

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202392667** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки
2023.11.21

(51) Int. Cl. *G16C 20/10* (2019.01)
G06F 30/28 (2020.01)

(22) Дата подачи заявки
2022.03.25

(54) **СПОСОБЫ И СИСТЕМЫ ДЛЯ РАЗРАБОТКИ ПРОТОКОЛОВ СМЕШИВАНИЯ**

(31) 63/166,504; 63/298,880

(32) 2021.03.26; 2022.01.12

(33) US

(86) PCT/US2022/071363

(87) WO 2022/204728 2022.09.29

(71) Заявитель:

РИДЖЕНЕРОН

ФАРМАСЬЮТИКАЛЗ, ИНК. (US)

(72) Изобретатель:

**Кеньон Росс, Берд Джордан, Оремлэнд
Мэттью (US)**

(74) Представитель:

Медведев В.Н. (RU)

(57) Способ разработки прогнозной модели может включать в себя идентификацию параметров протокола смешивания для прогнозной модели, идентификацию критерия оценки для прогнозной модели, выбор испытательных значений для параметров протокола смешивания, идентификацию моделирования вычислительной гидродинамики (CFD), которое необходимо выполнять для того, чтобы формировать критерии оценки, проведение CFD-моделирования для каждой комбинации испытательных значений, тем самым, формируя критерии оценки, соответствующие каждой комбинации испытательных значений, формирование области потенциальных прогнозных моделей, связывающих параметры протокола смешивания с критерием оценки, идентификацию пула потенциально подходящих прогнозных моделей из области потенциальных прогнозных моделей и ранжирование пула потенциально подходящих прогнозных моделей.

A1

202392667

202392667

A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-579222EA/019

СПОСОБЫ И СИСТЕМЫ ДЛЯ РАЗРАБОТКИ ПРОТОКОЛОВ СМЕШИВАНИЯ

Перекрестные ссылки на родственные заявки

[001] Эта заявка испрашивает приоритет по предварительной патентной заявке США № 63/166,504, поданной 26 марта 2021 года, и предварительной патентной заявке США № 63/298,880, поданной 12 января 2022 года, которые включены в данный документ по ссылке в своей полноте.

Область техники

[002] Настоящее раскрытие относится к системам и способам для разработки и реализации протоколов смешивания. Некоторые аспекты настоящего раскрытия относятся к системам и способам для имеющей высокую пропускную способность оценки протоколов смешивания, относящихся к биологическому производству терапевтических средств.

Введение

[003] Биофармацевтические препараты (например, антитела, гибридные белки, аденовирусы (AAV), белки, ткани, клетки, полипептиды или другие терапевтические препараты биологического происхождения) все больше используются в лечении и предотвращении инфекционных заболеваний, генетических заболеваний, аутоиммунных заболеваний и других недугов. Производство биофармацевтических препаратов требует точных и согласованных условий. Для того, чтобы гарантировать, что растворы, включающие в себя биофармацевтические препараты, являются согласованными, протоколы смешивания могут применяться на всем протяжении производственного процесса. Протоколы смешивания могут помочь в поддержании надлежащего распределения компонентов раствора (например, биофармацевтических препаратов, отходных клеток, размещающего белка, внеклеточных нутриентов, других молекул) в различных растворах, задействованных в производстве биофармацевтических препаратов.

[004] Протоколы смешивания могут включать в себя параметры для формы и размера смесительного сосуда, направления и скорости потока текучей среды в растворе, и физиолого-химические свойства раствора. Протоколы смешивания могут быть разработаны для каждого типа биофармацевтического препарата, геометрии смесительного сосуда, состава среды и клетки-хозяина. Модификации в биофармацевтическом препарате, геометрии смесительного сосуда, составе среды или клетке-хозяине могут требовать повторной разработки протокола смешивания. Традиционные способы разработки протокола смешивания являются времязатратными и трудоемкими.

Сущность изобретения

[005] Варианты осуществления настоящего раскрытия могут быть направлены на способ разработки (получения) прогнозной модели. Способ может включать в себя идентификацию параметров протокола смешивания для прогнозной модели,

идентификацию критерия оценки для прогнозной модели и/или выбор испытательных значений для параметров протокола смешивания. Способ может дополнительно включать в себя идентификацию моделирования вычислительной гидрогазодинамики (CFD), которую требуется выполнять для того, чтобы формировать критерий оценки. Способ может также включать в себя проведение CFD-моделирования для каждой комбинации испытательных значений, тем самым, формируя критерии оценки, соответствующие каждой комбинации испытательных значений. Способ может дополнительно включать в себя формирование области потенциальных прогнозных моделей, связывающих параметры протокола смешивания с критерием оценки, идентификацию пула подходящих прогнозных моделей из области потенциальных прогнозных моделей и/или ранжирование пула подходящих прогнозных моделей.

[006] В некоторых вариантах осуществления настоящего раскрытия, параметры протокола смешивания могут включать в себя два или более из скорости лопастного колеса, размера партии, вязкости раствора, плотности раствора, размера смесительного сосуда и геометрии смесительного сосуда. Критерии оценки могут включать в себя два или более из следующего: характер движения потока, распределение скорости текучей среды, поле вектора потока текучей среды, направление потока текучей среды, время смешивания до установившегося состояния, время смешивания до переходного состояния, распределение времени пребывания, скорость сдвиговой деформации контура, средняя скорость сдвиговой деформации, анализ подверженности внешнему воздействию и потребление мощности. Идентифицированное CFD-моделирование может включать в себя анализ потока в установившемся состоянии, анализ потока в неустойчивом состоянии, анализ времени смешивания и/или анализ подверженности внешнему воздействию. В некоторых вариантах осуществления, способ разработки прогнозной модели смешивания может дополнительно включать в себя, после формирования области потенциальных прогнозных моделей, и перед идентификацией пула подходящих прогнозных моделей, вычисление фактора инфляции дисперсии для каждой потенциальной прогнозной модели в области потенциальных прогнозных моделей и удаление потенциальных прогнозных моделей из области потенциальных прогнозных моделей, которые имеют фактор инфляции дисперсии, больший или равный пороговому значению коллинеарности, тем самым, формируя подмножество потенциальных прогнозных моделей. Пул потенциально подходящих прогнозных моделей может включать в себя одномерную модель из подмножества, которая имеет значение R^2 , большее по сравнению со всеми другими одномерными моделями в подмножестве, и двумерную модель из подмножества, которая имеет значение R^2 , большее по сравнению со всеми другими двумерными моделями в подмножестве. Ранжирование пула потенциально подходящих прогнозных моделей может включать в себя ранжирование пула потенциально подходящих прогнозных моделей на основе числа членов, ранжирование пула потенциально подходящих прогнозных моделей на основе значения R^2 , или то и другое. В некоторых вариантах осуществления настоящего раскрытия, испытательные значения являются первыми испытательными

значениями, и способ разработки прогнозной модели дополнительно содержит формирование расчетного значения критериев оценки, соответствующих комбинации вторых испытательных значений, с помощью подходящей прогнозной модели из пула потенциально подходящих прогнозных моделей. Кроме того, способ может дополнительно содержать проведение CFD-моделирования для комбинации вторых испытательных значений, чтобы формировать критерий оценки, соответствующий комбинации вторых испытательных значений, и сравнение критерия оценки, соответствующего комбинации вторых испытательных значений, с расчетным значением критерия оценки, соответствующего комбинации вторых испытательных значений.

[007] Дополнительные варианты осуществления настоящего раскрытия могут включать в себя способ разработки прогнозных моделей. Способ может включать в себя идентификацию первого, второго и третьего параметров протокола смешивания для прогнозных моделей, идентификацию первого и второго критериев оценки для прогнозных моделей, выбор первых испытательных значений для первого параметра протокола смешивания, выбор вторых испытательных значений для второго параметра протокола смешивания и/или выбор третьих испытательных значений для третьего параметра протокола смешивания. Способ может дополнительно включать в себя идентификацию первого моделирования вычислительной гидрогазодинамики (CFD), которое требуется выполнять для того, чтобы формировать первый критерий оценки, идентификацию второго CFD-моделирования, которое требуется выполнять для того, чтобы формировать второй критерий оценки; формирование первого критерия оценки, соответствующего каждой комбинации первых испытательных значений, вторых испытательных значений и третьих испытательных значений, посредством выполнения первого CFD-моделирования для каждой комбинации первых испытательных значений, вторых испытательных значений и третьих испытательных значений; и/или формирование второго критерия оценки, соответствующего каждой комбинации первых испытательных значений, вторых испытательных значений и третьих испытательных значений, посредством выполнения второго CFD-моделирования для каждой комбинации первых испытательных значений, вторых испытательных значений и третьих испытательных значений. Способ может дополнительно включать в себя формирование первой области первых прогнозных моделей, связывающих первый, второй и третий параметры протокола смешивания с первым критерием оценки, и/или формирование второй области вторых прогнозных моделей, связывающих первый, второй и третий параметры протокола смешивания со вторым критерием оценки.

[008] В некоторых вариантах осуществления настоящего раскрытия, способ разработки прогнозных моделей может дополнительно включать в себя вычисление фактора инфляции дисперсии для каждой первой прогнозной модели и каждой второй прогнозной модели, удаление первых прогнозных моделей из первой области первых прогнозных моделей, которые имеют фактор инфляции дисперсии, больше или равный трем, тем самым формируя первое подмножество первых прогнозных моделей, удаление

вторых прогнозных моделей из второй области вторых прогнозных моделей, которые имеют фактор инфляции дисперсии, больше или равный трем, тем самым, формируя второе подмножество первых прогнозных моделей, идентификацию первого пула потенциально подходящих первых прогнозных моделей, содержащее одномерную модель из первого подмножества, которое имеет значение R^2 , большее по сравнению со всеми другими одномерными моделями в первом подмножестве, двумерную модель из первого подмножества, которое имеет значение R^2 , большее по сравнению со всеми другими двумерными моделями в первом подмножестве, и трехмерную модель из первого подмножества, которая имеет значение R^2 , большее по сравнению со всеми другими трехмерными моделями в первом подмножестве, идентификацию второго пула потенциально подходящих вторых прогнозных моделей, содержащих одномерную модель из первого подмножества, которая имеет значение R^2 , более высокое по сравнению со всеми другими одномерными моделями во втором подмножестве, двухмерную модель из второго подмножества, которая имеет значение R^2 , большее по сравнению со всеми другими двухмерными моделями во втором подмножестве, и трехмерную модель из второго подмножества, которая имеет значение R^2 , большее по сравнению со всеми другими трехмерными моделями во втором подмножестве, выбор четвертых испытательных значений для первого параметра протокола смешивания, выбор пятых испытательных значений для второго параметра протокола смешивания, выбор sixth испытательных значений для третьего параметра протокола смешивания, формирование расчетного первого критерия оценки, соответствующего каждой комбинации четвертых испытательных значений, пятых испытательных значений и sixth испытательных значений, использование каждой потенциально подходящей первой прогнозной модели из первого пула потенциально подходящих первых прогнозных моделей, формирование первого критерия оценки, соответствующего каждой комбинации четвертых испытательных значений, пятых испытательных значений и sixth испытательных значений, посредством выполнения первого CFD-моделирования для каждой комбинации четвертых испытательных значений, пятых испытательных значений и sixth испытательных значений, сравнение расчетных первых критериев оценки, сформированных посредством каждой потенциально подходящей первой прогнозной модели из первого пула потенциально подходящих первых прогнозных моделей с первыми критериями оценки, соответствующими каждой комбинации четвертых испытательных значений, пятых испытательных значений и sixth испытательных значений, формирование расчетного второго критерия оценки, соответствующего каждой комбинации четвертых испытательных значений, пятых испытательных значений и sixth испытательных значений, использование каждой потенциально подходящей второй прогнозной модели из второго пула потенциально подходящих вторых прогнозных моделей, формирование второго критерия оценки, соответствующего каждой комбинации четвертых испытательных значений, пятых испытательных значений и sixth испытательных значений, посредством выполнения второго CFD-моделирования для

каждой комбинации четвертых испытательных значений, пятых испытательных значений и шестых испытательных значений, и сравнение расчетных вторых критериев оценки, сформированных посредством каждой потенциально подходящей второй прогнозной модели из второго пула потенциально подходящих вторых прогнозных моделей со вторыми критериями оценки, соответствующими каждой комбинации четвертых испытательных значений, пятых испытательных значений и шестых испытательных значений, выбор первой прогнозной модели из первого пула потенциально подходящих первых прогнозных моделей на основе сравнения расчетных первых критериев оценки с первыми критериями оценки, соответствующими каждой комбинации четвертых испытательных значений, пятых испытательных значений и шестых испытательных значений, выбор второй прогнозной модели из второго пула потенциально подходящих вторых прогнозных моделей на основе сравнения расчетных первых критериев оценки с первыми критериями оценки, соответствующими каждой комбинации четвертых испытательных значений, пятых испытательных значений и шестых испытательных значений, с помощью первой прогнозной модели, определение первого критерия оценки, соответствующего протоколу смешивания, и с помощью второй прогнозной модели, определение второго критерия оценки, соответствующего протоколу смешивания.

[009] Дополнительные варианты осуществления настоящего раскрытия могут включать в себя способ моделирования сдвиговой деформации, ассоциированной с протоколом смешивания. Способ может включать в себя идентификацию параметров протокола смешивания для прогнозной модели, выбор испытательных значений для параметров протокола смешивания, проведение анализа подверженности внешнему воздействию для вычислительной гидрогазодинамики для каждой комбинации испытательных значений, тем самым, формируя сдвиговую деформацию, соответствующую каждой комбинации испытательных значений, идентификацию пула потенциально подходящих прогнозных моделей, ранжирование пула потенциально подходящих прогнозных моделей, выбор прогнозной модели из пула потенциально подходящих прогнозных моделей и с помощью прогнозной модели вычисление совокупной сдвиговой деформации для протокола смешивания во множестве временных интервалов, чтобы формировать данные гистограммы сдвиговой деформации.

[010] В некоторых вариантах осуществления настоящего раскрытия, способ моделирования сдвиговой деформации, ассоциированной с протоколом смешивания, включает в себя при этом параметры протокола смешивания, которые включают в себя два или более из следующего: скорость лопастного колеса, размер партии, вязкость раствора, плотность раствора, размер смесительного сосуда и геометрия смесительного сосуда. Ранжирование пула потенциально подходящих прогнозных моделей включает в себя ранжирование пула потенциально подходящих прогнозных моделей на основе числа членов, ранжирование пула потенциально подходящих прогнозных моделей на основе значения R^2 , или того и другого, и выбор прогнозной модели из пула потенциально подходящих прогнозных моделей включает в себя выбор модели с наивысшим значением

R². Протокол смешивания может быть протоколом смешивания, ассоциированным с биофармацевтическими препаратами в биореакторе. Способ может дополнительно содержать использование данных гистограммы сдвиговой деформации для оценки риска формирования видимых или невидимых невооруженным глазом частиц.

Краткое описание чертежей

[011] Сопровождающие чертежи, которые содержатся и составляют часть этого описания, иллюстрируют различные примерные варианты осуществления и вместе с данным описанием служат, чтобы объяснить принципы раскрытых вариантов осуществления. Какие-либо признаки варианта осуществления или примера, описываемого в данном документе (например, состав, формула, способ и т.д.), могут быть объединены с каким-либо другим вариантом осуществления или примером, и все такие комбинации охватываются настоящим раскрытием изобретения. Кроме того, описываемые системы и способы никоим образом не ограничиваются ни каким-либо единственным аспектом, ни его вариантом осуществления, ни какими-либо комбинациями или перестановками таких аспектов и вариантов осуществления. Ради краткости, некоторые перестановки и комбинации не обсуждаются и/или не иллюстрируются отдельно в данном документе.

[012] Фиг. 1 изображает гистограмму деформации согласно аспектам настоящего раскрытия;

[013] Фиг. 2 изображает, в форме блок-схемы последовательности операций, примерный способ для разработки прогнозной модели для оценки протоколов смешивания согласно аспектам настоящего раскрытия;

[014] Фиг. 3А и 3В являются графическими представлениями смесительных сосудов согласно аспектам настоящего раскрытия;

[015] Фиг. 4А является визуальным изображением поля векторов потока текучей среды согласно аспектам настоящего раскрытия;

[016] Фиг. 4В является визуальным изображением линий движения потока текучей среды согласно аспектам настоящего раскрытия;

[017] Фиг. 4С является визуальным изображением скорости сдвиговой деформации контура согласно аспектам настоящего раскрытия;

[018] Фиг. 5 изображает, в форме блок-схемы последовательности операций, примерный способ для построения потенциальных прогнозных моделей согласно аспектам настоящего раскрытия;

[019] Фиг. 6 изображает график времени смешивания, определенного посредством CFD-анализа, в сравнении со временем смешивания, определенным посредством прогнозной модели, согласно аспектам настоящего раскрытия;

[020] Фиг. 7 изображает график скорости деформации, определенной посредством CFD-анализа, в сравнении со скоростью деформации, определенной посредством прогнозной модели, согласно аспектам настоящего раскрытия;

[021] Фиг. 8 изображает гистограмму скорости деформации, сформированную

посредством построения графика прогнозной модели, согласно аспектам настоящего раскрытия;

[022] Фиг. 9А-9С являются визуальным изображением теоретического механизма формирования смеси согласно аспектам настоящего раскрытия;

[023] Фиг. 10А является визуальным изображением контуров вертикальной скорости согласно аспектам настоящего раскрытия;

[024] Фиг. 10В является визуальным изображением среднеобъемной скорости согласно аспектам настоящего раскрытия; и

[025] Фиг. 11 изображает график вертикальной скорости как функции радиуса резервуара согласно аспектам настоящего раскрытия.

