

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 764 441**

51 Int. Cl.:

C07K 1/34 (2006.01)
B01D 15/08 (2006.01)
B01D 29/41 (2006.01)
B01D 29/21 (2006.01)
B01D 29/01 (2006.01)
B01D 29/11 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.02.2005** **E 05251124 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.11.2019** **EP 1577319**

54 Título: **Purificación de proteínas con prefiltrado**

30 Prioridad:

19.03.2004 US 554769 P
07.02.2005 US 650504 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la
traducción de la patente:
03.06.2020

73 Titular/es:

EMD MILLIPORE CORPORATION (100.0%)
400 Summit Drive
Burlington, MA 01803, US

72 Inventor/es:

SIWAK, MARTIN

74 Agente/Representante:

SÁNCHEZ SILVA, Jesús Eladio

ES 2 764 441 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Purificación de proteínas con prefiltrado

5 La presente invención se refiere a un prefiltrado para sistemas de purificación de productos biológicos tales como anticuerpos monoclonales. Más particularmente, se refiere a un prefiltrado para eliminar constituyentes de unión no específica (UNE) de una corriente líquida antes de aplicarse a sistemas de purificación tales como una columna de cromatografía de afinidad.

10 Antecedentes de la invención

En la purificación de las corrientes biológicas, el objetivo es capturar una o más proteínas deseadas de una corriente líquida que contiene una variedad de componentes tales como otras proteínas, lípidos, proteínas agregadas de las células, proteínas de los medios, carbohidratos y coloides de las paredes celulares, ADN, complejos ADN/proteína y similares. Pueden usarse varias etapas de purificación, pero en general giran en torno a uno o ambos sistemas de cromatografía de afinidad y ultrafiltración (UF).

15 La corriente líquida generalmente se deriva de un lote de células lisadas que se han diseñado para producir la proteína deseada. La mayoría de los componentes celulares se eliminan del líquido por filtración o centrifugación antes de la cromatografía y/o ultrafiltración. Sin embargo, una cantidad sorprendentemente grande especialmente de constituyentes pequeños o solubles permanece en el líquido a medida que se aplica al sistema de purificación. Muchos de estos compiten con la proteína deseada y se unen al material de afinidad en la columna u obstruyen el ultrafiltro.

20 En la cromatografía de afinidad, algunos de los constituyentes se unen con mayor preferencia que la proteína deseada lo que reduce los rendimientos. Otros se unen irreversiblemente al material de afinidad lo que reduce no solo los rendimientos sino también la capacidad general, especialmente en los usos posteriores de los medios.

25 La mayoría de estas especies no deseadas se conocen como especies de unión no específica y el problema se ha denominado unión no específica (UNE).

30 Se han intentado varios métodos para reducir la UNE, tanto para aumentar inicialmente el rendimiento como para mantener la capacidad en el tiempo de una columna y para mantener una tasa de flujo deseada y extender la vida útil de un sistema de UF.

35 Generalmente, una columna se lava varias veces entre la etapa de captura por afinidad y la etapa de elución con varios tampones a diferentes pH y/o con diferentes lavados químicos en un intento de eliminar las especies de UNE. Del mismo modo se ha empleado el uso de varios regímenes de limpieza después del uso para tratar y eliminar la mayoría de las especies de UNE de los medios como sea posible para mantener los valores de rendimiento y capacidad.

40 Ninguno de estos ha demostrado ser muy eficaz especialmente con los medios de afinidad más comúnmente usados en la industria biofarmacéutica. En parte, esto se debe al propio ligando de la afinidad, la Proteína A. Al ser una proteína es susceptible a la desnaturalización bajo varias condiciones que de otra manera podrían usarse para reducir la UNE, tales como calor, altas concentraciones de cáustico y similares.

45 Los sistemas de UF se limpian después de que el sistema se ha obstruido lo suficiente para crear una contrapresión demasiado alta o para reducir el flujo por debajo de un nivel dado. Sus filtros se limpian entonces con soluciones cáusticas antes de volver a usarlos.

50 Mientras el lavado con soluciones cáusticas frecuentemente da como resultado una membrana libre de especies de UNE, no hace nada para extender la vida de un filtro durante la filtración. El problema de las suciedades aún existe.

Lo que se necesita es una manera para reducir la UNE a un nivel más bajo antes de que el líquido alcance la etapa de purificación. La presente invención proporciona tal invención.

55 La solicitud de patente de los Estados Unidos US 2003201229 (Siwak) describe un proceso para eliminar selectivamente los constituyentes de obstrucción de una solución que contiene biomoléculas en un proceso de filtración de flujo normal (FFN) antes de la filtración viral, tal como un proceso para eliminar selectivamente los constituyentes de obstrucción de una solución de biomoléculas proteicas en un proceso de filtración de flujo normal (FFN) y partículas de virus de la solución en un proceso de filtración de dos etapas. En una primera etapa, se filtra una solución de biomoléculas a través de un dispositivo de filtración que contiene uno o más medios de eliminación de constituyentes de obstrucción en forma de una o más capas de filtros de profundidad por adsorción, membranas microporosas llenas o un pequeño lecho de medios en un modo de operación de filtración de flujo normal, para producir una corriente libre de constituyente de obstrucción. La corriente libre de constituyente de obstrucción puede entonces filtrarse a través de una o más membranas de ultrafiltración para retener las partículas de virus a un nivel de retención de al menos 3 LRV y permitir el paso a través de una solución que contiene biomoléculas libre de constituyente de

obstrucción y libre de virus.

La publicación de patente internacional WO 03066669 (Millipore Corp.) describe un proceso para eliminar selectivamente agregados de proteínas de una solución proteica en un proceso de filtración de flujo normal (FFN). Preferentemente, se refiere a un proceso para eliminar selectivamente agregados de proteínas de una solución proteica en un proceso de filtración de flujo normal (FFN) y partículas de virus de una solución proteica en un proceso de filtración de dos etapas. En una primera etapa, una solución proteica se filtra a través de una o más capas de filtros de profundidad por adsorción, membranas microporosas cargadas o modificadas en la superficie o un pequeño lecho de medios de cromatografía en un modo de operación de filtración de flujo normal, para producir una corriente libre de agregado de proteína. La corriente de proteína libre de agregado puede filtrarse a través de una o más membranas de ultrafiltración para retener las partículas de virus a un nivel de retención de al menos 3 LRV y permitir el paso a través de ellas de una solución proteica libre de agregado y libre de virus.

La publicación de patente europea EP 1203774 (Millipore Corp.) describe un proceso para eliminar selectivamente agregados de proteínas y partículas de virus de una solución proteica en un proceso de filtración de dos etapas. En una primera etapa, una solución proteica se filtra por filtración de flujo tangencial a través de una membrana de ultrafiltrado celulósico a una presión de transmembrana de entre aproximadamente 1 y aproximadamente 10 psi para producir un primer permeado y una corriente de retención. Se añade agua o tampón acuoso a la corriente de retención para formar una corriente de retención de volumen esencialmente constante. El primer permeado se filtra a través de una segunda membrana de ultrafiltración para retener partículas de virus a un nivel de retención de al menos 3 LRV y permitir el paso a través de ella de una solución proteica libre de agregado de proteína y libre de virus.

