

МЕМБРАНЫ В БИОТЕХНОЛОГИИ: СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ**А.Д. Каталевский, К.В. Смирнов, Н.Н. Смирнова**

Артем Дмитриевич Каталевский (ORCID 0000-0001-7926-1745), Наталья Николаевна Смирнова (ORCID 0000-0001-7588-3555)*

Кафедра химии, Владимирский государственный университет им. А.Г. и Н.Г. Столетовых, ул. Горького, 87, Владимир, Российская Федерация, 600000

E-mail: ak@vladisart.ru, smirnovann@list.ru*

Кирилл Вадимович Смирнов (ORCID 0000-0002-2875-3798)

Лаборатория протеомики надорганизменных систем, Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, ш. Подбельского, 3, Пушкин, Российская Федерация, 196608.

E-mail: kirill.vad.smirnov@gmail.com

Мембранные процессы всегда являлись неотъемлемой частью биотехнологических процессов. Сегодня без них не обходится ни одно биотехнологическое производство: обратный осмос, ультрафильтрация, микрофильтрация, разделение газов, хроматография, перапорация и электродиализ – все эти процессы играют важную роль в тех или иных технологических решениях. Несмотря на то, что первые мембранные системы были заимствованы из технологий, которые разрабатывались для других промышленных применений, в течение последних 45 лет новые материалы и элементы создаются специально для нужд биотехнологической промышленности. Мембраны хорошо подходят для работы с биологическими молекулами: относительно низкие температуры и давления, отсутствие необходимости фазовых переходов и введения химических добавок минимизируют степень денатурации, дезактивации, и/или деградации биологических продуктов. В настоящее время мембранные технологии занимают лидирующие позиции в процессах стерилизующей фильтрации, осветления, культивирования клеточных культур, удаления вирусов, концентрирования и очистки белков. Все большее распространение получают процессы с применением мембранных биореакторов и мембранной хроматографии. В обзоре показаны возможности существующих разработок в мембранных технологиях, акцентируется внимание на используемых мембранных материалах и характеристиках мембранных систем, применяемых для коммерческого производства. Процессы мембранного разделения требуют более дорогостоящего оборудования по сравнению с традиционными процессами разделения, однако являются более энергоэффективными. По своей конструкции мембранные системы, как правило, компактны и имеют модульную архитектуру, благодаря которой появляется возможность использования одного и того же оборудования для решения различных задач. Имеются предпосылки того, что новые разработки в мембранных технологиях смогут удовлетворить растущие нужды биотехнологической отрасли в большей производительности и снижении стоимости производства.

Ключевые слова: ультрафильтрация, микрофильтрация, мембранные биореакторы, мембранная хроматография

MEMBRANES IN BIOTECHNOLOGY: CURRENT STATE AND PROSPECTS

A.D. Katalevskiy, K.V. Smirnov, N.N. Smirnova

Artem D. Katalevskiy (ORCID 0000-0001-7926-1745), Natalia N. Smirnova (ORCID 0000-0001-7588-3555)*

Department of Chemistry, Vladimir State University named after A.G. and N.G. Stoletovs (VISU), Gorky st., 87, Vladimir, Russia, 600000

E-mail: ak@vladisart.ru, smirnovann@list.ru*

Kirill V. Smirnov (ORCID 0000-0002-2875-3798)

Laboratory for Proteomics of Supra-Organismal Systems, All-Russia Research Institute for Agricultural Microbiology, Podbelsky h., 3, Pushkin, Russia, 196608

E-mail: kirill.vad.smirnov@gmail.com

Membranes have always been an important part of a diverse range of biotechnological processes. Nowadays, reverse osmosis, ultrafiltration, microfiltration, gas separation, chromatography, pervaporation, electrodialysis and other membrane-based processes are integral part of biotechnological production, enabling the resolution of various technological challenges. First membrane systems, used in biotechnology was taken from other fields. However, over the past 45 years, new materials and components have been developed for specific biotechnological applications. Membranes are highly suitable for use with biomolecules: relatively low temperature and pressure, no need for phase transitions or addition of chemical compounds. As a result, the risks of degradation, denaturation or inactivation of biotechnological products are reduced to a minimum. Currently, membrane-based technologies offer the best solutions for processes such as sterilizing filtration, clarification, cell culture cultivation, virus removal, and protein concentration and purification. Processes involving membrane bioreactors and membrane chromatography are becoming more and more common. In the review, the current state of development in membrane technology is presented, as well as the description of materials used for membranes and the characteristics of the membrane systems used in commercial production. Appliance for membrane separation processes can be quite expensive, but it is more energy-efficient than traditional separation methods. Due to their design, membrane systems are typically compact and have a modular structure, which allows to use of the same equipment to solve various tasks. It is discussed that future developments in membrane technology will be able to meet the increasing demands for higher productivity, lower production costs, and accelerate the development of the biotechnology.

Keywords: ultrafiltration, microfiltration, membrane bioreactors, membrane chromatography

Для цитирования:

Каталевский А.Д., Смирнов К.В., Смирнова Н.Н. Мембраны в биотехнологии: современное состояние и перспективы. *Изв. вузов. Химия и хим. технология*. 2025. Т. 68. Вып. 1. С. 6–22. DOI: 10.6060/ivkkt.20256801.7075.

For citation:

Katalevskiy A.D., Smirnov K.V., Smirnova N.N. Membranes in biotechnology: current state and prospects. *ChemChemTech [Izv. Vyssh. Uchebn. Zaved. Khim. Khim. Tekhnol.]*. 2025. V. 68. N 1. P. 6–22. DOI: 10.6060/ivkkt.20256801.7075.

ВВЕДЕНИЕ

За последние полвека мембранные технологии стали необходимыми для человечества. Жизнь двух миллионов людей планеты поддерживается благодаря гемодиализу, 45 трлн. л питьевой воды ежегодно производится обратным осмосом, городские канализационные сточные воды непрерывно очищаются при помощи микро- и ультрафильтрации. В ближайшей перспективе мембраны смогут улавливать до 90% углекислого газа, выделяемого электростанциями. В последние годы значение мембранных технологий резко возросло ввиду

того, что широкое использование мембранных процессов позволяет разрешать не только технологические, но и экологические проблемы. Жизненная необходимость широкомасштабного внедрения мембранных процессов определяется многими факторами и, прежде всего, их прямым влиянием на обеспечение национальной безопасности, решение наиболее острых социально-экономических проблем и перспективами их практического использования [1].

Обратный осмос, ультрафильтрация, микрофильтрация, разделение газов, хроматография,

первапарация и электродиализ – все эти процессы играют важную роль в тех или иных технологических решениях. Лабораторные исследования давно уступили место крупномасштабным коммерческим проектам, перспективность которых не вызывает сомнений. Процессы мембранного разделения требуют более дорогостоящего оборудования по сравнению с традиционными процессами разделения, однако являются более энергоэффективными. По своей конструкции мембранные системы, как правило, компактны и имеют модульную архитектуру, благодаря которой появляется возможность использования одного и того же оборудования для решения различных задач [2].

Всплеск интереса к современной биотехнологии относится к середине прошлого столетия. Начиная с этого этапа, мембраны стали неотъемлемой частью биотехнологических процессов. В опубликованной в 1936 г. Д. Ферри обзорной статье [3] впервые были представлены результаты применения ультрафильтрации для концентрирования ферментов, анализа вирусов, изготовления продуктов с незначительным содержанием побочных белковых компонентов, а также для стерилизующей фильтрации. С конца 80-ых, начала 90-ых годов мембранные системы стали играть важную роль в очистке первых биотехнологических продуктов [4, 5], встраиваясь в технологические процессы фракционирования крови, получения молочных и других продуктов питания, а также в технологию водоподготовки и водоочистки [6].

Мембранные процессы хорошо подходят для использования в биотехнологиях: относительно низкие температуры и давления, отсутствие необходимости фазовых переходов и введения химических добавок минимизируют степень денатурации, дезактивации, и/или деградаци биологически активных веществ [7]. Эффективность полученных результатов способствовала формированию целого направления мембранной науки и технологии, обеспечивающего потребности биотехнологической индустрии.

Цель данного обзора – рассмотреть последние разработки и показать новые тенденции в области микро- и ультрафильтрации, мембранной хроматографии и мембранных биореакторов, акцентируя внимание на используемых и разрабатываемых материалах, предоставляющих возможности для создания высокопроизводительных и селективных технологий, обеспечивающих расширение спектра возможных применений.

СВОЙСТВА БИОМОЛЕКУЛ И ТРЕБОВАНИЯ К БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОЙ ПРОДУКЦИИ

Исторически первыми биотехнологическими продуктами стали биологически активные белковые молекулы, выполняющие функции высокоактивных гормонов (инсулин, соматотропин, эритропоэтин), тромболитических агентов (активатор плазминогена тканевого типа) и факторов свертывания крови [8]. Начало третьего тысячелетия ознаменовалось внедрением в клиническую практику таких продуктов как моноклональные антитела, для получения которых на разных этапах процесса используются глубинная, вирусная, ультра- и стерилизующая фильтрация [9].

Биологическая активность белка определяется его уникальной трехмерной структурой и функциональностью поверхности. Большинство белков представляют собой биополимеры, образованные линейной последовательностью из 20 природных аминокислот. Нативная конформация (наиболее функционально активное состояние белка) стабилизируется, главным образом, гидрофобными взаимодействиями. Водородные связи между слабокислотными донорными и акцепторными группами формируют вторичную структуру белка. При этом положительно заряженные аминокислотные группы и отрицательно заряженные группы карбоновых кислот обычно располагаются на внешней поверхности молекулы [10].

Поскольку пространственная конфигурация белковой макромолекулы может быть довольно сложной, для оценки ее радиуса используется уравнение Стокса-Эйнштейна, в основе которого – значение экспериментально определенного коэффициента диффузии молекулы. Установлено, что упрощенный вариант оценочного расчета предполагает возможность использования следующего выражения [11]:

$$r = 0,88 \cdot M^{1/3}, \quad (1)$$

где r – радиус макромолекулы, нм; M – молекулярная масса белка, кДа.

Эффективный радиус белковой молекулы может быть существенно больше, что обусловлено процессами сольватации и формирования «ионной атмосферы» молекулы. Этот эффект необходимо учитывать при хроматографическом определении молекулярной массы белка. Показано, что эффективная молекулярная масса белка увеличивается более чем в 20 раз по мере снижения ионной силы раствора с 150 до 5 мМ [12].

Биотехнологические продукты обычно производятся с использованием микроорганизмов или культур клеток животных или растений, несущих в

себе рекомбинантную ДНК [13-15]. Опубликованные данные за 2018 г. показали, что 8 из 10 самых продаваемых лекарств – это биологические препараты, произведенные по технологии рекомбинантной ДНК, объем продаж каждого из которых по всему миру превышает 6,7 млрд. \$ в год [16]. Природа исходного материала является основным фактором, оказывающим влияние на итоговый состав биотехнологической системы. В частности, современные системы культивирования клеток обычно обеспечивают концентрацию продукта от 1 до 3 г/л, в трансгенном молоке были получены концентрации до 10 г/л. Критическими примесями могут быть различные компоненты клеточного дебриса: ДНК, липиды, белки, в том числе протеолитические ферменты, способствующие разложению целевого продукта. В состав питательных сред для культивирования клеток входят факторы роста, питательные вещества, стабилизирующие агенты, пеногасители. Значимым является процесс удаления эндогенных вирусоподобных частиц, которые могут присутствовать в генетически модифицированных клеточных линиях млекопитающих, а также случайных вирусов, введенных во время обработки. Трансгенное молоко содержит высокие концентрации жира и молочных белков, в том числе казеинов, формирующих способные к взаимодействию крупные мицеллярные структуры.

