生包括生物制剂的滤液。动态过滤模块还可以包括至少一个附加输入管线,以经由同轴输出头或单独的单轴输出头供应洗涤缓冲。

[0554] 在一些实施例中,本文所描述的工艺包括纯化在生物反应器(例如补料分批生物反应器、灌注生物反应器、恒化器生物反应器)中连续产生的生物制剂。例如,生物反应器包括生物反应器馈送管线和输出渗流管线,以实现稳态细胞培养生长条件,并且输出渗流管线用作输入管线,以允许从生物反应器到动态过滤模块的连续流体流。

[0555] 如本文所描述的,从非均相混合物中连续去除大杂质的工艺不包括离心、圆盘堆叠离心、深层过滤、静态过滤、切向流过滤、水力旋流或其任意组合。术语“静态过滤”是指被过滤的非均相混合物保持静态的过程,这意味着例如滤膜(或深层过滤器)具有限定容量,并且过滤速率随着膜达到其容量而降低(例如膜孔变得堵塞)。在“静态”(与“动态”相反)过滤中,滤膜保持静止(不移动),并且(例如非均相混合物的)流穿过静止的滤膜。这种静态过滤方法在本领域中是常见的,简单且容易理解。

[0556] 与本领域常用的静态过滤方法不同,本文的工艺描述了动态过滤模块,其中动态过滤模块的部件以协调的方式移动(例如膜根据整个工艺的流速移动或前进),以使过滤能够连续地跨越滤膜未使用的新目标区域而发生。这消除了膜结垢或堵塞,并且允许在操作期间控制滤饼堵塞和厚度。

[0557] 动态过滤模块包括:滤膜卷、膜支撑结构、至少一个支撑杆或辊、真空管线、真空系统和至少一个真空收集器皿。

[0558] 在一些实施例中,滤膜卷包括过滤卷,其中并非旨在限制地,滤膜包括聚醚砜(PES)、亲水性聚砜、纤维素酯、醋酸纤维素、聚偏二氟乙烯(PVDF)、亲水性PVDF、聚碳酸酯、尼龙、聚四氟乙烯(PTFE)、亲水性PTFE或其任意组合。

[0559] 卷式滤膜的孔径大小取决于被纯化的生物制剂。在一些示例中,卷式滤膜的孔径在 $0.1\mu\text{m}$ 至 $1\mu\text{m}$ 的范围内。替代地,该孔径在约 $0.2\mu\text{m}$ 至约 $0.45\mu\text{m}$ 的范围内,或者孔径小于约 $0.45\mu\text{m}$ 。在其它示例中,当纯化抗体时,卷式滤膜的孔径在 $0.2\mu\text{m}$ 至约 $0.45\mu\text{m}$ 的范围内。

[0560] 滤膜卷的宽度为约10mm至约600mm。滤膜卷的宽度例如可以取决于动态过滤系统或膜支撑结构的尺寸。

[0561] 在一些实施例中,滤膜卷还用作与收集卷筒连通的馈送卷筒,这意味着滤膜源自预制卷,并且跨越至初始为空的收集卷,从而形成卷对卷系统。在一些方面,动态过滤模块包括在馈送卷筒和收集卷筒之间延伸的卷式滤膜,滤膜具有活性目标区域,活性目标区域被配置为接收非均相混合物。在一些示例中,馈送卷筒运动由与齿轮箱耦接的伺服电机控制,以将每分钟转数(RPM)限制为200:1,从而实现具有高扭矩的低膜输送速度。收集卷筒运动由与齿轮箱耦接的伺服电机控制,以将RPM限制为200:1,从而实现具有高扭矩的低膜输送速度。此外,馈送卷筒电机和收集卷筒电机由操作反馈机构的闭环控制器控制,以确保在操作期间馈送卷筒和收集卷筒两者上的滤膜卷的直径不断变化的情况下,速度保持一致。在一些示例中,馈送卷筒和收集卷筒以相等的速度在相同的方向上进行操作。

[0562] 在一些实施例中,滤膜的输送速度为约 0.1mm/sec 至约 100mm/sec ,优选约 0.1mm/

sec至约10mm/sec。

[0563] 动态过滤模块的膜支撑结构包括来源于具有低静摩擦系数的材料(例如PTFE)的机械光滑的接触表面,以及与真空管线具有连续性的开口。如本文所用,“膜支撑结构”是指为滤膜的活性区域提供结构支撑制造部件,以防止滤膜在穿过负压区域时因开口与真空管线具有连续性而产生变形。此外,如本文所用,“机械光滑的接触表面”是指具有低静摩擦系数,从而产生对抗滤膜传输的低摩擦力(尤其是当被弄湿时)的表面。机械光滑的接触表面可以影响滤膜以动态方式移动的容易性。机械光滑的接触表面还可以以表面粗糙度来测量,值越低,表面越光滑。此外,由于粗糙表面之间的摩擦大于光滑表面之间的摩擦,所以本文所使用的机械光滑的接触表面是指具有低摩擦(即低静摩擦系数)的表面。

[0564] 在一些实施例中,动态过滤模块的膜支撑结构包括开口。例如,开口可以包括网格、至少一个槽、至少一个孔、玻璃料、多孔材料或其任意组合。例如,开口可以包括一系列规则或不规则间隔的元件(例如网格、至少一个狭槽、至少一个孔或其任意组合)。此外,开口可以包括规则间隔的元件,例如开口可以包括一系列等间隔的平行槽。另外,开口可以包括一个格栅(例如,如上所述的一系列规则或不规则间隔的元件)。在其它示例中,开口可以包括多于一个格栅,其中每个格栅都是垂直的。开口可以是不规则或规则元件(例如一系列平行槽)的集合。开口还可以包括网格,网格具有分割厚度或全厚度,并且网格的行可以是平行或不平行的。开口的元件(例如网格、至少一个槽、至少一个孔、玻璃料、多孔材料或其任意组合)可以具有任何期望厚度。例如但并非旨在限制地,开口可以包括厚度为约0.25mm至约5mm的网格。

[0565] 动态过滤模块的膜支撑结构包括温度控制机构。温度控制机构在存在蒸发冷却的情况下将温度维持在4℃至37℃。例如,在抗体纯化期间,温度控制机构将温度维持在15℃至37℃。示例性温度控制机构包括但不限于单环控制器、多环控制器、闭环控制器、PID控制器、Peltier装置、电阻加热元件和/或具有循环水护套的热卡盘。

[0566] 在一些实施例中,动态过滤模块的至少一个支撑杆或辊具有来源于具有低静摩擦系数的材料(例如PTFE、PFA)的机械光滑的接触表面。在一些示例中,动态过滤模块包括具有机械光滑的接触表面的至少一个支撑杆或辊,以稳定滤膜跨膜支撑结构的运动。

[0567] 在一些实施例中,动态过滤模块包括至少一个输出头,输出头用于调节非均相混合物的流动,并将非均相混合物分配到滤膜的活性目标区域上。在一些示例中,至少一个输出头是管或槽模。

[0568] 在一些实施例中,动态过滤模块还包括至少一个附加输入管线,以经由同轴输出头、单独的单轴输出头、单独的槽模输出头或具有多个开口的槽模输出头供应洗涤缓冲。

[0569] 在一些实施例中,动态过滤模块包括涂覆和转化工业中已知的元件,例如但不限于主动或被动边缘引导件、张力控制器(例如浮动辊)、断裂和张力检测器,或其任意组合。

[0570] 在一些实施例中,动态过滤模块包括与膜支撑结构具有连续性的真空系统,以跨滤膜的活性目标区域来施加负压,其中负压允许实现滤膜跨膜支撑结构的活性输送,并且使得能够收集包含生物制剂的滤液。在一些示例中,动态过滤模块的真空系统维持约-0.05巴至约-0.98巴的表压以用于连续过滤。

[0571] 在一些实施例中,动态过滤模块还包括被配置为收集滤液的至少一个真空收集器皿,以及至少一个传感器或检测器。在本文描述的一些方面,在通过动态过滤进行纯化期

间,将包括生物制剂的滤液在负压下馈送至能够收集约50mL至约100L的真空收集器皿中。在一些示例中,真空收集器皿能够收集约1L至约10L的滤液。在其它示例中,真空收集器皿能够收集约1L至约50L的滤液。

[0572] 在一些实施例中,通过动态过滤从非均相混合物中连续去除大杂质(例如细胞、细胞碎片和聚集体)的工艺包括使用不同孔径的至少两个离散卷式滤膜进行多级过滤。在一些示例中,该多级动态过滤工艺包括至少一个第一动态过滤设备,第一动态过滤设备与第二动态过滤设备流体连通,第一动态过滤设备具有带有大孔径(例如0.45 μm)的卷式滤膜,第二动态过滤设备具有带有小孔径(例如0.2 μm)的卷式滤膜,从而产生包括生物制剂的滤液。

[0573] 本文所描述的工艺包括将滤液连续传递至能够将溶液分离成两个或更多个部分的第一模块,该两个或更多个部分包括包含生物制剂的至少一个部分。例如,将溶液分离成两个或更多个部分可以包括包含生物制剂的至少一个部分,以及包含小杂质的至少一个其它部分。如本文所描述的,第一模块包括基于亲和力的TFF纯化设备。“基于亲和力的TFF纯化设备”是指基于利用分子构象结合相互作用(例如配体-受体相互作用)的纯化技术,其中选择性表面固定配体利用至少一个切向流过滤系统来识别并结合待纯化的生物制剂。在一些示例中,第一模块具有至少一个第一入口和至少一个第一出口,并且被配置为允许第一入口与第一出口之间的连续流体流。

[0574] 在一些实施例中,基于亲和力的TFF纯化设备还包括树脂珠粒悬浮液。树脂珠粒的表面,例如但不限于,与蛋白质A、蛋白质G、蛋白质L、抗原蛋白、蛋白质、受体、抗体或适体偶联。用亲和树脂珠粒连续纯化生物制剂(例如单克隆抗体)能够避免传统的亲和柱层析法(例如蛋白A亲和层析)中的繁琐处理步骤。

[0575] 在一些实施例中,基于亲和力的TFF纯化设备的树脂珠粒的直径为约10微米至约200微米。树脂珠粒的直径可以取决于被纯化的生物制剂和工艺中的流速。此外,树脂珠粒的浓度可以在0.01重量%至25重量%的范围内。例如,树脂珠粒的浓度可以是约1重量%至约20重量%。在其它示例中,树脂珠粒的结合能力取决于珠粒浓度、表面积与体积比、亲和配体密度或其任意组合。在其它示例中,树脂珠粒可以是实心珠粒、多孔珠粒、纳米多孔珠粒、微孔珠粒或其任意组合。

[0576] 基于亲和力的TFF纯化设备的至少一个切向流过滤系统可以指例如具有平板或中空纤维膜过滤几何结构的切向流、高性能切向流或交叉流过滤系统。在一些示例中,切向流过滤系统包括中空纤维膜过滤器。在一些方面,中空纤维膜材料选自PES、改性PES(mPES)或混合纤维素酯(MCE)。在一些方面,中空纤维膜可以是带电的(例如带正电或负电)或不带电的。在其它方面,中空纤维膜的孔径选自约10kDa至约1 μm 的范围。在其它方面,中空纤维膜的内径选自约0.5mm至约5mm的范围。

[0577] 本文所描述的工艺还包括将包含生物制剂的部分从第一模块的至少一个第一出口连续传递至第二模块,第二模块具有用于接收来自第一模块的至少一个第一出口的流的至少一个入口,并且第二模块包括基于电荷的TFF纯化设备。如本文所用的“基于电荷的TFF纯化设备”包括例如用至少一个切向流过滤系统基于生物分子表面电荷、离子特性、静电相互作用或等电点来纯化生物分子。如本文所描述的,基于电荷的TFF纯化包括基于正电荷的TFF纯化设备、基于负电荷的TFF纯化设备或其组合。在一些示例中,第二模块具有至少一个

第二入口和至少一个第二出口,并且第二模块被配置为允许第二入口与第二出口之间的连续流体流。

[0578] 在一些实施例中,基于电荷的TFF纯化设备还包括树脂珠粒悬浮液。树脂珠粒的表面例如可以包含阳离子或阴离子官能团,阳离子或阴离子官能团被配置为以特定pH和离子强度与生物制剂选择性地缔合,以分别实现基于正电荷的纯化或基于负电荷的纯化。用离子树脂珠粒连续纯化生物制剂(例如单克隆抗体)能够避免传统的离子交换柱层析法(例如阳离子交换或阴离子交换层析)中的繁琐处理步骤。

[0579] 在一些实施例中,基于电荷的TFF纯化设备的树脂珠粒的直径为约10微米至约200微米。树脂珠粒的直径可以取决于被纯化的生物制剂和工艺中的流速。此外,树脂珠粒的浓度可以在0.01重量%至25重量%的范围内。例如,树脂珠粒的浓度可以是约1重量%至约20重量%。在其它示例中,树脂珠粒的电荷或静电缔合能力取决于珠粒浓度、表面积与体积比、表面电荷密度、净电荷或其任意组合。

[0580] 基于电荷的TFF纯化设备的至少一个切向流过滤系统可以指例如具有平板或中空纤维膜过滤几何结构的切向流、高性能切向流或交叉流过滤系统。在一些示例中,切向流过滤系统包括中空纤维膜过滤器。在一些方面,中空纤维膜材料选自PES、改性PES(mPES)或混合纤维素酯(MCE)。在一些方面,中空纤维膜可以是带电的(例如带正电或负电)或不带电的。在其它方面,中空纤维膜的孔径选自约10kDa至约1 μ m的范围。在其它方面,中空纤维膜的内径选自约0.5mm至约5mm的范围。

[0581] 在本文所描述的实施例中,第一(基于亲和力的TFF纯化)模块和/或第二(基于电荷的TFF纯化)模块中的一者或两者中的树脂珠粒被回收且重复使用。例如,珠粒可以重复使用至少2次、3次、4次或更多次以纯化生物制剂。

[0582] 替代地,本文所描述工艺包括将包含生物制剂的部分从第一模块的至少一个第一出口连续传递至第二模块,第二模块具有用于接收来自第一模块的至少一个第一出口的流的至少一个入口,并且第二模块包括自由流电泳设备。自由流电泳设备具有形成在两个平行板之间的流体通道、与流体流方向正交的电场或电场梯度、以及水性离子溶液,并且可以代替(多个)基于电荷的磁性纯化模块,或作为(多个)基于电荷的磁性纯化模块之外的附加措施,用于纯化生物制剂(例如单克隆抗体)。

[0583] 在一些示例中,两个平行板的溶液接触表面包括玻璃、陶瓷、塑料或其任意组合。在一些示例中,水性离子溶液可以产生pH梯度。在其它示例中,水性离子溶液可以赋予恒定的pH。

[0584] 在一些实施例中,自由流电泳设备具有至少一个流体装置,包括形成在两个平行板之间的流体通道、与流体流方向正交的电场或电场梯度、以及pH梯度。在一些示例中,基于等电点的流体纯化模块包括至少一个第一流体装置,第一流体装置包括形成在两个平行板之间的流体通道、与流体流方向正交的电场或电场梯度,以及跨主分离通道的粗pH梯度(在一些示例中,粗pH梯度可以是约2至约10的pH范围);以及至少一个第二流体装置,第二流体装置包括形成在两个平行板之间的流体通道、与流体流方向正交的电场或电场梯度、以及跨主分离通道的细pH梯度(在一些示例中,细pH梯度可以是约5至约8的pH范围)。在一些示例中,附加的后续流体装置或芯片包括形成在两个平行板之间的流体通道,以及与流体流方向正交的电场或电场梯度,并且附加的后续流体装置或芯片可以用于进一步细化跨

主分离通道的pH梯度(例如约7.1至约7.6的pH范围)。

[0585] 在其它实施例中,自由流电泳设备具有至少一个流体装置,流体装置包括形成在两个平行板之间的流体通道、与流体流方向正交的电场或电场梯度,并且没有pH梯度,以在区带电泳或电荷分离操作模式下进行操作。在一些示例中,基于等电点的流体纯化模块包括至少一个第一流体装置,第一流体装置包括形成在两个平行板之间的流体通道、与流体流方向正交的电场或电场梯度、以及恒定碱性pH(例如大于7的pH);以及至少一个第二流体装置,第二流体装置包括形成在两个平行板之间的流体通道、与流体流方向正交的电场或电场梯度、以及恒定酸性pH(例如小于7的pH)。

[0586] 在其它实施例中,自由流电泳设备具有至少一个流体装置,流体装置包括形成在两个平行板之间的流体通道、与流体流方向正交的电场或电场梯度、以及由间隔溶液(例如NaCl溶液)分开的酸性pH梯度和碱性pH梯度两者,以在等速电泳操作模式下进行操作。

[0587] 在其它实施例中,基于等电点的流体纯化模块包括至少一个第一自由流电泳设备,第一自由流电泳设备包括形成在两个平行板之间的流体通道,以及与流体流方向正交的电场或电场梯度;以及至少一个第二自由流电泳设备,第二自由流电泳设备包括形成在两个平行板之间的流体通道,以及与流体流方向正交的电场或电场梯度,其中每个装置串联连接,并且能够以独立的操作模式操作以实现纯化。例如,至少一个第一自由流电泳设备可以在等电聚焦模式下进行操作,并且至少一个第二自由流电泳设备可以在等速电泳模式下进行操作,以提高分离分辨率。

[0588] 在其它实施例中,基于等电点的流体纯化模块包括至少一个第一流体装置,第一流体装置包括流体通道,流体通道具有能够引起限定单向力的至少一个介电泳电极;至少一个第二自由流电泳设备,第二自由流电泳设备包括形成在两个平行板之间的流体通道、与流体流方向正交的电场或电场梯度、以及跨主分离通道的粗pH梯度(例如约2至约10的pH范围);以及至少一个第三自由流电泳设备,第三自由流电泳设备包括形成在两个平行板之间的流体通道、与流体流方向正交的电场或电场梯度、以及跨主分离通道的细pH梯度(例如约5至约8的pH范围)。在一些示例中,附加的后续流体装置或芯片包括形成在两个平行板之间的流体通道,以及与流体流方向正交的电场或电场梯度,并且附加的后续流体装置或芯片可以用于进一步细化跨主分离通道的pH梯度(例如约7.1至约7.6的pH范围)。

[0589] 在一些实施例中,基于等电点的流体纯化设备还包括用作阳极或阴极的至少两个电极(例如铂丝电极)。

[0590] 在一些实施例中,基于等电点的流体纯化设备内的背压取决于通道几何形状和尺寸、入口和出口的开口和/或管道直径、以及输入流速。在一些示例中,背压在约0.5psi至约10psi的范围内。在一些示例中,背压由(例如但不限于)针阀控制。

[0591] 在一些实施例中,基于等电点的流体纯化设备还包括至少一个去泡系统,以连续去除施加电压下的电极通道中放出的 O_2 和 H_2 气泡。在一些实施例中,去除电解气泡对于实现相当长时间段的连续操作来说是必要的。在一些示例中,去泡系统利用疏水性PTFE膜在电极通道顶部形成防水密封,从而允许通过暴露于真空系统而在生成点连续去除电解气泡。在一些示例中,真空表压的范围是约-0.05巴至约-0.4巴。

[0592] 在一些实施例中,基于等电点的流体纯化设备还包括主动冷却系统或散热器(例如Peltier装置、具有循环水/丙二醇夹套的热卡盘),以实现温度控制和焦耳散热。例如,主

动冷却系统可以在约4℃至约50℃的范围内,优选约4℃至约37℃的范围内控制冷却和/或散热。理想地,在分离生物制剂(例如单克隆抗体)时,温度维持在约10℃至约25℃。在一些示例中,主动冷却系统包括具有冷循环水/丙二醇夹套的铝制热卡盘。

[0593] 在一些实施例中,基于等电点的流体纯化模块包括至少一个缓冲或两性电解质系统。

[0594] 在一些实施例中,基于等电点的流体纯化模块包括至少一种电极溶液。在一些实施例中,至少一种电极溶液包括电解质溶液,电解质溶液被配置为接触阳极或阴极(例如分别为磷酸和氢氧化钠)并实现其适当功能。在其它实施例中,至少一种电极溶液包括至少一种两性电解质溶液,两性电解质溶液被配置为接触阳极或阴极并实现其适当功能,例如流经主分离通道、阳极通道和阴极通道的Tris缓冲盐水。

[0595] 在一些实施例中,基于等电点的流体纯化模块包括至少一个传感器或检测器。在一些示例中,至少一个传感器或检测器被定位为管线内。在一些示例中,至少一个传感器或检测器包括但不限于流传感器、温度传感器、电导率传感器、pH传感器、折射率检测器、UV检测器或背压传感器。

[0596] 在一些实施例中,基于等电点的流体纯化模块包括至少一个液体断路器或断接器,液体断路器或断接器位于装置的下游且位于至少一个管线内传感器或检测器的上游,从而确保在无电压溶液中进行感测或检测的能力。

[0597] 本发明要求保护的工艺提供了优于目前用于纯化生物制剂的下游方法和工艺的许多优点,生物制剂例如是蛋白质或其片段(多肽)、抗体或其片段、细胞因子、趋化因子、酶或生长因子。例如但并非旨在限制地,本文的工艺提供了一种用于纯化单克隆抗体的连续生物工艺,与分批、单次使用或半连续单克隆抗体制造的传统方法相比,该连续工艺能够维持通量和产量,同时显著减少生产设施占地面积、设施建设和验证所需的时间、与设施建设相关的成本和资产设备支出。因为连续操作的能力消除了对于传统的下游生物处理中的离心、深层过滤和柱层析法步骤所需的大型工艺设备(其尺寸由大生物反应器体积决定)的需求,所以如本文所描述的连续生物处理提供了更小、更流线型的设备(例如生物反应器体积和下游生物处理设备更小)。此外,更小、更流线型的设备连续操作实现了使用显著更小的(一个或多个)生物反应器在稳态下生产单克隆抗体。与传统的单克隆抗体制造方法相比,如本文所描述的连续生物工艺还可以显著减少操作支出、总生物工艺生产线停机时间和生物制剂损失。最后,本文所描述的生物制剂纯化工艺在占地面积比现有技术显著更小的系统中执行,同时不会牺牲以千克/年为基础的产品通量或产量。

[0598] 本文所描述的工艺和方法的优点包括能够在不导致膜结垢或堵塞的情况下去除大杂质(例如细胞、细胞碎片和聚集体)。例如,本领域已知用传统过滤或切向流过滤系统从细胞培养基中净化细胞、细胞碎片和聚集体通常会导致滤膜结垢或堵塞,使得这些方法不适合作为在长期连续处理中从包含生物制剂的非均相混合物中连续去除大杂质的手段。相反,因为滤膜的活性目标区域是不断更新的,所以本文所描述的动态过滤设备实现了在不发生膜结垢的情况下从包含生物制剂的非均相混合物中连续去除大杂质。另外,由于生产和纯化生物制剂的整个过程可以是连续的,并且能够在整个工艺中保持约0.1mL/分钟至约50mL/分钟范围内的流速,工艺设备和整个工艺占地面积能够明显小于当前标准工艺的占地面积,同时不会牺牲以千克/年为基础的产品通量或产量。例如,如本文所描述的单克隆

抗体生产和纯化工艺在占据高达约30,000平方英尺占地面积的情况下操作。相比之下,目前的单克隆抗体生产和下游工艺需要至少200,000平方英尺。在一些示例中,生物制剂纯化工艺的流速在约1mL/分钟至约10mL/分钟的范围内。在一些示例中,从非均相混合物中连续去除大杂质的步骤中的流速在约0.1mL/分钟至约50mL/分钟的范围内。在其它示例中,从非均相混合物中连续去除大杂质的步骤中的流速等同于来自生物反应器渗流管线的流速。在其它示例中,该工艺提供的将滤液连续传递至第一模块的步骤中的流速在约0.1mL/分钟至约50mL/分钟的范围内。在其它示例中,该工艺提供的将包含生物制剂的部分从第一出口连续传递至第二模块的步骤中的流速在约0.1mL/分钟至约50mL/分钟的范围内。

[0599] 本文所描述的利用树脂珠粒(例如琼脂糖)的工艺和方法的一个重要优点包括:这些系统不需要传统的固定相或填塞树脂柱(例如用于标准层析法)以进行消毒、回收和/或再生。例如,这些系统提供树脂珠粒的回收和/或再生,以在操作期间形成树脂珠粒的无限表面积,并且进而提供连续且成本有效的方法。换句话说,本文所描述的模块不具有固定的结合或缔合能力。在一些具体示例中,如本文所描述的,在生物制剂纯化期间使用的树脂珠粒不断地回收和再生,因此能够接受来自前一步骤(即动态过滤模块或纯化模块)的流,而不断来自生物反应器渗流管线的流。换句话说,由于本发明所述的模块连续地经历这些步骤,所以在运行之后不必为了消毒、再生和/或回收而闲置。该方法与目前的连续层析方法的不同之处在于,由于树脂填塞约束,目前的柱层析方法限定了柱容量极限,并且因此需要多个填塞柱进行柱切换以接受连续输入流,并使已经达到全容量的柱能够再生和/或回收。本文所描述的方法的另一个优点包括:树脂珠粒不填塞至固定相内,而是具有流动性。因为明显更多的树脂珠粒表面被暴露并且自由结合,所以这增加了可用于结合或缔合的树脂珠粒的表面积。另外,填塞柱中的树脂珠粒暴露于高压压力差,形成穿过柱的流并造成损坏,这是导致柱寿命小于期望寿命的原因之一。在本发明中,可移动树脂珠粒经受明显更低、对于易碎珠粒更温和的压力,从而延长了寿命。另外,这种流动性使得树脂珠粒更有可能完全再生并恢复其初始状态。由于树脂被更有效地利用,这进一步增加了本文方法的成本效益。

[0600] 本文所描述的利用自由流电泳的工艺和方法的一个重要优点包括:该系统代表“无产物损失”工艺,因为在这种工艺中,分离根据目标生物制剂的物理化学性质、通过与电场相互作用在水溶液中发生,因此不需要产物与树脂或其它纯化部分相互作用。在该方法的分辨能力中观察到另一个优点,因为与传统的离子交换层析法相比,能够得到理论上更高纯度的产物。另外,基于固有物理化学性质的分离将该方法扩展至用于纯化多种生物制剂的用途,包括但不限于蛋白质或其片段(多肽)、抗体或其片段、细胞因子、趋化因子、酶、生长因子、寡核苷酸、病毒、腺病毒、腺伴随病毒(AAV)或慢病毒。

[0601] 此外,模块化方法提供了工艺设计方面的灵活性,以适应各种各样的生物制剂。

[0602] 动态过滤模块

[0603] 本文提供了一种用于从非均相混合物中的生物制剂中连续去除大杂质的动态过滤模块,例如,通过从在稳态下操作的生物反应器中的非均相混合物中去除细胞、细胞碎片和聚集体而生成包含生物制剂的滤液(图6A至6B、7A至7B)。与本领域常用的静态过滤方法不同,动态过滤模块的部件以协调的方式移动(例如膜根据整个工艺的流速移动或前进),以使过滤能够连续地跨越滤膜未使用的新目标区域而发生。这消除了膜结垢或堵塞,并且

允许在操作期间控制滤饼堵塞和厚度。

[0604] 动态过滤模块包括：滤膜卷、膜支撑结构、至少一个支撑杆或辊、至少一个真空管线、真空系统和至少一个真空收集器皿。如图6A至6B、7A至7B所示，馈送卷筒包括设置在滤膜卷上的滤膜，其中由两个机械光滑的支撑杆支撑的滤膜越过机械光滑的膜支撑结构，膜支撑结构包括开口。随着非均相混合物从输出头被递送至滤膜的活性目标区域，滤膜继续移动并将滤膜朝收集卷筒推进，同时，与膜支撑结构的开口连续的真空管线保持负压，以允许分离和去除细胞、细胞碎片和聚集物，从而形成包含生物制剂的滤液。

[0605] 动态过滤模块实现了从非均相混合物中去除大杂质（例如细胞、细胞碎片和聚集体），以产生包含生物制剂和相关小杂质（例如宿主细胞蛋白质、不期望的蛋白质和肽、不期望的抗体、不期望的核酸和寡核苷酸、病毒、不期望的核酸或寡核苷酸、盐、缓冲组分、表面活性剂、糖、金属污染物、可浸出物、培养基组分和/或与其天然结合的天然存在的有机分子）的滤液，而无需离心、深层过滤、静态过滤或其任意组合。

[0606] 本文的动态过滤模块提供了较小占地面积，并且需要用于管道、连接器、膜支撑结构和滤膜（例如聚合物类型、孔径）的适当材料选择，从而能够以高产量、低蛋白结合、最小溶液接触和最少停留时间进行过滤。

[0607] 动态过滤模块包括在馈送卷筒和收集卷筒之间延伸的卷式滤膜，其中滤膜具有活性目标区域，活性目标区域被配置为接收非均相混合物。在一些示例中，滤膜卷的滤膜由适当材料制成，包括但不限于聚醚砜（PES）、亲水性聚砜、纤维素酯、醋酸纤维素、聚偏二氟乙烯（PVDF）、亲水性PVDF、聚碳酸酯、尼龙、聚四氟乙烯（PTFE）、或亲水性PTFE。

[0608] 在一些实施例中，卷式滤膜的孔径大小取决于被纯化的生物制剂。在一些示例中，卷式滤膜的孔径在 $0.1\mu\text{m}$ 至 $1\mu\text{m}$ 的范围内。替代地，该孔径在约 $0.2\mu\text{m}$ 至约 $0.45\mu\text{m}$ 的范围内，或者孔径小于约 $0.45\mu\text{m}$ 。在其它示例中，当纯化抗体时，卷式滤膜的孔径在 $0.2\mu\text{m}$ 至约 $0.45\mu\text{m}$ 的范围内。

[0609] 在一些实施例中，滤膜卷的宽度为约10mm至约600mm。滤膜卷的宽度例如可以取决于诸如动态过滤系统的尺寸和膜支撑结构的尺寸的因素。

[0610] 在一些实施例中，滤膜卷还用作与收集卷筒连通的馈送卷筒，这意味着滤膜源自预制卷，并且跨越至初始为空的收集卷，从而形成卷对卷系统。在操作中，当滤膜以适当速率从馈送卷筒移动至收集卷筒时，非均相混合物从输出头连续地被施加至因滤膜的输送而产生的滤膜的新的未使用区域（本文中也称为“活性目标区域”），从而收集滤膜的已使用部分。在一些示例中，馈送卷筒运动由与齿轮箱耦接的伺服电机控制，以将每分钟转数（RPM）限制为200:1，从而实现具有高扭矩的低膜输送速度。收集卷筒运动由与齿轮箱耦接的伺服电机控制，以将RPM限制为200:1，从而实现具有高扭矩的低膜输送速度。此外，馈送卷筒电机和收集卷筒电机由操作反馈机构的闭环控制器来控制，以确保在操作期间馈送卷筒和收集卷筒两者上的滤膜卷的直径不断变化的情况下，速度保持一致。在一些示例中，馈送卷筒和收集卷筒以相等的速度在相同的方向上进行操作。将滤膜从馈送卷筒输送至收集卷筒的其它方法是涂覆和转化工业领域的技术人员能够想到的。

[0611] 在一些实施例中，选择动态过滤模块内的滤膜输送速度，以实现高流速（高通量），同时保持高产量（回收率）。在一些示例中，滤膜的输送速度为约 0.1mm/sec 至约 100mm/sec ，优选约 0.1mm/sec 至约 10mm/sec 。

[0612] 另外,动态过滤模块包括膜支撑结构(图8),用于在滤膜经历负压时支撑滤膜的活性目标区域。膜支撑结构设置在馈送卷筒和收集卷筒之间,具有来源于低静摩擦系数材料(例如PTFE)的机械光滑的接触表面,并且具有与真空管线具有连续性的开口。例如,如本文所用,“机械光滑的接触表面”是指具有低静摩擦系数,从而产生对抗滤膜传输的低摩擦力(尤其是当被弄湿时)的表面。机械光滑的接触表面可以影响滤膜以动态方式移动的容易性。机械光滑接触表面还可以以表面粗糙度测量,值越低,表面越光滑。此外,由于粗糙表面之间的摩擦大于光滑表面之间的摩擦,所以本文所使用的机械光滑的接触表面是指具有低摩擦(即低静摩擦系数)的表面。

[0613] 在一些实施例中,动态过滤模块的膜支撑结构包括开口。例如,开口可以包括网格、至少一个槽、至少一个孔、玻璃料、多孔材料或其任意组合。例如,开口可以包括一系列规则或不规则间隔的元件(例如网格、至少一个狭槽、至少一个孔或其任意组合)。此外,开口可以包括规则间隔的元件,例如开口可以包括一系列等间隔的平行槽。另外,开口可以包括一个格栅(例如,如上所述的一系列规则或不规则间隔的元件)。在其它示例中,开口可以包括多于一个格栅,其中每个格栅都是垂直的。开口可以是不规则或规则元件(例如一系列平行槽)的集合。开口还可以包括网格,网格具有分割厚度或全厚度,并且网格的行可以是平行或不平行的。开口的元件(例如网格、至少一个槽、至少一个孔、玻璃料、多孔材料或其任意组合)可以具有任何期望厚度。例如但并非旨在限制地,开口可以包括厚度为约0.25mm至约5mm的网格。

[0614] 另外,还提供了膜支撑结构的温度控制及其与至少一个真空收集器皿的连接以抵消蒸发冷却,这避免了生物制剂(例如蛋白质或其片段(多肽)、抗体或其片段、细胞因子、趋化因子、酶或生长因子)的堵塞、结垢、溶液冻结、溶液粘度变化和变性(或沉淀)。温度控制机构将温度维持在约4℃至约37℃。例如,在抗体纯化期间,温度控制机构将温度维持在约15℃至约37℃。示例性温度控制机构包括但不限于单环控制器、多环控制器、闭环控制器、PID控制器、Peltier装置、电阻加热元件和/或具有循环水护套的热卡盘。

[0615] 在一些实施例中,动态过滤模块的至少一个支撑杆或辊具有来源于具有低静摩擦系数的材料(例如PTFE、PFA)的机械光滑的接触表面。例如,如本文所用,“机械光滑的接触表面”是指具有低静摩擦系数,从而产生对抗滤膜传输的低摩擦力的表面。机械光滑接触表面可以影响滤膜以动态方式移动的容易性。机械光滑的接触表面还可以以表面粗糙度测量,值越低,表面越光滑。此外,由于粗糙表面之间的摩擦大于光滑表面之间的摩擦,所以本文所使用的机械光滑的接触表面是指具有低摩擦(即低静摩擦系数)的表面。替代地,至少一个支撑杆还可以包括轴承,例如具有机械光滑接触表面的套筒轴承,以减少滤膜上的摩擦和张力。另外,具有机械光滑的接触表面的至少一个支撑杆或辊可以旋转以减少滤膜上的张力。

[0616] 在一些实施例中,动态过滤模块包括至少一个输出头,输出头用于调节非均相混合物的流动,并将非均相混合物分配到滤膜的活性目标区域上。在一些示例中,至少一个输出头是管或槽模。

[0617] 在动态过滤模块中,输入流速与在稳态下操作的生物反应器的渗出速率相匹配,其中渗出速率赋予合理高通量(例如与基于千克/年的传统生物制药制造通量一致或更大)。在一些具体示例中,多个头可以用于管理流速,以及xy光栅扫描或r光栅扫描头,无论

有没有沿z轴的运动。

[0618] 动态过滤模块结合真空系统的负压,如本文所描述的,压力值可以选定为使能够进行有效过滤,同时维持期望的滤膜传输移动性,从而实现高通量和产量。在一些实施例中,动态过滤模块的真空系统维持约-0.05巴至约-0.98巴的表压以用于连续过滤。

[0619] 在一些实施例中,除了馈送区之外并且在馈送区之后,提供了洗涤区(例如生物反应器渗出溶液输入管线和输出头分配区域或滤膜活性目标区域)。洗涤区包括洗涤缓冲,洗涤缓冲由附加输入管线经由同轴输出头、单独的单轴输出头、单独的槽模输出头或具有多个开口的槽模输出头供应。

[0620] 在一些实施例中,动态过滤模块包括涂覆和转化工业中已知的元件,例如但不限于主动或被动边缘引导件、张力控制器(例如浮动辊)、断裂和张力的检测器,或其任意组合。

[0621] 在一些实施例中,通过动态过滤从非均相混合物中连续去除大杂质(例如细胞、细胞碎片和聚集体)的工艺包括使用不同孔径的至少两个离散卷式滤膜进行多级过滤。在一些示例中,该多级动态过滤工艺包括至少一个第一动态过滤设备,第一动态过滤设备与第二动态过滤设备流体连通,第一动态过滤设备具有带有大孔径(例如0.45 μm)的卷式滤膜,第二动态过滤设备具有带有小孔径(例如0.2 μm)的卷式滤膜,从而产生包含生物制剂的滤液。

[0622] 如本文所描述的,动态过滤模块提供了千克/年基础上与标准纯化(离心)工艺相当或更高的生物制剂产量。动态过滤模块还允许从至少一个真空收集器皿馈送下一步骤的能力,真空收集器皿可以在负压下或允许平衡至大气压力。动态过滤模块所结合和选择的材料包括连接器、管道、滤膜、膜支撑结构、(一个或多个)真空收集器皿,所有这些单独或组合地使摩擦和因蛋白质吸附而造成的产量损失最小化,并且是本领域技术人员已知的。

[0623] 与本领域常用的静态过滤方法不同,动态过滤模块的部件以协调的方式移动(例如膜根据来自输入管线的非均相混合物的流速移动或前进),以实现连续无阻碍且无污染的过滤。

[0624] 具有回路传送系统的基于亲和力的磁性纯化模块

[0625] 本文提供了一种基于亲和力的磁性纯化模块,用于将非均相混合物分离成两个或更多个部分,其中至少一个部分包含生物制剂。该模块包括至少一个入口和至少一个出口,被配置为允许至少一个入口与至少一个出口之间的连续流体流,并且其中流速在稳态操作期间可以是例如一致且恒定的。此外,基于亲和力的磁性纯化模块包括亲和磁性树脂珠粒的悬浮液,其中磁性树脂珠粒表面(非限制性地)与蛋白质A、蛋白质G、蛋白质L、抗原蛋白、蛋白质、受体、抗体或被配置为选择性地结合生物制剂的适体偶联。

[0626] 基于亲和力的磁性纯化模块包括回路传送系统,回路传送系统包括装有亲和磁性树脂珠粒的至少两个运输器皿,运输器皿被配置为连续接收包含生物制剂的非均相混合物,并且随后运输所得到的包含生物制剂、亲和磁性树脂珠粒、缓冲或其任意组合的非均相混合物;用于从非均相混合物中吸引并进而分离磁性树脂珠粒以实现洗涤的至少一个外部磁场;用于从非均相混合物中吸引并进而分离磁性树脂珠粒以实现生物制剂的洗脱的至少一个外部磁场;用于实现磁性树脂珠粒的回收再利用的至少一个外部磁场;至少一个结合/洗涤缓冲系统;至少一个低pH洗脱缓冲系统;至少一个磁性树脂珠粒再生缓冲系统;至少一个抽吸器系统,以从至少两个运输器皿中去除废溶液;至少一个收集器皿;至少一个传感器

或检测器;以及至少一个流体处理泵。

[0627] 与分批工艺或半连续工艺相比,基于亲和力的磁性纯化模块的设备设计(图14至15)能够实现自动化且连续的生物磁性纯化,并且提供了较小的占地面积。

[0628] 磁场强度和场效应取决于运输器皿的壁厚和材料类型、回路传送轨道上与运输器皿的壁的接近度、磁性树脂珠粒尺寸、浓度、饱和磁化强度和磁化率、以及溶液粘度。在一些实施例中,磁场强度在约0.01特斯拉至约1特斯拉(例如高达约1特斯拉)的范围内。在一些示例中,磁场由永磁体(例如钕磁体)生成。永磁体可以定位在距器皿壁5mm内,或优选1mm内的范围内。在其它示例中,磁场由电磁体生成。在其它示例中,磁性树脂珠粒的混合可以通过将至少一个运输器皿放置在两个独立且相对的磁场之间来实现,磁场在开启状态与关闭状态之间切换。

[0629] 如本文所描述的,基于亲和力的磁性纯化模块包括磁性树脂珠粒悬浮液,其中浓度取决于期望的结合能力或期望的溶液粘度。替代地,基于亲和力的磁性纯化模块的磁性树脂珠粒尺寸为微米至亚微米级,并且取决于结合能力需求,该需求是实现平衡和亲和(例如分别为溶液粘度依赖性和表面配体密度依赖性)相互作用的足够流体动力学所需的表面积与体积比的函数。

[0630] 运输器皿的数量和尺寸取决于输入流速、磁性树脂珠粒结合能力和结合平衡时间。运输器皿的材料和壁厚取决于磁场的强度和接近度。

[0631] 基于亲和力的磁性纯化模块的磁性树脂珠粒的材料选择对于可忽略的可浸出物和提供稳健的稳定性以实现回收和再利用来说是重要的。磁性树脂珠粒可以是实心珠粒、多孔珠粒、纳米多孔珠粒、微孔珠粒或其任意组合。

[0632] 结合/洗涤缓冲取决于感兴趣的生物制剂(例如单克隆抗体)和待去除的小杂质。结合/洗涤缓冲的其它考虑因素,包括pH、离子强度、表面活性剂的使用、以及有机和/或无机盐的使用,也在结合/洗涤缓冲中考虑。此外,可能还需要额外的运输器皿和重复的传送轨道位置以实现有效洗涤。

[0633] 洗脱缓冲取决于磁性树脂珠粒表面配体与感兴趣的生物制剂(例如单克隆抗体)之间的结合亲和力(例如非共价相互作用的强度)。例如,洗脱缓冲可以改变pH、离子强度、表面活性剂的使用、有机和/或无机盐的使用、多种洗脱缓冲组合物的使用(例如以提高产量,并且可能需要额外的运输器皿和重复的传送轨道位置)。此外,可能还需要额外的运输器皿和重复的传送轨道位置以实现有效洗脱。

[0634] 在传送轨道进程中,每个阶段的停留时间取决于流速、平衡时间和通量体积。此外,根据缓冲组成和pH,还考虑了在洗涤步骤期间的病毒灭活和去除,因此,例如当纯化单克隆抗体时,不需要单独的病毒灭活和去除工艺步骤。

[0635] 基于亲和力的磁性纯化模块可以包括用于过程中分析测试和/或管线内分析测量技术的管线内取样端口。此外,管线内分析测量技术(例如流传感器、光密度测量装置、UV检测器、RI检测器)可以用于实现工艺的反馈控制机构。

[0636] 与本领域中常用的传统填充柱层析和柱切换层析方法不同,基于亲和力的磁性纯化模块利用能够原位再生和回收的可移动亲和树脂,以能够更有效地利用树脂,并且能够在小占地面积中连续处理而无需考虑传统的柱容量限制。

[0637] 具有拾取和放置机器人系统的基于亲和力的磁性纯化模块

[0638] 本文提供了一种基于亲和力的磁性纯化模块,用于将混合物分离成两个或更多个部分,其中至少一个部分包含生物制剂。该模块包括至少一个入口和至少一个出口,被配置为允许至少一个入口与至少一个出口之间的连续流体流,并且其中流速在稳态操作期间可以是例如一致且恒定的。此外,基于亲和力的磁性纯化模块包括亲和磁性树脂珠粒的悬浮液,其中磁性树脂珠粒表面(非限制性地)与蛋白质A、蛋白质G、蛋白质L、抗原蛋白、蛋白质、受体、抗体或被配置为选择性地结合生物制剂的适体偶联。

[0639] 基于亲和力的磁性纯化模块包括拾取和放置机器人系统,拾取和放置机器人系统包括装有亲和磁性树脂珠粒的至少两个运输器皿,运输器皿被配置为连续接收包含生物制剂的混合物,并且随后运输所得到的包含生物制剂、亲和磁性树脂珠粒、缓冲或其任意组合的非均相混合物;用于从非均相混合物中吸引并进而分离磁性树脂珠粒以实现洗涤的至少一个外部磁场;用于从非均相混合物中吸引并进而分离磁性树脂珠粒以实现生物制剂的洗脱的至少一个外部磁场;用于实现磁性树脂珠粒的回收再利用的至少一个外部磁场;至少一个结合/洗涤缓冲系统;至少一个低pH洗脱缓冲系统;至少一个磁性树脂珠粒再生缓冲系统;至少一个抽吸器系统,用于从至少两个运输器皿中去除废溶液;至少一个收集器皿;至少一个传感器或检测器;以及至少一个流体处理泵。

[0640] 与分批工艺或半连续工艺相比,基于亲和力的磁性纯化模块的设备设计(图至18)能够实现自动化且连续的生物磁性纯化,并且提供了较小的占地面积。

[0641] 磁场强度和场效应取决于运输器皿的壁厚和材料类型、与所放置的运输器皿的壁的接近度、磁性树脂珠粒尺寸、浓度、饱和磁化强度和磁化率、以及溶液粘度。在一些实施例中,磁场强度在约0.01特斯拉至约1特斯拉(例如高达约1特斯拉)的范围内。在一些示例中,磁场由永磁体(例如钕磁体)生成。永磁体可以定位在距器皿壁5mm内,或优选1mm内的范围内。在其它示例中,磁场由电磁体生成。在其它示例中,磁性树脂珠粒的混合可以通过将至少一个运输器皿放置在两个独立且相对的磁场之间来实现,磁场在开启状态与关闭状态之间切换。

[0642] 如本文所描述的,基于亲和力的磁性纯化模块包括磁性树脂珠粒悬浮液,其中浓度取决于期望的结合能力或期望的溶液粘度。替代地,基于亲和力的磁性纯化模块的磁性树脂珠粒尺寸为微米至亚微米级,并且取决于结合能力需求,该需求是实现平衡和亲和(例如分别为溶液粘度依赖性和表面配体密度依赖性)相互作用的足够流体动力学所需的表面积与体积比的函数。

[0643] 运输器皿的数量和尺寸取决于输入流速、磁性树脂珠粒结合能力和结合平衡时间。运输器皿的材料和壁厚取决于磁场的强度和接近度。

[0644] 基于亲和力的磁性纯化模块的磁性树脂珠粒的材料选择对于可忽略的可浸出物和提供稳健的稳定性以实现回收和再利用来说是重要的。磁性树脂珠粒可以是实心珠粒、多孔珠粒、纳米多孔珠粒、微孔珠粒或其任意组合。

[0645] 结合/洗涤缓冲取决于感兴趣的生物制剂(例如单克隆抗体)和待去除的小杂质。结合/洗涤缓冲的其它考虑因素,包括pH、离子强度、表面活性剂的使用、以及有机和/或无机盐的使用,也在结合/洗涤缓冲中考虑。而且,可能还需要额外的运输器皿和重复的拾取和放置位置以实现有效洗涤。

[0646] 洗脱缓冲取决于磁性树脂珠粒表面配体与感兴趣的生物制剂(例如单克隆抗体)

之间的结合亲和力(例如非共价相互作用的强度)。例如,洗脱缓冲可以改变pH、离子强度、表面活性剂的使用、有机和/或无机盐的使用、多种洗脱缓冲组合物的使用(例如以提高产量,并且可能需要额外的运输器皿和重复的传送轨道位置)。而且,可能还需要额外的运输器皿和重复的拾取和放置位置以实现有效洗脱。

[0647] 在运输器皿通过拾取和放置过程的进程中,每个阶段的停留时间取决于流速、平衡时间和通量体积。此外,根据缓冲组成和pH,还考虑了在洗涤步骤期间的病毒灭活和去除,因此,例如当纯化单克隆抗体时,不需要单独的病毒灭活和去除工艺步骤。

[0648] 基于亲和力的纯化模块可以包括用于过程中分析测试和/或管线内分析测量技术的管线内取样端口。此外,管线内分析测量技术(例如流传感器、光密度测量装置、UV检测器、RI检测器)可以用于实现工艺的反馈控制机构。

[0649] 与本领域中常用的传统填塞柱层析和柱切换层析方法不同,基于亲和力的磁性纯化模块利用能够原位再生和回收的可移动亲和树脂,能够更有效地利用树脂,并且能够在小占地面积中连续处理而无需考虑传统的柱容量限制。

[0650] 具有回路传送系统的基于正电荷的磁性纯化模块

[0651] 如本文所描述的,包括了一种基于正电荷的磁性纯化模块,基于正电荷的磁性纯化模块用于将混合物分离成两个或更多个部分,其中至少一个部分包含生物制剂。基于正电荷的磁性纯化模块包括至少一个入口和至少一个出口,被配置为允许至少一个入口与至少一个出口之间的连续流体流,并且其中流速在稳态操作期间可以是例如一致且恒定的。此外,基于正电荷的磁性纯化模块包括阳离子磁性树脂珠粒的悬浮液,其中磁性树脂珠粒表面包含阳离子官能团,阳离子官能团被配置为以特定pH和离子强度与生物制剂选择性地缔合。

[0652] 基于正电荷的磁性纯化模块包括回路传送系统,回路传送系统包括装有阳离子磁性树脂珠粒的至少两个运输器皿,运输器皿被配置为连续接收包含生物制剂的混合物,并且随后运输所得到的包含生物制剂、阳离子磁性树脂珠粒、缓冲或其任意组合的非均相混合物;用于从非均相混合物中吸引并进而分离磁性树脂珠粒以实现洗涤的至少一个外部磁场;用于从非均相混合物中吸引并进而分离磁性树脂珠粒以实现生物制剂的解离的至少一个外部磁场;用于实现磁性树脂珠粒的回收再利用的至少一个外部磁场;至少一个缔合/洗涤缓冲系统,至少一个解离缓冲系统;至少一个磁性树脂珠粒再生缓冲系统;至少一个抽吸器系统,用于从至少两个运输器皿中去除废溶液;至少一个收集器皿;至少一个传感器或检测器;以及至少一个流体处理泵。

[0653] 与分批工艺或半连续工艺相比,基于正电荷的磁性纯化模块的设备设计(图16至17)能够实现自动化且连续的生物磁性纯化,并且提供了较小的占地面积。

[0654] 磁场强度和场效应取决于运输器皿的壁厚和材料类型、回路传送轨道上与运输器皿的壁的接近度、磁性树脂珠粒尺寸、浓度、饱和磁化强度和磁化率、以及溶液粘度。在一些实施例中,磁场强度在约0.01特斯拉至约1特斯拉(例如高达约1特斯拉)的范围内。在一些示例中,磁场由永磁体(例如钕磁体)生成。永磁体可以设置在距器皿壁5mm内,或优选1mm内的范围内。在其它示例中,磁场由电磁体生成。在其它示例中,磁性树脂珠粒的混合可以通过将至少一个运输器皿放置在两个独立且相对的磁场之间来实现,磁场在开启状态与关闭状态之间切换。

[0655] 如本文所描述的,基于正电荷的磁性纯化模块包括磁性树脂珠粒悬浮液,其中浓度取决于期望的电荷或静电缔合能力或期望的溶液粘度。替代地,基于正电荷的磁性纯化模块的磁性树脂珠粒尺寸为微米至亚微米级,并且取决于电荷或静电缔合容量需求,该需求取决于实现平衡和电荷或静电相互作用(例如分别为溶液粘度依赖性和表面电荷密度依赖性)的足够流体动力学所需的表面积与体积比。

[0656] 运输器皿的数量和尺寸取决于输入流速、磁性树脂珠粒电荷或静电缔合能力、以及缔合平衡时间。运输器皿的材料和壁厚取决于磁场的强度和接近度。

[0657] 基于正电荷的磁性纯化模块的磁性树脂珠粒的材料选择对于可忽略的可浸出物和提供稳健的稳定性以实现回收和再利用来说是重要的。磁性树脂珠粒可以是实心珠粒、多孔珠粒、纳米多孔珠粒、微孔珠粒或其任意组合。

[0658] 在基于正电荷的磁性纯化模块中,阳离子表面选择是重要的考虑因素,并且可以包括阳离子聚合物、净正电荷的肽或蛋白质、胺官能团。此外,阳离子表面选择是基于在限定的缓冲(pH和离子强度)内实现适当的静电相互作用,以及带正电荷的珠粒表面与生物制剂之间的稳定性。

[0659] 基于正电荷的磁性纯化模块的缔合/洗涤缓冲取决于感兴趣的生物制剂(例如单克隆抗体)和待去除的小杂质。在缔合/洗涤缓冲中也考虑了pH、离子强度、表面活性剂的使用、以及有机和/或无机盐的使用。此外,可能还需要额外的运输器皿和重复的传送轨道位置以实现有效洗涤。

[0660] 基于正电荷的磁性纯化模块的解离缓冲取决于阳离子磁性树脂珠粒表面官能团与感兴趣的生物制剂(例如单克隆抗体)之间的静电相互作用的强度。例如,解离缓冲可以改变pH、离子强度、表面活性剂的使用、有机和/或无机盐的使用、多种解离缓冲组合物的使用(例如以提高产量,并且可能需要额外的运输器皿和重复的传送轨道位置)。在其它示例中,顺序使用改变pH、离子强度或其任意组合的多种解离缓冲,以形成梯度解离效果。此外,可能还需要额外的运输器皿和重复的传送轨道位置以实现有效解离。

[0661] 在基于正电荷的磁性纯化模块的传送轨道进程中,每个阶段的停留时间取决于流速、平衡时间和通量体积。此外,根据缓冲组成和pH,还考虑了在洗涤步骤期间的病毒灭活和去除,因此,例如当纯化单克隆抗体时,不需要单独的病毒灭活和去除工艺步骤。

[0662] 基于正电荷的纯化模块可以包括用于过程中分析测试和/或管线内分析测量技术的管线内取样端口。此外,管线内分析测量技术(例如流传感器、光密度测量装置、UV检测器、RI检测器)可以用于实现工艺的反馈控制机构。

[0663] 与本领域中常用的传统填塞柱层析和柱切换层析方法不同,基于正电荷的磁性纯化模块利用能够原位再生和回收的可移动亲和树脂,能够更有效地利用树脂,并且能够在小占地面积中连续处理而无需考虑传统的柱容量限制。

[0664] 具有拾取和放置机器人系统的基于正电荷的磁性纯化模块

[0665] 如本文所描述的,包括了一种基于正电荷的磁性纯化模块,基于正电荷的磁性纯化模块用于将混合物分离成两个或更多个部分,其中至少一个部分包含生物制剂。基于正电荷的磁性纯化模块包括至少一个入口和至少一个出口,被配置为允许至少一个入口与至少一个出口之间的连续流体流,并且其中流速在稳态操作期间可以是例如一致且恒定的。此外,基于正电荷的磁性纯化模块包括阳离子磁性树脂珠粒的悬浮液,其中磁性树脂珠粒

表面包含阳离子官能团,阳离子官能团被配置为以特定pH和离子强度与生物制剂选择性地缔合。

[0666] 基于正电荷的磁性纯化模块包括拾取和放置机器人系统,拾取和放置机器人系统包括装有阳离子磁性树脂珠粒的至少两个运输器皿,运输器皿被配置为连续接收包含生物制剂的混合物,并且随后运输所得到的包含生物制剂、阳离子磁性树脂珠粒、缓冲或其任意组合的非均相混合物;用于从非均相混合物中吸引并进而分离磁性树脂珠粒以实现洗涤的至少一个外部磁场;用于从非均相混合物中吸引并进而分离磁性树脂珠粒以实现生物制剂的解离的至少一个外部磁场;用于实现磁性树脂珠粒的回收再利用的至少一个外部磁场;至少一个缔合/洗涤缓冲系统;至少一个解离缓冲系统;至少一个磁性树脂珠粒再生缓冲系统;至少一个抽吸器系统,以从至少两个运输器皿中去除废溶液;至少一个收集器皿;至少一个传感器或检测器;以及至少一个流体处理泵。

[0667] 与分批工艺或半连续工艺相比,基于正电荷的磁性纯化模块的设备设计(图19)能够实现自动化且连续的生物磁性纯化,并且提供了较小的占地面积。

[0668] 磁场强度和场效应取决于运输器皿的壁厚和材料类型、回路传送轨道上与运输器皿的壁的接近度、磁性树脂珠粒尺寸、浓度、饱和磁化强度和磁化率、以及溶液粘度。在一些实施例中,磁场强度在约0.01特斯拉至约1特斯拉(例如高达约1特斯拉)的范围内。在一些示例中,磁场由永磁体(例如钕磁体)生成。永磁体可以定位在距器皿壁5mm内,或优选1mm内的范围内。在其它示例中,磁场由电磁体生成。在其它示例中,磁性树脂珠粒的混合可以通过将至少一个运输器皿放置在两个独立且相对的磁场之间来实现,磁场在开启状态与关闭状态之间切换。

[0669] 如本文所描述的,基于正电荷的磁性纯化模块包括磁性树脂珠粒悬浮液,其中浓度取决于期望的电荷或静电缔合能力或期望的溶液粘度。替代地,基于正电荷的磁性纯化模块的磁性树脂珠粒尺寸为微米至亚微米级,并且取决于电荷或静电缔合容量需求,该需求取决于实现平衡和电荷或静电相互作用(例如分别为溶液粘度依赖性和表面电荷密度依赖性)的足够流体动力学所需的表面积与体积比。

