

人用基因治疗制品总论（公示稿）

1.概述

基因治疗制品通常由含有工程化基因构建体的载体或递送系统组成，其活性成分可为DNA、RNA、基因改造的病毒、细菌或细胞，通过将外源基因导入靶细胞或组织，替代、补偿、阻断、修正特定基因，以达到治疗疾病的目的。

依据载体的不同，可将基因治疗制品分为以病毒为载体的基因治疗制品，以质粒DNA为载体的基因治疗制品，以及以细菌为载体的基因治疗制品，其中以病毒和质粒DNA为载体的基因治疗制品为常见。

本总论是对基因治疗制品生产和质量控制的通用性技术要求，重点针对以病毒和质粒DNA为载体的基因治疗制品，用于基因修饰细胞（在输入受试者或病人之前用基因治疗载体进行离体或体外修饰的自体或异体体细胞）的载体也适用于本总论，具体品种还应结合制品本身的特性制定相关要求。

2.制造

2.1 基本要求

人用基因治疗制品的制造主要包括生产用起始原材料、原材料和辅料的控制，载体的制备，目标成分的提取、纯化和制剂等过程。生产过程中使用的菌毒种和动物细胞基质应符合“生物制品生产检定用菌毒种管理规程”和“生物制品生产检定用动物细胞基质制备及检定规程”的相关要求。使用的原材料和辅料应符合“生物制品生产用原材料及辅料质量控制规程”的相关要求。应采用经过验证的生产工艺进行生产，并对生产工艺全过程进行控制。

2.2 载体的设计与构建

应基于制品的临床有效性和安全性选择最优的载体设计与构建方案。通常基于基因治疗制品的作用机制，如通过编码功能性蛋白质的转基因表达，或采用RNA干扰、小RNA或基因编辑等方式，采用基因沉默、外显子跳跃、基因调控或基因敲除等方式修复、添加或删除特定的基因序列，进行载体的设计与构建。

基因治疗制品中使用的载体可以设计为靶向特定组织或细胞，或删除与毒力、致病性或复制能力相关基因的病毒，以确保制品的安全性。

用于基因治疗制品的常见的载体系统是病毒载体和质粒DNA载体，病毒载体可为非复制型、条件复制型或复制型，每种类型在设计时都应针对安全性方面进行特别考虑。采用非复制型载体要选择尽可能少产生复制活性病毒或能够有效避免辅助病毒风险的方法。质粒

30 DNA 载体应考虑抗生素抗性基因可能给病人带来的风险和危害，且不得使用氨苄青霉素抗
31 性基因。

32 2.3 起始原材料

33 用于基因治疗制品生产的起始原材料主要包括生产用细胞、细菌或病毒种子。用于生产
34 的细胞、细菌或病毒种子的来源和历史应清晰，应建立至少两级细胞库和/或细菌/病毒种子
35 批系统。

36 应对所有起始原材料进行充分鉴定并建立明确的质量控制要求，确保无细菌、真菌、病
37 毒和支原体等微生物污染。应保证起始原材料的遗传稳定性，并基于细胞库/种子批经长时
38 间培养或多次传代后产物的完整性和一致性，以及其表型和基因型特征等确定生产用细胞库
39 /种子批的最高限度代次。

40 以下是对生产用起始原材料质量控制的一般要求，对不同的制品和生产工艺还需结合具
41 体情况考虑。

42 2.3.1 病毒种子批

43 病毒种子批的质控项目应包括鉴别(基因扩增、限制性酶切图谱和免疫血清学检测等)、
44 病毒滴度、治疗序列的转录/表达、治疗序列或表达产物的生物活性、无菌检查(细菌和真
45 菌)、支原体检查、外源病毒因子、复制型病毒(制品本身为复制缺陷型或条件复制型)等。
46 外源病毒因子应符合“外源病毒因子检查法”的相关要求，同时还应对种子批历史传代过
47 程中可能污染的特定外源病毒因子进行检测。除另有规定外，应对病毒基因组的完整序列进
48 行分析，或至少应确认重要区域(如治疗和调控元件，以及被人为修改的任何区域及其侧翼
49 至少 0.5kb 内的区域)的序列与理论预期相符。应证明生产用病毒种子批的遗传稳定性、目
50 的基因表达稳定性和生产稳定性。