Наиболее жесткими являются требования к чистоте белковых продуктов, используемых в фармацевтике. Нормируется наличие/концентрация целевого белка, белка клетки-хозяина (НСП), ДНК, вирусов, эндотоксинов, экстрагируемых компонентов, входящих в состав мембраны, а также используемых в процессах ферментации и очистки. Приемлемые уровни белка клетки-хозяина определяются на основе испытаний технологических возможностей процесса и его безопасности в токсикологических и клинических исследованиях. Для продуктов моноклональных антител целевым является диапазон ppm (микрограммы белков клетки-хозяина на грамм продукта антитела). Контролируемыми являются также агрегативная устойчивость продукта, наличие дезамидированных и окисленных форм, а также различных форм гликозилирования [17-19]. Уровни ДНК установлены ВОЗ на уровне ≤ 10 мкг на дозу. Нормативные стандарты требуют, чтобы белковые продукты, полученные из рекомбинантной ДНК для использования человеком, соответствовали критерию менее 1 вирусной частицы на миллион доз. Предельные уровни эндотоксина обычно устанавливаются на уровне

менее 5 EU/кг веса пациента. Концентрации экстрагируемых из мембран компонентов как правило не должны превышать 1-10 мкг/мл. Допустимое количество низко- и среднемолекулярных компонентов, используемых в процессе (но отсутствующих в рецептуре продукта), определяется с учетом их токсичности. Микробное загрязнение контролируется на различных стадиях процесса получения конечного продукта. Стерильность обеспечивают как путем предварительной обработки паром используемого оборудования, так и в самом процессе фильтрации.

Принципиально важным является тот факт, что в современном биотехнологическом производстве мембраны востребованы на всех стадиях: ферментации, разделения реакционной среды, выделения и очистки продукта [7].

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МЕМБРАННЫХ ПРОЦЕССОВ. МИКРО- И УЛЬТРАФИЛЬТРАЦИЯ

С точки зрения применения в биотехнологии безусловными лидерами являются ультра- и микрофильтрация. Однако, это далеко не исчерпывающий перечень востребованных этой отраслью производства мембранных процессов. В частности, для получения воды для инъекций при производстве фармацевтических препаратов активно используются обратный осмос и нанофильтрация [20], при разделении аминокислот – электродиализ [21]. Глубинная фильтрация, сочетающая в себе механическое улавливание и адсорбцию частиц, применяется для осветления суспензий и задержания белков. Мембранная хроматография, благодаря своей универсальности и высокой чувствительности, успешно используется для решения как аналитических, так и технологических задач, связанных с выделением целевых компонентов [22]. Мембранные биореакторы применяются для выделения примесей из конечных продуктов, а также обеспечивают оптимальные условия для культивирования клеток и микроорганизмов в фармацевтических производствах [23].

Обладая порами от 1 до 20 нм, ультрафильтрационные мембраны обеспечивают задержание частиц размером 0,01-0,05 мкм. К задачам, решаемым с помощью этого метода мембранного разделения, относится получение ультрачистой воды, стерилизация и осветление всех видов лекарственных препаратов, а также разделение и очистка белков.

Микрофильтрационные мембраны содержат поры от 0,05 до 10 мкм и разработаны для задержания частиц размером от 0,1 мкм, т.е. они спо-

способны удерживать клетки и клеточный дебрис, при этом позволяя белкам и растворенным веществам с молекулами с невысокой молекулярной массой попадать в фильтрат.

Мембраны, разработанные специально для фильтрации вирусов, имеют размер пор от 20 до 70 нм, располагаясь между диапазонами «типичными» для ультра- и микрофильтрации.

Результативность мембранной фильтрации определяется как «ситовым» (по размерам разделяемых частиц), так и «заряд-селективным» и адсорбционным механизмами.

Как правило, фильтрация растворов через мембраны осуществляется в двух режимах. Фильтрация в нормальном потоке (или тупиковая фильтрация), прежде всего, нашла применение в процессах, где отделяемые компоненты содержатся в очень низких концентрациях, а также в глубинной фильтрации и в мембранной хроматографии, где целевое удаление веществ происходит по всему объему пористой структуры. В настоящее время ультрафильтрационные установки преимущественно используют фильтрацию в тангенциальном потоке, где исходный раствор направлен параллельно мембране, т.е. перпендикулярно потоку фильтрата, что позволяет снижать загрязнение поверхности мембраны, значительно увеличивая производительность процесса [24].

Для характеристики мембран используют данные по их общей пористости и размеру пор. Однако ключевыми технологическими свойствами мембранных материалов являются удельная производительность и селективность (истинная и наблюдаемая).

Истинная селективность мембраны определяется ее структурными и поверхностными свойствами, а наблюдаемая – следствие природы и интенсивности поляризационных явлений. Засорение мембраны может возникать из-за адсорбции на поверхности и внутри пор мембраны и/или образования отложений на внешней поверхности мембраны. Концентрационная поляризация связана с формированием у поверхности мембраны пограничного слоя, в котором концентрация растворенного вещества больше, чем в исходном растворе. В случае с микрофильтрацией, увеличивающаяся концентрация клеток и клеточного дебриса может существенно снизить скорость потока, создавая дополнительное гидравлическое сопротивление в системе. При ультрафильтрации белка, начиная с определенной концентрации, наблюдается образование слоя геля как результат уменьшения гидрат-

ных оболочек функциональных групп макромолекул и формирования пространственной сетки за счет межмолекулярных, прежде всего, водородных взаимодействий. Обобщение существующих экспериментальных данных показало возможность объединения методов снижения концентрационной поляризации в три большие группы: предварительная обработка разделяемых растворов, изменение параметров проведения процесса, регенерация мембран [25]. Однако, многочисленные работы, в которых рассматривается подход к решению проблемы загрязнения мембран через разработку новых материалов или модификацию их поверхности [26-29], указывают на природу материалов как фактор регулирования загрязнения поверхности мембран.

Удельная производительность (проницаемость) мембраны определяется как объем исходного раствора, который может быть отфильтрован в единицу времени через единицу площади мембраны до ее регенерации или замены.

Для баромембранных процессов, осуществляемых при постоянном трансмембранном давлении, с учетом кинетической зависимости удельной производительности, предел эффективности мембранной системы обычно характеризуется точкой, в которой скорость потока фильтрата опускается до менее чем 10% от ее начального значения или ниже заданной характеристики потока, необходимой для конкретного применения. Для работы при постоянной скорости потока фильтрата производительность определяется максимально возможным и технологически целесообразным перепадом давления. Ограничения могут быть связаны с эксплуатационными характеристиками мембраны или используемого оборудования. В случае адсорбирующей мембраны пропускная способность определяется наличием недопустимого уровня ключевого компонента в потоке фильтрата («проскоком ключевого компонента») [11].

Конструктивные оформления присутствующих на рынке элементов для микро- и ультрафильтрации весьма разнообразны. Это могут быть половолоконные, трубчатые, плоские, рулонные и патронные системы. Фильтры для стерилизующей фильтрации представлены в виде автономных картриджей. Мировые лидеры, компании Pall (США), Milliporesigma (США) и Sartorius (Германия) производят капсулы, предварительно стерилизуемые гамма-облучением KleenPak™, AcroPak™, Durapore®, Sartopore®. Аналогичные капсулы в большом ассортименте выпускают в Китае такие

компании как Membrane Solutions, Nupore, Cobetter, ZenPure. В России ООО НПП «Технофильтр» в настоящее время производит серию стерилизующих капсул КФМ.К, КФМ.К+, КФМ.ПС с мембранами из полиамида и полиэфирсульфона.

Стандартными режимами работы микро- и ультрафильтров являются нормальная (тупиковая) (NFF) и тангенциальная фильтрация (TFF) (рис. 1).

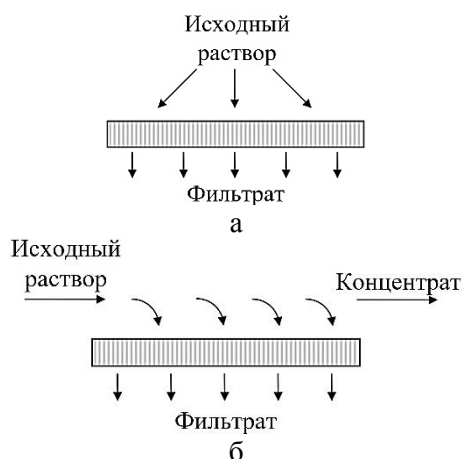


Рис. 1. Схема тупиковой (а) и тангенциальной (б) фильтрации [30]

Fig. 1. The scheme of dead-end (a) and tangential (b) filtration [30]

Исторически основным применением микрофильтрации в биотехнологии стала стерилизующая фильтрация. Практически все биопрепараты подвергаются «холодной» стерилизующей фильтрации, поскольку термическая стабильность биологических молекул ограничивает использование альтернативных методов стерилизации. Стерилизующие фильтры работают в режиме тупиковой фильтрации, задерживая бактерии, клеточный дебрис и нерастворимые частицы. Эти фильтры используются для удаления бактерий и частиц как из исходных растворов, так и для защиты от загрязнения нерастворенными материалами последующих ступеней процесса, а также для операций стерильного розлива.

Изначально стерилизующие фильтры включали мембраны с размером пор 0,2 мкм. Однако обеспечение защиты растворов от микоплазм, присутствующих в исходном сырье, применяемом в процессах культивирования клеток, потребовало использования мембран с размером пор 0,1 мкм. Необходимая степень стерилизации обычно составляет 10^{10} - 10^{15} [31].

Основным механизмом, обеспечивающим селективность при стерилизующей фильтрации, является «ситовой» механизм, однако необходимо учитывать и вклад адсорбционных процессов, особенно, когда речь идет об удалении образующихся

в процессе получения и хранения продуктов белковых агрегатов, в том числе нерастворимых. Т.к. адсорбция и задерживание белковых агрегатов оказывают существенное влияние на массообменные характеристики мембран, удаление таких агрегатов следует рассматривать как важную часть процесса очистки, особенно конечного продукта. Дальнейшей агрегации полученного продукта можно избежать за счет применения буферных растворов и введения в композиции специальных веществ [32].

Регулирование адсорбционной активности мембран путем изменения интенсивности взаимодействия мембрана/микроорганизм позволяет достигать необходимого эффекта стерилизации при использовании микрофильтров с размером пор, превышающих 0,3 мкм [33].

