

REIVINDICACIONES

1. Un método para inactivar virus en una mezcla, comprendiendo el método:
 eluir, de una columna de cromatografía, la mezcla a un pH superior a 3,9 e inferior a 8,5;
 medir una concentración de proteína de la mezcla;
 con base en la concentración de proteína de la mezcla, calcular la cantidad de ácido necesaria para reducir el pH de la mezcla a un pH de inactivación, en donde la cantidad de ácido necesaria para reducir el pH de la mezcla al pH de inactivación se calcula de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$w = Ax + By + C$$

donde w es la cantidad de ácido en moles de ácido por kilogramo de mezcla, x es la concentración de proteína de la mezcla en gramos por litro, y es el pH de inactivación y A, B y C son constantes;

agregar una primera porción de ácido a la mezcla, donde la primera porción de ácido es del 68% al 99% de la cantidad de ácido necesaria para reducir el pH de la mezcla al pH de inactivación; y

añadir una porción adicional de ácido a la mezcla de modo que el pH de la combinación de mezcla y ácido sea igual o inferior al pH de inactivación.

2. El método de la reivindicación 1, que comprende además:
 mantener la combinación al pH de inactivación durante un intervalo de inactivación, en donde el intervalo de inactivación es de 20 minutos a 90 minutos; y

después del intervalo de inactivación, titular la combinación a un pH mayor o igual a 4,5 y menor o igual a 8,5, donde la combinación se titula menos de una hora después de que se agrega la primera porción de ácido a la mezcla.

3. El método de la reivindicación 1, que comprende además medir el pH de la mezcla antes de añadir la primera porción de ácido a la mezcla.
4. El método de la reivindicación 1, en el que:
A es mayor o igual a 0,0003 L·mol/g·kg y menor o igual a 0,0006 L·mol/g·kg;
B es mayor o igual a -0,1 mol/kg y menor o igual a 0,0 mol/kg; y
C es mayor o igual a 0,02 y menor o igual a 0,1.
5. El método de la reivindicación 1, en el que la cantidad de ácido necesaria para reducir el pH de la mezcla al pH de inactivación es de 0,002 moles a 0,025 moles de ácido por kilogramo de mezcla.
6. El método de la reivindicación 1, en el que el pH de inactivación es menor o igual a 3,85 y mayor o igual a 2,95.
7. El método de la reivindicación 1, que comprende además:
medir la conductividad de la mezcla; y
agregar una o más sales a la mezcla en una cantidad suficiente para ajustar la conductividad de la mezcla, en donde la una o más sales incluyen sales de metales

alcalinos, sales de metales alcalinotérreos, haluros, o uno o más compuestos ionoactivos.

8. El método de la reivindicación 1, en el que la columna de cromatografía está configurada para realizar un proceso de captura por afinidad de proteínas.
9. El método de la reivindicación 1, en el que, después de agregar la primera porción de ácido y antes de agregar la porción adicional de ácido, el pH de la mezcla está entre 3,45 y 3,8.
10. Un método para inactivar virus en una mezcla, comprendiendo el método:
cargar una mezcla que incluye una molécula diana en una columna de cromatografía, teniendo la mezcla un pH mayor o igual a 4,95 y menor o igual a 8,55;
eluir, de la columna de cromatografía, una mezcla eluida que incluye la molécula diana, teniendo la mezcla eluida un pH superior a 3,85 e inferior o igual a 5,05;
agregar una cantidad de ácido a la mezcla eluida, formando una combinación de la mezcla eluida y el ácido, en donde la combinación está configurada para demostrar una inactivación viral efectiva y la combinación tiene un pH menor o igual a 3,85 y mayor o igual a 2,95;
predeterminar un pH esperado de la combinación usando un modelo de confirmación de pH;
registrar un pH de la combinación;
calcular una diferencia entre el pH esperado y el pH registrado; y

basado en la diferencia calculada entre el pH esperado y el pH registrado, tomar una acción correctiva, en donde la acción correctiva incluye ajustar un medidor de pH, ajustar una composición de la mezcla, ajustar una o más condiciones ambientales, o una combinación de las mismas.

11. El método de la reivindicación 10, donde la acción correctiva se toma si la diferencia entre el pH esperado y el pH registrado es mayor o igual a 0,15.
12. El método de la reivindicación 10, en el que la combinación se mantiene a un pH menor o igual a 3,85 y mayor o igual a 2,95 durante al menos 30 minutos.
13. El método de la reivindicación 10, que comprende además:
titular la combinación a un pH mayor o igual a 4,45 y menor o igual a 8,55, menos de una hora después de agregar la cantidad de ácido a la mezcla.
14. El método de la reivindicación 10, que comprende además:
medir la conductividad de la mezcla; y
agregar una o más sales a la mezcla en una cantidad suficiente para ajustar la conductividad de la mezcla, en donde la una o más sales incluyen sales de metales alcalinos, sales de metales alcalinotérreos, haluros, o uno o más compuestos ionoactivos.
15. El método de la reivindicación 10, que comprende además:
medir el pH de la mezcla antes de añadir la cantidad de ácido a la mezcla; y

medir una concentración de proteína de la mezcla.

