

**(19) 대한민국특허청(KR)**
(12) 공개특허공보(A)**(11) 공개번호** 10-2021-0066912
(43) 공개일자 2021년06월07일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
B01D 15/38 (2006.01) *B01J 20/32* (2006.01)
G01N 30/86 (2006.01) *G01N 30/88* (2006.01)

(52) CPC특허분류
B01D 15/38 (2013.01)
B01J 20/32 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2021-7013684
(22) 출원일자(국제) 2019년10월08일
심사청구일자 2021년05월07일

(85) 번역문제출일자 2021년05월06일
(86) 국제출원번호 PCT/US2019/055179
(87) 국제공개번호 WO 2020/076818
국제공개일자 2020년04월16일

(30) 우선권주장
62/766,253 2018년10월09일 미국(US)

(71) 출원인
씨 테크놀로지스, 인크.
미국 뉴저지 (우편번호 08807) 브릿지워터 루트 202/206 685

(72) 발명자
해리슨, 크레이그
미국 뉴저지 08807 브릿지워터 루트 202/206 685
션베이키, 램지
미국 뉴저지 08807 브릿지워터 루트 202/206 685
씨 테크놀로지스, 인크. 내

(74) 대리인
특허법인 무한

전체 청구항 수 : 총 4 항

(54) 발명의 명칭 크로마토그래피용 질량 제어 시스템**(57) 요약**

본 발명은 가변 경로 길이 분광광도계(variable pathlength spectrophotometer)를 사용하는 질량 측정을 통해 크로마토그래피 공정을 실시간으로 제어하는 방법에 관한 것이다.

(52) CPC특허분류

G01N 30/8627 (2013.01)

G01N 2030/8831 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

유입구 및 유출구를 갖는 크로마토그래피 컬럼의 파과율(%)을 결정하는 방법으로서,
 변하지 않는 신호를 설정하기 위해 충분한 시간 동안, 수확된 세포 배양액을 크로마토그래피 컬럼을 통해 흘러 보냄으로써 초기 경사(initial slope)(m0)를 결정하는 단계로서, 초기 경사는 경사 분광법(slope spectroscopy)에 의해 결정되는, 단계;
 컬럼의 유입구에 센서를 정위시키고 경사 분광법에 의해 경사를 측정함으로써 제1 경사(m1)를 결정하는 단계;
 컬럼의 유출구에 센서를 정위시키고 경사 분광법에 의해 경사를 측정함으로써 제2 경사(m2)를 결정하는 단계;
 및
 $BT\% = (m2-m0)/(m1-m0)*100$ 을 계산함으로써 파과율(%)을 결정하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 2

유입구 및 유출구를 갖는 크로마토그래피 컬럼의 단백질 역가를 결정하는 방법으로서,
 변하지 않는 신호를 설정하기 위해 충분한 시간 동안, 수확된 세포 배양액을 크로마토그래피 컬럼을 통해 흘러 보냄으로써 초기 경사(m0)를 결정하는 단계로서, 초기 경사는 경사 분광법에 의해 결정되는, 단계;
 컬럼의 유입구에 센서를 정위시키고 경사 분광법에 의해 경사를 측정함으로써 제1 경사(m1)를 결정하는 단계;
 역가 = $(m1-m0)/EC$ (여기서, EC는 mL/mg*cm 단위의 단백질의 흡광 계수임)를 계산함으로써 크로마토그래피 컬럼의 역가를 결정하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 3

크로마토그래피 컬럼 상에 로딩된 단백질의 실시간 질량을 결정하는 방법으로서, 제2항에 따른 크로마토그래피 컬럼의 단백질 역가를 결정하는 단계, 및 질량 컬럼 1(mg) = 역가*유량*시간을 계산함으로써 크로마토그래피 상에 로딩된 단백질의 실시간 질량을 계산하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 4

제1 크로마토그래피 컬럼 및 제2 크로마토그래피 컬럼을 포함하는 크로마토그래피 공정에서 제2 크로마토그래피 컬럼 상에 로딩된 단백질의 실시간 질량을 결정하는 방법으로서, 제1항에 따른 제1 크로마토그래피 컬럼의 파과율(%)을 결정하는 단계, 및 질량 컬럼 2(mg) = $BT\%*역가*유량*시간$ 을 계산함으로써 제2 크로마토그래피 상에 로딩된 단백질의 실시간 질량을 계산하는 단계를 포함하는 방법.

