

重组糖蛋白激素类产品药学研究与评价技术指导原则

国家药品监督管理局药品审评中心

2025 年 10 月

目录

一、前言	1
二、适用范围.....	2
三、一般原则.....	2
四、生产用原材料.....	3
(一) 上游构建和细胞库的建立	3
(二) 其他生产用原材料.....	5
五、生产工艺.....	6
(一) 原液	6
(二) 制剂	8
六、质量研究与质量标准	10
(一) 质量研究	10
(二) 质量标准	15
七、稳定性研究.....	16
八、包装材料和容器.....	17
九、参考文献.....	17

一、前言

糖蛋白激素（glycoprotein hormones, GPHs）是人体内一类重要的激素蛋白。本指导原则所述的糖蛋白激素产品结构基本相似，是由一条保守的 α 链和一条激素特异性的 β 链通过非共价作用形成的异源二聚体，包括促卵泡激素（follicle-stimulating hormone, FSH）、促黄体素（luteinizing hormone, LH）、绒毛膜促性腺激素（chorionic gonadotropin, CG）和促甲状腺激素（thyroid stimulating hormone, TSH）等。糖蛋白激素通过作用于细胞膜上特定的富含亮氨酸的重复 G 蛋白偶联受体（leucine-rich repeat G protein-coupled receptors, LGRs），激活下游信号通路，调控多种腺体分泌，对人体生长发育具有重要调节作用，在临床治疗、辅助生殖等多方面具有重要的应用价值。该类产品的糖基化修饰复杂，比活性高且唾液酸水平及糖型与生物学活性和代谢密切相关。

药审中心为进一步指导和规范重组糖蛋白激素类药物的研发和上市申请，制定本指导原则。该产品应符合《中华人民共和国药品管理法》、《中华人民共和国药品注册管理办法》、《中华人民共和国药典》等相关法律法规。本指导原则仅基于当前的科学认知，申请人在进行相关产品的研发时可参照本指导原则开展研究，必要时也可综合借鉴、参考国内外其他相关指导原则。随着科学技术的发展和监管知识经验的积累，本指导原则的相关内容将不断完善与更新。

二、适用范围

本指导原则适用于采用重组技术表达和制备的糖蛋白激素类药物，包括重组人促卵泡激素(rhFSH)、重组人促黄体素(rhLH)、重组人促甲状腺激素(rhTSH)、重组人绒毛膜促性腺激素(rhCG)以及重组人促卵泡激素 C-端肽(rhFSH-Carboxyl-terminal peptide, rhFSH-CTP)融合蛋白等。复方制剂、经其他修饰或改构设计的糖蛋白激素类产品以及天然原材料提取的糖蛋白激素类产品可酌情参考本指导原则的相关要求。

三、一般原则

重组糖蛋白激素类药物的生产工艺和质量控制应基于全面的质量风险评估，确定目标产品质量概况和相关的键质量属性，需重点关注 N-聚糖谱和唾液酸含量等与该类产品的生物学活性和药代动力学密切相关的质量属性以及解离亚基、氧化亚基等可能造成安全性风险的质量属性。应根据“质量源于设计”的理念充分开展工艺开发和表征研究，制定合理的生产工艺和质量控制策略，建立全过程质量控制和全生命周期管理体系，确保产品安全有效、质量可控。

对于按照生物类似药开发的重组糖蛋白激素类药物，药学研究还应符合生物类似药的相关要求。由于糖蛋白激素类药物结构复杂性和糖基化异质性特点，在进行相似性评价时，应保证可能影响生物学活性和药代动力学的主要糖基化种

类和唾液酸水平（含量和分布）相似。对于药学相似性评价中观察到的微小质量属性差异，应进一步结合非临床和临床研究评估是否对产品安全性、有效性、免疫原性和代谢产生影响。

四、生产用原材料

（一）上游构建和细胞库的建立

重组糖蛋白激素类药物的上游构建和细胞库应符合《中国药典》和 ICH 相关指导原则的相关要求。

糖蛋白激素类药物具有复杂的糖基化修饰和高水平的唾液酸含量，其糖基化修饰类型很大程度上取决于宿主细胞固有的糖基化能力（即宿主细胞内糖基转移酶的功能专属性和特异性），同时受细胞培养条件的影响。因此，上游构建和细胞培养工艺的开发过程中应重点关注可能影响糖基化修饰的方面，如宿主细胞的选择、工程细胞的筛选及细胞培养关键参数（如培养基、温度）的影响。

