

CHO ZELLKULTUR

Aufreinigung einer mAk-produzierenden Zellkultur



HINWEIS

Seit Erstellung der Applikationsnote können Produktnamen und Filterschichttypen geändert haben.

Autor: Bettina Ledergerber

FILTROX AG, Moosmühlestrasse 6, 9001 St.Gallen, Schweiz

E-Mail: applications@filtrox.com

Datum: November 2021

Schlüsselwörter: CHO, monoklonale Antikörper, Zellkultur, Tiefenfiltration, Anschwemmfiltration, Voranschwemmung, Filterhilfsmittel, Aufreinigung, Prozessoptimierung, Kieselgur, Diatomeenerde

Inhalt

Zusammenfassung	2
1 Die Herausforderung	2
2 Material und Methoden	4
2.1 Set-up	4
2.2 Vorspülen und Voranschwemmung	4
2.3 Anschwemmfiltration	4
3 Resultate	6
3.1 Filtrationsversuche Nr. 1 – 7	6
3.2 Filtrationsversuche Nr. 8 und 9	6
4 Diskussion.....	8
5 Fazit.....	9

CHO ZELLKULTUR

Aufreinigung einer mAk-produzierenden Zellkultur



Zusammenfassung

Die Tiefenfiltration ist eine der effizientesten und wirtschaftlichsten Filtrationsarten und wird in der Biotechnologie-industrie häufig als erster Schritt nach der Kultivierung von Zellen zur Herstellung eines entsprechenden Proteins eingesetzt. Die Aufreinigung eines monoklonalen Antikörpers (mAk), der von CHO-Zellen (engl. «Chinese Hamster Ovary», Zellen der Ovarien des Chinesischen Zwerghamsters) produziert wurde, wird daher in Filtrationsexperimenten optimiert. In dieser Application Note werden die Herausforderungen und möglichen Lösungen für die Aufreinigung von mAks aus einer Säugetierzellsuspension nach der Kultivierung aufgezeigt.

Bisher wurde die Klärung einer entsprechenden CHO-Zellkultur nach der Kultivierung über drei Filtrationschritte durchgeführt. Durch die Zugabe eines Filterhilfsmittels zur unfiltrierten Zellkultur bildet sich auf der Filterschicht ein Filterkuchen, der zu einer erhöhten Filtrationsleistung führt und somit die drei Prozessschritte auf zwei reduziert. Die anfängliche Trübung von über 2000 NTU wird auf 26 NTU reduziert, was die anschließende Sterilfiltration über eine 0.2 µm Filtermembran ermöglicht. Danach können weitere Reinigungsschritte im nachgeschalteten Prozess (DSP) durchgeführt werden.

1 Die Herausforderung

Der Aufreinigungsprozess monoklonaler Antikörper kann auf unterschiedliche Weise durchgeführt werden. Der Schritt der Zellernte ist entweder der letzte Schritt im «Upstream Prozess» (USP) oder der erste Schritt im «Downstream Prozess» (DSP), weshalb in der vorliegenden Application Note von «Midstream Prozess» (MSP) gesprochen wird. Nach der erfolgreichen Entfernung von Zellen und Zellfragmenten nach der Kultivierung folgen weitere Aufreinigungsschritte des DSP.

Durch die Anwendung der Anschwemmfiltrationstechnik (auch Kuchen- oder alluviale Filtration genannt) können größere Partikel wie Zellen, Zellfragmente, aber auch kleinere Verunreinigungen (z. B. Wirtszell-DNA (HCD) oder Wirtszellprotein (HCP)) auf effiziente Weise entfernt werden. Der unefiltrierten Suspension wird eine entsprechende Menge Filterhilfsmittel zugesetzt (sogenannt body-feed), das zusammen mit den festen Partikeln, wie Zellen oder Zellfragmenten, während der Filtration einen Filterkuchen auf der Filterschicht bildet. Dadurch kann die Filtrationsleistung im Vergleich zur Filtration ohne Zugabe von Filterhilfsmitteln erheblich gesteigert werden (siehe Abbildung 1).

