ISSN 2674-8584

Received: 29/09/2026 - **Accepted:** 27/10/2026
Vol: 08.10
DOI: 10.66104/7rgz3791
Pages: 1-22

CULTIVO DE CÉLULAS CHO E DA LEVEDURA *Komagataella phaffii* NA PRODUÇÃO DE BIOTERAPÊUTICOS: REVISÃO INTEGRATIVA

CULTIVATION STRATEGIES FOR BIOTHERAPEUTIC PRODUCTION USING CHO CELLS AND THE YEAST *Komagataella phaffii*: AN INTEGRATIVE REVIEW

ESTRATEGIAS DE CULTIVO DE CÉLULAS CHO Y DE LA LEVADURA *Komagataella phaffii* PARA LA PRODUCCIÓN DE BIOTERAPÉUTICOS: REVISIÓN INTEGRATIVA

Rubens Barbosa Rezende

Pós-graduado em Biotecnologia, Universidade Federal de São Paulo, Brasil

E-mail: rubensrezende420@gmail.com

Resumo

Introdução: Células de ovário de hamster chinês (CHO) e *Komagataella phaffii* são hospedeiros relevantes para proteínas recombinantes, mas diferem quanto à fisiologia e à qualidade molecular do produto. **Objetivo:** Analisar estratégias de cultivo e engenharia para produção de bioterapêuticos, confrontando produtividade, atributos de qualidade e escalabilidade. **Metodologia:** Revisão integrativa crítica de publicações de 2017 a julho de 2026, identificadas em PubMed/MEDLINE, editoras e referências de estudos centrais. Oito estudos primários da síntese original foram complementados por três estudos experimentais verificados, totalizando 11, sem metanálise. **Resultados:** Em CHO, formulações de meios, alimentação, perfusão e modelagem produziram respostas dependentes da linhagem e do processo. Estudos particulares relataram 16,79 g/L em 200 L e aumento de título de até 48% com condições sugeridas por rede neural. Estudos adicionais documentaram produtividade específica de até 55 pg/célula/dia sob perfusão controlada pela biomassa e 0,65 g/L/dia em perfusão contínua. Em *K. phaffii*, a engenharia de secreção favoreceu anticorpos recombinantes, mas persistiram diferenças entre IgG completa e fragmentos Fab; modificações discretas de sequência reduziram variantes de produtos aglicosilados. **Discussão:** Heterogeneidade de moléculas, escalas e métricas inviabilizou comparar diretamente os hospedeiros. **Conclusão:** A seleção da plataforma exige avaliação conjunta de produtividade, qualidade, robustez, escalabilidade e custo, e não apenas do título final.

Palavras-chave: Bioprodução de anticorpos; Intensificação de bioprocessos; Células CHO; *Komagataella phaffii*; Perfusão.

Abstract

Background: Chinese hamster ovary (CHO) cells and *Komagataella phaffii* are relevant recombinant-protein hosts but differ in physiology and product quality. Objective: To examine cultivation and engineering strategies for biotherapeutic production, focusing on productivity, quality attributes, and scalability. **Methods:** A critical integrative review of publications dated 2017 to July 2026 was performed using PubMed/MEDLINE, publisher websites, and references of key studies. The eight primary studies in the original synthesis were supplemented with three verified experimental studies, totaling 11, without

CC BY

ISSN 2674-8584

Received: 29/09/2026 - **Accepted:** 27/10/2026
Vol: 08.10
DOI: 10.66104/7rgz3791
Pages: 1-22

meta-analysis. **Results:** In CHO, media formulation, feeding, perfusion, and computational modeling produced cell line- and process-dependent responses. Individual studies reported 16.79 g/L at 200 L and a titer increase of up to 48% under neural-network-recommended conditions. Additional studies reported a cell-specific productivity of up to 55 pg/cell/day under biomass-controlled perfusion and 0.65 g/L/day in continuous perfusion. In *K. phaffii*, secretion engineering facilitated recombinant antibodies, but substantial differences remained between full-length IgG and Fab fragments; minor sequence modifications reduced product-related variants in aglycosylated antibodies. **Discussion:** Differences in products, scales, and outcome definitions prevented direct host-to-host comparisons. **Conclusion:** Platform selection should integrate productivity, critical quality attributes, robustness, scalability, and cost, rather than final titer alone.
Keywords: Antibody biomanufacturing; Bioprocess intensification; CHO cells; *Komagataella phaffii*; Perfusion.

Resumen

Introducción: Las células de ovario de hámster chino (CHO) y *Komagataella phaffii* son plataformas relevantes para proteínas recombinantes, aunque difieren en fisiología y calidad molecular del producto. **Objetivo:** Examinar estrategias de cultivo e ingeniería para la producción de bioterapéuticos, considerando productividad, atributos de calidad y escalabilidad. **Metodología:** Revisión integrativa crítica de publicaciones de 2017 a julio de 2026, identificadas en PubMed/MEDLINE, editoriales y referencias de estudios clave. Los ocho estudios primarios de la síntesis original se complementaron con tres estudios experimentales verificados, para un total de 11, sin metaanálisis. **Resultados:** En CHO, los medios de cultivo, la alimentación, la perfusión y los modelos computacionales mostraron respuestas dependientes de la línea celular y del proceso. Estudios particulares comunicaron 16,79 g/L a escala de 200 L y un incremento del título de hasta el 48 % bajo condiciones recomendadas por una red neuronal. Otros estudios notificaron hasta 55 pg/célula/día en perfusión controlada por biomasa y 0,65 g/L/día en perfusión continua. En *K. phaffii*, la ingeniería de secreción favoreció la producción de anticuerpos, aunque persistieron diferencias entre IgG completa y fragmentos Fab; pequeñas modificaciones de secuencia redujeron variantes de anticuerpos aglicosilados. Discusión: Las diferencias de moléculas, escalas e indicadores impidieron comparar directamente los hospedadores. **Conclusión:** La elección de la plataforma debe integrar productividad, atributos críticos de calidad, robustez, escalabilidad y costes, no solo el título final.
Palabras clave: Bioproducción de anticuerpos; Intensificación de bioprocesos; Células CHO; *Komagataella phaffii*; Perfusión.

