

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19

基因治疗产品药学研究与评价技术指导原则
(征求意见稿)

国家药品监督管理局药品审评中心
生物制品药学部

2020年9月

20	目录	
21	一、前言	4
22	二、定义和范围	5
23	三、一般原则和风险考虑	5
24	四、生产用材料	7
25	1. 载体的选择和构建	7
26	1.1 目的基因	7
27	1.2 病毒载体系统	8
28	1.3 核酸类载体	10
29	1.4 微生物载体	11
30	2. 起始原材料	11
31	3. 其他生产用原材料和辅料	15
32	3.1 原材料	15
33	3.2 辅料	16
34	五、制备工艺与过程控制	17
35	六、质量研究与质量控制	20
36	1. 质量研究	20
37	1.1 结构和特性分析	20
38	1.2 生物学活性	21

39	1.3 纯度、杂质和污染物分析.....	22
40	1.4 含量.....	23
41	1.5 其他特性分析.....	24
42	2. 质量控制.....	24
43	七、稳定性研究.....	25
44	八、容器和密闭系统.....	26
45	九、环境和生物安全性.....	27
46		
47		
48		
49		
50		
51		
52		
53		
54		
55		
56		
57		
58		
59		
60		
61		
62		
63		
64		
65		
66		
67		
68		
69		
70		
71		

72 一、前言

73 近年来，随着基因递送系统和编辑技术的不断进步，基因治疗领
74 域发展迅速，为一些难治性疾病，尤其是罕见遗传疾病的治疗提供了
75 新的治疗思路和方法。为了规范和指导基因治疗产品按照药品管理规
76 范进行研究、开发和评价，制定本指导原则。由于生物技术发展迅速，
77 基因治疗产品类型日新月异，各类产品技术特点存在较大差异，本指
78 导原则仅基于当前的技术发展和科学认知，针对基因治疗产品药学研
79 究的特殊性提出一般性技术要求，以确保研究和治疗用药品的质量、
80 安全性和有效性。后续随着技术的发展、认知的深入和经验的积累，
81 将逐步补充和完善本技术指导原则，同时结合产业发展趋势，将针对
82 具体品种类型制定相应的技术指导原则。

83 本指导原则仅作为基因治疗产品的一般性技术要求，为基因治疗
84 产品相关企业的研发、申报提供指导意见，同时，也作为监管机构监
85 管和评价基因治疗产品的重要参考。基因治疗产品的研发应在符合
86 《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
87 法》、《中华人民共和国药典》等相关法律法规的前提下，遵循本指导
88 原则的相关技术要求，必要时可综合借鉴参考其他相关指导原则。由
89 于基因治疗产品发展迅速、类别多样，覆盖的临床适应症广泛，不同
90 研发阶段、不同临床适应症产品的药学研究不尽相同，本指导原则的
91 技术要求对具体品种或研究的适用性，应采用具体问题具体分析的原
92 则。

93 二、定义和范围

94 基因治疗产品通常由含有工程化基因构建体的载体或递送系统
95 组成，其活性成分可为 DNA、RNA、基因改造的病毒、细菌或细胞
96 等。根据基因载体类型的特性差异，基因治疗产品主要可分为以病毒
97 为载体的基因治疗产品、以质粒 DNA 为载体的基因治疗产品、RNA
98 类基因治疗产品，以及以细菌微生物为载体的基因治疗产品，其中以
99 病毒和质粒 DNA 为载体的基因治疗产品较为常见。

100 本指导原则所涉及的基因治疗产品是指导入人体后，在体内通过
101 对体细胞的遗传物质进行修饰、改变基因表达方式或调节细胞生物特
102 性以达到疾病治疗目的的药品。本指导原则不包括溶瘤病毒类产品和
103 CAR-T 细胞等离体基因修饰细胞治疗类产品，但此类产品的部分相
104 关研究，如病毒载体的制备等，适当条件下可以综合借鉴参考。

105 三、一般原则和风险考虑

106 基因治疗产品是在人体细胞内，利用“细胞工厂”进一步表达产
107 物或编辑细胞基因发挥功能的“活”的产品，因此，其药学研究和设
108 计应综合考虑产品的生产和体内生物学过程。基因治疗产品的研制总
109 体应符合《中华人民共和国药典》（以下简称《中国药典》）“人用基
110 因治疗制品”总论的要求，临床用样品的生产应满足《药品生产质量
111 管理规范》的基本原则和相关要求，重点关注生产过程中外源因子的
112 污染和交叉污染、生产人员的健康和安全防护、生产环境的生物等级

113 和安全隔离，以及生产产物或废弃物对环境的生物安全性影响。产品
114 的药学研究和质量控制应充分考虑各类产品的特殊性，基于“质量源
115 于设计”的理念，进行充分的工艺开发和全面的质量研究，总结生产
116 用材料和生产工艺对产品质量的影响，分析产品质量与临床安全性、
117 有效性的相关性，建立全过程的质控系统和全生命周期的管理理念。
118 建立完整的产品溯源体系，确保产品从生产到使用全过程的可追溯性。

