

研究论文

DOI: 10.11949/j.issn.0438-1157.20171645

单抗制备的过程模拟和经济性分析

史策¹, 虞骥^{1,2}, 高栋², 王海彬², 姚善泾¹, 林东强¹⁽¹⁾ 浙江大学化学工程与生物工程学院, 生物质化工教育部重点实验室, 浙江 杭州 310027;⁽²⁾ 浙江海正药业股份有限公司, 浙江 台州 318000)

摘要: 单克隆抗体(简称单抗)是最重要的生物技术药物, 随着产业规模的持续扩大和同行竞争的不断加剧, 制备流程的合理性和过程经济性越来越受到重视。本文采用生物过程模拟软件 SuperPro Designer 分别建立了 500、2000、5000 和 15000 L 四个培养规模的单抗制备流程, 通过过程分析和成本核算, 确定经济热点并提出相应的优化策略。结果表明, 单抗制备的规模效应明显, 随着规模扩大, 生产成本显著降低, 经济热点从设备相关成本转移到原材料和消耗品, 主要包括无血清培养基和蛋白 A 亲和层析介质。上游优化的关键是提高细胞的单抗表达量, 当表达量达到 5 g/L 以上时, 对成本影响减弱, 转为下游过程控制; 下游优化的重点在于蛋白 A 亲和层析介质, 包括载量、价格和循环使用次数; 整体优化可利用交错模式, 采用三个主生物反应器配置一条下游生产线, 其中生产规模和设备成本是关键。研究表明, 通过合理的过程模拟和经济评价, 可以充分了解单抗制备过程的关键热点, 提出合适的优化策略, 提高生产效率, 降低制备成本。

关键词: 单克隆抗体; 过程模拟; 经济评价; 热点分析; 过程优化

中图分类号: TQ 018

文献标志码: A

文章编号: 0438—1157 (2018) 07—3198—10

Process simulation and economic evaluation of monoclonal antibody production

SHI Ce¹, YU Ji^{1,2}, GAO Dong², WANG Haibin², YAO Shanjin¹, LIN Dongqiang¹

(¹Key Laboratory of Biomass Chemical Engineering of Ministry of Education, College of Chemical and Biological Engineering, Zhejiang University, Hangzhou 310027, Zhejiang, China; ²Zhejiang Hisun Pharmaceutical Co., Ltd., Taizhou 318000, Zhejiang, China)

Abstract: Monoclonal antibody (mAb) is the most important biopharmaceuticals. With the continuous expansion of industrial-scale production and competition, the process rationality and economy have attracted more and more attention. In this paper, four scales of mAb manufacturing processes of 500, 2000, 5000 and 15000 L were established by using SuperPro Designer software, a bioprocess simulation software. Through the process analysis and cost evaluation, the economic 'hotspots' were determined and the optimization strategies were then proposed. The results showed that the scale effect on the production cost was obvious. With the increase of production scale, the cost would be significantly reduced, and the economic hotspots were transferred from equipment-dependent costs to raw materials and consumables, including serum-free medium and Protein A affinity resin. The key for upstream optimization was to increase the titer of mAb expression during cell culture. But when the titer was higher than 5 g/L, the effect of titer increasing on the cost was weakened and the cost was then mainly controlled by downstream process. The downstream optimization should focus on Protein A affinity resins, including capacity,

2017-12-14 收到初稿, 2018-01-18 收到修改稿。

联系人: 林东强。第一作者: 史策 (1994—), 男, 博士研究生。

基金项目: 国际科技合作专项 (2015DFG42070); 国家自然科学基金项目 (21476198, 21576233, 21776243)。

Received date: 2017-12-14.

Corresponding author: Prof. LIN Dongqiang, lindq@zju.edu.cn

Foundation item: supported by the International Science & Technology Cooperation Program of China (2015DFG42070) and the National Natural Science Foundation of China (21476198, 21576233, 21776243).

price and the reuse cycles. The optimization of overall process would be the stagger mode with three main bioreactors corresponding one downstream line, for which the production scale and equipment cost were two key factors. The results demonstrated that with the aid of reasonable process simulation and economic evaluation, some hotspots of manufacture process could be identified and the appropriate optimization strategies would be proposed to improve the process efficiency and reduce the production cost.

Key words: monoclonal antibody; process simulation; economic evaluation; hotspots analysis; process optimization

引言

单克隆抗体（简称单抗）是最重要的生物技术药物，具有靶向性好、特异性强、毒副作用小等优点，主要用于恶性肿瘤和自身免疫性疾病治疗。数据表明，全球单抗的市场规模持续增大，已成为各国生物制药的竞争焦点^[1-5]。我国单抗产业虽然起步较晚，但近几年发展迅速，临床申报数目和产业规模快速增长^[6-7]。单抗药物制备包括上游的动物细胞培养和下游的分离纯化过程，以蛋白 A 亲和层析为核心的三步层析分离工艺被广泛使用，整体工艺相对成熟^[8-9]。但是，随着产业规模的持续扩大和同行竞争的不断加剧，制备流程合理性和过程经济性越来越受到关注，提高产能和降低生产成本的需求十分迫切。

近年来，越来越多的研究者使用过程模拟软件进行过程设计和优化，主要软件包括 Biosolve、Aspen BPS 和 SuperPro Designer 等^[10-12]。Torres-Acosta 等^[13]采用 Biosolve 软件对尿酸酶生产过程进行模拟和分析，比较了层析和双水相萃取两种分离方法，发现双水相萃取可以降低约 41% 生产成本。Rouf 等^[14]采用 Aspen BPS 和 SuperPro Designer 对 CHO 细胞生产组织纤溶酶原激活物的流程进行建模，评价了血清培养基和无血清培养基对生产成本的影响，发现无血清培养基虽然相对较贵，但减少了杂质组分，简化了下游分离步骤，从而降低了 50% 成本，并指出 SuperPro Designer 相较于 Aspen BPS 拥有更为完善的数据库，且设有专门为生物过程设计的经济评价系统。Papavasileiou 等^[15]采用 SuperPro Designer 探讨了一次性生产工艺对抗生素生产成本的影响，发现规模较小的工厂更适合使用一次性技术。Nandi 等^[16]采用 SuperPro Designer 对转基因烟草生产单抗的可行性进行分析，发现其成本比哺乳动物细胞表达降低了 50%。Idris 等^[17]着重分析了单抗生产过程中注射用水的使用量。以上研究表明，借助计算机辅助过程模拟，可以实现全流程