CC BY

RSV
ISSN 2674-8584

Received: 29/09/2026 - **Accepted:** 27/10/2026
Vol: 08.10
DOI: 10.66104/7rgz3791
Pages: 1-22

1. Introdução

As proteínas terapêuticas recombinantes e os anticorpos monoclonais ocupam posição central no desenvolvimento de biofármacos. A etapa de cultivo e produção (*upstream processing*) não pode ser aprimorada com base em uma única variável: o aumento da concentração do produto somente representa uma melhoria quando a integridade molecular, a atividade biológica e a consistência entre lotes permanecem adequadas. As células de ovário de hamster chinês (CHO) constituem uma plataforma consolidada para a produção de glicoproteínas complexas, em razão de seu histórico regulatório e de sua capacidade de promover enovelamento proteico e modificações pós-traducionais características de células de mamíferos (Lalonde; Durocher, 2017; Ha *et al*., 2022). O cultivo descontínuo alimentado (*fed-batch*) é amplamente utilizado por sua relativa simplicidade operacional e pela possibilidade de atingir títulos elevados; entretanto, o esgotamento de nutrientes, o acúmulo de metabólitos, as variações de osmolalidade e a duração do cultivo podem estabelecer compromissos entre produtividade e qualidade (Xu *et al*., 2023).

A levedura *Komagataella phaffii*, ainda frequentemente referida por sua denominação anterior, *Pichia pastoris*, apresenta crescimento rápido, possibilidade de cultivo em alta densidade celular, utilização de meios relativamente econômicos e capacidade de secreção de diversas proteínas recombinantes. Suas ferramentas de expressão abrangem promotores induzíveis e constitutivos, engenharia de linhagens e estratégias de processo ajustáveis à molécula de interesse (Yang; Zhang, 2018; Karbalaei *et al*., 2020). Essas vantagens, contudo, não eliminam dificuldades relacionadas ao enovelamento, à montagem de cadeias, à proteólise e à glicosilação distinta daquela observada em proteínas humanas. Assim, uma intervenção eficaz para um fragmento de anticorpo pode não ser suficiente para a produção de uma imunoglobulina completa.

A justificativa desta revisão reside na necessidade de evitar decisões de desenvolvimento baseadas exclusivamente em títulos de anticorpos publicados em estudos não equivalentes. Em particular, títulos obtidos em perfusão contínua não são intercambiáveis com produtividade específica de células viáveis; tampouco uma

CC BY

RSV
ISSN 2674-8584

Received: 29/09/2026 - **Accepted:** 27/10/2026
Vol: 08.10
DOI: 10.66104/7rgz3791
Pages: 1-22

IgG completa pode ser equiparada a um fragmento Fab sem considerar enovelamento, montagem, integridade molecular e função biológica. A avaliação conjunta desses aspectos pode orientar projetos de bioprocessos, a seleção de hospedeiros e a identificação de lacunas para pesquisas futuras (Ha *et al*., 2022; Yang *et al*., 2025).

A investigação foi conduzida como revisão integrativa crítica, com síntese qualitativa de estudos experimentais e de modelagem, complementada por literatura contextual. O recorte bibliográfico compreendeu de janeiro de 2017 a julho de 2026, com consulta a registros indexados, textos de editoras e referências de estudos centrais; os critérios de seleção e as limitações do levantamento são explicitados na seção 2.1. Não foram executados experimentos próprios nem metanálise.

1.1 Objetivos Gerais

Analisar criticamente estratégias de aprimoramento do cultivo de células CHO e da levedura *Komagataella phaffii* para produção de bioterapêuticos, confrontando seus resultados quanto à produtividade e à qualidade do produto. Como objetivos específicos, buscou-se: (i) descrever intervenções em meio, alimentação, hospedeiro e regime de cultivo; (ii) distinguir resultados de títulos, produtividade celular e validação de modelos; (iii) discutir requisitos de atributos críticos de qualidade e de ampliação de escala; e (iv) identificar limites de comparabilidade e prioridades para pesquisas posteriores.

2. Revisão da Literatura

2.1 Percurso metodológico, critérios de seleção e limites da revisão

A questão orientadora foi: quais intervenções relativas à linhagem, ao meio e à alimentação, ao regime de cultivo e à modelagem apresentam resultados documentados de produtividade ou qualidade de bioterapêuticos produzidos por CHO e *Komagataella phaffii*? Foram utilizadas combinações de “CHO” ou “Chinese hamster ovary” com “fed-batch”, “perfusion”, “medium”, “feed”, “machine learning”, “antibody” e “therapeutic protein”; para a levedura, combinaram-se “*Pichia pastoris*”

CC BY

RSV
ISSN 2674-8584

Received: 29/09/2026 - **Accepted:** 27/10/2026
Vol: 08.10
DOI: 10.66104/7rgz3791
Pages: 1-22

ou “*Komagataella phaffii*” com “antibody”, “therapeutic protein”, “secretion”, “strain engineering” e “medium”.

Foram priorizados estudos revisados por pares com intervenção definida e desfecho mensurável de cultivo, produtividade ou qualidade, bem como estudos computacionais sustentados por dados experimentais. Revisões de literatura foram usadas apenas para contextualização. Estudos exclusivamente sobre enzimas industriais não terapêuticas, vacinas ou hospedeiros não examinados não compuseram a síntese direta. A síntese inicial reuniu oito estudos primários e uma busca complementar dirigida acrescentou três trabalhos experimentais publicados dentro do mesmo recorte temporal, localizados e conferidos em registros indexados ou textos de editoras: Leong *et al*. (2024), Ott *et al*. (2025) e Yang *et al*. (2025).

Os dados foram organizados por hospedeiro, produto, intervenção, escala, indicador de desempenho e limitação de interpretação. Não se calculou tamanho de efeito combinado nem se realizou comparação estatística entre plataformas, porque as medidas não são homogêneas. O levantamento foi dirigido e não documentou contagens totais de resultados, duplicatas ou exclusões, tampouco avaliação formal de risco de viés ou protocolo registrado. Dessa forma, o conjunto apresentado não é um censo da literatura: a contribuição é uma confrontação técnica e qualitativa de resultados verificáveis.

2.2 Fundamentos da produção recombinante em CHO e *K. phaffii*

As células CHO são empregadas em bioterapêuticos complexos por sua capacidade de enovelamento e glicosilação de tipo mamífero e pelo histórico de manufatura e controle regulatório. Entretanto, linhagens produtoras diferentes podem apresentar necessidades distintas de nutrientes e sensibilidade ao acúmulo de lactato e amônio, à osmolalidade e ao oxigênio dissolvido. Os atributos críticos de qualidade, incluindo glicosilação, variantes de carga, agregados e atividade biológica, não podem ser inferidos de um título elevado isoladamente (Lalonde; Durocher, 2017; Ha *et al*., 2022; Xu *et al*., 2023).

