Figura 2 Resumen del proceso de purificación

Etapa	Descripción
Cromatografía de Proteína A (Amgen)	Se aplicó la cosecha del cultivo celular clarificado a la columna; se eluyó STM 434 con acetato de sodio 100 mM, pH 3,6; se almacenó a 2-8 °C (ciclos múltiples)
Inactivación viral (Amgen)	El pool de Proteína A combinado se llevó a 20 °C, pH 3,6; se mantuvo pH bajo durante 60-90 min; se ajustó el pool a pH 5,0 con base Tris 2M; se hizo pasar el pool de inactivación post-viral a través de un filtro de clarificación seguido por un filtro de 0,5 um/0,2 um
Intermediario de la sustancia del fármaco (puede almacenarse congelado; luego se procesa mediante CMC Biologics	
Cromatografía de intercambio de cationes (CEX)	Se hizo pasar DSI (descongelado si se congeló previamente) a través de una columna EDM Fractogel SO3; se recolectó el pool que contenía el producto como flujo (un ciclo)
Cromatografía de interacción hidrofóbica (HIC)	Se acondicionó el pool CEX mediante el agregado de un búfer de dilución HIC (sulfato de sodio 750 mM), acetato de sodio 250 mM, base Tris 69,5 mM, pH 10,5; pool CEX/búfer de dilución HIC = 4:1 [vol/vol])
	Se equilibró la columna de fenil sefarosa FF High Sub con sulfato de sodio 150 mM, acetato de sodio 50 mM, pH 5,5; se acondicionó el pool CEX cargado; se recogió el pool que contenía el producto como flujo (dos ciclos)
Filtración viral	Se hizo pasar el pool HIC combinado a través de un filtro Planova 20N
Filtración de flujo tangencial (TFF)	El filtrado viral sometido a intercambio de búfer mediante diafiltración contra fosfato de potasio 10 mM, sacarosa al 8,8 %, pH 6,7, seguido por la ultrafiltración para concentrar el producto, luego enjuague del sistema y dilución para alcanzar la concentración objetivo de 70 mg/mL
Formulación final	El retentato TFF final alcanzó su máximo con polisorbato 20 hasta una concentración final de 0,006 % (peso/vol)
Filtración a granel y relleno	La sustancia de fármaco a granel se hiso pasar a través de un filtro de 0,22 um dentro de garrafas de policarbonato (volumen objetivo: 5,5 L por garrafa)
Sustancia del fármaco (almacenada a -70 °C)	