Подробное описание изобретения

[026] Пока не определено иное, все технические и научные термины, использованные в данном документе, имеют то же значение, которое обычно понимается обычным специалистом в области техники, которой принадлежит это раскрытие. Хотя любые подходящие способы и материалы (например, аналогичные или эквивалентные описываемым в данном документе) могут быть использованы на практике или при испытании настоящего раскрытия, конкретные примерные способы сейчас описываются. Все упоминаемые публикации включаются в данный документ по ссылке.

[027] При использовании в данном документе термины "содержит", "содержащий" или любая другая их разновидность предназначаются, чтобы охватывать неисключительное включение, так что процесс, способ, изделие или оборудование, которое содержит список элементов, включают в себя не только эти элементы, а могут включать в себя другие элементы, не перечисленные в явном виде или внутренне присущие такому процессу, способу, изделию или оборудованию. Термин "примерный" используется в смысле "примера", а не "идеала". Что касается терминов "например" и "такой как", и их грамматических эквивалентов, фраза "но без ограничения" понимается как их сопровождающая, пока явно не сформулировано иное.

[028] Когда используется в данном документе, термин "примерно" означает принятие во внимание изменений вследствие экспериментальной погрешности. Когда применяется к числовым значениям, термин "примерно" может указывать отклонение +/- 5% от раскрытого числового значения, пока другое отклонение не указано. Когда используются в данном документе, формы единственного числа включают в себя объекты ссылок во множественном числе, пока контекст явно не диктует иное. Дополнительно, все диапазоны понимаются как включающие в себя конечные точки, например, от 1 сантиметра (см) до 5 см будет включать в себя длины, равные 1 см, 5 см и все расстояния между 1 см и 5 см.

[029] Следует отметить, что все числовые значения, раскрытые или сформулированные в данном документе (включающие в себя все раскрытые значения, ограничения и диапазоны), могут иметь отклонение +/- 5% от раскрытого значения, пока другое отклонение не указано.

[030] Термин "полипептид", когда используется в данном документе, ссылается на любой аминокислотный полимер, имеющий более чем примерно 20 аминокислот, ковалентно связанных через амидные связи. Белки содержат одну или более цепей аминокислотного полимера (например, полипептиды). Таким образом, полипептид может быть белком, и белок может содержать множество полипептидов, чтобы формировать единую функционирующую биомолекулу.

[031] Посттрансляционные модификации могут модифицировать или изменять структуру полипептида. Например, дисульфидные мостики (например, связи S-S между остатками цистеина) могут быть сформированы посттрансляционно в некоторых белках. Некоторые дисульфидные мостики являются неотъемлемыми для правильной структуры, функционирования и взаимодействия полипептидов, иммуноглобулинов, белков, кофакторов, субстратов и т.п. В дополнение к формированию дисульфидной связи, белки могут быть подвергнуты другим посттрансляционным модификациям, таким как липидизация (например, миристиолирование, пальмитоилирование, фарнесоилирование, геранилгеранилирование и формирование якоря гликозилфосфатидилинозитола (GPI)), алкилирование (например, метилирование), ацилирование, амидирование, гликозилирование (например, добавление групп гликозила в аргинине, аспарагине, цистеине, гидроксизине, серине, треонине, тирозине и/или триптофане) и фосфорилирование (т.е., добавление группы фосфатов к серину, треонину, тирозину и/или гистидину). Посттрансляционные модификации могут влиять на гидрофобность, электростатические свойства поверхности или другие свойства, которые определяют взаимодействия поверхность-поверхность, в которых участвует полипептид.

[032] Когда используется в данном документе, термин "белок" включает в себя биотерапевтические белки, рекомбинантные белки, используемые в исследовании или лечении, белки-ловушки и другие Fc-слитые белки, химерные белки, антитела, моноклональные антитела, человеческие антитела, биспецифические антитела, фрагменты антител, подобные антителам молекулы, нанотела, химеры рекомбинантных антител, цитокины, хемокины, пептидные гормоны и т.п. Интересующий белок (POI) может включать в себя любой полипептид или белок, который желательно должен быть изолирован, очищен или иначе приготовлен. POI могут включать в себя полипептиды, произведенные клеткой, включающие в себя антитела.

[033] Термин "антитело", когда используется в данном документе, включает в себя иммуноглобулины, состоящие из четырех полипептидных цепей: двух тяжелых (H) цепей и двух легких (L) цепей, взаимосвязанных дисульфидными связями. Типично, антитела имеют молекулярный вес свыше 100 кДа, такой как между 130 кДа и 200 кДа, такой как примерно 140 кДа, 145 кДа, 150 кДа, 155 кДа или 160 кДа. Каждая тяжелая цепь содержит переменную область тяжелой цепи (обозначенную в данном документе аббревиатурой HCVR или VH) и константную область тяжелой цепи. Константная область тяжелой цепи содержит три области CH1, CH2 и CH3. Каждая легкая цепь содержит переменную область легкой цепи (обозначенную в данном документе аббревиатурой LCVR или VL) и

константную область легкой цепи. Константная область легкой цепи содержит одну область, CL. VH и VL-области могут быть дополнительно подразделены на области гипервариабельности, названные областями, определяющими комплементарность (CDR), чередующиеся с областями, которые являются более сохранившимися, названными каркасными областями (FR). Каждая из VH и VL состоит из трех CDR и четырех FR, размещенных от amino-конца до карбокси-конца в следующем порядке: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4 (CDR тяжелой цепи могут быть обозначены аббревиатурами HCDR1, HCDR2 и HCDR3; CDR легкой цепи могут быть обозначены аббревиатурами LCDR1, LCDR2 и LCDR3).

[034] Класс иммуноглобулинов, называемый Иммуноглобулином G (IgG), например, часто встречается в человеческой плазме и содержит четыре полипептидных цепи - две легкие цепи и две тяжелые цепи. Каждая легкая цепь связывается с одной тяжелой цепью через цистин дисульфидную связь, и две тяжелые цепи связываются друг с другом через две цистин дисульфидные связи. Другие классы человеческих иммуноглобулинов включают в себя IgA, IgM, IgD и IgE. В случае IgG, существует четыре подкласса: IgG 1, IgG 2, IgG 3, и IgG 4. Каждый подкласс отличается своими константными областями и, в результате, может иметь различные эффекторные функции. В некоторых вариантах осуществления, описанных в данном документе, POI может содержать целевой полипептид, включающий в себя IgG. По меньшей мере, в одном варианте осуществления, целевой полипептид содержит IgG 4.

[035] Термин "антитело", когда используется в данном документе, также включает в себя антигенсвязывающие фрагменты полных молекул антитела. Термины "антигенсвязывающая часть" антитела, "антигенсвязывающий фрагмент" антитела и т.п., когда используются в данном документе, включают в себя любой естественно возникающий, энзиматически получаемый, синтетический или созданный методами генной инженерии полипептид или гликопротеин, который особым образом связывает антиген, чтобы формировать комплексное соединение. Антигенсвязывающие фрагменты антитела могут быть получены, например, из полных молекул антител с помощью любых подходящих стандартных методов, таких как протеолитическое расщепление или рекомбинантные методы генной инженерии, подразумевающие манипулирование и выражение ДНК, кодирующего переменные и необязательно константные области антитела. Такая ДНК является известной и/или легко получаемой, например, из коммерческих источников, библиотек ДНК (включающих в себя, например, библиотеки фаг-антитела) или может быть синтезирована. ДНК может быть секвенирована и подвергнута химической манипуляции или с помощью методов молекулярной биологии, например, чтобы размещать одну или более переменных и/или константных областей в подходящей конфигурации, или чтобы вводить кодоны, создавать остатки цистеина, модифицировать, добавлять или удалять аминокислоты, и т.д.

[036] Целевые молекулы (такие как целевые полипептиды/антитела) могут быть произведены с помощью производственных систем на основе рекомбинантной клетки,

таких как система бакуловируса насекомых, дрожжевые системы (например, *Pichia* sp.) или системы млекопитающих (например, CHO-клетки и CHO-производные типа клеток CHO-K1). Термин "клетка" включает в себя любую клетку, которая подходит для выражения последовательности рекомбинантной нуклеиновой кислоты. Клетки включают в себя клетки прокариотов и эукариотов (одноклеточных или многоклеточных), бактериальные клетки (например, штаммы *E. coli*, *Bacillus* spp., *Streptomyces* spp., и т.д.), микобактериальные клетки, грибные клетки, дрожжевые клетки (например, *S. cerevisiae*, *S. pombe*, *P. pastoris*, *P. methanolica* и т.д.), клетки растений, клетки насекомых (например, SF-9, SF-21, клетки зараженных бакуловирусом насекомых, *Trichoplusia* и т.д.), нечеловеческие клетки животных, человеческие клетки или слияния клеток, такие как, например, гидридомы или квадромы. В некоторых вариантах осуществления, клетка может быть клеткой человека, обезьяны, человекообразной обезьяны, хомяка, крысы или мыши. В некоторых вариантах осуществления, клетка может быть эукариотической и может быть выбрана из следующих клеток: CHO (например, CHO K1, DXB-11 CHO, Veggie-CHO), COS (например, COS-7), ретикулярная клетка, Vero, CV1, почка (например, HEK293, 293 EBNA, MSR 293, MDCK, HaK, BHK), HeLa, HepG2, WI38, MRC 5, Colo205, HB 8065, HL-60, (например, BHK21), Jurkat, Daudi, A431 (эпидермальная), CV-1, U937, 3T3, L клетка, C127 клетка, SP2/0, NS-0, MMT 060562, Sertoli клетка, BRL 3A клетка, HT1080 клетка, миеломная клетка, опухолевая клетка, и линия клеток, полученная из вышеупомянутой клетки. В некоторых вариантах осуществления, клетка может содержать один или более вирусных генов, например, ретикулярная клетка, которая выражает вирусный ген (например, клетка PER.C6™).

[037] Термин "целевая молекула" может быть использован в данном документе, чтобы сослаться на целевые полипептиды (например, антитела, фрагменты антител или другие белки, или фрагменты белков), или на другие молекулы, предназначенные для создания, изоляции, очистки и/или включения в лекарственные препараты (например, аденовирусы (AAV) или другие молекулы для терапевтического использования). В то время как способы согласно настоящему раскрытию могут сослаться на целевые полипептиды, они могут быть также применимы к другим целевым молекулам. AAV, например, могут быть приготовлены согласно надлежащим способам (например, глубинная фильтрация, аффинная хроматография и т.п.), и смеси, включающие в себя множество AAV, могут быть подвергнуты способам согласно настоящему раскрытию. Перед или после следующих одного или более способов настоящего раскрытия, смеси, включающие в себя множество AAV, могут быть подвергнуты дополнительным процедурам (например, удалению "пустых кассет" или множества AAV, которые не содержат целевую последовательность).

[038] В некоторых вариантах осуществления, целевая молекула является антителом, человеческим антителом, гуманизированным антителом, химерным антителом, моноклональным антителом, мультиспецифическим антителом, биспецифическим антителом, антигенсвязывающим фрагментом антитела,

одноцепочечным антителом, диателом, триателом или тетрателом, Fab-фрагментом или F(ab')₂-фрагментом, антителом IgD, антителом IgE, антителом IgM, антителом IgG, антителом IgG1, антителом IgG2, антителом IgG3 или антителом IgG4. В одном варианте осуществления, антитело является антителом IgG1. В одном варианте осуществления, антитело является антителом IgG2. В одном варианте осуществления, антитело является антителом IgG4. В одном варианте осуществления, антитело является химерным антителом IgG2/IgG4. В одном варианте осуществления, антитело является химерным антителом IgG2/IgG1. В одном варианте осуществления, антитело является химерным антителом IgG2/IgG1/IgG4.

[039] В некоторых вариантах осуществления, целевая молекула (например, антитело) выбирается из группы, состоящей из антитела против запрограммированной гибели клеток 1 (например, анти-PD1 антитело, которое описано в публикации патентной заявки США № US2015/0203579A1), антитела лиганда-1 против запрограммированной гибели клеток (например, анти-PD-L1 антитело, которое описано в публикации патентной заявки США № US2015/0203580A1), анти-Dll1 антитела, анти-ангиопоэтин-2 антитела (например, анти-ANG2 антитело, которое описано в патенте США № 9,402,898), анти-ангиопоэтин-подобного 3 антитела (например, анти-AngPt13 антитело, которое описано в патенте США № 9,018,356), антитела к рецептору фактора роста тромбоцитов (например, анти-PDGFR антитело, которое описано в патенте США № 9,265,827), антитела к рецептору пролоктинина (например, анти-PRLR антитело, которое описано в патенте США № 9,302,015), антитела против комплемента 5 (например, анти-C5 антитело, которое описано в публикации патентной заявки США № US2015/0313194A1), анти-TNF антитела, антитела к рецептору эпидермального фактора роста (например, анти-EGFR антитело, которое описано в патенте США № 9,132,192 или анти-EGFRvIII антитело, которое описано в публикации патентной заявки США № US2015/0259423A1), антитела к пропротеинконвертазе субтилизин-кексин-9 (например, анти-PCSK9 антитело, которое описано в патенте США № 8,062,640 или публикации патентной заявки США № US2014/0044730A1), антитела против фактора роста и дифференциации-8 (например, анти-GDF8 антитело, также известное как антитело против миостатина, которое описано в патентах США №№ 8,871,209 или 9,260,515), анти-глюкагонового рецептора (например, анти-GCGR антитело, которое описано в публикациях патентной заявки США №№ US2015/0337045A1 или US2016/0075778A1), анти-VEGF антитела, анти-IL1R антитела, антитела к рецептору интерлейкина 4 (например, анти-IL4R антитело, которое описано в публикации патентной заявки США № US2014/0271681A1 или патентах США №№ 8,735,095 или 8,945,559), антитела к рецептору интерлейкина 6 (например, анти-IL6R антитело, которое описано в патентах США №№ 7,582,298, 8,043,617 или 9,173,880), антитела против интерлейкина 33 (например, анти-IL33 антитело, которое описано в публикациях патентных заявок США №№ US2014/0271658A1 или US2014/0271642A1), антитела против респираторно-синцитиального вируса (например, анти-RSV антитело, которое описано в публикации патентной заявки США № US2014/0271653A10),

антикластера дифференциации 3 (например, анти-CD3 антитело, которое описано в публикациях патентных заявок США №№ US2014/0088295A1 и US20150266966A1 и в заявке США № 62/222,605), антикластера дифференциации 20 (например, анти-CD20 антитело, которое описано в публикациях патентных заявок США №№ US2014/0088295A1 и US20150266966A1 и в патенте США № 7,879,984), антикластера дифференциации-48 (например, анти-CD48 антитело, которое описано в патенте США № 9,228,014), анти-Fel d1 антитела (например, которое описано в патенте США № 9,079,948), антитела против вируса ближневосточного респираторного синдрома (например, анти-MERS антитело), антитела против вируса Эбола (например, REGN-EB3 Регенерона), анти-CD19 антитела, анти-CD28 антитела, анти-IL1 антитела, анти-IL2 антитела, анти-IL3 антитела, анти-IL4 антитела, анти-IL5 антитела, анти-IL6 антитела, анти-IL7 антитела, анти-Erb3 антитела, антитела против вируса Зика, антитела к гену 3 активации лимфоцитов (например, анти-LAG3 антитело или анти-CD223 антитело) и антитело против активина А. Каждый патент США и публикация патента США, упомянутые в этом параграфе, содержатся по ссылке в своей полноте.

[040] В некоторых вариантах осуществления, целевая молекула (например, биспецифическое антитело) выбирается из группы, состоящей из анти-CD3 x анти-CB20 биспецифического антитела, анти-CD3 x анти-муцин 16 биспецифического антитела, и анти-CD3 x анти-простатического-специфического мембранного антигена биспецифического антитела. В некоторых вариантах осуществления, целевая молекула выбирается из группы, состоящей из алирокумаба, сарилумаба, фасинумаба, несвакумаба, дупилумаба, тревогрумаба, эвинакумаба и ринукумаба.

[041] В некоторых вариантах осуществления, целевая молекула является рекомбинантным белком, который содержит Fc-фрагмент и другую область (например, Fc-слитый белок). В некоторых вариантах осуществления, Fc-слитый белок является Fc-слитым белком рецептора, который содержит одну или более внеклеточных область(ей) рецептора, соединенных с Fc-фрагментом. В некоторых вариантах осуществления, Fc-фрагмент содержит шарнирную область, за которой следует область CH2 и CH3 для IgG. В некоторых вариантах осуществления, Fc-слитый белок рецептора содержит две или более отдельных цепи рецептора, которые связываются либо с единственным лигандом, либо с множеством лигандов. Например, Fc-слитый белок является белком-ловушкой (TRAP), таким как, например, IL-1 ловушка (например, рилонацепт, который содержит IL-1 RAcP лиганд, связывающую область, слитую с IL-1R1 внеклеточной областью, слитой с Fc для hIgG1; см. патент США № 6,927,004, который включен по ссылке в своей полноте), или VEGF-ловушкой (например, афлиберцепт или зив-афлиберцепт, который содержит Ig-область 2 VEGF-рецептора Flt1, слитую с Ig-областью 3 VEGF-рецептора Flk1, слитой с Fc для hIgG1; см. патенты США №№ 7,087,411 и 7,279,159, которые оба включены по ссылке в своей полноте). В других вариантах осуществления, Fc-слитый белок является ScFv-Fc-слитым белком, который содержит одну или более из одной или более антигенсвязывающих области(ей), таких как переменный фрагмент тяжелой цепи и

вариабельный фрагмент легкой цепи, антитела, соединенных с Fc-фрагментом.

