

REIVINDICACIONES

1. Un proceso para la purificación de una proteína de interés a partir de una mezcla,

CARACTERIZADO porque comprende las etapas de:

- a) en un ciclo de cromatografía operacional cargar un primer volumen de una mezcla que contiene la proteína de interés de un primer contenedor a una matriz de cromatografía operacional de manera que la proteína se una a la matriz de cromatografía hasta que se alcanza un 40% a 100% de la capacidad de unión estática de la matriz de cromatografía;
- b) recolectar el flujo que contiene las proteínas de interés no unidas en un segundo contenedor, y
- c) en un ciclo cromatográfico operacional adicional volver a cargar el flujo proveniente del segundo contenedor y cargar un segundo volumen de la proteína de interés proveniente del primer contenedor a la misma matriz de cromatografía, operada de tal manera que la proteína de interés se une a la matriz de cromatografía hasta que se alcanza el 40% a 100% de la máxima capacidad de unión estática de la matriz de cromatografía;

en donde la recarga del flujo proveniente del segundo contenedor a la matriz de cromatografía se realiza antes de la carga del segundo volumen de la mezcla que contiene la proteína de interés desde el primer contenedor a la matriz de cromatografía.

2. Un proceso para la purificación de una proteína de interés a partir de una mezcla,

CARACTERIZADO porque comprende las etapas de:

- a) en un ciclo de cromatografía operacional cargar un primer volumen de una mezcla que contiene la proteína de interés proveniente de un primer

contenedor a una matriz de cromatografía operacional de modo que se exceda la capacidad de unión dinámica de la matriz de cromatografía;

- b) recolectar el flujo que contiene las proteínas de interés no unidas en un segundo contenedor, y
- c) en un ciclo cromatográfico operacional adicional volver a cargar el flujo proveniente del segundo contenedor y cargar un segundo volumen de la proteína de interés proveniente del primer contenedor a la misma matriz de cromatografía, operada de modo que se exceda la capacidad de unión dinámica de la matriz de cromatografía;

en donde la recarga del flujo proveniente del segundo contenedor a la matriz de cromatografía se realiza antes de la carga del segundo volumen de la mezcla que contiene la proteína de interés desde el primer contenedor a la matriz de cromatografía.

- 3. El proceso de acuerdo a la reivindicación 2, **CARACTERIZADO** porque en la etapa (a) la carga de la proteína de interés se detiene cuando al menos se alcanza el 40% de la máxima capacidad de unión estática.
- 4. El proceso de acuerdo a la reivindicación 1, 2 ó 3, **CARACTERIZADO** porque el ciclo de cromatografía operacional adicional es el ciclo de cromatografía que continúa inmediatamente.
- 5. El proceso de acuerdo a la reivindicación 1, 2, 3 ó 4, **CARACTERIZADO** porque la recolección del flujo se inicia a una primera concentración de proteína de interés predeterminada en el flujo y se detiene a una segunda concentración de proteína de interés predeterminada en el flujo.

6. El proceso de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, **CARACTERIZADO** porque una fracción predeterminada del flujo se recolecta en el segundo contenedor.
7. El proceso de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, **CARACTERIZADO** porque el flujo es procesado antes de ser recargado en la matriz de cromatografía, siendo el procesamiento seleccionado de extracción o agitación, dilución, ajuste de concentración, ajuste de pH, ajuste de conductividad, intercambio de tampón o de solvente, enfriamiento o calentamiento o cualquier combinación de los mismos.
8. El proceso de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, **CARACTERIZADO** porque la cromatografía se selecciona de cromatografía de afinidad, cromatografía de intercambio iónico, cromatografía de interacción hidrofóbica, cromatografía de modo mixto, cromatografía quiral o cromatografía dieléctrica.
9. El proceso de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, **CARACTERIZADO** porque el proceso comprende un tercer ciclo de cromatografía operacional.
10. El proceso de acuerdo a la reivindicación 9, **CARACTERIZADO** porque el proceso comprende cromatografía de Proteína A, seguida de una cromatografía de intercambio catiónico, seguida por una cromatografía de intercambio aniónico.
11. El proceso de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, **CARACTERIZADO** porque una, dos, tres, o todas la(s) matriz/matrices de cromatografía es/son una columna de cromatografía.

12. El proceso de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, **CARACTERIZADO** porque la proteína de interés es un anticuerpo o un fragmento de anticuerpo.
13. Un método de fabricación de una proteína de interés, **CARACTERIZADO** porque comprende:
- cultivar células huésped transformadas con uno o más vectores de expresión que codifican la proteína de interés;
 - clarificar el sobrenadante y recuperar la fase líquida después de la clarificación para obtener la mezcla que contiene la proteína de interés; y
 - purificar la proteína de interés mediante la realización de un proceso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12 sobre la mezcla que comprende la proteína de interés.