

国家标准《生物技术-分析方法-细胞治疗产品的试验和表征的一般
要求及考虑因素》
(征求意见稿)

编制说明

《生物技术-分析方法-细胞治疗产品的试验和表征的一般要求及考虑
因素》标准起草组
2025 年 03 月

目录

（一）工作简况.....	3
（二）国家标准编制原则、主要内容（如技术指标、参数、公式、性能要求、试验方法、检验规则等）及其确定依据（包括试验、统计数据），修订国家标准时，还包括修订前后技术内容的对比.....	5
（三）主要试验（或验证）的分析、综述报告，技术经济论证，预期的经济效益、社会效益.....	6
（四）与国际、国外同类标准技术内容的对比情况，或者与测试的国外样品、样机的有关数据对比情况.....	13
（五）以国际标准为基础的起草情况，以及是否合规引用或者采用国际国外标准，并说明未采用国际标准的原因.....	13
（六）与有关的现行法律、行政法规及相关标准的关系	13
（七）重大分歧意见的处理经过和依据.....	13
（八）涉及专利的有关说明.....	14
（九）实施国家标准的要求，以及组织措施、技术措施、过渡期和实施日期建议等措施建议.....	14
（十）其他应予说明的事项.....	14

国家标准《生物技术 分析方法 细胞治疗产品的试验和表征的一般要求及考虑因素》编制说明

（一）工作简况，包括任务来源、协作单位、起草过程、国家标准主要起草人及其所做的工作等

1、任务来源

本项目根据国家标准化管理委员会于2024年3月25日下达的2024年第一批推荐性国家标准计划的通知（国标委综合〔2024〕16号），本项目计划编号为20240390-T-469，名称为生物技术 分析方法 细胞治疗产品的试验和表征的一般要求及考虑因素，本标准等同ISO 23033: 2021《生物技术 分析方法 细胞治疗产品的试验和表征的一般要求及考虑因素》。

本标准由全国生化检测标准化技术委员会（SAC/TC 387）提出并归口。

本标准由中国测试技术研究院、四川省标准化研究院联合起草。

项目完成周期是16个月，计划完成日期2025年7月。

2、目的和意义

近年来，细胞治疗已展现出广泛的治疗潜力。干细胞治疗在血液系统疾病、心血管疾病、神经系统疾病、糖尿病、免疫系统疾病等多个领域取得了显著成果，部分产品已进入临床试验阶段或获得上市批准。免疫细胞治疗，特别是 CAR-T 细胞治疗，在肿瘤治疗领域取得了突破性进展，为患者提供了新的个性化治疗选择。随着细胞治疗产品的上市，增加了对高质量、稳健且经过验证的测量方法的需求，以表征和测试含有细胞作为活性物质的产品的质量属性。由于活细胞和细胞样本的复杂性和高度动态性、细胞类型和处理步骤的易损性不同、对基础细胞生物学缺乏了解以及与生物加工和测量过程相关的大量参数，定量测量细胞治疗产品具有挑战性。同时，生物变异性进一步使测量复杂化。此外，不同的供体样本对处理步骤的敏感性可能不同，这使得在测量过程中进行过程控制的需求变得更加关键。

本文件旨在提供一种通用方法来设计适合目的的分析方法，用于测量和评估细胞治疗产品的质量属性。本文件的各个方面也适用于病毒、外泌体和抗体生产中使用的细胞的测试和表征。选择和设计适合目的的分析方法的一般过程可应用于细胞起始材料、中间体、细胞最终产品、对照细胞、饲养细胞和用于测定的细胞（例如靶细胞）。它还提供了理解、最小化和监测变异源的一般方法。可接受的准确度和精密度水平由测量结果的生物学含义

和测量过程的实际限制决定。

本文件还提供为最终细胞治疗产品测试制定规范的一般考虑。提供了为常见类别的关键质量属性 (CQA) (即用于确定细胞来源、细胞计数、纯度或杂质、效力或相关生物学活性、活力、无菌性、稳定性和成熟度概况的属性) 建立分析方法和分析策略 (包括分析方法矩阵方法) 的一般考虑。