1. 宿主细胞

重组糖蛋白激素类产品通常采用哺乳动物表达系统进行表达，从而实现目的蛋白正确折叠及准确的翻译后修饰，获得与天然结构和功能接近的目的蛋白。目前商业化生产所应用的宿主细胞有中国仓鼠卵巢（CHO）细胞和人源细胞系。在糖蛋白激素类药物开发过程中需要关注种属来源不同导致的糖基化修饰类型及水平的差异及不同的药代动力学和

药效学特性。例如，CHO 细胞表达产物在结构中不存在 N-乙酰半乳糖胺及其硫酸化衍生物，仅含有 $\alpha 2, 3$ -连接的唾液酸，具有低水平的 N-羟乙酰神经氨酸 (NGNA)。人源细胞表达产物通常含有 $\alpha 2, 3$ -连接和 $\alpha 2, 6$ -连接的唾液酸，仅包含 N-乙酰神经氨酸 (NANA) 唾液酸结构，并且具有更高水平的四天线分支和唾液酸化程度。

用于构建生产用细胞系的宿主细胞，应具有清晰的细胞来源证明及传代操作驯化历史。如对宿主细胞进行了基因改造 (如糖基化路径改造)，应说明细胞引入、改造或敲除基因的理由和依据，评估改造过程对细胞正常生理功能、代谢过程、基因稳定性和表达产物的影响，关注改造过程可能引入的安全性风险。

2. 目的基因和表达载体

重组糖蛋白激素类药物的氨基酸序列通常与天然来源糖蛋白激素的氨基酸序列一致。rhFSH-CTP 在天然氨基酸序列上进行了改构，通过在 FSH 的 β 亚基 C 末端融合一段富含 O 糖的 hCG β 亚基 CTP 蛋白片段来延长体内循环半衰期。

应明确目的基因序列的来源，提供目的基因序列和氨基酸序列，说明是否与天然来源糖蛋白激素的氨基酸序列一致。如在天然序列基础上进行氨基酸位点突变、增加或改造序列及结构域等，应说明改造的目的和依据。应提供表达载体的构建过程、主要控制元件及其功能信息，对表达载体插入基

因进行酶切鉴定和测序确认。

3. 工程细胞的构建筛选

在工程细胞的筛选过程中，应重点关注不同单克隆细胞株之间表达产物的质量差异，如整体及各糖基化位点上糖型分布比例与等电点的差异。在开展相应充分研究基础上，应在申报资料中详细说明工程细胞的构建过程，并提供单克隆性相关证明。

4. 细胞库的建立及检定

为保证生产的可持续性和产品质量的稳定性，细胞库应在符合《药品生产质量管理规范》的条件下制备，检定合格后用于生产。细胞库的检定应符合《中国药典》和 ICH 指导原则的相关要求。细胞库的病毒安全性检测应以细胞系来源为基础进行广泛的检测，包括内外源病毒、种属特异性病毒和细胞库建立过程中可能从原材料中引入的病毒。

传代稳定性研究应模拟商业化实际生产条件开展，确保细胞能够持续稳定地生产具有预期质量的目标蛋白，并根据研究结果合理拟定细胞库的体外限传代次。

（二）其他生产用原材料

糖蛋白激素类产品的生产用原材料应符合《中国药典》的相关要求。原材料的选用应基于先验知识或平台经验，根据风险评估对生产用原材料使用的必要性、合理性和安全性进行分析，并在申报资料中提供原材料的来源、主要成分、

使用阶段、质量标准等信息，根据原材料对产品质量的影响进行分级管理，建立合理的控制策略，加强对供应商的管理和审计。生产过程中应尽量避免使用牛血清、猪胰蛋白酶等动物来源或人源的原材料。

五、生产工艺

（一）原液

重组糖蛋白激素类产品的工艺开发应以生产具有所需质量属性的糖蛋白激素为目标，遵循“质量源于设计”的理念，深入探索工艺参数与质量属性的关系，确定关键工艺参数和过程中控制，建立基于风险和科学的整体控制策略。