Мембраны для стерилизующей фильтрации изготавливаются на основе нескольких базовых полимеров, включая полисульфон (ПС), полиэфирсульфон (ПЭС), поливинилиденфторид (ПВДФ), полиамид (ПА6, ПА66, ПА12), полиэтилен (ПЭ), полипропилен (ПП) [7, 19, 34-36]. Тем не менее обеспечение конкурентоспособности микрофильтрации требует постоянной работы над созданием новых материалов с улучшенными массообменными характеристиками, обладающих повышенной химической стабильностью и устойчивостью к биологическому загрязнению. Один из реализуемых подходов – физическая и химическая модификация поверхности мембран, как правило, обеспечивающая ее гидрофилизацию [37-38], в том числе за счет формирования мультислойного покрытия противоположно заряженных полиэлектролитов [41-42]. Сравнительный анализ эффективности различных методов модификации поверхности полимерных мембран, направленных на минимизацию биологического загрязнения, представлен в работе [43].

Состав полимерной композиции и свойства поверхности мембран не определяют в полной мере их массообменные характеристики. Для получения оптимальной структуры мембран, используемых для стерилизующей фильтрации, применяют как традиционные фазоинверсионные методы [44], так и пока не получившие широкого распространения, например, электроспиннинг [45]. Разработки в области производства композитных и многослойных мембран позволили значительно увеличить их удельную производительность по сравнению с изотропными мембранами, первоначально используемыми для стерилизующей фильтрации.

Значительные усилия инженеров направлены на разработку новых мембранных модулей с

улучшенными характеристиками массопереноса для процессов микрофильтрации. Стерилизующая фильтрация в тангенциальном потоке составляет конкуренцию двухступенчатым мембранным процессам, сочетающим глубинную и тупиковую стерилизующую фильтрацию, обеспечивая высокую скорость потока, что позволяет очищать поверхность мембраны и уменьшить концентрационную поляризацию и загрязнение [7]. В последние годы появились работы, в которых для повышения эффективности мембранной фильтрации предложено использовать пульсирующий поперечный поток. Авторы показывают возможность увеличения потока пермеата до 25% за счет подобного инженерного решения [46].

Удаление вирусов – еще одна задача, решаемая с применением микрофильтрации. Прежде всего, речь идет о необходимости разделения содержащихся в клеточных культурах вирусов размером примерно от 12-20 до 100-300 нм и макромолекул белков размером от 4 до 12 нм [47]. Клеточные линии млекопитающих часто используются при производстве рекомбинантных белков, которые имеют терапевтическое, профилактическое или диагностическое применение. Однако клеточные линии могут быть загрязнены вирусом или вирусоподобными частицами. В дополнение к эндогенным загрязнителям вирусы могут быть занесены вместе с другими компонентами, используемыми в процессе ферментации, а также во время транспортировки и иных стадий получения продукта.

Для характеристики способности мембран к задержанию вирусов используется показатель LRV (Log Value):

$$LRV = - \lg S, \quad (2)$$

где S – коэффициент просеивания вируса (отношение концентраций вируса в концентрате и в фильтрате).

Значение LRV зависит от природы и потенциальной вирусной контаминации исходного материала. Биологические препараты, полученные из клеточных линий, содержащих ретровирусы, как правило, требуют более высокого уровня LRV. Распространенные модельные вирусы включают в себя парвовирусы животных (например, MVM), полиовирус, вирус синдбиса, реовирус и др.

Так как речь идет о необходимости удаления частиц, значительно отличающихся по размерам, то наряду с классической микрофильтрацией [48, 49] в процессах очистки используются ультрафильтры [50-55]. Присутствующие на рынке вирусные фильтры делятся на две категории. Первая

категория – с размером пор приблизительно 50-70 нм используется для очистки от крупных вирусов, таких как ретровирусы (диаметр ~ 100 нм), вторая категория включает фильтры с размером пор около 20 нм, предназначенные для удаления небольших вирусов, таких как парвовирусы (диаметр ~ 20 нм).

Как правило, вирусные фильтры представляют собой композитные мембраны на основе гидрофильных полиэфирсульфона, поливинилиденфторида и регенерированной целлюлозы [7]. Мировыми лидерами производства таких мембран являются Milliporesigma (США), Pall (США), Sartorius (Германия). Активно развиваются в этом направлении компании Cobetter (Китай), Guidling (Китай). Компания Milliporesigma выпускает композитные мембраны на основе гидрофильного поливинилиденфторида марки Viresolve®70 и Viresolve®180, используемые в устройствах тангенциальной фильтрации, и фильтры Viresolve® NFP и NFR для фильтрации в нормальном потоке, предназначенные для парвовируса (NFP) и ретровируса (NFR). Viresolve® NFP изготовлен из гидрофильного поливинилиденфторида, основой Viresolve® NFR является гидрофильный полиэфирсульфон [56]. Корпорация Pall разработала двух- и трехслойные мембраны Ultipor® на базе гидрофильного поливинилиденфторида марок DV50 и DV20 для нормальной фильтрации вирусов, первая - обеспечивает удаление парвовирусов, вторая - предназначена для удаления ретровирусов [57].

Поиск новых более эффективных материалов продолжается. В частности, в работе [58] рассматривается возможность применения для фильтрации вирусов композитной микрофильтрационной мембраны на основе полиэфирсульфона, на поверхности которой формируется многослойное покрытие из сшитого полиэтиленimina с иммобилизованными наночастицами меди и серебра. Результатом модификации является получение материала, позволяющего достичь снижения количества инфекционных бактериофагов MS2 на порядок ($с 10^4$ до 10^5) как за счет адсорбции, так и за счет инактивации вирусных частиц.

Наряду с плоскими мембранами компания Pall выпускает волоконные микрофильтрационные элементы Microza® UNO на основе поливинилиденфторида [59]. Корпорация Asahi Kasei (Япония) производит мембраны из полых волокон Planova® марок 15N, 20N и 35N, изготовленные из регенерированной целлюлозы [60]. Фильтры Planova были одними из первых специально разработанных

ных для фильтрации вирусов мембран. В ряде исследований рассматривалась возможность их использования для удаления патогенных белков и прионов [61-63].

Необходимо отметить, что несмотря на явные преимущества тангенциальной фильтрации, применение одноразовых фильтров при тупиковом режиме существенно упрощает как проектирование, так и валидацию процесса фильтрации.

Основная задача ультрафильтрации в биотехнологических процессах заключается в очистке и концентрировании белков. Использование методов генетической инженерии позволило экспрессировать гены, кодирующие целый ряд белков, представляющих интерес для фармацевтики (интерфероны, интерлейкины, инсулин, соматотропин и др.) в различных клетках, в том числе и бактериальных, что открыло возможность получения широкого спектра медицинских препаратов, с одной стороны, а с другой – поставило задачу удаления из конечного продукта токсичных примесей, в том числе бактериальных эндотоксинов (даунстрим-процесс). Максимальный уровень эндотоксинов для инъекционных лекарственных форм и биологических продуктов установлен европейской фармакопеей в 5 ед. эндотоксина (EU, Endotoxin Unit) на 1 кг веса тела за 1 ч. Одна единица примерно составляет 100 пкг эндотоксина [62-63]. По своей природе эндотоксины гидрофобны (из-за наличия в составе липидных хвостов), отрицательно заряжены (из-за присутствия остатков фосфорной кислоты) и, несмотря на относительно небольшую молекулярную массу (10-20 кДа), способны образовывать в водных растворах устойчивые к температуре и pH высокомолекулярные структуры (более 100 кДа). В целом ряде обзорных работ [64-66] рассмотрены сравнительные возможности использования хроматографических (как наиболее традиционных) и нехроматографических методов в процессах выделения и очистки биофармацевтических белков. Показано, что использование ультрафильтрационных мембран с молекулярно-массовым отсечением (cut-off) около 300 кДа позволяет удалять эндотоксины из водных растворов, не содержащих белки до концентрации 0.06 EU/мл. В работе [67] выбор сделан в пользу половолоконных мембран с порогом задержания 15 кДа.

Высокое задержание белка достигается за счет небольшого размера пор ультрафильтрационных мембран, хотя многочисленные исследования показали существенный вклад «заряд-селективного» механизма в их массообменные характери-

стики [68]. Оптимальная удельная производительность обычно достигается при работе вблизи изоэлектрической точки белка (pI) с низкой молекулярной массой и при относительно небольших концентрациях соли (ионная сила около 10 mM). В этом случае обеспечивается минимальный размер белковых макромолекул и относительно невысокая интенсивность взаимодействия с поверхностью мембраны. На поверхности заряженных макромолекул белков в растворе электролита формируется двойной электрический слой за счет электростатических взаимодействий противоионов. Было показано [22], что наличие подобных взаимодействий приводит к увеличению эффективного размера белковых молекул. Кроме того, дополнительные электростатические взаимодействия возникают и из-за прямого взаимодействия между заряженными белковыми макромолекулами при pH ниже и выше изоэлектрической точки белка и ионными группами на поверхности мембраны [69]. Эти эффекты могут быть весьма значительными, существенный вклад в них вносит ионная сила раствора: массообменные характеристики мембраны снижаются более чем на порядок при уменьшении концентрации соли со 100 до 1 mM [22]. Увеличение заряда белка и/или уменьшение ионной силы раствора увеличивает эффективный объем макромолекулы, таким образом, снижая концентрацию белка в фильтрате.

Эффекты прямого кулоновского взаимодействия белок/мембрана могут быть дополнительно использованы при применении мембран, обладающих электрическим зарядом, для увеличения степени задержания одноименно заряженных молекул. Таким образом, положительно заряженная мембрана обеспечит гораздо большее задержание положительно заряженного белка, чем отрицательно заряженная или нейтральная мембрана с тем же размером пор [70-72]. Необходимо учитывать возможность использования такого инструмента как электростатические взаимодействия даже для растворов, содержащих макромолекулы с одинаковым значением pI ввиду различия профилей зависимости «заряд – pH» для белков различной природы и наличия комбинированных влияний заряда и размера белка на перенос молекулы через мембрану.

Для получения ультрафильтрационных мембран, применяемых для фильтрации белкодержавших растворов, используют различные полимеры, включая полисульфон, полиэфирсульфон, полисульфонамид и полиамид [72-77], а также ре-

генерированную целлюлозу [71, 78-81]. Синтетические полимеры обладают достаточно высокой химической стойкостью, что снимает ограничения использования агрессивных чистящих средств. Мембраны из регенерированной целлюлозы характеризуются хорошей гидрофильностью и пониженной адсорбционной активностью по отношению к белкам.

Высокопроизводительная фильтрация в тангенциальном потоке (НРТФФ) – новая технология, которая потенциально может использоваться на протяжении всего процесса очистки препаратов: для удаления специфических примесей (например, белков, ДНК или эндотоксинов) и/или белковых олигомеров или продуктов распада. Такой режим фильтрации позволяет совмещать процессы очистки, концентрирования и буферного обмена и рассматривается как наиболее перспективный.

В обзоре [82] показаны возможности применения НРТФФ для очистки и концентрирования целого ряда целевых препаратов, в том числе вакцин «ГРИПП-А/В-АВК», «Хаврикс», клещевого энцефалита «ЭнцеВир», против лептоспироза животных, поликомпонентной вакцины для иммунопрофилактики и иммунотерапии заболеваний, вызываемых условно-патогенными микроорганизмами, содержащей смесь антигенов, выделенных из штаммов *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* и др. Авторами дан анализ влияния характеристик мембран и технологических параметров процесса (давление, температура, степень концентрирования) на качество целевых продуктов, время проведения процесса и потери препарата.

