

脐带间充质干细胞制备及质量控制规范

1、范围

本文件规定了脐带间充质干细胞的术语和定义、基本要求、制备过程、质量控制以及质量评价。本文件适用于脐带间充质干细胞的制备与质量控制。

2、规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB 3095 环境空气质量标准

GB 18467 献血者健康检查要求

GB 19489 实验室 生物安全通用要求

GB 50073 洁净厂房设计规范

GB 50346 生物安全实验室建筑技术规范

GB 50591 洁净室施工及验收规范

3、术语和定义、缩略语

3.1 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1.1

供者 donor

提供用于细胞产品生产用细胞的个体。

3.1.2

采集 collection

从供体获得组织、细胞等生物样本的过程。

3.1.3

分离 separation

从供者（3.1.1）器官或组织中分离出细胞的过程。

3.1.4

冻存 cryopreservation

经过程序降温冷冻，并利用深低温冷冻储存技术，以减少细胞代谢活动，保存细胞生物学活性的过程。

3.1.5

复苏 thawing

细胞从脱离生长状态重新获得生长活力的过程。

3.1.6

样本 specimen

在特定时间从受试者或捐献者中采集的器官、组织等标本。

3.1.7

洁净区 clean zone

需要对环境中尘埃及微生物数量进行控制的房间（区域），其建筑结构、装备及其使用应当能够减少该区域内污染物的引入、产生和滞留。

3.1.8

干细胞质量控制 stem cell quality control

为达到临床级脐带间充质干细胞入库质量要求所采取的操作技术和管理程序。

3.1.9

细胞活率 cell viability

能够增殖、保持正常代谢活性的细胞占全部细胞的百分比。

3.1.10

放行检验 release testing

在干细胞已完成质量检验的基础上，对每种类型的每批次干细胞，在冻存入库及出库前所进行的相对快速和简化的检验。

3.2 缩略语

下列缩略语适用于本文件。

HBV: 乙型肝炎病毒 (Hepatitis B Virus)

HCV: 丙型肝炎病毒 (Hepatitis C Virus)

HIV: 人类免疫缺陷病毒 (Human Immunodeficiency Virus)

STR: 国际性独立商检机构 (Specialized Technology Resources, Inc.)

GMP: 药品生产质量管理规范 (Good Manufacturing Practice of Medical Products)

4、基本要求

4.1 场地与设施

4.1.1 脐带间充质干细胞制备机构选址应符合《药品生产质量管理规范》的要求，空气质量标准应符合 GB 3095 标准分级二级标准。

4.1.2 脐带间充质干细胞制备机构实验室或厂房应由具有洁净实验室设计建设资质的工程公司设计与建造，并应符合 GB 19489、GB 50073、GB 50346 和 GB 50591 的规定。建设完成后，各功能区域的洁净级别应由专业机构进行检测并出具合格证明。

4.1.3 干细胞制备功能区应按脐带间充质干细胞制备工艺进行各区域设计，符合《药品生产质量管理规范》和《干细胞制剂质量控制及临床前研究指导原则》的要求。干细胞制备机构应配备独立质量检测实验室，并符合 GB 19489 和 GB 50346 的规定。

4.2 设备和耗材

4.2.1 脐带间充质干细胞制备机构应优先选用符合《药品生产质量管理规范》和《干细胞制剂质量控制及临床前研究指导原则》要求，取得相关质量认证的设备、仪器、耗材和试剂。

4.2.2 脐带间充质干细胞制备机构应对设备、仪器、耗材和试剂的质量报告进行审核，必要时对耗材及试剂进行质量抽检，避免采购质量不合格的产品。

4.2.3 脐带间充质干细胞制备机构在设备和仪器正式使用前应做安装确认(IQ)、运行确认(OQ)和性能确认(PQ)，使用后应进行周期性再确认并定期进行第三方校准。

4.2.4 脐带间充质干细胞制备机构应对设备与仪器进行编号建档，并建立标准操作流程(SOP)，确保使用、运行、保养、维修记录完整可追溯，对于关键工艺相关设备参数应进行实时监测，及时对状态异常的设备进行校对和维修。

4.3 人员管理

4.3.1 脐带间充质干细胞制备机构应分别设立制备负责人、质量管理负责人和质量授权人岗位。由法人授权任命，任职资质应符合《药品生产质量管理规范》和《干细胞制剂质量控制及临床前研究指导原则》要求，定期接受岗位专业培训，制备负责人与质量管理负责人、质量授权人不应相互兼任，质量管理负责人和质量授权人可以兼任。

