

(19)



Евразийское  
патентное  
ведомство

(21) 202190762 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки  
2021.10.29

(22) Дата подачи заявки  
2015.05.13

(51) Int. Cl. *B01D 61/14* (2006.01)  
*B01D 61/18* (2006.01)  
*B01D 61/22* (2006.01)  
*C07K 1/34* (2006.01)

---

(54) СИСТЕМЫ И СПОСОБЫ УПРАВЛЕНИЯ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИМ ПРОЦЕССОМ ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ С ФИЛЬТРАМИ И В ПРОЦЕССАХ ФИЛЬТРАЦИИ

---

(31) 61/992,595

(32) 2014.05.13

(33) US

(62) 201692277; 2015.05.13

(71) Заявитель:  
ЭМДЖЕН ИНК. (US)

(72) Изобретатель:

Джефро Ева, Швайккарт Рэндолф В.,  
Петти Криста, Фрэнк Грегори,  
Сальстрем Терпсма Кристин, Хевиг  
Артур К. III (US), Шульц Джозеф  
Эдвард (CH)

(74) Представитель:

Медведев В.Н. (RU)

---

(57) Предлагаются системы и способы, применяемые для управления тангенциальной поточной фильтрацией, включая системы и способы управления для использования со связанными системами с модулями предшествующей обработки, такими как хроматографические обрабатывающие модули, которые сообщаются по текучей среде с обрабатывающим модулем тангенциальной поточной фильтрации. Кроме того, включены системы и способы управления для осуществления непрерывной концентрации с использованием однопроходной тангенциальной поточной фильтрации с управлением потоком фильтрата.

A1

202190762

202190762

A1

**СИСТЕМЫ И СПОСОБЫ УПРАВЛЕНИЯ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИМ ПРОЦЕССОМ ДЛЯ  
ИСПОЛЬЗОВАНИЯ С ФИЛЬТРАМИ И В ПРОЦЕССАХ ФИЛЬТРАЦИИ**

Перекрестная ссылка

[0001] Настоящая заявка испрашивает приоритет согласно предварительной заявке США № 61/992595, поданной 13 мая 2014 г., содержание которой полностью включено в настоящую заявку посредством данной ссылки.

Уровень техники

[0002] Настоящее изобретение относится в целом к системам и способам управления технологическим процессом и, в частности, к системам и способам управления технологическим процессом для использования с фильтрами и в процессах фильтрации.

[0003] Многие препараты - например, антитела и, более конкретно, моноклональные антитела, - получают из клеток. Для подготовки препарата, получаемого из клеток, может быть выполнен один или более первоначальных типовых процессов для удаления клеток и любого сопутствующего клеточного детрита для обеспечения возможности проведения очистки. После очистки может быть выполнен один или более последующих типовых процессов для подготовки препарата для введения. Фильтрация может быть включена как в первоначальные, так и в последующие типовые процессы, как будет объяснено ниже в контексте общего описания целостного процесса подготовки получаемого из клеток препарата.

[0004] Что касается промышленных типовых процессов, которые могут быть использованы для подготовки терапевтического внеклеточного препарата, такого как антитело или иммуноглобулин, может быть использован первоначальный типовой процесс сепарации, такой как центрифугирование или фильтрация, для удаления клеток и клеточного детрита. Центрифугирование подразумевает приложение центробежной силы (относительно оси) к жидкому раствору или суспензии для того, чтобы заставить компоненты раствора или суспензии с большей плотностью перемещаться дальше от оси, а компоненты раствора или суспензии с меньшей плотностью перемещаться ближе к оси (или по меньшей мере перемещаться не так далеко от оси, как компоненты с большей плотностью).

Фильтрация представляет собой процесс разделения под давлением, в котором используют мембраны для разделения компонентов в жидком растворе или суспензии в соответствии с отличиями размеров между компонентами. При применении фильтрации для сепарации клеток для их отбора эта фильтрация может называться микрофильтрацией. Перед вышеупомянутыми центрифугированием или фильтрацией или после них может быть выполнен один или более (дополнительных) типовых процессов фильтрации в зависимости от количества клеток и/или клеточного детрита, первоначально находящегося в растворе или суспензии, или от степени, до которой процесс центрифугирования или основной фильтрации разделил клетки и/или клеточный детрит.

**[0005]** После удовлетворительного удаления клеток и клеточного детрита может быть выполнена очистка в одном или более устройствах (которые могут быть выполнены в виде одной или более колонок) с использованием процесса, известный как хроматография. Хроматография подразумевает взаимодействие между первой фазой, называемой подвижной фазой, и второй фазой, называемой неподвижной фазой. Зачастую, целевой препарат в подвижной фазе связывается с неподвижной фазой, и затем используют растворитель (называемый элюентом) для отделения препарата от неподвижной фазы. В других случаях целевой препарат протекает в подвижной фазе, и при этом загрязняющие примеси связываются с неподвижной фазой.

**[0006]** Точный характер взаимодействия между подвижной и неподвижной фазами отличается в зависимости от вида применяемой хроматографии. Ионообменная хроматография основана на силах притяжения между заряженными молекулами целевого препарата (или загрязняющей примеси) и имеющей противоположный заряд твердой фазой. Например, в катионообменной хроматографии положительно заряженные молекулы притягиваются к отрицательно заряженной твердой фазе. Аффинная хроматография подразумевает использование лиганда, специфически связывающегося с препаратом (т.е., целевой молекулой) или загрязняющей примесью. Что касается антитела или иммуноглобулина в качестве целевого препарата, то лигандом может выступать соответствующий антиген.

[0007] После завершения очистки препарат, элюированный из устройства хроматографии, перед введением пациенту может быть перемещен для дальнейшей обработки, включая, например, выработку белка в фармацевтически приемлемом эксципиенте и/или осуществление фильтрации. Например, фильтрация может быть осуществлена для удаления любых присутствующих вирусов для обеспечения вирусной безопасности биотехнологического терапевтического средства. Кроме того, препарат может быть подвергнут фильтрации для его концентрирования до терапевтических уровней и для деминерализации препарата. Когда целью фильтрации является отделение более крупных компонентов от более мелких компонентов, в отличие от фильтрации перед очисткой, выполняемой для удаления клеток и клеточного детрита, фильтрация после очистки удаляет мелкие пептиды и соли из препарата с тем, чтобы увеличить его концентрацию. Кроме того, данная фильтрация может быть использована для деминерализации препарата или для введения стабильной лекарственной формы для хранения препарата перед заполнением (т.е. замещение или замена буфера). При применении в данном контексте фильтрация может называться ультрафильтрацией.

[0008] Вышеописанная фильтрация может быть процессом "тупиковой" фильтрации или процессом перекрестноточной или тангенциальной фильтрации. В "тупиковом" фильтре поток жидкого раствора или суспензии, подлежащий разделению (или подаваемый материал), направлен перпендикулярно мембране. Большая часть подаваемого потока в тангенциальном фильтре направлена по касательной или перекрестно к поверхности мембраны.

[0009] Тангенциальная поточная фильтрация (tangential flow filtration, TFF) обеспечивает определенные преимущества перед "тупиковой" фильтрацией. В частности, при тангенциальной поточной фильтрации материал, постепенно накапливающийся на поверхности мембраны (также называемый неподвижной пленкой) сведен к минимуму, что увеличивает срок эксплуатации фильтра. Как следствие, тангенциальная поточная фильтрация может быть применена к непрерывным технологическим процессам, в которых

подача потока подаваемого материала может осуществляться непрерывно через фильтр.

[0010] В определенных областях применения может быть использован конкретный тип тангенциальной поточной фильтрации, называемый однопроходной тангенциальной поточной фильтрацией (single-pass tangential flow filtration, SPTFF). В то время как традиционная тангенциальная поточная фильтрация подразумевает направление подаваемого потока для многократного прохождения через фильтровальное устройство (или через множество расположенных параллельно фильтровальных устройств), однопроходная тангенциальная поточная фильтрация предполагает направление подаваемого потока через фильтровальное устройство для однократного прохождения. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения фильтровальное устройство SPTFF может включать одиночную мембрану. В соответствии с другими вариантами осуществления изобретения фильтровальное устройство SPTFF может быть образовано рядом мембранных кассет, соединенных последовательно, где концентрат с одной ступени направляется на последующую ступень при движении подаваемого потока. Кассеты могут быть соединены посредством множества креплений или пластин отклонителей потока. В альтернативном варианте осуществления изобретения корпус может быть выполнен с возможностью включения множества мембран, при этом обеспечивая проходы для соединения отдельных мембран.

[0011] Как изложено подробно далее, данное изобретение предлагает усовершенствованные системы и способы управления технологическим процессом для фильтров и фильтрации и, в частности, для использования с тангенциальными фильтрами и в процессе тангенциальной фильтрации, реализуя предпочтительные альтернативные варианты по сравнению с традиционными устройствами и способами.

#### Сущность изобретения

[0012] В соответствии с аспектом настоящего изобретения система управления технологическим процессом включает один или более модулей предшествующей обработки, каждый из которых оказывает воздействие на расход, резервуар, соединенный с одним

или более модулей предшествующей обработки, фильтр, имеющий впуск, выпуск фильтрата и выпуск концентрата, соединенный с резервуаром, питательный насос, имеющий впуск, соединенный с резервуаром, и выпуск, соединенный с впуском фильтра, и датчик, расположенный на выпуске фильтрата для определения расхода на выпуске фильтрата. Кроме того, система включает систему управления, соединенную с датчиком и предшествующими процессами и выполненную с возможностью управления расходом одного или более из указанных одного или более модулей предшествующей обработки в соответствии с расходом на выпуске фильтрата.

**[0013]** В соответствии с другим аспектом настоящего изобретения предлагается способ управления технологическим процессом для использования с одним или более модулей предшествующей обработки, резервуаром, соединенным с одним или более модулей предшествующей обработки, и тангенциальным фильтром, имеющим впуск, выпуск фильтрата и выпуск концентрата, соединенный с резервуаром. Способ включает определение расхода на выпуске фильтрата и управление расходом одного или более из указанных одного или более модулей предшествующей обработки в соответствии с расходом на выпуске фильтрата.

**[0014]** В соответствии с еще одним аспектом настоящего изобретения система управления технологическим процессом включает один или более модулей предшествующей обработки, каждый из которых оказывает воздействие на расход, резервуар, соединенный с одним или более модулей предшествующей обработки, фильтр, имеющий впуск, выпуск фильтрата и выпуск концентрата, соединенный с резервуаром, питательный насос, имеющий впуск, соединенный с резервуаром, и выпуск, соединенный с впуском фильтра, и датчик, расположенный на выпуске фильтрата, для определения расхода на выпуске фильтрата. Кроме того, система включает систему управления, соединенную с датчиком и питательным насосом и выполненную с возможностью управления питательным насосом в соответствии с расходом на выпуске фильтрата.

**[0015]** В соответствии с дополнительным аспектом настоящего изобретения предлагается способ управления технологическим

процессом для использования с одним или более модулей предшествующей обработки, резервуаром, соединенным с одним или более модулей предшествующей обработки, и тангенциальным фильтром, имеющим впуск, выпуск фильтрата и выпуск концентрата, соединенный с резервуаром. Способ включает определение расхода на выпуске фильтрата и перекачивание материала насосом из резервуара в фильтр в соответствии с расходом на выпуске фильтрата.

[0016] В соответствии с еще одним дополнительным аспектом настоящего изобретения система управления технологическим процессом включает один или более модулей предшествующей обработки, каждый из которых оказывает воздействие на расход, резервуар, соединенный с одним или более модулей предшествующей обработки, фильтр, имеющий впуск, выпуск фильтрата и выпуск концентрата, соединенный с резервуаром, питательный насос, имеющий впуск, соединенный с резервуаром, и выпуск, соединенный с впуском фильтра, и датчик, расположенный на выпуске фильтрата для определения расхода на выпуске фильтрата. Кроме того, система включает систему управления, соединенную с датчиком и питательным насосом и выполненную с возможностью управления питательным насосом в соответствии с расходом на выпуске фильтрата до достижения предварительно заданного значения расхода для питательного насоса и с возможностью управления расходом одного или более из указанных одного или более модулей предшествующей обработки в соответствии с расходом на выпуске фильтрата после достижения предварительно заданного значения расхода для питательного насоса.

[0017] В соответствии с другим аспектом настоящего изобретения предлагается способ управления технологическим процессом для использования с одним или более модулей предшествующей обработки, резервуаром, соединенным с одним или более модулей предшествующей обработки, каждый из которых имеет расход, и фильтром, имеющим впуск, выпуск фильтрата и выпуск концентрата, соединенный с резервуаром. Способ включает определение расхода на выпуске фильтрата, перекачивание материала насосом из резервуара в фильтр в соответствии с

расходом на выпуске фильтрата до достижения предварительно заданного значения расхода на насосе и последующее управление расходом одного или более из указанных одного или более модулей предшествующей обработки после достижения предварительно заданного расхода на насосе.

**[0018]** В соответствии с еще одним аспектом настоящего изобретения система управления технологическим процессом включает один или более модулей предшествующей обработки, каждый из которых оказывает воздействие на расход, резервуар, соединенный с одним или более модулей предшествующей обработки, фильтр, имеющий впуск, выпуск фильтрата и выпуск концентрата, соединенный с резервуаром, питательный насос, имеющий впуск, соединенный с резервуаром, и выпуск, соединенный с впуском фильтра, и датчик, расположенный на выпуске фильтрата для определения расхода на выпуске фильтрата. Кроме того, система включает систему управления, соединенную с датчиком и питательным насосом и выполненную с возможностью управления питательным насосом в соответствии с расходом на выпуске фильтрата до достижения предварительно заданного значения расхода для питательного насоса и с возможностью допущения несоответствия между расходом одного или более модулей предшествующей обработки и расходом питательного насоса после достижения предварительно заданного значения расхода для питательного насоса.

**[0019]** В соответствии с дополнительным аспектом настоящего изобретения предлагается способ управления технологическим процессом для использования с одним или более модулей предшествующей обработки, резервуаром, соединенным с одним или более модулей предшествующей обработки, и фильтром, имеющим впуск, выпуск фильтрата и выпуск концентрата, соединенный с резервуаром. Способ включает определение расхода на выпуске фильтрата, перекачивание материала насосом из резервуара в фильтр в соответствии с расходом на выпуске фильтрата до достижения предварительно заданного значения расхода на насосе и последующее перекачивание материала насосом из резервуара в фильтр в соответствии с предварительно заданным значением

расхода на насосе, тем самым обеспечивая изменение объема резервуара.

[0020] В соответствии еще с одним аспектом настоящего изобретения система управления технологическим процессом включает модуль микрофльтрации, однопроходный тангенциальный фильтр, имеющий впуск, выпуск фильтрата и выпуск концентрата, питательный насос, имеющий впуск, соединенный с модулем микрофльтрации, и выпуск, соединенный с впуском фильтра, и насос фильтрата, имеющий впуск, соединенный с выпуском фильтрата фильтра. Кроме того, система включает систему управления, соединенную с насосом фильтрата и выполненную с возможностью управления насосом фильтрата для изменения коэффициента уменьшения потока, где коэффициент уменьшения потока представляет собой отношение потока подаваемого материала к потоку концентрата.

[0021] В соответствии с другим аспектом настоящего изобретения способ управления технологическим процессом включает перекачивание материала насосом через однопроходный тангенциальный фильтр, имеющий впуск, выпуск фильтрата и выпуск концентрата, и перекачивание насосом фильтрата от выпуска фильтрата фильтра для изменения коэффициента уменьшения потока, где коэффициент уменьшения потока представляет собой отношение потока подаваемого материала к потоку концентрата.

[0022] В соответствии с другим аспектом настоящего изобретения предлагается технологический процесс очистки белка. Технологический процесс использует один или более модулей предшествующей обработки, резервуар, соединенный с одним или более модулей предшествующей обработки, и тангенциальный фильтр, имеющий впуск, выпуск фильтрата и выпуск концентрата, соединенный с резервуаром. Технологический процесс включает определение расхода на выпуске фильтрата, тогда как белок выходит из выпуска концентрата обратно в резервуар. Затем технологический процесс включает выполнение одного из пунктов (i) - (iv). Согласно пункту (i) технологический процесс может включать управление расходом одного или более из указанных одного или более модулей предшествующей обработки в соответствии

с расходом на выпуске фильтрата, где расход представляет собой расход материала, по меньшей мере частично содержащего белок. Согласно пункту (ii) технологический процесс может включать перекачивание насосом материала, по меньшей мере частично содержащего белок, из резервуара в фильтр в соответствии с расходом на выпуске фильтрата. Согласно пункту (iii) технологический процесс может включать перекачивание насосом материала, по меньшей мере частично содержащего белок, из резервуара в фильтр в соответствии с расходом на выпуске фильтрата до достижения предварительно заданного значения расхода на насосе и последующее управление расходом одного или более из указанных одного или более модулей предшествующей обработки после достижения предварительно заданного расхода на насосе. Согласно пункту (iv) технологический процесс может включать перекачивание насосом материала, по меньшей мере частично содержащего белок, из резервуара в фильтр в соответствии с расходом на выпуске фильтрата до достижения предварительно заданного значения расхода на насосе и последующее перекачивание материала насосом из резервуара в фильтр в соответствии с предварительно заданным значением расхода на насосе, тем самым обеспечивая изменение объема резервуара. В заключение, после выполнения любого из пунктов (i) - (iv) технологический процесс включает очистку белка в элюате и при необходимости выработку белка в фармацевтически приемлемом эксципиенте.

#### Краткое описание чертежей

[0023] Предполагается, что настоящее изобретение будет понято более полно на основании нижеследующего описания вкуче с сопроводительными чертежами. Некоторые из фигур могут быть упрощены посредством исключения выбранных элементов для более ясного представления других элементов. Такие исключения элементов на некоторых фигурах не обязательно указывают на наличие или отсутствие определенных элементов в каком-либо из иллюстративных вариантов осуществления изобретения за исключением случаев, когда это может быть явным образом выражено

в соответствующем письменном описании. Чертежи необязательно представлены с соблюдением масштаба.

[0024] Фиг. 1 изображает схематический чертеж системы управления, используемой в сочетании с непрерывной однопроходной тангенциальной поточной фильтрацией (single-pass tangential flow filtration, SPTFF);

[0025] Фиг. 2 изображает блок-схему способа ступенчатого или многоуровневого управления, реализованного системой управления, представленной на фиг. 1;

[0026] Фиг. 3 изображает график зависимости коэффициента уменьшения объема (volume reduction factor, VRF) от времени для примерного способа ступенчатого управления в соответствии с вариантом осуществления изобретения, представленным на фиг. 2;

[0027] Фиг. 4 изображает график зависимости коэффициента уменьшения объема (volume reduction factor, VRF) от времени для примерного способа ступенчатого управления и способа бесступенчатого управления;

[0028] Фиг. 5 изображает схематический чертеж системы управления, используемой в сочетании со связанной обрабатывающей системой;

[0029] Фиг. 6 изображает блок-схему способа управления переменным потоком, реализуемого системой управления, представленной на фиг. 5;

[0030] Фиг. 7 изображает блок-схему способа управления постоянным потоком, реализуемого системой управления, представленной на фиг. 5;

[0031] Фиг. 8 изображает блок-схему способа комбинированного управления, реализуемого системой управления, представленной на фиг. 5;

[0032] Фиг. 9 изображает блок-схему способа управления колебаниями, реализуемого системой управления, представленной на фиг. 5;

[0033] Фиг. 10 изображает блок-схему способа управления фиксированным потоком при высоком заданном значении объема, реализуемого системой управления, представленной на фиг. 5;

[0034] Фиг. 11 изображает блок-схему технологического процесса трехколонковой очистки mAb (моноклональных антител) с колонками 2 и 3 в качестве этапов доочистки, на которой колонка 2 обычно представляет катионообменную хроматографию, работающую в режиме связывания и элюирования, а колонка 3 обычно представляет анионообменную хроматографию, работающую в проточном режиме, и на которой блоки обозначают этапы, выполняемые параллельно в связанном процессе, и большие пуловые резервуары могут быть преобразованы в небольшие уравнивающие резервуары в связанном процессе;

[0035] Фиг. 12 изображает схематический чертеж связанного технологического процесса, иллюстрирующий последовательность операций, связность этапов, расположение уравнивающих резервуаров, отбор проб из отдельных потоков и линейное титрование.

[0036] Фиг. 13 изображает таблицу, представляющую стратегии управления TFF для связанного процесса последующей обработки.

