

Jatkuvat tuotantomenetelmät monoklonaalisten vasta-aineiden tuotannossa

TkK-tutkielma
Turun Yliopisto
biotekniikan laitos
biotekniikka

Laatija:
Oskari Jacobsson

12.11.2025
Turku

Turun yliopiston laatujärjestelmän mukaisesti tämän julkaisun alkuperäisyys on tarkastettu Turnitin OriginalityCheck -järjestelmällä.

Kandidaatintutkielma

Tutkinto-ohjelma, oppiaine: Tekniikan kandidaatin tutkinto, Biotekniikka

Tekijä: Oskari Jacobsson

Otsikko: Jatkuvat tuotantomenetelmät monoklonaalisten vasta-aineiden tuotannossa

Ohjaaja: dosentti, yliopistonlehtori Anssi Malinen

Sivumäärä: 17 sivua

Päivämäärä: 12.11.2025

Monoklonaaliset vasta-aineet ovat kysytyimpien biolääkkeiden joukossa. Niiden kallis tuottaminen pakottaa yritykset etsimään tehokkaampia tuottomenetelmiä, mihin jatkuva tuotanto antaa hyvän vaihtoehdon. Tutkielman tavoite on kertoa, miten jatkuvia tuotantotekniikoita voidaan käyttää tällä hetkellä ja tulevaisuudessa monoklonaalisten vasta-aineiden tuottamisessa, sekä johdattaa lukija jatkuvan tuotannon hyötyihin vasta-aineiden ja biomolekyylien tuottamisessa. Jatkuva tuotanto perustuu välituotteiden jatkuvaan virtaamiseen koko prosessin läpi mahdollisimman pienillä välipysähdyksillä. Siinä käytetään automatisointia ja osaprosesseja jotka on suunniteltu takaamaan jatkuva läpivirta. Ylävirran jatkuvia tekniikoita on jo integroitu osaksi biomolekyylien tuottoa ja etenkin perfuusion hyödyt ymmärretään hyvin. Perfuusion suosituimpia solunpidätystekniikoita tangentiaalista suodatusvirtausta sekä uudempaa vaihtuvaa tangentiaalista suodatusvirtausta hyödynnetään, ja uusia retentiolaitteita, kuten ultraääniä hyödyntäviä solunpidätyslaitteita, kehitellään jatkuvasti. Alavirran jatkuvat prosessit vasta-aineiden tuotossa eivät ole yhtä kehittyneitä kuin ylävirralla, mutta niitäkin on otettu käyttöön tuotantoprosesseissa. Monipylväskromatografian eri versiot ja muut jatkuvat Proteiini A -kromatografiat tehostavat vasta-aineiden puhdistamista epäpuhtauksista verrattuna eräprosesseihin. Alavirran puhdistuksen yhdistäminen suoraan ylävirtaan jatkuvaksi prosessiksi on suuri kehityskohta, joka voi parantaa vasta-aineiden tuottotehokkuutta. Prosessianalyttiset teknologiat ovat ensiarvoisen tärkeässä osassa jatkuvien osaprosessien yhdistämisessä yhteinäiseksi kokonaisuudeksi. Tarvitaankin tarkempia sekä suoraviivaisempia sensoreita ja mittauslaitteita, jotta jatkuvan tuotannon hyödyt voidaan realisoida. Jatkuvaa ja erätuotantoa on vertailtu kokeellisesti ja jatkuvalla tekniikalla voidaan tuottaa vertailukelpoista vasta-ainetta 4,6-kertaa tehokkaammin verrattuna erätuottoon. Jatkuvan tuotannon on havaittu tuotantotehokkuuden lisäämisen ohella pienentävän päästöjä ja tuotantokuluja. Monet yritykset ovatkin ottaneet jatkuvan tuotannon tekniikoita käyttöön viime vuosina ja sen arvioidaan olevan nouseva trendi.

Avainsanat: vasta-aine, jatkuva tuotanto, erätuotanto, perfuusio, PAT, proteiini A -kromatografia

Sisällysluettelo

1	Johdanto	2
2	Jatkuvat tuotantotekniikat biomolekyylien tuotannossa	3
2.1	Perfuusiotekniikat	3
2.2	Prosessianalyttinen teknologia	5
3	Jatkuvat osaprosessit vasta-ainetuotannossa	6
3.1	Ylävirta	6
3.2	Alavirta	6
3.3	osaprosessien integraatio tuotantoketjuksi	9
4	Jatkuvan tuotannon hyödyt	11
5	Trendit	13
6	Yhteenveto	15
7	Lähteet	16

1 Johdanto

Monoklonaaliset vasta-aineet ovat bioteknisesti valmistettuja immunoglobuliiniproteiineja, jotka tunnistavat tietyn antigeenin tietyn epitoopin johon ne sitoutuvat spesifisti. Vasta-aineita käytetään immunoterapiassa lukuisiin eri tarkoituksiin, muun muassa hoitamaan syöpiä, autoimmuunisairauksia ja virusinfektioita. (Alejandra ja muut 2023) Vasta-aineet ovat käytetyimpiä terapeuttisia proteiineja ja viidestä suosituimmasta neljä on vasta-aineita. Niiden avulla on kehitetty lukuisia hoitomuotoja, mikä on mahdollistanut vasta-aine-teollisuuden nopean kasvun. Vuosittain hyväksytään noin neljä uutta vasta-ainetta ja vuodesta 2017 niitä on hyväksytty kliniseen käyttöön 78. (Yang ja muut 2019)

Monoklonaalisia vasta-aineita tuotetaan nisäkässoluissa. 60 prosenttia vasta-aineista tuotetaan kiinankääpiöhamsterin munasarjasoluissa ja 40 prosenttia myeloomasoluissa. (Maruthamuthu ja muut 2020) Vasta-aine on proteiini, joka syntyy solun kasvun tuotteena ja eritetään solunulkoisesti soluliukseen. (Alejandra ja muut 2023) Tällaiset solukasvatusprosessit perustuvat tuottosolujen kasvatukseen tuotantoreaktorissa ja niiden erittämien proteiinien keräämiseen. Kerätty proteiini sisältävä liuos puhdistetaan niin, että saadaan vain haluttu tuote. Tällaiset tuotto-prosessit ovat laajalti eräprosesseja, joissa jokainen proteiinintuotannon osa solujen kasvatuksesta proteiinituotteen lopulliseen puhdistamiseen suoritetaan yksi kerrallaan ja erillään. (Matanguihan ja Wu 2022)