발명의 설명

기술 분야

- [0001] 관련 출원
- [0002] 본 출원은 2018년 10월 9일에 출원된 미국 출원 제62/766,253호를 우선권을 주장하며, 이는 그 전문이 본 출원에 포함된다.
- [0003] 발명의 분야
- [0004] 본 발명은 가변 경로 길이 분광광도계(variable pathlength spectrophotometer)를 사용하는 질량 측정을 통해 크로마토그래피 공정을 실시간으로 제어하는 방법에 관한 것이다.

배경 기술

- [0005] 생체 분자를 정제하기 위한 크로마토그래피 공정은 번거롭고 시간이 걸리는 공정이다. 이는 UV 흡광도, 전도도, pH, 유량 및 다른 파라미터들을 모니터링할 수 있는 장비가 필요하다. 친화성 크로마토그래피는 일반적으로 정

제 공정에서 제1 크로마토그래피 단계이고, 여기에서 수확된 세포 배양액 또는 발효 수확물의 복잡한 혼합물로부터 관심 단백질이 대부분 분리된다. 컬럼 상에 로딩된 물질의 양, 컬럼에 걸친 물질의 유량 및 컬럼 크기 또는 층 높이는 컬럼에서 물질의 체류 시간을 규정한다. 체류 시간은 동적 결합 용량과 직접적 관계를 갖는다(GE 페이지). 크로마토그래피 매질의 동적 결합 용량은 표적 단백질의 양이며, 매질은 결합되지 않은 단백질의 상당한 파과가 일어나기 전에 실제 흐름 조건 하에서 결합할 것이다. 임의의 제공된 체류 시간에 대해, 동적 결합 용량과 관련된 파과 곡선이 존재한다. 동적 결합 용량은 유량이 증가함에 따라 일어날 수 있는 물질 이동 제한의 영향을 반영하고, 포화 또는 정적 용량의 결정보다 실제 공정 성능을 예측하는 데 더욱 유용하다. 친화성 크로마토그래피 공정에서 파과 곡선은, 결합되지 않고 컬럼을 지나가는 물질의 백분율을 기술한 것이다. 효율적이고 유용한 공정을 설계하기 위해, 처리되어야 하는 물질의 양에 따라, 제공된 배치에 대한 적절한 체류 시간, 로딩 및 사이클 수가 결정되어야 한다. 일반적으로, 동적 용량은 체류 시간이 감소함에 따라 감소할 것이지만, 동적 용량이 감소하는 속도는 매질에 따라 크게 달라질 수 있다. 이상적인 매질은 유량 범위에 걸쳐 효율적인 물질 이동 성질을 가질 것이지만, 실제로, 매질의 기계적 강도에 의해 결정되는 유량에 대한 상한치가 존재한다. 최대 동적 결합 용량에 대한 공정 기준의 최적화는 공정 시간, 비용 및 단백질 손실의 감소뿐만 아니라 과도한 공정 규모 확대에 대한 필요성을 감소시킨다. 이는 심지어 단일 컬럼 크로마토그래피 단계에 대한 경우에도 해당되며, 정제 공정에서 여러 개의 컬럼을 이용하는 연속 크로마토그래피가 사용될 때 복잡하다. 공급 농도 및/또는 유량이 경시적으로 달라지는 경우에 또는 컬럼 물질이 다른 경우에, 동적 결합 용량은 달라지거나, 경시적으로 변할 것이다. 또한, 컬럼에서 물질의 사용법은 경시적으로 달라질 것이며, 컬럼이 새것일 때 사용되는 공정 조건은 컬럼이 사용되었던 것일 때와는 다를 것이다. 이에 따라, 단백질 역가 및 질량 정보뿐만 아니라 제공된 파과 수준에서의 동적 결합 용량에 관한 실시간 정보를 제공하는 것이 요구되고 있다.

