



细胞与基因治疗领域

细胞培养基与培养工艺优化 ——降本增效关键策略

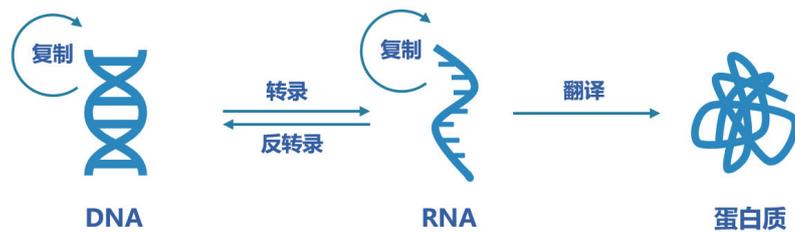
前言

CGT (Cell and Gene Therapy, 细胞与基因治疗) 正呈蓬勃发展态势, 全球已上市的 CGT 疗法已超过 100 个, 正在进行的 CGT 管线数量已超过 3800 项, 已经成为生物医药领域重要赛道之一, 也被认为是继小分子药物、抗体药物之后新的医药行业革命浪潮。CGT 药物针对的是蛋白上游的 DNA 或 RNA, 通过对基因水平的调节修饰达到治疗目的, 能够从根本上解决疾病问题, 原则上可实现单次治疗长期有效, 为一些严重及难治性疾病提供了新的选择, 尤其适用于基因突变引发的疾病中。由于罕见病通常是由遗传突变或基因缺陷引起的, 因此 CGT 药物在罕见病领域也都具有极大的吸引力。

近年来, 尽管 CGT 取得了快速发展, 但它仍处于早期阶段, 技术应用还不够成熟, 生产工艺复杂且个性化的自体疗法较多, 这导致生产成本高, 从而大大限制了药物或疗法的可及性。

CGT 生产效率、质量和成本方面仍有很大的提升空间。例如, 从研发阶段开始, 可以通过序列设计和病毒载体改造来提高治疗效率和特异性。在生产阶段, 可以通过细胞系悬浮驯化和无血清培养体系来扩大生产规模。在纯化阶段, 可以通过优化纯化方法提高产品回收效率。由于 CGT 的生产工艺相较于其他生物药品更为复杂, 参数更多, 因此在不同的应用领域中, 细胞培养基的设计和开发方向也有较大差异。

细胞培养工艺的优化和创新对于提高 CGT 的安全性、有效性和规模化生产具有重要意义。作为一家在细胞培养领域深耕 30 余年的培养基供应商, 倍谙基致力于从细胞培养工艺的角度出发, 为细胞基因治疗 (CGT) 企业提供最优培养基产品和技术支持, 并满足他们对成本降低和效率提高的迫切需求。本篇文章将重点关注上游细胞培养工艺, 并提供相关讨论和解决方案, 以促进 CGT 领域的发展和进步。



目录

病毒载体生产 01

rAAV生产细胞平台的选择

无血清细胞培养模式的优势

选择悬浮培养还是贴壁培养来进行AAV生产？

rAAV生产可以使用灌流工艺吗？

怎样减少空衣壳(empty capsids)和部分衣壳(partial capsids) AAV含量？

AAV的血清型和变体众多,怎样选择细胞培养基？

LV载体主要用于CAR-T,还有必要使用易于放大的无血清悬浮细胞培养工艺吗？

免疫细胞培养 04

免疫细胞培养为什么建议使用无血清培养方式？

现阶段CAR-T疗法费用高,如何降低成本？

怎样保证CAR-T细胞的质量？

溶瘤病毒扩增 06

附录 08

进行中的CGT项目管线数量

已上市的基因疗法产品

病毒载体生产

CGT 通常需要使用递送载体将治疗性 DNA 或 RNA 有效地导入到目标细胞内。递送载体可以分为病毒载体和非病毒载体两类，其中病毒载体应用更为成熟和广泛。由于病毒具有强大的感染能力和细胞侵入能力，因此成为主要的递送工具，经过改造和优化后的病毒载体可以进一步提高递送效率，增加安全性和保证特异性。目前，在 CGT 领域常用的病毒载体包括 rAAV (Recombinant Adeno-associated Virus, 重组腺相关病毒) 载体和 LV (Lenti virus, 慢病毒) 载体。rAAV 主要应用于体内基因治疗，能够实现高效的基因传递且不整合入基因组中，LV 主要应用于体外基因治疗，具有良好的安全性和长期稳定表达能力。

然而病毒载体的生产技术和工艺相对复杂，尽管借鉴了抗体 / 重组蛋白的生产工艺，但病毒载体的复杂结构和生物学特性使其生产工艺尚未达到高效和规模化的水平。随着 CGT 领域的快速发展和需求增长，病毒载体的生产工艺已经成为重要的课题，来满足越来越高的生产要求，并推动 CGT 技术的广泛应用。

rAAV生产细胞平台的选择

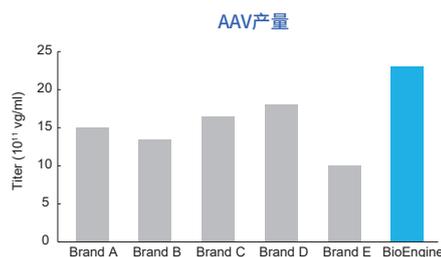
rAAV由于其安全性高，免疫原性低和持久的治疗效果等优点，成为最常用且最有前景的基因治疗载体。在全球已有7款AAV药物上市(1款已退市，见附录)，截至2023年6月，中国已有22款AAV基因治疗药物IND申报获批。然而，高昂的生产成本阻碍了AAV药物的商业化进程，过高的定价也限制了药品可及性，因此如何进行rAAV病毒载体大规模高效生产成为企业亟需解决的问题。

