

Q6b

人用药品注册技术要求 国际协调会

ICH 三方协调指导原则

质量标准：生物技术产品及生物制品的
检测方法和可接受标准

1999 年 3 月 10 日
由 ICH 指导委员会推
荐（ICH 进程第四
阶）

按照 ICH 程序，本指导原则由相应的 ICH 专家工作小组制定，并已通过向各监管部门的咨询。本指导原则处于为欧盟、日本和美国监管机构所采用的最终草案进程的第四个阶段。

Q6B

文件历史

第一版法典编纂	历史	日期	新法典编纂 2005年9月
Q6B	根据步骤 2 经管理委员会批准并公开向公众咨询	1998年2月27日	Q6B

当前第四步的版本

Q6B	根据第 4 步经管理委员会批准推荐供 ICH 的 3 个监管机构采用	1999年3月10日	Q6B
-----	------------------------------------	------------	-----

质量标准：生物技术产品及生物制品 的检测方法及可接受标准

1999年3月10日，ICH协调三方准则已到进程第4阶段，由
ICH指导委员会推荐ICH的三个监管方采用该准则。

目 录

1. 引言.....	(218)
1.1 目的.....	(218)
1.2 背景.....	(218)
1.3 范围.....	(219)
2. 制订质量标准的原则.....	(219)
2.1 质量特性分析.....	(219)
2.1.1 物理化学性质.....	(220)
2.1.2 生物活性测定.....	(220)
2.1.3 免疫化学性质.....	(222)
2.1.4 纯度、杂质和污染物.....	(222)
2.1.5 含量.....	(224)
2.2 分析方法的有关问题.....	(224)
2.2.1 参比标准品和参考物质.....	(224)
2.2.2 分析方法的验证.....	(224)
2.3 工艺控制.....	(225)
2.3.1 与工艺有关的问题.....	(225)
2.3.2 过程控制可接受标准和行动限.....	(225)
2.3.3 原材料和赋形剂规范.....	(226)
2.4 药典质量标准.....	(226)
2.5 放行限度与货架期限度.....	(226)
2.6 统计学概念.....	(226)
3. 质量标准制订的依据.....	(227)
4. 规范.....	(228)
4.1 原液质量标准.....	(228)

4.1.1	外观和性状.....	(228)
4.1.2	鉴别.....	(228)
4.1.3	纯度和杂质.....	(229)
4.1.4	效价.....	(229)
4.1.5	含量.....	(229)
4.2	成品质量标准.....	(230)
4.2.1	外观和性状.....	(230)
4.2.2	鉴别.....	(230)
4.2.3	纯度和杂质.....	(230)
4.2.4	效价.....	(231)
4.2.5	含量.....	(231)
4.2.6	一般检验.....	(231)
4.2.7	特殊剂型的附加检定.....	(231)
5.	术语.....	(231)
6.	附录.....	(233)
6.1	理化结构确证附录.....	(233)
6.1.1	结构表征及确证.....	(234)
6.1.2	物理化学性质.....	(235)
6.2	杂质附录.....	(235)
6.2.1	生产工艺相关杂质和污染物.....	(236)
6.2.2	包括降解物在内的产品相关杂质.....	(236)

质量标准：生物技术产品及生物制品的 检测方法及其可接受标准

1. 引言

1.1 目的

本指导原则尽可能为生物技术产品和生物制品在国际质量标准的统一制定及制定依据方面，提供一般性原则，以支持该类产品的上市申请。

1.2 背景

质量标准定义为一个包括检测、参照分析方法和可接受标准的列表，可接受标准以限度值、范围或描述检测项目的其它标准予以表示。质量标准为原液、成品和生产阶段所用的其它材料制订了一套应遵循的、与其用途相适应的可接受标准。“符合质量标准”是指原液和成品按所列分析方法检测，符合可接受标准。质量标准是由生产商提出和验证、并由监管机构作为产品上市许可条件批准的关键的产品质量规范。

质量标准是总控策略的一部分，总控策略是为保证产品质量和一致性而设计，其它部分还包括：研发期间全面的产品特性分析（该研究是质量标准多个方面设定的依据）、按GMP要求生产、经验证的生产工艺、原材料的检定、过程控制和稳定性研究等。

质量标准是用于确保原液和制剂质量的，而并非建立原液和制剂全部特征的标准。因此，质量标准的制订应着重研究那些已发现的在保证产品安全有效方面有意义的分子结构和生物学特征。