[042] Термины "среда культивирования" или "среда" ссылаются на питательный раствор, используемый для выращивания клеток, который типично предоставляет необходимые питательные вещества, чтобы улучшить рост клеток, такой как карбогидратный источник энергии, эссенциальные аминокислоты, следовые элементы, витамины и т.д. Среда культивирования может содержать экстракты, например, сыворотку или пептоны (гидролизаты), которые подают сырьевые материалы, которые поддерживают рост клеток. В некоторых вариантах осуществления, вместо экстрактов животного происхождения, среда может содержать дрожжевые или соевые экстракты. Химически определенная среда ссылается на среду культивирования, в которой все химические компоненты являются известными. Химически определенная среда может быть полностью свободна от компонентов животного происхождения, таких как полученные из сыворотки или от животных пептоны. Среда может также быть безбелковой. "Свежая среда" может ссылаться на среду, которая еще не была введена в культуру клеток и/или еще не была использована клетками из культуры клеток. Свежая среда может включать в себя, как правило, высокие уровни питательных веществ и практически не иметь отходов. "Истощенная среда" может ссылаться на среду, которая была использована клетками в культуре клеток, и может, как правило, включать в себя более низкие уровни питательных веществ и более высокие уровни воды, по сравнению со свежей средой.

[043] В общем, протоколы смешивания могут быть объединены в несколько стадий производства биофармацевтических препаратов. Например, во время культивирования клеток-хозяев или сбора биофармацевтического препарата, протокол смешивания может быть использован, чтобы обеспечивать надлежащее распределение сформированных биофармацевтических препаратов, клеток, питательных веществ, отходов и других компонентов среды культивирования. Протокол смешивания может применяться с сосудом, сконфигурированным, чтобы выполнять протокол смешивания, также называемым смесительным сосудом. В некоторых вариантах осуществления, биореактор может быть использован в качестве смесительного сосуда. В других вариантах осуществления, текучая среда для культивирования может быть перенесена из биореактора в другой тип смесительного сосуда перед выполнением протокола смешивания.

[044] После сбора биофармацевтического препарата (например, интересующего белка), собранный препарат может удерживаться в растворе. Раствор, включающий в себя биофармацевтический препарат, может подвергаться одному или более этапам хроматографии, фильтрации (например, ультрафильтрации, диафильтрации или их комбинации), очистки (например, вирусной инактивации), чтобы увеличивать чистоту и эффективность биофармацевтического препарата. На всех стадиях протокол смешивания может применяться, чтобы гомогенизировать раствор и/или обеспечивать надлежащее распределение компонентов раствора. В дополнение к вариантам применения,

обсужденным выше, протоколы смешивания могут применяться для объединения и/или разжижения отдельных биотейнеров, партий или лотов.

[045] Дополнительно, протоколы смешивания могут применяться к растворам, не включающим в себя интересующий белок. Например, вышеупомянутые этапы производства биофармацевтического препарата требуют использования буферов, среды и других растворов. Приготовление буферов, среды и других растворов может включать в себя использование одного или более протоколов смешивания.

[046] Конкретные свойства биофармацевтических продуктов или процесс их производства, которые зависят от протокола смешивания, могут наблюдаться, чтобы оценивать влияние параметров протокола смешивания на результирующие биофармацевтические препараты. Например, характер движения потока, распределение скорости текучей среды, поле векторов потока текучей среды, линии движения потока текучей среды, время смешивания (например, время смешивания до установившегося состояния или время смешивания до переходного состояния), распределение времени пребывания, скорость сдвиговой деформации контура, средняя скорость сдвиговой деформации, анализ подверженности внешнему воздействию и/или потребление мощности, ассоциированные с протоколом смешивания, могут быть использованы для оценки пользы и/или эффективности протокола смешивания.

[047] Протокол смешивания может включать в себя рабочие параметры для смесительного сосуда, такие как, например, размер смесительного сосуда, скорость лопастного колеса, размер нагрузки как процент суммарной емкости, вязкость раствора и/или другие рабочие параметры, которые описывают требования протокола смешивания. В некоторых вариантах осуществления, протокол смешивания является законченным, когда раствор (включающий в себя, например, среду, клетки, интересующие белок(и) и/или другие молекулы) является достаточно гомогенизированным. Продолжительность протокола смешивания, т.е., время, которое тратится, чтобы раствор достиг достаточной однородности, называется временем смешивания. Степень, до которой раствор был смешан, может быть выражена количественно посредством индекса смешивания. Индекс смешивания может быть определен как отношение стандартного отклонения концентрации (например, интересующего белка или другой молекулы) к конечной концентрации. Время смешивания может быть выражено количественно как интервал времени, необходимого для того, чтобы при данном протоколе смешивания достичь индекса смешивания, приблизительно равного 5%.

[048] В традиционной разработке протокола смешивания, физиолого-химические свойства интересующего белка и среды, содержащей интересующий белок, рассматриваются, когда потенциальные протоколы смешивания формируются. Потенциальные протоколы смешивания испытываются посредством исследований суррогатного смешивания, чтобы сопоставлять рабочие диапазоны и собирать данные о времени смешивания. На основе данных о времени смешивания, собранных из различных точек рабочих диапазонов, один или более потенциально подходящих протоколов

смешивания могут быть определены. Потенциально подходящие протоколы смешивания могут быть дополнительно испытаны с помощью исследований сдвигового напряжения и излишнего перемешивания. Исследования сдвигового напряжения и излишнего перемешивания могут формировать данные о качестве препарата, которые могут быть использованы для оценки потенциально подходящих протоколов смешивания.

[049] Исследования сдвига и избыточного перемешивания должны проводиться, после того как данные о времени смешивания сформированы, поскольку сдвиговое напряжение и избыточное перемешивание зависят от времени смешивания. Если данные о качестве препарата, предоставленные посредством исследований сдвигового напряжения и избыточного перемешивания, указывают, что протокол смешивания является неподходящим, разработка протокола смешивания должна быть повторно начата, чтобы формировать потенциальные протоколы смешивания. Дополнительно, исследования суррогатного смешивания должны выполняться для новых потенциальных протоколов смешивания для того, чтобы формировать данные о времени смешивания, которые могут быть использованы для дальнейших исследований сдвигового напряжения и избыточного перемешивания.

[050] Эта традиционная последовательность разработки протокола смешивания является ограниченной, поскольку исследования суррогатного смешивания должны выполняться для оценки протоколов смешивания, которые могут, в конечном счете, приводить в результате к неблагоприятным данным о качестве препарата. Требование для традиционной последовательности разработки проводить множество экспериментов для того, чтобы определять, должен ли потенциальный протокол смешивания быть изучен, приводит в результате к времязатратной и трудоемкой разработке протоколов смешивания. Дополнительно, события, относящиеся к реализованному протоколу смешивания, которые влияют на качество результирующего биофармацевтического препарата, такие как напряжение на границе раздела воздух-жидкость, вовлечение воздуха и риск формирования видимых или невидимых невооруженным глазом частиц, не устраняются в традиционной последовательности разработки.

[051] В дополнение к неудаче традиционных последовательностей разработки протокола смешивания в устранении всех факторов протокола смешивания, которые могут приводить к неблагоприятным последствиям для результирующего биофармацевтического препарата, масштабированные исследования приводят в результате к чрезмерно высокому сдвиговому напряжению. Фиг. 1 показывает гистограммы деформации, которые представляют то, как масштабированные исследования сдвигового напряжения, ассоциированные с традиционной разработкой протокола смешивания, переоценивают сдвиговое напряжение. Кривая 610 показывает гистограмму деформации для одного масштабированного исследования сдвигового напряжения в сравнении с областью 605 производственных условий для действительных протоколов смешивания. Иначе говоря, область 605 представляет фактическое сдвиговое напряжение в действительных протоколах смешивания фармацевтических препаратов, в

то время как кривая 610 представляет прогнозируемое сдвиговое напряжение масштабированных исследований. График на фиг. 1 показывает, что масштабированные исследования имеют более высокое сдвиговое напряжение по сравнению с типичным рабочим диапазоном протоколов смешивания.

[052] Исследования суррогатного смешивания, расследования сдвигового напряжения и избыточного перемешивания, ассоциированные с традиционной разработкой протокола смешивания, не определяют количественно напряжение на границе раздела воздух-жидкость, вовлечение воздуха и риск формирования видимых или невидимых невооруженным глазом частиц. Следовательно, эти показатели традиционно оцениваются с помощью полномасштабных исследований, использующих фактический биофармацевтический препарат. Полномасштабные исследования, использующие препарат, являются дорогостоящими и времязатратными. Ограничения стоимости и времени для полномасштабных исследований уменьшают воспроизводимость и увеличивают трудность сбора достаточного количества образцов, чтобы уменьшать изменчивость выборки. Дополнительно, пробы, ассоциированные с полномасштабными исследованиями, могут влиять на последовательность операций, ассоциированную с протоколом смешивания, и предоставлять неточные данные. Поскольку по природе полномасштабные исследования являются особыми для параметров данного протокола смешивания, полномасштабные исследования требуют частого повторного подтверждения.

[053] Системы и способы, раскрытые в данном документе, могут предоставлять улучшенную последовательность операций разработки для протоколов смешивания. Например, системы и способы, описанные в данном документе, могут предоставлять возможность для разработки прогнозных моделей, которые предоставляют возможность высокопроизводительной оценки протоколов смешивания. Могут быть сформированы прогнозные модели, которые могут количественно определять напряжение на границе раздела воздух-жидкость, вовлечение воздуха и риск формирования видимых или невидимых невооруженному глазу частиц, ассоциированные с протоколом смешивания.

[054] Обращаясь к фиг. 2, способ 200 разработки прогнозных моделей для оценки протоколов смешивания может включать в себя картирование 201 проектного пространства, структурирование 202 плана эксперимента (DOE), проведение 203 анализа вычислительной гидродинамики (CFD), построение 204 потенциально подходящих прогнозных моделей и/или оценку 205 прогнозов.

[055] Картирование 201 проектного пространства может включать в себя идентификацию параметров протокола смешивания, которые будут исследованы. Параметры протокола смешивания могут включать в себя "входные переменные" или аспекты протокола смешивания, которые могут регулироваться, изменяться, контролироваться и/или наблюдаться, чтобы оказывать влияние на выходной результат протокола смешивания. Примеры параметров протокола смешивания включают в себя, но без ограничения, скорость лопастного колеса, размер партии, вязкость раствора,

плотность раствора, размер смесительного сосуда, геометрию смесительного сосуда и время смешивания.

[056] Скорость лопастного колеса может быть выражена количественно в единицах оборотов в минуту (об./мин.) или как процент максимальной скорости лопастного колеса. Размер партии может ссылаться на объем загрузки смесительного сосуда, как процент емкости смесительного сосуда. Вязкость раствора и плотность раствора являются параметрами, характерными для интересующего белка. Во время производства, вязкость раствора и плотность могут регулироваться, чтобы добиваться желаемых параметров вязкости и плотности перед выполнением протокола смешивания.

[057] В дополнение к потенциальным параметрам протокола смешивания, обсужденным выше, картирование проектного пространства может включать в себя идентификацию размеров потенциальных смесительных сосудов и геометрических форм потенциальных смесительных сосудов. Смесительные сосуды могут быть снабжены множеством форм и размеров. Например, смесительные сосуды могут включать в себя цилиндрические формы, конические формы, эллиптические формы, квадратные формы или их комбинации. Примеры геометрических форм смесительного сосуда показаны на фиг. 3А и 3В. Смесительный сосуд 100, показанный на фиг. 3А, включает в себя высоту и ширину, причем высота больше ширины. Смесительный сосуд 100, показанный на фиг. 3В, включает в себя высоту и ширину, причем ширина больше высоты. Пропорциональное отношение высоты к ширине смесительного сосуда 100 является компонентом геометрии смесительного сосуда и может влиять на характер движения потока текучей среды в смесительном сосуде 100.

[058] Смесительный сосуд 100 может включать в себя один или более механизмов, приспособленных для обеспечения взбалтывания. Например, смесительный сосуд 100 может включать в себя одно или более лопастных колес 110, которые приспособлены для обеспечения потока в смесительном сосуде. Смесительный сосуд 100, показанный на фиг. 3А, включает в себя одно лопастное колесо 110, размещенное на одной стороне смесительного сосуда 100. Смесительный сосуд 100, показанный на фиг. 3В, включает в себя два лопастных колеса 110, симметрично размещенных на противоположных сторонах смесительного сосуда 100. В дополнение, или альтернативно, взбалтывание в смесительном сосуде 100 может обеспечиваться посредством концентрически установленного лопастного колеса, волновых мешков, колебательного актуатора или другого средства взбалтывания раствора в смесительном сосуде 100.

[059] Хотя примерные геометрические формы смесительного сосуда показаны на фиг. 3А и 3В, они являются лишь двумя примерами. В некоторых вариантах осуществления, смесительный сосуд 100 может включать в себя перегородки или другие конструкции, предназначенные для изменения потока текучей среды внутри смесительного сосуда 100. Геометрические формы смесительного сосуда, включающие в себя другие пропорции, конфигурации, формы и механизмы для обеспечения взбалтывания, могут быть использованы с системами и способами, описанными в данном

документе.

[060] В дополнение к идентификации параметров протокола смешивания, картирование 201 проектного пространства может также включать в себя идентификацию критериев оценки. Критерии оценки могут включать в себя "выходные переменные" или аспекты протокола смешивания, которые зависят от значений, выбранных для параметров протокола смешивания. Примеры критериев оценки включают в себя, но без ограничения, характер движения потока, распределение скорости текучей среды, поле векторов потока текучей среды, линии движения потока текучей среды, время смешивания (например, время смешивания до установившегося состояния или время смешивания до промежуточного состояния), распределение времени пребывания, скорость сдвиговой деформации контура, средняя скорость сдвиговой деформации, анализ подверженности внешнему воздействию, потребление мощности, давление, скорость турбулентного рассеяния и колмогоровская длина.

[061] Обращаясь опять к фиг. 2, способ 200 разработки прогнозной модели для оценки протоколов смешивания может включать в себя структурирование 202 DOE-плана. Например, DOE-план может быть структурирован, после того как параметры протокола смешивания и критерии оценки идентифицированы. План экспериментов (DOE) ссылается на методологию структурирования экспериментов, моделирований и/или измерений, которая предоставляет возможность идентификации многовариантных взаимодействий. Поскольку DOE понятен обычным специалистам в области техники, он не описывается в дополнительных подробностях.

[062] В контексте разработки прогнозной модели для оценки протоколов смешивания, структурирование 202 DOE-плана включает в себя выбор испытательных значений для каждого идентифицированного параметра протокола смешивания и идентификацию экспериментов, моделирований и измерений, которые должны быть выполнены для того, чтобы определять критерии оценки для каждого множества испытательных значений параметра протокола смешивания.

[063] Например, если скорость лопастного колеса, размер партии, вязкость раствора и размер смесительного сосуда идентифицируются в качестве четырех параметров протокола смешивания, структурирование 202 DOE-плана включает в себя выбор испытательных значений для скорости лопастного колеса, размера партии, вязкости раствора и размера смесительного сосуда. В некоторых вариантах осуществления, от приблизительно 10 до приблизительно 500 испытательных значений, такие как, например, от приблизительно 30 до приблизительно 100 испытательных значений могут быть выбраны для каждого параметра протокола смешивания. Другие количества испытательных значений могут быть выбраны для каждого параметра протокола смешивания, такие как, например, менее приблизительно 10, или от приблизительно 100 до приблизительно 1000. Точность последующего CFD-анализа сопоставляется с количеством испытательных значений, выбранных для каждого параметра протокола смешивания, и выбор большего количества испытательных значений для некоторых

параметров протокола смешивания может предоставлять более значимый CFD-анализ.

[064] Обращаясь снова к фиг. 2, способ 200 разработки прогнозной модели для оценки протоколов смешивания может включать в себя проведение анализа вычислительной гидрогазодинамики (CFD). Например, CFD-анализ может быть проведен, после того как испытательные значения для каждого идентифицированного параметра протокола смешивания, и экспериментов, моделирований и измерений, которые должны быть выполнены для того, чтобы определять критерии оценки для каждого множества испытательных значений параметра протокола смешивания, идентифицированы.

[065] CFD-анализ может включать в себя одно или более моделирований, указывающих протекание текучей среды в смесительном сосуде 100. Например, CFD-анализ может включать в себя анализ потока в установившемся состоянии, анализ потока в переходном состоянии, анализ времени смешивания и/или анализ подверженности внешнему воздействию. В частности, анализ переходного потока может помочь в оценке времени ускорения из состояния покоя до скорости в установившемся состоянии, оценке потенциала для взбивания, вспенивания или разбрызгивания и количественном определении деформации поверхности (например, как часть оценки риска формирования агрегатов).

[066] CFD-анализ может быть основан на математических решениях по отношению к моделям протекания текучей среды, включающих в себя, но без ограничения, законы сохранения, уравнения Навье-Стокса, уравнения Эйлера, уравнения Бернулли, уравнения волны сжатия, уравнения пограничного слоя, идеализированный поток, потенциальный поток, поток в воздуховоде, вихреобразование, завихрение и формирование турбулентности. CFD-анализ может быть выполнен посредством компьютерной системы, запускающей программное обеспечение CFD-анализа, такое как, например, программы, включающие в себя Star CCM, OpenFoam, Simulia и системы Ansys Workbench.

[067] В контексте настоящего раскрытия, одна или более геометрических форм смесительного сосуда могут быть запрограммированы в компьютерную систему, в которой работает программное обеспечение анализа, для того, чтобы определять, как геометрия смесительного сосуда влияет на критерии оценки. Например, размеры и форма смесительного сосуда 100, в дополнение к размеру, форме и размещению механизмов для вызова взбалтывания (например, лопастные колеса 110), могут быть смоделированы, чтобы конструировать различные моделирования потока, обсужденные выше.

