

T/CIET

团 体 标 准

T/CIET 1784—2025

高滴度慢病毒颗粒制备技术要求

Technical requirements for preparation of high titer lentivirus particles

2025 - 09 - 02 发布

2025 - 09 - 02 实施

中国国际经济技术合作促进会 发 布

目 次

前言 II

1 范围 1

2 规范性引用文件 1

3 术语和定义 1

4 基本要求 1

5 技术要求 3

6 质量控制要求 6

7 安全要求 7

8 标志、包装、运输及贮存 7

参考文献 9

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。

本文件由中国国际经济技术合作促进会标准化工作委员会提出。

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：苏州博腾生物制药有限公司、北京因诺惟康医药科技有限公司、北京可瑞生物科技有限公司、翌圣生物科技（上海）股份有限公司、通标中研标准化技术研究院（北京）有限公司、途邦认证有限公司。

本文件主要起草人：陈慧、陈晖、徐燕、郭伟、王成、潘兴华、王辰龙、李永红、杨路遥、刘岩、吴永利、汪贤峰、时俊伟、李泽峰、徐敬铭、包瑾、付梦超。

本文件首次发布。

高滴度慢病毒颗粒制备技术要求

1 范围

本文件规定了高滴度慢病毒颗粒制备的基本要求、技术要求、质量控制要求、标志、包装、运输及贮存。

本文件适用于高滴度慢病毒颗粒的制备。

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 19489 实验室生物安全通用要求
《中华人民共和国药典（现行版）》

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

高滴度慢病毒颗粒 high titer lentivirus particles

经过特定制备工艺获得的，具有较高感染活性浓度的慢病毒颗粒，通常以感染滴度衡量。

3.2

慢病毒 lentivirus

一种逆转录病毒，能够将自身基因组整合到宿主细胞染色体中，具有较长的感染周期和高效基因转导能力，常用于基因治疗、基因功能研究等领域。

3.3

物理滴度 physical titer

直接测量病毒颗粒的总数量（包括有感染性和无感染性的病毒）。以病毒颗粒数/mL（VP/mL）、慢病毒颗粒数/mL（LP/mL）或基因组拷贝数/mL（GC/mL）等表示。

3.4

病毒感染滴度 viral infectivity titer

衡量病毒悬液中具有感染活性的病毒颗粒浓度及致病能力的量化指标。它通过单位体积内有效病毒颗粒的数量或最小有效稀释倍数表示，常用单位包括噬斑形成单位（PFU）、感染单位（IU）、转导单位（TU）或半数致死量（LD₅₀）等。

3.5

病毒转染 viral transfection

通过化学或物理方法将携带目的基因的病毒载体导入包装细胞，利用细胞的生物合成机制生产具有感染能力的病毒颗粒的过程。这一过程是病毒载体生产的核心步骤，用于制备基因治疗、细胞治疗（如CAR-T）或基础研究所需的病毒颗粒。

4 基本要求

4.1 环境要求

4.1.1 慢病毒属于复制缺陷型病毒，应按 GB 19489 中规定的 BSL-2 的环境等级下进行生产，厂房需满足 C+A 洁净等级。生产环境一方面要确保人员的操作安全，另一方面要保证病毒气溶胶不污染周围环境，从而生产出高质量的病毒产品。

4.1.2 人员操作涉及开口操作，如：细胞传代、病毒转染、中间品取样等必须在 II 级生物安全柜中进行，生物安全柜应定期进行性能确认，以保证气流和高效过滤效率符合标准。病毒成品的灌装应在 A 级隔离器条件下，隔离器的密封性及 VHP 消毒效果等均需进行验证。在生产各个环节保证病毒产品的质量。

4.1.3 慢病毒生产区域排风系统应配备高效过滤器（HEPA），应对生产线设计单独的空调系统，防止区域之间的交叉污染；慢病毒生产房间应保持负压状态，进口和出口均有气闸互锁设计，维持不同区域之间的压差，防止病毒污染物逆向扩散。