1.3 范围

本指导原则适用于蛋白质、多肽及其衍生物和含有这些成分的产品(如，与其形成的结合物)。这些蛋白质和多肽由基因重组或非重组工程细胞培养表达系统生产，可被高度纯化，并可用一套适宜的分析方法予以鉴定。

本指导原则也适用于其它类型的产品，如：从动物组织或体液中分离的蛋白质和多肽。但如何确定其适用性，生产商应向有关监管机构咨询。

本指导原则不涵盖抗生素、合成肽和多肽、肝素、维生素、细胞代谢物、DNA 产品、变应原提取物、传统疫苗、细胞、全血和血细胞成分。对于化学药品，ICH 在“质量标准：新原料药和新制剂的检测方法和可接受标准：化学物质”一文中已作介绍。

本文件不介绍具体的检测方法和可接受标准，也不适用于临床前和/或临床研究用样品的监管。

2.质量标准制订的原则

2.1 质量特性分析

采用适宜的技术进行生物技术产品或生物制品的质量特性分析（包括理化结构特征、生物学活性、免疫化学性质、纯度和杂质的确证）对于相应质量标准的建立是必需的。可接受标准的建立和论证应依据从临床前和/或临床研究用批次中获得的数据、用于批间一致性研究的批次数据、稳定性研究数据和相关的开发阶段的数据。

在产品的开发过程中和工艺发生重大变更时，均应进行全面的特性分析工作。在申报时，如有合适的参比标准品，产品应与其进行比较；如有可能，最好将产品与其对应的天然成分作比较。生产商在申报时应建立适宜的参比品，该参比品经过表征分析，用于批产品的生物学及理化特性检测。新的分析技术在不断发展，现有的分析方法在不断改进，应合理采用这些分析技术。

2.1.1 物理化学性质

对目标产品物理化学性质的结构确证一般包括组分测定、物理性质和一级结构测定。有时目的产物的高级结构信

息（可通过生物学活性推测其可靠程度）也可通过适宜的理化方法获得。

由于蛋白质是由生物有机体合成，因此它会出现固有程度的结构异质性。目的产品可能是预期的翻译后修饰的各种形式（如：糖蛋白）的混合物，这些形式可能是有活性的，且它们的存在也许不会对产品的安全性和有效性产生不利影响（见 2.1.4 小节）。生产商应确定目的产物的异质性谱，并证明临床前及临床研究使用批次的一致性。如果已证明每批产品异质性类型是固定的，则有可能不再需要对每种异构体对产品活性、有效性和安全性（包括免疫原性）的影响进行评价。

异质性也可能在原液或成品的生产和/或贮存过程中产生。由于异质性决定了这类产品的质量，故应对异质性的程度和类型进行鉴定以确保批间一致性。当目标产品的变异体在活性、有效性和安全性方面与目标产品可比时，应把它们看做产品的相关物质；当由于工艺改变或产品降解而导致异质性图谱与临床前和临床开发所用样品的异质性图谱不一致时，应对这些改变的影响作出评价。

物理化学性质的分析方法见附录 6.1，新的分析技术在不断发展，现有的分析方法在不断改进，在适宜的时候应合理采用这些方法。

应从产品理化性质的分析方法中选出一些适宜的方法用于产品的批次放行检验(见第 4 节)，并加以论述其合理性。

2.1.2 生物活性

生物学性质的评价是与产品全面结构确证同等重要的步骤。生物学活性用以描述产品具有可达到预期生物效应的特定能力或效力，它是产品的一种重要特性。

生产商应提供用于检测生物学活性的有效生物学测定方法，举例来说，用于生物活性测定的方法包括：

基于动物的生物学活性检测方法，该方法测定生物机体对产品产生的生物反应；

基于细胞培养的生物学活性检测方法，该方法在细胞水平上测定产品的生化和生理效应；

生化方法，该方法利用酶反应速率或免疫相互作用诱导的生物反应等方法测定生物活性。

其它的方法可能也是可以接受的，如配体/受体结合试验。

效价(以单位表示)是利用与生物学性质相关的产品属性对产品的生物活性进行的定量测定。而含量(以数量表示)则是对蛋白质含量进行的理化方法测定。模拟与临床相同的生物活性有时是不必要的，但是在药效学和临床研究中，需确立预期临床反应与生物学活性的相关性。