[068] Результаты CFD-анализа могут включать в себя векторную карту, карту линий потока, контурную карту скорости деформации, гистограмму деформации, характер движения потока, распределение скорости текучей среды, поле векторов потока текучей среды, линии движения потока текучей среды, время смешивания до установившегося состояния, время смешивания до переходного состояния, распределение времени пребывания, скорость сдвиговой деформации контура, среднюю скорость сдвиговой деформации, анализ подверженности внешнему воздействию, потребление мощности, давление, скорость турбулентного рассеяния и/или колмогоровскую длину.

[069] Фиг. 4А показывает примерную векторную карту, сформированную в результате CFD-анализа. Векторная карта включает в себя множество векторов 310. Направление каждого вектора 310 указывает направление потока текучей среды в местоположении вектора, а величина вектора указывает скорость потока текучей среды в местоположении вектора. Фиг. 4В показывает карту линий потока, сформированную в результате CFD-анализа. Карта линий потока включает в себя множество линий 320 потока. Каждая линия потока представляет кривую, которая является касательной к вектору скорости потока, и указывает на то, куда элементы текучей среды будут двигаться в установившемся состоянии.

[070] Векторные карты и карты линий потока могут быть рассмотрены, чтобы определять застойные зоны, завихрения или другие структуры потока, которые могут влиять на эффективность протокола смешивания. Векторные карты, карты линий потока, или те и другие, могут быть использованы, чтобы качественно сравнивать различные параметры протокола смешивания (например, различные геометрические формы смесительного сосуда).

[071] Фиг. 4С показывает контурную карту скорости деформации, изображенную в черно-белом цвете. На практике, различные области контурной карты скорости деформации могут быть представлены различными цветами. Таблица 1 показывает приблизительные скорости деформации, ассоциированные с обозначенными областями 331-336, и примерные цвета, которые могут быть использованы для представления интервалов для скоростей деформации, показанных на фиг. 4С и в таблице 1.

Таблица 1 - диапазон скоростей деформации, ассоциированных с областями на фиг. 4С

Номер области	Диапазон скорости деформации (s^{-1})	Примерный цвет
331	18,0-19,1	Красный
332	15,8-17,9	Оранжевый
333	13,2-15,7	Желтый
334	5,5-13,1	Зеленый
335	2,5-5,4	Светло-синий
336	0-2,4	Темно-синий

[072] Интервалы скоростей деформации, показанные в таблице 1, являются одним примером. Группировка и распределения скоростей деформации могут быть изменены в зависимости от диапазона скоростей деформации, наблюдаемых во время CFD-анализа. Критерии оценки, такие как гистограмма деформации, средняя скорость деформации и пиковая деформация, могут быть определены из контурной карты скорости деформации. Контурная карта скорости деформации может быть проанализирована, чтобы определять области смесительного сосуда, которые подвергаются высоким уровням деформации.

[073] Как ранее описано, критерии для количественной и качественной оценки

протоколов смешивания (например, критерии оценки) могут быть определены посредством CFD-анализа. Критерии оценки, определенные посредством CFD-анализа, соответствуют множеству испытательных значений для параметров протокола смешивания. Соотношения критериев оценки и соответствующих параметров протокола смешивания могут быть использованы для оценки действия изменений в параметрах протокола смешивания на общую полезность и/или эффективность протокола смешивания.

[074] Обращаясь опять к фиг. 2, способ 200 разработки прогнозной модели для оценки протоколов смешивания может включать в себя построение 204 потенциально подходящих прогнозных моделей. Например, потенциально подходящие прогнозные модели могут быть построены, после того как критерии оценки определены для соответствующих испытательных значений параметров протокола смешивания. Для каждого критерия оценки могут быть выбраны одна или более потенциально подходящих прогнозных моделей.

[075] Фиг. 5 показывает примерный способ разработки и ранжирования потенциальных прогнозных моделей для критерия оценки. Способ разработки и ранжирования потенциальных прогнозных моделей может включать в себя разработку (этап 401) области применимых моделей, удаление (этап 402) дублирующих моделей и моделей с фактором инфляции дисперсии, большим или равным пороговому значению коллинеарности, идентификацию (этап 403) пула потенциально подходящих моделей и ранжирование (этап 404) потенциально подходящих моделей на основе сложности и корреляции. Способ разработки и ранжирования потенциальных прогнозных моделей может быть применен к каждому из критериев оценки, идентифицированных в DOE-плане, для того, чтобы формировать ранжированный пул потенциально подходящих прогнозных моделей для каждого критерия оценки.

[076] Разработка и ранжирование потенциальных прогнозных моделей включает в себя разработку области применимых моделей для заданного критерия оценки на основе идентифицированных параметров протокола смешивания. В этом контексте, модель ссылается на алгебраическое выражение, связывающее критерий оценки с параметрами протокола смешивания. Одномерные, двумерные, трехмерные и другие многомерные взаимодействия между параметрами протокола смешивания рассматриваются при разработке области применимых моделей. Например, произведения, дроби, экспоненты и другие многомерные соотношения параметров протокола смешивания могут рассматриваться. Область применимых моделей может также включать в себя известные механические или эмпирические соотношения. В некоторых вариантах осуществления, область применимых моделей включает в себя десятки тысяч моделей, таких как, например, более 50000 потенциальных прогнозных моделей.

[077] После того как область моделей разработана, модели с дублирующими параметрами могут быть удалены. Например, при разработке алгебраических выражений, связывающих критерий оценки с параметрами протокола смешивания, эквивалентные

выражения могут быть созданы. Эти эквивалентные выражения могут функционально быть дубликатами, которые могут быть удалены из области. Фактор инфляции дисперсии (VIF) каждой оставшейся модели может быть вычислен, и модели с VIF, большим или равным пороговому значению коллинеарности, могут быть удалены из области. В некоторых вариантах осуществления, пороговое значение коллинеарности равно четырем или менее, как, например, двум, трем или четырем. После того как модели с дублирующими параметрами и модели с VIF, большим или равным пороговому значению коллинеарности, удалены, оставшееся подмножество моделей может включать в себя сотни моделей. Например, оставшееся подмножество моделей может включать в себя количество, меньшее или равное 500 моделям.

[078] Пул потенциально подходящих прогнозных моделей может быть идентифицирован из оставшегося подмножества моделей. Например, пул потенциально подходящих прогнозных моделей может включать в себя одномерные модели, двухмерные модели и трехмерные модели. Каждая потенциально подходящая прогнозная модель из пула потенциально подходящих прогнозных моделей может иметь значение R^2 , большее или равное приблизительно 0,70. В некоторых вариантах осуществления, каждая потенциально подходящая прогнозная модель из пула потенциально подходящих прогнозных моделей может иметь значение R^2 , которое может быть больше или равно приблизительно следующим значениям: 0,60, 0,70, 0,75, 0,80, 0,85, 0,9 или 0,95. В некоторых вариантах осуществления, пул потенциально подходящих прогнозных моделей включает в себя одномерную модель с наибольшим значением R^2 , двухмерную модель с наибольшим значением R^2 и трехмерную модель с наибольшим значением R^2 . После того как пул потенциально подходящих прогнозных моделей идентифицирован, потенциально подходящие прогнозные модели могут быть ранжированы согласно сложности и корреляции. Например, прогнозные модели, которые имеют более высокую корреляцию с данными, полученными из CFD-анализа (например, более высокое значение R^2), могут быть ранжированы более высоко согласно корреляции, в то время как прогнозные модели, которые имеют меньшую сложность (например, меньше членов), могут иметь более положительный ранг сложности. Дополнительные примеры оценки корреляции потенциальных прогнозных моделей с результатами CFD-анализа описываются в разделе "Примеры" ниже. Эти два ранжирования могут быть объединены таким образом, что прогнозные модели, которые имеют более высокую корреляцию с данными, полученными из CFD-анализа (например, более высокое значение R^2), с наименьшей сложностью (например, меньшим количеством членов), могут быть ранжированы более высоко по сравнению с прогнозными моделями, которые имеют более низкие значения R^2 и/или более высокую сложность.

[079] После того как прогнозные модели ранжированы согласно сложности и корреляции, прогнозная модель может быть выбрана согласно желаемым атрибутам сложности и корреляции. Выбранная прогнозная модель может быть дополнительно исследована для других испытательных значений параметров протокола смешивания или

типов протоколов смешивания.

[080] Обращаясь снова к фиг. 2, способ 200 разработки прогнозной модели для оценки протоколов смешивания может включать в себя оценку прогнозов. Потенциально подходящие прогнозные модели могут быть испытаны по увеличенному диапазону испытательных значений параметра протокола смешивания, чтобы формировать прогнозные оценочные критерии.

[081] Прогнозные оценочные критерии могут быть сравнены с полномасштабными исследованиями или CFD-анализом, чтобы утверждать выбранную прогнозную модель. После того как прогнозная модель утверждается для критерия оценки и набора параметров протокола смешивания, модель может быть использована для оценки тысяч протоколов смешивания высокопроизводительным образом. Скорость, с которой протоколы смешивания могут оцениваться с помощью прогнозной модели, может предоставлять возможность нахождения решения для оптимальных условий параметра протокола смешивания.

[082] Кроме того, или альтернативно, известные механические или эмпирические соотношения из литературы могут быть сравнены с потенциально подходящими прогнозными моделями. Если корреляция потенциально подходящих прогнозных моделей улучшается посредством добавления члена из известного или эмпирического соотношения, член может быть объединен в потенциально подходящую прогнозную модель.

[083] Когда больше прогнозных моделей формируется, и библиотека данных CFD-анализа растет, более точные прогнозные модели будут сформированы для каждого идентифицированного оценочного критерия. Все оценочные критерии для всех параметров протокола смешивания могут быть оценены вышеупомянутым высокопроизводительным образом, чтобы определять, какие параметры протокола смешивания приведут в результате к достаточным оценочным критериям.

[084] Как преимущество, высокопроизводительный способ оценки протоколов смешивания может приводить в результате к значительной экономии времени в идентификации протоколов смешивания, подходящих для использования в производстве биофармацевтических препаратов.

Примеры

[085] Пример 1

[086] CFD-анализ времени смешивания был проведен со временем смешивания в качестве критерия оценки, и размером партии, скоростью лопастного колеса и вязкостью раствора, идентифицированными в качестве параметров протокола смешивания. Потенциально подходящая прогнозная модель была идентифицирована и описана посредством уравнения 1:

$$T_{\text{blend}} = c_1 + c_2 X_1 + c_3 X_3 + c_4 X_2 X_3 \text{ Ур. (1)}$$

где T_{blend} является временем смешивания, X_1 является размером партии, X_2 является скоростью лопастного колеса, X_3 является вязкостью раствора, а c_1 , c_2 , c_3

являются константами. T_{blend} , определенное посредством CFD для испытательных значений параметров протокола смешивания, нанесено на график в сравнении с T_{blend} , определенным посредством уравнения (1), и показано на фиг. 6. Линия корреляции 1:1 и область вокруг линии корреляции 1:1 также показаны на фиг. 6, чтобы иллюстрировать корреляцию прогнозной модели с результатами CFD-анализа. Прогнозная модель была найдена имеющей лучшую корреляцию с CFD-анализом по сравнению с соотношениями из Фликингер и Ниеноу, Scale-Up, Stirred Tank Reactors, Энциклопедия промышленной биотехнологии (2010).

[087] Пример 2

[088] CFD-анализ контура деформации был проведен со средней скоростью деформации в качестве критерия оценки, и размером партии, скоростью лопастного колеса и вязкостью раствора, идентифицированными в качестве параметров протокола смешивания. Потенциально подходящая прогнозная модель была идентифицирована и описана посредством уравнения 2:

$$\gamma_{mean} = c_1 + c_2 X_2 + c_3 \sqrt{\frac{X_2^3}{X_1}}$$

Ур. (2)

[089] где γ_{mean} является средней скоростью деформации, X_1 является размером партии, X_2 является скоростью лопастного колеса, а c_1 , c_2 и c_3 являются константами. γ_{mean} , определенная посредством CFD для испытательных значений параметров протокола смешивания, нанесена на график в сравнении с γ_{mean} , определенной посредством уравнения (2), и показана на фиг. 7. Линия корреляции 1:1 и область вокруг линии корреляции 1:1 также показаны на фиг. 7, чтобы иллюстрировать корреляцию прогнозной модели с результатами CFD-анализа. Корреляция прогнозной модели была улучшена

$$c_3 \sqrt{\frac{X_2^3}{X_1}}$$

посредством добавления члена , на основе соотношения описанного в Ладнер и др., CFD Supported Investigation of Shear Induced by Bottom-Mounted Magnetic Stirrer in Monoclonal Antibody Formulation, Pharm. Res. 35(11): 215, 25 сентября, 2018 г.

[090] Пример 3

[091] Гистограммы скорости деформации могут быть сформированы посредством CFD-анализа. Однако, формирование гистограммы скорости деформации для одной комбинации испытательных значений является времязатратным. Более эффективная методология может включать в себя формирование прогнозной модели, чтобы описывать совокупную деформацию и построение гистограммы скорости деформации на основе прогнозной модели. Пример гистограммы скорости деформации, сформированной с помощью прогнозной модели, показан на фиг. 8.

[092] Обращаясь к фиг. 8, точки для гистограммы скорости деформации (например, точки для $t=20$, $t=40$, $t=60$, $t=75$, $t=80$ и $t=90$) были сформированы согласно прогнозной

модели для скорости деформации (уравнение 2). Точки были нанесены в виде гистограммы, показанной на фиг. 8. Совокупная деформация, описанная посредством гистограммы, может быть сформирована быстрее, и с меньшими ассоциированными усилиями, по сравнению с традиционным анализом подверженности внешнему воздействию на основе CFD.

[093] Пример 4

[094] Не ограничиваясь теорией, возможный механизм формирования видимых и невидимых невооруженным глазом частиц показан на фиг. 9А-9С. Отдельные белки 702 (например, белок клетки-хозяина, интересующие белки и т.д.) могут присутствовать в растворе 700 в смесительном сосуде 100. Как показано на фиг. 9А, поверхность 710 раствора 700 может первоначально быть чистой от белковых агрегатов 712.

[095] Белки 702 могут деформироваться в ответ на поверхностное натяжение при адсорбции на границе раздела воздух-жидкость (например, на поверхности 710). После деформации заряженные области белков 702 могут быть раскрыты. Раскрытые заряженные области могут собираться в одно целое вследствие термодинамического окружения. Агрегированные белки могут формировать сеть 712 на поверхности 710, показанную на фиг. 9В. Когда поверхность 710 раствора 700 возмущается (например, вследствие протокола смешивания), сеть 712 может быть разорвана, и части разорванной сети 712 могут быть втянуты в основную часть раствора 700.

[096] Части разорванной сети могут собираться в одно целое с другими белками 702, формировать более крупную сеть 712, которая опять порвется и будет втянута в основную часть раствора 700. Когда части белковой сети достигают достаточного размера, они обнаруживаются как большие агрегаты 720 в растворе 700, показанные на фиг. 9С. Большие агрегаты 720 могут выглядеть как видимые частицы и могут мутить раствор 700.

[097] Традиционное средство устранения риска формирования частиц полагается на исследование гидродинамического сдвига. Однако, гидродинамический сдвиг не учитывает формирование белковых агрегатов, и масштабированные испытания на основе сдвига не прогнозируют все оценочные критерии в масштабе производства. Риск формирования частиц продолжает быть препятствием для усовершенствования протокола смешивания вследствие трудности в количественном определении влияния формирования частиц, изменения в рабочей характеристике фильтра и отсутствия понимания долговременного поведения видимых и невидимых невооруженным глазом частиц в растворе.

[098] Напряжение на границе раздела воздух-жидкость является наиболее вероятно доминирующим фактором в формировании агрегатов. Вовлечение воздуха также способствует формированию агрегатов. Участие вовлечения воздуха в формировании агрегатов поддерживается поверхностным натяжением и оценками свободной энергии, также как наблюдением микроскопии атомных сил. Напряжения на границе раздела твердое тело-жидкость, кавитация, образование ядер и тепловое напряжение могут

способствовать вторично формированию агрегатов.

[099] Для того, чтобы лучше количественно определять риск формирования частиц, прогнозная модель может быть разработана согласно вариантам осуществления, описанным в данном документе, которая описывает риск формирования частиц как функцию параметров протокола смешивания. Возможные параметры протокола смешивания включают в себя характеристики агрегирующих белков, профиль наполнителя раствора и окружающие факторы (например, температуру, давление и т.д.).

[0100] CFD-анализ может определять контуры вертикальной скорости и среднеобъемной скорости. Фиг. 10А показывает пример контуров вертикальной скорости, определенные посредством CFD. Фиг. 10В показывает пример среднеобъемной скорости, определенной посредством CFD. В этом контексте, среднеобъемная скорость ссылается на пространственно усредненную скорость текучей среды в объеме рядом с поверхностью жидкости.

[0101] Аналогично контурной карте скорости деформации, описанной ранее (фиг. 4С), на практике, различные области контурной карты вертикальной скорости и среднеобъемной скорости могут быть представлены различными цветами, назначенными согласно скорости для области. Таблица 2 показывает примерные цвета, которые могут быть использованы для представления областей изменяющейся вертикальной скорости, показанных на фиг. 10А, и областей изменяющейся среднеобъемной вертикальной скорости, показанных на фиг. 10В.

