

团 体 标 准

T/XXX XXXX—XXXX

脐带间充质干细胞制备及质量控制规范

Specification for preparation and quality control of umbilical cord mesenchymal stem cells

XXXX - XX - XX 发布

XXXX - XX - XX 实施

目 次

前言	II
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 术语和定义、缩略语	1
4 基本要求	2
5 制备过程	3
6 质量控制	4
7 质量评价与放行	5
参考文献	6

前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由XXX提出。

本文件由中国国际经济技术合作促进会归口。

本文件起草单位：山东水发生命科学研究有限公司、XXX、XXX、XXX。

本文件主要起草人：XXX、XXX、XXX。

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与放行。

本文件适用于脐带间充质干细胞的分离制备与质量控制。

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 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

从供者器官或组织中分离出细胞的过程。

3.1.4

冻存 cryopreservation

是指经过程序降温冷冻，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。

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

为达到临床级人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

能够增值、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。

HAV: 甲型肝炎病毒 (Hepatitis A Virus)

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)

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》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》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 脐带间充质干细胞的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,获得国家资质认证的设备、仪器、耗材和试剂。

4.2.2 脐带间充质干细胞的制备机构应对设备、仪器、耗材和试剂供应商进行资质审核认证,要求供应商提供产品质量报告和批次检验报告,并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 脐带间充质干细胞的制备机构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),并定期进行第三方校准,不得使用有安全隐患的仪器操作样本及细胞制品。

4.2.4 脐带间充质干细胞的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干细胞制备负责人、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,制备技术负责人与质量管理负责人、质量授权人不得相互兼任。

4.3.2 脐带间充质干细胞制备和质控技术人员应具备的健康要求:HAV、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控技术人员应半年接受体检一次,有呼吸道感染或发热等疾病状态下不得进入洁净操作区,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控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、GCP 资质、制剂基本知识、细胞培养基础、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。

5 制备过程

5.1 样本采集

5.1.1 脐带的采集应在指定的取得《医疗机构执业许可证》的医疗机构进行。

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

5.1.3 应建立合适的供者筛选标准，至少应包括既往病史和家族病史的调查、传染性疾病的检测结果、近期旅行或居住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 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、符合临床安全标准，且在有效期内使用。

5.1.5 采集产妇静脉血，用于病原微生物检测。

5.2 样本运输

5.2.1 运输人员应是经过专业培训合格的人员，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，样本包装应贴上条形码作为唯一标识。

5.2.4 样本运输温度应维持在 2℃~8℃，运输时间不超过 12 小时。

5.3 样本接收

5.3.1 样本接收人员应是经过专业培训合格的人，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。

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，最长时间不超过 12 小时。

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。

5.3.8 脐带间充质干细胞制备方应制定样本拒收标准，按照样本拒收标准处理样本，并及时通知有关部门或负责人，同时做好相应记录。

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 分离操作需符合无菌操作要求，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操作应严格遵照《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》要求，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。

5.5.2 换液时间及频次应根据脐带间充质干细胞生长情况及培养基状态进行判断，以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，尽量采用已获国家批准的临床级产品或药品辅料。

5.6 细胞传代

5.6.1 脐带间充质干细胞传代操作应严格遵照《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》要求，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 脐带间充质干细胞一般在达到 80%~90%融合度可进行传代操作，传代操作应密度适宜、及时，迅速。

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，尽量采用国家已批准的临床级产品。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操作应严格遵照《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》要求，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系可进行冻存操作，冻存细胞应加入适当的冻存保护液，遵循程序降温原则，并在液氮中进行保存。

5.7.3 冻存液成分应符合脐带间充质干细胞分离与培养的基本要求，尽量采用国家已批准的临床级产品或药品辅料，二甲基亚砷含量不得超过 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，严禁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、培养条件、代次、批次、操作人员、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，气相冻存，由专人负责，保证液氮充足，温度恒定。

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℃~42℃水浴锅中，轻摇冻存管使其内容物在 3min 内融化。用 75%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瓶中，放入 CO₂ 培养箱培养。

5.8.3 复苏后细胞的活率应不低于 75%。复苏后细胞的接种密度应适宜。

5.9 制剂制备

5.9.1 复苏检测合格的工作库细胞，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

应对脐带间充质干细胞基本细胞生物学属性、微生物学安全性、生物学安全性、生物学有效性等方面进行评价。内容至少应包括：

- a) 基本细胞生物学属性评价包括细胞形态、同工酶法、STR 图谱鉴别、流式细胞仪检测细胞表面标记物、种属间细胞污染检测、染色体核型检测等；
- b) 微生物学安全性评价包括无菌检测、支原体检测、特定病毒和非特定病毒检测、细菌内毒素检测等；
- c) 生物学安全性评价包括成瘤性和促瘤性检测、异常免疫反应、残留物检测等；

d) 生物学有效性评价包括多向分化功能的评价、免疫调控功能的评价等。

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、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，记录存档保存至少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。相关记录报告应存档保存至少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批准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，存档保存至少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 质量评价与放行

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标准要求。

7.1.3 脐带及检测标本的接收、标识以及暂存符合标准要求。

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，应有定期环境监控；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、外包装标签内容与公司规定内容相符，经双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。

7.1.12 其他需要考虑的因素。

7.2 评价结论

7.2.1 如果细胞质量评价各项都符合第6章的要求，则视为合格品，可转为长期储存。

7.2.2 如果细胞质量评价未能满足第6章的要求，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] 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）
 - [2] WHO 实验室生物安全手册（第三版）
 - [3] 药品生产质量管理规范（卫生部令第79号）
 - [4] 中华人民共和国药典（2020年版）
-