Resumen de la invención

La presente invención es un método de acuerdo con la reivindicación 1. El prefiltro reduce la presencia de especies de UNE que entran al sistema, lo que extiende de este modo el rendimiento, la capacidad y la vida útil de los medios de afinidad usados en la columna. Los agentes adecuados incluyen entidades hidrofóbicas; entidades lipofílicas; carbón activado; entidades de cationes o aniones cargados tales como perlas o polvos de intercambio iónico; ligandos; y combinaciones de estos.

Los medios pueden usarse como están en una columna si se desea o pueden incorporarse a otros medios de filtro. Pueden usarse diversas formas de filtro, tales como lechos compactos, almohadillas lenticulares, filtros de profundidad, filtros plisados y similares.

Un prefiltro preferido está en forma de uno o más dispositivos de almohadilla de filtración lenticular, cada uno de los cuales contiene un medio fibroso y uno o más agentes de UNE. Uno de tales dispositivos es una almohadilla lenticular formada por una o más capas de material fibroso que contiene un agente de UNE formado por partículas de vidrio o sílice incrustadas en el material fibroso. Otro es un dispositivo lenticular formado por una serie de esteras de vidrio. Un dispositivo preferido es una almohadilla lenticular formada por una o más capas de material celulósico que contiene un agente de UNE formado por partículas de vidrio de poro controlado incrustadas en el material fibroso.

Otra forma preferida es como un cartucho de filtro enrollado en espiral. Una o más capas de un material fibroso que contiene uno o más de los agentes de UNE pueden enrollarse alrededor de sí mismos o un mandril central como es bien conocido en la técnica.

Otra forma preferida es como una cápsula desechable que contiene una serie de discos planos de un material fibroso que contiene uno o más agentes de UNE donde los discos tienen un orificio central y una serie de sellos internos y externos del borde de la cuchilla que forman una vía de fluidos de tal manera que todo el fluido que sale del dispositivo debe pasar primero por los discos.

Una modalidad preferida adicional está en forma de un dispositivo de flujo tangencial con material fibroso que contiene uno o más agentes de UNE dispuestos en una serie de casetes o vainas con el flujo que atraviesa o es tangencial al material y al menos una porción del fluido que pasa a través del material en cada pase.

Es un objetivo de la presente invención proporcionar un prefiltro para un sistema de purificación de proteínas que comprende una o más capas de uno o más medios seleccionados para eliminar constituyentes de unión no específica de una corriente que contiene proteínas.

Es un objetivo de la presente invención proporcionar un sistema de purificación de proteínas que comprende un sistema de purificación de proteínas que tiene una entrada y una salida y un espacio en donde el espacio se llena con medios para la purificación de proteínas y un prefiltro corriente arriba y conectado a la entrada del sistema, dicho prefiltro comprende una o más capas de uno o más medios seleccionados para eliminar constituyentes de unión no específica de una corriente que contiene proteínas.

Es un objetivo de la presente invención proporcionar un sistema de purificación de proteínas que comprende un sistema de purificación de proteínas que tiene una entrada y una salida y un espacio en donde el espacio se llena con

medios para la purificación de proteínas y un prefiltro corriente arriba y conectado al entrada del sistema, dicho prefiltro comprende una o más capas de uno o más medios seleccionados para eliminar constituyentes de unión no específica de una corriente que contiene proteínas y un tanque de almacenamiento en comunicación continua con la salida del prefiltro y la entrada del sistema de purificación.

Es un objetivo de la presente invención proporcionar un sistema de prefiltro para una columna de cromatografía de afinidad que comprende uno o más prefiltros en forma de uno o más dispositivos de almohadilla lenticular, cada dispositivo tiene una estructura de soporte lenticular central, una o más almohadillas de prefiltro, cada almohadilla está formada por una o más capas de uno o más medios seleccionados para eliminar constituyentes de unión no específica de una corriente que contiene proteínas, un sello de borde que asegura una o más almohadillas al soporte y una salida central de manera que todo el fluido que entra al dispositivo debe pasar a través de una o más almohadillas de prefiltro y el soporte antes de alcanzar la salida central y una carcasa en la que están dispuestos uno o más prefiltros, la carcasa tiene una barra central sobre la cual cada dispositivo se monta por su salida central, la barra central está conectada a una salida de la carcasa, un espacio entre los dispositivos y la pared interna de la carcasa para el flujo de fluido y una entrada en la carcasa.

Es otro objetivo proporcionar un prefiltro para una columna de cromatografía de afinidad que comprende una o más capas de uno o más medios seleccionados para eliminar constituyentes de unión no específica de una corriente que contiene proteínas en donde el prefiltro está en forma de uno o más dispositivos de almohadilla lenticular, cada dispositivo que tiene una estructura de soporte lenticular central, una o más almohadillas de prefiltro, un sello de borde que asegura las almohadillas al soporte y una salida central de manera que todo el fluido que entra al dispositivo debe pasar a través de una o más almohadillas de prefiltro y el soporte antes de alcanzar la salida central.

Breve Descripción de los Dibujos

La figura 1A muestra una primera modalidad de la presente invención en vista transversal.
La figura 1B muestra una segunda modalidad de la presente invención en vista transversal.
La figura 2 muestra un prefiltro de una modalidad de la presente invención en vista transversal.
La figura 3 muestra un prefiltro de una modalidad de la presente invención en vista transversal.
La figura 4 muestra un prefiltro de una modalidad de la presente invención en vista transversal.
La figura 5 muestra un prefiltro de una modalidad de la presente invención en vista transversal.
La figura 6 muestra un prefiltro de una modalidad de la presente invención en vista transversal.
La figura 7 muestra un prefiltro de una modalidad de la presente invención en vista transversal.
La figura 8 muestra un prefiltro de una modalidad de la presente invención en vista transversal.
La figura 9 muestra un prefiltro de una modalidad de la presente invención en vista transversal.
La figura 10 muestra un prefiltro de una modalidad de la presente invención en vista transversal.

Descripción Detallada de la Invención

La presente invención es un prefiltro usado corriente arriba de un sistema de purificación de proteínas tal como un medio de afinidad que contiene una columna de cromatografía para eliminar algunas o todas las especies de UNE antes de que alcancen el sistema de purificación. De esta manera, la cantidad de UNE se reduce y los medios tienen mayores rendimientos y capacidad y una vida más larga que la que se logra hoy en día.

El prefiltro contiene uno o más tipos de materiales que son capaces de eliminar las especies de UNE del líquido. De esta manera, la cantidad de especies de UNE que alcanzan la columna se reduce o elimina, lo que hace que su competencia por los sitios de unión sea menor o inexistente. Esto lleva a varias ventajas y beneficios. Para los sistemas de cromatografía, se logra una mayor capacidad general para las especies deseadas que se van a capturar, mayores rendimientos de las especies deseadas, ya que más de esas especies tendrán sitios de unión disponibles para ser capturadas con la carga reducida de especies de UNE y una mayor capacidad retenida a lo largo del tiempo, ya que se producirá una unión menos irreversible de las especies de UNE, lo que permitirá que los medios de cromatografía se limpien y reutilicen en mayor grado de lo que es posible hoy en día.

