

**重组腺相关病毒产品质量研究和质量标准问答文件
(征求意见稿)**

国家药品监督管理局药品审评中心

2026 年 10 月

目录

一、概述.....	1
二、技术要求.....	2
(一) 基因组滴度	2
1.分析方法和方法学验证.....	2
2.标准限度制定.....	3
(二) 生物学活性	4
1.生物学活性指标	4
2.分析方法和方法学验证.....	5
(三) 杂质	6
1.杂质研究和控制	6
2.分析方法和方法学验证.....	7
三、参考文献.....	8

一、概述

重组腺相关病毒（Recombinant adeno-associated virus, rAAV）载体因理化性质稳定，致病性、整合风险相对较低，外源基因可长期表达等特点，已成为基因治疗领域内重要的病毒载体之一。随着 rAAV 基因治疗药品基础研究持续推进，境内外研发、产业化与注册审评实践经验不断积累，以及分析技术的不断进步，监管和行业对 rAAV 质量属性的认知和理解持续深化，关键质量属性的标准限度制定和分析方法验证等方面存在问题日益突出，可能引发一些潜在安全性风险。本文件为在既往《体内基因治疗产品药学研究与评价技术指导原则（试行）》、《重组腺相关病毒载体类体内基因治疗产品临床试验申请药学研究与评价技术指导原则》、《重组腺相关病毒载体类体内基因治疗产品申报上市药学共性问题与技术要求》指导原则基础上，基于当前科学认知与产业实际，结合国内外监管实践和基础，聚焦 rAAV 产品申报临床试验至上市阶段质量研究、质量标准和分析方法确认/验证存在的一些共性问题（包括基因组滴度、生物学活性、杂质）提出细化的具体要求，以供申请人参考。本文件仅反映监管部门当前对 rAAV 产品质量研究和质量标准相关问题的一般性技术要求，相关技术要求将随着行业水平的提高，技术的进步，以及产品认知的积累逐步完善。

二、技术要求

（一）基因组滴度

基因组滴度是 rAAV 产品关键质量属性，决定临床给药剂量的准确性，并与产品安全性、有效性密切相关。基因组滴度标准限度范围可以确保临床给药剂量的准确性和反映产品批间的一致性，如标准限度范围过宽可能会造成不同批次给药剂量差异大，可能引发临床不良事件。

1.分析方法和方法学验证

基因组滴度检测方法常见(d) dPCR 和 qPCR 方法，其中，(d) dPCR 方法相比 qPCR 方法是对基因拷贝数的绝对定量，不依赖标准品和标准曲线，具有较好的精密度和准确度，建议选择精密度和准确度较高的检测方法用于基因组滴度检测。基因组滴度分析方法验证旨在证明检测方法适合预期用途，可稳定、准确测定 rAAV 产品含量，建议遵循 ICH Q2(R2)和《中国药典》等指导原则的相关要求，结合检测目的，合理设定验证指标，通常包括：专属性、准确度、精密度、线性和范围等，建议结合检测需求合理制定各验证指标的可接受标准并提供完整的方法学验证报告。专属性验证应证明在样品基质等其他成分存在下，分析方法不受干扰和影响；准确度可采用供试品稀释多个不同浓度、供试品加标等方式评估回收率，回收率建议控制

43 在 80%-120%；精密度验证中建议采用同一份均匀供试品多
44 次运行（同一实验室内的条件改变，如不同时间、不同分
45 析人员、不同设备等），评估多个检测结果的变异系数或
46 相对标准偏差（Coefficient of variation, CV 或 Relative
47 standard deviation, RSD），原则上，建议 CV 值或 RSD 值
48 $\leq 15\%$ 。通过线性、准确度和精密度等指标考察，合理制定
49 检测方法的报告范围。报告范围应覆盖质量标准限度
50 范围并在其基础上适度拓宽以满足加速稳定性等考察时的
51 超标数据检测（如质量标准下限的 80%-质量标准上限的
52 120%）。

