ICS 11.120
CCS C31

T/CS

团 体 标 准

T/CS 583—2026

医用重组人源化外泌体技术要求

Technical requirements for recombinant humanized exosomes for medical use

2026-08-17 发布 2026-08-17 实施

中国商品学会 发 布

目　　次

前言 III
1 范围 1
2 规范性引用文件 1
3 术语和定义 1
4 缩略语 1
5 技术要求 2
5.1 一般要求 2
5.2 性能要求 2
6 试验方法 4
6.1 形态 4
6.2 粒径与颗粒浓度 4
6.3 标志蛋白 4
6.4 重组人源化目标蛋白表达鉴定 4
6.5 蛋白含量 4
6.6 纯度 4
6.7 生物活性 5
6.8 微生物限度 5
6.9 病原体 5
6.10 内毒素 5
6.11 残留物 5
7 检验规则 5
7.1 检验分类 5
7.2 出厂检验 5
7.3 型式检验 6
7.4 组批与抽样 6
7.5 判定规则 6
8 标志、包装、运输和贮存 6
8.1 标志 6
8.2 包装 6
8.3 运输 7
8.4 贮存 7
9 质量稳定性 7
9.1 长期稳定性 7
9.2 加速稳定性 7
9.3 反复冻融稳定性 7
附录 A（规范性） 外泌体形态检测——透射电子显微镜法 8
附录 B（规范性） 外泌体粒径与颗粒浓度检测——纳米流式检测法 9

附录 C（规范性） 外泌体标志蛋白检测——免疫印迹法 10
附录 D（规范性） 常见工艺相关残留物及检测要求 11

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。

本文件由广西璟炜生物技术有限公司提出。

本文件由中国商品学会归口。

本文件起草单位：广西璟炜生物技术有限公司、中国人民解放军军事科学院军事医学研究院、北京工业大学、广西大学、浙江大学医学院附属邵逸夫医院、中国海洋大学、南方医科大学、广西医科大学、西南大学、广西壮族自治区食品药品审评查验中心、广西壮族自治区医疗器械检测中心、玉林市食品药品检验检测中心（玉林市药品不良反应监测中心）、广西医科大学附属武鸣医院、广东璟炜生物科技有限公司。

本文件主要起草人：梁奕福、王华、阎新龙、贾润清、王成华、谈伟强、赵雪、于梦、许胜、徐立、陆梅元、唐青平、黎强、周颖、周晓婷、朱绍般、蒋晓。

医用重组人源化外泌体技术要求

1 范围

本文件规定了医用重组人源化外泌体的技术要求、试验方法、检验规则、标志、包装、运输和贮存以及质量稳定性。

本文件适用于以重组人源化细胞株为来源、用于医学用途（包括但不限于疾病诊断、药物递送、组织修复与再生医学等）的医用重组人源化外泌体。

本文件不适用于非重组人源化来源的外泌体，以及非医用用途的外泌体产品。

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/T 191 包装储运图示标志

GB/T 2828.1 计数抽样检验程序第1部分

GB/T 30544.1 纳米科技术语第1部分：核心术语

GB/T 42348 粒度分析颗粒跟踪分析法

《中华人民共和国药典》（2025版）

3 术语和定义

GB/T 30544.1界定的以及下列术语和定义适用于本文件。

3.1

重组人源化细胞 recombinant humanizedcell

通过基因工程重组技术，将人源功能基因、靶向肽编码序列导入宿主细胞（哺乳动物细胞等）经稳定传代筛选获得、可稳定表达目标人源功能蛋白的基因工程细胞株；细胞基因组经人工重组修饰，区别于未经基因编辑的天然原代人源细胞和野生型细胞。

3.2

医用重组人源化外泌体 medical recombinant humanized exosomes

由重组人源化细胞培养、分离纯化得到的30 nm～200 nm的细胞外囊泡：囊泡膜表面携带CD9、CD63、CD81等外泌体通用标志蛋白，稳定表达由重组基因编码的人源化目标功能蛋白，用于医学诊断、药物递送、组织修复等医用场景。

4 缩略语

下列缩略语适用于本文件。

EBV：EB病毒（Epstein-Barr Virus）

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）
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）
NTA：纳米颗粒跟踪分析（Nanoparticle Tracking Analysis）
PDI：多分散系数（Polydispersity Index）
TEM：透射电子显微镜（Transmission Electron Microscope）
TP：梅毒螺旋体（Treponema Pallidum）
SDS-PAGE:十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(Sodium Dodecyl Sulfate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis）