51 2.3.2 哺乳动物细胞库

52 生产/包装细胞系进行的检测应包括鉴别及纯度、基因分型/表型、成瘤性/致瘤性、遗
53 传稳定性、引入序列的鉴别和完整性以及拷贝数等。

54 生产/包装细胞库内、外源病毒因子的检测应根据本版药典要求进行。应确定无细菌、
55 真菌、支原体和螺原体(昆虫细胞)等污染。

56 2.3.3 细菌种子批

57 细菌种子批的质控项目通常包括菌落形态、染色镜检、生化特性、抗生素抗性检查、电
58 镜检查、质粒限制性酶切图谱分析等。应确保不存在其它细菌、真菌和噬菌体的污染。应检
59 测细菌种子批多次传代后的基因型和表型的稳定性。此外，对于基因修饰的细菌，其基因组

60 重要区域（如引入的治疗和调控元件，以及被人为改造的任何区域及其侧翼至少 0.5kb 内的
61 区域）的序列应与理论预期相符。对于经基因改造的质粒不大于 50kb 的，应进行全序列测
62 定。对于转导质粒的细菌种子批，应检测质粒拷贝数和有/无质粒细菌的比例。对于生产质
63 粒用途的细菌种子批，应检查质粒产率。对于引入的治疗基因，应检测其表达水平和功能活
64 性。对于减毒细菌载体，应鉴定其减毒的特性和稳定性，并检测其抗生素敏感性。

65 2.3.4 质粒 DNA

66 对用于瞬时共转染生产过程的质粒 DNA，需对其来源、特性、分离纯化方法以及核酸
67 序列等进行描述，对质粒 DNA 的复制起始点、启动子以及编码选择性标记的基因等组成元
68 件的来源和功能进行说明。质粒的生产应基于细菌种子批系统，并符合相关要求。应使用适
69 宜的方法纯化质粒，每批质粒进行鉴别、基因组完整性、质粒含量、质粒纯度、宿主细胞
70 DNA 残留量、质粒对细胞的转染效率、细菌内毒素检查和无菌检查等项目的检测并符合要
71 求，才能用于载体的生产。

72 2.4 原材料及辅料

73 生产过程中所使用的原材料及辅料应符合“生物制品生产用原材料及辅料质量控制规程”
74 的相关要求。对可能影响制品安全性的所有原材料（或诸如辅助病毒/包装序列或介质等原
75 材料的组成部分），应评估最终制品或工艺最适阶段中的残留情况，并根据具体情况确定需
76 要控制的残留限度。

77 辅助病毒涉及病毒种子批系统的设计、构建、生产和使用等应符合 2.3 项相关要求。

78 来源于动物组织或体液的原材料应严格控制外源因子污染的安全性风险。生产过程中不
79 得使用青霉素等 β -内酰胺类抗生素和链霉素，以及其他如溴化乙锭等有毒试剂。

80 用作病毒或 DNA 载体递送系统的复合材料必须符合其预期目的，并具有良好的工艺稳定
81 性和产品稳定性。应根据其具体性质和对制品的影响情况进行适当鉴定，并建立相应的检测
82 方法和质控要求。

83 2.5 生产过程的控制

84 生产工艺应稳定可靠，并有明确的过程控制参数，以确保制品安全、有效和全程质量可
85 控。生产工艺的确定应建立在对目标制品的质量属性、生产工艺的深入理解和全面设计基础
86 上。应根据研发早期到规模化生产的整个工艺周期的相关信息，确定原液和成品生产的关键
87 步骤，并依据制品的关键质量属性，确定工艺参数和过程控制项目，并制定相应可接受标准
88 进行控制，以确保工艺过程的重现性及制品质量的批间一致性。

89 2.4.1 病毒/细菌培养物的制备

90 2.4.1.1 病毒培养物的制备

91 (1) 细胞培养

92 将工作细胞库细胞按规定传代,同一种病毒生产用的细胞扩增应尽可能按相同的消化程
93 序、分种扩增比率、培养时间及培养条件进行传代。在病毒种子或产品的外源病毒因子检查
94 因制品病毒不能被充分中和而受到干扰等情况下,应在生产中设置对照细胞,对照细胞的外
95 源病毒因子检查应符合本版药典的要求。采用生物反应器微载体培养的应按固定的放大模式
96 扩增,并建立与生物反应器培养相适应的对照细胞外源因子检查。细胞培养过程中需监测细
97 胞的生长状况,并根据生产系统的特点确定监测频率及指标。