CC BY

RSV
ISSN 2674-8584

Received: 29/09/2026 - **Accepted:** 27/10/2026
Vol: 08.10
DOI: 10.66104/7rgz3791
Pages: 1-22

A levedura *K. phaffii* reúne elevada capacidade de cultivo em biomassa densa e ferramentas genéticas para expressão heteróloga, mas sua maquinaria de processamento e seus perfis nativos de glicanos diferem dos de células de mamíferos. Para anticorpos, a produção depende da expressão coordenada de cadeias, da formação correta de pontes dissulfeto, do processamento de peptídeos sinal e do transporte secretório; por isso, o potencial produtivo precisa ser avaliado para cada arquitetura molecular (Yang; Zhang, 2018; Karbalaei *et al*., 2020; Yang *et al*., 2025).

Fed-batch, perfusão e cultivo de alta densidade solucionam restrições distintas. Em *fed-batch*, a composição e a concentração dos alimentos podem manter a viabilidade, mas também alterar osmolalidade e subprodutos metabólicos. Em perfusão, a renovação de meio e a retenção celular permitem prolongar a fase produtiva, à custa de maior complexidade de transferência de massa, operação do dispositivo de retenção e consumo de insumos. A comparação entre regimes demanda indicadores normalizados pela duração, volume de reator, biomassa e consumo de meio (Xu *et al*., 2023; Leong *et al*., 2024).

2.3 Síntese dos resultados experimentais e computacionais

O Quadro 1 sintetiza as intervenções e os achados dos 11 estudos primários selecionados para confronto. Os resultados quantitativos foram mantidos nas unidades relatadas pelas fontes, sem tratá-los como medidas equivalentes de desempenho ou como estimativas de um mesmo efeito.

Quadro 1. Intervenções e resultados relatados nos 11 estudos primários.

Estudo / hospedeiro	Intervenção	Resultado específico reportado
Liang *et al*. (2023) | CHO	Perfusão contínua; anti-PD-1; 3 e 200 L	16,19 g/L em 3 L e 16,79 g/L em 200 L; monômeros: 97,6%.

CC BY

RSV
ISSN 2674-8584

Received: 29/09/2026 - **Accepted:** 27/10/2026
Vol: 08.10
DOI: 10.66104/7rgz3791
Pages: 1-22

Estudo / hospedeiro	Intervenção	Resultado específico reportado
Pinto *et al*. (2023) | CHO-K1	Modelo híbrido profundo; 24 cultivos *fed-batch*	Reduções de erro de treino/teste: 14,0%/23,6%; treino 31,6% mais longo.
Leong *et al*. (2024) | CHO	Perfusão controlada por taxa específica de biomassa (BSPR)	Até 55 pg/célula/dia em baixa BSPR; viabilidade/densidade menores nesse regime.
Gyorgypal *et al*. (2025) | CHO-K1	14 meios basais e sete alimentos; trastuzumabe	Diferenças em viabilidade, metabólitos, título e N-glicosilação.
Saeki *et al*. (2025) | CHO-MK	Meio definido; *fed-batch* de sete dias	12,6 g/L em 2 L (1,80 g/L/dia); 5,1–10,8 g/L em seis linhagens *ambr15*.
Ott *et al*. (2025) | CHO	Perfusão N-1 e produção contínua; sistema Ambr 250	Mais de 150 × 10^6 células/mL em N-1; 0,65 g/L/dia durante 23 dias.
Richter *et al*. (2025) | CHO	Rede neural e confirmação experimental	Aumento do título final de anticorpo em até 48%.
Lemire *et al*. (2026) | CHO	Alimentação, mistura e escala de 1–10 L	Regime de menor volume: título 33% maior; desempenho comparável em 1 e 10 L.
Tir *et al*. (2022) | *K. phaffii*	Engenharia de secreção; trastuzumabe e IgG-pAzF	Até 238 mg/L de IgG e 15 mg/L de IgG-pAzF em biorreator.
Das *et al*. (2025) | *K. phaffii*	Composição de meio, superfície de resposta, rede neural e algoritmo genético	Em 2 L: 0,44 mg/L de IgG completa e 0,45 g/L de Fab.
Yang *et al*. (2025) | *K. phaffii*	Alterações conservadoras de 2–3 aminoácidos em IgG aglicosilada	Redução de variantes em seis IgG comerciais; NIST mAb com perfis biofísicos comparáveis aos de CHO.

Fonte: elaboração própria a partir dos estudos citados no quadro. Nota: títulos, produtividade específica, erros de modelo e medidas de qualidade representam desfechos distintos; não configuram comparação pareada.

2.4 Meios, alimentação, linhagens e atributos de qualidade em CHO

Gyorgypal *et al*. (2025) avaliaram 14 meios basais e sete formulações de alimentação em células CHO-K1 produtoras de um biossimilar de trastuzumabe. Foram relatadas alterações na densidade de células viáveis, na viabilidade, no consumo de nutrientes, no acúmulo de metabólitos, no título do anticorpo e no perfil de N-glicosilação entre as combinações de meio e alimentação.

Saeki *et al*. (2025) combinaram células CHO-MK de alta capacidade proliferativa com meios quimicamente definidos. Uma linhagem modelo apresentou concentração de 12,6 g/L em sete dias, em biorreator de 2 L, equivalente à produtividade espaço-temporal de 1,80 g/L/dia. Em cultivos *ambr15*, seis linhagens produtoras de anticorpos monoclonais atingiram títulos entre 5,1 e 10,8 g/L.

CC BY

RSV
ISSN 2674-8584

Received: 29/09/2026 - **Accepted:** 27/10/2026
Vol: 08.10
DOI: 10.66104/7rgz3791
Pages: 1-22

Em cultivo de CHO com expressão induzível por cumato, Lemire *et al*. (2026) relataram que um regime de alimentação de menor volume limitou o aumento da osmolalidade, prolongou a viabilidade e elevou o título volumétrico em 33% em relação ao regime de maior volume. Foi relatada vazão de ar de 0,0031 vvm, e a ampliação de 1 L para 10 L, com manutenção dos critérios operacionais de P/V e vazão volumétrica de gás, apresentou desempenho de crescimento e produtividade comparável.

O cultivo *fed-batch* prolonga a fase produtiva mediante adição de nutrientes em resposta às necessidades celulares. Entretanto, a alimentação também modifica a osmolalidade e as concentrações de lactato, amônio e aminoácidos. O problema operacional não se limita à quantidade de suplemento: envolve a interação entre composição, momento da adição, concentração do alimento, consumo celular específico e características da proteína produzida (Ha *et al*., 2022; Xu *et al*., 2023). Um regime capaz de sustentar elevada densidade celular pode alterar a glicosilação ou o perfil de variantes de carga. De forma semelhante, suplementos concentrados podem limitar o aumento de volume do cultivo, mas favorecem gradientes locais de concentração quando a mistura é insuficiente.