5 技术要求

5.1 一般要求

5.1.1 医用重组人源化外泌体的生产用细胞株应为重组人源化细胞株，其来源应具有可追溯性。

5.1.2 医用重组人源化外泌体的生产和质量控制应符合相关法规要求。

5.2 性能要求

5.2.1 形态

外泌体透射电镜下应呈典型的杯状、圆形或类圆形膜性小囊泡形态，可见囊泡的双层膜结构，中央为低电子密度区域。

5.2.2 粒径

外泌体粒径应符合以下要求：

a) 粒径主峰应在30 nm～150 nm范围内，单个颗粒粒径小于20 nm的比例应不超过总数的5%；
b) 粒径分布应相对均一，多分散系数（PDI）应不大于0.25。

5.2.3 颗粒浓度

医用重组人源化外泌体的颗粒浓度应根据产品型号/规格确定，标示值应在产品标签和技术文件中标明。颗粒浓度的实测值相对于标示值的允许偏差，应根据产品预期用途按以下规定执行：

a) 用于诊断或科研用途（如疾病标志物检测、药物筛选模型等）时，实测值应在标示值的60%～100%范围以内；
b) 用于临床治疗用途（包括但不限于组织修复、免疫调节、药物递送等介入性治疗）时，实测值应在标示值的70%～90%范围以内。

5.2.4 标志蛋白

外泌体表面标志蛋白应符合以下要求：

a) CD63、CD81和CD9中应有两个及以上表达阳性；
b) 应根据重组人源化外泌体的特征，增加相应的人源化目标蛋白标志物的检测。

5.2.5 重组人源化目标蛋白表达鉴定

医用重组人源化外泌体应针对其预期表达的重组人源化目标蛋白进行表达鉴定,并应符合以下要求：

a) 应采用免疫印迹法（Western blot）或经验证的等效方法（如ELISA、流式细胞术等）检测目标蛋白的表达，结果应为阳性；
b) 应采用质谱法（LC-MS/MS）或经验证的等效方法对目标蛋白的氨基酸序列进行确认，序列覆盖率应不低于50%（或制造商规定的合理限度，但应在编制说明中提供科学依据），以证实其一级结构的正确性；

c) 应采用免疫胶体金标记结合透射电子显微镜法或经验证的等效方法，确认目标蛋白定位于外泌体的膜表面或腔内，明确其拓扑学分布；
d) 制造商应根据目标蛋白的预期功能，建立相应的表达量控制限度（如每10^9颗粒中目标蛋白的含量范围），并在产品技术文件中明示。

5.2.6 蛋白含量

应测定外泌体的总蛋白含量，用于计算颗粒数/蛋白含量比值（颗粒蛋白比），作为纯度评价核心参数，纯度限度执行5.2.7规定。

5.2.7 纯度

外泌体纯度应符合以下要求：
a) 应通过颗粒浓度与蛋白含量的比值（颗粒蛋白比）进行评价，单位以particles/μg表示。供试品的颗粒蛋白比应符合以下要求：
   - 用于科研级应用时，PPR应不低于1.0×10^{8} particles/μg；
   - 用于临床级应用时，PPR应不低于1.0×10^{10} particles/μg。
b) 非外泌体来源蛋白或杂质的含量应符合制造商规定的限度要求，并在产品技术文件中明示。

5.2.8 生物活性

制造商应根据医用重组人源化外泌体的预期医学用途和目标蛋白的功能机制，建立并验证相应的生物学活性检测方法，并应设定可量化的接受标准。接受标准应以生物学响应参数（如相对于阴性对照的倍数变化、EC_{50} 范围、抑制率等）表示。生物活性检测应至少包括以下项目中的一项或多项，并应满足相应的量化接受标准：
a) 细胞增殖实验：应设定相对于阴性对照的增殖率下限（如不低于阴性对照的150%）或EC_{50} 的相对活性范围（如标准品的50%～150%）；
b) 细胞迁移实验：应设定迁移率相对于阴性对照的倍数变化下限（如不低于阴性对照的2倍）或迁移抑制率的下限；
c) 靶细胞功能调节实验：应设定靶基因活化倍数或目标细胞因子分泌量变化的可接受范围（如相对于阴性对照的倍数变化范围）；
d) 免疫调节活性检测：应设定相应免疫效应指标（如细胞因子比值变化、免疫细胞亚群比例变化等）的可接受范围。