[0037] Фиг. 14а изображает график данных, иллюстрирующий воздействие проводимости загрузки на удаление СНОр (белка клеток яичников китайского хомячка) посредством хроматографии с использованием мембраны STIC® и моноклональных антител типа А (mAb А), где исследования с дозированным содержанием солей и высоким содержанием солей имеют проводимость загрузки 16 и 28 мСм/см соответственно, показывая минимальное воздействие проводимости загрузки на уровень СНОр в пуле (вертикальные столбики) и снижение процента СНОр (наклонная линия);

[0038] Фиг. 14b изображает график данных, иллюстрирующий воздействие водородного показателя рН на снижение СНОр посредством хроматографии с использованием мембраны STIC® и mAb А, где материал загрузки для этих четырех исследований был подготовлен посредством титрования пула для проведения катионообменной хроматографии (рН 5,0; проводимость 16 мСм/см) с 2 молями триса к их соответствующему рН, показывая результаты для уровня СНОр в пуле (вертикальные столбики) и снижение процента СНОр (изогнутая линия), демонстрирующие, что лучшее

удаление белков клетки-хозяина достигается при более высоком рН на мембране STIC;

[0039] Фиг. 15 изображает график данных, иллюстрирующий линейное рН титрование потока элюирования катионообменной хроматографии с использованием mAb A от рН 5,0 до рН 8,0 с титрантом 400 ммоль триса рН 8,3 при объемном отношении 0,1, показывая результаты, свидетельствующие о том, что целевой рН (прямая горизонтальная линия) был достигнут на всем протяжении пика элюирования (концентрация белка, гауссова кривая; проводимость, наклонная линия);

[0040] Фиг. 16 изображает два графика данных (верхний: предфильтр Viresolve Shield; нижний: предфильтр Viresolve Prefilter), оценивающих влияние рН загрузки в пакетном режиме при использовании двух различных предфильтров для Viresolve Pro с моноклональными антителами типа D (mAb D), где испытания проводились при следующих условиях: концентрация белка 25 г/л, 0,1 моль ацетата натрия, 0,15 моль хлорида натрия, и где условия обозначены следующим образом: рН 5,0 (ромбики), рН 6,5 (квадратики), рН 7,5 (треугольники);

[0041] Фиг. 17а и 17б изображают профили вирусной фильтрации для связанных операций катионообменной хроматографии - вирусной фильтрации (CEX-VF(VPF-VPro)) с использованием моноклональных атнтел типа С (mAb С) (с 0,1 моль ацетата натрия рН 5) со временем пребывания в промежуточном уравнительном резервуаре: на фиг. 17а) 5 мин и на фиг. 17б) 25 мин, где показаны диаграммы для концентрации белка (ромбики), проводимости (квадратики), давления (треугольники), проницаемости (крестики);

[0042] Фиг. 18 изображает график, иллюстрирующий сравнение диаграмм проницаемости VF для пакетного и связанного (CEX-VF) режима с использованием VPF-VPro с mAb С (с 0,1 моль ацетата натрия рН 5), где связанные данные показаны сгруппированными вдоль диагональной линии, и пакетные данные обозначены квадратиками, кружками и ромбиками, расположенными ниже сгруппированной линии, причем пакетные данные показаны как средняя проницаемость VPro для каждого независимого

исследования: квадратики обозначают высокое давление, кружки – низкое давление, ромбики – центральные точки, а незакрашенные значки представляют условие с низким содержанием соли, тогда как закрашенные значки представляют условие с высоким содержанием соли;

[0043] Фиг. 19 изображает график, иллюстрирующий зависимость потока фильтрата TFF от концентрации при трансмембранном давлении (TMP) 20 фунт/дюйм<sup>2</sup> для условий низкого и высокого содержания солей с использованием mAb C (при 100 ммоль ацетата pH 5 с 30 ммоль хлорида натрия при низком содержании соли в незакрашенных значках или 150 ммоль хлорида натрия при высоком содержании соли в закрашенных значках), где замеры обозначены значками, линии обозначают соответствие модели, стрелки обозначают линейное изменение перекрестного потока подаваемого материала, необходимое для поддержания постоянного потока фильтрата величиной 38 л/м<sup>2</sup>/час до конца связанного процесса (конец UF1a);

[0044] Фиг. 20 изображает таблицу примеров разработанных связанных процессов;

[0045] Фиг. 21a изображает график данных, иллюстрирующий прогрессию массы на протяжении связанного последующего процесса с использованием моноклональных антител типа B (mAb B) со следующими этапами в порядке выполнения: катионообменная хроматография в режиме связывания/элюирования (CEX), гидрофобная проточная хроматография (HIC FT), вирусная фильтрация (VF), TFF (UF1a), где связанная часть процесса заканчивается на этапе UF1a; этапы UF1b, DF, OC выполняют в дискретном режиме;

[0046] Фиг. 21b изображает график данных, иллюстрирующий диаграмму связанной вирусной фильтрации, где изменения потока (ромбики) относительно заданного значения (пунктирная линия) и, следовательно, падение давления (треугольники) относительно Viresolve Pro являются результатами управления уровнем автоматизации для резервуара концентрата TFF, а резкое падение проницаемости фильтра VPro (квадратики) соответствует увеличению максимальной концентрации белка (крестики) на фильтре;

[0047] Фиг. 21с изображает график данных, иллюстрирующий диаграмму связанной TFF (параметры обработки показаны на фиг. 20, Таблица 2), где перекрестный поток (треугольники) подаваемого материала и TMP (квадратики) увеличиваются во время ультрафильтрации 1а (UF1а) для поддержания постоянного значения расхода фильтрата (звездочки), и заданное значение расхода VF и заданные значения расхода фильтрата TFF соответствуют друг другу и представлены горизонтальной пунктирной линией, расположенной немного выше значения 8 л/мин, а небольшое колебание расхода VF (плюсы) и уровня резервуара TFF (крестики) обусловлены управлением автоматизацией; и

[0048] Фиг. 22 изображает график, демонстрирующий расчетные значения объема пула для этапов связывания/элюирования (В/Е) (крайний левый вертикальный столбик в каждой группе из трех столбиков), проточной хроматографии (FT) (средний вертикальный столбик в каждой группе из трех столбиков) и вирусного фильтрования (VF) (крайний правый вертикальный столбик в каждой группе из трех столбиков) для моноклональных антител типа А - Е, осуществляемых в дискретном режиме, по сравнению с использованием уравнивающего резервуара объемом 100 л в связанном процессе.

Подробное описание различных вариантов осуществления изобретения

[0049] Ниже представлены определения следующих терминов, используемых в настоящем описании:

[0050] Фильтрация: Процесс разделения под давлением, в котором используют мембраны для разделения компонентов в жидком растворе или суспензии в соответствии с отличиями размеров между компонентами.

[0051] Подаваемый материал: Жидкий раствор или суспензия, поступающие в фильтр.

[0052] Фильтрат: Компонент или компоненты, проходящие через мембрану. Также называется пермеатом.

[0053] Концентрат: Компонент или компоненты, не проходящие через мембрану, а вместо этого задерживаемые мембраной.

[0054] Тангенциальная поточная фильтрация (tangential flow filtration, TFF): Во время TFF жидкий раствор или суспензию перекачивают насосом по касательной к поверхности мембраны. Также называется перекрестноточной фильтрацией.

[0055] Однопроходная тангенциальная поточная фильтрация (single-pass tangential flow filtration, SPTFF): Тип TFF, в котором подаваемый поток направляют через фильтровальное устройство однократно без рециркуляции.

[0056] Микрофильтрация: Фильтрация, используемая для отделения целых клеток и относительно крупного клеточного детрита/лизатов от остальной части компонентов, такой как коллоидный материал, белки (включая целевой препарат) и соли. Размеры пор мембраны для данного типа разделения могут находиться, например, в диапазоне от 0,05 мкм до 1,0 мкм. Фильтрат, получаемый в результате микрофильтрации, может называться собранной после микрофильтрации текучей средой.

[0057] Ультрафильтрация: Фильтрация, используемая для отделения белков (включая целевой препарат) от, например, относительно небольших пептидов или буферных компонентов, как при деминерализации или концентрации. Номинальные данные мембраны для данного типа разделения могут быть выражены в пределах номинального молекулярного веса и находиться в диапазоне от 1 до 1000 кД, например.

[0058] Диафильтрация: Процесс фильтрации, который может быть осуществлен в сочетании с другими видами разделения для увеличения, например, выхода или чистоты препарата. В рециркуляционный резервуар вводят буферный раствор при удалении фильтрата из типового процесса.

[0059] Трансмембранное давление (transmembrane pressure, TMP): TMP представляет собой среднее давление, оказываемое подаваемым материалом на мембрану со стороны фильтрата.

[0060] Связанные процессы: Предшествующий процесс и последующий процесс являются связанными, когда последующий процесс применяют одновременно с предшествующим процессом. Таким образом, осуществление предшествующего и последующего процессов по меньшей мере временно перекрываются.

**[0061]** Настоящее изобретение относится к различным способам и системам управления технологическим процессом для фильтров и систем фильтрации. Прежде всего, описаны способы и системы управления технологическим процессом для концентрации собранной в результате микрофильтрации текучей среды с использованием однопроходной тангенциальной поточной фильтрации с управлением потоком фильтрата. Кроме того, в настоящей заявке описаны способы и системы управления технологическим процессом для осуществления технологической операции в отношении ультрафильтрационного элемента, используемой одновременно (т.е. связанной) с одной или более предшествующих типовых операций.

**[0062]** Как упомянуто выше, микрофильтрацию применяют для отделения клеток и клеточного детрита от целевого препарата. В частности, расположение микрофильтрационного элемента согласовано с потоком сбора от биореактора. Микрофильтрационный элемент возвращает клетки и клеточный детрит в биореактор, тогда как фильтрат собирают для дополнительной последующей обработки.

**[0063]** Микрофильтрация может быть объединена с диафильтрацией для увеличения выхода препарата. Однако диафильтрация увеличивает объем жидкой фазы фильтрата, собираемого с микрофильтрационного элемента. Для получения выхода готового препарата более 80–90% объем жидкой фазы фильтрата, собираемого с микрофильтрационного элемента, может составлять по меньшей мере три рабочих объема биореактора. Значительное количество собираемого объема жидкой фазы может ограничивать применение диафильтрации при увеличении масштаба.

**[0064]** Для обеспечения возможности применения диафильтрации с микрофильтрацией для увеличения выхода препарата в крупномасштабных технологических операциях в настоящей заявке описаны способы и системы управления технологическим процессом для концентрации фильтрата от микрофильтрационного элемента (называемой в настоящей заявке текучей средой, собранной в результате микрофильтрации). В частности, эти способы и системы управления технологическим процессом используют однопроходную тангенциальную поточную фильтрацию (SPTFF) с управлением потоком фильтрата.

**[0065]** Во время операции микрофльтрации в режиме диафльтрации постоянного объема концентрация препарата сначала является высокой вследствие накопления препарата в биореакторе во время производственной фазы. Иными словами, концентрация препарата вначале высокая, поскольку еще не произошло удаление препарата и буферный раствор еще не был добавлен в рамках процесса диафльтрации. Концентрация препарата в биореакторе (и в фильтрате микрофльтрационного элемента) будет снижаться по мере прохождения препарата через микрофльтрационный элемент и добавления среды в рамках процесса диафльтрации. Изменение концентрации препарата оказывает влияние на применение последующей SPTFF для концентрации собранной в результате микрофльтрации текучей среды, поскольку осуществляемое в процессе SPTFF преобразование подаваемого материала в фильтрат зависит от концентрации подаваемого материала, а также от перекрестного расхода и трансмембранного давления. Изменение концентрации препарата в фильтрате микрофльтрационного элемента приводит к изменению преобразования подаваемого материала в фильтрат в процессе SPTFF.

**[0066]** В соответствии с настоящим изобретением однопроходную тангенциальную поточную фльтрацию (SPTFF) используют в сочетании с системой и способом управления для обеспечения концентрации собранной в результате микрофльтрации текучей среды.

**[0067]** Что касается оборудования, на фиг. 1 изображена обрабатывающая система 50, включающая микрофльтрационный модуль 51, дополнительный первый резервуар 52, который принимает фильтрат от микрофльтрационного модуля 51, питательный насос 54 (который в соответствии с другими вариантами осуществления изобретения может быть соединен напрямую с микрофльтрационным элементом 51 и выполнять двойную функцию удаления фильтрата от микрофльтрационного элемента 51 и продвижения потока подаваемого материала через расположенные на последующих технологических этапах элементы, такие как фильтр SPTFF 56), SPTFF 56, насос 58 фильтрата и второй резервуар 60 для содержания концентрата. Линия 62 соединяет выпуск 64 первого

резервуара 52 с впуском 66 питательного насоса 54, а линия 68 соединяет выпуск 70 питательного насоса 54 с впуском 72 SPTFF 56. Линия 74 соединяет выпуск 76 концентрата со вторым резервуаром 60, тогда как линия 78 соединяет выпуск 89 фильтрата с впуском насоса 58 фильтрата. На линии 74 между выпуском 76 концентрата и вторым резервуаром 60 может быть расположен клапан 82 регулирования обратного давления. Линии 62, 68, 74, 78 могут дополнительно содержать соединительные разъемы, зажимы и другое оборудование, не показанное на фиг. 1.

[0068] Кроме того, как показано на фиг. 1, предлагается система 120 управления. Питательный насос 54 и клапан 82 могут быть установлены вручную, тогда как работу насоса 58 фильтрата регулирует система 120 управления в соответствии со способом управления, изображенным на фиг. 2. В соответствии с другими вариантами осуществления изобретения система 120 управления может быть соединена с питательным насосом 54, насосом 58 фильтрата и клапаном 82 и может быть выполнена с возможностью управления питательным насосом 54, насосом 58 фильтрата и клапаном 82.

[0069] В соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения система 120 управления может включать один или более процессоров 122 и память 124, соединенную с одним или более процессоров 122. Один или более процессоров 122 могут быть запрограммированы для осуществления управления насосом 58 фильтрата и при необходимости питательным насосом 54 и клапаном 82 в соответствии со способом управления, показанным на фиг. 2. Команды, выполняемые одним или более процессоров 122, могут храниться в памяти 124, которая может включать материальные долговременные машиночитаемые носители или запоминающие среды, такие как постоянное запоминающее устройство (ПЗУ) или оперативное запоминающее устройство (ОЗУ) в различных формах (например, жесткий диск, оптические/магнитные носители и т.п.).

[0070] Система и способ управления в соответствии с настоящим изобретением используют стратегию коэффициента уменьшения переменного потока (variable flow reduction factor, FRF) для достижения целевого коэффициента уменьшения объема

(volume reduction factor, VRF). FRF определяют, как отношение потока подаваемого материала к потоку концентрата (поток подаваемого материала/поток концентрата). VRF определяют, как отношение суммарного объема подаваемого материала к суммарному объему концентрата (объем подаваемого материала/объем концентрата). Для получения требуемого целевого VRF с преобразованием переменного потока система и способ управления в соответствии с настоящим изобретением реализуют стратегию управления потоком фильтрата с изменениями FRF в ходе выполнения сбора. В частности, более низкий целевой FRF используют при высокой концентрации препарата (т.е. в начале процесса сбора). И наоборот, более высокий целевой FRF используют при низкой концентрации препарата. По мере того, как уровень концентрации меняется от высокого к низкому, целевой FRF изменяется.

[0071] В соответствии с первым вариантом осуществления настоящего изобретения целевой FRF изменяют при помощи последовательности ступенчатых изменений. Стратегию управления потоком фильтрата можно выразить следующим образом:

$$\text{Total VRF} = \Delta T_{\text{total}} / (\Delta t_1 / \text{FRF}_1 + \dots + \Delta t_n / \text{FRF}_n) \quad (\text{Уравн. 1})$$

где Total VRF=коэффициент уменьшения суммарного объема;

$\Delta T_{\text{total}}$ =общее время обработки;

$\Delta t$ =временной интервал этапа и

FRF=коэффициент уменьшения объема этапа.

[0072] На фиг. 2 изображен вариант осуществления способа управления, обозначенного как способ 150 управления. Способ 150 начинается с этапа 152, где питательный насос 54 устанавливают на работу с требуемым уровнем перфузии биореактора. Способ 150 переходит к этапу 154, где клапан 82 управления обратным давлением устанавливают на требуемое обратное давление для SPTFF 56. Следует учитывать, что действия на этапах 152, 154 могут выполняться последовательно или одновременно. Способ 150 переходит к этапу 156, на котором насос 58 фильтрата устанавливают на заданную производительность для обеспечения целевого FRF. Затем способ 150 переходит к этапу 158, на котором насос 58 фильтрата работает при заданной производительности.

Способ переходит к этапу 160, на котором происходит определение того, нужно ли регулировать работу насоса 58 фильтрата для изменения целевого FRF. Если на этапе 160 решено, что еще не время менять производительность насоса фильтрата для изменения целевого FRF (и в соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения для увеличения), способ 150 возвращается к этапу 158. Если на этапе 160 решено, что необходимо менять производительность насоса фильтрата, способ 150 переходит к этапу 162, на котором производительность насоса изменяют для достижения нового целевого FRF.

[0073] На фиг. 3 изображен пример FRF, достигаемого посредством использования системы SPTFF в соответствии с настоящим изобретением в сочетании с системой и способом ступенчатого управления. Следует отметить, что способ осуществляют в три этапа в течение 72 часов. Каждый этап выполняется в течение 24 часов. В соответствии с вышеописанным, FRF, используемый для первого этапа, низкий, когда концентрация препарата высокая, и FRF, используемый для третьего последнего этапа, высокий, когда концентрация препарата низкая. В частности, FRF, используемый для первого этапа, равен 2,1, FRF, используемый для второго этапа, равен 2,7, и FRF, используемый для третьего этапа, равен 3,4. Применяя представленное выше уравнение 1, получается, что общий VRF, как следствие, равен 2,6.

[0074] Несмотря на то, что пример фиг. 3 включает три этапа, следует отметить, что может быть использовано меньшее или большее количество этапов (например, два этапа, четыре этапа). На самом деле, на фиг. 4 изображен вариант осуществления настоящего изобретения, где приводится сравнение варианта ступенчатого изменения FRF с вариантом непрерывного изменения FRF. Кроме того, несмотря на то, что каждый этап выполняют в течение одинакового периода времени, временной период, в течение которого производительность насоса фильтрата может поддерживаться для обеспечения целевого FRF, может быть изменен, так что первый этап может быть продолжительнее, чем последующие этапы, или наоборот. Более того, несмотря на то, что изменения

(в данном случае увеличения) целевого FRF по существу равны в примере, представленном на фиг. 3, следует отметить, что разница между целевыми FRF для последующих этапов необязательно должна быть по существу одинаковой.

[0075] Целевой VRF может быть достигнут посредством определения размера площади мембраны в соответствии с подаваемым потоком и определения FRF в пределах ограничений системы по давлению. Каждое ступенчатое изменение FRF может быть задано для работы в пределах определенного диапазона трансмембранного давления (TMP) для обеспечения требуемого общего VRF.

[0076] После рассмотрения систем и способа управления технологическими процессами для концентрации текучей среды, собранной в результате микрофльтрации, могут быть рассмотрены другие системы и способы управления технологическим процессом, используемые с ультрафльтрацией и связанными процессами, со ссылкой на фиг. 5-10. В частности, на фиг. 5 изображена связанная обрабатывающая система (с соответствующей системой управления), которая может реализовать способы, представленные на фиг. 6-10.

[0077] Как описано выше, ультрафльтрация представляет собой процесс разделения, в котором используют мембрану для отделения целевого препарата, например, белка, от более мелких пептидов и солей, например. В случае ультрафльтрации концентрат собирают для возможной дальнейшей обработки, упаковки и т.д., тогда как фильтрат удаляют. Ультрафльтрация приводит к получению концентрированного препарата с более низким содержанием солей. Таким образом, ультрафльтрация может также называться процессом деминерализации.

[0078] В типичном ультрафльтрационном процессе, таком как для моноклональных антител (mAb), например, процесс ультрафльтрации выполняют как дискретный типовой процесс в пакетном режиме при фиксированном перекрестном расходе подаваемого материала. Процесс является дискретным в том смысле, что модуль не напрямую соединен с предшествующими или последующими процессами, а вместо этого работает в пакетном режиме. Выбранный фиксированный перекрестный расход подаваемого

материала обычно является максимальным перекрестным расходом подаваемого материала, допускаемым конструкцией системы, для обеспечения максимальной эффективности процесса.

[0079] По мере увеличения концентрации препарата поток фильтрата уменьшается. Это уменьшение обычно относится к градиенту концентрационной поляризации. Иначе говоря, по мере осуществления процесса фильтрации граничный слой по существу высококонцентрированных задерживаемых веществ накапливается на или около поверхности мембраны. Граничный слой препятствует прохождению потока материала через мембрану и, таким образом, влияет на производство фильтрата.

[0080] На самом деле, если процесс ультрафильтрации происходит в пакетном режиме с питательным резервуаром, прикрепленным к фильтру, расход на впуске к фильтру от питательного резервуара обычно уменьшают для соответствия расхода фильтрата для поддержания постоянного объема концентрата в единицу времени. Так как ультрафильтрацию осуществляют в качестве дискретного типового процесса, то отсутствует воздействие на какой-либо другой типовой процесс вследствие уменьшения этого расхода.

[0081] Однако, на фиг. 5 изображена система 200, в которой ультрафильтрационный обрабатывающий модуль 202 соединен с модулями предшествующей обработки 204 (например, хроматографическим обрабатывающим модулем, обрабатывающим модулем вирусной фильтрации). Ультрафильтрационный обрабатывающий модуль 202 включает резервуар (или рециркуляционный резервуар) 206, в который подают препарат с предшествующих процессов, питательный насос 208, тангенциальный фильтр (tangential flow filter, TFF) 210 и клапан 212 обратного давления. Линия 214 соединена с выпуском 215 питательного резервуара 206 и впуском 218 насоса 208. Линия 220 соединена с выпуском 222 насоса 208 и впуском 224 фильтра 210. Кроме того, линия 226 возврата концентрата соединена с выпуском 228 фильтра 210 и питательным резервуаром 206. Фильтрат выходит из ультрафильтрационного обрабатывающего модуля 202 на выпуске 230 фильтрата фильтра 210.

**[0082]** Когда ультрафильтрационный обрабатывающий модуль 202 соединен с предшествующими процессами, как показано на фиг. 5, любое уменьшение расхода фильтрата (т.е. на выпуске 230) оказывает влияние на предшествующие технологические операции. Иными словами, снижение расхода на впуске к фильтру является типичным для обеспечения соответствия снижениям расхода фильтрата. С другой стороны, предшествующие технологические операции, такие как хроматография и вирусная фильтрация, обычно осуществляют при постоянном расходе. Если предшествующие технологические операции должны быть связаны с ультрафильтрационным обрабатывающим модулем 202, необходимо представить решение для учета разницы в работе между ультрафильтрационным обрабатывающим модулем 202 и предшествующими технологическими операциями 204. В соответствии с вариантами осуществления настоящего изобретения необходимы система и способ управления для удовлетворения потребности в выполнении предшествующих процессов 204 (например, с использованием хроматографического обрабатывающего модуля) при постоянном расходе и соединения этих процессов (напрямую или косвенно через обрабатывающий модуль вирусной фильтрации) с ультрафильтрационным обрабатывающим модулем 202, имеющим переменный расход фильтрата.