4.3.2 脐带间充质干细胞制备和质量控制技术人员应具备的健康要求：HBV、HCV、

HIV 及梅毒的抗体检测应为阴性，并且(矫正)视力正常，无色盲、色弱。

4.3.3 脐带间充质干细胞制备和质量控制技术人员应一年接受体检一次，有呼吸道感染或发热等疾病状态下不应进入洁净操作区，需完全康复后方可恢复岗位操作。

4.3.4 脐带间充质干细胞制备和质量控制技术人员上岗前应经过专业培训，内容包括但不限于干细胞理论与实践、生命伦理、干细胞法律法规、GMP 管理、细胞培养基基础、生物安全、仪器设备使用与维护方法、物料管理与清洁卫生、岗位职责、操作规范等内容。

4.3.5 脐带间充质干细胞制备和质量控制技术人员在独立执行所委派的工作之前应进行能力评估并通过，确保在岗人员具备相应资质。

5、制备过程

5.1 样本采集

5.1.1 脐带采集机构应取得《医疗机构执业许可证》。

5.1.2 脐带采集应符合医学伦理的相关要求，获取供者或法定代表人、监护人的同意和授权，并签署知情同意书。

5.1.3 应建立供者筛选标准，至少应包括既往病史和家族病史的调查、传染性疾病的結果、近期旅居史调查和当前健康状况报告。供者筛选宜参考 GB 18467 相关要求。

5.1.4 采集前应核对供者信息，并记录相关数据。

5.1.5 脐带采集过程应采取措施保护供者的健康和安全，并通过无菌技术最大限度降低污染、感染和病原传播的风险。采集用的接触采集物的试剂和物料应无菌，且在有效期内使用。

5.1.6 采集供者静脉血，尽量采用病原筛查试剂盒进行病原微生物检测。

5.2 样本运输

5.2.1 样本运输人员应经过专业培训并考核合格，对样本运输应制定规范及应急预案，并对样本运输全程做记录，包括但不限于运输的方式、条件、路径、时间、人员、地址及样本信息，相关记录入档保留至少 30 年。

5.2.2 样本运输应采用平稳、安全、快速的运输途径，宜采用冷藏运输车或专用标本冷藏运输箱运输。

5.2.3 运输过程中应防渗漏、防辐射、抗震动、耐压、耐热等，样本包装应贴上唯一识别码进行标识，粘贴生物安全类标识，提示样本的生物安全风险。

5.2.4 样本运输温度应维持在 2℃~8℃，运输时间应经过验证。

5.2.5 运输容器应经过验证并定期进行再验证，确保其处于有效运行状态。运输箱内

应配备温度记录仪，保证全程监控样本温度。

5.3 样本接收

5.3.1 样本接收人员应经过专业培训并考核合格，应遵从安全与准确的原则对样本接收制定规范及应急预案，并对样本接收过程进行记录，相关记录入档保留至少30年。

5.3.2 样本接收时，接收人员应做好自我防护工作，接触样本之前应佩戴手套与口罩，并对接收场所进行消毒。

5.3.3 接收样本后应先观察样本容器外包装的外观，检查有无破损。

5.3.4 检查外观后，工作人员应检查样本采集信息记录表是否齐全，同时确认记录表上信息是否填写完整，检查信息记录表信息是否与样本信息一一对应，样本及记录表上应贴有一致对应的条形码，做到样本与供者信息相对应，确认无误后进行接收并登记。

5.3.5 样本接收后，使用75%医用酒精消毒清理容器外表面，如不能及时对样本进行处理，需把样本保存在2℃~8℃条件下，最长时间应经过验证，应考虑对细胞的影响及微生物的影响。

5.3.6 样本量应能够满足制备和检测的最低要求。

5.3.7 样本接收后应及时将信息反馈给样本发送方。

5.4 分离与培养

5.4.1 取脐带组织进行STR检测。

5.4.2 可采用组织贴块法或酶消化法等方法分离脐带间充质干细胞，分离方法应经过验证。

5.4.3 脐带组织块或脐带消化产物的接种密度应适宜。

5.4.4 分离操作应符合无菌操作要求，保证无外源微生物污染。

5.5 细胞换液

5.5.1 脐带间充质干细胞换液应遵照《药品生产质量管理规范》和《干细胞制剂质量控制及临床前研究指导原则》的要求建立标准操作程序，保证无外源微生物污染，相关操作均进行记录并入档保存至少30年。

