

3502 生产用细胞标准（标准草案）

1 禽源原代细胞 生产用禽源原代细胞应来自健康家禽（鸡为 SPF 级）的正常组织。每批细胞均应按下列各项要求进行检验，任何一项不合格者，不得用于生产，已用于生产者，产品应予以销毁。

1.1 无菌检验 按附录 3306 进行检验，应无菌生长。

1.2 支原体检验 按附录 3308 或附录 XX 进行检验，应无支原体生长。

1.3 外源病毒检验 按附录***（外源病毒检验的一般要求）和附录 3305 进行检验，应无外源病毒污染。

2 非禽源原代细胞 生产用非禽源原代细胞应来自健康动物的正常组织。每批细胞均应按下列各项要求进行检验，任何一项不合格者，不得用于生产，已用于生产者，产品应予以销毁。

2.1 无菌检验 按附录 3306 进行检验，应无菌生长。

2.2 支原体检验 按附录 3308 或附录 XX 进行检验，应无支原体生长。

2.3 外源病毒检验 按附录***（外源病毒检验的一般要求）和附录 3305 进行检验，应无外源病毒污染。

3 细胞系 生产用细胞系一般由人或动物肿瘤组织或发生突变的正常细胞传代转化而来；或者是通过选择或克隆培养，从原代培养物或细胞系中获得的具有特殊遗传、生化性质或特异标记的细胞群。

3.1 一般要求

3.1.1 应保存细胞系的完整记录，如细胞来源、传代史、培养基等。

3.1.2 细胞库实行分级管理，一般包括原始细胞库、基础细胞库及工作细胞库。

3.1.3 应根据需要，选择适宜代次保留一定数量细胞，以便随时进行检验。

3.1.4 应对每批细胞的可见特征进行监测，如镜检特征、生长速度、产酸等。

3.1.5 细胞检验主要包括：无菌检验、支原体检验、外源病毒检验、胞核学检验和致瘤性检验等。基础细胞库细胞、工作细胞库细胞、最高代次细胞的检验项目见表 1。

表 1 不同细胞检验项目的基本要求

检定项目	基础细胞库	工作细胞库	最高代次细胞
无菌检验	+	+	+
支原体检验	+	+	+
外源病毒检验	+	+	+
胞核学检验	+	—	+
致瘤性检验	+	—	+

注：“+”为必检项目，“—”为非强制检定项目

3.2 按下列各项要求进行检验，任何一项不合格的细胞系不能用于生产，已用于生产的，产品应予以销毁。

3.2.1 无菌检验 按附录 3306 进行检验，应无菌生长。

3.2.2 按附录 3308 或附录 XX 进行检验，应无支原体生长。

3.2.3 外源病毒检验 按附录***（外源病毒检验的一般要求）和附录 3305 进行检验，应无外源病毒污染。

3.2.4 胞核学检验 从基础细胞库细胞和生产中所用最高代次的细胞，各取 50 个处于有丝分裂中的细胞进行检查。在基础细胞库中存在的染色体标志，在最高代次细胞中也应找到。这些细胞的染色体模式数不得比基础细胞库高 15%。核型必须相同。如果模式数超过所述标准，最高代次细胞中未发现染色体标志或发现核型不同，则该细胞系不得用于生物制品生产。

3.2.5 致瘤性检验 对基础细胞库细胞和最高代次细胞进行检验。

用无胸腺小鼠至少 10 只，各皮下或肌肉注射 10^7 个被检活细胞，或用 3~5 日龄乳鼠或体重为 8.0~10g 小鼠至少 10 只，用抗胸腺血清处理后，各皮下接种 10^7 个被检活细胞；同时用 HeLa 或 Hep-2 细胞或其他适宜细胞系作为阳性对照细胞，每只小鼠各注射 10^6 个活细胞；用二倍体细胞株或其他适宜活细胞作为阴性对照细胞。

接种后的动物观察 14 日，检查有无结节或肿瘤形成。如果有结节或可疑病灶，应继续观察至少 1~2 周，然后解剖，进行病理组织学检查。对未发生结节的动物，取其中半数，观察 21 日，对另外半数动物观察 12 周，对接种部位进行解剖和病理学检查，观察各淋巴结和各器官中有无结节形成，如果有可疑，应进行病理组织学检查。阳性对照组观察 21 日，应出现明显的肿瘤。阴性对照组观察 21 日，应为阴性。

如果细胞系致瘤性试验为阳性，则应采用适宜的方法对该细胞系可能诱发疫苗接种靶动物肿瘤的风险进行评估或检验。

3.2.6 对于高度纯化且不含细胞的制品，通过工艺验证研究或出厂检验分析，制品中宿主细胞 DNA 残留稳定保持在可控限度内，则其生产用细胞系可豁免胞核学检验、致瘤性检验。

3.3 重组细胞的特殊要求 对于通过 DNA 重组技术获得的含有特定基因序列的细胞系，除按本标准 3.2 项的规定进行检验外，还应进行以下检验：

3.3.1 稳定性检验 对基础细胞库细胞和生产中所用最高代次的细胞进行检验，包括遗传稳定性（如插入基因拷贝数、插入位点、插入基因的序列等）、目的基因表达稳定性、目的产品持续生产的稳定性、以及保存期内的稳定性等。

3.3.2 鉴别检验 通过检测目的蛋白基因或目的蛋白进行鉴别检验。

修订说明：

1. 本标准是在 2020 年版《中国兽药典》附录 3502 的基础上修订而成。

2. 细胞系一般要求中，参考农业部公告第 683 号《兽用生物制品生产用细胞系试验研究指导原则》，增加了细胞库分级管理并提出不同细胞检验项目的基本要求。

3. 关于支原体检査，2020 年版《中国兽药典》附录 3502 规定支原体检查法（附录 3308）用于细胞库的支原体检査。参考《欧洲药典》10.0 版 2.6.7 和《中国药典》2020 版四部附录 3301，生产用细胞的主细胞库、工作细胞库进行支原体检查时，可使用培养法或支原体检査

法（指示细胞培养法）。支原体检验法（指示细胞培养法）具有操作简便、检验周期短、方法敏感、结果判定直观等优点。综上所述，建议新增支原体检验法（指示细胞培养法）用于细胞库的支原体检验。

4. 致瘤性检验是在 2020 年版《中国兽药典》附录 3502 的基础上修订而成。参考《欧洲药典》兽用疫苗生产用细胞系及 9CFR 疫苗生产用细胞系标准，对致瘤性试验阳性的细胞系的使用进行了修订（9CFR：113.52 Requirements for cell lines used for production of biologics；《欧洲药典》：5.2.4. CELL CULTURES FOR THE PRODUCTION OF VACCINES FOR VETERINARY USE）。

5. 对部分文字进行规范性修改。

6. 附录 XX 代表支原体检验法（只是细胞培养法），附录***代表外源病毒检验的一般要求，均为新增附录，暂未编号。

7.与 2020 年版相比，本附录标准修改部分已用红色字体标出。