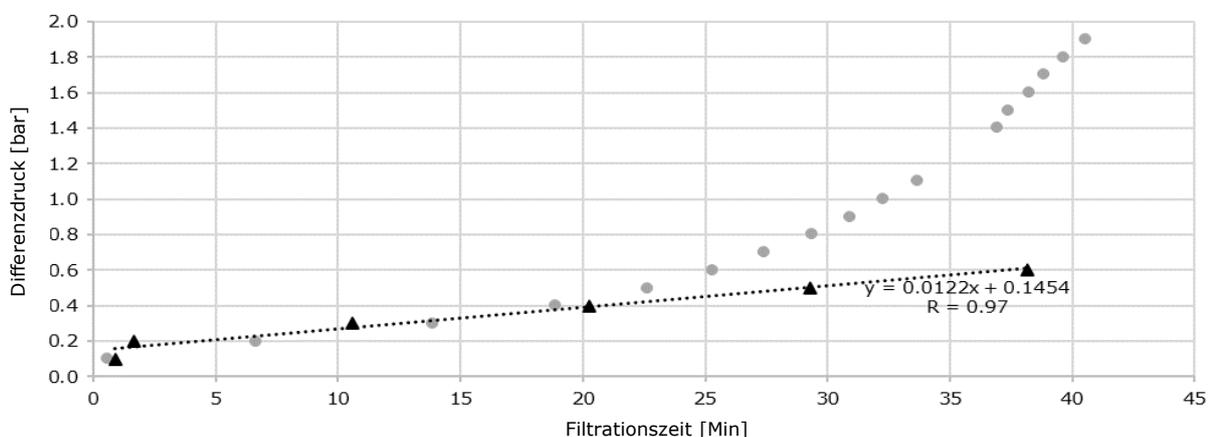


Abbildung 1. Vergleich der Standard-Tiefenfiltration mit der Anschwemmfiltration. Ohne Zugabe von Filterhilfsmitteln ist ein schneller und exponentieller Anstieg des Differenzdrucks zu beobachten (●). Durch die Zugabe von Filterhilfsmitteln ist ein linearer Druckanstieg messbar, wodurch die Filtrationskapazität deutlich erhöht wird (▲).

CHO ZELLKULTUR



Aufreinigung einer mAk-produzierenden Zellkultur

In der vorliegenden Application Note wird die Optimierung des Filtrationsprozesses einer mAk-enthaltenen CHO-Zellkultur im Detail gezeigt. Bislang wird die Suspension in drei Schritten filtriert, bevor eine Sterilfiltration mit einer 0.2 µm Membran durchgeführt werden kann (siehe Abbildung 2). Um die Sterilfiltration zu gewährleisten, muss vor jedem Filtrationsschritt ein Flockungsmittel zugegeben werden. Laborfiltrationstests mit FILTRONX Tiefenfilterschichten sollen durchgeführt werden, um die Anzahl Prozessschritte bei der Zellernte zu reduzieren. Ziel ist es dabei, das am besten geeignete Filterhilfsmittel sowie deren ideale Menge zu bestimmen und Trübungswerte unter 30 NTU zu erreichen, um eine anschließende Sterilfiltration zu garantieren. Als Filterhilfsmittel wird üblicherweise Diatomeenerde (DE), auch Kieselgur genannt, verwendet. Je nach den Eigenschaften der zu entfernenden Partikel kann eine andere DE Sorte besser oder auch schlechter geeignet sein. Für die Aufreinigung einer Zellsuspension, die mAks enthält, wird in diesem Fall die aufgereinigte pharmazeutische Kieselgur Celpure® (Imerys, Frankreich) verwendet. Es sind jedoch vier verschiedene Celpure®-Sorten erhältlich, und es muss ermittelt werden, welche für das jeweilige zu filtrierende Produkt und in welcher Menge am besten passt.