建模，合理评价工艺变革，分析成本因素，优化原料/设备利用和能量消耗等，从而改善过程经济性，为生物制造过程提供合理指导。

本文拟采用 SuperPro Designer 过程模拟软件包，对抗体制备流程进行模拟，并开展过程经济性分析。首先，建立四个不同规模的单抗制备流程，分析基本经济指标，确定主要经济热点，并提出相应的优化策略；然后，分别针对上游、下游和整体优化开展过程模拟和评价，分析主要影响因素，提出合理的优化方案。

1 单抗生产流程的建立

针对单抗研发和生产的不同阶段，采用 SuperPro Designer v9.5 (Intelligen Inc., USA)，构建了四个细胞培养规模（500、2000、5000、15000 L）的单抗生产流程，分别对应于中试或小规模生产、中等规模生产、大规模生产和超大规模生产。具体流程描述如下。

1.1 上游流程

单抗生产使用较多的是中国仓鼠卵巢细胞系（CHO），采用逐级放大方式，通过好氧流加培养实现规模化制备。图 1 是 15000 L 规模单抗制备的完整上游流程，相应的 500、2000 和 5000 L 规模分别对应于图中的局部。对于 500 L 培养规模，采用细胞培养方瓶（TFR-101）培养 96 h，然后在摇瓶（SFR-101）和培养袋（RBS-101）中分别培养 114 h 后，在 650 L 生物反应器中采用流加补料的方式，以恒定速度持续流加无血清培养基，经过 12 d 细胞培养与分泌表达单抗后进入储罐储存。对于 2000 L 培养规模，需要增添一步培养袋（RBS-102）放大培养过程，并增大生物反应器体积至 2600 L，同样在培养 12 d 后，进入储罐中储存。对于 5000 L 培养规模，培养袋培养后，经 1200 L 反应器放大培养，然后在 6400 L 生物反应器中流加补料培养 12 d，然后进入储罐中储存。对于 15000 L 的大规模细胞培养，分别采用 1200、4800、19000 L 的三级反应器放大，

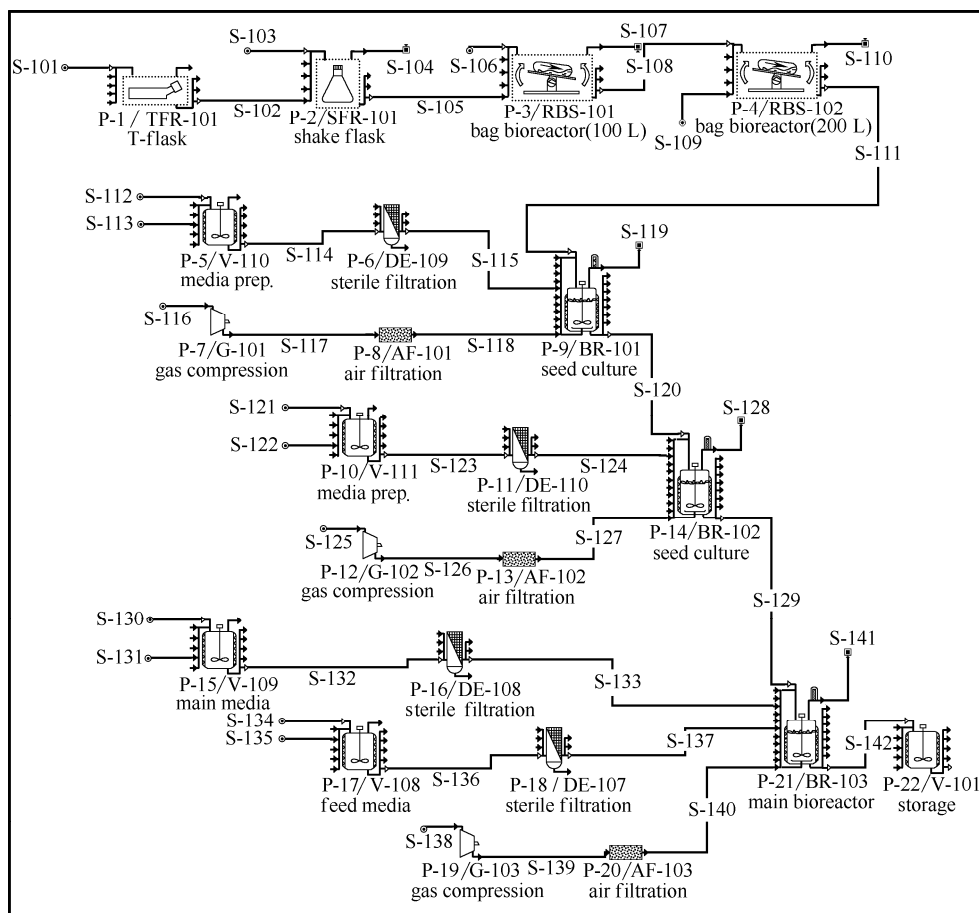


图 1 单抗制备的上游流程

Fig. 1 Upstream process of mAb manufacture

在 19000 L 生物反应器中培养 12 d, 分泌表达单抗, 然后进入储罐中储存。上游过程得到的单抗料液储存在储罐 (V-101) 中, 用于后续的下游分离纯化。所有进入生物反应器的气体均需经过空气过滤器过滤, 无血清培养基在配制后也需进行过滤除菌。

为了便于比较, 四个规模的主生物反应器内细胞培养周期均为 12 d。假定无血清培养基粉末价格为 1000 USD/kg, 生物反应器中无血清培养基的浓度为 22 g/L, 不同批次间安排约 0.5 d 的调整时间, 利于应对突发情况。

1.2 下游流程

单抗分离的下游流程见图 2。以上四个不同细胞培养规模的上游过程采用类似的下游过程, 包括三步层析分离, 只是相应设备的规模大小有差异^[8-9, 18]。

储罐 (V-101) 储存的单抗料液经过碟式离心机 (DS-101) 进行固液分离后, 再通过深层过滤器

(DE-101) 去除细胞碎片, 储存于缓冲罐 V-102 中。然后进入蛋白 A 亲和层析柱 (C-101) 进行亲和层析, 蛋白 A 亲和层析的洗脱液呈酸性, 在搅拌罐 V-104 中采用低 pH 灭活病毒。接下来用离子交换层析柱 (C-102) 纯化, 采用 NaCl 梯度洗脱, 进一步去除杂质; 再经疏水层析柱 (C-103) 精制, 除去脱落的蛋白 A 和抗体聚合体。最后, DE-105 进行病毒过滤, DF-102 缓冲液置换浓缩和加入辅料, 以及 DE-106 进行终过滤后, DCS-101 冷冻保存, 得到单抗原液产品。