98 (2) 病毒增殖和收获

99 接种病毒时应明确病毒感染滴度与细胞的最适比例,同一工作种子批按同一 MOI 接种。
100 采用多质粒瞬时转染或加入辅助病毒等生产病毒的方式,也应明确加入量与细胞的最适比例。
101 除另有规定外,接种病毒后维持液不得再添加牛血清、抗生素等成分。

102 应根据生产过程中培养、增殖和产物产量一致性的研究资料,确定终止培养、收获产物
103 的技术参数。每次收获后应检测目标产物含量、细菌内毒素、支原体等。应根据生产过程及
104 所用材料的特点,在适宜的阶段进行常规或特定的外源病毒污染检查。

105 检验合格的同一细胞批的单次病毒收获液可合并进行纯化。多次收获的病毒培养液,如
106 单一培养容器出现污染,则与该容器污染相关的病毒收获液不得用于生产。

107 2.4.1.2 细菌培养物的制备

108 (1) 细菌培养

109 将工作种子接种于规定的培养基进行培养扩增。自菌种开启到菌体收获应有明确的扩增
110 次数规定。细菌培养过程中可进行细菌纯度、细菌总数、pH 值及耗氧量等监测。

111 (2) 菌体的收获

112 根据不同的培养方式采用适宜的方法收获菌体。培养物收获后应进行细菌纯度、细菌总
113 数、活菌含量等检测。

114 2.4.2 提取和纯化

115 采用的分离纯化方法或技术,应能适应于规模化生产并保持稳定。应对纯化工艺中可能
116 残存的有害物质进行严格控制,包括固定相或者流动相中的化学试剂、各类亲和色谱柱的脱
117 落配基或抗体以及可能对目标制品关键质量属性造成影响的各种物质等。

118 纯化工艺应保证将制品的一些特定工艺杂质去除或降低至可接受的水平,包括来自表达
119 载体的核酸、宿主细胞 DNA、宿主细胞蛋白质、污染的外源因子、细菌内毒素、核酸蛋白

120 酶以及源自培养液的各种其他残留物等。

121 2.4.3 原液

122 收获液经提取、纯化后分装于中间贮存容器中即为原液。如需加入稳定剂或赋形剂，应
123 不影响质量检定，否则应在添加辅料前取样进行原液检定。原液的检测项目取决于工艺的验
124 证、一致性的确认以及预期的制品相关杂质与工艺相关杂质水平。应采用适当方法对原液质
125 量进行检测，必要时应与参比品进行比较。原液如需贮存，应通过制品稳定性验证确定贮存
126 条件和时间。

127 2.4.4 复合工艺控制

128 对于复合的基因治疗制品，其复合材料的生产以及复合的过程应根据具体的产品情况和
129 工艺特点设置适宜的工艺参数和过程控制要求，以保持工艺稳定性和产品质量的一致性。

130 2.4.5 半成品

131 除另有规定外，制备成品前，如需对原液进行稀释或加入其他辅料制成半成品，应确定
132 半成品的质量控制要求，包括检定项目和可接受的标准。

133 2.4.6 成品制剂

134 制剂生产应符合本版药典和中国现行《药品生产质量管理规范》的相关要求。

135 2.4.7 包装及密闭容器系统

136 原液和成品与容器的相容性应符合相关要求。此外，应采用适宜方法对容器完整性进
137 行检测，防止容器泄露导致制品无菌状态的破坏。

138 2.5 生产工艺变更

139 生产工艺变更应符合国家药品注册管理等相关要求。涉及重大生产工艺的变更，应对变
140 更前后的制品质量、安全性和有效性进行比较和评估，以证明变更前后制品特性的高度相似，
141 并确保任何质量属性方面的改变对制品安全和有效性无负面影响。