Biologisten lääkkeiden tuottaminen on kallista ja aiheuttaa korkeita kustannuksia niitä tuottaville yrityksille. Korkeat tuottokustannukset johtavat biolääkkeiden korkeisiin hintoihin kuluttajien näkökulmasta. Biologisten lääkkeiden, etenkin vasta-aineiden, korkeaan kysyntään pyritään vastaamaan tuotantoprosessien tehostamisella. Eräprosesseja eivät enää pysty vastaamaan tarpeeseen tuottaa yhä suurempia määriä biolääkkeitä ja uusia entistä tehokkaampia, muokattavampia ja automatisoidumpia tekniikoita etsitään kaiken aikaa. Jatkuva tuotanto ja sen mahdollistavat menetelmät nousevat kaiken aikaa suositummaksi biolääketeollisuudessa. Jatkuvan tuotannon implementaatio tuotantoprosesseihin voi tehdä biolääkkeiden tuottamisesta kestävämpää, tehokkaampaa, edullisempaa ja tarjota myös ekologisemman vaihtoehdon perinteiselle erätuotannolle. Sääntelyviranomaiset ovat kehottaneet jatkuvan tuotannon käyttöön biolääketeollisuudessa. Näistä syistä johtuen monet yritykset ovatkin ottaneet jatkuvia tuotantomenetelmiä käyttöönsä, ja jo vuonna 2015 yhdeksäntoista biologisen tuotteen valmistuksessa oli hyödynnetty jatkuvia tekniikoita. (Khanal ja Lenhoff 2021) Tässä opinnäytetyössä käsitellään erilaisia jatkuvia tuotantotekniikoita, sekä jatkuvan tuotannon trendejä ja hyötyjä monoklonaalisten vasta-aineiden tuottamisessa ja samalla muiden biolääkkeiden tuottamisessa.

2 Jatkuvat tuotantotekniikat biomolekyylien tuotannossa

Biomolekyylien tuotantoprosessi on aina monivaiheinen prosessi. Eräprosesseissa lähtöaineet käyvät yhden tuotto-prosessin vaiheen läpi kerrallaan, ja kerääntyvät säiliöihin odottamaan kunnes yksittäinen prosessi on täysin valmis. Yhden eräprosessin jälkeen reaktiotuotteet ja saadut materiaalit ajetaan seuraavan prosessin läpi. Jatkuva tuotanto pyrkii minimoimaan materiaalin odottamisen tankeissa ja aloittamaan seuraavan tuotto-prosessin heti kun materiaali on käynyt läpi edellisen prosessin. Jatkuvassa tuotannossa tarkoituksena on saada eri prosessit toimimaan rinnakkain ja jatkuvasti saaden aikaan tuotteen tasaisen virtaamisen osaprosessista toiseen. (Kavara ja muut 2020)

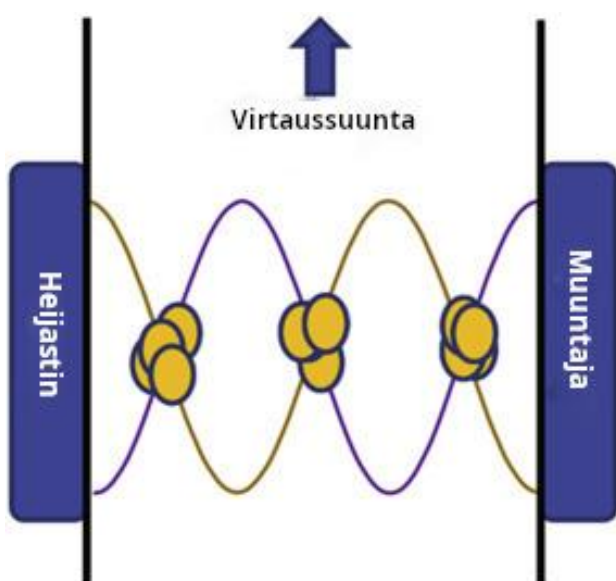
2.1 Perfuusiotekniikat

Perfuusio on ylävirran prosessi, joka perustuu tuottosolujen aineenvaihdunnan reaktiotuotteiden keräämiseen kasvatusmediumiin ja käytetyn mediumin vaihtamiseen uuteen mediumiin, joka ei sisällä aineenvaihdunnan proteiinituotteita. Perfuusiossa hyödynnetään bioreaktoria, joka on suunniteltu pitämään solujen pitoisuus korkealla ja palauttamaan solut käytetystä mediumista reaktoriin, samalla kun kasvatusmediumi vaihtuu proteiinikylläisestä puhtaaseen. Soluja pidätetään reaktorissa ja käytettyä mediumia kerätään jatkuvalla syklillä. Käytetty mediumi ja sen sisältämät tuotteet jatkavat seuraavaan prosessiin. (Matanguihan ja Wu 2022)

Perfuusioprosesseissa käytetään solun pidättämiseen retentiolaitteita, joiden toiminta perustuu eroihin solujen ja mediumin sisältämien aineiden pitoisuuksissa, koossa tai aggregoitumisessa. Sentrifugointi hyödyntää pitoisuseroja solujen pidättämisessä, mikro-suodatustekniikat kokoeroja ja ultraääniä tuottava akustinen aaltovälittäjä solujen aggregoitumista. Mikro-suodatukseen pohjautuvia tekniikoita ovat tangentaalinen suodatusvirtaus (engl. tangential filtration flow, TFF), sekä vaihtuva tangentiaalinen virtaus (engl. alternating tangential flow, ATF). TFF ja ATF perustuvat kalvosuodatukseen, jossa soluliuosta pumpataan membraanille jonka huokosten koko määrää minkä kokoinen tuote voi siirtyä membraanin toiselle puolelle. TFF:ssa pumppu liikuttaa mediumia ja luo suodatuskalvon puolille paine-erot. Molekyylit jotka mahtuvat kalvon huokosten läpi, siirtyvät pienempään osapaineeseen. Tämä suoritetaan monta kertaa sykleillä, joissa osa mediumista pumpataan takaisin säiliöön ja osa uudelleen kiertoön membraanille. (Agrawal ja muut 2023)

ATF on myös kalvon eri puolien paine-eroon pohjautuva tekniikka, jossa solususpensio poistetaan ja viedään takaisin bioreaktoriin yhden portin kautta ohuen kalvon läpi. Solut kulkevat sykleissä membraanin eri puolille virtauksen suuntaa vaihtamalla ja membraanin huokokset erottelevat koon perusteella kalvon läpi mahtuvat aineet mediumista. (Rathore ja muut 2022)