如果有可能且所采用的方法合适时，生物活性测定结果应以经国际或国家参比标准品校准后的活性单位表示。在没有这些标准品时，应建立已完成质量特性分析的内部参比品，各批次产品的测定结果以内控单位表示。

通常，对于复杂的分子，获得的大量理化学资料往往不能确定其高级结构，而需从产品生物学活性加以推论。这种情况下，当与特定的定量检测方法联合应用时，置信度范围较宽的生物学方法也许是可接受的。用理化学方法取代生物学方法测定产品的生物学活性必须具备以下条件：

产品的高级结构可以完全用理化学方法确立，并能证明与生物活性的相关性；

产品制造历史较长。

当单独采用理化方法定量生物活性（根据合适的相关性）时，结果应采用质量表示。对于产品放行检验(见第 4 节)，生产商应确定用于定量的检测方法（生物和/或理化方法），并阐述其合理性。

2.1.3 免疫化学性质

当产品是抗体时，应对其免疫学性质进行全面鉴定。如果可行，应进行抗体与纯化抗原以及抗原特定区域的结合试验以确定亲和力和、亲和性和免疫反应性(包括交叉反应性)。此外，

如果可行的话，应采用生化方法确定抗原表位和带有相关抗原表位的靶分子。

对于有些原液和成品，需经采用能够识别蛋白分子不同表位的抗体建立的免疫化学方法(如 ELISA, Western Blot)检测该蛋白分子。蛋白质的免疫化学性质可用于产品的鉴别、均一性或纯度测定，也可用于定量。

如应用免疫化学特性作为放行检验标准项目，则应提供有关抗体的所有相关材料。

2.1.4 纯度、杂质和污染物

纯度

测定绝对纯度和相对纯度对于分析方法是有一定挑战性的，纯度测定结果高度依赖于分析方法。以往生物制品的相对纯度是用比活(每毫克产品的生物活性单位)表示的，但其结果亦高度依赖于所用的方法。因此，原液和成品的纯度一般采用几种方法联合检测分析。

由于生物技术产品及生物制品的分子特征和独特的生物合成过程，原液可含有多种分子或其变体。如果这些分子来源于预期的翻译后修饰，则应作为预期产品的一部分。预期产品在生产和/或储存过程中形成的变体，如果其性质与预期产品可比，应作为产品相关物质，而不是杂质(2.1.1)。

应酌情对产品相关物质制订单独的和/或整体的可接受标准。

对于批次放行检验(见4节)，应选用一套适宜的纯度测定方法并阐明纯度测定的合理性。

杂质

除了对原液和成品(可能由预期产品和多种产品相关物质组成)的纯度进行评估外，生产商还应对可能出现的杂质作出评估。杂质可能与工艺或产品有关。杂质的结构可以是已知的，或得到部分鉴定的，或未得到鉴定的。当可以获取足够量的杂质时，应尽可能对这些杂质予以鉴定，并在可能的情况下评估其生物学活性。

工艺相关杂质是指生产过程中产生的杂质，如细胞基质(宿主细胞蛋白、宿主细胞 DNA)、细胞培养物(诱导剂、抗生素或培养基成分)或下游工艺产生的杂质(见附录 6.2.1)。产品相关杂质(如前体、某些降解产物)是在生产和/或贮存过程中产生的分子变异体，这些变异体在活性、有效性及安全性方面与预期产品不具可比性。

此外，杂质的可接受标准要根据临床前和临床研究批次的的数据及生产一致性验证批次的研究数据制定。对产品相关杂质和工艺相关杂质应分别制订单独的和/或整体的可接受标准。在某些情况下，对有些特定的杂质不必制订可接受标准(见 2.3 节)。

测定杂质的分析方法举例见附录 6.2。新的分析技术在不断发展，现有的分析技术在不断改进，应合理采用。

需选用一部分适宜的方法用于批次的放行检验(见第 4 节)，并阐明选用方法的合理性。

污染物

产品污染物是指带入的非生产工艺预期部分的外源性物质，如化学及生化物质(微生物蛋白酶)和/或微生物。应采用合适的过程控制可接受标准或对原液、成品的质量标准行动限进行控制的方式，严格避免和/或适当控制污染物，可接受标准(见 2.3 节)。对于外源性病毒和支原体污染的特殊情况，行动限不再适用，而应考虑采用 ICH 两个指导即“生物技术产品及生物制品的质量：来源于人或动物细胞系生物技术产品的病毒安全性评价”和“生物技术产品及生物制品的质量：用于生物技术产品及生物制品生产的细胞基质的来源和鉴定”中提出的策略。