142 3. 特性分析

143 应采用先进的分析手段，从生物学、分子生物学、免疫学、物理化学等角度，对基因治
144 疗制品的基因型和表型、纯度、治疗序列活性/生物效价、感染性/转导效率和预期用途的适
145 用性等进行全面的分析，并提供尽可能详细的信息，以反映目标制品内在的质量属性，并作
146 为建立并制定上市制品质量标准的基础。特性分析应包括对原材料、中间体、原液和成品特
147 性的分析。对于复合核酸载体，应充分研究载体、复合组分和复合物的特性。特性分析数据
148 可能来自整个开发和/或制造过程。对于不同阶段（开发、试生产、完整规模生产等）生产
149 的产品批次可根据不同情况开展适宜程度的特性分析研究，其中用于制定上市制品质量标准

150 的产品批次工艺应代表预期的上市制品工艺。

151 特性分析一般在研发阶段进行，并通过生产工艺的优化，以及具有代表性的足够批次制
152 品的周期性监测加以完善。

153 特性分析至少应包括以下内容：

154 3.1 结构分析

155 应对治疗序列的选择/调节/控制作用涉及的基因完整序列进行分析，并进行适宜的限制
156 性内切酶图谱分析，以补充鉴定转录/翻译元件和开放阅读框以及其余载体序列。应检测重
157 组载体基因组或质粒的完整性和均一性，载体和治疗序列的遗传稳定性，以及载体递送的治
158 疗序列和选择/调节元件的表型鉴别和分析。对于病毒载体，适当情况下应测定插入位点，
159 并充分评估插入突变的可能性和相关风险；对于质粒，应该证明复制起点的位置以及是否存
160 在 CpG 序列（如果与制品的设计相关）；对于细菌载体，应确认是否存在涉及制品安全性的
161 插入/删除序列；对于转导的细菌载体，应检测质粒和相关调控/控制元件的存在及序列。

162 3.2 生物学活性

163 应依据制品的作用机制，尽可能确定与疗效最为相关的质量属性，并建立相应的检测方
164 法。应证明替代、补偿、阻断、修正特定基因的预期作用，对于含有多种活性成分的制品，
165 需要分别建立方法对各个成分的活性进行测定，同时还应考虑活性成分之间可能存在的干扰
166 或协同等作用。在相关细胞类型中分析载体的转导效率和/或拷贝数、转基因表达水平、相
167 关生物活性以及与载体或递送系统的作用机制相关的因素。应分析预期的病毒载体的宿主范
168 围和组织嗜性，或复合核酸递送的选择性，以及转基因表达的选择性。

169 3.3 纯度、杂质和污染物

170 基因治疗制品杂质主要包括工艺相关杂质、制品相关杂质以及外源污染物。应尽可能地
171 对杂质进行分析鉴定，并采用适宜的方法评估其对生物学活性和安全性的影响。在复合核酸
172 的情况下，应考虑到复合物合成和生产所产生的副产品/杂质对复合物的安全性和性能的影响。
173 响。

174 3.3.1 工艺相关杂质

175 工艺相关杂质来源于生产工艺本身，主要包括起始原材料来源（如残留宿主细胞 DNA
176 和残留宿主细胞蛋白等）、原材料来源（如培养试剂、纯化试剂、辅助病毒和辅助病毒核酸
177 等）和设备材料来源（如工艺中的可浸出物和可提取物、色谱填料脱落物等）的杂质，应对
178 潜在的工艺相关杂质进行鉴定、评估，并进行定性和/或定量分析。在设计为复制缺陷型或
179 条件复制型载体的情况下，应分析是否存在残留的复制型或野生型载体及其水平。

180 3.3.2 制品相关杂质

181 应鉴定具有缺失、重排、杂交或突变序列的载体等制品相关杂质，如可行，应对其进行
182 定量。必要时，应对载体中可能存在的共包装外来 DNA 序列进行确认。应分析生产过程中
183 潜在的载体降解情况，如测定感染性/非感染性载体比例、转导效率降低的质粒，或核酸复
184 合物经过氧化或解聚等的降解形式。