本文件通过为细胞表征技术提供技术指导, 完善细胞治疗产品表征和测试分析方法的战略发展方法, 为相关表征方法标准的建立提供技术指导原则。

3、协作单位

瑞孚迪生物医学(上海)有限公司

4、标准编制过程和主要工作过程

(1) 2023年1月至2023年6月, 标准起草单位组织相关技术人员对《生物技术 分析方法 细胞治疗产品的试验和表征的一般要求及考虑因素》标准项目进行了预研, 课题组成员广泛收集了国内外《生物技术 分析方法 细胞治疗产品的试验和表征的一般要求及考虑因素》标准、文献, 了解了国内外相关技术动态, 并且明确了工作思路和进程安排。

(2) 2023年9月标准起草组向全国生化检测标准化技术委员会提交了项目建议书以及国家标准草案, 并于2023年9月16日会议全体委员通过评估。

(3) 2024年4月收到全国生化检测标准化技术委员会生检标〔2024〕5号文件以及该标委会转发的国标委综合〔2024〕16号《国家标准委关于下达2024年第一批国家标准制修订计划的通知》立项文件, 计划编号: 20240049-T-469。

(4) 2024年12月, 起草小组对全国生化检测标准化技术委员会汇报了《生物技术 分析方法 细胞治疗产品的试验和表征的一般要求及考虑因素》标准的起草工作, 与会专家就《生物技术 分析方法 细胞治疗产品的试验和表征的一般要求及考虑因素》标准(草案)进行了讨论, 提出了宝贵的意见和建议。标准起草小组根据专家意见进行了修改和完善。

(5) 2024年12月至2025年3月, 进行《生物技术 分析方法 细胞治疗产品的试验和表征的一般要求及考虑因素》标准的起草研制工作。完成了《生物技术 分析方法 细胞治疗产品的试验和表征的一般要求及考虑因素》标准的编制说明, 并对全国生化检测标准化技术委员会汇报了《生物技术 分析方法 细胞治疗产品的试验和表征的一般要求及考虑因素》标准(草案)进一步完善和修改情况, 向全国生化检测标准化技术委员会提交了《生物技术 分析方法 细胞治疗产品的试验和表征的一般要求及考虑因素》标准(征求意见稿)和编制说明。

5、国家标准主要起草人及其所做的工作

本标准主要起草人有：

下表为具体分工情况说明：

（二）国家标准编制原则、主要内容（如技术指标、参数、公式、性能要求、试验方法、检验规则等）及其确定依据（包括试验、统计数据），修订国家标准时，还包括修订前后技术内容的对比

1、标准编制原则

本标准的编制依据GB/T 1.1-2009《标准化工作导则 第1部分：标准的结构和编写》，并参照GB/T 6379.1-2004《测量方法与结果的准确度（正确度与精密度）第1部分 总则与定义》和GB/T 6379.2-2004《测量方法与结果的准确度（正确度与精密度）第2部分 确定标准测量方法重复性与再现性的基本方法》。

本标准是在ISO 23033:2021《生物技术-分析方法-细胞治疗产品的试验和表征的一般要求及考虑因素》的基础上，结合我国常用的细胞治疗产品质量属性表征方法，对ISO 23033:2021现有的主要内容全部采纳而制定本标准，制定本标准时遵循以下原则：

1）根据市场应用和行业技术的实际情况出发，最大限度的促进我国细胞治疗产品质量属性检测需求中高质量、稳健且经过验证的测量方法的建立。本标准对细胞治疗产品研发、生产、产品质量检验、进出口贸易提供技术依据，并为行业未来的技术发展留有一定空间，使标准具有一定的前瞻性。