[0006] 제한된 선형범위를 갖는 단일 경로 길이 UV 흡광도 센서를 사용하기 보다는, 가변 경로 길이 UV 분광광도계가 사용된다. 가변 경로 길이 분광광도계가 흡광 계수(mL/cm*mg)를 이용하여 단백질의 농도로 용이하고 정확하게 변환될 수 있는 흡광도/mm 단위의 경사 값(slope value)을 제공할 수 있기 때문에, 정확한 질량이 계산될 수 있다.

발명의 내용

[0007] 과거에는, 크로마토그래피 파라미터를 결정하기 위해 제한된 선형 범위를 갖는 단일 경로 길이 UV 흡광도 센서가 사용되었다. 본 발명에서는, 가변 경로 길이 분광광도계가 흡광 계수(mL/cm*mg)를 사용하여 단백질의 농도로 용이하고 정확하게 변환될 수 있는 흡광도/mm의 경사 값을 제공할 수 있고, 정확한 질량이 계산될 수 있기 때문에, 가변 경로 길이 UV 분광광도계가 사용된다.

[0008] 본 발명은 변하지 않는 신호를 설정하기 위해 충분한 시간 동안, 수확된 세포 배양액을 크로마토그래피 컬럼을 통해 흘려보냄으로써 경사 분광법(slope spectroscopy)을 이용하여, 제공된 단백질에 대한 초기 경사(initial slope)(m0)를 결정하는 단계, 및 컬럼의 유입구에 센서를 정위시키고 경사 분광법에 의해 경사를 측정함으로써 제1 경사(m1)를 결정하는 단계, 및 컬럼의 유출구에 센서를 정위시키고 경사 분광법에 의해 경사를 측정함으로써 제2 경사(m2)를 결정하는 단계, 및 $BT\% = (m2-m0)/(m1-m0)*100$ 을 계산함으로써 파과율(%)을 계산하는 단계에 의해, 크로마토그래피 컬럼의 파과율(%)을 결정하는 방법에 관한 것이다.

[0009] 본 발명은 또한, 변하지 않는 신호를 설정하기 위해 충분한 시간 동안, 수확된 세포 배양액을 크로마토그래피 컬럼을 통해 흘려보냄으로써 초기 경사(m0)를 결정하는 단계로서, 초기 경사는 경사 분광법에 의해 결정되는, 단계, 및 이후 컬럼의 유입구에 센서를 정위시키고 경사 분광법에 의해 경사를 측정함으로써 제1 경사(m1)를 결정하는 단계, 및 이후 역가 = $(m1-m0)/EC$ (여기서, EC는 mL/mg*cm 단위의 단백질의 흡광 계수임)를 계산함으로써 크로마토그래피 컬럼의 역가를 계산하는 단계에 의해, 크로마토그래피 컬럼의 단백질 역가를 결정하는 방법에 관한 것이다.

[0010] 본 발명은 크로마토그래피 컬럼 상에 로딩된 단백질의 실시간 질량을 결정하는 방법으로서, 상기에 기술된 바와 같이 크로마토그래피 컬럼의 단백질 역가를 결정하는 단계, 및 질량 컬럼 1(mg) = 역가*유량*시간을 계산함으로써 크로마토그래피 상에 로딩된 단백질의 실시간 질량을 계산하는 단계를 포함하는 방법에 관한 것이다.

[0011] 본 발명은 2개의 크로마토그래피 컬럼을 갖는 크로마토그래피 공정에서 제2 크로마토그래피 컬럼 상에 로딩된 단백질의 실시간 질량을 결정하는 방법으로서, 상기에 기술된 바와 같이 제1 크로마토그래피 컬럼의 파과율(%)을 결정하는 단계, 및 질량 컬럼 2(mg) = $BT\%*역가*유량*시간$ 을 계산함으로써 제2 크로마토그래피 상에 로딩된 단백질의 실시간 질량을 계산하는 단계를 포함하는 방법에 관한 것이다.

