

酶联免疫 ELISA 实验室技术在细胞产品质量检验中的运用

刘冬梅*, 王园园

(北京三有利和泽生物科技有限公司, 北京 100070)

摘要: 随着生物技术的不断发展, 促使细胞产品在医药和再生医学中得到广泛的应用, 其中的质量控制至关重要。酶联免疫吸附测定法 (ELISA) 以高灵敏度和特异性著称的检测手段之一, 它在细胞产品质量检验方面是必不可少的。鉴于此, 本文以 ELISA 和其他实验室技术在细胞产品质量检验中的应用方面进行进一步的探究。

关键词: 酶联免疫 ELISA 实验室技术; 细胞产品; 质量检验; 质量提升

The application of ELISA laboratory technology in quality inspection of cell products

LIU Dong-Mei*, WANG Yuan-Yuan

(Beijing Sanyi Heze Biotechnology Co., Ltd., Beijing 100070, China)

ABSTRACT: With the continuous development of biotechnology, cell products have been widely used in medicine and regenerative medicine, and quality control is crucial. Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) is one of the detection methods known for its high sensitivity and specificity, and it is essential in the quality inspection of cell products. In view of this, this article further explores the application of ELISA and other laboratory techniques in the quality inspection of cell products.

KEY WORDS: enzyme-linked immuno ELISA laboratory technique; cell products; quality testing; quality improvement

0 引言

时代在发展, 生物科技技术也在日益更新, 细胞产品作为疾病治疗、组织修复等的关键工具, 其品质和安全性对患者的健康和治疗效果具有决定性的影响。因此, 建立一个高效、精确的细胞产品质量检测系统是极其重要的。实验室技术是检测体系的基石, 能够深入到细胞层面, 揭示细胞产品的本质特性, 并通过标准化的操作流程保障检测数据的准确性和可靠性。其中酶联免疫实验室技术作为一种灵敏度极高且特异性卓越的检测手段, 在细胞产品质量检验领域发挥着重要作用。ELISA 的关键在于其独特的机制, 即通过特异性抗体与目标分子之间的亲和结合, 能够灵活而精确地检测定量分析生物样本中的相应成分, 如细胞因子、抗体、激素及其他生物标志物等。该技术不仅有较高的通量特性, 同时在不同类型样本的检测需求上有突出的适应性, 这样能够保证细胞产品在研发及生产过程中的

质量控制与保障。ELISA 在细胞产品质量检验中的应用, 是现代生物医学领域研究的一项重大进展。本文综合分析了当前实验室技术在细胞产品质量检测方面的最新发展和应用方法, 为解决现有质量控制问题提供了新的思路。

1 酶联免疫 ELISA 实验室检测技术的概述

1.1 酶联免疫 ELISA 实验室检测技术的原理

酶联免疫 ELISA 实验室技术是一种根植于抗原与抗体之间特异性结合原理的检测方法, 旨在对生物样品中的特定分子进行定量或定性分析。这类检测方法主要利用被酶标记抗体与靶分子结合, 以此催化底物的反应并生成可被测量信号。该信号的强度与目标分子的浓度呈现出正相关性, 这也充分说明 ELISA 在多种生物样本中的应用具有良好的适用性^[1]。

1.2 酶联免疫实验室检测技术的运用

在细胞产品的质量检验过程中, ELISA 可适用于多种检测

* 通信作者: 刘冬梅, 硕士, 研究方向为质量管理。E-mail: liudong0564@163.com

* Corresponding author: LIU Dong-Mei, Master, Beijing Sanyi Heze Biotechnology Co., Ltd., Beijing 100070, China. E-mail: liudong0564@163.com

需求当中。首要, ELISA 可用于细致检测细胞产品中的病毒及微生物污染, 这样可确保所制剂的安全性。此外, 此项技术亦被广泛应用于蛋白质残留的检测当中, 以此评估细胞培养过程中清洁度与产品纯度可靠性。同时, ELISA 能够有效识别细胞表面标志物, 为细胞的功能状态及表型特征提供重要的信息支持。此外, 此技术还可对其他潜在污染物进行检测, 如内毒素等, 这样能够给细胞治疗及生物制剂的临床应用提供强有力的安全保障。通过在多领域的运用, 表明 ELISA 技术能够显著提升细胞产品质量控制的准确性与可靠性, 为生物医学领域的发展贡献了积极力量。