[0670] 运输器皿的数量和尺寸取决于输入流速、磁性树脂珠粒电荷或静电缔合能力、以及缔合平衡时间。运输器皿的材料和壁厚取决于磁场的强度和接近度。

[0671] 基于正电荷的磁性纯化模块的磁性树脂珠粒的材料选择对于可忽略的可浸出物和提供稳健的稳定性以实现回收和再利用来说是重要的。磁性树脂珠粒可以是实心珠粒、多孔珠粒、纳米多孔珠粒、微孔珠粒或其任意组合。

[0672] 在基于正电荷的磁性纯化模块中,阳离子表面选择是重要的考虑因素,并且可以包括阳离子聚合物、净正电荷的肽或蛋白质、胺官能团。此外,阳离子表面选择是基于在限定的缓冲(pH和离子强度)内实现适当的静电相互作用,以及带正电荷的珠粒表面与生物制剂之间的稳定性。

[0673] 基于正电荷的磁性纯化模块的缔合/洗涤缓冲取决于感兴趣的生物制剂(例如单克隆抗体)和待去除的小杂质。在缔合/洗涤缓冲中也考虑了pH、离子强度、表面活性剂的使用、以及有机和/或无机盐的使用。此外,可能还需要额外的运输器皿和重复的拾取和放置位置以实现有效洗涤。

[0674] 基于正电荷的磁性纯化模块的解离缓冲取决于阳离子磁性树脂珠粒表面官能团

与感兴趣的生物制剂(例如单克隆抗体)之间的静电相互作用的强度。例如,解离缓冲可以改变pH、离子强度、表面活性剂的使用、有机和/或无机盐的使用、多种解离缓冲组合物的使用(例如以提高产量,并且可能需要额外的运输器皿和重复的传送轨道位置)。在其它示例中,顺序使用改变pH、离子强度或其任意组合的多种解离缓冲,以形成梯度解离效果。此外,可能还需要额外的运输器皿和重复的拾取和放置位置以实现有效解离。

[0675] 在基于正电荷的磁性纯化模块的运输器皿通过拾取和放置过程的进程中,每个阶段的停留时间取决于流速、平衡时间和通量体积。此外,根据缓冲组成和pH,还考虑了在洗涤步骤期间的病毒灭活和去除,因此,例如当纯化单克隆抗体时,不需要单独的病毒灭活和去除工艺步骤。

[0676] 基于正电荷的磁性纯化模块可以包括用于过程中分析测试和/或管线内分析测量技术的管线内取样端口。此外,管线内分析测量技术(例如流传感器、光密度测量装置、UV检测器、RI检测器)可以用于实现工艺的反馈控制机构。

[0677] 与本领域中常用的传统填充柱层析和柱切换层析方法不同,基于正电荷的磁性纯化模块利用能够原位再生和回收的可移动亲和树脂,以能够更有效地利用树脂,并且能够在小占地面积中连续处理而无需考虑传统的柱容量限制。

[0678] 具有回路传送系统的基于负电荷的磁性纯化模块

[0679] 如本文所描述的,包括了一种基于负电荷的磁性纯化模块,基于负电荷的磁性纯化模块用于将混合物分离成两个或更多个部分,其中至少一个部分包含生物制剂。基于负电荷的磁性纯化模块包括至少一个入口和至少一个出口,被配置为允许至少一个入口与至少一个出口之间的连续流体流,并且其中流速在稳态操作期间可以是例如一致且恒定的。此外,基于负电荷的磁性纯化模块包括阴离子磁性树脂珠粒的悬浮液,其中磁性树脂珠粒表面包含阴离子官能团,阳离子官能团被配置为以特定pH和离子强度与生物制剂选择性地缔合。

[0680] 基于负电荷的磁性纯化模块包括回路传送系统,回路传送系统包括装有阴离子磁性树脂珠粒的至少两个运输器皿,运输器皿被配置为连续接收包含生物制剂的混合物,并且随后运输所得到的包含生物制剂、阴离子磁性树脂珠粒、缓冲或其任意组合的非均相混合物;用于从非均相混合物中吸引并进而分离磁性树脂珠粒以实现洗涤的至少一个外部磁场;用于从非均相混合物中吸引并进而分离磁性树脂珠粒以实现生物制剂的解离的至少一个外部磁场;用于实现磁性树脂珠粒的回收再利用的至少一个外部磁场;至少一个缔合/洗涤缓冲系统;至少一个解离缓冲系统;至少一个磁性树脂珠粒再生缓冲系统;至少一个抽吸器系统,以从至少两个运输器皿中移除废溶液;至少一个收集器皿;至少一个传感器或检测器;以及至少一个流体处理泵。

[0681] 与分批工艺或半连续工艺相比,基于负电荷的磁性纯化模块的设备设计(图16至17)能够实现自动化且连续的生物磁性纯化,并且提供了较小的占地面积。

[0682] 磁场强度和场效应取决于运输器皿的壁厚和材料类型、回路传送轨道上与运输器皿的壁的接近度、磁性树脂珠粒尺寸、浓度、饱和磁化强度和磁化率、以及溶液粘度。在一些实施例中,磁场强度在约0.01特斯拉至约1特斯拉(例如高达约1特斯拉)的范围内。在一些示例中,磁场由永磁体(例如钕磁体)生成。永磁体可以定位在距器皿壁5mm内,或优选1mm内的范围内。在其它示例中,磁场由电磁体生成。在其它示例中,磁性树脂珠粒的混合可以通

过将至少一个运输器皿放置在两个独立且相对的磁场之间来实现,磁场在开启状态与关闭状态之间切换。

[0683] 如本文所描述的,基于负电荷的磁性纯化模块包括磁性树脂珠粒悬浮液,其中浓度取决于期望的电荷或静电缔合能力或期望的溶液粘度。替代地,基于负电荷的磁性纯化模块的磁性树脂珠粒尺寸为微米至亚微米级,并且取决于电荷或静电缔合容量需求,该需求取决于实现平衡和电荷或静电相互作用(例如分别为溶液粘度依赖性和表面电荷密度依赖性)的足够流体动力学所需的表面积与体积比。

[0684] 运输器皿的数量和尺寸取决于输入流速、磁性树脂珠粒电荷或静电缔合能力、以及缔合平衡时间。运输器皿的材料和壁厚取决于磁场的强度和接近度。

[0685] 基于负电荷的磁性纯化模块的磁性树脂珠粒的材料选择对于可忽略的可浸出物和提供稳健的稳定性以实现回收和再利用来说是重要的。磁性树脂珠粒可以是实心珠粒、多孔珠粒、纳米多孔珠粒、微孔珠粒或其任意组合。

[0686] 在基于负电荷的磁性纯化模块中,阴离子表面选择是重要的考虑因素,并且可以包括阴离子聚合物、净负电荷肽或蛋白质、寡核苷酸、羧基官能团。此外,选择是基于在限定的缓冲(pH和离子强度)内实现适当的静电相互作用,以及带负电荷的珠粒表面与生物制剂之间的稳定性。

[0687] 基于负电荷的磁性纯化模块的缔合/洗涤缓冲取决于感兴趣的生物制剂(例如单克隆抗体)和待去除的小杂质。在缔合/洗涤缓冲中也考虑了pH、离子强度、表面活性剂的使用、以及有机和/或无机盐的使用。此外,可能还需要额外的运输器皿和重复的传送轨道位置以实现有效洗涤。

[0688] 基于负电荷的磁性纯化模块的解离缓冲取决于阴离子磁性树脂珠粒表面官能团与感兴趣的生物制剂(例如单克隆抗体)之间的静电相互作用的强度。例如,解离缓冲可以改变pH、离子强度、表面活性剂的使用、有机和/或无机盐的使用、多种解离缓冲组合物的使用(例如以提高产量,并且可能需要额外的运输器皿和重复的传送轨道位置)。在其它示例中,顺序使用改变pH、离子强度或其任意组合的多种解离缓冲,以形成梯度解离效果。此外,可能还需要额外的运输器皿和重复的传送轨道位置以实现有效解离。

[0689] 在基于负电荷的磁性纯化模块的传送轨道进程中,每个阶段的停留时间取决于流速、平衡时间和通量体积。此外,根据缓冲组成和pH,还考虑了在洗涤步骤期间的病毒灭活和去除,因此,例如当纯化单克隆抗体时,不需要单独的病毒灭活和去除工艺步骤。

[0690] 基于负电荷的磁性纯化模块可以包括用于过程中分析测试和/或管线内分析测量技术的管线内取样端口。此外,管线内分析测量技术(例如流传感器、光密度测量装置、UV检测器、RI检测器)可以用于实现工艺的反馈控制机构。

[0691] 与本领域中常用的传统填塞柱层析和柱切换层析方法不同,基于负电荷的磁性纯化模块利用能够原位再生和回收的可移动亲和树脂,能够更有效地利用树脂,并且能够在小占地面积中连续处理而无需考虑传统的柱容量限制。

[0692] 具有拾取和放置机器人系统的基于负电荷的磁性纯化模块

[0693] 如本文所描述的,包括了一种基于负电荷的磁性纯化模块,基于负电荷的磁性纯化模块用于将混合物分离成两个或更多个部分,其中至少一个部分包含生物制剂。基于负电荷的磁性纯化模块包括至少一个入口和至少一个出口,被配置为允许至少一个入口与至

少一个出口之间的连续流体流,并且其中流速在稳态操作期间可以是例如一致且恒定的。此外,基于负电荷的磁性纯化模块包括阴离子磁性树脂珠粒的悬浮液,其中磁性树脂珠粒表面包含阴离子官能团,阳离子官能团被配置为以特定pH和离子强度与生物制剂选择性地缔合。

[0694] 基于负电荷的磁性纯化模块包括拾取和放置机器人系统,拾取和放置机器人系统包括装有阴离子磁性树脂珠粒的至少两个运输器皿,运输器皿被配置为连续接收包含生物制剂的混合物,并且随后运输所得到的包含生物制剂、阴离子磁性树脂珠粒、缓冲或其任意组合的非均相混合物;用于从非均相混合物中吸引并进而分离磁性树脂珠粒以实现洗涤的至少一个外部磁场;用于从非均相混合物中吸引并进而分离磁性树脂珠粒以实现生物制剂的解离的至少一个外部磁场;用于实现磁性树脂珠粒的回收再利用的至少一个外部磁场;至少一个缔合/洗涤缓冲系统;至少一个解离缓冲系统;至少一个磁性树脂珠粒再生缓冲系统;至少一个抽吸器系统,以从至少两个运输器皿移除废溶液;至少一个收集器皿;至少一个传感器或检测器;以及至少一个流体处理泵。

[0695] 与分批工艺或半连续工艺相比,基于负电荷的磁性纯化模块的设备设计(图19)能够实现自动化且连续的生物磁性纯化,并且提供了较小的占地面积。

[0696] 磁场强度和场效应取决于运输器皿的壁厚和材料类型、回路传送轨道上与运输器皿的壁的接近度、磁性树脂珠粒尺寸、浓度、饱和磁化强度和磁化率、以及溶液粘度。在一些实施例中,磁场强度在约0.01特斯拉至约1特斯拉(例如高达约1特斯拉)的范围内。在一些示例中,磁场由永磁体(例如钕磁体)生成。永磁体可以定位在距器皿壁5mm内,或优选1mm内的范围内。在其它示例中,磁场由电磁体生成。在其它示例中,磁性树脂珠粒的混合可以通过将至少一个运输器皿放置在两个独立且相对的磁场之间来实现,磁场在开启状态与关闭状态之间切换。

[0697] 如本文所描述的,基于负电荷的磁性纯化模块包括磁性树脂珠粒悬浮液,其中浓度取决于期望的电荷或静电缔合能力或期望的溶液粘度。替代地,基于负电荷的磁性纯化模块的磁性树脂珠粒尺寸为微米至亚微米级,并且取决于电荷或静电缔合容量需求,该需求取决于实现平衡和电荷或静电相互作用(例如分别为溶液粘度依赖性和表面电荷密度依赖性)的足够流体动力学所需的表面积与体积比。

[0698] 运输器皿的数量和尺寸取决于输入流速、磁性树脂珠粒电荷或静电缔合能力、以及缔合平衡时间。运输器皿的材料和壁厚取决于磁场的强度和接近度。

[0699] 基于负电荷的磁性纯化模块的磁性树脂珠粒的材料选择对于可忽略的可浸出物和提供稳健的稳定性以实现回收和再利用来说是重要的。磁性树脂珠粒可以是实心珠粒、多孔珠粒、纳米多孔珠粒、微孔珠粒或其任意组合。

[0700] 在基于负电荷的磁性纯化模块中,阴离子表面选择是重要的考虑因素,并且可以包括阴离子聚合物、净负电荷肽或蛋白质、寡核苷酸、羧基官能团。此外,选择是基于在限定的缓冲(pH和离子强度)内实现适当的静电相互作用,以及带负电荷的珠粒表面与生物制剂之间的稳定性。

[0701] 基于负电荷的磁性纯化模块的缔合/洗涤缓冲取决于感兴趣的生物制剂(例如单克隆抗体)和待去除的小杂质。在缔合/洗涤缓冲中也考虑了pH、离子强度、表面活性剂的使用、以及有机和/或无机盐的使用。此外,可能还需要额外的运输器皿和重复的拾取和放置

位置以实现有效洗涤。

[0702] 基于负电荷的磁性纯化模块的解离缓冲取决于阴离子磁性树脂珠粒表面官能团与感兴趣的生物制剂(例如单克隆抗体)之间的静电相互作用的强度。例如,解离缓冲可以改变pH、离子强度、表面活性剂的使用、有机和/或无机盐的使用、多种解离缓冲组合物的使用(例如以提高产量,并且可能需要额外的运输器皿和重复的传送轨道位置)。在其它示例中,顺序使用改变pH、离子强度或其任意组合的多种解离缓冲,以形成梯度解离效果。此外,可能还需要额外的运输器皿和重复的拾取和放置位置以实现有效解离。

[0703] 在基于负电荷的磁性纯化模块的运输器皿通过拾取和放置过程的进程中,每个阶段的停留时间取决于流速、平衡时间和通量体积。此外,根据缓冲组成和pH,还考虑了在洗涤步骤期间的病毒灭活和去除,因此,例如当纯化单克隆抗体时,不需要单独的病毒灭活和去除工艺步骤。

[0704] 基于负电荷的纯化模块可以包括用于过程中分析测试和/或管线内分析测量技术的管线内取样端口。此外,管线内分析测量技术(例如流传感器、光密度测量装置、UV检测器、RI检测器)可以用于实现工艺的反馈控制机构。

[0705] 与本领域中常用的传统填充柱层析和柱切换层析方法不同,基于负电荷的磁性纯化模块利用能够原位再生和回收的可移动亲和树脂,能够更有效地利用树脂,并且能够在小占地面积中连续处理而无需考虑传统的柱容量限制。

[0706] 具有机械旋转系统的基于亲和力的纯化模块

[0707] 本文提供了一种基于亲和力的纯化模块,基于亲和力的纯化模块用于将混合物分离成两个或更多个部分,其中至少一个部分包含生物制剂。该模块包括至少一个入口和至少一个出口,被配置为允许至少一个入口与至少一个出口之间的连续流体流,并且其中流速在稳态操作期间可以是例如一致且恒定的。此外,基于亲和力的纯化模块包括亲和树脂珠粒的悬浮液,其中树脂珠粒表面(非限制性地)与蛋白质A、蛋白质G、蛋白质L、抗原蛋白、蛋白质、受体、抗体或被配置为选择性地结合生物制剂的适体偶联。

[0708] 基于亲和力的纯化模块包括:盖系统,盖系统能够沿z轴运动,并且具有至少一个垫圈盖,至少一个垫圈盖包括用于引入气体以控制正压头压力的至少一个入口,用于平衡至大气压力的至少一个排气口,用于引入树脂珠粒悬浮液的至少一个入口,用于接收包含生物制剂的滤液以实现结合的至少一个入口,用于引入缓冲系统以分散树脂珠粒,从而实现树脂珠粒的洗涤、洗脱或再生的至少两个入口;能够在xy平面中运动的机械旋转系统,例如转盘,包括装有树脂珠粒的至少两个器皿,器皿被配置为连续接收包含生物制剂的混合物,并且随后运输所得到的包含生物制剂、树脂珠粒、缓冲或其任意组合的非均相混合物;能够沿z轴运动的收集系统,收集系统与机械旋转系统的至少两个器皿中的至少一个进行接合,从而能够收集废弃物、包含生物制剂的部分或其任意组合;至少一种气体;至少一个结合/洗涤缓冲系统;至少一个洗脱缓冲系统;至少一个树脂珠粒再生缓冲系统;至少一个收集器皿;至少一个传感器或检测器;以及至少一个流体处理泵。

[0709] 与分批工艺或半连续工艺相比,基于亲和力的纯化模块的设备设计(图21和23)能够实现自动化且连续的生物性纯化,并且提供了较小的占地面积。

[0710] 如本文所描述的,基于亲和力的纯化模块包括树脂珠粒悬浮液,其中浓度取决于期望的结合能力或期望的溶液粘度。替代地,基于亲和力的纯化模块的树脂珠粒尺寸为微

米至亚微米级,并且取决于结合能力需求,该需求取决于实现平衡和亲和(例如分别为溶液粘度依赖性和表面配体密度依赖性)相互作用的足够流体动力学所需的表面积与体积比。

[0711] 器皿的数量和尺寸取决于输入流速、树脂珠粒结合能力和结合平衡时间。器皿材料被选择为限定蛋白质结合。

[0712] 过滤器或滤膜的材料和器皿的孔径大小取决于树脂珠粒的直径和感兴趣的生物制剂。过滤器或滤膜材料被选择为限定蛋白质结合。

[0713] 基于亲和力的纯化模块的树脂珠粒的材料选择对于可忽略的可浸出物和提供稳健的稳定性以实现回收和再利用来说是重要的。树脂珠粒可以是实心珠粒、多孔珠粒、纳米多孔珠粒、微孔珠粒或其任意组合。

[0714] 结合/洗涤缓冲取决于感兴趣的生物制剂(例如单克隆抗体)和待去除的小杂质。结合/洗涤缓冲的其它考虑因素,包括pH、离子强度、表面活性剂的使用、以及有机和/或无机盐的使用,也在结合/洗涤缓冲中考虑。此外,可能还需要额外的器皿和重复的转盘位置以实现有效洗涤。

[0715] 洗脱缓冲取决于树脂珠粒表面配体与感兴趣的生物制剂(例如单克隆抗体)之间的结合亲和力(例如非共价相互作用的强度)。例如,洗脱缓冲可以改变pH、离子强度、表面活性剂的使用、有机和/或无机盐的使用、多种洗脱缓冲组合物的使用(例如以提高产量,并且可能需要额外的器皿和重复的转盘位置)。此外,可能还需要额外的器皿和重复的转盘位置或额外的洗脱以实现有效洗脱。

[0716] 在器皿通过旋转过程的进程中,每个阶段的停留时间取决于流速、平衡时间和通量体积。此外,根据缓冲组成和pH,还考虑了在洗涤步骤期间的病毒灭活和去除,因此,例如当纯化单克隆抗体时,不需要单独的病毒灭活和去除工艺步骤。

[0717] 基于亲和力的纯化模块可以包括用于过程中分析测试和/或管线内分析测量技术的管线内取样端口。此外,管线内分析测量技术(例如流传感器、光密度测量装置、UV检测器、RI检测器)可以用于实现工艺的反馈控制机构。

[0718] 与本领域中常用的传统填塞柱层析和柱切换层析方法不同,基于亲和力的纯化模块利用能够原位再生和回收的可移动亲和树脂,能够更有效地利用树脂,并且能够在小占地面积中连续处理而无需考虑传统的柱容量限制。

[0719] 具有机械旋转系统的基于正电荷的纯化模块

[0720] 如本文所描述的,包括了一种基于正电荷的纯化模块,基于正电荷的纯化模块用于将混合物分离成两个或更多个部分,其中至少一个部分包含生物制剂。基于正电荷的纯化模块包括至少一个入口和至少一个出口,被配置为允许至少一个入口与至少一个出口之间的连续流体流,并且其中流速在稳态操作期间可以是例如一致且恒定的。此外,基于正电荷的纯化模块包括阳离子树脂珠粒的悬浮液,其中树脂珠粒表面包含阳离子官能团,阳离子官能团被配置为以特定pH和离子强度与生物制剂选择性地缔合。

[0721] 基于正电荷的纯化模块包括:盖系统,盖系统能够沿z轴运动,并且具有至少一个垫圈盖,至少一个垫圈盖包括用于引入气体以控制正压头压力的至少一个入口,用于平衡至大气压力的至少一个排气口,用于引入树脂珠粒悬浮液的至少一个入口,用于接收包含生物制剂的滤液以实现缔合的至少一个入口,用于引入缓冲系统以分散树脂珠粒,从而实现树脂珠粒的洗涤、解离或再生的至少两个入口;能够在xy平面中运动的机械旋转系统,例

如包括装有树脂珠粒的至少两个器皿的转盘,器皿被配置为连续接收包含生物制剂的混合物,并且随后运输所得到的包含生物制剂、树脂珠粒、缓冲或其任意组合的非均相混合物;能够沿z轴运动的收集系统,收集系统与机械旋转系统的至少两个器皿中的至少一个进行接合,从而能够收集废弃物、包含生物制剂的部分或其任意组合;至少一种气体;至少一个缔合/洗涤缓冲系统;至少一个解离缓冲系统;至少一个树脂珠粒再生缓冲系统;至少一个收集器皿;至少一个传感器或检测器;以及至少一个流体处理泵。

[0722] 与分批工艺或半连续工艺相比,基于正电荷的纯化模块的设备设计(图22至23)能够实现自动化且连续的生物性纯化,并且提供了较小的占地面积。

[0723] 如本文所描述的,基于正电荷的纯化模块包括阳离子树脂珠粒,其中浓度取决于期望的电荷或静电缔合能力或期望的溶液粘度。替代地,基于正电荷的纯化模块的树脂珠粒尺寸为微米至亚微米级,并且取决于电荷或静电缔合容量需求,该需求取决于实现平衡和电荷或静电相互作用(例如分别为溶液粘度依赖性和表面电荷密度依赖性)的足够流体动力学所需的表面积与体积比。

[0724] 器皿的数量和尺寸取决于输入流速、树脂珠粒电荷或静电缔合能力、以及缔合平衡时间。器皿材料被选择为限定蛋白质结合。

[0725] 过滤器或滤膜材料以及器皿的孔径大小取决于树脂珠粒直径和感兴趣的生物制剂。过滤器或滤膜材料被选择为限定蛋白质结合。

[0726] 基于正电荷的纯化模块的树脂珠粒的材料选择对于可忽略的可浸出物和提供稳健的稳定性以实现回收和再利用来说是重要的。树脂珠粒可以是实心珠粒、多孔珠粒、纳米多孔珠粒、微孔珠粒或其任意组合。

[0727] 在基于正电荷的纯化模块中,阳离子表面选择是重要的考虑因素,并且可以包括阳离子聚合物、净正电荷的肽或蛋白质、胺官能团。此外,选择是基于在限定的缓冲(pH和离子强度)内实现适当的静电相互作用,以及带正电荷的珠粒表面与生物制剂之间的稳定性。

[0728] 基于正电荷的纯化模块的缔合/洗涤缓冲取决于感兴趣的生物制剂(例如单克隆抗体)和待去除的小杂质。在缔合/洗涤缓冲中也考虑了pH、离子强度、表面活性剂的使用、以及有机和/或无机盐的使用。此外,可能还需要额外的器皿和重复的转盘位置以实现有效洗涤。

[0729] 基于正电荷的纯化模块的解离缓冲取决于阴离子树脂珠粒表面官能团与感兴趣的生物制剂(例如单克隆抗体)之间的静电相互作用的强度。例如,解离缓冲可以改变pH、离子强度、表面活性剂的使用、有机和/或无机盐的使用、多种解离缓冲组合物的使用(例如以提高产量,并且可能需要额外的器皿和重复的转盘位置)。在其它示例中,顺序使用改变pH、离子强度或其任意组合的多种解离缓冲,以形成梯度解离效果。此外,可能还需要额外的器皿和重复的转盘位置或额外的解离以实现有效解离。

[0730] 在器皿通过旋转过程的进程中,每个阶段的停留时间取决于流速、平衡时间和通量体积。此外,根据缓冲组成和pH,还考虑了在洗涤步骤期间的病毒灭活和去除,因此,例如当纯化单克隆抗体时,不需要单独的病毒灭活和去除工艺步骤。

[0731] 基于正电荷的纯化模块可以包括用于过程中分析测试和/或管线内分析测量技术的管线内取样端口。此外,管线内分析测量技术(例如流传感器、光密度测量装置、UV检测器、RI检测器)可以用于实现工艺的反馈控制机构。

[0732] 与本领域中常用的传统填塞柱层析和柱切换层析方法不同,基于正电荷的纯化模块利用能够原位再生和回收的可移动亲和树脂,能够更有效地利用树脂,并且能够在小占地面积中连续处理而无需考虑传统的柱容量限制。

[0733] 具有机械旋转系统的基于负电荷的纯化模块

[0734] 如本文所描述的,包括了一种基于负电荷的纯化模块,基于负电荷的纯化模块用于将混合物分离成两个或更多个部分,其中至少一个部分包含生物制剂。基于负电荷的纯化模块包括至少一个入口和至少一个出口,被配置为允许至少一个入口与至少一个出口之间的连续流体流,并且其中流速在稳态操作期间可以是例如一致且恒定的。此外,基于负电荷的纯化模块包括阴离子树脂珠粒的悬浮液,其中树脂珠粒表面包含阴离子官能团,阳离子官能团被配置为以特定pH和离子强度与生物制剂选择性地缔合。

[0735] 基于负电荷的纯化模块包括盖系统,盖系统能够沿z轴运动,并且具有至少一个垫圈盖,至少一个垫圈盖包括用于引入气体以控制正压头压力的至少一个入口,用于平衡至大气压力的至少一个排气口,用于引入树脂珠粒悬浮液的至少一个入口,用于接收包含生物制剂的滤液以实现缔合的至少一个入口,用于引入缓冲系统以分散树脂珠粒,从而实现树脂珠粒的洗涤、解离或再生的至少两个入口;能够在xy平面中运动的机械旋转系统,例如包括装有树脂珠粒的至少两个器皿的转盘,器皿被配置为连续接收包含生物制剂的混合物,并且随后运输所得到的包含生物制剂、树脂珠粒、缓冲或其任意组合的非均相混合物;能够沿z轴运动的收集系统,收集系统与机械旋转系统的至少两个器皿中的至少一个进行接合,从而能够收集废弃物、包含生物制剂的部分或其任意组合;至少一种气体;至少一个缔合/洗涤缓冲系统;至少一个解离缓冲系统;至少一个树脂珠粒再生缓冲系统;至少一个收集器皿;至少一个传感器或检测器;以及至少一个流体处理泵。

[0736] 与分批工艺或半连续工艺相比,基于负电荷的纯化模块的设备设计(图22至23)能够实现自动化且连续的生物性纯化,并且提供了较小的占地面积。

[0737] 如本文所描述的,基于负电荷的纯化模块包括树脂珠粒悬浮液,其中浓度取决于期望的电荷或静电缔合能力或期望的溶液粘度。替代地,基于负电荷的纯化模块的树脂珠粒尺寸为微米至亚微米级,并且取决于电荷或静电缔合容量需求,该需求取决于实现平衡和电荷或静电相互作用(例如分别为溶液粘度依赖性和表面电荷密度依赖性)的足够流体动力学所需的表面积与体积比。

[0738] 器皿的数量和尺寸取决于输入流速、树脂珠粒电荷或静电缔合能力、以及缔合平衡时间。器皿材料被选择为限定蛋白质结合。

[0739] 过滤器或滤膜材料以及器皿的孔径大小取决于树脂珠粒直径和感兴趣的生物制剂。过滤器或滤膜材料被选择为限定蛋白质结合。

[0740] 基于负电荷的纯化模块的树脂珠粒的材料选择对于可忽略的可浸出物和提供稳健的稳定性以实现回收和再利用来说是重要的。树脂珠粒可以是实心珠粒、多孔珠粒、纳米多孔珠粒、微孔珠粒或其任意组合。

[0741] 在基于负电荷的纯化模块中,阴离子表面选择是重要的考虑因素,并且可以包括阴离子聚合物、净负电荷肽或蛋白质、寡核苷酸、羧基官能团。此外,选择是基于在限定的缓冲(pH和离子强度)内实现适当的静电相互作用,以及带负电荷的珠粒表面与生物制剂之间的稳定性。

[0742] 基于负电荷的纯化模块的缔合/洗涤缓冲取决于感兴趣的生物制剂(例如单克隆抗体)和待去除的小杂质。在缔合/洗涤缓冲中也考虑了pH、离子强度、表面活性剂的使用、以及有机和/或无机盐的使用。此外,可能还需要额外的器皿和重复的转盘位置以实现有效洗涤。

[0743] 基于负电荷的纯化模块的解离缓冲取决于阴离子树脂珠粒表面官能团与感兴趣的生物制剂(例如单克隆抗体)之间的静电相互作用的强度。例如,解离缓冲可以改变pH、离子强度、表面活性剂的使用、有机和/或无机盐的使用、多种解离缓冲组合物的使用(例如以提高产量,并且可能需要额外的器皿和重复的转盘位置)。在其它示例中,顺序使用改变pH、离子强度或其任意组合的多种解离缓冲,以形成梯度解离效果。此外,可能还需要额外的器皿和重复的转盘位置或额外的解离以实现有效解离。

[0744] 在器皿通过旋转工艺的进程中,每个阶段的停留时间取决于流速、平衡时间和通量体积。此外,根据缓冲组成和pH,还考虑了在洗涤步骤期间的病毒灭活和去除,因此,例如当纯化单克隆抗体时,不需要单独的病毒灭活和去除工艺步骤。

[0745] 基于负电荷的纯化模块可以包括用于过程中分析测试和/或管线内分析测量技术的管线内取样端口。此外,管线内分析测量技术(例如流传感器、光密度测量装置、UV检测器、RI检测器)可以用于实现工艺的反馈控制机构。

[0746] 与本领域中常用的传统填塞柱层析和柱切换层析方法不同,基于负电荷的磁性纯化模块利用能够原位再生和回收的可移动亲和树脂,以能够更有效地利用树脂,并且能够在小占地面积中连续处理而无需考虑传统的柱容量限制。

[0747] 具有分级线性系统的基于亲和力的纯化模块

[0748] 本文提供了一种基于亲和力的纯化模块,基于亲和力的纯化模块用于将混合物分离成两个或更多个部分,其中至少一个部分包含生物制剂。该模块包括至少一个入口和至少一个出口,被配置为允许至少一个入口与至少一个出口之间的连续流体流,并且其中流速在稳态操作期间可以是例如一致且恒定的。此外,基于亲和力的纯化模块包括亲和树脂珠粒的悬浮液,其中树脂珠粒表面(非限制性地)与蛋白质A、蛋白质G、蛋白质L、抗原蛋白、蛋白质、受体、抗体或被配置为选择性地结合生物制剂的适体偶联。

[0749] 基于亲和力的纯化模块包括:至少一个垫圈盖系统,垫圈盖系统具有用于引入气体以控制正压头压力的至少一个入口,用于平衡至大气压力的至少一个排气口,用于引入树脂珠粒悬浮液的至少一个入口,用于接收包含生物制剂的滤液以实现结合的至少一个入口,用于引入缓冲系统以分散树脂珠粒,从而实现树脂珠粒的洗涤、洗脱或再生的至少两个入口;分级线性系统,分级线性系统包括装有可移动树脂珠粒的至少两个器皿,器皿被配置为连续接收包含生物制剂的混合物,并且随后处理所得到的包含生物制剂、树脂珠粒、缓冲或其任意组合的非均相混合物;收集系统,收集系统连接至分级线性系统的至少两个器皿中的至少一个,从而能够收集废弃物、包含生物制剂的部分或其任意组合;至少一种气体;至少一个结合/洗涤缓冲系统;至少一个洗脱缓冲系统;至少一个树脂珠粒再生缓冲系统;至少一个收集器皿;至少一个传感器或检测器;以及至少一个流体处理泵。

[0750] 与分批工艺或半连续工艺相比,基于亲和力的纯化模块的设备设计(图24A和24B)能够实现自动化且连续的生物性纯化,并且提供了较小的占地面积。

[0751] 如本文所描述的,基于亲和力的纯化模块包括树脂珠粒悬浮液,其中浓度取决于

期望的结合能力或期望的溶液粘度。替代地,基于亲和力的纯化模块的树脂珠粒尺寸为微米至亚微米级,并且取决于结合能力需求,该需求取决于实现平衡和亲和(例如分别为溶液粘度依赖性和表面配体密度依赖性)相互作用的足够流体动力学所需的表面积与体积比。

[0752] 器皿的数量和尺寸取决于输入流速、树脂珠粒结合能力和结合平衡时间。器皿材料被选择为限定蛋白质结合。

[0753] 过滤器或滤膜材料以及器皿的孔径大小取决于树脂珠粒直径和感兴趣的生物制剂。过滤器或滤膜材料被选择为限定蛋白质结合。

[0754] 基于亲和力的纯化模块的树脂珠粒的材料选择对于可忽略的可浸出物和提供稳健的稳定性以实现回收和再利用来说是重要的。树脂珠粒可以是实心珠粒、多孔珠粒、纳米多孔珠粒、微孔珠粒或其任意组合。

[0755] 结合/洗涤缓冲取决于感兴趣的生物制剂(例如单克隆抗体)和待去除的小杂质。在结合/洗涤缓冲中也考虑了结合/洗涤缓冲的其它考量,包括pH、离子强度、表面活性剂的使用、以及有机和/或无机盐的使用。此外,可能还需要额外的器皿和重复的转盘位置以实现有效洗涤。

[0756] 洗脱缓冲取决于树脂珠粒表面配体与感兴趣的生物制剂(例如单克隆抗体)之间的结合亲和力(例如非共价相互作用的强度)。例如,洗脱缓冲可以改变pH、离子强度、表面活性剂的使用、有机和/或无机盐的使用、多种洗脱缓冲组合物的使用(例如以提高产量,并且可能需要额外的器皿和重复的转盘位置)。此外,还可能需要额外的洗脱以实现有效洗脱。

[0757] 根据缓冲组成和pH,还考虑了在洗涤步骤期间的病毒灭活和去除,因此,例如当纯化单克隆抗体时,不需要单独的病毒灭活和去除工艺步骤。

[0758] 基于亲和力的纯化模块可以包括用于过程中分析测试和/或管线内分析测量技术的管线内取样端口。此外,管线内分析测量技术(例如流传感器、光密度测量装置、UV检测器、RI检测器)可以用于实现工艺的反馈控制机构。

[0759] 与本领域中常用的传统填塞柱层析和柱切换层析方法不同,基于亲和力的纯化模块利用能够原位再生和回收的可移动亲和树脂,以能够更有效地利用树脂,并且能够在小占地面积中连续处理而无需考虑传统的柱容量限制。

[0760] 具有分级线性系统的基于正电荷的纯化模块

[0761] 本文提供了一种基于正电荷的纯化模块,基于正电荷的纯化模块用于将混合物分离成两个或更多个部分,其中至少一个部分包含生物制剂。该模块包括至少一个入口和至少一个出口,被配置为允许至少一个入口与至少一个出口之间的连续流体流,并且其中流速在稳态操作期间可以是例如一致且恒定的。此外,基于正电荷的纯化模块包括亲和树脂珠粒的悬浮液,其中树脂珠粒表面(非限制性地)与蛋白质A、蛋白质G、蛋白质L、抗原蛋白、蛋白质、受体、抗体或被配置为选择性地结合生物制剂的适体偶联。

[0762] 基于正电荷的纯化模块包括:至少一个垫圈盖系统,垫圈盖系统具有用于引入气体以控制正压头压力的至少一个入口,用于平衡至大气压力的至少一个排气口,用于引入树脂珠粒悬浮液的至少一个入口,用于接收包含生物制剂的滤液的至少一个入口,用于引入缓冲系统以分散树脂珠粒,从而实现树脂珠粒的洗涤、解离或再生的至少两个入口;分级线性系统,分级线性系统包括装有可移动树脂珠粒的至少两个器皿,器皿被配置为连续接

收包含生物制剂的混合物,并且随后处理所得到的包含生物制剂、树脂珠粒、缓冲或其任意组合的非均相混合物;收集系统,收集系统连接至分级线性系统的至少两个器皿中的至少一个,从而能够收集废弃物、包含生物制剂的部分或其任意组合;至少一种气体;至少一个结合/洗涤缓冲系统;至少一个洗脱缓冲系统;至少一个树脂珠粒再生缓冲系统;至少一个收集器皿;至少一个传感器或检测器;以及至少一个流体处理泵。

[0763] 与分批工艺或半连续工艺相比,基于正电荷的纯化模块的设备设计(图24A和24B)能够实现自动化且连续的生物性纯化,并且提供了较小的占地面积。

[0764] 如本文所描述的,基于正电荷的纯化模块包括阳离子树脂珠粒,其中浓度取决于期望的电荷或静电缔合能力或期望的溶液粘度。替代地,基于正电荷的纯化模块的树脂珠粒尺寸为微米至亚微米级,并且取决于电荷或静电缔合容量需求,该需求取决于实现平衡和电荷或静电相互作用(例如分别为溶液粘度依赖性和表面电荷密度依赖性)的足够流体动力学所需的表面积与体积比。

[0765] 器皿的数量和尺寸取决于输入流速、树脂珠粒电荷或静电缔合能力、以及缔合平衡时间。器皿材料被选择为限定蛋白质结合。

[0766] 过滤器或滤膜材料以及器皿的孔径大小取决于树脂珠粒直径和感兴趣的生物制剂。过滤器或滤膜材料被选择为限定蛋白质结合。

[0767] 基于正电荷的纯化模块的树脂珠粒的材料选择对于可忽略的可浸出物和提供稳健的稳定性以实现回收和再利用来说是重要的。树脂珠粒可以是实心珠粒、多孔珠粒、纳米多孔珠粒、微孔珠粒或其任意组合。

[0768] 在基于正电荷的纯化模块中,阳离子表面选择是重要的考虑因素,并且可以包括阳离子聚合物、净正电荷的肽或蛋白质、胺官能团。此外,选择是基于在限定的缓冲(pH和离子强度)内实现适当的静电相互作用,以及带正电荷的珠粒表面与生物制剂之间的稳定性。

[0769] 基于正电荷的纯化模块的缔合/洗涤缓冲取决于感兴趣的生物制剂(例如单克隆抗体)和待去除的小杂质。在缔合/洗涤缓冲中也考虑了pH、离子强度、表面活性剂的使用、以及有机和/或无机盐的使用。可能还需要额外的器皿和重复的转盘位置以实现有效洗涤。

[0770] 基于正电荷的纯化模块的解离缓冲取决于阴离子树脂珠粒表面官能团与感兴趣的生物制剂(例如单克隆抗体)之间的静电相互作用的强度。例如,解离缓冲可以改变pH、离子强度、表面活性剂的使用、有机和/或无机盐的使用、多种解离缓冲组合物的使用(例如以提高产量,并且可能需要额外的器皿和重复的转盘位置)。在其它示例中,顺序使用改变pH、离子强度或其任意组合的多种解离缓冲,以形成梯度解离效果。此外,可能还需要额外的解离以实现有效解离。

[0771] 根据缓冲组成和pH,还考虑了在洗涤步骤期间的病毒灭活和去除,因此,例如当纯化单克隆抗体时,不需要单独的病毒灭活和去除工艺步骤。

[0772] 基于正电荷的纯化模块可以包括用于过程中分析测试和/或管线内分析测量技术的管线内取样端口。此外,管线内分析测量技术(例如流传感器、光密度测量装置、UV检测器、RI检测器)可以用于实现工艺的反馈控制机构。

[0773] 与本领域中常用的传统填塞柱层析和柱切换层析方法不同,基于正电荷的纯化模块利用能够原位再生和回收的可移动亲和树脂,以能够更有效地利用树脂,并且能够在小占地面积中连续处理而不用考虑传统的柱容量限制。

[0774] 具有分级线性系统的基于负电荷的纯化模块

[0775] 本文提供了一种基于负电荷的纯化模块,基于负电荷的纯化模块用于将混合物分离成两个或更多个部分,其中至少一个部分包含生物制剂。该模块包括至少一个入口和至少一个出口,被配置为允许至少一个入口与至少一个出口之间的连续流体流,并且其中流速在稳态操作期间可以是例如一致且恒定的。此外,基于负电荷的纯化模块包括亲和树脂珠粒的悬浮液,其中树脂珠粒表面(非限制性地)与蛋白质A、蛋白质G、蛋白质L、抗原蛋白、蛋白质、受体、抗体或被配置为选择性地结合生物制剂的适体偶联。

[0776] 基于负电荷的纯化模块包括至少一个垫圈盖系统,垫圈盖系统具有用于引入气体以控制正压头压力的至少一个入口,用于平衡至大气压力的至少一个排气口,用于引入树脂珠粒悬浮液的至少一个入口,用于接收包含生物制剂的滤液的至少一个入口,用于引入缓冲系统以分散树脂珠粒,从而实现树脂珠粒的洗涤、解离或再生的至少两个入口;分级线性系统,分级线性系统包括装有可移动树脂珠粒的至少两个器皿,器皿被配置为连续接收包含生物制剂的混合物,并且随后处理所得到的包含生物制剂、树脂珠粒、缓冲或其任意组合的非均相混合物;收集系统,收集系统连接至分级线性系统的至少两个器皿中的至少一个,从而能够收集废弃物、包含生物制剂的部分或其任意组合;至少一种气体;至少一个结合/洗涤缓冲系统;至少一个洗脱缓冲系统;至少一个树脂珠粒再生缓冲系统;至少一个收集器皿;至少一个传感器或检测器;以及至少一个流体处理泵。

[0777] 与分批工艺或半连续工艺相比,基于负电荷的纯化模块的设备设计(图25A和25B)能够实现自动化且连续的生物性纯化,并且提供了较小的占地面积。

[0778] 如本文所描述的,基于负电荷的纯化模块包括树脂珠粒悬浮液,其中浓度取决于期望的电荷或静电缔合能力或期望的溶液粘度。替代地,基于负电荷的纯化模块的性树脂珠粒尺寸为微米至亚微米级,并且取决于电荷或静电缔合容量需求,该需求取决于实现平衡和电荷或静电相互作用(例如分别为溶液粘度依赖性和表面电荷密度依赖性)的足够流体动力学所需的表面积与体积比。

[0779] 器皿的数量和尺寸取决于输入流速、树脂珠粒电荷或静电缔合能力、以及缔合平衡时间。器皿材料被选择为限定蛋白质结合。

[0780] 过滤器或滤膜材料以及器皿的孔径大小取决于树脂珠粒直径和感兴趣的生物制剂。过滤器或滤膜材料被选择为限定蛋白质结合。

[0781] 基于负电荷的纯化模块的树脂珠粒的材料选择对于可忽略的可浸出物和提供稳健的稳定性以实现回收和再利用来说是重要的。树脂珠粒可以是实心珠粒、多孔珠粒、纳米多孔珠粒、微孔珠粒或其任意组合。

[0782] 在基于负电荷的纯化模块中,阴离子表面选择是重要的考虑因素,并且可以包括阴离子聚合物、净负电荷肽或蛋白质、寡核苷酸、羧基官能团。此外,选择是基于在限定的缓冲(pH和离子强度)内实现适当的静电相互作用,以及带负电荷的珠粒表面与生物制剂之间的稳定性。

[0783] 基于负电荷的纯化模块的缔合/洗涤缓冲取决于感兴趣的生物制剂(例如单克隆抗体)和待去除的小杂质。在缔合/洗涤缓冲中也考虑了pH、离子强度、表面活性剂的使用、以及有机和/或无机盐的使用。可能还需要额外的器皿和重复的转盘位置以实现有效洗涤。

[0784] 基于负电荷的纯化模块的解离缓冲取决于阴离子树脂珠粒表面官能团与感兴趣

的生物制剂(例如单克隆抗体)之间的静电相互作用的强度。例如,解离缓冲可以改变pH、离子强度、表面活性剂的使用、有机和/或无机盐的使用、多种解离缓冲组合物的使用(例如以提高产量,并且可能需要额外的器皿和重复的转盘位置)。在其它示例中,顺序使用改变pH、离子强度或其任意组合的多种解离缓冲,以形成梯度解离效果。此外,可能还需要额外的解离以实现有效解离。

[0785] 根据缓冲组成和pH,还考虑了在洗涤步骤期间的病毒灭活和去除,因此,例如当纯化单克隆抗体时,不需要单独的病毒灭活和去除工艺步骤。

[0786] 基于负电荷的纯化模块可以包括用于过程中分析测试和/或管线内分析测量技术的管线内取样端口。此外,管线内分析测量技术(例如流传感器、光密度测量装置、UV检测器、RI检测器)可以用于实现工艺的反馈控制机构。

[0787] 与本领域中常用的传统填充柱层析和柱切换层析方法不同,基于负电荷的磁性纯化模块利用能够原位再生和回收的可移动亲和树脂,能够更有效地利用树脂,并且能够在小占地面积中连续处理而无需考虑传统的柱容量限制。

[0788] 基于亲和力的流体纯化模块

[0789] 如本文所提供的,描述了一种基于亲和力的流体纯化模块,基于亲和力的流体纯化模块用于将混合物分离成两个或更多个部分,其中至少一个部分包含生物制剂。基于亲和力的流体纯化模块包括至少一个入口和至少一个出口,被配置为允许至少一个入口与至少一个出口之间的连续流体流,并且其中流速在稳态操作期间可以是例如一致且恒定的。此外,基于亲和力的流体纯化模块包括亲和磁性树脂珠粒的悬浮液,其中磁性树脂珠粒表面(非限制性地)与蛋白质A、蛋白质G、蛋白质L、抗原蛋白、蛋白质、受体、抗体或被配置为选择性地结合生物制剂的适体偶联。

[0790] 基于亲和力的流体纯化模块包括至少一个平衡器皿,以允许生物制剂结合至磁性树脂珠粒表面;至少一个低pH平衡器皿,以允许生物制剂从磁性树脂珠粒表面去结合;至少一个第一混合交叉流流体装置或芯片(例如微流体、中流体、毫流体、宏流体装置或芯片或其任意组合),第一混合交叉流流体装置或芯片包括至少一个磁场,以及压电部件或介电泳电极中的至少一个,压电部件或介电泳电极被配置为产生或引起单向力,以操纵非均相混合物中磁性树脂珠粒的流路,以及交叉流通道,以将结合至生物制剂的磁性树脂珠粒与非均相混合物中的小杂质分离(图28);至少一个第二混合交叉流流体装置或芯片(例如微流体、中流体、毫流体、宏流体装置或芯片或其任意组合),第二混合交叉流流体装置或芯片包括至少一个磁场,以及压电部件或介电泳电极中的至少一个,压电部件或介电泳电极被配置为产生或引起单向力,以操纵来自生物制剂的磁性树脂珠粒的流路,以及交叉流通道,以将磁性树脂珠粒与生物制剂分离(图28);至少两个缓冲系统;至少一个磁性树脂珠粒再生缓冲系统;至少一个再生平衡器皿,再生平衡器皿被配置为实现磁性树脂珠粒的回收再利用;至少一个收集器皿;至少一个传感器或检测器;以及至少一个流体处理泵。

[0791] 基于亲和力的流体纯化模块的设备设计(图29)实现了连续生物磁性纯化,并且提供了较小的占地面积。

[0792] 基于亲和力的流体纯化模块的至少一个平衡器皿容积和搅拌能力考虑了输入流速和通量、平衡时间和搅拌速率以实现结合动力学,并且考虑了磁性树脂珠粒浓度和结合能力。用于基于亲和力的流体纯化模块的平衡缓冲取决于感兴趣的生物制剂(例如单克隆

抗体)和待去除的小杂质。对缓冲的考虑包括pH、离子强度、表面活性剂的使用或有机和/或无机盐的使用。

[0793] 基于亲和力的流体纯化模块的交叉流通道尺寸取决于溶液粘度、磁性树脂珠粒浓度、输入流速和通量体积。压电或声学致动器考虑了物理位置和能量(例如频率)以实现期望磁性树脂珠粒偏转或磁性树脂珠粒流路的操纵,并且考虑了压电晶体类型。介电泳电极考虑了选择性类型和设计以实现期望的磁性树脂珠粒偏转、考虑了电极的数量和间距以实现期望的珠粒偏转、考虑了施加电压以实现期望的珠粒偏转,并且考虑了电极材料。

[0794] 磁场强度和场效应取决于流速和磁性树脂珠粒浓度、尺寸、饱和磁化强度和磁化率,和/或与交叉流通道的接近度。在一些实施例中,磁场强度在约0.01特斯拉至约1特斯拉(例如高达约1特斯拉)的范围内。磁性树脂珠粒浓度取决于期望的结合能力、期望的溶液粘度,并且磁性树脂珠粒尺寸取决于实现平衡和亲和(例如分别为溶液粘度依赖性和表面配体密度依赖性)相互作用的足够流体动力学的表面积与体积比。在一些实施例中,磁性树脂珠粒具有亚微米至微米级的直径。

[0795] 基于亲和力的流体纯化模块的材料选择对于可忽略的可浸出物和稳健的稳定性以实现基于亲和力的流体纯化模块的回收和再利用来说是重要的。磁性树脂珠粒可以是实心珠粒、多孔珠粒、纳米多孔珠粒、微孔珠粒或其任意组合。

[0796] 基于亲和力的流体纯化模块的至少一个低pH平衡器皿容积和搅拌能力考虑了输入流速和通量、平衡时间以实现去结合动力学、10X的低pH洗脱缓冲以实现平衡时间期间的稀释,从而达到1X最终缓冲盐浓度。低pH洗脱缓冲取决于感兴趣的生物制剂(例如单克隆抗体)对磁性树脂珠粒表面配体的结合亲和力,并且变化可包括pH、离子强度或有机和/或无机盐的使用。

[0797] 基于亲和力的流体纯化模块的通量可以通过串联或并联的多路复用多个流体装置或芯片来增加。此外,可能需要串联或并联的多个流体装置或芯片以实现完全纯化。另外,再生平衡器皿可能需要永磁磁场和废料管线,以维持磁性树脂珠粒的正确浓度并允许有效回收。病毒灭活和去除可以根据缓冲组成和pH、在低pH洗脱缓冲平衡和随后的流体处理步骤期间完成。

[0798] 基于亲和力的流体纯化模块可以包括以补料分批或灌注模式进行操作的至少一个切向流过滤系统,以浓缩和缓冲置换包含生物制剂的部分。

[0799] 基于亲和力的流体纯化模块可以包括用于过程中分析测试和/或管线内分析测量技术的管线内取样端口。此外,管线内分析测量技术(例如流传感器、压力传感器、光密度测量装置、UV检测器、RI检测器)可以用于实现工艺的反馈控制机构。

[0800] 与本领域中常用的传统填塞柱层析和柱切换层析方法不同,基于亲和力的流体纯化模块利用能够原位再生和回收的可移动亲和树脂,以能够更有效地利用树脂,并且能够在小占地面积中连续处理而无需考虑传统的柱容量限制。

[0801] 基于正电荷的流体纯化模块

[0802] 如本文所提供的,描述了一种基于正电荷的流体纯化模块,基于正电荷的流体纯化模块用于将混合物分离成两个或更多个部分,其中至少一个部分包含生物制剂。基于正电荷的流体纯化模块包括至少一个入口和至少一个出口,被配置为允许至少一个入口与至少一个出口之间的连续流体流,并且其中流速在稳态操作期间可以是例如一致且恒定的。

此外,基于正电荷的流体纯化模块包括阳离子磁性树脂珠粒的悬浮液,其中磁性树脂珠粒表面包含阳离子官能团,阳离子官能团被配置为基于电荷或静电相互作用以特定pH和离子强度与生物制剂选择性地缔合。

[0803] 基于正电荷的流体纯化模块包括至少一个缔合平衡器皿,以允许生物制剂与磁性树脂珠粒表面的电荷或静电缔合;至少一个解离平衡器皿,以允许生物制剂从磁性树脂珠粒表面解离;至少一个第一混合交叉流流体装置或芯片(例如微流体、中流体、毫流体、宏流体装置或芯片或其任意组合),第一混合交叉流流体装置或芯片包括至少一个磁场,以及压电部件或介电泳电极中的至少一个,压电部件或介电泳电极被配置为产生或引起单向力,以操纵非均相混合物中磁性树脂珠粒的流路,以及交叉流通道,以将结合至生物制剂的磁性树脂珠粒与非均相混合物中的小杂质分离(图28);至少一个第二混合交叉流流体装置或芯片(例如微流体、中流体、毫流体、宏流体装置或芯片或其任意组合),第二混合交叉流流体装置或芯片包括至少一个磁场,以及压电部件或介电泳电极中的至少一个,压电部件或介电泳电极被配置为产生或引起单向力,以操纵磁性树脂珠粒从生物制剂的流路,以及交叉流通道,以将磁性树脂珠粒与生物制剂分离(图28);至少两个缓冲系统;至少一个磁性树脂珠粒再生缓冲系统;至少一个再生平衡器皿,再生平衡器皿被配置为实现磁性树脂珠粒的回收再利用;至少一个收集器皿;至少一个传感器或检测器;以及至少一个流体处理泵。

[0804] 基于正电荷的流体纯化模块的设备设计(图30)实现了连续生物磁性纯化,并且提供了较小的占地面积。

[0805] 基于正电荷的流体纯化模块的至少一个缔合平衡器皿容积和搅拌能力考虑了输入流速和通量、平衡时间和搅拌速率以实现缔合动力学,并且考虑了磁性树脂珠粒浓度和电荷或静电缔合能力。用于基于正电荷的流体纯化模块的缔合缓冲取决于感兴趣的生物制剂(例如单克隆抗体)和待去除的小杂质。对缓冲的考虑包括pH、离子强度、表面活性剂的使用或有机和/或无机盐的使用,特别是为了维持目标单克隆抗体和带正电荷的珠粒表面之间有利的电荷或静电相互作用。

[0806] 基于正电荷的流体纯化模块的交叉流通道尺寸取决于溶液粘度和磁性树脂珠粒浓度,以及输入流速和通量体积。压电或声学致动器考虑了物理位置和能量(例如频率)以实现期望磁性树脂珠粒偏转或磁性树脂珠粒流路的操纵,并且考虑了压电晶体类型。介电泳电极考虑了以实现期望的磁性树脂珠粒偏转的选择性类型和设计、以实现期望的珠粒偏转的电极的数量和间距、以实现期望的珠粒偏转的施加电压,以及电极材料。

[0807] 磁场强度和场效应取决于流速和磁性树脂珠粒浓度、尺寸、饱和磁化强度和磁化率,和/或与交叉流通道的接近度。在一些实施例,磁场强度在约0.01特斯拉至约1特斯拉(例如高达约1特斯拉)的范围内。磁性树脂珠粒浓度取决于期望的电荷或静电缔合能力、期望的溶液粘度,并且磁性树脂珠粒尺寸取决于实现平衡和电荷或静电相互作用(例如分别为溶液粘度依赖性和表面电荷密度依赖性)的足够流体动力学所需的表面积与体积比。在一些实施例,磁性树脂珠粒具有亚微米至微米级的直径。

[0808] 基于正电荷的流体纯化模块的材料选择对于可忽略的可浸出物和稳健的稳定性以实现基于正电荷的流体纯化模块中的回收和再利用来说是重要的。

[0809] 基于正电荷的流体纯化模块的阳离子表面选择是重要的,并且可以包括阳离子聚合物、净正电荷的肽或蛋白质、胺官能团,并且选择是基于在限定的缓冲(pH和离子强度)内

实现适当的电荷或静电相互作用,以及带正电荷的珠粒表面与生物制剂之间的缔合稳定性。

[0810] 基于正电荷的流体纯化模块的至少一个解离平衡器皿容积和搅拌能力考虑了输入流速和通量、以实现解离动力学的平衡时间、以实现平衡时间期间的稀释的10X的解离缓冲,从而达到1X最终缓冲盐浓度。解离缓冲取决于感兴趣的生物制剂(例如单克隆抗体)与磁性树脂珠粒阳离子表面之间的电荷或静电相互作用的强度,并且变化可包括pH、离子强度、表面活性剂的使用或有机和/或无机盐的使用。在一些实施例中,顺序使用包括改变pH、离子强度或其任意组合的离散缓冲的多个解离平衡器皿,以形成梯度解离效果。

[0811] 基于正电荷的流体纯化模块的通量可以通过串联或并联的多路复用多个流体装置或芯片来增加。此外,可能需要串联或并联的多个流体装置或芯片以实现完全纯化。另外,再生平衡器皿可能需要永磁磁场和废料管线,以维持磁性树脂珠粒的正确浓度并允许有效回收。病毒灭活和去除可以根据缓冲组成和pH、在缔合或解离缓冲平衡和随后的流体处理步骤期间完成。

[0812] 基于正电荷的流体纯化模块可以包括以补料分批或灌注模式进行操作的至少一个切向过滤系统,以浓缩和缓冲置换包含生物制剂的部分。

[0813] 基于正电荷的流体纯化模块可以包括用于过程中分析测试和/或管线内分析测量技术的管线内取样端口。此外,管线内分析测量技术(例如流传感器、压力传感器、光密度测量装置、UV检测器、RI检测器)可以用于实现工艺的反馈控制机构。