El material de eliminación de UNE usado en el prefiltro puede ser cualquier material que demuestre eliminar la especie o especies de UNE que se desea eliminar de la corriente líquida antes de la separación cromatográfica. Típicamente, estos materiales se seleccionan del grupo que consiste en entidades hidrofóbicas, entidades lipofílicas, carbón activado, entidades de cationes o aniones cargados tales como perlas de intercambio iónico, ligandos o versiones derivadas de cada uno, y combinaciones de estos.

Estos materiales pueden incorporarse en un medio, preferentemente un medio poroso que después puede incorporarse en un diseño de dispositivo seleccionado. Tales medios pueden estar en forma de películas, películas porosas, membranas, esteras porosas, monolitos porosos, telas tejidas, no tejidas y similares.

Pueden formarse por una amplia variedad de materiales que son usados por un experto en la técnica de filtración, tales como poliolefinas que incluyen polietileno y polipropileno, alcoholes de polivinilo, cloruros de polivinilo, polisulfonas, poliarilsulfonas, polietersulfonas, polifenilsulfonas, PTFE, resinas PFA, poliésteres, nailon, poliamidas,

poliimidas, PVDF, celulosas y materiales celulósicos modificados tales como acetato de celulosa, cerámicas, vidrio tal como vidrio de borosilicato o vidrio de poro controlado y similares.

La forma del material de eliminación de UNE determinará si, y de ser así, cómo se incorpora al medio seleccionado. Por ejemplo, los ligandos pueden unirse mediante química de superficie a un sustrato tal como vidrio de poro controlado. El carbón activado, la sílice, el vidrio de poro controlado y similares pueden estar en forma de partículas tales como perlas y añadirse como un relleno al medio mientras se forma. Un ejemplo es añadir el material de eliminación de UNE como un relleno a la resina de PTFE y combinar los dos juntos para obtener una membrana porosa de PTFE que contiene el relleno de material de eliminación de UNE disperso por toda la estructura fibrosa de PT-FE. Algunos materiales, tales como las perlas de carbón activado, la sílice, el vidrio de poro controlado son autosuficientes y no necesitan incorporarse a un medio. En cambio, pueden usarse como en un lecho de dicho material. Sin embargo, pueden incorporarse fácilmente en un medio como un relleno si se desea.

Un prefiltro de acuerdo con la presente invención puede formarse por una variedad de materiales y en una variedad de diseños de dispositivos.

La figura 1A muestra una primera modalidad de la presente invención. Una columna de cromatografía 2 tiene una entrada 4 y una salida 6 y un espacio 8 entre la entrada 4 y la salida 6. El espacio 8 se llena con uno o más tipos de medios de afinidad 10 tales como ligandos de Proteína A o Proteína G, o ligandos químicos tales como 2-aminobencimidazol (ABI), aminometilbencimidazol (AMBI), mercaptoetilpiridina (MEP) o mercaptobencimidazol (MBI) unidos a una perla cromatográfica tal como agarosa, sílice o vidrio de poro controlado. Tales medios de afinidad son bien conocidos en la técnica y pueden obtenerse, por ejemplo, de Millipore Corporation con el nombre comercial de medios ProS-ep®A (ligando basado en Proteína A en vidrio de poro controlado) o medios ProSep®G (ligando basado en Proteína G en vidrio de poro controlado).

Un conjunto de prefiltro 12 se localiza corriente arriba de la columna 2 de manera que la salida 14 del conjunto de prefiltro 12 está en comunicación continua con la entrada 4 de la columna 2. El conjunto 12 está compuesto por una carcasa 16 que tiene la salida 14 y una entrada 18, un conjunto de barra central 20 conectada a la salida 14 y una serie de prefiltros 22 dispuestos alrededor de la barra 20 de forma hermética a los líquidos de la barra 20, cada uno de los otros 22 y dentro de los mismos 22 de manera que todo el fluido que sale de la salida 14 tiene que entrar primero a la entrada 18, pasar a través de uno de los prefiltros 22 a la barra 20 y después a la salida 14.

La figura 1B muestra una modalidad alternativa de la figura 1A en la que se coloca un tanque de almacenamiento intermedio 3 entre el prefiltro 12 y la columna 2. El tanque puede usarse para almacenar el fluido tratado antes de que vaya a la columna, de manera que el prefiltro o la columna, o ambos, puedan ejecutarse en modo de lote en lugar de en modo continuo si se desea.

Pueden añadirse otros elementos adicionales a las modalidades de las figuras 1A-1B, tales como una o más bombas, válvulas, manómetros, sensores o controles de temperatura, puertos de muestreo y similares, como se usan comúnmente en la industria biofarmacéutica.

Los prefiltros 22 de la figura 1A-B se muestran con más detalle en la figura 2, están hechos como celdas soportadas con una o más capas de medios porosos, en este caso dos capas 24A y B unidas a las superficies externas de un dispositivo de soporte central 26. Las celdas soportadas se forman en una estructura de soporte lenticular (doble convexo) formada por una serie de nervaduras convexas que se extienden radialmente (no mostradas) que se sostienen entre sí mediante una serie de anillos espaciados (no mostrados) en varias circunferencias desde el centro de las nervaduras radiales. Véanse las patentes US 4,704,207 y 4,783,262. Los espacios entre las nervaduras forman los canales a través de los cuales se recoge el fluido que ha fluído a través de los medios de filtro y se envía al núcleo 28 para su uso posterior. Los anillos están dispuestos de manera que el flujo de fluido se obstaculiza mínimamente. Típicamente, los anillos adyacentes se forman en lados opuestos de las nervaduras de manera que el flujo está sobre un anillo y después debajo del otro. El borde exterior del medio está firmemente sujeto a líquido por un borde de sellado exterior 30.

Los prefiltros pueden usarse solos o en grupos. Véanse las patentes US 2,788,901 y 5,085,784. Típicamente, los prefiltros se usan en grupos (generalmente de 16 a 20 por grupo) apilados sobre una barra central dentro de una carcasa como se muestra en la figura 1. El fluido a filtrar entra al fondo o al lado adyacente al fondo de la carcasa y fluye a través de los medios de filtro hacia la estructura de soporte lenticular que dirige el fluido al núcleo donde se recoge y se elimina de la carcasa a través de una salida en el fondo o al lado de la carcasa.

En una modalidad preferida de este diseño, el filtro incluye capas múltiples de medios. Tales capas múltiples también pueden ser de diferentes materiales y/o diferentes tamaños de poro. Preferentemente, cada uno de dichos medios tiene diferentes intervalos de tamaño de poro, por lo que puede elaborarse una gran variedad de cartuchos diferentes a partir de la presente invención. Estos medios pueden obtenerse a partir de una variedad de fuentes, tales como los medios MILLIS-TAK+™ disponibles de Millipore Corporation de Bedford, Massachusetts. Los Materiales de Filtro de Waupaca, Wisconsin, también producen una amplia gama de medios adecuados para el dispositivo de la presente invención.