[0012] 음이온 교환, 양이온 교환 또는 혼합 모드 크로마토그래피와 같은 후속 폴리싱 단계를 위해, 유사한 타입의 제어 방식이 사용될 수 있다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0013] 공지된 과정, λ (즉, 자외선, 적외선, 가시광, 등) 및 세기(I)의 전자기 방사선(광)은 큐벳의 일측 상에 입사된다. 방출되는 광의 세기(I)를 측정하는 검출기는 큐벳의 마주하는 측면 상에 배치된다. 샘플을 통해 광이 전파되는 길이는 거리(d)이다. 대부분의 표준 UV/가시 분광광도계는 표준 큐벳을 사용하며, 이는 1 cm 경로 길이를 가지고, 일반적으로, 50 내지 2000 μ l의 샘플을 보유한다. 농도가 c인 단일의 균질 물질로 이루어진 샘플에 대하여, 샘플을 통해 투과되는 광은 하기 비어 법칙(Beer's Law)으로서 알려진 관계식을 따를 것이다: $A = \epsilon c l$ [상기 식에서, A는 흡광도(과정 λ 에서 샘플의 광학 밀도(OD)로도 알려져 있으며, 여기서, OD는 입사광에 대한 투과광의 비율의 $-\log$ 임)이며, ϵ 는 흡수율 또는 흡광 계수(일반적으로, 제공된 과정에서 일정함)이며, c는 샘플의 농도이며, l은 샘플을 통한 광의 경로 길이임].

[0014] 종종 관심 화합물은 고도로 농축되어 있다. 예를 들어, 특정 생물학적 샘플, 예를 들어, 단백질, DNA 또는 RNA는 종종 흡광도가 측정될 때 분광광도계의 선형 범위를 벗어나는 농도에서 분리된다. 이에 따라, 기기의 선형 범위 내에 속하는 흡광도 값을 측정하기 위해 종종 샘플의 희석이 필요하다. 흔히, 임의의 다운스트림 적용을 위해 희석된 샘플의 제거 및 희석 오류 둘 모두를 야기하는, 여러 번의 샘플 희석이 필요하다. 이에 따라, 가능한 농도를 모르는 상태에서 기존 샘플을 취하고 희석 없이 이러한 샘플의 흡수를 측정하는 것이 바람직하다.