В работе [32] сделан акцент на необходимость контроля рН буферной смеси и ее ионной силы в процессе разделения и даны рекомендации, направленные на повышение эффективности процесса для случая, когда целевой продукт находится в концентрате, а примеси – в фильтрате. Во-первых, значения рН буфера, далекие от рI продукта, уменьшат его фильтрацию, что приведет к увеличению выхода. Во-вторых, при рН буфера, близком к рI примесей, повышение интенсивности их перехода в фильтрат будет способствовать увеличению чистоты продукта. В-третьих, значение рН между рI продукта и примеси (как правило ближе к рI примеси) можно рассматривать как оптимальное. В-четвертых, при наличии различных примесей целесообразно использовать либо ступенчатый, либо непрерывный градиент рН во время диафильтрации: если рI примеси меньше, чем рI продукта, градиент рН, как правило, следует регулировать от

низкого к высокому рН, чтобы примеси всегда были либо положительно заряженными, либо нейтральными перед их удалением, что предотвращает возможность связывания примесей с поверхностью мембраны (в случае положительного значения ее ζ -потенциала).

Результаты сравнительного анализа эффективности мембранных и немембранных методов в процессах очистки и концентрирования целевых продуктов представлены в таблице.

Таблица

Состав продукта моноклонального антитела для аффинного и мембранного процессов [32]
Table. Product composition of monoclonal antibodies for affinity and membrane processes [32]

Материал для анализа	Аффинный процесс	Тангенциальная фильтрация
Белки клетки-хозяина	< 1 ppm	< 1 ppm
ДНК	< 0,003 ppm	< 0,006 ppm
Мономер (mAb)	99,8%	99,5%

Хотя для тангенциальной фильтрации потенциально могут быть использованы мембраны различной геометрии, в настоящий момент в большей части работ рассматриваются плоские мембраны.

МЕМБРАННЫЕ БИОРЕАКТОРЫ

Первоначально концепция мембранного реактора заключалась в обеспечении максимальной конверсии сырья и сохранении высокой начальной производительности процесса за счет выведения продукта из реакционной среды с помощью полупроницаемой мембраны. В настоящее время эта концепция успешно реализуется в биотехнологии, демонстрируя альтернативный подход к классическим методам иммобилизации биокатализаторов (ферментов, микроорганизмов, антител). В мембранных реакторах биокатализаторы либо присутствуют в растворе в виде взвеси, отделяемой мембраной в реакционной емкости, либо иммобилизованы в толще самой мембраны. В первом случае система может состоять из традиционного реактора в сочетании с узлом мембранного разделения; во втором – мембрана является матрицей для катализатора и выполняет функцию разделительного узла (рис. 2). Биокатализатор может быть иммобилизован в мембране или на ее поверхности за счет комплексообразования, гелеобразования, физической адсорбции, ионного связывания, ковалентного связывания или сшивки. При

этом необходимо учитывать, что процесс иммобилизации не должен затрагивать активный центр фермента, снижая его каталитическую активность. К преимуществам иммобилизации биокатализаторов относят повышенную стабильность и производительность реактора, улучшенную чистоту и качество продукта, а также сокращение отходов [83].

Целый ряд исследований направлен на оптимизацию процессов и технологических характеристик мембранных биореакторов. Их эффективность определяется набором биохимических параметров (каталитическая активность биокатализаторов, стабильность их иммобилизации, концентрация и вязкость субстрата и продукта), геометрических и разделительных характеристик мембраны (конфигурация, структура, морфология поверхности, распределение пор по размерам, селективность) и гидродинамических параметров (транс-мембранное давление, скорость потока) [30].

Мембранные биореакторы используются при производстве аминокислот, антибиотиков, противовоспалительных средств, противоопухолевых препаратов, витаминов, оптически чистых энантимеров, изомеров [84, 85].

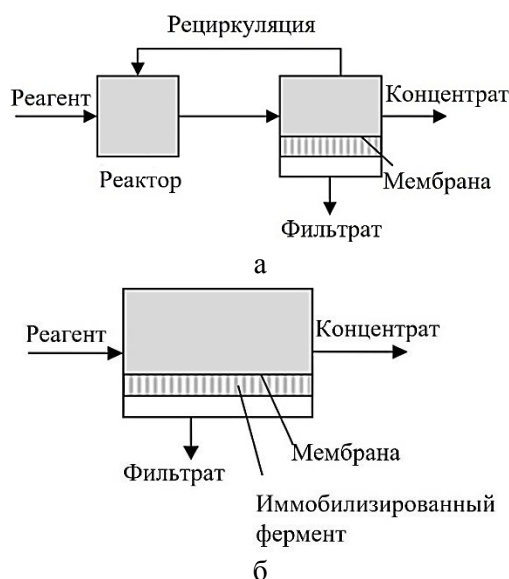


Рис. 2. Схемы мембранного биореактора: с вынесенным мембранным блоком (а) и со встроенной мембраной (б) [30]
Fig. 2. Membrane bioreactor configurations: reactor combined with a membrane operation unit (a), reactor with the membrane active as catalytic and separation unit (б) [30]

Почти четыре десятилетия назад появилась технология непрерывного культивирования клеток с использованием перфузионных биореакторов [86]. В перфузионных биореакторах при непрерывном добавлении питательных веществ, равно как и

удалении продукта (и растворимых примесей) биокатализа и периодическом выведении продуктов клеточного лизиса удается поддерживать практически постоянный реакционный объем и количество клеток. Перфузионные системы позволяют обеспечивать количество клеток практически в 10 раз большее, чем в обычных биореакторах периодического действия, что приводит к существенному повышению производительности процесса [7]. Короткое время пребывания в биореакторе особенно привлекательно для производства высоколабильных продуктов, подверженных деградации, агрегации и/или протеолизу [87]. Хорошо зарекомендовало себя использование перфузионных биореакторов для получения моноклональных антител [88].

Поиск оптимальной геометрии показал высокую эффективность применения в биореакторах полуволоконных мембран. При этом клетки могут выращиваться либо в экстракапиллярном пространстве, либо внутри волокон, либо в кольцевом пространстве между волокнами разных диаметров [30]. Тем не менее, компания EMD Millipore разработала перфузионный фильтр с плоскими листовыми мембранами на основе ПВДФ с размером пор 5 мкм Cellicon™ [89].

В настоящее время в перфузионных биореакторах, как правило, реализуется два режима фильтрации: тангенциальная фильтрация (TFF) и фильтрация с переменным тангенциальным потоком (ATF) (рис. 3). В первом случае поток концентрата, содержащий жизнеспособные клетки, возвращается в биореактор с помощью перистальтического насоса, в то время как поток, содержащий выделенный продукт (фильтрат, пермеат), выводится для последующей очистки (при необходимости). Во втором – поток прокачивается через модуль попеременно мембранным насосом, циклически забирающим и возвращающим клетки в биореактор, время цикла составляет около 1 мин [90]. В этом случае минимизируется возможное при использовании перистальтического насоса повреждение клеток, а переменное направление потока позволяет частично снять проблему загрязнения мембраны [91]. Системы ATF, интегрированные с перфузионными биореакторами могут непрерывно эксплуатироваться в течение нескольких недель [92].

Мембранные биореакторы (MBR) появились на рынке более 40 лет назад. Это динамично развивающееся направление мембранной технологии: в период с 2014 по 2019 гг. годовой темп роста рынка MBR в Европе составлял около 10%, а в Китае – 17,4%. Однако в настоящее время основное

применение MBR – очистка сточных вод (промышленных, бытовых, муниципальных) [93]. В биотехнологии мембранные биореакторы пока добились лишь ограниченного успеха, хотя новые технические решения, в частности появление систем TFF/ATF для перфузионных биореакторов, позволяют избежать проблем, связанных с масштабированием, настройкой, валидацией и обслуживанием процессов, значительно облегчая традиционный процесс культивирования клеток с периодической подпиткой (*fed-batch*). Безусловно одной из основных проблем, ограничивающих применение биореакторов, является их загрязнение [94]. Разработка/модификация мембранных материалов рассматривается как элемент ее решения. В настоящее время в биореакторах используются как неорганические (керамические, графитовые), так и полимерные мембраны (на основе полиэтилена, полипропилена, полиуретана, полиэтилентерефталата, поливинилиденфторида, полисульфона, полиэфирсульфона, эфиров целлюлозы) [7, 94-96].

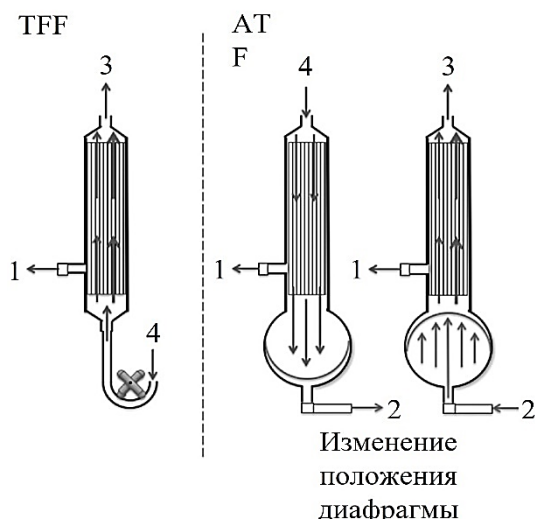


Рис. 3. Режимы фильтрации в мембранных биореакторах: тангенциальная фильтрация (TFF), переменная тангенциальная фильтрация (ATF); 1 – фильтрат, 2 – воздух, 3, 4 – подача смеси: в биореактор и из биореактора, соответственно [7]
 Fig. 3. Filtration modes in membrane bioreactors: tangential filtration (TFF), variable tangential filtration (ATF); 1 – filtrate, 2 – air, 3, 4 – mixture supply to and from the bioreactor, respectively

МЕМБРАННАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ

В мембранной хроматографии обычно используются содержащие функциональные группы микрофильтрационные мембраны, обеспечивающие адсорбционные взаимодействия целевой компонент/мембрана за счет кулоновских сил, гидрофобного, электростатического или иного специфического

взаимодействия. Известны мембраны ионного обмена, гидрофобного взаимодействия, обратной фазы и аффинности (последние вызывают повышенный практический интерес в силу максимальной селективности реализуемых контактов целевой компонент/мембрана). Следует отметить, что аффинная хроматография давно стала неотъемлемой частью фармацевтического и биомедицинского анализа: очистка и выделение ферментов, скрининг потенциальных ингибиторов ферментов при исследовании метаболизма лекарственных средств или для расщепления белков для картирования пептидов, очистка фармацевтических белковых препаратов, удаление прионных белков, очистки рекомбинантных, в том числе терапевтических белков [97-99]. Одной из актуальных задач хроматографии является получение эффективных аффинных лигандов. В основу разработки синтетических лигандов *de novo* положено фундаментальное понимание специфических молекулярных взаимодействий белок/лиганд. Итогом проведенных исследований стало появление целого ряда подходов, направленных на создание новых классов лигандов. Прежде всего, это синтез лигандов с использованием реакции Уги, включающей в качестве компонентов изоцианиды, карбонильные соединения, первичные или вторичные амины и органические/неорганические кислоты [100]. Молекулярно-импринтированные полимеры (MIPs) составляют еще одну группу лигандов и носителей, находящихся в стадии разработки для использования в аффинных методах [97]. Это искусственные полимерные молекулы-отпечатки, получаемые в результате сополимеризации функционального и сшивающего мономеров в присутствии определенных молекул-шаблонов. После удаления шаблона в полимерном каркасе образуются полости-отпечатки, способные к повторному высокоспецифичному взаимодействию с шаблоном или его структурным аналогом. Наконец аптамеры, представляющие собой олигонуклеотидные или пептидные молекулы, также получили применение в качестве лигандов. Для получения аптамеров используется метод SELEX (систематическая эволюция лигандов путем экспоненциального обогащения) [97].