[0814] 与本领域中常用的传统填塞柱层析和柱切换层析方法不同,基于正电荷的流体纯化模块利用能够原位再生和回收的可移动亲和树脂,以能够更有效地利用树脂,并且能够在小占地面积中连续处理而无需考虑传统的柱容量限制。

[0815] 基于负电荷的流体纯化模块

[0816] 如本文所提供的,描述了一种基于负电荷的流体纯化模块,基于负电荷的流体纯化模块用于将混合物分离成两个或更多个部分,其中至少一个部分包含生物制剂。基于负电荷的流体纯化模块包括至少一个入口和至少一个出口,被配置为允许至少一个入口与至少一个出口之间的连续流体流,并且其中流速在稳态操作期间可以是例如一致且恒定的。此外,基于负电荷的流体纯化模块包括阴离子磁性树脂珠粒的悬浮液,其中磁性树脂珠粒表面包含阴离子官能团,阳离子官能团被配置为基于电荷或静电相互作用以特定pH和离子强度与生物制剂选择性地缔合。

[0817] 基于负电荷的流体纯化模块包括至少一个缔合平衡器皿,以允许生物制剂与磁性树脂珠粒表面的电荷或静电缔合;至少一个解离平衡器皿,以允许生物制剂从磁性树脂珠粒表面解离;至少一个第一混合交叉流流体装置或芯片(例如微流体、中流体、毫流体、宏流体装置或芯片或其任意组合),第一混合交叉流流体装置或芯片包括至少一个磁场,以及压电部件或介电泳电极中的至少一个,压电部件或介电泳电极被配置为产生或引起单向力,以操纵非均相混合物中磁性树脂珠粒的流路,以及交叉流通道,以将结合至生物制剂的磁性树脂珠粒与非均相混合物中的小杂质分离(图28);至少一个第二混合交叉流流体装置或芯片(例如微流体、中流体、毫流体、宏流体装置或芯片或其任意组合),第二混合交叉流流体装置或芯片包括至少一个磁场,以及压电部件或介电泳电极中的至少一个,压电部件或介电泳电极被配置为产生或引起单向力,以操纵磁性树脂珠粒从生物制剂的流路,以及交

叉流通道,以将磁性树脂珠粒与生物制剂分离(图28);至少两个缓冲系统;至少一个磁性树脂珠粒再生缓冲系统;至少一个再生平衡器皿,再生平衡器皿被配置为实现磁性树脂珠粒的回收再利用;至少一个收集器皿;至少一个传感器或检测器;以及至少一个流体处理泵。

[0818] 基于负电荷的流体纯化模块的设备设计(图30)实现了连续生物磁性纯化,并且提供了较小的占地面积。

[0819] 基于负电荷的流体纯化模块的至少一个缔合平衡器皿容积和搅拌能力考虑了输入流速和通量、以实现缔合动力学的平衡时间和搅拌速率、以及磁性树脂珠粒浓度和电荷或静电缔合能力。用于基于负电荷的流体纯化模块的缓冲取决于感兴趣的生物制剂(例如单克隆抗体)和待去除的小杂质。对缓冲的考虑包括pH、离子强度、表面活性剂的使用或有机和/或无机盐的使用,特别是为了维持目标单克隆抗体和带负电荷的珠粒表面之间有利的电荷或静电相互作用。

[0820] 基于负电荷的流体纯化模块的交叉流通道尺寸取决于溶液粘度和磁性树脂珠粒浓度,以及输入流速和通量体积。压电或声学致动器考虑了以实现期望磁性树脂珠粒偏转或磁性树脂珠粒流路的操纵的物理位置和能量(例如频率),以及压电晶体类型。介电泳电极考虑了以实现期望的磁性树脂珠粒偏转的选择性类型和设计、以实现期望的珠粒偏转的电极的数量和间距、以实现期望的珠粒偏转的施加电压、以及电极材料。

[0821] 磁场强度和场效应取决于流速和磁性树脂珠粒浓度、尺寸、饱和磁化强度和磁化率、和/或与交叉流通道的接近度。在一些实施例中,磁场强度在约0.01特斯拉至约1特斯拉(例如高达约1特斯拉)的范围内。磁性树脂珠粒浓度取决于期望的电荷或静电缔合能力、期望的溶液粘度,并且磁性树脂珠粒尺寸取决于实现平衡和电荷或静电相互作用(例如分别为溶液粘度依赖性和表面电荷密度依赖性)的足够流体动力学所需的表面积与体积比。在一些实施例中,磁性树脂珠粒具有亚微米至微米级的直径。

[0822] 基于负电荷的流体纯化模块的材料选择对于可忽略的可浸出物和稳健的稳定性以实现基于负电荷的流体纯化模块中的回收和再利用来说是重要的。

[0823] 基于负电荷的流体纯化模块的阴离子表面选择是重要的,并且可以包括阴离子聚合物、净负电荷肽或蛋白质、羧基官能团,并且选择是基于在限定的缓冲(pH和离子强度)内实现适当的电荷或静电相互作用,以及带负电荷的珠粒表面与生物制剂之间的缔合稳定性。

[0824] 基于负电荷的流体纯化模块的至少一个解离平衡器皿容积和搅拌能力考虑了输入流速和通量、以实现解离动力学的平衡时间、以实现平衡时间期间的稀释的10X的解离缓冲,从而达到1X最终缓冲盐浓度。解离缓冲取决于感兴趣的生物制剂(例如单克隆抗体)与磁性树脂珠粒阴离子表面之间的电荷或静电相互作用的强度,并且变化可包括pH、离子强度、表面活性剂的使用或有机和/或无机盐的使用。在一些实施例中,顺序使用包括改变pH、离子强度或其任意组合的离散缓冲的多个解离平衡器皿,以形成梯度解离效果。

[0825] 基于负电荷的流体纯化模块的通量可以通过串联或并联的多路复用多个流体装置或芯片来增加。此外,可能需要串联或并联的多个流体装置或芯片以实现完全纯化。另外,再生平衡器皿可能需要永磁磁场和废料管线,以维持磁性树脂珠粒的正确浓度并允许有效回收。病毒灭活和去除可以根据缓冲组成和pH、在缔合或解离缓冲平衡和随后的流体处理步骤期间完成。

[0826] 基于负电荷的流体纯化模块可以包括以补料分批或灌注模式进行操作的至少一个切向流过滤系统,以浓缩和缓冲置换包含生物制剂的部分。

[0827] 基于负电荷的流体纯化模块可以包括用于过程中分析测试和/或管线内分析测量技术的管线内取样端口。此外,管线内分析测量技术(例如流传感器、压力传感器、光密度测量装置、UV检测器、RI检测器)可以用于实现工艺的反馈控制机构。

[0828] 与本领域中常用的传统填塞柱层析和柱切换层析方法不同,基于负电荷的磁性纯化模块利用能够原位再生和回收的可移动亲和树脂,以能够更有效地利用树脂,并且能够在小占地面积中连续处理而无需考虑传统的柱容量限制。

[0829] 基于亲和力的TFF纯化模块

[0830] 如本文所提供的,描述了一种基于亲和力的TFF纯化模块,基于亲和力的TFF纯化模块用于将混合物分离成两个或更多个部分,其中至少一个部分包含生物制剂。基于亲和力的TFF纯化模块包括至少一个入口和至少一个出口,被配置为允许至少一个入口与至少一个出口之间的连续流体流,并且其中流速稳态操作期间是一致且恒定的。此外,基于亲和力的TFF纯化模块包括亲和树脂珠粒的悬浮液,其中,树脂珠粒表面(非限制性地)与蛋白质A、蛋白质G、蛋白质L、抗原蛋白、蛋白质、受体、抗体或被配置为选择性地结合生物制剂的适体偶联。

[0831] 基于亲和力的TFF纯化模块包括至少一个平衡器皿,以允许生物制剂结合至树脂珠粒表面,以及包括中空纤维膜过滤器的至少一个第一切向流过滤系统,以将结合至生物制剂的树脂珠粒与非均相混合物中的小杂质分离;至少一个低pH平衡器皿,以允许生物制剂从树脂珠粒表面去结合,以及包括中空纤维膜过滤器的至少一个第二切向流过滤系统,以使树脂珠粒与未接合的生物制剂分离;至少一个再生平衡器皿和至少一个第三切向流过滤系统,包括中空纤维膜过滤器,用于浓缩和缓冲置换树脂珠粒,以实现树脂珠粒的回收和再利用;至少一个收集器皿和至少一个第四切向流过滤系统,以允许生物制剂的浓缩和缓冲置换;至少两个缓冲系统;至少一个树脂珠粒回收缓冲系统;至少一个传感器或检测器;以及至少一个流体处理泵。

[0832] 基于亲和力的TFF纯化模块的设备设计(图31)实现了连续生物纯化,并且提供了较小的占地面积。

[0833] 基于亲和力的TFF纯化模块的至少一个平衡器皿容积和搅拌能力考虑了输入流速和通量、以实现结合动力学的平衡时间和搅拌速率以及树脂珠粒浓度和结合能力。用于基于亲和力的TFF纯化模块的平衡缓冲取决于感兴趣的生物制剂(例如单克隆抗体)和待去除的小杂质。对缓冲的考虑包括pH、离子强度、表面活性剂的使用或有机和/或无机盐的使用。

[0834] 基于亲和力的TFF纯化模块的中空纤维膜过滤长度和表面积取决于溶液粘度、小杂质和树脂珠粒浓度,以及输入流速和通量体积。中空纤维膜材料选自低蛋白结合材料,包括但不限于PES、mPES或MCE。中空纤维膜的孔径选自约10kDa至约1 μ m的范围。中空纤维膜的内径选自约0.5mm至约5mm的范围。

[0835] 树脂珠粒浓度取决于期望的结合能力、期望的溶液粘度,并且树脂珠粒尺寸取决于实现平衡和亲和(例如分别为溶液粘度依赖性和表面配体密度依赖性)相互作用的足够流体动力学的表面积与体积比。在一些实施例中,树脂珠粒具有微米级直径。

[0836] 基于亲和力的TFF纯化模块的树脂珠粒选择对于可忽略的可浸出物和稳健的稳定

性以实现基于亲和力的纯化模块的回收和再利用来说是重要的。

[0837] 基于亲和力的TFF纯化模块的至少一个低pH平衡器皿容积和搅拌能力考虑了输入流速和通量、以实现去结合动力学的平衡时间,以及低pH洗脱缓冲,例如以实现平衡时间期间的稀释的10X的低pH洗脱缓冲,从而达到1X最终缓冲盐浓度。低pH洗脱缓冲取决于感兴趣的生物制剂(例如单克隆抗体)对树脂珠粒表面配体的结合亲和力,并且变化可包括pH、离子强度或有机和/或无机盐的使用。

[0838] 基于亲和力的TFF纯化模块的至少一个再生平衡器皿与至少一个第三切向过滤系统组合使用,以允许树脂珠粒的浓缩和缓冲置换,从而使树脂珠粒恢复其初始状态,进而实现树脂珠粒的回收和重复利用。

[0839] 基于亲和力的TFF纯化模块的至少一个收集器皿与至少一个第四切向过滤系统组合使用,以允许包含生物制剂的部分的浓缩和缓冲置换。

[0840] 在一些实施例中,基于亲和力的TFF纯化模块的至少一个平衡器皿、至少一个低pH平衡器皿和至少一个再生平衡器皿可以包括单个器皿,该器皿在相应的切向过滤系统之间转换,以使得能够用合适的缓冲来纯化和再生树脂珠粒,同时保持滤液经由平行流路上的至少一个另外的器皿的连续流动。

[0841] 在一些实施例中,树脂珠粒的再生可以利用基于亲和力的TFF纯化模块的至少一个低pH平衡器皿和至少一个第二切向过滤系统来实现,基于亲和力的TFF纯化模块被配置包括低pH洗脱缓冲和再生缓冲两者,以实现纯化、浓缩和缓冲置换,从而再生树脂珠粒而无需单独的再生平衡器皿和相应的切向过滤系统。

[0842] 病毒灭活和/或去除可以根据缓冲组成和pH、在低pH洗脱缓冲平衡和随后的流体处理步骤期间完成。

[0843] 基于亲和力的TFF纯化模块可以包括用于过程中分析测试和/或管线内分析测量技术的管线内取样端口。此外,管线内分析测量技术(例如流传感器、压力传感器、光密度测量装置、UV检测器、RI检测器)可以用于实现工艺的反馈控制机构。

[0844] 与本领域中常用的传统填塞柱层析和柱切换层析方法不同,基于亲和力的TFF纯化模块利用能够原位再生和回收的可移动亲和树脂,以能够更有效地利用树脂,并且能够在小占地面积中连续处理而无需考虑传统的柱容量限制。

[0845] 基于正电荷的TFF纯化模块

[0846] 如本文所提供的,描述了一种基于正电荷的TFF纯化模块,基于正电荷的TFF纯化模块用于将混合物分离成两个或更多个部分,其中至少一个部分包含生物制剂。基于正电荷的TFF纯化模块包括至少一个入口和至少一个出口,被配置为允许至少一个入口与至少一个出口之间的连续流体流,并且其中流速稳态操作期间是一致且恒定的。此外,基于正电荷的TFF纯化模块包括阳离子树脂珠粒的悬浮液,其中树脂珠粒表面包含阳离子官能团,阳离子官能团被配置为基于电荷或静电相互作用以特定pH和离子强度与生物制剂选择性地缔合。

[0847] 基于正电荷的TFF纯化模块包括至少一个缔合平衡器皿,以允许生物制剂与树脂珠粒表面的电荷或静电缔合,以及包括中空纤维膜过滤器的至少一个第一切向过滤系统,以将缔合至生物制剂的树脂珠粒与非均相混合物中的小杂质分离;至少一个解离平衡器皿,以允许生物制剂从树脂珠粒表面解离,以及包括中空纤维膜过滤器的至少一个第二

切向流过滤系统,以使树脂珠粒与缔合的生物制剂分离;至少一个再生平衡器皿和至少一个第三切向流过滤系统,包括中空纤维膜过滤器,用于浓缩和缓冲置换树脂珠粒,以实现树脂珠粒的回收和再利用;至少一个收集器皿和至少一个第四切向流过滤系统,以允许生物制剂的浓缩和缓冲置换;至少两个缓冲系统;至少一个树脂珠粒回收缓冲系统;至少一个传感器或检测器;以及至少一个流体处理泵。

[0848] 基于正电荷的TFF纯化模块的设备设计(图32)实现了连续生物纯化,并且提供了较小的占地面积。

[0849] 基于正电荷的TFF纯化模块的至少一个缔合平衡器皿容积和搅拌能力考虑了输入流速和通量、以实现缔合动力学的平衡时间和搅拌速率、以及树脂珠粒浓度和电荷或静电缔合能力。用于基于正电荷的TFF纯化模块的缔合缓冲取决于感兴趣的生物制剂(例如单克隆抗体)和待去除的小杂质。对缓冲的考虑包括pH、离子强度、表面活性剂的使用或有机和/或无机盐的使用,特别是为了维持目标单克隆抗体和带正电荷的珠粒表面之间有利的电荷或静电相互作用。

[0850] 基于正电荷的TFF纯化模块的中空纤维膜过滤长度和表面积取决于溶液粘度、小杂质和树脂珠粒浓度、以及输入流速和通量体积。中空纤维膜材料选自低蛋白结合材料,包括但不限于PES、mPES或MCE。中空纤维膜的孔径选自约10kDa至约1 μ m的范围。中空纤维膜的内径选自约0.5mm至约5mm的范围。

[0851] 基于正电荷的TFF纯化模块的树脂珠粒选择对于可忽略的可浸出物和稳健的稳定性以实现基于正电荷的TFF纯化模块中的回收和再利用来说是重要的。

[0852] 基于正电荷的TFF纯化模块的阳离子表面选择是重要的,并且可以包括阳离子聚合物、净正电荷的肽或蛋白质、胺官能团,并且选择是基于在限定的缓冲(pH和离子强度)内实现适当的电荷或静电相互作用,以及带正电荷的珠粒表面与生物制剂之间的缔合稳定性。

[0853] 基于正电荷的TFF纯化模块的至少一个解离平衡器皿容积和搅拌能力考虑了输入流速和通量、以实现去解离动力学的平衡时间、以及解离缓冲,例如以实现平衡时间期间的稀释的10X的解离缓冲,从而达到1X最终缓冲盐浓度。解离缓冲取决于感兴趣的生物制剂(例如单克隆抗体)与树脂珠粒阳离子表面之间的电荷或静电相互作用的强度,并且变化可包括pH、离子强度、表面活性剂的使用或有机和/或无机盐的使用。在一些方面,多个解离平衡器皿与多个切向流过滤系统一起使用,以实现梯度解离,例如pH梯度或离子强度梯度。

[0854] 基于正电荷的TFF纯化模块的至少一个再生平衡器皿与至少一个第三切向流过滤系统组合使用,以允许树脂珠粒的浓缩和缓冲置换,从而使树脂珠粒恢复其初始状态,进而实现树脂珠粒的回收和重复利用。

[0855] 基于正电荷的TFF纯化模块的至少一个收集器皿与至少一个第四切向流过滤系统组合使用,以允许包含生物制剂的部分的浓缩和缓冲置换。

[0856] 在一些实施例中,基于正电荷的TFF纯化模块的至少一个缔合平衡器皿、至少一个解离平衡器皿和至少一个再生平衡器皿可以包括单个器皿,该器皿在相应的切向流过滤系统之间转换,从而能够使用适当的缓冲来纯化和再生树脂珠粒,同时经由平行流路上的至少一个附加器皿维持滤液的连续流。

[0857] 在一些实施例中,树脂珠粒的再生可以仅利用基于正电荷的TFF纯化模块的至少

一个解离平衡器皿和至少一个第二切向流过滤系统实现,基于正电荷的TFF纯化模块被配置为包括低pH洗脱缓冲和再生缓冲两者,以实现纯化、浓缩和缓冲置换,从而再生树脂珠粒而无需单独的再生平衡器皿和相应的切向流过滤系统。

[0858] 病毒灭活和/或去除可以根据缓冲组成和pH、在缔合或解离缓冲平衡和随后的流体处理步骤期间完成。

[0859] 基于正电荷的TFF纯化模块可以包括用于过程中分析测试和/或管线内分析测量技术的管线内取样端口。此外,管线内分析测量技术(例如流传感器、压力传感器、光密度测量装置、UV检测器、RI检测器)可以用于实现工艺的反馈控制机构。

[0860] 与本领域中常用的传统填充柱层析和柱切换层析方法不同,基于正电荷的TFF纯化模块利用能够原位再生和回收的可移动亲和树脂,以能够更有效地利用树脂,并且能够在小占地面积中连续处理而无需考虑传统的柱容量限制。

[0861] 基于负电荷的TFF纯化模块

[0862] 如本文所提供的,描述了一种基于负电荷的TFF纯化模块,基于负电荷的TFF纯化模块用于将混合物分离成两个或更多个部分,其中至少一个部分包含生物制剂。基于负电荷的TFF纯化模块包括至少一个入口和至少一个出口,被配置为允许至少一个入口与至少一个出口之间的连续流体流,并且其中流速稳态操作期间是一致且恒定的。此外,基于负电荷的TFF纯化模块包括阴离子树脂珠粒的悬浮液,其中树脂珠粒表面包括阴离子官能团,阴离子官能团被配置为基于电荷或静电相互作用以特定pH和离子强度与生物制剂选择性地缔合。

[0863] 基于负电荷的TFF纯化模块包括至少一个缔合平衡器皿,以允许生物制剂与树脂珠粒表面的电荷或静电缔合,以及中空纤维膜过滤器的至少一个第一切向流过滤系统,以将缔合至生物制剂的树脂珠粒与非均相混合物中的小杂质分离;至少一个解离平衡器皿,以允许生物制剂从树脂珠粒表面解离,以及包括中空纤维膜过滤器的至少一个第二切向流过滤系统,以使树脂珠粒与未接合的生物制剂解离;至少一个再生平衡器皿和包括中空纤维膜过滤器的至少一个第三切向流过滤系统,用于浓缩和缓冲置换树脂珠粒,以实现树脂珠粒的回收和再利用;至少一个收集器皿和至少一个第四切向流过滤系统,以允许生物制剂的浓缩和缓冲置换;至少两个缓冲系统;至少一个树脂珠粒回收缓冲系统;至少一个传感器或检测器;以及至少一个流体处理泵。

[0864] 基于负电荷的TFF纯化模块的设备设计(图32)实现了连续生物纯化,并且提供了较小的占地面积。

[0865] 基于负电荷的TFF纯化模块的至少一个缔合平衡器皿容积和搅拌能力考虑了输入流速和通量、以实现缔合动力学的平衡时间和搅拌速率、以及树脂珠粒浓度和电荷或静电缔合能力。用于基于负电荷的TFF纯化模块的缔合缓冲取决于感兴趣的生物制剂(例如单克隆抗体)和待去除的小杂质。对缓冲的考虑包括pH、离子强度、表面活性剂的使用或有机和/或无机盐的使用,特别是为了维持目标单克隆抗体和带负电荷的珠粒表面之间有利的电荷或静电相互作用。

[0866] 基于负电荷的TFF纯化模块的中空纤维膜过滤长度和表面积取决于溶液粘度、小杂质和树脂珠粒浓度,以及输入流速和通量体积。中空纤维膜材料选自低蛋白结合材料,包括但不限于PES、mPES或MCE。中空纤维膜的孔径选自约10kDa至约1 μ m的范围。中空纤维膜的

内径选自约0.5mm至约5mm的范围。

[0867] 基于负电荷的TFF纯化模块的树脂珠粒选择对于可忽略的可浸出物和稳健的稳定性以实现基于负电荷的纯化模块中的回收和再利用来说是重要的。

[0868] 基于负电荷的TFF纯化模块的阴离子表面选择是重要的,并且可以包括阴离子聚合物、净负电荷肽或蛋白质、羧基官能团,并且选择是基于在限定的缓冲(pH和离子强度)内实现适当的电荷或静电相互作用,以及带负电荷的珠粒表面与生物制剂之间的缔合稳定性。

[0869] 基于负电荷的TFF纯化模块的至少一个解离平衡器皿容积和搅拌能力考虑了输入流速和通量、以实现解离动力学的平衡时间、以及解离缓冲,例如以实现平衡时间期间的稀释的10X的解离缓冲,从而达到1X最终缓冲盐浓度。解离缓冲取决于感兴趣的生物制剂(例如单克隆抗体)与树脂珠粒阴离子表面之间的电荷或静电相互作用的强度,并且变化可包括pH、离子强度、表面活性剂的使用或有机和/或无机盐的使用。在一些方面,多个解离平衡器皿与多个切向流过滤系统一起使用,以实现梯度解离,例如pH梯度或离子强度梯度。

[0870] 基于负电荷的TFF纯化模块的至少一个再生平衡器皿与至少一个第三切向流过滤系统组合使用,以允许树脂珠粒的浓缩和缓冲置换,从而使树脂珠粒恢复其初始状态,进而实现树脂珠粒的回收和重复利用。

[0871] 基于负电荷的TFF纯化模块的至少一个收集器皿与至少一个第四切向流过滤系统组合使用,以允许包含生物制剂的部分的浓缩和缓冲置换。

[0872] 在一些实施例中,基于负电荷的TFF纯化模块的至少一个缔合平衡器皿、至少一个解离平衡器皿和至少一个再生平衡器皿可以包括单个器皿,该器皿在相应的切向流过滤系统之间转换,从而能够使用适当的缓冲纯化和再生树脂珠粒,同时经由平行流路上的至少一个附加器皿维持滤液的连续流。

[0873] 在一些实施例中,树脂珠粒的再生可以仅利用基于负电荷的TFF纯化模块的至少一个解离平衡器皿和至少一个第二切向流过滤系统实现,基于基于负电荷的TFF纯化模块被配置为包括低pH洗脱缓冲和再生缓冲两者,以实现纯化、浓缩和缓冲置换,从而再生树脂珠粒而无需单独的再生平衡器皿和相应的切向流过滤系统。

[0874] 病毒灭活和/或去除可以根据缓冲组成和pH、在缔合或解离缓冲平衡和随后的流体处理步骤期间完成。

[0875] 基于负电荷的TFF纯化模块可以包括用于过程中分析测试和/或管线内分析测量技术的管线内取样端口。此外,管线内分析测量技术(例如流传感器、压力传感器、光密度测量装置、UV检测器、RI检测器)可以用于实现工艺的反馈控制机构。

[0876] 与本领域中常用的传统填塞柱层析和柱切换层析方法不同,基于负电荷的TFF纯化模块利用能够原位再生和回收的可移动亲和树脂,以能够更有效地利用树脂,并且能够在小占地面积中连续处理而无需考虑传统的柱容量限制。

[0877] 基于等电点的流体纯化模块

[0878] 如本文所提供的,描述了一种基于等电点的流体纯化模块,基于等电点的流体纯化模块用于将混合物分离成两个或更多个部分,其中至少一个部分包含生物制剂。基于等电点的流体纯化模块包括至少一个入口和至少一个出口,被配置为允许至少一个入口与至少一个出口之间的连续流体流,并且其中流速在稳态操作期间可以是例如一致且恒定的。

[0879] 在一些实施例中,基于等电点的流体纯化模块包括至少一个自由流电泳设备,自由流电泳设备包括流体装置(例如中流体、毫流体、宏流体装置或其任意组合),流体装置具有形成在两个平行板之间的流体通道;与流体流方向正交的电场或电场梯度;水性离子溶液(图33);至少一个去泡或脱气系统,以通过真空系统在生成点附近去除电解气泡,从而形成无气泡的主分离通道,并实现连续长期操作;至少一个液体断路器;至少一个缓冲或两性电解质系统;至少一种电极溶液;至少一个传感器或检测器;至少一个流体处理泵;以及至少一个收集器皿。

[0880] 在其它实施例中,基于等电点的流体纯化模块包括至少一个第一自由流电泳设备,第一自由流电泳设备包括流体装置(例如中流体、毫流体、宏流体装置或其任意组合),流体装置具有形成在两个平行板之间的流体通道、与流体流方向正交的电场或电场梯度、水性离子溶液;以及至少一个第二自由流电泳设备,第二自由流电泳设备包括流体装置(例如中流体、毫流体、宏流体装置或其任意组合),流体装置具有形成在两个平行板之间的流体通道、与流体流方向正交的电场或电场梯度、以及水性离子溶液;其中每个自由流电泳设备串联连接,并且能够以独立的操作模式操作以实现纯化(图34至36)。例如但并非旨在限制地,至少一个第一自由流电泳设备可以在等电聚焦模式下进行操作,并且至少一个第二自由流电泳设备可以在等速电泳模式下操作,以提高分离分辨率。

[0881] 在一些实施例中,基于等电点的流体纯化模块包括至少一个第一自由流电泳设备,包括流体装置(例如中流体、毫流体、宏流体装置或其任意组合),流体装置具有形成在两个平行板之间的流体通道、与流体流方向正交的电场或电场梯度、以及跨主分离通道的粗pH梯度(例如约2至约10的pH范围);以及至少一个第二自由流电泳设备,第二自由流电泳设备包括流体装置(例如中流体、毫流体、宏流体装置或其任意组合),流体装置具有形成在两个平行板之间的流体通道、与流体流方向正交的电场或电场梯度、以及跨主分离通道的细pH梯度(例如约5至约8的pH范围);至少一个去泡或脱气系统;至少一个液体断路器;至少一个缓冲或两性电解质系统;至少一种电极溶液;至少一个收集器皿;至少一个传感器或检测器;以及至少一个流体处理泵(图34)。在一些示例中,至少一个第一自由流电泳设备和至少一个第二自由流电泳设备串联连接,并且在等电聚焦模式下进行操作。

[0882] 在一些实施例中,基于等电点的流体纯化模块包括至少一个第一自由流电泳设备,第一自由流电泳设备包括流体装置(例如中流体、毫流体、宏流体装置或其任意组合),流体装置具有形成在两个平行板之间的流体通道、与流体流方向正交的电场或电场梯度、以及跨主分离通道的恒定碱性pH,而没有pH梯度(例如大于7的pH);以及至少一个第二自由流电泳设备,第二自由流电泳设备包括流体装置(例如中流体、毫流体、宏流体装置或其任意组合),流体装置具有形成在两个平行板之间的流体通道、与流体流方向正交的电场或电场梯度、以及跨主分离通道的恒定酸性pH,而没有pH梯度(例如小于7的pH);至少一个去泡或脱气系统;至少一个液体断路器;至少一个缓冲或两性电解质系统;至少一种电极溶液;至少一个收集器皿;至少一个传感器或检测器;以及至少一个流体处理泵(图35)。在一些示例中,至少一个第一自由流电泳设备和至少一个第二自由流电泳设备串联连接,并且在区带电泳模式下进行操作。

[0883] 在一些实施例中,基于等电点的流体纯化模块包括至少一个第一自由流电泳设备,第一自由流电泳设备包括流体装置(例如中流体、毫流体、宏流体装置或其任意组合),

流体装置具有形成在两个平行板之间的流体通道,与流体流方向正交的电场或电场梯度,以及跨主分离通道的pH梯度(例如约4至约9的pH范围);以及至少一个第二自由流电泳设备,第二自由流电泳设备包括流体装置(例如中流体、毫流体、宏流体装置或其任意组合),流体装置包括形成在两个平行板之间的流体通道、与流体流方向正交的电场或电场梯度、以及由间隔溶液(例如NaCl溶液)分开的酸性pH梯度和碱性pH梯度两者;至少一个去泡或脱气系统;至少一个液体断路器;至少一个缓冲或两性电解质系统;至少一种电极溶液;至少一个收集器皿;至少一个传感器或检测器;以及至少一个流体处理泵(图36)。在一些示例中,至少一个第一自由流电泳设备和至少一个第二自由流电泳设备串联连接,并且分别在等电聚焦模式和等速电泳模式下进行操作。

[0884] 替代地,基于等电点的流体纯化模块包括至少一个第一流体装置(例如中流体、毫流体、宏流体装置或其任意组合),第一流体装置包括流体通道,流体通道具有能够引起限定单向力的至少一个介电泳电极;至少一个第二流体装置,第二流体装置包括自由流电泳设备,该设备具有形成在两个平行板之间的流体通道、与流体流方向正交的电场或电场梯度,以及跨主分离通道的pH梯度(例如约4至约9的pH范围);以及至少一个第三流体装置,第三流体装置包括自由流电泳设备,该设备具有形成在两个平行板之间的流体通道、与流体流方向正交的电场或电场梯度、以及由间隔溶液(例如NaCl溶液)分开的酸性pH梯度和碱性pH梯度两者;至少一个去泡或脱气系统;至少一个液体断路器;至少一个缓冲或两性电解质系统;至少一种电极溶液;至少一个收集器皿;至少一个传感器或检测器;以及至少一个流体处理泵(图37)。在一些示例中,具有至少一个选择性介电泳电极的至少一个第一流体装置、包括自由流电泳设备的至少一个第二流体装置、以及包括自由流电泳设备的至少一个第三流体装置串联连接,并且分别以在经由第二流体装置或芯片和第三流体装置或芯片的等电聚焦模式和等速电泳模式进行纯化之前,预筛选包含生物制剂的混合物的方式来操作。

[0885] 在一些实施例中,也可以使用包括流体装置(例如中流体、毫流体、宏流体装置或其任意组合)的附加后续自由流电泳装置,以实现增强的分离分辨率,流体装置具有形成在两个平行板之间的流体通道、与流体流方向正交的电场或电场梯度、以及水性离子溶液。例如但并非旨在限制地,可以使用附加自由流电泳设备,该设备具有能够生成跨主分离通道的精细pH梯度的两性电解质溶液(例如约7.1至约7.6的pH范围),以提高单克隆抗体的分离分辨率。

[0886] 基于等电点的流体纯化模块的设备设计(图33至37)实现了连续生物纯化,并且提供了较小的占地面积。

[0887] 在一些实施例中,基于等电点的流体纯化设备还包括用作阳极或阴极的至少两个电极(例如铂丝电极)。

[0888] 在一些实施例中,基于等电点的流体纯化设备包括至少一种电极溶液。在一些实施例中,至少一种电极溶液包括电解质溶液,电解质溶液被配置为接触阳极或阴极(例如分别为硫酸和氢氧化钠)并实现其适当功能。在其它实施例中,至少一种电极溶液包括与存在于主分离通道中的两性电解质组分相同的两性电解质组分,被配置为实现阳极或阴极的适当功能,例如流经主分离通道、阳极通道和阴极通道的Tris缓冲盐水。

[0889] 在一些实施例中,基于等电点的流体纯化设备还包括至少一个去泡系统,以经由

真空系统连续去除施加电压下的电极通道中放出的 O_2 和 H_2 气泡(图38)。在一些实施例中,去除电解气泡对于实现相当长时间段的连续操作来说是必要的。从电极通道中直接去除电解气泡形成了无气泡的主分离通道。在一些示例中,去泡系统利用疏水性PTFE膜在电极通道顶部形成防水密封,从而允许通过暴露于真空系统而在生成点连续去除电解气泡。在一些示例中,真空表压的范围是约-0.05巴至约-0.4巴。

[0890] 生成正交电场或电场梯度从而能够实现以高流速(例如大于1mL/min)的蛋白质分离的流体通道尺寸和跨通道的施加电压可能需要实施稳健的主动冷却系统或散热器,以耗散焦耳热并维持期望的操作温度,例如在约4°C至约50°C之间,优选4°C至约37°C,以确保生物制剂(例如单克隆抗体)的热稳定性。例如,主动冷却系统可以包括包含冷循环水/丙二醇夹套的铝制热卡盘,夹套具有反馈控制回路,以维持约10°C至约25°C范围内的恒定温度。此外,通道的尺寸是能够实现充分蛋白质分离的关键参数,并且取决于待分离的蛋白质数量及其各自的等电点范围。

[0891] 基于等电点的流体纯化设备内的背压取决于通道几何形状和尺寸、入口和出口的开口和/或管道直径、以及输入流速。在一些示例中,背压在约0.5psi至约10psi的范围内。在一些示例中,背压由(例如但不限于)针阀控制。

[0892] 为了例如利用流传感器、温度传感器、电导率传感器、pH传感器、折射率检测器、UV检测器、背压传感器或其任意组合来执行管线内感测和检测,溶液必须是无电压的。在一些实施例中,基于等电点的流体纯化模块包括至少一个液体断路器或断接器,液体断路器或断接器位于流体装置的下流且位于至少一个管线内传感器或检测器的上游,以确保在无电压溶液中进行感测或检测的能力(图39)。

[0893] 基于等电点的流体纯化模块的通量可以通过串联或并联的多路复用多个自由流电泳设备来增加。此外,可能需要串联或并联的多个流体装置或芯片以实现充分纯化。病毒灭活和去除可以在基于等电点的流体处理步骤期间完成。

[0894] 本文设想了基于等电点的流体纯化模块可以包括用于过程中分析测试和/或管线内分析测量技术的管线内取样端口。此外,管线内分析测量技术(例如流传感器、温度传感器、pH传感器、电导传感器、压力传感器、光密度测量装置、UV检测器、RI检测器)可以用于实现工艺的反馈控制机构。

[0895] 连续动态过滤法

[0896] 卷式滤膜跨膜支撑结构的输送速度可以是恒定的,或者可以响应于反馈机构(例如旋转编码器、牵引编码器轮)而改变,该反馈机构考虑因操作期间滤膜的厚度或直径变化而引起的馈送卷筒和收集卷筒直径之间的差异。替代地,卷式滤膜跨膜支撑结构的输送可以是步进式的,其中在步进期间移除真空,然后在步进之后重新施加真空。在这种操作模式下,至少一个输出头可以具有xy光栅扫描或r θ 光栅扫描能力、沿z轴的运动,和/或并行操作的至少一个附加动态过滤设备可以用于保持连续操作。此外,步进现象还可以通过使拾取和放置机器人系统将单独的膜(例如圆形膜件)放置到膜支撑结构上来实现,其中在拾取和放置机械操作期间移除真空,然后在放置之后重新施加真空。在这种操作模式下,至少一个输出头可以具有xy光栅扫描或r θ 光栅扫描能力、沿z轴的运动,和/或并行操作的至少一个附加动态过滤设备可以用于保持连续操作。此外,本文还设想了通过利用正压驱动非均相混合物跨滤膜而生成滤液的操作模式。例如但并非旨在限制地,当动态过滤设备包括用于

放置单独的膜的拾取和放置机器人系统时,沿z轴运动的xy光栅扫描输出头可以用于接触膜表面,以迫使非均相混合物跨膜。本文还设想了预润湿滤膜以改善跨膜输送的方法。至少一个真空收集器皿可以一直使用,直到填满并随后平衡至大气压,或者可以在操作期间在真空下连续排空。另外,本文还设想了使用并行操作的至少一个附加动态过滤设备以实现连续处理。类似地,动态过滤设备可以包括不同类型的滤膜(例如不同材料和/或孔径)的多个馈送卷筒,滤膜能够分层并以相同的速度输送穿过活性目标区域,以提供增强的过滤。

[0897] 连续回路传送设备法

[0898] 执行基于亲和力的磁性纯化和/或基于电荷的磁性纯化步骤的连续连续回路传送设备中的至少一个磁场可以由电磁体或永磁体(例如钕磁体)生成。磁场可以作为开/关触发器或永开磁场(图14、15、16、17)施加。当磁场由电磁体生成时,开/关切换可以通过接通或断开电磁体实现。当磁场由永磁体生成时,开/关切换可以通过从远到近(例如在运输器皿壁表面5mm的范围内)机械地改变磁体的放置来实现。替代地,当磁场由永磁体生成时,开/关切换可以通过将器皿运送至磁体附近(例如5mm内)和从磁体附近运出来实现。此外,回路传送设备可以包括多个离散的磁场位置,其中设备内的离散磁场位置可能还需要屏蔽防护。另外,磁性树脂珠粒的混合可以通过将至少一个运输器皿放置在两个独立且相对的磁场之间来实现,磁场在开启状态与关闭状态之间切换。另外,本文还设想了使用并联的至少一个附加的基于亲和力的磁性纯化设备或基于电荷的磁性纯化设备,以实现连续处理。

[0899] 连续拾取和放置机器人设备法

[0900] 执行基于亲和力的磁性纯化和/或基于电荷的磁性纯化步骤的连续拾取和放置机器人设备中的至少一个磁场可以由电磁体或永磁体(例如钕磁体)生成。磁场可以作为开/关触发器或作为永开磁场(图18和19)施加。当磁场由电磁体生成时,开/关切换可以通过接通或断开电磁体实现。当磁场由永磁体生成时,开/关切换可以通过从远到近(例如在运输器皿壁表面5mm的范围内)机械地改变磁体的放置来实现。替代地,当磁场由永磁体生成时,开/关切换可以通过将器皿运送至磁体附近(例如5mm内)和从磁体附近运出来实现。此外,回路传送设备可以包括多个离散的磁场位置,其中设备内的离散磁场位置可能还需要屏蔽防护。另外,磁性树脂珠粒的混合可以通过将至少一个运输器皿放置在两个独立且相对的磁场之间来实现,磁场在开启状态与关闭状态之间切换。另外,本文还设想了使用并联的至少一个附加的基于亲和力的磁性纯化设备或基于电荷的磁性纯化设备,以实现连续处理。

[0901] 连续机械旋转系统设备法

[0902] 至少一个垫圈盖和执行基于亲和力的纯化和/或基于电荷的纯化步骤的系统的连续机械旋转设备的器皿组件之间的密封可以通过被设计为压缩垫圈并确保盖固定在密封的3维几何形状内的机构来形成(图21至23)。在一些实施例中,用于形成密封的机构是夹持系统或互锁系统。在一些实施例中,用于形成密封的机构是螺帽系统。在其它实施例中,密封通过用机动化系统将盖从顶部向下均匀地机械按压到器皿上来形成。在一些方面,可以使用机械系统或机器人系统来确保密封在多个循环中以可逆且重复的方式可再生产地形成和破坏,以实现连续操作。例如,加压之后的泄漏测试可以用于分析密封的完整性。此外,至少一个盖的缓冲入口可以被定位为形成圆形或涡旋状的混合流模式。另外,本文还设想了使用并联的至少一个附加的基于亲和力的纯化设备或基于电荷的纯化设备,以实现连续处理。

[0903] 连续分级线性系统设备法

[0904] 分级线性系统中的器皿被配置为接纳连续输入流。结合、洗涤、洗脱和再生(对于基于亲和力的纯化),以及缔合、洗涤、解离和再生(对于基于电荷的纯化)的工艺步骤通过将每个器皿连接至能够进行自动液体处理的歧管来完成(图24至25)。在一些实施例中,分级线性系统中的每个器皿可以被配置为同时执行不同的工艺步骤,以实现连续操作。例如但并非旨在限制地,一个器皿可以执行结合过程步骤,同时另一个器皿执行洗脱过程步骤。

[0905] 连续混合流体装置法

[0906] 执行基于亲和力的流体纯化和/或基于电荷的流体纯化步骤的连续混合流体装置(图28)中的至少一个磁场可以由电磁体、永磁体(例如钕磁体)或图案化磁体生成。独立的永磁体可能需要局部屏蔽防护。此外,为了实现高流速,磁性部件和压电部件的组合,或磁性部件和介电泳部件的组合,可能需要精确放置。还设想了其它交叉流通道设计。替代地,还设想了T形交叉通道设计。此外,还设想了基于等电点选择感兴趣的生物制剂(例如单克隆抗体)的粗/细筛方法。此外,考虑了多次洗脱或解离。平衡器皿可以是具有适当停留时间的分批、补料分批、连续馈送和渗流器皿或插塞流反应器。另外,通过多路复用串联或并联的多个流体装置或芯片来增加基于亲和力的流体纯化或基于电荷的流体纯化模块的通量。此外,本文还设想了使用并联的至少一个附加的基于亲和力的流体纯化设备或基于电荷的流体纯化设备,以实现连续处理。

[0907] 连续切向流过滤法

[0908] 基于亲和力的TFF纯化模块和基于电荷的TFF纯化模块(图31至32)中的平衡器皿可以是具有适当停留时间的分批、补料分批、连续馈送和渗流器皿或插塞流反应器。本文还设想了使用附加的切向流过滤系统,以实现连续操作、缓冲置换、渗滤、超滤/渗滤、微滤/渗滤和/或浓缩。

[0909] 连续自由流电泳法

[0910] 与流体流方向正交的电场可以用于在水性离子溶液和/或pH梯度中纯化生物制剂(例如单克隆抗体),例如在自由流电泳设备中,该设备包括形成在两个平行板之间的流体通道、与流体流方向正交的电场或电场梯度,以及水性离子溶液和/或pH梯度,如本文中所描述的(图33-37)。流体通道尺寸取决于流速、通量体积、实现分离的时间、扩散带加宽、电场大小,并且还取决于冷却系统耗散焦耳热的能力。此外,通道设计可以具有多个入口,以通过递送一种或多种缓冲或两性电解质系统来生成pH梯度。施加电压可以取决于流速、pH梯度、生物制剂电荷和/或等电点(例如单克隆抗体等电点),或冷却系统耗散焦耳热的能力。各种缓冲和/或两性电解质系统取决于感兴趣的生物制剂(例如感兴趣的单克隆抗体)及其独特的等电点(pI),并且因此被选择用于调节生物制剂的电荷。设想了控制pH和离子强度并使用缓冲和/或两性电解质系统中的有机盐、无机盐、酸、碱、两性离子和/或两性电解质,以建立跨通道的连续pH梯度效应。替代地,pH梯度可以通过递送离散缓冲和/或两性电解质系统的多个入口分层,以获得期望梯度,例如但不限于连续梯度或阶梯式梯度。此外,粗pH梯度和细pH梯度的组合可能是单独纯化生物制剂(例如单克隆抗体)所必需的。还设想了关于实现充分热传递的稳健冷却机构(例如Peltier装置、具有循环水/丙二醇夹套的热卡盘)的考虑。自由流电泳设备的多路复用可以适应更高的输入流速,并进而适应更高的通量。而且,设想了在基于等电点的流体纯化步骤期间进一步去除残留的灭活病毒的可

能性。

[0911] 标准半连续工业下游工艺的引入

[0912] 为了实现关键的端对端的过程(例如从基于生物反应器的单克隆抗体生产到获得最终形式的生物制剂的全过程),可以在本文所描述的工艺中增加标准半连续工业下游工艺设备(和步骤),以进一步纯化、缓冲置换和浓缩纯化的生物制剂(例如单克隆抗体)(图48和49)。

[0913] 如果病毒灭活和去除通过模块充分完成(例如其中对于MVM和MuLV病毒, $LRV > 4$),则指定的病毒灭活和过滤步骤可以是必需的,也可以不是必需的。也就是说,本文设想了增加指定的病毒灭活和过滤步骤。

[0914] 根据本文所描述的连续处理模块所实现的生物制剂的纯度(例如单克隆抗体纯度),可以使用以补料分批或灌注模式运行的现有切向流过滤(TFF)、超滤/渗滤(UF/DF)或高性能切向流过滤(HP-TFF)技术,以在填充精加工操作之前进一步纯化、缓冲置换或浓缩最终的生物制剂,其包括小瓶填充、冻干、过滤灭菌、最终灭菌或其组合。此外,设想了用于过程中分析测试和/或管线内分析测量技术的管线内取样端口。

[0915] 方法

[0916] 本文提供了从非均相混合物中连续纯化生物制剂的方法,非均相混合物来源于在稳态下生成生物制剂的生物反应器,该方法包括使用本文所描述的工艺步骤。如本文所用,术语“稳态”或“动态平衡”是指在存在或不存在扰动的情況下随时间保持稳定的系统或过程。例如,在稳态下生成生物制剂的生物反应器使得表达宿主细胞,例如哺乳动物细胞(例如CHO细胞)或细菌细胞(例如大肠杆菌)能够在恒定的环境条件下以生理稳态的方式生长。在这种稳态下,生长以恒定的比细胞培养生长速率发生,并且所有培养参数保持恒定(培养体积、溶解氧浓度、营养物和产物浓度、pH、细胞密度等)。此外,环境条件可以通过生物反应器(例如补料分批、灌注或恒化器生物反应器)固有的反馈机制(例如馈送/渗出系统)来控制,以便随着时间维持生物制剂的稳态生产。例如,细胞密度随着时间保持恒定。在其它示例中,蛋白质浓度随着时间保持恒定。

[0917] 公开了一种从非均相混合物中连续纯化生物制剂的方法,非均相混合物来源于在稳态下生成生物制剂的生物反应器,该方法包括使用本文所描述的至少一个模块(例如动态过滤模块、基于亲和力的磁性纯化模块、基于正电荷的磁性纯化模块、基于负电荷的磁性纯化模块、基于亲和力的纯化模块、基于正电荷的纯化模块、基于负电荷的纯化模块、基于亲和力的流体纯化模块、基于正电荷的流体纯化模块、基于负电荷的流体纯化模块、基于亲和力的TFF纯化模块、基于正电荷的TFF纯化模块、基于负电荷的TFF纯化模块和/或基于等电点的流体纯化模块)。

[0918] 此外,还公开了一种从非均相混合物中纯化生物制剂的方法,非均相混合物来源于生成生物制剂的生物反应器,该方法包括使用本文所描述的至少一个模块(例如动态过滤模块、基于亲和力的磁性纯化模块、基于正电荷的磁性纯化模块、基于负电荷的磁性纯化模块、基于亲和力的纯化模块、基于正电荷的纯化模块、基于负电荷的纯化模块、基于亲和力的流体纯化模块、基于正电荷的流体纯化模块、基于负电荷的流体纯化模块、基于亲和力的TFF纯化模块、基于正电荷的TFF纯化模块、基于负电荷的TFF纯化模块和/或基于等电点的流体纯化模块)。例如,本文所描述的至少一个模块(例如动态过滤模块、基于亲和力的磁

性纯化模块、基于正电荷的磁性纯化模块、基于负电荷的磁性纯化模块、基于亲和力的纯化模块、基于正电荷的纯化模块、基于负电荷的纯化模块、基于亲和力的流体纯化模块、基于正电荷的流体纯化模块、基于负电荷的流体纯化模块、基于亲和力的TFF纯化模块、基于正电荷的TFF纯化模块、基于负电荷的TFF纯化模块和/或基于等电点的流体纯化模块)可以代替本领域已知的目前的分批、单次使用或半连续工艺中所使用的传统纯化技术,或与传统纯化技术一起使用。

[0919] 替代地,还公开了一种从混合物中纯化生物制剂的方法,混合物不是来源于生成生物制剂的生物反应器,该方法包括使用本文所描述的至少一个模块(例如动态过滤模块、基于亲和力的磁性纯化模块、基于正电荷的磁性纯化模块、基于负电荷的磁性纯化模块、基于亲和力的纯化模块、基于正电荷的纯化模块、基于负电荷的纯化模块、基于亲和力的流体纯化模块、基于正电荷的流体纯化模块、基于负电荷的流体纯化模块、基于亲和力的TFF纯化模块、基于正电荷的TFF纯化模块、基于负电荷的TFF纯化模块和/或基于等电点的流体纯化模块)。例如,本文所描述的至少一个模块(例如动态过滤模块、基于亲和力的磁性纯化模块、基于正电荷的磁性纯化模块、基于负电荷的磁性纯化模块、基于亲和力的纯化模块、基于正电荷的纯化模块、基于负电荷的纯化模块、基于亲和力的流体纯化模块、基于正电荷的流体纯化模块、基于负电荷的流体纯化模块、基于亲和力的TFF纯化模块、基于正电荷的TFF纯化模块、基于负电荷的TFF纯化模块和/或基于等电点的流体纯化模块)可以代替本领域已知的目前的分批、单次使用或半连续工艺中所使用的传统纯化技术,或与传统纯化技术一起使用。

[0920] 如本文所描述,术语“模块”或“模块化”可以指可以单独或以任意组合使用的分开的不同部分(例如动态过滤模块、基于亲和力的磁性纯化模块、基于正电荷的磁性纯化模块、基于负电荷的磁性纯化模块、基于亲和力的流体纯化模块、基于正电荷的流体纯化模块、基于负电荷的流体纯化模块和/或基于等电点的流体纯化模块)此外,本工艺可以包括一个或多个任意上述模块。术语“模块化”可以指代并且表示由多个模块化单元构造并且可以以各种结构形式构造的结构。例如,模块化单元可以以运输系统或连续流体处理系统的形式连接在一起。此外,在每个模块中都设想了用于过程中分析测试和/或管线内分析测量技术的管线内取样端口。

[0921] 一般定义

[0922] 为了理解本发明主题和构建所附权利要求,包含了以下定义。本文所用的缩写具有其在化学和生物学领域中的常规含义。

[0923] 虽然本文示出并描述了本发明的各种实施例和方面,但对于本领域技术人员来说显而易见的是,这些实施例和方面仅以示例的方式提供。在不背离本发明的情况下,本领域技术人员可以想到许多变型、改变和替换。应当理解,在实践本发明的过程中,可以采用本文所描述的本发明实施例的各种替代方案。

[0924] 本文所用的章节标题仅用于组织目的,不应被解释为限制所描述的主题。本申请中引用的文献,或部分文献,包括但不限于专利、专利申请、文章、书籍、手册和论文,为了任何目的以引用方式整体明确地并入于此。

[0925] 除非另外限定,否则本文所用的技术和科学术语的含义与本领域普通技术人员通常理解的含义相同。参见例如Singleton et al., DICTIONARY OF MICROBIOLOGY AND

MOLECULAR BIOLOGY 2nd ed., J. Wiley & Sons (New York, NY 1994); Sambrook et al., MOLECULAR CLONING, A LABORATORY MANUAL, Cold Springs Harbor Press (Cold Springs Harbor, NY 1989)。与本文所描述的方法、装置和材料类似或等同的任何方法、装置和材料均可以用于本发明的实践中。提供以下定义以便于理解本文频繁使用的某些术语,但并非意图限制本公开的范围。

[0926] 除非特别说明或从上下文显而易见,否则本文所用的术语“或”应理解为包括性的。除非具体说明或从上下文显而易见,否则本文所用的术语“一”、“一个”和“该”应理解为单数或复数。

[0927] 当用于涉及数值范围、截止值或具体值时,术语“约”用于表示所引用的值可以从列出的值变化高达25%。由于本文所用的许多数值是通过实验确定的,本领域技术人员应当理解,这些确定可以并且经常在不同的实验中变化。本文所用的值不应被认为由于这种固有变化而过度限制。术语“约”用于涵盖相对于指定值的 $\pm 25\%$ 或更小的变化、 $\pm 20\%$ 或更小的变化、 $\pm 10\%$ 或更小的变化、 $\pm 5\%$ 或更小的变化、 $\pm 1\%$ 或更小的变化、 $\pm 0.5\%$ 或更小的变化、 $\pm 0.1\%$ 或更小的变化。“约”可以理解为在值的10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%、0.5%、0.1%、0.05%或0.01%的范围内。除非上下文另有明确说明,否则本文提供的所有数值均用术语“约”修饰。

[0928] 本文提供的范围应理解为该范围内的所有值的简略表达。例如,1至60的范围应理解为包括选自1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49或50组成的组的任何数字、数字组合或子范围,并且包括上述整数之间的所有十进制中间值,例如1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8和1.9。关于子范围,特别设想了从其任一端点延伸的“嵌套子范围”。例如,1至60的示例性范围的嵌套子范围可以包括一个方向上的1至10、1至20、1至30和1至40,或另一个方向上的50至40、50至30、50至20和50至10。

[0929] 本文所用的术语“受试者”是指动物界的活成员。在一些实施例中,受试者是包括可能天然患有某种疾病的许多个体的物种成员。在一些实施例中,受试者是哺乳动物。哺乳动物的非限制性示例包括啮齿动物(例如小鼠和大鼠)、灵长类动物(例如狐猴、丛猴、猴子、猿和人)、兔、狗、马、猫、家畜(诸如猪、牛、驴、骡、野牛、山羊、骆驼和绵羊)。在一些实施例中,受试者是人。

[0930] 本文所用的术语“紧邻”或“在……附近”是指小于约1cm的距离,例如小于约5mm的距离(意指例如磁体或磁场与运输器皿壁或交叉流通道之间的距离)。

[0931] 过渡术语“包含”与“包括”、“含有”或“特征在于”同义,是包含性的或开放式的,并且不排除其它未列举的元件或方法步骤。相反,过渡短语“由……组成”排除权利要求中未指定的任何其它元件、步骤或成分。过渡短语“基本上由……组成”将权利要求的范围限制为指定的材料或步骤,“以及本质上不影响(要求保护的发明的)基本和新颖特征的那些(材料或步骤)”。

[0932] 在本文的描述和权利要求中,诸如“至少一个”或“一个或多个”的短语可以在元件或特征的连接列表前出现。术语“和/或”也可以在两个或更多个元件或特征的列表中出现。除非与其所使用的上下文有相反的暗示或明确矛盾,否则此类短语旨表示列出的单个任何元件或特征,或列举的任何元件或特征与列举的任何其它元件或特征组合。例如,短语“A和

B中的至少一个”；“A和B中的一个或多个”；以及“A和/或B”均表示“单独的A、单独的B或A和B一起。”类似的解释也旨在用于包含三个或更多项的列表。例如，短语“A、B和C中的至少一个”；“A、B和C中的一个或多个”；以及“A、B和/或C”均表示“单独的A、单独的B、单独的C、A和B一起、A和C一起、B和C一起，或A和B和C一起”。另外，上文和权利要求书中使用的术语“基于”旨在表示“至少部分地基于”，使得未列举的特征或元件也是允许的。

[0933] 术语“机械光滑的”或“基本上光滑的”在本文中可互换地使用，以描述具有约0.01至约0.1的低静摩擦系数的材料的接触表面。

[0934] 术语“混合流体装置”或“混合流体芯片”在本文中可互换地使用，以描述将交叉流通道动力学、磁泳动力学以及声泳或介电泳动力学组合在一起，在高流速下操纵磁性树脂珠粒的流体流装置或芯片。此外，混合流体装置还可以包括电动或毛细流动力学系统。在本文的一些方面，混合流体装置或芯片包括交叉流通道、至少一个磁场和至少一个压电部件（例如压电晶体）。在本文的其它方面，混合流体装置或芯片包括交叉流通道、至少一个磁场和至少一个介电泳电极。混合流体装置或芯片可以是微流体、中流体、毫流体、宏流体或其任意组合。例如但并非旨在限制地，混合流体装置可以是微流体装置，包括交叉流通道、至少一个磁场和至少一个介电泳电极。

[0935] 术语“切向流过滤（TFF）系统”、“高性能切向流过滤（HP-TFF）系统”和“交叉流过滤系统（CFF）”在本文中可互换地使用，以指代一种设备和控制系统，在该设备和控制系统中，样品溶液从馈送器皿沿平行于多孔膜面的流路馈送，允许一个部分正交地通过膜（例如渗透物），同时样品溶液的剩余部分再循环回到样品馈送器皿（例如渗余物），从而能够通过微滤、超滤、渗滤或其任意组合纯化样品溶液。膜可以是平板或中空纤维几何形状，带电或不带电均可。此外，切向流过滤和交叉流过滤系统被定义为用于通过基于流体动力学尺寸的十倍差异的分离来纯化生物分子的一维系统。相反，高性能切向流过滤系统被定义为通过基于电荷特征的差异和流体动力学尺寸的十倍差异两者的分离来纯化生物分子的二维系统。