[0015] 단백질 정제와 같은 연속 공정에서, 본 발명의 하나 이상의 흐름 센서는 공정의 각 단계에서 또는 공정에서의 특정 사이트에서 사용될 수 있다. 공정의 단계 1에서, 수확 물질은 표적 단백질, 숙주 세포 단백질, 매질, DNA 및 다른 불순물의 조합물이다. 경사 신호(slope signal)는 이러한 모든 성분의 흡광도 기여를 제공할 것이다. 특징화를 통해, 스펙트럼 신호를 사용하여 성분들을 정량화하는 것이 가능할 수 있다. 이러한 스펙트럼은 배치 또는 연속 공정에서 컬럼 로딩을 결정하기 위해 컬럼후 경사 신호(post column slope signal)와 비교하기 위한 사전-컬럼 지표로서 사용될 수 있다. 대안적으로, 컬럼 전 및 후의 경사 신호를 사용하여, 생성물 역가를 결정할 수 있다. 생성물 역가가 농도 신호와 비교된 직후에, 로딩 동안 실시간 질량이 결정될 수 있다. 이는 컬럼 이전의 물질이 로딩 물질의 완전한 상보체를 함유할 수 있게 한다. 컬럼이 로딩된 직후에, 표적 단백질은 컬럼에 흡착되거나 결합되며, 컬럼을 통해 흐르는 물질은 수확된 물질로부터의 불순물이다. 반대로, 배제 컬럼에서는 불순물이 포획될 것이고, 표적 물질이 컬럼을 통과할 수 있게 된다. 공정의 제2 단계는, 친화성 컬럼 후에, 공정을 모니터링하기 위한 최상의 위치일 수 있다. 이러한 단계에서, 물질의 정제의 대부분이 일어난다. 컬럼이 완전히 로딩될 때를 확인하기 위해 경사 신호가 사용될 수 있다. 이는 센서를 지나 흐르는 (수확 물질 단독으로 인한) 배경 신호를, 나중에 합한 수확 물질과 로딩 물질의 신호와 비교함으로써 달성될 수 있다. 이는 수지가 최대 용량으로 로딩될 때 일어난다. 대안적으로, 생성물 역가 및 실시간 농도를 가짐으로써, 컬럼 상의 로딩은 로딩된 전체 단백질의 질량에 의해 제어될 수 있다. pH, 유량, 전도도, 수지의 크기 및 구성, 수지의 타입 또는 온도와 같은 파라미터는 로딩 용량에 영향을 미칠 수 있다. 이러한 경사 신호만으로도, 로드 용량은 신속하게 결정될 수 있고, 이상적인 공정 파라미터를 겨냥하도록 실험적으로 변경될 수 있다. 연속 공정 동안, 개별적으로 최대 용량으로 로딩되고 이후에 용출되는 여러 친화성 컬럼이 있을 수 있다. 컬럼마다의 용출 피크의 장기 비교는 공정에서 컬럼의 교체 또는 다른 변경에 대한 필요성을 나타내는, 수지 용량의 경시적 저하가 일어나는지의 여부를 나타낼 수 있다. 용출 동안 스펙트럼 측정의 추가는 용액 중에 존재하는 개개 성분들의 정량화를 허용할 수 있다. 단계 3 및 단계 4는 폴리싱 단계이며, 각 폴리싱 단계에서 경사 센서(slope sensor)는 공정을 위한 농도 및 전체 항복값의 연속 정량화를 제공한다. 흐름 센서의 큰 동적 범위로 인하여, 여러 종은 이온 교환 크로마토그래피 분리에서 정량화될 수 있으며, 그렇지 않으면, 오프라인 분석이 필요할 것이다. 단계 5에서, UF/DF 스테이지 이후의 센서는 농도 값, 즉 처리/정제된 약물 물질의 최종 농도를 제공한다. 농도는 굴절률 모니터링과 같은 다른 방법과 대비되는 광범위한 특징화없이 공정 전반에 걸쳐 용이하게 모니터링될 수 있다. 경사 값은 대부분의 경우에 완충제 독립적이다. 투과액은 또한 정상 처리 또는 컨쥬게이션 동안 모니터링될 수 있다. 최종 단계에서, 충전 스테이션에서의 흐름 센서는 최종 바이알 농도를 제공할 것이다. 이는 잔류하는 모든 물질을 포획하기 위해 사용될 수 있고, 최종 공정 수율을 결정하기 위해 사용될 수 있다. 본 발명의 방법의 여러 구현예에서, 단일 과정이 모니터링될 수 있지만, 특정 상황에서는, 2개 이상의 과정을 모니터링하는 것이 유리할 수 있다. 예를 들어, 경시적으로 생성물 라인에서 오염물이 쌓이고, 그에 따라 오염물이 퇴적되고, 결국 검출기로의 광이 부분적으로 또는 완전히 차단될 수 있다. 연속 공정 동안 오프-피크(off-peak) 과정의 모니터링은, 이러한 이슈를 문제가 되기 전에 검출할 수 있다.