**[0083]** Как показано на фиг. 5, может быть предложена система 240 управления. Система 240 управления может быть соединена с предшествующими процессами 204 и/или питательным насосом 208. Система 240 управления может быть выполнена с возможностью управления предшествующим процессом 204 и/или насосом 208 для реализации одного или более способов управления, представленных на фиг. 6-10. Кроме того, система 240 управления может быть соединена по меньшей мере с одним датчиком 246, который может определять расход фильтрата.

**[0084]** В соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения система 240 управления может включать один или более процессоров 242 и память 244, соединенную с одним или более процессорами 242. Один или более процессоров 242 могут быть запрограммированы на осуществление управления предшествующими

процессами 204 и насосом 208 в соответствии со способами управления, представленными на одной или более фиг. 6-10. Команды, выполняемые одним или более процессорами 242, могут храниться в памяти 244, которая может включать материальные долговременные машиночитаемые носители или запоминающие среды, такие как постоянное запоминающее устройство (ПЗУ) или оперативное запоминающее устройство (ОЗУ) в различных формах (например, жесткий диск, оптические/магнитные носители и т.п.).

**[0085]** В соответствии с первым способом 250, изображенным на фиг. 6 и называемым стратегией переменного потока, система 240 управления изменяет выполнение предшествующих процессов 204. В частности, способ 250 начинается с этапа 252, на котором система 240 управления определяет уменьшение расхода фильтрата, например, в ответ на сигнал, полученный от датчика 246. Способ 250 продолжается на этапе 254, где определяют изменение предшествующих процессов в соответствии с измеренным уменьшением расхода фильтрата. Иначе говоря, способ 250 определяет на этапе 254 соответствующий ответ на измеренное изменение расхода фильтрата. Например, определенное изменение может быть предварительно заданным уменьшением расхода предшествующих процессов 204 (например, расхода хроматографического обрабатывающего модуля) для поддержания постоянного объема концентрата. В соответствии с другими вариантами осуществления изобретения изменение может являться уменьшением, рассчитанным по формуле, выражающей отношение между расходом фильтрата и расходом предшествующих процессов 204. Затем способ 252 обеспечивает управление предшествующими процессами 204 на этапе 256 в соответствии с изменением, определенным на этапе 254.

**[0086]** В соответствии со вторым способом 260, изображенным на фиг. 7 и называемым стратегией постоянного потока, система 240 управления изменяет работу насоса 208. В частности, способ 260 начинается с этапа 262, на котором система 240 управления определяет уменьшение расхода фильтрата, например, в ответ на сигнал, полученный от датчика 246. Способ 260 продолжается на этапе 264, где определяют изменение работы насоса 208 (т.е. увеличение или уменьшение расхода на выпуске насоса 208) в

соответствии с измеренным уменьшением расхода фильтрата. Например, изменение может быть изменением перекрестного расхода подаваемого материала для перехода расхода фильтрата к постоянному расходу, который соответствует расходу предшествующих процессов 204, что также должно обеспечивать постоянный объем в резервуаре 206. В этом отношении следует отметить, что поток фильтрата сильно зависит от перекрестного расхода подаваемого материала, причем более высокий перекрестный расход перекрестного потока подаваемого материала приводит к более высокому коэффициенту переноса массы, тем самым обуславливая более высокий поток фильтрата. Затем способ 260 может продолжаться на этапе 266, где система 240 управления управляет работой насоса 208 в соответствии с изменением, определенным на этапе 264.

[0087] Еще одним способом решения проблемы может быть обеспечение несоответствия между расходами предшествующих процессов 204 и фильтрата из выпуска 230. В соответствии с данным способом, также называемым стратегией переменного объема, резервуар 206 должен иметь соответствующие размеры для вмещения резких колебаний (т.е. увеличений или уменьшений) объема концентрата, вызванных несоответствием. В отличие от способов 250, 260, описанных на фиг. 6 и 7, данный способ является не активным, а пассивным способом управления.

[0088] На фиг. 8-10 изображены три дополнительных способа управления, которые могут быть реализованы посредством системы 240 управления, причем способ управления, показанный на фиг. 8, называется гибридной стратегией, способ управления, показанный на фиг. 9, называется уравнивающей стратегией (которая отличается от простого допущения резких колебаний объема в резервуаре 206), и способ управления, показанный на фиг. 10, называется стратегией фиксированного потока при высоком заданном значении объема.

[0089] В соответствии со способом 270, показанным на фиг. 8, данный способ 270 изначально использует этапы способа 260. Иными словами, способ 270 определяет наличие изменения в расходе фильтрата на этапе 272, определяет изменение для насоса 208 на

этапе 274 и осуществляет изменение на этапе 276. Затем способ 270 определяет на этапе 278, достигнуто ли предварительно заданное значение расхода для работы насоса 208, после чего переходит к этапам 280, 282, 284, где определяет наличие уменьшения расхода фильтрата, определяет изменение для предшествующих процессов 204 и осуществляет изменение. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения предварительно заданный расход может быть максимальным расходом системы. Вследствие ограничения работы насоса 208 в соответствии с предварительно заданным расходом (и, в частности, максимальным расходом системы), изменения, определенные на этапе 282 и осуществленные на этапе 284, снижены относительно способа 250. Кроме того, поддерживается фиксированный объем концентрата, допуская потребность в резервуаре меньшего размера.

[0090] В соответствии со способом 290, показанным на фиг. 9, данный способ 290 также изначально использует этапы способа 260. Иными словами, способ 290 определяет наличие изменения в расходе фильтрата на этапе 292, определяет изменение для насоса 208 на этапе 294 и осуществляет изменение на этапе 296. Затем способ 290 определяет на этапе 298, достигнуто ли предварительно заданное значение расхода для работы насоса 208, после чего переходит к этапу 300, где допустимы резкие колебания объема в резервуаре в соответствии с вышеописанным пассивным способом. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления изобретения предварительно заданный расход может быть максимальным расходом системы. Преимуществом способа 290 является обеспечение возможности продолжения выполнения предшествующих процессов 204 при постоянном расходе.

[0091] В соответствии со способом 310, изображенным на фиг. 10, для минимизации концентрации в ультрафильтровальном обрабатывающем модуле 202 используют более крупный резервуар 206. Как указано выше, концентрация препарата является главным фактором, влияющим на формирование градиента поляризации. Посредством ограничения максимальной концентрации в модуле 202 относительно традиционного пакетного ультрафильтрационного обрабатывающего модуля TFF максимальный расход фильтрата,

который может быть достигнут, увеличивают относительно традиционного пакетного обрабатывающего модуля. Следствием более высокого максимального расхода фильтрата является то, что в обрабатывающих модулях на предшествующих технологических операциях может поддерживаться постоянный расход, необходимый для оптимизации их работы.

[0092] Таким образом, в соответствии со способом 310, показанным на фиг. 10, система 240 управления изменяет работу насоса 208. В частности, способ 310 начинается с этапа 312, на котором система 240 управления определяет уменьшение расхода фильтрата, например, в ответ на сигнал, полученный от датчика 246. Способ 310 продолжается на этапе 314, где определяют изменение в работе насоса 208 в соответствии с измеренным уменьшением расхода фильтрата. Например, изменение может быть изменением перекрестного расхода подаваемого материала для перехода расхода фильтрата к постоянному расходу, который соответствует расходу предшествующих процессов 204, что также должно обеспечивать постоянный объем. Однако, изменение также зависит от поддержания объема в резервуаре 206, который больше объема, поддерживаемого способом 260, показанным на фиг. 8. Затем способ 310 может продолжаться на этапе 316, где система 240 управления управляет работой насоса 208 в соответствии с изменением, определенным на этапе 314.

[0093] Следует также отметить, что предшествующие обрабатывающие модули 204 могут не обеспечивать достаточной массы для каждого цикла обрабатывающих модулей 204 для способов, показанных на фиг. 6-10, чтобы быть использованной непрерывно на протяжении всей работы связанной системы 200. Вместо этого, вышеописанная стратегия переменного объема может быть использована для создания резких колебаний объема в резервуаре 206, что обеспечивает сбор и объединение множества связанных циклов от предшествующих обрабатывающих модулей 204.

[0094] Следует отметить, что предложенные системы и способы могут иметь одно или более преимуществ относительно традиционной технологии, как было описано выше. Любое или любые из этих преимуществ могут быть представлены в конкретном варианте

осуществления изобретения в соответствии с характеристиками настоящего изобретения, включенными в этот вариант осуществления. Кроме того, другие преимущества, конкретно не описанные в настоящей заявке, также могут присутствовать.

**[0095] Проведение экспериментальных исследований**

**[0096]** В качестве примера, различные преимущества и выгоды можно понять на основании следующих экспериментальных исследований. В частности, нижеследующее описание представляет один экспериментальный последующий процесс с использованием моноклональных антител, который связан с колонками доочистки через финальный этап тангенциальной поточной фильтрации (TFF). На фиг. 11 представлен типичный процесс на платформе mAb, который начинается со сбора, за которым следует аффинная хроматография белка А для захвата, этап вирусной инактивации с низким рН, до двух дополнительных этапов хроматографии для доочистки, этап вирусной фильтрации (viral filtration, VF), и, наконец, этап TFF для осуществления ультрафильтрации/диафильтрации (ultrafiltration/diafiltration, UF/DF) для приготовления лекарственной формы. Промежуточные пулы между колонками доочистки, в данном случае этап связывания/элюирования (bind/elute, В/Е) и поточной хроматографии (flowthrough, FT), и TFF обычно являются наиболее разбавленными пулами и, следовательно, имеют самый высокий потенциал для того, чтобы их объемы превышали размер пуловых резервуаров. За счет соединения колонки В/Е, колонки FT, этапов VF и TFF три больших пуловых резервуара могут быть уменьшены или исключены. В настоящем документе представлены предлагаемые конфигурации связанного процесса и стратегий управления потоком для обеспечения связности этапов типовых процессов. Представлено подробное описание подхода к разработке связанного процесса, а также рассмотрение дополнительных требований к контролю технологических процессов.

**[0097] Способы и материалы**

**[0098] Материалы**

[0099] Пять препаратов mAb (mAb A, mAb B, mAb C, mAb D, mAb E) были произведены стандартными способами культивирования клеток CHO.

[00100] Хроматографические смолы, использованные в мелком и крупном масштабе, включают Fractogel® EMD SO<sub>3</sub><sup>-</sup> (EMD Millipore, Биллерика, Массачусетс) и Phenyl Sepharose™ 6 Fast Flow High Sub (GE Healthcare, Пискатауэй, Нью-Джерси). Колонки для мелкомасштабной хроматографии были упакованы в 1,15 см лабораторные колонки EMD Millipore Vantage™ L, а для крупномасштабной – в 60 или 80 см колонки GE Healthcare Axichrom. AEX (анионообменная хроматография) мембраны Sartobind STIC® (Sartorius Stedim, Геттинген, Германия) были использованы либо в наноразмерах (1мл), либо 10" (180 мл). Фильтры Viresolve® Prefilter (5см<sup>2</sup>, 0,55м<sup>2</sup> и 1,1м<sup>2</sup>), Viresolve Shield (3,1см<sup>2</sup> и 0,51м<sup>2</sup>), Viresolve Pro (3,1см<sup>2</sup> и 0,51м<sup>2</sup>), Pellicon® 3 Ultracel® 30кДа (0,0088м<sup>2</sup> и 1,14м<sup>2</sup>) были приобретены у компании EMD Millipore.

[00101] Мелкомасштабную хроматографию и исследования связанного процесса проводили на системах АКТАexplorer™ 100 компании GE Healthcare. Для проведения экспериментальных исследований связанного процесса множество систем АКТА были соединены друг с другом через удаленные соединения на задней части насосов P-900 для обеспечения прохождения вспомогательных входных и выходных сигналов между инструментами. Контроль давления мелкомасштабных предфильтров и вирусных фильтров был выполнен при помощи датчиков давления SciPres® (SciLog, Мэдисон, Висконсин). Кювета с перемешиванием EMD Millipore Amicon® (50 мл) была использована в качестве уравнивающего резервуара, который был использован без крышки и мембраны, так что мог работать, будучи подверженным воздействию атмосферного давления, как непрерывно перемешиваемая кювета, помещенная на магнитную пластину для смешивания.

[00102] Экспериментальные исследования мелкомасштабной дискретной вирусной фильтрации были проведены с использованием

установки постоянного давления, включающей регулятор давления, резервуар высокого давления (300 или 600 мл поликарбонат), датчики давления, весы, последовательно подключенные к компьютеру для сбора данных, и источник сжатого воздуха. Экспериментальные исследования мелкомасштабного TFF были выполнены на системе AKTAcrossflow™.

**[00103]** Крупномасштабные испытательные сеансы были проведены на специально выполненных автоматизированных платформах для проведения хроматографии, вирусной фильтрации и TFF. Платформы хроматографии включали третичные насосы для обеспечения возможности регулирования градиента и разбавления, средства линейного контроля давления, потока, pH, проводимости и УФ. Платформы были также оборудованы клапаном разделения потока и насосом для сбора псевдо-пуловых образцов пулов препарата. Платформы вирусной фильтрации включали держатели для предфильтра и вирусного фильтра и средства линейного контроля давления, потока, pH, проводимости и УФ. Платформа TFF включала резервуар концентрата объемом 200 л, диафрагменный насос для питания системы и перистальтический насос для диафильтрационного буфера, автоматизированный клапан управления TMP, средства линейного контроля давления, потока, pH, проводимости и определения уровня концентрата в резервуаре концентрата. Уравнительные резервуары были оборудованы средством определения уровня.

**[00104] Способы**

**[00105] Хроматография с использованием мембраны Sartobind STIC**

**[00106]** Экспериментальные исследования Sartobind STIC были проведены на системе AKTAexplorer с байпасированным смесителем. Линейный фильтр (0,2 мкм Sartorius Minisart) был использован на предшествующей технологической операции перед мембраной STIC для предотвращения нарастания давления посредством отфильтровывания частиц, потенциально образованных насосом АКТА. Материал загрузки был либо фильтрованным пулом вирусной инактивации с низким pH (filtered, low pH viral inactivated pool, FVIP) или пулом СЕХ. Пулы препарата были собраны либо в виде одной

основной фракции, либо в виде множества фракций во время проточной хроматографии или промывания. Количественный анализ, выполненный в отношении пула STIC, включает твердофазный иммуноферментный анализ СНОр (для белка клетки-хозяина СНО), количественную ПЦР ДНК и концентрацию УФ А 280.

#### **[00107] Линейное титрование рН**

**[00108]** Фракции элюирования СЕХ были созданы системой АКТАexplorer, которая выполнила всю последовательность операций СЕХ при помощи автоматизированной программы. Затем каждая фракция была использована для проведения скрининга титрантов рН вручную. После нахождения соответствующего титранта было проведено экспериментальное исследование с использованием двух систем АКТАexplorers для подтверждения того, что выбранный титрант может обеспечить точное линейное титрование рН. Первая система АКТА провела СЕХ, и ее элюат был собран в лабораторный стакан в качестве уравнивающего резервуара с 5-минутной продолжительностью пребывания. Вторая система АКТА загрузила препарат из лабораторного стакана при помощи насоса А и титрант при помощи насоса В. Два потока были смешаны в смесителе и затем измерены на предмет рН линейным датчиком рН, расположенном во второй системе АКТА. Кроме того, вторая система АКТА осуществляла фракционирование, и рН каждой фракции был проверен при помощи автономного измерителя рН Orion Dual Star (Thermo Scientific, Уолтем, Массачусетс).

#### **[00109] Вирусная фильтрация**

**[00110]** Экспериментальное исследование вирусной фильтрации было выполнено либо в дискретном, либо в связанном режиме с использованием предфильтра и вирусного фильтра, расположенных последовательно. Исследование в дискретном режиме было выполнено с использованием установки постоянного давления, описанной в разделе "Материалы", сбора объема, отфильтрованного в течение некоторого времени, с гомогенным подаваемым материалом, загружаемым в фильтры. Исследование в связанном режиме было выполнено с использованием связанной установки АКТАexplorer с предфильтром и вирусным фильтром на одной АКТА, связанной с предшествующим этапом(-ами) хроматографии на отдельных АКТА и

уравнительным резервуаром между каждым этапом. Уравнительный резервуар работал при фиксированном времени пребывания и, следовательно, объеме, обычно 5–7 минут. Были запрограммированы способы Unicorn для обеспечения автоматической подачи сигналов между системами АКТА на начало и окончание загрузок и элюирований. Линейное титрование, кондиционирование или разбавление были выполнены при помощи насоса В системы АКТА, поток которого смешали с потоком подаваемого материала, загруженным при помощи насоса А системы АКТА. Поскольку мелкомасштабная установка использует фиксированные диаметры колонок и площади фильтрования на основании наличия в продаже, для достижения заданных значений загрузок и расходов на промежуточных операциях связанного модуля, сопоставимых с крупномасштабными операциями, разделенный поток был отобран пробоотборным насосом системы АКТА после этапа хроматографии и перед уравнительным резервуаром. Этот разделенный поток позволяет регулировать расход для последующей типовой операции, и поскольку масса и расход взаимосвязаны в связанном процессе, он также обеспечивает регулирование загрузки массы. Материал, отобранный из разделенного потока, был использован для образования пула псевдопрепарата для оценки выхода и эффективности удаления примесей для каждого связанного этапа.

**[00111] Колебания потока TFF**

**[00112]** Экспериментальные исследования колебаний потока были выполнены с использованием системы АКТАcrossflow посредством получения измерений потока фильтрата в диапазоне концентрации белка (как правило, 10–80 г/л), перекрестного потока подаваемого материала (1–6 л/мин/м<sup>2</sup>) и TMP (10–25 фунт/дюйм<sup>2</sup>) для определения опытным путем параметров модели неподвижной пленки (см. уравнения ниже). Исследования колебаний потока были выполнены с использованием белка в солевом буфере от предыдущей типовой операции для наилучшего моделирования характеристик во время связанной фазы UF (UF1a). Была обеспечена рециркуляция препарата при каждом значении концентрации, TMP и перекрестного потока подаваемого материала до достижения стабильного потока фильтрата и разницы давления (подаваемый

материал - концентрат). Замеры, в которых давление фильтрата превышало 4 фунт/дюйм<sup>2</sup>, были исключены из анализа. После каждой серии измерений ТМР мембрана была деполяризована посредством рециркуляции с закрытым выпуском фильтрата. Эти данные затем были представлены графически в виде зависимости потока ( $J$ ) от натурального логарифма  $C_b$  (концентрация белка при проведении экспериментальных исследований).

**[00113] Определение размеров фильтра**

**[00114]** Определение размеров площади вирусного фильтра зависит от расхода связанного процесса и максимально возможного рабочего давления. Наименьшая измеренная проницаемость вирусного фильтра (фильтровальный поток, нормализованный для падения давления) наблюдается при максимальной концентрации белка. Данная наименьшая измеренная проницаемость ( $k_{VF,min}$ ) может быть использована для установления максимального потока ( $J_{VF,max}$ ), который может быть обработан в рамках максимального предельного давления ( $P_{VF,max}$ ), как описывает уравнение  $J_{VF,max} = k_{VF,min} \times P_{VF,max}$ . Необходимая площадь ( $A_{VF}$ ) может быть определена на основании Уравнения 1, где  $Q_{VF}$  является расходом процесса.

$$A_{VF} = \frac{Q_{VF}}{k_{VF,min} \cdot P_{VF,max}} \text{ Уравнение 1}$$

**[00116]** Что касается моделирования TFF, работа Ng P, Lundblad J, Mitra G. 1976. "Оптимизация разделения раствора посредством диафильтрации". Separation Science 11(5):499-502 описывает поток фильтрата TFF на основании модели неподвижной пленки. Модель неподвижной пленки может быть модифицирована таким образом, чтобы включать зависимость перекрестного потока подаваемого материала в коэффициент переноса массы ( $k = k_0 v^n$ ), где  $k_0$  - эмпирическая постоянная,  $v$  - перекрестный расход подаваемого материала, и  $n$  - показатель степени для зависимости перекрестного потока подаваемого материала. Данная модифицированная модель неподвижной пленки показана в Уравнении 2, где  $J_{TFF}$  - поток фильтрата,  $C_w$  - концентрация белка возле мембранной стенки, и  $C_b$  - объемная концентрация белка.

$$I_{TFF} = k_0 v^n \ln \frac{C_w}{C_b} \quad \text{Уравнение 2}$$

[00117] Параметры, полученные на этапе экспериментальных исследований колебаний потока, в сочетании с входными параметрами от процесса используют для определения оптимальной конечной концентрации в конце связанной части обработки (конец этапа UF1a) путем решения Уравнения 2 для  $C_b$ . Требуемый поток фильтрата определяют на основании расхода входного процесса и площади фильтра TFF. Перекрестный расход подаваемого материала устанавливают при верхних значениях характеристик системы и мембраны, обычно 6 л/мин/м<sup>2</sup>. Затем может быть использовано Уравнение 3 для определения целевого заданного значения уровня концентрата в резервуаре на основании общей расчетной массы для процесса,  $m$ .

$$V_{end,UF1a} = \frac{m}{C_{b,end UF1a}} \quad \text{Уравнение 3}$$

[00120] **Результаты**

[00121] **Проектирование и управление потоком связанного процесса**

[00122] Высокоуровневое проектирование связанной системы аналогично проектированию дискретной системы в том смысле, что основные компоненты и функциональные возможности стандартных типовых операций остаются большей частью такими же. В связанной системе большие пуловые резервуары заменены на небольшие уравнительные резервуары с малой продолжительностью пребывания (как правило, 5–7 минут), которые действуют как сброс давления между типовыми операциями (фиг. 12). Пакетные разбавления и титрования заменены линейными добавлениями. Ключевым моментом проектирования управления технологическим процессом связанной системы является определение того, каким образом управлять несоответствиями потока между типовыми операциями. На финальном этапе TFF препарат изначально сконцентрирован до требуемого предельного значения для выполнения диафильтрации. Сложность задачи заключается в управлении уменьшением потока фильтрата, происходящим в случае увеличения концентрации препарата при

добавлении массы в резервуар концентрата; это уменьшение потока фильтрата связано с влиянием, оказываемым концентрационной поляризацией на мембране. Для дискретной подпитываемой TFF входной расход в резервуар концентрата снижают для обеспечения соответствия расхода фильтрата для поддержания постоянного объема концентрата. Так как этап TFF осуществляют в качестве дискретного типового процесса, то отсутствует воздействие на какой-либо другой типовой процесс вследствие уменьшения этого расхода. Однако в связанном процессе входящий поток напрямую связан с предыдущей предшествующей операцией, и любое уменьшение расхода фильтрата вызывает несоответствие потока. В случае последовательности технологических операций, соединяющей этап хроматографии постоянного потока с этапом TFF переменного потока фильтрата либо напрямую, либо через этап вирусной фильтрации, несоответствующие потоки необходимо подвергать активному управлению. Это может быть осуществлено во время операции TFF при помощи трех основных стратегий: 1) Стратегия переменного потока, 2) Стратегия постоянного потока или 3) Уравнительная стратегия (фиг. 13, таблица 1). Следует отметить, что начальная концентрация – это единственная фаза, которая является связанной на финальном этапе TFF, поскольку после того, как масса препарата полностью содержится в резервуаре концентрата, оставшаяся часть этапов диафильтрации и финальной концентрации может проходить как стандартный дискретный процесс.