值得说明的是, 其中三个层析柱在使用前安排 2 h 的调试, 其余设备在使用前均需要原位蒸汽灭菌, 使用后都进行水洗-碱洗-水洗-酸洗-水洗等在位清洗。生产用水和配制用水均为注射用水 (WFI)。

根据目前主流介质性能和市场价格, 假设蛋白 A 亲和介质的动态载量为 30 g/L, 价格为 20000 USD/L; 离子交换介质的动态载量为 50 g/L, 单价为 1500 USD/L; 疏水相互作用介质的动态载量为 30

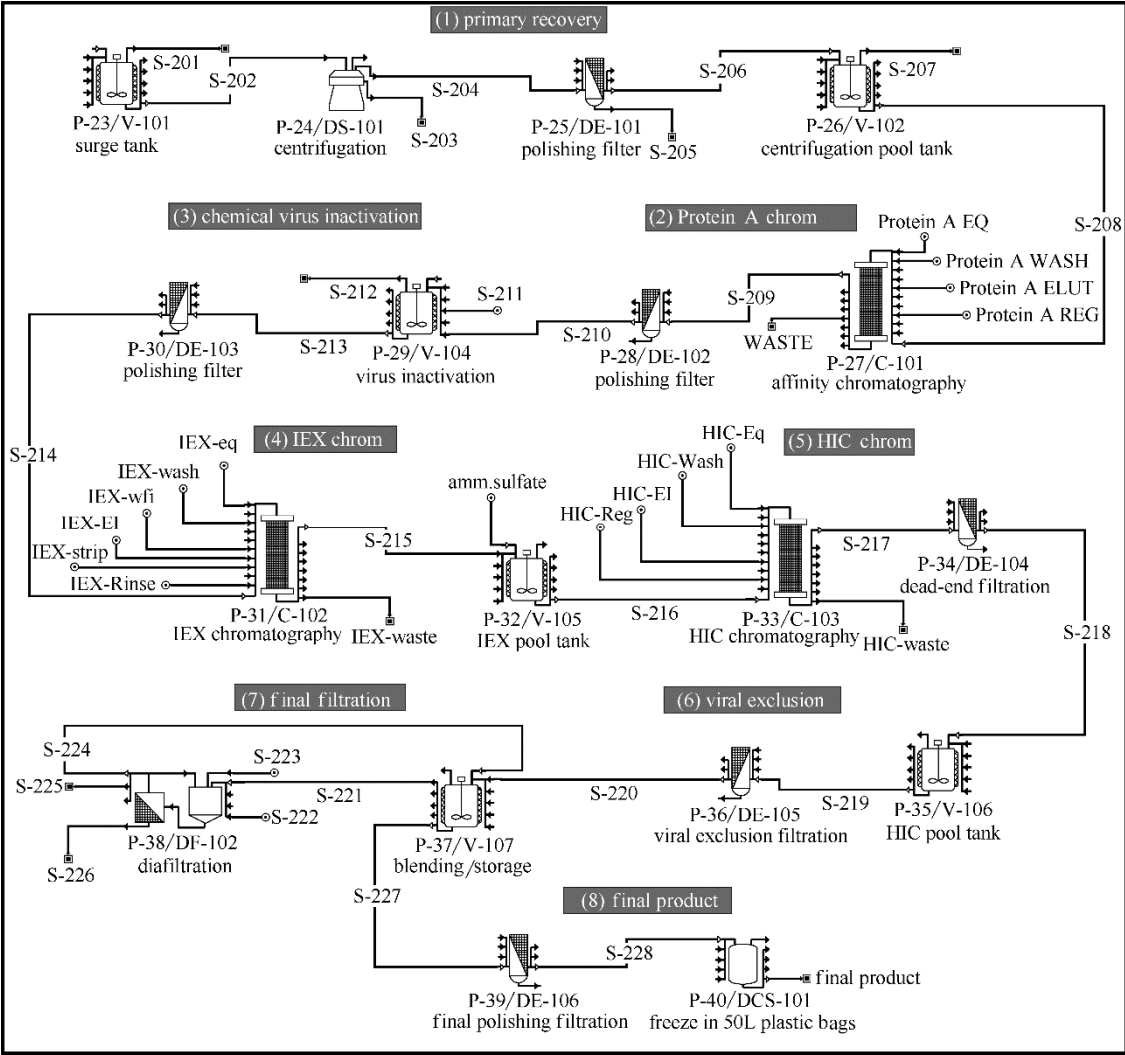


图 2 单抗制备的下游流程
Fig. 2 Downstream process of mAb manufacture

g/L，单价为 2500 USD/L。

2 流程分析和评价

2.1 总体经济性分析

四个细胞培养规模（500、2000、5000、15000 L）单抗生产流程的主要技术和经济指标见表 1，单抗表达量设为 5 g/L，对应的批次产量分别为 1.7、7.0、16.9 和 50.1 kg，结果与文献报道相符^[9,19-21]。

可以看出，初始投资随生产规模的增大而增大。生产流程的批次循环时间主要取决于耗时最长的细胞培养过程，主反应器的细胞培养均设定为 12 d，所以各个生产规模的循环周期相近。单批次生产时间随规模增大而增大，主要是较大生产规模所需要的上游扩大培养步骤多，周期长，而下游时间随生产规模扩大变化不大。年生产批次取决于批次循环时间，由于不同生产规模的循环时间相近，年生产批

表 1 不同单抗生产规模的主要参数比较

Table1 Economic factors analysis of mAb manufacture under different scales						
Scale/L	Investment/million USD	Cycle time/d	Batch time/d	Batch product/kg	Annul product/kg	Cost/(USD/g)
500	67.1	13.7	31.7	1.7	38.1	423.3
2000	88.7	13.7	37.8	7.0	154.5	142.6
5000	127.3	13.7	43.9	16.9	356.0	90.2
15000	187.2	13.7	49.9	50.1	1057.3	52.7