[0936] 本文所用的术语“微滤器”、“微滤液”或“微滤”是指利用孔径大于0.1微米的膜浓缩树脂珠粒的TFF工艺。

[0937] 本文所用的术语“超滤器”或“超滤液”或“超滤”是指利用孔径小于0.1微米的膜来浓缩生物制剂（例如蛋白质或其片段（多肽）、抗体或其片段、细胞因子、趋化因子、酶或生长因子）的TFF工艺。

[0938] 本文所用的术语“渗滤器”、“渗滤液”或“渗滤”是指将微滤或超滤产生的渗余物用缓冲溶液稀释，随后分别再微滤或再超滤，以进一步纯化渗余物或实现缓冲置换的TFF工艺。

[0939] 本文所用的术语“渗滤体积”是指与初始渗余物体积相比，在单元TFF操作中使用的渗滤缓冲的体积。

[0940] 术语“自由流电泳”和“基于等电点的流体纯化”在本文中可互换地使用，指代基于生物制剂的电荷、等电点、电泳迁移率或其任意组合分离生物制剂的连续流工艺。在本文的一些方面，自由流电泳具有不同的操作模式，包括但不限于等电聚焦（IEF-FFE）、区带电泳（ZE-FFE）、等速电泳或其任意组合。

[0941] 本文所用的术语“等电点”或“pI”是指蛋白质具有中性电荷或没有净电荷的pH。

[0942] 本文所用的pH梯度可以指“粗pH梯度”或“细pH梯度”。”例如,粗pH梯度是指pH为约2至约10,或约2至约9,或约2至约8,或2至约7,或2至约5,或2至约4,或约2至约3的pH范围(或梯度)。此外,粗pH梯度可以是约5至约8的pH范围。替代地,细pH梯度是指1个pH单位内的pH梯度(例如pH变化)。例如,pH范围可以是约7.0至约8.0,或约7.1至约8.0,或约7.2至约8.0,或约7.3至约8.0,或约7.4至约8.0,或约7.4至约8.0,或约7.5至约8.0,或约7.6至约8.0,或约7.7至约8.0,或约7.8至约8.0,或约7.9至约8.0。替代地,细pH梯度内的pH范围可以是约7.0至约7.5,或约7.1至约7.5,或约7.3至约7.5,或约7.4至约7.5。此外,pH范围可以是约7.1至约7.6。

[0943] 本文所用的术语“两性电解质”是指具有酸碱两种官能度的两性电解质或电解质。在本文的一些方面,两性电解质包括两性有机缓冲盐或氨基酸,用于在基于等电点的流体纯化设备中建立pH梯度。例如但并非旨在限制地,两性电解质包括Tris、HEPES、MES、甘氨酸、组氨酸、精氨酸、谷氨酸或其任意组合。

[0944] 本文的术语“抗体”以最广泛的含义使用,并且涵盖包括抗体区或由抗体区组成的多肽或蛋白质,抗体区被理解为免疫球蛋白的重链和/或轻链的恒定和/或可变区,具有或不具有接头序列。该术语涵盖各种抗体结构,包括但不限于单克隆抗体、多克隆抗体、诸如双特异性抗体的多特异性抗体,以及抗体片段。本文所用的术语“单克隆抗体”是指由细胞或细胞系的单个克隆产生的对靶抗原具有结合亲和力和特异性的相同抗体或抗体片段。抗体区可以是天然结构,或通过诱变或衍生化改性。此外,术语“免疫球蛋白”是指具有天然存在的抗体结构的蛋白质。例如,IgG类免疫球蛋白是约150,000道尔顿的异四聚体糖蛋白,由二硫键键合的两条轻链和两条重链组成。从N端到C端,每条重链分别具有可变区(VH),也称可变重区或重链可变区,接着是三个恒定区(CH1、CH2和CH3),也称重链恒定区。类似地,从N-端到C-端,每条轻链分别具有可变区(VL),也称可变轻区或轻链可变区,接着是三个恒定轻(CL)区,也称轻链恒定区。IgG类免疫球蛋白基本上由两个F(ab)区和一个Fc区组成,这些区经由免疫球蛋白铰链区连接。免疫球蛋白的重链可以归为五种类型之一,即来源于任何动物(例如常规使用的任何动物,例如绵羊、兔子、山羊或小鼠)的IgG、IgM、IgA、IgE和IgD免疫球蛋白同种型,其可以进一步划分为亚型,例如IgG1、IgG2或IgG2a。优选地,抗体包括单克隆抗体(例如人单克隆抗体)。

[0945] 本文所用的术语“价”是指抗体分子中存在指定数量的结合位点。因此,术语“二价”、“三价”和“多价”分别表示抗体分子中存在两个结合位点、三个结合位点和多个结合位点。如本文所用,关于抗体的结合位点的术语“单价”应指仅包含针对靶抗原的一个结合位点的分子。因此,术语“化合价”理解为针对相同靶抗原的结合位点的数目,无论是特异性地结合至抗原的相同表位还是不同表位。

[0946] 本文所用的术语“单特异性抗体”意指单个抗体具有以特异性和高亲和力选择性地结合单个离散靶标的能力。特异性和高亲和力意味着单特异性抗体主要结合一种离散的感兴趣靶抗原,同时表现出与样品溶液中的其它分子可忽略的结合。特异性结合位点通常不与其它靶标交叉反应,然而,特异性结合位点可以特异性地结合靶标的一个或多个表位、同种型或变体。特异性结合意味着结合在靶同一性方面是选择性的,例如高结合亲和力或亲合力。如果与不是靶抗原的抗原或分子的结合常数或结合动力学相比,与靶抗原的结合常数或结合动力学优选是至少100倍,更优选是至少1000倍,则通常实现选择性结合。本文

所用的术语“高亲和力”是指抗体与靶抗原的结合相互作用的平衡解离常数(K_D)小于或等于 $10^{-6}M$ (微摩尔亲和力),优选小于 $10^{-9}M$ (纳摩尔亲和力),更优选小于 $10^{-12}M$ (皮摩尔亲和力)。如本文所用,“基本上没有交叉反应性”是指抗体不识别或特异性地结合不同于分子的实际靶抗原的抗原,特别是当与该实际靶抗原相比时。例如,抗体可以与不同于实际靶抗原的抗原结合小于约10%至小于约5%,或者可以以小于约10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%、0.5%、0.2%或0.1%,优选小于约2%、1%或0.5%,并且最优选小于约0.2%或0.1%的量结合该不同于实际靶抗原的抗原。单特异性抗体可以是四种类型之一,即人抗体、人源化抗体、嵌合抗体和鼠抗体,并且可以衍生自IgG、IgM、IgA、IgE、IgD免疫球蛋白同种型和亚型。此外,单特异性抗体可以具有针对感兴趣的靶抗原的单价、二价、三价或多价结合位点。类似地,本文所用的术语“双特异性抗体”意指单个抗体具有以对每个靶独立的特异性和高亲和力选择性地结合两个不同且离散的靶的能力。在一些方面,特异性和高亲和力意味着双特异性抗体主要结合至两个不同且离散的感兴趣靶抗原,同时表现出与样品溶液中的其它分子可忽略的结合。此外,本文所用的术语“三特异性抗体”意指单个抗体具有以对每个靶独立的特异性和高亲和力选择性地结合三个不同且离散的靶的能力。在一些方面,特异性和高亲和力意味着三特异性抗体主要结合至三个不同且离散的感兴趣靶抗原,同时表现出与样品溶液中的其它分子可忽略的结合。此外,多特异性抗体可以包括抗体片段或由抗体片段形成。

[0947] 本文所用的术语“抗体片段”是指不同于完整抗体的分子,包括完整抗体的结合至与完整抗体结合的抗原的部分。抗体片段的非限制性示例包括单价IgG、线性抗体、单链抗体分子、Fv、scFv、scFv-Fc、F(ab)、F(ab)₂、scF(ab)、F(ab)-scFv融合物、F(ab)-(scFv)₂融合物、F(ab)-scFv-Fc、交叉F(ab)、纳米抗体、微型抗体、双抗体、scFv-Fc双抗体和/或亲和抗体。此外,抗体片段包含具有VH区特征的单链多肽,即能与VL区组装在一起,或属于VL区,即能与VH区一起组装至功能性抗原结合位点,从而提供全长抗体的抗原结合特性。

[0948] 术语“嵌合抗体”是指其中重链和/或轻链的一部分源自特定的源或物种,而重链和/或轻链的其余部分源自不同的源或物种,通常通过DNA重组技术制备的抗体。嵌合抗体可以包括兔或鼠可变区和人恒定区。“嵌合抗体”的其它形式是其中恒定区已经从原始抗体的恒定区修改或改变,以产生根据本发明的特性的那些抗体。这种嵌合抗体也称为“类别转换抗体”。嵌合抗体是表达的免疫球蛋白基因的产物,包括编码免疫球蛋白可变区的DNA区段和编码免疫球蛋白恒定区的DNA区段。产生嵌合抗体的方法包括常规的重组DNA和基因转染技术,这是本领域公知的(Morrison SL, et al., PNAS, 81:6851-6855, (1984))。

[0949] 本文所用的术语“人抗体”是具有与人或人细胞产生的,或来自利用人抗体库或其它人抗体编码序列的非人来源的抗体的氨基酸序列相对应的氨基酸序列的抗体。人抗体的这种定义明确地排除包含非人抗原结合残基的人源化抗体。如关于嵌合和人源化抗体所提及的,本文所用的术语“人抗体”还包括在恒定区中例如通过“类别转换”修饰的抗体。

[0950] 本文所用的术语“重组抗体”和“重组人抗体”旨在包括通过重组方式制备、表达、产生或分离的所有人抗体,诸如从表达宿主细胞分离的抗体,例如但不限于从哺乳动物细胞(例如HEK 293、NS0或CHO细胞)或细菌细胞(例如大肠杆菌)分离的抗体,或从人免疫球蛋白基因转基因的动物(例如小鼠)分离的抗体,或使用转染到宿主细胞中的重组表达载体表达的抗体。这种重组人抗体具有重排形式的可变区和恒定区。根据本发明的重组人抗体已

经进行了体内体细胞超突变。因此,重组抗体的VH和VL区的氨基酸序列是虽然衍生自人种系VH和VL序列并与之相关,但在体内可能不天然存在于人抗体种系所有组成部分中的序列。本文所用的术语“重组”应理解为“通过基因工程制备”或“基因工程的结果”,例如,具体采用掺入重组载体或重组宿主细胞中的异源序列。

[0951] 术语“人源化抗体”是指包含来自非人高变区的氨基酸残基和来自已经经历人源化的人框架区(FR)的氨基酸残基的嵌合抗体。在某些实施例中,人源化抗体将基本上包含所有至少一个,通常两个可变区,其中所有或基本上所有的高变区(例如CDR)对应于非人抗体的高变区,并且所有或基本上所有的FR对应于人抗体的FR。人源化抗体可选地可以包括来源于人抗体的抗体恒定区的至少一部分。本发明涵盖的其它形式的人源化抗体是其中恒定区已经从原始抗体的恒定区额外地修改或改变,以产生新特性(例如Fc受体结合)的那些抗体。

[0952] 本文所用的术语“纯化(purify)”、“纯化的(purified)”、“纯化(purifying)”、“纯化(purification)”是指从非均相混合物中的生物制剂(例如核酸、蛋白质、抗体产物等)中去除杂质的方法。在一些方面,杂质是细胞、细胞碎片、聚集体、宿主细胞蛋白质、不期望的蛋白质和肽、不期望的抗体、不期望的核酸和寡核苷酸、病毒、盐、缓冲组分、表面活性剂、糖、金属污染物、可浸出物、培养基组分和/或与其天然缔合的天然存在的有机分子。在一些方面,本文所用的术语“大杂质”是指细胞、细胞碎片和/或聚集体。在其它方面,本文所用的术语“小杂质”是指宿主细胞蛋白质、不期望的蛋白质和肽、不期望的核酸和寡核苷酸、病毒、盐、缓冲组分、表面活性剂、糖、金属污染物、可浸出物、培养基组分和/或与其天然缔合的天然存在的有机分子。纯化的生物制剂是至少60重量%(干重)的感兴趣产物。优选地,制备至少75重量%,更优选至少90重量%,最优选至少99重量%的感兴趣产物。例如,纯化的抗体是期望抗体重量的至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、98%、99%或100%(w/w)之一的抗体。纯度通过任何适当的标准方法测量,例如通过柱层析法测量。纯化还定义了对受试者施用安全的无菌程度,例如没有感染性、毒性或免疫原性试剂。类似地,“基本上纯的”是指已经与天然伴随的组分分离的生物制剂(例如核酸、蛋白质、抗体产物等)。通常,当按重量计至少60%、70%、80%、90%、95%或甚至99%不含杂质(例如细胞、细胞碎片、聚集体、宿主细胞蛋白质、不期望的蛋白质和肽、不期望的抗体、不期望的核酸和寡核苷酸、病毒、盐、缓冲组分、表面活性剂、糖、金属污染物、可浸出物、培养基组分和/或与其天然相关的天然存在的有机分子)时,生物制剂(例如抗体、蛋白质、多肽等)基本上是纯的。

[0953] 本文所用的术语“分离(isolate)”、“分离的(isolated)”、“分离(isolation)”是指从非均相混合物中的不期望产物中特异性地选择和分离期望的生物制剂(例如核酸、蛋白质、抗体产物等)的方法。此外,本文所用的“分离的抗体”旨在表示基本上不含具有不同抗原特异性的其它抗体的抗体(例如特异性地结合CD20,并且基本上不含特异性地结合除CD20之外的抗原的抗体)。此外,分离抗体可以基本上不含杂质(例如细胞、细胞碎片、聚集体、宿主细胞蛋白质、不期望的蛋白质和肽、不期望的抗体、不期望的核酸和寡核苷酸、病毒、盐、缓冲组分、表面活性剂、糖、金属污染物、可浸出物、培养基组分和/或与其天然结合的天然存在的有机分子)的至少一个其它部分。

[0954] 术语“肽”、“多肽”和“蛋白质”在本文中可互换地使用,表示氨基酸的聚合物,其中在一些实施例中,聚合物可以缀合至不由氨基酸组成的部分。该术语还适用于其中一个或

多个氨基酸残基是相应天然存在的氨基酸的人工化学模拟物的氨基酸聚合物,以及天然存在的氨基酸聚合物和非天然存在的氨基酸聚合物。“融合”或“融合蛋白”是指编码作为单一部分重组表达或化学合成的两个或更多个单独的蛋白质序列的嵌合蛋白。

[0955] 本文所描述的术语“核酸”是指核苷酸(例如脱氧核糖核苷酸、核糖核苷酸和2'-修饰核苷酸)及其单链、双链或多链形式的聚合物,或其互补物。术语“多核苷酸”、“寡核苷酸”等按照通常的惯用意义,指代核苷酸的线性序列。术语“核苷酸”按照通常的惯用意义,指代多核苷酸的单个单元,即单体。核苷酸可以是核糖核苷酸、脱氧核糖核苷酸或其修饰形式。本文设想的多核苷酸的示例包括单链和双链DNA、单链和双链RNA,以及具有单链和双链DNA和RNA的混合物的杂交分子。本文设想的核酸(例如多核苷酸)的示例包括任何类型的RNA(例如mRNA、siRNA、miRNA和引导RNA)以及任何类型的DNA(例如基因组DNA、质粒DNA和微环DNA)及其任何片段。此外,本文所用的术语“核酸”、“核酸分子”、“核酸寡聚物”、“寡核苷酸”、“核酸序列”、“核酸片段”和“多核苷酸”可互换地使用,并且旨在包括但不限于共价连接在一起的核苷酸的聚合形式,其可以具有各种长度,无论是脱氧核糖核苷酸和/或其类似物、衍生物还是其修饰。不同的多核苷酸可以具有不同的三维结构,并且可以执行已知或未知的各种功能。多核苷酸的非限制性示例包括基因组DNA、基因组、线粒体DNA、基因、基因片段、外显子、内含子、基因间DNA(包括但不限于异色DNA)、双链DNA(dsDNA)、信使RNA(mRNA)、转运RNA、增强子RNA(eRNA)、微RNA、干扰RNA(RNAi)、小干扰RNA(siRNA)、核糖体RNA、核酶、cDNA、重组多核苷酸、分支多核苷酸、质粒、载体、适体、序列的分离的DNA、序列的分离的RNA、核酸探针和引物。可用于本公开方法的多核苷酸看可以包括天然核酸序列及其变体、人工核酸序列或这些序列的组合。

[0956] 本文所用的术语“氨基酸”涵盖天然存在的氨基酸和非天然存在的氨基酸两者。为了本公开的目的,天然存在的氨基酸包括二十种天然存在的L-氨基酸。这20种氨基酸可以被分成具有中性电荷、正电荷和负电荷的氨基酸。作为参考,“中性”氨基酸与其相应的三字母和单字母代码及极性一起列出:丙氨酸:(Ala,A)非极性、中性;天冬酰胺:(Asn,N)极性、中性;半胱氨酸:(Cys,C)非极性、中性;谷氨酸:(Gln,Q)极性、中性;甘氨酸:(Gly,G)非极性、中性;异亮氨酸:(Ile,I)非极性、中性;亮氨酸:(Leu,L)非极性、中性;甲硫氨酸:(Met,M)非极性、中性;苯丙氨酸:(Phe,F)非极性、中性;脯氨酸:(Pro,P)非极性、中性;丝氨酸:(Ser,S)极性、中性;苏氨酸:(Thr,T)极性、中性;色氨酸:(Trp,W)非极性、中性;酪氨酸:(Tyr,Y)极性、中性;缬氨酸:(Val,V)非极性、中性;以及组氨酸:(His,H)极性,正(10%),中性(90%)。“正”电荷氨基酸是:精氨酸:(Arg,R)极性,正;以及赖氨酸:(Lys,K)极性,正。带“负”电荷的氨基酸是:天冬氨酸:(Asp,D)极性,负;以及谷氨酸:(Glu,E)极性,负。非天然存在的氨基酸的示例包括但不限于D-氨基酸(即与天然存在形式手性相反的氨基酸)、N- α -甲基氨基酸、C- α -甲基氨基酸、 β -甲基氨基酸和D-或L- β -氨基酸。其它非天然存在的氨基酸包括,例如, β -丙氨酸(β -Ala)、正亮氨酸(Nle)、正缬氨酸(Nva)、高精氨酸(Har)、4-氨基丁酸(γ -Abu)、2-氨基异丁酸(Aib)、6-氨基己酸(ϵ -Ahx)、鸟氨酸(orn)、肌氨酸、 α -氨基异丁酸、3-氨基丙酸、2,3-二氨基丙酸(2,3-diaP)、D-或L-苯基甘氨酸,D-(三氟甲基)-苯丙氨酸和D-p-氟苯丙氨酸。

[0957] 术语“连续的”或“半连续的”是指生物制剂的生产和纯化长时间在基本上中断或不中断,或轻微中断,或意外中断的情况下进行的方法。例如,将生物反应器渗出溶液传递

至动态过滤模块的工艺是在没有中断或轻微中断的情况下进行的。在其它示例中,通过动态过滤从非均相混合物中去除杂质并将滤液(包含生物制剂)传递至第一模块(例如基于亲和力的纯化模块)的工艺是在没有中断或轻微中断的情况下进行的。此外,将溶液从第一模块传递至第二模块的过程(例如基于电荷的纯化)是在没有中断或轻微中断的情况下进行的。在其它示例中,通过第一模块、通过第二模块和/或后续步骤的动态过滤得到的产物流是在没有中断或轻微中断的情况下进行的。换句话说,在第一单元操作已经完成对产物流的处理之前,后续单元操作可以开始处理产物流。

[0958] 如参考本发明的动态过滤和/或纯化工艺(基于亲和力的磁性纯化、基于电荷的磁性纯化、基于亲和力的纯化、基于电荷的纯化、基于亲和力的流体纯化、基于电荷的流体纯化、基于亲和力的TFF纯化模块、基于电荷的TFF纯化模块和/或基于等电点的纯化工艺)所使用的,“连续”是指工艺在物理和逻辑上是整合的,从而允许在不中断源自稳态生物反应器的流体流的情况下长时间操作。在不中断工艺操作或序列的情况下,本发明的工艺能够连续长时间操作,例如1天至几个月。如关于所公开发明的工艺所使用的,术语“连续”还应理解为表示不以分批方式或以真正连续的方式执行工艺过程。例如,如果包括滞留体积的工艺能够在不中断源自生物反应器渗流管线的流体流的情况下操作,则可以认为该工艺是连续的。如本发明中所用,工艺运行大于2天、3天、4天、5天、6天或7天,2周、3周、4周、5周、6周、7周或8周,或3个月、4个月、5个月、6个月或更多个月的连续时间段。

[0959] 术语“半连续”和“间歇”是指集成系统的一个或多个工艺或元件以不连续或分批方式操作,例如补料分批操作模式,而集成系统的其它工艺或元件以连续方式操作。

[0960] 本文实施的方法和工艺可以是连续的、半连续的或不连续的。小中断(和/或意外中断,和/或有意中断)可以包括例如(例如动态过滤模块内的)撕裂或破裂。例如,滤膜中的撕裂或破裂可以包括影响滤膜完整性,使其无法执行功能的任何改变。整个系统中任何端口、管道、装置或设备内的任何堵塞或阻碍均可以被认为是小中断。设想的其它小中断包括容器/器皿过度填充或容器/器皿未填满。纯化过程期间使用的磁体或磁场发生故障也可以构成小中断。纯化过程期间使用的回路传送系统发生故障也可以构成小中断。纯化过程期间使用的拾取和放置机器人系统发生故障也可以构成小中断。纯化过程期间使用的机械旋转系统发生故障也可以构成小中断。纯化过程期间使用的管线内分析测量仪器(例如传感器或检测器)发生故障也可以构成小中断。纯化过程期间使用的反馈控制机构(例如PID或闭环控制器)发生故障也可以构成小中断。

[0961] 如参考多个设备、模块、系统和/或过程所使用的,术语“集成”意指设备、模块、系统和/或过程在物理上和逻辑上是相连的,以便构成能够连续操作的统一系统。在涉及用于生产纯化生物制剂的集成连续或半连续系统的本发明系统的上下文中,集成系统将直接连接不同的部件,并且以足以维持系统不同部件之间的连续流的方式连接。

[0962] 术语“重量百分比”或“% (w/w)”是指基于组分和溶剂重量计算的组分在溶液中的百分比。例如,组分的1% (w/w)溶液是将1g的组分溶解在100g的溶剂中。术语“体积百分比”或“% (v/v)”是指基于组分和溶剂体积计算的组分在溶液中的百分比。例如,组分的1% (v/v)溶液是将1ml的组分溶解在100ml的溶剂中。

[0963] 实施例

[0964] 以下实施例说明本发明的某些具体实施方式,但并非意在限制本发明的范围。

[0965] 通过以下实施例和详细方案进一步说明本文的实施方式。然而,这些实施例仅旨在说明实施方式,不应解释为限制本文的范围。本申请中引用的所有参考文献和公开专利及专利申请的内容通过引用并入于此。

[0966] 实施例1:具有动态过滤模块、基于亲和力的磁性纯化模块和自由流电泳模块的单克隆抗体连续生产和纯化方法

[0967] 在以4g/L的滴度稳态操作的恒化器生物反应器中连续产生依那西普。经由与输入管线(灌注生物反应器渗流管线)连通的单个输出头,将包含依那西普、大杂质和小杂质的非均相混合物以10mL/min的流速传递至动态过滤模块。通过动态过滤(0.45 μ m PES,卷式滤膜;具有平行槽开口和温度控制的机械光滑的膜支撑结构;洗涤区;膜输送速度为1mm/sec;真空表压为-0.9巴;具有可控T阀的2个真空收集器皿)去除大杂质,得到包含依那西普和小杂质的滤液。一旦第一真空收集器皿达到容量,就将流传递至第二真空收集器皿,并且第一真空收集器皿平衡到大气压。

[0968] 经由管道连接和蠕动泵,以10mL/min的流速将滤液从第一真空收集器皿(大气压平衡)传递至基于亲和力的磁性纯化模块的入口。在回路传送系统的原位置处,滤液进入装有2重量%的蛋白A包被的磁性树脂珠粒(40 μ m)的薄壁运输器皿,磁性树脂珠粒悬浮在结合/洗涤缓冲(0.025M Tris,0.15M NaCl;pH7)中。一旦运输器皿被填满,运输器皿就移动至平衡区结合30分钟,同时下一个运输器皿继续接收连续的滤液流。在抗体与蛋白A包被的磁性树脂珠粒结合后,运输器皿移动至永磁磁场区,以允许磁性树脂珠粒朝运输器皿的壁迁移。包含小杂质的溶液通过抽吸移除,并被送至废弃物器皿。添加结合/洗涤缓冲(0.025M Tris,0.15M NaCl;pH7),并且运输器皿移动至平衡区以便能够洗涤。运输器皿移动至永磁磁场区,以允许磁性树脂珠粒在两个分开且相反的磁场之间混合,并随后朝运输器皿的单个壁迁移,两个磁场在开启状态和关闭状态之间切换。溶液通过抽吸移除,并被送至废弃物器皿。添加结合/洗涤缓冲,并且运输器皿移动至平衡区以便能够洗涤。运输器皿移动至永磁磁场区,以允许磁性树脂珠粒在两个分开且相反的磁场之间混合,并随后朝运输器皿的单个壁迁移,两个磁场在开启状态和关闭状态之间切换。溶液通过抽吸移除,并被送至废弃物器皿。添加结合/洗涤缓冲,并且运输器皿移动至平衡区以便能够洗涤。运输器皿移动至永磁磁场区,以允许磁性树脂珠粒在两个分开且相反的磁场之间混合,并随后朝运输器皿的单个壁迁移,两个磁场在开启状态和关闭状态之间切换。溶液通过抽吸移除,并被送至废弃物器皿。添加低pH洗脱缓冲(0.1M甘氨酸,pH2.0),并且运输器皿移动至平衡区以便能够洗脱。运输器皿移动至永磁磁场区,以允许磁性树脂珠粒在两个分开且相反的磁场之间混合,并随后朝运输器皿的单个壁迁移,两个磁场在开启状态和关闭状态之间切换。溶液通过抽吸移除,并被送至收集器皿。添加低pH洗脱缓冲(0.1M甘氨酸,pH2.0),并且运输器皿移动至平衡区以便能够洗脱。运输器皿移动至永磁磁场区,以允许磁性树脂珠粒朝运输器皿的单个壁迁移。溶液通过抽吸移除,并被送至收集器皿。添加再生缓冲(0.25M Tris;pH 8.5),并且运输器皿移动至平衡区以便能够洗涤。运输器皿移动至永磁磁场区,以允许磁性树脂珠粒在两个分开且相反的磁场之间混合,并随后朝运输器皿的单个壁迁移,两个磁场在开启状态和关闭状态之间切换。溶液通过抽吸移除,并被送至废弃物器皿。添加结合/洗涤缓冲(0.025M Tris,0.15M NaCl;pH7),并且运输器皿移动至平衡区以实现缓冲置换,从而使磁性树脂珠粒恢复其初始状态,完成回收。

[0969] 经由管道连接和蠕动泵,以10mL/min的流速将亲和纯化的抗体溶液从收集器皿传递至基于等电点的流体纯化模块的入口。溶液进入第一自由流电泳设备,该设备包括:两性电解质溶液,被设计为在施加电压下实现pH4至pH9之间的稳定线性pH梯度,从而能够在等电聚焦模式下操作;去泡和脱气系统,用于实现连续长期操作;主动冷却系统,用于去除焦耳热并将温度维持在4℃至37℃之间;以及液体断路器,用于实现管线内过程监测。该第一设备的目标是在设备的出口处将残余的宿主细胞蛋白质(pI为4-7和9-10)与抗体(pI为7-9)分离,形成至少两个部分。包含抗体部分的(多个)出口成为串联连接的第二自由流电泳设备的入口,而包含宿主细胞蛋白质的(多个)出口被送至废弃物收集。抗体部分进入第二自由流电泳设备,该设备包括:两种单独的两性电解质溶液和间隔溶液,被设计为能够以高分辨等速电泳模式操作;去泡和脱气系统,用于实现连续长期操作;主动冷却系统,用于去除焦耳热并将温度维持在4℃至37℃之间;以及液体断路器,用于实现管线内过程监测。该第一设备的目标是在设备的出口处将残余的宿主细胞抗体(pI为7-9)与依那西普(pI为7.9)分离,形成至少两个部分。收集包含纯化的依那西普的(多个)出口,同时将包含抗体杂质的(多个)出口送至废弃物收集。

[0970] 经由管道连接和蠕动泵,以5mL/min的流速将纯化和分离的依那西普溶液从收集器皿传递至高性能切向流过滤(HP-TFF)器皿,以使HP-TFF能够以补料分批模式半连续地执行。执行HP-TFF以进行缓冲置换并进一步纯化利妥昔单抗(用10个透滤体积进行透滤),然后浓缩以使随后的小瓶中填充包含纯化的依那西普的渗余物。

[0971] 在达到稳态细胞培养生长条件后,连续执行该过程3个月。实施例2:具有动态过滤模块、基于亲和力的纯化模块和自由流电泳模块的单克隆抗体连续生产和纯化方法

[0972] 在以4g/L的滴度稳态操作的恒化器生物反应器中连续产生依那西普。经由与输入管线(灌注生物反应器渗流管线)连通的单个输出头,将包含依那西普、大杂质和小杂质的非均相混合物以10mL/min的流速传递至动态过滤模块。通过动态过滤(0.45μm PES,卷式滤膜;具有平行槽开口和温度控制的机械光滑的膜支撑结构;洗涤区;膜输送速度为1mm/sec;真空表压为-0.9巴;具有可控T阀的2个真空收集器皿)去除大杂质,得到包含依那西普和小杂质的滤液。一旦第一真空收集器皿达到容量,就将流传递至第二真空收集器皿,并且第一真空收集器皿平衡到大气压。

[0973] 经由管道连接和蠕动泵,以10mL/min的流速将滤液从第一真空收集器皿(平衡的大气压)传递至基于亲和力的纯化模块的入口。滤液通过用垫圈盖系统在机械旋转系统的填充位置进入转盘中的器皿内,器皿内装有40mL浓稠的蛋白A包被的树脂珠粒(90μm)浆料,树脂珠粒悬浮在结合/洗涤缓冲(0.025M Tris,0.15M NaCl,pH7)中。一旦器皿被填满,器皿就移动至平衡位置以允许结合30分钟,同时下一个器皿继续接收连续的滤液流。在抗体与蛋白A包被的树脂珠粒结合后,器皿移动至洗涤位置,以通过压力驱动流穿过基底多孔膜去除包含小杂质的溶液,并将其引导至废弃物收集。添加结合/洗涤缓冲(0.025M Tris,0.15M NaCl;pH7),以重悬树脂珠粒并洗涤5分钟。通过压力驱动流穿过基底多孔膜来去除洗涤溶液,并将其引导至废弃物收集。重复该洗涤工艺四次,以有效地洗涤树脂珠粒。在洗涤蛋白A包被的树脂珠粒之后,器皿移动至洗脱位置,以通过压力驱动流穿过基底多孔膜洗脱捕获的依那西普,并将其引导至收集器皿。添加低pH洗脱缓冲(0.1M甘氨酸;pH2.0),以重悬树脂珠粒并平衡5分钟,从而实现依那西普的去结合和洗脱。通过压力驱动流穿过基底多孔膜来

去除洗出液,并将其引导至收集器皿。重复该洗脱工艺四次,以从树脂珠粒上有效地洗脱依那西普。在从树脂珠粒上洗脱依那西普之后,器皿移动至再生位置,以实现树脂珠粒的回收。添加再生缓冲(0.25M Tris; pH 8.5)以重悬树脂珠粒,并平衡5分钟,从而实现树脂珠粒的再生。重复该再生工艺两次,以有效地再生树脂珠粒。添加结合/洗涤缓冲(0.025M Tris, 0.15M NaCl; pH7)并平衡5分钟,以实现缓冲置换,从而使树脂珠粒恢复其初始状态,完成回收。该缓冲置换重复两次,并且代表再生和回收工艺的最后方面。

[0974] 经由管道连接和蠕动泵,以10mL/min的流速将亲和纯化的抗体溶液从收集器皿传递至基于等电点的流体纯化模块的入口。溶液进入第一自由流电泳设备,该设备包括:两性电解质溶液,被设计为在施加电压下实现pH4至pH9之间的稳定线性pH梯度,从而能够在等电聚焦模式下操作;去泡和脱气系统,用于实现连续长期操作;主动冷却系统,用于去除焦耳热并将温度维持在4℃至37℃之间;以及液体断路器,用于实现管线内过程监测。该第一设备的目标是在设备的出口处将残余的宿主细胞蛋白质(pI为4-7和9-10)与抗体(pI为7-9)分离,形成至少两个部分。包含抗体部分的(多个)出口成为串联连接的第二自由流电泳设备的入口,而包含宿主细胞蛋白质的(多个)出口被送至废弃物收集。抗体部分进入第二自由流电泳设备,该设备包括:两种单独的两性电解质溶液和间隔溶液,被设计为能够以高分辨等速电泳模式操作;去泡和脱气系统,用于实现连续长期操作;主动冷却系统,用于去除焦耳热并将温度维持在4℃至37℃之间;以及液体断路器,用于实现管线内过程监测。该第一设备的目标是在设备的出口处将残余的宿主细胞抗体(pI为7-9)与依那西普(pI为7.9)分离,形成至少两个部分。收集包含纯化的依那西普的(多个)出口,而将包含抗体杂质的(多个)出口送至废弃物收集。

[0975] 经由管道连接和蠕动泵,以5mL/min的流速将纯化和分离的依那西普溶液从收集器皿传递至高性能切向流过滤(HP-TFF)器皿,以使HP-TFF能够以补料分批模式半连续地执行。执行HP-TFF以进行缓冲置换并进一步纯化利妥昔单抗(用10个透滤体积进行透滤),然后浓缩以使随后的小瓶中填充包含纯化的依那西普的渗余物。

[0976] 在达到稳态细胞培养生长条件后,连续执行该过程3个月。实施例3:具有动态过滤模块、基于亲和力的磁性纯化模块和基于电荷的磁性纯化模块的单克隆抗体连续生产和纯化方法

[0977] 在以4g/L的滴度稳态操作的恒化器生物反应器中连续产生依那西普。经由与输入管线(恒化器生物反应器渗流管线)连通的单个输出头,将包含依那西普、大杂质和小杂质的非均相混合物以5mL/min的流速传递至动态过滤模块。通过动态过滤(0.45μm PES,卷式滤膜;具有平行槽开口和温度控制的机械光滑膜支撑结构;洗涤区;膜输送速度为2mm/sec;真空度为6Torr;具有可控T阀的2个真空收集器皿)去除大杂质,得到包含依那西普和小杂质的滤液。一旦第一真空收集器皿达到容量,就将流传递至第二真空收集器皿,并且第一真空收集器皿平衡到大气压。

[0978] 经由管道连接和蠕动泵,以5mL/min的流速将滤液从第一真空收集器皿(大气压平衡)传递至基于亲和力的磁性纯化模块的入口。在回路传送系统的原位置处,滤液进入装有2重量%的蛋白A包被的磁性树脂珠粒(4μm)的薄壁运输器皿,磁性树脂珠粒悬浮在结合/洗涤缓冲(0.025M Tris, 0.15M NaCl, 0.05% Tween-20; pH7)中。一旦运输器皿被填满,运输器皿就移动至平衡区结合30分钟,同时下一个运输器皿继续接收连续的滤液流。在抗体与

蛋白A包被的磁性树脂珠粒结合后,运输器皿移动至永磁磁场区,以允许磁性树脂珠粒朝运输器皿的壁迁移。溶液通过抽吸移除,并被送至废弃物器皿。添加结合/洗涤缓冲(0.025M Tris,0.15M NaCl,0.05% Tween-20;pH7),并且运输器皿移动至平衡区以便能够洗涤。运输器皿移动至永磁磁场区,以允许磁性树脂珠粒在两个分开且相反的磁场之间混合,并随后朝运输器皿的单个壁迁移,两个磁场在开启状态和关闭状态之间切换。溶液通过抽吸移除,并被送至废弃物器皿。添加结合/洗涤缓冲,并且运输器皿移动至平衡区以便能够洗涤。运输器皿移动至永磁磁场区,以允许磁性树脂珠粒在两个分开且相反的磁场之间混合,并随后朝运输器皿的单个壁迁移,两个磁场在开启状态和关闭状态之间切换。溶液通过抽吸移除,并被送至废弃物器皿。添加低pH洗脱缓冲(0.1M甘氨酸,0.05% Tween-20,pH2.0),并且运输器皿移动至平衡区以便能够洗脱。运输器皿移动至永磁磁场区,以允许磁性树脂珠粒在两个分开且相反的磁场之间混合,并随后朝运输器皿的单个壁迁移,两个磁场在开启状态和关闭状态之间切换。溶液通过抽吸移除,并被送至废弃物器皿。添加低pH洗脱缓冲(0.1M甘氨酸,0.05% Tween-20,pH2.0),并且运输器皿移动至平衡区以便能够洗脱。运输器皿移动至永磁磁场区,以允许磁性树脂珠粒朝运输器皿的单个壁迁移。溶液通过抽吸移除,并被送至收集器皿。添加再生缓冲(0.25M Tris,0.05% Tween-20;pH 8.5),并且运输器皿移动至平衡区以便能够洗涤。运输器皿移动至永磁磁场区,以允许磁性树脂珠粒在两个分开且相反的磁场之间混合,并随后朝运输器皿的单个壁迁移,两个磁场在开启状态和关闭状态之间切换。溶液通过抽吸移除,并被送至废弃物器皿。添加再生缓冲,并且运输器皿移动至平衡区以实现磁性树脂珠粒回收。

[0979] 亲和纯化的抗体溶液被调节至pH7,并经由管道连接和蠕动泵,以5mL/min的流速从收集器皿传递至基于正电荷的磁性纯化模块的入口。在回路传送系统的原位置处,溶液进入装有2重量%的阳离子磁性树脂珠粒(40 μ m)的薄壁运输器皿,磁性树脂珠粒悬浮在缔合/洗涤缓冲(0.025M Tris,0.05% Tween-20,pH7)中。一旦运输器皿被填满,运输器皿就移动至平衡区,从而能够电荷或静电缔合30分钟,同时下一个运输器皿继续接收连续的亲和纯化抗体溶液流。在抗体与阳离子磁性树脂珠粒缔合后,运输器皿移动至永磁磁场区,以允许磁性树脂珠粒在两个分开且相反的磁场之间混合,并随后朝运输器皿的单个壁迁移,两个磁场在开启状态和关闭状态之间切换。溶液通过抽吸移除,并被送至废弃物器皿。添加缔合/洗涤缓冲(0.025M Tris,0.05% Tween-20,pH7),并且运输器皿移动至平衡区以便能够洗涤。运输器皿移动至永磁磁场区,以允许磁性树脂珠粒在两个分开且相反的磁场之间混合,并随后朝运输器皿的单个壁迁移,两个磁场在开启状态和关闭状态之间切换。溶液通过抽吸移除,并被送至废弃物器皿。添加缔合/洗涤缓冲(0.025M Tris,0.05% Tween-20,pH7),并且运输器皿移动至平衡区以便能够洗涤。运输器皿移动至永磁磁场区,以允许磁性树脂珠粒在两个分开且相反的磁场之间混合,并

随后朝运输器皿的单个壁迁移,两个磁场在开启状态和关闭状态之间切换。溶液通过抽吸移除,并被送至废弃物器皿。添加解离缓冲(0.1M Tris,0.1M NaCl,0.05% Tween-20,pH 7),并且运输器皿移动至平衡区以便能够解离。运输器皿移动至永磁磁场区,以允许磁性树脂珠粒在两个分开且相反的磁场之间混合,并随后朝运输器皿的单个壁迁移,两个磁场在开启状态和关闭状态之间切换。溶液通过抽吸移除,并被送至收集器皿。添加解离缓冲(0.025M Tris,0.15M NaCl,0.05% Tween-20,pH7),并且运输器皿移动至平衡区以便能够解离。运输器皿移动至永磁磁场区,以允许磁性树脂珠粒在两个分开且相反的磁场之间混合,并随后朝运输器皿的单个壁迁移,两个磁场在开启状态和关闭状态之间切换。溶液通过抽吸移除,并被送至收集器皿。添加解离缓冲(0.025M Tris,0.2M NaCl,0.05% Tween-20,pH7),并且运输器皿移动至平衡区以便能够解离。运输器皿移动至永磁磁场区,以允许磁性树脂珠粒在两个分开且相反的磁场之间混合,并随后朝运输器皿的单个壁迁移,两个磁场在开启状态和关闭状态之间切换。溶液通过抽吸移除,并被送至收集器皿。

[0980] 添加解离缓冲(0.025M Tris,0.25M NaCl,0.05% Tween-20,pH7),并且运输器皿移动至平衡区以便能够解离。运输器皿移动至永磁磁场区,以允许磁性树脂珠粒在两个分开且相反的磁场之间混合,并随后朝运输器皿的单个壁迁移,两个磁场在开启状态和关闭状态之间切换。溶液通过抽吸移除,并被送至收集器皿。添加再生缓冲(0.025M Tris,0.05% Tween-20,pH 7),并且运输器皿移动至平衡区以便能够洗涤。运输器皿移动至永磁磁场区,以允许磁性树脂珠粒在两个分开且相反的磁场之间混合,并随后朝运输器皿的单个壁迁移,两个磁场在开启状态和关闭状态之间切换。溶液通过抽吸移除,并被送至废弃物器皿。添加再生缓冲(0.025M Tris,0.05% Tween-20,pH 7),并且运输器皿移动至平衡区以实现磁性树脂珠粒回收。

[0981] 正电荷纯化的抗体溶液通过切向流过滤来缓冲置换为0.05M磷酸盐,pH7,并且随后经由管道连接和蠕动泵,以5mL/min的流速从收集器皿传递至基于负电荷的磁性纯化模块的入口。在回路传送系统的原位置处,溶液进入装有2重量%的阴离子磁性树脂珠粒(40 μ m)的薄壁运输器皿,磁性树脂珠粒悬浮在缔合/洗涤缓冲(0.05M磷酸盐,0.05% Tween-20,pH7)中。一旦运输器皿被填满,运输器皿就移动至平衡区,从而能够电荷或静电缔合30分钟,同时下一个运输器皿继续接收连续的正电荷纯化抗体溶液流。在抗体与阴离子磁性树脂珠粒缔合后,运输器皿移动至永磁磁场区,以允许磁性树脂珠粒朝运输器皿的壁迁移。溶液通过抽吸移除,并被送至废弃物器皿。添加缔合/洗涤缓冲(0.05M磷酸盐,0.05% Tween-20,pH7),并且运输器皿移动至平衡区以便能够洗涤。运输器皿移动至永磁磁场区,以允许磁性树脂珠粒在两个分开且相反的磁场之间混合,并随后朝运输器皿的单个壁迁移,两个磁场在开启状态和关闭状态之间切换。溶液通过抽吸移除,并被送至废弃物器皿。添加缔合/洗涤缓冲(0.05M磷酸盐,0.05% Tween-20,pH7),并且运输器皿移动至平衡区以便能够洗涤。运输器皿移动至永磁磁场区,以允许磁性树脂珠粒在两个分开且相反的磁场之间混合,并随后朝运输器皿的单个壁迁移,两个磁场在开启状态和关闭状态之间切换。溶液通过抽吸移除,并被送至废弃物器皿。添加解离缓冲

(0.05M磷酸盐,0.1M NaCl,0.05% Tween-20,pH 7),并且运输器皿移动至平衡区以便能够解离。运输器皿移动至永磁磁场区,以允许磁性树脂珠粒在两个分开且相反的磁场之间混合,并随后朝运输器皿的单个壁迁移,两个磁场在开启状态和关闭状态之间切换。溶液通过抽吸移除,并被送至收集器皿。添加解离缓冲(0.05M磷酸盐,0.15M NaCl,0.05% Tween-20,pH 7),并且运输器皿移动至平衡区以便能够解离。运输器皿移动至永磁磁场区,以允许磁性树脂珠粒在两个分开且相反的磁场之间混合,并随后朝运输器皿的单个壁迁移,两个磁场在开启状态和关闭状态之间切换。溶液通过抽吸移除,并被送至收集器皿。添加解离缓冲(0.05M磷酸盐,0.2M NaCl,0.05% Tween-20,pH 7),并且运输器皿移动至平衡区以便能够解离。运输器皿移动至永磁磁场区,以允许磁性树脂珠粒在两个分开且相反的磁场之间混合,并随后朝运输器皿的单个壁迁移,两个磁场在开启状态和关闭状态之间切换。溶液通过抽吸移除,并被送至收集器皿。添加解离缓冲(0.05M磷酸盐,0.25M NaCl,0.05% Tween-20,pH 7),并且运输器皿移动至平衡区以便能够解离。运输器皿移动至永磁磁场区,以允许磁性树脂珠粒在两个分开且相反的磁场之间混合,并随后朝运输器皿的单个壁迁移,两个磁场在开启状态和关闭状态之间切换。溶液通过抽吸移除,并被送至收集器皿。添加再生缓冲(0.05M磷酸盐,0.05% Tween-20,pH 7),并且运输器皿移动至平衡区以便能够洗涤。运输器皿移动至永磁磁场区,以允许磁性树脂珠粒在两个分开且相反的磁场之间混合,并随后朝运输器皿的单个壁迁移,两个磁场在开启状态和关闭状态之间切换。溶液通过抽吸移除,并被送至废弃物器皿。添加再生缓冲(0.05M磷酸盐,0.05% Tween-20,pH 7),并且运输器皿移动至平衡区以实现磁性树脂珠粒回收。

[0982] 经由管道连接和蠕动泵,以5mL/min的流速将负电荷纯化和分离的依那西普溶液从收集器皿传递至高性能切向流过滤(HP-TFF)器皿,以使HP-TFF能够以补料分批模式半连续地执行。执行HP-TFF以进行缓冲置换并进一步纯化利妥昔单抗(用10个透滤体积进行透滤),然后浓缩以使随后的小瓶中填充包含纯化的依那西普的渗余物。

[0983] 在达到稳态细胞培养生长条件后,连续执行该过程3个月。

[0984] 实施例4:从非均相混合物中净化聚合珠粒的动态过滤模块

[0985] 本文所描述的示例性动态过滤模块提供了成功地从非均相混合物纯化模型靶抗体、人多克隆IgG(hIgG)的连续动态过滤,非均相混合物包括模拟尺寸(在 7.3×10^7 、 1.1×10^8 、 1.1×10^8 、 3.4×10^7 和 1.0×10^6 颗粒/mL的条件下,直径分别为0.5 μm 、0.75 μm 、1 μm 、2 μm 、3 μm 和10 μm)且悬浮在1X PBS中的0.5g/L人多克隆IgG(hIgG)溶液中的不同细胞和细胞碎片的聚合珠粒,溶液以10mL/min的输入流速从单槽模输出头流出。聚合珠粒的净化产生含纯化hIgG的滤液。以10mL/min流速的蛋白质回收率与以10,000xg的5分钟的标准离心工艺相当(图11C和11D)。

[0986] 膜支撑结构设计和材料选择对于在润湿时和足够负压(表压为-0.9巴)下以0.5mm/sec的速度实现连续膜输送来说是重要的,因此,对于所有的膜接触表面,选择润湿时具有低静摩擦系数的材料(例如机械光滑的PTFE)是非常重要的(图8)。

[0987] 实施例5:从非均相混合物进行细胞净化的动态过滤模块

[0988] 本文的示例性动态过滤模块提供了成功地从非均相混合物纯化模型靶抗体、人多克隆IgG(hIgG)的连续动态过滤,非均相混合物包括RPMI培养基中的鼠骨髓瘤细胞(2.0×10^6 细胞/mL)悬浮液,悬浮液掺有hIgG,以2mL/min的输入流速从单槽模头输出头流出,达到

终浓度1g/L。细胞和细胞碎片的净化产生含纯化hIgG的滤液。在2mL/min流速下的蛋白质回收率与10,000xg下5分钟的标准离心工艺相当(图13A-13C)。

[0989] 膜支撑结构设计和材料选择对于在润湿时和足够负压(表压为-0.9巴)下以0.5mm/sec的速度实现连续膜输送来说是重要的,因此,对于所有的膜接触表面,选择润湿时具有低静摩擦系数的材料(例如机械光滑的PTFE)是非常重要的(图8)。

[0990] 实施例6:通过动态过滤模块回收具有不同物理化学特性的蛋白质

[0991] 经由示例性动态过滤模块进行动态过滤,动态过滤模块配备有0.45 μ m的PES滤膜,输送速度为0.5mm/sec,动态过滤针对不同浓度的BSA溶液(0.5-10g/L,MW为66,000Da,pI为4.5-5)、溶菌酶溶液(5g/L,MW为14,000Da,pI为11)和hIgG溶液(0.5g/L,MW为150,000Da,pI为6-8),以10mL/分钟的输入流速在-0.9巴的真空表压下执行,以评估蛋白质回收率,如通过BCA测定对所得滤液(对于每种溶液,n=3)进行分光光度分析所确定的。所有蛋白质的蛋白质回收率相似,并且观察到回收率>96%(图12A)。

[0992] 实施例7:滤膜材料对动态过滤模块性能的影响

[0993] 经由示例性动态过滤模块进行动态过滤,动态过滤模块配备有不同的低蛋白结合滤膜材料(PES、亲水性PVDF)和孔径(0.45 μ m、0.22 μ m),输送速度为0.5mm/sec,动态过滤针对hIgG溶液(0.5g/L)以10mL/min的输入流速在-0.9巴的真空表压下执行,以评估蛋白质回收率,如通过BCA测定对所得滤液(对于每种溶液,n=3)进行分光光度分析所确定的。每种滤膜材料和孔径的蛋白质回收率相似,并且观察到回收率>96%(图12B)。

[0994] 实施例8:不同的膜支撑结构几何形状和材料对动态过滤模块性能的影响

[0995] 经由示例性动态过滤模块进行动态过滤,动态过滤模块配备有具有不同开口几何形状(5个平行槽、多孔亲水PE插入物)的机械光滑PTFE膜支撑结构,以及0.45 μ m的PES滤膜,输送速度为0.5mm/sec,动态过滤针对hIgG溶液(0.5g/L)以10mL/min的输入流速在-0.9巴的真空表压下执行,以评估蛋白质回收率,如通过BCA测定对所得滤液(对于每种溶液,n=3)进行分光光度分析所确定的。每个膜支撑结构的蛋白质回收率相似,并且观察到回收率>96%(图12C)。

[0996] 实施例9:连续、长期的动态过滤模块性能

[0997] 经由示例性动态过滤模块进行连续动态过滤,动态过滤模块配备有机械光滑的PTFE膜支撑结构和0.45 μ m的PES滤膜,输送速度为0.5mm/sec,连续动态过滤针对溶菌酶溶液(0.5g/L)以5或10mL/min的输入流速在-0.9巴的真空表压下执行,以在25分钟的持续时间内评估纵向蛋白质回收率,如通过BCA测定对所得滤液进行分光光度分析所确定的。每个膜支撑结构的蛋白质回收率相似,并且观察到回收率>96%(图12D)。

[0998] 实施例10:来自混合物的多克隆人IGG的基于亲和力的磁性纯化

[0999] 本文所描述的示例性的基于亲和力的磁性纯化模块用于从包含2g/L hIgG(亲和靶)和1g/L溶菌酶(小杂质)的混合物中纯化hIgG。将四毫升包含8mg hIgG和4mg溶菌酶的结合/洗涤缓冲(0.025M Tris,0.15M NaCl;pH7)的混合物以10mL/min的速度添加至装有500 μ L沉降的高亲和性蛋白A/G磁性琼脂糖(动态结合能力>40mg hIgG/mL沉降树脂)的薄壁器皿中,并在温和混合的条件下平衡30分钟,以实现结合。在30分钟的结合平衡完成后,将永久Nd磁体手动放置在薄壁器皿附近(例如模仿拾取和放置机器人系统),以将磁体亲和性珠粒吸引至器皿壁,并允许通过抽吸收集包含未结合的hIgG和小杂质的溶液。抽吸之后,以

10mL/min的速率将4mL结合/洗涤缓冲(0.025M Tris,0.15M NaCl;pH 7)填充至器皿,并在温和混合的条件下平衡5分钟,以实现洗涤。在5分钟的洗涤之后,将永久Nd磁体手动放置在薄壁器皿附近(例如模仿拾取和放置机器人系统),以将磁体亲和性珠粒吸引至器皿壁,并允许通过抽吸收集洗涤溶液。重复洗涤步骤,总共3次。吸出洗涤部分之后,以10mL/min的速率将4mL低pH洗脱缓冲(0.1M甘氨酸;pH 2)填充至器皿,并在温和混合的条件下平衡10分钟,以实现洗脱。10分钟的洗脱之后,将永久Nd磁体手动放置在薄壁器皿附近(例如模仿拾取和放置机器人系统),以将磁体亲和性珠粒吸引至器皿壁,并允许通过抽吸收集洗出液部分。重复洗脱步骤,总共3次。在收集到3次的洗出液部分后,以10mL/min的速率将4mL低pH洗脱缓冲(0.1M甘氨酸;pH 2)填充至器皿,并在温和混合的条件下平衡5分钟,以完全去除任何残留结合的hIgG,开始磁性亲和珠粒的再生。5分钟的残留物洗脱之后,将永久Nd磁体手动放置在薄壁器皿附近(例如模仿拾取和放置机器人系统),以将磁体亲和性珠粒吸引至器皿壁,并允许通过抽吸收集第一再生溶液。收集到第一再生溶液之后,以10mL/min的速率将4mL再生缓冲(0.25M Tris;pH 8.5)填充至器皿,并在温和混合的条件下平衡5分钟,以中和磁性亲和珠粒的pH,并去除任何残留的hIgG和小杂质,再生磁性亲和珠粒。5分钟的再生之后,将永久Nd磁体手动放置在薄壁器皿附近(例如模仿拾取和放置机器人系统),以将磁体亲和性珠粒吸引至器皿壁,并允许通过抽吸收集第二再生溶液。在收集到第二再生溶液后,以10mL/min的速率将4mL第二再生缓冲(0.025M Tris,0.15M NaCl;pH 7)填充至器皿,并在温和混合的条件下平衡5分钟,以缓冲置换磁性亲和珠粒,并使磁性亲和珠粒恢复其初始状态。5分钟的再生之后,将永久Nd磁体手动放置在薄壁器皿附近(例如模仿拾取和放置机器人系统),以将磁体亲和性珠粒吸引至器皿壁,并允许通过抽吸收集缓冲置换溶液。重复缓冲置换步骤,总共2次,以实现磁性亲和珠粒的重复利用。从3个连续处理循环和磁性亲和珠粒回收收集的部分通过BCA进行分光光度分析,并且观察到该部分是稳健且可再生产的(图20A)。从3个连续处理循环和磁性亲和珠粒回收收集的部分进一步通过SDS-PAGE表征,以确认可再生产性并示出纯化hIgG的能力(图20B)。

[1000] 实施例11:来自混合物的多克隆人IGG的基于亲和力的纯化

[1001] 本文所描述的示例性的基于亲和力的纯化模块用于从包含2g/LhIgG(亲和靶)和1g/L溶菌酶(小杂质)的混合物中纯化hIgG。经由盖系统将四毫升包含8mg hIgG和4mg溶菌酶的结合/洗涤缓冲(0.025M Tris,0.15M NaCl;pH7)的混合物以10mL/min的速度添加至包含基底玻璃粉且装有500 μ L沉降的高亲和性蛋白A琼脂糖(90 μ m,动态结合能力>35mg hIgG/mL沉降树脂)的器皿中,并在温和混合的条件下平衡30分钟,以实现结合。在30分钟的结合平衡之后,在约1psi下将压缩空气引入器皿,从而允许通过压力驱动流穿过收集包含未结合的hIgG和小杂质的溶液。收集完成后,以10mL/min的速率将4mL结合/洗涤缓冲(0.025M Tris,0.15M NaCl;pH7)填充至器皿,并在温和混合的条件下平衡5分钟,以实现洗涤。5分钟的洗涤之后,在约1psi下将压缩空气引入器皿,从而允许通过压力驱动流穿过收集洗涤溶液。重复洗涤步骤,总共3次。收集到3次的洗脱部分之后,以10mL/min的速率将4mL低pH洗脱缓冲(0.1M甘氨酸;pH 2)填充至器皿,并在温和混合的条件下平衡10分钟,以实现洗脱。10分钟的洗脱之后,在约1psi下将压缩空气引入器皿,从而允许通过压力驱动流穿过收集洗出液部分。重复洗脱步骤总共3次。收集到3次的洗出液部分之后,以10mL/min的速率将4mL低pH洗脱缓冲(0.1M甘氨酸;pH 2)填充至器皿,并在温和混合的条件下平衡5分钟,以