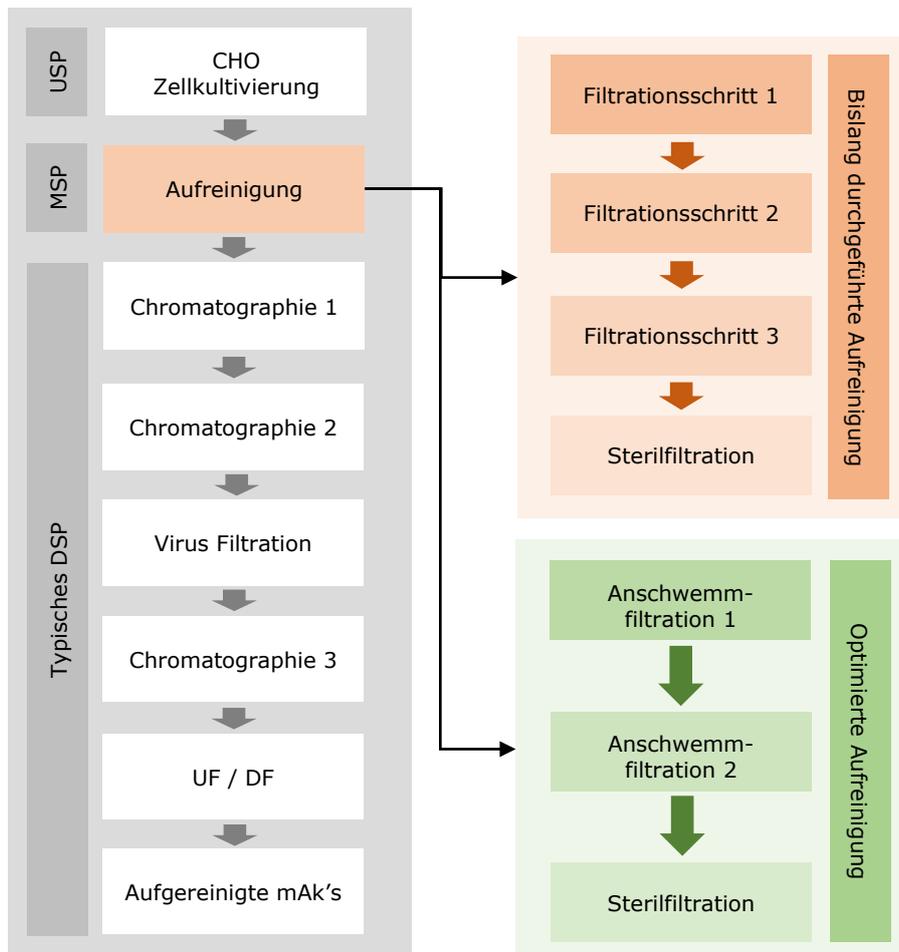


Abbildung 2: Klärung und Aufreinigung einer mAk-produzierenden CHO-Zellkultur. Bisher wurden drei Standardfiltrationsschritte angewandt, um eine anschließende Sterilfiltration mit einer 0.2 µm Membran zu gewährleisten. Dieser Prozess kann durch die Verwendung von FILTRONX Tiefenfilterschichten und durch den Einsatz der Anschwemmfiltrationstechnik optimiert werden. Dadurch reduziert sich die Anzahl der Aufreinigungsschritte.

CHO ZELLKULTUR

Aufreinigung einer mAk-produzierenden Zellkultur



2 Material und Methoden

2.1 Set-up

Der schematische Aufbau ist in Abbildung 3 dargestellt. Die entsprechende FILTROX PURAFIX® Tiefenfilterschicht wurde in eine FILTRODISC™ BIO SD 2" Kapsule (FILTROX) eingesetzt, die aus zwei Einzelteilen besteht. Im oberen Teil der Kapsule kann ein Filterkuchen aufgebaut werden (siehe Abbildung 3b). Anschliessend wurde die FILTRODISC™ Kapsule in den synthetischen Filterhalter (FILTROX, siehe Abbildung 3c) eingespannt, dieses an einem Laborstativ befestigt und der Einlass der Kapsule über einen Silikonschlauch #17 (Shenchen Precision Pump Co. Ltd.) mit einem Manometer (TRI-MATRIX AG) verbunden. Für die Förderung der CHO-Zellkultur wurde eine Peristaltikpumpe (Baoding Shenchen Precision Pump Co. Ltd. mit dem Pumpenkopf YZ1515x) verwendet. Der maximale Differenzdruck von 2.5 bar sollte nicht überschritten werden. Ein Manometer dient hier zur Kontrolle. Da die verwendete Schlauchpumpe einen maximalen Druck von 2 bar nicht überschreiten kann, wurden die Versuche jeweils vorzeitig abgebrochen. Die Messung der Trübung der ungefilterten und der gefilterten Proben erfolgte mit einem Trübungsmessgerät (Thermo Scientific™). Um die anschließende Sterilfiltration zu gewährleisten, wurde eine Sterilfilter-Membran Millipore Express SHC 0.2 µm mit 3.5 cm² Filterfläche) verwendet.