上游细胞培养工艺的培养基、培养条件和下游纯化工艺的层析介质选择等均会对糖蛋白激素的糖基化修饰类型和比例有较大影响，因此在工艺开发过程中应予以重点关注。此外，还需关注工艺条件对解离亚基、氧化亚基、聚体和片段等产品相关杂质水平的影响。

对于生产过程中潜在的工艺相关杂质，包括亲和配基残留、宿主蛋白残留、宿主 DNA 残留、工艺添加物等，应充分评估纯化工艺对相关杂质的去除能力，结合杂质安全性评估结果适当在工艺过程或放行检测中予以控制。

由于糖蛋白激素类产品对低 pH 的敏感性，纯化工艺中病毒清除步骤应考虑灭活 pH 的选择对产品结构稳定性的影响。若低 pH 病毒灭活工艺无法满足病毒灭活要求，可采用

其他适当的方式进行，以实现纯化工艺的整体病毒清除率。

考虑到氧化、温度变化等外部因素和微生物污染风险对中间产物质量的影响，糖蛋白激素类产品生产过程中的中间产物应尽可能避免长时间放置。对于需要暂存的中间产物，应规范开展中间产物暂存稳定性研究，以理化稳定性研究和微生物安全性考察中的较短时限确定最终保持时限。理化稳定性研究应包含对关键质量属性（如纯度和产品相关杂质）的考察。

重组糖蛋白激素类产品的工艺验证要求与治疗用重组蛋白类产品基本相同。原液的生产工艺应经过充分验证以证明具有可控性和稳健性。原液的工艺验证还应包括病毒灭活去除验证、产品相关杂质和工艺相关杂质的去除、中间产物暂存时间验证、培养基/缓冲液制备和放置条件验证、层析介质和过滤/超滤膜包的使用寿命验证等内容。

对于生产过程中使用的耗材（如一次性反应袋、层析介质、过滤组件）和储存容器，应结合材质、使用阶段等因素综合评估安全性风险，必要时开展相容性研究。如纯化工艺中使用了亲和层析填料，应评估亲和配基脱落风险及工艺去除能力，结合免疫原性和安全性风险确定是否需要将亲和配基残留量纳入原液放行质量标准。如亲和层析填料为自行生产，应提供其工艺、质量和稳定性研究资料，充分评估使用风险并制定合理的控制策略，重点关注自产亲和层析填料的

质量一致性、微生物安全性控制和亲和配基残留量的安全性评价，并提供支持性研究数据。

（二）制剂

1. 处方

重组糖蛋白激素类产品在一定的外部环境条件下（如高温、光照、氧化等），可能发生亚基解离、聚集和氧化，进而影响其生物学活性和安全性。制剂的处方通常包含表面活性剂、蛋白稳定剂、抗氧化剂、缓冲剂和 pH 调节剂等，制剂处方在维持蛋白稳定和抗氧化保护中发挥着重要作用。应根据处方筛选、稳定性研究和方便临床使用等因素综合考虑开发合适的剂型。虽然糖蛋白激素类产品的结构相似，但确保每种产品稳定性的最佳稳定剂和缓冲系统可能不同，因此需要针对特定目标产品进行筛选和验证。

辅料的使用应符合《中国药典》的相关规定。对于《中国药典》中未收载的辅料，可以参考其他国家药典或根据其 与制剂质量属性的关系建立相关标准，对辅料质量进行有效的控制。

对于复方制剂，需在结合临床实际应用的基础上，明确不同活性组分的比例设定的合理性。开展不同组分与辅料、两种或多种组分之间的相互作用研究，明确是否会对各组分的质量和稳定性产生影响。

对于多剂量产品中抑菌剂种类和含量的确定，应参照

《中国药典》规范开展研究，结合稳定性研究结果、多剂量使用时可能发生的污染和开启后推荐的最长使用时间来进行综合评估，在保证抑菌效力的前提下，降低抑菌剂使用量。原则上，应采用使制剂抑菌效力达到《中国药典》规定的 A 级标准的最低添加量。