185 3.3.3 污染物

186 污染物系指所有引入且并非生产过程所需的物质（如各种微生物、细菌内毒素）。应严
187 格避免引入污染物并对其进行相应控制。

188 3.4 含量

189 应建立基因治疗制品物理数量和生物数量的含量检测指标。可以通过诸如总颗粒数、感
190 染性滴度或感染性颗粒数、基因组 DNA/RNA 或质粒 DNA 浓度等的检测来确定含量。可通过
191 物理、生物物理等方法来测量颗粒的物理数量，或测量病毒颗粒内已知分子量和拷贝数的某
192 种代表性的结构蛋白来评估病毒颗粒数。感染性滴度或感染性颗粒数可采用噬斑形成单位
193 （PFU）、半数组织培养感染剂量（TCID₅₀）等基于细胞的体外检测方法。对于病毒载体，应
194 控制总颗粒数与感染性滴度或感染性颗粒数的比例。应尽可能使用标准品或对照品来校准含
195 量测定结果。通过方法学研究确定用于制品放行检定的含量测定方法。

196 3.5 其他特性

197 通常应评估颗粒或分子大小的平均值和分布、聚集体以及折射率等多种理化和其他特性
198 及其与制品安全、有效性的关系，必要时应将其纳入制品检定项目中。

199 病毒载体类基因治疗制品，还应对病毒的感染性、毒力、复制能力等特性进行分析。应
200 分析载体脱落，载体复制，插入突变，内源性病毒再激活或与内源性病毒互补的可能性，以
201 及对安全性的影响。

202 复合核酸类基因治疗制品，其复合物的结构以及载体和带负电荷的 DNA 之间的相互作
203 用可能影响制品的安全性和有效性，应充分鉴定复合/递送系统的性质，包括：结构形式、
204 粒度分布、表面电荷、在特定情况和生物环境中的稳定性，以及复合结构内的核酸分布。通
205 过特性研究确定的与关键质量属性相关的特性，如对预期用途有重要影响的复合核酸的生物
206 化学和生物学特性，应建立适宜的方法并纳入制品放行检定项目。

207 细菌载体类基因治疗制品，应测定其质粒拷贝数和含/不含质粒细菌的比例。应分析表
208 型、免疫学特性（包括遗传修饰的细菌成分）以及由细菌载体递送的治疗序列和选择/调控
209 元件等。

210 4.标准品/参比品/对照品

211 对于效价、感染性滴度等活性检测方法，应建立具有长期稳定性的活性标准品/参比品。

212 对于鉴别试验、颗粒数等各种理化分析，可选择已证明足够稳定且适合临床试验的一个（多
213 个）批次，或用一个代表批次作为参比品/对照品，并按特性分析要求进行分析鉴定。在
214 采用 PCR 或定量 PCR 方法的检定项目中所用到的质粒 DNA 或核酸对照品，在制备和分装后
215 应进行适宜的分析鉴定。

216 标准品/参比品/对照品的建立和制备可参照“生物制品国家标准物质制备和标定规程”
217 的相关要求。

218 5. 制品检定

219 应根据制品关键质量属性、对制品和工艺的深入了解和风险评估的原则，制定相应质
220 量控制策略。制品检定采用的检测方法应经验证或确认并符合要求。纳入质量标准的检定项
221 目、可接受限度，应结合特性分析数据、临床前和/或临床研究多批次样品的数据、工艺验
222 证批次的数据、稳定性研究数据等综合确定。基因治疗制品的质量检定至少应包括以下项目，
223 但对不同的制品和生产工艺还需结合具体情况加以考虑。

224 5.1 鉴别试验

225 根据基因治疗制品的情况，应在核酸序列水平采用限制性酶切图谱分析、PCR、RT-PCR
226 和核酸序列测定等方法对载体组成、治疗序列、缺失片段以及其他影响治疗序列表达的重要
227 部分进行鉴定。还可同时在蛋白水平采用蛋白电泳、免疫印迹、免疫中和试验等方法，对结
228 构蛋白、表达产物、免疫标记、表型特征等进行鉴别。对于复合的核酸制品，应对相应的脂
229 质等复合成分进行鉴别试验。相应的鉴别试验检测中应设置适宜的阳性和阴性对照样品。

230 5.2 纯度和杂质

231 应采用类似正交组合的方法来评估制品的纯度/杂质。

232 5.2.1 总纯度

233 适用的情况下，应采用高效液相色谱（HPLC）、SDS-PAGE、紫外吸收（如 OD_{260}/OD_{280}
234 比值测定）等方法评估产品的总纯度水平。