4.1.4 对于慢病毒生产区域应根据洁净等级定期安排环境监测，监测空气中的悬浮粒子、沉降菌、浮游菌以及设备表面、台面等的微生物情况，并通过对环境监测数据进行趋势分析，及时发现潜在风险、优化环境控制策略，提高环境运行的稳定性，提高病毒产品质量的安全性。

4.2 原材料要求

用于慢病毒颗粒制备的物料按照 GMP 要求由合格的供应商提供，物料等级符合产品的生产阶段，收货后按流程进行验收，并经质量部门放行后才能正式用于生产。用于慢病毒制备的物料需关注包装的密闭完整性以及物料传递过程中防止交叉污染。生产大致可以分成三类：起始原材料、生产试剂与耗材、辅料与添加剂。起始原材料一般是指宿主细胞以及用于病毒包装的质粒系统，均需符合 GMP 规范，溯源清晰，序列准确无重组风险；生产用的试剂耗材关键有用于细胞培养的培养基及添加剂、用于病毒包装的转染试剂、用于纯化过程的填料及原液过滤的除菌滤器；最终的病毒原液应在配方优化后的制剂缓冲液中进行保存，加入适当的稳定剂确保病毒颗粒产品的活性维持在稳定的水平。以下是在慢病毒制备过程中常用的关键物料使用要求：

- a) 宿主细胞：悬浮体系的宿主细胞通常由贴壁的 HEK293T 驯化而来，《中华人民共和国药典》对制备用细胞系的要求强调安全性、一致性及可追溯性，无支原体污染，在 GMP 车间完成三级库建立，且进行传代稳定性研究，保证高活力。
- b) 包装质粒系统：采用第三代四质粒系统（转移质粒、Rev、Gag-Pol、VSV-G）通过共转染宿主细胞，各组分独立表达，降低重组风险。质粒系统应高纯度且无内毒素污染。
- c) 细胞培养基：慢病毒制备的核心环节是包装细胞的高效培养与转染，培养基的合理选择直接影响细胞状态、转染效率及病毒滴度。悬浮工艺目前采用无血清培养基，化学成分明确，支持高密度悬浮生长。
- d) 转染试剂：转染试剂用于病毒包装步骤，需要考虑与包装细胞的兼容性与安全性，应高效低毒，选择合适的转染试剂，能显著提高病毒包装效率，得到高滴度的病毒收获液。
- e) 层析填料：层析步骤采用特定的填料纯化处理病毒样品，能有效去除宿主细胞蛋白（HCP）、宿主细胞 DNA（HCD）、质粒 DNA、核酸酶、培养基成分和小分子杂质等残留，提高病毒液的纯度与活性。
- f) 中空纤维膜：作为病毒颗粒制备过程中浓缩和换液的工具，采用切向流过滤的方式，病毒料液平行于膜表面循环流动而形成的冲刷作用，能有效缓解膜污染和膜堵塞，低剪切力能避免流速过高导致病毒的活性损伤。
- g) 除菌滤器：能保证病毒成品达到 SAL-6 无菌级别，选择低吸附的膜材质，减少病毒颗粒的非特异性吸附，提高病毒的回收率，使用后进行完整性测试确保滤器无缺陷。

4.3 人员要求

4.3.1 人员的资质背景

4.3.1.1 从事慢病毒制备的人员应具备生物工程、生物制药等相关专业背景，熟悉慢病毒载体构建原理及用途，在 GMP 环境条件下按照法规指南的要求进行操作。

4.3.1.2 人员在上岗前需完成岗位培训并通过考核，包括但不限于无菌操作培训、生物安全培训、GMP 相关培训等。无菌操作包含生物安全柜的操作、无菌管路焊接、清洁消毒及灭菌操作、隔离器中的操作等。对于人员所取得的资质应定期（如一年）对其资质进行再确认。

4.3.1.3 人员应熟悉生物安全柜的操作规范，个人防护装备（PPE）使用，了解慢病毒的潜在风险及掌握意外暴露应急处理流程。

4.3.2 人员的行为管理

按照现行的GMP指南要求进行人员行为规范管理，操作人员需具备GMP生产操作经验，熟悉洁净室行为规范，如更衣程序、环境监测程序等，按照GDP的要求严格记录操作过程，确保符合监管机构的要求。