119 基因治疗产品生产所选用的载体类型、细胞基质种类、生产工艺、
120 作用机制不同，产品风险存在较大差异，应根据产品风险等级制订相
121 应的风险控制方案。在评估产品的整体风险时，应综合考虑各种因素
122 对产品风险的影响。一般认为，缺少临床应用和/或动物安全性数据支
123 持，致病性和作用机制不明确的产品风险较高，开展人体研究之前应
124 进行更充分的立题讨论和机制研究，全面评估安全性风险并制定相应
125 的控制策略；对于积累了一定人体或动物安全性数据的产品，如进行
126 了新的结构改造或遗传修饰，经合理性评估后可定义为中等风险载体，
127 可针对改构部分重点制定风险控制策略；对于有充分的人体应用数据，
128 或有一定数量同类上市产品的安全性数据支持，结构和作用机制较为
129 清晰的载体，相对安全性风险较低，可根据前期的研究基础，在临床
130 研究过程中逐步完善风险控制方案。产品的风险识别贯穿于产品全生
131 命周期，应在产品生产和应用过程中不断收集数据，逐步识别潜在风
132 险，完善风险控制方案。

133 四、生产用材料

134 生产用材料是指生产基因治疗产品过程中所使用的所有物质或
135 材料，包括生产用原材料和辅料（如培养基及其添加成分、纯化物料
136 等所有生产过程中使用的物料）、起始物料（如生产用细胞、菌毒种
137 等）等。生产用材料直接关系到产品的质量，因此，研究应规范建立
138 生产用材料的质量管理体系，包括风险评估、供应商审计、质控体系
139 等。

140 1. 载体的选择和构建

141 1.1 目的基因

142 目的基因是指基因治疗产品中主要发挥治疗或调节作用的基因
143 序列及其相关调控元件，常见如功能蛋白的编码序列、靶向结合的核
144 酸转录序列等。目的基因的选择应基于充分的病因学研究，同时考虑
145 人种间的序列差异，以及对应基因产物在人体中的免疫原性、功能活
146 性、安全性。根据适应症和预期作用机制合理设计目的基因序列。由
147 野生型序列经密码子优化、基因突变、缺失和重排等修饰改造而来的
148 目的基因，应具有合理的改造依据；通过平台算法和序列规则设计的
149 靶向结合核酸序列，如 sgRNA、RNAi 序列，应充分评估算法和规则
150 的科学性，对序列的靶向特异性进行充分的验证。

151 目的基因表达调控元件的选择应重点考虑元件或其序列的体内
152 安全性，权衡元件对产品生产效率和体内表达疗效的影响。目的基因

153 序列若含有以瞬时或组织特异性的方式控制基因表达的转录调控元
154 件，应提供研究数据证明目的基因表达的特异性。

155 1.2 病毒载体系统

156 基因治疗常见病毒载体类型包括腺病毒载体、逆转录病毒载体、
157 慢病毒载体、腺相关病毒载体、痘病毒载体等，根据病毒载体是否整
158 合至靶细胞基因组可分为整合类和非整合类，根据载体的复制特性可
159 分为复制缺陷型、条件复制型和可复制型病毒载体。具体载体类型的
160 选择应根据病毒载体特性、临床适应症、作用机制、给药途径和给药
161 频率（即再治疗的潜在需要）等全面分析确定。载体的选择和设计应
162 考虑以下方面：

163 （1）亲本野生型毒株和相应病毒载体对人和其他动物的致病性
164 和毒力，必要时载体设计应考虑尽量删除毒力相关的基因或组分。

165 （2）亲本毒株在人群中的感染几率和基础中和抗体滴度水平，
166 人体免疫反应对病毒载体的体内分布、转导效率和治疗效果的影响。

167 （3）必要时，应最少化病毒载体的非必需元件，或对病毒包装
168 蛋白进行工程改造，使病毒载体具有复制缺陷性。

169 （4）最少化病毒载体与人类病原体或内源性病毒的同源序列，
170 降低重组产生新型感染性因子或复制型病毒的风险。

171 （5）载体对组织或细胞的亲嗜性，对靶组织或细胞的转导特异
172 性和转导效率。

173 （6）病毒载体基因序列的稳定性，突变序列的潜在安全性风险。

174 (7) 毒株或载体的改造对其免疫原性、致病性的影响，对现有
175 抗病毒疗法的敏感性是否发生改变。

176 (8) 病毒载体是否具有生殖毒性。

177 整合型载体应重点分析载体在基因组中的整合方式和整合位点
178 的分布趋势，评估其插入致细胞基因突变和细胞癌变的风险，制定相
179 应的临床监测方案。

180 对于复制缺陷型病毒载体，应对病毒载体的复制缺陷性进行验证。
181 载体设计、包装系统的选择应充分考虑生产系统通过同源或非同源重
182 组产生可复制型病毒的可能，在生产过程中对出现可复制型病毒的风
183 险建立全过程的控制策略，如，对适当的生产过程中的样品、原液，
184 以及终产品进行可复制型病毒的检测。