2.1.5 含量

含量一般为测定蛋白质的含量，它对生物技术产品及生物制品至关重要，通常选择合适的物理化学方法测定。有时还要证明所得到的测定结果直接与生物学方法的检测结果相关。如

已证实相关性，在生产过程中（如灌装工艺）采用含量测定代替生物活性测定也是允许的。

2.2 分析方法的有关问题

2.2.1 参比标准品和参照品

对于创新药注册申请，一般不可能获得国际标准品或国家标准品作对比。申报时，生产商应建立经过质量特性分析的内部一级参考品，该参考品应采用生产和临床研究用样品的代表性批次制备。用于产品批检验的内部工作参考品应使用该一级参考品标定。如能获得适宜的国际标准品或国家标准品，则应尽可能用其标定参考物质。尽管进行生物学检测和物理化学检测用同一种参考品是比较理想的，但有时也需要用各自的参考品。另外，对产品相关物质、产品相关杂质和工艺相关杂质有时亦需分别建立参考品。如果适用，申报时应提供参考品制造和/或纯化的方法。参考品的质量特性分析、贮存条件和用于保证参考品稳定性的制剂处方等有关资料也应提供。

2.2.2 分析方法的验证

申报者在向管理部门提交申报资料时，除对生物技术产品和生物制品特有检测方法有特殊规定外，还应按 ICH 指导原则中的“分析方法的验证：定义与命名”和“分析方法的验证：方法学”的内容，对质量标准中采用的分析方法进行验证。

2.3 工艺控制

2.3.1 与工艺有关的问题

合理的工艺设计和对生产能力的了解是开发一个可控的、可重复的生产工艺的重要部分，它是生产出符合质量标准的原液和成品的保证。从这个角度讲，应根据从开发初期到规模化生产的整个工艺过程中所积累的关键资料，制定各种合理的限度。

对于某些特定杂质，通过研究证明其在工艺中可被有效控制或去除，并达到可接受的水平，就不必再对原液或成品中的这些杂质进行检测，也不必纳入质量标准。依据各地的管理规定，这种检测手段应在规模化生产时进行验证。由于申请递交时往往仅可获得有限的研究数据，因此，根据各地的监管要求，上述概念有时在上市后方可得到实施。

2.3.2 过程控制可接受标准及行动限

应在原液或成品生产过程的起决定作用的关键工艺步骤及确保工艺一致性的其它工艺步骤进行过程控制检测。工艺过程控制检测的结果可作为行动限进行记录或作为可接受标准进行报告。进行过程控制检测可减少对原液或成品的检测(2.3.1节)。例如，在细胞培养终末期应进行外源因子的过程控制检测并建立可接受标准。

生产商采用内部行动限评估非关键工艺步骤的一致性也很重要。应采用在开发和验证批次中获得的数据作为建立生产工艺临时行动限的依据。制定这些限度是生产企业的责任，它可作为调查研究或启动下一步生产活动的依据。应根据产品上市后获得的更多的生产经验和研究数据进行行动限的更新。

2.3.3 原材料和辅料的质量标准

用于原液或成品生产的原材料质量应符合与其用途相适应的标准。生物来源的原材料或试剂应认真检测其是否携带内源性或外源性有害因子。生产工艺采用亲和层析(如，采用了单克隆抗体)时，应有适宜的检测措施以保证在生产和使用，这类工艺相关杂质或潜在的污染物不致影响原液或成品的质量和安全性。所用抗体有关资料亦应提供。

如已有药典标准并适用时，用于成品(有时原液)的辅料质量和容器/密闭系统应尽量符合药典标准。对药典没有收载的辅料亦应建立合适的可接受标准。

2.4 药典质量标准

药典中包含了与原液或成品评价相关的一些分析方法和可接受标准的重要要求。适用于生物技术产品和生物制品的药典通则主要包括但不限于无菌试验、内毒素测定、微生物限度、容器容积、装量差异和颗粒物检查。关于药典方法和可接受标准的应用，在本指导原则中亦体现了与药典分析方法的协调。药典有责任建立相同的或方法学上等价的检测方法和可接受标准。

2.5 放行限度与货架期限度

在合理的情况下可以采用“放行限度和货架期限度”这一概念。这一概念是指原液与成品的放行限度要比货架期限度更严格。例如效价和降解产物的限度指标就适用这一概念。有些地区，出厂限度仅用于内部控制，并不指管理部门批准的货架期限度。