次基本相同,年产量随批次产量增加而呈比例增大。从表中可以发现,随着生产规模的增大,单抗生产成本显著减小。

2.2 成本构成分析

对单抗的生产成本进行分类分析,可以分为五个部分,即设备相关、原材料、消耗品、劳动力相关以及其他。设备相关成本包括固定资产折旧费、设备维护费和保险/税率等;原材料主要包括无血清培养基、缓冲液、注射用水等;消耗品主要包括细胞培养瓶、层析介质、滤膜等;劳动力成本由劳动力单价、每个设备操作所需时间和人数相乘得到;其他成本包括检测分析和质量控制的实验费用、能源消耗以及废物处理成本等。

四个不同生产规模的单抗制备过程的各项成本占比见图 3 中的饼图。为了更好分析各个分项的关键影响因素,采用柱状图分别给出设备相关成本、劳动力成本、原材料成本以及消耗品成本四个方面中占比前三的分项在总成本占的比例。由于设备相关成本与设备购买价格呈现正相关,所以选取设备购买价格前三的设备作为子项;对于劳动力相关成

本,则选用了劳动力最为密集的三个步骤作为子项。

可以看出,随着生产规模的不断增大,设备相关成本比例有所下降,从 60.6%下降到 48.0%,但始终是最大的组成部分;同时劳动力相关成本的占比也呈现下降趋势,从 22.2%降至 8.4%,从各项成本的子项分析可以发现,设备相关成本主要集中在上游的种子培养和发酵过程,占有设备购买成本约 30%,同时上游生产过程也是劳动力密集区域,占全流程约 80%,这是因为摇床和生物反应器需要较多人员长时间的操作。值得注意的是,随着规模的扩大,原料和消耗品成本的占比显著增加,制备过程的经济热点逐渐向原料和消耗品方面转移。原料成本中主要是无血清培养基,用于上游过程的细胞培养,占原料总成本 90%以上;消耗品成本主要是蛋白 A 亲和层析介质,用于下游过程的抗体捕获,占消耗品总成本 80%以上,其次是病毒纳滤滤膜。此外,值得关注的是,对于 2000、5000 和 15000 L 三个规模生产,设备相关成本仍然占比较大,但成本分布较为分散,而原料和消耗品虽然占比较少,但成本分布较为集中,导致其关键子项所占成本远

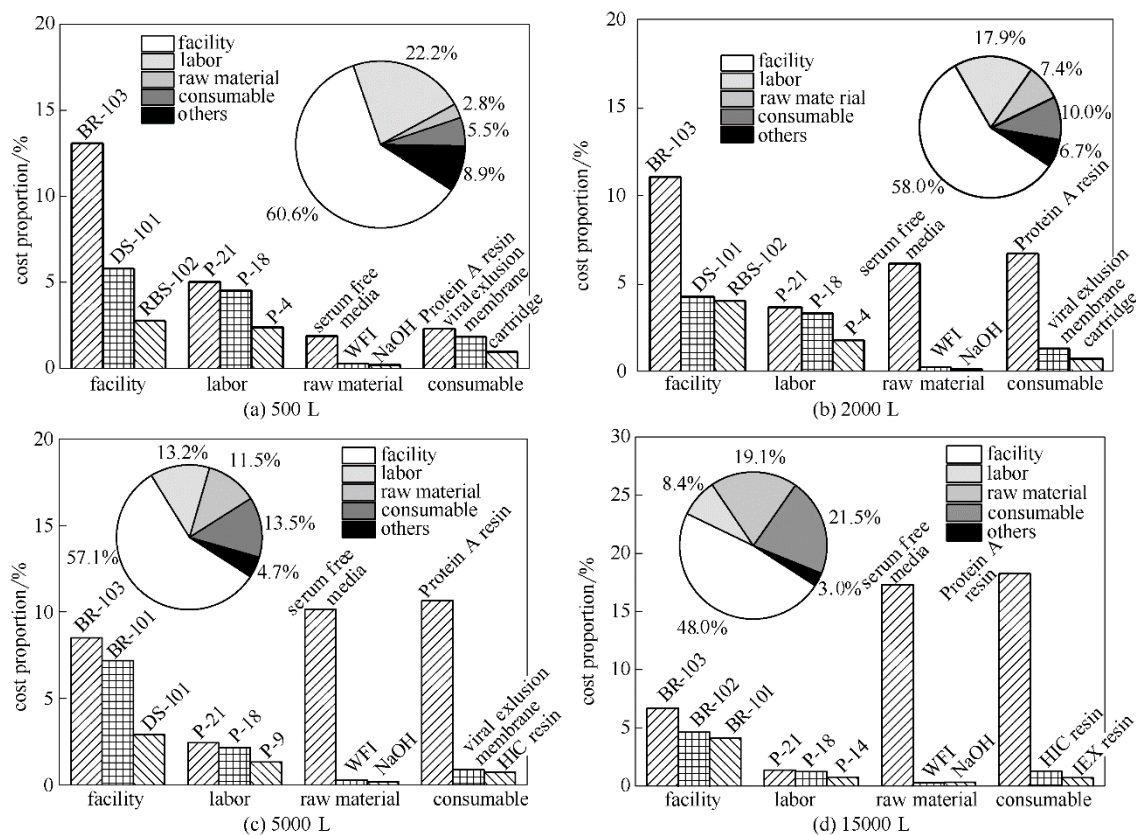


图 3 不同单抗生产规模成本详细分析

Fig. 3 Cost analysis of mAb manufacture with different production scales

大于设备相关子项,特别是无血清培养基和蛋白 A 亲和层析介质,需要重点加以关注。

对于上述影响成本的关键因素和经济热点,下面将进行系统分析,分别针对上游、下游和整体流程提出优化策略,并通过过程模拟进行验证。

3 瓶颈分析和过程评价

3.1 上游过程优化

上游过程的主要经济热点是生物反应器的设备相关费用和无血清培养基,分别占上游总成本的 40%~50%和 15%~45%。无血清培养基费用可以通过关键组分替代和国产化来适当降低^[22-23];另一方面,通过提高细胞株的表达水平,将一定量的培养基转化成更多的单抗产品,从而降低培养基的单位成本。在过去 20 多年中,单抗表达水平从 1995 年 0.5 g/L 逐步发展到了目前的 10 g/L 左右^[24-26]。基于前文建立的 2000、5000 和 15000 L 不同规模的单抗制备流程,分析了单抗表达量(0.5~10 g/L)对生产成本的影响,结果见图 4。

