

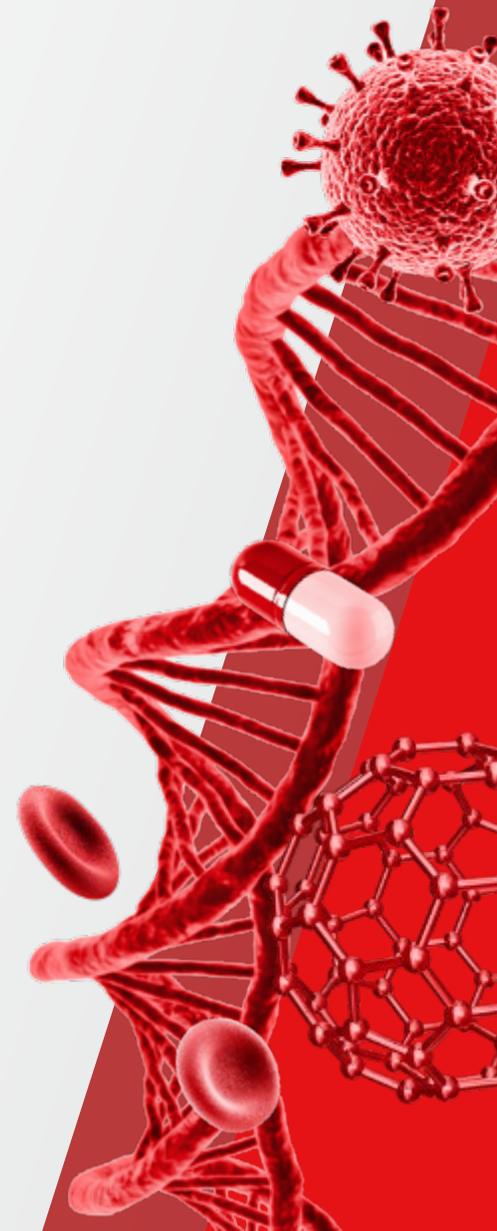
# 赛默飞生物药解决方案概览

Zhaohui Yan, Jianming Cao

CMD AE CST Bio & Pharma

2023-03

 The world leader in serving science



# 科学服务领域的世界领导者



>125,000

员工



7,000

研发团队科学家 / 工程师



15 亿美元

研发投入



440亿美元

收益

# 我们领先的产品、服务和 workflows 解决方案

**ThermoFisher**  
SCIENTIFIC

The world leader in  
serving science



# Chromatography and Mass Spectrometry

## 色谱与质谱业务



# 色谱与质谱业务

分析仪器、耗材、软件和服务的完整产品组合

生命科学质谱技术 (LSMS)

高效色谱解决方案 (HPCS)

离子色谱与样本制备 (ICSP)

应用分析技术 (AAT)

整合实验室服务 (ULS)

生命科学质谱技术  
(LSMS)

高效液相色谱法 (HPLC)

离子色谱法 (IC)

痕量元素分析 (TEA)

安装与培训

色谱耗材和特殊产品  
(CCS)

色谱化学

无机质谱技术 (IOMS)

合同与商业服务

色谱数据系统 (CDS)

样本制备 (SP)

气相色谱法 (GC)

零件及配件

实验室自动化 (LA)

垂直市场：组学、临床、制药与生物制药、食品饮料、环境与工业

# 政策引导的生物药医药发展规划

## 中华人民共和国国民经济和社会发展第十四个五年规划和2035年远景目标纲要

### 第四章 强化国家战略科技力量

#### 第二节 加强原创性引领性科技攻关

##### 05 基因与生物技术

.....生物药技术创新, 创新疫苗, 体外诊断, 抗体药物等研发

### 第九章 发展壮大战略性新兴产业

#### 第一节 构筑产业体系新支柱

.....推动生物技术和信息技术融合创新, **加快发展生物医药...**

### 第四十四章 全面推进健康中国建设

#### 第四节 推动中医药传承创新

.....强化中药质量监管, 促进中药质量提升.....

### 第五十四章 全面提高公共安全保障能力

#### 第二节 严格食品药品安全监管

## 九部委“十四五”医药工业发展规划

### 三、加快产品创新和产业化技术突破

#### (一) 强化关键核心技术攻关

专栏1 **医药创新产品产业化工程** (核酸、抗体、细胞治疗等)

