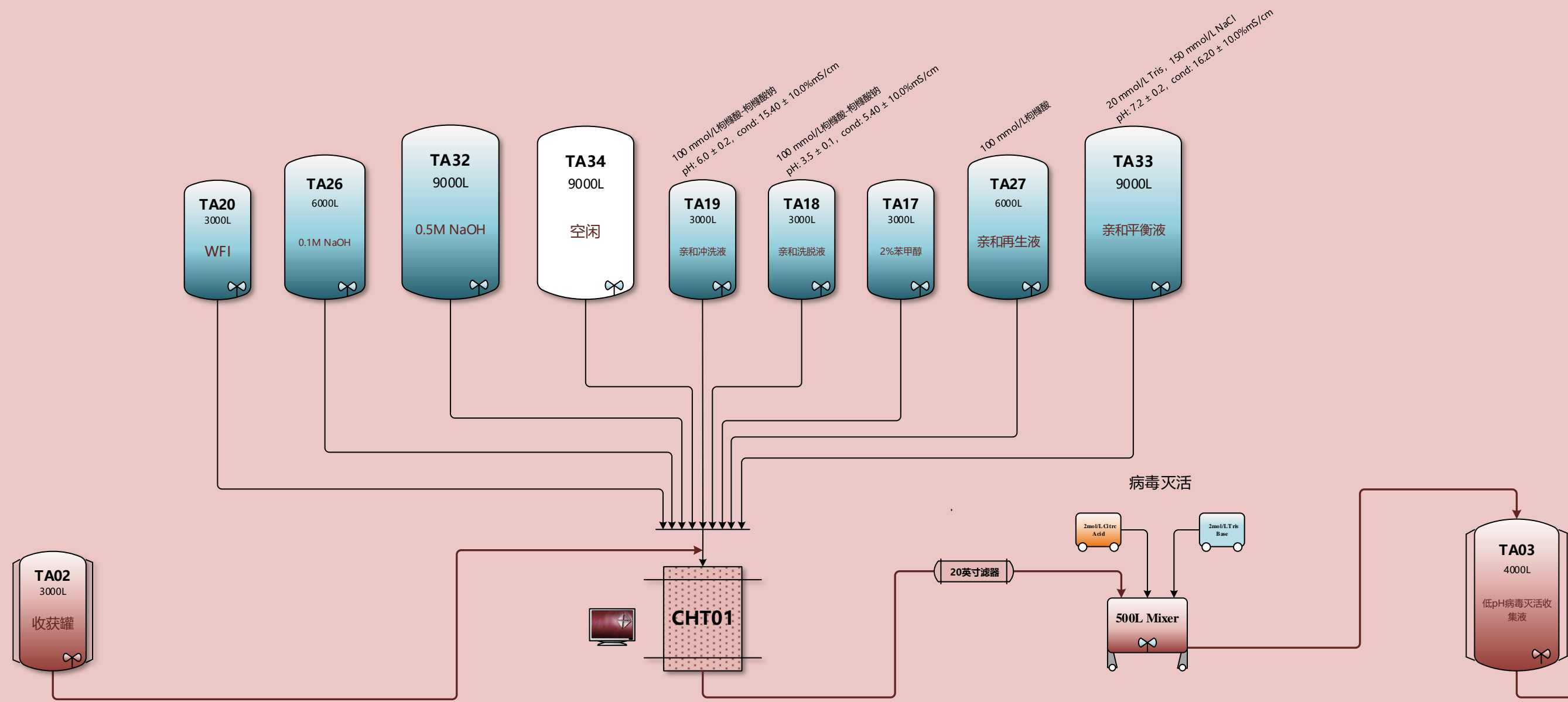


亲和层析/低pH病毒灭活



AC流程:

填料: Mabselect SuRe

柱高: 23~27cm 柱直径: 800mm

载量: ≤40 g/L Cycle数: 3个

工艺流程: CIP≥3CV & ≥30min, 平衡≥5CV, 上样, 平衡≥3CV, 冲洗≥5CV, 洗脱, 0.2μm过滤器过滤收集, 再生≥3CV, 平衡≥5CV, CIP≥3CV & ≥30min, 完成所有Cycle后平衡≥5CV, 保存溶液≥3CV

流速: 200(100~300)cm/h(平衡、再生、保存、CIP), 150(100~300)cm/h(上样、洗脱)