Los medios representativos útiles para formar el filtro incluyen la fibra de poliolefinas tales como polietileno, polipropileno, celulosa que incluyen mezclas de celulosa/sílice, así como derivados de celulosa tales como acetato de celulosa, algodón, poliamidas, poliésteres, fibra de vidrio, politetrafluoroetileno (PTFE), fluoropolímeros tales como PFA, MFA y FEP o similares. Se prefieren medios celulósicos o medios de compuestos celulósicos tales como los filtros MILLISTAK+™ disponibles en Millipore Corporation de Billerica, Massachusetts. Estos materiales y sus métodos para elaborarlos mediante un proceso en húmedo (similar a la fabricación de papel) o un proceso en seco son bien conocidos en la técnica. Véanse las patentes US 5,928,588 y 4,007,113 y 4,007,114 para ejemplos de elaboración de tales medios. Materiales similares son apropiados para las porciones estructurales del cartucho. Preferentemente, están elaborados de polipropileno. Otros materiales adecuados para el uso en estas aplicaciones pueden incluir, pero no se limitan a termoplásticos tales como otras poliolefinas tales como polietilenos que incluyen polietilenos de ultra alto peso molecular, copolímeros o terpolímeros de poliolefinas; nailon; resina de PTFE, PFA, PVDF, ECTFE y otras resinas fluoradas, particularmente resinas termoplásticas perfluoradas; policarbonatos; polímeros derivados de metaloceno, polisulfonas; polisulfonas modificadas tales como polietersulfona, poliarilsulfonas o polifenilsulfonas; cualquier vidrio u otro plástico reforzado; o un metal tal como acero inoxidable, aluminio, cobre, bronce, latón, níquel, cromo o titanio o aleaciones o mezclas de los mismos.

En una segunda modalidad de la presente invención, se usa una columna de material de eliminación de UNE empacado. Tal dispositivo se muestra en la figura 3. En esta modalidad, una columna 40 tiene una cubierta superior 42 y una cubierta inferior 44, la cubierta superior 42 tiene una entrada 46 y la cubierta inferior 44 tiene una salida 48. Tanto la entrada 46 como la salida 48 están separadas del cuerpo 50 de la columna 40 por uno o más dispositivos porosos tales como fritas, membranas, tamices, distribuidores y similares que controlan la distribución del fluido dentro y fuera de la columna 40 y también evitan el movimiento de los materiales de eliminación de UNE 52 fuera de la columna 40. Tales dispositivos son bien conocidos y pueden estar formados por plásticos sinterizados tales como polietileno sinterizado, metales sinterizados tales como acero inoxidable o níquel sinterizado, una estera o malla de vidrio, una estera plástica, rejilla o malla tal como una estera no tejida de polietileno y similares.

En esta modalidad, los materiales de eliminación de UNE 52 se muestran como partículas. Pueden estar en forma de perlas regulares, partículas irregulares, fragmentos, fibras, monolitos o cualquier otra forma en la que normalmente se suministran. Tales materiales basados en partículas incluyen pero no se limitan a sílice, silicatos, vidrio de poro controlado y versiones derivadas de cualquiera de los anteriores, así como perlas de carbón activado. La columna puede contener un solo tipo de material de eliminación de UNE o, si se desea, puede contener una mezcla de diferentes materiales de eliminación de UNE o una serie de diferentes materiales de eliminación de UNE en capas individuales dentro de la columna. Las partículas pueden ser de cualquier tamaño normalmente usado en la filtración basada en perlas, pero típicamente tienen un diámetro promedio de aproximadamente 10 a 1,000 micrómetros. Para garantizar un flujo con baja contrapresión, se prefiere que las partículas sean sustancialmente del mismo tamaño, generalmente aproximadamente el 50 % o más de las partículas tienen un diámetro promedio de +/- 10 %. En algunos casos pueden ser partículas monodispersas, al menos el 90 % tienen un diámetro promedio de +/- 10 %.

El material de eliminación de UNE también puede incorporarse en un dispositivo de cartucho de filtro como en la figura 4, ya sea como un filtro plisado o como un filtro de profundidad. En esta modalidad, el material de eliminación de UNE se incorpora en un medio de soporte poroso tal como un polietileno no tejido de PTFE o polietileno, una almohadilla fibrosa celulósica como en la figura 1 o una membrana plástica porosa, cada uno de los cuales contiene el material de eliminación de UNE como un relleno o como una sustancia química unida como en el caso de los ligandos. Un cartucho 51 contiene un núcleo central 55 que está conectado a una primera tapa final 54 que forma una salida 56 desde el cartucho 51. El material de eliminación de UNE que contiene los medios 57 está corriente arriba del núcleo 55. Si se desea, puede usarse una capa o jaula de soporte (no mostrada) en el exterior o en el interior o en ambos lados del medio 57 como es bien conocido en la técnica. El medio 57 está sellado herméticamente a la primera tapa final 54 y una segunda tapa final 60 en sus respectivos extremos, de manera que todo el fluido que entra al cartucho 51 a través de la entrada 53 debe fluir a través del medio 57 antes de entrar al núcleo 55. Un manguito externo 58 rodea el medio 57 y también está sellado a la tapa final 54 tal como por hilos acoplados, abrazaderas, adhesivos, unión por solvente, soldadura ultrasónica y similares. En la forma plisada, pueden usarse una o más capas de medios. Del mismo modo, en el filtro de profundidad los medios pueden ser una capa gruesa, tal como una estera o un fieltro o un monolito, o puede ser una sola hoja de medios que se ha enrollado sobre sí misma o puede ser una serie de hojas individuales una encima de la otra y selladas a lo largo de sus dos bordes abiertos (no mostrado). El cartucho puede entrar en una carcasa reutilizable que sea hermética a los líquidos o puede tener el manguito externo hermético a los líquidos (como se muestra) para que el cartucho esté en la forma de un cartucho de cápsula desechable.

La figura 5 muestra otra modalidad del dispositivo. También en esta modalidad, el material de eliminación de UNE se incorpora en un medio de soporte poroso tal como un polietileno no tejido de PTFE o polietileno, una almohadilla fibrosa celulósica como en la figura 1 o una membrana plástica porosa que contiene el material de eliminación de UNE como un relleno o como una sustancia química unida en el caso de los ligandos. Este diseño también se muestra en la patente US 4,895,806 y consiste en dos mitades, 70 y 72, la primera mitad 70 que tiene una entrada 74 y la segunda mitad 72 que tiene una salida 76. Dentro del dispositivo hay una pluralidad de discos de medios 78 apilados uno encima del otro entre un sustrato poroso superior e inferior 80 y 82, respectivamente. El sellado alrededor de la circunferencia de los discos y la parte superior e inferior de la pila de discos se proporciona mediante una serie de

juntas 84.

La figura 6 muestra una variación en el diseño de la figura 5 en la que una serie de capas de medios 90 están separadas entre sí por separadores 92 y todos los líquidos están sellados herméticamente alrededor de las

La figura 7 muestra otro formato de dispositivo formado por un cartucho 110 que tiene una entrada 112 en un extremo 113 y una salida 114 en el otro extremo 115 y una serie de capas de medios 116 en el medio. Nuevamente, el material de eliminación de UNE se incorpora en un medio de soporte poroso tal como un polietileno no tejido de PTFE o polietileno, una almohadilla fibrosa celulósica como en la figura 1 o una membrana plástica porosa que contiene el material de eliminación de UNE como un relleno o como una sustancia química unida en el caso de los ligandos. Los separadores porosos 118 y 120 están adyacentes a la entrada y a la salida respectivamente y mantienen los medios en su lugar. El medio está formado de un tamaño de manera que el medio entra en contacto con la pared interna del dispositivo, de manera que todo el flujo debe pasar por el cuerpo del medio en lugar de pasar el medio a lo largo de la pared interna o similar.