2）本标准与现行相关法律法规、标准等协调一致。

3）根据生产实际和应用需求，在确定本标准的通用方法设计适合目的的分析方法、细胞治疗产品关键质量属性、用于确定细胞治疗产品身份、细胞计数、纯度或杂质、效力或相关生物活性、活力、无菌性、稳定性和成熟度概况的属性建立分析方法和分析策略等内容时，综合考虑行业的需求、科学研究需要和用户的利益，寻求最大的经济和社会效益，充分体现了标准在技术上的先进性、科学性和经济上的合理性。使标准内容更加完善、全面，且易于实施和应用。

4）根据国情，标准制订坚持面向市场、服务产业的原则。结合我国细胞治疗产业的实际现状，并能引领和促进细胞治疗产品质量水平的提升为目标而修订，提高标准的综合水平。使标准要适应市场需求，满足行业发展，为科研开发、企业的生产、质量检验、进出口贸易提供技术指导，同时有助于引导本行业采用本标准进行规范化生产，具有一定的

先进性。

2、确定国家标准主要内容（如技术指标、参数、公式、性能要求、试验方法、检验规则等）及其确定依据（包括试验、统计数据）

本标准全文分为 8 章和 2 个附录。标准的主要内容如表 2 所示：

表 2 本标准的主要内容

章条	名称	内容摘要
1	范围	包含用于人类的细胞治疗产品测试的一般要求，细胞治疗产品特征的考虑因素，包括选择和设计适合目的的分析的方法。适用于细胞起始材料（包括组织工程产品的起始材料）和细胞治疗产品的中间体。
2	规范性引用文件	本标准无规范性引用文件
3	术语和定义	ISO/IEC 指南界定的以及下列术语和定义适用于本文件。
4	细胞起始材料	阐述细胞的来源和生物加工对细胞治疗产品的质量属性的影响。阐述细胞来源以及生物加工过程详细信息的记录方法。
5	质量属性评估的适合分析方法的设计	解释细胞治疗产品关键质量属性，阐述设计关键质量属性分析方法的考虑因素和设计方法。
6	分析方法鉴定、确认和持续验证	阐述分析方法确认和验证的考虑因素以及性能标准的建立。
7	细胞治疗产品的检验	阐述细胞治疗产品的规范和放行标准建立的考虑因素，细胞治疗产品检验的要求。
8	报告	阐述对细胞治疗产品测试结果评估的报告要求和内容。
9	附录 A	说明性附录，细胞治疗产品测试策略的建立
10	附录 B	说明性附录，细胞分析方法中潜在的变异源实例

确定依据

本标准等同采用 ISO 23033:2021 《生物技术 分析方法 细胞治疗产品的试验和表征的一般要求及考虑因素》。

（三）主要试验（或验证）的分析、综述报告，技术经济论证，预期的经济效益、社会效益和生态效益

1 实验材料及仪器

1.1 试剂

细胞活性染料（AO/PI、Calcein AM、Cell Tracker 等）、细胞表面标志物抗体、Elisa 试剂盒、qPCR 试剂、细胞培养基、血清、鲎试剂等

1.2 溶液

PBS 缓冲液等

1.3 仪器

荧光细胞计数仪、多功能酶标仪、高内涵成像分析系统、全视野细胞扫描分析仪、活细胞监测系统、小动物活体成像系统、流式细胞仪、自动化液体处理工作站等。

2 实验方法

2.1 指标的建立

通过以标准中章节5质量属性评估的适合分析方法的设计为指导原则，细胞治疗产品应通过一组属性（特性）来描述，这些属性通常称为关键质量属性（CQA），细胞治疗产品的CQA应该包括但不限于：身份特征、细胞计数、细胞活力、纯度或杂质、效力或相关生物活性、稳定性以及微生物含量。根据细胞治疗产品的预期用途，通过一种方法或分析方法矩阵，建立满足质量属性检测需求的分析方法。分析方法建立中就尽可能使用代表性样本、标准物质、有质量保证的分析试剂以及经过安装确认（IQ）、操作确认（OQ）和性能确认（PQ）的仪器设备，仪器硬件和软件应满足测试需求，尽可能对参与分析的仪器设备的性能，包括但不限于特异性、灵敏度、范围、线性或比例性、可重复性、准确性、可用性进行验证或校准。