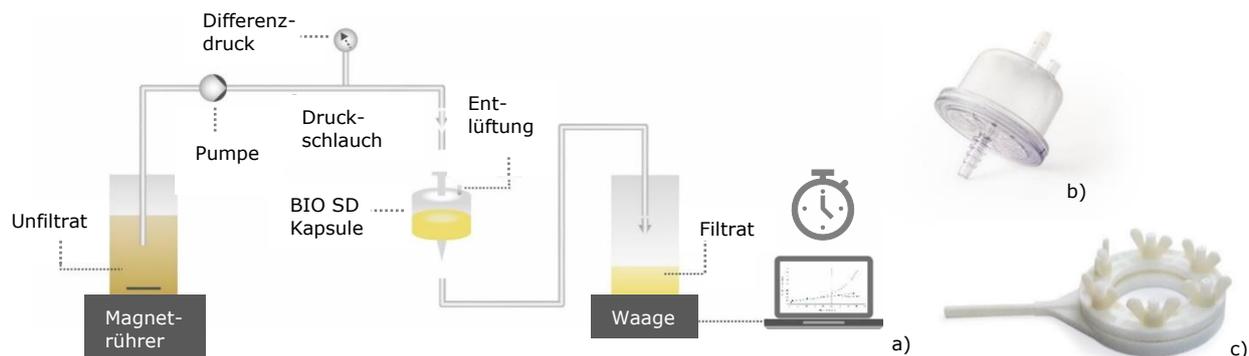


Abbildung 3: Schematische Übersicht des Versuchsaufbaus (a). Anschliessend an die Filtration mit einer PURAFIX® Tiefenfilterschicht, die in eine FILTRODISC™ BIO SD 2" Filterkapsule (b) und einen synthetischen Filterhalter (c) eingesetzt ist, wird das Filtrat in einem Messzylinder aufgefangen, um die zeitlichen Verläufe des Filtrationsflusses und des Differenzdrucks aufzuzeichnen. Alternativ zur Messung des Volumens mittels Messzylinder kann auch eine Waage verwendet werden.

2.2 Vorspülen und Voranschwemmung

Um alle losen Bestandteile aus der Tiefenfilterschicht herauszuspülen (z. B. Zellulosepartikel), wurden die Schichten vor jedem Filtrationstest mit 50 L/m² PBS-Puffer gespült. Da die Filterschichtfläche im Labormassstab 0.0021 m² beträgt, entspricht dies einem Spülvolumen von 100 mL.

Bei hoher Trubelbelastung kann es passieren, dass ein sehr schneller Druckanstieg innerhalb weniger Sekunden erfolgt. Um dies zu verhindern, kann zusätzlich eine Voranschwemmung, ein sogenannter Precoat, aufgebracht werden. Da eine Vorspülung der Filterschicht ohnehin empfohlen wird, kann eine entsprechende Menge des Filterhilfsmittels direkt in den PBS-Puffer gegeben werden.

2.3 Anschwemmfiltration

Im Labormaßstab wurden elf Filtrationsversuche durchgeführt. Da nicht alle Versuche am selben Tag durchgeführt werden konnten, wurden die Zelldichte und die Vitalität der Zellen an beiden Tagen gemessen. Die Filtrationsversuche 1 – 4

CHO ZELLKULTUR



Aufreinigung einer mAk-produzierenden Zellkultur

wurden am ersten Tag mit 12.7×10^6 Zellen/mL und einer Vitalität von 82.3 % durchgeführt, die restlichen Filtrationsversuche mit einer Zelldichte von 11.5×10^6 Zellen/mL und einer Vitalität von 80 %. Die ungefilterte CHO-Zellkultur wies einen Trübungswert von 2200 NTU auf. Wie in Tabelle 1 zu sehen ist, wurden die folgenden Parameter bei jedem Filtrationsexperiment jeweils variiert:

- Typ der Filterschicht
- Art und Menge des Filterhilfsmittels (für die Voranschwemmung)
- Art und Menge des Filterhilfsmittels (für den Body-Feed)

Tabelle 1: Übersicht aller Filtrationsversuche.

Test Nr.	Produkt	Filterschicht	Porengrösse [µm]	Voranschwemmung	Body-feed
-	Unfiltrierte Zellkultur	N/A	N/A	N/A	N/A
1	Unfiltrierte Zellkultur	PURAFIX® CH 9P	30-10	N/A	30 g/L, C300
2	Unfiltrierte Zellkultur	PURAFIX® CH 9P	30-10	N/A	30 g/L, C100
3	Unfiltrierte Zellkultur	PURAFIX® CH 9P	30-10	N/A	30 g/L C300 + C1000*
4	Unfiltrierte Zellkultur	PURAFIX® CH 9P	30-10	N/A	50 g/L, C300
5	Unfiltrierte Zellkultur	PURAFIX® CH 9P	30-10	3 g, C300	30 g/L, C300
6	Unfiltrierte Zellkultur	PURAFIX® CH 9P + CH 31HP*	30-10 / 12-5.0	3 g, C300	30 g/L, C300
7	Unfiltrierte Zellkultur	PURAFIX® CH 101HP	1.5-0.6	3 g, C300	30 g/L, C300
8.1	Unfiltrierte Zellkultur	PURAFIX® CH ST 140P	0.4-0.2	3 g, C300	30 g/L, C300
8.2	Filtrat 1.1	PURAFIX® CH ST 140P	0.4-0.2	3 g, C65	30 g/L C65
9.1	Unfiltrierte Zellkultur	PURAFIX® CH 101HP	1.5-0.6	3 g, C300	30 g/L C300 + C65**
9.2	Filtrat 2.1	PURAFIX® CH ST 150P	0.2-0.04	N/A	N/A

* doppellagig (beide Filterschichten in einer Kapsule).