Otros diseños de dispositivos pueden y son posibles con la presente invención.

Por ejemplo, la figura 8 muestra el uso de un dispositivo de filtro apilado 130 como se describe en el documento WO 01/83077 A1. El dispositivo 130 puede montarse en una carcasa 132 que puede ser una cápsula desechable o una carcasa reutilizable. La carcasa 132 tiene una entrada 134 y una salida 136. Una primera tapa final 138 está conectada a una segunda tapa final 140 que está en comunicación hermética a los líquidos con la salida 136. Como se muestra, esto se logra mediante una junta tórica 142, aunque también pueden usarse otros medios bien conocidos en la técnica. Una barra central 144 conecta la primera tapa final 138 a la segunda tapa final 140. Una serie de discos 146 hechos del material fibroso que contiene uno o más de los agentes de UNE están dispuestos alrededor de la barra central 144. Esto se logra por cada disco que tiene un orificio central 147 a través del cual se extiende la barra 144. Una serie de sellos internos 148 y 150 externos del borde de la cuchilla están dispuestos alternativamente con los discos 146 para crear una serie de pares de discos alternos. Estos sellos 148 y 150 sellan las ubicaciones respectivas de los discos 146 de manera que todo el fluido que entra a la entrada 134 debe pasar a través de uno o más de los discos 146 antes de entrar al orificio central 147 y después a la salida 136 como se muestra por la flecha 149. La barra 144 puede usar una tuerca o algún otro medio como es bien conocido en la técnica para mantener una presión de sellado en los sellos 148 y 150 y los discos 146 para asegurar que no se produzca una derivación de líquido.

La figura 9 muestra otra modalidad en la que el material que contiene el agente de UNE 152 se forma en un conjunto enrollado en espiral 154 como es bien conocido en la técnica, tal como en la patente US 5,490,926. El conjunto 154 se enrolla alrededor de un tubo de recolección de permeado 156 que tiene una serie de aberturas 158 para que el fluido que pasa a través del material pueda entrar al tubo 156. La capa externa 160 tiene una malla externa protectora 162 para mantener el material de filtro 152 en su lugar. Esto se coloca en una carcasa similar a la de la figura 8 para formar un dispositivo.

La figura 10 muestra otra modalidad preferida en la que el agente de UNE contiene material 180 en un flujo tangencial o dispositivo TFF 182. El material 180 se usa en ambos lados de un portal central o distribuidor 184. El fluido es llevado al distribuidor por una entrada 186 y después fluye hacia el distribuidor y a través del material 180 a un área de recolección 188 y después a una salida 190. Se pueden hacer otras disposiciones de manera que el fluido fluya desde el exterior hacia el centro o que solo una parte del fluido pase a través de la capa de filtro y el resto se recoja del distribuidor y se recircule para un segundo o posterior paso a través del dispositivo. Esto es particularmente útil con fluidos que contienen un alto nivel de impurezas que de otro modo obstruirían el dispositivo rápidamente. El flujo tangencial y la recirculación limpian las superficies del filtro, reducen la obstrucción prematura del dispositivo.

También pueden usarse otras modalidades y serían obvias para un experto en la técnica y están destinadas a estar abarcadas en la presente invención.

REIVINDICACIONES

1. Un método para eliminar constituyentes de unión no específica de una corriente que contiene proteínas que comprende:
5 hacer fluir la corriente que contiene proteínas a través de un sistema de purificación de proteínas que comprende un prefiltro, el prefiltro comprende una o más capas de uno o más medios seleccionados para eliminar constituyentes de unión no específica de la corriente que contiene proteínas, en donde el prefiltro está corriente arriba y en comunicación continua con un columna de cromatografía de afinidad, además en donde los medios están compuestos por un material seleccionado del grupo que consiste en entidades hidrofóbicas,
10 entidades lipofílicas, carbón activado, entidades de cationes o aniones cargados, ligandos y versiones derivadas de cada uno, y combinaciones de estos.
2. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el prefiltro tiene una entrada y una salida y un espacio intermedio, en donde el espacio se llena con medios que contienen uno o más agentes para eliminar la unión no específica, y opcionalmente en donde los medios están en forma de una perla.
3. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el prefiltro está en forma de uno o más dispositivos de almohadilla lenticular, cada dispositivo tiene una estructura de soporte lenticular central, una o más almohadillas de prefiltro, un sello de borde que asegura las almohadillas al soporte y una salida central de manera que todo el fluido que entra al dispositivo debe pasar a través de una o más almohadillas de prefiltro y el soporte antes de alcanzar la salida central.
4. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde uno o más prefiltros están en forma de uno o más dispositivos de almohadilla lenticular, cada dispositivo tiene una estructura de soporte lenticular central, una o más almohadillas de prefiltro, cada almohadilla está formada por una o más capas de uno o más medios seleccionados para eliminar constituyentes de unión no específica de una corriente que contiene proteínas, un sello de borde que asegura una o más almohadillas al soporte y una salida central de manera que todo el fluido que entra al dispositivo debe pasar a través de una o más almohadillas de prefiltro y el soporte antes de alcanzar la salida central y una carcasa en la que están dispuestos uno o más prefiltros, la carcasa tiene una barra central sobre la cual cada dispositivo está montado por su salida central, la barra central está conectada a una salida de la carcasa, un espacio entre los dispositivos y la pared interna de la carcasa para el flujo de fluido y una entrada en la carcasa.
5. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde los medios se forman incrustando el material seleccionado en una almohadilla o membrana de filtro fibroso.
6. El método de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende además un tanque de almacenamiento intermedio colocado entre una salida del prefiltro y una entrada a la columna de cromatografía de afinidad y está en comunicación continua con ambos.
7. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el prefiltro está en forma de
 - a) un cartucho de filtro enrollado en espiral, o
 - b) una cápsula desechable que contiene una serie de discos planos de un material fibroso que contiene uno o más agentes de UNE donde los discos tienen un orificio central y una serie de sellos internos y externos del borde de la cuchilla que forman una vía de fluido de manera que todo el fluido que sale del dispositivo debe fluir primero a través de los discos.