2. 生产工艺

制剂生产工艺一般包括原液解冻、半成品配制、无菌过滤、灌装等，后续工艺步骤因其剂型差异而有所不同。生产过程中应尽量避免过量投料。如生产过程需过量投料，应说明过量投料的必要性和超出量的合理性，结合生产工艺、包装材料和容器的机械损失和吸附损失等开展过量投料的相关验证。如需对原液进行稀释或加入其他辅料制成半成品，应确定半成品的质量控制要求，纳入细菌内毒素、无菌检查、蛋白质含量等检项。

制剂的生产工艺应经过充分验证以证明具有可控性和稳健性。鉴于糖蛋白激素的比活性高且主药浓度低，为确保投料量准确性和质量一致性，需对原液解冻及混匀工艺、制剂配制工艺（辅料加料顺序、配液混合均匀性）、灌装均匀性、冻干均一性等进行验证，还应进行无菌工艺验证、过滤器的验证、冻干工艺验证（如适用）、运输确认、生产接触组件相容性研究和评估等。对于在生产线上组装成注射笔的产品，应进行注射笔组装工艺验证。

六、质量研究与质量标准

相比于一般的重组 DNA 技术药物，重组糖蛋白激素类药物的结构和糖基化修饰更加复杂。糖基化修饰对该类药物的体内受体结合、信号传导、代谢清除和发挥生物学活性起关键作用。申请人应充分评估重组糖蛋白激素产品的质量属性对临床安全性和有效性的潜在影响，确定关键质量属性，建立起全面的基于风险的质量控制策略，将理化分析方法与生物学活性分析方法充分结合起来，保证全生命周期质量可控。

（一）质量研究

应采用先进的分析技术手段进行全面的结构鉴定和特性分析，通常包含一级结构、高级结构、二硫键、糖基化修饰等。质量研究还包括鉴别、纯度和产品相关杂质（聚体和片段、氧化产物、解离亚基）、等电点、蛋白质含量、生物学活性等内容。如按新药开发，应与内源性糖蛋白激素和/或其他已上市同类产品进行结构特征和生物学活性相关对比研究，并评估差异可能对安全性、有效性和药代动力学产生的影响。

1. 一级结构

一级结构的研究通常包括完整分子量、脱糖分子量、氨基酸序列测定、肽指纹图谱、N 端/C 端序列和异质性分析、翻译后修饰。糖蛋白激素类药物的 α 亚基和 β 亚基存在一定比例的 N 端和 C 端不均一性，应分别对 α 亚基和 β 亚基的

N 端/C 端缺失比例进行研究，充分评估 N 端/C 端异质性和生物学活性和安全性的影响。翻译后修饰可能包括氧化、脱酰胺、天冬氨酸异构化、琥珀酰亚胺化、糖化等，翻译后修饰位点和比例应具有批间一致性。

2. 高级结构

高级结构的研究通常包括二级结构和三级结构。可用于高级结构研究的分析方法包括圆二色谱、差示扫描量热分析、荧光光谱等。

3. 二硫键

由于半胱氨酸在序列中分布较近及高糖基化水平结合的复杂性，该类药物的二硫键分析存在一定难度。应尽可能采用先进的技术手段对二硫键配对情况进行分析，必要时可采用其他方法作为补充，如提供缺乏游离巯基的证明或通过生物学活性证明其正确的折叠结构。

4. 糖基化修饰

糖蛋白激素类药物的 N-聚糖主要是复合型聚糖，一般具有两个、三个或四个糖基化分支。N-聚糖的复杂程度与核心甘露糖上 N-乙酰葡萄糖胺的分支数量、碳水化合物残基、是否具有岩藻糖基化修饰以及末端是否存在唾液酸化等因素相关。N-糖基化修饰的研究通常应包括 N 糖基化位点、N 糖结构分析、单糖组成分析、唾液酸含量和分布（Z 值）等。 α 亚基和 β 亚基的糖基化位点均可能存在未完全糖基化的现

象，而 β 亚基的不完全糖基化可能影响体内代谢和生物学活性，因此应对 β 亚基的 N-糖基化位点占有率进行分析，必要时纳入标准进行控制。糖蛋白激素类产品含多个糖基化位点且在每个糖基化位点具有显著的异质性，鼓励采用先进的技术对 α 和 β 亚基不同位点的具体糖基化修饰类型进行鉴定，并结合体内生物作用和功能进行分析。