因此，在选择适合的rAAV生产平台时，需要综合考虑技术团队背景，生产成本和使用规模等多个因素。目前，rAAV的规模生产主要采用293细胞和昆虫细胞平台，其中293细胞由于其易转染特性被广泛应用在病毒包装中，主流的rAAV生产平台为293细胞/三质粒转染系统。虽然昆虫细胞平台没有293细胞应用广泛，但其优势不容忽视，昆虫细胞适用于高密度悬浮培养，且不需要瞬转系统生产过程中的质粒制备和转染操作，因此在规模生产中具有更高的成本效益，在全球已上市7款AAV药物中，有3款是基于Sf9昆虫细胞-杆状病毒系统生产。由于使用杆状病毒，下游工艺应增加特定病毒去除/灭活步骤，且昆虫细胞和人源的293细胞中rAAV衣壳蛋白的翻译后修饰不同，这可能会影响rAAV的转导效率、稳定性和特异性。

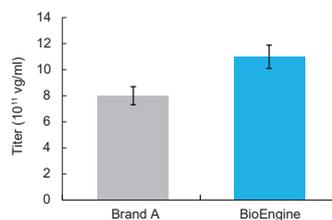
除了293细胞和昆虫细胞，科学家们还构建了rAAV稳转HeLa细胞系，利用腺病毒(Adv)或单纯疱疹病毒(HSV)感染进行rAAV生产，有助于实现长期稳定生产，但需要稳转细胞系构

建和遗传稳定性研究，技术难度和周期都会增加。此外，由于使用到Adv或HSV等辅助病毒，下游纯化工艺的难度和成本也会增加。

倍谱基为生物制药领域提供上百款高质量的动物细胞无血清培养基产品，其中293无血清培养基产品以及昆虫细胞无血清培养基产品在rAAV包装方面均表现优异。在内部测试中，[Celer-S101S 293细胞无血清培养基](#)中rAAV的产量可达到 1.4×10^{11} vg/ml。在客户测试数据中，[Vigor-S101S 昆虫细胞无血清培养基](#)中rAAV的产量可达到 1.1×10^{12} vg/ml。如有任何关于病毒载体生产用培养基或上游工艺的问题，欢迎随时与我们联系。



Celer-S101S 293细胞无血清培养基



Vigor-S101S 昆虫细胞无血清培养基

无血清细胞培养模式的优势

- **提高产品安全性：**避免血清中潜在的病毒和其他污染物的风险。
- **稳定培养条件：**减少血清批次间的差异，有利于产品一致性和稳定性。
- **降低生产成本：**无需购买昂贵的血清产品，降低生产成本。
- **简化纯化工艺：**避免血清成分对纯化过程的影响，简化纯化工艺流程。
- **易于放大和扩展：**大部分无血清培养基是为细胞悬浮培养设计，悬浮培养模式适合大规模生产，有利于满足基因治疗产品的大量需求。

总的来说，无血清细胞培养模式在基因治疗领域具有提高产品安全性、稳定性和产能，降低生产成本以及简化下游工艺等优势。这使得无血清细胞培养工艺成为越来越多基因治疗生产过程中的首选方式。

选择悬浮培养还是贴壁培养来进行AAV生产？

rAAV生产工艺包括细胞培养(贴壁或悬浮)、转染、澄清、纯化和存储等过程(如下图),对于选择悬浮还是贴壁培养工艺需要综合考虑:

- ④ **生产规模和产量要求:** 不同疾病和给药方式对 rAAV 的需求量有较大差异。例如,眼病通常采用局部给药方式(约 $10^{10}\sim 10^{11}$ vg/eye);血友病治疗则采用系统性给药方式(约 $10^{13}\sim 10^{14}$ vg/kg)。根据 rAAV 的需求量可以选择合适的生产工艺,对于系统性给药方式 rAAV 的需求量大,规模化生产变得尤为重要,悬浮细胞培养工艺相对更适合。
- ④ **自身工艺经验:** 贴壁培养模式已经在实验室和生物制品生产中得到广泛应用,相对成熟;悬浮培养模式更适合商业化生产,但需要具备丰富的悬浮培养工艺经验。基于自身团队已有的工艺经验,确定最合适的细胞类型,生产规模和上下游生产工艺。
- ④ **摆脱血清依赖:** 悬浮培养通常为无血清培养体系,降低病毒和微生物的污染风险,具有更高安全性和稳定性,并且能够简化下游工艺。

总的来说,在基因治疗领域的rAAV生产中,悬浮培养模式由于其规模化生产和不依赖血清的优势,被广泛应用,并且正在推动贴壁培养模式向悬浮培养模式的转变。但具体的选择还需要根据疾病的需求、工艺经验和成本因素等综合考虑。