4.3.3 人员的操作技能

具备规模化生产工艺开发经验，包括细胞培养体系优化（如HEK293T细胞扩增）、转染效率提升及病毒浓缩方法的改进，需在BSL-2级生物安全环境中规范操作，严格执行污染物灭菌处理程序，避免气溶胶泄露及职业暴露风险。

5 技术要求

5.1 细胞复苏

5.1.1 操作要点

在GMP车间进行细胞复苏操作，细胞解冻应避免水源，防止微生物污染，可选择细胞复苏仪；复苏时间要严格控制在一定范围内（建议 $<5\text{ min}$ ），保持细胞活力；解冻后尽快去除DMSO（建议 $<10\text{ min}$ ），防止DMSO对细胞产生毒性。

5.1.2 操作步骤

将宿主细胞置于复苏设备中进行解冻，解冻后取少量细胞悬液检测细胞活力（应 $\geq 80\%$ ），全部接种至摇瓶后置于二氧化碳恒温摇床中进行培养，设置适宜的培养参数（如：温度 $37.0\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ ，二氧化碳浓度 $8.0\%\pm 0.5\%$ ，湿度 $80\%\pm 5\%$ ，转速 $140\text{ rpm}\pm 10\text{ rpm}$ ）进行培养。

5.1.3 关键物料/设备（供参考）

5.1.3.1 关键物料：培养基（如：Opti-MEM、Transpro CD01等）、培养基添加物（如：Gluta MAX、L-Glutamine等）。

5.1.3.2 关键设备：细胞复苏仪（如：Biolife AST-601、Thermo 8887010等）、二氧化碳恒温摇床（如：Infors Multitron III、Thermo MaxQ等）。

5.2 细胞扩增

5.2.1 操作要点

细胞每代次进行扩增时，需控制初始密度 $(3.0\sim 6.0)\times 10^5\text{ cells/ml}$ ，保持细胞活力，传代时细胞活力应 $\geq 90\%$ ；换液过程中要减少机械损伤和污染风险。细胞扩增至大规模后优先采用封闭系统（如摇摆式生物反应器、搅拌式生物反应器）。

5.2.2 操作步骤

按照适宜的接种密度 $(3.0\sim 6.0)\times 10^5\text{ cells/ml}$ 的接种密度进行计算出所需的细胞悬液体积和培养基体积，接种到合适的细胞培养容器，混合均匀后置于二氧化碳恒温摇床中进行培养，设置适宜的培养参数（如：温度 $37.0\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ ，二氧化碳浓度 $8.0\%\pm 0.5\%$ ，湿度 $80\%\pm 5\%$ ，转速 $140\text{ rpm}\pm 10\text{ rpm}$ ），每代次培养间隔时间控制在 $48\text{ h}\sim 72\text{ h}$ 。

5.2.3 关键物料/设备（供参考）

5.2.3.1 关键物料：细胞培养瓶（如：Corning、Thermo Fisher等）、培养基及添加物见5.1.3。

5.2.3.2 关键设备：细胞计数仪（如：Countstar S2、Thermo countess 3、Beckman Vi-CELLXR等）、二氧化碳恒温摇床见5.1.3。

5.3 生物反应器接种培养

5.3.1 操作要点

生物反应器接种前应进行预培养，并验证无菌性，操作过程中需严格规范无菌操作，管路需用无菌接管机进行无菌接管，对于培养环境的参数（DO、pH、温度等）进行实时动态监控。

5.3.2 操作步骤

按照适宜的接种密度 $(3.0 \sim 6.0) \times 10^5$ cells/ml 转移一定体积的细胞悬液至生物反应袋中进行培养，设置适宜的培养参数（如：温度 $37.0^\circ\text{C} \pm 0.5^\circ\text{C}$ 、角度 $10.0^\circ \pm 1^\circ$ 、转速 $25 \text{ rpm} \pm 5 \text{ rpm}$ 、表层空气 $1.0 \text{ lpm} \sim 1.5 \text{ lpm}$ 、DO40%~60%、表层 CO_2 $0 \text{ lpm} \sim 0.5 \text{ lpm}$ ），培养期间进行各参数的实时监测。