洗脱UV: UV280≥200 (175~225) mAU/mm时开始收集, UV280≤200 (175~225) mAU/mm时结束收集

收集液: 18~26℃保存≤4h, 每个Cycle收集在混合器中进行VI

VI流程:

Cycle数: 3个

前处理: 先确认蛋白浓度≤27g/L, 否则用亲和和洗脱液稀释至≤27 g/L, 确认样品温度在18.0~26.0℃

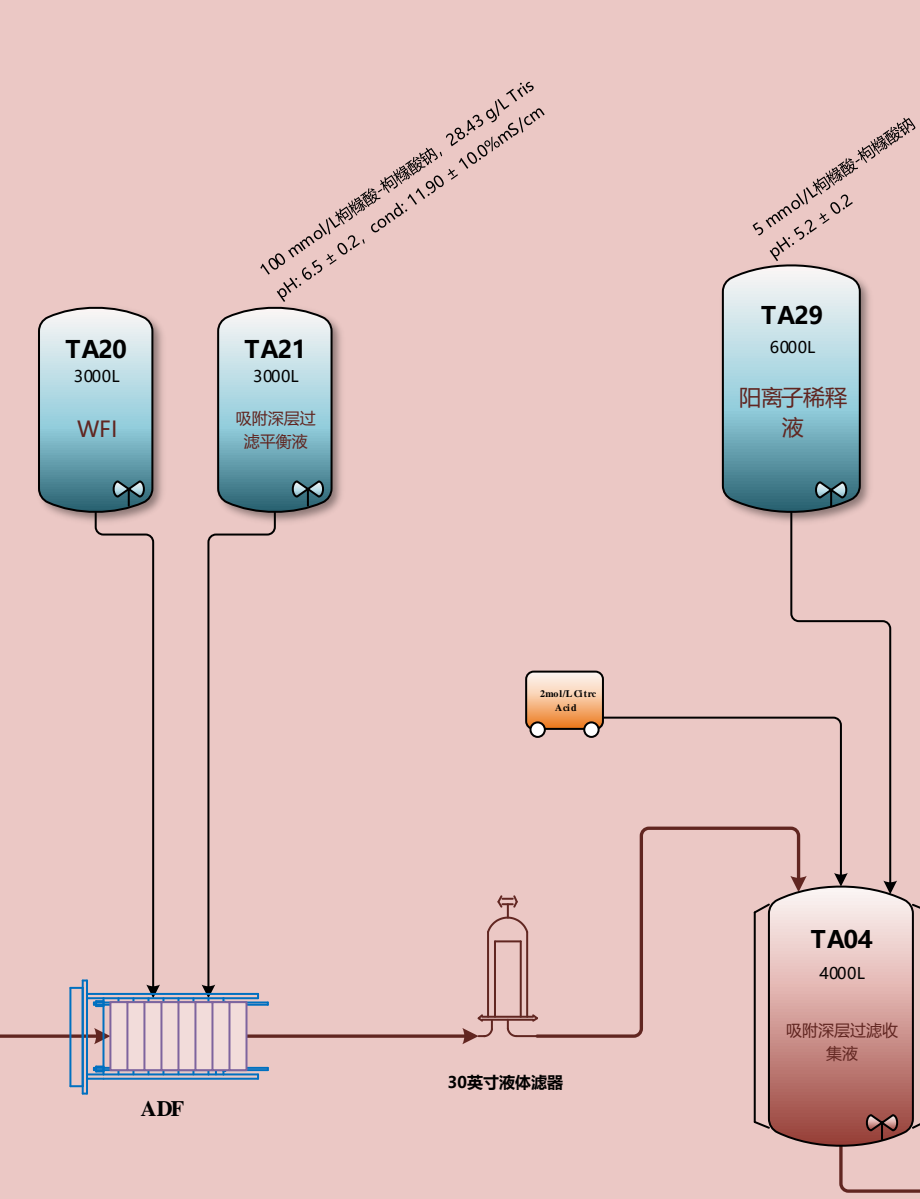
pH下调: 2 M Citric Acid调节pH至3.6(3.4~3.7),

孵育: 18.0~26.0℃静置60(30~90)min

pH回调: 2 M Tris Base调节pH至6.5 ± 0.1

收集液: 2~8℃保存≤72h

吸附深层过滤



ADF流程:

膜包: Millipore X0HC 规格: 1.1m²/块

载量: ≤5012.7g/m² 死体积: 10L/块

上样温度: 18~26℃ Cycle数: 1个

工艺流程: 串联压力表、深层过滤膜包、0.2 μm过滤器,

WFI冲洗膜包: 55~400 LMH 冲洗体积≥150 L/m²

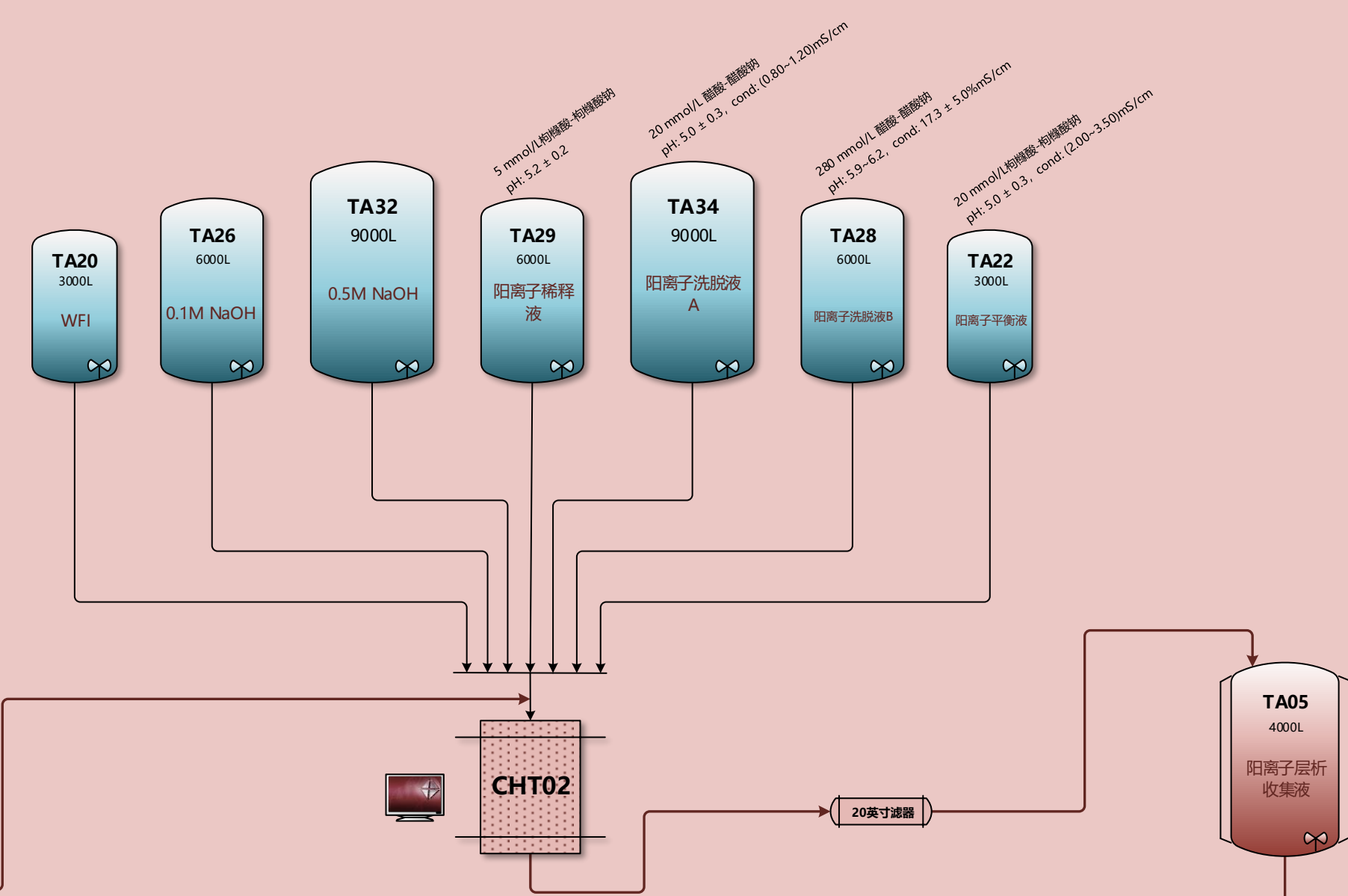
平衡液冲洗膜包: 55~400 LMH冲洗2~3倍膜包死体积

样品过滤: 200(100~300) LMH过滤

顶洗: 平衡液顶洗2~3倍死体积

收集液: 8~26℃保存≤72h

阳离子层析



CEX流程:

填料: Fractogel EMD SO₃⁻ M

柱高: 18~22cm 柱直径: 800mm

载量: 22~32 g/L Cycle数: 4个

前处理: 使用阳离子稀释液稀释5倍, 2 M Citric Acid调节pH5.0 ± 0.1, cond≤6.00mS/cm, 上样液18~26℃保存≤96h, 2~8℃保存≤144h

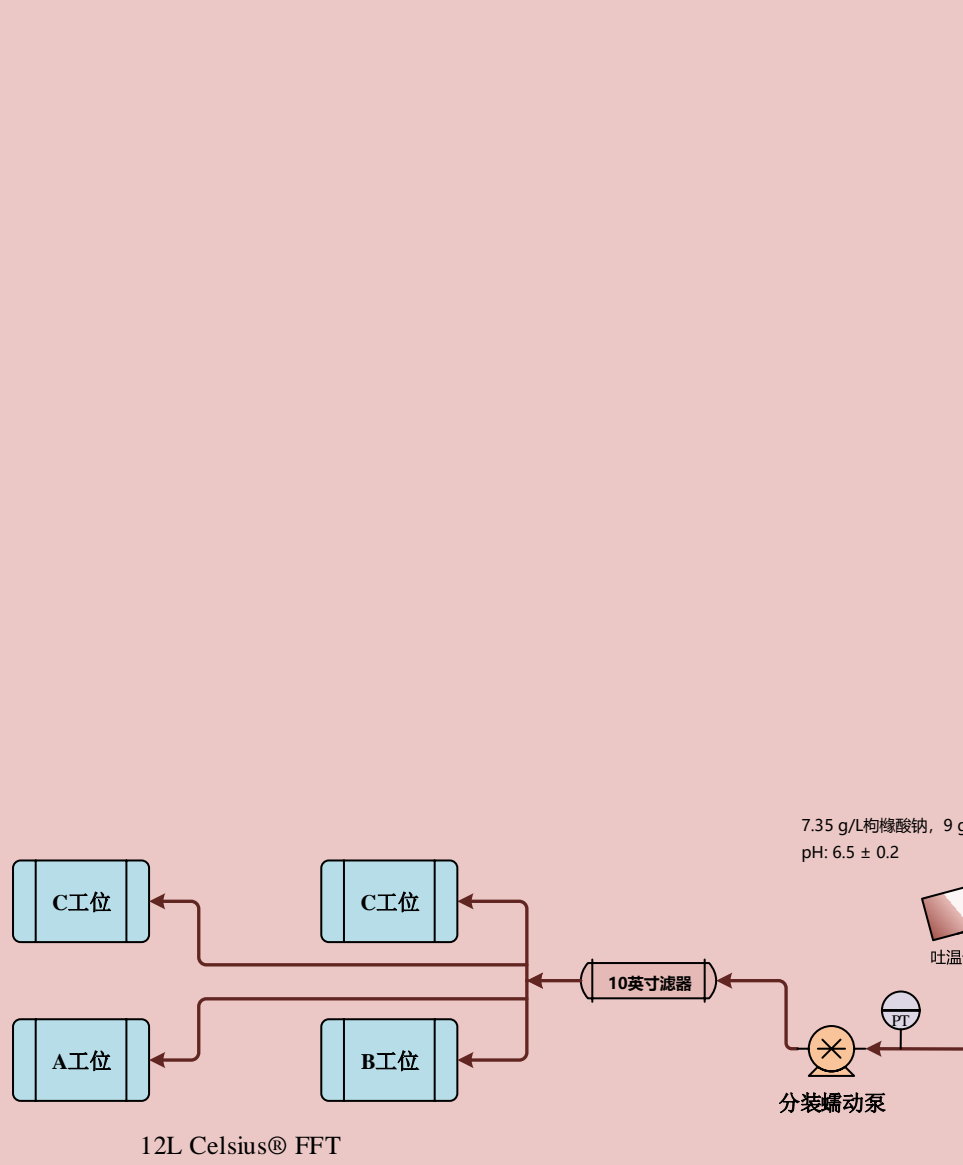
工艺流程: CIP≥3CV & ≥30min, 平衡≥4CV, 上样, 洗脱液A冲洗≥5CV, 洗脱 (35%~70%B, 20CV梯度洗脱), 冲洗 (70%洗脱液B) ≥6.5CV, CIP≥3CV & ≥30min, 完成所有Cycle后平衡≥4CV, 保存溶液≥3CV

流速: 150(100~200)cm/h(上样/冲洗/洗脱/保存), 200(100~300)cm/h(平衡)