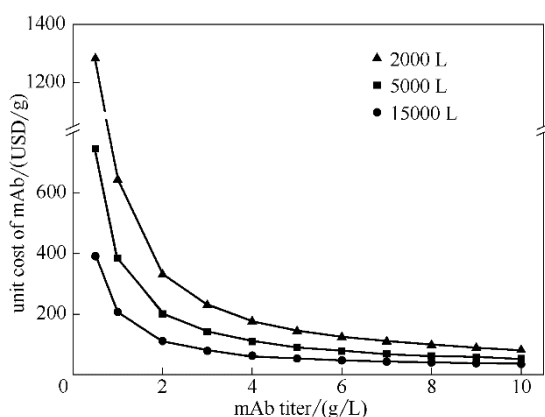


图 4 单抗生产成本和细胞表达水平的相关性

Fig. 4 Relationship between mAb titer and production cost

整体而言,规模越大成本越低,并且随着单抗表达水平的升高,单抗生产成本逐步下降。当表达量从 0.5 g/L 升高到 2 g/L,单抗生产成本明显下降,且生产规模越小,成本下降越显著;随着表达量进一步升高,从 2 g/L 提高到 5 g/L,生产成本的下降趋势变缓,三个生产规模分别下降了 56.6%、54.9%和 52.5%;随着表达量从 5 g/L 提升到 10 g/L,成本下降幅度较小,基本保持在 40%左右。分析原因如下:由于表达量的增大使得批次产量增加,为了适应产量增加,下游处理的设备尺寸和消耗品也得相应增加,这就导致了下游成本的上升;但是对于上游来说,单位设备所产生的产品增加,导致上游生

产的单位成本下降,从而造成了下游成本在总成本中占比越来越大。

图 5 给出了上游和下游成本及其比例随单抗表达量的变化。可以发现,在表达量较低(<2 g/L)时,上游成本远大于下游过程;表达量达到 10 g/L,下游成本反而高于上游过程。随表达量增大,上游成本持续下降,在表达量低于 5 g/L 时下降显著,而更高表达量对成本控制的贡献减弱;下游的单位成本也会有所降低,不过当表达量达到 5 g/L 后,下游单位成本基本稳定在 22 USD/g 左右。分析原因如下:下游成本直接和产量相关,不改变下游工艺的前提下,单位产品的下游成本将基本保持不变。结果表明,宿主细胞改造和上游优化的效果有一定的局限性,当表达量达到一定程度(如本案例的 5 g/L),除非高浓度的单抗料液可以使得下游分离更为简单,否则增加上游的表达水平对于成本下降的贡献不大。因此,对于表达量的优化需要理性分析,更高表达量细胞株的购买是否有必要,或者提高表达量的研发费用是否有相应的效益回报,都需要仔细权衡。此外,过高表达量可能会导致杂质增多,增加下游工艺处理难度。

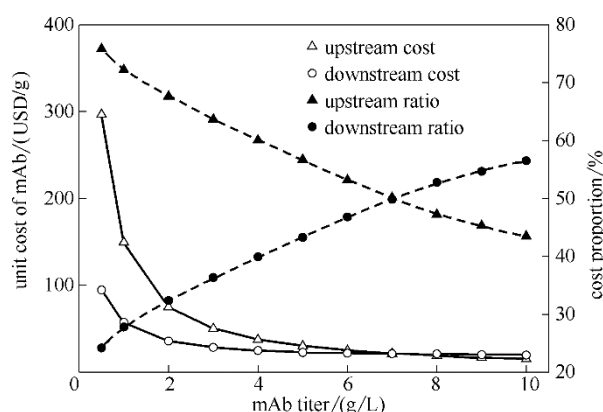


图 5 上下游成本构成和细胞表达水平的相关性

Fig. 5 Relationship between mAb concentration and cost of upstream and downstream

以上分析表明,对于小规模企业来说,随着未来单抗市场的竞争加强,扩大规模和提高表达量都是降低生产成本的有效手段。不过,过高表达量对成本降低的作用减弱,同时高表达量将会把成本控制的关键转移到下游过程,从而优化下游过程成为了主要目标。

3.2 下游过程优化

下游过程的成本主要包括层析介质和设备相关成本,其中最为关键的是蛋白 A 亲和介质的消耗,

约占下游总成本 30%，因此成为下游成本控制的主要经济热点。蛋白 A 介质的消耗取决于亲和层析步骤，主要与介质的动态载量、价格和循环使用次数等有关。经过近 40 年的发展，蛋白 A 介质的性能得到显著提高，商业化介质的动态载量从 10 g/L 增加到 60 g/L 左右，且价格也连年增长^[27]。本文以 15000 L 制备规模和 5 g/L 单抗表达量为例，分析了蛋白 A 介质载量和价格对生产成本的影响，结果见图 6。

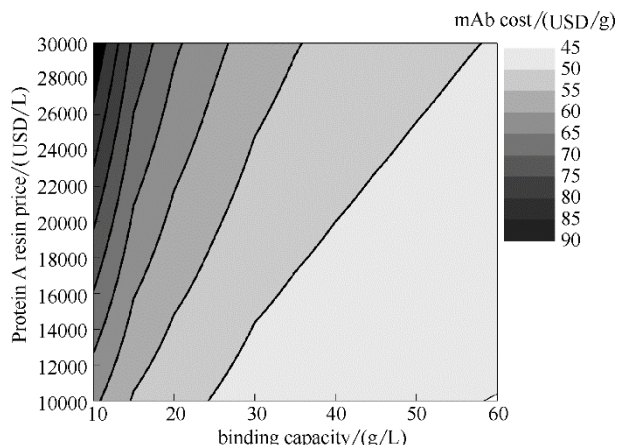


图 6 蛋白 A 亲和介质的动态载量和价格对单抗制备成本的影响

Fig. 6 Influence of binding capacity and cost of Protein A affinity resin on mAb production cost