5.3.3 关键物料/设备（供参考）

5.3.3.1 关键物料：生物反应袋（Sartorius Stedim DF0020L/50L、Cytiva CB0020L/50L722-31-05PK 等）、培养基及添加物见 5.1.3。

5.3.3.2 关键设备：摇摆式生物反应器（如：Sartorius RM20/50、Cytiva WAVE20/50 等）、一次性搅拌式反应器（如：GE XDR-50、Sartorius STR50 等）、无菌接管机（如：Sartorius BioWelder[®]TC、英启 Tube Welder I V2 等）。

5.4 质粒转染

5.4.1 操作要点

质粒系统中主质粒和辅助质粒的比例是影响包装效率的关键，通过前期工艺转移摸索最佳的质量比是关键的操作点；转染试剂需与质粒 DNA 按照 2:1~3:1 混合，静置 10 min~30 min 形成稳定复合物，复合物的终体积不超过培养体系的 10%，避免高浓度试剂导致细胞毒性。

5.4.2 操作步骤

5.4.2.1 按照适宜的细胞密度 $(1.5 \sim 2.0) \times 10^6$ cells/ml 进行稀释，加入 2 mM~10 mM 丁酸钠后准备转染。

5.4.2.2 DNA 溶液制备：按照最佳的质粒质量比（如：主质粒与辅助质粒比 1:1 或 1.5:1）进行混合，质粒的终浓度为 1.0 mg/L~2.5 mg/L。

5.4.2.3 转染试剂制备：按照与质粒 DNA 的体积质量比 2:1 或 3:1 加入转染试剂，室温孵育 1 min~3 min。

5.4.2.4 将准备好的 DNA 溶液和转染试剂混合制备成转染复合物，静置 15 min~30 min 后无菌接管后泵入生物反应袋中，开始转染，继续培养适宜的时间（如：48 h~72 h）。

5.4.3 关键物料/设备（供参考）

关键物料：转染试剂（如：PEI Pro、PEI Max、Lipofectamine 3000、X-treme GENE HP 等）。

5.5 核酸酶酶切

5.5.1 操作要点

核酸酶的作用条件，如核酸酶的终浓度、作用温度及作用时间将直接影响到核酸酶对宿主 DNA 和质粒 DNA 的去除效果，同时能更好地避免基因组 DNA 聚集形成聚集体或大分子复合物。

5.5.2 操作步骤

酶切准备时加入适宜终浓度（如：2 mM 或 5 mM）的 MgCl_2 （镁离子能提升酶切特异性）；并加入终浓度 50 IU/ml 的核酸酶进行酶切，室温酶切 1 h~2 h 后进行收获。

5.5.3 关键物料/设备（供参考）

关键物料：核酸酶（如：Merck Millipore、近岸等）。

5.6 病毒粗纯

5.6.1 操作要点

粗纯的主要目的是去除包装细胞和细胞碎片，粗纯有多种形式：PEG 沉淀、离心、澄清过滤、深层过滤等，根据工艺要求可单独进行也可进行组合，以达到最佳的粗纯效果。

5.6.2 操作步骤

以离心处理结合深层过滤的方式为例，在生物安全柜中将病毒收获液转移到离心瓶中，离心力设置为 1500 g，离心时间 25 min $\pm$ 5 min；深层过滤可分别采用 0.45 μ m 和 0.22 μ m 的澄清滤器进行二级澄清。

5.6.3 关键物料/设备（供参考）

5.6.3.1 关键物料：澄清滤器（如：Cobetter Greclary® CHV 系列、Excesal® CHT 系列等）。

5.6.3.2 关键设备：离心机（如：Thermo Scientific Heraeus Megafuge 8、ROTO SILENTA 630 RS 等）、生物安全柜（如：Thermo1374、ESCO AC2-5S1 等）。