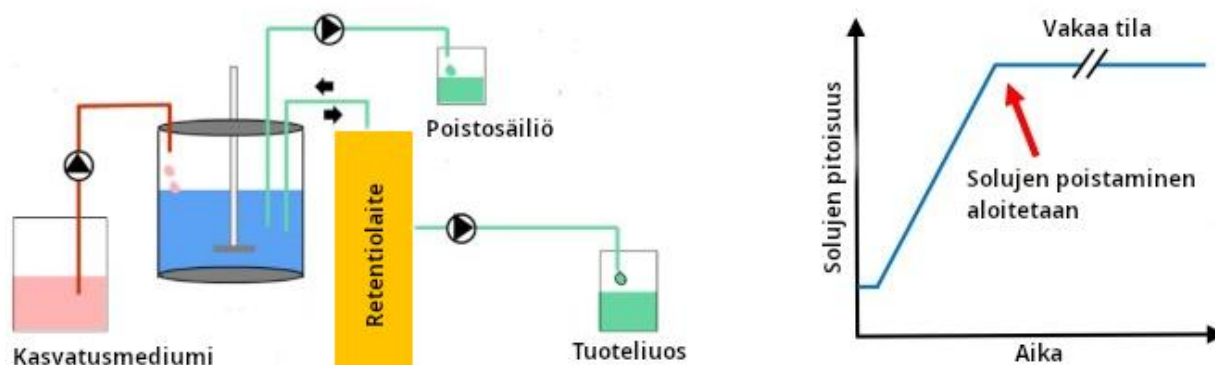
Akustinen aaltovälittäjä koostuu pietsosähköisestä muuntajasta ja akustisesta heijastimesta, joiden välistä solumediumi virtaa. Muunnin lähettää ultraääniä liuoksen toiselle puolelle ja aallot heijastuvat takaisin muuntajaan. Muuntajan ja heijastimen välille syntyy kolmiulotteinen seisova aalto, jonka solmukohdissa on paine-eroja verrattuna ympäröivään nesteeseen. Paine-erot saavat nestettä tiheämmät partikkelit eli solut muodostamaan aggregaatteja solmukohdissa. Kuvassa 1 solmukohdat näkyvät keltaisten pallojen eli solujen muodostamien aggregaattien kohdissa. Soluaggregaattien massa kasvaa verrattuna virtaavaan suspensioon ja painovoima vetää ne pois nesteestä, kun taas kevyemmät vasta-aineet virtaavat pois reaktorista mediumin mukana. Akustisen aaltovälittäjän hyödyllisyys perustuu siihen, että tekniikka ei hyödynnä suodatuskalvoja. Retentiolaitteissa, jotka käyttävät TFF:ta tai ATF:ta, tuotteen siirtyminen suodatuskalvon puolelta toiselle voi heikentyä ajan kanssa ja tuotetta voi jäädä jumiin bioreaktoriin, mikä vähentää tehokkuutta. (Kavara ja muut 2020)



Kuva 1. Akustinen aaltovälittäjä. Kuvassa vasemmalla on heijastin ja oikealla muuntaja. Näiden keskellä näkyvät solujen muodostamat aggregaatit keltaisina palloina. aggregaattien läpi virtaavat aallot kuvaavat ultraääniä. Mediumi virtaa kuvassa ylöspäin ja solujen tuottamia aineita, kuten vasta-aineita, ei ole merkitty kuvaan. (muokattu kuvasta Kavara ja muut 2020)

Maria työryhmineen (2023) kuvaa perfuusiota kaksivaiheiseksi prosessiksi. Ensimmäisessä vaiheessa solut jakaantuvat eksponentiaalisesti alkutiheydestä haluttuun kasvatuksessa vaadittuun tiheyteen. Halutussa solutiheydessä pyritään saavuttamaan vakaa tila, jossa solujen pitoisuus ei muutu huomattavasti huolimatta solujen jatkuvasta jakaantumisesta. Vakaa tila pyritään saavuttamaan hallitulla solujen poistamisella, jolloin solut voivat jatkuvasti kasvaa eksponentiaalisesti ja saadaan suurin määrä tuotetta. Hallitulla poistamisella päästään eroon kuolleista soluista ja pidetään perfuusioreaktorin kasvatusolot vakaina. Kuvassa 2 on esitetty perfuusiobioreaktorin rakenne ja näkyy muun muassa tarvittavat säiliöt. Poistosäiliö on suoraan reaktorista poistettuja aineita varten, kun taas

tuoteliuos/käytetty mediumi pumpataan retentiolaitteen, kuten ATF:n läpi seuraavaan prosessiin tai tasaussäiliöön.



Kuva 2. Perfuusiobioreaktorin toimintaperiaate. Kuvassa kasvatusmediumi pumpataan reaktoriin, jossa solut kasvavat. Samaan aikaan käytettyä mediumia, johon proteiinit ovat kertyneet, pumpataan retentiolaitteen läpi. Retentiolaite pitää solut reaktorissa ja pumppaa vasta-aine-mediumin säiliöön. Poistotankkiin pumpataan kuolleita soluja ja kuona-aineita. Oikealla näkyy reaktorin solupitoisuuden tasoittuminen kun solujen hallittu poistaminen alkaa. (muokattu kuvasta Maria ja muut 2023)

2.2 Prosessianalyttinen teknologia

Prosessianalyttinen teknologia (engl. process analytical technology, PAT) tarkoittaa erinäistä joukkoa automatisoituja tekniikoita, joilla voidaan seurata ja ohjailta tuotantoprosesseja reaaliajassa.

Prosessianalyttinen teknologia vasta-aineiden tuotannossa pohjautuu sensoreihin tuotantolaitteistossa, jotka mittaavat jatkuvasti prosessille tärkeitä parametrejä, kuten pH:ta ja hapen liukoisuutta. Riippuen PAT-laitteistosta, kerättyä dataa analysoidaan ja prosessin kulkuun voidaan vaikuttaa ohjelmistojen ja laitteistoiden avulla. PAT pitää sisällään laitteistoja, jotka keräävät tietoa jatkuvasti ja pyrkivät parantamaan tuotantoprosessia. (Maruthamuthu ja muut 2020) PATia voidaan käyttää monipuolisesti ylävirran tuotossa ja alavirran prosesseissa kuten puhdistuksessa. PAT sisältääkin monipuolisia mittaus- ja analysointivaihtoehtoja. Analyysit voidaan suorittaa linjalla niin, että mitattava näyte erotetaan prosessista ja mitataan prosessin läheisyydessä (at-line-analyysi), näyte voidaan ohjata ulos virrasta, mitata prosessin yhteydessä ja palauttaa mittauksen jälkeen takaisin prosessiin (on-line-analyysi), tai mittaus voidaan suorittaa prosessinsisäisesti putkistossa sijaitsevalla anturilla (in-line-analyysi). (Matte 2022)

3 Jatkuvat osaprosessit vasta-ainetuotannossa

3.1 Ylävirta

Monokonaalisten vasta-aineiden tuotto alkaa esikasvatuksesta, jossa kasvatussolujen pitoisuutta lisätään erilaisilla kasvatusmetodeilla, kunnes päästään haluttuun solutiheyteen liuoksessa. Esikasvatus toteutetaan sarjalla tekniikoita joilla siirretään soluviljelmä kasvatuvaliineesta toiseen. Yleensä kasvatussarja skaalautuu järjestyksessä testiputkista, T-pulloista ja ravistelupulloista bioreaktoriin, jossa soluja kasvatetaan tarpeeksi suureen pitoisuuteen, jotta ne voidaan siirtää suurempaan bioreaktoriin vasta-ainetuottoa varten. Tutkimusten mukaan solutiheys esikasvatuksessa vaihtelee välillä $0.2-3 \cdot 10^6$ solua/ml. (Yang ja muut 2019) Rathore ja muut (2022) kuvailee kuinka solujen kasvatusta voidaan tehostaa käyttämällä perfuusioreaktoria jo esikasvatuksessa ennen varsinaista tuotteen keräämistä, jolloin solujen haluttu pitoisuus saavutetaan jo aikaisemmin kuin perinteisessä bioreaktorissa. Tämä tekee perfuusiosta hyödyllisen paitsi varsinaisessa tuottobioreaktorissa, myös solujen kasvatusvaiheessa vasta-aineiden tuottamiseen tarvittavaa pitoisuutta varten.

