|  |  |
| --- | --- |
| ICS | 00.000 |
| CCS | |  | | --- | |  |   X ？ |

团体标准

T/ XXXX—XXXX

人源间充质干细胞外泌体

Human mesenchymal exosomes

（征求意见稿）

XXXX - XX - XX发布

XXXX - XX - XX实施

中国食品药品企业质量安全促进会  发布

目次

[前言 III](#_Toc12410)

[1 范围 1](#_Toc1963)

[2 规范性引用文件 1](#_Toc17994)

[3 术语和定义 1](#_Toc16844)

[3.1 干细胞 1](#_Toc23894)

[3.2 人源间充质干细胞 1](#_Toc1010)

[3.3 外泌体 1](#_Toc31265)

[4 外泌体可溯源性资料信息分类标识要求缩略语 1](#_Toc6269)

[5 人源间充质干细胞要求 2](#_Toc15842)

[6 技术要求 2](#_Toc692)

[6.1 外泌体制备 2](#_Toc12784)

[6.2 关键质量属性 2](#_Toc5399)

[7 检验方法 2](#_Toc6978)

[7.1 形态 2](#_Toc13137)

[7.2 数量、粒径、浓度 2](#_Toc32543)

[7.3 标志蛋白 3](#_Toc25776)

[7.4 蛋白含量 3](#_Toc2623)

[7.5 微生物 3](#_Toc17217)

[8 检验规则 3](#_Toc21981)

[8.1 总原则 4](#_Toc29966)

[8.2 放行检验 4](#_Toc8858)

[8.3 留样 4](#_Toc2064)

[8.4 复合检验 4](#_Toc7955)

[8.5 判定规则 4](#_Toc3784)

[9 包装、储存和运输 4](#_Toc16543)

[9.1 包装 4](#_Toc2726)

[9.2 标签 4](#_Toc9878)

[9.3 存储 4](#_Toc23208)

[9.4 运输 4](#_Toc1278)

[10 废弃物处理 4](#_Toc22476)

[附录A（资料性）外泌体质量检验报告单 5](#_Toc22100)

[参考文献 6](#_Toc14753)

1. 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 提出。

本文件由 归口。

本文件起草单位：

本文件主要起草人：

本文件为首次发布。

人源间充质干细胞外泌体

* 1. 范围

本标准规定了人源间充质干细胞外泌体的鉴定方法、检验要求、检验规则、标签、包装、储存、运输和废弃物处理要求。

本标准适用于人源间充质干细胞外泌体的制备与检验。

* 1. 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/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

WS 213 丙型肝炎诊断

WS 273 梅毒诊断

WS 293 艾滋病和艾滋病病毒感染诊断标准

WS 299 乙型病毒性肝炎诊断标准

中华人民共和国药典（2020 年版）

全国临床检验操作规程（第4版）

《药品生产质量管理规范》

T/CSCB 0001-2020 干细胞通用要求

T/CSCB 0003-2020 人间充质干细胞

* 1. 术语和定义
     1. 干细胞 stem cell

干细胞是一类具有不同分化潜能，并在非分化状态下自我更新的细胞。

* + 1. 人源间充质干细胞 human mesenchymal stem cell

一类存在于多种人体组织(如骨髓、脐带血和脐带组织、胎盘组织、脂肪组织等），具有多向分化潜力，非造血干细胞的成体干细胞。这类干细胞具有向多种间充质系列细胞（如成骨、成软骨及成脂肪细胞等）或非间充质系列细胞分化的潜能，并具有独特的细胞因子分泌功能。

* + 1. 外泌体 exosome

由活细胞经过“内吞、融合、释放”的一类具有磷脂双分子层，直径在30-150nm之间的细胞外囊泡。

注：外泌体携带多种蛋白质、mRNA、miRNA和脂质类物质等，广泛参与细胞间物质运输与信息传递，调控生理和病理过程。

* 1. 外泌体可溯源性资料信息分类标识要求缩略语

下列缩略语适用于本文件。

HBV ——乙型肝炎病毒（Hepatitis B Virus）

HCMV ——人巨细胞病毒（Human Cytomegalovirus）

HCV ——丙型肝炎病毒（Hepatitis C Virus）

HEBV ——人类疱疹病毒（Human Epstein-Barr Virus）

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

HTLV ——人类嗜 T 细胞病毒（Human T-lymphotropic Virus）

TP ——梅毒螺旋体（Treponema Pallidum）

GMP ——良好生产规范（Good Manufacturing Practice of Medical Products）

* 1. 人源间充质干细胞要求

细胞组织来源应通过医疗机构或区域伦理委员会审批，且供者签署知情同意（应用及研究）。

应建立细胞采集的供者评估和筛选标准、采集方法、运输标准和交接标准，保证供者和细胞的安全。需提供干细胞的获取方式和途径以及相关的临床资料，包括供者的一般信息、既往病史、家族史等。既往史和家族史要对遗传病(单基因和多基因疾病,包括心血管疾病和肿瘤等）相关信息进行详细采集。

供体应筛查确认无HIV、HBV、HCV、HTLV、EBV、HCMV和TP感染。

应建立细胞培养的工艺标准、质量标准、储存标准和检验标准，保证制备外泌体原材料的质量可控及安全性。

使用的间充质干细胞和培养过程中的辅料应符合《干细胞制剂质量控制及临床前研究指导原则（试行）》中的要求。

* 1. 技术要求
     1. 外泌体制备

外泌体的制备应符合《药品生产质量管理规范》中的要求。

* + 1. 关键质量属性

形态

透射电镜下多呈杯状圆形或类圆形的膜性小囊泡，可见囊泡的双膜性结构，中央为低电子密度成分分布较集中且边界清晰。

粒径

应分布在30-150nm范围内，且在该范围内存在粒径峰值。

标志蛋白

需同时满足以下条件。CD9、CD63以及CD81任意两个表达阳性；Alix、Tsg101任意一个表达阳性；Calnexin、histone 3以及GM130任意两个表达阴性。