53 2.标准限度制定

54 rAAV 产品自申报临床试验至上市阶段，基因组滴度标
55 准限度制定应遵循渐进式和逐步完善的原则。为确保给药
56 剂量的准确性和可控性，建议在产品开发早期，通过对制
57 剂生产工艺的控制合理设定目标基因组滴度。标准限度制
58 定建议根据生产工艺批间差异、分析方法变异度、代表性
59 工艺多批次数据（包括非临床批次）、稳定性期间目的基
60 因滴度的变化趋势等综合考虑制定相对范围差异较小的标
61 准限度。随着临床试验不断推进，申报上市阶段建议根据
62 临床患者给药剂量的确认，明确目标基因组滴度并为后续
63 商业化生产以及产品说明书规格制定提供依据。标准限度

制定建议结合各个阶段样品（特别是临床试验批次）检测数据、分析方法变异性、稳定性研究等综合制定。

（二）生物学活性

1.生物学活性指标

生物学活性是 rAAV 产品的关键质量属性，应基于产品设计和作用机制选择合适的分析方法进行生物学活性测定。根据 rAAV 产品特点及作用机制，其在体内发挥生物学活性至少应包括将目的基因携带至细胞和目的基因在体内表达并发挥作用，因此，生物学活性指标通常包括感染滴度、目的基因表达、表达产物的活性等。

rAAV 产品自申报临床试验至上市阶段，生物学活性检测项目和检测方法应遵循渐进式和逐步完善的原则，建议尽早开发建立基于作用机制的生物学活性方法。早期临床试验阶段，应初步建立能够在一定程度上反映药物作用机制的活性方法，考虑到 rAAV 产品作用机制的复杂性，单一的质量项目或检测方法可能无法全面反映产品生物学活性，因此，建议质量标准中采用多个不同的质量项目和检测方法以更好反映产品作用机制，例如，目的基因的表达水平，对目的基因表达产物的确认，表达产物的生物学活性等研究。随着对产品认知和工艺经验的积累，产品质量数据的积累，以及临床安全性、有效性数据的积累，建议

分析早期临床试验纳入质量标准中生物学活性相关检测项目与临床安全性、有效性的相关性，选择合适的生物学活性指标和检测方法。原则上，建议在关键临床试验前明确生物学活性指标和检测方法。

生物学活性测定方法可能受不同分析人员、不同仪器、以及生物学测定方法中使用的检定用细胞、生物试剂等影响，建议关注分析方法的精密度和耐用性，合理设置系统适用性要求，并建立活性标准品，采用相对活性形式进行结果报告。在相对活性检测中，标准品是 rAAV 产品相对活性测定的基准物质，可用于校准试验系统误差，保障不同批次样品结果可比。因此，可选择代表性批次样品建立标准品并开展质量表征研究，采用合理的方式对标准品含量和活性等进行标定和赋值，并定期开展质量回顾和趋势分析，关注存储期间标准品的质量变化。

2.分析方法和方法学验证

rAAV 产品作用机制相对复杂，生物学活性方法可以是覆盖病毒感染到目的基因/蛋白发挥生物学功能整个过程的单一综合活性检测方法，也可选择由感染、转导、表达和功能检测组成的方法矩阵。方法终点检测一般包括 RT-qPCR、(d) dPCR、ELISA 等对目的基因/蛋白表达量的检测，以及结合活性、细胞活性等对目的蛋白活性的检测。

随着技术的不断发展和进步，新的更优的检测方法也可能逐步应用，鼓励优先采用精密度和准确度较高的检测方法。方法学验证方面，建议结合方法特点和检测需求，合理开展验证。对于 RT-qPCR、(d) dPCR、ELISA 等对目的基因/蛋白表达量的检测，以及结合活性、细胞活性等对目的蛋白活性的检测，建议开展包含病毒感染等过程的完整方法的方法学验证，并对 RT-qPCR、(d) dPCR、ELISA、结合活性等终点检测方法进行单独的验证，整体考察方法性能。