根据上述原则，推荐采用下列相关方法对细胞治疗产品关键质量属性进行分析，分析方法应适用于细胞起始材料、细胞治疗最终产品在研发、生产、放行、临床试验以及临床使用中关键质量属性表征：

采用章节 5 质量属性评估的适合分析方法的设计中细胞治疗产品关键质量属性描述中身份特征、细胞计数和细胞活率%的检测。分析方法采用基于成像的吖啶橙（AO）和碘化丙锭（PI）染料排除法进行细胞计数和活率分析、基于高内涵成像分析对细胞表型进行鉴定、基于二代测序对基因组特征进行分析、基于多功能酶标仪，检测细胞代谢活性及增殖活性。

采用章节 5 质量属性评估的适合分析方法的设计中细胞治疗产品关键质量属性描述中细胞纯度和杂质的检测。分析方法采用流式细胞术分析细胞群占比、Elisa 方法检测残留蛋白（如培养基中的牛血清蛋白）、qPCR 方法检测宿主细胞残留 DNA、毛细管电泳方法检测宿主细胞残留 DNA。

采用章节 5 质量属性评估的适合分析方法的设计中细胞治疗产品关键质量属性描述中效力或相关的生物活性的检测。分析方法采用高内涵成像检测细胞杀伤能力、采用流式细胞术检测细胞杀伤能力、高内涵成像检测细胞分化能力、全视野成像检测细胞增殖能力、Elispot 方法检测细胞因子分泌、ALPHALISA 或 HTRF 方法检测细胞因子分泌、动物活体成像系统建立可视化疾病模型检测、动物活体成像系统监测体内免疫细胞动态、动物活体成像系统分析体内细胞杀伤能力。

采用章节 5 质量属性评估的适合分析方法的设计中细胞治疗产品关键质量属性描述中微生物含量检测。分析方法采用膜过滤法无菌检测、PCR 法支原体检测。

还可根据具体检测需求，开发基于自动化系统的相关自动化实验程序。

还可根据产品类型，补充病毒安全性（病毒滴度测定）、致癌性评估（克隆形成实验）、转染效率分析等检测内容。

根据章节 5 中分析方法矩阵设计内容，采用一种或多种以上方法（但不限于以上方法）对关键质量属性进行测试。

2.2 关键指标的测定

根据标准中章节6 分析方法鉴定、确认和持续验证为指导原则，根据测试方法的应用、研发阶段、样本可用性、经验和环境来制定测试方法的鉴定或验证计划。对满足预期目的的分析方法进行验证，验证内容包括但不限于：准确性、重复性、特异性、灵敏度、线性或比例性、范围。除了这些验证特性外，在分析方法用于常规测量的情况下，还应确定下列特征：稳健性、坚固性及可重复性。并在分析方法的常规执行中，对分析方法进行持续验证，例如开发基于自动化系统的相关自动化实验程序并加以验证。