Os estudos de Gyorgypal *et al*. (2025), Saeki *et al*. (2025) e Lemire *et al*. (2026) sugerem que a composição dos nutrientes não pode ser dissociada das propriedades da linhagem, do tipo de anticorpo e das condições de aeração e mistura. A escolha de um meio que eleva a densidade de células viáveis não demonstra automaticamente manutenção dos atributos de qualidade; da mesma forma, maior concentração de suplemento pode alterar osmolalidade, distribuição de nutrientes e transferência de oxigênio. As respostas devem ser confirmadas para cada processo, especialmente quando se pretende ampliar a escala.

As condições de cultivo de células CHO podem modificar glicosilação, variantes de carga, agregação, fragmentação e perfil de proteínas derivadas das células hospedeiras (Ha *et al*., 2022). Esses atributos são influenciados pela genética celular, duração do cultivo, temperatura, pH, gases dissolvidos, disponibilidade de nutrientes e subprodutos metabólicos. A direção e a magnitude

CC BY

RSV
ISSN 2674-8584

Received: 29/09/2026 - **Accepted:** 27/10/2026
Vol: 08.10
DOI: 10.66104/7rgz3791
Pages: 1-22

dos efeitos não são necessariamente transferíveis entre diferentes anticorpos. Uma condição que favorece determinado padrão de glicosilação pode, em outra linhagem, reduzir a viabilidade ou aumentar uma variante molecular indesejada.

Dessa forma, o aprimoramento de processos com CHO deve identificar uma região operacional satisfatória em múltiplos critérios, em vez de buscar exclusivamente o ponto de maior título. Recomenda-se integrar, desde a triagem, densidade de células viáveis, concentração integral de células viáveis ao longo do tempo, produtividade específica, título final, agregados, variantes de carga e atributos de glicosilação pertinentes ao mecanismo de ação. Essa abordagem também reduz a possibilidade de comparações indevidas entre trabalhos que empregam moléculas, durações de cultivo ou definições analíticas distintas para o termo “rendimento”.

A leitura conjunta mostra a insuficiência de rankings de meios baseados apenas na densidade de células viáveis. Gyorgypal *et al*. (2025) documentaram mudanças de N-glicosilação entre formulações; Saeki *et al*. (2025) demonstraram títulos elevados em linhagem e processo definidos; e Lemire *et al*. (2026) associaram regime de alimentação à osmolalidade e à reprodutibilidade da ampliação de escala. Esses resultados convergem quanto à importância de ajustar meio e alimentação à fisiologia de cada linhagem, mas não demonstram que a mesma formulação preserve todos os atributos de qualidade em produtos distintos.

2.5 Perfusão e ampliação de escala: confronto dos indicadores de CHO

No estudo de Liang *et al*. (2023), com anticorpo anti-PD-1, a perfusão intermitente alcançou 4,39 g/L no 14º dia, enquanto condições iniciais de perfusão contínua resultaram em 8,73–9,83 g/L. Após ajustes na taxa de perfusão e adiamento da redução de temperatura para o sexto dia, foi relatado título de 16,19 g/L em biorreator de 3 L. A aplicação do processo em 200 L atingiu 16,79 g/L no 16º dia, com abundância de monômeros de 97,6% e proporção total de N-glicanos de 96,5%.

CC BY

RSV
ISSN 2674-8584

Received: 29/09/2026 - **Accepted:** 27/10/2026
Vol: 08.10
DOI: 10.66104/7rgz3791
Pages: 1-22

Em contraste, Leong *et al*. (2024) investigaram taxas de perfusão normalizadas pela biomassa em biorreatores de 250 mL, verificando que condições de baixa BSPR alcançaram até 55 pg/célula/dia, mas com redução de densidade celular e viabilidade. Uma condição intermediária manteve viabilidade acima de 85% e produtividade específica de aproximadamente 31 pg/célula/dia. Isso evidencia um compromisso operacional: maximizar a produtividade por célula não implica maximizar a biomassa viável nem a produção volumétrica total, sobretudo ao longo de campanhas extensas.

Ott *et al*. (2025) desenvolveram perfusão N-1 de alta densidade no sistema Ambr 250 Modular e relataram valores acima de 150 x 10^6 células/mL para inoculação de processos posteriores. Em prova de conceito de produção contínua, o processo operou por 23 dias, com produtividade volumétrica de 0,65 g/L/dia e desempenho comparável ao sistema de referência de 3 L nas condições testadas. Não se deve comparar diretamente esse valor diário com os 16,79 g/L de Liang *et al*. (2023), pois concentração do produto em dia específico, produtividade acumulada e produtividade espacial-temporal obedecem a definições e configurações de colheita distintas.

A evidência de Liang *et al*. (2023) é relevante por incluir transferência da condição para 200 L e atributos de qualidade, embora a extrapolação para custo por grama de anticorpo purificado permaneça dependente de volume de meio, retenção, perdas no permeado e exigências de processamento *downstream*. As observações de Leong *et al*. (2024) e Ott *et al*. (2025) reforçam que o desenho da perfusão deve distinguir disponibilidade de nutrientes, massa celular, vazão colhida e estabilidade operacional, e não apenas um título pontual.

2.6 Engenharia de secreção, montagem e qualidade em *K. phaffii*

Tir *et al*. (2022) examinaram a produção de trastuzumabe convencional e de uma forma modificada com o aminoácido não natural p-azido-L-fenilalanina (pAzF). A alteração do sinal de secreção para favorecer transporte cotraducional, a superexpressão de Kar2p e Lhs1p e modificações relacionadas ao direcionamento

CC BY

RSV
ISSN 2674-8584

Received: 29/09/2026 - **Accepted:** 27/10/2026
Vol: 08.10
DOI: 10.66104/7rgz3791
Pages: 1-22

vacuolar foram investigadas em associação ao cultivo *fed-batch*. As condições em biorreator produziram até 238 mg/L de IgG não modificada e 15 mg/L de IgG com pAzF, correspondendo a aumentos aproximados de 50 e 20 vezes, respectivamente, em relação à triagem inicial.