专栏2 **医药产业化技术攻关工程**

#### (三) 健全医药创新支撑体系

提高专业化的研发服务能力——**高水平第三方机构**

### 四、提升产业链稳定性和竞争力

(二) 提升产业链优势——特色原料药、**核酸/多肽新产品**、原料+制剂一体化

#### 五、增强供应保障能力

##### (三) 完善疫苗供应体系

专栏3 **疫苗和短缺药品供应保障工程**

### 六、推动医药制造能力系统升级

#### (一) 持续提高质量安全水平

专栏4 **产品质量升级工程**

固体/注射剂一致性评价、提升中药质量、药用辅料/包材质量规范

#### (二) 推动产业数字化转型

## 发改委“十四五”生物经济发展规划

### 二、总体要求

#### (四) 重点发展领域

重点围绕**药品、疫苗、先进诊疗技术**和装备、生物医用材料、精准医疗、检验检测及生物康养等方向

### 三、大力夯实生物经济创新基础

#### (五) 加快提升生物技术创新能力

开展前沿生物技术创新——**发展基因诊疗、干细胞治疗、免疫细胞治疗**等新技术

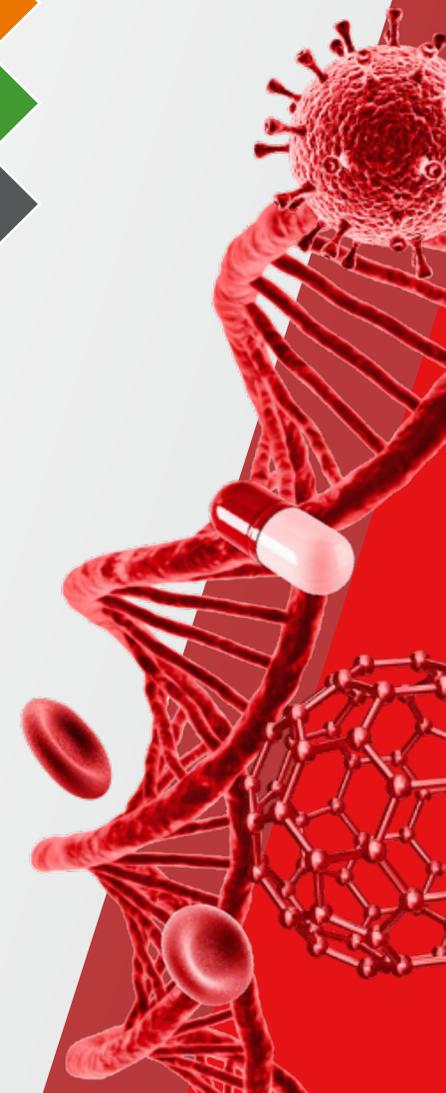
#### (七) 优化生物经济创新发展的区域布局

#### (八) 深化生物经济创新合作

专栏1 **生物经济创新能力提升工程**

#### (九) 推动医疗健康产业发展

推动**抗体药物、重组蛋白、多肽、细胞和基因治疗产品**等生物药发展



# 生物治疗产品产业化



阶段:



**初始期**

技术/研究显示高度创新性和潜力，但尚未显示出价值或形成任何形式的共识



**成长期**

随着这项技术变得更加明确和可测量化，其影响潜力开始显现



**兴盛期**

向量（技术）通过可扩散的不同度量建立起来（例如不断增加的科研文献、专利、风险投资、拨款等）



**成熟期**

技术/领域已经成熟，知识体系已经确立，有明确的发展轨迹（无论是“死亡”还是“持续增长”），已开展大量投资

# 抗体类药物研发生产流程

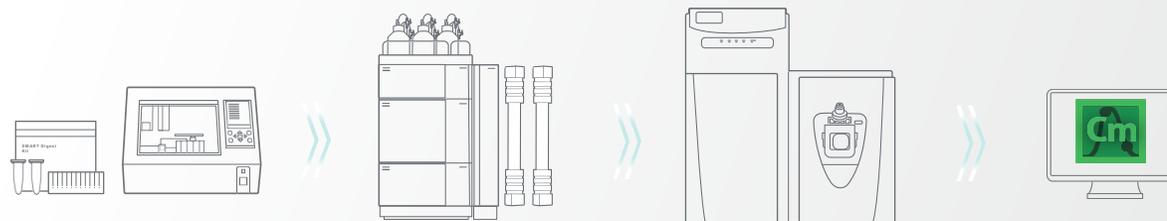
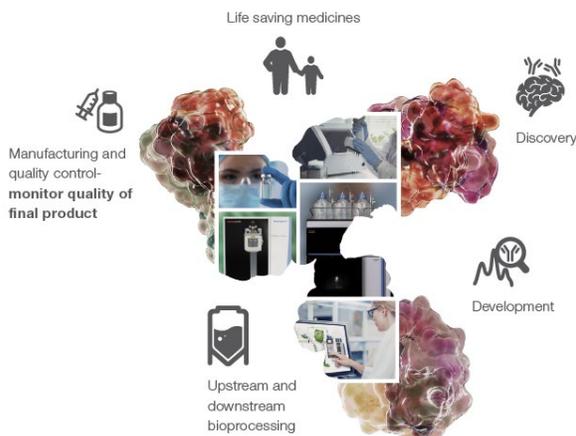
靶点研究、确认