185 对于复制型病毒或条件复制型病毒载体，应结合病毒载体的安全
186 性和预期作用机制说明病毒结构和复制调控元件设计的合理性。载体
187 选择和结构设计时应重点考虑以下方面：(1) 病毒载体的复制能力对
188 适应症和作用机制的必要性；(2) 载体不应含有任何已知具有人体致
189 癌性/致瘤性的元件；(3) 评估改构之后病毒载体的致病性、感染活性
190 和毒力，应证明其人体使用的安全性；(4) 病毒载体的感染和/或复制
191 通常应具有相应的组织或细胞的特异性。

192 病毒载体系统的选择和设计应具有充分的合理性依据。由原始毒
193 株或保藏毒株改造而来的病毒载体，应提供病毒载体设计的科学性和
194 合理性依据，并根据毒株的既往培养历史和改造过程进行相应的鉴定
195 和安全性检验。病毒载体的构建过程信息应完整，避免改造过程中引

196 入外源因子，确保病毒基因组的单一性，对病毒载体的序列、结构的
197 正确性进行全面确认。载体的构建和检定过程应遵循逐步确认、互相
198 印证、补充完善的策略。

199 病毒载体的疗效和安全性取决于病毒对靶细胞的感染特异性和/
200 或目的基因在靶细胞中的特异性表达。产品开发过程中，应通过载体
201 的选择和设计、体外生物学活性验证、非临床研究、临床试验等多个
202 方面对载体的靶向特异性、目的基因的表达活性和表达时限进行验证。

203 1.3 核酸类载体

204 核酸类转导系统包括 RNA、DNA 质粒等核酸结构，经电转导或
205 化学介质转导进入细胞后，直接或转录、翻译、剪辑后在细胞内发挥
206 治疗作用。RNA、DNA 质粒等核酸载体结构、目的基因和相关调控
207 元件的设计应符合拟定适应症和预期作用机制，提供序列设计合理性
208 依据并充分考虑载体的序列稳定性、表达活性和免疫原性。核酸类载
209 体的起始原材料可能涉及质粒的构建、细菌种子库的制备，或化学合
210 成原料等，相应研究或质量控制应符合《中国药典》的相关要求，并
211 参考本指导原则相应要求。载体的质控一般包括鉴别、序列完整性、
212 特征序列、外源因子、无菌、内毒素等。质粒载体或 RNA 转录模板
213 应进行全基因序列测序，结果应与预期一致。载体的最终产物中应避
214 免存在抗生素抗性基因和致瘤性基因。化学合成用原材料的选用应遵
215 循质量级别高、杂质引入少、残留安全性风险低的原则。

216

1.4 微生物载体

217

218

219

220

221

222

223

224

225

微生物载体指经基因修饰用于表达目的基因、改变微生物遗传特性或生物活性的沙门氏菌、李斯特菌、大肠杆菌等微生物。研究应结合微生物的理化和生物学特性，说明微生物的改造依据和具体遗传改造过程，说明质粒或附加体(episome)的来源、质粒结构、构建过程、转导方法等，对微生物载体的基因组、生物学特性、改造基因、质粒或附加体的基因序列进行确认。微生物的改造应以降低或去除微生物的致病性，增强载体的治疗活性为目标，关注改造后微生物的致病性、目的基因表达活性和体内分布的改变。避免使用β内酰胺类抗生素抗性基因。

226

227

228

229

230

231

232

微生物载体建议建库管理，确保载体的单克隆性和稳定性。细菌种子库和内含质粒应符合《中国药典》的相关要求，并参考本指导原则相应要求。种子库的检定一般包括微生物的鉴别、理化特性、生长特性、纯度、无菌、支原体、噬菌体、基因组或质粒的遗传标记、限制性酶切、质粒或基因组插入序列、活性、抗生素抗性、基因拷贝数等。种子库的保存和传代稳定性，尤其是遗传稳定性应能满足生产和治疗要求，质粒的丢失率应符合预期。

233

2. 起始原材料

234

235

236

基因治疗载体系统的选择应基于产品的安全性和临床有效性考虑。不同载体类型可能包括质粒DNA、细胞基质、工程菌库、病毒种子库、产毒细胞株/库等部分或全部起始原材料。起始原材料应有清晰

237 的来源和完整的溯源性信息，根据载体类型、适应症、预期作用机制
238 等，综合考虑各起始原材料对产品质量、安全性和有效性的影响。所
239 有相关起始原材料均应进行充分的鉴定并建立明确的质量控制要求。