5.2.9 微生物限度

需氧菌总数≤10 CFU/mL，霉菌和酵母菌总数10 CFU/mL；不应检出金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌；支原体检测应为阴性。

5.2.10 病原体

HIV、HBV、HCV、HTLV、EBV、HCMV、TP等病原体检测应为阴性。

5.2.11 无菌

当产品标示为无菌时，应采用经验证的除菌过滤（0.22 μm）工艺或无菌生产全过程控制，并按《中华人民共和国药典》（2025版）三部 通则1101“无菌检测法”进行检查，检查结果应符合规定。

5.2.12 内毒素

医用重组人源化外泌体的内毒素含量应根据产品预期用途设定不同限值:
a) 用于体表创面、局部外用非侵入产品，每1 mL外泌体原液细菌内毒素≤0.5 EU/mL（若为冻干粉，按复融后体积折算）；

b) 用于侵入性给药渠道（包括但不限于皮下注射、真皮导入、组织植入、静脉给药、肌肉注射、关节腔注射等）：每1 mL外泌体原液细菌内毒素≤0.25 EU/mL；
c) 限值说明：上述单位为每mL原液的内毒素浓度限值，制造商还应根据产品单次最大使用体积，计算单人份总内毒素负荷，单人份总内毒素负荷不应超过35E U/剂（按0.25 EU/mLx1剂10 mL折算的合理上限），并应在产品技术文件中明示计算依据和最终限值。

5.2.13 残留物

若制备过程中使用了特定试剂（如分离介质、抗体、核酸酶等），其残留物应符合以下要求：
a) 对于有国家标准或行业标准规定限度的残留物，应按相应标准的规定执行；
b) 对于尚无标准规定限度的残留物，制造商应建立残留物检测方法，确定残留物限度，并经过验证；残留物限度应在产品技术文件中明示。
c) 制造商应根据制备工艺识别潜在的工艺相关残留物。典型残留物及检测要求参见附录 D。对于附录 D 中所列残留物，制造商应按附录 D 推荐的方法或经验证的等效方法进行检测，并满足相应的限度要求；对于附录 D 中未列出的残留物，制造商应基于风险评估自行建立检测方法和限度标准，并经过验证。

6 试验方法

6.1 形态

按附录 A 规定的方法进行。

6.2 粒径与颗粒浓度

6.2.1 采用纳米颗粒跟踪分析（NTA）进行粒径分布和颗粒浓度测定时，应按GB/T 42348的规定执行。

6.2.2 采用纳米流式检测法进行粒径与颗粒浓度检测时，按附录 B 规定的方法进行。

6.2.3 采用电阻感应脉冲检测法（库尔特原理）进行粒径与颗粒浓度检测时，应按GB/T 42348的规定执行。

6.3 标志蛋白

采用免疫印迹法（Western blot）进行检测，按附录 C 规定的方法进行。

6.4 重组人源化目标蛋白表达鉴定

重组人源化目标蛋白表达鉴定应符合下列要求：

a) 目标蛋白定性检测：按附录 C 规定的免疫印迹法进行，或采用经验证的ELISA、流式细胞术等方法进行检测；
b) 目标蛋白序列确认：采用液相色谱-串联质谱法（LC-MS/MS）进行检测。将外泌体样本经蛋白裂解、酶解后，进行质谱分析，与目标蛋白理论序列进行比对，计算序列覆盖率；
c) 目标蛋白拓扑学定位：采用免疫胶体金标记结合透射电子显微镜法进行检测。将外泌体样本与目标蛋白特异性抗体（偶联胶体金颗粒）孵育后，按附录 A 方法制备电镜样品，在透射电镜下观察金颗粒的分布位置（膜表面或腔内），判定目标蛋白的拓扑学定位；
d) 目标蛋白表达量测定：采用经验证的定量检测方法（如定量Western blot、ELISA、流式细胞术等）进行测定，结果应符合制造商规定的接受标准。