（三）杂质

1. 杂质研究和控制

rAAV 杂质主要包括产品相关杂质和工艺相关杂质。工艺相关杂质主要由起始原材料和工艺过程中引入。起始原材料引入的杂质包括残留宿主细胞蛋白、E1A 残留、残留宿主 DNA、残留质粒 DNA 等，工艺过程引入的杂质包括转染试剂 PEI、裂解剂吐温 80、核酸酶、亲和填料配基残留等。产品相关杂质/物质包括非完整包装病毒、错误包装病毒、杂合病毒、无活性病毒、病毒颗粒聚集体、可复制型腺相关病毒（Replication-competent AAV, rcAAV）等。临床试验阶段，上述杂质的控制可参考《重组腺相关病毒载体类体内基因治疗产品临床试验申请药学研究与评价技术

指导原则》相关要求，上市阶段可参考《重组腺相关病毒载体类体内基因治疗产品申报上市药学共性问题与技术要求》进行研究和控制，并开展工艺相关杂质清除验证研究和安全性评估，并合理拟定标准限度。

rAAV 载体生产过程中质粒 DNA、宿主细胞 DNA、辅助病毒来源基因序列等也可能包裹在病毒衣壳内，生产过程中核酸酶去除工艺难以去除。鉴于其可能引入免疫原性和安全性风险，鼓励持有人/申请人临床试验阶段探索降低或去除衣壳内非病毒载体 DNA 的工艺，并采用适宜的检测方法进行杂质残留的检测，结合杂质类型和残留量开展安全性风险评估；上市阶段采用确认的工艺尽可能降低杂质残留量，并采用准确可定量的检测方法进行检测和控制。

2.分析方法和方法学验证

rAAV 产品的杂质可能影响产品安全性和/或有效性，建议选择灵敏的分析方法进行检测，并基于检测目的（限度检测或定量检测）合理开展分析方法验证。对于定量检测方法，应开展专属性、定量限、准确度、精密度和范围等指标的考察，限度检测方法应开展专属性、检测限的考察。

rAAV 产品生产过程中，由于载体基因组、Rep/Cap 基因以及 ITR 序列可能发生同源和/或非同源重组，形成

rcAAV，影响产品安全性，因此应建立敏感、适用的分析方法用于 rcAAV 检测。建议采用细胞培养法与 qPCR 相结合的方法，以提高检测方法的准确度和灵敏度。rcAAV 检测方法验证时，因检测分为细胞培养和终点 qPCR 检测两个阶段，方法学验证需覆盖细胞培养和终点检测整个阶段，方法学验证应遵循 ICH Q2(R2)和《中国药典》等指导原则的相关要求，同时建议对终点检测的 qPCR 方法开展完整的方法学验证。此外，建议设立合理的阳性对照组、阴性对照组和抑制对照组，通过抑制对照组研究确认样品基质不影响阳性对照品的检测，结合方法开发和研究设定合理的阳性对照组、阴性对照组和抑制对照组的可接受标准。

三、参考文献

- [1] 国家药品监督管理局.《体内基因治疗产品药学研究与评价技术指导原则（试行）》[EB/OL]. 2022 年 5 月. <https://www.cde.org.cn/main/news/viewInfoCommon/c0ec5e347ba84df67bf75e15f6ad3f3f>
- [2] 国家药品监督管理局.《重组腺相关病毒载体类体内基因治疗产品临床试验申请药学研究与评价技术指导原则》[EB/OL]. 2024 年 1 月. <https://www.cde.org.cn/main/news/viewInfoCommon/635323ee319dacab26eb783b843b8bd3>.
- [3] 国家药品监督管理局.《重组腺相关病毒载体类体内基

169 因治疗产品申报上市药学共性问题与技术要求》[EB/OL]. 2
170 025 年 9 月. <https://www.cde.org.cn/main/news/viewInfoCom>
171 [mon/2676e243499c7d7bf4bfl8e355a6f40e](https://www.cde.org.cn/main/news/viewInfoCom).