240 **包装/生产细胞：**病毒包装/生产细胞应符合来源和培养历史清楚，
241 安全性风险可控，满足生产技术和建库管理的基本原则。生产/包
242 装细胞的选择，除考虑细胞生物属性（如生长特性、包装效率等）对
243 病毒产量的影响外，应全面评估细胞对最终产品质量和安全性的潜在
244 影响，如细胞是否含有致癌基因、细胞成瘤性和致瘤性、内源性病毒
245 的污染、病毒载体在细胞内的重组风险等。原则上，生产应选用无病
246 毒污染的细胞基质用于病毒包装和生产，若细胞基质含有内源性病毒，
247 应全面评估其安全性风险，必要时在工艺中增加经验证的病毒去除/
248 灭活单元，并在终产品阶段对内源性病毒的残留进行控制。充分评估
249 病毒生产细胞的成瘤性和致瘤性风险，尽量避免肿瘤细胞系的选用，
250 如使用，应提供相关的研究资料说明使用的合理性和必要性，对细胞
251 中是否存在病毒整合基因或致癌风险基因进行分析，必要时对其残留
252 进行控制。在生产过程和产品放行等多个阶段对完整细胞的残留进行
253 控制。腺病毒等复制缺陷型病毒载体的生产，应使用不含同源序列或
254 最小量同源序列的细胞系用于病毒包装或生产，降低病毒载体在生产
255 细胞内的重组几率。

256 病毒载体的包装/生产细胞应建库管理，细胞库应符合《中国药典》
257 通则“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
258 求，一般包括：鉴别、纯度、细胞数量、活率、基因型和表型、理化

259 特性、外源因子等，关注细胞种属相关病毒和培养过程可能引入的潜
260 在外源因子的污染风险。细胞基质若进行了遗传修饰（如组成性表达
261 病毒包装蛋白或复制辅助因子等），应具体说明改造的依据和具体改
262 造过程，并对修饰结果，如基因序列、拷贝数等进行确认。细胞传代
263 稳定性应能支持病毒的生产稳定性和遗传稳定性，关注传代过程中细
264 胞成瘤性变化。

265 **质粒 DNA：**病毒包装系统的质粒来源、结构和序列应明确，优
266 先选用安全等级最高的系统用于病毒包装，否则，需要提供更多的安
267 全性研究数据支持。质粒设计应尽量去除非必需基因和致瘤性元件，
268 避免同源序列引起重组的安全风险。结合病毒载体的选择和作用机制，
269 具体说明筛选基因、表达调控元件、编码序列等组成元件的来源和功
270 能，提供质粒和病毒载体中毒力基因、病毒插入或复制调控相关元件
271 序列的改造依据，具体说明质粒构建过程，并对相应结果进行确认。
272 质粒序列中应尽量避免选用 β -内酰胺类抗性基因作为质粒筛选标记。
273 用于瞬时共转染生产病毒的质粒，其生产应基于细菌种子批系统，采
274 用稳定的细菌发酵和纯化工艺生产，每批质粒应通过放行检测方能用
275 于载体生产。

276 质粒的质控常包括鉴别、含量、质粒完整性、重要基因序列的确
277 认、纯度、宿主细胞 DNA 残留、宿主细胞蛋白质残留、无菌、内毒
278 素、热原等。对核酸类载体或微生物载体转导的质粒，应对目的基因
279 的表达活性进行确认，如有必要，应对基因表达量和表达产物的生物
280 学活性进行控制。

281 **细菌种子批：**细菌种子批的制备和检定应符合《中国药典》通则
282 “生物制品生产检定用菌种毒种管理规程”的要求，菌种的来源应清晰，
283 制备过程完整。细菌种子批的质控一般包括菌落形态、染色镜检、生
284 化特性、抗生素抗性检查、纯度、电镜检查、细菌、真菌、噬菌体等。
285 对于质粒生产用的细菌种子批或含有质粒、附加体微生物种子批，应
286 对含有的质粒序列进行确认，检测质粒拷贝数和有/无质粒细菌的比
287 例，小于 50kb 的质粒载体建议进行全质粒序列测定。微生物载体的
288 种子批应进行表型和基因型鉴定，经基因修饰的微生物，应对基因组
289 重要区域（如引入的治疗基因或调控元件，以及目的基因侧翼至少
290 0.5kb 内的区域）进行测序确认，对改造基因的插入位点、基因拷贝
291 数等进行分析，必要时检测目的基因的表达水平和功能活性。对于
292 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
293 性。种子批的遗传和表型稳定性应能满足生产和治疗需求。

294 **病毒种子批：**病毒包装辅助病毒、可复制性、条件复制性病毒等
295 可建库病毒载体应尽量建库管理，以确保批间的一致性和生产稳定性。
296 研究中关注病毒种子批的建立过程，并在申报资料中体现，必要时应
297 提供病毒基因组的示意图。建库过程应避免人源或动物源性原材料，
298 如动物血清的使用，如必须使用，应提供合理性依据并控制用量，对
299 引入外源因子的安全性风险进行控制。对于培养历史不清晰的毒株，
300 建库过程中可采用多轮噬斑或有限稀释纯化，或通过 DNA/RNA 进行
301 拯救，确保毒株的纯度和单克隆性。

302 病毒种子批的质控应符合《中国药典》“人用基因治疗制品”总

303 论的要求，一般包括鉴别（基因组和免疫特性）、病毒滴度、表型特
304 征、基因序列一致性、治疗序列的转录/表达、治疗序列或表达产物的
305 生物活性、无菌检查（细菌和真菌）、支原体检查、螺原体（昆虫细
306 胞）、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
307 制型）等。同时，还应对种子批历史传代和构建过程中可能引入的特
308 定外源病毒因子进行检测。除另有规定外，应对病毒基因组序列的完
309 整性和正确性进行分析，或至少应对重要区域（如目的基因和调控元
310 件，以及被人为修改的任何区域及其侧翼至少 0.5kb 内的区域）的序
311 列进行确认。