部分糖蛋白激素类药物（如 rhCG 和 rhFSH-CTP）的 β 亚基羧基末端肽含有 4 - 6 个具有丰富唾液酸的 O 糖修饰，可增加唾液酸水平和蛋白质的负电荷，降低肾小球过滤并减少受体介导的内吞作用，从而通过延缓半衰期来提高体内生物活性。O-糖基化修饰鉴定通常包括 O 糖基化位点、糖基化位点占有率、O 糖结构分析、单糖组成分析等。由于缺乏有效的酶切手段以及固有的结构多样性，O 糖的系统性分析存在难度，鼓励尽可能使用先进的分析方法进行 O 糖修饰的相关研究。

5. 纯度和产品相关杂质

糖蛋白激素类药物的 α 亚基和 β 亚基通过非共价键结合，在一定的外部环境条件下（高温、光照、反复冻融、振动、氧化、酸碱等）可能发生解离、氧化和聚集，形成解离亚基、氧化亚基、聚集体等产品相关杂质。应采用富集、分离的样品（如强制降解样品等）进行产品相关杂质的表征和生物学活性研究，评估对临床安全性和有效性的影响。

纯度检查是质量研究的重要指标之一，通常选用两种或两种以上不同原理的方法进行测定。

聚集体和解离亚基:聚集体可能导致免疫原性升高， α 亚基和 β 亚基解离会造成生物学活性降低并可能产生其他非预期的生物学功能。因此，聚集体和解离亚基含量是质量研究和稳定性评价的重要指标。聚集体和解离亚基分析方法（例如 SEC-HPLC、还原/非还原 CE-SDS）的选择应综合分析方法的灵敏度及成品辅料干扰情况确定。

氧化亚基:糖蛋白激素类产品的 α 亚基和 β 亚基氨基酸序列中的甲硫氨酸在细胞培养、纯化工艺过程中易于被氧化，而且无法通过纯化工艺完全去除。制剂的生产和储存过程也可能发生氧化。氧化产物是一种非常重要的产品相关杂质，对免疫原性及生物学活性存在潜在影响。可采用 RP-HPLC 等分析方法对单独氧化亚基和/或总氧化亚基含量进行检测。

6. 蛋白质含量

根据糖蛋白激素类产品的性质，蛋白质含量可选用高效液相色谱法、紫外-可见分光光度法、凯氏定氮法等方法进行测定，三种方法均适用于原液含量测定。因成品蛋白浓度低和辅料干扰，从方法专属性和适用性的角度推荐使用高效液相色谱法。随着技术的发展，也可以采用其他适用的分析方法。

7. 等电点和电荷异质性

糖蛋白激素的电荷异质性受其唾液酸修饰的影响呈现出多条带分布，可以通过等电聚焦电泳（IEF）、毛细管等电聚焦电泳（cIEF）、全柱成像毛细管等电聚焦电泳（icIEF）或毛细管区带电泳（CZE）对图谱和主要条带进行控制。基于分析方法的迭代更新，现阶段鼓励采用 cIEF/icIEF/CZE 替代 IEF 进行电荷异质性的鉴定和控制。

8. 生物学活性

糖蛋白激素类药物生物学活性的测定方法包括体内动物试验和体外细胞试验。分析方法的选择应根据《中国药典》要求、药物作用机制、体内药效学特点和方法学验证结果等综合考虑。由于糖基化修饰对该类药物发挥体内生物活性至关重要，因此还应在原液质量标准中采用其他分析方法对 N-聚糖谱和电荷异质性进行控制，建立全面的质量控制策略。

当采用体外细胞法代替体内动物法进行活性检测时，应规范进行变更前后分析方法桥接研究，采用不同的产品变体（去唾液酸化变体、强制降解样品、不同唾液酸化水平的变体等）进行体内外活性检测的对比研究并对结果进行分析。应开展相关研究并提供支持性数据，以证明体外活性分析方法能够准确可靠地分析识别出可能影响安全性和有效性的潜在质量属性变化，包括生产工艺变异性导致的质量波动（如唾液酸含量和分布）和加速/强制降解稳定性研究中可能出现的质量异常情况（如聚集、降解、氧化等）。