完全去除任何残留结合的hIgG,从而开始亲和树脂珠粒的再生。5分钟的残留物洗脱之后,在约1psi下将压缩空气引入器皿,从而允许收集第一再生溶液。收集到第一再生溶液之后,以10mL/min的速率将4mL再生缓冲(0.25M Tris;pH 8.5)填充至器皿,并在温和混合的条件下平衡5分钟,以中和亲和树脂珠粒的pH,并去除任何残留的hIgG和小杂质,以再生亲和树脂珠粒。5分钟的再生之后,在约1psi下将压缩空气引入器皿,从而允许收集第二再生溶液。在收集到第二再生溶液后,以10mL/min的速率将4mL第二再生缓冲(0.025M Tris,0.15M NaCl;pH 7)填充至器皿,并在温和混合的条件下平衡5分钟,以缓冲置换亲和树脂珠粒,使亲和树脂珠粒恢复其初始状态。5分钟的再生之后,在约1psi下将压缩空气引入器皿,从而允许收集第一再生溶液。重复缓冲置换步骤,总共2次,以实现亲和树脂珠粒的重复利用。从3个连续处理循环和磁性亲和珠粒回收收集的部分通过BCA进行分光光度分析,并且观察到该部分是稳健且可再生产的(图27A)。从3个连续处理循环和磁性亲和珠粒回收收集的部分进一步通过SDS-PAGE表征,以确认可再生产性并示出纯化hIgG的能力(图27B)。

[1002] 实施例12:使用基于等电点的流体纯化模块通过高流速等电聚焦自由流电泳分离小分子

[1003] 将若丹明6G (0.25mg/mL) 和荧光素 (0.25mg/mL) 的混合物引入示例性自由流电泳设备的中心入口(入口3),该设备包括阳极通道(H_2SO_4)、阴极通道(NaOH),以及具有五个入口和五个出口的主分离通道,两性电解质溶液在主分离通道内流动,并且主分离通道被设计为在施加电压下实现pH2至pH12之间的稳定线性pH梯度,从而能够在等电聚焦模式下操作;去泡和脱气系统,用于实现连续长期操作;以及主动冷却系统(具有冷循环乙二醇/水的热卡盘),用于通过底板去除焦耳热并将温度维持在4°C至37°C之间。当不施加电压时,混合物按照层流流动,并且在中心出口(出口3)处离开设备(图40A和40B)。当跨两性电解质和样品输入流速为10mL/min的主分离通道施加1000V的电压时,形成线性pH梯度,并且若丹明6G和荧光素分别迁移至阴极和阳极,与理论电泳迁移率预测(图40C和40D)一致。对从出口2和出口4收集的的部分的分光光度分析显示,分别存在纯化的若丹明6G和纯化的荧光素(图40E)。

[1004] 实施例13:利用基于等电点的流体纯化模块,通过高流速等速电泳分离小分子

[1005] 将若丹明6G (0.25mg/mL) 和荧光素 (0.25mg/mL) 的混合物引入示例性自由流电泳设备的中心入口(入口3),该设备包括阳极通道(H_2SO_4)、阴极通道(NaOH)和具有五个入口和五个出口的主分离通道,碱性两性电解质溶液(入口1和2)、间隔溶液(入口3)和酸性两性电解质溶液(入口4和5)在主分离通道内流动,从而能够在等电聚焦模式下操作;去泡和脱气系统,用于实现连续长期操作;以及主动冷却系统(具有冷循环乙二醇/水的热卡盘),用于通过底板去除焦耳热并将温度维持在4°C至37°C之间。当不施加电压时,混合物按照层流流动,并且在中心出口(出口3)处离开设备。当跨两性电解质和样品输入流速为5mL/min的主分离通道施加250V的电压时,若丹明6G和荧光素分别迁移至阴极和阳极,形成高度聚焦、高度浓缩和高度分辨的条带(图44A和44B)。

[1006] 实施例14:使用基于等电点的流体纯化模块通过高流速等电聚焦自由流电泳分离碱性和酸性小分子

[1007] 将碱性品红 (0.05mg/mL) 和荧光素 (0.25mg/mL) 或结晶紫 (0.05mg/mL) 和荧光素 (0.25mg/mL) 的混合物引入示例性自由流电泳设备的中心入口(入口3),该设备包括阳极通

道(H_2SO_4)、阴极通道(NaOH)和具有五个入口和五个出口的主分离通道,两性电解质溶液在主分离通道内流动,并且主分离通道被设计为在施加电压下实现pH2至pH12之间的稳定线性pH梯度,从而能够在等电聚焦模式下操作;去泡和脱气系统,用于实现连续长期操作;以及主动冷却系统(具有冷循环乙二醇/水的热卡盘),用于通过底板去除焦耳热并将温度维持在4℃至37℃之间。当不施加电压时,混合物按照层流流动,并且在中心出口(出口3)处离开设备。当跨两性电解质和样品输入流速为5mL/min的主分离通道施加500V的电压时,形成线性pH梯度,并且碱性品红和荧光素分别迁移至阴极和阳极,与理论电泳迁移率预测(图42A)一致。类似地,当跨两性电解质和样品输入流速为5mL/min的主分离通道施加500V的电压时,形成线性pH梯度,并且结晶紫和荧光素分别迁移至阴极和阳极,与理论电泳迁移率预测(图42B)一致。

[1008] 实施例15:增大电场对使用基于等电点的流体纯化模块通过高流速等电聚焦自由流电泳分离碱性和酸性小分子的影响

[1009] 将碱性品红(0.005mg/mL)和荧光素(0.25mg/mL)的混合物引入示例性自由流电泳设备的中心入口(入口3),该设备包括具有五个入口和十个出口的主分离通道,两性电解质溶液在主分离通道内流动,并且主分离通道被设计为在施加电压下实现pH2至pH12之间的稳定线性pH梯度,从而能够在等电聚焦模式下操作,阳极和阴极通道中流动的两性电解质与分离通道中的两性电解质相同;去泡和脱气系统,用于实现连续长期操作;液体断路器;以及主动冷却系统(具有冷循环乙二醇/水的热卡盘),用于通过底板去除焦耳热并将温度维持在4℃至37℃之间。当不施加电压时,混合物按照层流流动,并且在中心出口(出口4和5)处离开设备(图43A)。当跨两性电解质和样品输入流速为5mL/min的主分离通道施加电压时,形成线性pH梯度,并且碱性品红和荧光素分别迁移至阴极和阳极,与理论电泳迁移率预测(图43B至43D)一致。当施加电压从600V(图43B)增加至900V(图43C)再增加至1100V(图43D),使得电场强度增大时,观察到两个分子的分离在主分离通道的长度上成比例地增加。

[1010] 实施例16:使用基于等电点的流体纯化模块通过高流速等电聚焦自由流电泳分离碱性和酸性蛋白质

[1011] 将BSA(0.5mg/mL, pI为4-5)和溶菌酶(0.25mg/mL, pI为11)的混合物引入示例性自由流电泳设备的中心入口(入口3),该设备包括阳极通道(H_2SO_4)、阴极通道(NaOH),以及具有五个入口和五个出口的主分离通道,两性电解质溶液在主分离通道内流动,并且主分离通道被设计为在施加电压下实现pH2至pH12之间的稳定线性pH梯度,从而能够在等电聚焦模式下操作;去泡和脱气系统,用于实现连续长期操作;以及主动冷却系统(具有冷循环乙二醇/水的热卡盘),用于通过底板去除焦耳热并将温度维持在4℃至37℃之间。当不施加电压时,混合物按照层流流动,并且在中心出口(出口3)处离开设备(图45A和45B)。当跨两性电解质和样品输入流速为10mL/min的主分离通道施加850V的电压时,形成线性pH梯度,并且溶菌酶和BSA分别迁移至阴极和阳极(图45C和45D),与理论电泳迁移率预测(图45E)一致。

[1012] 实施例17:使用基于等电点的流体纯化模块通过高流速等电聚焦自由流电泳分离人多克隆IGG

[1013] 将hIgG(0.5mg/mL, pI为6-8)和溶菌酶(0.25mg/mL, pI为11)的混合物引入示例性自由流电泳设备的中心入口(入口3),该设备包括阳极通道(H_2SO_4)、阴极通道(NaOH),以及

具有五个入口和五个出口的主分离通道,两性电解质溶液在主分离通道内流动,并且主分离通道被设计为在施加电压下实现pH2至pH12之间的稳定线性pH梯度,从而能够在等电聚焦模式下操作;去泡和脱气系统,用于实现连续长期操作;以及主动冷却系统(具有冷循环乙二醇/水的热卡盘),用于通过底板去除焦耳热并将温度维持在4℃至37℃之间。当不施加电压时,混合物按照层流流动,并且在中心出口(出口3)处离开设备(图46A和46C)。当跨两性电解质和样品输入流速为5mL/min的主分离通道施加1000V的电压时,形成线性pH梯度,并且观察到溶菌酶迁移至阴极(图46A和46C),与理论电泳迁移率预测(图46B)一致。将施加电压增加到1500V使得溶菌酶向阴极的迁移增加。施加电压的这种增加还导致hIgG向阴极和阳极迁移(图46A和46C),与多克隆抗体固有的pI范围的理论电泳迁移率预测(图46B)一致。

[1014] 其它实施例

[1015] 虽然已经结合本发明的详细描述对本发明进行了描述,但上述描述旨在说明而不是限制本发明的范围,本发明的范围由所附权利要求的范围限定。其它方面、优点和修改均在所附权利要求的范围内。

[1016] 本文所引用的专利和科学文献确立了本领域技术人员可获得的知识。所有参考文献,例如美国专利、美国专利申请公开、指定美国的PCT专利申请、公开的外国专利和本文引用的专利申请,均以引用方式整体并入本文。本文引用的登录号所示的Genbank和NCBI提交通过引用并入本文。本文引用的所有其它公开参考文献、文件、手稿和科学文献均以引用方式并入本文。在冲突的情况下,以本说明书(包括定义)为准。此外,材料、方法和示例仅仅是说明性的,并非旨在是限制性的。

[1017] 虽然本发明已经参照优选实施例特别示出并描述,但本领域技术人员应当理解,可以在不偏离由所附权利要求所限定的本发明范围的情况下对本发明进行形式和细节上的各种变化。

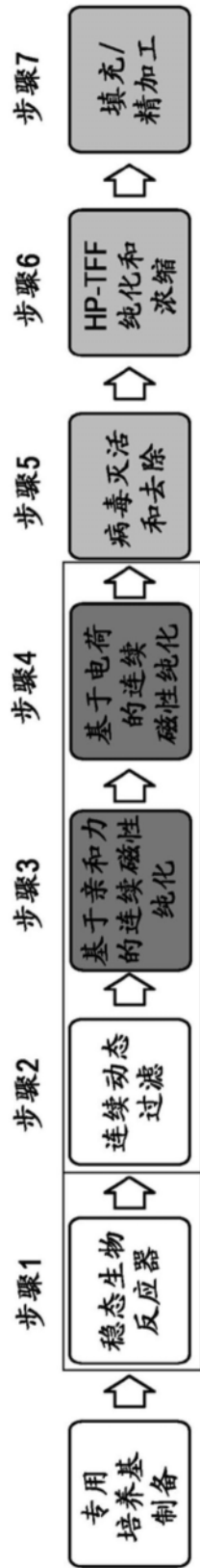


图1A



图1B



图1C



图1D

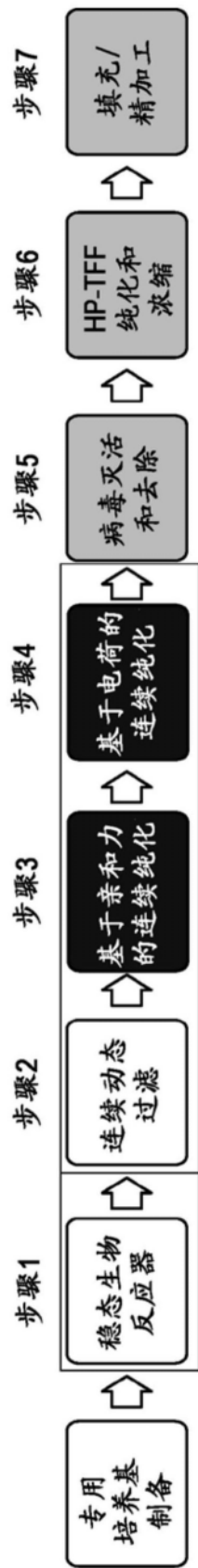


图 2A



图 2B



图 2C



图 2D

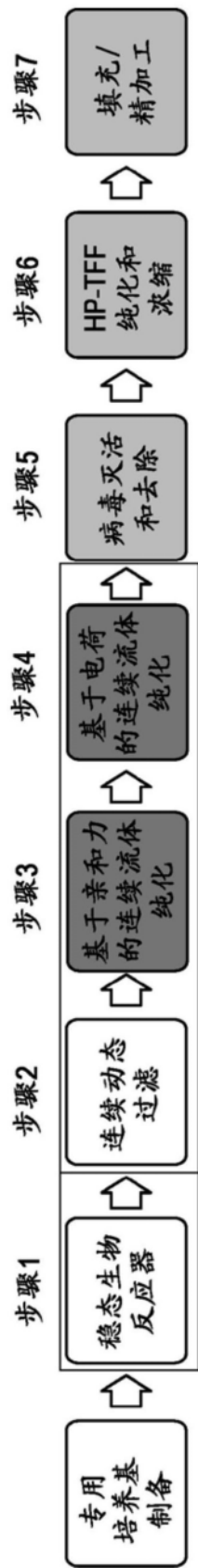


图 3A



图 3B

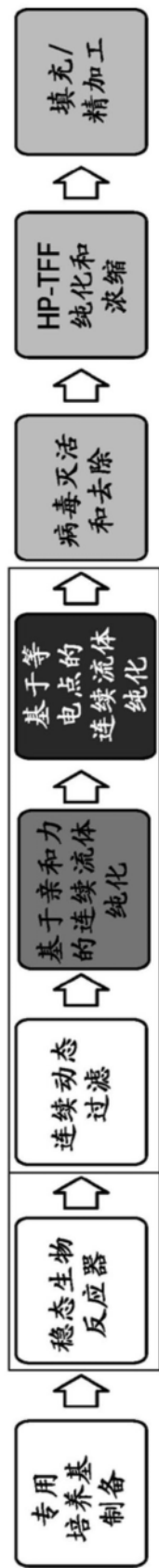


图 3C



图 3D

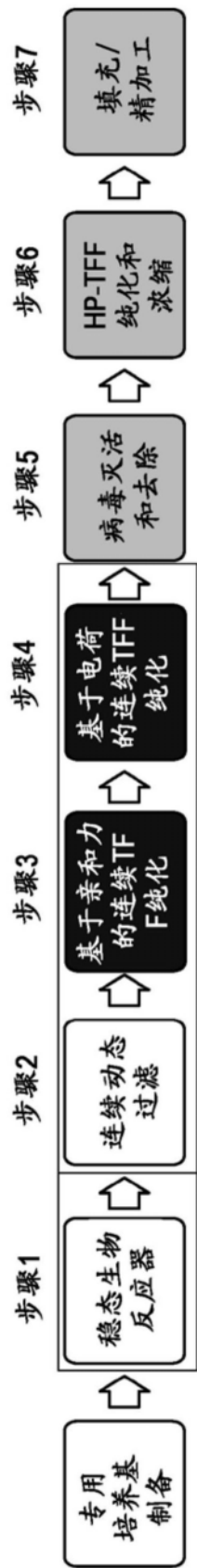


图 4A



图 4B



图 4C



图 4D

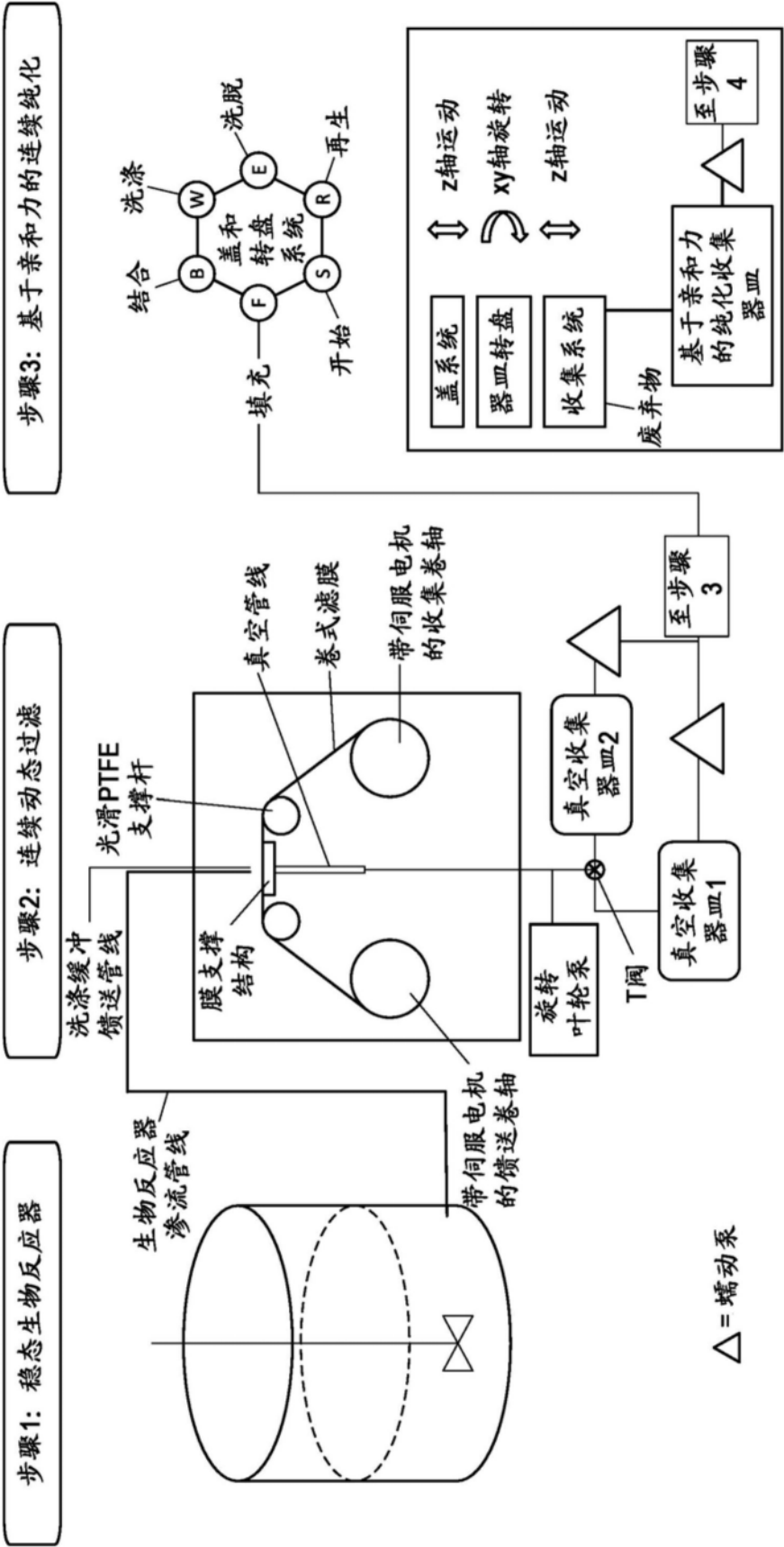


图5A

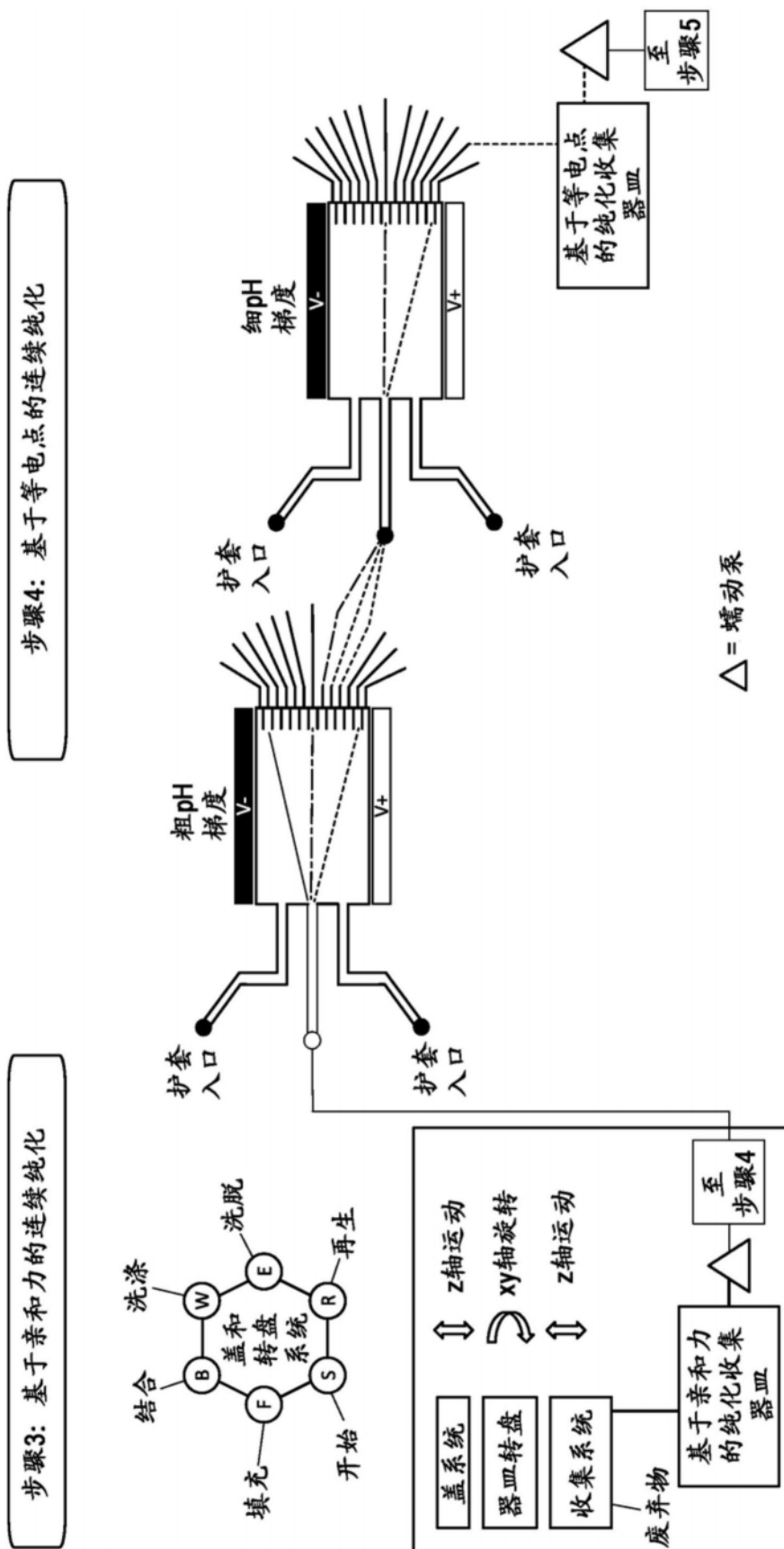


图5B

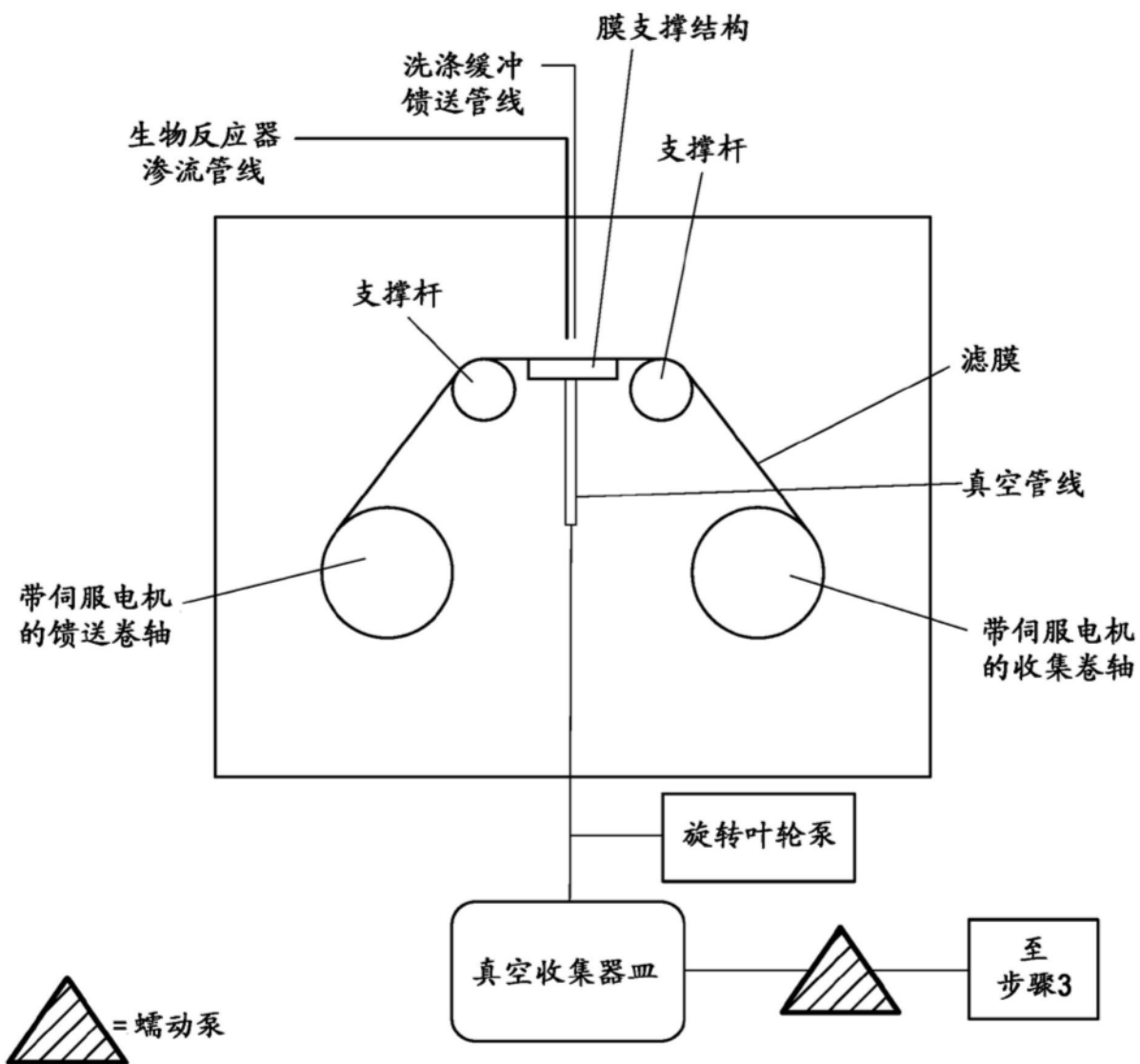


图6A

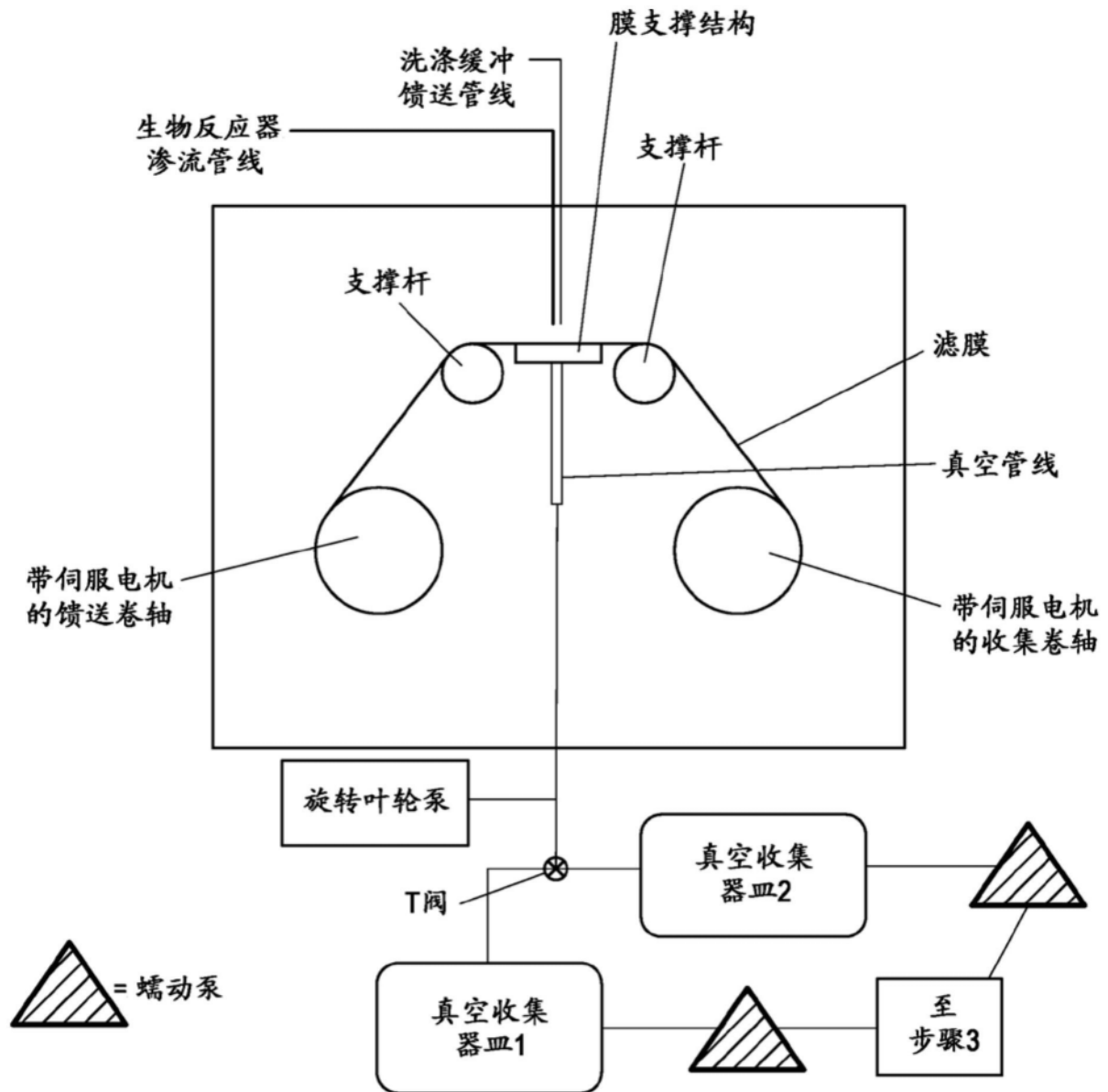


图6B

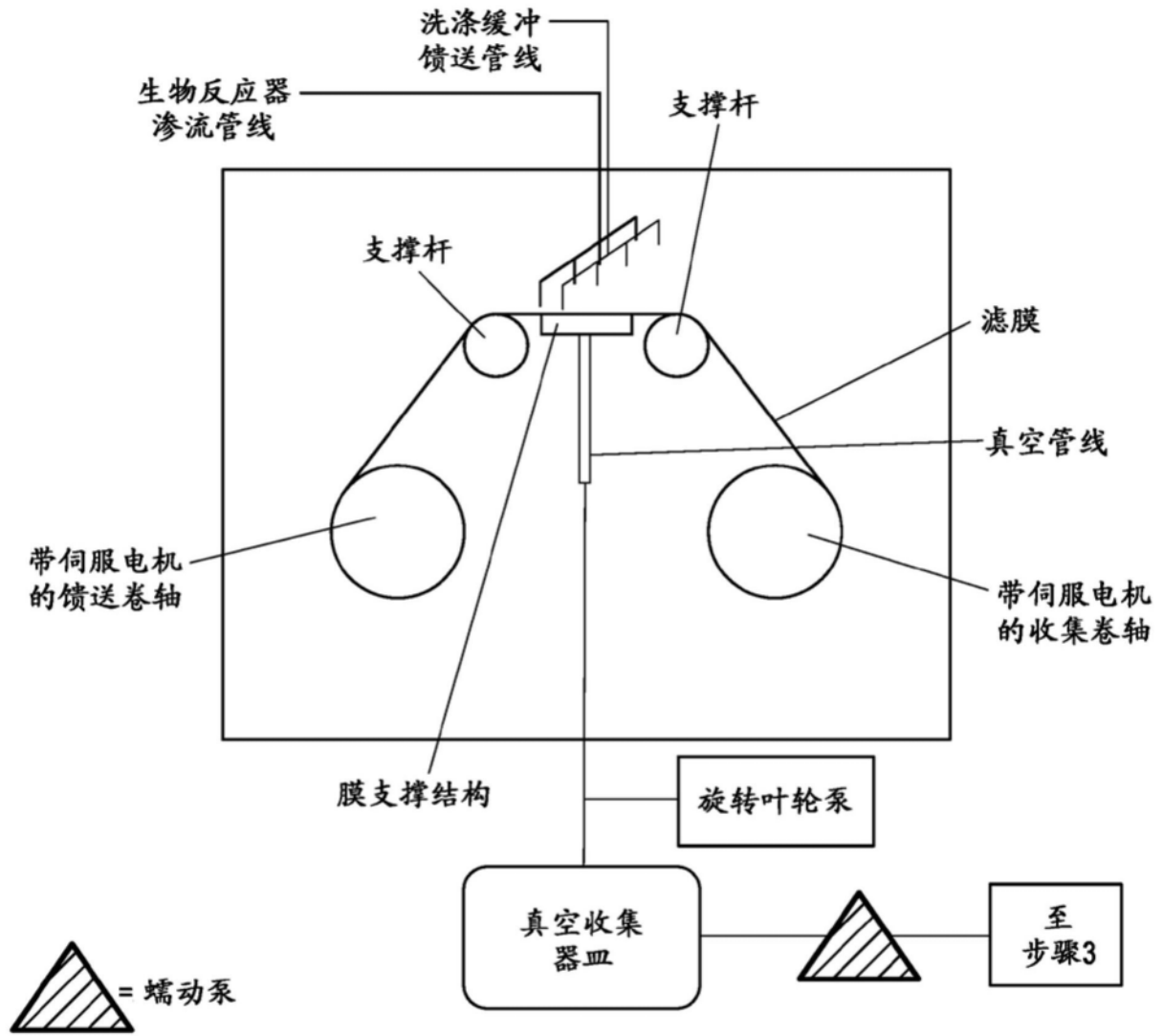


图7A

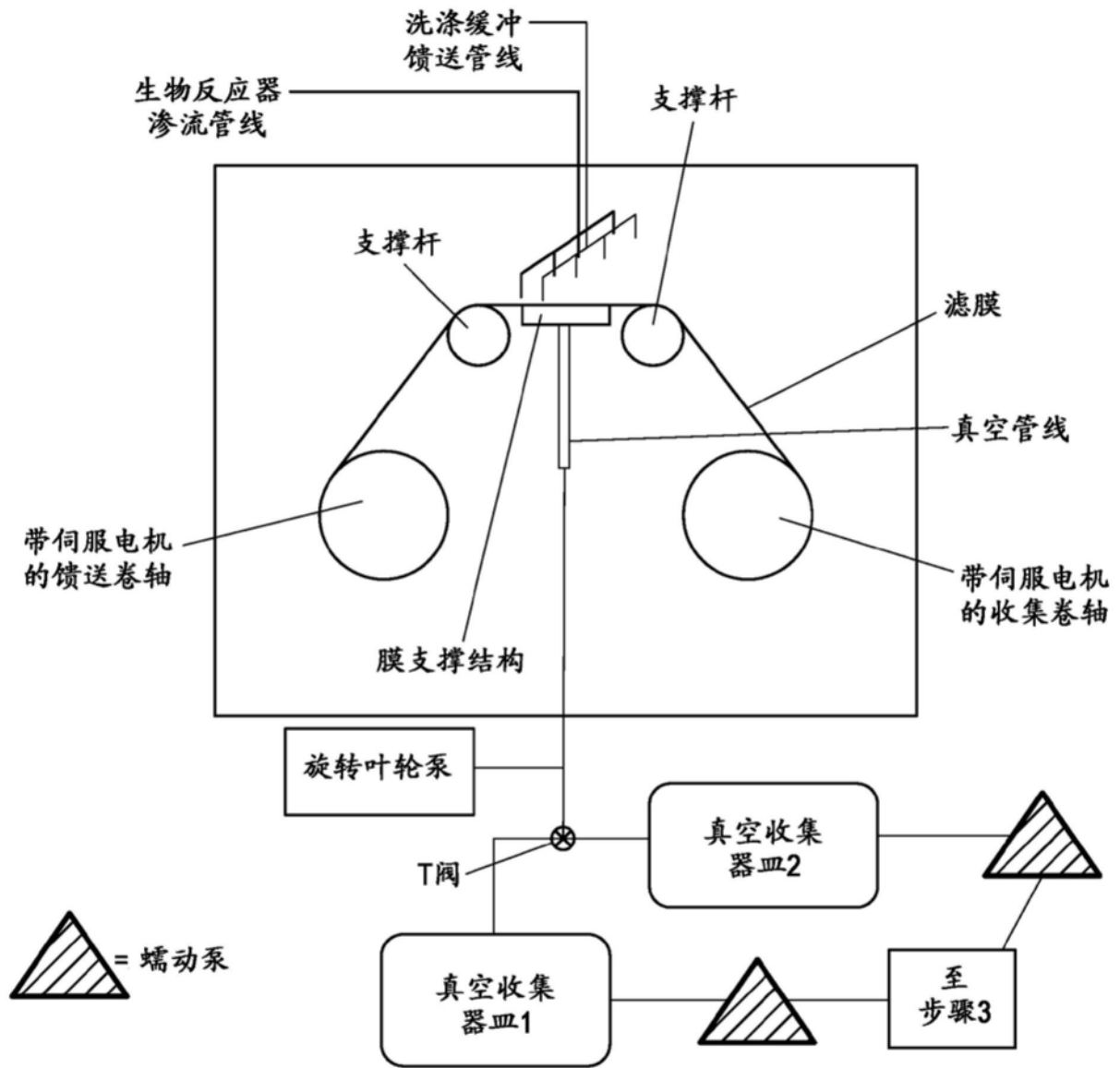


图7B

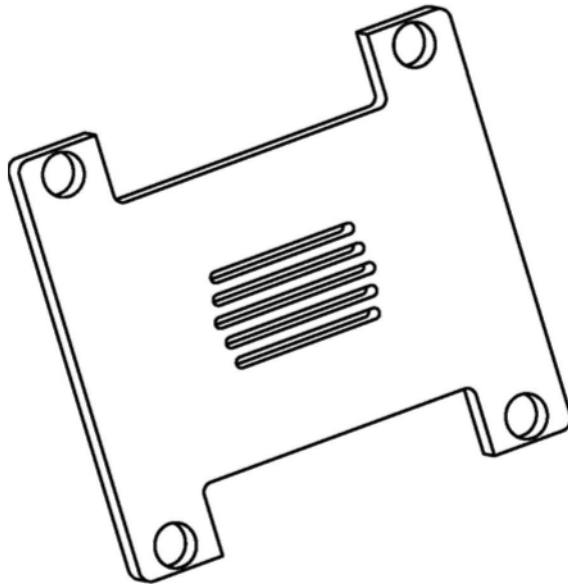
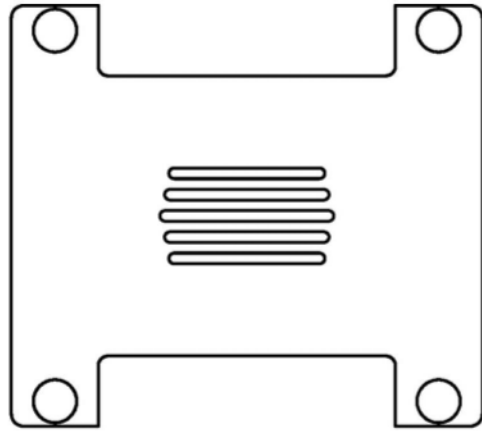