312 辅助病毒或病毒包装用病毒载体的制备，以及病毒种子库的检定
313 可综合参考起始原材料相关部分。

314 病毒种子批的传代稳定性研究条件应能代表或模拟临床样本生
315 产条件，结合病毒包装/生产细胞的传代稳定性研究，证明生产用病毒
316 种子批的遗传稳定性、目的基因表达稳定性和生产稳定性。根据传代
317 稳定性研究结果合理拟定病毒种子批和生产细胞库的限传代次。

318 3. 其他生产用原材料和辅料

319 3.1 原材料

320 生产原材料（或辅助材料）是指生产中所使用但不作为最终产品
321 成分的物料，如消化酶、抗生素、培养基、去污剂、纯化试剂等。生
322 产过程中所使用的原材料应符合《中国药典》通则“生物制品生产用
323 原材料及辅料的质量控制规程”的相关要求，原材料的质量应符合其

324 预期用途。

325 生产原材料的选用应经过充分的工艺开发,其来源、组成、用途、
326 用量和质量等情况应明确并合理,不必要的使用有可能增加残留的安
327 全性风险和引入外源因子的风险。具体说明原材料的来源、组分、功
328 能、使用阶段、质量标准等。生产过程中应避免使用牛血清、猪胰蛋
329 白酶等动物或人来源的原材料,尽量采用血清替代物或重组制品替代。
330 若必须使用,应提供相关的研究资料说明使用的必要性和合理性,并
331 针对原材料的物种来源、生产地区、生产工艺等建立完整的质控体系,
332 评估 TSE/BSE 安全性风险。严禁使用疫病流行区来源的动物血清,
333 不得使用未经过安全性检验的血清。生产过程中应避免使用青霉素等
334 β -内酰胺类抗生素、链霉素,以及溴乙锭等有毒有害试剂。生产过程
335 中使用的耗材和容器应符合生物安全性标准,避免产品发物理或化
336 学反应导致活性物质失活、活性下降或引入其他风险。

337 3.2 辅料

338 产品中辅料的选择、用量和质量标准应基于充分的制剂处方开发
339 研究,证明其使用的必要性、安全性和合理性。制剂辅料应符合《中
340 国药典》通则“生物制品生产用原材料及辅料的质量控制规程”的相关
341 要求,优先选用符合药用标准的辅料,质量应满足其预期功能作用。

342 对于新型递送系统或复杂转导系统,如纳米粒子、脂质体等,若
343 含有在人体首次使用或在给药途径中首次使用的新型辅料,应根据全
344 面的辅料药学信息评价辅料的质量控制和安全性,必要时应开展适当

345 的非临床或临床安全性评估。应对系统组分分别进行质量控制和安全
346 性评估，同时对辅料之间的相互作用和转导系统的稳定性进行验证研
347 究，提供其符合预期使用目的的支持性依据。如使用多种来源（如动物、
348 植物与合成来源）的或多个供应商的系统组分，应按照来源或供应商
349 分别提供信息，并进行特性鉴定与可比性研究，以证明采用不同来源
350 或供应商的原材料所生产的产品（理化特性和纯度特征以及复合性能）
351 具有等效性。

352 五、制备工艺与过程控制

353 基因治疗产品类型不同，制备工艺存在较大差异，一般是指从细
354 胞或微生物培养发酵到终产品密封保存的过程，但也可能是无细胞的
355 体外合成或转录体系，如 RNA 载体类产品。研究者应根据目标产品
356 的质量属性，通过充分的工艺开发，逐步建立从实验室规模到生产规
357 模的生产工艺。研究确定的生产工艺应具有合理的工艺步骤、明确的
358 工艺参数，以及全面的过程控制信息。工艺经过充分的验证应证明具
359 有可控性、可放大性和稳健性。建议尽量采用连续的、密闭式生产工
360 艺，减少生产过程中的环境暴露环节，如生产过程中存在不连续的情
361 况，应对生产过程中间品的保存条件和保存时限进行研究和验证。根
362 据生产过程的风险分析和对产品质量影响，建立全过程的质量监测和
363 控制策略，在适当的阶段对细菌、真菌、支原体、外源病毒等污染进
364 行检查。研究者应随着工艺技术的进步和产品理解的深入不断优化工
365 艺，提高产品一致性、安全性和有效性。