** Mischung beider Celpure® Sorten (1:1).

Filtrationsversuche Nr. 1 – 7: Für den ersten Filtrationsversuch wurde zunächst 30 g/L body-feed des Filterhilfsmittels Celpure® C300 verwendet. Um die Versuche zu vergleichen, wurde bei den Versuchen 1 bis 3 nur der Typ des Filterhilfsmittels geändert. Verwendet wurde in allen drei Versuchen die grobporige Filterschicht PURAFIX® CH 9P. Auch in Versuch 4 kam dieselbe Filterschicht zum Einsatz, jedoch wurde der Zellkultur eine höhere Menge (50 g/L) des Filterhilfsmittels Celpure® C300 zugesetzt. Bei den ersten vier Versuchen wurde kein Precoat erstellt.

Vor den Versuchen 5 bis 7 wurde im Rahmen des Vorspülens ein Precoat mit 3 g Celpure® C300 erzeugt. Danach wurden 30 g/L des Celpure® C300 als body-feed zugegeben. Um die Trübungswerte weiter zu reduzieren, wurden in Versuch 6 und 7 die feineren Filterschichten PURAFIX® CH 31HP und CH 101HP eingesetzt.

Filtrationsversuche Nr. 8 und 9: Um Trübungswerte unter 30 NTU zu erreichen, wurden die in den Versuchen 8.1 und 9.1 erzeugten Filtrate in einem zweiten Schritt filtriert, Nr. 8.2 beziehungsweise Nr. 9.2. Für die Versuche 8.1 und 8.2 wurde die Sterilfilterschicht PURAFIX® CH ST 140P verwendet. Zur Entfernung größerer Partikel (z. B. ganzer Zellen) erfolgte

CHO ZELLKULTUR



Aufreinigung einer mAk-produzierenden Zellkultur

im ersten Schritt wiederum die Zugabe von Celpure® C300. Zur Entfernung von kleineren Zellfragmenten und weiteren Trübungen wurde im zweiten Schritt die etwas feinere DE-Sorte Celpure® C65 verwendet.

Im Versuch 9.1 wurde eine Mischung aus zwei unterschiedlichen Celpure® Typen in jeweils gleichen Mengen verwendet. Die Filterschicht PURAFIX® CH 101HP ist grobporiger als die im Versuch 8 verwendete Schicht, aber dicker, so dass mehr Partikel innerhalb der Filterschicht zurückgehalten werden können. Der anschliessende Schritt 9.2 wurde als Schichtenfiltration, das heisst ohne Filterhilfsmittel, durchgeführt. Die Wahl der Filterschicht viel dafür auf die PURAFIX® CH ST 150P, welche die feinste Filterschicht der FILTROX PURAFIX® Serie darstellt.

Zur Beurteilung der Filtrationsleistung aller Filtrationstests wurden der Filtrationsfluss, der Differenzdruck (DP) und die Trübungswerte über die Zeit aufgezeichnet.

3 Resultate

3.1 Filtrationsversuche Nr. 1 – 7

Es wurden verschiedene Kombinationen von Filterschichten, Kieselgurmengen und -sorten verwendet, wie in der Tabelle 1 dargestellt ist. Ausgehend von den Ergebnissen (in Bezug auf die erreichte Filtrationskapazität und die Trübungswerte) der ersten sieben Filtrationsversuche scheint eine zweistufige Filtration erforderlich zu sein.

3.2 Filtrationsversuche Nr. 8 und 9

Eine Übersicht über alle Ergebnisse der Versuche 8 und 9 ist in Tabelle 2 gezeigt. Der minimale spezifische Filtrationsfluss von 300 L/m²×h (10.5 mL/min) wurde in allen Versuchen aufgezeichnet.

Tabelle 2: Resultate der Filtrationsversuche Nr. 8 und 9.

Test Nr.	Produkt	Zeit [Min]	Spezifischer Flux [L/m ² ×h]	Max. DP [bar]	Volumen [mL]	Kuchenhöhe [cm]	Trübung [NTU]
-	Unfiltrierte Zellkultur	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	2200
8.1	Unfiltrierte Zellkultur	38	300	1.8	390	3.2	49.55 ± 2.55
8.2	Filtrat 1.1	34	310	0.55	370	3.2	26.50 ± 6.03
9.1	Unfiltrierte Zellkultur	40	300	2.0	420	3.2	45.17 ± 5.18
9.2	Filtrat 2.1	26	280	1.4	265	0	35.35 ± 8.65

Filtrationsversuch Nr. 8: In Versuch 8.1 wurde ab Minute 12 ein linearer Druckanstieg gemessen. Nach 38 Minuten erfolgte der Abbruch der Filtration, da der Differenzdruck (DP) bis zu 1.8 bar anstieg. Der entstandene Filterkuchen ist in der Abbildung 4 zu sehen. Das gesamte in diesem Versuch gewonnene Filtrat wurde im zweiten Schritt (8.2) filtriert, wobei die gleiche Filterschicht (PURAFIX® CH ST 140P), aber eine andere Kieselgur Sorte verwendet wurde. Hier wurde ein stabiler DP von etwa 0.5 bar über die Zeit gemessen. Die Trübungswerte lagen bei 49.55 ± 2.55 NTU (n=4) für Versuch 8.1 und 26.50 ± 6.03 NTU (n=4) für Versuch 8.2. Die zeitlichen Kurven des Filtrationsflusses, des Differenzdrucks und der Trübung sind in Abbildung 5 dargestellt.