抗体序列确认

临床前研究

临床研究

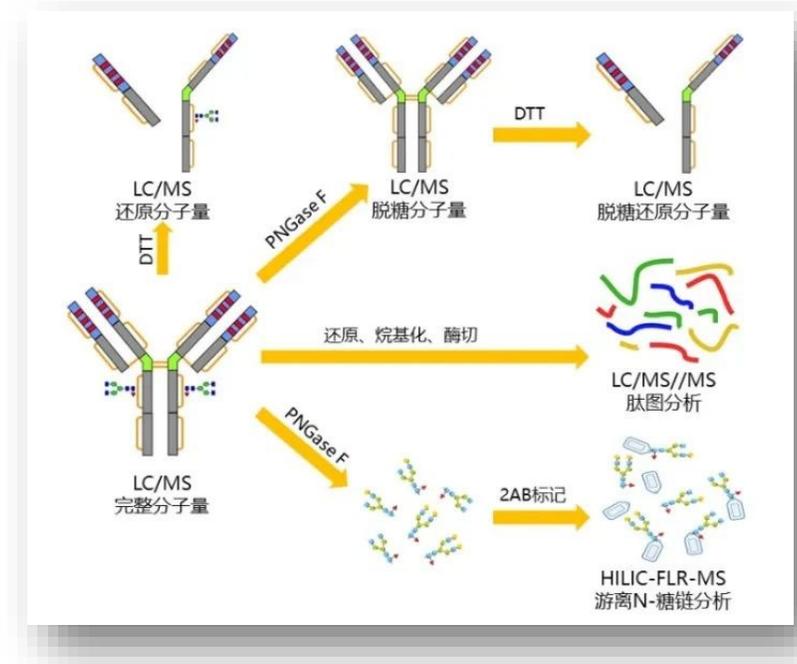
生产上市



# 抗体类药物表征

## 抗体结构表征 (ICH Q6B、重组DNA蛋白质制品)

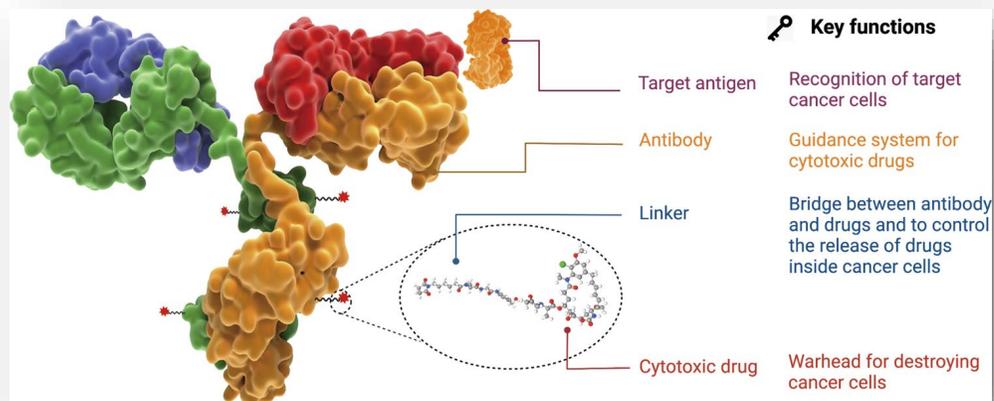
结构鉴定和确证		物理化学性质	
等电点 末端氨基酸序列 (N/C) 氨基酸组成 肽图覆盖率 巯基和二硫键 糖结构 (单糖/糖链/唾液酸/糖基化位点)	等电聚焦电泳 IEF N 端测序仪或 LC-MS/MS RP-HPLC-FLD LC-MS/MS LC-MS/MS LC-FLD-MS/MS, IC-MS	分子量 分子大小 (完整/轻重链) 电荷异构体 消光系数 (蛋白含量) 电泳 (同质性、纯度) 液相色谱 (均一性、纯度) 光谱图 (高级结构) 变构温度	LC/MS SEC, LC-MS/MS, SDS-PAGE icIEF, IEX UV, RP-HPLC-FLD CE-SDS IEX, SEC, RP-HPLC NMR, CD, FT-IR, HDX-MS DSC
产品相关杂质		生产工艺相关杂质和污染物	
截断杂质(完整分子量/肽图) 其他产品杂质 (脱酰胺、异构化、二硫键错配) 聚合物	LC-MS, LC-MS/MS, SEC, CE-SDS, cIEF SEC, AUC (分析超速离心)	细胞基质来源杂质 (宿主蛋白-LC/MS/MS、DNA) 细胞培养工艺杂质 (诱导剂、消泡剂、抗生素、培养基) 下游工艺杂质 (酶、化学试剂、无机盐/重金属、溶剂)	



# ADC药物表征与质控

## ADC特性分析、制品检定（抗体偶联药物质量控制和临床前评价专家共识）

理化性质 (鉴别、DAR、产品相关杂质)		工艺杂质和污染物			效价 免疫学性质和生物学活性	其他
一级结构和偶联位点 (偶联对一级结构影响-氨基酸序列、二硫键、糖基化等)	肽图、质谱法	工艺杂质	污染物	含量	抗原结合活性 ELISA, Biacore(表面等离子体共振法)  细胞毒性	性状 颜色 澄清度 可见异物 pH值 渗透压 装量 / 装量差异 不溶性微粒等 复溶时间 水分
药物抗体偶联比 DAR	UV、HIC-HPLC、RP-HPLC、MS	游离小分子药物	微生物 内毒素	消光系数 UV 280nm蛋白浓度		
药物载药量分布 (不同载药量分子的分布)	HIC-HPLC、RP-HPLC、CE、MS	小分子药物相关物质				
分子大小变异性	SEC、SDS-PAGE、CE-SDS、AUC	残留溶剂				
电荷变异性	CE、IEC、iCEC	重金属				
高级结构	CD、DSC、FT-IR、NMR	裸抗				



## 生产用原材料控制

单抗	连接子	小分子药物
理化异质性、结构完整性、氨基酸序列、高级结构、糖基化修饰、二硫键、生物学活性和免疫学特性等	外观性状、结构确证、理化性质（如熔点、沸点、比旋度、溶解度等）、纯度检查（如有关物质、异构体）、含量测定等	性状、鉴别、检查和含量测定 检查项目应考虑一般杂质（如：氯化物、硫酸盐、重金属、砷盐、炽灼残渣等）、有关物质、溶剂残留、晶型、干燥失重或水分、异构体等