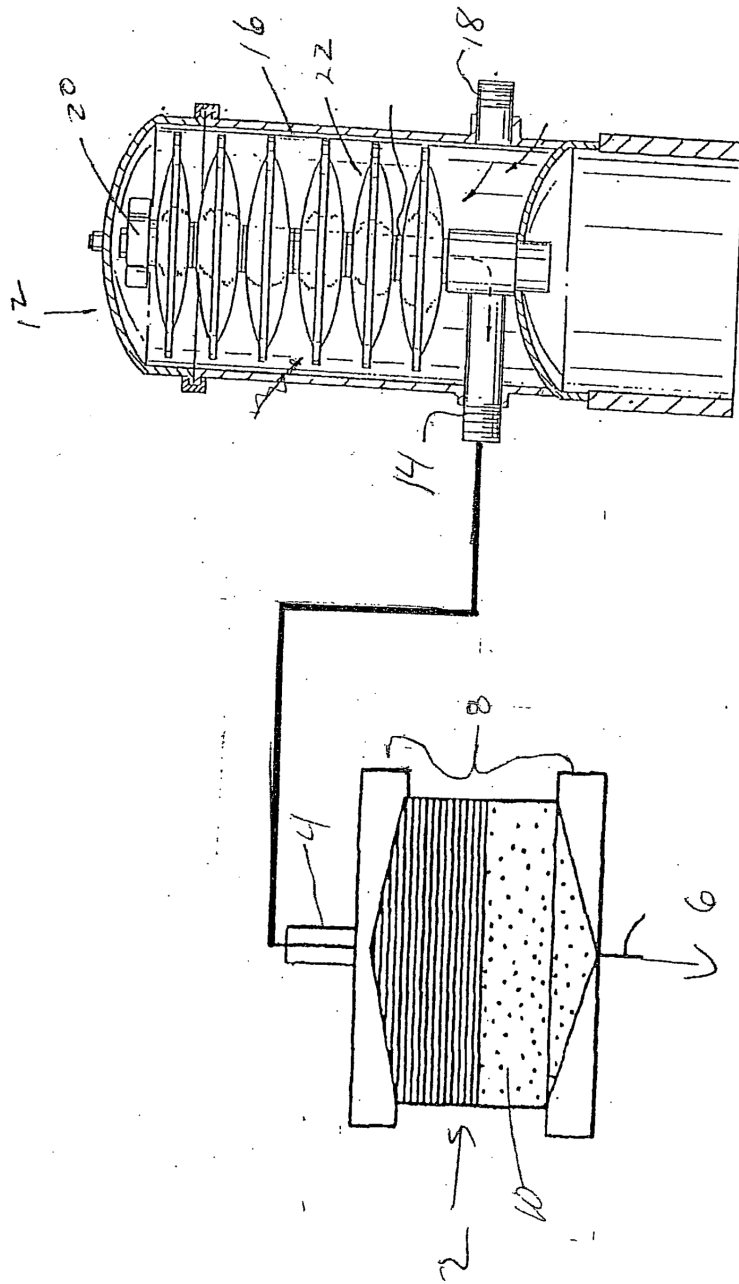


Figura 1A

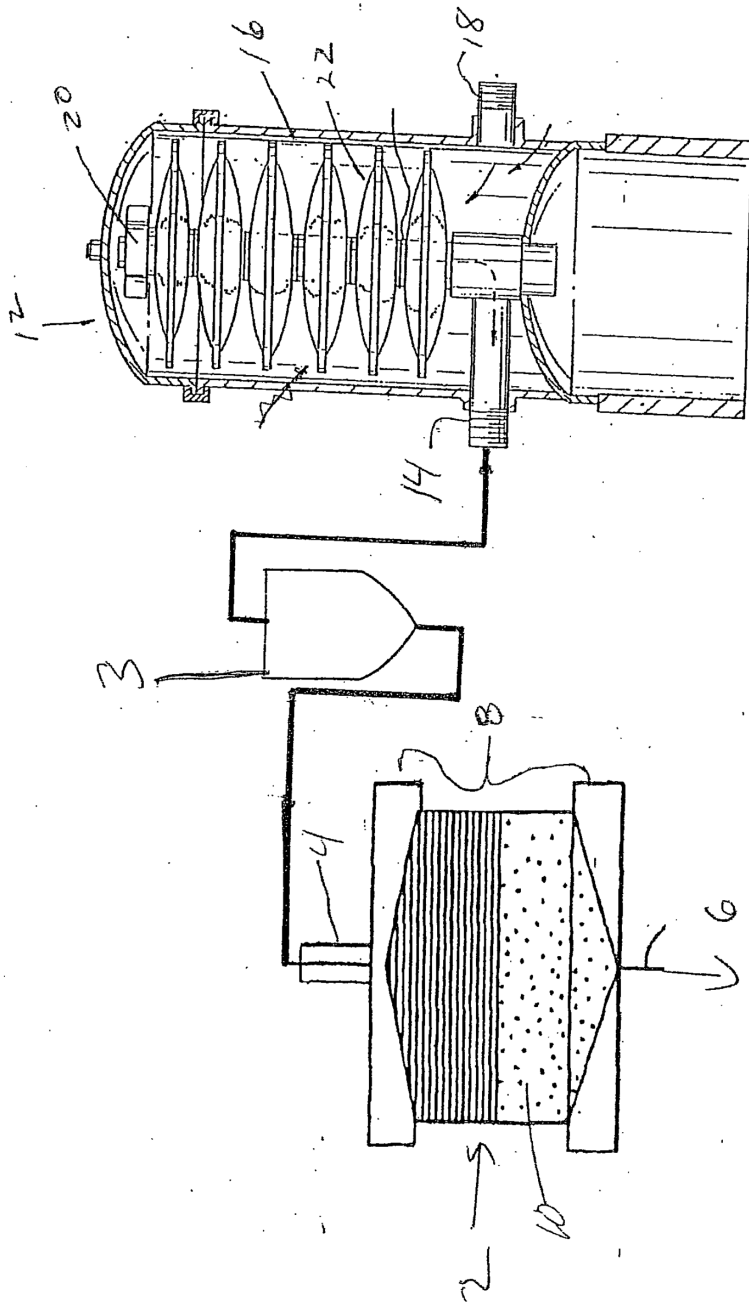


Figura 1B

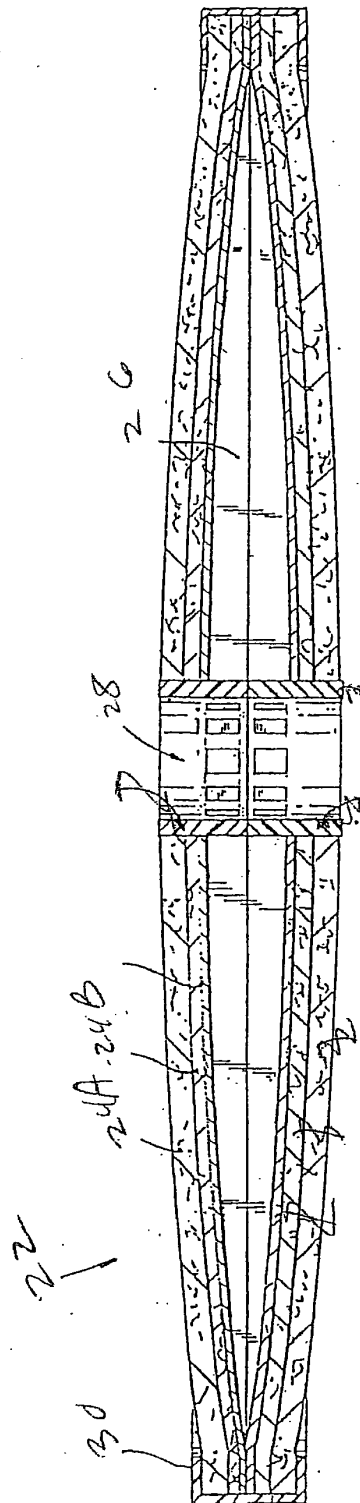


Figura 2

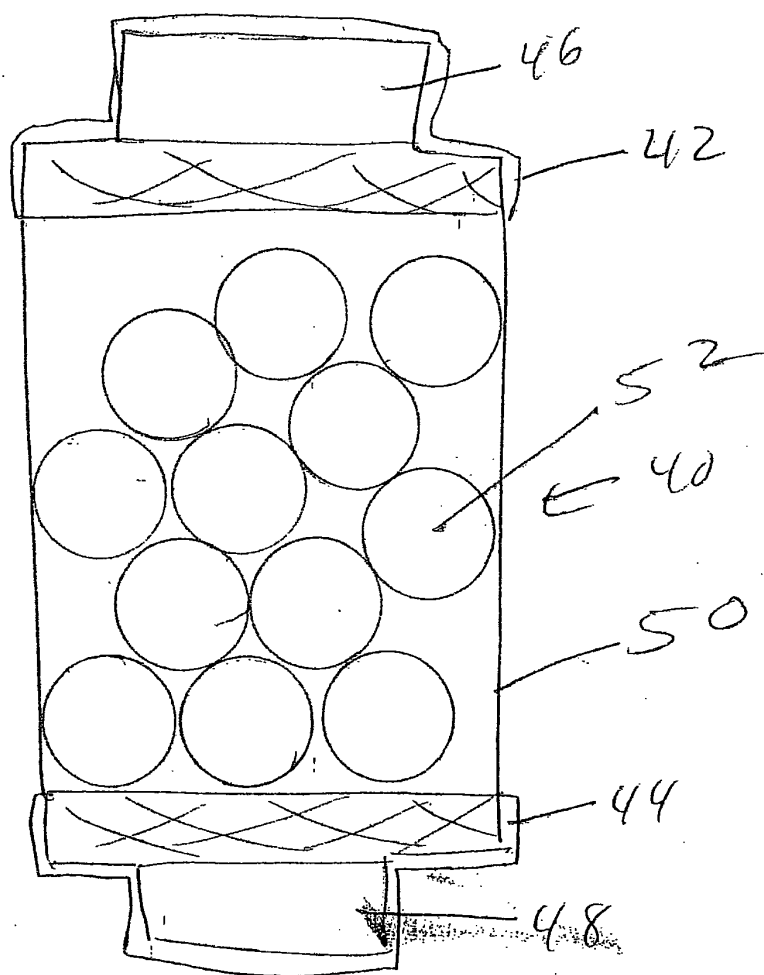