以下列出部分对细胞治疗产品关键质量属性建立分析方法的部分验证结果。

2.2.1 细胞计数线性

取理论值为 10^6 细胞/ml 的人源 PBMC 样本，连续 2 倍梯度稀释，使用图像细胞计数仪

直接计数，制作浓度曲线，经测试结果线性大于 0.999，见图 1。

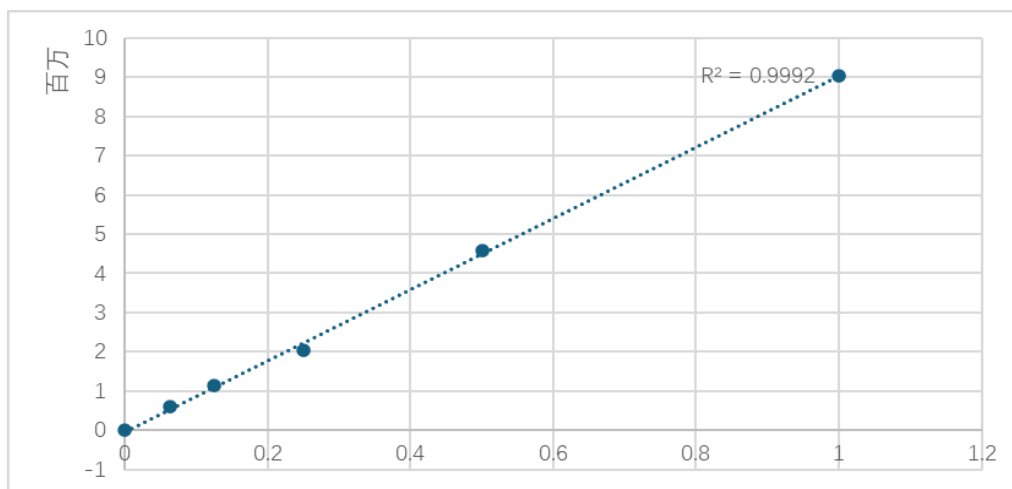


图 1 人源 PBMC 样本线性

取新鲜 Jurkat 细胞，细胞活率为 80%以上，分为两份并且分别标记为“存活组”和“死亡组”，死亡组细胞用沸水热处理，将两组细胞按表 3 进行混合，混合后使用图像细胞计数仪进行计数，制作活率曲线，经测试结果线性大于 0.999，见图 2。

理论存活率	100%	75%	50%	25%	0%
活细胞	200μL	150μL	100μL	50μL	0μL
死细胞	0μL	50μL	100μL	150μL	200μL