235 5.2.2 工艺相关杂质

236 对于工艺相关杂质，应检测细胞来源的污染物的残留水平，例如来自包装细胞系或细菌
237 的宿主细胞蛋白和宿主细胞 DNA。对于生产中使用了辅助病毒、质粒 DNA、牛血清、Benzonase
238 核酸酶、抗生素等的制品，还应分别检测其残留量或残留活性。如在生产中使用了其它对人
239 体有害的试剂，如有机溶剂等，也应在制品中进行相应的检测。生产过程如使用致瘤细胞系，

240 残留 DNA 水平应严格控制并保持在最低水平。

241 采用复制缺陷型或条件复制型病毒载体时，应对复制型病毒或野生型病毒进行检测，且
242 残留水平应控制在一定限度，限度标准应依据制品的非临床和/或临床数据确定；明确具有
243 较大临床安全性风险的，应证明制品中不存在复制型病毒或野生型病毒。经充分验证证明生
244 产工艺对工艺相关杂质已有效控制或去除，并达到可接受的水平，相关残留物的检定项目可
245 不列入成品的常规放行检定中。

246 5.2.2 制品相关杂质

247 对制品相关杂质的检测包括非功能形式的载体、共包装的无用基因序列等。例如，在可
248 能的情况下，应控制病毒载体的空壳粒数和聚集体，对于质粒 DNA，应控制不同质粒形式
249 的比例等。

250 5.3 效价

251 根据制品具体情况应建立至少一个反映疗效的生物效价指标。效价测定通常包括对基因
252 转移效率（感染性/转导效率/传递效率）、治疗序列表达的水平、表达产物的功能或整个制
253 品的直接活性（例如肿瘤细胞杀伤活性等）的测定。效价应尽可能采用定量的方法测定。首
254 选体外生物效价检测方法，如体外感染、转染或转导易感细胞后，对表达产物的功能测定（例
255 如测定酶活性、细胞生长的刺激或抑制等）。当转基因表达的生物学功能表现出的活性范围
256 过宽或仅能产生半定量甚至仅为定性结果时，可采用酶联免疫吸附测定（ELISA）或其他定
257 量方法测定治疗序列的表达水平，作为补充的效价测定方法。体外方法不可行时，可采用动
258 物离体组织或动物体内检测方法，必要时可采用转基因动物或移植了人体组织或系统的动物。
259 效价测定需要采用相应的活性标准品或参比品，用于计算供试品的相对效价或作为对照。

260 5.4 含量

261 根据制品组成情况，应对总颗粒数、感染性滴度或感染性颗粒数、基因组 DNA/RNA 或
262 质粒 DNA 的量或浓度进行适宜的组合来测定原液和成品的含量，并用参比品或对照品进行
263 比较计算或作为对照。在制品为病毒载体的情况下，还应进行总颗粒数与感染性滴度与感染
264 性颗粒数比例的测定和控制。

265 5.5 一般安全性试验

266 根据制品的具体情况而定，检测应至少包括无菌检查、细菌内毒素检查、异常毒性检查
267 等。

268 5.6 其他检测项目

269 根据制品的具体情况或具体剂型，通常的检测项目可包括外观、颜色、澄清度、可见异

270 物、不溶性微粒、pH 值、渗透压摩尔浓度、装量、水分、赋形剂、粒度和粒度分布、乳光、
271 折射率、zeta 电位、包封率、释放效应等。

272 **6. 贮存、有效期和标签**

273 基因治疗制品贮存应符合“生物制品贮藏和运输规程”规定，成品应在适合的环境条
274 件下贮存和运输。自生产之日起，按批准的有效期执行。

275 标签应符合“生物制品包装规程”要求和国家相关规定，标示内容至少应包括：

- 276 (1) 药品名称
- 277 (2) 每瓶的活性单位（如必要）；
- 278 (3) 每瓶有效成分含量；
- 279 (4) 每瓶标示体积（液体制剂）；
- 280 (5) 批号和有效期。

281

282 **起草单位：中国食品药品检定研究院---重组药物室**

283 **联系方式：010-67095684**