微生物

真菌、细菌、支原体、HIV、HBV、HCV、HTLV、EBV、HCMV、TP、外源病毒因子、内毒素为阴性。

纯度

外泌体颗粒数与蛋白量比值不低于1×10^11 particles/mg。

* 1. 检验方法
     1. 形态

按照透射电镜观察法。

* + 1. 数量、粒径、浓度

按照纳米流式检测法、纳米颗粒跟踪分析仪或纳米库尔特粒度仪分析。

* + 1. 标志蛋白

按照《中华人民共和国药典》通则“免疫印迹法”检测。

* + 1. 蛋白含量

按照蛋白质定量试剂盒（BCA）检测。

* + 1. 微生物

总原则

检验方法优先选择现行版《中华人民共和国药典》的方法，若考虑成本、生产量、快速检测等需求，可以采用非药典规定的检验方法（即替代方法），但应进行替代方法的验证，确认其应用效果优于或等同于药典的方法。

真菌

按照《中华人民共和国药典》通则“1101无菌检查法”检测。

细菌

按照《中华人民共和国药典》通则“1101无菌检查法”检测。

支原体

按照《中华人民共和国药典》通则“3301无菌检查法”检测。

HIV

按照《艾滋病和艾滋病病毒感染诊断》（WS293-2019）核酸法检验。

HBV

按照《全国临床检验操作规程》核酸法检验。

HCV

按照《丙型病毒性肝炎诊断标准》（WS213-2008）核酸法检验。

HTLV

按照《全国临床检验操作规程》核酸法检验。

EBV

按照《全国临床检验操作规程》核酸法检验。

HCMV

按照《全国临床检验操作规程》核酸法检验。

TP

按照《梅毒诊断标准》（WS273-2007）核酸法检验。

外源病毒因子

按照《中华人民共和国药典》通则“3302外源病毒因子检查法”检测。

7.5.13 内毒素

按照《中华人民共和国药典》通则“1143细菌内毒素检查法”检测。

* 1. 检验规则
     1. 总原则

在一个制备周期中，同一来源、同一批次、同一方法、同一生产线制备出来的产品为一批。

* + 1. 放行检验

每一批产品中随机抽取一定数量最小包装单元进行检验。取样量一般应为检验需求量的2倍。抽样原则根据实际情况可参考《药品抽样原则及程序》（国药监药管〔2019〕34号）制定。

放行检验项目应包括6.3关键质量属性规定的所有项目。

每一批制剂均应进行放行检验，并附检验报告。

* + 1. 留样

每一批外泌体必须留样，在无菌条件下留取适量外泌体进行留样。留样量一般至少应当能够确保按照相应质量标准满足2次全检，并至少保留一件最小包装的成品。

样本至少保存到产品有效期后一年。

留样的包装形式应当与放行包装形式一致。

* + 1. 复合检验

根据需要，应有专业检验机构/实验室进行复核检验。

* + 1. 判定规则

放行检验项目全部符合6.3关键质量属性规定，即判为合格产品；有1项及以上不符合的，则被判为不合格产品。

* 1. 包装、储存和运输
     1. 包装

直接与产品接触的包装材料，应选择低吸附、对外泌体关键质量属性无影响的材料和容器。

接与产品接触的包装材料应满足无菌、无热原要求。

包装内应附外泌体使用说明，最小包装上应附标签。

* + 1. 标签

标签应包括以下内容：

a.制剂名称；

b.外泌体数量；

c.制剂体积；

d.生产日期（年、月、日、时、分）；

e.生产批号；

f.储存条件；

* + 1. 存储

应在低于-80℃环境下储存，应避免反复冻融或温度剧烈波动。

* + 1. 运输

冻存的外泌体应在干冰环境下运输，非冻存的外泌体应在2~8℃条件下运输。

* 1. 废弃物处理

对于制备、检验及研究过程中不合格的外泌体、剩余废弃间充质干细胞或捐赠组织（如供者脂肪、脐带等），应符合国家和地方性法规的要求，并应交由当地环保部门资质认定的单位进行最终处置。

应建立废弃间充质干细胞及外泌体管理文档，严格执行管理规范并详细记录。

附录A

（资料性）

外泌体质量检验报告单

表格编号：

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 申请单号 |  | 制备时间 | |  | | 申 请 人 | |  |
| 制剂批号 |  | 体 积 | |  | | 外泌体数量 | |  |
| 样本类型 |  | 样本编号 | |  | | 样本代次 | |  |
| 序号 | 检验项目 | | 标准规定/参考值 | | 检验结果 | | 结果判定 | |
| 1 |  | |  | |  | |  | |
| 2 |  | |  | |  | |  | |
| 3 |  | |  | |  | |  | |
| 4 |  | |  | |  | |  | |
| 5 |  | |  | |  | |  | |
| 6 |  | |  | |  | |  | |
| 检验结论 |  | | | | | | | |
| 主检人 |  | 审核人 | |  | | 批准人 | |  |
| 检验日期 |  | 审核日期 | |  | | 批准日期 | |  |

注：本报告经涂改、增删或未加盖本中心检验报告专用章的复印件均无效

参考文献

[1] 原国家卫生计生委，原食品药品监督总局，干细胞制剂质量控制及临床前研究指导原则（试行），2015.

[2] Minimal information for studies of extracellular vesicles 2018 (MISEV2018): a position statement of the International Society for Extracellular Vesicles and update of the MISEV2014 guiderlines.

[3] 《药品抽样原则及程序》（国药监药管〔2019〕34号）