2 高精度检测技术的融合应用

2.1 ELISA 与其他技术间的比较

在细胞产品质量检验的多重技术体系中, 酶联免疫吸附测定 (ELISA) 因其独特的灵敏度和特异性而备受各个领域的关注。然而, ELISA 并非唯一的选择, 其余检测方法也具有相同的作用。

(1) 放射免疫分析 (RIA)。通过使用放射性标记物以检测抗原, 尽管其灵敏度极为卓越, 但因涉及放射性物质, 操作及废物处理方面存在诸多安全隐患, 且受到严格的法规限制。因此, ELISA 作为一种无放射性标记的技术, 不仅提升了安全性, 更适宜于大规模筛查及日常监测^[2]。在实际应用中, 应该充分思量多方面的因素, 如灵敏度、技术可操作性、安全性等方面。针对放射性物质的技术方面, 如 RIA 需合理地运用, 需要根据有关法规的要求适当地运用。对于 ELISA 等无放射性标记技术, 应该在大范围的筛查、日常监测当中可使用此类方法发挥作用。

(2) 免疫荧光检测 (IF)。利用荧光标记的抗体在细胞和组织切片中进行靶标识别, 适用于研究蛋白质在细胞内的定位及分布。然与 ELISA 的高通量检测能力相比, IF 技术的操作较为复杂, 且需依赖专用的显微设备进行观察与分析。因此, 在融合应用中应该对蛋白质细胞内定位、分布时间进行充分的研究, 在深思熟虑下合理地运用 IF, 同时要关注操作复杂性及设备要求。这样能够对 IF 技术的操作流程进行深度优化, 以此增强其的易用性。

(3) 流式细胞术 (FCM)。此方法在细胞层面上实现了多参数的快速分析, 能够迅速处理大量细胞样本, 然而, 其设备

投资较为昂贵, 对操作人员的技术要求亦较高。相比较来讲, ELISA 技术凭借其操作简便、高效的特点, 适合于多种样本类型的检测, 特别是细胞产品质量的评估。但是在具体操作当中应该以具体需求、条件选择适宜的技术, 如流式细胞术, 此类技术的运用前, 需要对操作人员加强培训活动, 让其有专业的技术能力, 更要积极探究最低设备成本的有效方式。

(4) 聚合酶链反应 (PCR)。主要用于核酸检测, 其特异性及灵敏度均属一流, 然其无法直接对蛋白质类生物标志物进行检测, 使得 ELISA 在细胞产品中对蛋白质的检测上显得尤为重要。如实施核酸检测当中, 应该全面展现 PCR 的优势作用, 更要加强 ELISA 在蛋白质检测当中的使用, 这样才能满足细胞产品检测的个性化需求。

2.2 ELISA 与其他技术的融合

随着科学技术的不断发展, 单一检测技术的局限性日益凸显, 因而探索不同技术间的融合, 将有助于提升细胞产品质量检验的全面性与准确性。(1) ELISA 与流式细胞术的结合, 能够实现对细胞表面标志物的定量分析和功能状态的评估。这种技术的融合, 不仅提高了检测的灵敏度, 更扩展了检测参数, 提供了更为丰富的信息支持。(2) 将 ELISA 与 PCR 技术相结合, 能够在检测细胞产品中的蛋白质的同时, 开展核酸层面的分析。此类多重检测策略, 有助于综合评估细胞产品的质量与安全性。如在细胞产品中同步检测病毒抗原和病毒基因, 便能更全面地识别潜在的病毒污染风险。(3) 在免疫荧光检测领域, ELISA 的结合则可以实现对细胞分子标志的定位与定量的双重分析。通过在 ELISA 中引入荧光标记的抗体, 不仅可实现高通量的蛋白质检测, 同时亦可观察细胞内外的分子分布, 提供更加丰厚的生物学信息。(4) 随着微流控技术的迅速发展, 将 ELISA 与微流控芯片相结合, 能够实现高效、自动化的检测流程, 极大地提升检测的效率与精度。微流控芯片能够将多个 ELISA 反应集成于同一平台上, 从而实现高通量的筛选^[3]。

表 1 展示了在细胞产品质量检验中常用的六种高精度检测技术, 包括聚合酶链反应、免疫荧光检测、微流控技术。这些技术的融合应用形成了一个多维度、高通量的质量评估体系, 全面保障细胞产品的质量。