Abbildung 4: Filterkuchen aus Test Nr. 8.1. Der Kuchen besteht aus Zellen sowie DE-Partikel.

CHO ZELLKULTUR



Aufreinigung einer mAk-produzierenden Zellkultur

Zusätzlich zum visuellen Vergleich wurde das in Versuch 8.2 erzeugte Filtrat erneut mit einer Sterilfilter-Membran (Millipore Express SHC 0.2 µm mit 3.5 cm² Filterfläche) filtriert. Eine weitere Trübungsreduktion konnte nicht erreicht, aber das gesamte Filtrat von 370 mL filtriert werden. Es wurde ein End-Druck von 1.4 bar gemessen.

Filtrationsversuch Nr. 9: Im Versuch 9.1 konnte ein größeres Volumen filtriert werden als im vorherigen Filtrationsversuch 8.1. Es wurde ein Trübungswert von $45.17 \pm 5,18$ NTU (n=4) gemessen. Wie in Abbildung 6 zu sehen ist, stieg der Differenzdruck bis auf 1.4 bar an und sank nach 24 Minuten auf 0.7 bar ab. Aufgrund des Trübungswertes von 35.35 ± 8.65 NTU (n=2) wurde die Filtration nach 26 Minuten abgebrochen und das erzeugte Filtrat nicht weiter sterilfiltriert.

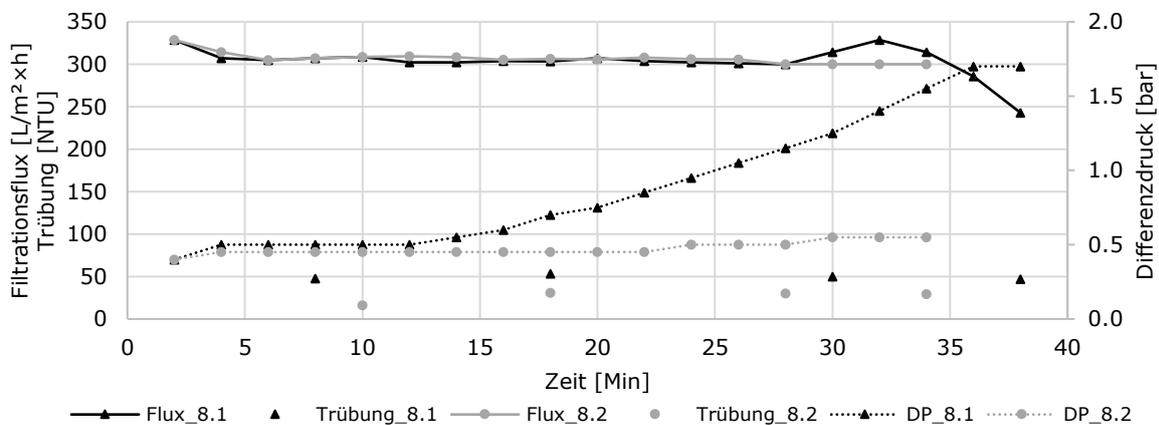


Abbildung 5: Zeitlicher Verlauf des Filtrationsflusses, des DP und der Trübung der Versuche 8.1 und 8.2. Im ersten Versuch wurde ab Minute 15 ein linearer Druckanstieg gemessen. Während der zweiten Filtration wurde ein stabiler Differenzdruck von etwa 0.45 bar beobachtet. Die anfängliche Trübung von 2000 NTU wurde auf 50 NTU (8.1) bzw. 26.5 NTU (8.2) reduziert.