Адсорбционные мембраны изучались в течение почти трех десятилетий в качестве альтернативы обычным хроматографическим колонкам [30]. Хотя равновесная связывающая способность мембран невысока, их высокая пористость и открытая структура дают этому методу несколько ключевых преимуществ (рис. 4). Во-первых, конвективный поток, реализуемый в пористой структуре, снижает

сопротивление массопереносу по сравнению с колоночной (шариковой) хроматографией. Это особенно важно при очистке крупных молекул (ДНК, РНК) и вирусов, которые могут иметь значительные ограничения по диффузии в обычных хроматографических средах. Во-вторых, мембранная хроматография характеризуется более высокими скоростями потока, более низкими перепадами давления и более коротким временем обработки, чем обычная хроматография. В-третьих, мембранным системам присуща простота масштабирования [32].

В устройствах для мембранной хроматографии нашли применение как плоские мембраны, так и полые волокна [101-104].

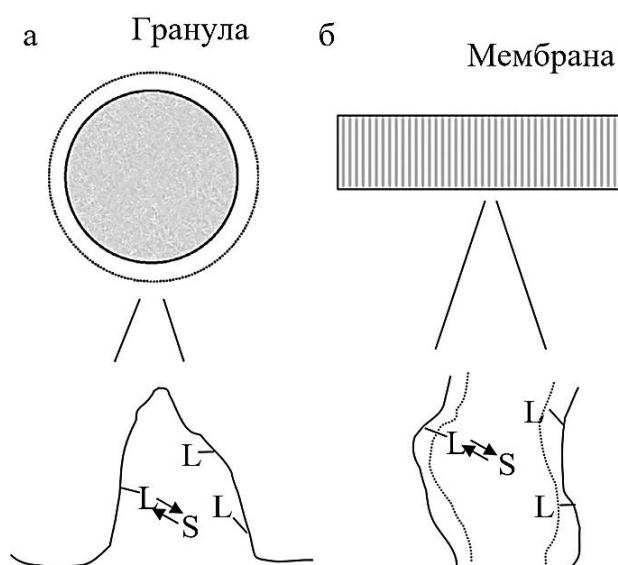


Рис. 4. Схема разделения с использованием колоночной (шариковой) (а) и мембранной (б) хроматографии: L - лиганды, S - растворённое вещество [30]

Fig. 4. Separation scheme using column (bead) (a) and membrane (b) chromatography: L - ligand, S - solute [30]

Мембранные материалы, протестированные для хроматографических применений, созданы на основе целлюлозы, полисульфона, полиамида, поливинилиденфторида. Коммерческие предложения включают плоскосторонние системы (Pall, США), мембранные модули и капсульные фильтры (Sartorius, Германия), картриджи с радиальным потоком (3M, Франция) и модули из полого волокна (Kin-Tec System Inc., США).

Изучена эффективность очистки/выделения/разделения с использованием хроматографических мембран для широкого спектра соединений, таких как белки (моноклональные антитела, сывороточные антитела, сывороточный альбумин, ферменты и т.д.), ДНК и вирусы.

Примерами применений являются использование целлюлозных мембран, содержащих анионообменные и/или катионообменные группы для очистки терапевтических аденовирусов [105], разделения лизоцима и овотрансферрина [106], лактоферрина и бычьего сывороточного альбумина [107], овальбумина, кональбумина и лизоцима [108], пегелированных белков [109], а также модифицированных полиэтиленгликолем поливинилиденфторидных мембран для очистки энзимов [110] и мембран с иммобилизованными фенильными лигандами и поли N-винилкапролактамом для разделения бычьего сывороточного альбумина, γ -глобулина, лизоцима, овальбумина, иммуноглобулина G, α -химотрипсина А [111], бычьего сывороточного альбумина и иммуноглобулина G [112].

Одним из основных ограничений в мембранной хроматографии является неравномерное распределение потока через мембрану из-за большого отношения диаметра к длине элементов. Во многих случаях это может представлять серьезную проблему, существенно снижая эффективность мембран. Однако, новые решения в области модификации мембранных материалов в сочетании с конструктивными решениями (например, мембранная хроматография с боковой подачей (LFMC)) [103], а также расширение возможных целевых применений вызвали новый интерес к применению мембранной хроматографии как одному из биотехнологических инструментов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Мембраны являются неотъемлемой частью биотехнологических процессов, расширение их применения будет определяться необходимостью повышения производительности, улучшения качества и снижения себестоимости продукции. В настоящее время наиболее известными примерами биотехнологического использования мембран остаются ультра- и микрофильтрация. Стерилизующая фильтрация ферментационных сред, очистка буферов, очистка и разделение белков представляют собой стандартную практику. Однако, значительный прогресс вызвало появление на рынке фильтров с высокими массообменными характеристиками, что произошло благодаря разработке композитных мембран, характеризующихся градиентом размера пор по толщине. Так стерилизующие фильтры эволюционировали от обычных ультрафильтрационных мембран с отсечением частиц с высокими молекулярными массами до специально разработанных мембранных структур, способных обеспечивать очень высокую степень удержания вирусов и выход белка более 99%.

Появление «функциональных» мембранных материалов с направленно регулируемыми разделительными характеристиками, в частности за счет изменения ζ -потенциала поверхности, позволило существенно улучшить производительность и селективность, особенно мембран с отсечением по низкой молекулярной массе (< 10 кДа).

Новые технологические решения, направленные на улучшение массообменных характеристик мембранных аппаратов при сохранении высокой плотности упаковки мембран, а также низкого перепада давления, предоставляют еще одну возможность для совершенствования.

Мембраны традиционно использовались для разделения частиц самого разного размера, например, для отделения белков от клеток (микропористые/стерильные фильтры), клеточного дебриса (глубинные фильтры) и вирусов (вирусные фильтры), а также для разделения низкомолекулярных компонентов и белков (ультрафильтрация). Развитие мембранной хроматографии и высокопроизводительной тангенциальной фильтрации впервые позволило провести полную очистку белков с использованием мембранных систем. Однако, конкуренция «традиционных» (хроматографических) методов требует получения новых материалов и внедрения новых технологических решений.

Последние достижения в области клеточной и молекулярной биологии продолжают стимулировать работы над новыми биотерапевтическими средствами как для лечения, так и для профилактики заболеваний. Это включает в себя использование генной терапии для лечения наследственных заболеваний, клеточной терапии для лечения рака и замещения/регенерации тканей, вакцин для иммунизации против вирусных и бактериальных инфекций, а также ряда продуктов, полученных из антител (например, биоспецифичных препаратов и конъюгатов антител к лекарственным средствам) для лечения рака и различных иммунологических нарушений. Успешная коммерциализация этих новых биотерапевтических средств требует разработки эффективных методов биопроизводства, и мембранная технология может сыграть решающую роль в этих усилиях. И речь идет не только об усовершенствовании существующих систем, но и о создании новых мембран, способных обеспечивать высокоселективное разделение клеток, аффинных мембранных адсорберов с повышенной селективностью, основанной на присутствии специфических маркеров клеточной поверхности [7], и мембран/модулей с низким уровнем

загрязнения для длительной работы мембранных систем.

Таким образом, дальнейшие усилия по разработке и улучшению мембранных материалов, модулей и технологических конструкций, должны позволить мембранным системам играть ключевую роль в решении задач, поставленных на современном генно-техническом этапе развития биотехнологии.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в рамках государственного задания в сфере научной деятельности Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (тема FZUN-2024-0004, госзадание ВлГУ).

The work was carried out within the framework of the state assignment in the field of scientific activity of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (topic FZUN-2024-0004, state assignment of VlsU).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

The authors declare the absence a conflict of interest warranting disclosure in this article.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. **Baker R.W.** Membrane technology and applications. Fourth edition. Wiley. 2023. 546 p. DOI: 10.1002/9781119686026.
2. **Show P.L., Ooi C.W., Ling T.C.** Bioprocess Engineering: Downstream Processing. CRC Press. 2019. 232 p. DOI: 10.1201/9780429466731.
3. **Ferry J.D.** Ultrafilter membranes and ultrafiltration. *Chem. Rev.* 1936. V. 18. N 3. P. 373-448. DOI: 10.1021/cr60061a001.
4. **Ladisch M.R., Kohlmann K.L.** Recombinant human insulin. *Biotechnol. Progr.* 1992. V. 8. N 6. P. 469-478. DOI: 10.1021/bp00018a001.
5. **Blanch H.W., Clark D.S.** Biochemical Engineering. CRC Press. 1997. 702 p.
6. **Kosikowski F.V.** Membrane separations in food processing. Membrane separations in biotechnology. Marcel Dekker. 1986. 201 p.
7. **Zydney A.L.** New developments in membranes for bioprocessing – A review. *J. Membr. Sci.* 2021. V. 620. N 118804. P. 7-9. DOI: 10.1016/j.memsci.2020.118804.
8. **Quianson C.C., Cheikh I.** History of insulin. *J. Community Hosp. Intern. Med. Perspect.* 2012. V. 2. N 2. P. 18701. DOI: 10.3402/jchimp.v2i2.18701.
9. **Hummel J., Pagkaliwangan M., Gjoka X., Davidovitz T., Stock R., Ransohoff T., Gantier R., Schofield M.** Modeling the downstream processing of monoclonal antibodies reveals cost advantages for continuous methods for a broad range of manufacturing scales. *J. Biotechnol.* 2019. V. 14. N 2. P. 1700665. DOI: 10.1002/biot.201700665.

