

摘要

随着以单克隆抗体为代表的蛋白治疗类药物的普及，缩短抗体生产工艺的开发周期，同时保持所需质量属性，推进候选药物上市，维护成本效益和制造灵活性是当今竞争激烈的市场中的关键问题。为了满足不同项目阶段和不同客户的需求，智享生物已在常熟工厂建立了多元化的细胞培养系统，实验室规模包括了从2 L到10 L规模的传统玻璃反应器，中试和生产规模由Cytiva的50 L至2000 L一次性生物反应器和500 L至6000 L的不锈钢生物反应器组成。

案例分享

案例来自两个不同客户的工艺放大，两位客户均采用智享平台的工艺放大策略，将10 L工艺直接放大到了6000 L不锈钢（SS）规模。图 1~4展示了两个项目的细胞生长、代谢、产量和质量趋势均可比；在智享生物建立的放大准则下，不同项目均能稳健的进行工艺放大。其中，项目A为融合蛋白，首次完成10 L到6000 L的工艺放大，放大一次性成功并取得了较高（大于8g/L）的蛋白表达水平。

案例一

细胞株：CHO-K1；产品类型：Fc融合蛋白；生产规模：2 L vs. 10 L vs. 2000 L/6000 L SS vs. 6000 L SS

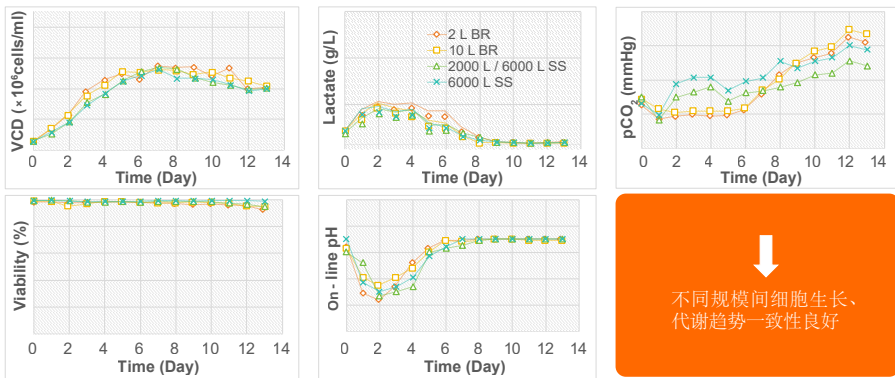


图 1. 项目A细胞生长相关数据

细胞株：CHO-K1；产品类型：Fc融合蛋白；生产规模：2 L vs. 10 L vs. 2000 L/6000 L SS vs. 6000 L SS



图 2. 项目A质量相关数据

案例二

细胞株：CHO-K1；产品类型：Fc融合蛋白；生产规模：2 L vs. 10 L vs. 2000 L/6000 L SS vs. 6000 L SS

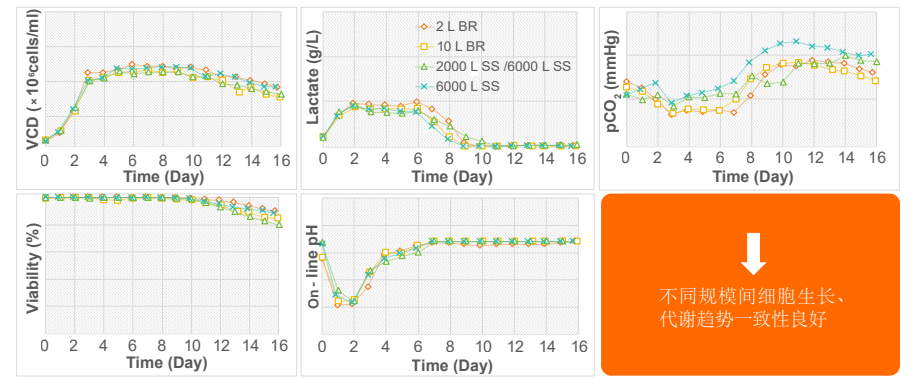


图 3. 项目B细胞生长相关数据

细胞株：CHO-K1；产品类型：Fc融合蛋白；生产规模：2 L vs. 10 L vs. 2000 L/6000 L vs. 6000 L



图 4. 项目B质量相关数据

放大策略概述

尽管目前小型生物反应器已经广泛用于上游细胞培养工艺开发，但规模放大后的细胞生长、代谢、产量以及质量并不总能与小规模保持一致。这一方面是由于不同规模间的剪切力和气体传质能力的差异，另一方面在大规模中存在营养成分、溶氧以及pH的梯度差。因此，充分了解反应器的结构设计以及性能，且建立放大的基本准则是确保工艺放大成功的前提。