Figura 3

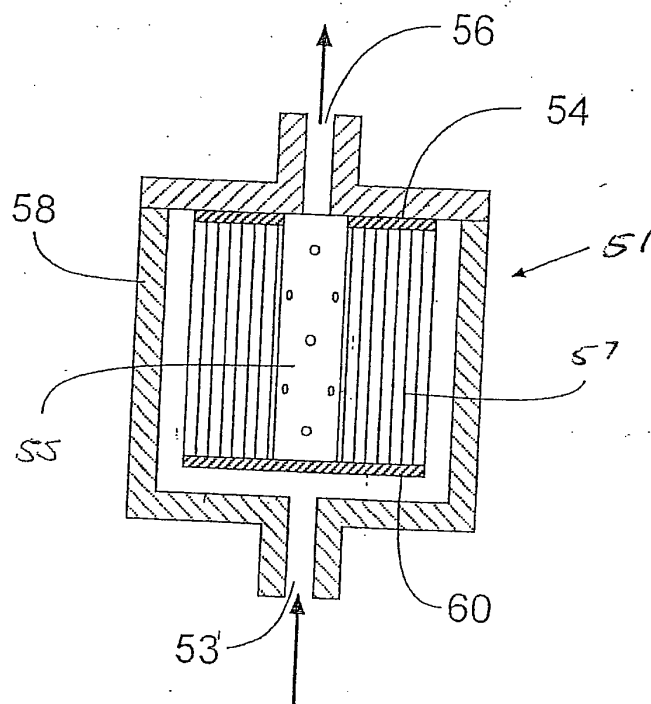


Figura 4

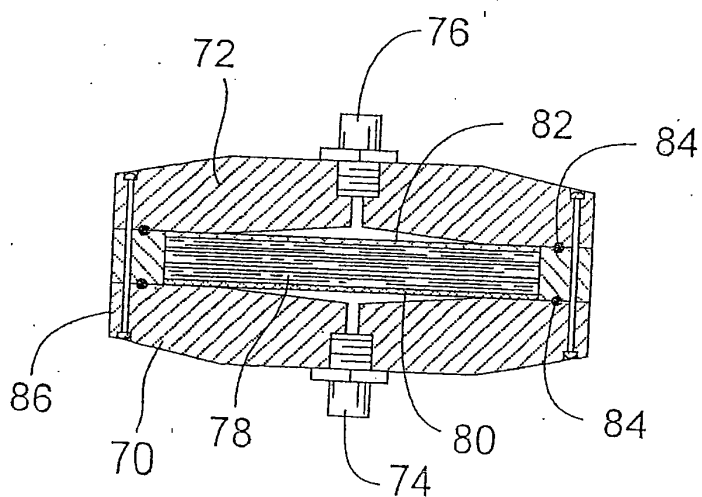


Figura 5

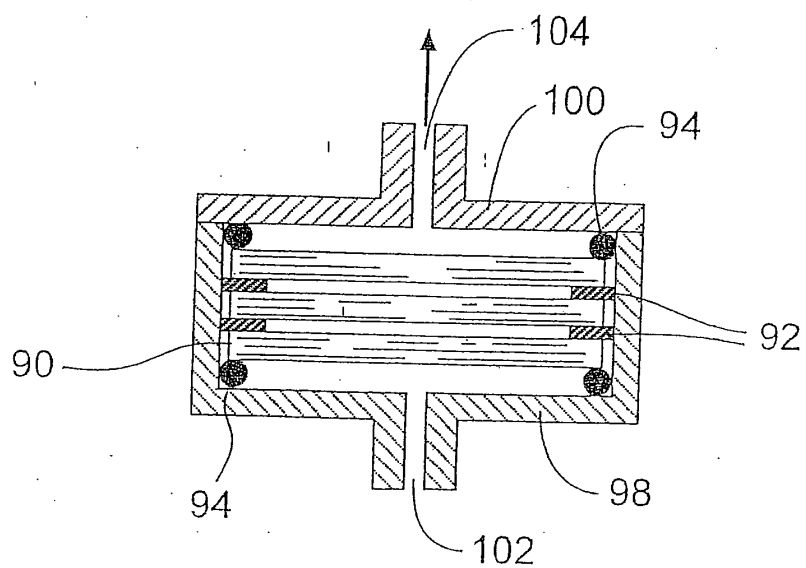


Figura 6