Kun esikasvatuksessa on saavutettu haluttu solupitoisuus, solut siirretään tuottobioreaktoriin, joka voi jatkuvassa tuotannossa käyttää esimerkiksi perfuusiota. Perfuusiobioreaktori kasvattaa soluja jatkuvassa kasvuvaiheessa, jolloin solut erittävät vasta-ainetta mediumiin. (Matanguihan ja Wu 2022) Solujen pidätyslaitteina voidaan käyttää perfuusioreaktoreissa yleisesti käytettyjä mekanismeja, kuten suosituksi nousutta ATF:ta. (Khanal ja Lenhoff 2021) Soluja kasvatetaan viikkoja samassa jatkuvassa kasvutilassa ja vakaisissa olosuhteissa, jotta tuotetta saataisiin maksimaalinen määrä ilman sen laadun vaihtelua. Soluliuosta pumpataan jatkuvasti pois bioreaktorista alavirtaan puhdistettavaksi tai säiliöihin odottamaan puhdistusta. (Matanguihan ja Wu 2022) Perfuusiobioreaktorit voivat kasvattaa soluja taukoamatta jopa 40 päivää ja solupitoisuus voi olla korkeimmillaan jopa 10^8 solua/ml. Eräkasvatuksessa saavutetut solupitoisuudet jäävät yleensä 10^7 soluun/ml ja eräkasvatusta voidaan tehdä 10-21 päivän erissä rajoittavien tekijöiden, kuten reaktorin tilavuuden ja kertyvien aineenvaihduntatuotteiden takia. (Maruthamuthu ja muut 2020)

3.2 Alavirta

Proteiini A -kromatografia on alavirran ensimmäinen osaprosessi ja myös alavirran suurin menoerä (Khanal ja Lenhoff 2021) Proteiini A -kromatografia perustuu vasta-aineiden ja proteiini A:n affiniteettiin, ja siinä käytetty proteiini-A on *Staphylococcus aureus*-bakteerin ligandi, jota on muokattu bioteknisesti paremmin vasta-aineiden sitomiseen ja kromatografiaan soveltuvaksi. (Matte 2022)

Perinteisesti erätuotannossa käytetty proteiini A -kromatografian stationaarifaasi koostuu hartsista, joka sisältää proteiini A:ta. Hartsia ja proteiini aktivoidaan ja pestään ensin erilaisilla puskureilla, minkä jälkeen pylvään pH säädetään sopivaksi puskurilla ja suolaliuoksella. Seuraavaksi kerätty mediumi huuhdotaan pylvään läpi, jolloin vasta-aineet jäävät hartsiin ja suurin osa epäpuhtauksista huuhtoutuu pois pylväästä. Loput epäpuhtaudet pestään puskurilla ja suolaliuoksella ja lopuksi vasta-aineet sekä jäljelle jääneet epäpuhtaudet eluoidaan pois pylväästä seuraavaa vaihetta varten. Eräprosesseissa proteiini-A-kromatografia suoritetaan samalla pylväällä monta kertaa peräkkäin. (Yang ja muut 2019)

Proteiini A -kromatografiasta on kehitetty lukuisia jatkuvia kromatografiamenetelmiä.

Monipylväskromatografia perustuu moneen yhteen liitettyyn pylvääseen, jotka ovat pienempiä tilavuudeltaan kuin eräprosesseissa. Monipylväskromatografiassa mediumi huuhtoutuu peräkkäin pylväästä toiseen. Ensimmäiseen pylvääseen voidaan ladata hallitusti ylimäärä mediumia, jolloin mahdollisimman moni hartsin proteiini A sitoo vasta-aineita. Läpi huuhtoutuva mediumi päättyy heti seuraavaan pylvääseen, jossa hartsia sitoo lisää vasta-aineita. Esimerkiksi Sytiva Life Sciences:n jaksoittainen vastavirtakromatografia on esimerkki monipylväskromatografiasta, joka käyttää kolmea tai neljää vuorotellen ladattavaa pylvästä jatkuvan proteiini A -kromatografian mahdollistamiseksi. (Rathore ja muut 2022) Kukin pylväs on jatkuvasti ladattavana, pestävänä tai eluoitavana, jolloin saavutetaan jatkuva prosessi, jossa jokin pylväistä sitoo jatkuvasti vasta-aineita. Monia erilaisia jatkuvia proteiini A -kromatografiamenetelmiä on kehitetty. Esimerkiksi Chromatan on kehittänyt jaksoittaisesta vastavirtakromatografiasta eroavan proteiini-A -puhdistusmenetelmän. Chromatanin jatkuva vastavirran tangentialinen kromatografia on teknologia joka ei tarvitse montaa eri pylvästä vasta-aineiden puhdistamiseen mediumista. jatkuvassa vastavirran tangentialisessa kromatografiassa systeemiin, jossa mediumi on, pumpataan hartsia ja proteiini A:ta sisältävä liuos vastavirtaan mediumin kanssa. Systeemi sisältää onteloisia kuitujakalvoja, jotka pidättelevät hartsia ja samalla päästävät mediumin molekyylit diffundoitumaan kalvon toiselle puolelle. Vasta-aineet jäävät kiinni kalvossa olevan hartsin proteiini A -ligandeihin. Tässä puhdistustekniikassa vasta-aineiden eluutio saadaan toteutettua harvemmillä välivaiheilla kuin monipylväskromatografiassa. (Kavara ja muut 2020; Matte 2022)

Yleensä proteiini A -puhdistusta seuraa virusten inaktivointi (eng. viral inactivation, VI). Virusten poisto liuksesta on erittäin tärkeää potilasturvallisuuden kannalta. Viruksia voi päätyä vasta-aineliuoksen/mediumin sekaan tuotto-prosessin tai kasvatussolujen mukana ja niiden löytyminen lopputuotteesta voi johtaa jopa tuotannon pysäyttämiseen ja sanitoimiseen, mistä aiheutuu merkittävästi taloudellista tappiota yritykselle. (Kavara ja muut 2020) Tyypillisesti proteiini A -vaiheen jälkeen liuoksen pH on noin 3,5-4, joka soveltuu hyvin virusten inaktivointiin. (Rathore ja muut 2022) Eräprosesseissa VI suoritetaan manuaalisesti titraamalla; happo- ja emäsluosta pumpataan

vasta-aineliuokseen ja oikea pH varmistetaan pH-mittarilla. Liuoksen inaktivointiajan on oltava riittävän pitkä, eräprosessissa 30-60 minuuttia, ilman että vasta-aineet aggregoituvat. (Matte 2022) VI on hyvin vaikea automatisoida ja ainoa markkinoilta löytyvä puolijatkuva VI-prosessi on Pallin Cadence VI system, joka käyttää kahta itsenäisesti toimivaa tankkia. Tankkeihin pumpataan proteiini A -puhdistuksen eluutioliuosta, joka käy läpi virusten inaktivoinnin niin, että toinen tankki suorittaa inaktivoinnin samaan aikaan kun toinen tyhjentää tuotteensa, puhdistuu ja ottaa sisään uuden liuoksen. Tällä tavalla VI saadaan osittain jatkuvaksi eivätkä yhdelle tankille suoritettavat vaiheet, kuten puhdistus, jäta liuosta odottamaan keräystankkeihin. (Kavara ja muut 2020; Rathore ja muut 2022)