分析数据表明，当蛋白 A 介质的动态载量从 10 g/L 增加到 60 g/L，处理相同料液量所需的介质总量减少约 80%，降低了介质的购买成本，同时亲和层析柱的体积也减少了 80%，降低约 70% 的设备相关成本，两方面因素共同促使单抗生产成本的降低。蛋白 A 介质的价格变动对单抗成本的影响显著，特别是动态载量较低 (<20 g/L) 的情况下。整体而言，介质单位载量的价格越低，单抗的生产成本也越低。

若不考虑蛋白 A 介质载量随使用次数的变化，模拟分析表明循环使用次数从 50 次提高到 150 次，单抗制备成本下降约 20.5%；当介质循环使用次数大于 200 次时，继续增加循环次数对单抗生产成本的影响较小。分析原因：若年生产批次相同，循环次数从 50 次提升到 100 次时，介质使用量减少 50%，而从 200 次提高到 250 次时，介质使用量只减少了 20%。此外，介质循环使用次数和清洗方法有关，对于耐碱性蛋白 A 介质，可以用碱液清洗，效果好，循环使用次数多，综合成本较低。

针对下游过程 3 个层析步骤的介质载量、价格和循环次数三个因素，分别变化 50%，比较了不同因素对抗生产成本的影响，结果见图 7。可以发现，蛋白 A 介质价格的影响相对较大，蛋白 A 介质价格减少 50%，可以减少约 9% 单抗生产成本。相对于蛋白 A 介质，离子交换层析和疏水作用层析的影响较小。

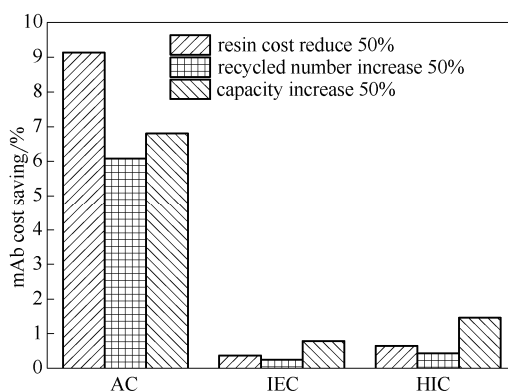


图 7 三个层析柱动态载量、循环时间、介质价格变化 50% 时对于总成本的影响

Fig. 7 Influence of 50% changing of binding capacity, cycle time and resin cost of three chromatographic steps on mAb production cost

以上分析表明，对于下游过程，提高蛋白 A 介质的动态载量和循环使用次数，开发耐碱性蛋白 A 介质，适当降低介质的购买成本，是控制单抗生产成本的关键。近年来，国产的蛋白 A 介质得到了快速发展，性能指标显著提升，具备了替代国际同类产品的潜力，较低的价格将助力我国单抗产业的发展。此外，提高层析柱中蛋白 A 介质的利用率，如连续流层析技术^[28-29]；研发一些替代蛋白 A 亲和层析分离新方法，如混合模式层析^[30-32]和亲和仿生层析^[33]等，这些新技术得以规模化应用，将显著降低单抗的生产成本。

3.3 整体过程优化

3.3.1 上游和下游过程的匹配 制备流程的合理安排是提高过程产量的关键。基于全流程分析，可以发现限制生产周期的关键设备，适当添加这些设备，实现交错运行，从而提高闲置设备的利用率，缩短生产周期，从而提高年产量，降低生产成本。

针对 15000 L 规模的单抗制备流程，分析了所有设备的时间利用率，发现上游过程的主生物反应器的时间利用率高达 90% 以上，而下游过程中的层析柱的时间利用率均较低，在 8% 左右。生产周期由主反应器 (BR-103) 决定，两个批次之间的空闲时间很短。相比较而言，上游相关设备的使用时间均

较长, 闲置较少, 而下游分离相关设备用时较短, 时间利用率有待提高。因此, 可采用多个生物反应器配置同一下游过程的交错模式, 将上游的单抗料液按顺序分批输入到下游分离流程, 从而提高下游设备的利用率。经过程模拟优化, 对于 15000 L 规模的单抗制备流程, 可采用三个主反应器匹配一条下游生产线。采用交错模式后, 相同时间内生产批次增大约 3 倍, 显著提高了设备的时间利用率, 可以使得设备的运转更为紧凑, 提高生产效率, 缩短批次循环时间, 提高年产量, 从而减少单抗生产成本。需要注意的是, 使用交错模式会增加设备和生产步骤的复杂性, 一些公用设施 (如原位冲洗装置、缓冲液配置罐等) 均需要增加和调整使用时间, 这些都可以通过过程模拟实现有效的安排。

图 8 给出了批次循环时间、年产量和生产成本的变化趋势。随着上游生产线增加到三条, 批次循环时间从原来的 14 d 减少到了 4.89 d, 年生产批次从 21 批次上升到 58 批次, 年产量是原来的 2.7 倍, 生产成本从 52.7 USD/g 降低至 43.3 USD/g。分析表明, 上游生物反应器的时间利用率为 70%, 下游层析设备提高至 23%。但是, 随着主反应器数量的进一步增多, 虽然年产量呈线性增加, 但生产成本的下降幅度趋于缓慢。分析原因: 当主反应器数超过三个后, 继续增加不会提高上游设备的利用率, 所以上游设备的折算成本将与单抗产量呈正比, 单位成本将趋向于稳定; 另一方面, 随主反应器数增加, 下游设备的利用率不断增加, 单位成本不断减少, 但由于上游设备的购买价格相对较高, 下游设备的单位成本下降对总成本的影响较小。同时, 随着主

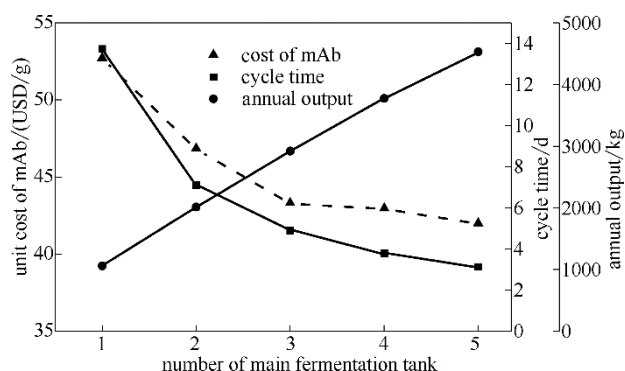


图 8 主生物反应器个数对抗成本、循环时间以及年产量的影响

Fig. 8 Influence of main fermentation tanks on mAb cost, cycle time and annual output