目前细胞培养工艺的规模放大主要考虑规模依赖性参数和规模非依赖性参数。对于规模非依赖性参数，如pH、温度、溶氧（DO）以及培养基成分等在放大过程中保持恒定；对于规模依赖性参数，如搅拌、叶轮叶尖速度、混合时间和通气流速等在规模放大过程中不能同时保持不变，这是因为他们对搅拌速度、叶轮直径和容器直径具有不同的依赖性。通常，对于规模依赖性参数的放大，放大策略主要包括反应器几何相似性、恒定的体积功率输入（P/V）、恒定氧传质系数（ K_La ）、恒定的气体流速（VVM）和恒定叶轮叶尖速度等进行多方面的权衡和平衡。

由于这些放大的标准存在相互依赖性，当选择其中一个标准进行放大时，随着规模的增加其他参数会出现显著变化，例如保持恒定的体积功率输入，在放大过程中搅拌转速降低和叶轮叶尖速度增加，从而增加了剪切力，这种显著的变化可能会导致规模放大后细胞的生长、代谢、产量甚至质量与小规模存在差异，因此对这些规模依赖性参数的放大策略会进行综合考虑和权衡。

基本放大策略

● 几何相似性

几何相似性通常是用于生物反应器放大的第一个标准，确保随着规模放大导致反应器直径增加，其他关联参数包括反应器高度，叶轮直径和叶轮宽度增加相同或相似的比例。

智享生物平台反应器从实验室规模到生产的一次性生物反应器和不锈钢生物反应器规模的设计均遵从相似的反应器高径比（H/D）和浆叶直径与反应器直径比，不同规模的H/D位于1.45~2.00范围内，Di/Dt位于0.34~0.51范围内，详见表1。不同规模相似的H/D，显著降低表面积与体积比，维持相似的热传递和气体传递；不同规模相似的Di/Dt，维持了相似的混合效果；相似的气体传递效率和混合效果对剪切力敏感的细胞至关重要。智享生物平台不同规模的生物反应器的几何相似性设计是平台项目成功放大的基础。

表 1. 不同规模反应器设计参数

参数	Applikon 2L	Applikon 10L	XDR-200	XDR-500	XDR-2000	500 L 不锈钢	6000 L 不锈钢
H/D	1.50	1.45	1.50	1.50	1.50	2.00	1.76
Di/Dt	0.35	0.34	0.39	0.35	0.35	0.51	0.40

● 恒定的体积功率输入（P/V）

恒定的体积功率输入（P/V）是搅拌和通气式生物反应器最常见的规模放大标准之一。搅拌桨的机械功率会影响反应器的气体传质和混匀效果，不同规模间可通过调整浆叶类型、尺寸和搅拌转速来适应不同的工作体积。不同规模的工艺放大使用恒定的P/V可能会导致小规模和大规模 K_La 存在显著差异，因此为了维持反应器所需的溶氧水平，同步需调整通气策略。智享生物平台目前已生成不同规模反应器P/V自动化计算工具，用于工艺放大的参数设置。