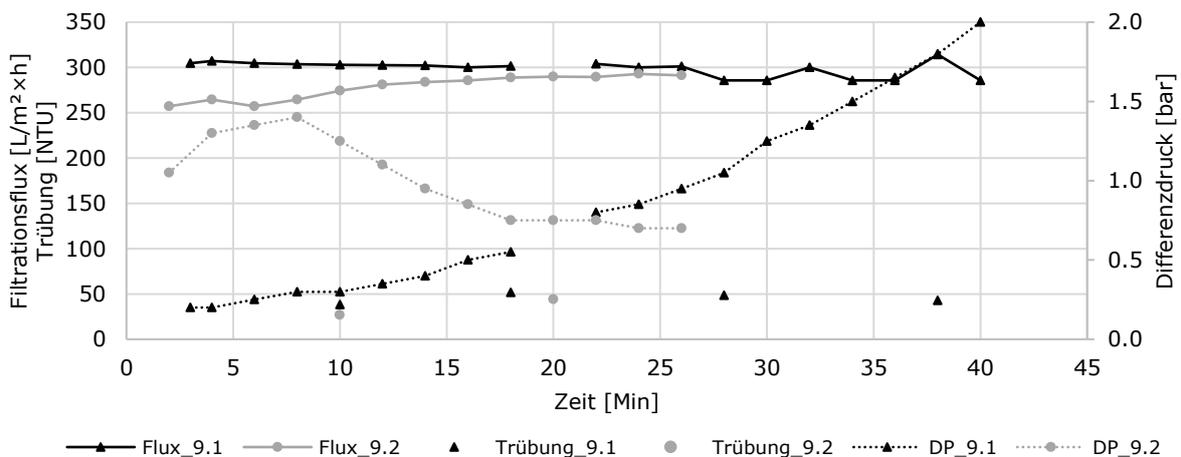


Abbildung 6: Zeitlicher Verlauf des Filtrationsflusses, des DP und der Trübung der Versuche 9.1 und 9.2. Der Druckanstieg des ersten Versuchs ist mit dem von Versuch 8.1 vergleichbar. Bei Versuch 9.2 wurde einige Minuten nach Beginn der Filtration ein leichter Druckanstieg gemessen. Er nahm jedoch wieder ab und blieb stabil bei rund 0.7 bar. Die anfängliche Trübung von 2000 NTU wurde auf 45 (9.1) bzw. 35 (9.2) NTU reduziert. Da Trübungswerte von weniger als 30 NTU erreicht werden sollten, wurde der Versuch 9.2 nach 26 Minuten abgebrochen.

CHO ZELLKULTUR

Aufreinigung einer mAk-produzierenden Zellkultur



4 Diskussion

Die Filtrationsversuche 1 - 7 waren notwendig, um die am besten geeignete Kieselgur (Sorte und Menge) und PURAFIX® Filterschicht für die entsprechende CHO-Zellkultur zu bestimmen. Basierend auf den erzielten Ergebnissen dieser Versuche wurden die Parameter (Filterschicht sowie Kieselgur Sorten und Mengen) für die Versuche 8 und 9 abgeleitet. Das erzeugte Filtrat aus Versuch 8 wies eine Trübung von 49.55 ± 2.55 NTU auf, was darauf hinweist, dass hauptsächlich ganze Zellen und größere Zellfragmente entfernt wurden. Durch den Einsatz der etwas feineren Kieselgur Celpure® C65 wurden im Schritt 8.2 kleinere Zellfragmente und weitere Trübstoffe entfernt.

Die im Unfiltrat gemessene Trübung von über 2000 NTU konnte durch die Anwendung einer zweitstufige Anschwemmfiltration auf Trübungswerte von ca. 26 NTU reduziert werden. Damit wurden Trübungswerte unter dem geforderten Wert von 30 NTU erreicht und das gesamte Filtrat konnte mittels 0.2 µm Filtermembran filtriert werden.

Zur weiteren Optimierung können in einem nächsten Schritt gegebenenfalls weitere Filtrationsversuche mit weiteren Kombinationen von Celpure® (Sorten und Mengen) mit FILTROX Tiefenfilterschichten durch-geführt werden. Nach der Evaluierung der geeigneten Kombinationen für den jeweiligen Prozess kann ein Scale-up für eine bestimmte Chargengröße berechnet werden. Zu diesem Zweck stehen unterschiedlich große Kapseln und Module aus der FILTROX FILTRODISC™ BIO SD Reihe zur Verfügung (siehe Abbildung 7). Die folgenden Berechnungen [1] und [2] dienen zur Ermittlung des minimalen Kuchenvolumens und der Filterfläche, die für die jeweilige Chargengröße im Pilot- oder Produktions-massstab erforderlich sind:

$$A_{\text{prod.}}[\text{m}^2] = \frac{V_{\text{prod.}}[\text{L}] \times A_{\text{test}}[\text{m}^2]}{V_{\text{test}}[\text{L}]} \quad [1]$$

$$c_{\text{prod.}}[\text{m}^3] = \frac{V_{\text{prod.}}[\text{L}] \times c_{\text{test}}[\text{m}^3]}{V_{\text{test}}[\text{L}]} \quad [2]$$