图8

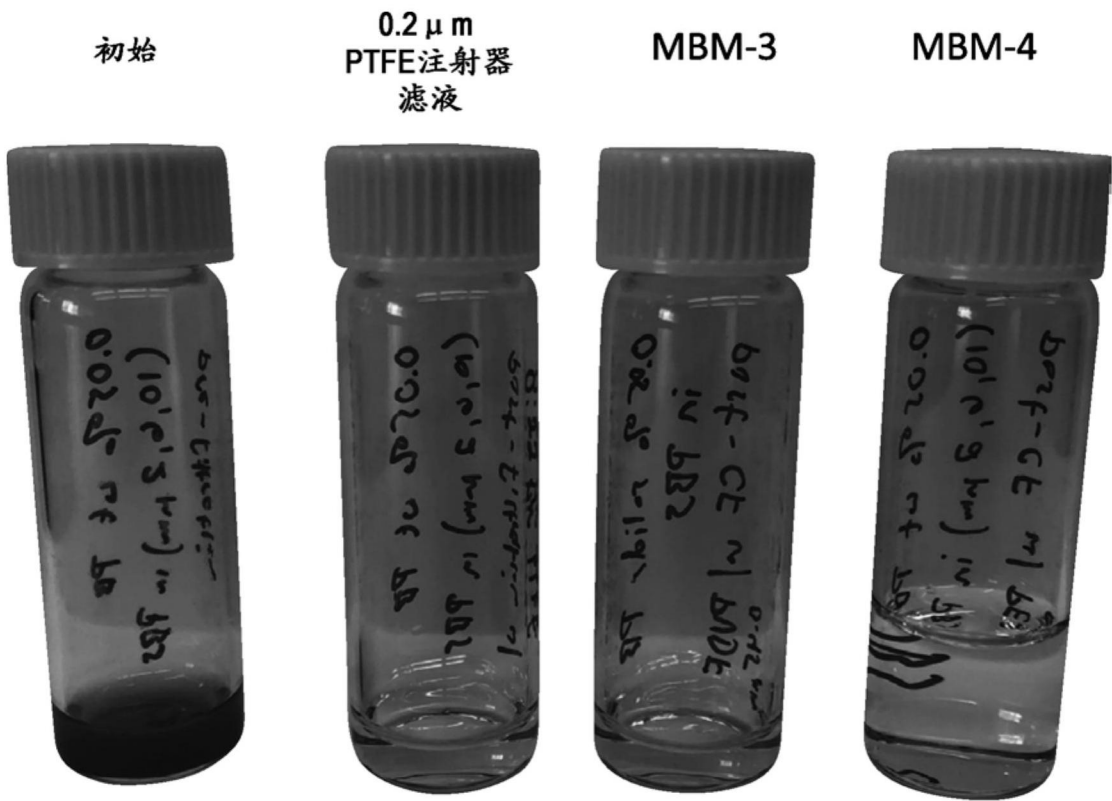


图9A

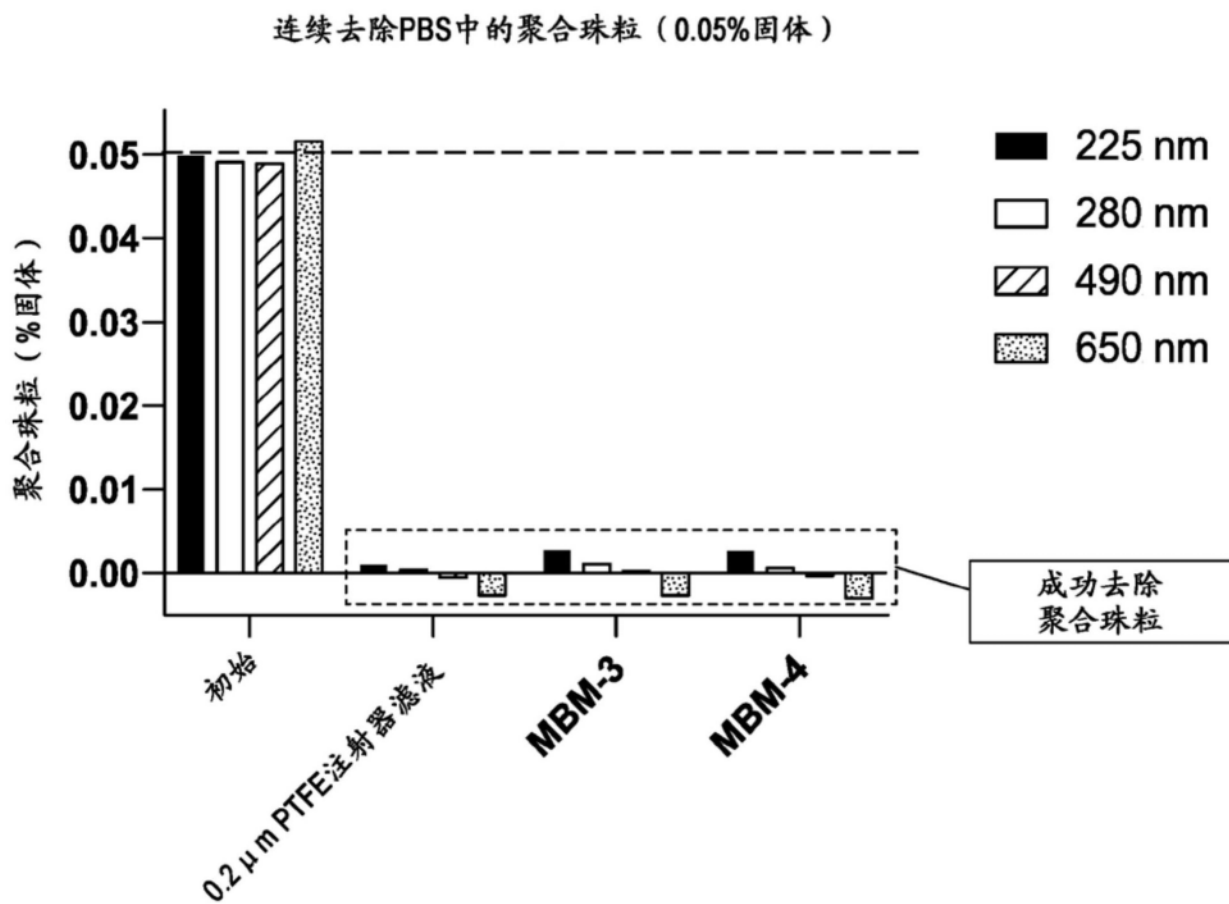


图9B

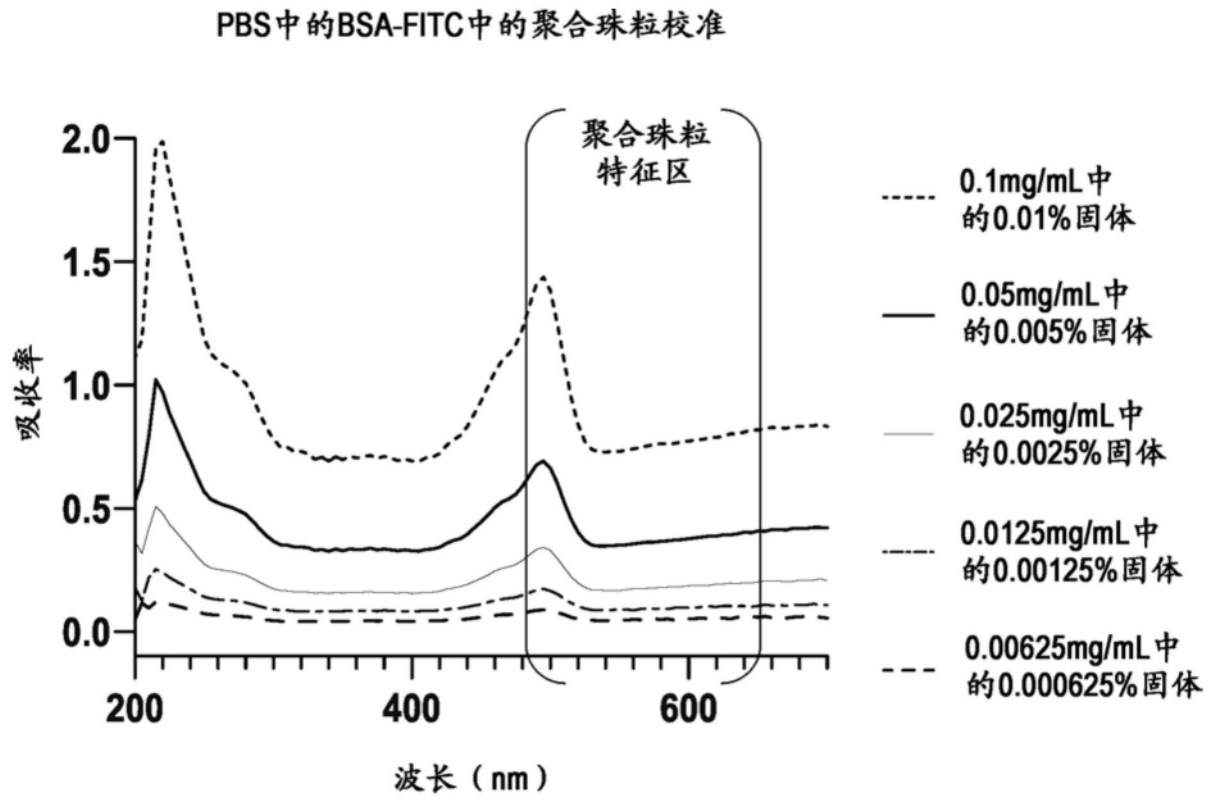


图10A

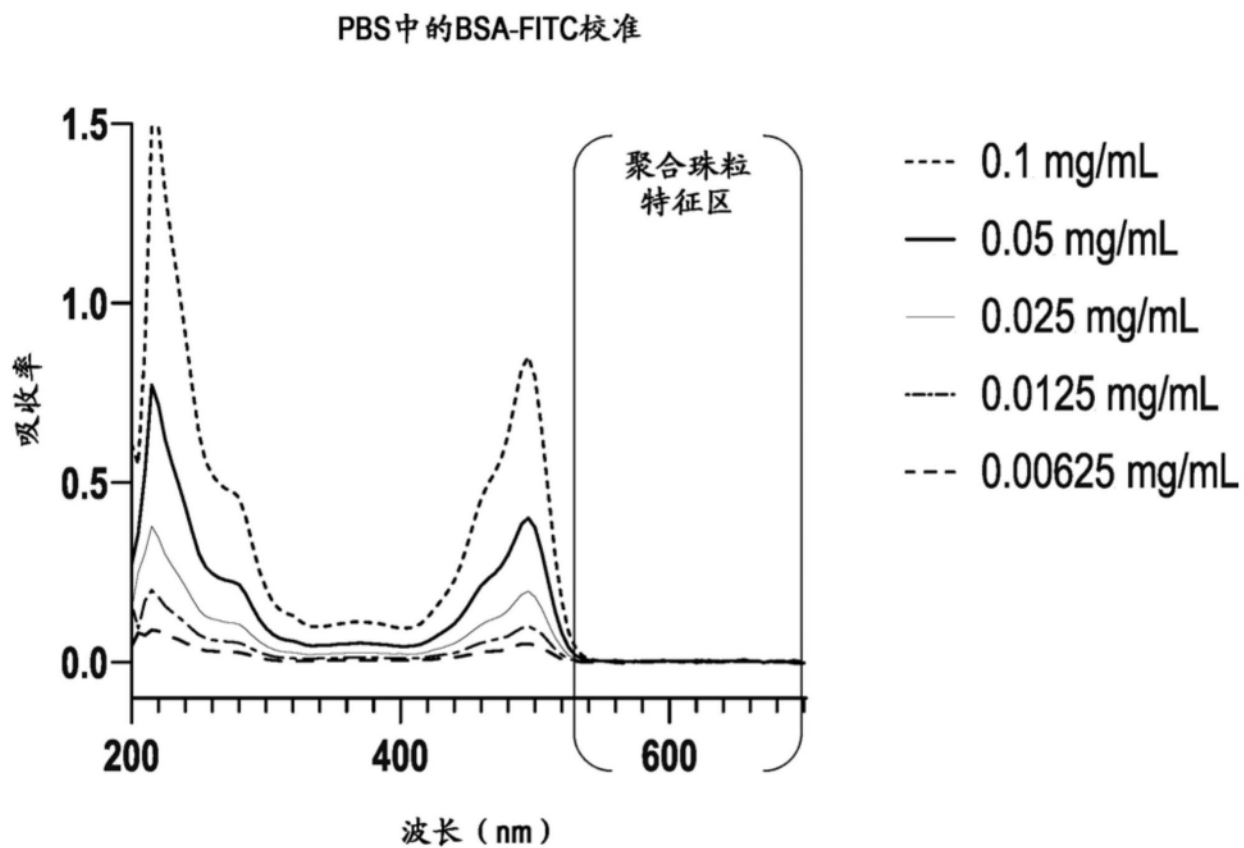


图10B

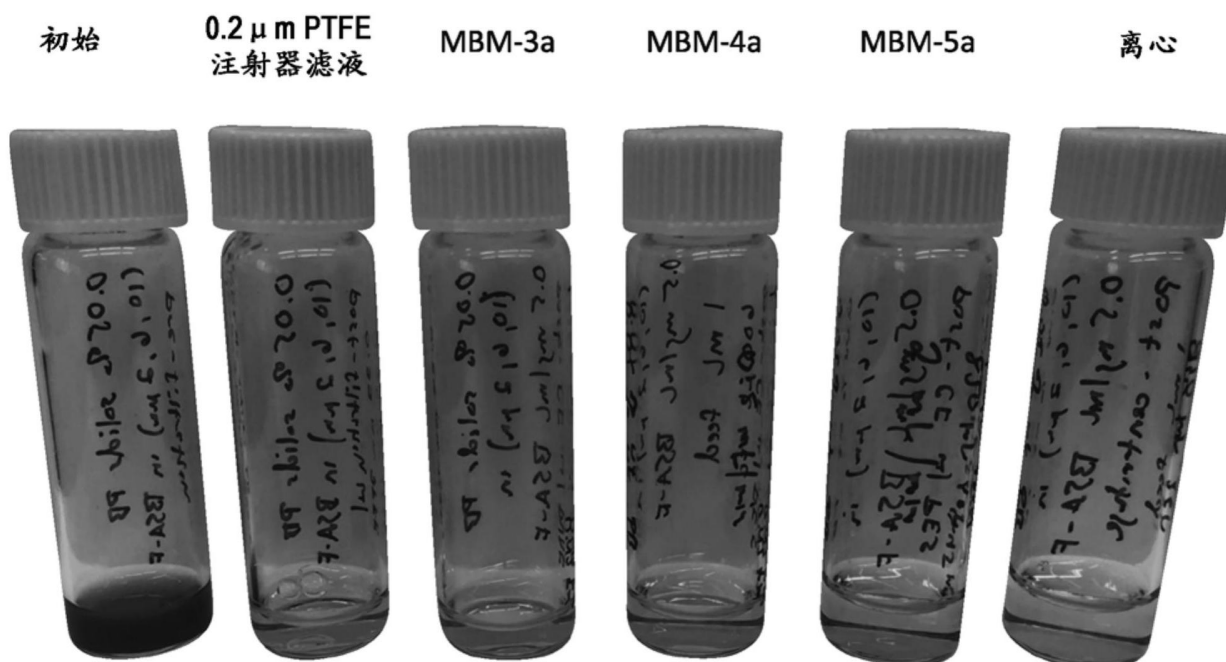


图10C

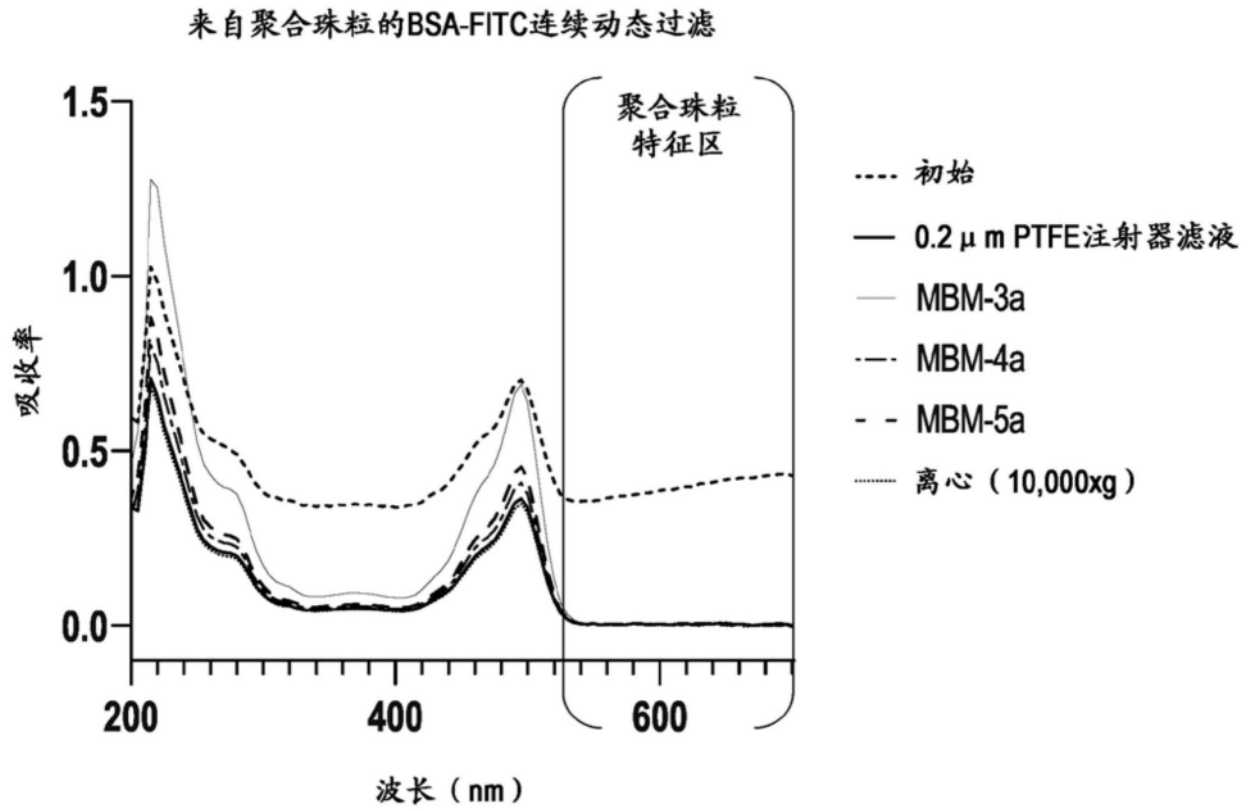


图10D

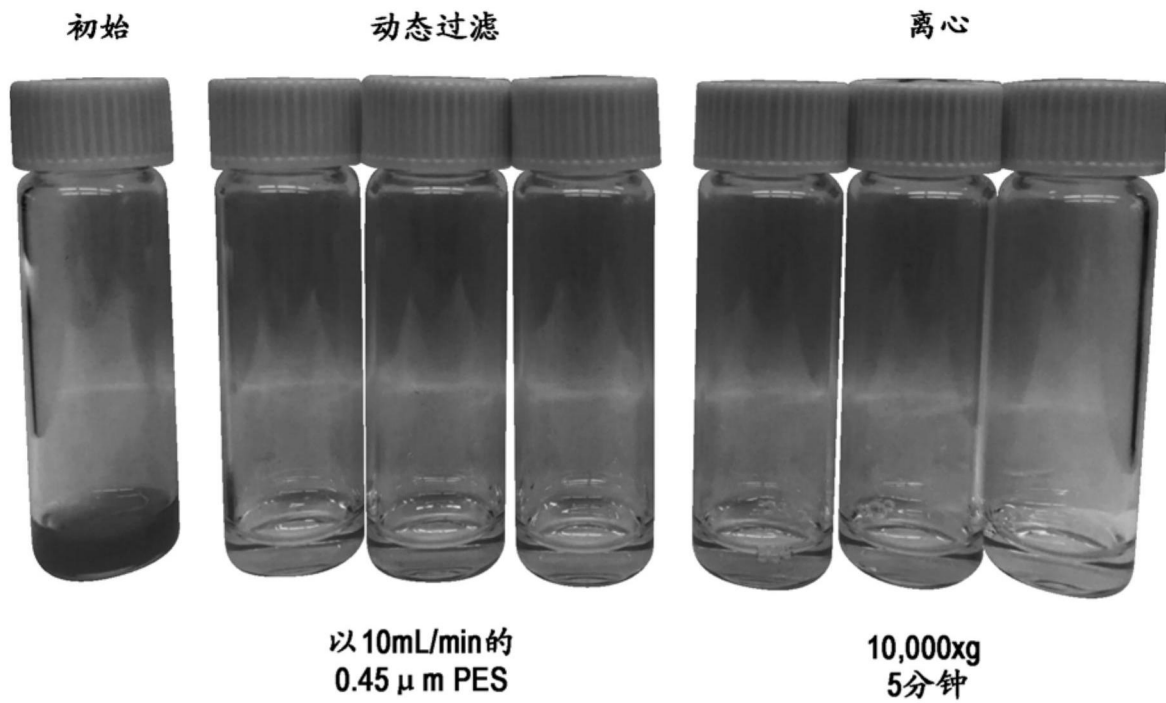


图11A

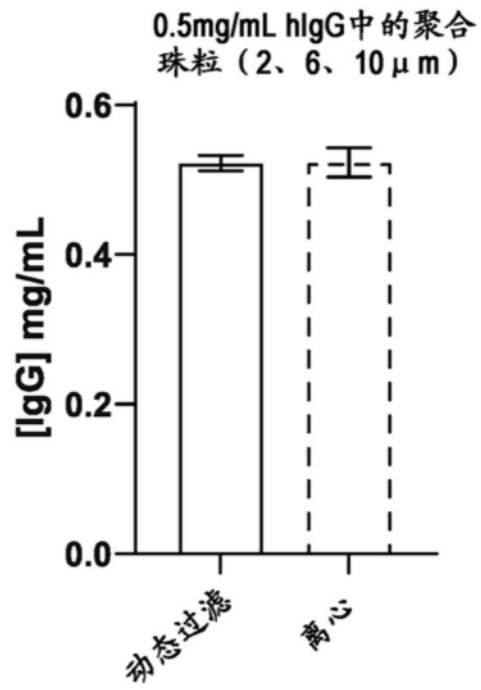


图11B

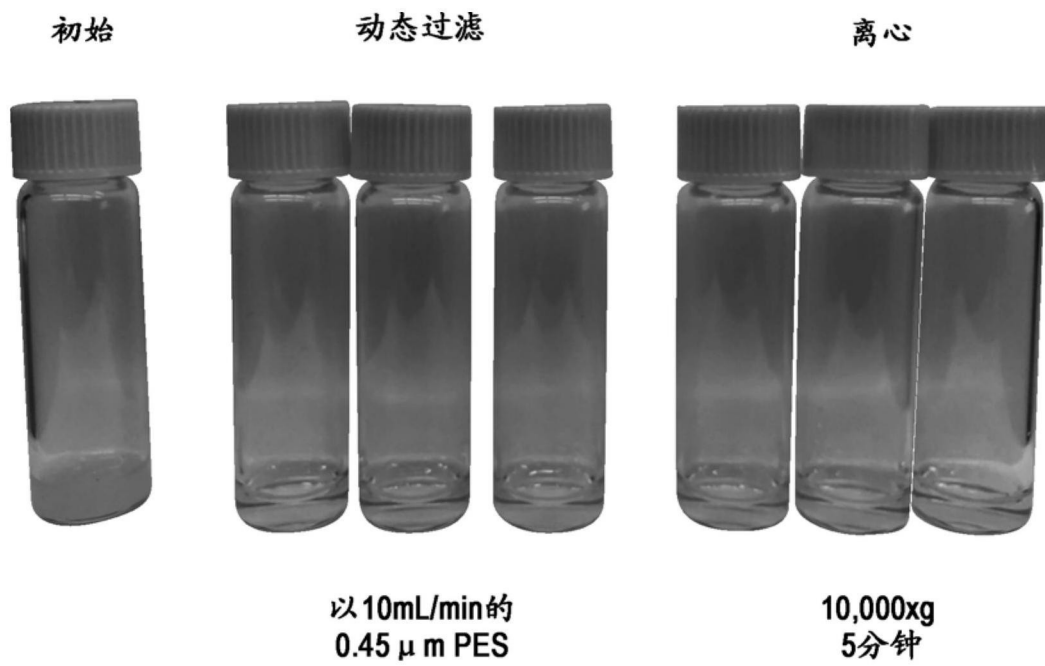


图11C

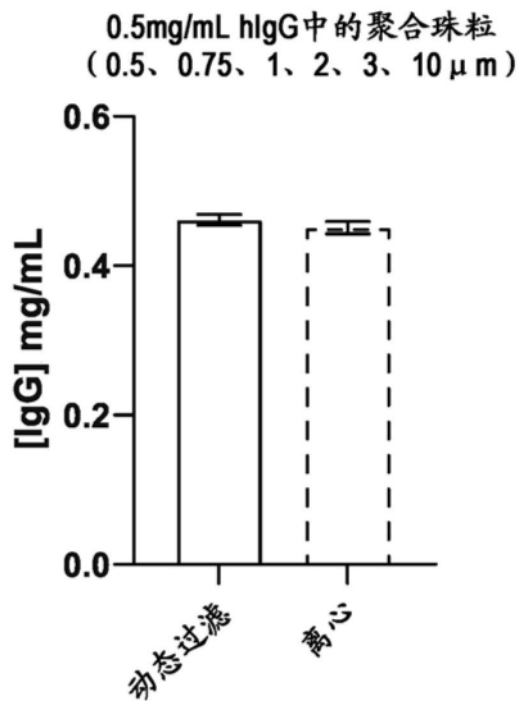


图11D

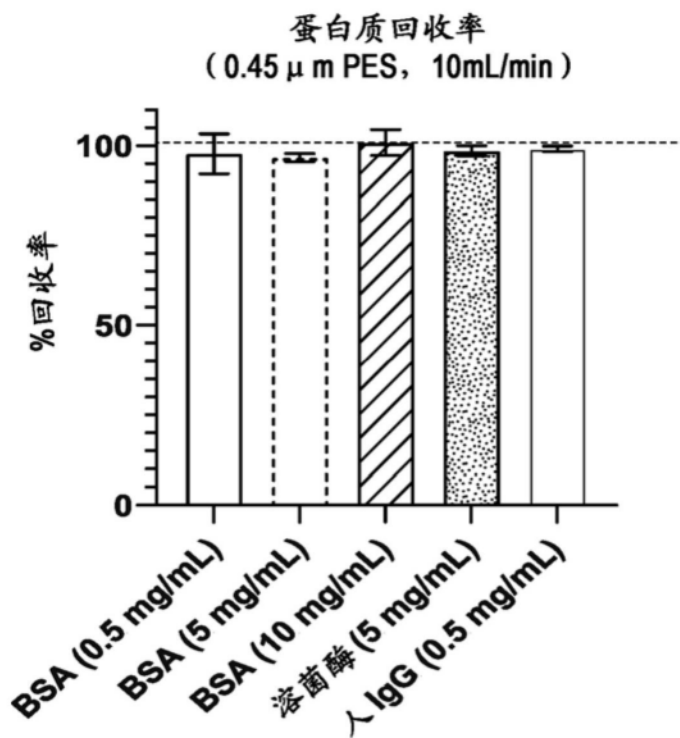


图12A

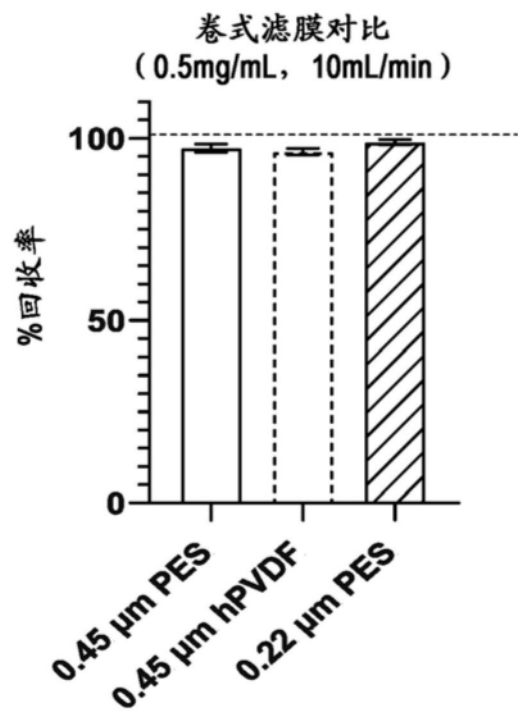


图12B

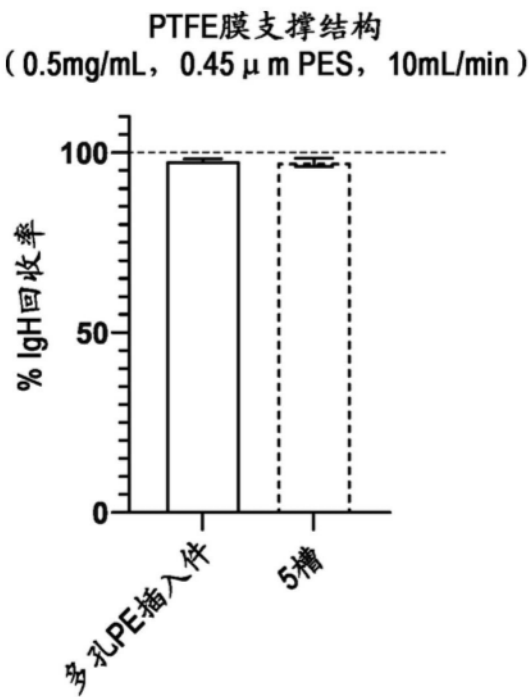


图12C

连续动态过滤
(0.5mg/mL, 25分钟, 0.45 μ m PES)

