

# 抗体药物的规模化生产工艺与质量控制研究

唐彪 王俊杰

南京工业大学

DOI:10.12238/fcmr.v7i1.12510

**[摘要]** 抗体药物的规模化生产与质量控制是生物制药产业升级的核心课题。本研究系统分析了哺乳动物细胞表达系统优化策略,揭示CHO与NS0细胞系在产率(5~8g/L)与糖基化修饰( $\alpha$ -2,6-唾液酸化)间的技术平衡点;开发了基于灌流培养(细胞密度 $2.5 \times 10^7$  cells/mL)与连续纯化工艺(树脂利用率提升2.3倍)的协同生产体系,使单抗生产成本降低18%。在质量控制领域,构建了涵盖质谱(灵敏度0.01%)、ADCC活性测定(EC50偏差 $\pm 25\%$ )与过程分析技术(拉曼光谱预测误差降低40%)的多维质控网络,并通过实验设计(DoE)验证关键工艺参数对糖基化的显著性影响( $p < 0.01$ )。研究指出,细胞株稳定性(传代产率衰减40%)与分析方法通量瓶颈仍是行业主要挑战,而AI驱动的培养基优化(唾液酸化提升15%)与模块化工厂(建设成本降35%)代表了未来技术方向。本成果为抗体药物产业化提供了理论支撑与技术路径,对中国生物医药参与全球竞争具有战略意义。

**[关键词]** 抗体药物; 规模化生产; 质量控制

中图分类号: R917 文献标识码: A

## Research on the Large scale Production Process and Quality Control of Antibody Drugs

Biao Tang Junjie Wang

Nanjing Tech University

**[Abstract]** The large-scale production and quality control of antibody drugs are the core issues for the upgrading of the biopharmaceutical industry. This study systematically analyzed the optimization strategy of mammalian cell expression system and revealed the technical equilibrium point between yield (5~8g/L) and glycosylation modification ( $\alpha$ -2,6-sialylation) in CHO and NS0 cell lines; A collaborative production system based on perfusion culture (cell density  $2.5 \times 10^7$  cells/mL) and continuous purification process (resin utilization rate increased by 2.3 times) was developed, which reduced the production cost of monoclonal antibodies by 18%. In the field of quality control, a multidimensional quality control network covering mass spectrometry (sensitivity 0.01%), ADCC activity determination (EC50 deviation  $\pm 25\%$ ), and process analysis techniques (Raman spectroscopy prediction error reduced by 40%) was constructed, and the significant impact of key process parameters on glycosylation was verified through experimental design (DoE) ( $p < 0.01$ ). Research has pointed out that the stability of cell lines (a 40% decrease in passage yield) and the bottleneck of analysis method throughput remain major challenges in the industry, while AI driven optimization of culture media (a 15% increase in sialylation) and modular factories (a 35% reduction in construction costs) represent future technological directions. This achievement provides theoretical support and technological path for the industrialization of antibody drugs, and has strategic significance for China's biopharmaceutical industry to participate in global competition.

**[Key words]** Antibody drugs; Scale production; Quality control

## 引言

抗体药物的发展现状:近年来,抗体药物凭借其高特异性与靶向治疗优势,已成为全球生物医药领域增长最快的细分市场。根据Evaluate Pharma数据显示,2023年全球单克隆抗体药物市场规模突破2300亿美元,在肿瘤、自身免疫疾病和罕见病治疗中

占据主导地位,其中PD-1/PD-L1抑制剂、HER2单抗等重磅品种持续引领临床转化创新。与此同时,中国生物医药产业在国家“重大新药创制”专项支持下实现跨越式发展,国产PD-1单抗、VEGF抑制剂等品种陆续通过FDA突破性疗法认证,标志着我国正从仿制跟随向原研创新转型。然而,相较于国际巨头在产能布局与工

艺成熟度方面的优势,本土企业仍面临核心细胞株构建、大规模生产关键技术突破等产业升级需求,这直接关系到我国在全球生物医药产业链中的竞争力重塑。

**规模化生产的技术挑战:**抗体药物的规模化生产始终面临效率与质量的动态平衡难题。尽管2000L及以上规模生物反应器已成为行业主流配置,但细胞培养过程中营养消耗梯度效应、代谢副产物累积等问题导致单位体积产率难以线性提升,使得培养基成本占生产总成本的比例超过35%(据BioPlan Associates 2022年报告)。更关键的是,工艺放大过程中的微小参数偏差可能引发关键质量属性(CQAs)变异,例如CHO细胞表达系统中糖基化修饰的N-乙酰神经氨酸含量波动可导致抗体药物体内半衰期差异达20%以上。这种产品质量一致性危机不仅威胁患者用药安全,更可能触发监管机构的上市后变更审查,使得建立稳健的工艺放大模型成为行业共性技术瓶颈。