Таблица 2 - примерные цвета, ассоциированные с областями на фиг. 10А и 10В

Номер области	Примерный цвет
331	Красный
332	Оранжевый
333	Желтый
334	Зеленый
335	Светло-синий
336	Темно-синий

[0102] Контуры вертикальной скорости, определенные посредством CFD, могут быть нанесены в зависимости от их местоположения в смесительном сосуде для того, чтобы иллюстрировать соотношение между относительными различиями в вертикальной скорости как функцию положения. Например, CFD-анализ может определять значение вертикальной скорости для каждой расчетной ячейки смесительного сосуда. Эта вертикальная скорость может быть нанесена на график в зависимости от линейного смещения вдоль радиуса от центра смесительного сосуда, как показано на фиг. 11. Каждое измерение 801 соответствует расчетной ячейке с вертикальной скоростью и позиции вдоль радиуса смесительного сосуда. Взвешенное среднее значение 820 может быть определено из индивидуальных измерений 801, когда вес, назначенный каждому измерению 801, коррелирует с объемом расчетной ячейки, соответствующей этому

измерению 801.

[0103] Прогнозная модель для оценки риска формирования агрегатов может быть разработана с помощью вышеупомянутых способов. Например, соотношение между характеристиками агрегирующих белков, профиль наполнителя раствора, окружающие факторы и формирование агрегатов могут быть определены с помощью контуров вертикальной скорости или среднеобъемной скорости, определенной посредством CFD.

[0104] Настоящее раскрытие дополнительно описывается посредством следующих неограничивающих пунктов.

[0105] Пункт 1. способ разработки прогнозной модели, способ содержит:

- a) идентификацию параметров протокола смешивания для прогнозной модели;
- b) выбор испытательных значений для параметров протокола смешивания;
- c) проведение моделирования вычислительной гидрогазодинамики (CFD) для каждой комбинации испытательных значений;
- d) формирование области потенциальных прогнозных моделей, относящихся к параметрам протокола смешивания; и
- e) ранжирование области потенциальных прогнозных моделей, относящихся к параметрам протокола смешивания.

[0106] Пункт 2. Способ по п. 1, дополнительно содержащий:

- идентификацию критерия оценки для прогнозной модели после этапа (a);
- идентификацию CFD-моделирования, которое требуется выполнять для того, чтобы формировать критерий оценки, после этапа (b);
- идентификацию пула потенциально подходящих прогнозных моделей из области потенциальных прогнозных моделей после этапа (d); и
- ранжирование пула потенциально подходящих прогнозных моделей.

[0107] Пункт 3. Способ по любому одному из пп. 1 или 2, при этом параметры протокола смешивания включают в себя два или более из следующего: скорость лопастного колеса, размер партии, вязкость раствора, плотность раствора, размер смесительного сосуда и геометрия смесительного сосуда.

[0108] Пункт 4. Способ по п. 1, при этом критерии оценки включают в себя два или более из следующего: характер движения потока, распределение скорости текучей среды, поле вектора потока текучей среды, направление потока текучей среды, время смешивания до установившегося состояния, время смешивания до переходного состояния, распределение времени пребывания, скорость сдвиговой деформации контура, средняя скорость сдвиговой деформации, анализ подверженности внешнему воздействию и потребление мощности.

[0109] Пункт 5. Способ по любому одному из пп. 2 или 4, при этом идентифицированное CFD-моделирование включает в себя анализ потока в установившемся состоянии, анализ потока в переходном состоянии, анализ времени смешивания и/или анализ подверженности внешнему воздействию.

[0110] Пункт 6. Способ по п. 2, дополнительно содержащий, после формирования

области потенциальных прогнозных моделей, и перед идентификацией пула потенциально подходящих прогнозных моделей:

вычисление фактора инфляции дисперсии для каждой потенциальной прогнозной модели в области потенциальных прогнозных моделей; и

удаление потенциальных прогнозных моделей из области потенциальных прогнозных моделей, которые имеют фактор инфляции дисперсии, больший или равный пороговому значению коллинеарности, тем самым, формируя подмножество потенциальных прогнозных моделей.

[0111] Пункт 7. Способ по п. 6, при этом пул потенциально подходящих прогнозных моделей включает в себя одномерную модель из подмножества, которая имеет значение R^2 , большее по сравнению со всеми другими одномерными моделями в подмножестве, и двумерную модель из подмножества, которая имеет значение R^2 , большее по сравнению со всеми другими двумерными моделями в подмножестве.

[0112] Пункт 8. Способ по п. 2, при этом ранжирование пула потенциально подходящих прогнозных моделей включает в себя ранжирование пула потенциально подходящих прогнозных моделей на основе числа членов, ранжирование пула потенциально подходящих прогнозных моделей на основе значения R^2 , или то и другое.

[0113] Пункт 9. Способ по любому одному из пп. 1-8, при этом испытательные значения являются первыми испытательными значениями, и способ дополнительно содержит:

с помощью потенциально подходящей прогнозной модели из пула потенциально подходящих прогнозных моделей, формирование расчетного значения критериев оценки, соответствующих комбинации вторых испытательных значений.

[0114] Пункт 10. Способ по п. 9, при этом способ дополнительно содержит:

проведение CFD-моделирования для комбинации вторых испытательных значений, чтобы формировать критерий оценки, соответствующий комбинации вторых испытательных значений; и

сравнение критерия оценки, соответствующего комбинации вторых испытательных значений, с расчетным значением критерия оценки, соответствующего комбинации вторых испытательных значений.

[0115] Пункт 11. Способ разработки прогнозных моделей, способ содержит:

идентификацию первого, второго и третьего параметров протокола смешивания для прогнозных моделей;

идентификацию первого и второго критериев оценки для прогнозных моделей;

выбор первых испытательных значений для первого параметра протокола смешивания;

выбор вторых испытательных значений для второго параметра протокола смешивания;

выбор третьих испытательных значений для третьего параметра протокола смешивания;

идентификацию первого моделирования вычислительной гидрогазодинамики (CFD), которое требуется выполнять для того, чтобы формировать первый критерий оценки;

идентификацию второго CFD-моделирования, которое требуется выполнять для того, чтобы формировать второй критерий оценки;

формирование первого критерия оценки, соответствующего каждой комбинации первых испытательных значений, вторых испытательных значений и третьих испытательных значений, посредством выполнения первого CFD-моделирования для каждой комбинации первых испытательных значений, вторых испытательных значений и третьих испытательных значений;

формирование второго критерия оценки, соответствующего каждой комбинации первых испытательных значений, вторых испытательных значений и третьих испытательных значений, посредством выполнения второго CFD-моделирования для каждой комбинации первых испытательных значений, вторых испытательных значений и третьих испытательных значений;

формирование первой области первых прогнозных моделей, связывающих первый, второй и третий параметры протокола смешивания с первым критерием оценки; и

формирование второй области вторых прогнозных моделей, связывающих первый, второй и третий параметры протокола смешивания со вторым критерием оценки.

[0116] Пункт 12. Способ по п. 11, дополнительно содержащий:

вычисление фактора инфляции дисперсии для каждой первой прогнозной модели и каждой второй прогнозной модели;

удаление первых прогнозных моделей из первой области первых прогнозных моделей, которые имеют фактор инфляции дисперсии, больший или равный трем, тем самым, формируя первое подмножество первых прогнозных моделей;

удаление вторых прогнозных моделей из второй области вторых прогнозных моделей, которые имеют фактор инфляции дисперсии, больший или равный трем, тем самым, формируя второе подмножество вторых прогнозных моделей;

идентификацию первого пула потенциально подходящих прогнозных моделей, содержащих одномерную модель из первого подмножества, которая имеет значение R^2 , большее по сравнению со всеми другими одномерными моделями в первом подмножестве, двухмерную модель из первого подмножества, которая имеет значение R^2 , большее по сравнению со всеми другими двухмерными моделями в первом подмножестве, и трехмерную модель из первого подмножества, которая имеет значение R^2 , большее по сравнению со всеми другими трехмерными моделями в первом подмножестве; и

идентификацию второго пула потенциально подходящих вторых прогнозных моделей, содержащих одномерную модель из второго подмножества, которая имеет значение R^2 , большее по сравнению со всеми другими одномерными моделями во втором подмножестве, двухмерную модель из второго подмножества, которая имеет значение R^2 ,

большее по сравнению со всеми другими двухмерными моделями во втором подмножестве, и трехмерную модель из второго подмножества, которая имеет значение R^2 , большее по сравнению со всеми другими трехмерными моделями во втором подмножестве.

[0117] Пункт 13. Способ по п. 12, дополнительно содержащий:

выбор четвертых испытательных значений для первого параметра протокола смешивания;

выбор пятых испытательных значений для второго параметра протокола смешивания;

выбор sixthых испытательных значений для третьего параметра протокола смешивания;

формирование расчетного первого критерия оценки, соответствующего каждой комбинации четвертых испытательных значений, пятых испытательных значений и sixthых испытательных значений, с помощью каждой потенциально подходящей первой прогнозной модели из первого пула потенциально подходящих первых прогнозных моделей;

формирование первого критерия оценки, соответствующего каждой комбинации четвертых испытательных значений, пятых испытательных значений и sixthых испытательных значений, посредством выполнения первого CFD-моделирования для каждой комбинации четвертых испытательных значений, пятых испытательных значений и sixthых испытательных значений; и

сравнение расчетных первых критериев оценки, сформированных посредством каждой потенциально подходящей первой прогнозной модели из первого пула потенциально подходящих первых прогнозных моделей, с первыми критериями оценки, соответствующими каждой комбинации четвертых испытательных значений, пятых испытательных значений и sixthых испытательных значений.

[0118] Пункт 14. Способ по п. 13, дополнительно содержащий:

формирование расчетного второго критерия оценки, соответствующего каждой комбинации четвертых испытательных значений, пятых испытательных значений и sixthых испытательных значений, с помощью каждой потенциально подходящей второй прогнозной модели из второго пула потенциально подходящих вторых прогнозных моделей;

формирование второго критерия оценки, соответствующего каждой комбинации четвертых испытательных значений, пятых испытательных значений и sixthых испытательных значений, посредством выполнения второго CFD-моделирования для каждой комбинации четвертых испытательных значений, пятых испытательных значений и sixthых испытательных значений; и

сравнение расчетных вторых критериев оценки, сформированных посредством каждой потенциально подходящей второй прогнозной модели из второго пула потенциально подходящих вторых прогнозных моделей, со вторыми критериями оценки,

соответствующими каждой комбинации четвертых испытательных значений, пятых испытательных значений и шестых испытательных значений.

[0119] Пункт 15. Способ по п. 14, дополнительно содержащий:

выбор первой прогнозной модели из первого пула потенциально подходящих первых прогнозных моделей, на основе сравнения расчетных первых критериев оценки с первыми критериями оценки, соответствующими каждой комбинации четвертых испытательных значений, пятых испытательных значений и шестых испытательных значений;

выбор второй прогнозной модели из второго пула потенциально подходящих вторых прогнозных моделей, на основе сравнения расчетных первых критериев оценки с первыми критериями оценки, соответствующими каждой комбинации четвертых испытательных значений, пятых испытательных значений и шестых испытательных значений;

с помощью первой прогнозной модели, определение первого критерия оценки, соответствующего протоколу смешивания; и

с помощью второй прогнозной модели, определение второго критерия оценки, соответствующего протоколу смешивания.

[0120] Пункт 16. Способ по п. 9, при этом первый и второй критерии оценки выбираются из списка, содержащего: характер движения потока, распределение скорости текучей среды, поле векторов потока текучей среды, линии движения потока текучей среды, время смешивания до установившегося состояния, время смешивания до переходного состояния, распределение времени пребывания, скорость сдвиговой деформации контура, средняя скорость сдвиговой деформации, анализ подверженности внешнему воздействию и потребление мощности.

[0121] Пункт 17. Способ моделирования сдвиговой деформации, ассоциированной с протоколом смешивания, способ содержит:

идентификацию параметров протокола смешивания для прогнозной модели;

выбор испытательных значений для параметров протокола смешивания;

проведение анализа подверженности внешнему воздействию для вычислительной гидрогазодинамики для каждой комбинации испытательных значений, тем самым, формируя сдвиговую деформацию, соответствующую каждой комбинации испытательных значений;

идентификацию пула потенциально подходящих прогнозных моделей;

ранжирование пула потенциально подходящих прогнозных моделей;

выбор прогнозной модели из пула потенциально подходящих прогнозных моделей;

и

с помощью прогнозной модели, оценку совокупной сдвиговой деформации протокола смешивания во множестве интервалов времени, чтобы формировать данные гистограммы сдвиговой деформации.

[0122] Пункт 18. Способ по п. 17, при этом параметры протокола смешивания

включают в себя два или более из следующего: скорость лопастного колеса, размер партии, вязкость раствора, плотность раствора, размер смесительного сосуда и геометрия смесительного сосуда.

[0123] Пункт 19. Способ по п. 17, при этом протокол смешивания является протоколом смешивания, ассоциированным с биофармацевтическими препаратами в биореакторе.

[0124] Пункт 20. Способ по п. 17, дополнительно содержащий использование данных гистограммы сдвиговой деформации для оценки риска формирования видимых или невидимых невооруженным глазом частиц.

[0125] Пункт 21. Способ по п. 17, при этом ранжирование пула потенциально подходящих прогнозных моделей включает в себя ранжирование пула потенциально подходящих прогнозных моделей на основе числа членов, ранжирование пула потенциально подходящих прогнозных моделей на основе значения R^2 , или то и другое; и выбор прогнозной модели из пула потенциально подходящих прогнозных моделей включает в себя выбор модели с наивысшим значением R^2 .

[0126] Специалистам в области техники будет очевидно, что концепция, на которой это раскрытие основывается, может легко быть использована в качестве основы для проектирования других способов и систем для осуществления нескольких целей настоящего раскрытия. Соответственно, формула изобретения не должна рассматриваться как ограниченная предшествующим описанием.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ разработки прогнозной модели, способ содержит этапы, на которых:
 - a) идентифицируют параметры протокола смешивания для прогнозной модели;
 - b) выбирают испытательные значения для параметров протокола смешивания;
 - c) проводят моделирование вычислительной гидрогазодинамики (CFD) для каждой комбинации испытательных значений;
 - d) формируют область потенциальных прогнозных моделей, относящихся к параметрам протокола смешивания; и
 - e) ранжируют область потенциальных прогнозных моделей, относящихся к параметрам протокола смешивания.
2. Способ по п. 1, дополнительно содержащий этапы, на которых:
 - идентифицируют критерий оценки для прогнозной модели после этапа (a);
 - идентифицируют CFD-моделирование, которое требуется выполнять для того, чтобы формировать критерий оценки, после этапа (b);
 - идентифицируют пул потенциально подходящих прогнозных моделей из области потенциальных прогнозных моделей после этапа (d); и
 - ранжируют пул потенциально подходящих прогнозных моделей.
3. Способ по любому одному из пп. 1 или 2, при этом параметры протокола смешивания включают в себя два или более из следующего: скорость лопастного колеса, размер партии, вязкость раствора, плотность раствора, размер смесительного сосуда и геометрия смесительного сосуда.
4. Способ по п. 2, при этом критерий оценки включает в себя два или более из следующего: характер движения потока, распределение скорости текучей среды, поле векторов потока текучей среды, линии движения потока текучей среды, время смешивания до установившегося состояния, время смешивания до переходного состояния, распределение времени пребывания, скорость сдвиговой деформации контура, средняя скорость сдвиговой деформации, анализ подверженности внешнему воздействию и потребление мощности.
5. Способ по любому одному из пп. 2 или 4, при этом идентифицированное CFD-моделирование включает в себя анализ потока в установившемся состоянии, анализ потока в переходном состоянии, анализ времени смешивания и/или анализ подверженности внешнему воздействию.
6. Способ по п. 2, дополнительно содержащий, после формирования области потенциальных прогнозных моделей, и перед идентификацией пула потенциально подходящих прогнозных моделей, этапы, на которых:
 - вычисляют фактор инфляции дисперсии для каждой потенциальной прогнозной модели в области потенциальных прогнозных моделей; и
 - удаляют потенциальные прогнозные модели из области потенциальных прогнозных моделей, которые имеют фактор инфляции дисперсии, больший или равный пороговому значению коллинеарности, тем самым, формируя подмножество

потенциальных прогнозных моделей.

7. Способ по п. 6, при этом пул потенциально подходящих прогнозных моделей включает в себя одномерную модель из подмножества, которая имеет значение R^2 , большее по сравнению со всеми другими одномерными моделями в подмножестве, и двумерную модель из подмножества, которая имеет значение R^2 , большее по сравнению со всеми другими двумерными моделями в подмножестве.

8. Способ по п. 2, при этом ранжирование пула потенциально подходящих прогнозных моделей включает в себя этапы, на которых ранжируют пул потенциально подходящих прогнозных моделей на основе числа членов, ранжируют пул потенциально подходящих прогнозных моделей на основе значения R^2 , или то и другое.

9. Способ по любому одному из пп. 1-8, при этом испытательные значения являются первыми испытательными значениями, и способ дополнительно содержит этап, на котором:

с помощью потенциально подходящей прогнозной модели из пула потенциально подходящих прогнозных моделей, формируют расчетное значение критериев оценки, соответствующих комбинации вторых испытательных значений.

10. Способ по п. 9, при этом способ дополнительно содержит этапы, на которых: проводят CFD-моделирование для комбинации вторых испытательных значений, чтобы формировать критерий оценки, соответствующий комбинации вторых испытательных значений; и

сравнивают критерий оценки, соответствующий комбинации вторых испытательных значений, с расчетным значением критерия оценки, соответствующего комбинации вторых испытательных значений.