● 恒定的气体流速（VVM）

恒定的气体流速（VVM）作为常用的放大策略，在CHO细胞培养规模放大过程中CO₂的累积已成为不可忽视的问题，恒定VVM的放大策略可以确保足够的CO₂移除效率，降低规模放大后高浓度的pCO₂水平对细胞的伤害。目前恒定的VVM也已成为智享生物通用的放大策略之一，已在平台项目放大过程中进行了广泛的应用。

● 恒定的氧传质系数 (K_La)

恒定的氧传质系数 (K_La) 在工艺规模的放大中也是常用的策略，在CHO细胞培养中，保持适当的氧气传输至关重要。通过气体流速和搅拌速度的调整保持在不同规模间恒定的 K_La ，生产规模的变化可能需要使用不同类型的气体底通鼓泡装置，以避免过高的气体流速对细胞的伤害，但不同类型的气体鼓泡装置往往可能会导致细胞的生长和代谢的差异。

智享平台的不同规模的反应器均已完成 K_La 的测试，并建立了 K_La 理论计算的方程，用于评估不同规模反应器放大时 K_La 的真实值，确保不同规模间保持可比的细胞培养性能、产量和产品质量。图5展示了智享生物平台不同规模反应器在一定体积、搅拌转速和通气流速范围内的 K_La 水平，可满足不同项目细胞的溶氧需求。

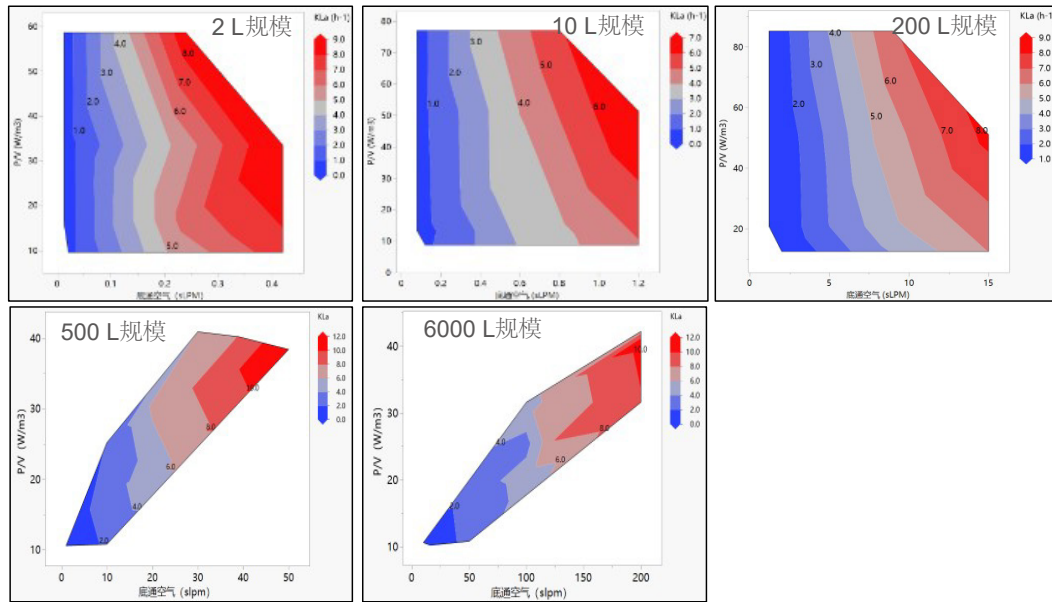


图 5. 智享生物平台不同规模反应器 K_La

● 恒定叶轮叶尖速度

恒定叶轮叶尖速度作为常用的放大策略，可以在不同生产规模维持可比的 K_La 和最大剪切力。但叶轮叶尖速度与等 P/V 的放大策略会存在一定的冲突，以等 P/V 的策略进行放大，随着规模的增加，叶轮叶尖速度逐渐增大，会导致大规模的剪切力逐渐增加。以等叶轮叶尖速度进行放大，随着规模的增加，会导致大规模的氧气传质效率和混匀效果降低。因此，在规模放大过程中，叶轮叶尖速度的放大策略需与其他放大策略综合进行评估。