**质量控制的关键作用:**在抗体药物全生命周期管理中,质量控制体系是连接研发创新与产业化落地的核心纽带。国际人用药品注册技术协调会(ICH)Q6B指南明确要求,必须通过正交分析方法(如肽图分析、糖型质谱检测)对目标产品的分子结构、纯度及生物学活性进行多维度表征。中国药典2020年版三部新增的“重组治疗性抗体类制品总论”,更是将宿主细胞蛋白残留量检测灵敏度标准提升至百万分之一(ppm)级别。对于生物类似药开发而言,严格的理化特性、生物活性及药代动力学可比性研究已成为获得监管批准的先决条件。例如,近期获批的阿达木单抗生物类似药需通过表面等离子共振(SPR)技术证明其与参照药抗原结合动力学的等效性(EMA/CHMP/BMWP/403543/2010),这凸显了质量控制技术在新药开发中的战略价值。

## 1 抗体药物生产工艺的优化与创新进展

### 1.1 上游生产工艺优化

1.1.1 哺乳动物细胞表达系统选择。抗体药物工业化生产首选中国仓鼠卵巢细胞(CHO)体系,其稳定的转录后修饰能力与成熟的驯化工艺使其商业化成功率高达82%。CHO-K1衍生细胞系通过谷氨酰胺合成酶(GS)敲除筛选系统,可实现无血清培养基中5~8g/L的抗体表达水平。相较之下,NS0细胞因具有 $\alpha$ -2,6-唾液酸转移酶活性,在治疗性抗体ADCC效应增强方面展现出独特优势,但其宿主细胞蛋白(HCP)残留风险较CHO系统高3~5倍。最新研究通过CRISPR介导的NS0细胞糖基化通路改造,成功将HCP水平降低至<30ppm,为特殊功能抗体开发提供了新选择。

1.1.2 高密度细胞培养技术突破。灌流培养系统的创新显著提升了抗体产率。采用交替切向流过滤(ATF)或声学沉降装置,可实现每日1.5个反应器体积的培养基置换率,使细胞密度稳定维持在 $2.5 \times 10^7$  cells/mL持续21天。动态补料策略基于代谢组学分析,通过精准调控葡萄糖(维持0.5~2g/L)与谷氨酰胺(<2mM)浓度,将乳酸积累量控制在4g/L以下。丁酸钠(0.5mM)的脉冲式添加可上调抗凋亡基因Bcl-2表达,将细胞活性维持>90%至培养末期。值得注意的是,代谢副产物甲基乙二醛(MGO)的在线监测技术可将细胞凋亡预警时间提前48小时。

1.1.3 一次性生物反应器技术演进。一次性生物反应器的规模已突破2000L,其多层共挤膜材(如HyQtainer)的氧传质系数(kLa)达到 $15\text{h}^{-1}$ ,接近不锈钢反应器性能。模块化设计使厂房布局效率提升40%,交叉污染风险降低至<0.01%。但深层过滤器的通量限制仍是技术瓶颈,新型切向流过滤(TFF)膜包将细胞截留效率提升至99.9%,同时将压力波动范围控制在±0.2bar以内。

### 1.2 下游纯化工艺开发

1.2.1 层析技术集成优化。Protein A亲和层析仍是抗体捕获的核心步骤,耐碱性配基(如MabSelect PrismA)可在0.1M NaOH清洗条件下维持>500次循环寿命。但配基脱落导致的二聚体含量需控制在<0.1%,阳离子交换层析(CEX)在pH5.5条件下可有效去除该杂质。混合模式层析(MMC)的应用取得突破,Capto adhere介质通过疏水与静电双重作用,将宿主DNA残留从50pg/mg降至0.8pg/mg。最新进展表明,将膜层析技术前置处理可减少柱层析负荷30%以上。

1.2.2 病毒清除工艺验证。低pH孵育(pH3.8±0.1,60分钟)对包膜病毒(如XMuLV)的清除能力达 $\geq 4.5\log$ ,但对抗体聚集体的诱导效应需通过组氨酸缓冲液优化抑制。纳滤工艺采用Planova 35N膜包,其20nm孔径可截留细小病毒(如MMV),通量衰减率控制在<10%/批次。新兴的紫外线-C(UV-C)灭活技术对非包膜病毒的清除效率达 $3.5\log$ ,且对抗体结构影响较小。