rAAV生产可以使用灌流工艺吗？

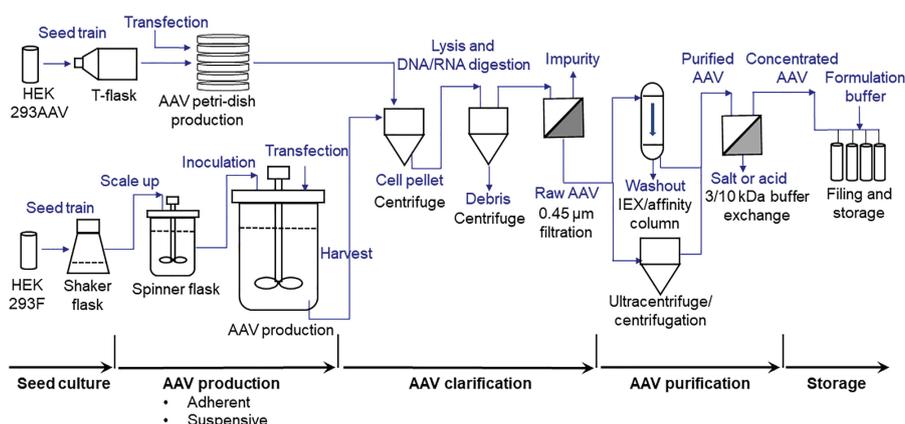
可以使用灌流工艺进行rAAV生产,选择适合不同AAV血清型和生产需求的上游细胞培养工艺非常重要。目前,rAAV生产的工艺模式源自较为成熟的抗体生产工艺。主要的上游细胞培养工艺包括批培养(batch)、流加培养(fed-batch)和灌流培养(perfusion)。批培养工艺相对简单,但细胞密度和蛋白表达量较低;流加培养工艺可以提高细胞密度和蛋白表达量,但也会增加培养基的营养消耗和副产物的积累,是现在抗体生产常用的工艺;灌流培养工艺则能实现高密度和连续的细胞培养,生产效率高但需要更复杂的设备和控制系统,现阶段还不如流加培养成熟。

与抗体生产使用稳转细胞株不同,rAAV生产通常采用瞬转系统。因此,培养基组分、培养方式、细胞密度、转染时间等方面都需要进行优化和调节。rAAV生产可以采用多种细胞培养工艺,分别具有不同特点,是否选择灌流培养工艺,需要考虑AAV类型、需求量、生产成本以及设备和控制系统的复杂程度等。

怎样减少空衣壳(empty capsids)和部分衣壳(partial capsids) AAV含量？

相对于抗体/重组蛋白药来说,AAV结构更为复杂,AAV具有蛋白组成的二十面体外壳,和一个单链DNA基因组,通过复杂的生物合成过程进行复制和包装。生产过程中会产生非正确包装的或不完整包装的AAV颗粒,降低空衣壳AAV和部分衣壳AAV含量是目前rAAV生产工艺的挑战和目标之一,其存在不仅会与正常功能的rAAV竞争细胞表面受体从而影响疗效,而且还有引起过度免疫反应的隐患。对于rAAV生产,最理想的目标是在提升产量的同时,还能够保证较低的空衣壳AAV和部分衣壳AAV含量。

rAAV生产工艺流程



图片来源: PROCESSIMPROVEMENT OF ADENO-ASSOCIATED VIRUS PRODUCTION,FRONT.CHEM.ENG,2022

- 优化质粒设计:**选择合适的质粒构建策略和序列设计,包括启动子、调节子和目标基因序列。例如很多rAAV载体构建均利用AAV2的ITR和Rep基因,只改变Cap基因,Rep52和Rep40对AAV组装起重要作用,因此导致某些非AAV2血清型的包装效率降低和空衣壳AAV比例的增加,有研究表明,经过改造的Rep基因能够显著提升AAV1和AAV8的包装效率。
- 优化转染条件:**在293细胞/三质粒瞬转系统中,尝试多种转染试剂或转染方式,调整转染试剂与质粒的比例和转染时间,以最大限度地提高质粒的转染效率。
- 优化细胞系选择:**不同细胞系对rAAV的产量和质量可能存在差异,可选择多个适合自身技术平台的细胞系,并进行细胞系的筛选或改造。
- 优化生产设备和工艺:**选择适合规模化生产的设备和工艺,例如使用生物反应器进行大规模培养,采用灌流工艺实现连续生产。
- 优化细胞培养条件:**针对不同的生产设备和工艺筛选培养基或调节培养基组分,调整pH值、温度和气体控制等培养条件,确保细胞活性,促进细胞生长并提高rAAV产量。上游工艺至关重要,其rAAV的产量和质量会直接决定下游纯化的难度和效率。
- 优化下游纯化工艺:**改进rAAV的纯化和浓缩工艺,如亲和层析、超滤和离心浓缩等方法的单独或组合使用,不同的rAAV血清型可能需要不同的纯化方式。

以上是一些常用的方法和策略,但需要根据具体情况和实际生产要求进行优化和调整。现CGT还处于起步阶段,随着技术的发展和研究的深入,还会有更多的方法和策略被提出和应用于rAAV生产中。

AAV的血清型和变体众多,怎样选择细胞培养基?

根据自身rAAV生产平台选择,首先确定细胞种类(293细胞、昆虫细胞还是HeLa细胞)和细胞培养工艺(贴壁培养还是悬浮培养),进行培养基初步筛选。

然而,对于不同血清型的rAAV生产,细胞的营养需求、细胞培养工艺和rAAV纯化要求均有差异。作为培养基开发和生产者,目录型培养基的研发会综合考虑效果和通用性,以尽量满足多种血清型AAV的高效生产。但很难有一个款培养基适用于所有AAV等病毒载体生产,现在已发现的AAV变体已经上百种,其中已确定血清型并最常研究的是AAV1~AAV13。同时,很多研究人员会对病毒衣壳进行不同的改造,对目的基因进行不同优化,又进一步增加了rAAV的多样性。

因此如目录培养基仍不能达到预期目标,可以联系我们进行个性化培养基定制服务,根据您的rAAV的血清型和特定的要求,定制更合适的培养基,从而显著提升rAAV载体的生产效率。