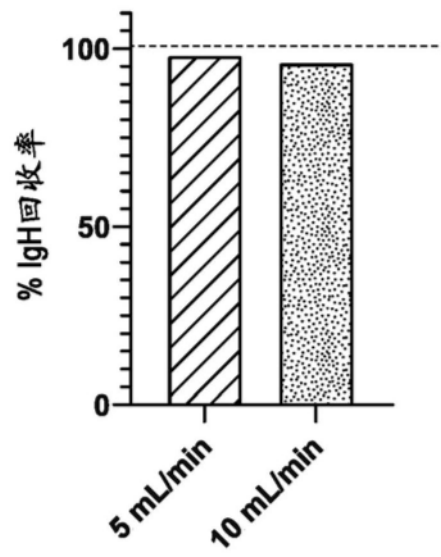


图12D

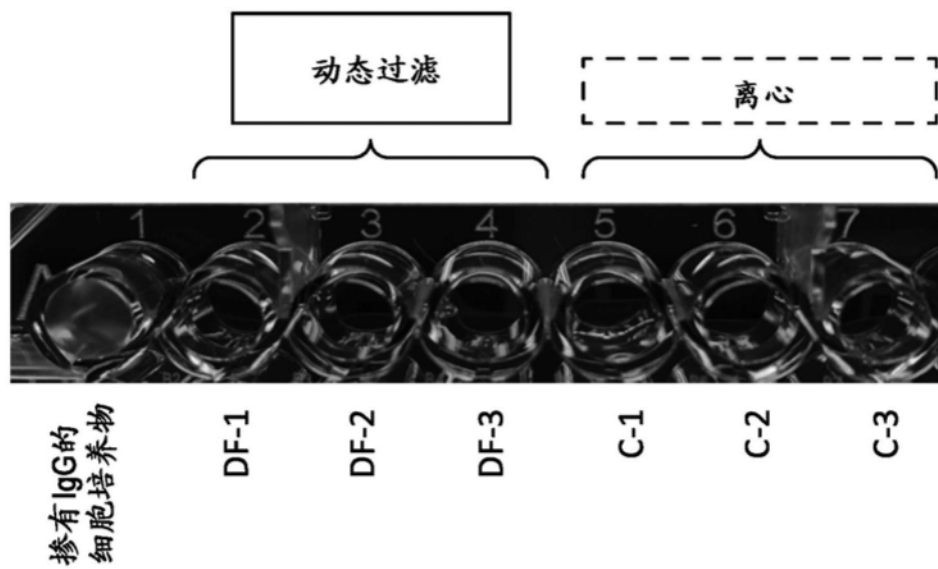


图13A

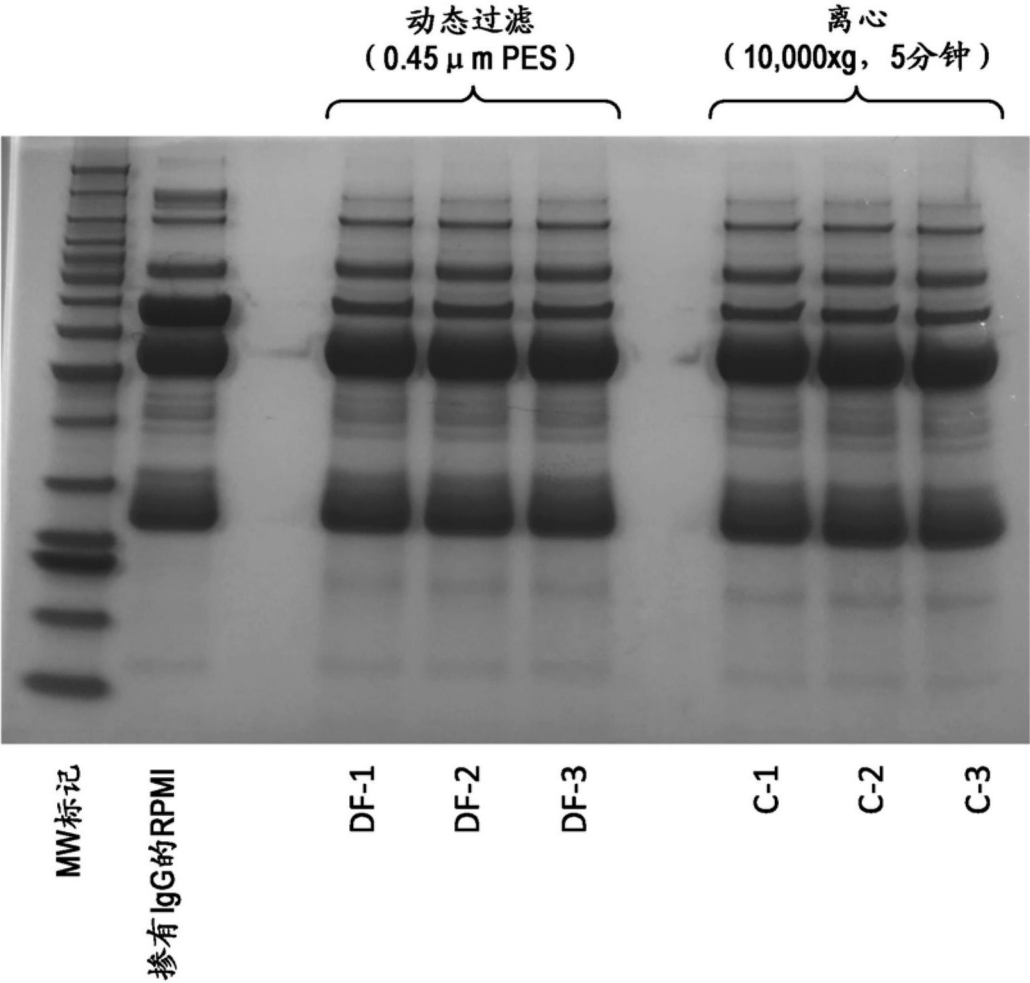


图13B

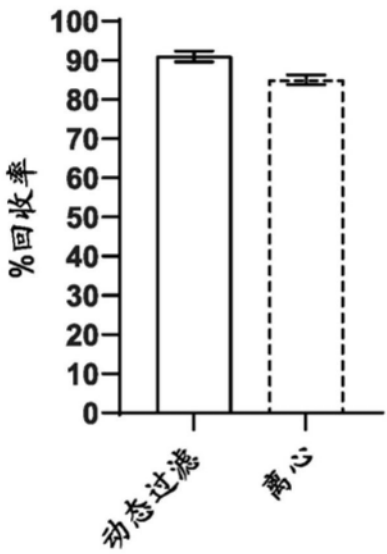


图13C

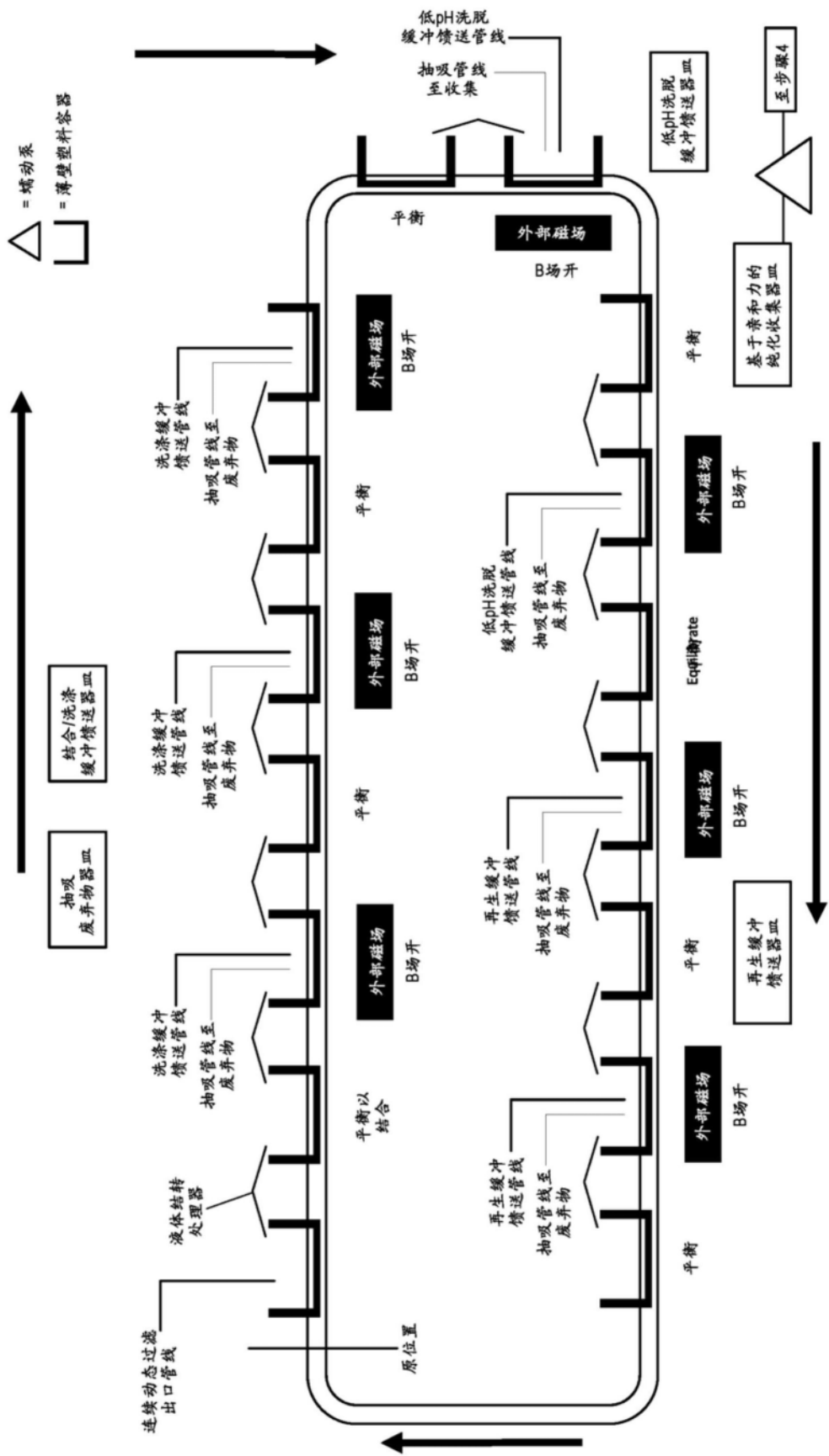


图14

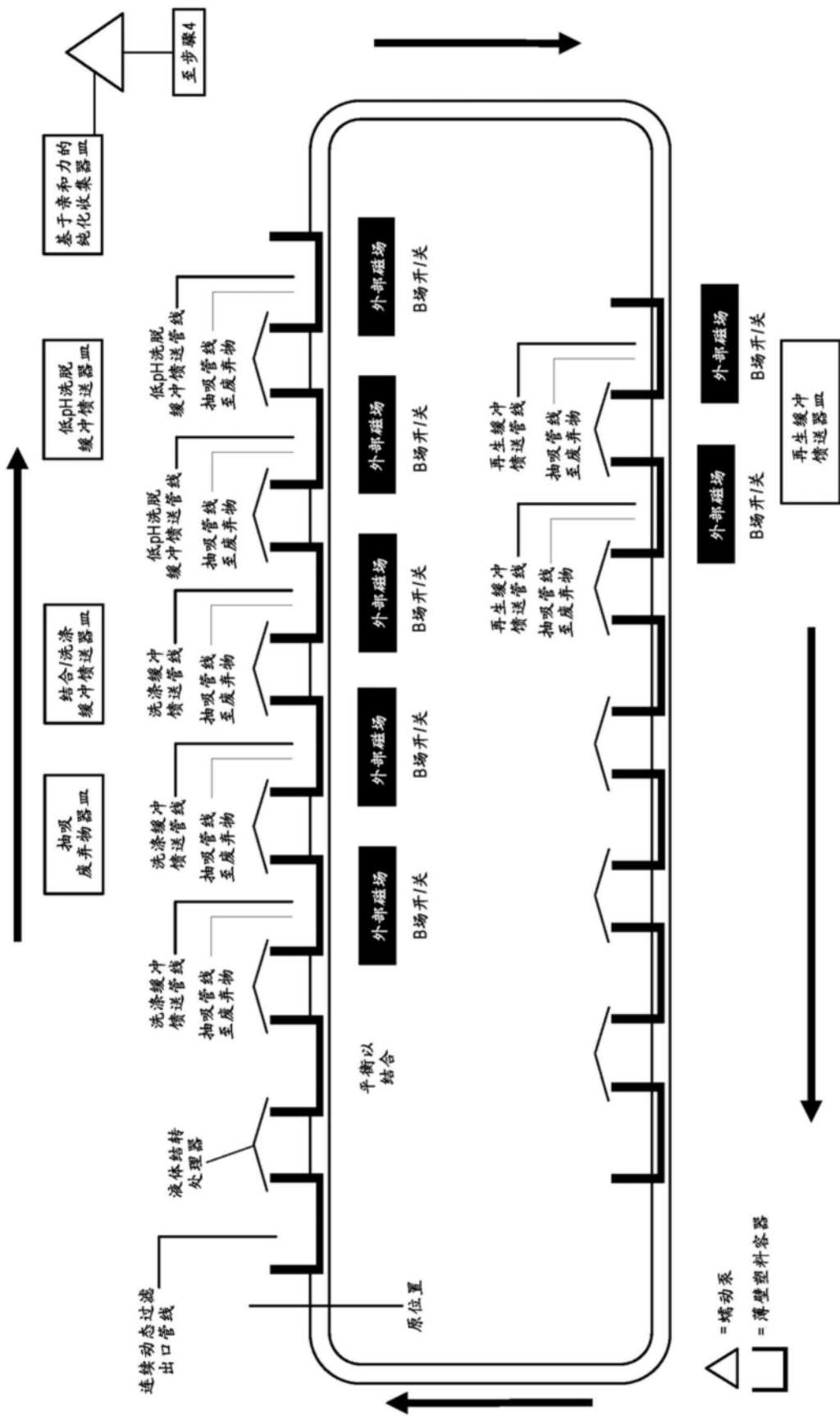


图15

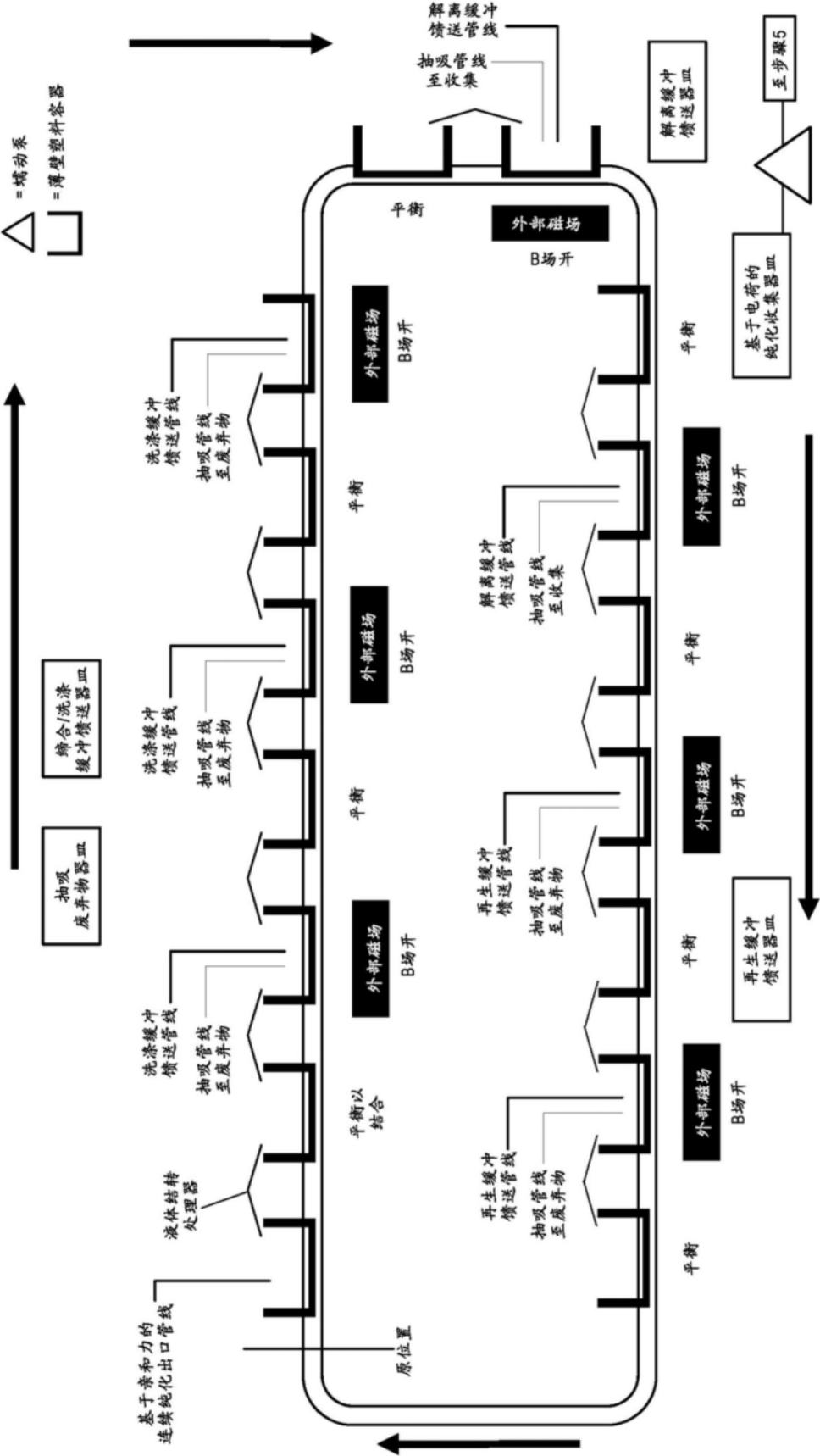


图16

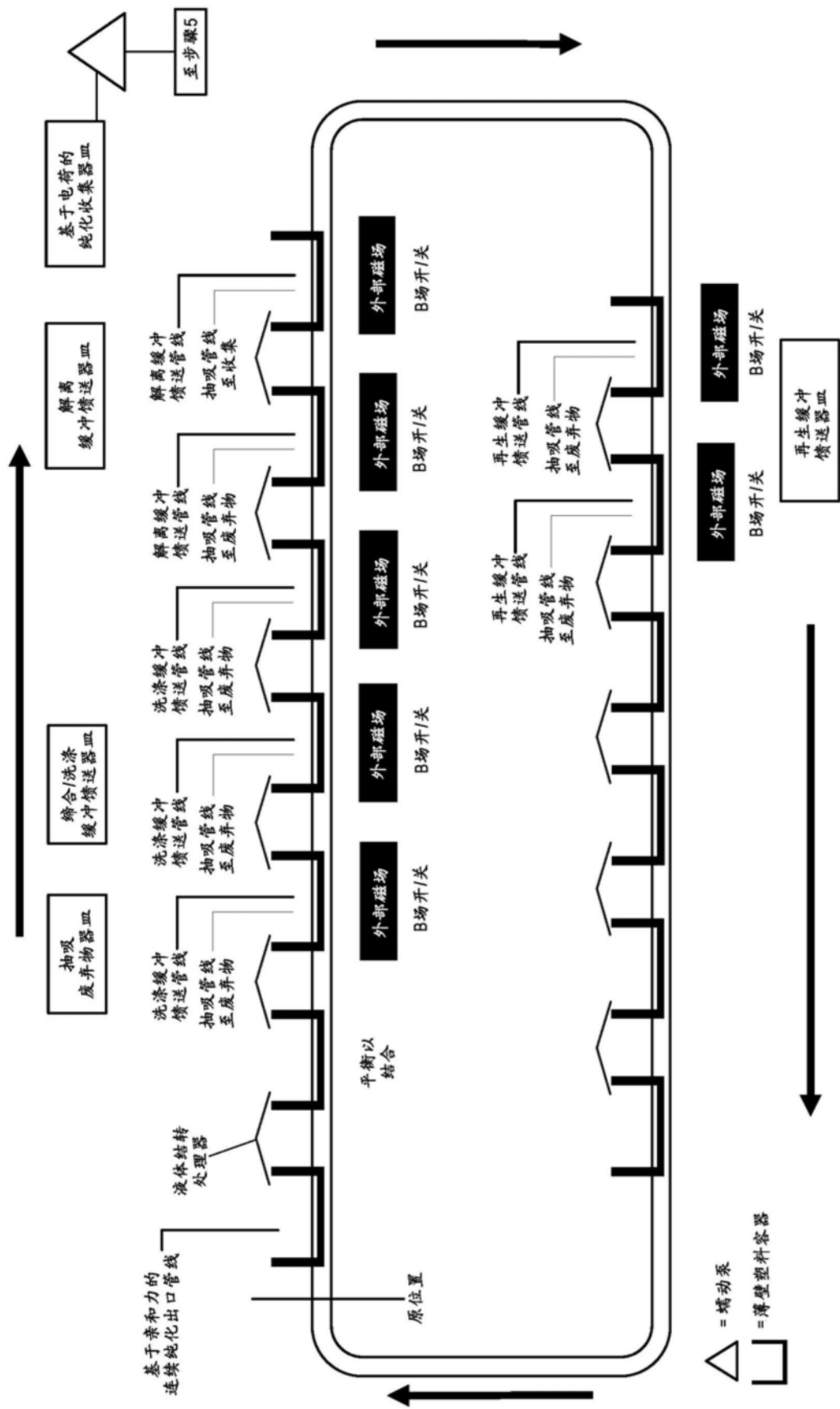


图17

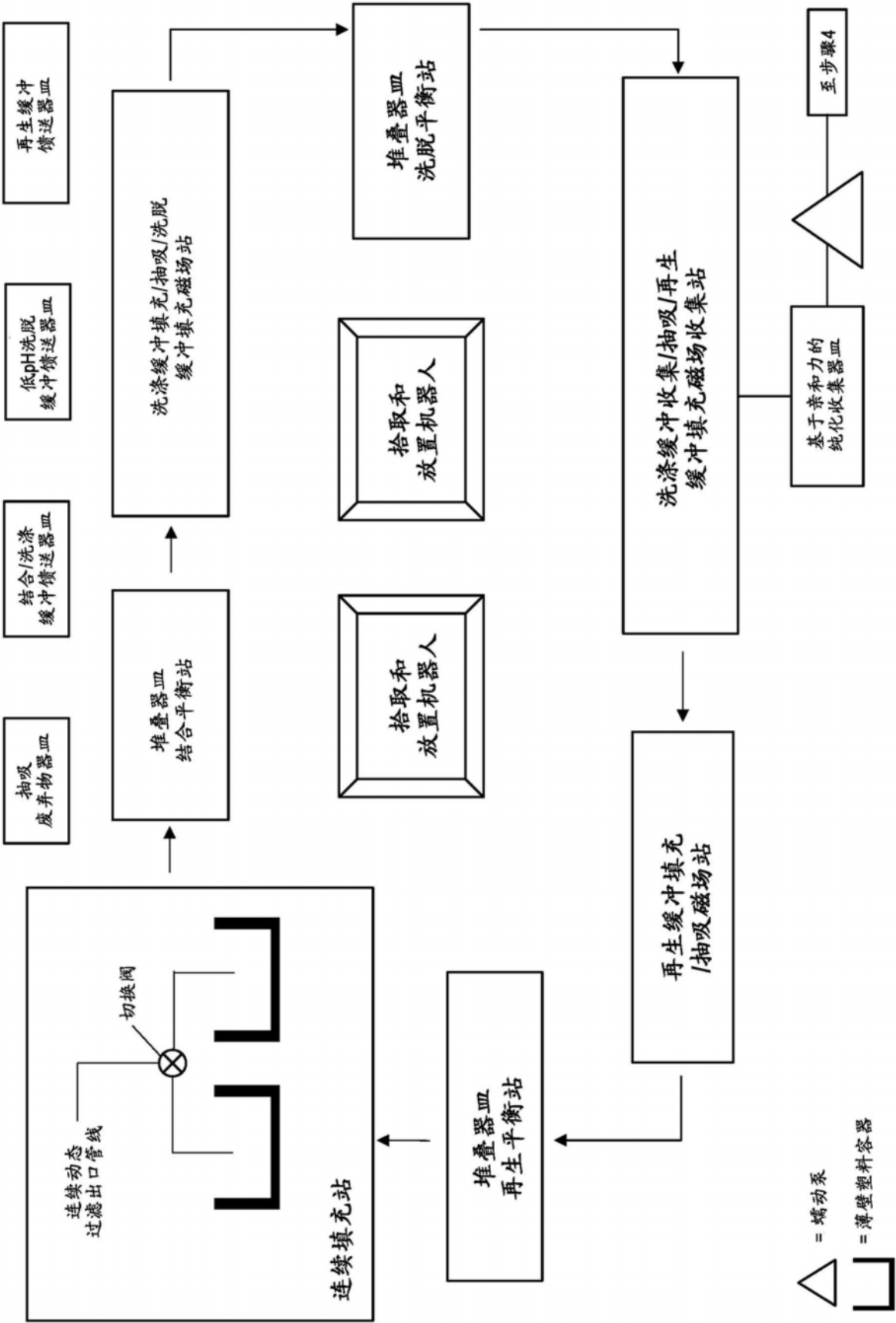


图18

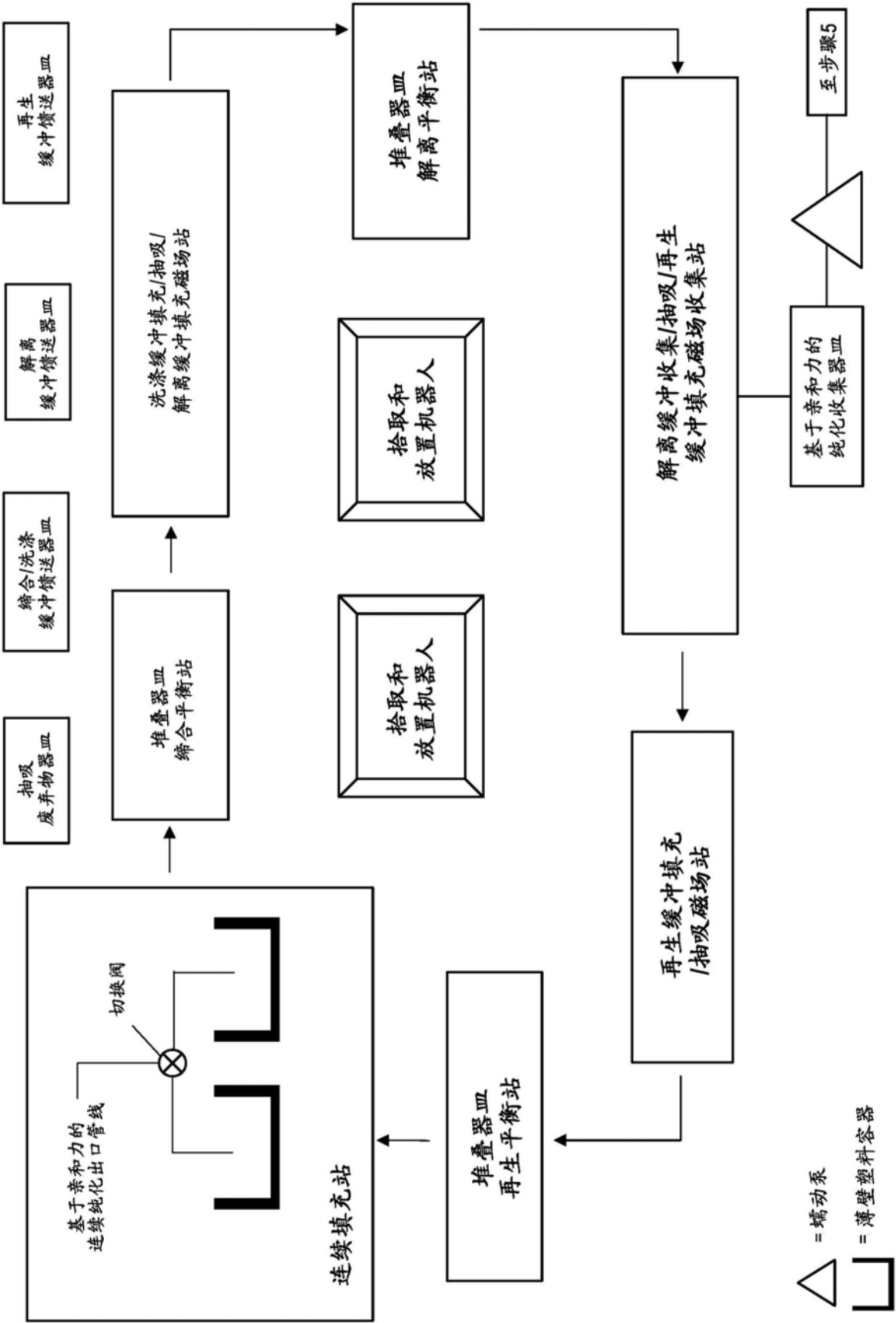


图19

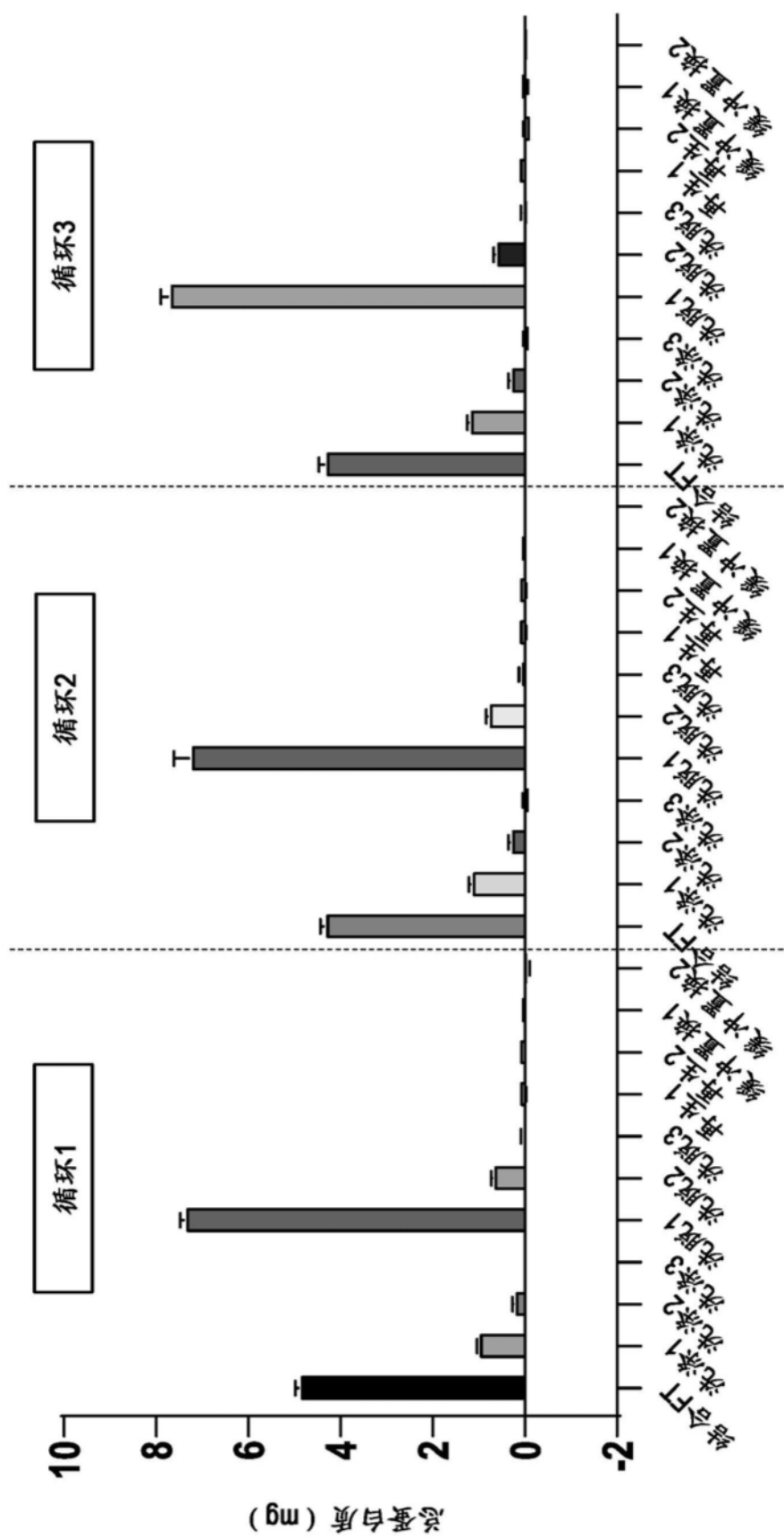


图20A

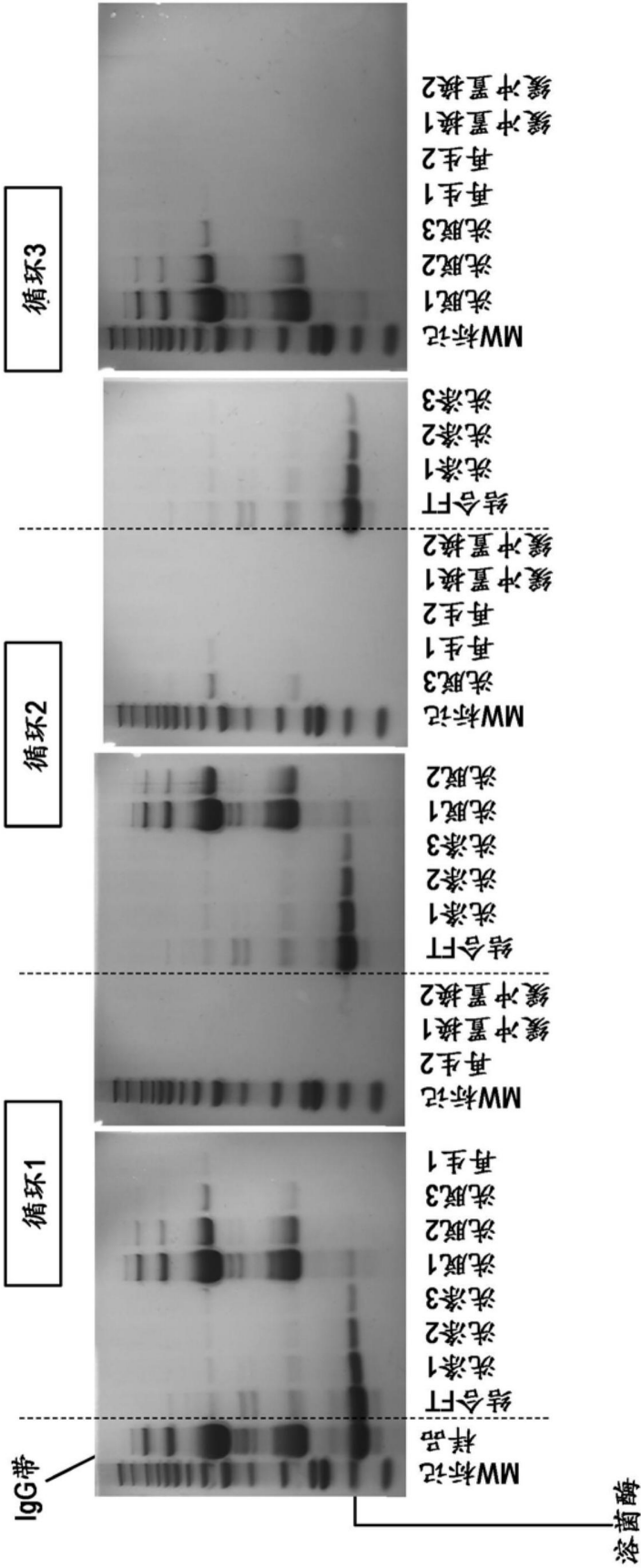


图20B

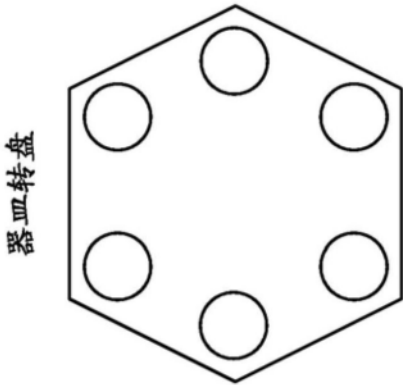


图 21B

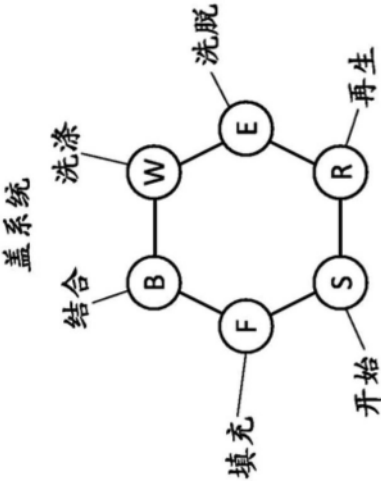


图 21A

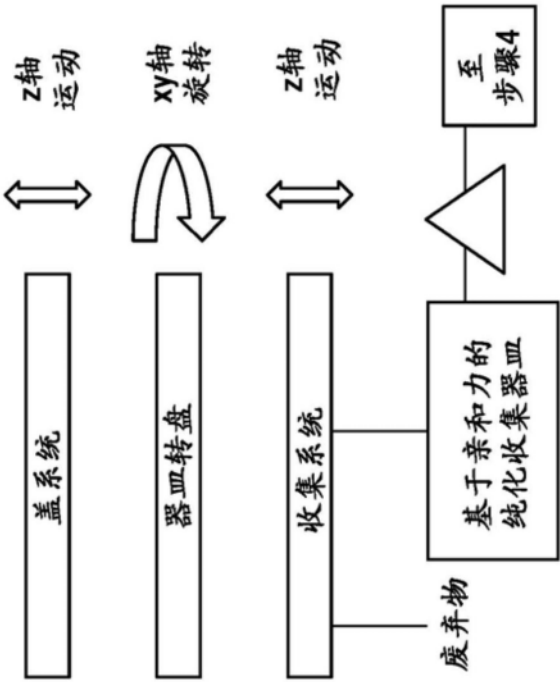


图 21D

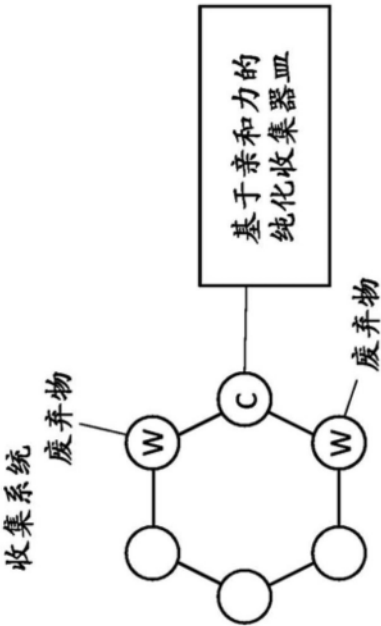


图 21C

△ = 蠕动泵

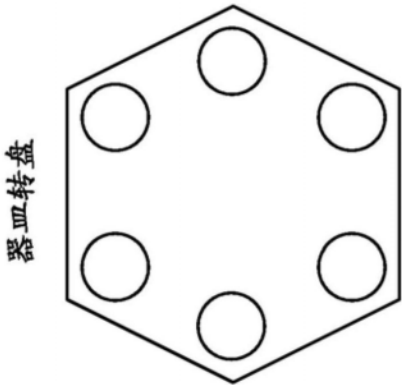


图 22B

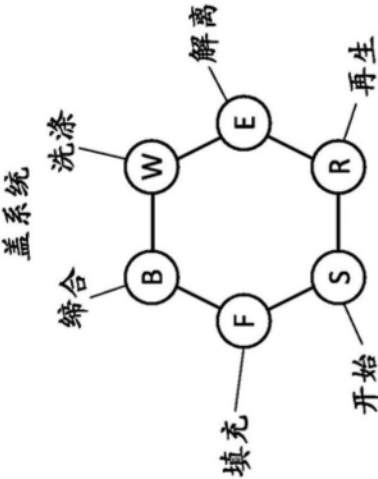


图 22A

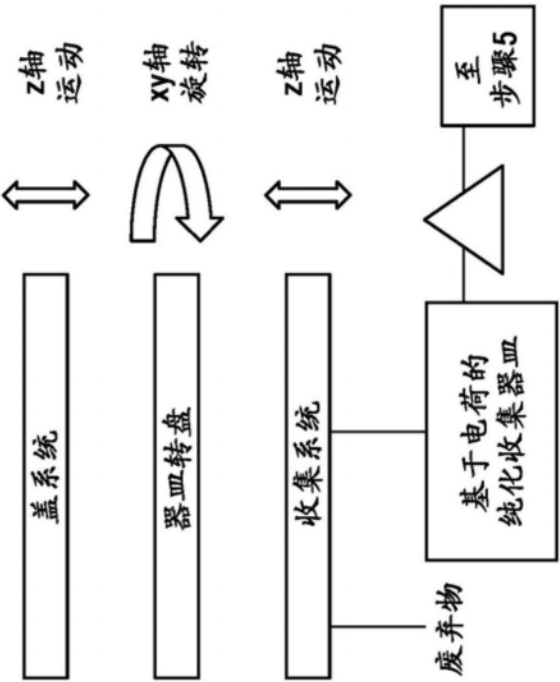


图 22D

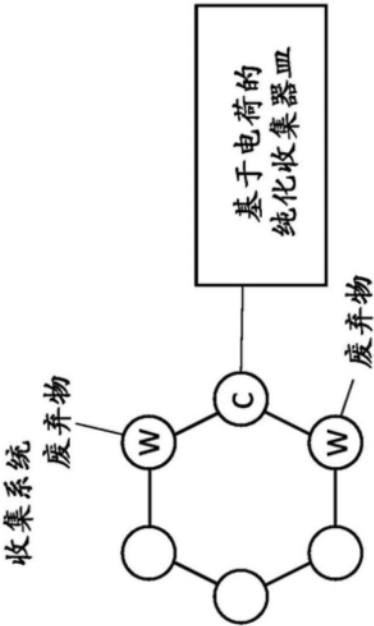


图 22C

△ = 蠕动泵

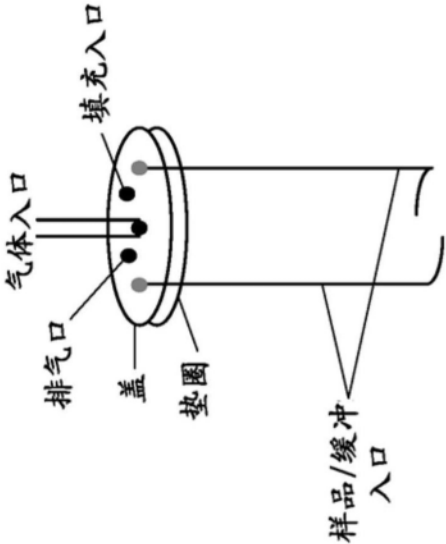


图 23B

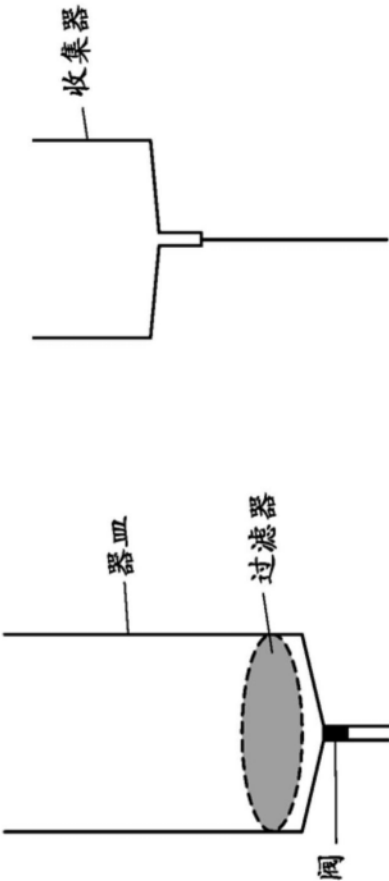


图 23C

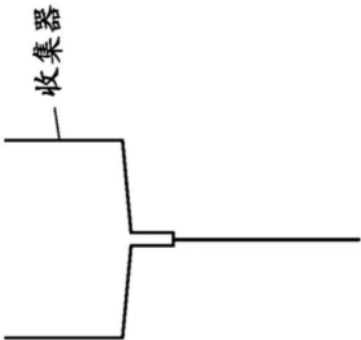


图 23D

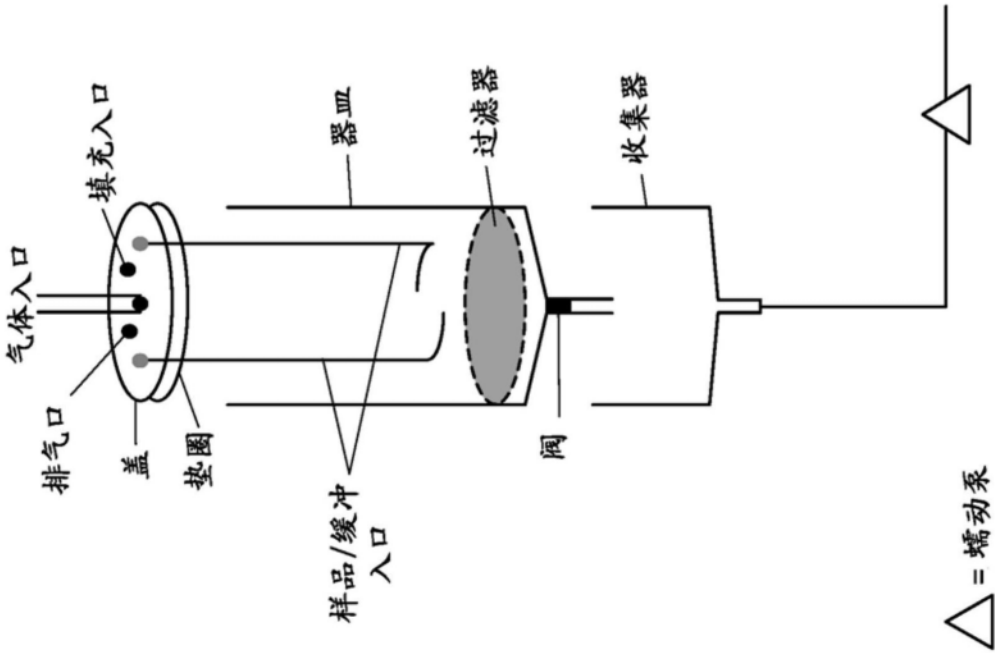


图 23A

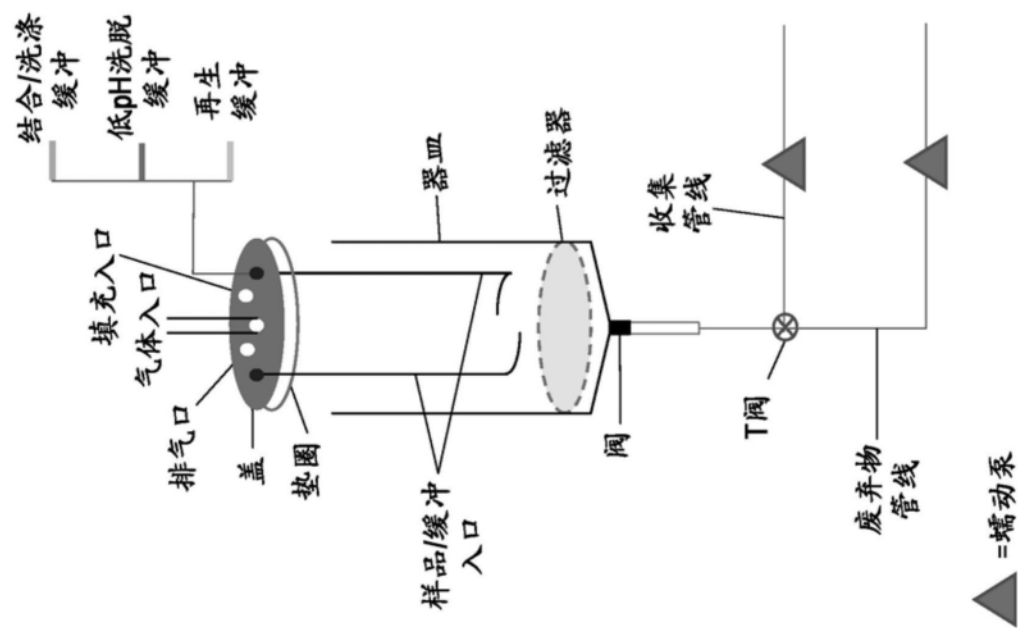


图 24A

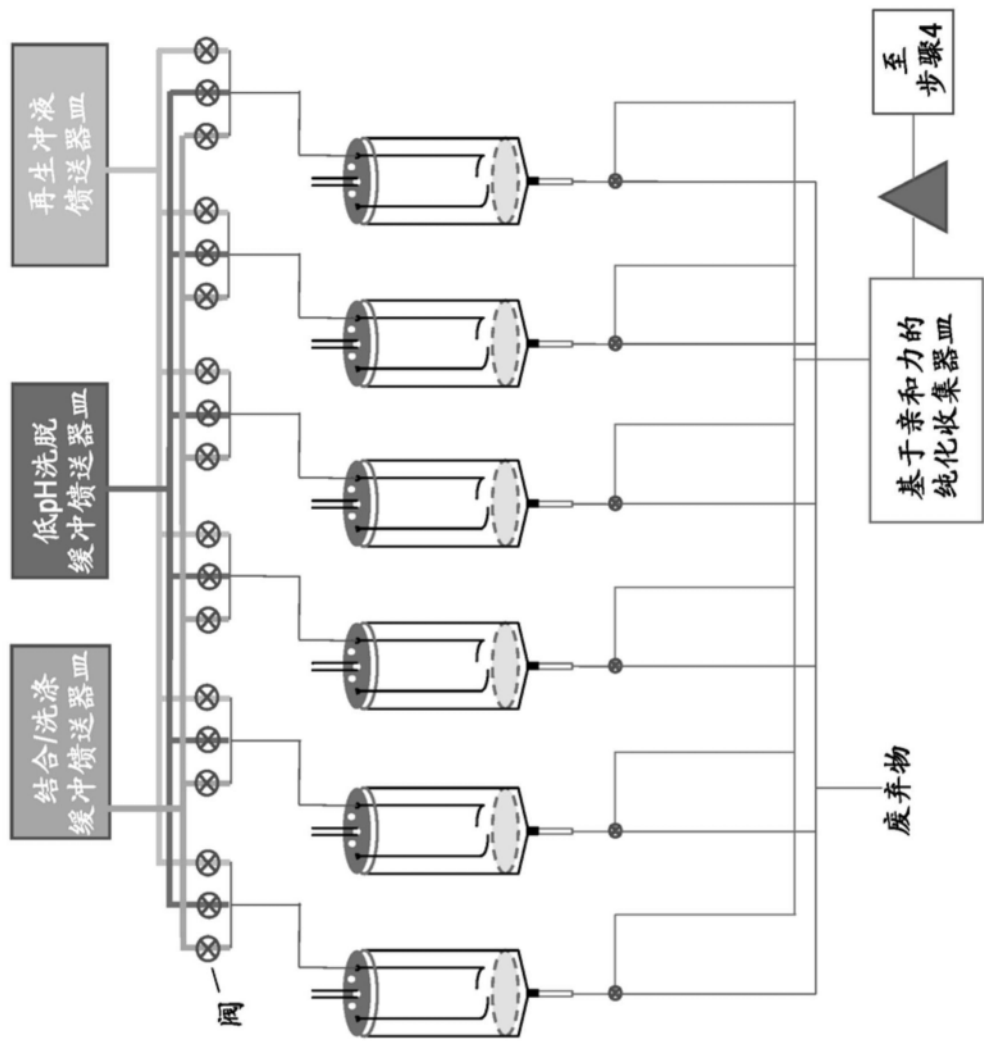


图 24B

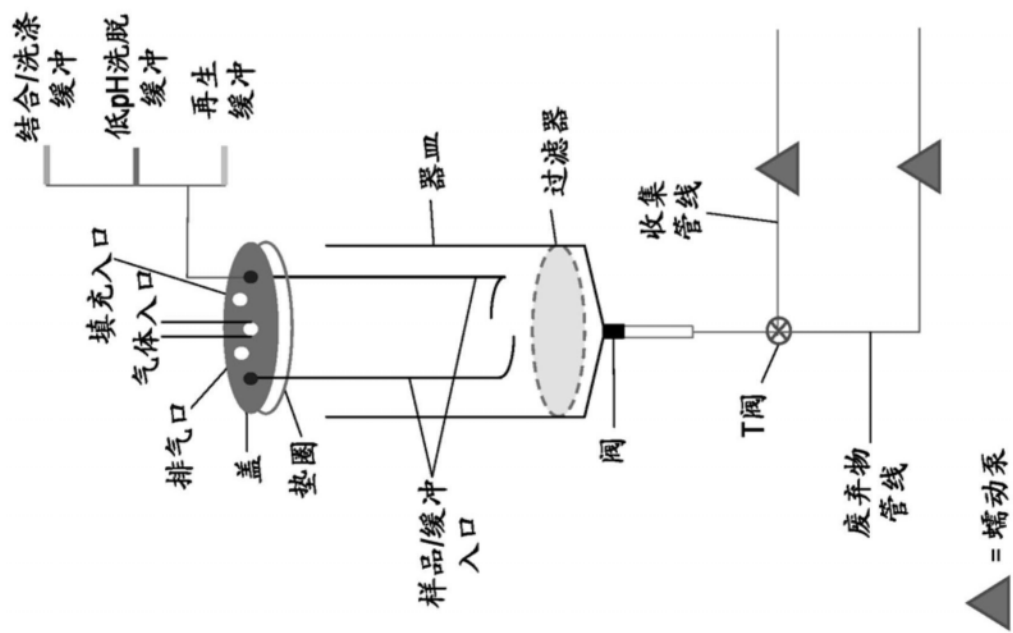


图25A

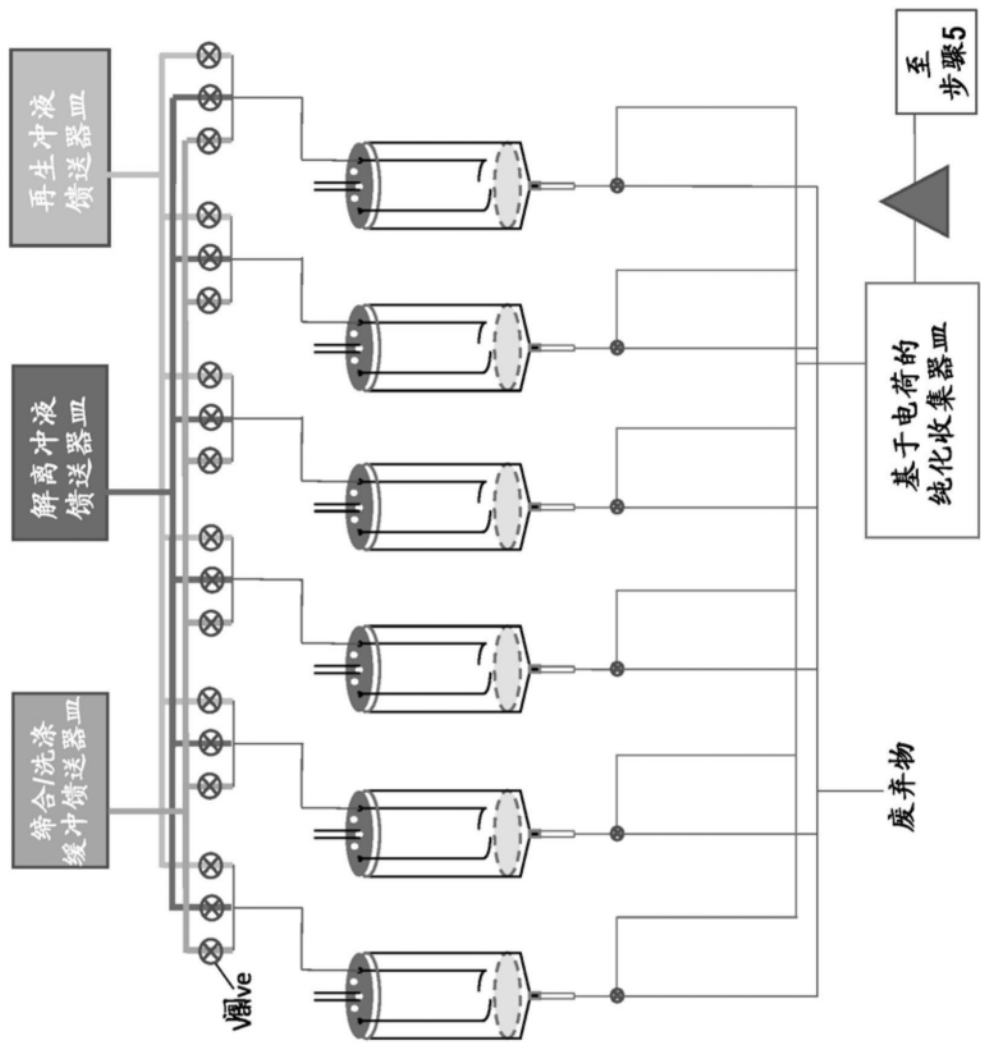


图25B

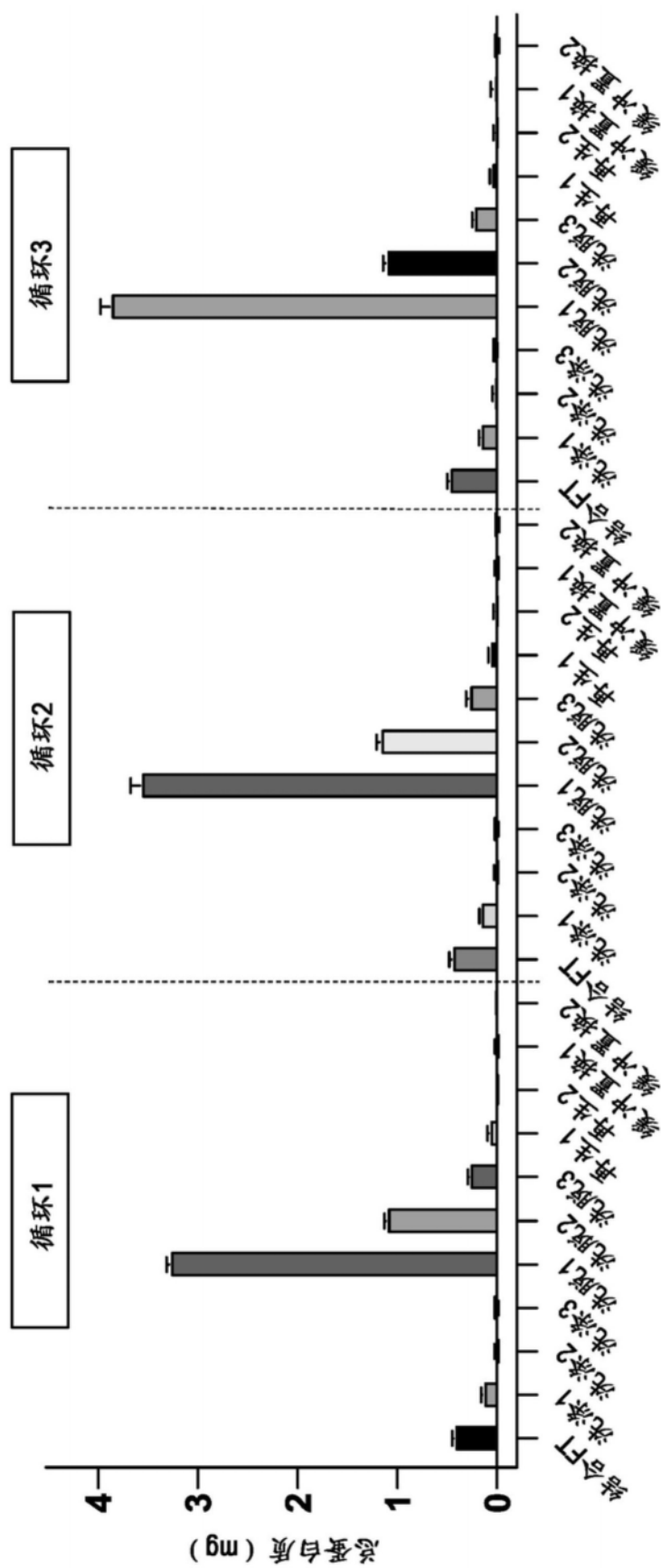


图26A

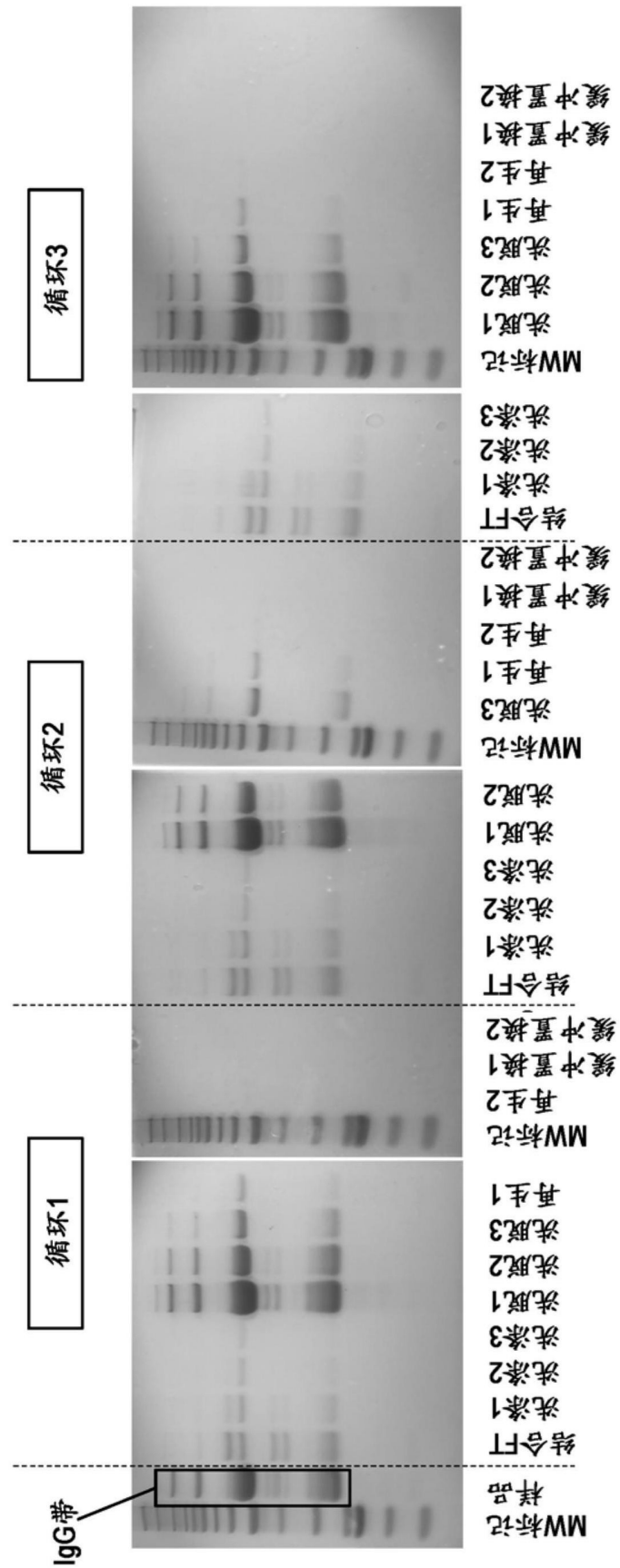


图26B

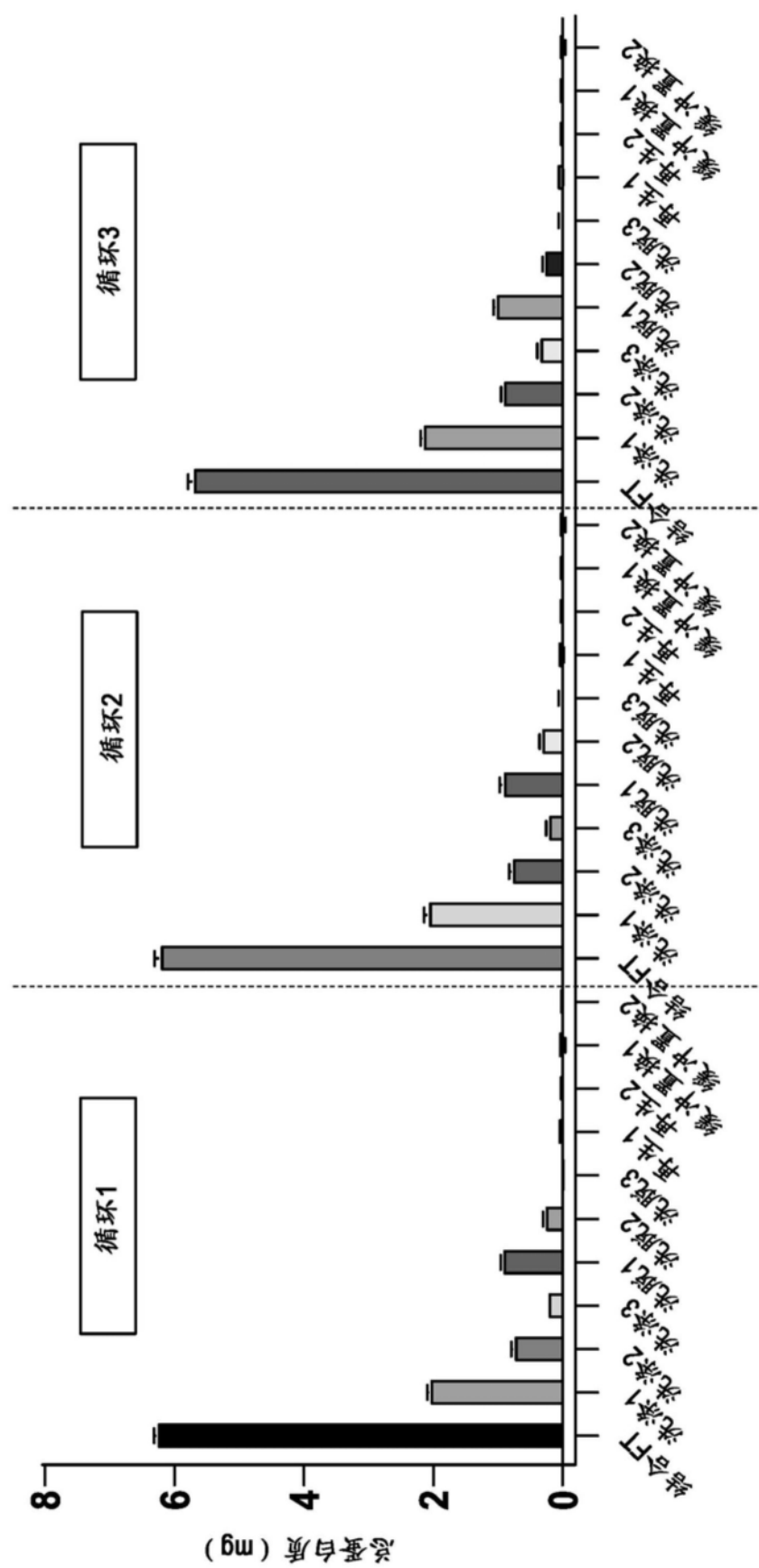


图27A

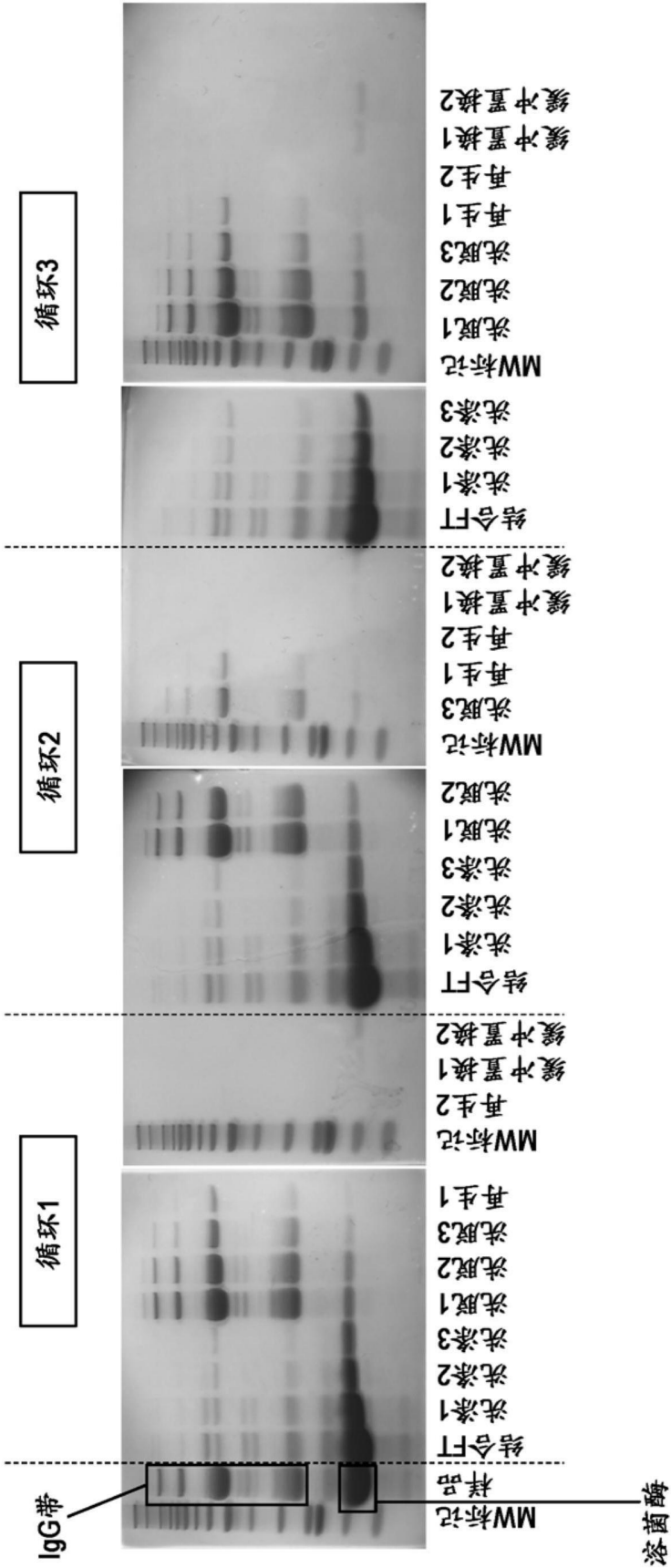


图27B

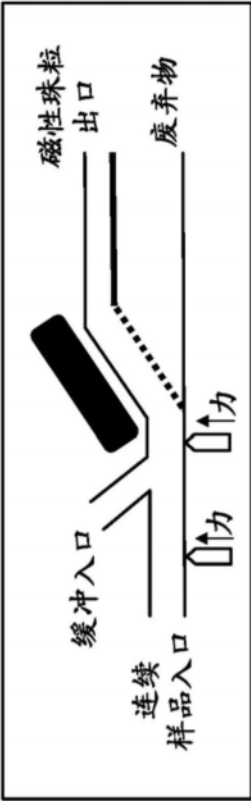


图28B

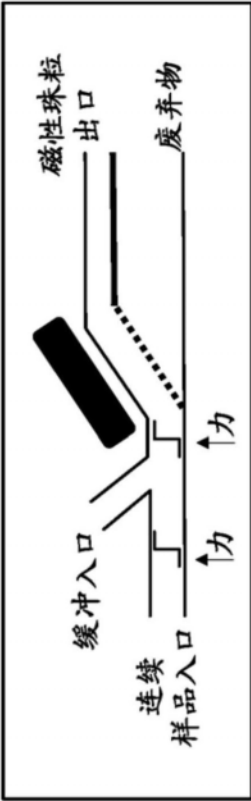


图28D

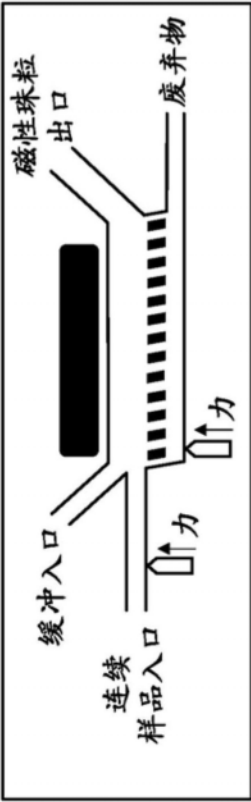


图28A

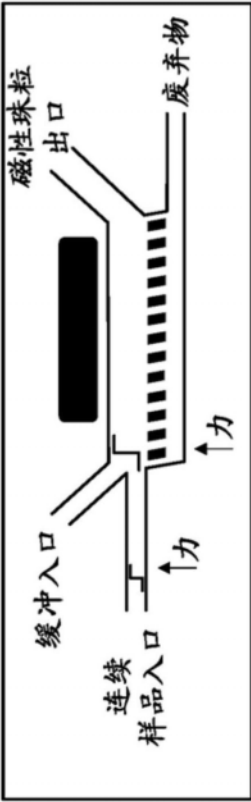


图28C

压电换能器 选择性DEP电极 永磁体 (Nd)