1.2.3 连续生产工艺革新。连续流层析(CFC)系统通过多柱周期性切换,使树脂动态载量提升至45g/L,较批次模式提高2.3倍。周期性逆流层析(PCC)在单抗纯化中实现收率92%的同时,缓冲液消耗减少65%。但柱效监测技术仍需突破,在线示差折光检测器(dRI)的响应延迟问题导致实时质量控制存在0.5~1小时盲区。

### 1.3 制剂工艺关键参数

1.3.1 液体制剂稳定性控制。组氨酸-醋酸缓冲体系(pH5.5~6.0)可将曲妥珠单抗的聚集速率降至0.02%/月,其作用机制涉及组氨酸咪唑基团与抗体表面电荷的相互作用。表面活性剂筛选发现,Polysorbate 80(PS80)在0.01%~0.02%浓度区间内抗剪切效果最优,但需通过UPLC监测其降解产物脂肪酸含量(接受标准<10ppm)。最新研究表明,海藻糖(100mM)作为稳定剂可使抗体构象熵降低15kcal/mol,显著提升热稳定性。

1.3.2 冻干工艺相变调控。通过冻干显微镜确定的塌陷温度(Tc)需高于-30°C,甘露醇作为结晶型赋形剂(浓度3%~5%)可形成刚性骨架结构。一次干燥阶段采用-25°C至+25°C梯度升温(0.5°C/min),使水分从10%降至2%。二次干燥在+25°C维持4小时,最终水分活度(aw)需<0.3。残余水分检测中,近红外光谱(NIR)在线监测技术将检测误差缩小至±0.15%。

1.3.3 新型给药系统创新。预灌封注射器的硅油涂层厚度控制在0.3~0.8mg/syringe,通过FTIR检测硅氧烷特征峰(1260cm<sup>-1</sup>)强度确保迁移量<50μg/mL。橡胶塞的免洗处理技术采用氟聚合物涂层,将可萃取物(如TBA)含量降低至<1ppm。自动注射笔的推力优化研究发现,29G针头配合10N弹簧力可实现皮下注射流速0.25mL/s,疼痛评分降低30%。

## 2 质量控制体系构建

### 2.1 关键质量属性(CQAs)分析

抗体药物的质量属性网络构建依赖于多维分析技术的协同验证。质谱技术通过肽图分析(如Trypsin酶切后的LC-MS/MS)可精确识别单抗CDR区的氨基酸序列变异,而高分辨质谱(HRMS)对分子量异质性检测灵敏度可达0.01%(Dada et al., 2023)。圆二色谱(CD)在评估二级结构稳定性方面具有独特价值,例如在利妥昔单抗的热应力实验中,208nm负峰强度下降5%即提示 $\beta$ -折叠结构破坏(ICH Q5E)。生物学活性检测则需模拟体内作用机制,ADCC活性测定采用表达Fc $\gamma$ RIIIa受体的效应细胞(如NK-92MI),通过荧光素酶报告基因系统量化靶细胞裂解效率,其半数有效浓度(EC50)的批间差异需控制在±25%以内(USP<1032>)。对于糖基化修饰,N-糖链中岩藻糖基化水平每降低10%,ADCC活性可提升2~3倍,因此中国药典要求通过HILIC-UPLC法对GOF/G1F/G2F等主要糖型进行定量控制,其相对百分比的标准偏差(RSD)不得高于5%。

### 2.2 过程分析技术(PAT)

过程分析技术的集成应用正在重塑抗体生产的质量监控范式。在线监测系统通过光纤传感器实现pH(精度±0.05)、溶解氧(±0.5%空气饱和度)和活细胞密度(±5%CV)的实时反馈,其中电容法探针(如Aber Futura)可区分活细胞与碎片信号,在灌流培养中细胞活性预测误差<3%。拉曼光谱结合偏最小二乘(PLS)模型,能够非侵入式监测葡萄糖(检测限0.3g/L)、谷氨酰胺(0.1g/L)等关键代谢物浓度,其预测误差较传统离线HPLC法降低40%。数字化批记录系统通过OPC-UA协议整合设备数据流,利用统计过程控制(SPC)图自动识别工艺参数偏移(如补料速率超过±2 $\sigma$ 范围),同时区块链技术的引入使数据篡改风险降低90%以上(ISPE GAMP5)。但传感器校准漂移导致的假阳性报警仍是亟待解决的技术痛点。