5.7 层析

5.7.1 操作要点

根据病毒样品自身的特性（如：表面所带电荷、与待去除杂质分子量差异等）选择适用的高性能层析填料，以离子交换层析为例：需筛选层析填料的缓冲液组分（如 Tris-HCl 或磷酸盐缓冲液）使病毒样品最大程度地与填料进行结合，进而摸索、优化洗脱条件（线性洗脱或梯度洗脱），以达到更高纯度的病毒纯化样品。以复合层析为例：摸索平衡液组分、上样载量、层析柱柱高等，使样品的处理量达到最大，且保证杂质的残留在可接受范围内。通常为达到更高的病毒纯度，选择复合层析与离子交换层析组合的纯化方式。

5.7.2 操作步骤

层析柱开始使用前进行装柱准备并测试柱效，层析柱平衡后开始上样，病毒样品一次性过柱，复合层析模式对流穿样品进行收集；离子交换层析在上样结束后继续用平衡液冲洗至基线平稳，再用洗脱液进行目标产物的洗脱。层析柱尺寸、上样流速及紫外吸收值收集范围根据生产规模进行确定。

5.7.3 关键物料/设备（供参考）

5.7.3.1 关键物料：层析填料：复合层析填料（如：Capto™ core 400/700）、离子交换填料（如：DEAE、POROS D50 或 Capto™ Q 等）。

5.7.3.2 关键设备：层析系统（如：Cytiva AKTA Ready, Cytiva AKTA Pilot）。

5.8 超滤浓缩

5.8.1 操作要点

大规模病毒颗粒的制备推荐使用中空纤维膜，根据慢病毒载体的尺寸通常选择 300 kD 或 500 kD 的中空纤维膜；超滤浓缩操作过程需关注如下参数：TMP、剪切力、膜柱高、膜面积、进样流速等，保持进样流速与膜面积比例恒定（如 10 L/min/m²），确保小试参数可线性放大。中空纤维的完整性影响到整个步骤的有效性，需在使用前后运用压降法或者前进流扩散法对膜的完整性进行测试。建议使用一次性中空纤维膜能减少交叉污染，确保病毒样品的回收率。

5.8.2 操作步骤

对中空纤维膜进行前处理后，测试膜的水通量、滞留体积以及完整性，并记录相关数值。超滤过程中控制 TMP 在 2 psi $\sim$ 5 psi，剪切力在 2000 s⁻¹ $\sim$ 3500 s⁻¹，根据膜面积的大小选择合适的进样流速，控制一定的浓缩倍数（建议 $\leq$ 10 倍）进行浓缩，浓缩结束后，用缓冲液（含蔗糖、人血白蛋白、甘露醇等保护剂）进行洗滤，至少洗滤 5 倍浓缩体积以上，使病毒最终保存在含保护剂的溶液中，降低病毒失活的风险。

5.8.3 关键物料/设备（供参考）

5.8.3.1 关键物料：中空纤维膜（如：Repligen 的 KrosFlo 系列，Minikros 系列）。

5.8.3.2 关键设备：超滤系统（如：Repligen KrosFlo®切向流过滤系统或同类设备）。

5.9 除菌过滤

5.9.1 操作要点

优先选用除菌级滤膜（如 0.22 μm PES 或 PVDF 材质），确保细菌和微生物的完全截留；为避免膜堵塞或通量下降，需限制最大过滤体积（通常 $\leq 20 \text{ L/m}^2$ ），选择合适膜面积的除菌滤器，并采用恒压模式逐步提升流速，平衡过滤效率与病毒回收率。过滤前后需进行泡点测试或扩散流测试，验证膜完整性。

5.9.2 操作步骤

除菌滤器在使用前用平衡液进行润洗，润洗后排空滤器；将病毒液缓慢泵入滤器，设置一定的过滤流速（100 LMH~300 LMH），过滤过程全程监测压力（ $\leq 8.0 \text{ psi}$ ），并控制在一定的时间段内（20 min~30 min）过滤完，过滤结束后将所有病毒液进行回收。

5.9.3 关键物料/设备（供参考）

关键物料：除菌滤器（如：Sartopore® 2XLG 系列、Cobetter Purcise® SLE 系列）。

5.10 制剂灌装

5.10.1 操作要点

病毒制剂灌装需在 A 级隔离器中进行，使用无菌一次性耗材（如冻存管、西林瓶）；需控制灌装时间以及灌装后的贴签转移时间，减少病毒失活的可能；控制灌装体积误差 $\leq 2\%$ ，并在灌装前对灌装设备进行流速校准。