# 全面抗体类药物表征和质控

## 结构表征

分子量测定（完整/还原/亚基）  
氨基酸序列、氨基酸修饰、肽图  
二硫键、自由巯基  
寡糖、糖肽、糖基化位点  
制品杂质鉴定、HCP鉴定

## 糖型分析

完整分子层面分析糖型  
糖肽分析，糖基化位点  
酶切标记/非标记糖型  
单糖检测

## 辅料控制

PEG、PS 80  
消泡剂



## 纯度表征

大小变异体（聚体、单体、片段）SEC  
电荷异构体（翻译后修饰异构，酸区、碱区）IEX  
含量表征 RP  
肽图监测 RP

## 溶剂残留

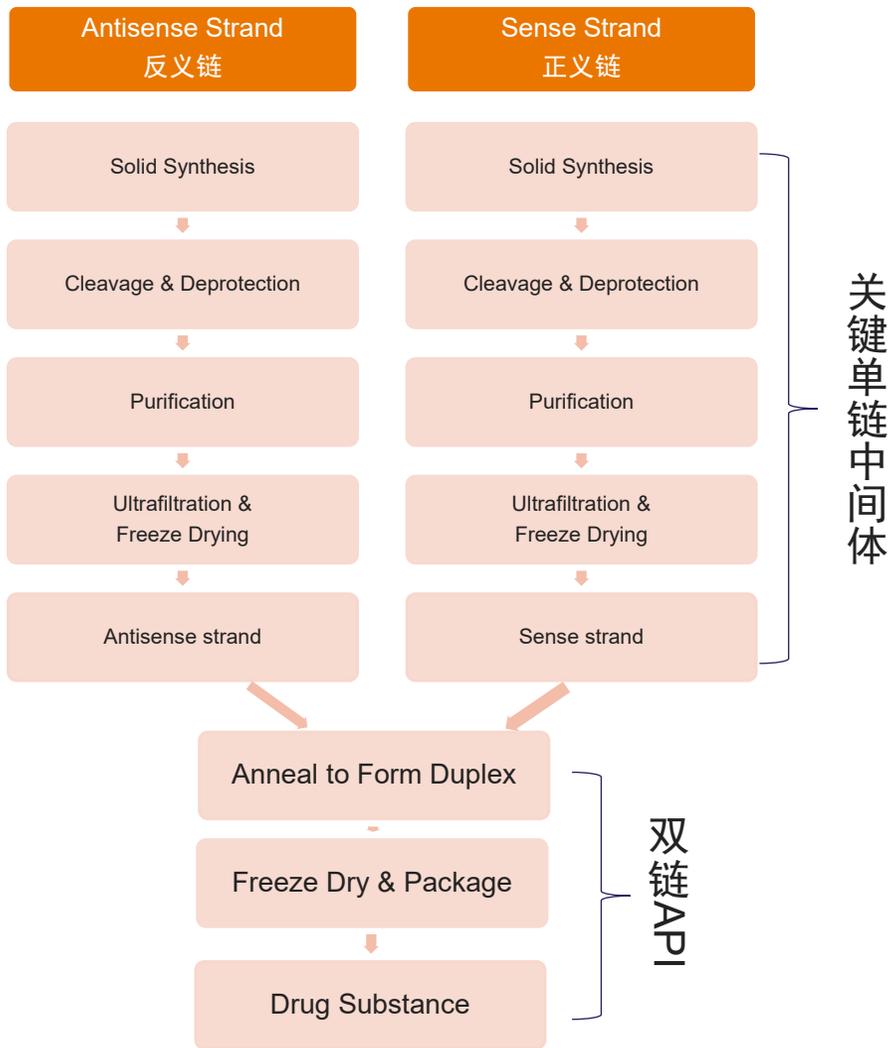
ADC毒素溶剂残留  
原料检测

## 重金属残留

ADC小分子重金属残留  
包材重金属

从研发到质控一站式解决方案

# 小核酸药物工艺流程和质控



## 原料药质量控制

序号	检项	方法
1	外观	参考药典
2	鉴别	液相色谱 RP/SEC
3	鉴别	质谱 MS
4	鉴别	解链温度 Tm
5	纯度	液相色谱 RP/SEC
6	含量	紫外/体积排阻色谱 SEC
7	杂质谱	液相色谱 AEX/RP-HPLC/MS
8	水分	卡尔费休
9	残留溶剂	气相色谱
10	pH值	pH计
11	钠离子含量	元素分析 TEA
12	重金属	电感耦合等离子体质谱 ICPMS
13	细菌内毒素	参考药典
14	微生物限度	参考药典

## 制剂质量控制

序号	检项	方法
1	外观	参考药典
2	鉴别	液相色谱 RP/SEC
3	鉴别	质谱 MS
4	纯度	液相色谱 AEX/RP/SEC
5	含量	紫外/体积排阻色谱 SEC
6	pH	pH计
7	渗透压	渗透压仪
8	重金属	电感耦合等离子体质谱 ICPMS
9	颗粒物	光阻法
10	细菌内毒素	参考药典
11	无菌	参考药典
12	装量差异	参考药典
13	剂量均匀性	参考药典
14	密封完整性	参考药典
15	机械注射器性能	

## Amvuttra (Vutrisiran) 2022 Alnylam siRNA

Visual
IPRP-HPLC UV
IPRP-HPLC MS
UV
Denaturing/Non-denaturing IPRP-HPLC UV
UV
Denaturing AX-HPLC UV
Karl Fisher
GC
Ph. Eur.
Frame AAS
ICP-MS
Ph. Eur.
Ph. Eur.

## Amvuttra (Vutrisiran) 2022 Alnylam

Visual/Visible Spectrophotometry
IPRP-HPLC UV
IPRP-HPLC MS
Denaturing/Non-denaturing IPRP-HPLC UV
Denaturing AX-HPLC UV
UV
Ph. Eur.
Ph. Eur.
<30% PDE
Ph. Eur.
Dye ingress
In-house