6.5 蛋白含量

采用BCA法（二喹啉甲酸法）进行测定，按《中华人民共和国药典》（2025版）三部 通则0731“蛋白质含量测定法”第四法规定执行。

6.6 纯度

纯度检测应符合下列要求：

a) 按6.2测定颗粒浓度、6.5测定总蛋白含量，计算颗粒蛋白比，按5.2.7a）规定的限值进行判定；

b) 尺寸排阻色谱-高效液相色谱法（SEC-HPLC）检测应采用面积归一化法计算杂蛋白峰面积占比，杂蛋白峰面积占比应符合5.2.7b）的规定；

c) 采用SDS-PAGE银染法检测，以凝胶成像系统进行灰度定量分析，杂蛋白条带灰度占比应符合5.2.7.b）的规定。

6.7 生物活性

根据产品声明的生物学活性指标，建立相应的细胞学或分子生物学活性检测方法，并经过验证后执行。检测结果应符合5.2.8规定的可量化接受标准。对于设定为定量检测的活性指标，应同时报告具体测定数值及相对活性百分比。

6.8 微生物限度

按中华人民共和国药典（2025年版）三部 通则1105“非无菌产品微生物限度检查：微生物计数法”和通则1106“非无菌产品微生物限度检查：控制菌检查法”进行细菌、真菌检查；按《中华人民共和国药典》（2025版）四部 通则3301“支原体检查法”进行支原体检查。

6.9 病原体

病原体检测应符合下列要求：

d) 取本品适量，经核酸提取纯化后，分别采用对应病毒对应特异性引物探针进行qPCR/RT-qPCR检测HIV-1/2、HBV、HCV、HTLV、EBV、HCMV核酸；TP检测按经方法学验证的血清学或核酸检测方法进行。所有病原体检测结果均为阴性，判定为合格。

e) 样品前处理、核酸提取、检测方法及方法学验证应参照《中华人民共和国药典》（2025版）三部通则3302“外源病毒检测法”执行。Qpcr/RT-qPCR检测应遵循相应的实验室质量控制规范，设立分区操作，并设立阴性对照、阳性对照及内参对照。

6.10 内毒素

按《中华人民共和国药典》（2025版）三部 通则1143“细菌内毒素检查法”进行检查。

6.11 残留物

若制备过程中使用了特定试剂，应建立相应的残留物检测方法，并经验证后执行。

7 检验规则

7.1 检验分类

产品检验分为出厂检验和型式检验。

7.2 出厂检验

7.2.1 出厂检验为逐批检验项目。每批产品应经制造商质量检验部门逐批检验合格，并附合格证明后方可出厂。

7.2.2 出厂检验项目至少包括：

a) 形态；

b) 粒径；

c) 颗粒浓度；

d) 标志蛋白；

e) 重组人源化目标蛋白表达鉴定（定性检测）；

f) 蛋白含量；
g) 纯度
h) 生物活性；
i) 微生物限度；
j) 无菌（如适用）；
k) 内毒素；
l) 残留物中与生产工艺直接相关的项目；
m) 其他为确保产品批间一致性而设定的关键质量属性项目。

7.3 型式检验

7.3.1 有下列情况之一时，应进行型式检验：

a) 新产品投产或产品转厂生产时；
b) 正式生产后，如原材料、工艺有较大变化，可能影响产品性能时；
c) 产品停产一年以上恢复生产时；
d) 国家质量监督机构提出型式检验要求时。

7.3.2 型式检验项目应包括第5章规定的全部项目。

7.4 组批与抽样

7.4.1 同一生产周期、同一生产条件下连续生产的同一型号/规格的产品为一批。

7.4.2 检验抽样按GB/T 2828.1的规定执行，采用正常检验，一次抽样方案，一般检验水平Ⅱ，接收质量限（AQL）为1.1。

7.4.3 型式检验的样本应在出厂检验合格的产品中随机抽取，抽样数量应满足第5章全部检验项目的检测用量要求。

7.5 判定规则

7.5.1 所有检验项目均符合本文件要求时，判定该批产品合格。

7.5.2 仅理化指标轻微超出限度，允许双倍取样复检1次，复检全部合格可判定批合格。

7.5.3 内毒素、支原体、病原体、活性项不合格不应复检，直接判定整批不合格。

8 标志、包装、运输和贮存

8.1 标志

8.1.1 产品标签应至少包含以下信息：

a) 产品名称；
b) 型号/规格；
c) 生产批号；
d) 生产日期；
e) 有效期或失效日期；
f) 储存条件；
g) 生产单位名称和地址；
h) 颗粒浓度。