2.6 统计学概念

如必要，应对定量的数据进行适宜的统计分析。应详尽明确地叙述所用统计分析方法及其依据和原理，以便能对申报的具体数据进行独立的运算。

3. 质量标准制订的依据

原液及成品质量标准的制定是产品总体控制策略的重要部分，总体控制策略包括原材料和辅料的控制、生产工艺过程控制检测、工艺评估或验证、执行 GMP 的情况、稳定性研究、批间的一致性检测等。综合这些要素，才能保证产品质量。由于质量标准是用于保证产品质量而不是分析产品特性的，因此，生产商应提供质量标准包括和/或不包括对特定质量属性进行检定的理由和依据。在制定科学合理的质量标准时，应考虑以下要点。

质量标准的建立应与生产工艺相关联

质量标准的建立应以生产连续性验证批次的研究数据为基础。将质量标准与生产工艺相联系是至关重要的，尤其是产品

相关物质、产品相关杂质和工艺相关杂质。工艺变更及贮存过程中产生的降解产物可能导致与临床前及临床研究样品不一致的产品异质性，要对这种改变带来的影响进行评价。

质量标准的建立应考虑原液和成品的稳定性

在制定质量标准时，应考虑在贮藏过程中原液和成品可能发生降解。由于这些产品固有的复杂性，很难用单一稳定性指标的检测方法或参数反映其稳定性全貌。因此，生产商要推荐一系列（多个）可代表产品稳定性的指标，以确保产品质量改变时，可综合这些稳定性指标的结果反映出来。确定哪些试验适用于稳定性研究要依据产品的特点而定。生产商可参考 ICH 指导原则中的“生物技术产品及生物制品的稳定性研究”。

质量标准的建立应与临床前及临床研究相关联

应采用临床前及临床研究中所用批次的数据作为制订质量标准的依据。商业化生产规模生产的产品质量应与临床前及临床研究时所用样品一致。

质量标准的建立应与分析方法相关联

关键质量属性包括效价、产品相关物质、产品相关杂质和工艺相关杂质的性质及含量等项目。这些项目均可采用多种方法进行测定，每种方法所得结果可能不尽相同。另外，在产品开发过程中，分析方法与产品并行开发并不少见。因此，保证上市申请时数据与研发阶段所得的数据的相关性尤为重要。

4. 质量标准

在质量标准中，检测项目的选用需视产品特点而定，对建立的可接受标准的限度范围要阐述其依据。可接受标准需根据临床前和/或临床研究时各批样品的数据、用于证明生产一致性批次的数据、稳定性研究数据和研发相关的数据等资料制定。

某些情况下，在生产阶段而不是在原液或成品阶段进行检验也是允许的。这时检测结果应视为在生产过程中的过程

控制可接受标准，并应根据各地药品管理部门的要求，将该可接受标准纳入原液和成品的质量标准。

4.1 原液质量标准

通常，以下检验项目和可接受标准适用于所有的原液(分析方法见 2.2.2)。适用时，应对原液进行药典要求的检测(如内毒素检测)。更多特定的可接受标准有时也是必要的。

4.1.1 外观和性状

应提供原液物理性状(如固体、液体)及色泽的定性描述。

4.1.2 鉴别

原液的鉴别试验方法应具有高度特异性，并应以原液的特有分子结构和/或原液其它性质的独特方面为基础。可能需要多于一种的检测方法(物理化学的、生物学的和/或免疫化学)建立鉴别方法。鉴别试验实际上可以是定性的。在 2.1 节和附录 6.1 中介绍的应用于产品质量特性分析的某些方法，可以直接作为鉴别方法，或修改后成为合适的鉴别方法。

4.1.3 度和杂质

生物技术产品和生物制品的绝对纯度难以测得，并且其结果依赖于所用方法(见 2.1.4)。因此，原液的纯度一般应采用几种方法联合评价。分析方法的选择和优化应重点关注预期产品与产品相关物质和产品杂质的分离。

杂质分为工艺相关杂质和产品相关杂质两类：

原液中的工艺相关杂质(见 2.1.4)包括细胞培养基、宿主细胞蛋白、宿主细胞 DNA、单克隆抗体或用于纯化的层析介质、溶剂和缓冲液成分。应采用合适的、可控的生产工艺使这些杂质残留量降至最低。