5.5.2 应对工艺进行验证，明确换液时机和换液频率，保障脐带间充质干细胞生长所需营养物质水平，并消除代谢物毒害作用。

5.5.3 换液操作时吸弃培养瓶中原有的部分或全部培养液，再加入新鲜培养液。首次换液需要在镜下观察到原代细胞完全贴壁和延展后方可进行。

5.5.4 培养基成分应符合脐带间充质干细胞分离与培养基本要求，优先采用 GMP 级别试剂。

5.6 细胞传代

5.6.1 脐带间充质干细胞传代应遵照《药品生产质量管理规范》和《干细胞制剂质量控制及临床前研究指导原则》的要求建立标准操作程序，保证无外源微生物污染，相关操作均进行记录并存档保存至少 30 年。

5.6.2 脐带间充质干细胞在达到 80%~90%融合度可进行传代操作，传代操作应密度适宜，且在规定时间内完成。

5.6.3 传代所使用消化酶应符合脐带间充质干细胞分离与培养的基本要求，优先采用 GMP 级别试剂。如必须使用动物源性消化酶，应确保其无特定动物源性病毒污染。

5.7 细胞冻存

5.7.1 脐带间充质干细胞冻存应遵照《药品生产质量管理规范》和《干细胞制剂质量控制及临床前研究指导原则》的要求建立标准操作程序，保证无外源微生物污染，相关操作均进行记录并存档保存至少 30 年。

5.7.2 经制备数量达到冻存要求的脐带间充质干细胞可进行冻存操作，冻存细胞应加入适当的冻存保护液，遵循程序降温原则，并放置在气相液氮罐中保存。

5.7.3 冻存液成分宜采用国家已批准的临床级产品或药品辅料，二甲基亚砷含量不应超过 10%，如必须使用动物源性血清，应确保其无特定动物源性病毒污染，不应使用海绵状脑病流行区来源的牛血清。

5.7.4 冻存细胞应标明干细胞名称、储存条件、代次、批次、冻存规格、冻存日期等信息，并具有唯一标识。

5.7.5 液氮冻存应使用符合要求的液氮容器，气相储存，由专人负责，保证液氮充足，保持在受控温度区间内。

5.7.6 应对存储装置中的细胞产品进行实时监控，定时记录温度，建立存储装置的警报系统监控细胞产品，当出现异常时发出警报。

5.7.7 应建立完善的细胞产品库存管理系统，确保细胞产品信息的可追溯和唯一性。

5.7.8 冻存的细胞产品入库前应暂存于暂存罐，经细胞产品的评价放行后，方可转移至永久储存罐。

5.8 细胞复苏

5.8.1 将冻存管从冷冻罐中取出后，尽快放入 37℃水浴锅中，轻摇冻存管使其内容物在 3 min 内融化。用 75%医用酒精擦拭冻存管外部后，将其移入无菌操作台内。

5.8.2 将干细胞悬液转移至含有培养基的离心管中进行离心，去除冷冻保护剂。离心后用完全培养基重悬干细胞，并将细胞按密度接种于培养容器中，放入 CO₂ 培养箱培养。

5.8.3 复苏后的细胞活率应不低于 80%。复苏后细胞的接种密度应适宜。

5.9 制剂制备

5.9.1 复苏检测合格的干细胞，按规定的接种密度进行接种、培养；融合度达到 70%~90%时，按规定的制剂类型制备成脐带间充质干细胞制剂。

5.9.2 按制剂质量标准进行检验，检验合格后进行制剂放行。

6、质量控制

6.1 质控内容

脐带间充质干细胞质量控制内容包括：细胞特性分析、理化特性分析、纯度和杂质分析、安全性分析和生物学活性分析。

a) 细胞特性分析：细胞形态、细胞鉴别（STR 谱系鉴别、细胞种属鉴别等）、细胞活性分析（细胞活率、活细胞数、群体倍增时间、细胞周期等）、生物标志物（流式细胞术分析细胞表面标记）；

b) 理化特性分析：外观、颜色、pH 值、明显可见异物、渗透压摩尔浓度、装量等；

c) 纯度与杂质分析：外源蛋白残留、抗生素残留等；

d) 安全性分析

1) 生物学安全性：成瘤性、致瘤性、非预期分化等；

2) 微生物学安全性：各种微生物（细菌、真菌、支原体和病毒等）、微生物代谢产物/衍生物（如细菌内毒素）等的污染。病毒污染包括种属特异性病毒（如人源/动物源病毒）、内外源逆转录病毒以及其他非特定病毒；

e) 生物学活性分析：诱导分化功能、免疫调控功能和组织再生功能，其中诱导分化功能包括成骨、成脂、成软骨细胞的分化功能检测，而免疫调控功能可通过检测免疫调控因子等来表征。