生物反应器增多, 使得工厂设备运行管线更为复杂, 初期投资较大, 管理难度增大。因此, 基于本文的过程模拟分析, 对于 15000 L 规模的单抗制备流程, 选用三个主生物反应器匹配一条下游生产线比较合适。

3.3.2 设备价格和生产规模优化 从前文分析中可以看出, 对于所有四个制备规模, 设备相关成本占比均大于 50%。不过, 随着生产规模的扩大, 设备相关成本占比有所下降, 这是因为设备的购买价格并不随着尺寸的增加而等比例地增大。一般满足以下公式

$$\text{cost}_2 = \text{cost}_1 \left(\frac{\text{size}_2}{\text{size}_1} \right)^\alpha \quad (1)$$

式中的 α 取决于不同的设备, 一般在 0.5~1 之间, 也就是说设备的价格比小于设备的体积比, 设备越大, 单位体积的价格越低。如 2400 L 生物反应器和 18000 L 生物反应器, 其尺寸增大为 7.5 倍, 而后的购买价格仅是前者约 1.5 倍, 并且所需要的操作人员数基本不变。四个规模的模拟结果显示, 随着生产规模从 500 L 增大到 15000 L, 虽然设备相关成本从 44 万美元/批次上升至 127 万美元/批次, 但是生产单位质量的产品所花费的设备相关成本却从 256 USD/g 下降到 25 USD/g, 从而使得单抗生产成本显著下降。

基于设备的“规模效益”, 在投资允许范围内, 尽可能增大生产规模, 可以降低生产成本。同时, 在保证产品质量的前提下, 采用国产设备, 特别是设备成本中占比较大的生物反应器和层析柱等, 可以显著减小设备投入, 降低生产成本。另外, 采用一次性新技术, 也可以减小固定资本投入, 降低设备相关成本。相对来说, 规模越小, 设备相关费用占比越大, 国产设备替代的效果越明显。对于 500 L 规模, 若设备价格下降 50%, 则单抗生产成本将下降约 30%; 对于 15000 L 规模, 则下降约 24%。因此, 针对单抗生产过程中的关键设备, 加强国产研发, 提高设备性能, 将有力促进我国生物医药产业的良性发展。

4 结 论

采用 SuperPro Designer 生物过程模拟软件包, 构建了 500、2000、5000 和 15000 L 四个不同规模的单抗制备流程, 进行了经济分析, 提出了相应的优化策略。结果表明, 不同规模和生产阶段需要采

取不同的优化策略。随着生产规模增大,经济热点从设备相关成本转移到原材料(无血清培养基)和消耗品(蛋白 A 介质)上。对于上游过程,主要优化策略是提高细胞表达量,当表达量从 0.5 g/L 上升到 5 g/L 时,单抗生产成本下降显著,随后变化幅度趋于平稳,生产规模越小下降越明显。对于下游过程,优化重点应该在蛋白 A 介质,提高介质载量和循环使用次数,开发耐碱性蛋白 A 介质,降低介质价格,是控制单抗生产成本的关键,高性能蛋白 A 介质的国产化替代是解决问题的关键。对于全流程优化,针对下游设备时间利用率较低的特点,采用交错模式,三个主生物反应器配置同一下游过程,可有效提高过程的整体效率,降低约 17.8% 的单位生产成本。基于设备相关成本占比较大,尽量提高生产规模,实现国产设备的替代,可降低单位产品的设备成本。生物过程的系统优化是生物产业提高竞争力的关键因素,借助生物过程模拟软件,实现全流程分析和优化,合理评价进程安排和设备利用,挖掘经济热点,改善过程经济性,促进计算机辅助过程设计,可为生物产品制备提供合理指导。