Das *et al*. (2025) empregaram triagem de meios definidos, delineamentos *Plackett–Burman* e *Box–Behnken*, metodologia de superfície de resposta, rede neural artificial e algoritmo genético. No meio FM22, manitol e glicina foram identificados como componentes favoráveis à produção do anticorpo completo, enquanto sorbitol e sulfato de amônio favoreceram o fragmento Fab. Em cultivo descontínuo de 2 L, foram reportados 0,44 mg/L para o anticorpo completo e 0,45 g/L para Fab.

K. phaffii pode alcançar elevadas densidades celulares e secretar proteínas recombinantes em meios com relativamente baixa quantidade de proteínas endógenas. Promotores de elevada atividade, integração de múltiplas cópias gênicas, sinais de secreção e modificações das vias de enovelamento ou resposta ao estresse oferecem diferentes possibilidades de intervenção (Yang; Zhang, 2018; Karbalaei *et al*., 2020).

Para anticorpos, entretanto, a produtividade depende da síntese coordenada das cadeias pesada e leve, da formação de pontes dissulfeto, da montagem no retículo endoplasmático, da secreção e da proteção contra proteólise intra ou extracelular. Intensificar a transcrição sem ampliar a capacidade de enovelamento e secreção pode aumentar o estresse celular, sem elevar a quantidade de proteína corretamente montada (Yang; Zhang, 2018; Karbalaei *et al*., 2020).

Os mesmos dados, porém, evidenciam limitações: apesar da incorporação de uma funcionalidade química em posição específica, o anticorpo completo modificado apresentou concentração muito inferior àquela do produto não modificado. Essa diferença é compatível com restrições adicionais de tradução, enovelamento, montagem ou secreção, sem permitir identificar isoladamente o mecanismo responsável. Consequentemente, a estratégia de aprimoramento deve procurar

CC BY

RSV
ISSN 2674-8584

Received: 29/09/2026 - **Accepted:** 27/10/2026
Vol: 08.10
DOI: 10.66104/7rgz3791
Pages: 1-22

reconhecer o gargalo predominante antes de aumentar o número de cópias do gene ou a intensidade do promotor (Karbalaei *et al*., 2020).

A composição do meio e a estratégia de fornecimento da fonte de carbono influenciam a formação de biomassa, a demanda de oxigênio, o comportamento de indução e o estresse secretório em *K. phaffii*. Processos induzidos por metanol podem apresentar expressão elevada, mas o manejo desse substrato, a geração de calor e o consumo de oxigênio dificultam a ampliação de escala. Regimes de alimentação mista e estratégias sem metanol podem atenuar parte dessas exigências, embora a escolha dependa do promotor utilizado e das características da proteína-alvo (Yang; Zhang, 2018; Karbalaei *et al*., 2020).

A diferença entre 0,44 mg/L para o anticorpo completo e 0,45 g/L para Fab, observada por Das *et al*. (2025), representa aproximadamente três ordens de grandeza nas condições estudadas. Embora essa diferença seja consistente com a existência de restrições relacionadas à complexidade molecular, à montagem e à secreção, os resultados não permitem apontar um único mecanismo causal. Da mesma forma, os títulos distintos relatados por Tir *et al*. (2022) para IgG convencional e IgG-pAzF não devem ser convertidos em expectativa geral de desempenho da levedura.

Proteínas terapêuticas produzidas em leveduras não devem ser avaliadas apenas pela concentração expressa. Os perfis nativos de glicosilação diferem dos humanos, podendo exigir engenharia da via de glicosilação quando a estrutura dos glicanos interfere na eficácia, na farmacocinética ou na imunogenicidade (Yang; Zhang, 2018; Karbalaei *et al*., 2020). Identidade molecular, montagem, perfil de glicanos, agregados, fragmentos, proteínas residuais do hospedeiro e atividade biológica devem ser acompanhados em conjunto com o título. A secreção eficiente de um fragmento de anticorpo não permite presumir capacidade equivalente de fabricação de uma IgG completa e glicosilada.

Yang *et al*. (2025) acrescentaram um contraponto experimental importante ao avaliar anticorpos IgG1 aglicosilados expressos em *K. phaffii*. Mudanças conservadoras de dois a três resíduos na sequência reduziram variantes

CC BY

RSV
ISSN 2674-8584

Received: 29/09/2026 - **Accepted:** 27/10/2026
Vol: 08.10
DOI: 10.66104/7rgz3791
Pages: 1-22

relacionadas ao produto em seis versões comerciais de anticorpos aglicosilados. Para uma variante do NIST mAb, características biofísicas e variantes moleculares foram comparáveis às do material produzido em CHO nas condições examinadas. O achado contraria a simplificação de que toda IgG completa em levedura terá necessariamente qualidade inadequada; por outro lado, a estratégia estudou anticorpos aglicosilados e não comprova equivalência clínica nem substituição geral de CHO para IgG glicosilada.

Quando considerados em conjunto, Das *et al*. (2025), Tir *et al*. (2022) e Yang *et al*. (2025) ilustram três níveis distintos de intervenção: composição de meio, secreção e dobramento de cadeias, e engenharia da sequência molecular. O resultado de 0,45 g/L para Fab não autoriza estimar rendimento para IgG completa, enquanto a melhora de variantes em IgG aglicosilada não prova que a levedura produz o mesmo padrão de Fc-glicanos das células CHO. A decisão técnica deve anteceder o cultivo: primeiro definem-se os requisitos moleculares do produto, depois selecionam-se hospedeiro, construção genética e regime de cultivo.

2.7 Aprendizado de máquina, modelagem híbrida e validação

Richter *et al*. (2025) treinaram uma rede neural artificial com dados históricos e novos experimentos de cultivo de células CHO. A avaliação experimental das condições sugeridas pelo modelo registrou aumento de até 48% no título final de anticorpo monoclonal.

Pinto *et al*. (2023) utilizaram dados de 24 experimentos *fed-batch* com CHO-K1 e 30 variáveis de estado mensuradas para combinar balanços materiais com redes neurais profundas. Em comparação com modelos híbridos menos profundos, o método reduziu erros de treinamento e teste em 14,0% e 23,6%, respectivamente, enquanto o tempo de treinamento aumentou 31,6%. A modelagem também reproduziu alterações de lactato, amônio, glutamina e glutamato nos experimentos de teste.

A combinação entre aprendizado de máquina e modelagem mecanística pode facilitar a exploração de relações não lineares envolvendo pH, oxigênio dissolvido,

CC BY

RSV
ISSN 2674-8584

Received: 29/09/2026 - **Accepted:** 27/10/2026
Vol: 08.10
DOI: 10.66104/7rgz3791
Pages: 1-22

alimentação, temperatura e metabolismo. Entretanto, os ganhos experimentais de título relatados por Richter *et al*. (2025) e as reduções de erro de predição descritas por Pinto *et al*. (2023) representam desfechos de natureza diferente: melhora preditiva não equivale, por si, a maior produtividade em escala industrial.