**[00123]** В случае стратегии переменного потока, TFF осуществляют аналогично дискретной подпитываемой операции в том смысле, что поток фильтрата отклоняется при накоплении массы в резервуаре концентрата. Для осуществления балансировки потока системы расходы предшествующих типовых операций также уменьшают для обеспечения соответствия потоку фильтрата. Это поддерживает постоянный объем концентрата, но приводит к переменному потоку на этапах хроматографии. Величина изменения расхода может приводить по меньшей мере к двукратному уменьшению, которое может иметь потенциальное воздействие на эффективность этапа хроматографии.

**[00124]** Альтернативой является стратегия постоянного потока, при которой поддерживают постоянное значение расхода фильтрата и входного расхода для обеспечения постоянного объема концентрата и постоянного потока на протяжении предшествующих типовых операций. Для достижения постоянного потока фильтрата и постоянного входного потока была разработана инновационная стратегия, использующая и подаваемый перекрестный расход TFF, и трансмембранное давление (TMP) для осуществления активного управления потоком фильтрата. Подаваемый перекрестный расход TFF имеет возможность непосредственного воздействия на скорость переноса массы и, тем самым, потока через мембрану. Кроме того, трансмембранное давление (TMP) управляет потоком фильтрата, хотя данный параметр имеет уменьшающееся управление при более высоких концентрациях белка и более высоком TMP, когда достигнут режим ограниченного потока. В данной стратегии управления используют более низкий перекрестный расход и TMP на начальном этапе связанного процесса, когда концентрация препарата в резервуаре низкая, с постепенным увеличением обоих параметров по мере увеличения концентрации препарата для поддержания постоянного расхода фильтрата. Данная методика была реализована в автоматизированной системе управления, которая одновременно модулирует оба входных параметра перекрестного расхода подаваемого материала и TMP для достижения постоянного выходного потока фильтрата и, тем самым, обеспечивает работу системы управления связанным процессом без несоответствий потока.

**[00125]** Финальная стратегия управления, уравнивающая стратегия, может быть описана почти как отсутствие активного управления потоком. В данной стратегии, когда поток фильтрата демонстрирует снижение, входной расход все еще поддерживается на постоянном уровне, что затем вызывает резкое увеличение объема в резервуаре концентрата TFF. Фактически, система TFF демонстрирует некоторую самомодуляцию в том смысле, что при увеличении объема в резервуаре скорость увеличения концентрации препарата замедляется, равно как и снижение потока.

**[00126]** Эти три описанные стратегии управления представляют имеющийся выбор для управления потоком, но, в конечном итоге,

может быть использовано сочетание этих стратегий для достижения глобального оптимума технологического процесса, который уравнивает требования к площади мембраны и времени обработки, диапазону изменений расхода, влияющему на предыдущие типовые операции, и объему резервуара концентрата. Нижеследующие разделы описывают разработку связанного процесса при помощи стратегии постоянного потока с акцентом на аспекты и параметры, которые являются уникальными для связанного процесса. Данная стратегия была выбрана за ее простоту в работе и разработку процесса, поскольку она поддерживает постоянный поток на этапах хроматографии и вирусной фильтрации и минимизирует количество динамических воздействий, которые необходимо исследовать.

**[00127] Разработка связанного процесса**

**[00128]** Разработка процесса, связывающего две колонки доочистки, вирусную фильтрацию и TFF, требует учета дополнительных факторов по сравнению с разработкой этих типовых технологических операций по отдельности. Такие факторы, требующие учета, включают следующее: 1) оценка воздействия элюирования колонки В/Е на последующие этапы; 2) разработка способа линейного титрования рН, когда последующие этапы необходимо выполнять при рН, отличном от рН пула В/Е; 3) разработка этапа вирусной фильтрации потока с переменным составом подаваемого материала; 4) разработка этапа TFF с постоянным потоком фильтрата во время связанного процесса.

**[00129] Разработка первого этапа хроматографии**

**[00130]** Поскольку первый этап в последовательности связанного технологического процесса представлен гомогенной загрузкой, фильтрованным пулом препарата вирусной инактивации с использованием белка А, он может быть разработан независимо, как дискретный процесс, и, следовательно, подробно не описан в настоящем документе. Однако имеется два важных фактора, которые необходимо учесть, для связанного процесса. Во-первых, когда этап В/Е (например, СЕХ) с градиентным элюированием используют в качестве первого этапа связанного процесса, все последующие этапы подвергаются воздействию пика концентрации препарата и градиента концентрации солей, образованных в результате

элюирования первого этапа. В зависимости от полученной максимальной концентрации препарата такой пик концентрации может ставить сложные задачи на последующих технологических операциях, особенно для этапа вирусной фильтрации. Для ослабления воздействия высокой пиковой концентрации на последующие этапы может быть выбран более пологий солевой градиент. Это снижает пиковую концентрацию и обеспечивает прохождение препарата через оставшиеся этапы с приемлемым обратным давлением. Во-вторых, поскольку все этапы связаны, объемный расход элюирования на первом этапе должен быть оптимизирован на основании характеристик остальных этапов.

**[00131] Разработка второго этапа хроматографии**

**[00132]** Второй этап, схематично заданный в связанном процессе, выполняется в проточном режиме и может быть либо хроматографией с использованием смолы, либо хроматографией с использованием мембраны. Этот второй этап обычно является третьим и последним хроматографическим этапом для всего последующего процесса, однако, он может не потребоваться, когда двухколонковый процесс демонстрирует достаточную способность удаления примесей и вирусов. Целью данного этапа для типичного процесса очистки с использованием mAb является удаление белков клеток-хозяев и потенциальное дополнительное снижение высокого молекулярного веса (high molecule weight, HMW) и ДНК. Когда данный проточный этап связан с этапом В/Е в качестве первого этапа, его подаваемый материал больше не является гомогенным, как при выполнении в дискретном режиме, а является динамическим с точки зрения концентрации белка и проводимости. Проводимость в потоке подаваемого материала проточного этапа увеличивается во время загрузки из-за предшествующего солевого градиентного элюирования и достигает максимального значения в конце загрузки. По этой причине важно выбирать смолу или адсорбционную мембрану, которые поддерживают надежную очистку от примесей в широком диапазоне проводимости; АЕХ хроматография с использованием мембраны STIC является одним из примеров солеустойчивой адсорбционной матрицы. Для оценки воздействия проводимости загрузки на удаление белка клетки-хозяина достаточно нескольких

дискретных проточных экспериментальных исследований с изменением проводимости загрузки. На фиг. 14а представлено сравнение воздействия проводимости загрузки на удаление СНОр на этапе проточной хроматографии с использованием мембраны STIC. Результаты показывают, что проводимость не играет значительной роли в контексте удаления СНОр, как ожидалось на основании высокой солеустойчивости лиганда, оптимизированного для данного устройства. Таким образом, элюат с первого этапа может быть напрямую подан на второй связанный этап без разбавления.

[00133] Для более эффективного удаления белков клеток-хозяев может потребоваться выполнение проточного этапа при более высоком рН, чем на этапе В/Е, таком как для этапа АЕХ FT. Для нахождения оптимального рабочего рН для данного проточного этапа необходимо проведение нескольких дискретных пробных экспериментов в отношении рН. На фиг. 14b показано, что удаление белка клетки-хозяина при помощи АЕХ хроматографии с использованием мембраны при более высоком рН обеспечивает лучшую очистку. Для данного примера, поскольку все четыре испробованных значения рН обеспечили приемлемую очистку, было выбрано значение рН 5 для технологической операции с использованием мембраны STIC из-за преимуществ исключения этапа титрования во время связанной обработки. Однако, для случаев, в которых требуется выполнение титрования рН для обеспечения требуемого удаления белка клетки-хозяина, необходимо использовать способ линейного титрования рН.

[00134] *Разработка этапа линейного титрования рН*

[00135] Титрование рН пула промежуточного препарата требуется, когда на предшествующем этапе используют рабочий рН, отличающийся от рН на последующем этапе. В дискретном режиме титрование рН может быть легко выполнено посредством добавления заданного количества титранта в пул гомогенного препарата для достижения целевого значения рН. Однако в случае связанного процесса требуется проведение линейного титрования рН для изменения значения рН потока препарата, приходящего с предыдущего этапа, поскольку происходит непрерывная загрузка препарата на следующий этап. Поток препарата, потенциально требующие проведения титрования рН в связанном процессе,

являются потоками подаваемого материала для проточного этапа и этапа вирусной фильтрации и иногда загрузкой для этапа UF. Линейное титрование pH потоков подаваемого материала для проточного этапа и этапа вирусной фильтрации может быть размещено без дополнительного насоса, если платформа или система, используемая для каждого этапа, минимально имеет конструкцию сдвоенного насоса для одновременной подачи потоков подаваемого материала и титранта с последующим смешиванием посредством пассивного смесителя. Дополнительный насос может потребоваться для подачи титранта в резервуар концентрата TFF, когда загрузка UF требует титрования.

[00136] Независимо от положения, в котором вводят линейное титрование pH, при выборе титранта необходимо учитывать изменения концентрации белка и проводимости в элюате с этапа связывания и элюирования. Кроме того, проектирование процесса и системы упрощается, когда титрант вводят в поток препарата при постоянном объемном соотношении титранта к препарату. Данное объемное соотношение должно быть низким во избежание чрезмерного разбавления потока препарата, но при этом достаточно высоким, чтобы находиться в пределах линейного диапазона производительности насоса. На основании этого обычно рекомендуют значение 0,1-0,2 для объемного или поточного соотношения.

[00137] Разработку линейного титрования pH начинают с автономного титрования pH множества фракций элюата этапа связывания и элюирования. Проводят скрининг концентрации препарата и pH титрованных фракций, чтобы убедиться в том, что каждая фракция достигла целевого pH с добавлением титранта при том же объемном соотношении. После идентификации титранта проводят лабораторные связанные испытательные сеансы для верификации результатов. На фиг. 15 изображено линейное титрование pH от pH 5,0 до pH 8,0 потока элюирования СЕХ с титрантом 400 ммоль триса pH 8,3 при объемном отношении 0,1. После проведения линейного титрования поток препарата был фракционирован, и каждая фракция была проанализирована с использованием автономного датчика pH. Целевой pH был достигнут на всем протяжении пика элюирования, как показано на фиг. 15.

**[00138] Разработка этапа вирусной фильтрации**

**[00139]** Начальная разработка связанного этапа вирусной фильтрации аналогична разработке дискретного этапа в том смысле, что молекулярные свойства и свойства раствора обуславливают выбор соответствующего вирусного фильтра и предфильтра и определяют характеристики гидравлической проницаемости мембран. Поскольку вирусный фильтр связан с предшествующими типовыми процессами, которые обуславливают расход через фильтр, предпочтительно выбирать вирусный фильтр с высокой мембранной проницаемостью для снижения требуемой площади мембраны. Кроме того, вирусный фильтр должен быть выполнен с возможностью эффективной работы при воздействии переменного давления и состава подаваемого материала с изменяющейся концентрацией препарата и проводимостью в течение определенного периода времени. В данном случае в качестве примера использован фильтр Viresolve Pro (VPro). Этот фильтр имеет высокую мембранную проницаемость и обычно демонстрирует надежную работу независимо от молекулярного состава подаваемого материала и колебаний давления, в частности с применением предфильтра. Обычно используемые предфильтры включают глубинный фильтр и предфильтры на основе заряженного материала (Ng P, Lundblad J, Mitra G. 1976. "Оптимизация разделения раствора посредством диафильтрации". Separation Science 11(5):499-502; Brown A, Bechtel C, Bill J, Liu H, Liu J, McDonald D, Pai S, Radhamohan A, Renslow R, Thayer B, Yohe S, Dowd C. 2010. Возрастающая парвовирусная фильтрация через моноклональные антитела с использованием адсорбционной предварительной фильтрации с ионообменной мембраной. Biotechnol and Bioeng 106(4):627-637).

**[00140]** Экспериментальные исследования пакетной фильтрации с использованием гомогенного подаваемого материала могут обеспечить относительное сравнение эффективности предфильтров с разными адсорбционными свойствами. Кроме того, пакетные эксперименты могут быть использованы для скрининга оптимального заданного значения pH загрузки вирусного фильтра. На фиг. 16 показано воздействие pH на поток VPro при использовании двух различных предфильтров: 1) предфильтр Viresolve Prefilter (VPF),

состоящий из диатомитовой земли с заряженными связующими веществами, и 2) префильтр Viresolve Shield, состоящий из отрицательно заряженной мембраны. Что касается mAb D, отрицательно заряженный префильтр Viresolve Shield показывает лучшую эффективность при низком pH, как ожидалось на основании высокой изоэлектрической точки (pI) моноклональных антител (mAb) или, более конкретно, агрегатных примесей mAb и катионообменного механизма взаимодействия. И наоборот, префильтр VPF показывает лучшую эффективность при высоком pH. Это может свидетельствовать о более гидрофобном механизме взаимодействия при pH более близком к pI молекулы и в условиях раствора с высоким содержанием солей. Данный пример иллюстрирует преимущество выполнения пакетных исследований для оценки относительной эффективности префильтров и условий pH.

[00141] Для оценки эффективности вирусного фильтра для связанного процесса могут быть рассмотрены два различных подхода. Как и в предыдущем примере, экспериментальные исследования могут быть проведены в пакетном режиме на одном вирусном фильтре; это может быть осуществлено посредством создания множества подаваемых материалов с различной концентрацией препарата и солей. Данные экспериментальные исследования могут быть проведены как планирование эксперимента (design of experiment, DoE) для исследования относительного воздействия концентрации белка, концентрации солей и даже давления или потока на эффективность мембраны. Могут быть выбраны диапазоны для оценки крайних значений концентрации препарата и солей, экспериментально определенных на предыдущем хроматографическом этапе, и ограничения диапазона давлений, испытываемых вирусным фильтром. Вторым подходом к оценке связанных характеристик является моделирование фактического связанного процесса с системой уменьшенного масштаба. Такой подход обеспечивает репрезентативный переменный по времени подаваемый материал с изменяющейся концентрацией белка и солей с предыдущего хроматографического этапа, который загружают непосредственно на вирусный фильтр. Пример связанного испытательного сеанса с градиентным элюированием СЕХ, связанным

с VPro с предфильтром, показан на фиг. 17а. Изменение концентрации белка и проводимости на вирусном фильтре является результатом элюирования с градиента СЕХ с пологим участком в конце загрузки вследствие дренажа уравнивающего резервуара. Поскольку испытательный сеанс проводят при постоянном потоке, увеличение концентрации белка приводит к увеличению давления на вирусный фильтр, которое соответствует начальному снижению мембранной проницаемости и последующему восстановлению проницаемости по мере падения концентрации белка. Финальная проницаемость аналогична начальной проницаемости, что свидетельствует о минимальном загрязнении во время испытательного сеанса.

[00142] На фиг. 18 показаны результаты сравнения эффективности вирусного фильтра в связанном и дискретном режиме. Обе серии экспериментов были проведены с использованием mAb С и фильтров VPF и VPro. Пакетный эксперимент факторного плана с 10 сеансами (дубликаты с 2 центральными точками) был проведен при концентрации белка 5 или 40 г/л, концентрации хлорида натрия 0 или 250 ммоль и давлении 15 или 45 фунт/дюйм<sup>2</sup> с центральными точками дубликата в середине данных параметров. Связанный эксперимент был выполнен аналогично эксперименту, показанному на фиг. 17а, с данными, преобразованными для демонстрации проницаемости VPro как функции мгновенной концентрации белка. Пакетные условия были выбраны для охвата диапазона условий, представленных в связанном процессе (фиг. 17а). Результаты пакетных исследований свидетельствуют о том, что концентрация солей и давление в пределах исследованных диапазонов имеют небольшое влияние на проницаемость, тогда как увеличение концентрации белка демонстрирует явную тенденцию к снижению проницаемости. Результаты связанных исследований показали тенденцию в отношении проницаемости, аналогичную пакетным исследованиям, однако, проницаемость фильтра в пакетном режиме была в целом ниже, чем проницаемость в связанном режиме. Данные результаты не являются неожиданными, учитывая тот факт, что параллельное выполнение этапов СЕХ и VF сводит к минимуму длительность удержания пула СЕХ и, тем самым, минимизирует

образование загрязняющих компонентов вирусного фильтра. Эти результаты демонстрируют, что пакетные экспериментальные исследования могут обеспечивать направленное определение тенденций в отношении относительного воздействия рабочих параметров, а также начальное указание минимальной расчетной мембранной проницаемости как функции концентрации белка. В конечном итоге, для окончательной спецификации технологического процесса должен быть использован репрезентативный связанный испытательный сеанс.

**[00143]** После определения характеристик гидравлической мембранной проницаемости вирусного фильтра могут быть определены соответствующим образом размеры площади вирусного фильтра для связанного процесса. Расход через вирусной фильтр предварительно установлен заданным значением расхода предшествующего хроматографического этапа. Поскольку режим работы представляет постоянный поток, определение размеров вирусного фильтра основано на поддержании давления подаваемого материала ниже заданного максимального предела. Предел может быть обусловлен вирусным фильтром, предфильтром или даже эксплуатационной системой. Например, максимальный предел давления фильтра VPro, установленный производителем, составляет 60 фунт/дюйм<sup>2</sup>, а фильтра VPF – 50 фунт/дюйм<sup>2</sup>, следовательно может потребоваться установить эксплуатационный предел давления 40–45 фунт/дюйм<sup>2</sup>, чтобы соответствовать пределу предфильтра. Экспериментальные исследования, проведенные в пакетном или связанном режиме, могут обеспечить минимальную расчетную проницаемость на основании максимальной расчетной концентрации белка. С известными входными данными для расхода, максимального давления и минимальной проницаемости площадь вирусного фильтра может быть рассчитана при помощи Уравнения 1. На фиг. 20 в таблице 2 представлено определение размеров вирусного фильтра для различных связанных процессов.

**[00144]** В дискретном процессе вирусной фильтрации надежность определяют посредством оценки колебаний состава подаваемого материала в пределах нормальных эксплуатационных диапазонов. Один параметр в связанном процессе, который может

оказать влияние на профиль подаваемого материала, загружаемого на вирусный фильтр, - это время пребывания уравнительного резервуара, предшествующего вирусному фильтру. Уменьшение времени пребывания в уравнительном резервуаре приводит к почти непосредственной передаче предшествующего профиля хроматографического элюирования на вирусный фильтр. И напротив, увеличение времени пребывания в уравнительном резервуаре приводит к сбору всего пула хроматографического элюирования и, таким образом, по существу представляет этап вирусной фильтрации дискретной технологической операцией. Эксперимент был проведен для сравнения двух значений времени пребывания в уравнительном резервуаре: 5 и 25 минут (фиг. 17a и 17b соответственно). Как ожидалось, короткое время пребывания соответствует максимальному экспериментально определенному пиковому изменению, тогда как длительное время пребывания обеспечивает относительно гомогенный пул.

**[00145] Разработка связанного процесса тангенциальной поточной фильтрации**

**[00146]** Как описано во введении, единственной стратегией управления, которая может быть использована для связи предшествующих типовых процессов с этапом тангенциальной поточной фильтрации (TFF), является стратегия постоянного потока, в которой и объем бака концентрата TFF, и поток фильтрата поддерживаются на постоянном уровне на протяжении всей связанной технологической операции. В ходе связанной обработки в резервуаре концентрата TFF накапливается масса, и наивысшая концентрация белка достигается, когда вся масса находится в баке концентрата TFF в конце связанного процесса. Для поддержания постоянного потока фильтрата в конце связанного процесса необходимо установить заданное значение объема концентрата TFF и площадь мембраны для размещения связанного входного потока и наивысшей расчетной концентрации белка. Лабораторные исследования колебаний потока выполняют для осуществления планирования реакции потока фильтрата TFF на изменение перекрестного расхода подаваемого материала, трансмембранного давления (TMP) и концентрации подаваемого материала и для

обеспечения соответствия параметров модели параметрам модели неподвижной пленки (Уравнение 2). Данная модель может быть использована для расчета заданных параметров для связанного процесса.