8.1.2 外包装标志应符合GB/T 191的规定。

8.2 包装

包装材料应对产品无吸附、无毒性、无热原，并具有良好的密封性。

8.3 运输

产品运输应采用冷链方式，运输温度应保持在产品标示的储存温度范围内。

8.4 贮存

8.4.1 产品应在制造商规定的储存条件下保存，储存温度应在产品标签上明示。

8.4.2 不应反复冻融。

8.4.3 储存期间应定期监测储存温度。

9 质量稳定性

9.1 长期稳定性

9.1.1 应按经验证的长期稳定性试验方案进行考察。考察条件应与产品标示的贮存条件一致（如-20 ℃±5 ℃、2 ℃～8 ℃或25 ℃±2 ℃），考察时间应至少覆盖产品标示的有效期。在规定时间点检测关键质量属性（CQA）（包括粒径、PDI、颗粒浓度、标志蛋白、生物活性、无菌/微生物限度等），结果应符合既定的接受标准。

9.2 加速稳定性

应根据产品形态和贮存条件设计加速稳定性试验。液态外泌体通常采用25 ℃±2 ℃作为加速条件；冻干粉可根据验证情况采用37 ℃±2 ℃作为极端挑战条件。在规定时间点检测CQA，结果应符合接受标准。

9.3 反复冻融稳定性

9.3.1 如产品标示为冷冻保存，应进行至少3次冻融循环验证，每次冻融后检测粒径、PD1、颗粒浓度、生物活性等指标，结果均应符合质量标准。产品标签上应注明允许的最大冻融循环次数。

附 录 A
（规范性）
外泌体形态检测——透射电子显微镜法

A.1 仪器

仪器包括：

a） 透射电子显微镜；

b） 铜网；

c） 移液器及吸头。

A.2 试剂

试剂包括：

a） 戊二醛固定液（如适用）；

b） 2%磷钨酸负染液或醋酸铀酰负染液；

c） 去离子水；

d） 磷酸盐缓冲液

A.3 检测步骤

A.3.1 取适量外泌体样本，用PBS稀释至适宜浓度（建议1×10^{8}颗粒/mL～1×10^{9}颗粒/mL）。

A.3.2 将稀释后的样本滴加于铜网上，室温静置吸附2分钟～5分钟。

A.3.3 用滤纸从边缘轻轻吸去多余液体。

A.3.4 滴加负染液，染色30～60秒。

A.3.5 用滤纸吸去多余染液，自然干燥或红外灯下干燥。

A.3.6 将制备好的铜网置于透射电子显微镜下观察，在适宜放大倍数（如80，000×～150，000×）下随机选取多个视野进行观察和拍照记录。

A.3.7 在适宜放大倍数下观察外泌体形态，并随机选取多个视野进行观察和拍照记录。

A.4 结果判定

在透射电镜下观察到典型的杯状、圆形或类圆形膜性小囊泡形态，轮廓清晰，中央呈低电子密度区域，判定为形态合格。

附 录 B
（规范性）
外泌体粒径与颗粒浓度检测——纳米流式检测法

B.1 仪器

仪器包括：

a) 纳米流式检测仪；
b) 移液器及吸头；
c) 微量离心管。

B.2 试剂

试剂包括：

a) 经0.22μm滤膜过滤的磷酸盐缓冲液（PBS）或去离子水；
b) 荧光标记抗体。

B.3 检测步骤

B.3.1 取适量外泌体样本，用过滤后的PBS或去离子水稀释至适宜浓度。

B.3.2 如需荧光标记，按抗体说明书进行标记后备用。

B.3.3 按照仪器操作规程启动纳米流式检测仪。

B.3.4 设置适宜的检测参数（激光功率、检测阈值、流速等）。

B.3.5 进行检测并记录粒径分布和颗粒浓度数据。

B.4 结果记录

记录平均粒径、粒径分布范围和颗粒浓度。

附 录 C
（规范性）
外泌体标志蛋白检测——免疫印迹法

C.1 仪器

仪器包括：

a) 电泳仪；
b) 转膜仪；
c) 凝胶成像系统；
d) 摇床。

C.2 试剂

试剂包括：

a) SDS-PAGE凝胶配制试剂；
b) 蛋白marker；
c) 一抗（抗CD63、抗CD81、抗CD9及重组人源化目标蛋白抗体等）；
d) 相应二抗；
e) ECL化学发光底物。