- [0016] 가변 경로 길이 분광광도계는 통상적인 분광광도계의 동적 범위를 확장시키기 위해, 소프트웨어 제어를 통해 실시간 측정에 대해 반응하여 파라미터를 동적으로 조정하며, 이에 따라 거의 모든 농도의 샘플은 본래 샘플의 희석 또는 농축 없이 측정될 수 있다. 또한, 본 발명의 방법은 샘플의 농도를 결정하기 위해 경로 길이를 인지하는 것을 필요로 하지 않는다.
- [0017] 본 발명의 방법은, 로딩 곡선 동안 Abs/mm 단위의 초기 경사(m0)를 설정하고 크로마토그래피 컬럼 전 및 후의 경사로부터 이를 차감함으로써 로딩 질량을 결정하는 신규한 기법을 제공한다. 유량(mL/분) 및 흡광 계수는 이후에 컬럼 및/또는 후속 컬럼 상에 로딩된 질량을 결정하기 위해 실시간으로 적용되고 통합된다. 본 발명에서, 1개 또는 2개의 센서의 조합이 사용된다. 2개 센서를 갖는 방식에서, 하나는 제1 경사 값(m1, Abs/mm)을 생성하는 컬럼의 유입구에 배치되며, 하나는 제2 경사 값(m2, Abs/mm)을 위해 컬럼의 유출구에 배치된다. 유입구의 오프라인 경사 측정의 조합은 m1 대신에 사용될 수 있다. 초기 경사(m0)는 소정 시간 동안 비교적 변하지 않도록 유지되는 신호를 설정하는 데 충분한 시간 동안, 수확된 세포 배양액(HCCF)을 컬럼을 통해 흘려보냄으로써 결정된다. 이러한 부피는 통상적으로, 컬럼을 통한 적어도 1 내지 2 컬럼 부피의 흐름 후에 결정된다. 신호가 안정화되기 전에 컬럼을 통과하는 4개의 컬럼 부피(CV)가 이용될 수 있다. m0 경사(Abs/mm)가 설정된 후에, 이러한 값은 제어 시스템에 입력되어 시간에 대한 파과율%(BT%)를 플롯팅하기 시작할 수 있다.
- [0018] $BT\% = (m2-m0)/(m1-m0)*100$
- [0019] 단백질 역가는 또한 하기와 같이 결정될 수 있다:
- [0020] $역가 = (m1-m0)/EC$
- [0021] 역가는 mg/ml 단위이며, m1 및 m0는 Abs/mm 단위이며, EC는 mL/mg*cm 단위임.
- [0022] 컬럼 상에 로딩된 실시간 질량은 하기와 같다:
- [0023] $질량\ 컬럼\ 1(mg) = 역가*유량*시간$
- [0024] 후속 컬럼 상에 로딩된 실시간 질량은 하기와 같다:
- [0025] $질량\ 컬럼\ 2(mg) = BT\%*역가*유량*시간$
- [0026] 이러한 제어 방식은 단일 컬럼 또는 다중 컬럼 친화성 크로마토그래피에서 사용될 수 있다. 단일 컬럼 크로마토그래피에서, 질량 제어는 컬럼 상에서 최대 로딩을 가능하게 한다. 이러한 방법의 사용은 배치 공정의 유연성 및 제어의 증가를 제공할 것이다. 제어 시스템이 임의의 결합 용량으로 조정되기 때문에 수지 분해는 더 이상 고려될 필요가 없다.
- [0027] 다중-컬럼 공정에서, 질량 제어는 제1 컬럼 및 제2 컬럼의 로딩을 실시간으로 제공한다. 이러한 제어 시스템은 이후에 역가가 동적일 수 있는 관류 생물반응기로 조정될 수 있다. 시기(timing)는 질량 제어 시스템을 가짐으로써 신속하고 정확하게 결정될 수 있다. 연결된 배치 다중-컬럼 공정에서, 이는 단일 컬럼과 유사한 장점을 제공한다.
- [0028] 플로우-쓰루 디바이스(flow-through device)는 본 발명의 방법에서 이루어진 측정을 위한 용기로서의 역할을 할 수 있다. 플로우-쓰루 디바이스는 샘플 용액을 플로우 셀 디바이스 내로 및 밖으로 흐를 수 있게 하는 플로우 셀 바디를 포함한다. 플로우 셀 바디는 통상적으로 200 내지 1100 nm의 전자기 소스 범위의 전자기 방사선을 통과시키는 적어도 하나의 윈도우를 갖는다. 윈도우는 다양한 물질로부터 제조될 수 있지만, 자외선 적용을 위해, 석영, 사이클로 올레핀 폴리머(COP), 사이클로 올레핀 코폴리머(COC), 폴리스티렌(PS) 또는 폴리메틸 메타크릴레이트 PMMA가 필요할 수 있다. 윈도우는 전자기 방사선이 윈도우를 통해 통과하고 검출기를 타격할 수 있는 한 상이한 크기 및 형상을 가질 수 있다. 플로우-셀 시스템에서, 검출기 및 프로브 팁(probe tip)은 실질적으로 수평 방향으로 존재할 수 있으며, 샘플은 검출기와 프로브 사이로 흐른다. 대안적인 구현예에서, 거울은 전자기 방사선을 윈도우로 그리고 윈도우를 통해 반사시키기 위해 사용될 수 있다. 거울 및 윈도우의 배치는 전자기 방사선이 검출기에 의해 검출되도록 거울이 윈도우를 통해 방사선을 반사시킬 수 있는 한 제한되지 않는다. 특정 구현예에서, 거울 및 윈도우는 서로 마주하고 있거나 서로 직각일 수 있다. 프로브 및 검출기의 절대적인 공간적 방향과는 무관하게, 프로브 팁 및 검출기의 표면은 서로에 대해 실질적으로 수직이어야 한다. 플로우 셀 바디는 또한, 프로브 팁이 통과할 수 있는 포트를 포함한다. 이러한 포트는 샘플 용액이 플로우-쓰루 디바이스로부터 노출되지 않으면서 포트를 통해 프로브 팁이 통과할 수 있도록 동적 시일로 시일링된다. 이러한 시일은 Parker Hannifin Corporation EPS Division(West Salt Lake City, Utah)로부터 입수 가능한 FlexiSeal Rod and Piston Seals을 포함한다. 다이어그램에서, 샘플 용액이 유입구 포트로 유입되고 유출구 포트로부터 유출되