[00147] На фиг. 19 показан иллюстративный ряд данных колебаний потока для mAb C в солевом буфере с предшествующих типовых процессов. Колебания потока были выполнены при низком содержании соли (30 ммоль NaCl) и при высоком содержании соли (150 ммоль NaCl) для оценки влияния изменений концентрации соли вследствие предшествующего элюирования солевого градиента СЕХ. Для данного исследования колебаний потока был намечен диапазон концентрации 9–88 г/л с диапазоном TMP 5–20 фунт/дюйм<sup>2</sup> и диапазоном перекрестного потока подаваемого материала 1–6 л/мин/м<sup>2</sup>; данные TMP 20 фунт/дюйм<sup>2</sup> показаны на фиг. 19. Для данного и последующих примеров была использована регенерированная целлюлозная мембрана Pellicon 3 30 кДа. Результаты свидетельствуют о сравнимой эффективности условий высокого и низкого содержания солей, указывая на то, что переменная концентрация соли оказывает минимальное воздействие на эффективность мембраны TFF. Такая же тенденция была экспериментально определена для множества молекул (данные не показаны). Параметры модели потока фильтрата на основании данных о колебаниях потока с высоким содержанием солей на фиг. 19 имеют следующие значения:  $k_o = 8,47$ ,  $C_w = 175$ ,  $n = 0,73$ . Для связанного процесса уравнения 2 и 3 вместе с параметрами модели могут быть использованы для расчета заданного значения объема концентрата TFF на основании известных входных данных для потока фильтрата (связанный входной поток/площадь TFF), максимального перекрестного потока подаваемого материала на основании ограничений по рабочему давлению насоса или системы и максимальной расчетной массы. Как описано во введении, связанный процесс TFF начинается, когда достигнуто заданное значение объема концентрата. Перекрестный поток подаваемого материала и TMP изначально имеют низкие значения, чтобы обеспечить достижение постоянного целевого потока фильтрата при низкой концентрации белка. По мере накопления массы и повышения

концентрации белка перекрестный поток подаваемого материала и TMP увеличиваются для поддержания постоянного целевого потока, при этом максимальное значение подаваемого перекрестного потока поддерживают ниже пределов системы. Увеличение перекрестного потока подаваемого материала концептуально изображено стрелками на фиг. 19; при постоянном потоке фильтрата 38 л/м<sup>2</sup>/час перекрестный поток подаваемого материала начинается примерно при 120 л/м<sup>2</sup>/час и заканчивается примерно при 300 л/м<sup>2</sup>/час в конце связанного процесса (конец этапа UF1a). На фиг. 20, в таблице 2, показана целевая концентрация белка в конце этапа UF1a для различных связанных процессов, рассчитанная при помощи параметров модели неподвижной пленки для каждого молекулярного процесса (не показано) и уравнения 2.

**[00148]** После определения параметра объема начального заполнения для этапа TFF разработка оставшихся типовых операций, таких как этапы диафильтрации и избыточной концентрации/извлечения препарата, является такой же, как и для стандартного пакетного процесса TFF и, следовательно, не представлена в настоящем описании. Надежность процесса для связанной части этапа TFF может быть оценена несколькими способами. Влияние колебаний расчетной массы или концентрации белка, перекрестного потока подаваемого материала, TMP и входного потока может быть исследовано посредством анализа чувствительности на основании эмпирически подобранных параметров модели и изменений входных условий. Как правило, необходимо использовать коэффициент запаса для предвидения изменений входных условий и при этом поддержания постоянного потока фильтрата, т.е. установки более консервативного или более высокого заданного значения объема концентрата. На поток фильтрата также может воздействовать внутренняя проницаемость мембраны и температура эксплуатации; экспериментальные исследования могут быть проведены с этими входными параметрами.

**[00149] Контроль технологического процесса**

**[00150]** По сравнению с дискретным режимом типовые процессы связанного процесса требуют дополнительного контроля связанного процесса для содействия переходам типовых процессов, облегчения

регулирования давления и обеспечения необходимой информации об эффективности самого испытательного сеанса. Контроль уровня уравнительного резервуара обеспечивает сигналы критического перехода, которые подают в режиме реального времени соответствующим типовым процессам. Например, когда уровень уравнительного резервуара после СЕХ хроматографии достигает своего предварительно заданного значения, система управления отправляет этот сигнал платформе проточной хроматографии, чтобы начать загрузку из уравнительного резервуара. Когда уровень уравнительного резервуара после СЕХ хроматографии достигает нуля, фаза загрузки на платформу проточной хроматографии заканчивается, и начинается фаза промывания. Что касается этапа вирусной фильтрации, операцию выполняют при постоянном потоке и контролируют давление на впуске фильтра. Входное давление изменяется при прохождении пиковой концентрации препарата через вирусный фильтр. Если достигнут максимальный предел давления, это побуждает систему управления снизить расход вирусной фильтрации и обеспечить увеличение уровня проточного уравнительного резервуара. На этапе ТФФ расход фильтрата измеряют при помощи расходомера во время выполнения связанного процесса, который не только предоставляет информацию о потоке, но и обменивается данными с системой управления для поддержания потока фильтрата на предварительно заданном уровне посредством регулирования перекрестного расхода подаваемого материала и ТМР. Кроме того, система управления контролирует уровень резервуара концентрата ТФФ и поддерживает постоянный объем посредством модулирования входного расхода или потока этапа вирусной фильтрации.

**[00151]** Информацию о производственном выходе этапа для дискретного процесса обычно получают посредством измерения концентрации препарата всего пула гомогенного препарата и сравнения его с гомогенным подаваемым материалом вместе с соответствующими объемами. Поскольку параллельное выполнение связанных типовых процессов не обеспечивает возможность сбора всего пула, из основного потока препарата отбирают небольшой разделенный поток во время сбора пула. Этот псевдо-пул

обеспечивает образцы для осуществления измерения концентрации и анализа качества препарата. Информация о выходе препарата может также быть получена в режиме реального времени на платформе посредством интеграции сигнала УФ А280 нм или А300 нм и использования экспериментально определенного коэффициента ослабления для конкретного препарата. Способ интеграции УФ может быть использован на этапе VF непосредственно перед этапом TFF для расчета накопленной массы в резервуаре концентрата TFF в конце связанного процесса. Эта накопленная масса является эквивалентом массы загрузки TFF при работе в дискретном режиме, что является ключевым параметром для определения уровней объема резервуара концентрата для диафильтрации и избыточной концентрации.

**[00152] Эффективность крупномасштабного процесса**

**[00153]** Как описано в предыдущих разделах, каждый типовой процесс в связанном процессе в первую очередь разрабатывают в дискретном режиме и затем соединяют вместе на лабораторном уровне для испытаний и дальнейшей оптимизации. Затем процесс увеличивают в масштабе и переносят в пилотную установку для демонстрации и подтверждения. В таблице 2 приведен перечень параметров для 5 различных молекул, использующих связанный процесс СЕХ-АЕХ (FT) -VF-UF и его варианты, успешно выполненные на пилотной установке. Уравнительные резервуары объемом 100 л располагают между хроматографическими этапами и перед VF и эксплуатируют при заданном значении времени пребывания 5-7 минут. Значения выхода готового препарата, представленные в таблице 2 на фиг. 20, продемонстрированы в экспериментальном масштабе и сравнимы с работой в дискретном режиме (дискретные данные не показаны).

**[00154]** На фиг. 21 показан пример рабочих тенденций для связанного последующего процесса (СЕХ-НІС (FT) -VF-UF) с использованием mAb В. На фиг. 21а изображена прогрессия массы на протяжении связанного последующего процесса в течение 70 минут. Оставшуюся часть этапа UF выполняют в дискретном режиме и в течение этого времени, остальные типовые процессы завершают свои этапы очистки и уравнивания для подготовки к следующего

связанном циклу. Профиль распределения концентрации для этапов НИС(FT) и VF соответствует пику элюирования с этапа СЕХ с более низкой концентрацией на этапе НИС(FT) вследствие линейного титрования/разбавления загрузки и немного более низкой концентрацией на этапе VF вследствие линейного выдерживания и смешивания объемов уравнительных резервуаров. Более поздняя часть профиля распределения концентрации для этапов НИС(FT) и VF выравнивается; это представляет стадию работы, когда предшествующий связанный типовой процесс завершен, и происходит осушение уравнительного резервуара.

[00155] На фиг. 21b изображен связанный профиль VF, включающий заданное значение потока, расход, проницаемость, падение давления (pressure drop, dP) и концентрацию белка. Расход VF был установлен 8,1 л/мин, соответствуя потоку с этапа НИС(FT), однако, после начала этапа UF расход VF мог отклоняться от своего заданного значения для поддержания постоянного уровня резервуара концентрата UF (фиг. 21b). Падение давления в процессе VF соответствует изменению расхода, но когда расход нормализован падением давления, профиль проницаемости фильтра оказывается относительно плоским. Наблюдается небольшое снижение проницаемости при увеличении концентрации белка на фильтре, но затем проницаемость восстанавливается до начального значения при снижении концентрации белка.

[00156] На фиг. 21c изображена тенденция связанного этапа UF1a, а также дискретные тенденции для этапа UF1b (пакетная концентрация к заданному значению DF) и этапов DF технологической операции. Как было описано ранее, расход VF изменяется относительно его заданного значения для поддержания заданного значения уровня резервуара концентрата; результаты управления данным процессом можно увидеть на фиг. 21c. Заданное значение потока фильтрата UF совпадает с заданным значением потока VF, причем перекрестный расход подаваемого материала и TMP управляют потоком фильтрата UF. Наблюдается постепенное увеличение перекрестного расхода подаваемого материала и TMP по мере повышения концентрации белка в резервуаре, и стратегия

управления может обеспечить поддержание расхода фильтрата на заданном уровне.

**[00157]** Как было описано во введении, одним из основных преимуществ связывания последующих типовых процессов является снижение объемов промежуточных пуловых резервуаров и, следовательно, площади основания производственной установки. На фиг. 22 представлено сравнение требований к объему резервуара для дискретного процесса в зависимости от связанного процесса для каждого из процессов, описанных на фиг. 20 в таблице 2. Поскольку для производственной установки потребуется спроектировать размер пулового резервуара для наибольшего расчетного объема пула, дискретные процессы потребуют резервуар объемом по меньшей мере 1000 л. Это значительно больше, чем уравнивательный резервуар объемом 100 л, эксплуатируемый со временем пребывания 5-7 минут для связанного процесса. Кроме того, пуловый резервуар VF полностью исключен в связанном процессе, так как он может быть непосредственно соединен с резервуаром концентрата UF.

#### **[00158] Обсуждение и выводы**

**[00159]** Вышеупомянутая экспериментальная работа схематично представляет концепцию последующего процесса, связанного от хроматографических этапов доочистки до заключительного этапа TFF, и демонстрирует его выполнение в лабораторном масштабе. Может быть использовано несколько стратегий управления потоком для управления несоответствиями потоков между типовыми процессами, в особенности хроматографическими этапами и переменным расходом фильтрата для этапа TFF. Стратегия постоянного потока была предложена как средство поддержания постоянного расхода фильтрата TFF и, следовательно, постоянного потока на этапах хроматографии и вирусной фильтрации. Это сводит к минимуму количество динамических воздействий, которые необходимо исследовать при разработке связанного процесса. Кроме того, данная стратегия управления приводит к постоянным объемам уравнивательного резервуара и резервуара концентрата TFF на всем протяжении связанных технологических операций, что создает

возможность для более простого проектирования процесса, оборудования и автоматизации.

[00160] Разработка связанного последующего процесса во многих аспектах аналогична разработке дискретного процесса. Выбор смолы, выбор вирусного фильтра и предфильтра, а также условий загрузки, таких как рН, проводимость и концентрация препарата, могут быть все изучены в процессе стандартных пакетных экспериментов. Однако существует ряд уникальных аспектов, которые следует принимать во внимание при разработке связанного процесса. В качестве одного примера, когда первый связанный этап представляет собой хроматографический этап В/Е с солевым градиентным элюированием, более пологий уклон градиента может быть преимуществом для последующих типовых процессов, таких как вирусная фильтрация, для управления пиковой концентрацией препарата, которое распространяется на всем протяжении процесса. Преимуществом, которое может сопровождать более пологий уклон градиента, является улучшенная избирательность отделения примесей на хроматографическом этапе В/Е; имеется гибкость в выборе уклона градиента на основании требований к процессу, а не ограничений, связанных с ограничением объема резервуара. Первый хроматографический этап также является критически важным при установке расхода для всего связанного процесса и, следовательно, может потребоваться его оптимизация для обеспечения более экономичного выбора параметров этапов фильтрации. Для промежуточных хроматографических этапов необходимо оценить влияние градиентного элюирования. Необходимо провести эксперименты для исследования воздействия проводимости на эффективность этапов. Несмотря на то, что в настоящей заявке данные не были представлены, могут быть проведены экспериментальные исследования для изучения влияния изменения концентрации препарата профиля примесей, полученных в результате проведения градиентного элюирования. Кроме того, может быть проведен скрининг рабочего рН, и если рН между типовыми процессами изменяется, может быть разработано и осуществлено линейное титрование рН для связанной обработки.

[00161] Выделенные в настоящей заявке примеры изображают путь для разработки связанных этапов фильтрации. После выбора предфильтра и вирусного фильтра и определения условий подачи подаваемого материала требуется относительно небольшое количество экспериментальных исследований связанного процесса для определения требований к выбору размеров фильтров и оценки устойчивости вирусного фильтра к изменениям состава подаваемого материала. Что касается этапа TFF, необходима разработка и реализация стратегии автоматического управления для управления обработкой постоянного потока фильтрата, однако, разработка этапа может быть в большой степени осуществлена посредством дискретных экспериментов. Лабораторные исследования колебаний потока вкупе с соответствующей моделью потока используют для определения параметров, необходимых для выполнения связанного этапа в режиме постоянного потока. Они могут быть непосредственно применены к увеличенному в масштабе связанному процессу, минуя мелкомасштабные связанные сеансы.

[00162] Необходимо принимать во внимание возможность дополнительного контроля обработки для связанного процесса, например, управления уровнем уравнивательных резервуаров для начала и конца загрузки типовых процессов. Онлайн интеграция УФ может быть осуществлена для определения входной массы для этапа TFF, тем самым обеспечивая установку целевых значений объема для диафильтрации и чрезмерной концентрации и определение производственного выхода этапа. Кроме того, в конструкцию платформы должен быть внедрен насос разделенного потока для обеспечения возможности оценки эффективности отдельного этапа и очистки от примесей.

[00163] Обработка всей собранной партии требует множества хроматографических циклов в связанном процессе, где каждый связанный цикл занимает 1-2 часа согласно описанию. Хроматографические этапы обычно циклически повторяют для снижения требований к размеру колонки и стоимости смолы, а мембрану TFF, как правило, очищают и используют повторно, так что применение множественных циклов в связанном процессе для этих этапов не вызывает затруднений. Напротив, вирусный фильтр

обычно используют для одного цикла загрузки препарата, за которым следует отдельное буферное промывание в дискретном процессе. Что касается связанного процесса, загрузка на вирусный фильтр имеет низкий коэффициент использования для отдельного связанного цикла. Примеры, представленные в таблице 2 на фиг. 20, указывают на то, что загрузки 2-4 кг/м<sup>2</sup> являются типичными для связанного этапа вирусной фильтрации, тогда как для данного типа фильтра достижимыми являются загрузки по меньшей мере 20 кг/м<sup>2</sup> (Bolton G, Basha J, LaCasse D. 2010. Достижение высокого массового расхода лечебных белков через парвовирусные задерживающие фильтры. *Biotech Progress* 26(6):1671-1677). Для повышения эффективности применения вирусного фильтра для связанных процессов тот же самый вирусный фильтр может быть использован для всей собранной партии, где за фазами загрузки препарата следуют фазы буферного промывания для каждого последующего цикла. Вирусный фильтр испытывает воздействие переменных циклов препарата и буфера, но предполагается, что эффективность фильтра определяется общей загрузкой препарата со всех циклов. Испытание целостности фильтра после применения осуществляют после завершения всех циклов для подтверждения того, что фильтр все еще целый. Данный подход обеспечивает значительные преимущества за счет снижения требований к площади фильтра и, таким образом, к стоимости товаров, устраняет требующие больших затрат времени этапы установки и подготовки, связанные с заменой фильтра, и минимизирует риск введения занесенного агента в технологический поток посредством поддержания уплотнения системы после вирусного фильтра. Поскольку сложность планирования работы технологической установки и использования оборудования увеличивается при многоцикловой связанной обработке, требуется моделирование ресурсов технологической установки для обеспечения соответствующего подбора технических средств в рамках ограничений общего производственного цикла оборудования. Кроме того, оценка возможности вирусной очистки отдельных этапов в связанном процессе, включая циклирование вирусного фильтра, требует тщательного рассмотрения. Такие аспекты, как разработка

подходящей модели уменьшенного масштаба и введение вирусной добавки в связанный процесс, будут рассмотрены в качестве предмета последующей работы.

[00164] Представленный в настоящей заявке связанный последующий процесс обеспечивает немедленные преимущества снижения объема пулового резервуара и тем самым приводит к получению более модернизированной конструкции объекта. Снижение размера резервуара открывает возможность использования мобильных резервуаров, которые могут быть легко переналажены для множества препаратов с различными технологическими требованиями. Это приводит к снижению капитальных затрат и обеспечивает гибкость производства. Конечной целью является полное связывание этапов сбора, белка А и последующих этапов для обеспечения полностью непрерывного производства. Это требует осуществления непрерывного этапа захвата белка А, использования последовательной многоколоночной хроматографии (sequential multi-column chromatography, SMCC) или технологии псевдодвижущегося слоя (simulated moving bed, SMB), разработки альтернативных вариантов для пакетной операции вирусной инактивации с низким рН и осуществления всех этапов проточной доочистки. Это может быть возможным в ближайшем будущем, как явствует из недавних обзорных статей, сфокусированных на непрерывном производстве и интеграции процессов (Константинов К. и Cooney С. 2014. "Белая книга" по вопросам непрерывных биотехнологий. J Pharm Sci DOI: 10.1002/jps.24268; Jungbauer А. 2013. Непрерывная последующая обработка биофармацевтических препаратов. Тенденции в биотехнологии 31(8):479-492). Концепции и стратегии управления, представленные в настоящей заявке, которые связывают последующие этапы доочистки на протяжении заключительного этапа TFF, приближают данную технологию к этой цели.

[00165] Несмотря на то, что предшествующий текст предлагает подробное описание различных вариантов осуществления изобретения, следует понимать, что объем изобретения задан формулой изобретения, представленной в конце настоящего документа. Подробное описание следует толковать лишь как

иллюстративное и не описывающее все возможные варианты осуществления изобретения, поскольку описание каждого возможного варианта осуществления изобретения было бы непрактично, если не невозможно. Многочисленные альтернативные варианты могут быть реализованы на основании либо существующей технологии, либо технологии, разработанной после даты подачи настоящей заявки на изобретение, что входит в объем формулы изобретения, определяющей изобретение.

[00166] Следует также понимать, что, если только термин однозначно не определен в данной заявке с использованием предложения "В настоящей заявке термин "\_\_\_\_\_" означает..." или подобного предложения, то нет никакого намерения ограничить значение данного термина, прямо или косвенно, за пределами его общепринятого или обычного значения, и такой термин не должен интерпретироваться как ограниченный в объеме на основании любой формулировки, сделанной в любом разделе данного патента (кроме текста формулы изобретения). В тех случаях, когда любой термин, приведенный в формуле изобретения в конце настоящего патента, упоминается в данном патенте в соответствии с единственным значением, это сделано лишь для ясности с тем, чтобы не путать читателя, и не предполагается, что такой термин ограничен, косвенно или иным образом, этим единственным значением. И, наконец, если только элемент формулы изобретения не задан словом "означает" и функцией без описания какой-либо структуры, не предполагается, что объем какого-либо элемента формулы изобретения интерпретируется на основании применения 35 U.S.C. 112, шестой пункт.

**ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ**

1. Система управления технологическим процессом, содержащая:

модуль микрофльтрации;

однопроходной тангенциальный фильтр, имеющий впуск, выпуск фильтрата и выпуск концентрата;

питательный насос, имеющий впуск, соединенный с модулем микрофльтрации, и выпуск, соединенный с впуском фильтра;

насос фильтрата, имеющий впуск, соединенный с выпуском фильтрата фильтра; и

систему управления, соединенную с насосом фильтрата и выполненную с возможностью управления насосом фильтрата для изменения коэффициента уменьшения потока, где коэффициент уменьшения потока представляет собой отношение подаваемого потока к потоку концентрата.

2. Система управления технологическим процессом по п. 1, в которой система управления выполнена с возможностью управления насосом фильтрата для изменения коэффициента уменьшения потока для достижения целевого коэффициента уменьшения объема, где коэффициент уменьшения объема представляет собой отношение суммарного объема подаваемого материала к суммарному объему концентрата.

3. Система управления технологическим процессом по п. 1, в которой система управления выполнена с возможностью осуществления управления насосом фильтрата для изменения коэффициента уменьшения потока при помощи последовательности ступенчатых изменений.

4. Система управления технологическим процессом по п. 3, в которой система управления выполнена с возможностью осуществления управления насосом фильтрата для изменения коэффициента уменьшения потока при помощи последовательности ступенчатых повышений.

5. Система управления технологическим процессом по п. 1, в которой система управления выполнена с возможностью осуществления управления насосом фильтрата для изменения коэффициента уменьшения потока в непрерывном режиме.

6. Система управления технологическим процессом по п. 1, в которой система управления выполнена с возможностью эксплуатации насоса фильтрата для обеспечения первого коэффициента уменьшения потока, последующего изменения на второй коэффициент уменьшения

потока, который отличается от первого коэффициента уменьшения потока, и эксплуатации насоса фильтрата для обеспечения второго коэффициента уменьшения потока.

7. Система управления технологическим процессом по п. 1, в которой система управления содержит по меньшей мере один процессор, запрограммированный на управление насосом фильтрата для изменения коэффициента уменьшения потока.

8. Система управления технологическим процессом по п. 7, в которой по меньшей мере один процессор запрограммирован на управление насосом фильтрата для изменения коэффициента уменьшения потока для достижения целевого коэффициента уменьшения объема, где коэффициент уменьшения объема представляет собой отношение суммарного объема подаваемого материала к суммарному объему концентрата.