智享生物目前已完成对平台所有规模反应器的性能测试，包括 K_La 和混匀时间等，并且针对规模依赖性参数的放大相关指标包括反应器几何相似性、恒定的体积功率输入 (P/V)、恒定氧传质系数 (K_La)、恒定的气体流速 (VVM) 和恒定叶轮叶尖速度等已建立自动化计算的工具有，可快速准确的评估在不同规模上工艺参数设置所对应的放大指标的理论计算情况，用于进一步调整与放大相关参数的设定。图6展示了智享生物平台工艺放大的总体策略，针对规模依赖性参数，主要采用不同规模间等 P/V 和 VVM 作为首要放大策略，同步考虑溶氧传质、 CO_2 移除效率和剪切力等指标，使不同规模间具备相似的细胞培养微环境，从而确保工艺放大后的细胞生长、代谢、产量和质量的一致性。

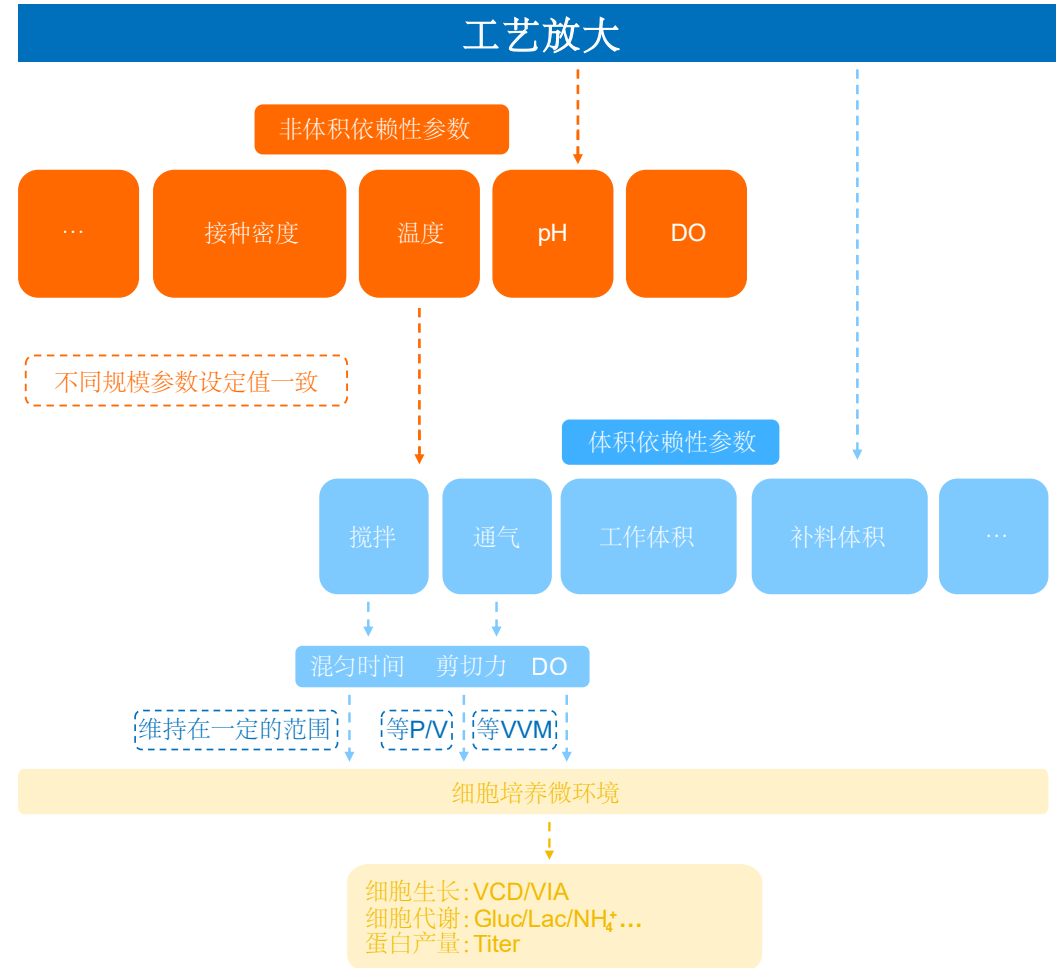


图 6. 智享生物平台上游细胞培养工艺放大策略

智享生物放大平台简介

智享生物6000 L不锈钢反应器平台能够帮助客户显著降低单位产品的成本，相比于2000 L一次性生物反应器，其成本能降低60%；相比于500 L一次性生物反应器，其成本能降低70%。依据智享生物平台已建立的工艺放大策略，已能稳健的实现从10 L 实验室规模放大至6000 L 规模，其细胞的生长、代谢、产量和质量可比。

智享生物对于不同阶段的生产反应器选择推荐不同的策略，客户可以灵活选择2000 L 一次性生物反应器或者选择在6000 L 不锈钢生物反应器中进行满罐、半罐培养，具体方案可垂询：MKT@intellectivebio.com。

	2000 L	6000 L	2000 L规模在6000 L反应器培养注册申报 + 上市后变更至6000 L规模
BLA 申报阶段费用	低	高	低
商业化单支费用	高	低	低