는 단일 경로가 존재한다. 대안적인 구현에는 다수의 경로 및 다수의 유입구 및 유출구 포트를 포함할 수 있다. 플로우 셀 디바이스에서, 프로브 팁은 샘플 용액의 흐름에 대해 실질적으로 수직으로 이동하고, 이는 검출기에 대해 실질적으로 수직이다. 플로우 셀은 다양한 내측 직경을 가질 수 있다. 다양한 플로우 셀 직경은 제공된 공정 동안 필요한 부피와 유량의 함수이다.

[0029] 플로우 셀은 다양한 피팅(fitting)에 의해 흐름 스트림에 통합될 수 있다. 3 mm ID 플로우 셀은 바브 피팅(barb fitting) 또는 루어 피팅(luer fitting)을 사용한다. 10 mm ID 플로우 셀은 트라이-클램프 피팅을 사용한다. 플로우 셀의 바람직한 구현예에서, 셀은 스테인리스강 316으로 제조되며, 석영 윈도우 및 광섬유는 스테인리스에 둘러싸인다. 이러한 바람직한 구현예에서, 관독을 수행하기 위해 플로우 셀에서 위아래로 피스톤 운동하는 피브렛의 어느 한 측면 상에 2개의 테플론 시일이 존재한다. 대안적으로, 피브렛에 고정되고 플로우 셀에 고정된 가스켓은 정확한 경로 길이 변경을 보장하면서 적절한 시일링을 제공할 수 있다. 플로우 셀의 바람직한 구현예에서, 피브렛의 외부 직경은 정적 시스템에 비해 증가된다. 바람직한 구현예에서, 피브렛의 외부 직경은 1 mm 미만 또는 25 mm 초과일 수 있다. 피브렛의 크기는 플로우 셀의 크기 및 플로우 셀을 통해 흐르는 유체의 속도에 영향을 미칠 적용에 따라 달라질 것이다. 바람직한 구현예에서, 피브렛은 진동하거나, 구부러지거나 부러지지 않을 정도로 충분한 직경을 갖는다. 피브렛의 외부 직경 증가는 측정 정확도에 영향을 미치는 장비 진동을 감소시킨다. 플로우 셀의 바람직한 구현예에서, 테플론 시일들 사이에 스테인리스 플러그가 위치되어 있다. 플러그는 세척 문제가 존재할 수 있는 플로우 셀 중의 공극을 메운다. 공동이 채워지면, 플로우 셀은 더욱 용이하게 세척된다. 플로우 셀에서 다른 시일은 백금 경화 실리코스로 제조될 수 있다. 표준 EPDM 시일은 시간이 흐르면 플로우 셀을 오염시킬 수 있는 일부 물질을 방출시킬 수 있으며, 백금 경화 실리코ンの 사용은 이러한 잠재적인 문제를 피할 수 있다. 본 발명의 플로우 셀은 멸균 또는 무균 환경을 필요로 하는 공정에서 사용될 수 있도록 멸균되거나 세척될 수 있다.