Modelos multiescala e estratégias de controle preditivo por modelo podem conectar fenômenos intracelulares às decisões de alimentação e operação do reator (Monteiro; Fadda; Kontoravdi, 2023). A heterogeneidade de carga dos anticorpos também pode ser relacionada a variáveis de cultivo por modelos computacionais, mas exige confirmação dos mecanismos moleculares e dos critérios de aceitação de cada produto (Kavoni *et al*., 2025).

Essas ferramentas devem ser compreendidas como apoio à decisão, e não como substitutas da validação biológica. O desempenho de um modelo pode se deteriorar quando uma nova linhagem, formulação de meio, molécula, configuração de sensores ou escala modifica a distribuição dos dados (Richter *et al*., 2025; Kavoni *et al*., 2025).

A heterogeneidade de carga ilustra esse desafio: algoritmos podem associar variáveis operacionais e componentes do meio à proporção de variantes ácidas ou básicas, mas a interpretação dos mecanismos pós-traducionais e os critérios de aceitação específicos do produto permanecem indispensáveis (Kavoni *et al*., 2025). Uma aplicação consistente requer validação externa, análise de incertezas, transparência no pré-processamento dos dados e confirmação de que a região operacional sugerida atende simultaneamente aos objetivos de produtividade e qualidade.

É importante separar intervenção baseada em predição de desempenho de modelo computacional. Richter *et al*. (2025) relataram aumento experimental de título após recomendar condições de cultivo, enquanto Pinto *et al*. (2023) documentaram ganho na precisão de previsões para um conjunto específico de 24 cultivos fed-batch, com maior tempo computacional. Os resultados não têm denominador comum: o primeiro descreve efeito observado sobre a produção; o segundo, desempenho preditivo em uma base de dados. Em ambos os casos, nova

CC BY

RSV
ISSN 2674-8584

Received: 29/09/2026 - **Accepted:** 27/10/2026
Vol: 08.10
DOI: 10.66104/7rgz3791
Pages: 1-22

linhagem, alteração de nutrientes ou mudança de escala exigem revalidação para evitar extrapolação não sustentada.

2.8 Seleção de hospedeiro, comparabilidade e lacunas da evidência

As evidências favorecem a escolha do hospedeiro a partir dos requisitos do produto. As células CHO constituem uma alternativa consolidada para glicoproteínas complexas, com modificações pós-traducionais de tipo mamífero, embora o desenvolvimento dos processos geralmente envolva meios e controles operacionais mais exigentes. *K. phaffii* oferece crescimento rápido, cultivo em alta densidade celular e ferramentas versáteis de engenharia, mas enovelamento, montagem de anticorpos completos, proteólise e compatibilidade dos glicanos podem limitar o produto final (Lalonde, Durocher, 2017; Ha *et al*., 2022; Karbalaei *et al*., 2020; Leong *et al*., 2024; Yang *et al*., 2025). O Quadro 2 sintetiza critérios qualitativos para selecionar a plataforma conforme as necessidades do produto e os riscos de processo.

Quadro 2. Critérios qualitativos para seleção do hospedeiro e avaliação de processo.

Dimensão	CHO	*K. phaffii*
Produtos-alvo	Anticorpos completos e glicoproteínas complexas	Proteínas recombinantes, Fab e IgG selecionadas mediante engenharia
Qualidade molecular	Glicosilação de tipo mamífero, com variações por meio e cultivo	Glicanos nativos distintos; engenharia de produto/hospedeiro pode reduzir variantes
Desempenho	Fed-batch e perfusão; relatos em escala ampliada	Alta densidade, secreção variável conforme arquitetura do produto
Variáveis principais	Linhagem, meios, alimentos, gases, pH, temperatura, retenção celular	Sinais de secreção, cópias gênicas, chaperonas, carbono, proteólise
Riscos	Osmolalidade, metabólitos, agregados, variantes de carga	Montagem incompleta, fragmentos, glicanos e proteólise
Métrica necessária	Produtividade espaço-temporal, título, CQA e consumo de meio	Proteína íntegra/ativa, produtividade, CQA e rendimento de purificação
Transferibilidade	Validação entre linhagens, moléculas e escalas	Validação conforme tipo de anticorpo e glicosilação exigida

CC BY

RSV
ISSN 2674-8584

Received: 29/09/2026 - **Accepted:** 27/10/2026
Vol: 08.10
DOI: 10.66104/7rgz3791
Pages: 1-22

Fonte: síntese interpretativa dos estudos citados e de Lalonde e Durocher (2017), Ha *et al*. (2022), Karbalaei *et al*. (2020), Leong *et al*. (2024) e Yang *et al*. (2025). Comparação qualitativa, não econômica nem experimental pareada.

O fluxo de decisão começa pela definição do perfil-alvo do produto (estrutura, glicosilação, atividade e faixa aceitável dos atributos críticos de qualidade); prossegue pela seleção do hospedeiro e pelas intervenções coerentes com seus gargalos; e se encerra com comprovação de produtividade, qualidade, estabilidade em escala e viabilidade econômica. Como não há ensaios comparativos pareados entre os dois hospedeiros para uma mesma molécula e protocolo no corpus revisto, nenhuma conclusão de superioridade absoluta é defensável (Ha *et al*., 2022; Karbalaei *et al*., 2020; Leong *et al*., 2024; Yang *et al*., 2025).

O conjunto de evidências apresenta heterogeneidade que impede estimar um efeito médio combinado das intervenções de aprimoramento. Os trabalhos avaliados diferem em hospedeiro, produto, duração e escala do cultivo, além dos indicadores utilizados. Alguns relatam títulos finais; outros apresentam ganhos relativos, erros de modelos ou distribuições de atributos de qualidade. Mesmo quando diferentes estudos informam resultados em g/L, as concentrações podem representar moléculas e definições de coleta distintas. Adicionalmente, faltam comparações experimentais controladas de CHO e *K. phaffii* utilizando a mesma molécula terapêutica, com critérios de qualidade e condições analíticas compatíveis. O caráter não exaustivo da seleção bibliográfica constitui outra limitação desta síntese e impede interpretações baseadas em frequência ou prevalência de resultados na literatura (Lalonde, Durocher, 2017; Ha *et al*., 2022; Karbalaei *et al*., 2020; Leong *et al*., 2024; Yang *et al*., 2025).