Vasta-aineliuokselle suoritetaan affiniteettikromatografian lisäksi yksi tai useampi puhdistusvaihe, joissa käytetään erilaisia kromatografiatekniikoita. Näiden vaiheiden tarkoituksena on erottaa liuoksesta aineet, joita proteiini A -kromatografian jälkeen on vielä jäljellä. Puhdistuksessa liuoksesta erotetaan aggregoituneet molekyylit, muut tuotetut proteiinit kuin vasta-aineet, sekä DNA. Puhdistusvaiheilla pyritään myös tehostamaan virusten poistoa. Tyypillisiä puhdistustekniikoita ovat kationinvaihtokromatografia, anioninvaihtokromatografia ja hydrofobinen pylväskromatografia. kationin- ja anioninvaihtokromatografiat soveltuvat parhaiten aggregaattien poistoon ja DNA:n ja proteiinien erottamiseen, kun taas hydrofobinen pylväskromatografia sopii aggregaattien poistamiseen liuoksesta. Näitä kromatografiamenetelmiä voidaan käyttää useilla eri tavoilla riippuen puhdistettavasta vasta-aineesta. Tyypilliset eräprosessien teknologiat käyttävät kahta tekniikkaa. Vasta-aineliuoksen molekyylit voidaan sitouttaa pylvääseen, minkä jälkeen vasta-aineet eluoidaan irti tolpasta, tai liuos voidaan huuhtoa suoraan kromatografiapylvään läpi ilman välivaiheita. (Shukla ja muut 2017) Anionin- ja kationinvaihtokromatografia sekä hydrofobinen kromatografia voidaan muuttaa jatkuviksi prosesseiksi hyödyntämällä monipylväskromatografiaa kuten proteiini A -puhdistuksessa. (Khanal ja Lenhoff 2021)

Tyypillisesti alavirran viimeinen vaihe sisältää ultra- ja diafiltraation, joiden avulla täysin puhdistetut vasta-aineet saavuttavat halutun pitoisuuden ja puskurikoostumuksen. Ultrafiltraatioissa (eng. ultrafiltration, UF) vasta-aine-tuotteesta poistetaan vettä, jolloin sen vasta-aine-pitoisuus kasvaa. Suurella lääkkeen pitoisuudella vähennetään potilaaseen injektoidavan lääkkeen kokonaismäärää. UF:n jälkeen diafiltraatioissa (eng. diafiltration, DF) tuote liuotetaan oikeanlaiseen puskuriliuokseen ja viimeiseksi UF:lla suodatetaan puskuroitu tuote haluttuun pitoisuuteen poistamalla ylimääräinen neste, jolloin saadaan valmis vasta-ainetuote. UF:ta käytetään myös prosessin eri osaprosessien vaiheiden väleissä vähentämään välituotteiden tilavuutta. Eri osaprosesseissa vasta-aineliuos tarvitsee erilaisia puskuriliuoksia prosessien toimivuuden kannalta. DF:ta voidaan käyttää osaprosessien väleissä vaihtamaan uusi puskuri vanhan tilalle. (Kavara ja muut 2020)

UF on myös tarpeellinen välivaihe tuoteliuoksen steriloinnille. UF:ssa käytetään suodattimena onteloista kalvoa jonka huokosten koko vaihtelee välillä 2-100 nm riippuen kalvosta. Suodatus poistaa

tämän kokoluokan epäpuhtaudet, eli liuokseen jääneet mikrobit ja virukset. Virusten poistamiseen käytetään yleensä huokoskooltaan 20 nm UF-kalvoja. UF on viimeinen suodatusvaihe jonka tarkoituksena on taata virusturvallisuus, mutta myös aiemmat kromatografiavaiheet poistavat joitain viruksia riippuen niiden koosta ja rakenteista. (Qi ja muut 2025)

Tangentiaalinen suodatusvirtaus TFF on yleisimmin käytetty UF:n ja DF:n toteutustapa. TFF sopii hyvin tuotteen pitoisuuden säätelyyn ja puskurin lisäämiseen tai puskurien vaihtamiseen vasta-ainetuotteeseen. TFF:n heikkous on tarve kierrättää liuos monta kertaa kalvon läpi, jolloin pumpun aiheuttamat voimat voivat vahingoittaa vasta-aineita. Liuoksen uudelleenkierrätys TFF-laitteistossa vaatii myös säiliön, johon liuos kerääntyy, ja lisää näin laitteiston viemää tilaa ja prosessin kestoaikaa. (Kavara ja muut 2020) TFF:n jatkuvampi versio on yksikierröksinen tangentiaalinen suodatusvirtaus (engl. single pass tangential flow filtration, SPTFF). UF:n aikana SPTFF suodattaa veden liuoksesta yhdellä kierroksella eikä siten vaadi odotussäiliötä suodatettavalle liuokselle. SPTFF muodostuu monesta peräkkäisestä TFF-suodatinkalvosta, jotka yhdessä lisäävät suodatusalaa ja tehostavat suodatusta niin, ettei montaa kierrosta tarvita. SPTFF:ta voidaan käyttää myös jatkuvassa DF:ssa, jolloin tuotteen tai välituotteen puskuri voidaan vaihtaa jatkuvana prosessina ilman keskeytyksiä. (Rathore ja muut 2022)

3.3 Osaprosessien integraatio tuotantoketjuksi

Jatkuva tuotantoprosessi vaatii että yksittäiset jatkuvat tuotantovaiheet ja osaprosessit on yhdistetty jatkuvaksi kokonaisuudeksi. Kaupallisia monoklonaalisia vasta-aineita ei ole vielä tuotettu täysin jatkuvasti ja kehitys kohdistuu tällä hetkellä yksittäisiin osaprosesseihin jatkuvassa tuotannossa. On olemassa kuitenkin esimerkkejä eritasoisista jatkuvien prosessien integraatiosta, kuten osittain jatkuva prosessi, jossa jatkuva ylävirran tuotanto on yhdistetty välittömään proteiini A -suodatukseen, ja täysin jatkuva prosessi, jossa vasta-aineliuos kulkee koko ajan suljetussa systeemissä osaprosessista toiseen. (Chopda ja muut 2022) On myös näytetty integroitu alavirran prosessi, jossa yksittäiset operaatiot proteiini-A-puhdistuksesta lopullisen vasta-ainetuotteen muodostukseen on kaikki integroitu yhteen (Khanal ja Lenhoff 2021)