原液中的产品相关杂质(见 2.1.4)是在生产和/或贮存过程中产生的、性质与预期产品不同的分子变体。

对杂质而言，分析方法的选择和优化应重点关注预期产品和产品相关物质与杂质的分离。在某些情况下，有些特定的杂质可不必制订可接受标准(见 2.3)。

4.1.4 效价

相关的、经验证的生物效价测定(见 2.1.2)应是生物技术产品或生物制品原液和/或成品质量标准的组成部分。当成品采用一种适宜的效价测定方法时(见 4.2.4)，原液可用替代方法(理化方法或生物学方法)进行定量测定。在某些情况下，比活性测定的结果可提供更多有用的信息。

4.1.5 含量

应采用适宜的检测方法进行原液的定量，一般对蛋白含量(质量)进行测定。含量测定往往不需要参比标准品或参考物质。在产品生产以效价为评价基础时，不必采用替代方法进行含量测定。

4.2 成品质量标准

通常，以下检验项目和可接受标准适用于所有的成品。4.2.1~4.2.5 节中的各节可参考原液 4.1.1~4.1.5 节。药典的要求适用于相关的剂型，药典中典型的检测包括但不限于无菌、内毒素、微生物限度、容器容积、颗粒物、装量差异、冻干制剂的水分含量等。有时，装量差异的监测可作为生产过程中的控制项，需制订相应的可接受标准。

4.2.1 外观和性状

应提供成品物理性状(如固体、液体)、色泽、澄清晰度等的定性叙述。

4.2.2 鉴别

成品的鉴别试验方法应采用以原液的特有分子结构和其它特性为基础的专一性较强的方法。鉴别试验只要求能够定性。尽管大多数情况下，一种试验方法就可满足要求，但对

某些产品来说,需用一种以上的检测方法(如物理化学的、生物学的和/或免疫化学的)建立鉴别方法。在 2.1 节和附录 6.1 中介绍应用于产品质量特性分析的某些方法,可以直接采用或修改后成为合适的鉴别方法。

4.2.3 纯度和杂质

杂质可能在成品生产和/或储存过程中产生或增加,与原液所述相同,这些杂质有些与生产工艺有关,有些则是特定地在制剂生产过程或贮存过程中产生的降解产物。如果杂质在“质”和“量”上(即相对含量和/或浓度)与原液一致,则不必再进行检测。如果已知是在制剂生产过程和/或储存过程中引入的杂质,则应测定杂质水平,并制定可接受标准。

应根据以往对该成品的经验,建立可接受标准和分析方法,以测定在制剂生产过程和/或储存过程中原液的变化。

分析方法的选择及优化应重点关注预期产品和产品相关物质与杂质(包括降解物质)的分离,还应考虑预期产品与辅料的分离。

4.2.4 效价

相关的、经验证的生物效价测定(见 2.1.2)应是生物技术产品或生物制品原液和/或成品质量标准的组成部分。当原液采用一种适宜的效价测定方法时(见 4.2.4),成品可用替代方法(理化方法或生物学方法)进行定量测定。但应提供方法选择的依据。

4.2.5 含量

应采用适宜的检测方法测定成品中原液的含量,一般采用蛋白质的含量测定。在生产以效价评价为基础时,不必采用替代方法进行含量测定。

4.2.6 一般检验

物理性状及其它质量属性的测定对评价成品质量亦很重要,如 pH 和渗透压。

4.2.7 特殊剂型的额外测试

除以上所述的试验项目外,某些特殊剂型需增加额外的检测项目。

5.术语

可接受标准 原液、成品或生产阶段的其它材料应符合相应分析方法的可接受限度、范围或其它适宜的检测值,该限度、范围或适宜的检测值即为样品的可接受标准。

行动限 用于评价非关键工艺步骤一致性的内部限度值。

生物活性 产品达到预期生物效力的特有能力和/或效力,效价是生物活性的定量测定结果。

污染物 任何引入的非原液或成品生产工艺预期部分的外源性物质(如化学、生化物质或微生物)。

降解产物 是指预期产品或产品相关物质长时间放置和/或受光、温度、pH、水的作用或与辅料、直接接触的容器/密闭系统发生反应而产生的分子变体。在生产和/或贮藏过程中也可能发生这些变化(如脱酰胺、氧化、聚合、蛋白水解)。降解产物可能是产品相关物质,亦可能是产品相关杂质。