（二）质量标准

糖蛋白激素类产品的质量标准应建立在充分质量研究的基础上，结合《中国药典》要求、药物的特点、质量属性的风险评估结果和工艺控制能力等因素综合制定。

原液的质量标准在外观、鉴别、等电点、蛋白质含量、生物学活性、工艺相关杂质、安全性检查等重组蛋白类产品常规检项的基础上，还应纳入糖基化修饰相关检项（如唾液酸含量、N-聚糖谱、Z值）、 β 亚基N端缺失比、纯度和产品特异的产品相关杂质（单独氧化亚基和/或总氧化亚基、解离亚基、聚集体等）。

制剂质量标准根据制剂剂型和处方的不同，还应纳入pH值、渗透压摩尔浓度、不溶性微粒、可见异物、装量差异、水分、复溶时间、关键辅料含量等检项。对于预填充注射笔包装的注射剂，应在质量标准中对剂量准确度进行控制。对于复方制剂，应建立分析方法检测制剂中每个活性成分的含量和生物学活性，并尽可能确保复方制剂中的产品相关杂质（如解离亚基、聚集体、氧化亚基）被有效的分离和检测，确认没有对安全性和有效性产生不良影响的新杂质出现。

用于质量控制的分析方法应满足检测要求并经过全面的方法学验证/确认。应根据临床应用经验、生产工艺能力、分析方法变异性及稳定性研究等合理拟定原液和制剂的质量标准可接受范围，并充分说明质量标准制定的依据。

为确保检测结果的可靠性和准确性，应规范建立理化和活性标准品用于鉴别、理化和生物学活性测定，并完成检验、标定和稳定性研究。对于已有国际/国家标准品的品种，企业工作标准品必须经国际/国家标准品标定后方可使用。

七、稳定性研究

应参照已颁布的稳定性研究的相关指导原则，采用代表性批次规范开展原液和制剂的稳定性研究。稳定性研究一般包括影响因素/强制降解稳定性、加速稳定性和长期稳定性研究，稳定性研究结果应可以支持原液和制剂有效期及保存条件的制定。此外，还应开展运输稳定性研究，根据研究情况制定原液和制剂的运输条件（包括运输路线、交通工具、时间、温度条件等）。

对于临床使用前需要复溶、稀释或混合的制剂，应规范开展使用中稳定性研究，对配制后的理化特性和微生物安全性（细菌内毒素、无菌）进行考察，确保临床配制过程未对质量产生不良影响等。

多剂量产品应开展有效期末使用中稳定性研究，证明产品在实际多次使用过程中的质量一致性。在设计模拟使用稳定性研究方案时，应采用临床实际的最差使用条件开展研究。多剂量产品中一般含有抑菌剂，为验证产品在长期储存和模拟使用条件下防止微生物污染的有效性，应在长期稳定性研究的关键时间点和模拟使用条件下，参照《中国药典》开展

抑菌效力检查。

八、包装材料和容器

为避免直接接触的包装材料和容器对产品质量产生非预期影响，应规范开展包装系统相容性研究和密闭完整性研究。重组糖蛋白激素类药物通常对硅油敏感，易发生亚基解离进而影响产品质量。对于使用硅油进行硅化处理的预填充包装制剂，应关注硅油来源及质量控制，结合临床使用充分评估硅油对质量和安全性的影响。

产品所使用的多次给药装置应满足给药的安全性和便利性要求。申请人应评估注射笔和笔芯（卡式瓶）的适配性，并开展相应的剂量准确度和注射笔功能性研究。

九、参考文献

1. 国家药典委. 《中华人民共和国药典》（2025 版）
2. 国家食品药品监督管理局. 生物制品质量控制分析方法验证技术一般原则（2007）
3. 国家食品药品监督管理局. 生物类似药研发与评价技术指导原则（试行）（2015）
4. 国家食品药品监督管理局. 生物制品稳定性研究技术指导原则（试行）（2015）
5. 国家药品监督管理局. 生物类似药相似性评价和适应症外推技术指导原则（2021）
6. 国家药品监督管理局. 生物类似药药学相似性研究的

问题与解答（2025）

7. ICH Q8. Pharmaceutical Development（2009）
8. ICH Q9. Quality Risk Management（2005）
9. ICH Q12. Technical and regulatory considerations for pharmaceutical product lifecycle management（2019）