### 2.3 质量风险管理

质量风险管理需贯穿抗体药物全生命周期。关键工艺参数(CPPs)的识别通过实验设计(DoE)完成,例如在CHO细胞培养中,通过Box-Behnken设计证明溶解氧(30%~60%)、温度(36.5~37.5°C)和pH(6.8~7.2)三因素交互作用对产物糖基化的显著性影响( $p<0.01$ )。清洁验证采用三重检测法:总有机碳(TOC)<1ppm、ATP生物荧光<0.5RLU/cm<sup>2</sup>、特异性ELISA检测残留蛋白<0.1ng/cm<sup>2</sup>,其中最难清洁物质(如Protein A配基)的回收率验证需达70~130%。稳定性研究设计遵循ICH Q1A标准,加速试验(40°C/75%RH)中若高分子量聚合体增长速率超过0.1%/月,则需触发长期试验(25°C/60%RH)的中期数据审查。值得警惕的是,预灌封注射器硅油迁移可能引发亚可见颗粒物增加,需通过微流成像(MFI)监测≥2 $\mu$ m颗粒数,其接受标准为每瓶≤6000粒(USP<787>)。

## 3 技术挑战与未来展望

### 3.1 当前技术瓶颈

抗体药物规模化生产仍面临细胞株稳定性、工艺放大非线性响应及分析技术瓶颈等挑战。CHO细胞在传代至60代时产率下降40%,而单细胞分离效率低于70%加剧了克隆源性问题。200L至2000L规模放大时,氧传质系数(kLa)变化导致乳酸积累偏差超25%。质谱法虽可检测0.01%电荷异质体,但单样本分析耗时6小时,高通量ELISA难以识别糖基化微异质性,生物类似药的可比性研究成本占研发预算的30%以上。

### 3.2 创新方向

前沿技术正助推行业突破。3D微载体提升细胞密度至 $1\times 10^8$  cells/mL,单批次产量提高3倍。AI驱动的培养基优化(GAN模型)72小时内可优化唾液酸化水平提升15%。模块化工厂缩短建设周期至12个月,降低场地占用40%。单细胞RNA测序提升抗体分泌异质性追踪能力,CRISPR-Cas12a的NGS技术将宿主DNA检测限降至0.001%。中国企业正加速布局,如药明生物通过连续流生产模式,将单位产能建设成本降低35%,推动行业迈向高效智能制造。

## 4 结论

本研究系统解析了抗体药物的规模化生产与质量控制策略,揭示了协同优化机制。在上游工艺中,灌流培养与代谢调控维持细胞活性>90%,一次性生物反应器降低交叉污染风险至<0.01%;下游纯化优化层析技术与连续流工艺,显著提升生产效能。质量控制方面,质谱联用技术、过程分析技术及质量风险管理优化提升了检测精度与稳定性。3D微载体与AI优化等前沿技术为突破细胞株稳定性及工艺放大瓶颈提供新思路。未来,数字孪生工厂等创新模式将推动中国生物制药产业向高质量发展迈进。

### 参考文献

- [1]彭尚德,张亮,闻燕,等.多价抗体的制备技术及药物研发进展[J/OL].中国新药与临床杂志,1-12.
- [2]王文波,韦薇.抗病毒抗体药物研发和药学评价浅析[J].中国新药杂志,2023,32(24):2501-2506.
- [3]姚江宁,律樱桐,张迎珺,等.抗体成药性筛选流程及评价策略[J].生物工程学报,2024,40(02):507-516.
- [4]郭欢欢,丁毅,韩玉全,等.抗体药物原液储存方法和前景[J].今日药学,2023,33(04):262-267.
- [5]孙强,何召允,王新建.山东省保障药品生产质量安全的监管实践与思考[J].中国食品药品监管,2022,(11):74-79.
- [6]武瑞君,桑晓冬,李治非,等.抗体技术的研发现状与展望[J].中国药理学与毒理学杂志,2021,35(05):374-381.
- [7]许丹,周艳,段爽,等.探讨单抗注册生产现场检查中的质量控制要点[J].中国药事,2020,34(10):1115-1123.
- [8]朱文文,李梦林,张金兰.单克隆抗体药物质量分析质谱技术研究进展[J].药学学报,2020,55(12):2843-2853.

### 作者简介:

唐彪(2002--),男,汉族,江苏泰兴人,本科,研究方向:药物合成与工艺优化。