预期产品 (1) 具有预期结构的蛋白质,或(2) 来源于预期 DNA 序列和翻译后修饰(包括糖基化)的蛋白以及由预定的下游修饰工艺产生的有活性的生物分子。

成品(剂型; 最终产品) 含有原液并通常配以辅料的一种药品类型。

原液 原液是指最终可与辅料一起制成成品的物质。它由预期产品、产品相关物质、产品相关杂质和工艺相关杂质组成。它也可能含包括其它的辅料成分,如缓冲剂。

辅料 有意加入原液中的成分,在用量范围内不应有药理作用。

杂质 存在于原液或成品中的非预期产品、非产品相关物质或非辅料（包括缓冲液成分）的任何组分,它的存在与工艺或产品有关。

内部一级参考物质 生产企业用代表批次制备的经质量特性分析的物质,用于各批产品的生物学检测和物理化学试验,并用于内部工作参考物质的标定。

内部工作参考物质 内部工作参考物质的制备方法与一级参考物质相似,仅用于个别有问题批次的评价和控制。内部工作参考物质一般用一级参考物质标定而得。

效价 根据与生物学性质相关的产品属性,用合适的定量生物学测定方法（也称生物活性测定或效价测定）测得的具有生物活性的量值。

工艺相关杂质 从生产工艺中产生的杂质,可能来源于细胞基质(如宿主细胞蛋白、宿主细胞 DNA)、细胞培养物(如诱导剂、抗生素或培养基成分)或下游工艺(如处理试剂或层析柱析出物)。

产品相关杂质 目的产品的分子变体(如:前体,某些在生产/或贮藏中出现的分解产物),它们在活性、效能和安全性方面与预期产品不具可比性。

产品相关物质 在生产/或贮藏中形成的预期产品的分子变体,它们具有活性且对成品的安全性和有效性无有害影响。这些变体与预期产品的属性可比,不列为杂质。

参比标准品 指国际或国家标准品。

质量标准 质量标准定义为一个包含检测项目、参照的分析方法和适宜的可接受标准(如数值限度、范围或试验的其它标准)的列表。原液、成品或生产阶段的其它材料都应建立一套与其使用目的相符合的标准。“符合质量标准”是指原液或成品根据所列的分析方法进行检测,结果符合可接受标准。质量标准是由生产企业提出和验证,并经药品监管部门同意作为批准条件的关键质量标准。

6.附录

6.1 物理化学特性附录

本附录提供了对预期产品、原液和/或成品进行结构表征、确证和理化性质检测分析方法的实例。具体方法的选择因产品而异,除本附录中所列方法外,其它方法在许多情况下也同样适用。新的分析技术在不断发展,现有的分析方法在不断改进,应合理采用。

6.1.1 结构表征及确证

(a) 氨基酸序列

应用如(b)-(e)项中提到的检测方法对预期产品的氨基酸序列进行最大程度的确定,随后应将其结果与根据预期产品基因序列推导的氨基酸序列进行比较。

(b) 氨基酸组成

氨基酸组成系采用各种水解方法及分析方法确定,并将测定结果与预期产品或天然产品(如认为必要)根据基因序列推导的氨基酸组成进行对比。在大部分情况下,氨基酸组成分析对多肽和小分子蛋白质可提供某些有用的结构资料,但对大分子蛋白很难得到类似信息。在很多情况下,氨基酸定量分析也可用于蛋白质含量的测定。

(c) 末端氨基酸序列

末端氨基酸序列分析是用以鉴别多肽或蛋白质的氨基端和羧基端的性质及均一性的。如发现预期产品的氨基酸末端是异质的,应用适宜分析方法测定变异体的相对含量。测得末端氨基酸的序列应与预期产品根据基因序列推导的氨基酸末端序列作比较。

(d) 肽图

采用适宜的酶或化学试剂选择性地产品裂解成肽段,用HPLC或其它适宜方法对肽段进行分析,应尽可能的采用如氨基酸组成分析、N-末端测序或质谱等技术进行肽段组成的鉴定。

采用经验证的方法对原液或成品进行肽图检定,经常作为预期产品结构确证的批次放行检验方法。

(e) 巯基和二硫键

如果根据预期产品基因序列推导出该产品含有半胱氨酸残基,应尽可能地对自由巯基的数量和位置进行确定。肽图(还原和非还原条件下)、质谱或其它适宜的技术是评价的有效手段。