10. **Gitlin I., Carbeck J.D., Whitesides G.M.** Why are proteins charged? Networks of charge-charge interactions in proteins measured by charge ladders and capillary electrophoresis. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 2006. V. 45. N 19. P. 3022-3060. DOI: 10.1002/anie.200502530.
11. **Zeman L.J., Zydney A.L.** Microfiltration and Ultrafiltration: Principles and Applications. Marcel Dekker. 1996. 642 p.
12. **Pujar N.S., Zydney A.L.** Electrostatic effects on protein partitioning in size-exclusion chromatography and membrane ultrafiltration. *J. Chromatogr. A.* 1998. V. 796. N 2. P. 229-238. DOI: 10.1016/S0021-9673(97)01003-0.
13. **Shakweer W.M.E., Krivoruchko A.Y., Dessouki S.A., Khattab A.A.** A review of transgenic animal techniques and their applications. *J. Genet. Eng. Biotechnol.* 2023. V. 21. N 55. DOI: 10.1186/s43141-023-00502-z.
14. **Sheshukova E.V., Komarova T.V., Dorokhov Y.L.** Plant factories for the production of monoclonal antibodies. *Biochemistry.* 2016. V. 81. P. 1118-1135. DOI: 10.1134/S0006297916100102.
15. **Dondapati S.K., Stech M., Zemella A., Kubick S.** Cell-Free Protein Synthesis: A Promising Option for Future Drug Development. *BioDrugs.* 2020. V. 34. P. 327-348. DOI: 10.1007/s40259-020-00417-y.
16. Global Analysis: DNA Tech Sector Landscape 2023 [Electronic resource]: Recombinant DNA Technology Global Market Report 2023. URL: https://www.reportlinker.com/p06451225/Recombinant-DNA-Technology-Global-Market-Report.html?utm_source=GNW (дата обращения: 07.02.2024).
17. **Van der Laan J.W., DeGeorge J.J.** Global Approach in Safety Testing. AAPS Advances in the Pharmaceutical Sciences Series. V. 5. Springer. 2013. 315 p. DOI: 10.1007/978-1-4614-5950-7_10.
18. **Breydo L., Redington J.M., Uversky V.N.** Chap. 4. Effects of Intrinsic and Extrinsic Factors on Aggregation of Physiologically Important Intrinsically Disordered Proteins. *Int. Rev. Cell Mol. Biol.* 2017. V. 329. P. 145-185. DOI: 10.1016/bs.ircmb.2016.08.011.
19. ВОЗ. Руководство по качеству, безопасности и эффективности биотерапевтических белковых продуктов, полученных с использованием технологии рекомбинантной ДНК [Электронный ресурс]: Приложение 4, TRS № 987 от 18.06.2014. URL: <https://www.who.int/publications/m/item/recombinant-dna-annex-4-trs-no-987> (дата обращения: 07.02.2024). The WHO. Guidelines on the quality, safety and efficacy of biotherapeutic protein products prepared by recombinant DNA technology [Online resource] Annex 4, TRS No 987. URL: <https://www.who.int/publications/m/item/recombinant-dna-annex-4-trs-no-987> (accessed: 07.02.2024) (in Russian).
20. **Лебедева О.А., Седелкин В.М., Потехина Л.Н.** Технология получения и характеристики хитозановых нанофильтрационных мембран. *Изв. вузов. Химия и хим. технология.* 2022. Т. 65. Вып. 1. С. 58-65. **Lebedeva O.A., Sedelkin V.M., Potekhina L.N.** Technology of production and characteristics of chitosan nanofiltration membranes. *ChemChemTech [Izv. Vyssh. Uchebn. Zaved. Khim. Khim. Tekhnol.]*. 2022. V. 65. N 1. P. 58-65 (in Russian). DOI: 10.6060/ivkkt.20226501.6340.
21. **Харина А.Ю., Чарушина О.Е., Елисеева Т.В.** Особенности массопереноса компонентов при электродиализе раствора ароматическая аминокислота-минеральная соль-сахароза. *Мембраны и мембранные технологии.* 2022. Т. 12. № 2. С. 145-150. DOI: 10.1134/S2218117222020067. **Kharina A.Yu., Charushina O.E., Eliseeva T.V.** Specific features of components mass transfer in electrodialysis of a solution aromatic amino acid-mineral salt-sucrose. *Membrany Membranye Tekhnol.* 2022. V. 12. N 2. P. 145-150 (in Russian).
22. **Singh R., Satyannarayana K.V.V., Kumar V.R., Moorthy G.I.** Membrane Technology in Bioprocess Engineering: Bioprocess Engineering for Bioremediation. The Handbook of Environmental Chemistry. V. 104. Springer. 2020. P. 1-26. DOI: 10.1007/698_2020_505.
23. **Drioli E., Giorno L.** Biocatalytic Membrane Reactors: Applications in Biotechnology and the Pharmaceutical Industry. CRC press. 2020. 211 p. DOI: 10.1201/9781003062721.
24. **Agrawal P., Wilkstein K., Guinn E., McKensie Mason M.K., Martinez C.S., Saylae J.** A Review of Tangential Flow Filtration: Process Development and Applications in the Pharmaceutical Industry. *Org. Process Res. Dev.* 2023. V. 27. N 4. P. 571-591 DOI: 10.1021/acs.oprd.2c00291.
25. **Свитцов А.А.** Введение в мембранные технологии. М.: ДеЛи принт. 2007. 208 с. **Svitsov A.A.** Introduction to Membrane Technology. М.: DeLi print. 2007. 208 p. (in Russian).
26. **Liang Y., Ma H., Taha A.A., Hsiao B.S.** High-flux anti-fouling nanofibrous composite ultrafiltration membranes containing negatively charged water channels. *J. Membr. Sci.* 2020. V. 612. P. 118382. DOI: 10.1016/j.memsci.2020.118382.
27. **Bernstein R., Singer C.E., Singh S.P., Mao C., Arnusch C.J.** UV initiated surface grafting on polyethersulfone ultrafiltration membranes via ink-jet printing-assisted modification. *J. Membr. Sci.* 2018. V. 548. P. 73-80. DOI: 10.1016/j.memsci.2017.10.069.
28. **Liu T., Zhou H., Graham N., Lian Y., Yu W., Sun K.** The antifouling performance of an ultrafiltration membrane with pre-deposited carbon nanofiber layers for water treatment. *J. Membr. Sci.* 2018. V. 557. P. 87-95. DOI: 10.1016/j.memsci.2018.04.018.
29. **Коломкина А.Д., Шитова В.О., Фарносова Е.Н., Каграманов Г.Г.** Мембранные методы разделения культуральной жидкости. *Усп. в химии и хим. технологии.* 2015. Т. 29. № 2. С. 113-115. **Kolomkina A.D., Shitova V.O., Farnosova E.N., Kagramanov G.G.** Membrane separation methods culture fluid. *Usp. Khim. Khim. Tekhnol.* 2015. V. 29. N 2(161). P. 113-115 (in Russian).
30. **Charcosset C.** Membrane processes in biotechnology: An overview. *Biotech. Adv.* 2006. V. 24. N 5. P. 482-492. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2006.03.002.
31. **Jornitz M.W.** Sterile Filtration: A Practical Approach. CRC Press. 2020. 640 p. DOI: 10.1201/9780429116971.
32. **Van Reis R., Zydney A.L.** Bioprocess membrane technology. *J. Membr. Sci.* 2007. V. 297. N 1-2. P. 16-50. DOI: 10.1016/j.memsci.2007.02.045.
33. **Hermia J.** Constant Pressure Blocking Filtration Laws - Application To Power-law Non-newtonian Fluids. *Chem. Eng. Trans.* 1982. V. 60. N 3. P. 183-187.
34. **Helling A., Grote C., Büning D., Ulbricht M., Wessling M., Polakovič M., Volkmar T.** Influence of flow alterations on bacteria retention during microfiltration. *J. Membr. Sci.* 2019. V. 575. P. 147-159. DOI: 10.1016/j.memsci.2019.01.021.
35. **Fernández G.L., Álvarez B.S., Riera R.F.** Microfiltration applied to dairy streams: removal of bacteria. *J. Sci. Food Agric.* 2013. V. 93. N 2. P. 187-196. DOI: 10.1002/jsfa.5935.
36. **Vanysacker L., Declerck P., Bilad M.R., Vankelecom I.F.J.** Biofouling on microfiltration membranes in MBRs: Role of membrane type and microbial community. *J. Membr. Sci.* 2014. V. 453. P. 394-401. DOI: 10.1016/j.memsci.2013.11.024.
37. **Jiang B.B., Sun X.F., Wang L., Wang S.Y., Liu R.D., Wang S.G.** Polyethersulfone membranes modified with D-tyrosine for biofouling mitigation: Synergistic effect of surface hydrophilicity and anti-microbial properties. *Chem. Eng. J.* 2017. V. 311. P. 135-142. DOI: 10.1016/j.cej.2016.11.088.
38. **Song W., Li Z., Li Y., You H., Qi P., Liu F., Loy D.A.** Facile sol-gel coating process for anti-biofouling modification of poly(vinylidene fluoride) microfiltration membrane based on