[0030] 검출기는 검출된 광으로부터의 에너지를, 디바이스에 의해 처리될 수 있는 신호로 변환시킬 수 있는 임의의 메커니즘을 포함한다. 적합한 검출기는 특히, 광전자 증배관, 포토다이오드, 어발란체 포토다이오드, 전하-결합 디바이스(CD), 및 강화된 CCD를 포함한다. 검출기에 따라, 광원, 및 검정 모드, 예를 들어, 검출기는 이산, 아날로그, 포인트, 또는 이미징 모드를 포함하지만, 이로 제한되지 않는 다양한 검출 모드에서 사용될 수 있다. 검출기는 흡광도, 광발광 및 산란을 측정하기 위해 사용될 수 있다. 본 발명의 디바이스는 하나 이상의 검출기를 사용할 수 있지만, 바람직한 구현예에서는 단일 검출기가 사용된다. 바람직한 구현예에서, 광전자 증배관은 검출기로서 사용된다. 본 발명의 기기의 검출기는 기기에 통합될 수 있거나, 샘플을 통해 검출기로 이동하는 전자기 방사선을 운반할 수 있는 광 전달 디바이스에 검출기를 작동 가능하게 연결함으로써 원거리에서 위치될 수 있다. 광 전달 디바이스는 용융 실리카, 유리, 플라스틱, 또는 전자기 소스 및 검출기의 파장 범위에 대해 적절한 임의의 투과성 물질일 수 있다. 광 전달 디바이스는 단일 섬유 또는 다수의 섬유로 구성될 수 있으며, 이들 섬유는 기기의 사용에 따라 상이한 직경을 가질 수 있다. 섬유는 거의 모든 직경을 가질 수 있지만, 대부분의 구현예에서, 섬유 직경은 약 0.005 mm 내지 약 20.0 mm의 범위이다.

[0031] 제어 소프트웨어는 비제한적으로, 파장, 경로 길이, 데이터 획득 모드(파장/경로 길이 둘 모두에 대해), 속도론, 트리거/표적, 스펙트럼의 상이한 구역에 대한 상이한 동적 범위/해상도를 제공하기 위한 이산 경로 길이/파장 밴드, abs/경로 길이 곡선, 회귀 알고리즘 및 경사 결정을 생성하기 위한 단면 플롯, 경사 값으로부터의 농도 결정, 흡광 계수 결정, 기준선 보정, 및 산란 보정과 같은 다양한 기준에 기초하여, 디바이스 거동을 조정할 것이다. 소프트웨어는 스캐닝 또는 이산 파장 관독 옵션, 신호 평균화 시간, 파장 간격, 스캐닝 또는 이산 경로 길이 관독 옵션, 데이터 가공 옵션, 예를 들어, 기준선 보정, 산란 보정, 실시간 파장 단면, 임계값 옵션(예를 들어, 파장, 경로 길이, 흡광도, 경사, 절편, 결정 계수 등), 동적/연속 측정 옵션을 제공하도록 구성된다.