Celer 系列293细胞无血清培养基

适用于HEK293、293T、293F等多种293细胞的快速生长和高密度培养
针对不同使用场景开发了三款培养基,支持腺病毒包装、蛋白表达和病毒扩增



Celer-S101S
293细胞无血清培养基

适用于AAV和LV等病毒包装
AAV包装产量可达 10^{11} vg/ml以上
LV包装产量可达 10^7 TU/ml以上



Celer-S201S
293细胞无血清培养基

适用于蛋白表达
表达量可达百毫克/升级别



Celer-S001S
HEK293细胞无血清培养基

适用于腺病毒扩增
病毒产量可达 10^{10} TCID₅₀/ml



Vigor 系列昆虫细胞无血清培养基

适用于Sf9、High five细胞高密度培养
支持AAV高效生产



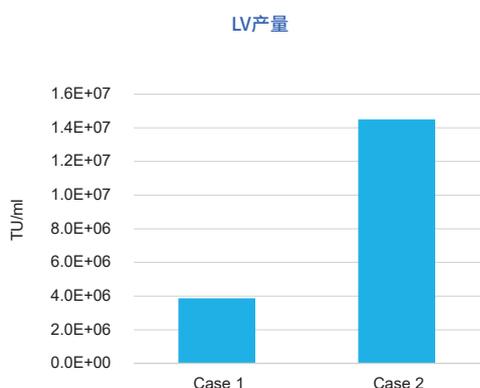
Vigor-S101S
昆虫细胞无血清培养基

LV载体主要用于CAR-T, 还有必要使用易于放大的无血清悬浮细胞培养工艺吗?

慢病毒能够整合入宿主基因组中长期表达,因此常用于稳定表达细胞系的构建,例如CAR-T的构建,病毒载体是CAR-T生产中非常重要的一环,其质量会直接影响CAR-T产品质量。目前,慢病毒包装使用最多的为293细胞平台,采用四质粒瞬转的方式。同时,培养方式多为贴壁培养,使用经典培养基DMEM+10%血清的培养体系。这种培养方式具备成熟的工艺和较高的包装效率,适用于小规模LV载体生产。但贴壁培养放大大局限且由于依赖血清导致成本较高,限制了其在大规模生产中的应用。

LV载体生产是否需要采用无血清悬浮细胞培养工艺取决于自身技术平台和适应症的需求量。例如现在上市的CAR-T产品,每剂慢病毒需求量并不高(平均约为 5×10^8 TU/剂量),对于国内已上市的两款CAR-T,2022年药明巨诺完成141例病人回输,复兴凯特完成约200例病人回输,一款CAR-T产品的慢病毒年需求量大概在 10^{11} TU,现阶段慢病毒包装效率大概 $10^6 \sim 10^8$ TU/ml(纯化前),贴壁培养模式也能够满足。但以上的需求是基于CAR-T处于早期发展阶段,且其他方面的设备、效率和人员也不支持过多的治疗人数的情况下计算出。

随着CAR-T技术的优化和推广,适应症的增多,异体疗法(uCAR-T)的发展,未来LV载体的需求量将会大幅增加。无血清悬浮细胞培养工艺具有一些优势,例如能够提供更高的细胞密度、易于控制,并且适用于大规模生产。此外,与贴壁培养相比,无血清培养系统的使用能够提高生产的安全性和稳定性,并最终降低成本。倍谱基的 [Celer-S101S 293 细胞无血清培养基](#) 在LV载体包装中同样具有优异表现, LV载体产量可达 10^7 TU/ml以上。



Celer-S101S 293细胞无血清培养基

免疫细胞培养

细胞治疗是生物医药行业中的突破领域,被视为继小分子药物和抗体药物之后的重要发展方向。其中CAR-T疗法应用的最为广泛和成熟,基因修饰后细胞疗法的项目管线中有近一半都是CAR-T,其次是TCR-T和CAR-NK。



*数据来源: Q3 2023 Quarterly Data Report, ASGCT

截止2023年11月,全球已上市10款CAR-T产品(详见附录),我国已上市4款CAR-T产品,均为自体CAR-T。其中,复兴凯特和药明巨诺的2款CAR-T产品为CD19靶点,均于2021年获批上市; 驯鹿/信达的CAR-T产品为BCMA靶点于2023年6月获批上市。合源生物的源瑞达(CD19 CAR-T)也于近日(2023.11.08)获批上市。此外,科济药业的Zevor-cel(BCMA CAR-T)的NDA(新药上市申请)于去年10月获国家药监局受理。说明CAR-T疗法在癌症等疾病中的具有巨大潜力和前景,并且中国在CAR-T疗法领域的地位日益重要。

除了CAR-T,另外还有很多值得期待的免疫细胞疗法,例如CAR-NK疗法。NK细胞本身具有广谱的抗肿瘤作用,不需要肿瘤特异性识别,能够应用于实体瘤治疗,并且不会引起移植排斥反应(GvHD),能够突破了自体局限,具有通用型,因此CAR-NK得到了越来越多的关注。CAR-M(巨噬细胞)具有较好的实体瘤侵入效果,能够突破肿瘤微环境的抑制,国内已有CAR-M疗法已进入临床阶段。非基因改造免疫疗法中,TIL细胞疗法由于其多靶点,较好的肿瘤趋向和浸润能力,在实体瘤中前景广阔,lovance的TIL细胞疗法lifileucel在今年3月份已向FDA递交上市申请,有望成为第一款TIL细胞疗法。另一T细胞类群 $\gamma\delta$ T细胞的MHC限制性相对较少,为固有免疫细胞,在肿瘤治疗中受到越来越多的关注。