Suurimmat syyt, jotka jarruttavat jatkuvan tuotannon kehitystä, ovat ylävirran heikko prosessianalyttisten teknologioiden eli PAT:en hyödyntäminen, ja alavirran välineistön ja anturien vanhanaikaisuus. Täysin jatkuva vasta-aineiden tuotantoprosessi vaatii etenkin oikeanlaiset PAT-välineet sekä tuotannon kulkua ennustavat työkalut, jotka sijoitetaan tarvittaviin kohtiin tuotannon varrelle. Ylävirran ja alavirran integraatio vaatii nopeaa päätöksentekoa ja prosessinohjausta etenkin niiden liitoskohdassa. Siksi tarve reaaliaikaiselle tiedolle tuotannon parametreista on suurempi kuin

eräprosesseissa. (Chopda ja muut 2022; Khanal ja Lenhoff 2021) Eräprosesseissa tarkkailtavat parametrit, kuten hapen liukoisuus, pH, virtausnopeus ja sähkönjohtavuus eivät yksinään riitä laadun mittaamiseen ja prosessinohjaukseen jatkuvassa tuotannossa, vaikka niitä pystytäänkin tarkkailemaan PAT-välineillä. Monet parametreista mitataan ottamalla tuotannosta näytteitä ja mittaamalla ne erikseen, mikä ei anna riittävän nopeaa tietoa päätöksentekoa varten. (Chopda ja muut 2022) Koneoppiminen ja datan analysointi voivat auttaa tärkeiden parametrien kuten aineenvaihduntatuotteiden muodostumisen ja biofysikaalisten ominaisuuksien ennustamisessa, kuten myös tarkempien anturien suunnittelussa. (Khanal ja Lenhoff 2021) Riittävän tiedon keräämiseksi tarvitaan tarkkoja mittausvälineitä. Spektroskooppiset työkalut kuten RAMAN-spektroskopia ovat kehittyneet nopeiksi ja monipuolisiksi tiedonkeräysvälineiksi sekä ylä- että alavirran aikana. RAMAN-spektroskopiaa on käytetty parantamaan solupitoisuutta ja proteiinintuottoa, sekä ennustamaan vasta-aineiden glykosylaatioasteita vähäisillä virheillä. RAMAN-spektroskopiassa Näytteeseen lähetetään valosäteilyä tietyllä aallonpituudella ja säteily siroaa molekyylien sidoksiin osuessaan eri tavoin. Säteilyn fotonit vaihtavat aallonpituutta tiettyjen sidosvärähtelyjen takia, ja vaihtuneet aallonpituudet mitataan jolloin molekyylien rakenteista voidaan tehdä spesifejä arvioita. (Esmonde-White ja muut 2022) RAMAN-spektroskopiaa ja monia muita analyysilaitteistoja voidaan käyttää tehokkaina PAT-välineinä ja niiden hyötynä on se, että ne mittaavat montaa eri parametria, jolloin ei tarvita anturia jokaisen yksittäisen parametrin mittaamiselle. Houkuttelevia prosessianalyttisiä teknologioita ovat lisäksi aseptinen näytteenotto ja nopeat in-line laadunvalvontatestit jotka voidaan tehdä suoraan tuotantolinjalla. (Chopda ja muut 2022)

Tasausaltaat ovat tärkeitä jatkuvan tuottoprosessin sujuvuudelle. Ne toimivat odotussäiliöinä välituotteille, joita integroiduissa jatkuvissa prosesseissa syntyy. Virtausnopeudet eroavat usein yksittäisissä prosesseissa ja välituotteiden kerääminen tasausaltaisiin tasapainottaa eri operaatioita ja helpottaa niiden integraatiota yhteen. (Chopda ja muut 2022) Prosessianalyttiset teknologiat ovat ensiarvoisen tärkeitä jatkuvien vasta-ainetuotantoprosessien integroinnissa, ja Yhdysvaltain elintarvike- ja lääkevirasto FDA kannustaakin yrityksiä ottamaan PAT-välineitä käyttöön tuotteiden laadun varmistamiseksi. Vasta-aineiden tuotannossa PAT on tärkeä väline, mutta solukasvatus tekee sen käyttöönotosta haastavaa monimutkaisuutensa takia. (Khanal ja Lenhoff 2021)

4 Jatkuvan tuotannon hyödyt

Eräprosessien korvaaminen jatkuvilla tuotantomenetelmillä tarjoaa lukuisia hyötyjä tämän hetken ja tulevaisuuden vasta-ainetuotannolle. Eräprosesseissa yksittäiset prosessit suoritetaan yksi kerrallaan ja jokaisen prosessin välituotteet kerääntyvät säiliöihin odottamaan seuraavan prosessin alkua. Tämä hidastaa prosessia huomattavasti ja pienentää tuotantovälineiden käyttötehokkuutta. Jatkuvat prosessit pyrkivät maksimoimaan välituotteiden sujuvan siirtymisen yksittäisestä prosessista toiseen ilman turhia odotusaikoja tasaussäiliöissä. Jatkuva virtaus vähentää suoraan prosessin kokonaiskestoa ja samalla tehostaa tuotantovälineiden käyttöä, sillä kaikki tuotannon osat ovat samanaikaisesti toiminnassa. Erätuotannossa yhden vasta-aine-erän prosessoimiseen bioreaktorista lopputuotteeseen voi mennä viikko, kun taas joissain tapaustutkimuksissa jatkuvilla menetelmillä tuotetun tuotteen valmistuminen bioreaktorista lopputuotteeseen kestää alle 20 tuntia. (Kavara ja muut 2020)

Perfuusion hyödyntäminen ylävirrassa tarjoaa lukuisia hyötyjä verrattuna erätuotantoon. Jatkuvan vakaan tilan ja solujen kasvuvaiheen hyödyntäminen parantaa proteiinintuotantoa ja vähentää tarvittavaa tuotantoreaktorin kapasiteettia. Perfuusion käyttämisellä voi olla myös vasta-aineiden laatua parantavia ominaisuuksia. Tuottosolujen kasvu vakaissa olosuhteissa on yhdistetty vakaampaan proteiinien tuottoon, mikä vähentää proteiinien translaation jälkeistä heterogeenisyyttä eli erilaisuutta. (Maria ja muut 2023) Jatkuvan tuotannon ja eräprosessien vertailu kokeellisesti on tärkeää tuotantotehokkuuden vertailemiseksi ja muiden parametrien vertailemiseksi.