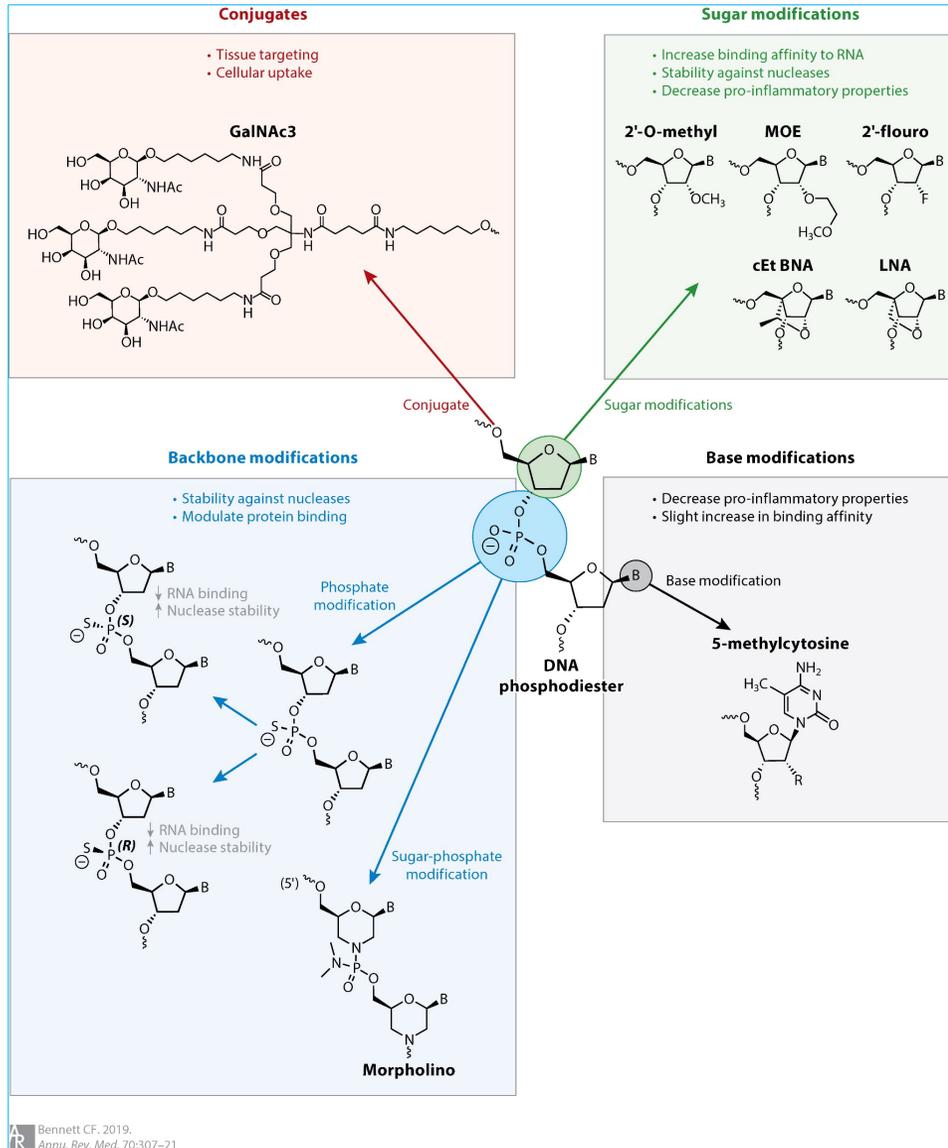
## Spinraza (Nusinersen) 2016 Biogen/Inoio ASO

Visual
IP-HPLC-UV-MS
IP-HPLC-UV-MS
IP-HPLC-MS/MS sequencing
IP-HPLC-UV-MS (Full length n)
IP-HPLC-UV-MS
IP-HPLC-UV-MS
Karl Fisher
GC
/
ICP-OES
ICP-MS
Ph. Eur.
Ph. Eur.

## Spinraza (Nusinersen) 2016 Biogen/Inoio

Ph. Eur.
IP-HPLC-UV-MS
IP-HPLC-UV-MS
IP-HPLC-UV-MS
IP-HPLC-UV-MS
Ph. Eur.
Ph. Eur.
Ph. Eur.
<30% PDE
Ph. Eur.
Ph. Eur.
Ph. Eur.
Ph. Eur.
/
High pressure leak detection
/

# 小核酸药物质量研究



## 小核酸药物杂质

- n-1, n-2, n+1
- 硫代磷酸中的氧代 (PO in PS)
- 不完全脱保护(DMT)
- 脱嘌呤/嘧啶
- 3',5' 突变为 2',5'磷酸酯

LC-MS: 定量

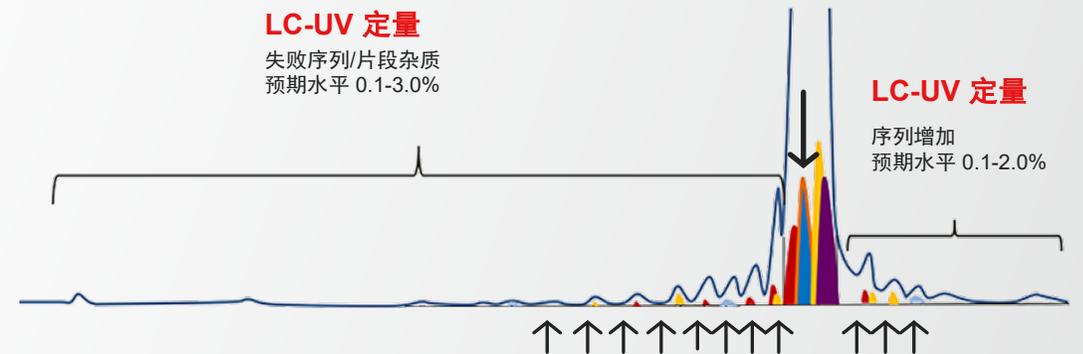
完整链及共洗脱杂质:  
单 PO, n, n-1, n+1, n+保护基  
预期水平: 0.5-4.0%