(f) 糖链结构

对于糖蛋白,要测定糖含量(中性糖、氨基糖、唾液酸)。此外,应尽可能分析多肽链的糖链结构、寡糖图谱(触角形状)和糖基化位点。

6.1.2 物理化学性质

(a) 分子量及分子大小

分子排阻色谱、SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳(还原及非还原条件下)、质谱及其它技术可用于分子量及分子大小的测定。

(b) 异构体

可用等电聚焦或其它适宜的技术测定。

(c) 消光系数(克分子吸收系数)

一般应在特定的紫外/可见光波长(如 280nm)条件下测定预期产品的消光系数。消光系数是用紫外/可见分光光度计测定已知蛋白含量(用氨基酸组成分析或定氮法测得)的产品溶液确定的。如采用紫外法测定产品的蛋白含量,则必须采用特定产品的消光系数。

(d) 电泳图谱

产品的电泳图谱及其鉴别、同质性和纯度的相关数据可由聚丙烯酰胺凝胶电泳、等电聚焦、SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳、Western-Blot、毛细管电泳或其它适宜的方法测得。

(e) 液相色谱图谱

产品的色谱图及其鉴别、均一性和纯度的相关数据可由分子排阻色谱、反向液相色谱、离子交换液相色谱、亲和层析或其它适宜的技术方法测定。

(f) 光谱图

如果适用,应测定产品的紫外和可见光吸收谱。产品的高

级结构可用圆二色谱、核磁共振和其它适宜的技术测定。

6.2 杂质附录

此附录列举了潜在杂质、杂质来源和一些杂质检测相关分析方法的实例。正如理化结构确证研究一样,产品的杂质类型和采用的分析方法因品种而异,除本附录中所列方法外,在许多情况下,其它方法也同样适用。新的分析技术在不断发展,现有的分析方法在不断改进,应合理采用。

6.2.1 生产工艺相关杂质和污染物

这些杂质来源于生产工艺(第 2.1.4 节),可分为三大类:来源于细胞基质的杂质、来源于细胞培养的杂质和来源于下游工艺的杂质。

(a)细胞基质来源的杂质包括但不限于宿主细胞蛋白、核酸(宿主细胞基因组、质粒或总 DNA)。对于宿主细胞蛋白,通常采用一种较灵敏的检测方法,如免疫分析法,能够检测出广泛的蛋白质杂质。采用免疫分析法进行检测时,所使用的多克隆抗体应是采用不含产品编码基因和融合蛋白的生产细胞或用其它符合要求的细胞系免疫动物后制备所得。宿主细胞来源的 DNA 水平可以采用对产品进行直接分析的方法(如杂交技术)测得。杂质清除研究可包括实验室规模的挑战实验等,用以证明细胞基质来源的杂质(如核酸、宿主细胞蛋白)是否清除,有时该研究也可免除这类杂质可接受标准的建立。

(b)来源于细胞培养工艺的杂质包括但不限于:诱导剂、抗生素、血清、其它培养基成分。

(c)下游工艺来源的杂质包括但不限于:酶、化学和生化处理试剂(如溴化氰、胍、氧化还原剂)、无机盐(如重金属、砷、非金属离子)、溶剂、载体、配体(如单克隆抗体)和其它析出物。

按照 ICH 指导原则“来源于人或动物细胞系生物技术产品的病毒安全性评价”要求,应证明产品生产工艺具有清除和/或灭活引入的内源和外源性病毒的能力。

6.2.2 产品相关杂质

以下是预期产品最常见的的分子变体及其有关的测定技术。为确定这些修饰产物的类型,往往需要对变体进行分离并进行质量特性分析。应对生产和/或贮藏过程中产生的明显的降解产物进行检测,并根据可接受标准进行监控。

(a)截短形式: 水解酶或化学试剂可催化肽键断裂。截短形式可用 HPLC 或 SDS-PAGE 等方法检测,亦可根据变体性质不同而选用肽图检测。

(b)其它修饰形式: 脱酰胺、异构化、二硫键错配、氧化或其它结合物的改变(如糖基化、磷酸化)等,可通过色谱、电泳和/或其它相关的分析方法(如 HPLC、毛细管电泳、质谱、圆二色谱)进行检测和质量特性分析。

(c)聚合物: 聚合物类型包括预期产品的二聚体、多聚体。一般将它们从预期产品或产品相关物质中分离出来并进行定量(如排阻层析、毛细管电泳等分析方法)。