现阶段CAR-T治疗效果优越,未来前景广阔,但仍面临着成本和产能的挑战。CAR-T疗法的整个工艺流程,从病人采血到回输都非常复杂。其中免疫细胞扩增阶段对CAR-T疗法的周期和质量都有重要影响,并对培养基和培养工艺提出了更高的要求。

[HIPP-T009](#)和[HIPP-T006](#)是倍谱基推出的两款淋巴细胞无血清培养基,为细胞治疗产品的生产提供了灵活和高效的选择,均支持免疫细胞高效扩增。[HIPP-T009](#)已在多个细胞治疗项目中获得应用,且部分项目已在临床I期或IND申报阶段。

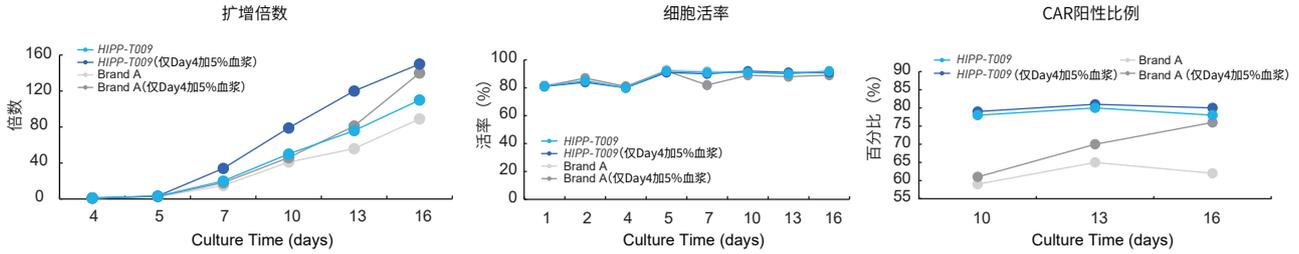


HIPP-T009 淋巴细胞无血清培养基

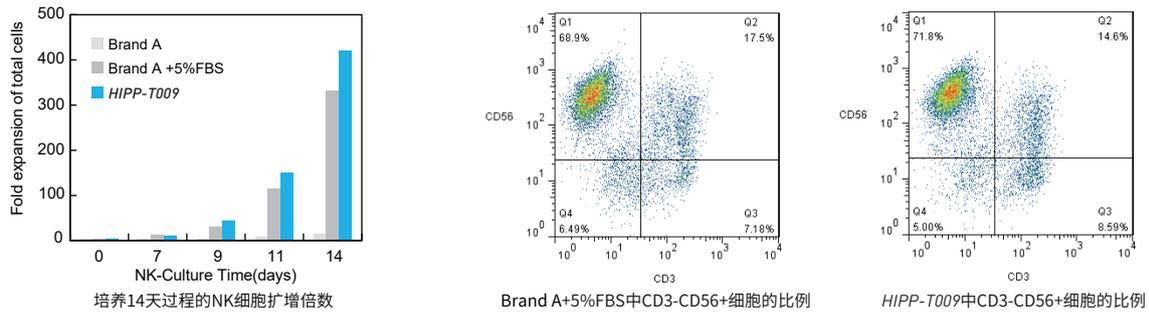
- **安全**：化学成分明确，无异源，含药用级别人血白蛋白和重组蛋白。
- **通用**：支持多种细胞类型，包括 T 细胞、NK 细胞、CIK、CAR-T、CAR-NK、造血干细胞 (CD34+) 等原代细胞和多种细胞系 (NK-92、NK-92MI、K562 和 Jurkat 等)，客户可根据细胞种类和项目目的添加适合的生长因子。
- **高效**：在无血清条件下已优于其他品牌添加血清的培养效果，细胞扩增速度，细胞活率和阳性率等方面均表现优异。

- 🔗 已应用于多个 IND 申报和临床 I 期项目，包括 T 细胞、CAR-T、uCAR-T 和 CAR-NK 等细胞治疗项目
- 🔗 首款应用于细胞治疗项目 IND 申报并获批的国产培养基（2019 年）

在相同的条件下（无血浆和添加血浆），HIPP-T009 相对于 Brand A 表现出更高的细胞增殖倍数，同时 CAR 的阳性率也更加稳定和更高。



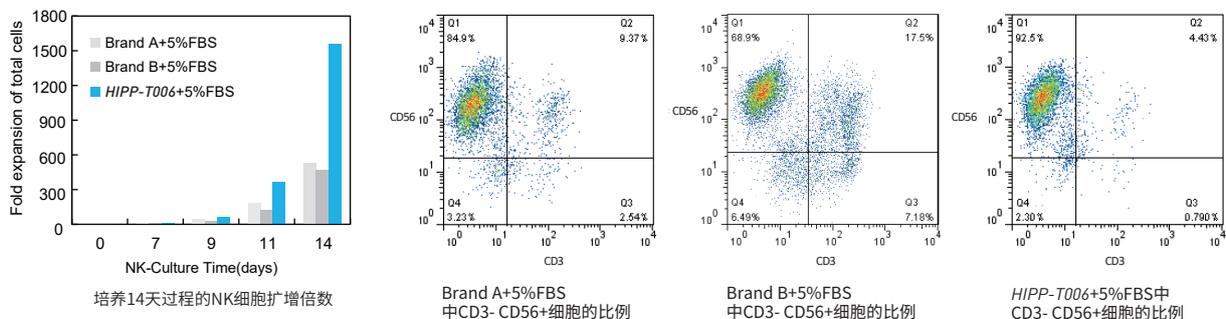
HIPP-T009 在完全无血清培养条件下 NK 细胞的扩增效率已明显优于添加血清的进口品牌培养效果，且 CD3-CD56+ 比例略优。