- novel zwitterionic organosilica. *J. Membr. Sci.* 2018. V. 550. P. 266-277. DOI: 10.1016/j.memsci.2017.12.076.
39. **Zhang X., Wang Z., Tang C.Y., Ma J., Liu M., Ping M., Chen M., Wu Z.** Modification of microfiltration membranes by alkoxysilane polycondensation induced quaternary ammonium compounds grafting for biofouling mitigation. *J. Membr. Sci.* 2018. V. 549. P. 165-172. DOI: 10.1016/j.memsci.2017.12.004.
 40. **Hsu C.H., Venault A., Chang Y.** Facile zwitterionization of polyvinylidene fluoride microfiltration membranes for biofouling mitigation. *J. Membr. Sci.* 2022. V. 648. P. 120348. DOI: 10.1016/j.memsci.2022.120348.
 41. **Tang L., Gu W., Yi P., Bitter J.L., Hong J.Y., Fairbrother D.H., Chen K.L.** Bacterial anti-adhesive properties of polysulfone membranes modified with polyelectrolyte multilayers. *J. Membr. Sci.* 2013. V. 446. P. 201-211. DOI: 10.1016/j.memsci.2013.06.031.
 42. **Sinclair T.R., Patil A., Raza B.G., Reurink D., Hengel S.K., Rutjes S.A., Husman A.M. de R., H.D.W. Roesink, Vos W.M.** Cationically modified membranes using covalent layer-by-layer assembly for antiviral applications in drinking water. *J. Membr. Sci.* 2019. V. 570-571. P. 494-503. DOI: 10.1016/j.memsci.2018.10.081.
 43. **Kochkodan V., Johnson D.J., Hilal N.** Polymeric membranes: surface modification for minimizing (bio)colloidal fouling. *Adv. Colloid Interface Sci.* 2014. V. 206. P. 116-140. DOI: 10.1016/j.cis.2013.05.005.
 44. **Tang Y., Lin Y., Ma W., Wang X.** A review on microporous polyvinylidene fluoride membranes fabricated via thermally induced phase separation for MF/UF application. *J. Membr. Sci.* 2021. V. 639. P. 119759. DOI: 10.1016/j.memsci.2021.119759.
 45. **Moslehi M., Mahdavi H.** Controlled pore size nanofibrous microfiltration membrane via multi-step interfacial polymerization: Preparation and characterization. *Sep. Purif. Technol.* 2019. V. 223. P. 96-106. DOI: 10.1016/j.seppur.2019.04.041.
 46. **Weinberger M.E., Kulozik U.** Pulsatile crossflow improves microfiltration fractionation of cells and proteins. *J. Membr. Sci.* 2021. V. 629. P. 119295. DOI: 10.1016/j.memsci.2021.119295.
 47. **Serabian M.A., Pilaro A.M.** Safety assessment of biotechnology-derived pharmaceuticals: ICH and beyond. *Toxicol. Pathol.* 1999. V. 27. N 1. P. 27-31. DOI: 10.1177/019262339902700106.
 48. **Shoebargh S., Gough I., Medina M.F., Smith A., Heijden J., Lichty B.D., Bell J.C., Latulippe D.R.** Sterile filtration of oncolytic viruses: An analysis of effects of membrane morphology on fouling and product recovery. *J. Membr. Sci.* 2017. V. 548. P. 239-246. DOI: 10.1016/j.memsci.2017.11.022.
 49. **Shoebargh S., Wright E., Csordas M., Medina M.F.C., Lichty B., Latulippe D.R.** Probing effects of additives on the filterability of oncolytic viruses via a microfiltration process. *J. Membr. Sci.* 2021. V. 620. P. 118783. DOI: 10.1016/j.memsci.2020.118783.
 50. **Bolton G.R. Basha J., Lacasse D.P.** Achieving high mass-throughput of therapeutic proteins through parvovirus retentive filters. *Biotechnol. Prog.* 2010. V. 26. N 6. P. 1671-1677. DOI: 10.1002/btpr.494.
 51. **Wickramasinghe S.R., Stump E.D., Grzenia D.L., Husson S.M., Pellegrino J.** Understanding virus filtration membrane performance. *J. Membr. Sci.* 2010. V. 365. N 1-2. P. 160-169. DOI: 10.1016/j.memsci.2010.09.002.
 52. **Кзын А.А., Загидуллин Н.В., Гелич Л.В., Тимербаева Р.Х., Исрафилов А.Г.** Очистка и концентрирование вируса гриппа методом микро- и ультрафильтрации. *Вестн. Башкир. Ун-та.* 2014. Т. 19. № 4. С. 1223-1226. **Kyzin A.A., Zagidullin N.V., Gelich L.V., Timerbaeva R.H., Israfilov A.G.** Purification and concentration of influenza virus by micro- and ultrafiltration. *Vestn. Bashkir. Un-ta.* 2014. V. 19. N 4. P. 1223-1226 (in Russian).
 53. **Johnson S.A., Chen S., Bolton G., Chen Q., Lute S., Fisher J., Brorson K.** Virus filtration: A review of current and future practices in bioprocessing. *Biotechnol. Bioeng.* 2022. V. 119. N 3. P. 743-761. DOI: 10.1002/bit.28017.
 54. **Al-Attabi R., Rodriguez-Andres J., Schütz J.A., Bechelany M., Ligneris E., Chen X., Kong L., Morsi Y.S., Dumée L.F.** Catalytic electrospun nano-composite membranes for virus capture and remediation. *Sep. Purif. Technol.* 2019. V. 229. P. 115806. DOI: 10.1016/j.seppur.2019.115806.
 55. **Fallahianbijan F., Giglia S., Carbrelo C., Zydney A.L.** Quantitative analysis of internal flow distribution and pore interconnectivity within asymmetric virus filtration membranes. *J. Membr. Sci.* 2020. V. 595. P. 117578. DOI: 10.1016/j.memsci.2019.117578.
 56. Milliporesigma (Merck Group): [сайт]. URL: <https://www.merckmillipore.com> (дата обращения: 07.02.2024).
 57. Pall Corporation: [сайт]. URL: <https://www.pall.com> (дата обращения: 07.02.2024).
 58. **Sinclair T.R., Patil A., Raza B.G., Reurink D., Van den Hengel S.K., Rutjes S.A., De Roda Husman A.M., Roesink H.D.W., De Vos W.M.** Cationically modified membranes using covalent layer-by-layer assembly for antiviral applications in drinking water. *J. Membr. Sci.* 2019. V. 570-571. P. 494-503. DOI: 10.1016/j.memsci.2018.10.081.
 59. Pall Corporation. Данные об оборудовании для получения ультрачистой воды: [сайт]. URL: <https://shop.pall.com/us/en/microelectronics/semiconductor/ultrapure-water-1/zidgri7816l> (дата обращения 07.02.2024).
 60. Asahi Kasei Bioprocess. Презентация продукции серии Planova: [сайт]. URL: https://planova.ak-bio.com/products_services/planova-n/ (дата обращения 07.02.2024).
 61. **Nazem-Bokaee N., Chen D., O'Donnell S.M., Zydney A.L.** Visualizing effects of protein fouling on capture profiles in the Planova BioEX and 20N virus filters. *J. Membr. Sci.* 2020. V. 610. P. 118271. DOI: 10.1016/j.memsci.2020.118271.
 62. **Ogikubo Y., Norimatsu M., Noda K., Takahashi J., Inotsume M., Tsuchiya M., Tamura Y.** Evaluation of the bacterial endotoxin test for quantification of endotoxin contamination of porcine vaccines. *Biologicals.* 2004. V. 32. N 2. P. 88-93. DOI: 10.1016/j.biologicals.2004.05.001.
 63. **Fiske M.J., Fredenburg R.A., Meid K.R., McMichael J.C., Arumugham R.** Method for reducing endotoxin in *Moraxella catarrhalis* UspA2 protein preparations. *J. Chromatogr. B. Biomed. Sci. Appl.* 2001. V. 753. N 2. P. 269-278. DOI: 10.1016/S0378-4347(00)00561-2.
 64. **Журавко А.С., Швец В.И.** Свойства бактериальных эндотоксинов и методы их удаления из биофармацевтических препаратов. *Вестн. МИТХТ.* 2014. Т. 9. № 4. С. 27-33. **Zhuravko A.S., Shvets V.I.** Bacterial endotoxins properties and methods of removing them from biopharmaceutical drugs. *Vestn. MITKhT.* 2014. V. 9. N 4. P. 27-33 (in Russian).
 65. **Гусаров Д.А.** Даунстрим-процесс очистки биофармацевтических белков. *Разраб. и регистр. лекарств. ср-в.* 2016. Т. 3. № 16. P. 88-99. **Gusarov D.A.** Downstream process of biopharmaceuticals. *Razrab. Registr. Lekarstv. Sr-v.* 2016. V. 3. N 16. P. 88-99 (in Russian).
 66. **Nestola P., Peixoto C., Silva R.R., Alves P.M., Mota J.P., Carrondo M.J.** Improved virus purification processes for vaccines and gene therapy. *Biotechnol. Bioeng.* 2015. V. 112. N 5. P. 843-857. DOI: 10.1002/bit.25545.
 67. **Мухачева А.В., Мовсесянц А.А., Алсынбаев М.М.** Выбор оптимальных методов очистки белковых веществ,

- входящих в состав вакцины антирабической культуральной концентрированной очищенной инактивированной (КОКАВ). *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2014. Т. 3. № 76. С. 84-88. **Mukhacheva A.V., Movsesyants A.A., Alysnybaev M.M.** Choice of the optimum methods of purification of the proteins which are a part of AntiRabies Vaccine cultural concentrated cleared inactivated (KoKAV). *Epidemiolog. Vaksinoprofilaktika*. 2014. V. 3. N 76. P. 84-88 (in Russian).
68. **Ramirez J.** Ultrafiltration: Methods, applications and insights. Nova Science Publ. 2017. 172 p.
 69. **Смирнова Н.Н., Каталевский А.Д., Смирнов К.В.** Концентрация ионных групп как фактор регулирования адсорбционных и массообменных свойств ультрафильтрационных мембран на основе ароматического поли- и сополиамида. *Ж. Прикл. Хим.* 2022. Т. 95. № 10. С. 1293-1302. DOI: 10.31857/S0044461822100085. **Smirnova N.N., Katalevskii A.D., Smirnov K.V.** Concentration of ionic groups as a factor to control adsorption and mass transfer properties of aromatic poly- and copolyamide based ultrafiltration membranes. *Russ. J. Appl. Chem.* 2022. V. 95. N 10. P. 1584-1593. DOI: 10.1134/S1070427222100093.
 70. **Ariono D., Aryanti P.T.P., Wardani A.K., Wenten I.G.** Analysis of Protein Separation Mechanism in Charged Ultrafiltration Membrane. *J. Eng. Technol. Sci.* 2018. V. 50. N 2. P. 202-223. DOI: 10.5614/j.eng.technol.sci.2018.50.2.4.
 71. **Arunkumar A., Etzel M.R.** Fractionation of α -lactalbumin and β -lactoglobulin from bovine milk serum using staged, positively charged, tangential flow ultrafiltration membranes. *J. Membr. Sci.* 2014. V. 454. P. 488-495. DOI: 10.1016/j.memsci.2013.12.040.
 72. **Lin Zh., Hu Ch., Wu X., Zhong W., Chen M., Zhang Q., Zhu A., Liu Q.** Towards improved antifouling ability and separation performance of polyethersulfone ultrafiltration membranes through poly(ethylenimine) grafting. *J. Membr. Sci.* 2018. V. 554. P. 125-133. DOI: 10.1016/j.memsci.2018.02.065.
 73. **Mehrpourvar A., Rahimpour A.** Surface modification of novel polyether sulfone amide (PESA) ultrafiltration membranes by grafting hydrophilic monomers. *J. Ind. Eng. Chem.* 2015. V. 28. P. 359-368. DOI: 10.1016/j.jiec.2015.03.016.
 74. **Meng X., Huo S., Wang L., Wang X., Lv Y., Tang W., Miao R., Huang D.** Effect of electrokinetic property of charged polyether sulfone membrane on bovine serum albumin fouling behavior. *Front. Environ. Sci. Eng.* 2017. V. 11. N 2. P. 2. DOI: 10.1007/s11783-017-0907-9.
 75. **Emin C., Kurnia E., Katalia I., Ulbricht M.** Polyarylsulfone-based blend ultrafiltration membranes with combined size and charge selectivity for protein separation. *Sep. Purif. Technol.* 2018. V. 193. P. 127-138. DOI: 10.1016/j.seppur.2017.11.008.
 76. **Kumar S.A., Srinivasan G., Govindaradjane S., Kirubasankar B., Jayaraman S.** Modified polyethersulfone thin-film composite membrane via interfacial polymerization for an effective dye separation. *Env. Sust.* 2022. V. 5. P. 345-354. DOI: 10.1007/s42398-022-00239-4.
 77. **Смирнова Н.Н., Покрышкина А.С., Смирнов К.В.** Имобилизация реактивных красителей на поверхности ультрафильтрационных мембран на основе поли-м-фениленизофталамида. *Изв. вузов. Химия и хим. технология*. 2022. Т. 65. Вып. 1. С. 30-37. **Smirnova N.N., Pokryshkina A.S., Smirnov K.V.** Immobilization of reactive dyes on the surface of ultrafiltration membranes based on poly-m-phenylenisophthalamide. *ChemChemTech [Izv. Vyssh. Uchebn. Zaved. Khim. Khim. Tekhnol.]*. 2022. V. 65. N 1. P. 30-37. DOI: 10.6060/ivkkt.20226501.6378.
 78. **Valiño V., San Román M.F., Ibañez R., Ortiz I.** Improved separation of bovine serum albumin and lactoferrin mixtures using charged ultrafiltration membranes. *Sep. Purif. Technol.* 2014. V. 125. P. 163-169. DOI: 10.1016/j.seppur.2014.01.023.
 79. **Arunkumar A., Etzel M.R.** Negatively charged tangential flow ultrafiltration membranes for whey protein concentration. *J. Membr. Sci.* 2015. V. 475. P. 340-348. DOI: 10.1016/j.memsci.2014.10.049.
 80. **Nieminen J., Anugwom I., Pihlajamäki A., Mänttari M.** TEMPO-mediated oxidation as surface modification for cellulosic ultrafiltration membranes: Enhancement of ion rejection and permeability. *J. Membr. Sci.* 2022. V. 659. P. 120786. DOI: 10.1016/j.memsci.2022.120786.
 81. **Tran D.H., Ulbricht M.** Cellulose-cellulose composite membranes for ultrafiltration. *J. Membr. Sci.* 2023. V. 672. P. 121426. DOI: 10.1016/j.memsci.2023.121426.
 82. **Комиссаров А.В., Алешина Ю.А., Громова О.В., Никифоров А.К., Еремин С.А., Волох О.А., Лобовикова, О.А., Перепелица, А.И.** Применение ультрафильтрации для концентрирования и очистки антигенов. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2015. Т. 1. С. 79-84. **Komissarov A.V., Aleshina Y.A., Gromova O.V., Nikiforov A.K., Eremin S.A., Volokh O.A., Lobovikova O.A., Perepelitsa A.I.** Deployment of Ultrafiltration for Concentrating and Purification of Antigens. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsiy*. 2015. V. 1. P. 79-84 (in Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2015-1-79-84.
 83. **Asif M.B., Hai F.I., Jegatheesan V., Price W.E., Nghiem L.D., Yamamoto K.** Current Trends and Future Developments on (Bio-) Membranes. Chap. 8. Applications of Membrane Bioreactors in Biotechnology Processes. Amsterdam: Elsevier. 2019. 349 p. DOI: 10.1016/B978-0-12-813606-5.00008-7.
 84. **Zhan G., Yu Z., Zhang X, Fan S., Gao H., Liu C., Zhou Q., Shao H., Wang L., Guo X.** Exploration on Optimized Control Way of D-Amino Acid for Efficiently Mitigating Membrane Biofouling of Membrane Bioreactor. *Membranes*. 2021. V. 11. N 8. P. 612. DOI: 10.3390/membranes11080612.
 85. **Raghavan D.S.S., Qiu G., Ting Y.P.** Fate and removal of selected antibiotics in an osmotic membrane bioreactor. *Chem. Eng. J.* 2018. V. 334. P. 198-205. DOI: 10.1016/j.cej.2017.10.026.
 86. **Arathoon W.R., Birch J.R.** Large-scale cell culture in biotechnology. *Science*. 1986. V. 232. 4756. P. 1390-1395. DOI: 10.1126/science.2424083.
 87. **Gomez N., Lull J., Yang X., Wang Y., Zhang X., Wiczorek A., Harrahy J., Pritchard M., Cano D.M., Shearer M., Gouard C.** Improving product quality and productivity of bispecific molecules through the application of continuous perfusion principles. *Biotechnol. Prog.* 2020. V. 36. N 4. P. e2973. DOI: 10.1002/btpr.2973.
 88. **Ozturk S.S., Zhou W., Kantardjieff A.** Equipment for Large-Scale Mammalian Cell Culture. In: *Mammalian Cell Cultures for Biologics Manufacturing. Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*. Springer. 2013. V. 139. 259 p. DOI: 10.1007/10_2013_259.
 89. EMD Millipore, Inc. Перфузионный фильтр и контроллер для применения с семенной линией N-1: [сайт]. URL: https://www.emdmillipore.com/US/en/product/Cellicon-Perfusion-Solution,MM_NF-C223762 (дата обращения 07.02.2024).
 90. **Kelly W., Scully J., Zhang D., Feng G., Lavengood M., Condon J., Knighton J., Bhatia R.** Understanding and modeling alternating tangential flow filtration for perfusion cell culture. *Biotechnol. Prog.* 2014. V. 30. N 6. P. 1291-1300. DOI: 10.1002/btpr.1953.