洗脱UV: UV280≥475mAU/mm时开始收集, UV280≤350mAU/mm&斜率≥-1mAU/mm/min时结束收集

收集液: 8~26℃保存≤72h

原液分装



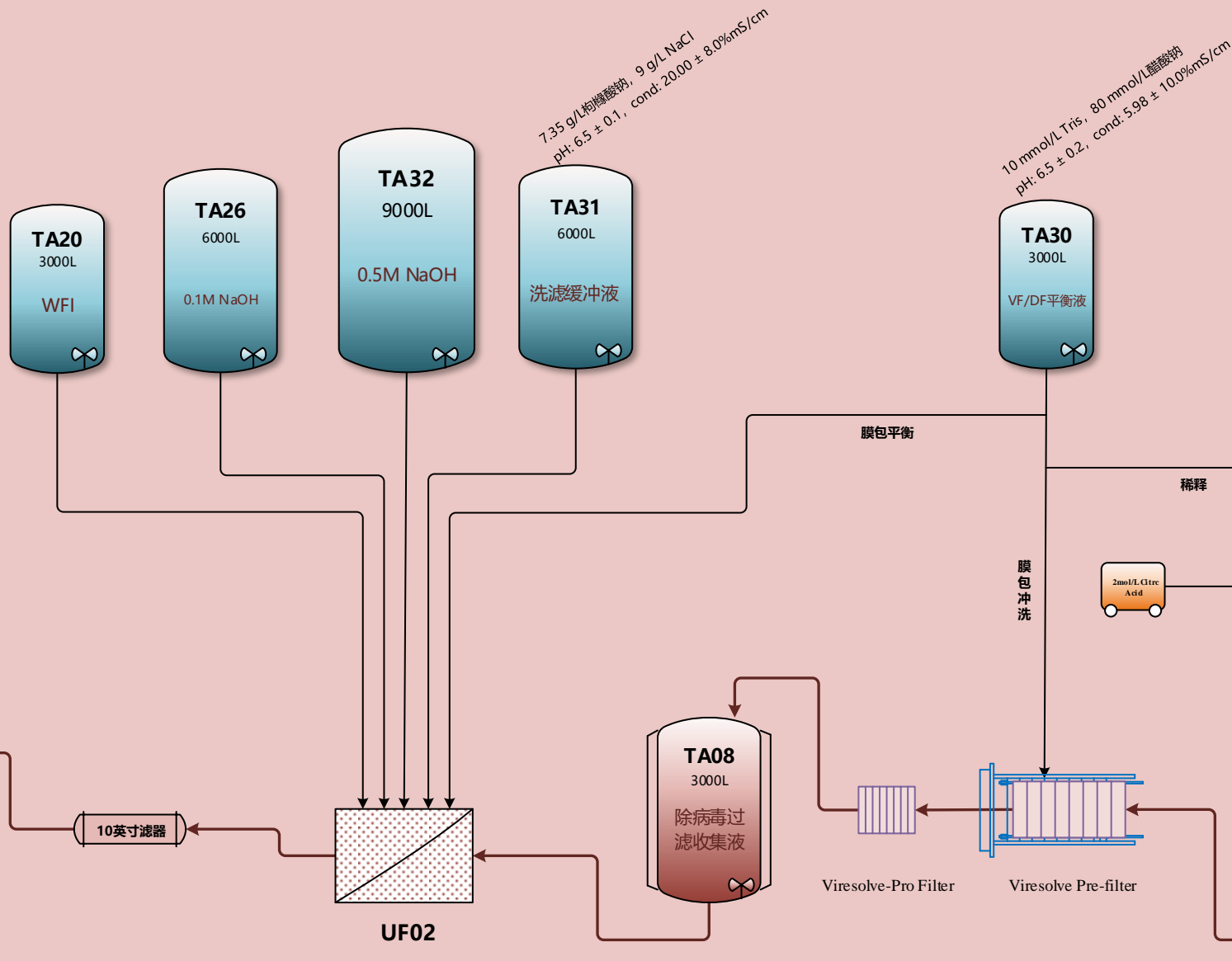
原液分装:

工艺流程: QC检测UF02蛋白含量结果合格后, 按1:49的重量比加入吐温-80母液, 搅拌30min以上混匀, 经0.2 μm过滤器过滤, 分装于12LCelsius FFT冻融容器中, 命名为原液。