表 3 细胞活率线性

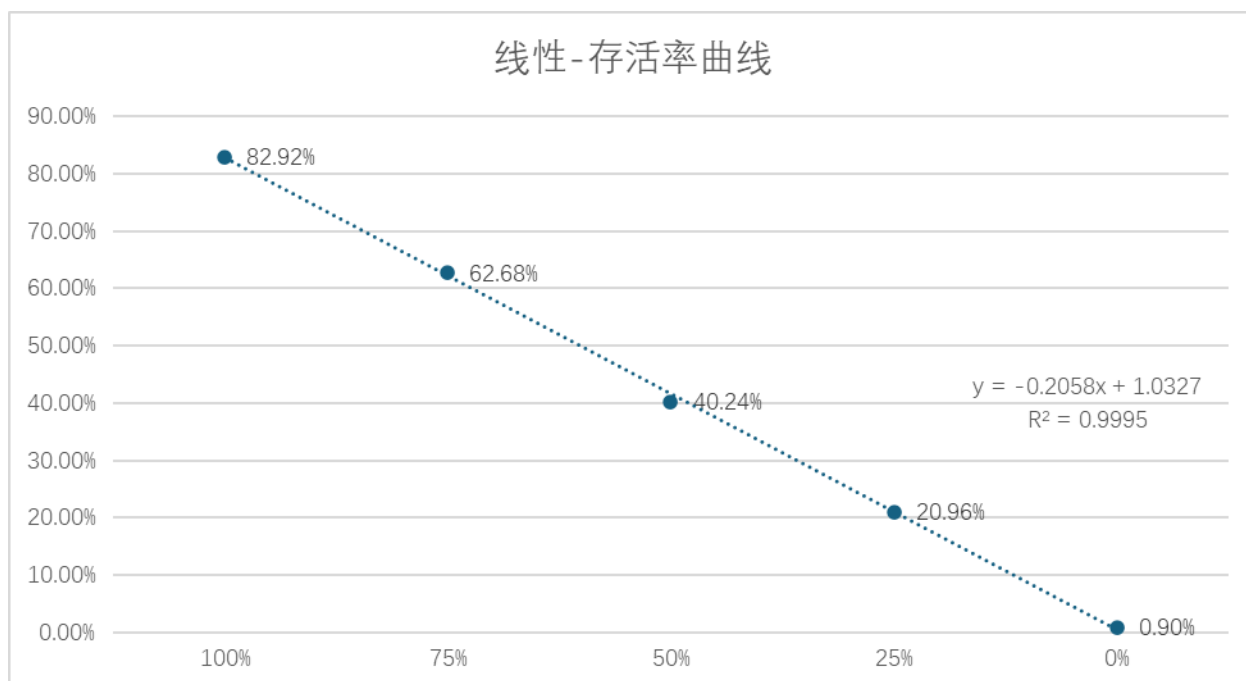


图 2 Jurkat 细胞活率线性

2.2.2 细胞计数重复性

分别取高、低浓度两份人源 PBMC 样本，使用图像细胞计数仪在 30 分钟内对同一样品进行 15 次检测，结果如表 4 所示，方法重复性的 RSD 小于 5%。

组别/次数	高浓度		低浓度	
	浓度	活率	浓度	活率
1	1.88E+06	86.80%	5.13E+05	81.00%
2	1.94E+06	85.80%	5.20E+05	89.90%
3	1.93E+06	85.50%	5.09E+05	84.30%
4	2.01E+06	87.20%	4.98E+05	84.60%
5	1.92E+06	84.60%	5.08E+05	86.90%
6	1.89E+06	85.90%	5.19E+05	80.00%
7	1.96E+06	85.80%	5.04E+05	81.20%
8	1.89E+06	85.20%	5.17E+05	79.60%
9	1.97E+06	87.80%	4.96E+05	78.80%
10	1.97E+06	87.30%	5.00E+05	77.60%
11	1.96E+06	82.40%	4.98E+05	82.30%
12	2.04E+06	82.80%	5.01E+05	78.80%
13	2.02E+06	82.20%	5.11E+05	80.70%
14	1.90E+06	87.80%	4.93E+05	82.80%
15	2.00E+06	84.10%	4.97E+05	80.20%
平均值	1.95E+06	85.41%	5.06E+05	81.91%
标准偏差	5.07E+04	1.88E-02	8.92E+03	3.33E-02
RSD%	2.60	2.20	1.76	4.07

表 4 细胞计数重复性验证结果

2.2.3 毛细管电泳检测宿主细胞 DNA 残留-样本浓度检测重复性

取浓度为 200 pg/ul 的标准 DNA 片段样本，对其进行不同倍比稀释，使用毛细管电泳系统在一天内对同一样本进行 5 次检测，结果如表 5 所示，方法重复性的 RSD 小于 5%，并且验证该方法浓度检测限为 2.5 pg/ul。

理论浓度	第一次	第二次	第三次	第四次	第五次	平均浓度	CV
200pg/ul	198.7	199	197.5	202.8	201.3	199.86	1.07%
150 pg/ul	148.6	152.8	148.2	150.3	151.9	150.36	1.33%

100 pg/ul	101.4	98.2	99.1	101.1	101.5	100.26	1.51%
50 pg/ul	50.6	52.2	50.8	50.3	50.7	50.92	1.45%
25 pg/ul	24	24.9	24.7	24.8	24.9	24.66	1.53%
10pg/ul	9	9.7	10.2	10.1	10	9.8	4.95%
8pg/ul	8.5	7.8	8	7.8	8.3	8.08	3.85%
4pg/ul	3.7	3.6	3.7	3.9	4	3.78	4.35%
2.5pg/ul	2.5	2.1	2.3	2.5	2.4	2.36	7.09%