LC-UV 定量

失败序列/片段杂质  
预期水平 0.1-3.0%

LC-UV 定量

序列增加  
预期水平 0.1-2.0%



LC-MS: 序列鉴别鉴别和新杂质监控

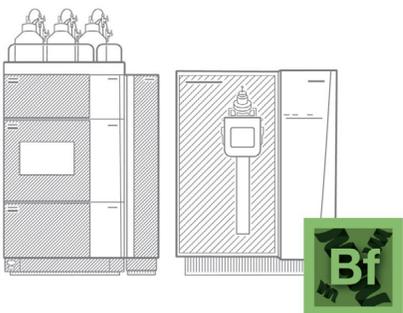
降解杂质<0.1%

# 小核酸药物结构及杂质表征

- 简化的序列创建、修饰编辑、mapping、杂质相对定量和结果可视化浏览的全流程

## BPF全新寡核苷酸 workflow

- Orbitrap Exploris 240
- Vanquish H
- DNAPac RP
- BPF 4.0
- Xcalibur 4.4



### 结构确证和 序列表征

- 高分辨率
- 同位素分离
- 精确分子量 (1ppm)
- 低加合物 (<2%)
- Mapping
- 修饰位点鉴定

### 杂质鉴定和 纯度分析

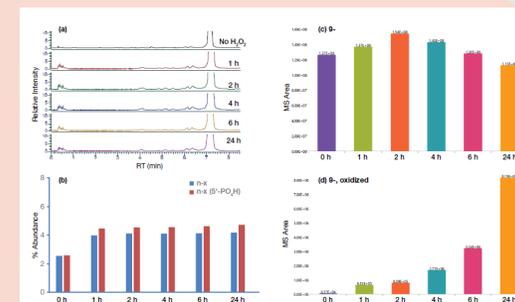
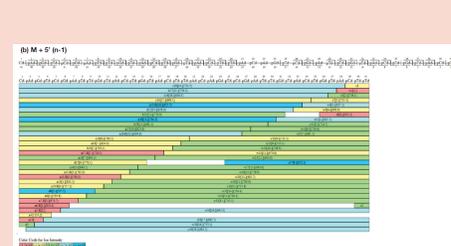
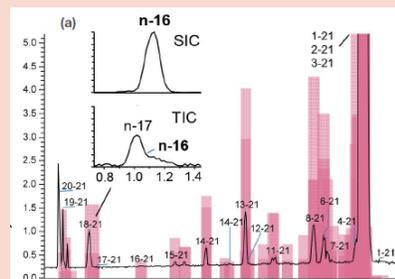
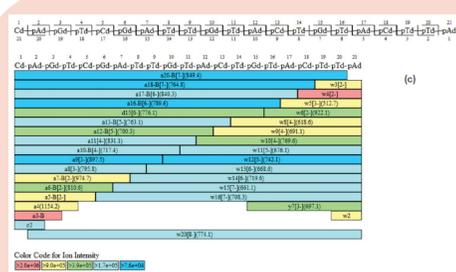
- 超低含量~0.015%，NL: 6.9E+4
- 完整片段覆盖
- 高含量、低含量杂质识别
- 高质量HRMA和ddMS2定性
- 相对含量分析 (% abundance)

### 高分子量 杂质鉴定

- M+(n-x)
- Intact Mass Analysis workflow
- 精确分子量 (<1ppm)
- 高分子量结构连接推断

### 强降解杂质 识别和趋势分析

- 氧化、高温强降解
- ddMS2 降解杂质鉴定
- 降解杂质丰度趋势对比



Identification and quantitation of oligonucleotides, impurities, and degradation products (AN 73870)

# mRNA工艺流程及检测

病毒/抗原鉴定



质粒DNA



mRNA原液



mRNA制剂



包装/流通



病毒/目标抗原	
毒株分离鉴定	基因分析、测序
病毒结构解析	冷冻电镜、HRMS
抗原理论序列	测序仪、MS
分子量	LC-MS
分子式	LC-MS
二硫键	LC-MS
修饰	LC-MS

DNA转录模板		
常规	外观	灯检法
	pH	pH计
鉴别	限制性内切酶	AGE
	测序	Sanger
	质粒模板PolyA尾	LC-MS
含量	浓度	UV
	A260/A280	UV
纯度	超螺旋质粒	HPLC/CE
	线性效率	HPLC
杂质	宿主DNA	qPCR
	宿主RNA	AGE/qPCR/HPLC
	宿主蛋白	ELISA/BCA
安全性	无菌	薄膜过滤法
	细菌内毒素	鲎试剂

mRNA原液		
常规	外观	灯检法
	pH	pH计
鉴别	测序	NGS/Sanger/RT-PCR//LC-MS
	序列长度	CE
	序列完整性	CE/测序
结构表征	高级结构	CD/DSC
	加帽率	LC-MS/HPLC
	加尾	LC-MS/HPLC/CE
	修饰比例	LC-MS/HPLC
含量	浓度	UV/LC
纯度	目标mRNA比例	CE/LC
杂质	产品相关杂质 (不完整mRNA, 双链RNA, 帽子杂质)	LC-MS/HPLC/CE
	残留蛋白酶	酶标仪
	DNA模板	qPCR
	有机溶剂	GC
	金属离子	ICP-MS
安全性	无菌	薄膜过滤法
	内毒素	鲎试剂

mRNA-LNP制剂		
鉴别	mRNA	NGS/Sanger
	递送系统组分	LC-MS/LC-CAD
含量	mRNA含量	UV/LC
	mRNA完整性	CE/测序
	mRNA纯度	CE/LC
	递送系统各组分含量	LC-CAD
理化特性	其他辅料 氯化钠、蔗糖、注射用水等	IC等
	纳米颗粒粒径 分散系数PDI	光散射法
	Zeta电位	Zeta电位分析仪
	pH值	pH计
	外观	灯检法
	装量差异	容量法
	可见异物	光散射法
	渗透压	冰点渗透压仪
	不溶性颗粒	光阻法
	残留水分	—
杂质	包封率	A260/荧光/1EX/SEC
	工艺杂质残留(乙醇)	GC
生物学活性	脂质组份氧化/降解	LC-MS/LC-CAD
	体内/体外	ELISA
安全性	内毒素	鲎试剂
	异常毒性	小鼠/豚鼠注射法
	无菌	薄膜过滤法