原液: 2~8℃, 不超过14天; -70℃±10℃, 复验期暂定36个月

返工: 可返工

超滤换液



DF流程:

膜包: Pellicon 2 (PES)

膜面积: 2.5m²/块

膜孔径: 30kD

载量: ≤500g/m²

Cycle数: 1个

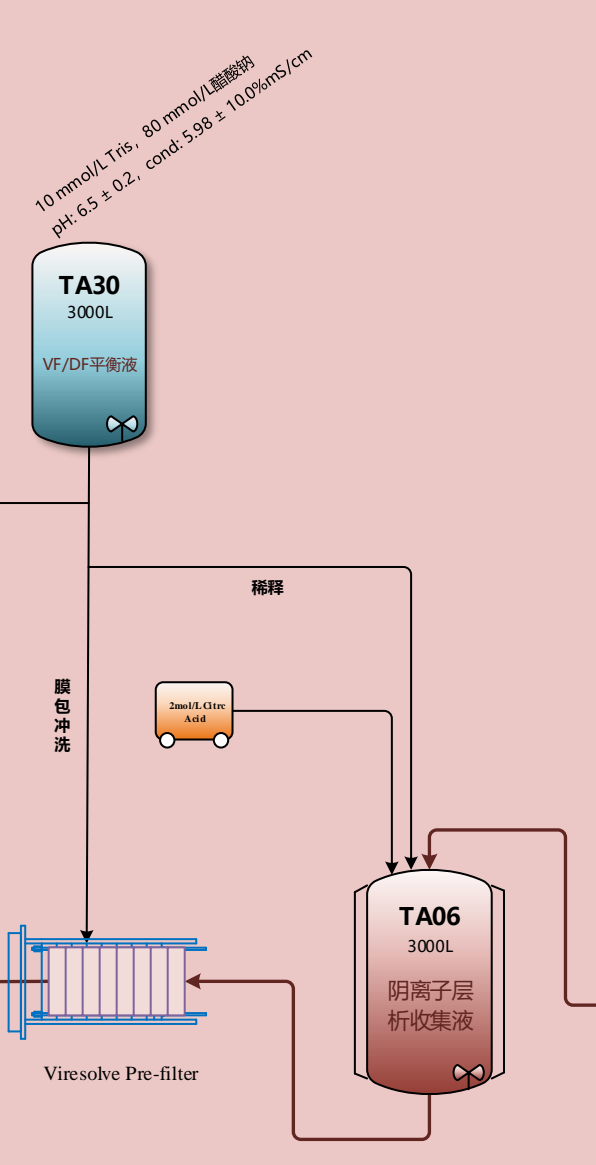
前处理: WFI冲洗膜表面及内部流路, 0.5 mol/L NaOH CIP, 膜包在使用有效期内, NWP≥70%初始NWP, 膜包完整性通过

工艺流程: WFI冲洗膜表面及内部流路, 平衡液润洗膜包, 超滤浓缩(浓缩至25~30g/L), 洗滤换液, 0.2μm过滤器过滤收集样品, 平衡液冲洗膜包, CIP, WFI冲洗, 完整性检测, 保存

工艺参数: 浓缩/洗滤泵速: 5(4~9)L/min/m², TMP: 0.90 (0.65~1.50), 换液倍数 ≥ 6倍, 收集液蛋白含量: 12~19 g/L

收集液: 8~26℃保存≤72h

除病毒过滤



VF流程:

预过滤器: Viresolve Pre-filter 0.55m²/块

除病毒滤器: Viresolve-Pro Filter 0.51m²/块

膜包安装: 1100psi 过滤压力: 22(20~29)psi 载量: 7.6 kg/m²

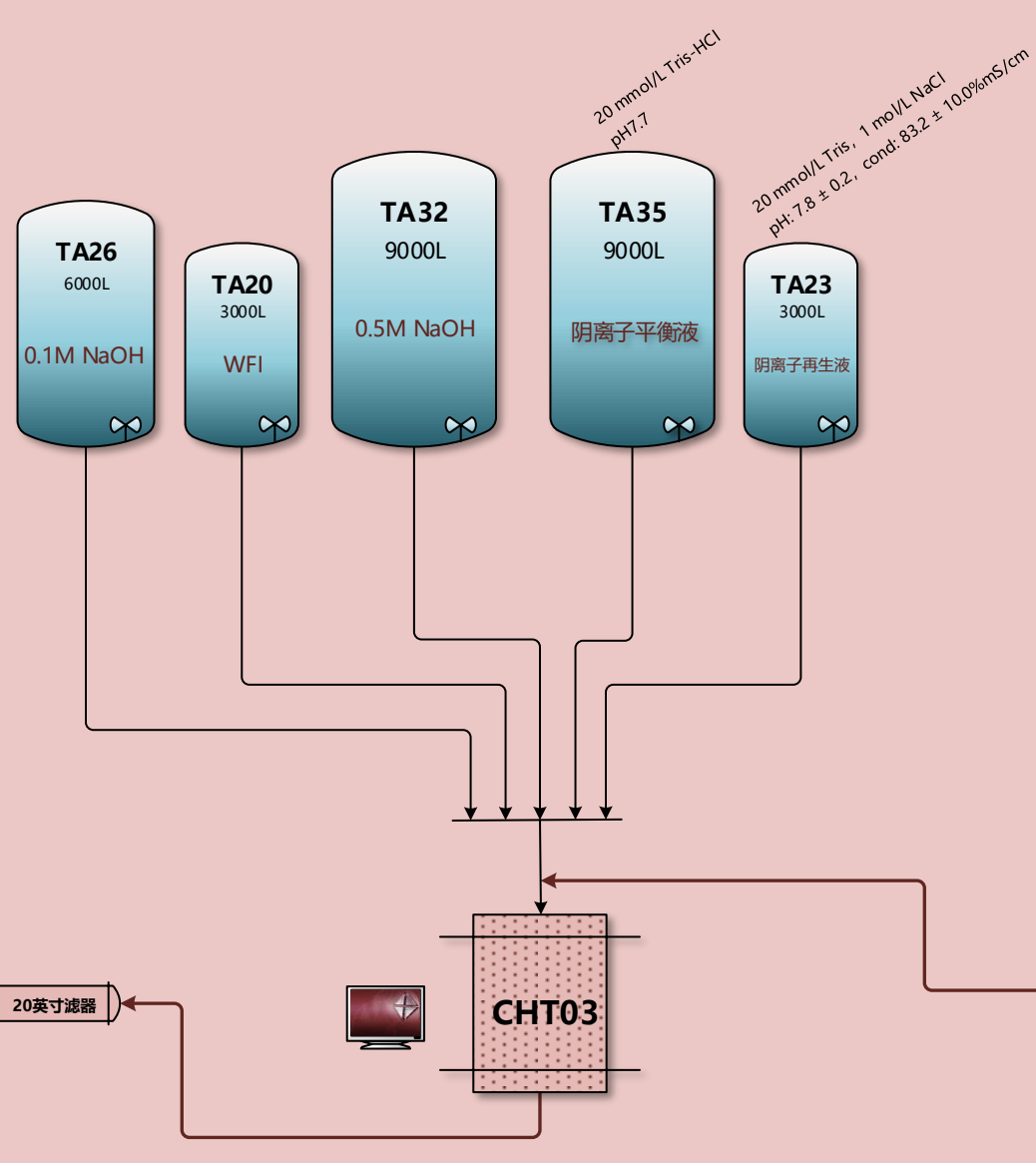
前处理: 稀释样品到蛋白含量≤10 g/L

工艺流程: 预过滤器用平衡液冲洗≥100 L/m², 串联除病毒膜包, 平衡液冲洗, 上样, 平衡液顶洗≥20L/m², 完整性检测

收集液: 8~26℃保存≤72h

返工: 可返工

阴离子层析



AEX流程:

填料: Q Sepharose Fast Flow

柱高: 23~27cm

柱直径: 800mm

载量: 10~100 g/L

Cycle数: 1个

前处理: 上样液pH: 7.5~7.8, cond: ≤ 6.00mS/cm

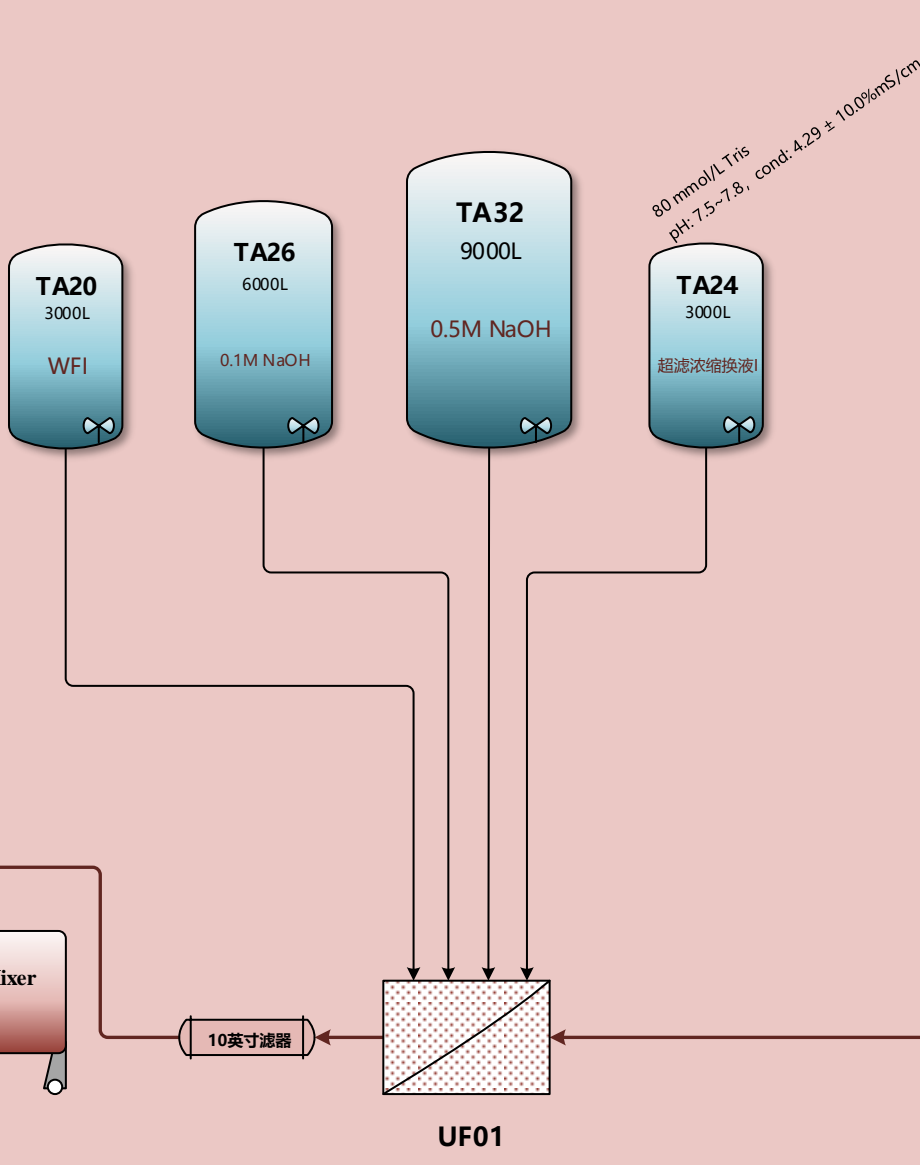
工艺流程: CIP≥3CV & ≥30min, 再生≥3CV, 平衡≥5CV, 上样, 平衡, 0.2μm过滤器过滤收集, 再生≥3CV, CIP≥3CV & ≥30min, 完成所有Cycle后再生≥3CV, 平衡≥5CV, 保存溶液≥3CV

流速: 150(100~200)cm/h(上样/洗脱), 200(150~300)cm/h(平衡/再生/保存)

洗脱UV: UV280≥50(25~75)mAU/mm时开始收集, UV280≤50(25~75)mAU/mm时结束收集

收集液: 收集液pH: 6.5(6.4~6.6), 8~26℃保存≤72h

超滤浓缩



UF流程:

膜包: Pellicon 2 (PES)

膜面积: 2.5m²/块

膜孔径: 30kD

载量: ≤800g/m²

Cycle数: 1个

前处理: WFI冲洗膜表面及内部流路, 0.5 mol/L NaOH CIP, 膜包在使用有效期内, NWP≥70%初始NWP, 膜包完整性通过

工艺流程: WFI冲洗膜表面及内部流路, 平衡液润洗膜包, 超滤浓缩(浓缩至20~25g/L), 洗滤换液, 0.2μm过滤器过滤收集样品, 平衡液冲洗膜包, CIP, WFI冲洗, 完整性检测, 保存

工艺参数: 浓缩/洗滤泵速: 6 (5~9) L/min/m², TMP: 0.90 (0.65~1.50), 换液倍数 ≥ 2倍

收集液蛋白含量: 10~15 g/L, 收集液pH: 7.7(7.5~7.8), 收集液cond: ≤ 6.00mS/cm

收集液: 8~26℃保存≤72h