9. Система управления технологическим процессом по п. 7, в которой по меньшей мере один процессор запрограммирован на управление насосом фильтрата для изменения коэффициента уменьшения потока при помощи последовательности ступенчатых изменений.

10. Система управления технологическим процессом по п. 9, в которой по меньшей мере один процессор запрограммирован на управление насосом фильтрата для изменения коэффициента уменьшения потока при помощи последовательности ступенчатых повышений.

11. Система управления технологическим процессом по п. 7, в которой по меньшей мере один процессор запрограммирован на управление насосом фильтрата для изменения коэффициента уменьшения потока в непрерывном режиме.

12. Система управления технологическим процессом по п. 7, в которой по меньшей мере один процессор запрограммирован на эксплуатацию насоса фильтрата для обеспечения первого коэффициента уменьшения потока, последующее изменение на второй коэффициент уменьшения потока, который отличается от первого коэффициента уменьшения потока, и эксплуатацию насоса фильтрата для обеспечения второго коэффициента уменьшения потока.

13. Система управления технологическим процессом по п. 1, в которой система управления соединена с питательным насосом и выполнена с возможностью управления питательным насосом для обеспечения постоянного расхода.

14. Система управления технологическим процессом по п. 1, содержащая клапан, расположенный между выпуском концентрата и смесительным резервуаром, и контроллер, соединенный с клапаном и выполненный с возможностью управления клапаном для обеспечения обратного давления для фильтра.

15. Способ управления технологическим процессом, включающий:

перекачивание материала насосом через однопроходной тангенциальный фильтр, имеющий впуск, выпуск фильтрата и выпуск концентрата; и

перекачивание фильтрата насосом от выпуска фильтрата фильтра для изменения коэффициента уменьшения потока, где коэффициент уменьшения потока представляет собой отношение потока подаваемого материала к потоку концентрата.

16. Способ управления технологическим процессом по п. 15, в котором коэффициент уменьшения потока изменяют для достижения целевого коэффициента уменьшения объема, где коэффициент уменьшения объема представляет собой отношение суммарного объема подаваемого материала к суммарному объему концентрата.

17. Способ управления технологическим процессом по п. 15, в котором коэффициент уменьшения потока изменяют при помощи последовательности ступенчатых изменений.

18. Способ управления технологическим процессом по п. 17, в котором коэффициент уменьшения потока изменяют при помощи последовательности ступенчатых повышений.

19. Способ управления технологическим процессом по п. 15, в котором коэффициент уменьшения потока изменяют в непрерывном режиме.

20. Способ управления технологическим процессом по п. 15, в котором перекачивание фильтрата насосом включает перекачивание фильтрата в соответствии с первым коэффициентом уменьшения потока, последующее изменение на второй коэффициент уменьшения потока, который отличается от первого коэффициента уменьшения потока, и перекачивание фильтрата насосом в соответствии с вторым коэффициентом уменьшения потока.

21. Способ управления технологическим процессом по п. 15, в котором перекачивание материала насосом включает перекачивание материала при постоянном потоке подаваемого материала.

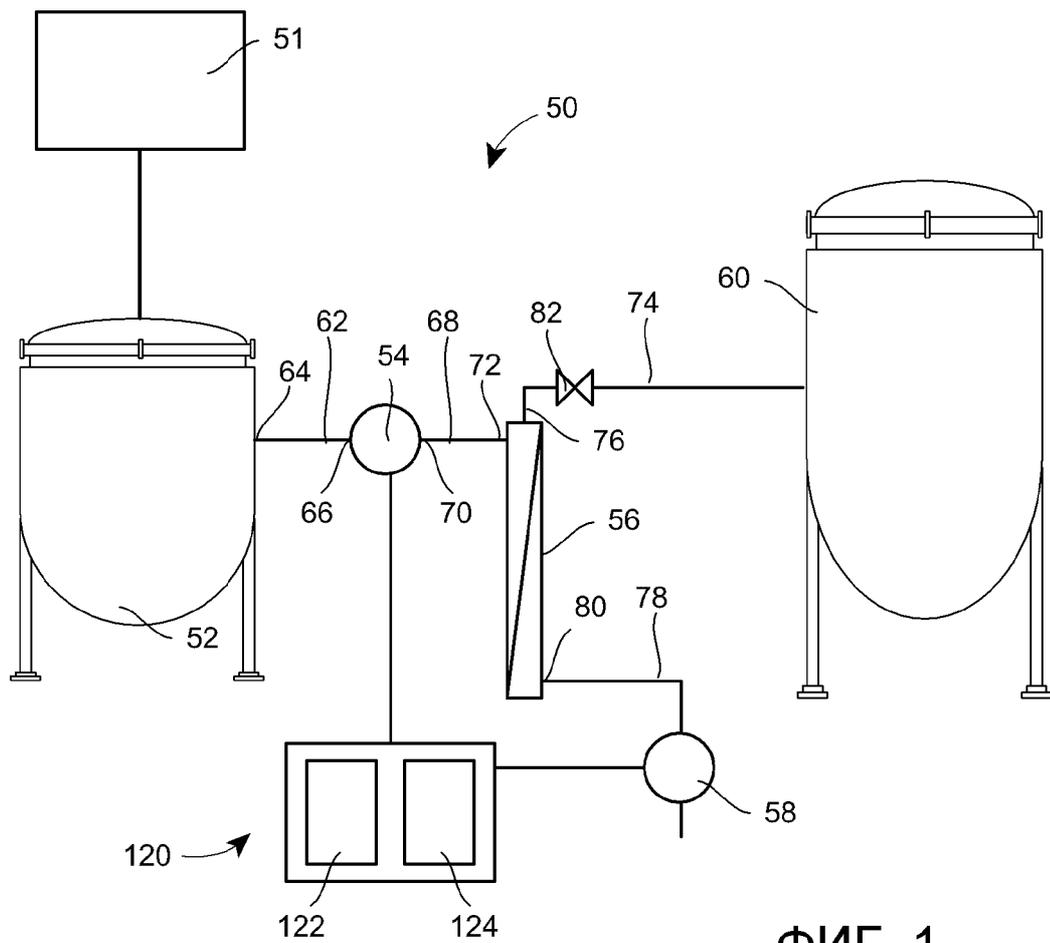
22. Способ управления технологическим процессом по п. 15, в котором материал содержит клеточный материал и белковый препарат.

23. Способ управления технологическим процессом по п. 22, в котором белковый препарат содержит моноклональные антитела.

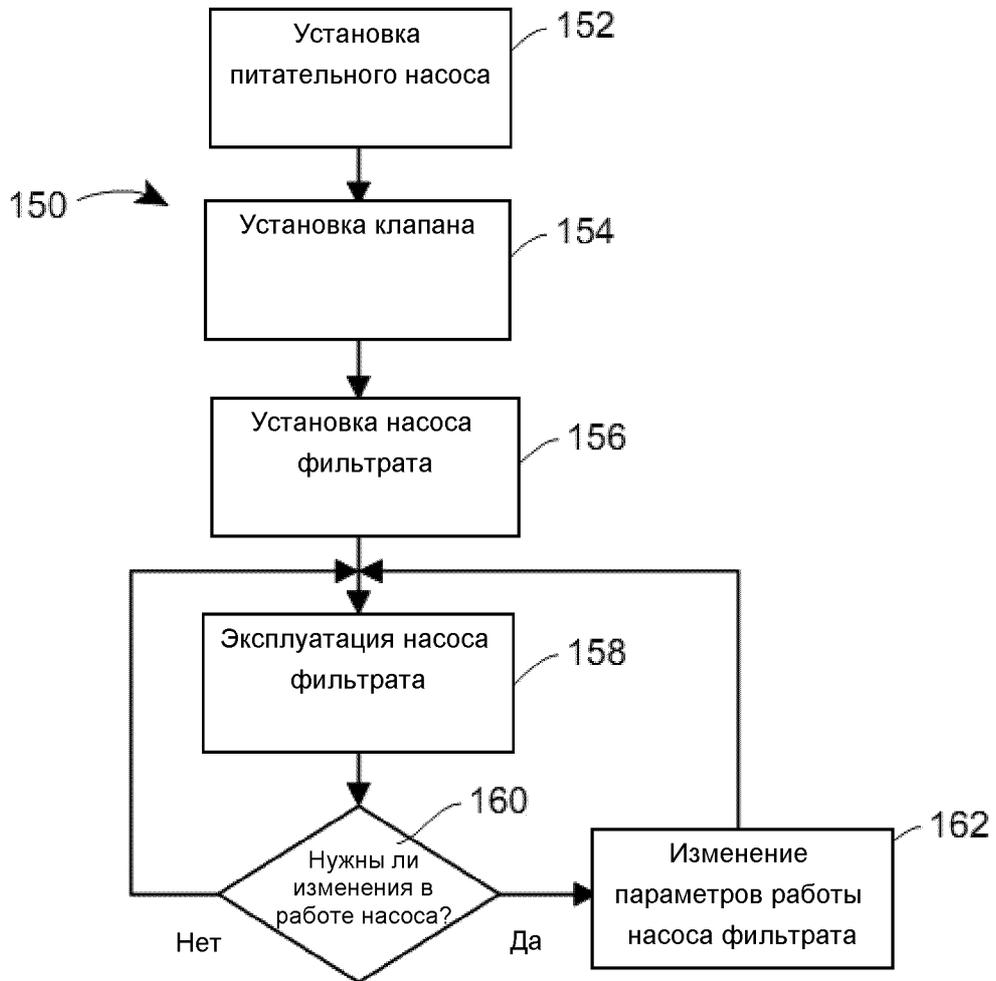
24. Способ управления технологическим процессом по любому из пунктов 15-23, в котором материал по меньшей мере частично содержит белок, и процесс дополнительно включает очистку белка с элюатом.

25. Способ управления технологическим процессом по п. 24, дополнительно включающий выработку белка в фармацевтически приемлемом эксципиенте.