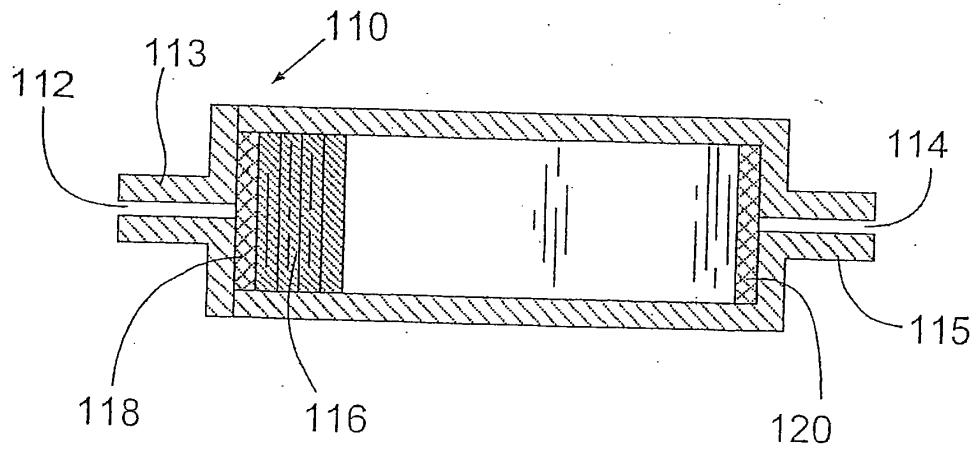


Figura 7

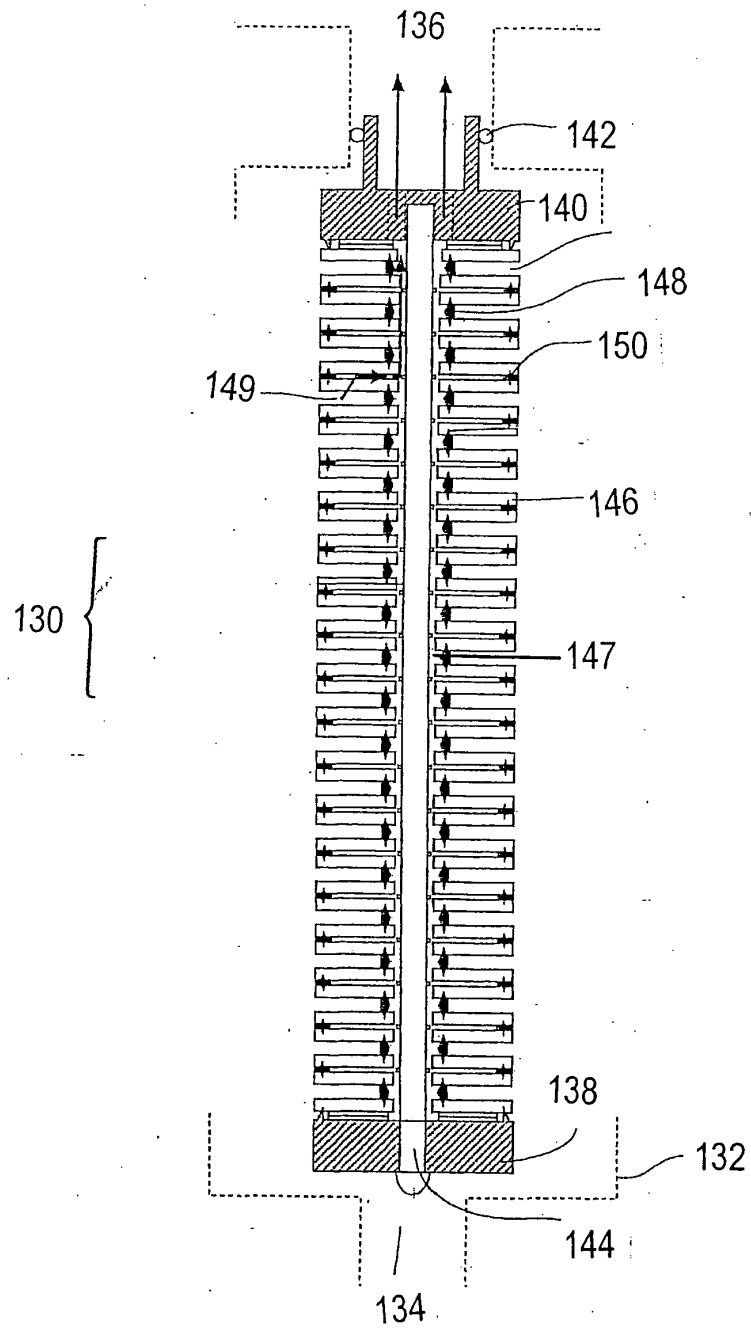


Figura 8

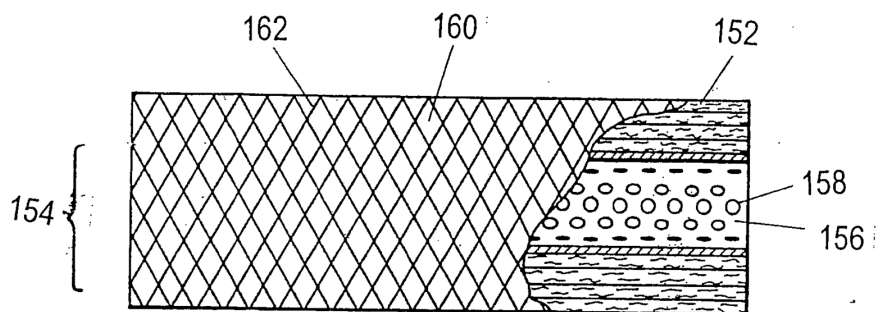


Figura 9

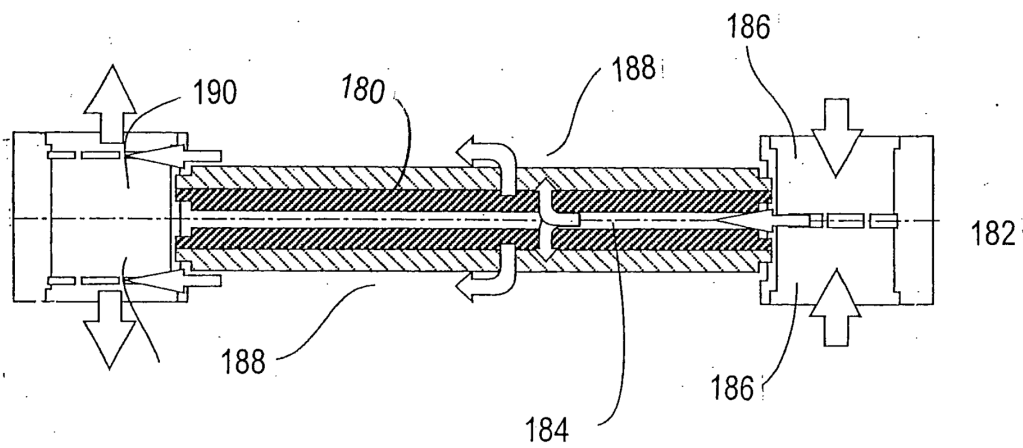


Figura 10