366 根据载体类型的不同，基因治疗产品的生产可能起始于工程菌库、
367 包装细胞库或产毒细胞库等。上游工艺往往决定了产品的质量，研究
368 应根据充分的工艺开发确定发酵工艺条件，如培养基及添加成分、发
369 酵规模和模式、培养时间、接种条件、收获时间，以及培养过程中 pH
370 值、渗透压、搅拌速度、pCO₂ 等培养条件。在提高产率的同时，研
371 究应优化工艺条件，提高载体的包装效率、包装准确性，以及产物的
372 生物学活性，减少空载体、错误包装载体、无活性载体、游离核酸等
373 产品相关杂质的产生，同时减少不必要的工艺相关杂质的引入。病毒
374 载体类基因治疗产品下游纯化过程往往缺少病毒去除/灭活工艺单元，
375 无法对病毒污染的潜在风险进行控制，因此在病毒种子或产品的外源
376 因子检查受限的情况下，建议在相同的生产条件下进行对照细胞的培
377 养和检定。RNA 类制品的体外转录制备工艺，应通过转录模板制备
378 和转录条件的控制，保证转录过程的稳定性和忠实性。

379 纯化工艺应根据产品类型、上游工艺和潜在的杂质合理设定，在
380 保证产品收率并稳定去除或降低生产过程中产生的产品相关杂质和
381 引入的工艺相关杂质的同时，应能维持产品的生物学活性。纯化工艺
382 性能经验证，如回收率、杂质清除效果等，应能保证工艺的稳定性。
383 发酵阶段若使用了辅助病毒、包装用病毒，或具有潜在的病毒污染风
384 险，应根据目标载体与病毒杂质之间的理化特性差异，在纯化过程中
385 增加必要的病毒去除/灭活工艺步骤，如采用去污剂灭活包膜病毒等，
386 并对病毒去除/灭活效果进行验证，控制非目标病毒的残留安全性风
387 险。工艺应对细菌、真菌的污染进行控制。

388 制剂处方、处方工艺和剂型应根据产品类型、产品稳定性和临床
389 用药需求确定。制剂处方应能有效维持产品的稳定性和功能活性，满
390 足临床用药需求；制剂剂型的选择应综合考虑产品的稳定性、保存和
391 运输需求、临床用药的便利性和安全性等多方面因素。新型辅料的应用
392 可能需要更多的动物或人体的安全性数据支持。

393 研究者应具体描述完整的生产工艺，并提供工艺流程图，注明各
394 步的工艺参数和生产过程中控制。明确生产规模和批次的定义，注意
395 上下游规模的匹配性，合理确定原液和制剂阶段。提供工艺开发研究
396 信息，说明工艺参数的拟定依据和合理性。根据工艺步骤对产品质量
397 的影响，明确关键工艺步骤和关键工艺参数，合理设定生产过程中控
398 制，对关键中间体进行检定，确定标准限度，尤其是生产过程中的微
399 生物、病毒内外源因子的污染控制和产品中间体的质量。病毒类载体
400 应对生产终末细胞和上清收获液的外源因子污染进行控制。对于复制
401 缺陷性或条件复制型病毒载体，应该在多个工艺阶段采用敏感的方法
402 对可复制性病毒产生进行检测。非临床研究和临床研究样品应采用代
403 表性生产工艺制备。

404 开发过程中若存在多个阶段的生产工艺，如非临床研究样品制备
405 工艺、临床试验用样品制备工艺、商业化生产工艺，应具体说明各阶
406 段工艺之间的差异，并对变更前后的工艺开展可比性研究，分析工艺
407 变更对产品质量的影响，如有必要应进一步提供非临床或人体研究数
408 据。

409 六、质量研究与质量控制

410 1. 质量研究

411 随着对产品认识的深入和检测技术的发展，产品的质量研究应不
412 断补充和完善并贯穿于整个生命周期。研究应采用先进、成熟的分析
413 方法，全面了解产品质量属性，评估质量属性与产品安全性、有效性
414 的相关性。质量特性的研究应选用代表性工艺批次和适当生产阶段的
415 样品作为研究对象，代表性批次如非临床研究批次、中试批次、关键
416 性临床批次或商业化工艺批次等，生产阶段样品如原材料、中间体、
417 原液和成品。原液和制剂之间若存在质量特性的差异，应分别取样进
418 行分析。对于复合核酸载体，应对核酸载体、复合组分和最终复合物
419 分别进行研究。

420 质量研究内容应覆盖所有可能与产品安全性、有效性相关的特性，
421 一般包括结构、鉴别、一般理化特性、纯度、生物学活性、基因转导
422 效率、杂质、基因型、表型等，具体研究项目应根据产品类型、作用
423 机制、原材料和生产工艺决定。

424 1.1 结构和特性分析

425 结构的研究包括一级结构和高级结构。采用多种方法，如测序、
426 限制性酶切谱图等，对载体完整的基因序列进行确认，尤其是目的基
427 因以及相关的选择/调节/控制元件，基因中应不含有致瘤或促瘤基因。

428 病毒类载体应对基因序列的完整性、正确性和均一性进行鉴定，

429 对病毒载体结构蛋白的正确表达和颗粒的正确组装进行鉴定，如衣壳
430 蛋白的分离鉴定、病毒血清型、病毒颗粒的镜下结构、颗粒大小及分
431 布、聚集体、折光度等。可结合表型和活性研究综合分析结构的正确
432 性。