11. Способ разработки прогнозных моделей, причем способ содержит этапы, на которых:

идентифицируют первый, второй и третий параметры протокола смешивания для прогнозных моделей;

идентифицируют первый и второй критерии оценки для прогнозных моделей;

выбирают первые испытательные значения для первого параметра протокола смешивания;

выбирают вторые испытательные значения для второго параметра протокола смешивания;

выбирают третьи испытательные значения для третьего параметра протокола смешивания;

идентифицируют первое моделирование вычислительной гидрогазодинамики (CFD), которое требуется выполнять для того, чтобы формировать первый критерий оценки;

идентифицируют второе CFD-моделирование, которое требуется выполнять для того, чтобы формировать второй критерий оценки;

формируют первый критерий оценки, соответствующий каждой комбинации

первых испытательных значений, вторых испытательных значений и третьих испытательных значений, посредством выполнения первого CFD-моделирования для каждой комбинации первых испытательных значений, вторых испытательных значений и третьих испытательных значений;

формируют второй критерий оценки, соответствующий каждой комбинации первых испытательных значений, вторых испытательных значений и третьих испытательных значений, посредством выполнения второго CFD-моделирования для каждой комбинации первых испытательных значений, вторых испытательных значений и третьих испытательных значений;

формируют первую область первых прогнозных моделей, связывающих первый, второй и третий параметры протокола смешивания с первым критерием оценки; и

формируют вторую область вторых прогнозных моделей, связывающих первый, второй и третий параметры протокола смешивания со вторым критерием оценки.

12. Способ по п. 11, дополнительно содержащий этапы, на которых:

вычисляют фактор инфляции дисперсии для каждой первой прогнозной модели и каждой второй прогнозной модели;

удаляют первые прогнозные модели из первой области первых прогнозных моделей, которые имеют фактор инфляции дисперсии, больший или равный трем, тем самым, формируя первое подмножество первых прогнозных моделей;

удаляют вторые прогнозные модели из второй области вторых прогнозных моделей, которые имеют фактор инфляции дисперсии, больший или равный трем, тем самым, формируя второе подмножество первых прогнозных моделей;

идентифицируют первый пул потенциально подходящих прогнозных моделей, содержащих одномерную модель из первого подмножества, которая имеет значение R^2 , большее по сравнению со всеми другими одномерными моделями в первом подмножестве, двухмерную модель из первого подмножества, которая имеет значение R^2 , большее по сравнению со всеми другими двухмерными моделями в первом подмножестве, и трехмерную модель из первого подмножества, которая имеет значение R^2 , большее по сравнению со всеми другими трехмерными моделями в первом подмножестве; и

идентифицируют второй пул потенциально подходящих вторых прогнозных моделей, содержащих одномерную модель из второго подмножества, которая имеет значение R^2 , большее по сравнению со всеми другими одномерными моделями во втором подмножестве, двухмерную модель из второго подмножества, которая имеет значение R^2 , большее по сравнению со всеми другими двухмерными моделями во втором подмножестве, и трехмерную модель из второго подмножества, которая имеет значение R^2 , большее по сравнению со всеми другими трехмерными моделями во втором подмножестве.

13. Способ по п. 12, дополнительно содержащий этапы, на которых:

выбирают четвертые испытательные значения для первого параметра протокола

смешивания;

выбирают пятые испытательные значения для второго параметра протокола смешивания;

выбирают шестые испытательные значения для третьего параметра протокола смешивания;

формируют расчетный первый критерий оценки, соответствующий каждой комбинации четвертых испытательных значений, пятых испытательных значений и шестых испытательных значений, с помощью каждой потенциально подходящей первой прогнозной модели из первого пула потенциально подходящих первых прогнозных моделей;

формируют первый критерий оценки, соответствующий каждой комбинации четвертых испытательных значений, пятых испытательных значений и шестых испытательных значений, посредством выполнения первого CFD-моделирования для каждой комбинации четвертых испытательных значений, пятых испытательных значений и шестых испытательных значений; и

сравнивают расчетные первые критерии оценки, сформированные посредством каждой потенциально подходящей первой прогнозной модели из первого пула потенциально подходящих первых прогнозных моделей, с первыми критериями оценки, соответствующими каждой комбинации четвертых испытательных значений, пятых испытательных значений и шестых испытательных значений.

14. Способ по п. 13, дополнительно содержащий этапы, на которых:

формируют расчетный второй критерий оценки, соответствующий каждой комбинации четвертых испытательных значений, пятых испытательных значений и шестых испытательных значений, с помощью каждой потенциально подходящей второй прогнозной модели из второго пула потенциально подходящих вторых прогнозных моделей;

формируют второй критерий оценки, соответствующий каждой комбинации четвертых испытательных значений, пятых испытательных значений и шестых испытательных значений, посредством выполнения второго CFD-моделирования для каждой комбинации четвертых испытательных значений, пятых испытательных значений и шестых испытательных значений; и

сравнивают расчетные вторые критерии оценки, сформированные посредством каждой потенциально подходящей второй прогнозной модели из второго пула потенциально подходящих вторых прогнозных моделей, со вторыми критериями оценки, соответствующими каждой комбинации четвертых испытательных значений, пятых испытательных значений и шестых испытательных значений.

15. Способ по п. 14, дополнительно содержащий этапы, на которых:

выбирают первую прогнозную модель из первого пула потенциально подходящих первых прогнозных моделей, на основе сравнения расчетных первых критериев оценки с первыми критериями оценки, соответствующими каждой комбинации четвертых

испытательных значений, пятых испытательных значений и шестых испытательных значений;

выбирают вторую прогнозную модель из второго пула потенциально подходящих вторых прогнозных моделей, на основе сравнения расчетных первых критериев оценки с первыми критериями оценки, соответствующими каждой комбинации четвертых испытательных значений, пятых испытательных значений и шестых испытательных значений;

с помощью первой прогнозной модели определяют первый критерий оценки, соответствующий протоколу смешивания; и

с помощью второй прогнозной модели определяют второй критерий оценки, соответствующий протоколу смешивания.

16. Способ по п. 11, при этом первый и второй критерии оценки выбираются из списка, содержащего: характер движения потока, распределение скорости текучей среды, поле векторов потока текучей среды, линии движения потока текучей среды, время смешивания до установившегося состояния, время смешивания до переходного состояния, распределение времени пребывания, скорость сдвиговой деформации контура, средняя скорость сдвиговой деформации, анализ подверженности внешнему воздействию и потребление мощности.

17. Способ моделирования сдвиговой деформации, ассоциированной с протоколом смешивания, способ содержит этапы, на которых:

идентифицируют параметры протокола смешивания для прогнозной модели;

выбирают испытательные значения для параметров протокола смешивания;

проводят анализ подверженности внешнему воздействию для вычислительной гидродинамики для каждой комбинации испытательных значений, тем самым, формируя сдвиговую деформацию, соответствующую каждой комбинации испытательных значений;

идентифицируют пул потенциально подходящих прогнозных моделей;

ранжируют пул потенциально подходящих прогнозных моделей;

выбирают прогнозную модель из пула потенциально подходящих прогнозных моделей; и

с помощью прогнозной модели, оценивают совокупную сдвиговую деформацию протокола смешивания во множестве интервалов времени, чтобы формировать данные гистограммы сдвиговой деформации.

18. Способ по п. 17, при этом параметры протокола смешивания включают в себя два или более из следующего: скорость лопастного колеса, размер партии, вязкость раствора, плотность раствора, размер смесительного сосуда и геометрия смесительного сосуда.

19. Способ по п. 17, при этом протокол смешивания является протоколом смешивания, ассоциированным с биофармацевтическими препаратами в биореакторе.

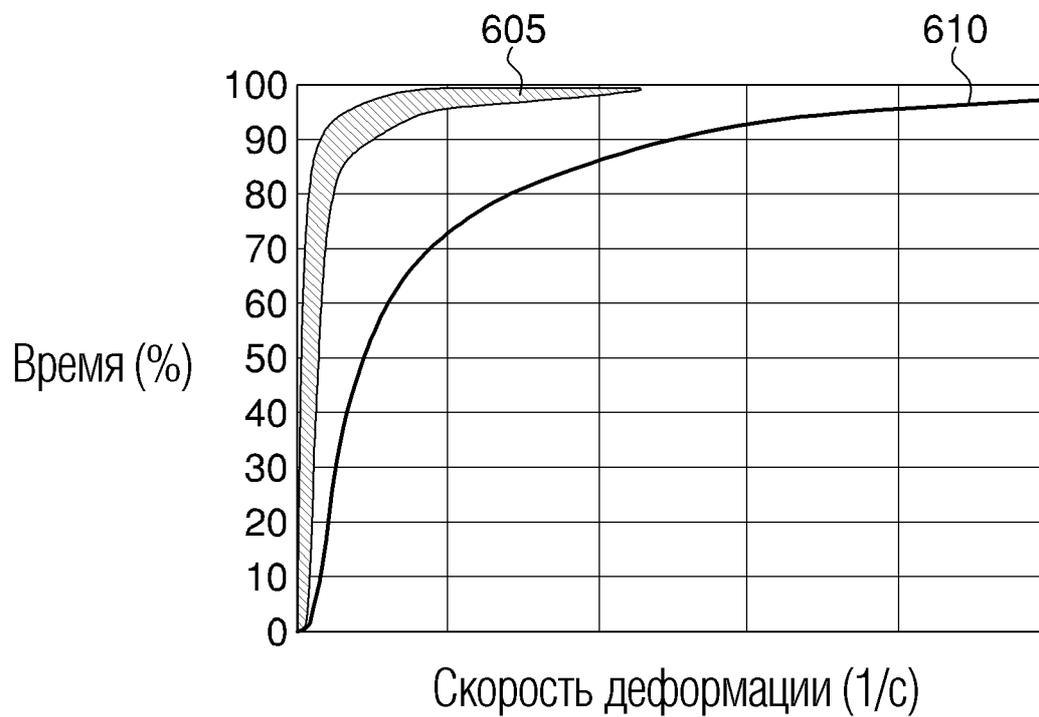
20. Способ по п. 17, дополнительно содержащий этап, на котором используют

данные гистограммы сдвиговой деформации для оценки риска формирования видимых или невидимых невооруженным глазом частиц.

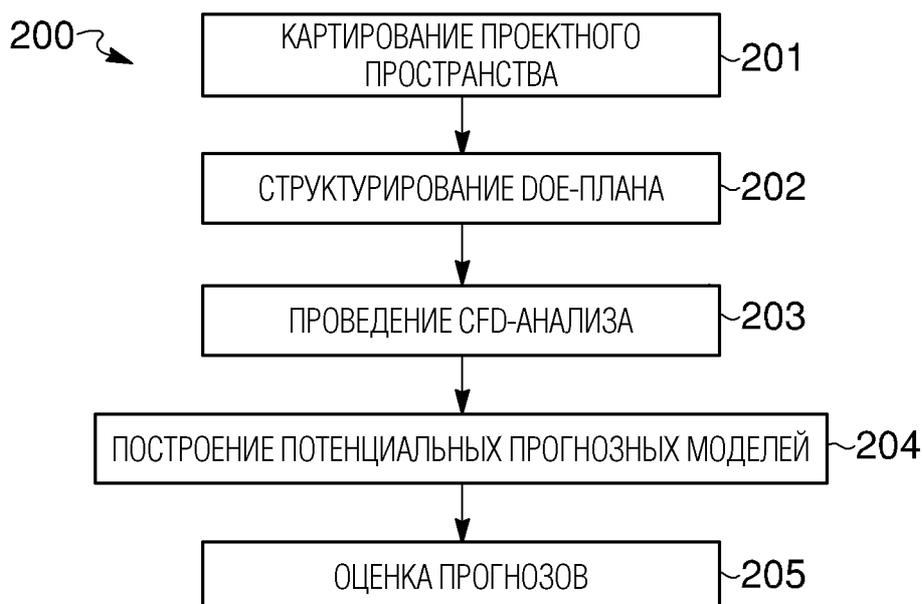
21. Способ по п. 17, при этом ранжирование пула потенциально подходящих прогнозных моделей включает в себя этапы, на которых ранжируют пул потенциально подходящих прогнозных моделей на основе числа членов, ранжируют пул потенциально подходящих прогнозных моделей на основе значения R^2 , или то и другое; и

выбор прогнозной модели из пула потенциально подходящих прогнозных моделей включает в себя выбор модели с наивысшим значением R^2 .