包材相容性	
成品	
原液	LC-MS, GC-MS, ICP-MS
制剂中间体	



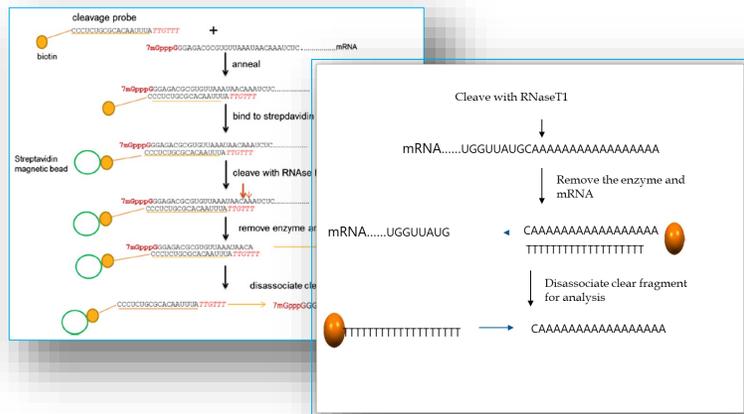
Analytical solutions for mRNA vaccines and therapeutics

- 新型冠状病毒预防用mRNA疫苗药学研究技术指导原则(试行)(CDE)
- 体内基因治疗产品药学研究与评价技术指导原则(试行)(CDE)
- 合成mRNA质量要求(中国产学研合作促进会, 团体标准)
- Analytical Procedures for mRNA Vaccine Quality, Draft Guidelines (USP)
- Evaluation of the quality, safety and efficacy of messenger RNA vaccines for the prevention of infectious diseases: regulatory considerations (WHO)

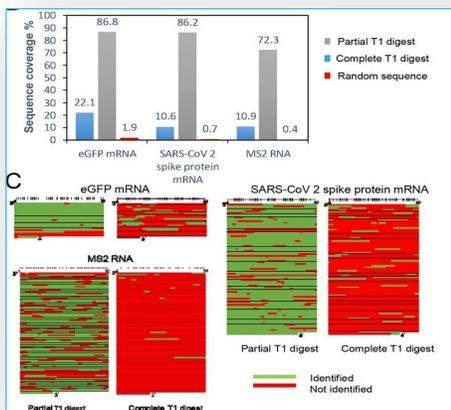
关键原辅料	
线性化DNA模板	
核苷酸、修饰核苷酸	
帽类似物	
酶(转录酶、加帽酶等)	LC LC-MS GC
脂质	IC TEA
缓冲液	
溶剂	
色谱柱树脂	

# mRNA 典型表征及质控

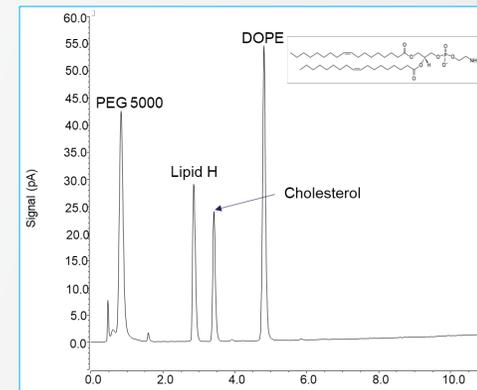
- 经典加帽、加尾表征及质控



- 受控的部分RNase消化
- 获得长RNA片段——提高鉴定、匹配



- 基于LC-CAD的脂质体鉴别及质控



- Label-free analysis of mRNA capping efficiency using RNase H probes and LC-MS (Novartis)
- Poly A tail length analysis of in vitro transcribed mRNA by LC-MS (Novartis)
- Vanquish Flex结合CAD检测器同时测定mRNA疫苗中5种脂质体 (AN 21050)
- Characterization of lipid nanoparticle (LNP) composition using UHPLC-CAD (AN 000465)
- Characterization and quantification of lipid nanoparticle components and their impurities degradants using an LC-HRAM MS platform (000464)
- Characterization and sequence mapping of large RNA and mRNA therapeutics using mass spectrometry (://doi.org/10.1101/2022.02.14.480356)

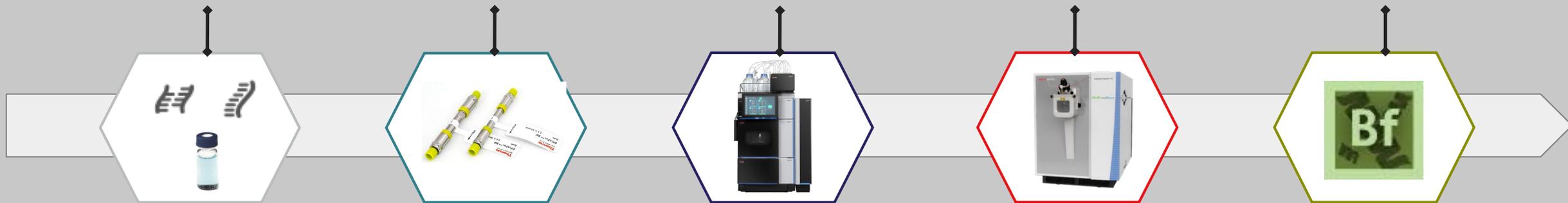
Digestion with Nuclease T1 immobilized on magnetic beads for mRNA sample