433 核酸类载体应对载体序列的正确性和完整性进行测序确认，对线
434 性、环状、超螺旋等结构和比例进行分析确认，对功能活性相关的二
435 级结构，如回文序列等进行鉴定。确认质粒复制起点的位置以及是否
436 存在 CpG 序列（如果与制品的设计相关）。对于 RNA 类载体，如存
437 在其他特殊修饰结构，如核苷修饰、加帽率、PolyA 尾的长度和分布
438 等，应一并进行鉴别和确认。

439 复合核酸类基因治疗制品，应对载体复合物的结构，以及核酸和
440 递送复合物之间的相互作用进行检定，如结构形式、粒径分布、表面
441 电荷、复合物组分比例、核酸包被效率、颗粒聚集度、在特定情况和
442 生物环境中的稳定性等。

443 微生物载体应通过菌株的染色特性、镜下形态、菌落形态、培养
444 特性等对菌株进行形态学和生长特性进行鉴定，通过测序、PCR、限
445 制性酶切等分析对基因组和负载质粒的序列，尤其是特征序列或工程
446 改造序列，以及质粒大小、拷贝数、质粒丢失率等进行分析鉴定。

447 1.2 生物学活性

448 生物学活性的研究和方法学建立应依据产品适应症、给药途径和
449 作用机制进行开发，尽可能建立与作用机制相同或相似的体内、外分

450 析方法用于活性研究和质量控制。研究应能反映产品的转导活性，以
451 及替代、补偿、阻断、修正特定基因的预期作用。含有多种活性成分
452 的制品，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
453 虑活性成分之间可能存在的干扰或协同等作用。分析方法应尽量模拟
454 载体的体内过程，选择相关的细胞类型分析载体的转导效率、基因表
455 达水平、表达产物的生物学活性，以及其他与载体或递送系统作用机
456 制相关的因素。对于病毒载体等选择性递送系统，应证明载体对靶组
457 织或细胞的亲嗜性、转导特异性，以及基因表达的选择性。

458 1.3 纯度、杂质和污染物分析

459 杂质主要包括产品相关杂质和工艺相关杂质。

460 产品相关杂质包括所有非目标或非功能形式的生产产物。病毒类
461 载体一般应分析产物中的空壳病毒、错误包装病毒、杂合病毒、无活
462 性病毒颗粒、病毒聚集体等杂质在产品中的残留水平，并对其安全性
463 进行评估；核酸类载体一般应分析错误序列、不完整序列、降解片段、
464 差异结构、错误修饰、或复杂递送系统错误组装组分等的残留水平；
465 微生物载体一般应对菌株的单克隆性、质粒或改造基因丢失率等情况
466 进行检定。对于复制缺陷型或条件型复制病毒载体，应分析是否存在
467 可复制型或野生型病毒。

468 工艺相关杂质主要由生产工艺引入，一般包括起始原材料(如宿
469 主细胞蛋白、宿主细胞 DNA、包装质粒等)、生产原材料（如培养试
470 剂、纯化试剂等），以及设备来源杂质（如生产管线和包装容器的浸

471 物、色谱填料脱落物等)。研究应对所有工艺相关杂质的残留水平进
472 行检测或分析,并评估其安全性。生产过程中如使用了包装病毒、辅
473 助病毒等原材料,应对病毒的残留水平,感染、表达活性进行分析,
474 并评估其安全性。一般建议将宿主细胞的 DNA 残留控制在 10ng/剂
475 以内,将 DNA 片段大小限制在 200bp 以内。生产若使用了肿瘤细胞,
476 或携带致瘤表型、病毒序列的细胞,可能需要采用更严格的核酸残留
477 限度,并对完整细胞的残留进行控制。对产品中已知具有安全性风险
478 的特定转化序列的残留,如 E1A、SV40 大 T 抗原等应分别进行控制。
479 另外,新型或复杂递送系统中,脂质等复杂辅料制备工艺存在一定的
480 杂质,且脂质存在降解可能,如有必要,相关杂质也应纳入考虑范围。
481 如有可能,应关注生产设施、设备中潜在渗出物质的残留水平。

482 产品污染物一般包括细菌、微生物、支原体、外源病毒,或部分
483 细胞内源性病毒等,应严格控制污染物的引入和残留。

484 1.4 含量

485 建立基因治疗产品物理数量和生物数量的检测指标,如:颗粒数、
486 感染性滴度或感染性颗粒数、基因组 DNA/RNA 或质粒 DNA 浓度、
487 细菌数等。病毒载体应对总颗粒数与感染性滴度或感染性颗粒数的比
488 例进行控制,病毒载体类制剂建议以物理滴度计算临床计量。活的微
489 生物载体应对活率,以及活菌与死菌的比例进行控制。分析应尽可能
490 使用标准品或对照品来校准含量测定结果。

491 1.5 其他特性分析

492 一般理化特性分析，如外观、澄清度、可见异物、不溶性微粒、
493 PH 值、渗透压等。此外，还可能要对病毒载体的复制能力、插入位
494 点、质粒载体的转导效率等。