表 5 宿主细胞 DNA 残留检测重复性验证结果

2.2.4 基于自动化 qPCR 体系的病毒检测

qPCR 体系构建采用自动化液体工作站运行程序，使用 qPCR 方法定量，根据已知浓度标准品制作标准曲线，经测试结果线性大于 0.999，结果见图 3 和表 6。

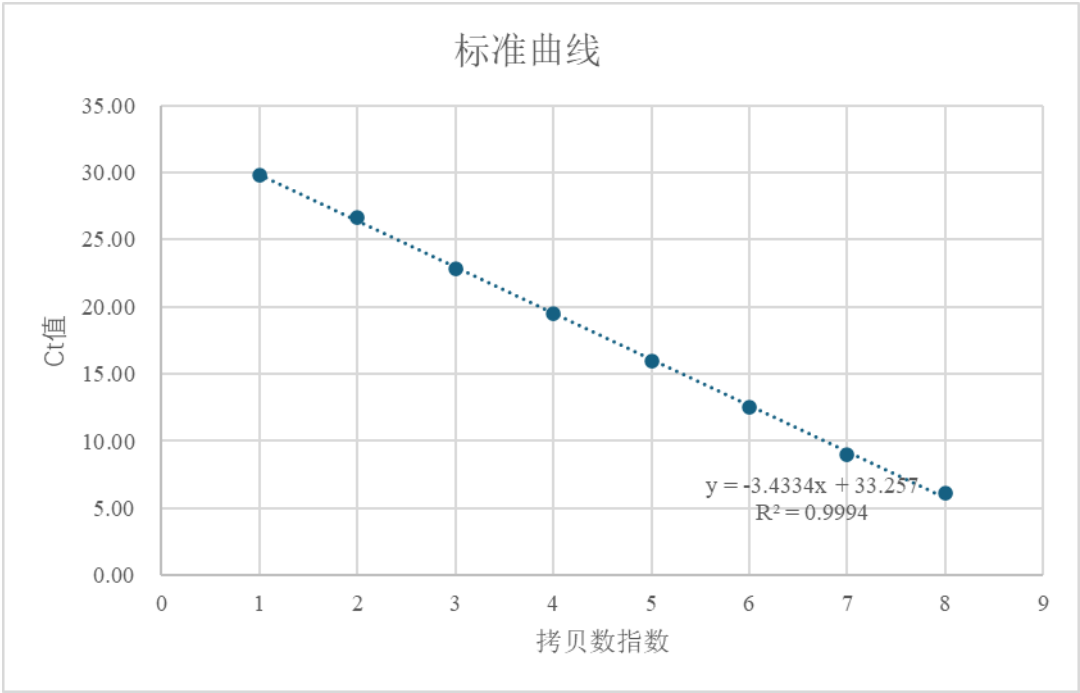


图 3 标准品线性

标准品拷贝数	Ct 值			Ct 值平均数	CV
	1	2	3		
2.00E+08	6.17	6.15	6.12	6.15	0.33%
2.00E+07	9.12	8.96	8.91	9.00	1.00%
2.00E+06	12.59	12.5	12.49	12.53	0.36%

2.00E+05	16.03	15.99	15.86	15.96	0.45%
2.00E+04	19.56	19.5	19.44	19.50	0.25%
2.00E+03	23.06	22.8	22.75	22.87	0.59%
2.00E+02	26.74	26.62	26.67	26.68	0.18%
2.00E+01	29.8	29.78	29.76	29.78	0.05%

表 6 标准品拷贝数

通过基于自动化 qPCR 体系的分析方法，对样本进行测试，测试结果如表 7，样本的 RSD 小于 1%。

Sample ID	Ct 值			Ct 值平均数	CV
	1	2	3		
DS	15.28	15.35	15.43	15.35	0.40%
AE	16.18	16.24	16.28	16.23	0.25%
AC	16.96	16.98	17.14	17.03	0.47%

表 7 样本实测结果

3.方法验证

根据标准要求，标准起草小组对 细胞计数线性及重复性等关键指标参数进行了验证，实验验证样品由本标准起草单位提供，使用本文件规定的方法进行检测，结果见上述分析，产品符合本文件技术要求。