C.3 检测步骤

C.3.1 取适量外泌体样本，加入蛋白裂解液裂解。

C.3.2 测定蛋白浓度后，加入上样缓冲液，煮沸变性。

C.3.3 配制SDS-PAGE分离胶与浓缩胶，进行电泳。

C.3.4 将蛋白转移至PVDF或硝酸纤维素膜。

C.3.5 封闭后加入一抗孵育。

C.3.6 洗膜后加入二抗孵育。

C.3.7 洗膜后加入ECL化学发光底物，在凝胶成像系统中显影。

C.4 结果判定

在预期分子量位置出现特异性条带，判定为相应标志蛋白阳性。

附 录 D
（规范性）
常见工艺相关残留物及检测要求

D.1 范围

本附录适用于医用重组人源化外泌体生产过程中可能引入的工艺相关残留物的检测。制造商应根据实际制备工艺选择适用的残留物检测项目。

D.2 典型残留物及检测方法

典型残留物及检测方法应符合表1要求：

表 D.1 典型残留物及检测方法

序号	残留物类型	典型来源	推荐检测方法	参考限度	备注
1	聚乙二醇（PEG）	PEG沉淀法分离外泌体	分光光度法（碘-氯化钡比色法）或高效液相色谱法（HPLC）	制造商自定（建议≤10 μg/mL）	应注明沉淀用PEG分子量
2	重组Protein A/G/L	亲和层析纯化	商品化Protein A ELISA检测试剂盒	≤1 ng/mg总蛋白	适用于使用亲和层析工艺
3	核酸酶（Benzonase或DNase/RNase）	去除核酸污染	酶活性检测法或ELISA法	制造商自定（建议≤1 ng/mL活性酶或残余活性≤1×10⁻³ U/剂）	应同时检测残留酶活性
4	宿主细胞蛋白（HCP）	重组细胞株分泌或细胞破碎	HCP ELISA检测试剂盒（采用工艺匹配抗体）	制造商自定（参考≤100 ng/mg总蛋白）	应采用与生产细胞株匹配的检测试剂盒
5	牛血清白蛋白（BSA）或其它血清成分	培养基补充剂	BSA ELISA检测试剂盒	≤50 ng/剂	仅适用于含血清培养工艺
6	抗生素（如青霉素、链霉素、庆大霉素等）	细胞培养中添加	微生物抑制法或LC-MS/MS法	制造商自定（建议不应检出或≤1 ng/mL）	根据生产工艺确定是否检测
7	亲和配基脱落物	亲和层析介质脱落	LC-MS/MS法或商品化检测试剂盒	制造商自定	适用于非Protein A类亲和介质
8	细胞因子/生长因子残留	重组细胞株分泌	商品化多重细胞因子检测试剂盒（Luminex或ELISA）	制造商自定	根据细胞株特征风险评估
9	消泡剂残留	生物反应器培养	依据消泡剂类型建立检测方法	制造商自定	适用于大规模悬浮培养
10	提取缓冲液组分残留	裂解/提取步骤	依据具体化学组分建立HPLC或离子色谱法	制造商自定	依据裂解液配方确定

D.3 方法学验证基本要求

D.3.1 残留物检测方法的验证应至少包括以下项目：

a) 专属性（特异性）：应能准确测定目标残留物而不受外泌体基质或其他成分干扰；
b) 检测限（LOD）和定量限（LOQ）：应满足残留物限度检测的灵敏度要求，LOQ应不高于残留物限度的50%；

c) 线性与范围：在残留物限度的20%～200%范围内应呈良好线性（R^2 ≥0。990）；
d) 准确度（回收率）：在低、中、高三个浓度水平下的加标回收率应在80%～120%范围内（对于痕量残留物检测，回收率范围可放宽至70%～130%）；
e) 精密度：重复性RSD应不大于10%（n≥6），中间精密度RSD应不大于15%；
f) 耐用性：在不同操作人员、不同日期或不同仪器条件下，检测结果应保持一致性。

D.3.2 方法学验证方案和验证报告应纳入产品技术文件备查。

D.4 残留物限度的确定原则

D.4.1 制造商应根据毒理学风险评估、临床使用剂量、给药途径及每日允许暴露量（PDE）等原则，科学制定残留物限度。

D.4.2 对于具有明确毒理学数据的残留物，应参考ICHQ3C、Q3D及相关药典通则进行安全限度的推算。

D.4.3 残留物限度应在产品技术文件中明示，并附限度制定的科学依据。