5.10.2 操作步骤

将除菌后的病毒原液袋连接分装管路，调节灌装泵的流速，确定好装量，开始进行灌装，目检合格后立即置于 -80°C 冰箱或液氮中速冻，按单次使用剂量分装，避免反复冻融（如每管 0.5 mL~1.0 mL），成品标签应标注病毒名称、生产批号、有效期等信息。

5.10.3 关键物料/设备（供参考）

5.10.3.1 关键物料：一次性无菌包材（如：Thermo Fisher 冻存管、SCHOTT 西林瓶等）。

5.10.3.2 关键设备：隔离器（东富龙 PI-4PM-FZ 或同类设备）。

6 质量控制要求

6.1 滴度及比活性测定

6.1.1 物理滴度：采用 ELISA 检测样品中 P24 蛋白（物理滴度）含量，一般应不低于 400 ng/ml 或 $5 \times 10^9 \text{ LP/mL}$ 。

6.1.2 感染滴度：若病毒携带荧光报告基因（GFP），可通过流式细胞仪定量感染细胞的比例，计算滴度（TU/ml），一般应不低于 $5.00 \times 10^7 \text{ TU/ml}$ 。

6.1.3 比活性：通过病毒感染滴度与物理滴度的比值考察比活性，一般应不低于 1000TU/ng 或 1:500 TU/LP。

6.2 残留测定

6.2.1 宿主细胞蛋白残留（HCP）：采用 ELISA 法测定样品中的 HCP 残留，一般应不高于 $1.0 \mu\text{g}/5 \times 10^7 \text{ TU}$ 或 $10.0 \mu\text{g/mL}$ 。

6.2.2 宿主细胞 DNA 残留（HCD）：采用 qPCR 法对病毒载体的宿主细胞 DNA 残留量进行检测，一般应不高于 $100.0 \text{ ng}/5 \times 10^7 \text{ TU}$ 或 1000 ng/mL 。

6.2.3 质粒 DNA 残留：采用 qPCR 法检测质粒 DNA 残留，一般应不高于 $10.0 \text{ ng}/5 \times 10^7 \text{ TU}$ 或 $1 \times 10^{10} \text{ copies/mL}$ 。

6.2.4 核酸酶残留量：使用 ELISA 测定样品中的核酸酶微量残留，一般应不高于 $1.0 \text{ ng}/5 \times 10^7 \text{ TU}$ 或 10.00 ng/mL 。

6.2.5 DNA 残留片段分布分析：采用 qPCR 法或 CE-LIF 法进行 DNA 残留片段分布分析，采用 CE-LIF 法进行 DNA 残留片段分布分析，一般要求大于 200 bp 的 DNA 片段未检出；采用 qPCR 法进行分析，宿主细胞 DNA 片段（如 $\geq 122 \text{ bp}$ ）残留应 $\leq 100 \text{ ng/mL}$ 。

6.2.6 SV40&E1A 拷贝数：采用 qPCR 法对 SV40 残留量以及 E1A 残留量进行检测，一般应不高于 $1.0 \times 10^6 \text{ copies}/5 \times 10^7 \text{ TU}$ 或 $5 \times 10^7 \text{ copies/mL}$ 。

6.3 安全性

6.3.1 无菌检查：参照《中华人民共和国药典（现行版）》通则“1101 无菌检查法”对慢病毒载体进行无菌检测，要求无菌生长。

6.3.2 细菌内毒素：参照《中华人民共和国药典（现行版）》通则“1143 细菌内毒素检查法”对慢病毒载体进行细菌内毒素的检测，一般应小于 10 EU/mL ，或基于产品的用途制定标准限度。

6.3.3 支原体检查：依据《中华人民共和国药典（现行版）》通则“3301 支原体检查法”和《美国药典》USP<63>“MYCOPLASMA TESTS”使用培养法和指示细胞培养法（DNA 染色法）对慢病毒载体的支原体进行检测，检测结果应为阴性。或基于产品使用用途和特性采用快检方法进行检测，如 NAT 等，检测结果应为阴性。