Kokeellisessa tutkimuksessa vertailtiin pilottimittakaavan täysin jatkuvaa tuotantoprosessia eräprosessiin monoklonaalisten vasta-aineiden tuottamisessa. Eräprosessi suoritettiin neljällä 12 500 litran bioreaktorilla ja saman mittakaavan alavirran välineistöllä. Jatkuva prosessi suoritettiin viidellä 2000 litran perfuusiobioreaktorilla yhdistettyinä alavirran prosessiin, joka koostui jatkuvaksi yhdistetyistä monipylväskromatografiasta, VI:sta, suodatuksesta, UF:sta sekä DF:sta. Jatkuvalle prosessille ja erämenetelmällä valmistettujen vasta-aine-tuotteiden laatu oli vertailukelpoinen. Tuottoprosessien tehokkuutta vertailtiin ja perfuusion huomattiin tuottavan vasta-ainetta 4,6-kertaisesti erätuotannon ylävirtaa enemmän. Perfuusion tuottama mediumi sisälsi myös vähemmän aggregaatteja, mikä vähensi puhdistuksen tarvetta alavirrassa. Jatkuva prosessi vähensi huomattavasti odotussäiliöiden määrää verrattuna eräprosessiin. Myös tuoton kustannuksia arvioitiin tietokoneohjelmistolla ja jatkuvan tuotannon kustannukset olivat arvion mukaan 15 % pienemmät kuin eräprosessin tuottokustannukset. Ero tuotantokuluissa johtui muun muassa siitä, että jatkuvan tuotantolinjan prosessit olivat eräprosesseja tehokkaampia, minä takia ne tarvitsivat vähemmän tilaa. Kaiken lisäksi monipylväskromatografia käytti vähemmän hartsia proteiini-A-suodatuksessa ja ylsi silti vertailtavaan tulokseen eräprosessin suodatuksen kanssa. (Arnold ja muut 2019)

Proteiini A:ta sisältävän hartsin tehokas käyttäminen on tärkeää, koska se muodostaa suuren menoerän vasta-ainetuotannossa. Jatkuvat proteiini A -kromatografiamenetelmät parantavat hartsin käyttötehokkuutta verrattuna perinteisiin erätekniikoihin vähentämällä tarvittavan hartsin tilavuutta ja nopeuttamalla puhdistusprossia, heikentämättä puhdistetun tuotteen laatua. (Khanal ja Lenhoff 2021)

Jatkuva tuotanto tarjoaa enemmän joustavuutta, säästää kuluja, ja on parempi ympäristölle kuin perinteinen tai täysin optimoitu eräprosessi. Jatkuvat prosessit hyödyntävät reaaliaikaista seuranta, mikä mahdollistaa prosessin virheiden mahdollisimman aikaisen havaitsemisen. Toisin kuin eräprosessissa, joissa koko vasta-aine-erä saatetaan tuottaa valmiiksi ennen virheen havaitsemista, jatkuvassa tuotannossa virheisiin voidaan puuttua nopeammin ja pienemmillä tappioilla. Jatkuvan tuotannon on huomattu pienentävän kuluja keskimäärin 23 % ja hiilidioksidipäästöjä 54 % verrattuna erätuotantoihin. Pienempien hiilidioksidipäästöjen lisäksi jatkuva tuotanto pienentää selvästi muovin kulutusta ja sen kulutus laskeekin keskimäärin 57 %. Lisäksi jatkuvan tuotannon välineiden tehokkuuden on arvioitu voivan pienentää tuotantoyksikön tarvitsemaa tilaa jopa 51 %, mikä on selittävä syy pienemmille hiilidioksidipäästöille. (Macdonald 2025)

5 Trendit

Biologisten lääkeaineiden tuotantomenetelmät ovat kehittyneet paljon lyhyessä ajassa ja kahdessa vuosikymmenessä kilpailevien yritysten laadunvarmistusmenetelmät ovat kehittyneet ja samalla mahdollistaneet tuotteiden tasaisen laadun. Tällä hetkellä kilpailevat tuottajat yrittävätkin panostaa biologisten lääkeaineiden, kuten vasta-aineiden, tuottotehokkuuden parantamiseen ja tuottokulujen vähentämiseen. Taloudelliset analyysit ja tutkimukset arvioivat jatkuvan tuotannon vähentävän tuottamisen pääomakustannuksia yli 80 % ja tuotantokuluja yli 60 %. On selvää että yritykset ovat tietoisia jatkuvan tuotannon hyödyistä, mutta myös vaikeuksista siirtymässä erästä jatkuvaan, kuten myös PAT-välineiden integroimisen vaikeuksista. (Macdonald 2025)

Monet yritykset ovat ottaneet jatkuvia prosesseja osaksi tuotantolinjojaan vasta-aineiden ja samantyyppisten biomolekyylien tuotannoissa. Esimerkiksi Alvotech tuottaa biosimilaareja 1000 litran perfluusiobioreaktorilla, joka käyttää ATF:ta perfusion retentiolaitteena. Alavirran puhdistukseen Alvotech käyttää jatkuvaa kolmen pylvään puhdistusta ja jatkuvaa Pallin Cadence VI-virusuodatusta. Myös Amgen tähtää tehokkaampaan biomolekyylien tuotantoon tehokkaammalla ylävirran perfluusioprosessilla käyttämällä 2000 litraista perfluusiobioreaktoria. Perfuusion tuotelius virtaa suoraan kahteen pylvääseen, joista jälkimmäisestä liuos jatkaa suoraan suodatusprosesseihin. Amgenin integroima jatkuva prosessi on avittanut suuresti Amgenin menestystä alalla. BiosanaPharma on todellisen jatkuvan vasta-ainetuotannon uranuurtaja ja on edennyt ensimmäisenä yrityksenä kliiniseen vaiheeseen monoklonaalisten vasta-aineiden täysin jatkuvassa tuotannossa. BiosanaPharman 3C:ksi nimeämä prosessi käyttää vasta-aineiden tuottamisessa perfluusiota, jatkuvaa sentrifugointia ja jatkuvaa alavirran prosessia. Konseptin toimivuus todistettiin 50 litran bioreaktorilla ja saman kokoista prosessia on kaavailtu lopulliseen kaupalliseen tuotantoon. (Kavara ja muut 2020)

Yritykset, kuten myös akateemiset ja hallinnolliset toimijat ovat aloittaneet jatkuvien tuotantomenetelmien implementaation edistämisen niiden tarjoamien hyötyjen takia. Ylävirran jatkuvia prosesseja käytetään jo monissa hyväksytyissä teollisissa tuottoprosesseissa, kuten edellä mainitut yritykset näyttävät. Myös joitain alavirran jatkuvia prosesseja on otettu käyttöön, mutta alavirran integrointi jatkuvaksi ei ole yhtä kehittynyttä kuin ylävirran. (Khanal ja Lenhoff 2021)

Alavirran prosessit jarruttavatkin terapeuttien vasta-aineiden tuottamisen tehostamista ylävirran proteiinituoton nopean tehostumisen myötä. Viime vuosina on kuitenkin kehitetty uusia kokeellisia menetelmiä, kuten lupaava SPTFF TFF:n korvaajaksi. Jatkuvan tuotannon adoptointi osaksi vasta-aineiden tuottamista on selkeästi tämän hetken ja tulevaisuuden suuri trendi, mutta integraatio vaatii kehitystä monella osa-alueella. PAT-välineiden kehitys ja jatkuvien prosessien ymmärrys auttavat edistämään jatkuville prosesseille ensiarvoisen tärkeää automaatiota. Ideaalinen automatisoitu jatkuva

prosessi vaatii prosessia ohjaavien ohjelmistojen ja laitteistojen integraatiota toimiviksi yhdessä, mikä taas vaatii eri alojen asiantuntijoiden yhteistyötä. (Khanal ja Lenhoff 2021)

6 Yhteenveto

Jatkuvan tuotannon mekanismeja on käytetty pitkään jo pitkään monilla teollisuuden aloilla, kuten esimerkiksi teräksen valmistuksessa. Biolääketiede on vasta alkanut kehittää jatkuvia tekniikoita biomolekyylien valmistuksessa, tavoitteenaan muun muassa vähentää tuotantokuluja. Biolääkkeiden tuottamisessa käytetyt raaka-aineet voivat maksaa paljon ja raaka-aineiden tehokkaampi käyttäminen onkin saanut jatkuvat tuottojärjestelmät tärkeäksi kehityssuunnaksi bioteollisuudessa.