Thermo Scientific™ DNAPac™ RP UHPLC columns

Thermo Scientific™ Vanquish™ UHPLC System

Thermo Scientific™ Orbitrap Mass Spectrometer

Thermo Scientific™ BioPharma Finder™ 5.1 Software



# AAV基因治疗

- 腺相关病毒(AAV) 基因治疗产品更为产品复杂
- 除了包含预期基因物质的完整衣壳，最终产品可能包含很多不同类型的工艺和产品相关杂质

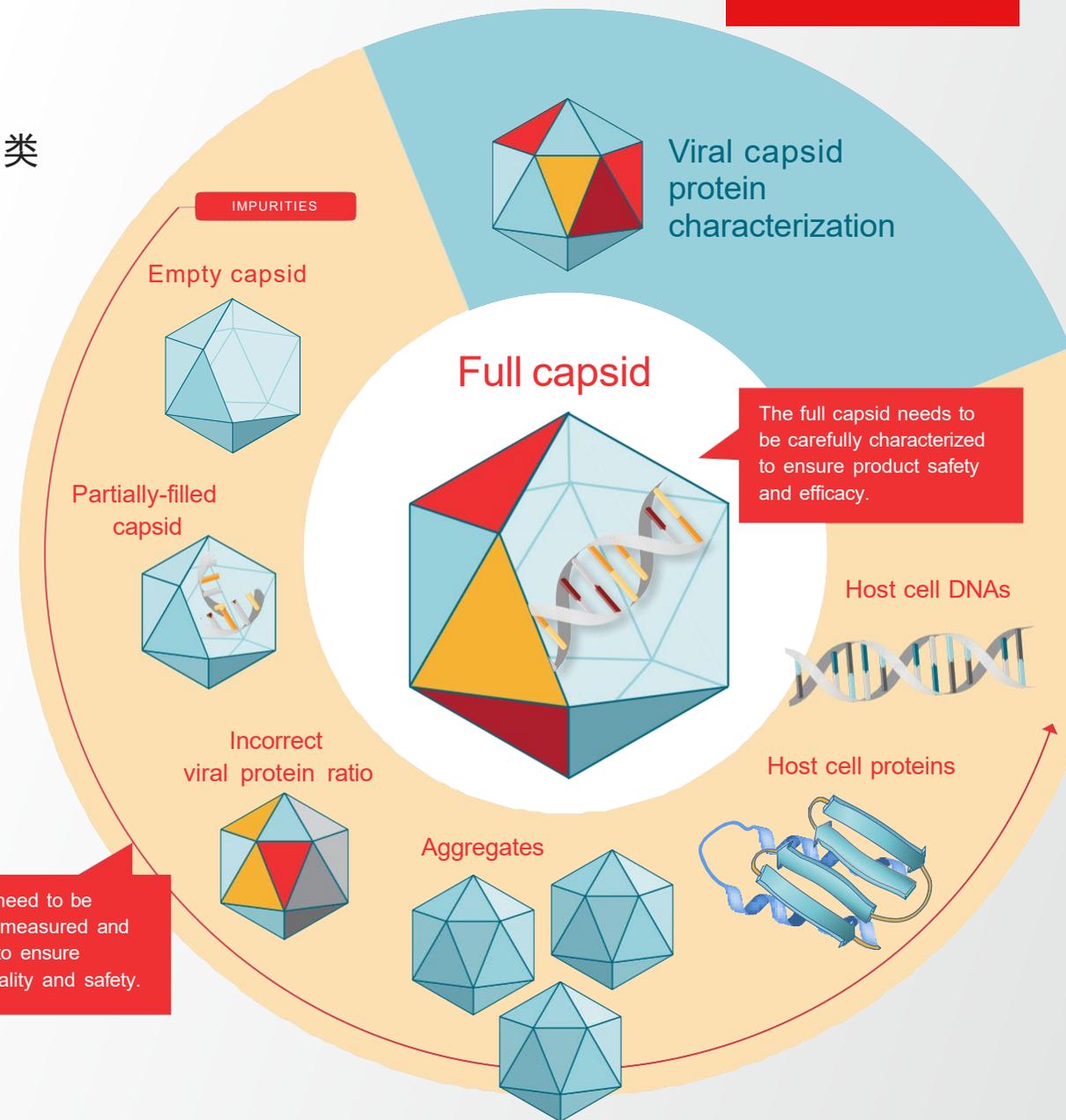
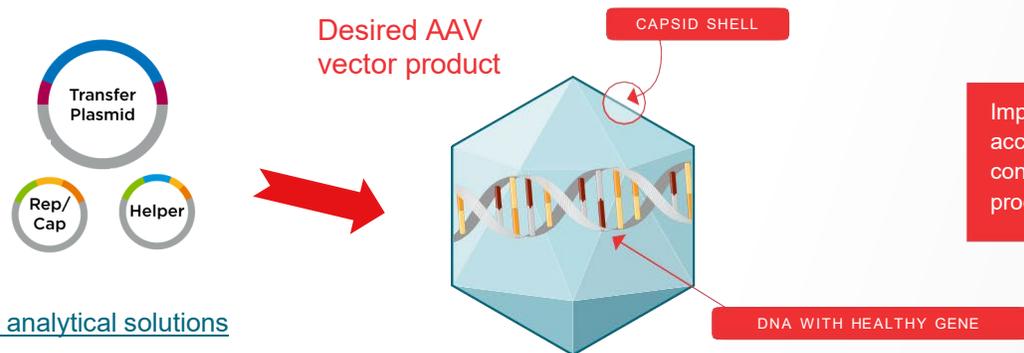
## 衣壳蛋白表征

- 完整质量分析 HRMS
- 衣壳蛋白组成 (VP1, VP2, VP3) RP-LC/MSMS
- 衣壳序列和翻译后修饰 HRMS

## 空/满衣壳分析 AEX-LC-UV/FLD、HRMS

## 杂质分析

- 宿主细胞蛋白 HRMS
- 滴度 SEC-FLD
- 质粒检测 HRMS、LC



**ThermoFisher**  
SCIENTIFIC

Our Mission is to enable  
our customers to make the world

**HEALTHIER,  
CLEANER AND  
SAFER.**