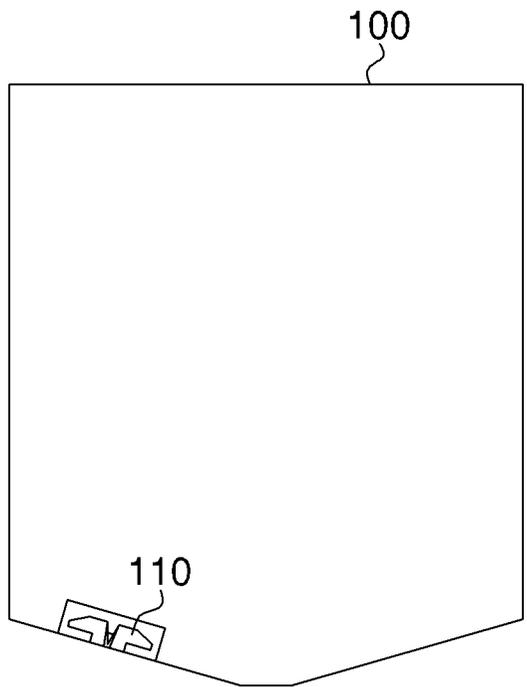
1/12



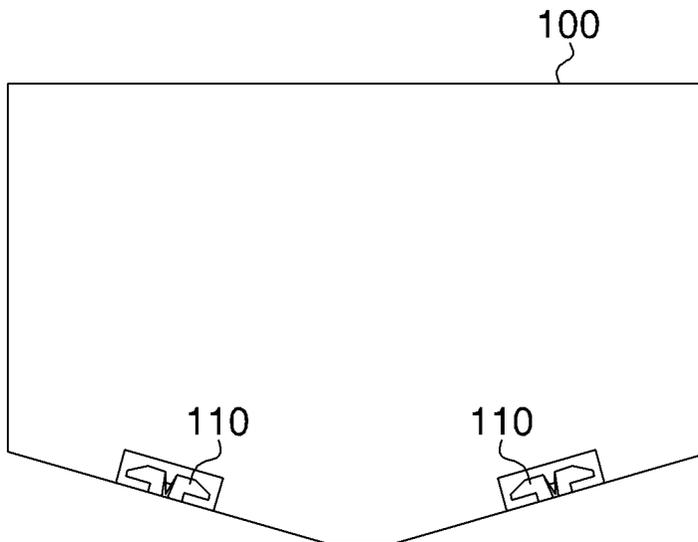
ФИГ. 1



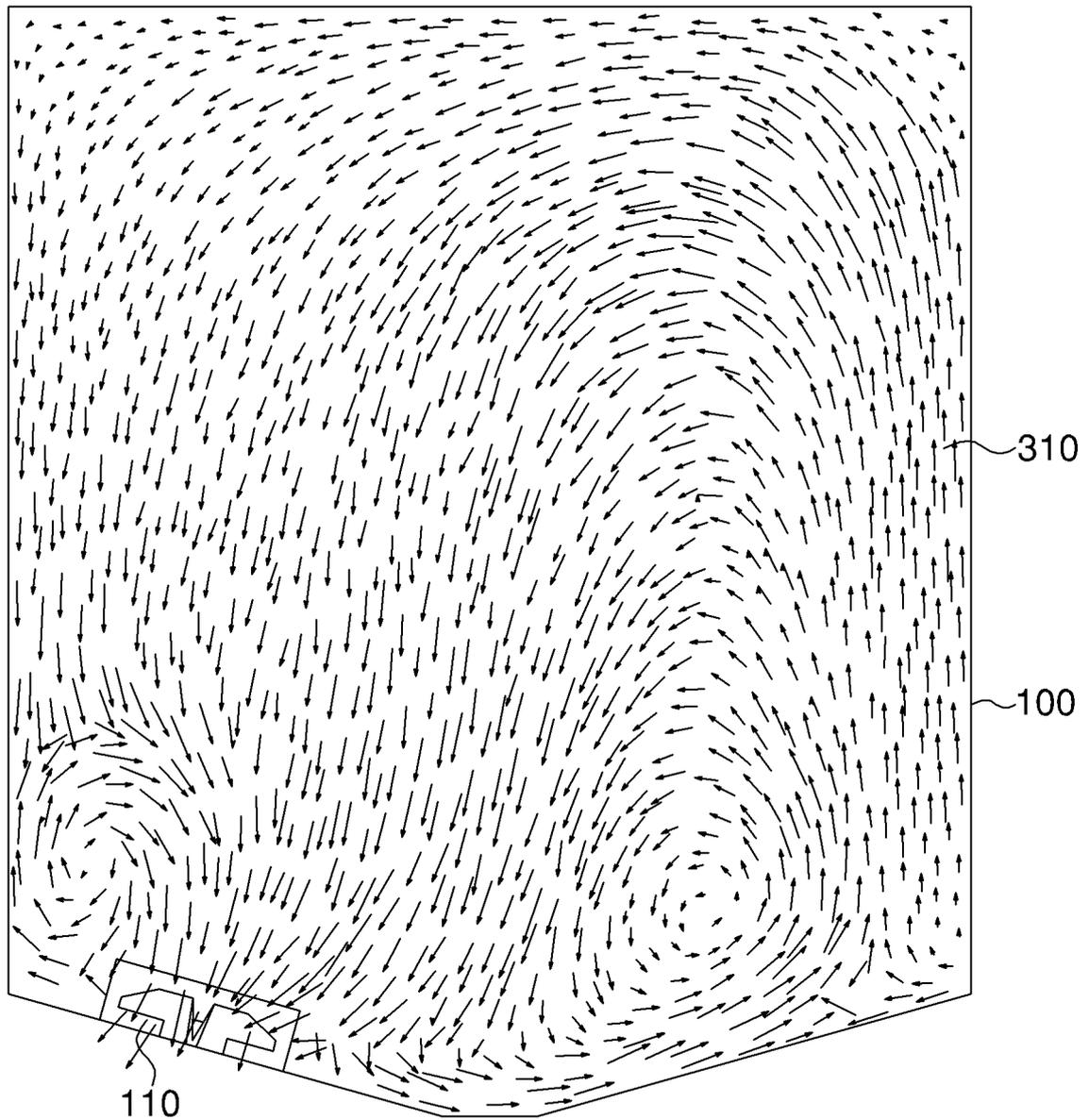
ФИГ. 2



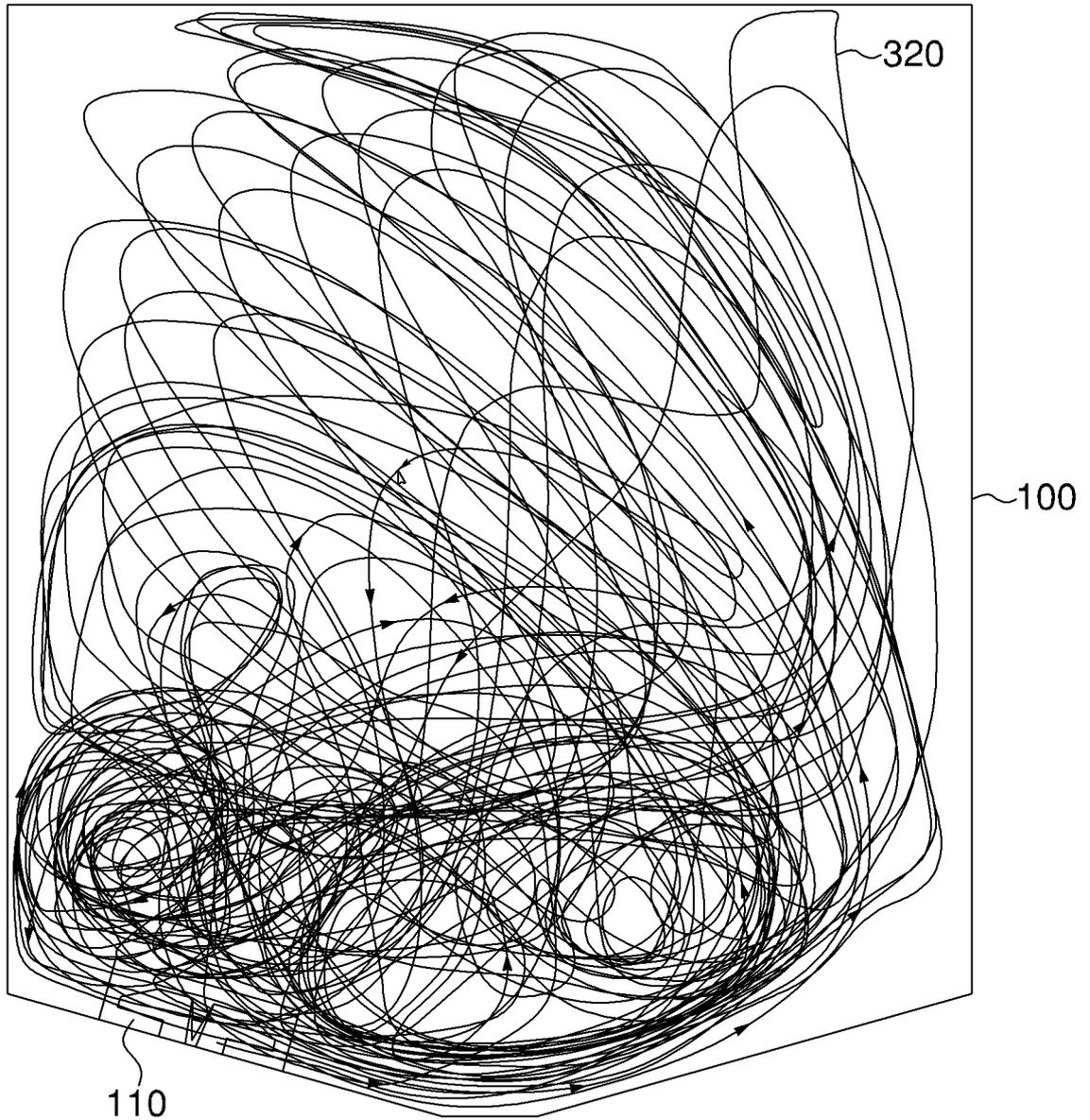
ФИГ. 3А



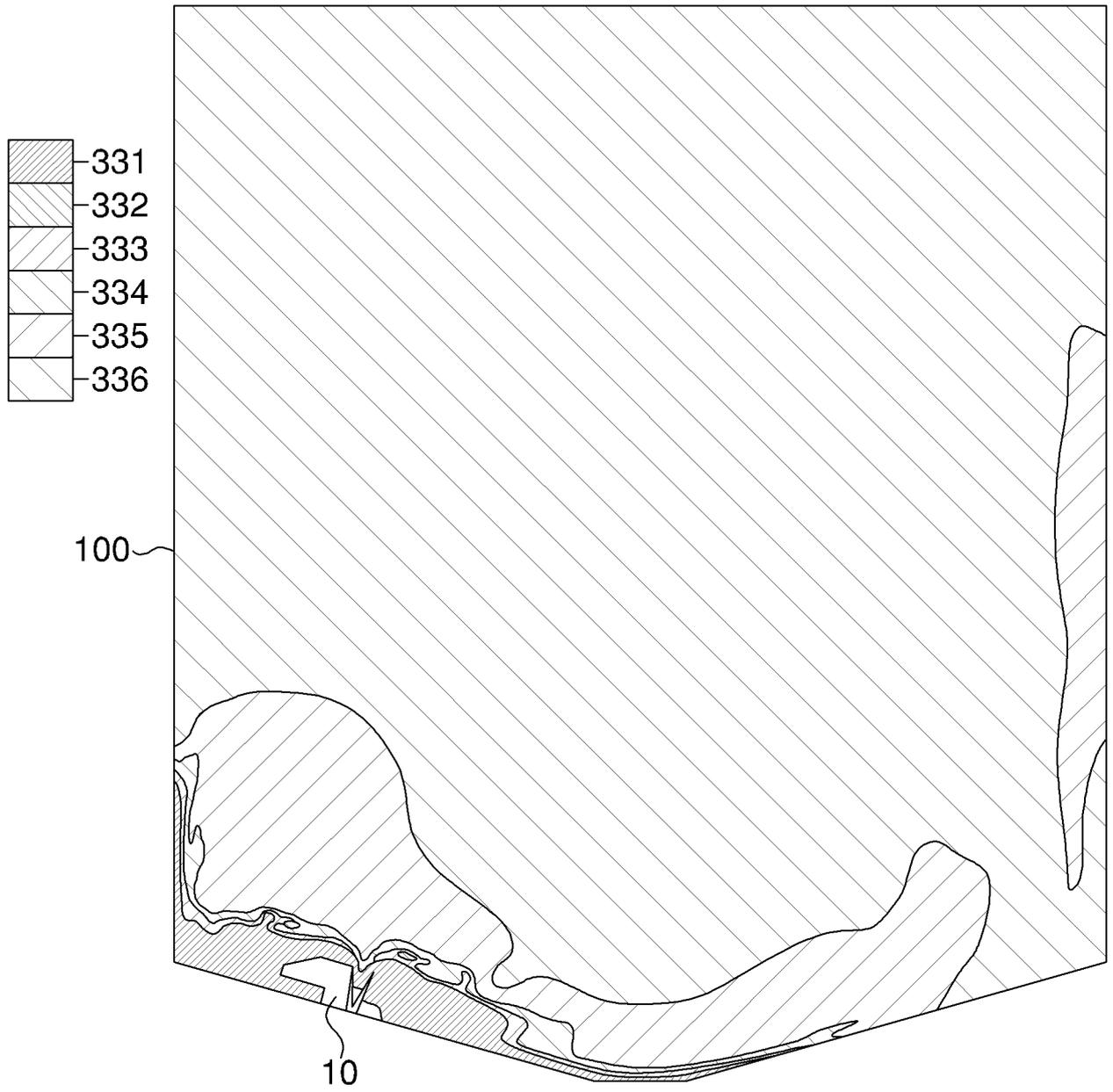
ФИГ. 3В



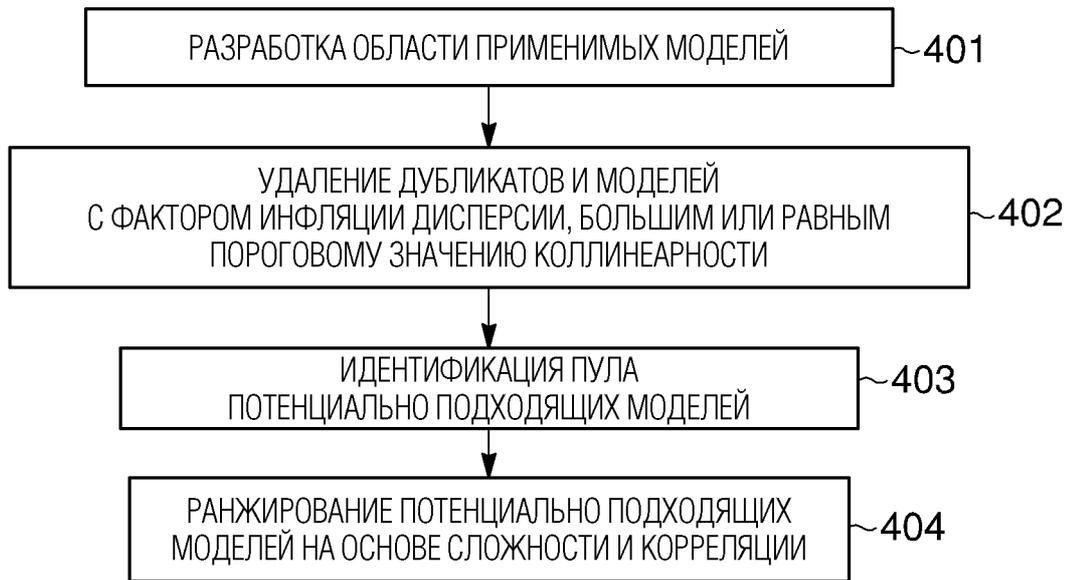
ФИГ. 4А



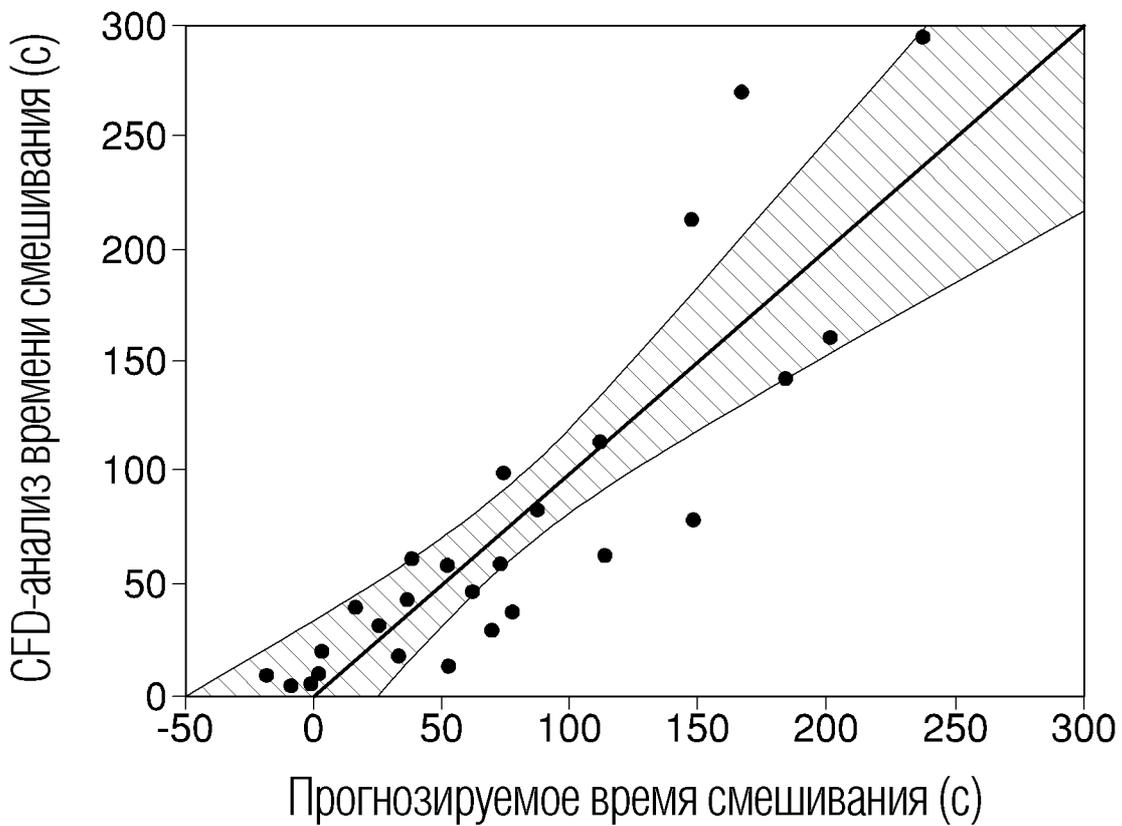
ФИГ. 4В



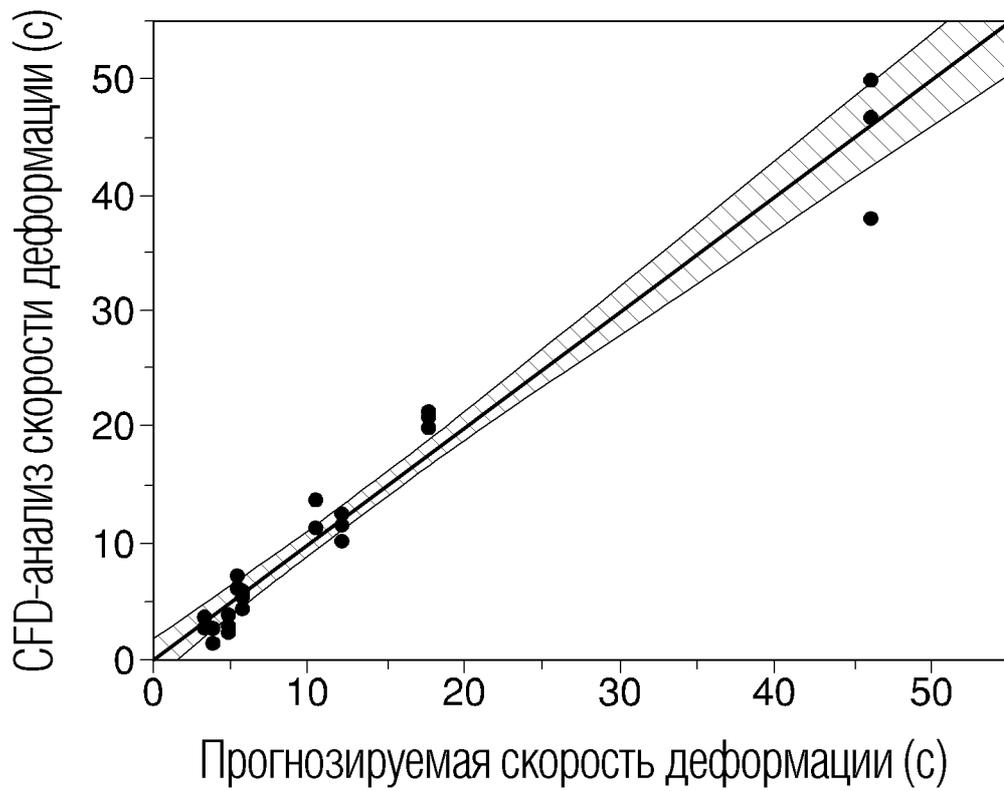