References

- [1] WEINER L M, SURANA R, WANG S. Antibodies and cancer therapy: versatile platforms for cancer immunotherapy[J]. *Nature Reviews Immunology*, 2010, **10**(5): 317-327.
- [2] BECK A, WURCH T. 6th annual European antibody congress 2010[J]. *MAbs*, 2011, **3**(2): 111-132.
- [3] ECKER D M, JONES S D, LEVINE H L. The therapeutic monoclonal antibody market[J]. *MAbs*, 2015, **7**(1): 9-14.
- [4] RODGERS K R, CHOU R C. Therapeutic monoclonal antibodies and derivatives: historical perspectives and future directions[J]. *Biotechnology Advances*, 2016, **34**(6): 1149-1158.
- [5] CHAPMAN K, ADJEI A, BALDRICK P, *et al.* Waiving *in vivo* studies for monoclonal antibody biosimilar development: national and global challenges[J]. *MAbs*, 2016, **8**(3): 427-435.
- [6] GAO K, WANG J. The biopharmaceutical industry in China: history and future perspectives[J]. *Frontiers of Medicine*, 2012, **6**(2): 101-111.
- [7] 李敏, 吴日伟. 国内外单抗药物市场概述[J]. *中国生物工程杂志*, 2017, **37**(3): 106-114.
LI M, WU R W. The market overview of monoclonal antibodies in both domestic and abroad[J]. *Journal of Chinese Biotechnology*, 2017, **37**(3): 106-114.
- [8] SHUKLA A A, HUBBARD B, TRESSEL T, *et al.* Downstream processing of monoclonal antibodies—application of platform approaches[J]. *Journal of Chromatography B Analytical Technologies in the Biomedical & Life Sciences*, 2007, **848**(1): 28-39.
- [9] KELLEY B. Industrialization of mAb production technology: the bioprocessing industry at a crossroads[J]. *MAbs*, 2009, **1**(5): 443-452.
- [10] PAPAVALSILEIOU V, KOULOURIS A, SILETTI C, *et al.* Optimize manufacturing of pharmaceutical products with process simulation and production scheduling tools[J]. *Chemical Engineering Research & Design*, 2007, **85**(7): 1086-1097.
- [11] 殷绚, 杨小健, 李荣雨, 等. 连续发酵生产乙醇的过程模拟与优化研究[J]. *高校化学工程学报*, 2010, **24**(1): 176-181.
YIN X, YANG X J, LI R Y, *et al.* Simulation and optimization of continuous ethanol fermentation process[J]. *Journal of Chemical Engineering of Chinese Universities*, 2010, **24**(1): 176-181.
- [12] SILVA A N D, PEREZ R, MINIM V P R, *et al.* Integrated production of whey protein concentrate and lactose derivatives: What is the best combination?[J]. *Food Research International*, 2015, **73**: 62-74.
- [13] TORRES-ACOSTA M A, AGUILAR-YÁÑEZ J M, RITO-ALOMARES M, *et al.* Economic analysis of Uricase production under uncertainty: contrast of chromatographic purification and aqueous two-phase extraction (with and without PEG recycle)[J]. *Biotechnology Progress*, 2016, **32**(1): 126-133.
- [14] ROUF S A, DOUGLAS P L, MOO-YOUNG M, *et al.* Computer simulation for large scale bioprocess design[J]. *Biochemical Engineering Journal*, 2001, **8**(3): 229-234.
- [15] PAPAVALSILEIOU V, SILETTI C, PETRIDES D. Systematic evaluation of single-use systems using process simulation tools[J]. *Biopharm International*, 2008, **21**(Suppl.): 16-29.
- [16] NANDI S, KWONG A T, HOLTZ B R, *et al.* Techno-economic analysis of a transient plant-based platform for monoclonal antibody production[J]. *MAbs*, 2016, **8**(8): 1456-1466.
- [17] IDRIS A, CHUA G K, OTHMAN M R. Incorporating potential environmental impact from water for injection in environmental assessment of monoclonal antibody production[J]. *Chemical Engineering Research & Design*, 2016, **109**: 430-442.
- [18] FAHRNER R L, KNUDSEN H L, BASEY C D, *et al.* Industrial purification of pharmaceutical antibodies: development, operation, and validation of chromatography processes[J]. *Biotechnology & Genetic Engineering Reviews*, 2001, **18**(1): 301-327.
- [19] 埃尔马·海因茨勒, 阿尔诺·比韦尔, 查尔斯·库尼. 可持续发展的生物过程[M]. 林东强, 姚善泾, 梅乐和, 译. 北京: 化学工业出版社, 2011: 226-243.
ELMAR H, ARNO P B, CHARLES L C. Development of Sustainable Bioprocess—Modeling and Assessment[M]. LIN D Q, YAO S J, MEI L H, trans. Beijing: Chemical Industry Press, 2011: 226-243.
- [20] HARRISON R G, TODD P, RUDGE S R, *et al.* *Bioseparations Science and Engineering*[M]. 2nd ed. New York: Oxford University Press, 2015: 441-507.
- [21] GOTTSCHALK U. *Process Scale Purification of Antibodies*[M]. 2nd ed. New York: John Wiley & Sons Inc., 2017: 445-463.
- [22] 刘国庆, 陈飞, 赵亮, 等. 表达单克隆抗体的 CHO 细胞无蛋白培养基的优化[J]. *高校化学工程学报*, 2013, (1): 96-101.
LIU G Q, CHEN F, ZHAO L, *et al.* Optimization of protein-free culture medium for CHO cells producing monoclonal antibody[J]. *Journal of Chemical Engineering of Chinese Universities*, 2013, (1): 96-101.
- [23] 李晓璐, 范里, 赵亮, 等. 基于单纯型设计和部件搜索方法的 CHO 细胞无血清培养基的高通量优化[J]. *高校化学工程学报*, 2014, (4): 777-783.
LI X L, FAN L, ZHAO L, *et al.* High through-put screening and optimization of serum-free media development for CHO cells using simplex lattice and elements dialogue design methods [J]. *Journal of Chemical Engineering of Chinese Universities*, 2014, (4): 777-783.

- [24] BIBILA T A, ROBINSON D K. In pursuit of the optimal fed-batch process for monoclonal antibody production[J]. *Biotechnology Progress*, 1995, **11**(1): 1-13.
- [25] LI F, VIJAYASANKARAN N, SHEN A Y, *et al.* Cell culture processes for monoclonal antibody production[J]. *MAbs*, 2010, **2**(5): 466-479.
- [26] LOW D, O LEARY R, PUJAR N S. Future of antibody purification[J]. *Journal of Chromatography B Analytical Technologies in the Biomedical & Life Sciences*, 2007, **848**(1): 48-63.
- [27] BOLTON G R, MEHTA K K. The role of more than 40 years of improvement in protein A chromatography in the growth of the therapeutic antibody industry[J]. *Biotechnology Progress*, 2016, **32**(5): 1193-1201.
- [28] MÜLLER-SPÄTH T, AUMANN L, STRÖHLEIN G, *et al.* Two step capture and purification of IgG2 using multicolumn countercurrent solvent gradient purification (MCSGP)[J]. *Biotechnology & Bioengineering*, 2010, **107**(6): 974-987.
- [29] ANGARITA M, MÜLLERSPÄTH T, BAUR D, *et al.* Twin-column CaptureSMB: a novel cyclic process for protein A affinity chromatography[J]. *Journal of Chromatography A*, 2015, **1389**: 85-95.
- [30] 姚善泾, 高栋, 林东强. 一种新的生物分离方法——混合模式吸附层析[J]. *化工学报*, 2007, **58**(9): 2169-2177.
- YAO S J, GAO D, LIN D Q. Novel technology in bioseparation process—mixed-mode chromatography[J]. *Journal of Chemical Industry and Engineering(China)*, 2007, **58**(9): 2169-2177.
- [31] 李菁, 林东强, 童红飞, 等. 疏水性电荷诱导色谱分离抗 HER2 单克隆抗体[J]. *化工学报*, 2014, **65**(10): 3931-3937.
- LI J, LIN D Q, TONG H F, *et al.* Separation and purification of anti-HER2 monoclonal antibody with hydrophobic charge-induction chromatography[J]. *CIESC Journal*, 2014, **65**(10): 3931-3937.
- [32] TONG H F, LIN D Q, CHU W N, *et al.* Multimodal charge-induction chromatography for antibody purification[J]. *Journal of Chromatography A*, 2015, **1429**: 258-264.
- [33] 卢慧丽, 林东强, 姚善泾. 亲和仿生层析及在抗体纯化中的应用[J]. *化工学报*, 2016, **67**(9): 3523-3535.
- LU H L, LIN D Q, YAO S J. Affinity biomimetic chromatography and its applications for antibody purification[J]. *CIESC Journal*, 2016, **67**(9): 3523-3535.