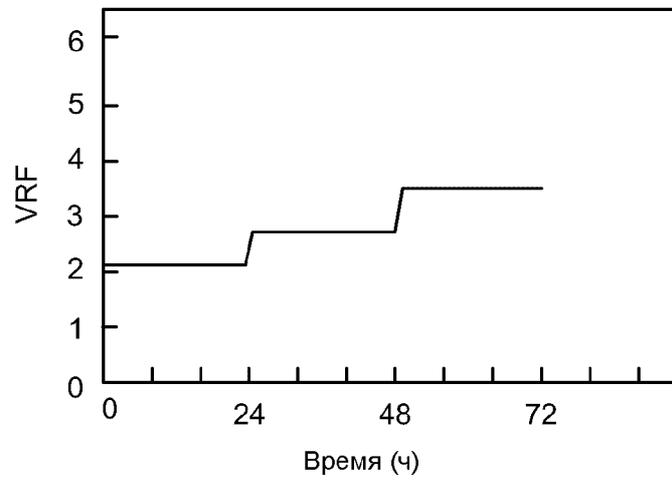
По доверенности



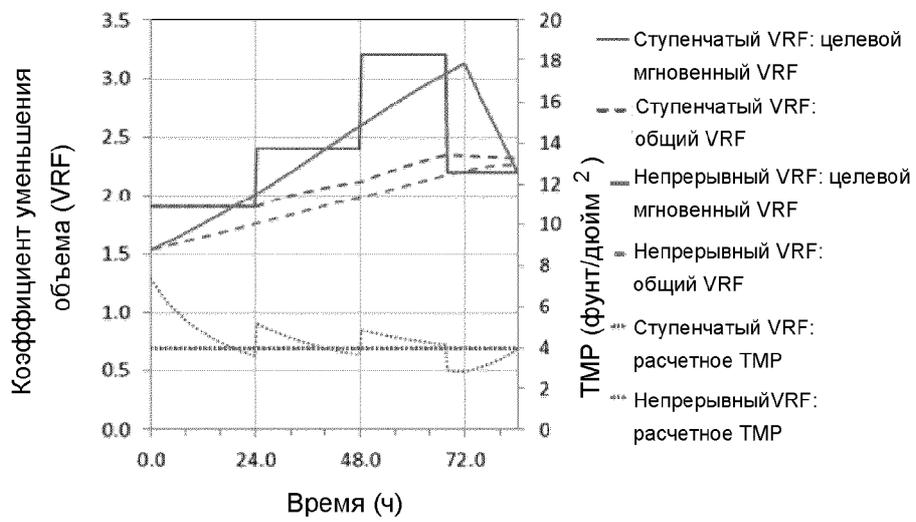
ФИГ. 1



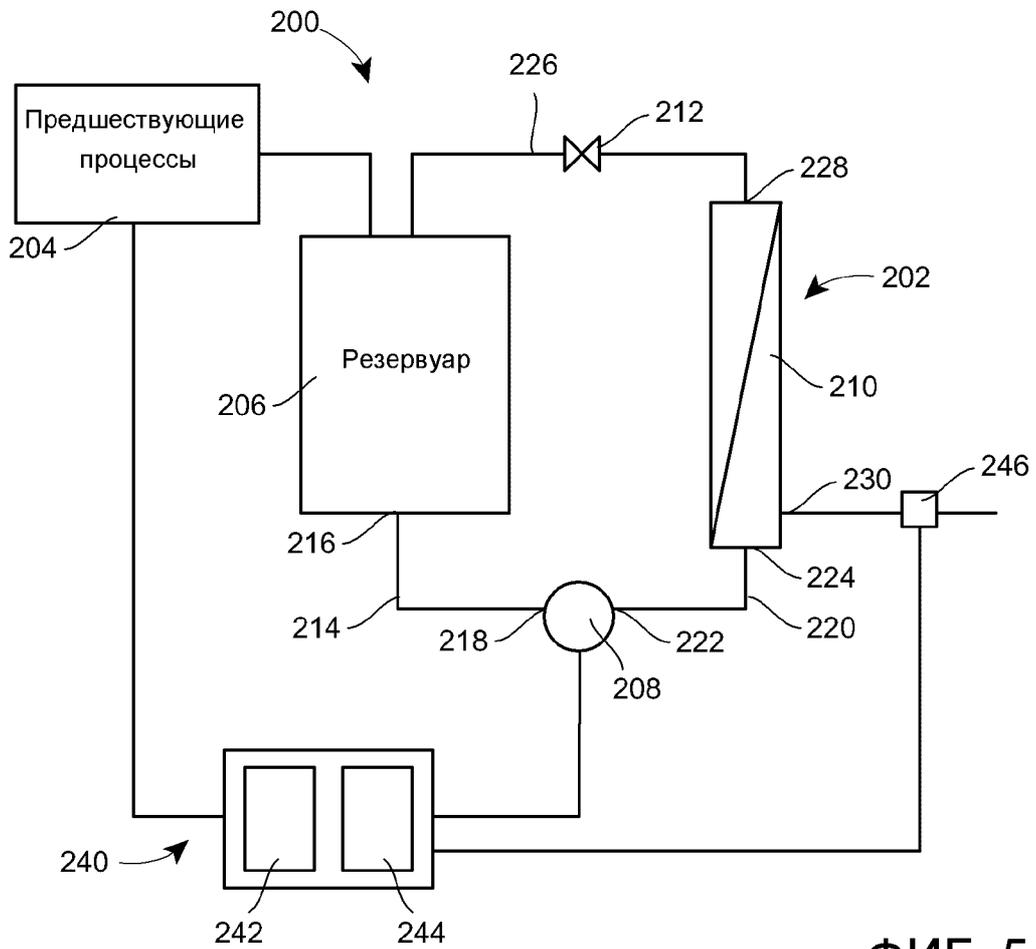
ФИГ. 2



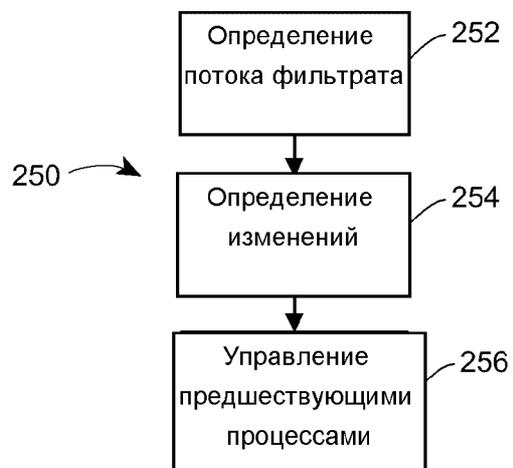
ФИГ. 3



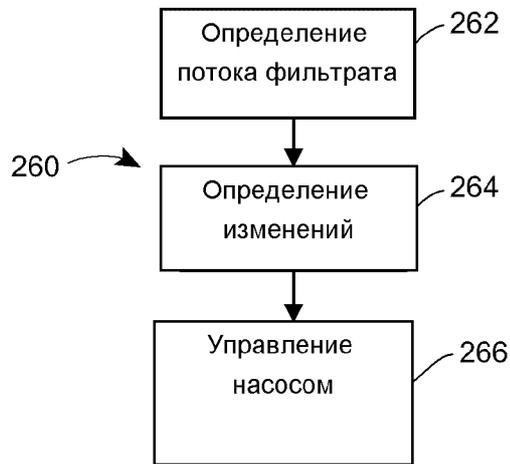
ФИГ. 4



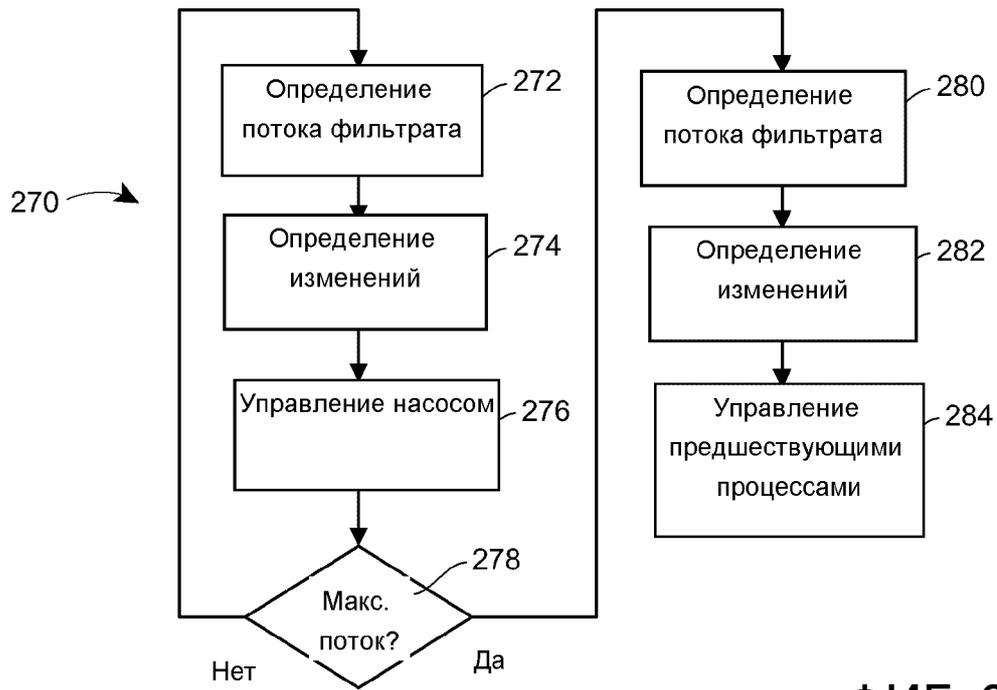
ФИГ. 5



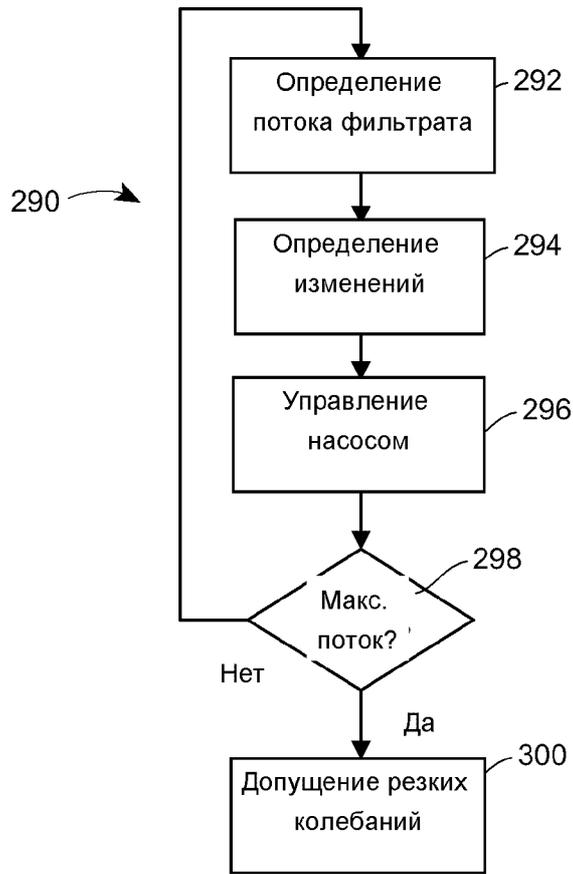
ФИГ. 6



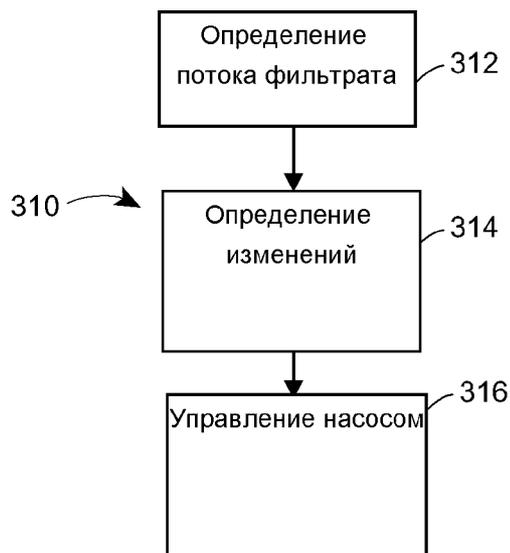
ФИГ. 7



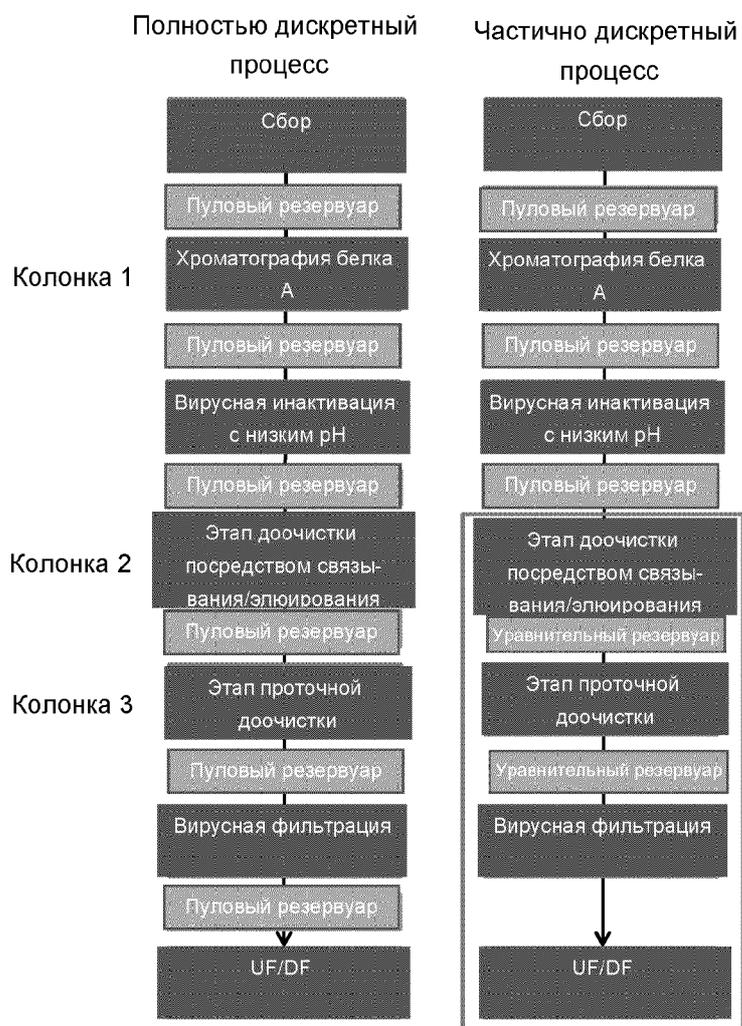
ФИГ. 8



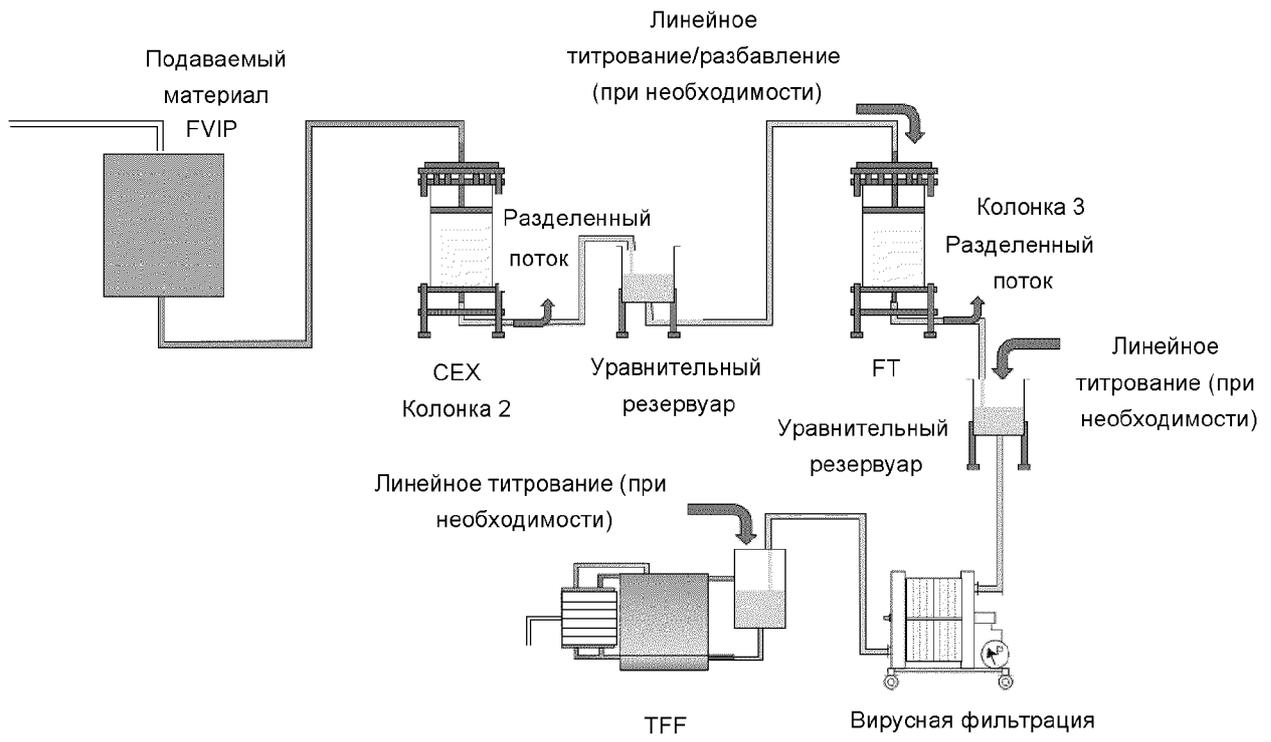
ФИГ. 9



ФИГ. 10



ФИГ. 11

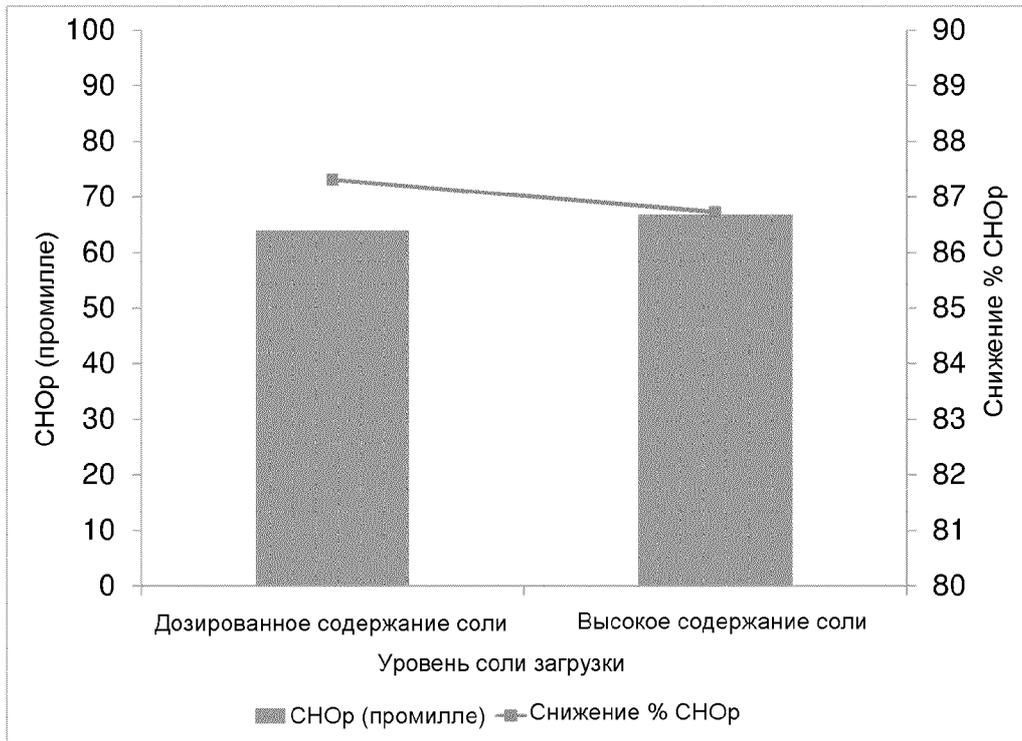


ФИГ. 12

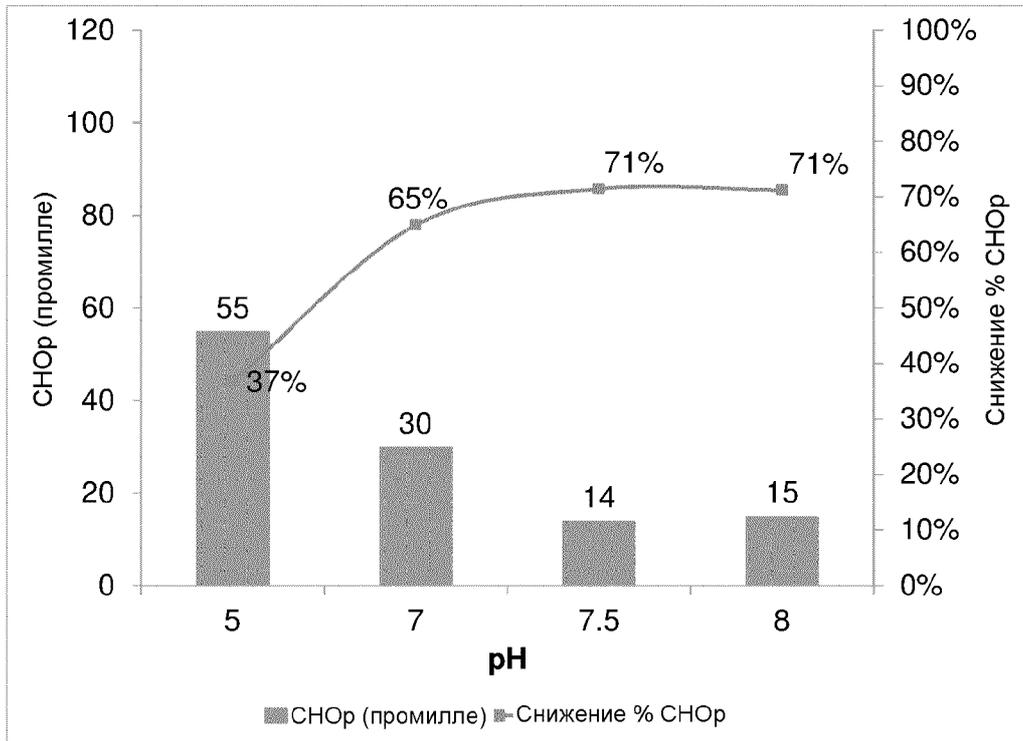
Таблица 1. Стратегии управления TFF для связанного последующего процесса

Стратегия	Входной поток	Поток фильтрата	Объем резервуара	Перекрестный поток подаваемого материала
Стратегия переменного потока	Переменный (↓ с потоком)	Переменный (соответствующий)	Постоянный	Постоянный (максимальный перекрестный поток)
Стратегия постоянного потока	Постоянный	Постоянный	Постоянный	Переменный (управляет потоком)
Уравнительная стратегия	Постоянный	Переменный	Переменный (резкие колебания)	Постоянный (максимальный перекрестный поток)

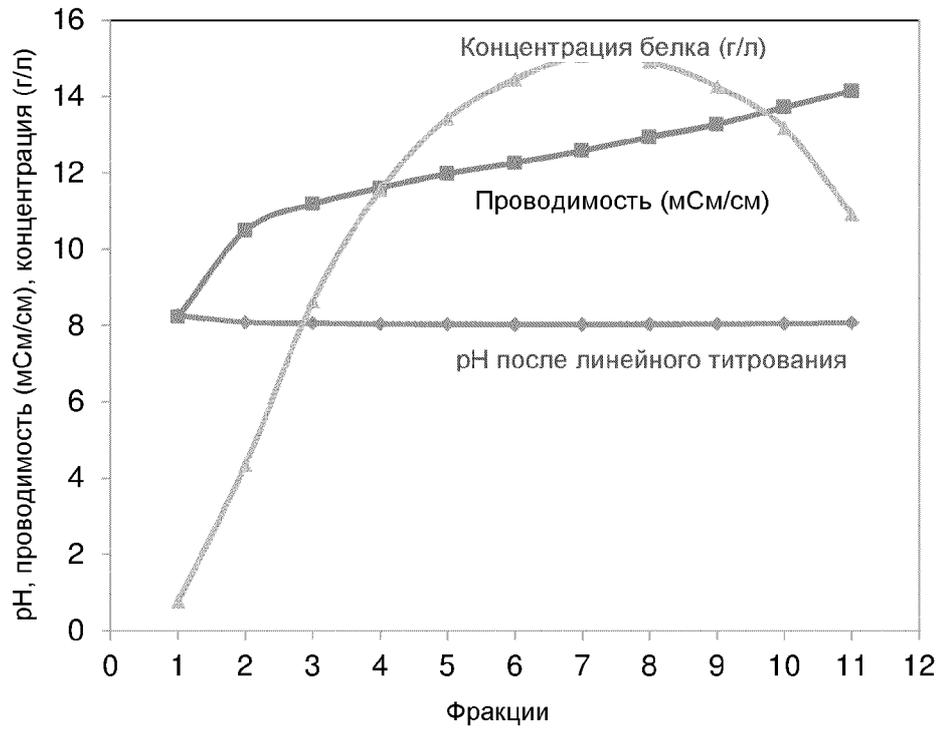
ФИГ. 13



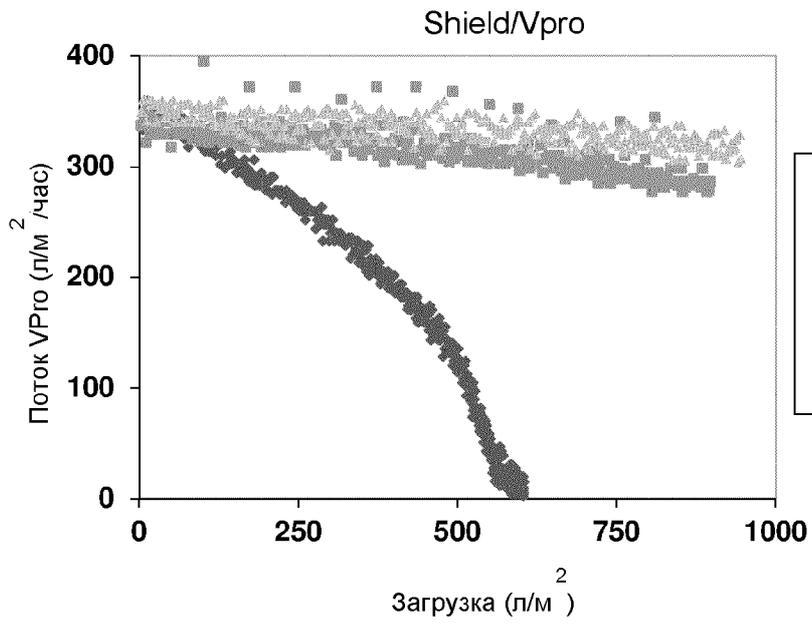
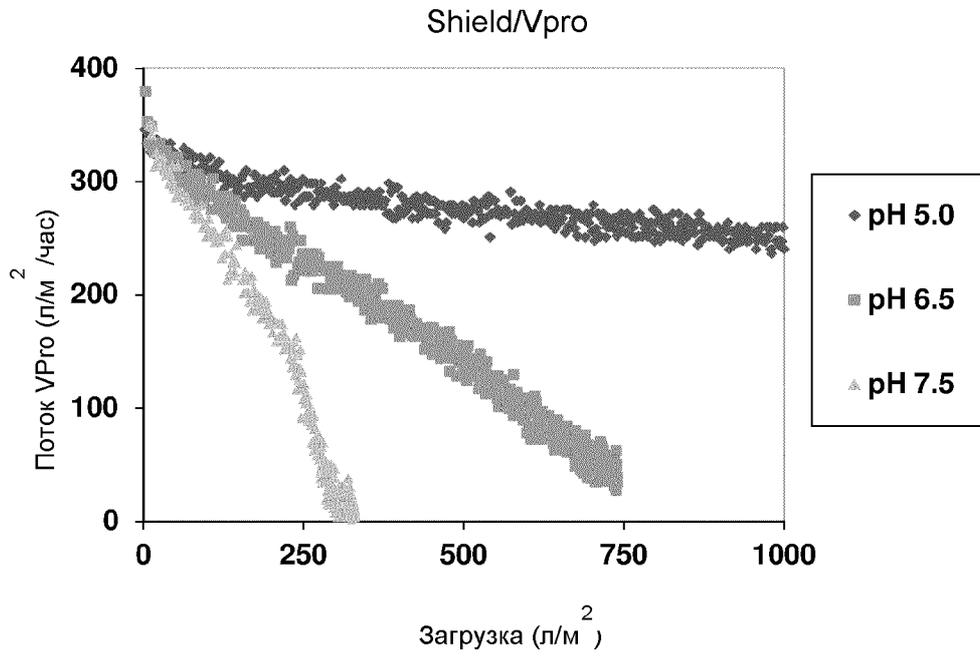
ФИГ. 14а



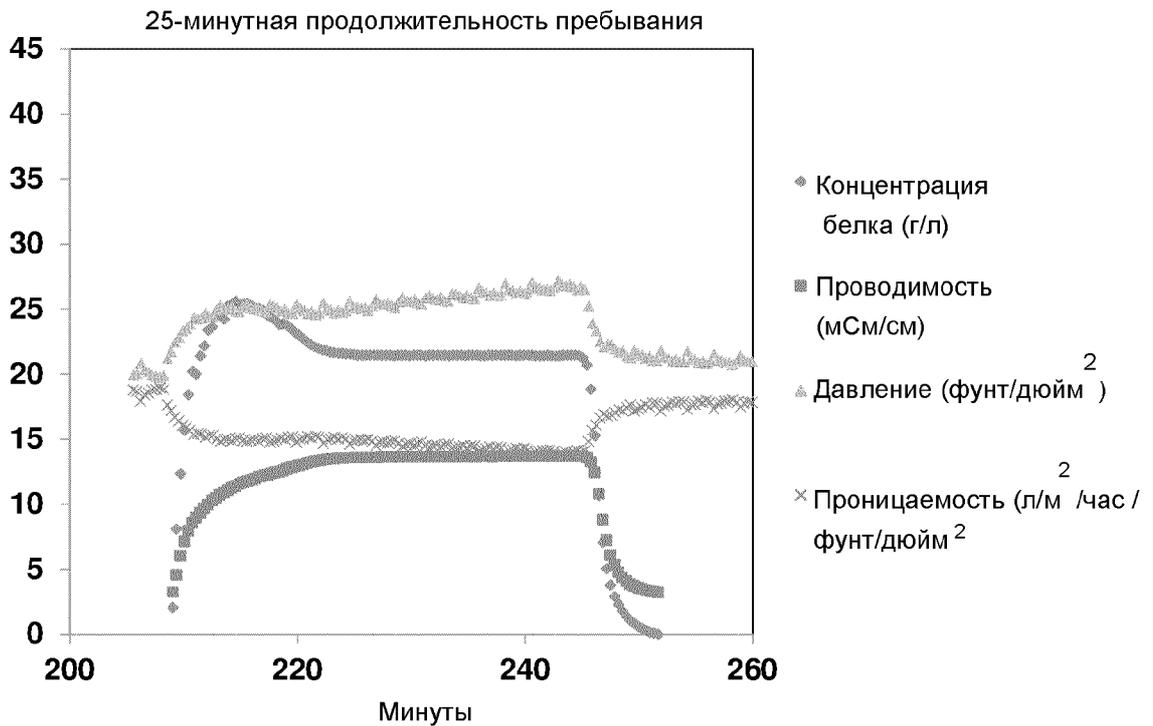
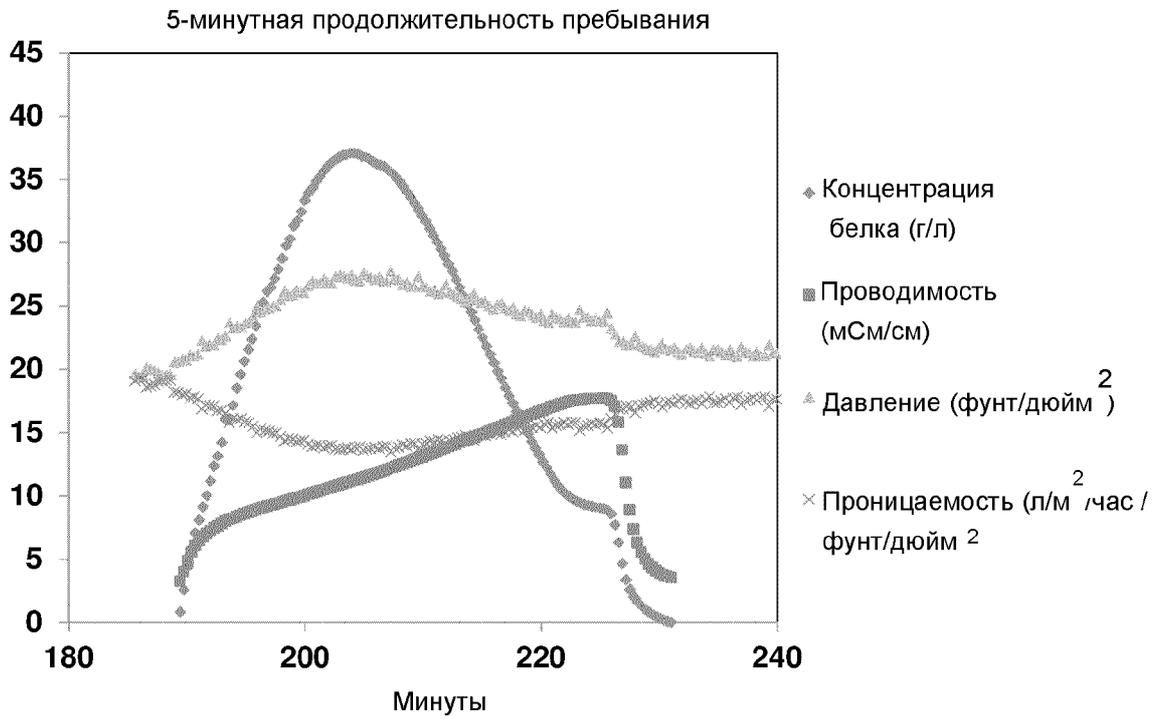
ФИГ. 14b