ФИГ. 4С



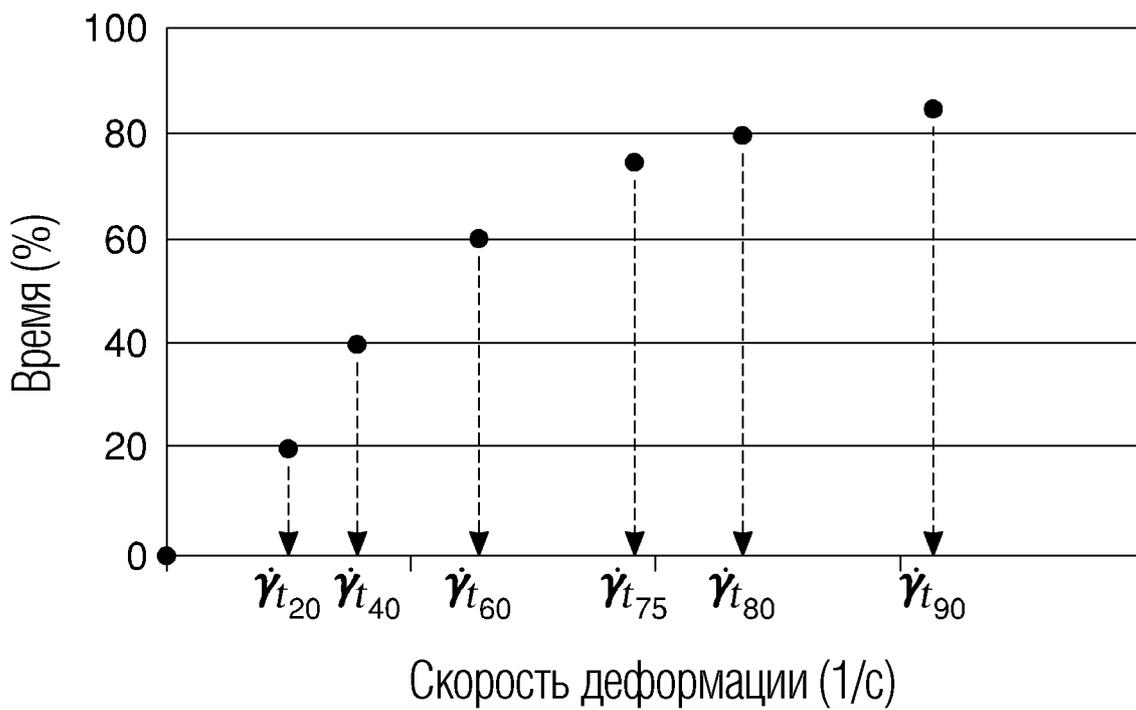
ФИГ. 5



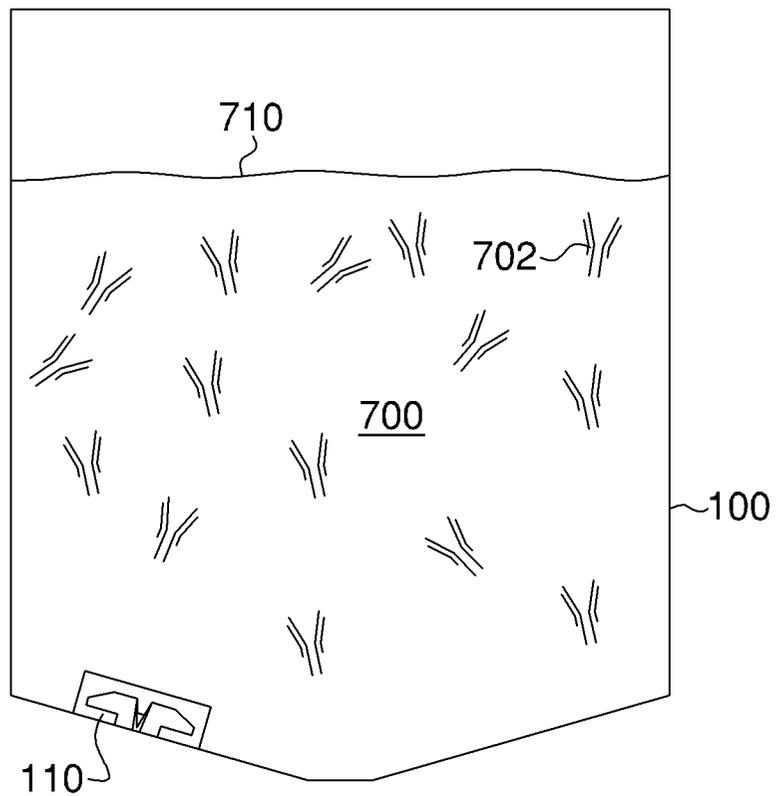
ФИГ. 6



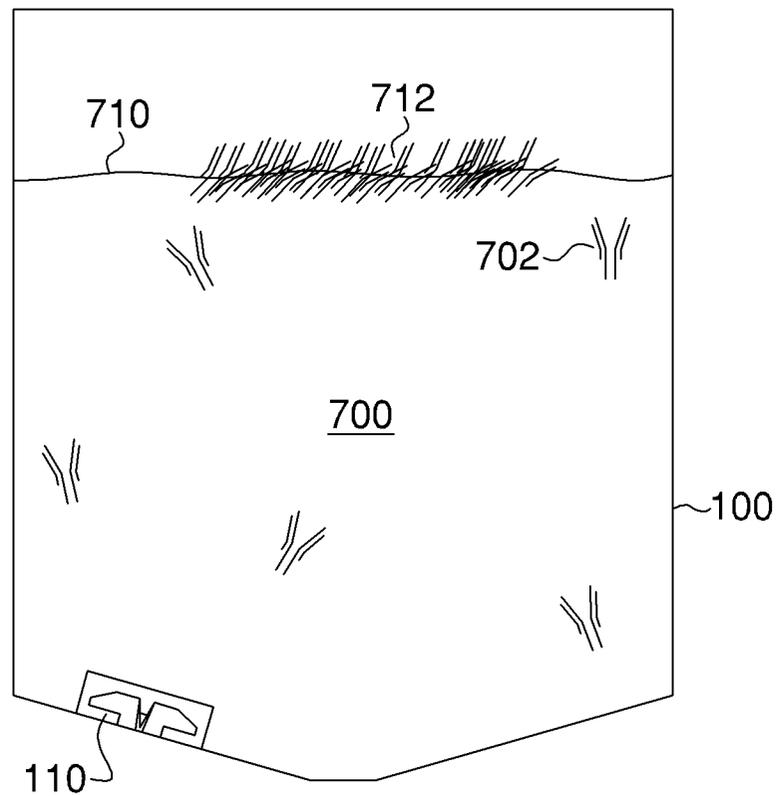
ФИГ. 7



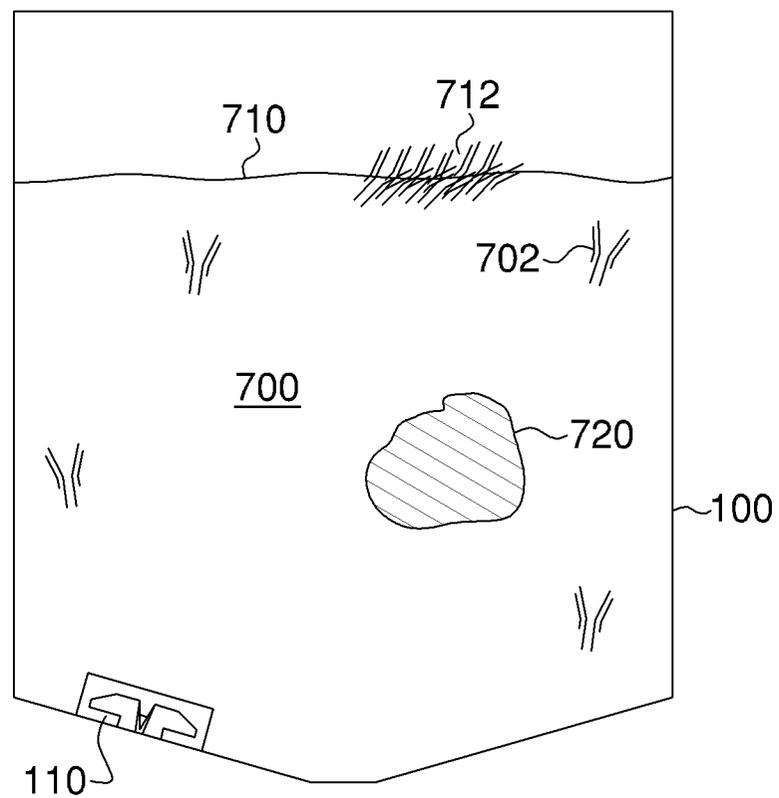
ФИГ. 8



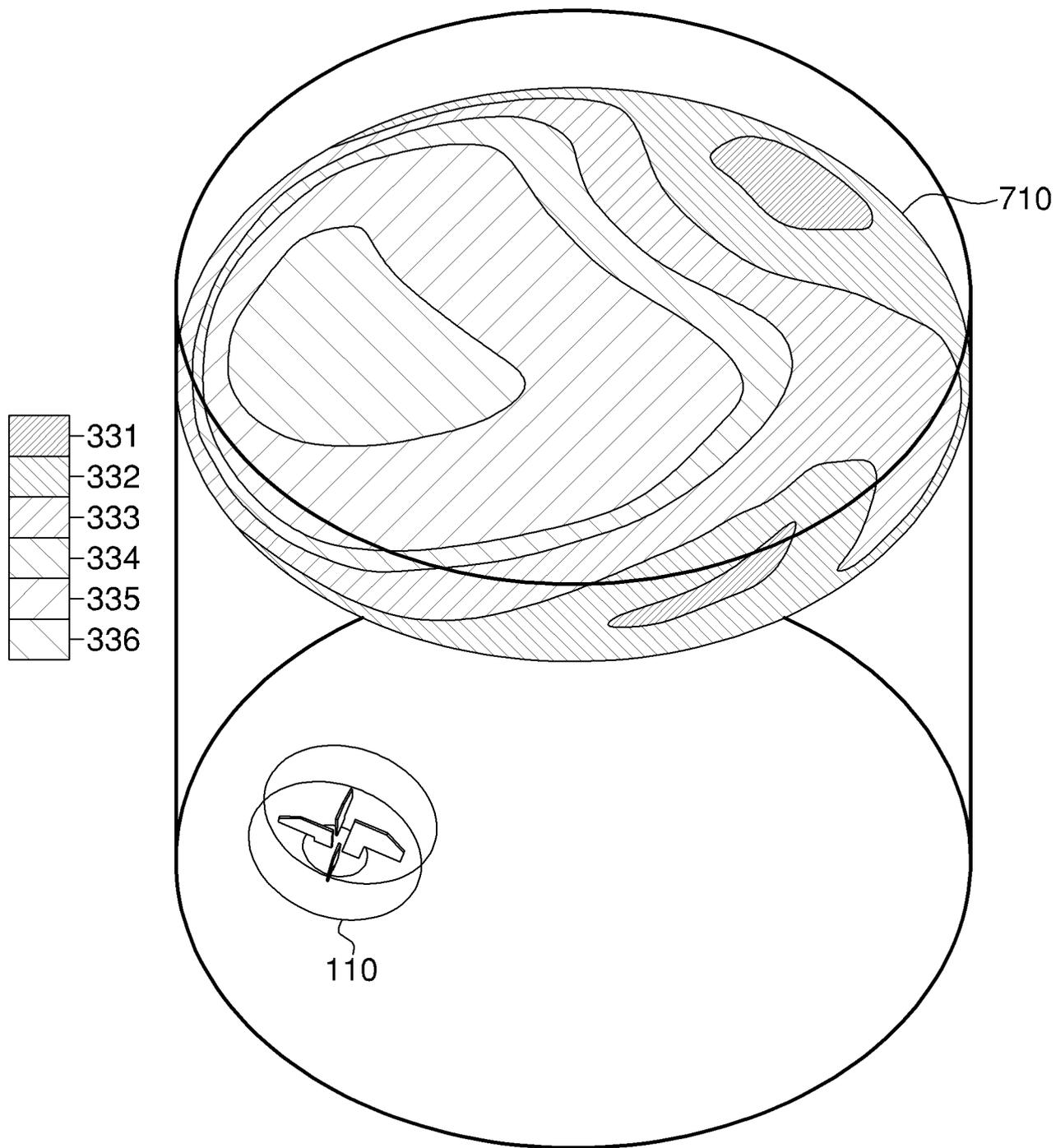
ФИГ. 9А



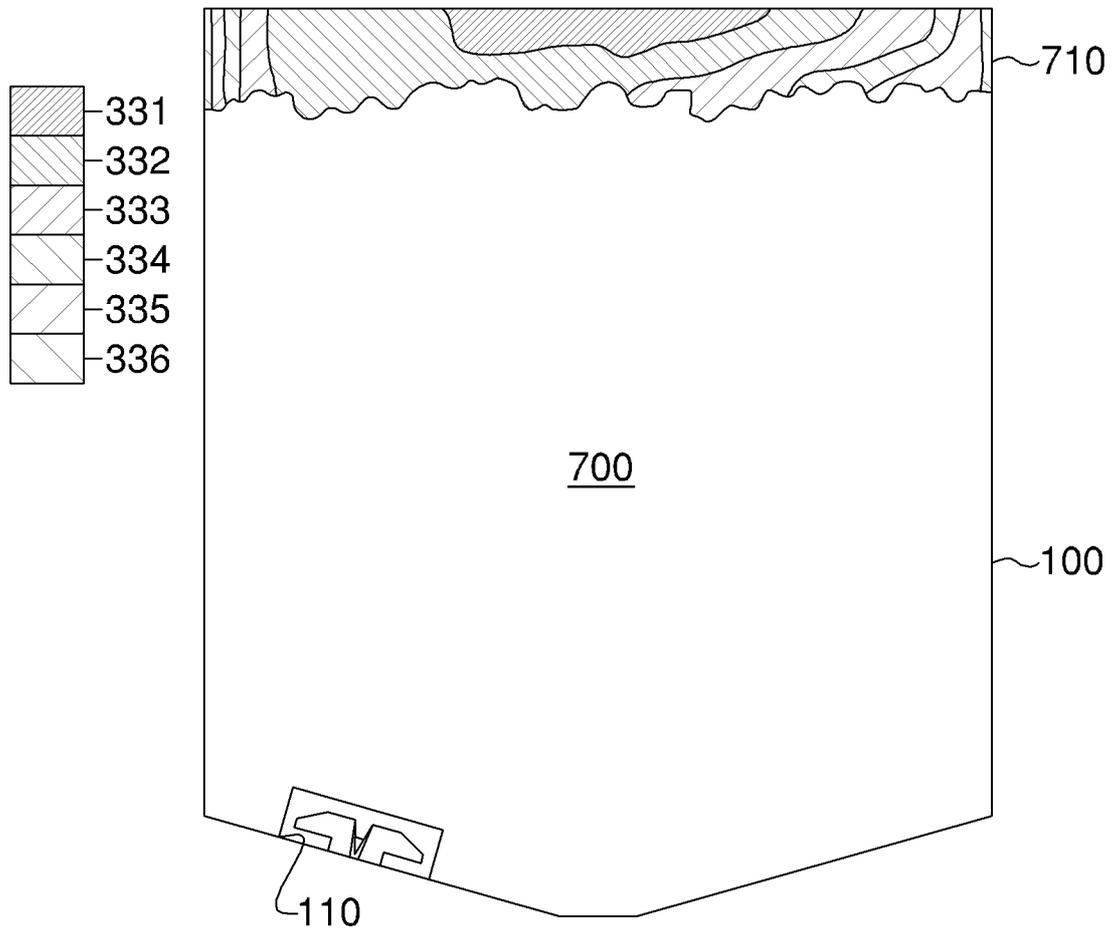
ФИГ. 9В



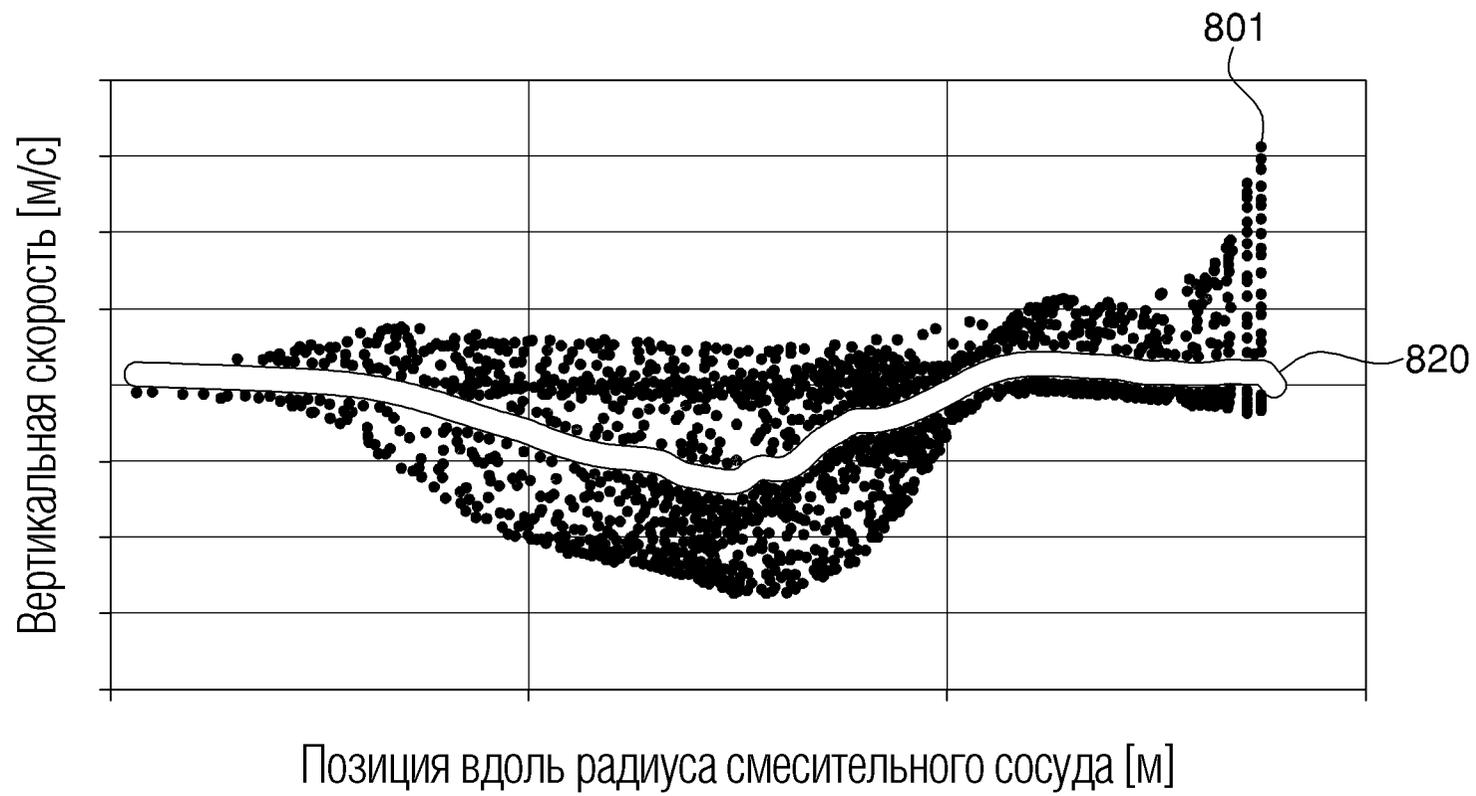
ФИГ. 9С



ФИГ. 10А



ФИГ. 10В



ФИГ. 11