6.3.4 复制性慢病毒：结合法规要求，慢病毒载体的 RCL 检测应采用敏感细胞培养法进行检测，检测结果应为阴性；根据最适样本的原则，取病毒载体的收获液（或 UPB）进行检测。

6.3.5 外源病毒因子：参照《中华人民共和国药典（现行版）》通则“3302 外源病毒因子检查法”进行检测，检测结果为阴性。

7 安全要求

7.1 生物安全等级：操作需在 BSL-2 实验室进行，配备生物安全柜（II 级）进行暴露操作；车间设计互锁和负压，设计单向气流，防止病毒扩散。

7.2 废弃物处理：病毒废弃物应在原位用乙醇（75%）进行喷洒消毒后转移至灭活间，需经 $121 \text{ }^\circ\text{C}$ 高压灭菌 30 min 或含氯消毒液（氯浓度范围 500 mg/L – 2000 mg/L ）灭活后进行处理。

7.3 操作安全：有病毒敞口的操作区域（II 级生物安全柜）在使用结束后用消毒剂彻底擦拭工作台面，并进行紫外照射，防止气流外泄。

7.4 人员防护：穿戴防护服、手套及护目镜，避免皮肤或黏膜接触病毒。

7.5 环境设备：定期对病毒生产环境进行监测，确保各项监测指标符合 GMP 要求，定期检测设备及空调系统的高效过滤网的完整性。

8 标志、包装、运输及贮存

8.1 标志

包装容器上应清晰标注以下信息：

- a) 产品名称；
- b) 滴度；
- c) 目的基因信息；
- d) 载体信息；
- e) 生产批号、生产日期和有效期；
- f) 储存条件；
- g) 生产单位名称、地址、联系方式；
- h) 生物安全警示标识。

8.2 包装

8.2.1 慢病毒颗粒应采用无菌、无热源的容器进行包装，如无菌离心管、冻存管等，包装容量根据用户需求和病毒滴度确定。

8.2.2 包装过程应在无菌环境下进行，避免污染。

8.3 运输

8.3.1 运输过程中应使用干冰或液氮罐等低温容器，确保温度维持在-70℃以下，避免病毒活性丧失。

8.3.2 运输包装应符合生物安全运输要求，防止泄漏和破损，同时附上详细的运输清单和质检报告。

8.4 贮存

8.4.1 慢病毒颗粒应在-80℃低温冰箱中储存，避免反复冻融。

8.4.2 储存过程中应定期对病毒滴度和活性进行检测，确保其质量稳定。

参 考 文 献

- [1] 《中华人民共和国药典》
- [2] 《CAR-T细胞治疗产品质量控制检测研究及非临床研究考虑要点》
- [3] 《药品生产质量管理规范》
- [4] 《体外基因修饰系统药学研究及评价技术指导原则（试行）》
- [5] 《中华人民共和国药典》（ChP）
- [6] 《细胞治疗产品研究与评价技术指导原则》（NMPA，2023）
- [7] 《人基因治疗研究和制剂质量控制技术指导指南》
- [8] 《细胞、基因和组织工程产品的辅助材料》USP<1043>
- [9] 《GMP附录—细胞治疗产品（征求意见稿）》
- [10] ISO 14698 洁净室及相关受控环境生物污染控制
- [11] GB 19489 实验室生物安全通用要求
- [12] 《Guidance for Industry: Human Gene Therapy Investigational New Drug Applications (INDs)—Chemistry, Manufacturing, and Controls Information》



中 华 人 民 共 和 国
团 体 标 准
高滴度慢病毒颗粒制备技术要求

T/CIET 1784-2025

*

中国国际经济技术合作促进会

网址 www.capc.com.cn

中国国际经济技术合作促进会标准化工作委员会

网址 www.capcgbw.com.cn

*

开本 880×1230 1/16 印张 1.5 字数 7.8 千字

2025 年 9 月第一版 2025 年 9 月第一次印刷

*

如有印装差错 由中国国际经济技术合作促进会调换

版权专有 侵权必究

举报电话：010-68844089



T/CIET 1784-2025