Perfuusiota on käytetty jo pitkään stabiilin tuottoympäristön vaativien molekyylien tuottamiseen.

Vasta hiljattain sitä on alettu käyttää muidenkin biomolekyylien tuottamiseen tuottavuuden tehostamiseksi. Jatkuvan alavirran hyödyntämistä biolääkkeiden tuotossa on tutkittu vähemmän, mutta sen hyödyt ymmärretään jo hyvin. (Jagschies 2018)

Jatkuva tuotanto on uusimpia kehityksen kohteita bioteollisuudessa, minkä takia sen yhdistäminen vasta-aineiden tuottamiseen vaatii vielä kehitystä. Lisäksi jatkuvan tuotannon implementointi osaksi vasta-ainetuotantoa vaatii alkuinvestointeja, jotka saattavat jarruttaa lääkeyritysten halua ottaa jatkuvia tekniikoita käyttöön. Jatkuvan tuotannon aikaansaama tuoton tehostuminen, tarvittavan työvoiman väheneminen ja tuotantotilan pienentyminen tulevat maksamaan investoidut kulut takaisin aikanaan ja tarjoamaan pitkäaikaisia etuja. Laitekehityksen lisäksi tarvitaankin kaupallisia esimerkkejä vasta-aineista jotka on tuotettu jatkuvalla tuotannolla. Esimerkkitapausten kautta muut lääkeyritykset saisivat rohkeutta investoida jatkuvaan tuotantoon myös monoklonaalisten vasta-aineiden tuottamisessa. (Khanal ja Lenhoff 2021)

Jatkuvaa tuotantoa tutkitaan jatkuvasti enemmän ja sen käytöstä vasta-aineiden tuottamisessa tehdään joka vuosi tutkimuksia, jotka korostavat jatkuvan tuotannon hyötyjä. Lisäksi, kun otetaan huomioon, että jotkin suuret laitetuottajat ja bioteollisuuden yritykset ovat ottaneet jatkuvia tekniikoita osaksi tuotteitaan ja tuotantojärjestelmiään, on uskottavaa että kehitys tulee jatkumaan hyvänä. Nämä yhdessä maailman kasvavan väestön ja kasvavan lääkekehityksen kanssa takaavat jatkuvalla tuotannolle hyvät tulevaisuudennäkymät.

7 Lähteet

- Agrawal, P., Wilkstein, K., Guinn, E., Mason, M., Serrano Martinez, C. I. & Saylae, J. (2023) A Review of Tangential Flow Filtration: Process Development and Applications in the Pharmaceutical Industry. *Org Process Res Dev* **27**:571–591.
- Alejandra, W.-P., Miriam Irene, J.-P., Fabio Antonio, G.-S., Patricia, R.-G. R., Elizabeth, T.-A., Aleman-Aguilar, J. P. & Rebeca, G.-V. (2023) Production of monoclonal antibodies for therapeutic purposes: A review. *International Immunopharmacology* **120**:110376.
- Arnold, L., Lee, K., Rucker-Pezzini, J. & Lee, J. H. (2019) Implementation of Fully Integrated Continuous Antibody Processing: Effects on Productivity and COGm. *Biotechnology Journal* **14**:1800061.
- Chopda, V., Gyorgypal, A., Yang, O., Singh, R., Ramachandran, R., Zhang, H., ... Ierapetritou, M. G. (2022) Recent advances in integrated process analytical techniques, modeling, and control strategies to enable continuous biomanufacturing of monoclonal antibodies. *J of Chemical Tech & Biotech* **97**:2317–2335.
- Esmonde-White, K. A., Cuellar, M. & Lewis, I. R. (2022) The role of Raman spectroscopy in biopharmaceuticals from development to manufacturing. *Anal Bioanal Chem* **414**:969–991.
- Jagschies, G. (2018) Continuous Capture of mAbs—Points to Consider and Case Studies. Teoksessa *Biopharmaceutical Processing* (s. 527–556). Elsevier.
- Kavara, A., Sokolowski, D., Collins, M. & Schofield, M. (2020) Recent advances in continuous downstream processing of antibodies and related products. Teoksessa *Approaches to the Purification, Analysis and Characterization of Antibody-Based Therapeutics* (s. 81–103). Elsevier.
- Khanal, O. & Lenhoff, A. M. (2021) Developments and opportunities in continuous biopharmaceutical manufacturing. *mAbs* **13**:1903664.
- Macdonald, G. J. (2025) Continuous Manufacturing Helps mAb Firms Innovate and Cut Costs. Genetic Engineering and Biotechnology News.

<<https://www.genengnews.com/topics/bioprocessing/continuous-manufacturing-helps-mab-firms-innovate-and-cut-costs/>>. (Luettu 26.1.2026)

Maria, S., Bonneau, L., Fould, B., Ferry, G., Boutin, J. A., Cabanne, C., ... Joucla, G. (2023)

Perfusion process for CHO cell producing monoclonal antibody: Comparison of methods to determine optimum cell specific perfusion rate. *Biochemical Engineering Journal* **191**:108779.

Maruthamuthu, M. K., Rudge, S. R., Ardekani, A. M., Ladisch, M. R. & Verma, M. S. (2020) Process

Analytical Technologies and Data Analytics for the Manufacture of Monoclonal Antibodies. *Trends in Biotechnology* **38**:1169–1186.

Matanguihan, C. & Wu, P. (2022) Upstream continuous processing: Recent advances in production of

biopharmaceuticals and challenges in manufacturing. *Current Opinion in Biotechnology* **78**:102828.

Matte, A. (2022) Recent Advances and Future Directions in Downstream Processing of Therapeutic

Antibodies. *IJMS* **23**:8663.

Qi, S., Fan, R., Su, X., Zhang, H., Cui, Y., Qi, B., ... Luo, J. (2025) Membrane technology for

sterilization and virus elimination of biopharmaceuticals: Fouling matters. *Advanced Membranes* **5**:100143.

Rathore, A. S., Zydney, A. L., Anupa, A., Nikita, S. & Gangwar, N. (2022) Enablers of continuous

processing of biotherapeutic products. *Trends in Biotechnology* **40**:804–815.

Shukla, A. A., Wolfe, L. S., Mostafa, S. S. & Norman, C. (2017) Evolving trends in mAb production

processes. *Bioengineering & Transla Med* **2**:58–69.

Yang, O., Prabhu, S. & Ierapetritou, M. (2019) Comparison between Batch and Continuous

Monoclonal Antibody Production and Economic Analysis. *Ind Eng Chem Res* **58**:5851–5863.