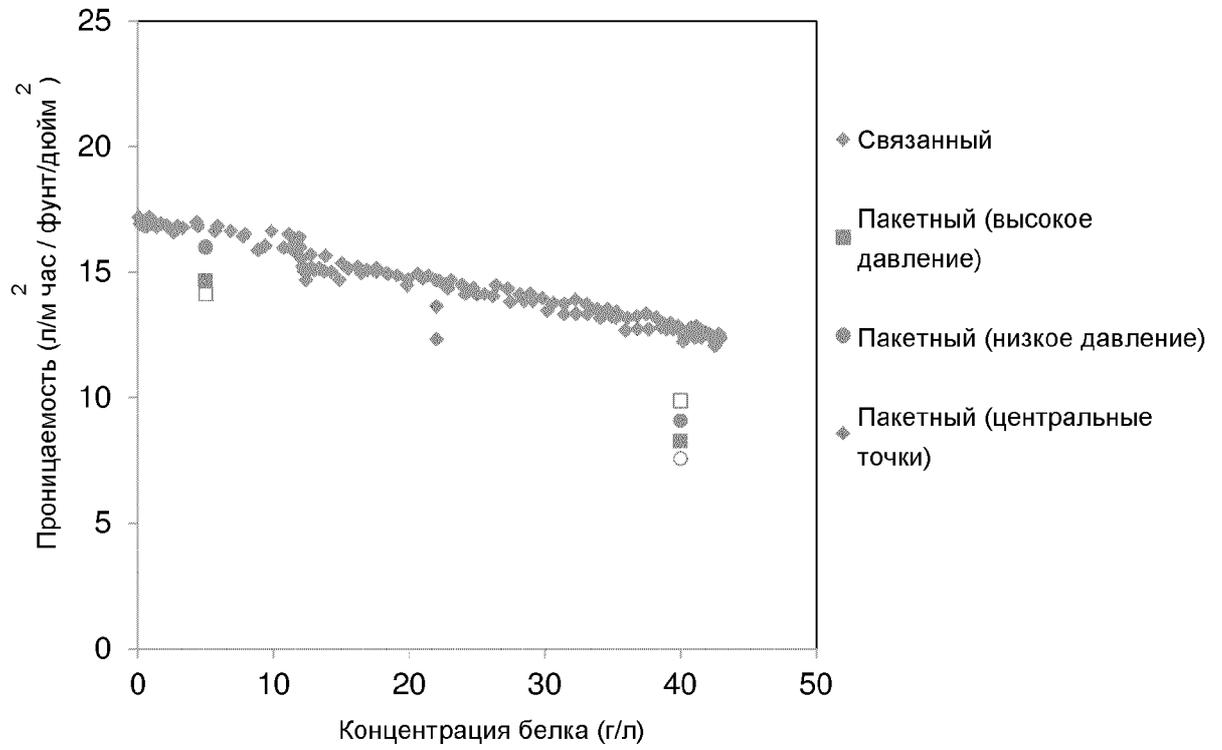
ФИГ. 15



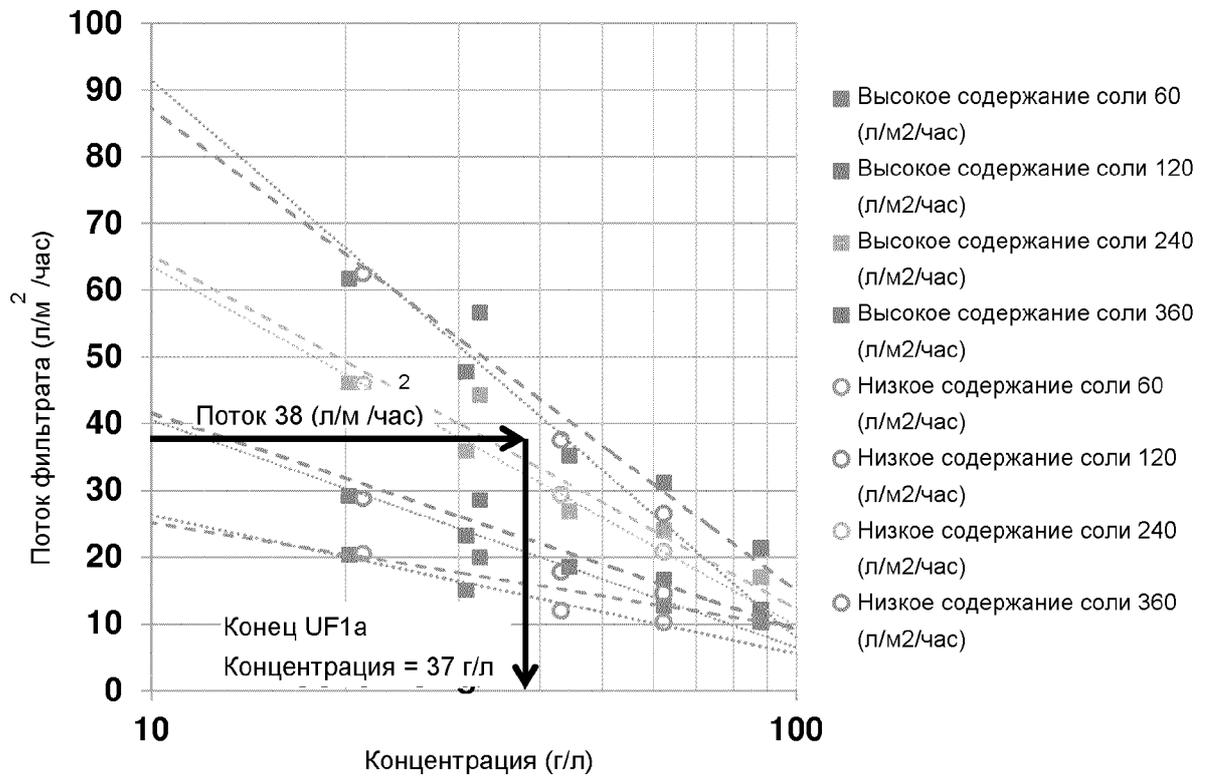
ФИГ. 16



ФИГ. 17а и 17б



ФИГ. 18

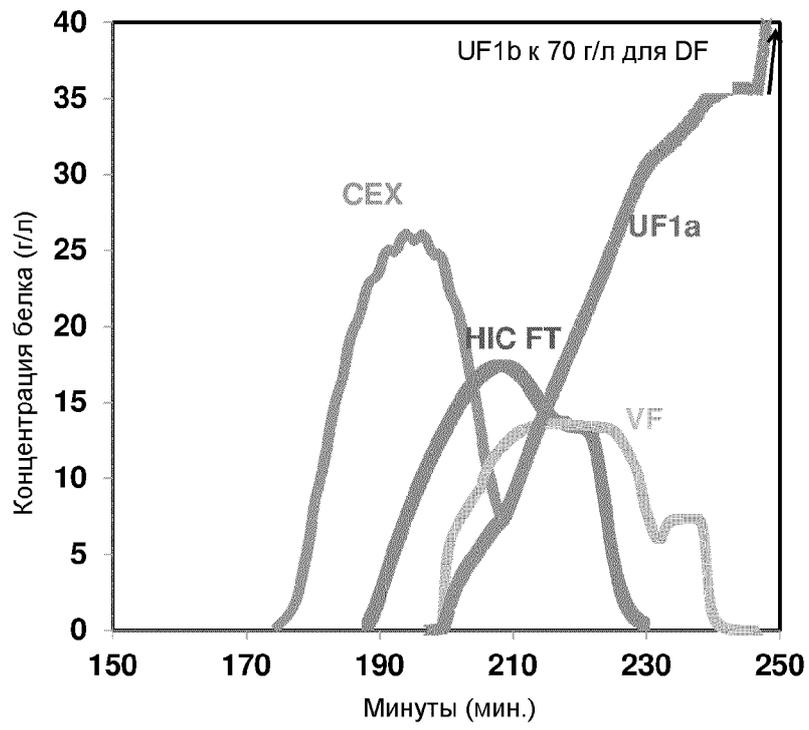


ФИГ. 19

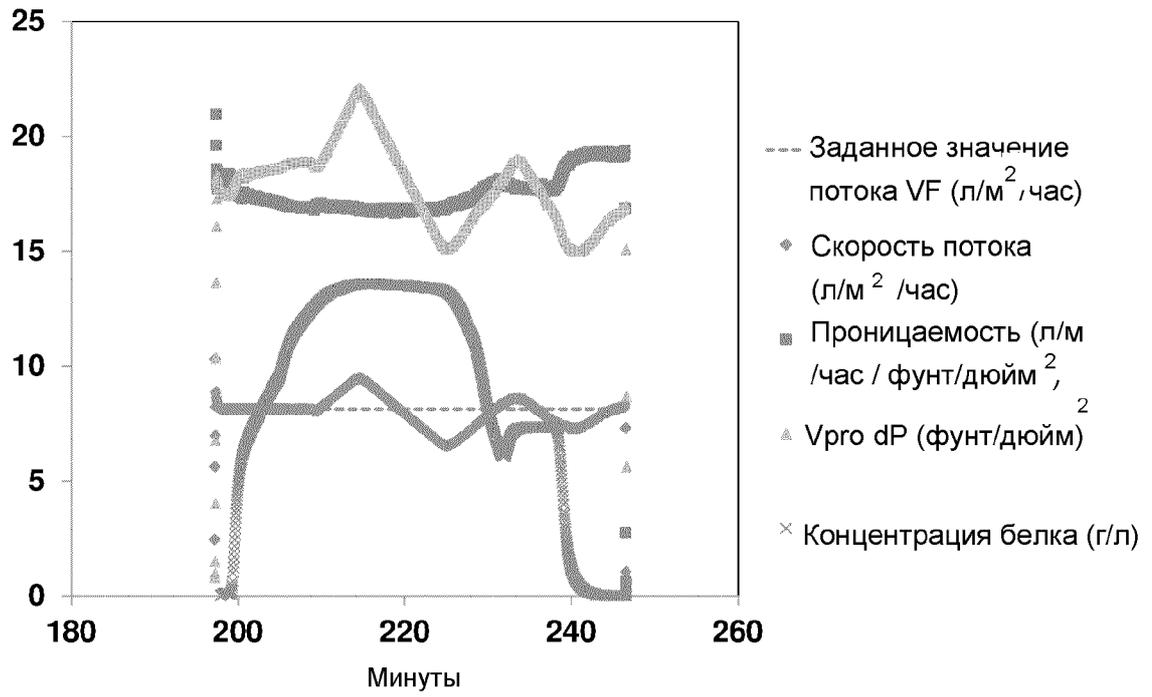
Таблица 2. Примеры разработанных связанных процессов

Параметры процесса		Единицы измерения	СЕХ-АЕХ(FT)-VF-UF	СЕХ-НІС(FT)-VF-UF	СЕХ-VF-UF	НІС(ВЕ)-VF-UF	НІС(FT)-VF-UF
Молекула			(mAb A)	(mAb B)	(mAb C)	(mAb D)	(mAb E)
СЕХ или НІС(ВЕ)	Размер	см - D		60	60	80	
	Загрузочная способность	г/л <sub>r</sub>	80	80	80	35	Нет данных
	Линейный поток	см/ч	140	140	120	90	
Линейное титрование	% разбавления	% v/v	Нет данных	20%	Нет данных	Нет данных	18%
Мембрана АЕХ (FT) или НІС (FT)	Размер	см - D	180 мл	60	Нет данных	Нет данных	60
	Загрузка	г/л <sub>r</sub>	10,7 кг/л <sub>m</sub>	72			104
	Линейный поток	см/ч	16,3 МВ/мин	174			180
VF	Площадь фильтра	м <sup>2</sup>	1,0	1,5	1,0	1,0	2,0
	Загрузка	г/м <sup>2</sup>	1900	2550	4210	3670	3430
	Поток фильтрата	(л/м <sup>2</sup> /час)	172	320	333	444	249
UF	Площадь фильтра	м <sup>2</sup>	4,6	9,1	9,1	9,1	16
	Загрузка	г/м <sup>2</sup>	412	421	471	410	438
	Поток фильтрата	(л/м <sup>2</sup> /час)	39	54	38	50	32
	Концен. UF1a *	г/л	40	38	37	26	47
Выход препарата			94%	82%	89%	80%	89%

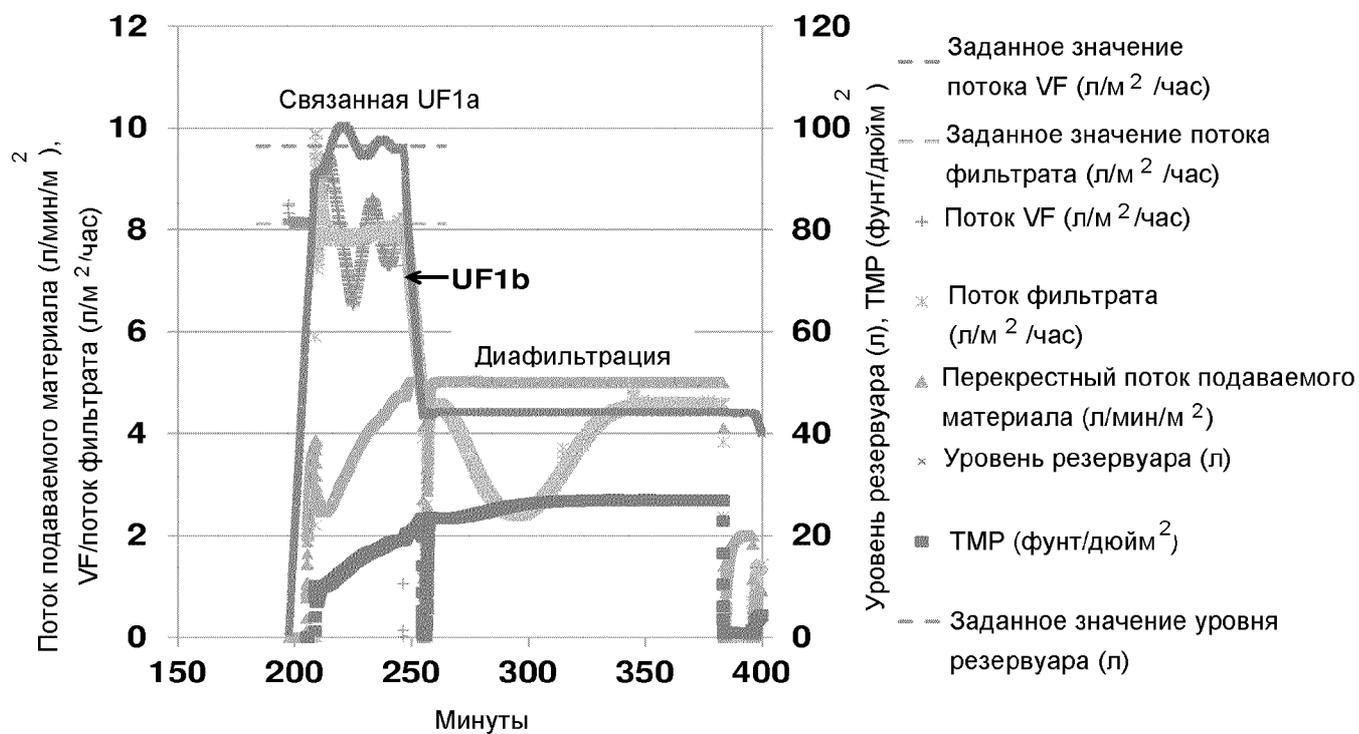
\* Концен. UF1a относится к концентрации в резервуаре концентрата в конце связанной фазы, когда вся масса накоплена в резервуаре



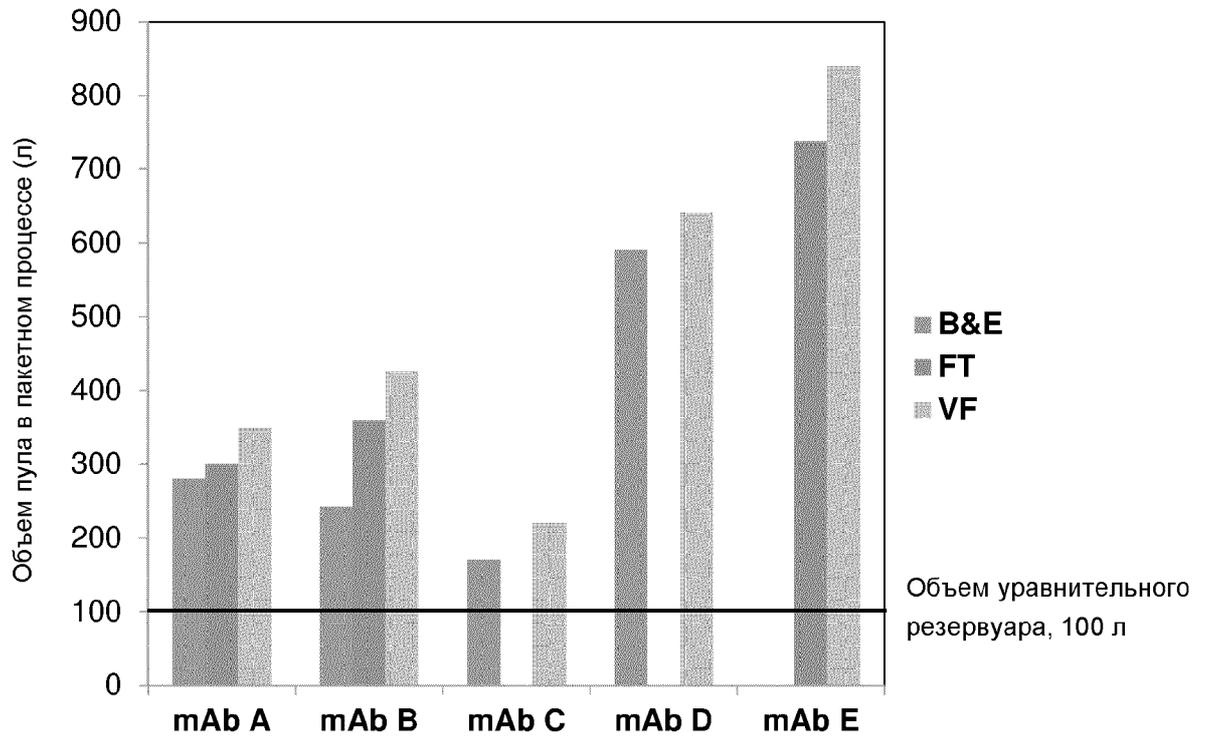
ФИГ. 21а



ФИГ. 21b



ФИГ. 21с



ФИГ. 22

**ОТЧЕТ О ПАТЕНТНОМ ПОИСКЕ**  
(статья 15(3) ЕАПК и правило 42 Патентной инструкции к ЕАПК)

Номер евразийской заявки:

**202190762**

**А. КЛАССИФИКАЦИЯ ПРЕДМЕТА ИЗОБРЕТЕНИЯ:**

**B01D 61/14 (2006.01)**  
**B01D 61/18 (2006.01)**  
**B01D 61/22 (2006.01)**  
**C07K 1/34 (2006.01)**

Согласно Международной патентной классификации (МПК)

**Б. ОБЛАСТЬ ПОИСКА:**

Просмотренная документация (система классификации и индексы МПК)

B01D, C07K

Электронная база данных, использовавшаяся при поиске (название базы и, если, возможно, используемые поисковые термины)  
Esp@cenet, PatSearch, ЕАПАТИС, Google Patents, PATENTSCOPE

**В. ДОКУМЕНТЫ, СЧИТАЮЩИЕСЯ РЕЛЕВАНТНЫМИ**

Категория*	Ссылки на документы с указанием, где это возможно, релевантных частей	Относится к пункту №
X Y	US 2008/245733 A1 (SPF INNOVATIONS LLC), 09.10.2008, абзацы [0005] – [0010], [0014] – [0023], [0042] – [0044], [0062], [0067] – [0078], [0094], фиг. 2 – 4B	1, 14, 15, 22 – 25 2 – 13, 16 – 21
X Y	US 2006/027500 A1 (SCIOLOG, INC), 09.02.2006, абзацы [0001] – [0002], [0015] – [0023], [0055], [0060] – [0062], [0076] – [0078], фиг. 1 – 2	15 – 25 2 – 13
X	EP 2308586 A1 (VELO SPA), 13.04.2011, абзацы [0002], [0010], [0013] – [0014], [0023], фиг. 2	15
A	US 4994188 A (BAXTER INT), 19.02.1991, реферат	1 - 25
A	WO 03106266 A1 (SCIOLOG INC), 24.12.2003, реферат	1 - 25

последующие документы указаны в продолжении

\* Особые категории ссылочных документов:

«А» - документ, определяющий общий уровень техники  
«D» - документ, приведенный в евразийской заявке  
«Е» - более ранний документ, но опубликованный на дату подачи евразийской заявки или после нее  
«О» - документ, относящийся к устному раскрытию, экспонированию и т.д.  
«P» - документ, опубликованный до даты подачи евразийской заявки, но после даты испрашиваемого приоритета"

«Т» - более поздний документ, опубликованный после даты приоритета и приведенный для понимания изобретения  
«Х» - документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска, порочащий новизну или изобретательский уровень, взятый в отдельности  
«У» - документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска, порочащий изобретательский уровень в сочетании с другими документами той же категории  
«&» - документ, являющийся патентом-аналогом  
«L» - документ, приведенный в других целях

Дата проведения патентного поиска: **03/09/2021**

Уполномоченное лицо:

Заместитель начальника отдела механики,  
физики и электротехники

 Д. Ф. Крылов