Estudos futuros deveriam relatar, no mínimo, título final, duração do cultivo, produtividade espaço-temporal, produtividade celular específica, concentração integral de células viáveis, consumo de meio, escala e atributos críticos de qualidade relevantes. Em perfusão, também são necessários taxa de sangria celular (bleed), desempenho da retenção, volume de permeado e produtividade relativa ao meio utilizado. Para *K. phaffii*, é importante distinguir o material imunorreativo detectado da proteína corretamente montada, purificada e biologicamente ativa (Leong *et al*., 2024; Yang *et al*., 2025).

CC BY

RSV
ISSN 2674-8584

Received: 29/09/2026 - **Accepted:** 27/10/2026
Vol: 08.10
DOI: 10.66104/7rgz3791
Pages: 1-22

Três prioridades emergem da análise: (i) substituir a maximização isolada do título por objetivos que integrem qualidade e custos; (ii) validar estratégias promissoras em escalas pertinentes, considerando mistura, transferência de oxigênio, alimentação e exigências de purificação; e (iii) submeter modelos digitais a testes prospectivos, com dados reutilizáveis e análise de incerteza. Essas práticas ajudam a evitar que ganhos numéricos locais sejam interpretados como melhorias robustas do processo e favorecem sua transferência para a fabricação biofarmacêutica (Lalonde, Durocher, 2017; Ha *et al*., 2022; Karbalaei *et al*., 2020; Leong *et al*., 2024; Yang *et al*., 2025).

Os novos estudos também tornam mais visíveis limitações específicas: Leong *et al*. (2024) relataram menor densidade e viabilidade sob condição de maior produtividade específica; Ott *et al*. (2025) desenvolveram prova de conceito de produção contínua, mas não demonstraram automaticamente desempenho comercial e custo inferior; Yang *et al*. (2025) evidenciaram melhora estrutural em anticorpos aglicosilados, cujo escopo não deve ser estendido a todas as classes de imunoglobulinas terapêuticas. Essas ressalvas valorizam a validade externa, em vez de diminuir a utilidade das observações.

3. Considerações Finais

Esta revisão integrativa indica que o aprimoramento do cultivo deve ser compreendido como problema de projeto integrado do processo, e não como a busca de uma variável isolada de máximo rendimento. Fisiologia do hospedeiro, composição do meio, alimentação, transferência de oxigênio, hidrodinâmica, modo de cultivo e requisitos de qualidade interagem durante a produção. Portanto, intervenções que favorecem crescimento ou título podem ser inadequadas quando aumentam agregação, modificam a glicosilação, reduzem a atividade biológica, intensificam o consumo de meio ou ampliam excessivamente as exigências de purificação. Um resultado mais significativo do aprimoramento é a definição de condições operacionais reprodutíveis que equilibrem produtividade, qualidade, robustez, escalabilidade e custos.

CC BY

RSV
ISSN 2674-8584

Received: 29/09/2026 - **Accepted:** 27/10/2026
Vol: 08.10
DOI: 10.66104/7rgz3791
Pages: 1-22

Para CHO, as evidências são mais consistentes quando propriedades da linhagem, meios e suplementos quimicamente definidos, controle de temperatura e gases e operação fed-batch ou por perfusão são tratados conjuntamente. Estratégias de intensificação podem proporcionar aumentos expressivos de produção, mas uma concentração final elevada não é suficiente para demonstrar superioridade industrial. Seu valor depende da manutenção dos atributos críticos de qualidade, da produtividade espaço-temporal, do desempenho de retenção celular, do consumo de meio e da compatibilidade com as operações de purificação. Assim, indicadores de qualidade devem acompanhar o título desde as fases iniciais do desenvolvimento.

Para *K. phaffii*, crescimento rápido, cultivo em alta densidade, capacidade secretória e flexibilidade de engenharia genética continuam sendo vantagens relevantes. Ainda assim, as evidências analisadas demonstram que promotores mais fortes ou meios aprimorados não eliminam necessariamente limitações de enovelamento, montagem de cadeias, estabilidade proteolítica, secreção ou compatibilidade de glicanos. A plataforma é especialmente promissora para proteínas recombinantes e fragmentos de anticorpos com requisitos de qualidade compatíveis com a fisiologia da levedura; anticorpos monoclonais completos tendem a exigir engenharia e confirmação analítica mais extensas.

A seleção deve partir do perfil-alvo do produto: CHO costuma ser favorecida quando o processamento pós-traducional de mamíferos é decisivo, enquanto *K. phaffii* pode oferecer benefícios quando rapidez de desenvolvimento, secreção e economia de cultivo são exploráveis sem comprometer a função. Essas tendências devem ser verificadas experimentalmente, e não presumidas a partir da reputação das plataformas.

A ampliação para 11 estudos primários reforçou três constatações: taxas de alimentação e perfusão podem produzir compromissos entre biomassa, produtividade específica e estabilidade; a engenharia da arquitetura de anticorpos pode superar parte das restrições de expressão em leveduras sem eliminar a necessidade de controle dos atributos críticos; e resultados de modelagem somente

CC BY

RSV
ISSN 2674-8584

Received: 29/09/2026 - **Accepted:** 27/10/2026
Vol: 08.10
DOI: 10.66104/7rgz3791
Pages: 1-22

sustentam decisões industriais quando acompanhados de testes independentes, avaliação de incerteza e confirmação de qualidade. Portanto, não se identificou plataforma universalmente superior; a seleção permanece dependente do produto, da operação e da viabilidade do processo.

Como limitações, a síntese não foi exaustiva, não contou com avaliação formal de risco de viés, reuniu métricas heterogêneas e não dispôs de comparação experimental diretamente pareada dos hospedeiros. Recomenda-se que novos estudos informem simultaneamente título, duração, produtividade específica e espaço-temporal, uso de meio, qualidade molecular e desempenho de purificação, além de ensaios de escalonamento e comparação técnico-econômica sob critérios transparentes.

Declaração sobre o uso de inteligência artificial generativa e tecnologias assistidas por IA

O ChatGPT, desenvolvido pela OpenAI, foi utilizado como ferramenta de apoio à revisão linguística. Não foram gerados dados experimentais por inteligência artificial. Entretanto, o autor permanece integralmente responsável pelo julgamento científico independente, pela interpretação dos resultados e pela verificação final das informações.