HIPP-T006 淋巴细胞无血清培养基

- **安全**：化学成分明确，无异源，含药用级别人血白蛋白和重组蛋白。
- **通用**：支持在无血清条件下培养多种免疫细胞系 (NK-92、NK-92MI、K562 和 Jurkat 等)，对于 T 细胞、NK 细胞、CIK、CAR-T、CAR-NK、造血干细胞 (CD34+) 等原代细胞，需添加血清培养。
- **高效**：细胞扩增速度，细胞活率和阳性率等方面效果优于进口品牌。

在均添加 5% 血清的培养条件下，HIPP-T006 的 NK 细胞扩增效率明显优于进口品牌培养效果，且 CD3-CD56+ 比例更优。



如需了解 HIPP 系列培养更多其他细胞的数据，
[欢迎联系我们!](#)

免疫细胞培养为什么建议使用无血清培养方式？

细胞治疗可以说是一种“活的”药物，培养基作为细胞产品的直接接触者，建议使用无血清化学成分限定培养基，并且避免使用动物源成分。在2017年中国药品监督管理局（CDE）发布的《细胞治疗产品研究与评价技术指导原则》中，已建议在细胞培养阶段尽量避免血清的使用；化学成分明确能够增加产品可控性，减少未知风险；并且不含动物源成分可以降低外源病原微生物的感染风险。目前市面上已经有多款针对免疫细胞培养的无血清培养基产品，这些产品很大程度上摆脱了血清依赖，培养效果甚至比加血清更优。但由于免疫细胞来源不同，培养的细胞种类不同，培养效果可能会有差异，因此建议与培养基公司的技术支持具体沟通，以确定最佳的培养方案。

细胞治疗产品往往制备工艺复杂，而且需要通过直接输入人体才能发挥治疗效果。如果缺乏有效监管，在制备和输入过程中可能会发生问题。美国和欧盟等CGT产品研发活跃的地区已建立了相对完善的监管制度和质量体系，并积累了丰富经验。随着我国CGT产品管线数量和种类的增加，我国的法规政策也在不断的完善和细化。

近两年来，我国在CGT领域发布了多个指导原则。根据国内外现状和指导原则的建议，无血清细胞培养模式成为生物制药发展的趋势。然而，目前国内缺乏动物细胞无血清培养基的标准和质量管理规范，且培养基产品严重依赖进口。为了规范国内无血清培养基的产品标准，保障我国抗体和疫苗的产量和质量特性，以及确保细胞治疗、组织培养等生物医药产品的安全有效性，上海市生物医药行业协会于2022年12月发布了两项关于无血清培养基的团体标准。这两项团体标准由华东理工大学谭文松教授团队牵头，经上海市生物医药行业协会组织协调，上海市药监局、多家上海市培养基研发生产企业和上海市生物制药企业共同参与研讨和制定。这些标准为国内生物药企的审计和验证提供了明确的标准和依据，使国产无血清培养基行业与国际接轨，进一步提升我国生物医药行业的国际竞争力。



[点击查看团标详情](#)

现阶段CAR-T疗法费用高，如何降低成本？

现在自体细胞治疗应用相对成熟，不同于小分子和抗体药等广普应用的药物，个性化生产成本高，细胞治疗相关费用高。CAR-T的成本降低取决于底层技术创新、生产工艺优化、原料设备升级和支付方式多样化等。

- ④ **技术创新**：成本降低最根本是CGT领域底层技术的创新，例如uCAR-T，CAR-NK等现货型产品的开发，以及与iPSC的联合，实现规模化生产，增加产能，降低成本，减少患者自体细胞提取生产的步骤。
- ④ **生产工艺**：CAR-T生产过程复杂，通过工艺优化，例如引入自动化生产设备，提高转染效率，和优化细胞培养等来降低成本。
- ④ **原料设备**：目前CAR-T生产过程主要依赖进口原料耗材和设备，但价格昂贵。国内已经涌现出很多优秀的原料耗材和设备企业，能够满足CAR-T工艺的需求。倍谱基针对病毒载体包装和免疫细胞培养设计开发出多款高效无血清培养基（如前所述），并已在细胞治疗领域的多个项目中得到成功应用。
- ④ **支付方式**：除了技术和工艺本身的改进，还需要通过支付方式、医保和保险等方面降低患者的负担，以推动CAR-T疗法的普及和可及性。

怎样保证CAR-T细胞的质量？

CAR-T细胞治疗是一项复杂的技术，需要通过严格的质量控制流程、适合的细胞培养条件、高效的基因转导技术、充分的细胞分离纯化和严格的产品稳定性评估等，来有效地保证CAR-T细胞产品的质量。

在细胞培养方面，CAR-T细胞的数量和质量对治疗效果至关重要，细胞培养基会直接影响细胞的扩增速度、阳性比率和感染效率等方面。

选择合适的细胞培养基不仅要关注其效果，还需要确保其质量和供应的稳定性，包括产品检验报告、生产工艺和质量体系等方面。特别现在CAR-T疗法的适应症处于后线或未线，即接受CAR-T疗法的患者已经经过多线疗法，因此对CAR-T产品的及时制备非常关键，确保供应稳定，避免原料供应风险，以满足患者用药需求。

此外，细胞培养工艺的开发中可能会出现各种问题，因此培养基供应商的技术水平，解决问题的能力 and 项目经验也至关重要。CAR-T细胞治疗中使用的细胞种类越来越多，对于更加个性化的细胞培养需求，培养基定制和优化服务可以显著提升生产效率。