$A_{\text{prod.}}[\text{m}^2]$	Notwendige Filterfläche im Produktionsmassstab (für die entsprechende Batchgrösse)
$A_{\text{test}}[\text{m}^2]$	Verwendete Filterfläche im Labormassstab
$V_{\text{prod.}}[\text{L}]$	Volumen im Produktionsmassstab (Batchgrösse)
$V_{\text{test}}[\text{L}]$	Filtriertes Volumen im Labormassstab
$c_{\text{prod.}}[\text{m}^3]$	Kuchenvolumen im Produktionsmassstab (für die entsprechende Batchgrösse)
$c_{\text{test}}[\text{m}^3]$	Gemessenes Kuchenvolumen im Labormassstab (= Höhe des Filterkuchens [m] × verwendete Filterfläche [m ²])

CHO ZELLKULTUR

Aufreinigung einer mAk-produzierenden Zellkultur

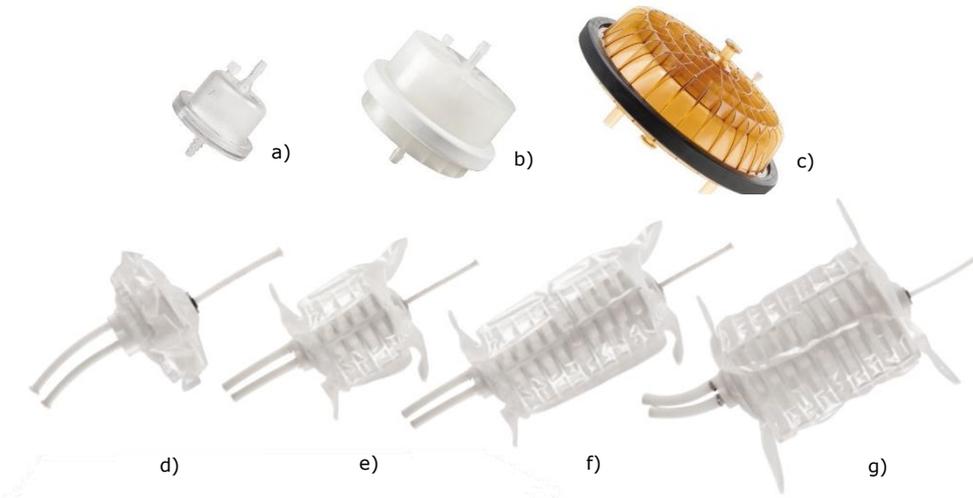


Abbildung 7: FILTRONDISC™ BIO SD Reihe. Die beiden Kapseln BIO SD 2" (a) und 5" (b) sind für Filtrationsversuche im Labormaßstab vorgesehen, während die BIO SD 10" Kapsel (c) für Filtrationen im Pilotmaßstab verwendet wird. Die Module 12K (d) und 12S (e) sind etwas größer als die 10" Kapsel und werden in der Regel ebenfalls im Pilotmaßstab eingesetzt. Die größten Module 12D (f) und 16D (g) werden für die Filtration im Produktionsmaßstab verwendet und unterscheiden sich im Durchmesser. Die Module sind von einem Bag umhüllt und werden zur Filtration in einem druckstabilen Edelstahlgehäuse eingesetzt.

5 Fazit

Zusammenfassend haben die Filtrationsversuche im Labormaßstab gezeigt, dass eine Verringerung der Filtrationsschritte innerhalb des Midstream Prozesses durch die Anschwemmfiltrationstechnologie erreicht werden kann (siehe Abbildung 8). Sie kann unmittelbar nach der USP eingesetzt werden und wird hauptsächlich zur Entfernung ganzer Zellen und größerer Zellfragmente verwendet. Es wurde eine Trübungsreduzierung von 2200 auf 26 NTU erreicht und eine Produktrückgewinnung von über 94 % gemessen. Um die im Labormaßstab erzielten Ergebnisse zu bestätigen, wird empfohlen, Tests im Pilotmaßstab durchzuführen, bevor im Produktionsmaßstab produziert wird.

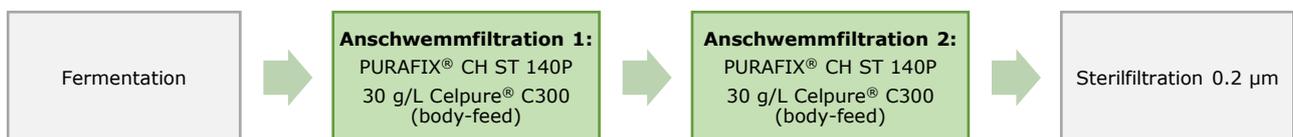


Abbildung 8: Optimierter Klärungsprozess einer mAk-produzierenden CHO-Zellkultursuspension. Eine zweistufige Filtration war notwendig, um die anfängliche Trübung von >2000 NTU auf unter 30 NTU zu reduzieren.