495 对于 **crisp-cas9** 等编辑工具相关的基因治疗的产品，由于当前的
496 认知和检测手段较为有限，研究应对此类产品进行更全面的安全性评
497 估信息，包括编辑系统的选择，序列设计等上游构建的安全考虑，潜
498 在脱靶位点的评估和检测数据的确认，编辑技术对细胞促瘤/成瘤的
499 筛选风险、编辑系统组分的免疫原性等，应对潜在的风险建立相应的
500 安全控制策略和检测方法。

501 2. 质量控制

502 质量标准的制定以控制最终产品的质量和批间一致性为目的，具
503 体应根据工艺和控制需要对不同阶段的样品制定质量标准，一般包括
504 原液、半成品（如有）和制剂的质量标准。质量标准的确定应基于质
505 量研究，根据产品质量属性与安全性、有效性的相关性确定质量标准
506 的具体内容，一般包括检验项目、分析方法和可接受标准。标准限度
507 一般应基于目标产品质量的设定、代表性工艺批次分析数据的统计、
508 稳定性研究结果，以及人体或动物安全性研究数据等多个方面设定。

509 原液的质量标准一般包括外观、鉴别、理化特性、纯度、含量、
510 活性、外源因子、内毒素、杂质（产品相关和工艺相关杂质），以及其
511 他药典规定检测项目。对于非复制型或条件复制型病毒载体，应对可

512 复制型病毒进行检测和控制。除上述原液检测项目外，制剂质量标准，
513 还应关注受制剂处方、制剂生产工艺和包装容器影响的其他质量属性，
514 一般还包括（但不限于）：转导效率、感染活性、制剂外观、装量、可
515 抽取体积、水分残留、制剂理化特性（如 PH 值、折光率、渗透压、
516 不容性微粒、可见异物等）、关键辅料含量（铝、复合辅料等）、制剂
517 工艺杂质、可复制型病毒（如适宜），以及药典要求的制剂检项等。
518 制剂若采用特殊容器或药械组合装置，还需要根据装置的功能增加特
519 定的放行检测。对于部分未纳入质量标准的检测项目，应说明其合理
520 性，并提供验证依据。

521 质量控制应选用先进、成熟的检测方法，如有必要，可选用多种
522 互补的分析方法用于检测项目的质量控制。放行检验用方法应经过研
523 究与验证，特别是新建立的方法应进行全面的验证，对于药典中收录
524 的方法应进行适用性的验证。对于有效期短或样本量小的产品，可采
525 用快速、微量的新型检测方法，若采用非药典的替代方法，应证明该
526 方法相比药典方法的等效性或优越性，必要时，在产品放行检验时可
527 以同时采用两种检验方法进行相互验证。根据检测需要，应建立相应
528 的标准品或参比品，标准品/参比品的建立和制备应符合《中国药典》
529 “生物制品国家标准物质制备和标定规程”的相关要求。

530 七、稳定性研究

531 基因治疗产品稳定性研究可参照《生物制品稳定性研究技术指导
532 原则（试行）》和 ICH Q5C 的一般原则和相关要求进行，同时根据产

533 品自身特点、临床用药情况等合理设计研究方案。研究项目一般包括
534 长期稳定性、加速稳定性、影响因素研究、运输稳定性、使用稳定性
535 等，研究条件应根据具体保存、运输和使用情况，以及相应研究条件
536 下研究结果的指示意义具体确定。研究应选用代表性工艺样品，装于
537 代表性包装容器或使用器材进行。稳定性研究监测项目应全面，尤其
538 是对产品安全性、有效性、稳定性有重要指示意义的检测项目。研究
539 期限应覆盖实际保存或使用时限。

540 八、容器和密闭系统

541 容器和密闭系统一般包括原液、半成品（如有）、制剂的包装容
542 器，生产过程中原材料、中间品的保存容器，以及生产过程中与产品
543 直接接触的生产管线，如生物反应袋、一次性管线等。为避免储存容
544 器或密闭系统对产品的质量产生非预期影响，应对容器和密闭系统进
545 行相容性研究、密闭性研究和安全性评估，特定条件下的密闭保存容
546 器还应进行相应条件下的适用性研究，如冷冻适应性等。对于具有特
547 殊功能的次级包装材料，应将次级包装材料纳入容器和密闭系统的研
548 究中，对其相应功能进行研究和验证。如涉及特殊给药装置，如电穿
549 孔装置、鼻喷装置、无针注射器等，需提交相关研究资料或其他适用
550 的支持资料。

551 九、环境和生物安全性

552 全面分析基因治疗产品生产和使用过程中可能对环境和环境
553 生物安全性具有潜在影响的因素，如质粒和种子批的特定抗性基因、
554 病毒生产过程中含病毒的废液及稀释液、临床使用时逃逸至环境的病
555 毒、医疗差错导致病人误用错用的病毒、近效期或过期的基因治疗产
556 品，以及生产相关容器和设施、设备的交叉污染等，评估基因治疗产
557 品对环境和环境中生物的安全性的影响。从开发研究、商业化生产到
558 临床使用全过程进行生物和环境安全管理，制定严格的风险控制措
559 施，降低产品对生物和环境的安全性威胁。对错用和误用的特殊人群
560 制定相应的解救措施。