16. El método de la reivindicación 15, en el que el modelo de confirmación de pH incluye la siguiente ecuación:

$y = Kx + Lw + Mz + N$ donde y es el pH de la combinación, x es la concentración de proteína de la mezcla en gramos por litro, z es el pH de la mezcla antes de agregar la cantidad de ácido a la mezcla, w es la cantidad de ácido que se agrega a la mezcla en moles de ácido por kilogramo de eluato, y K , L , M y N son constantes.

17. Un método para desarrollar un protocolo de inactivación ácida para una mezcla, comprendiendo el método:

producir un conjunto de muestras de eluato de la mezcla, en el que cada muestra de eluato del conjunto de muestras de eluato contiene una molécula diana purificada en un proceso de captura por afinidad de proteínas;

medir un pH y una concentración de proteína de cada muestra de eluato;

valorar cada muestra de eluato del grupo de muestras de eluato para determinar una cantidad de ácido necesaria para llevar cada muestra de eluato a un pH de inactivación;

usar cada muestra de eluato del conjunto de eluatos para determinar un punto de datos;

y

usando los puntos de datos, hacer una regresión de una relación entre la cantidad de ácido necesaria para llevar la mezcla a un pH de inactivación, la concentración de proteína de la mezcla, el pH de la mezcla y el pH de inactivación.

18. El método de la reivindicación 17, que comprende además la regresión de un modelo de confirmación.
19. El método de la reivindicación 17, que comprende además usar al menos un eluato del conjunto de eluatos para determinar más de un punto de datos.
20. Un método para inactivar virus en una mezcla, comprendiendo el método:
medir una concentración de proteína de la mezcla;
con base en la concentración de proteína de la mezcla, calcular la cantidad de ácido necesaria para reducir el pH de la mezcla a un pH de inactivación; y
añadir la cantidad de ácido necesaria para llevar el pH de la mezcla al pH de inactivación de la mezcla.
21. El método de la reivindicación 20, que comprende además predeterminar un pH esperado de la mezcla después de agregar el ácido a la mezcla, utilizando un modelo de confirmación de pH.
22. El método de la reivindicación 21, que comprende además:
registrar un pH de la combinación del ácido y la mezcla;
calcular una diferencia entre el pH esperado y el pH registrado; y
basado en la diferencia calculada entre el pH esperado y el pH registrado, tomar una acción correctiva, en donde la acción correctiva incluye ajustar un medidor de pH, ajustar una composición de la mezcla, ajustar una o más condiciones ambientales, o una combinación de las mismas.

23. El método de la reivindicación 20, que además comprende, antes de agregar la cantidad de ácido:
- medir la conductividad de la mezcla; y
- agregar una o más sales a la mezcla en una cantidad suficiente para ajustar la conductividad de la mezcla, en donde la una o más sales incluyen sales de metales alcalinos, sales de metales alcalinotérreos, haluros, o uno o más compuestos ionoactivos.
24. El método de la reivindicación 1, en donde la mezcla incluye un anticuerpo monoclonal con un peso molecular de 130 kDa a 200 kDa.
25. El método de la reivindicación 1, en donde la mezcla incluye un anticuerpo monoclonal con un peso molecular de 126 kDa a 154 kDa.
26. El método de la reivindicación 10, en donde la molécula diana es un anticuerpo monoclonal con un peso molecular de 130 kDa a 200 kDa.
27. El método de la reivindicación 10, en donde la molécula diana es un anticuerpo monoclonal con un peso molecular de 126 kDa a 154 kDa.
28. El método de la reivindicación 17, en donde la molécula diana es un anticuerpo monoclonal con un peso molecular de 130 kDa a 200 kDa.
29. El método de la reivindicación 17, en donde la molécula diana es un anticuerpo monoclonal con un peso molecular de 126 kDa a 154 kDa.

30. El método de la reivindicación 20, en donde la mezcla incluye un anticuerpo monoclonal con un peso molecular de 130 kDa a 200 kDa.
31. El método de la reivindicación 20, en donde la mezcla incluye un anticuerpo monoclonal con un peso molecular de 126 kDa a 154 kDa.