溶瘤病毒扩增

溶瘤病毒 (oncolytic viruses, OV) 是一类具有溶瘤作用的病毒, 而非一种单一的病毒。常见的溶瘤病毒包括疱疹病毒 (HSV)、腺病毒 (Adv), 痘病毒和呼肠孤病毒等。溶瘤病毒由于其能够特异性的在肿瘤细胞中扩增并诱导抗肿瘤免疫, 相较于其他肿瘤免疫疗法, 溶瘤病毒具有杀伤效率高、靶向性好、副作用小、多种杀伤肿瘤途径避免耐药性并具有成本低廉等优势。此外, 溶瘤病毒还可与化疗、放疗、靶向治疗和免疫治疗等其他疗法联合使用, 以提高治疗效果。因此, 溶瘤病毒是一款有前景的抗肿瘤免疫疗法。

截至 2023 年 4 月, 全球处于临床阶段的溶瘤病毒管线 60 个, 其中中国 17 个。无论全球还是中国, 溶瘤病毒均以腺病毒和单纯疱疹病毒为主 (如下图)。腺病毒以其序列改造构建的简易性和使用的灵活性成为了全球最为常用的溶瘤病毒。腺病毒可以感染多种肿瘤细胞, 可携带较大的外源基因 (约 36k), 粒径约为 90nm。可用 HEK293、Per.C6、N52.E6 等细胞平台生产, 其中 HEK293 细胞是腺病毒生产常用的宿主细胞, 含有部分 5 型腺病毒 (Ad5) 的基因组片段, 可以提供腺病毒所需的 E1A 和 E1B 蛋白, 从而促进腺病毒的复制和包装。上海三维生物的安科瑞是一种腺病毒溶瘤病毒产品, 2005 年在中国获批上市, 用于治疗鼻咽癌。

单纯疱疹病毒包括 HSV-1 和 HSV-2 两种血清型, 常用 Vero 细胞、BHK 细胞和 Hep-2 细胞平台。HSV 含有包膜和囊膜, 并且病毒粒径较大 (155-240nm), 对生产工艺挑战较大。安进的 Imlygic 和第一三共的 Delytact 均为 HSV 溶瘤病毒, 分别用于治疗黑色素瘤和神经胶质瘤。

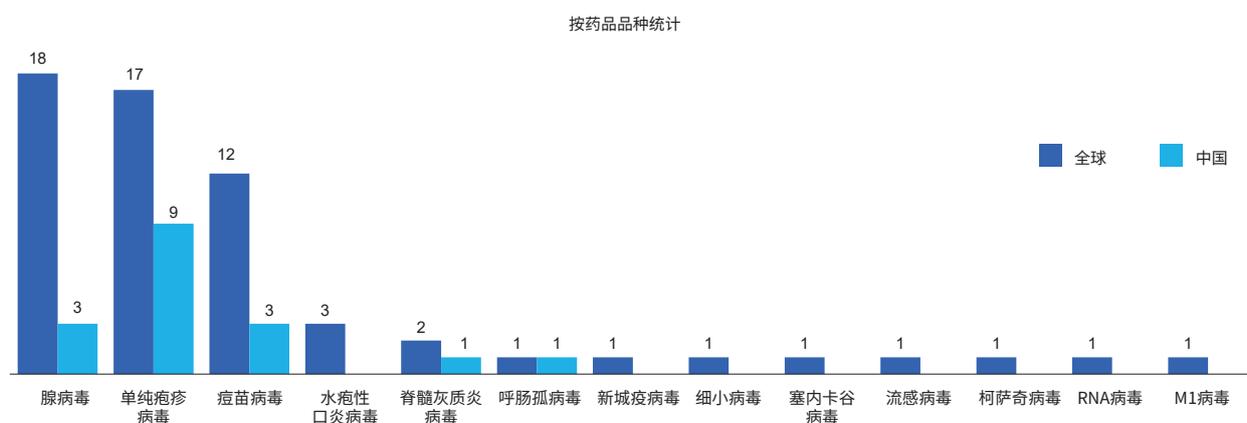
呼肠孤病毒为无包膜的双链 RNA 病毒, 常使用 HEK293 细胞平台进行生产; 痘病毒曾作为天花疫苗而广泛使用, 积累了较多实验和临床数据, 作用机制清晰。

现阶段溶瘤病毒仍面临一些挑战和局限性, 如安全性、特异性、免疫逃逸、生产难度等, 因此需要进一步的优化和改进。同时, 需要针对不同的病毒需选择合适的细胞系、细胞培养方式、病毒纯化方法和质量控制标准, 才能够高效获得溶瘤病毒产品。

溶瘤病毒药物的生产步骤包括细胞培养、病毒感染复制与规模化培养、病毒收集与纯化、质量检测以及药物包装等关键环节。细胞培养是其中重要的一步, 可采用加血清贴壁培养工艺、无血清贴壁培养工艺或无血清悬浮培养工艺。在这些工艺中, 无血清悬浮培养工艺由于避免了血清中的动物来源成分, 降低了下游纯化成本, 且便于规模化生产, 因此被广泛认为是未来的发展趋势。

在溶瘤病毒领域, 倍谱基可提供多种用于病毒生产的无血清细胞培养基, 例如 [Pesche 系列 Vero 无血清培养](#)、[Celer 系列 293 细胞无血清培养基](#) 和 [Tac 系列 BHK 细胞无血清培养基](#) 等。随着越来越多溶瘤病毒项目进入到临床阶段, 稳定且易放大的生产工艺变得尤为重要, 但由于不同溶瘤病毒具有独特的特性及生产工艺的要求, 并不存在一种通用的工艺适用于所有溶瘤病毒的生产。除了培养基目录产品, 倍谱基可提供培养基优化和定制服务, 助力提高病毒产量和质量。