6.2 质控分类

6.2.1 批次质量检验

脐带间充质干细胞制备机构应对由同一供体、同一时间、同一地点、使用同一工艺采集和分离获得的干细胞进行例行批次质量检验。当制备工艺、耗材、试剂、场地或规模等条件发生时，制备机构应对多批次干细胞制剂进行质量检验，确保工艺和质量稳

定合格，记录入档保存至少 30 年。

6.2.2 放行质量检验

每一批次脐带间充质干细胞制剂在临床使用前应在完成例行质量检验的基础上，由干细胞临床研究机构质检平台进行快速和简化的质量检测，确认细胞合格后方可申请临床放行使用。相关记录报告应入档保存至少 30 年。

6.2.3 复核质量检验

脐带间充质干细胞制备机构应对每一批次干细胞制剂单独留样保存，详细记录批号、代次、生产日期、来源等信息。定期由国家或地方相关部门授权的专业细胞检验机构或实验室进行脐带间充质干细胞制剂的质量复核检验，并出具检验报告，入档保存至少 30 年。复核质量检验报告出具时间应在该批次脐带间充质干细胞制剂提出放行申请之前，并作为放行检验参考。

7、质量评价

7.1 质量评价内容

7.1.1 供者健康筛查结果应符合合格供者要求并签署了知情同意书。

7.1.2 脐带及检测标本的采集和运输符合相关要求。

7.1.3 脐带及检测标本的接收、标识以及暂存符合相关要求。

7.1.4 细胞分离、处理、检测区域应满足操作要求，有洁净要求的操作环境应满足相应级别环境要求，应有定期环境监测；细胞分离、处理各工序完毕后均应及时清场；现场应无污染及交叉污染，如有传染病原体或污染物，应得到有效隔离或清除。

7.1.5 细胞在分离、处理及检测等过程中所涉及的人员均已通过考核合格后上岗。

7.1.6 细胞分离、处理、检测等所使用的设备应符合设备管理要求（标识清晰正确，在合格计量校验期内定期维护保养等）；与细胞接触的器械应经消毒灭菌并在有效期内。

7.1.7 细胞制备、检测所用物料应经确认来自合格供应商，关键物料均应经抽样检测并确认其质量合格。试剂及耗材的有效期应在规定期限内，批号应按要求记录下来以便具有可追溯性。

7.1.8 细胞分离、处理、检测和过程监控程序应与机构批准的管理文件内容一致。记录填写应真实、完整、正确，关键计算结果应进行确认。

7.1.9 样本在采集、运输、制备、分离、冻存、发放过程中不存在任何重大偏差；若有偏差发生，均应通过合适的评价，并采取了有效的纠正措施。

7.1.10 数量及包装：装量细胞数量与临床需求一致；细胞包装满足运输要求，细胞

的内、外包装标签 内容与企业规定内容相符，经两人复核确认其准确性和完整性。

7.1.11 异常事件调查：过程中若出现异常，应进行调查处理，按调查处理意见执行。异常处理的有关记录应归入对应批次细胞制备档案中。

7.2 评价结论

7.2.1 如果 7.1 规定各项内容均满足质量评价要求，则视为合格品，可转为长期储存。

7.2.2 如果 7.1 规定各项内容未满足质量评价要求，则应视为不合格品，不可使用。不合格品的处理应符合医疗废弃物处理管理的相关规定，涉及传染性病原体阳性、致病性微生物阳性的不合格品应进行灭活处理。

参 考 文 献

[1] GB/T 37864 生物样本库质量和能力通用要求

[2] GB/T 42466 生物样本库多能干细胞管理技术规范

[3] 干细胞制剂质量控制及临床前研究指导原则（试行）（国卫办科教发〔2015〕46号）

[4] 人源干细胞产品药学研究与评价技术指导原则（试行）（国家药监局药审中心〔2023〕33号）

[5] WHO 实验室生物安全手册(第三版)

[6] 细胞治疗产品生产质量管理指南（试行）（国家药监局核查中心〔2022〕4号）

[7] 药品生产质量管理规范（卫生部令第79号）

[8] 中华人民共和国药典（2020年版）