课题组对生物技术 分析方法 细胞治疗产品的试验和表征的一般要求及考虑因素进行了验证，验证结果满足该标准要求。说明该方法稳定可靠。

4、经济与社会效益

细胞治疗产品的出现增加了对高质量、稳健且经过验证的测量方法的需求，以表征和测试含有细胞作为活性物质的产品。分析方法用于细胞起始材料、过程测试以及产品一致性测试、可比性研究和稳定性测试的一部分。这些分析方法用于评估与产品质量特征和制造控制（过程控制）相关的属性，并在临床研究和商业化的所有阶段确定身份、纯度、细胞计数、活力、效力和稳定性。质量属性用于确保只发布符合规定规格的产品批次。质量属性还用于稳定性测试和趋势分析以及过程指标。

分析方法还通过提供对生物作用机制的洞察并促进推动制造业发展的研发来支持新细胞治疗产品的开发。此外，分析方法还用于评估和比较不同批次的细胞治疗产品。

本标准的研制有利于提高细胞治疗产品在质量属性分析方面获取数据的可信度、支持流程的选择和优化、提供可用于鉴定关键性能参数分析验证方法。提供具有更高可信度的生物技术和生物科学工业数据，推动产业规范化发展，提升产品质量，减少研发及生产的风险和成本，促进与国际标准对接和产品出口。通过标准化表征方法确保产品质量一致性，提升治疗细胞效果的可预测性，促进具有精准化、个性化属性的治疗产品落地。同时，通过标准互认，参与国际细胞治疗标准制定，推动“中国标准”国际化。

（四）与国际、国外同类标准技术内容的对比情况，或与测试的国外样品、样机的有关数据对比情况

本标准等同采用 ISO 23033:2021《生物技术-分析方法-细胞治疗产品的试验和表征的一般要求及考虑因素》，与 ISO 23033:2021 相比，无技术差异。

（五）以国际标准为基础的起草情况，以及是否合规引用或者采用国际国外标准，并说明未采用国际标准的原因

本标准等同采用 ISO 23033:2021《生物技术-分析方法-细胞治疗产品的试验和表征的一般要求及考虑因素》，与 ISO 23033:2021 相比，无技术差异。

（六）与有关的现行法律、行政法规及相关标准的关系

1、按照GB/T 1.1-2009《标准化工作导则 第1部分：标准的结构和编写》，并参照GB/T 6379.1-2004《测量方法与结果的准确度（正确度与精密度）第1部分 总则与定义》和GB/T 6379.2-2004《测量方法与结果的准确度（正确度与精密度）第2部分 确定标准测量方法重复性与再现性的基本方法》进行编写；

2、采用ISO 23033:2021《生物技术-分析方法-细胞治疗产品的试验和表征的一般要求及考虑因素》；

3、参照相关法律、法规和规定，在编制过程中着重考虑了科学性、适用性和可操作性。

（七）重大分歧意见的处理经过和依据

无重大分歧意见

（八）涉及专利的有关说明

无涉及专利

（九）实施国家标准的要求，以及组织措施、技术措施、过渡期和实施日期建议等措施建议

1）首先应在实施前保证标准文本的充足供应，使每个细胞治疗产品生产厂商、研究单位以及检测机构等都能及时获得本标准文本，这是保证新标准贯彻实施的基础。

2）本次制定的标准，不仅与细胞治疗产品研制企业有关，而且与研究院所、检测机构、医药生产等相关。对于标准使用过程中容易出现的疑问，起草单位有义务进行必要的解释。

3）可以针对标准使用的不同对象，如生产企业、质量监管等相关部门，有侧重点地进行标准的培训和宣贯，以保证标准的有效贯彻执行。

4）建议本标准批准发布即实施。

（十）其他应予说明的事项

无

标准起草组

2025 年 3 月