全球及中国在研溶瘤病毒药物, 按病毒种类拆分

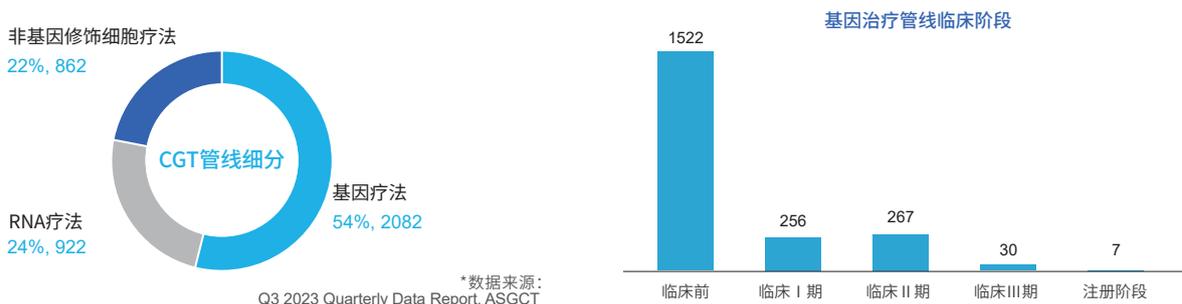


*数据来源: 中国溶瘤病毒产业发展蓝皮书, Frost & Sullivan, 2023

附录

进行中的CGT项目管线数量

根据ASGCT统计数据,截止2023年10月,全球CGT管线总量为3866个,其中基因疗法(包括基因修饰的免疫细胞和基因修饰的干细胞)为2082个,占据超过一半的CGT管线,且大多数都在临床前阶段。该统计数据中,上市申请阶段中的7个疗法中已有2个在11月于中国获批上市,分别为合源生物&CASI的CAR-T疗法和CRISPR Therapeutics & Vertex的基因编辑造血干细胞疗法。



已上市的基因疗法产品

截至2023年11月,全球共批准上市32个基因疗法产品(其中2个已退市),数据参考ASGCT Landscape Report和网络公开信息,本附录中的基因疗法包括以CAR-T为代表的基因修饰后细胞疗法。

| 基因疗法 | | | | | |
|--|--|---|---|--|--|
| 病毒载体 | | 基因修饰后细胞 | | 其它 | |
| AAV载体 | 其他载体 | 免疫细胞 | 干细胞 | 溶瘤病毒 | 裸质粒 |
| <p>2012年 Glybera, AAV1, uniQure 欧盟 (已退市)</p> <p>2017年 Luxturna, AAV2 Spark Therapeutics (Roche) 美国</p> <p>2019年 Zolgensma, AAV9 Novartis 美国</p> <p>2022年 Upstaza, AAV2 PTC Therapeutics 欧盟 Roctavian, AAV5 BioMarin 欧盟 Hemgenix, AAV5 uniQure 美国</p> <p>2023年 Elevidys, AAVrh74 Sarepta 美国</p> | <p>2004年 今又生(Gendicine), AdV 赛百诺(SiBiono) 中国</p> <p>2006年 Rexin-G, RV Epeius Biotechnologies 菲律宾</p> <p>2022年 Adstiladrin, Adv Ferring Pharmaceuticals 美国</p> <p>2023年 Vyjuvek, HSV-1 Krystal Biotech 美国</p> | <p>2017年 Kymriah, LV/CAR-T Novartis 美国 Yescarta, RV/CAR-T Kite Pharma (Gilead) 美国</p> <p>2020年 Tecartus, RV/CAR-T Kite Pharma (Gilead) 美国</p> <p>2021年 Breyanzi, LV/CAR-T Celgene(BMS) 美国 Abecma, LV/CAR-T bluebird bio 美国 奕凯达, RV/CAR-T 复星凯特(FosunKite) 中国 倍达诺, LV/CAR-T 药明巨诺(JW Therapeutics) 中国</p> <p>2022年 Carvykti, LV/CAR-T 传奇生物 (Legend Biotech) 美国</p> <p>2023年 福可苏, LV/CAR-T 南京驯鹿&信达生物 (IASO Bio & Innovent) 中国 源瑞达, LV/CAR-T 合源生物&CASI 中国</p> | <p>2016年 Strimvelis, RV/HSC Orchard Therapeutics 欧盟</p> <p>2019年 Zynteglo, LV/HSC bluebird bio 欧盟 (退市欧盟, 2022年美国上市)</p> <p>2020年 Libmeldy, LV/HSC Orchard Therapeutics 欧盟</p> <p>2021年 Skysona, LV/HSC bluebird bio 欧盟 (退市欧盟, 2022年美国上市)</p> <p>2023年 CASGEVY, CRISPR/Cas9, HSC CRISPR Therapeutics & Vertex 英国</p> | <p>2004年 Rigvir, ECHO-7肠道病毒 Latima 拉脱维亚 (已退市)</p> <p>2005年 安科瑞(Oncorine), AdV 上海三维(Sunway) 中国</p> <p>2015年 Imlygic, T-Vec(HSV-1) Amgen 美国</p> <p>2021年 Delytact, HSV-1 Daiichi Sankyo 日本</p> | <p>2011年 Neovasculgen Human Stem Cells Institute 俄罗斯</p> <p>2019年 Collategene AnGes 日本</p> |



倍谙基官网 倍谙基微信公众号

上海倍谙基生物科技有限公司
Shanghai BioEngine Sci-Tech Co.,Ltd.

电话:021-68582660
官网:www.bio-engine.com.cn
地址:上海市闵行区绿洲环路396弄3号楼4楼