91. **Karst D.J., Serra E., Villiger T.K., Soos M., Morbidelli M.** Characterization and comparison of ATF and TFF in stirred bioreactors for continuous mammalian cell culture processes. *Biochem. Eng. J.* 2016. V. 110. P. 17-26. DOI: 10.1016/j.bej.2016.02.003.
92. **Walther J., McLarty J., Johnson T.** The effects of alternating tangential flow (ATF) residence time, hydrodynamic stress, and filtration flux on high-density perfusion cell culture. *Biotechnol. Bioeng.* 2019. V. 116. N 2. P. 320-332. DOI: 10.1002/bit.26811.
93. **Krzeminski P., Leverette L., Malamis S., Katsou E.** Membrane bioreactors – A review on recent developments in energy reduction, fouling control, novel configurations, LCA and market prospects. *J. Membr. Sci.* 2017. V. 527. P. 207-227. DOI: 10.1016/j.memsci.2016.12.010.
94. **Zhiwei Wang Z., Jinxing Ma J., Tang C.Y., Kimura K., Wang Q., Han X.** Membrane cleaning in membrane bioreactors: A review. *J. Membr. Sci.* 2014. V. 468. P. 276-307. DOI: 10.1016/j.memsci.2014.05.060.
95. **Meghdad Pirsaeheb M., Farahani M.H.D.A., Zinadini S., Zinatizadeh A.A., Rahimi M., Vatanpour V.** Fabrication of high-performance antibiofouling ultrafiltration membranes with potential application in membrane bioreactors (MBRs) comprising polyethersulfone (PES) and polycitrate-Alumoxane (PC-A). *Sep. Purif. Technol.* 2019. V. 211. P. 618-627. DOI: 10.1016/j.seppur.2018.10.041.
96. **Lotfikatouli S., Hadi P., Yang M., Walker H.W., Hsiao B.S., Gobler C., Reichel M., Mao X.** Enhanced anti-fouling performance in Membrane Bioreactors using a novel cellulose nanofiber-coated membrane. *Sep. Purif. Technol.* 2021. V. 275. P. 119145. DOI: 10.1016/j.seppur.2021.119145.
97. **Hage D.S., Anguizola J.A., Bi C., Li R., Matsuda R., Papastavros E., Pfaumiller E., Vargas J., Zheng X.** Pharmaceutical and biomedical applications of affinity chromatography: recent trends and developments. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2012. V. 69. P. 93-105. DOI: 10.1016/j.jpba.2012.01.004.
98. **Hage D.S., Anguizola J.A., Li R., Matsuda R., Papastavros E., Pfaumiller E.L., Matthew R. Sobansky M.R., Zheng X.** Affinity chromatography. Chap. 12. *Liquid Chromatography (Second Edition). Fundamentals and Instrumentation.* Elsevier. 2017. P. 319-341. DOI: 10.1016/B978-0-12-805393-5.00012-9.
99. **Danielsson Å.** Affinity Chromatography. Chap. 17. *Biopharmaceutical Processing. Development, Design, and Implementation of Manufacturing Processes.* Elsevier. 2018. P. 367-378. DOI: 10.1016/B978-0-08-100623-8.00017-7.
100. **Khoury G.E., Khogeer B., Chen C., Ng K.T., Jacob S.I., Lowe C.R.** Bespoke affinity ligands for the purification of therapeutic proteins. *Pharm. Bioproc.* 2015. V. 3. N 2. P. 139-152. DOI: 10.4155/pbp.14.60.
101. **Chen G., Umatheva U., Alforque L., Shirataki H., Ogawa S., Kato C., Ghosh R.** An annular-flow, hollow-fiber membrane chromatography device for fast, high-resolution protein separation at low pressure. *J. Membr. Sci.* 2019. V. 590. P. 117305. DOI: 10.1016/j.memsci.2019.117305.
102. **Madadkar P., Mahansaria R., Mukherjee J., Ghosh R.** Enhancing the efficiency of disc membrane chromatography modules by using a flow directing layer. *J. Membr. Sci.* 2019. V. 580. P. 154-160. DOI: 10.1016/j.memsci.2019.03.026.
103. **Ghosh R., Madadkar P., Wu Q.** On the workings of laterally-fed membrane chromatography. *J. Membr. Sci.* 2016. V. 516. P. 26-32. DOI: 10.1016/j.memsci.2016.05.064.
104. **Zhu J., Sun G.** Facile fabrication of hydrophilic nanofibrous membranes with an immobilized metal-chelate affinity complex for selective protein separation. *ACS Appl. Mater. Interfaces.* 2014. V. 6. N 2. P. 925-932. DOI: 10.1021/am4042965.
105. **Kawka K., Madadkar P., Umatheva U., Shoaebargh S., Medina M.C., Lichty B.D., Ghosh R., Latulippe D.R.** Purification of therapeutic adenoviruses using laterally-fed membrane chromatography. *J. Membr. Sci.* 2019. V. 579. P. 351-358. DOI: 10.1016/j.memsci.2019.02.056.
106. **Brand J., Dachmann E., Pichler M., Lotz S., Kulozik U.** A novel approach for lysozyme and ovotransferrin fractionation from egg white by radial flow membrane adsorption chromatography: Impact of product and process variables. *Sep. Purif. Technol.* 2016. V. 161. P. 44-52. DOI: 10.1016/j.seppur.2016.01.032.
107. **Teepakorn C., Fiaty K., Charcosset C.** Optimization of lactoferrin and bovine serum albumin separation using ion-exchange membrane chromatography. *Sep. Purif. Technol.* 2015. V. 151. P. 292-302. DOI: 10.1016/j.seppur.2015.07.046.
108. **Madadkar P., Ghosh R.** High-resolution protein separation using a laterally-fed membrane chromatography device. *J. Membr. Sci.* 2016. V. 499. P. 126-133. DOI: 10.1016/j.memsci.2015.10.041.
109. **Chen G., Pagano J., Yu D., Ghose S., Li Z., Ghosh R.** Fast and high-resolution purification of a PEGylated protein using a z2 laterally-fed membrane chromatography device. *J. Chromatogr. A.* 2021. V. 1652. P. 462375. DOI: 10.1016/j.chroma.2021.462375.
110. **Fan J., Luo J., Wan Y.** Membrane chromatography for fast enzyme purification, immobilization and catalysis: A renewable biocatalytic membrane. *J. Membr. Sci.* 2017. V. 538. P. 68-76. DOI: 10.1016/j.memsci.2017.05.053.
111. **Kosior A., Antořová M., Faber R., Villain L., Polakovič M.** Single-component adsorption of proteins on a cellulose membrane with the phenyl ligand for hydrophobic interaction chromatography. *J. Membr. Sci.* 2013. V. 442. P. 216-224. DOI: 10.1016/j.memsci.2013.04.013.
112. **Chen J., Peng R., Chen X.** Hydrophobic interaction membrane chromatography for bioseparation and responsive polymer ligands involved. *Front. Mater. Sci.* 2017. V. 11. P. 197-214. DOI: 10.1007/s11706-017-0390-z.

Поступила в редакцию 26.02.2024

Принята к опубликованию 25.03.2024

Received 26.02.2024

Accepted 25.03.2024