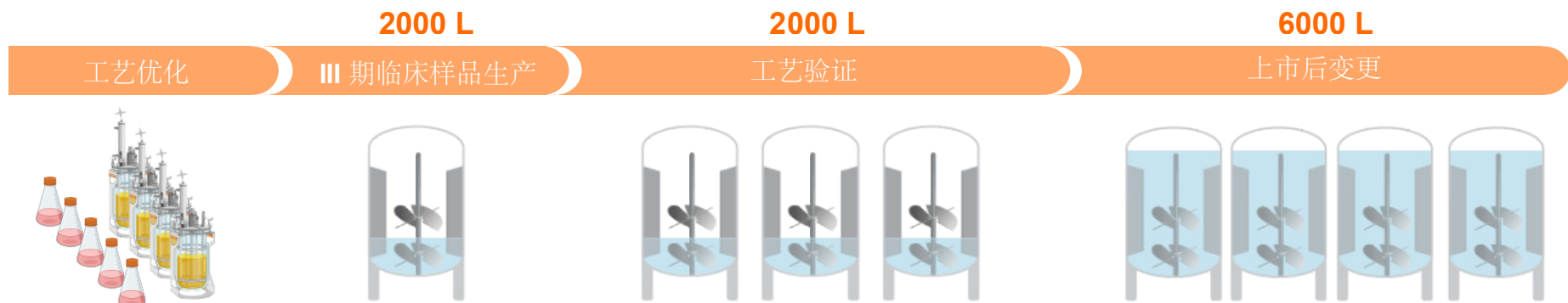


图 7. 生物制品不同阶段的反应器选择策略

参考文献

- 1 Lemire L. Practical Considerations for the Scale-Up of Chinese Hamster Ovary (CHO) Cell Cultures. Cell Culture Engineering and Technology, 2021.
- 2 Sen Xu. A practical approach in bioreactor scale-up and process transfer using a combination of constant P/V and vvm as the criterion. Biotechnology Progress, 2016.
- 3 Tomohiro Doi. Development of a scale-up strategy for Chinese hamster ovary cell culture processes using the KLa ratio as a direct indicator of gas stripping conditions. Biotechnology Progress, 2020

For inquiries about our CDMO services, please contact :



<https://www.intellectivebio.com.cn/>



MKT@intellectivebio.com

Scan to register for personalized service.