Referências

DAS, P. K.; SAHOO, A.; VEERANKI, V. D. Modeling and Optimization of Recombinant Tocilizumab Production From *Pichia pastoris* Using Response Surface Methodology and Artificial Neural Network. *Biotechnology and Bioengineering*, v. 122, n. 8, p. 2093–2110, 2025. https://doi.org/10.1002/bit.29024

GYORGYPAL, A.; CHATURVEDI, A.; CHOPDA, V.; ZHANG, H.; CHUNDAWAT, S. P. S. Evaluating the Impact of Media and Feed Combinations on CHO Cell Culture Performance and Monoclonal Antibody (Trastuzumab) Production. *Cytotechnology*, v. 77, n. 1, art. 40, 2025. https://doi.org/10.1007/s10616-024-00690-7

CC BY

RSV
ISSN 2674-8584

Received: 29/09/2026 - **Accepted:** 27/10/2026
Vol: 08.10
DOI: 10.66104/7rgz3791
Pages: 1-22

HA, T. K.; KIM, D.; KIM, C. L.; GRAV, L. M.; LEE, G. M. Factors Affecting the Quality of Therapeutic Proteins in Recombinant Chinese Hamster Ovary Cell Culture. *Biotechnology Advances*, v. 54, art. 107831, 2022. https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2021.107831

KARBALAEI, M.; REZAEE, S. A.; FARSIANI, H. *Pichia pastoris*: A Highly Successful Expression System for Optimal Synthesis of Heterologous Proteins. *Journal of Cellular Physiology*, v. 235, n. 9, p. 5867–5881, 2020. https://doi.org/10.1002/jcp.29583

KAVONI, H.; SHAHIDI POUR SAVIZI, I.; GOPALAKRISHNAN, S.; LEWIS, N. E.; SHOJAOSADATI, S. A. Machine Learning-Driven Optimization of Culture Conditions and Media Components to Mitigate Charge Heterogeneity in Monoclonal Antibody Production: Current Advances and Future Perspectives. *mAbs*, v. 17, n. 1, art. 2547084, 2025. https://doi.org/10.1080/19420862.2025.2547084

LALONDE, M.-E.; DUROCHER, Y. Therapeutic Glycoprotein Production in Mammalian Cells. *Journal of Biotechnology*, v. 251, p. 128–140, 2017. https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2017.04.028

LEMIRE, L.; REYES, S.-J.; DUROCHER, Y.; VOYER, R.; HENRY, O.; PHAM, P. L. Scale-Up of a Monoclonal Antibody CHO Fed-Batch Production in Stirred Tank Bioreactors: Effect of Hydrodynamic Conditions and Feeding Regimen. *Biotechnology Progress*, v. 42, n. 1, art. e70073, 2026. https://doi.org/10.1002/btpr.70073

LEONG, J. *et al*. Biomass specific perfusion rate as a control lever for the continuous manufacturing of biosimilar monoclonal antibodies from CHO cell cultures. *Biotechnology Journal*, v. 19, n. 7, art. e2400092, 2024. https://doi.org/10.1002/biot.202400092

CC BY

RSV
ISSN 2674-8584

Received: 29/09/2026 - **Accepted:** 27/10/2026
Vol: 08.10
DOI: 10.66104/7rgz3791
Pages: 1-22

LIANG, K.; LUO, H.; LI, Q. Enhancing and Stabilizing Monoclonal Antibody Production by Chinese Hamster Ovary (CHO) Cells With Optimized Perfusion Culture Strategies. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, v. 11, art. 1112349, 2023. https://doi.org/10.3389/fbioe.2023.1112349

MONTEIRO, M.; FADDA, S.; KONTORAVDI, C. Towards Advanced Bioprocess Optimization: A Multiscale Modelling Approach. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, v. 21, p. 3639–3655, 2023. https://doi.org/10.1016/j.csbj.2023.07.003

OTT, V.; OTT, J.; MANNONE, A. D.; EIBL, R. Perfusion-Based Antibody Production in the Ambr 250 Modular. *Chimia*, v. 79, n. 5, p. 330–338, 2025. https://doi.org/10.2533/chimia.2025.330

PINTO, J.; RAMOS, J. R. C.; COSTA, R. S.; ROSSELL, S.; DUMAS, P.; OLIVEIRA, R. Hybrid Deep Modeling of a CHO-K1 Fed-Batch Process: Combining First-Principles With Deep Neural Networks. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, v. 11, art. 1237963, 2023. https://doi.org/10.3389/fbioe.2023.1237963

RICHTER, J.; WANG, Q.; LANGE, F.; THIEL, P.; YILMAZ, N.; SOLLE, D. *et al*. Machine Learning-Powered Optimization of a CHO Cell Cultivation Process. *Biotechnology and Bioengineering*, v. 122, n. 5, p. 1153–1164, 2025. https://doi.org/10.1002/bit.28943

SAEKI, H.; FUEKI, K.; MAEDA, N. Enhancing Monoclonal Antibody Production Efficiency Using CHO-MK Cells and Specific Media in a Conventional Fed-Batch Culture. *Cytotechnology*, v. 77, n. 1, art. 1, 2025. https://doi.org/10.1007/s10616-024-00669-4

CC BY

RSV
ISSN 2674-8584

Received: 29/09/2026 - **Accepted:** 27/10/2026
Vol: 08.10
DOI: 10.66104/7rgz3791
Pages: 1-22

TIR, N.; HEISTINGER, L.; GRÜNWALD-GRUBER, C.; JAKOB, L. A.; DICKGIESSER, S.; RASCHE, N. *et al*. From Strain Engineering to Process Development: Monoclonal Antibody Production With an Unnatural Amino Acid in *Pichia pastoris*. *Microbial Cell Factories*, v. 21, n. 1, art. 157, 2022. https://doi.org/10.1186/s12934-022-01882-6

XU, W.-J.; LIN, Y.; MI, C.-L.; PANG, J.-Y.; WANG, T.-Y. Progress in Fed-Batch Culture for Recombinant Protein Production in CHO Cells. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 107, n. 4, p. 1063–1075, 2023. https://doi.org/10.1007/s00253-022-12342-x

YANG, Z.; ZHANG, Z. Engineering Strategies for Enhanced Production of Protein and Bio-Products in *Pichia pastoris*: A Review. *Biotechnology Advances*, v. 36, n. 1, p. 182–195, 2018. https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2017.11.002

YANG, Y. *et al*. Adaptation of Aglycosylated Monoclonal Antibodies for Improved Production in *Komagataella phaffii*. *Biotechnology and Bioengineering*, v. 122, n. 2, p. 361–372, 2025. https://doi.org/10.1002/bit.28878

CC BY