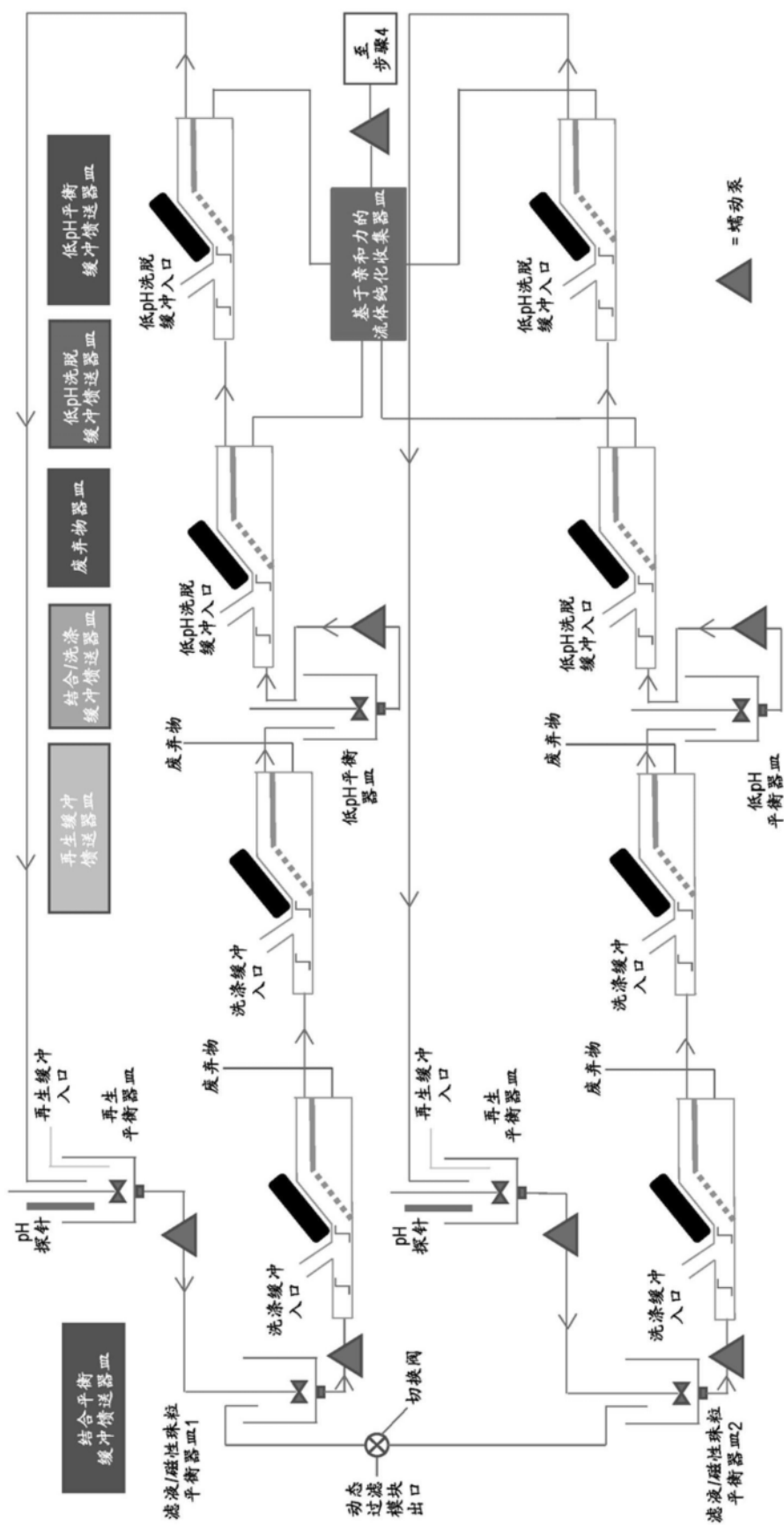


图29

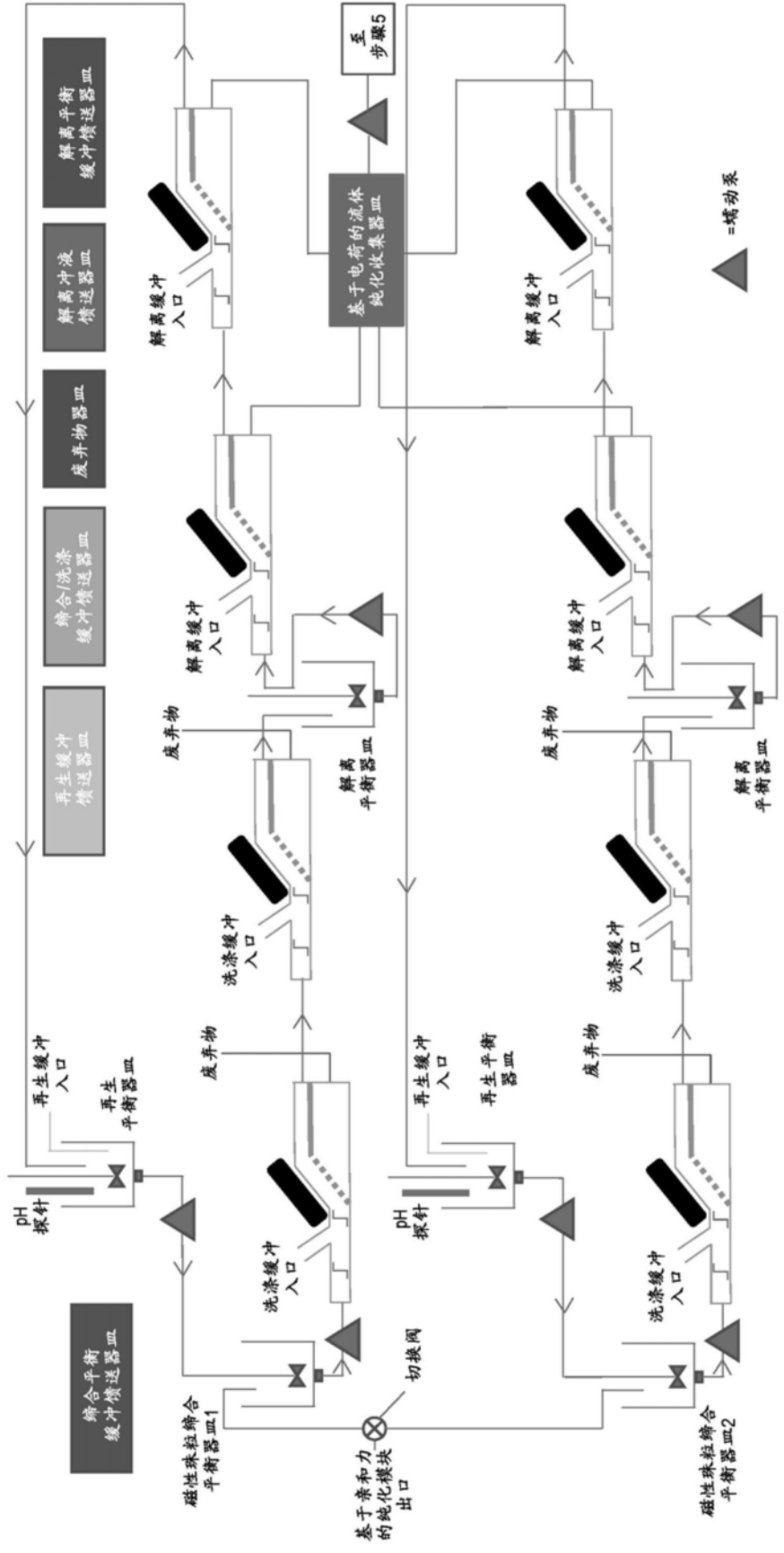


图30

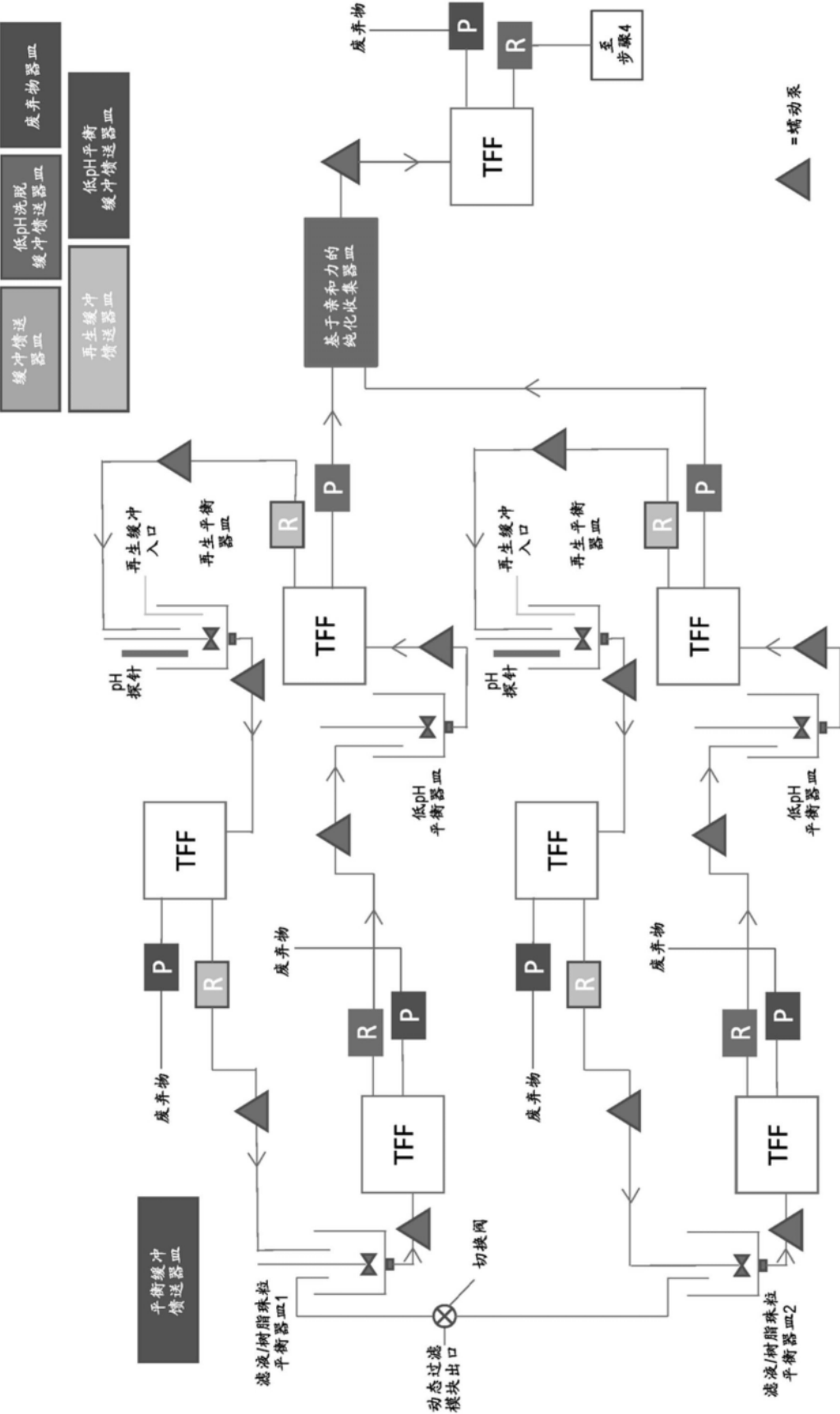


图31

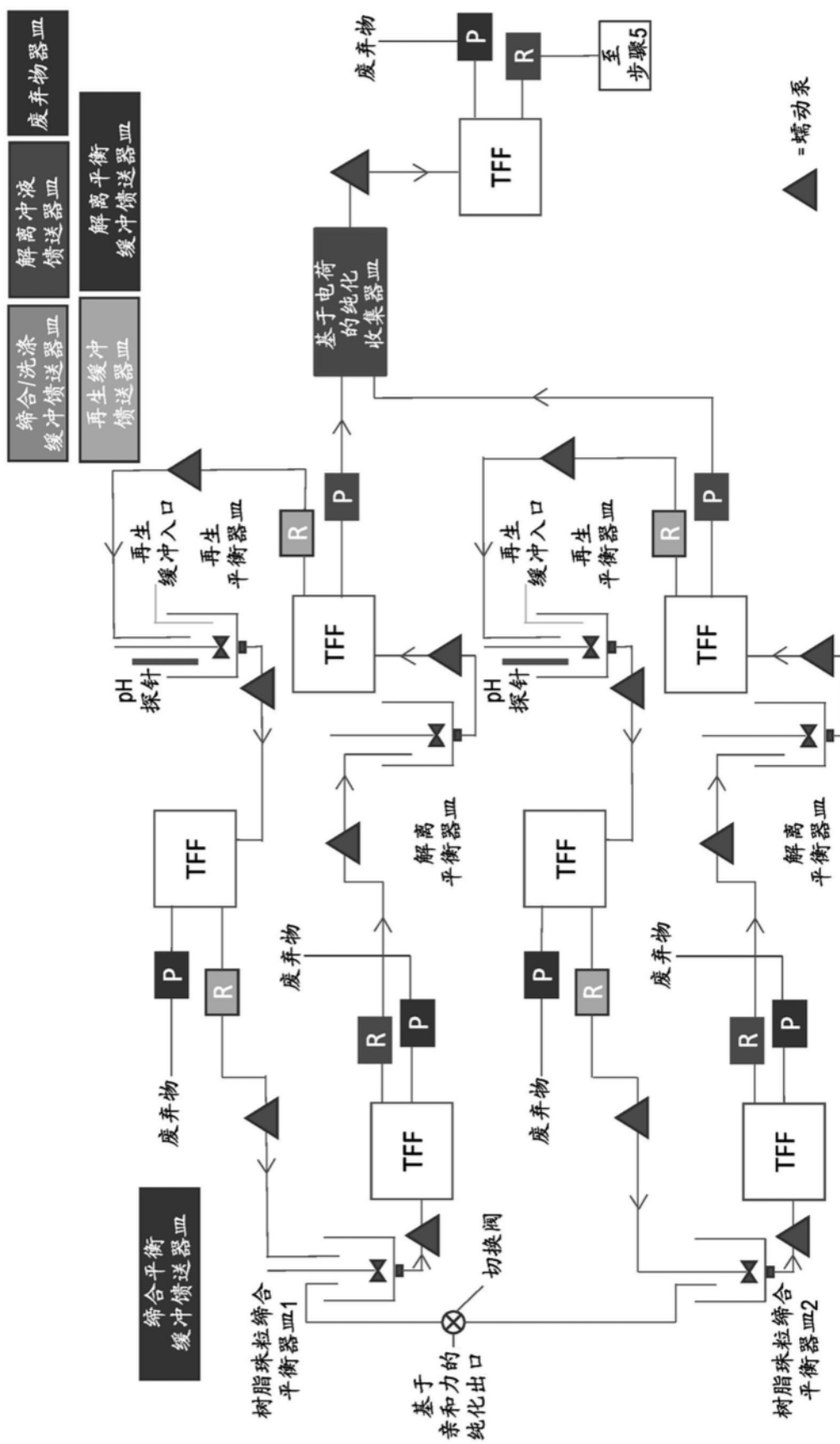


图32

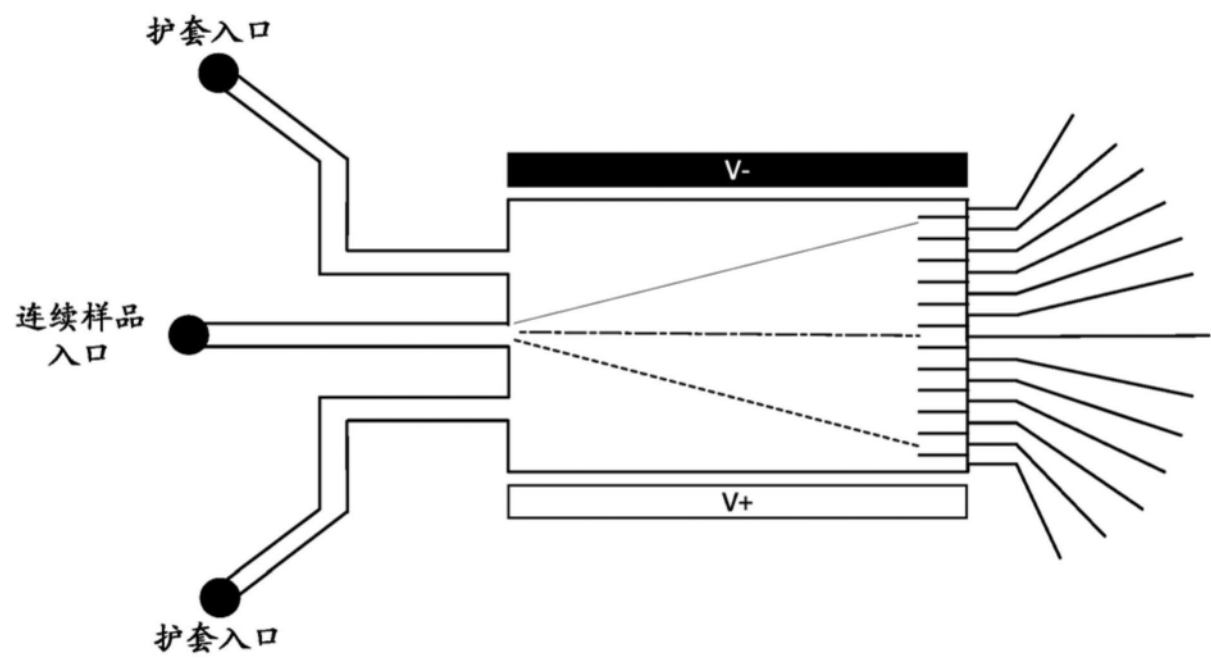


图33

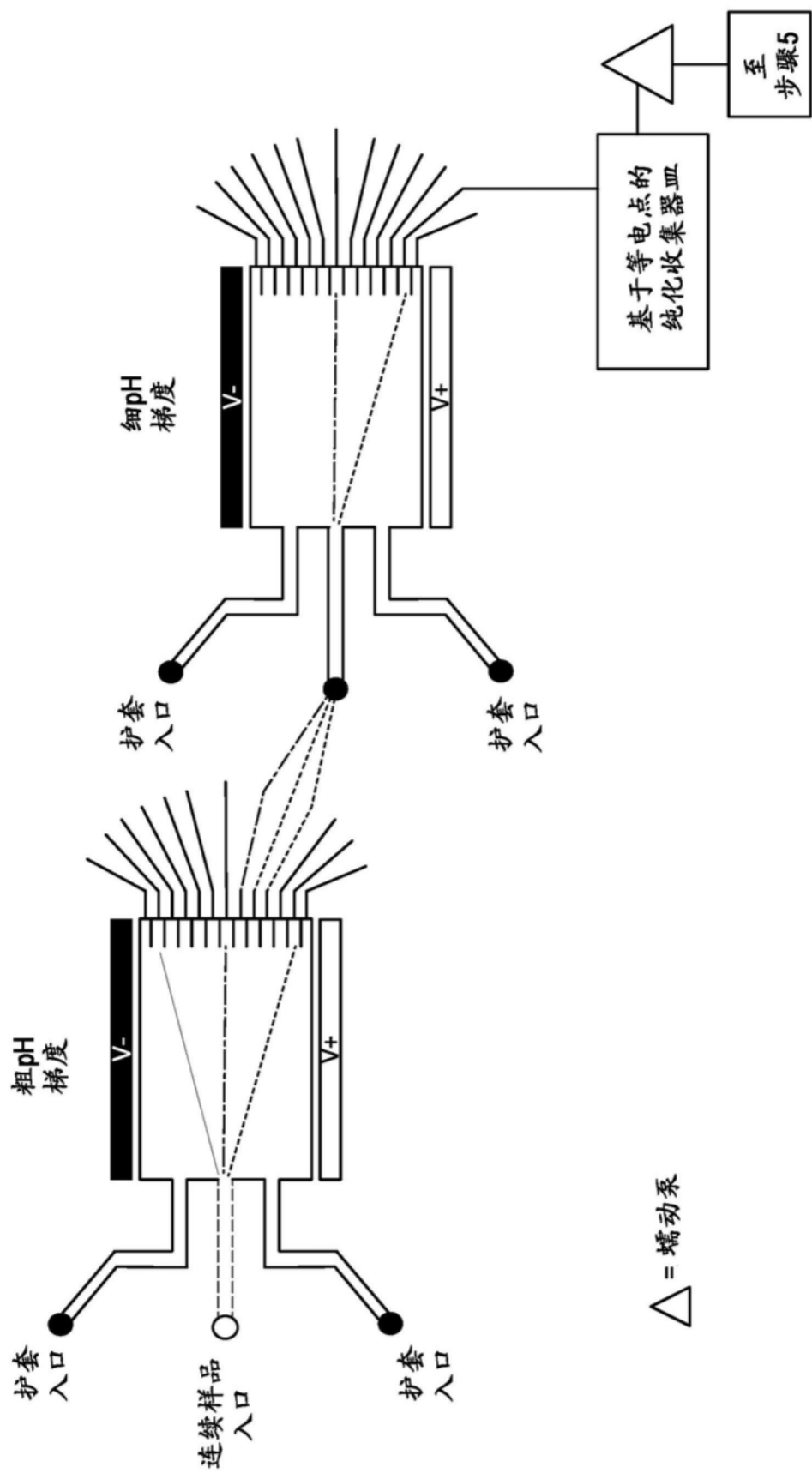


图34

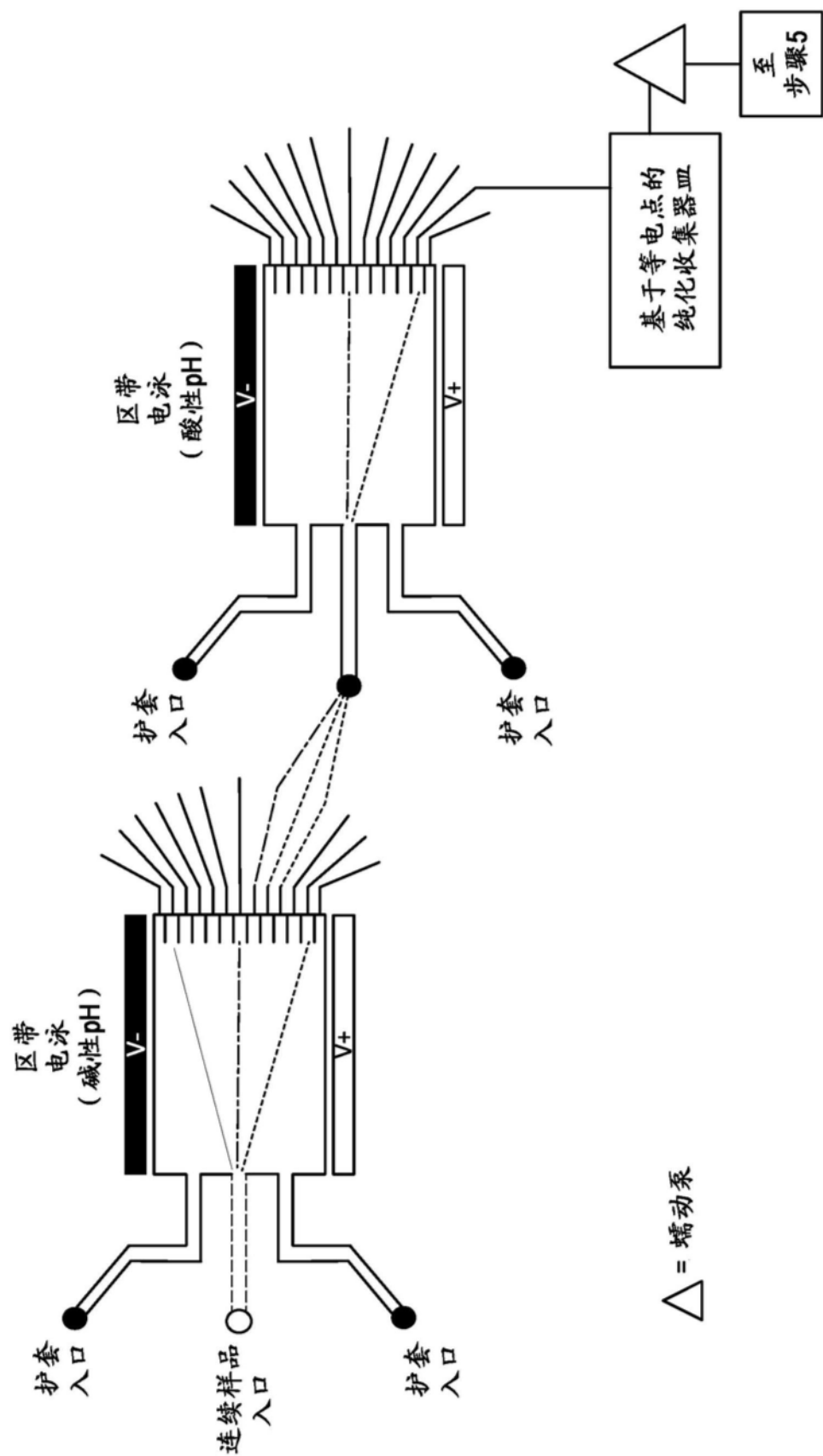


图35

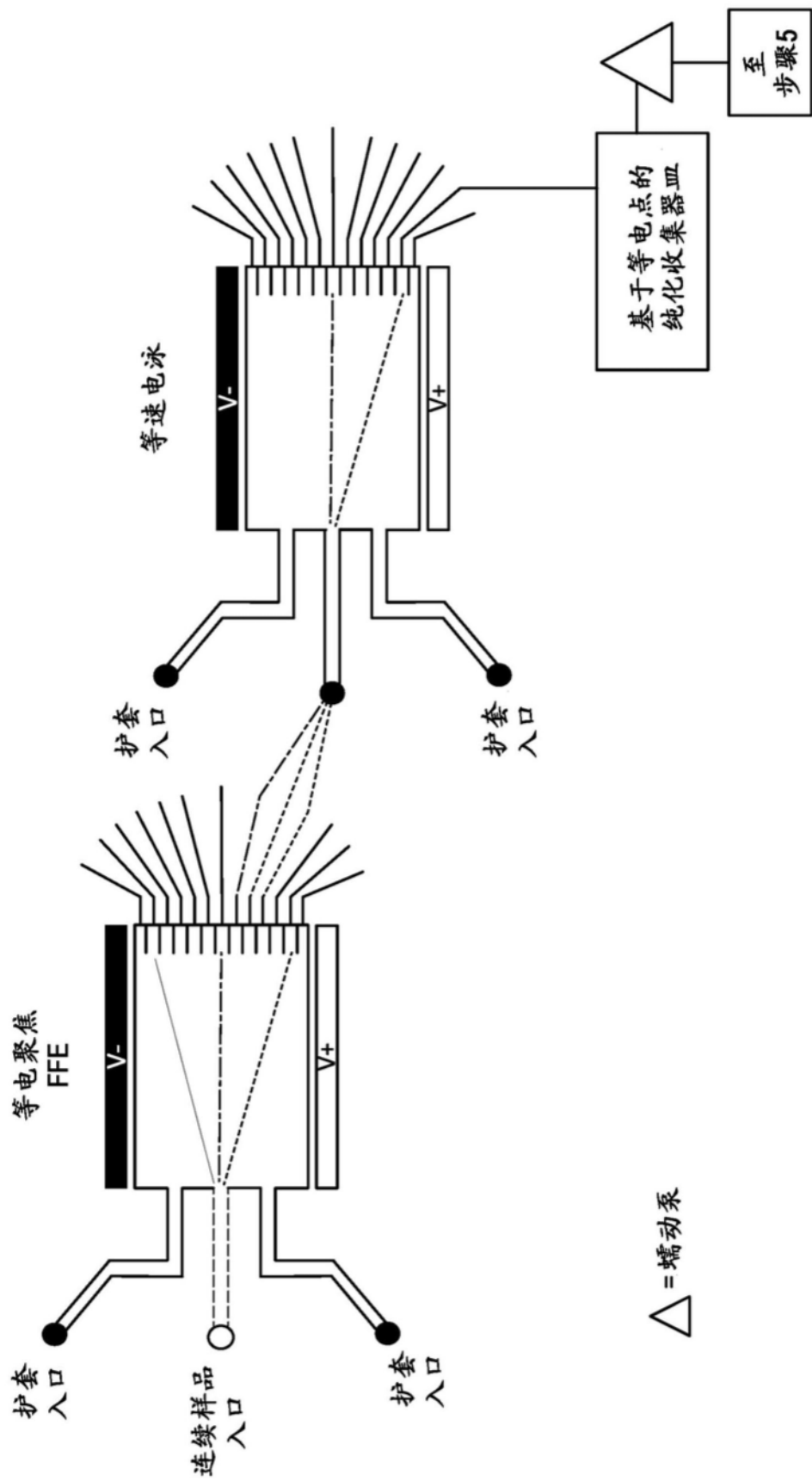


图36

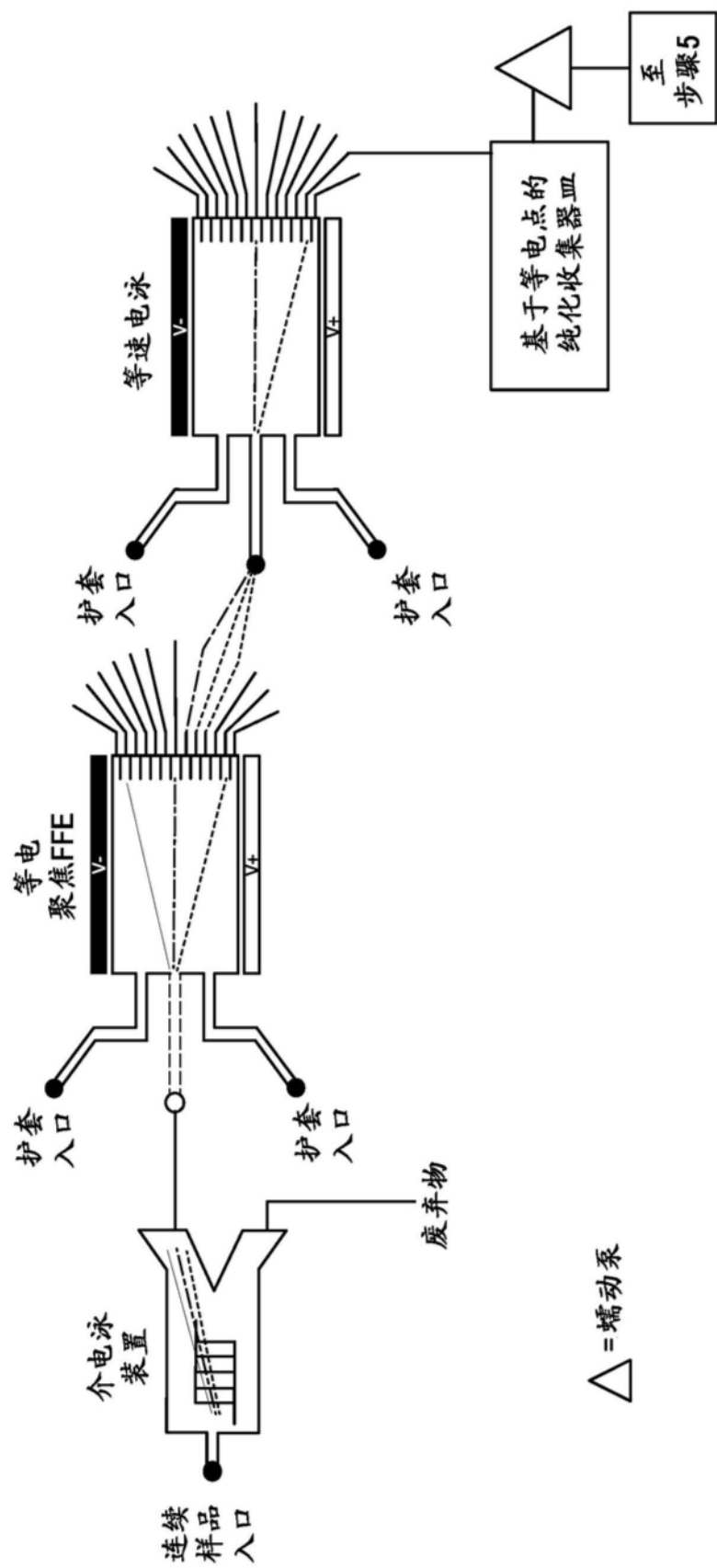


图37

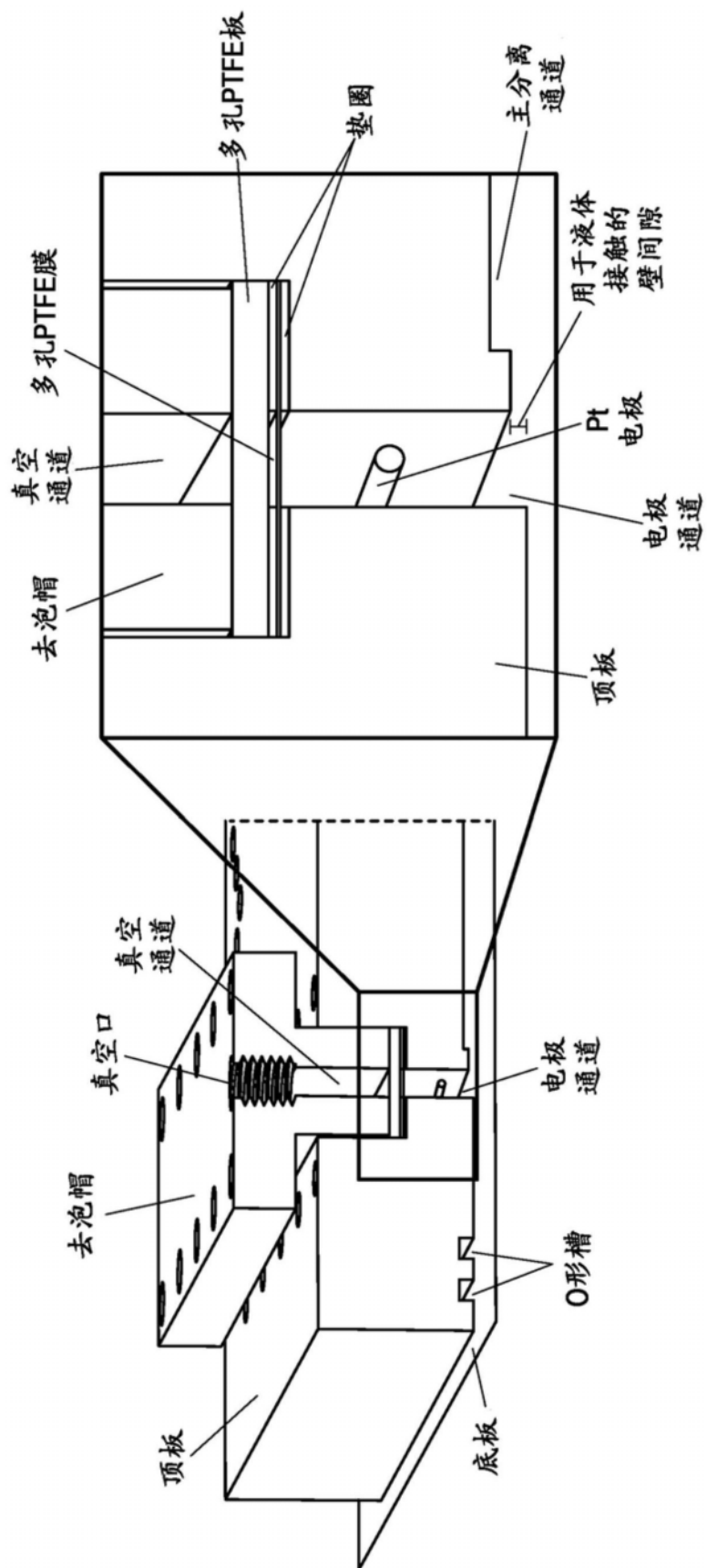


图38

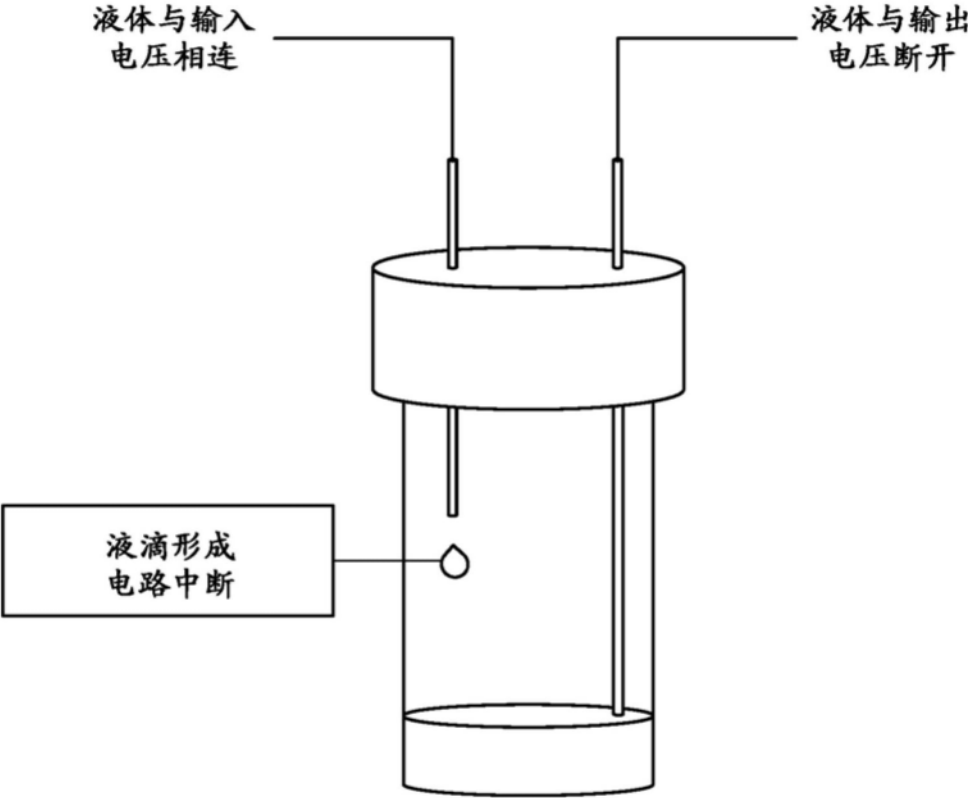


图39

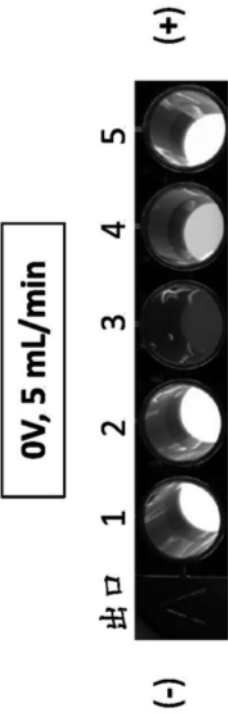


图40A

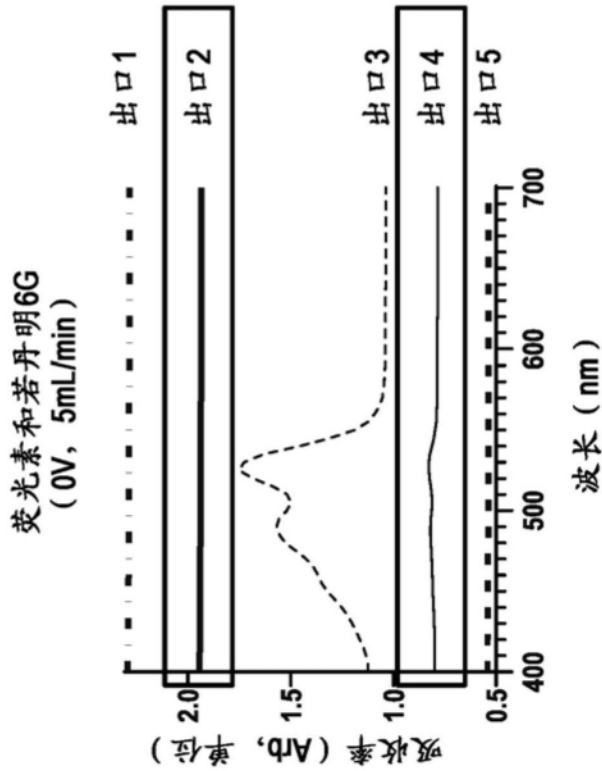


图40B

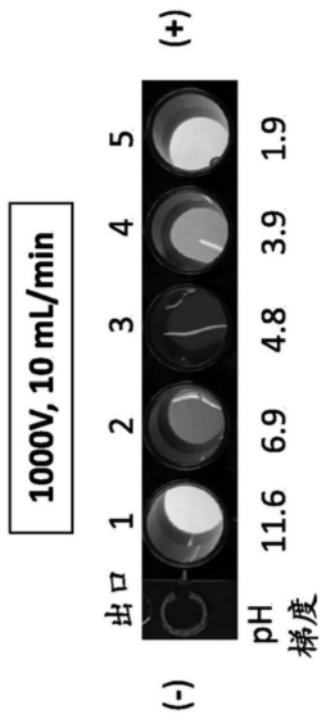


图40C

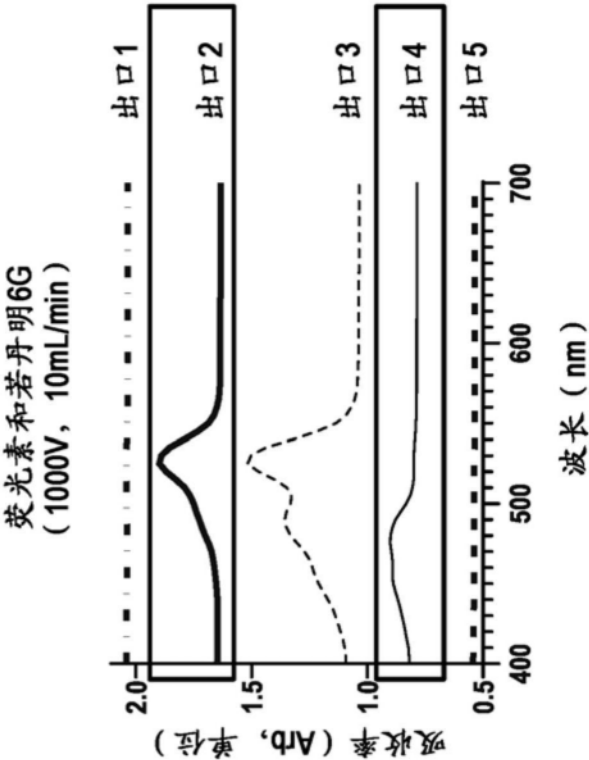


图40D

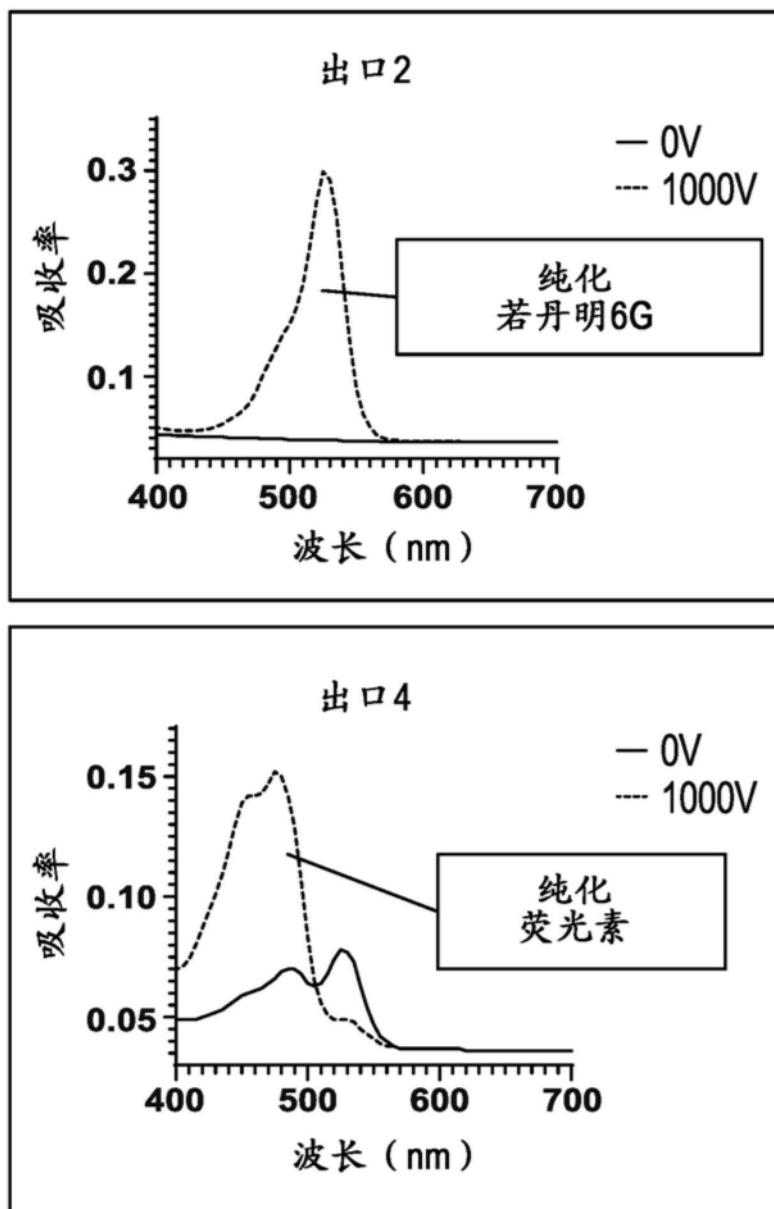


图40E

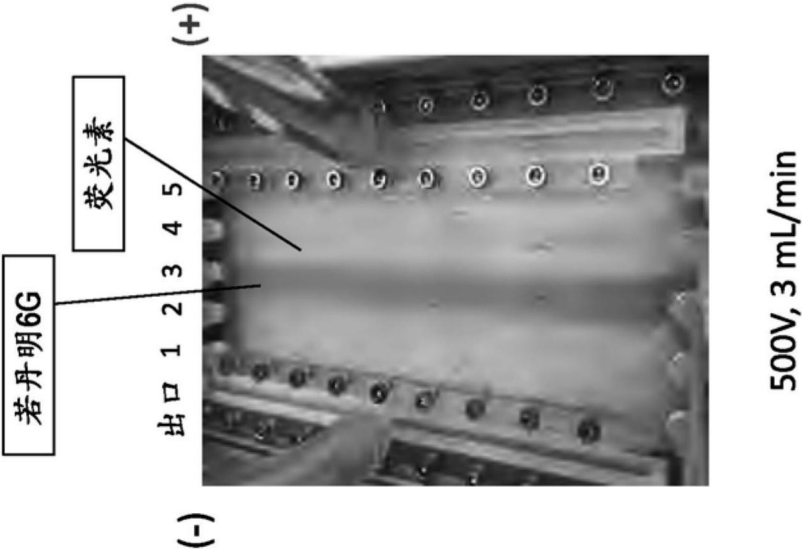


图41A



图41B

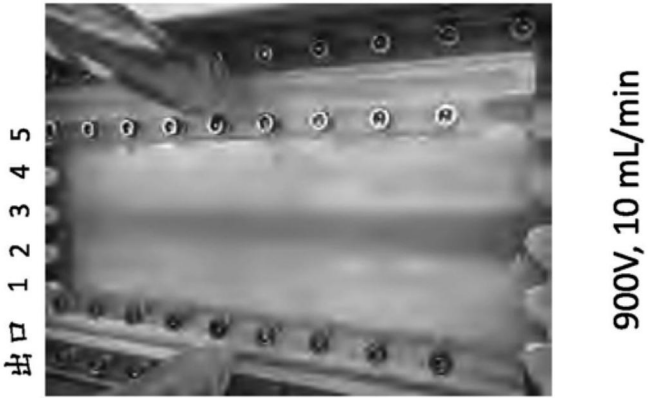


图41C

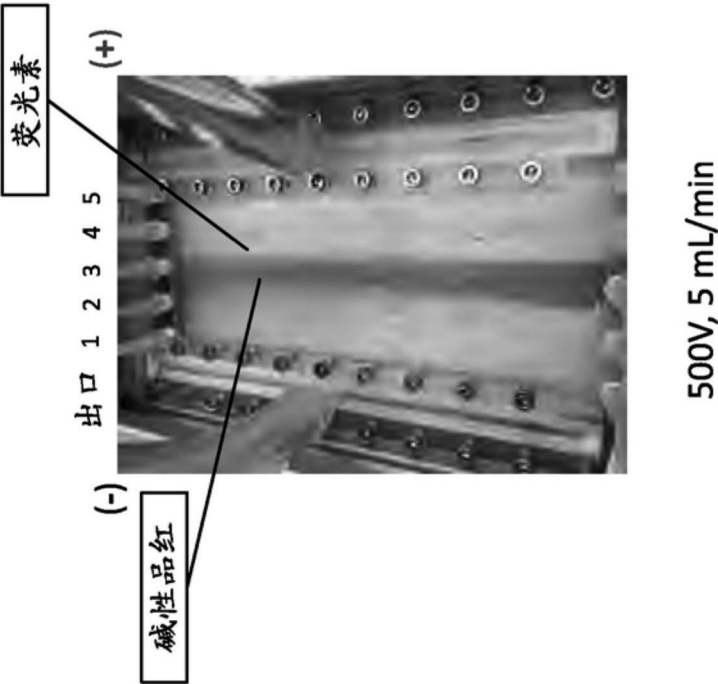


图42A

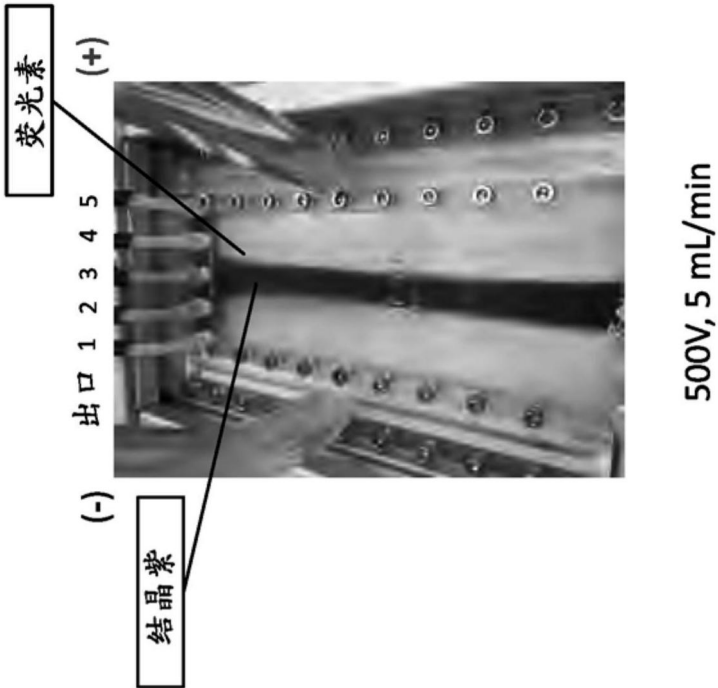


图42B



图43A



图43B



图43C



图43D

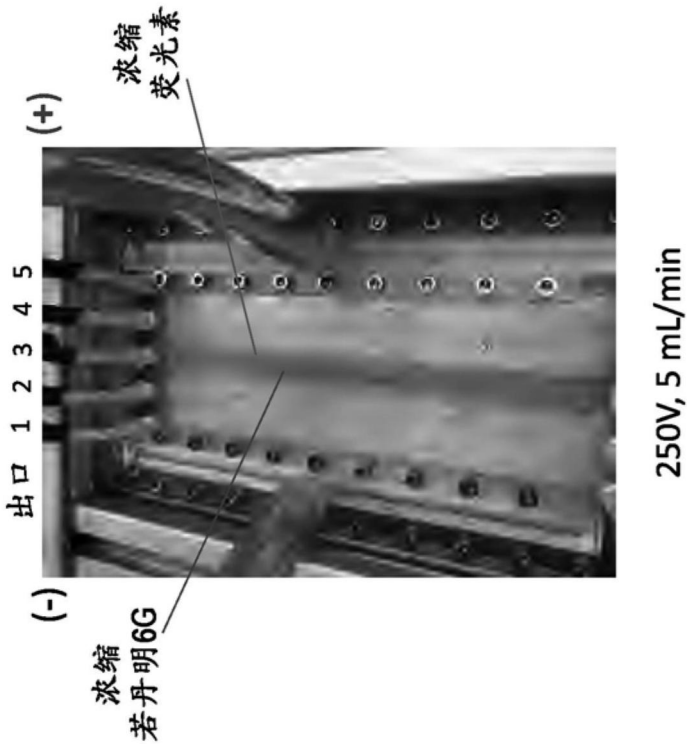


图44A

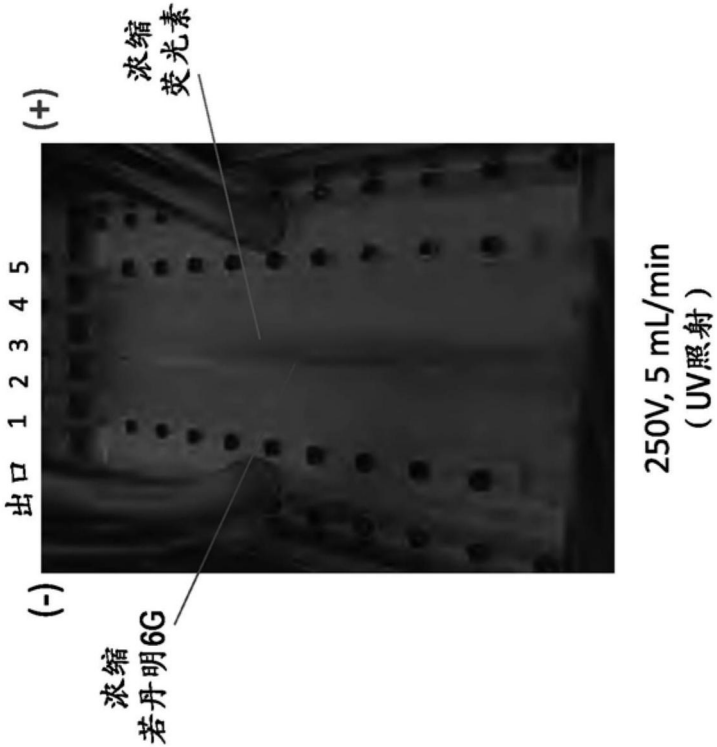


图44B

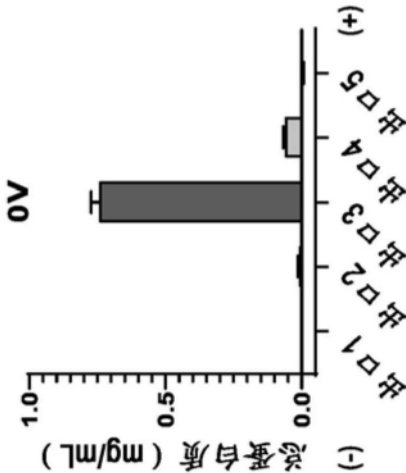


图45A

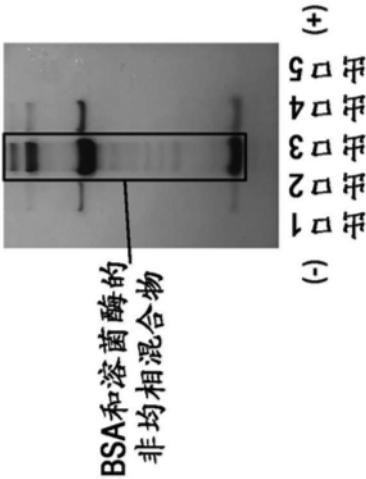


图45B

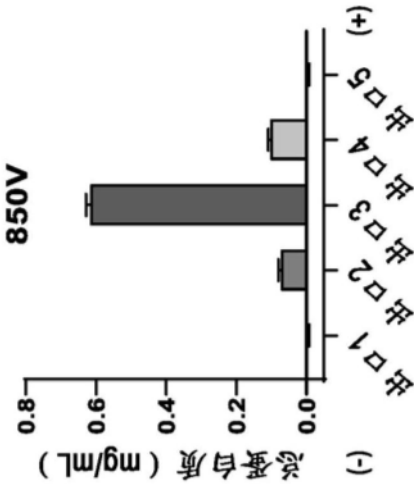


图45C

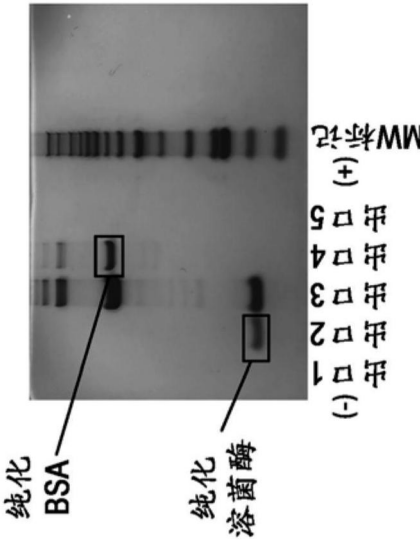


图45D

蛋白质	等电点 (pI)	预测电泳 迁移方向
BSA	4-5	朝阳极
溶菌酶	11	朝阴极

图45E

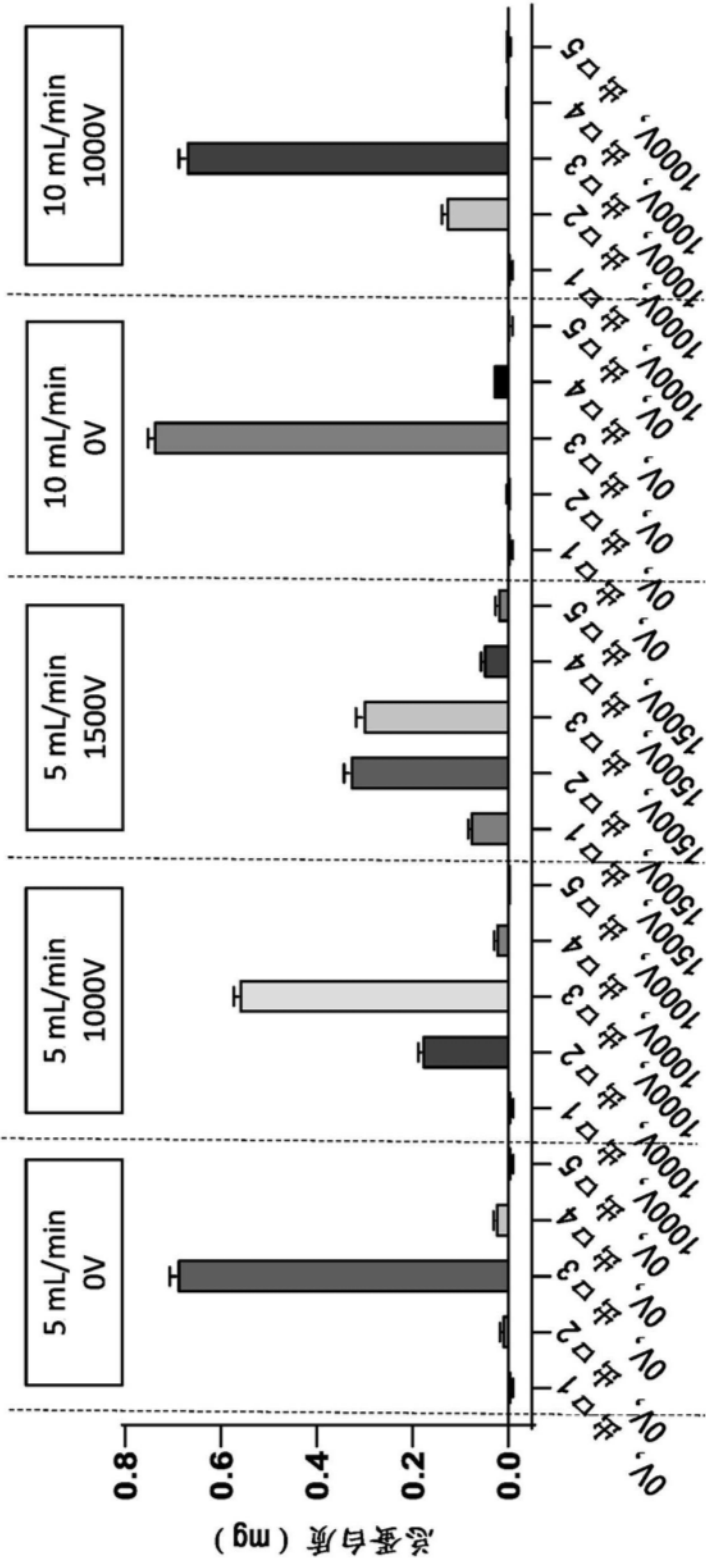


图46A

蛋白质	等电点 (pI)	预测电泳 迁移方向
人 多克隆IgG	6-8	朝阴极、中心和 阳极
溶菌酶	11	朝阴极

图46B

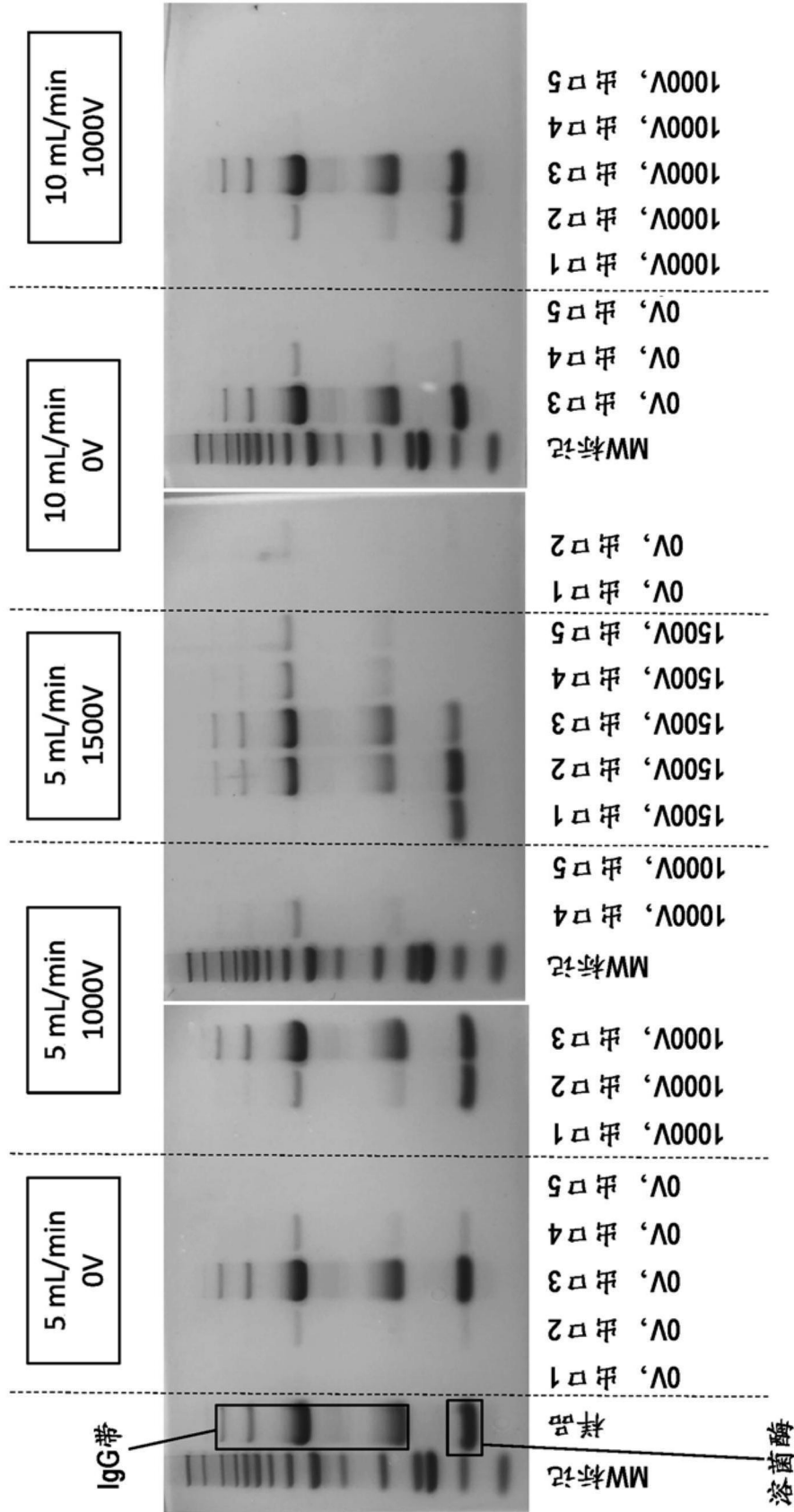


图46C

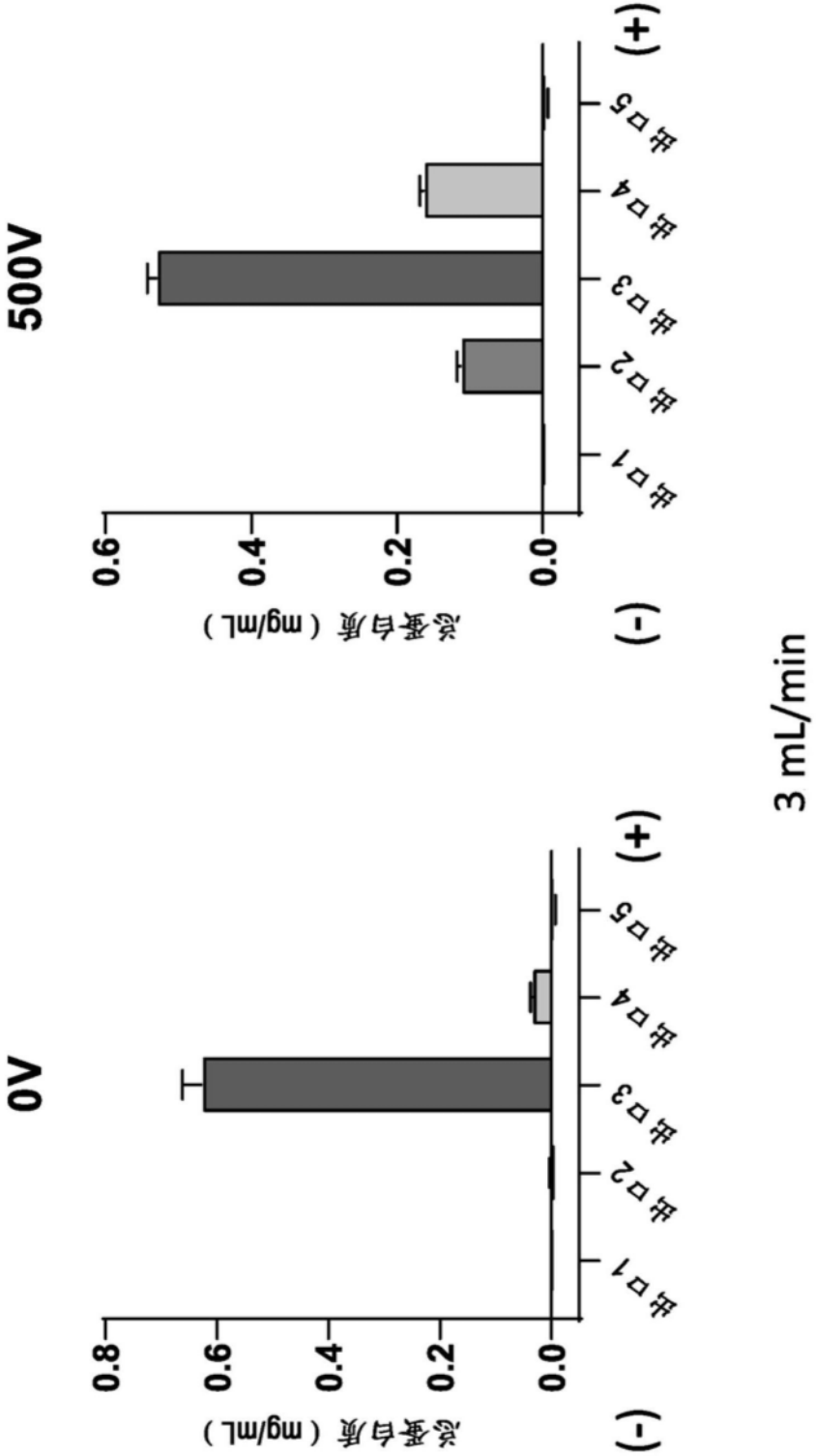


图47A

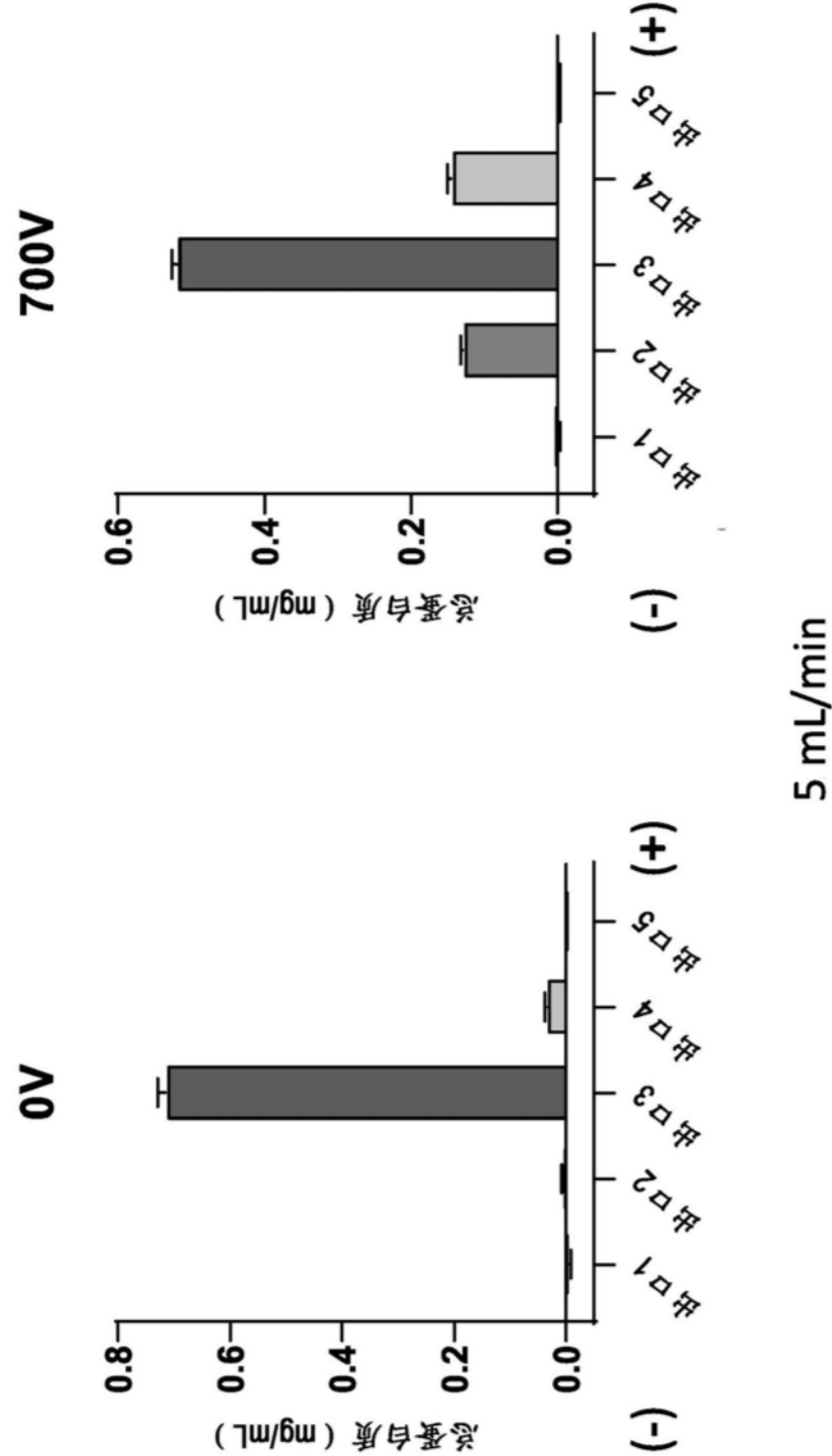


图47B

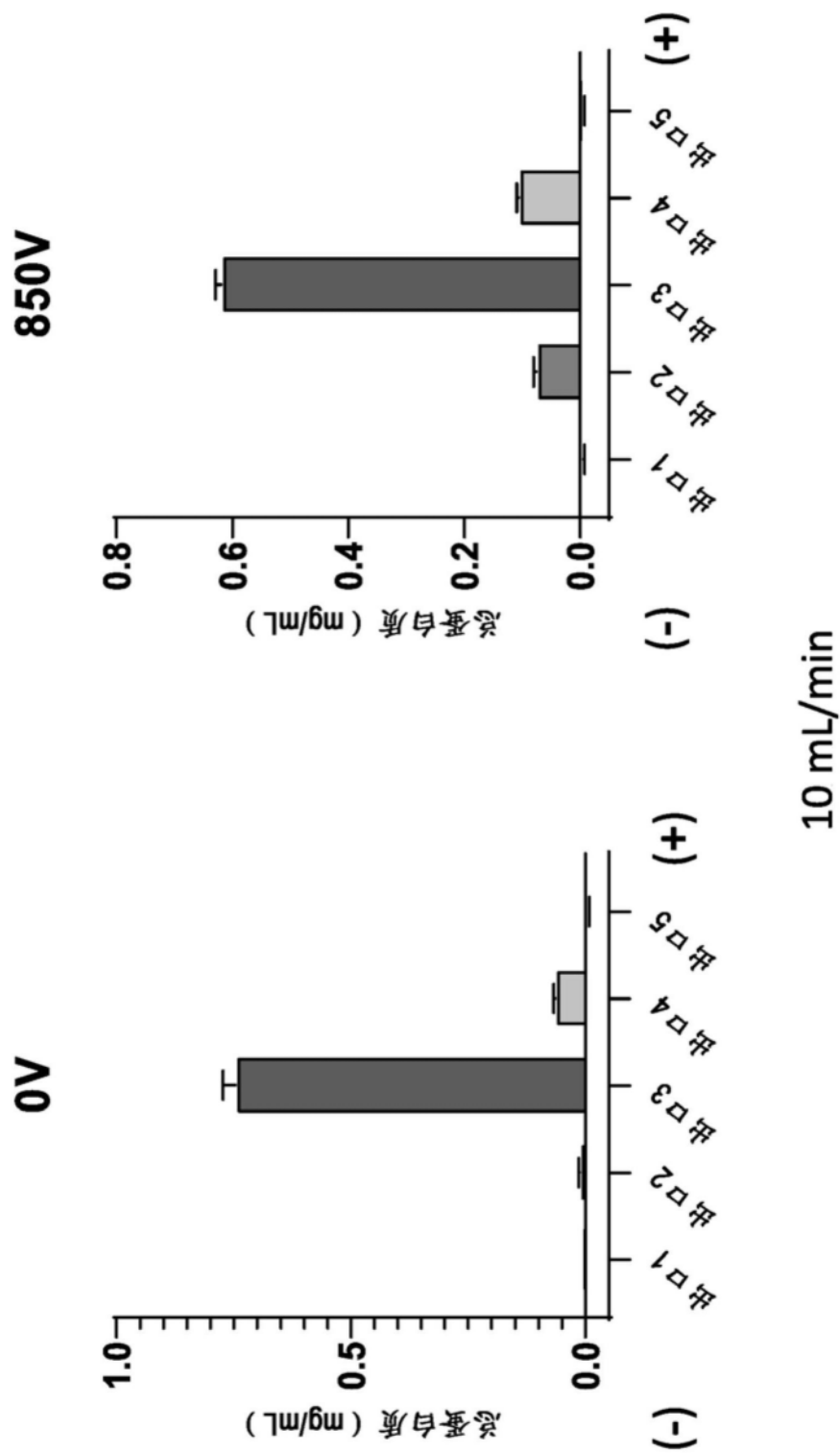


图47C

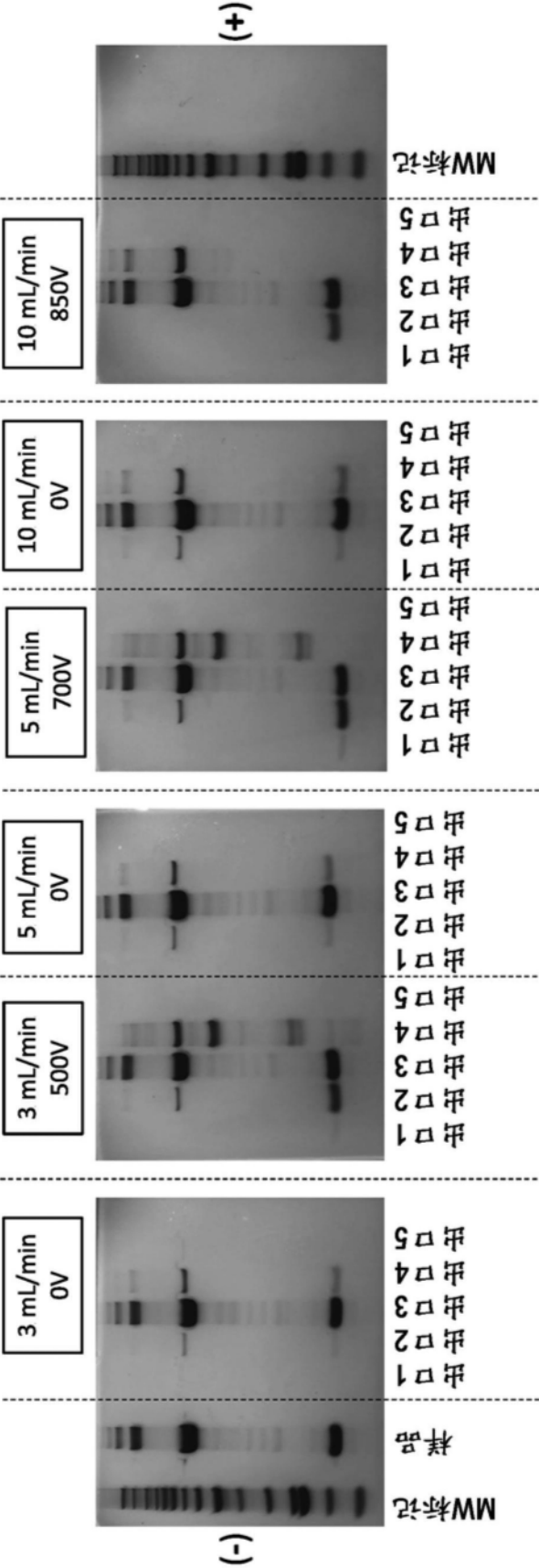


图47D

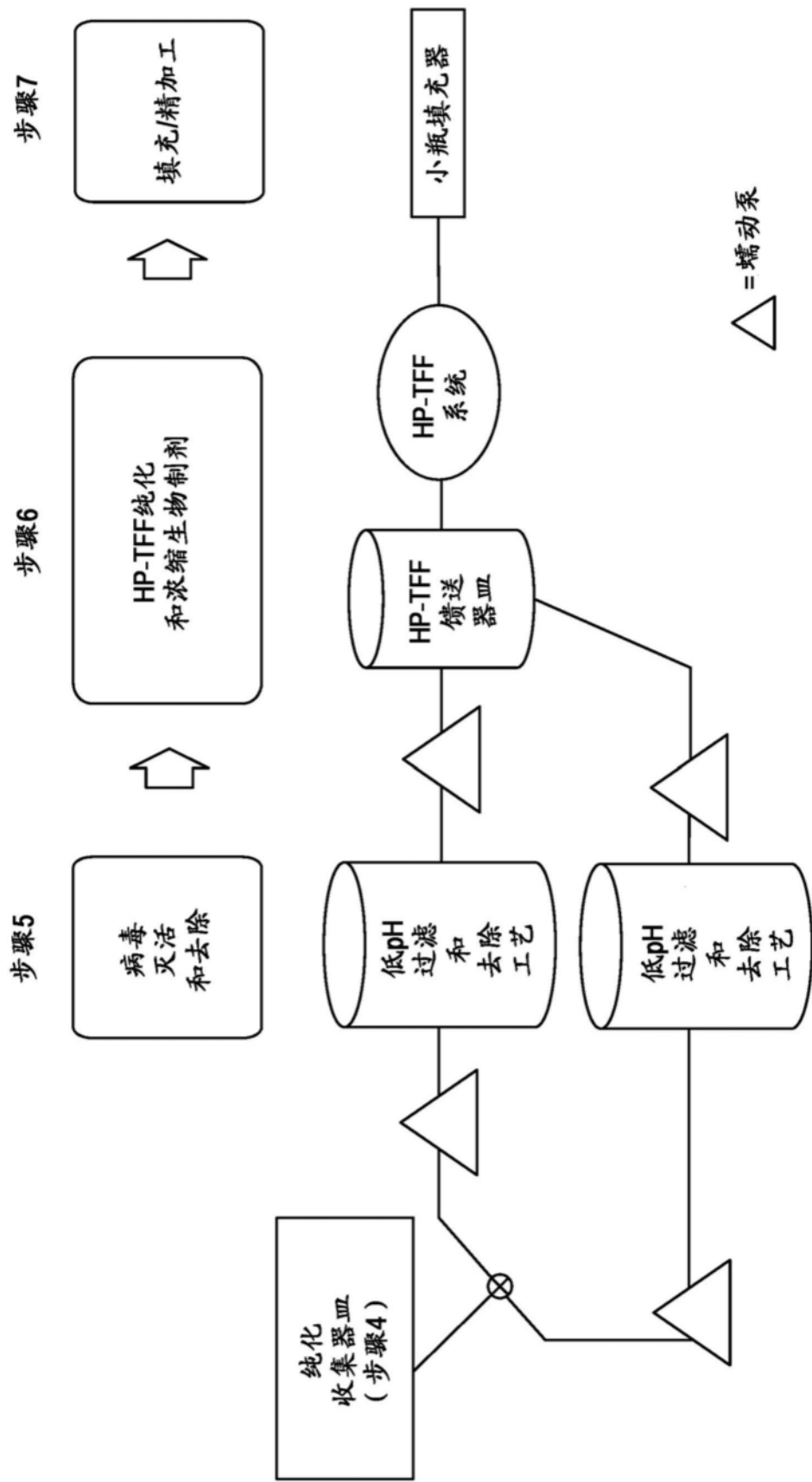


图48

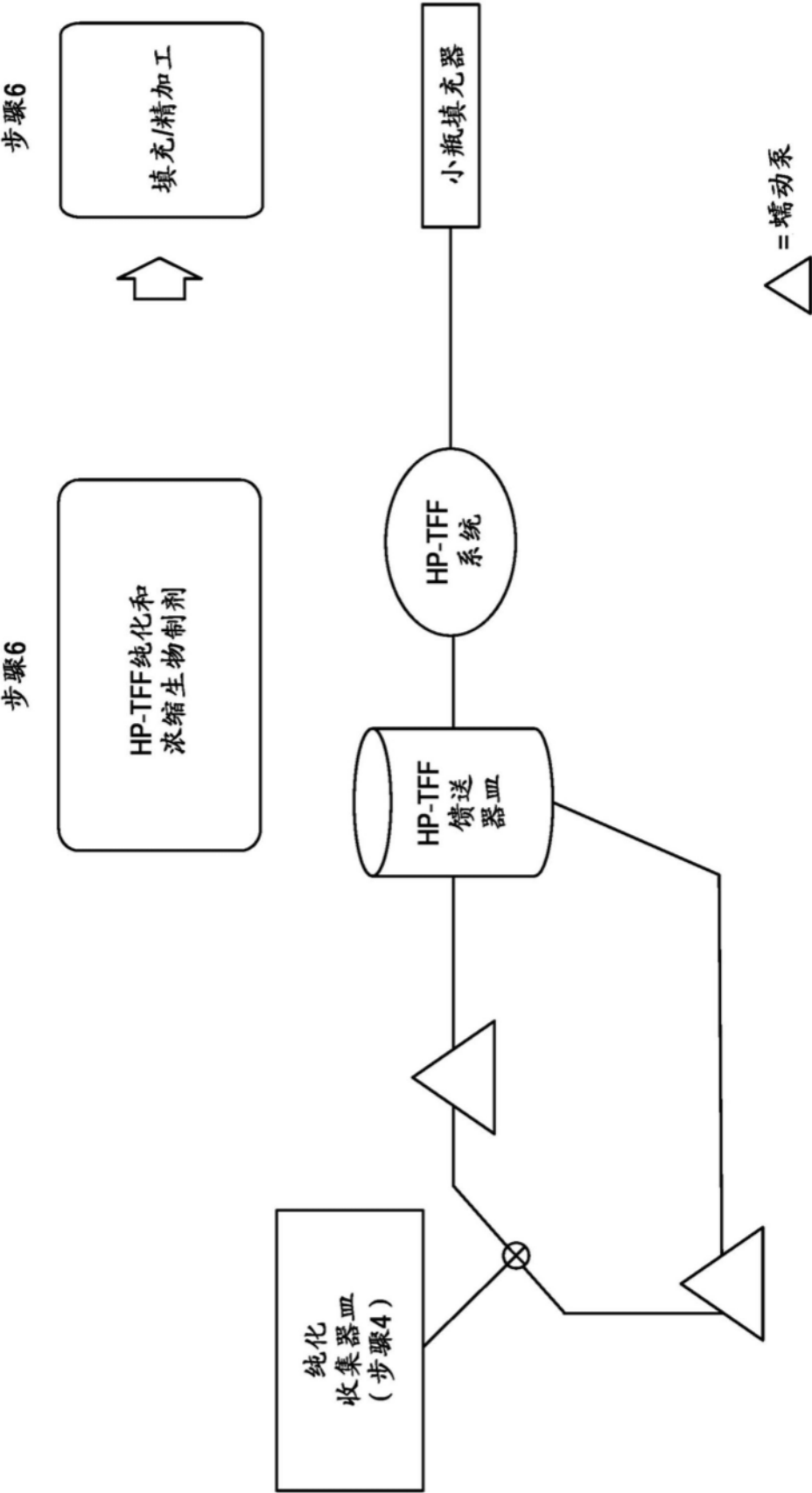


图49