表 1 细胞产品质量检验中的高精度检测技术融合应用

Table 1 Application of high-precision detection technology fusion in cell product quality inspection

检测技术	功能与应用
流式细胞术	细胞表面标志物的定量分析、功能状态的评估
聚合酶链反应	细胞产品蛋白质检测、核酸分析
免疫荧光检测	细胞分子标志定位、定量分析
微流控技术	自动化检测

3 标准化流程的建立与优化

在细胞产品的质量控制在, 构建与优化标准化流程是确保产品质量一致性与可追溯性的根本基石。此过程涵盖了从原料采购至最终检测的全链条管理, 涉及各个环节的精心设计与严

谨执行。以下将详细阐述建立标准化流程关键步骤, 并列举相关应用实例以供参考。(1) 原料采购阶段。在原料采购的过程中, 需要根据国际生物材料协会 (International Society for Cellular Therapy, ISCT) 及美国药典 (United States Pharmacopeia, USP) 所发布的原料质量标准显得尤为重要^[4]。此类标准为原料的采

购、检验及使用提供了详尽的指导原则,确保产品质量得以从源头控制。在此阶段,构建供应商资质评估体系并定期审核原材料的质量是不可或缺的环节。如以某研究机构为例,其对培养基及生长因子等关键原料实施批次间一致性验证,确保不同批次产品能够维持相同的性能表现。主要是借助数据驱动的方法能够有效识别和解决批次差异,并为后续流程的优化提供依据。(2) 细胞来源的标准化。为确保起始材料的质量,须建立供体筛选标准并规范细胞采集流程。如某细胞治疗公司便制定了详尽的供体筛选标准,确保所用细胞均源自符合健康标准的供体,从而显著提升了细胞产品的安全性。(3) 细胞培养环节。在细胞培养过程中,制定详尽的操作规程是必不可少的,包括接种密度、传代时机及培养基更换频率等关键参数。在此期间可引入生物反应器技术,采用搅拌式或气升式生物反应器,可以实现培养条件如溶氧、pH值和温度的精确控制,从而为细胞的生长和代谢提供稳定的环境。此外,生物反应器还可以通过连续监测和在线反馈调节,减少人为操作带来的误差,显著提升培养过程的可控性和一致性^[5]。(4) 细胞纯化过程。依据产品特性选择适宜的分离技术,如磁珠分选或流式细胞分选显得尤为重要。某研究所通过采用磁珠分选技术,成功分离出高纯度的特定细胞群体,从而提高了后续实验的有效性。此过程还需制定标准化的操作流程,包括缓冲液配制、仪器参数设置与分选策略,确保操作的一致性与重复性^[6]。(5) 冷冻保存。在保障细胞产品长期稳定性方面,建立冷冻保护剂配方优化流程并开发细胞特异的冷冻曲线至关重要。如某细胞银行通过优化冷冻曲线,使得细胞在冷冻保存后仍能保持较高的活性。引入程序降温仪与液氮储存系统,实现冷冻过程的精确控制与长期保存的安全管理,这也是十分有必要的。(6) 检测环节。为确保细胞产品的安全性与有效性,制定全面的检测项目清单,包括无菌检测、支原体检测及内毒素检测等安全性指标,亦需评估细胞数量、活力、纯度与功能等效力指标。例如,某实验室通过制定详尽的检测项目清单,确保所有细胞产品在临床应用前均符合规定的安全标准。此外,建立标准品系统以校准检测方法与评估检测结果的可靠性,进一步提升质量控制的水平。可以说,通过上述步骤的落实,标准化流程的构建与优化不仅有效提升了细胞产品的质量,更为细胞治疗及相关领域的应用奠定了坚实的基础^[7]。

4 完善的质量控制体系

细胞产品的质量与安全性与患者的健康及治疗成功率息息相关。因此,构建一个全面而严谨的质量控制体系显得尤为重要。此体系不仅确保从原材料到最终产品的每个环节均遵循严格的质量标准,同时通过持续的风险评估与预防措施,有效降低治疗过程中可能出现的并发症风险。这一体系的建立不仅是实现细胞治疗产品标准化、规范化生产的前提,也是获得监管机构批准及市场信任的关键所在。(1) 全方位的质量控制体系构建。构建全方位的质量控制体系是保障细胞产品安全性与有效性的核心^[8]。该体系应涵盖从原材料到最终产品的每个环节,形成闭环管理。首先,原材料控制。在原材料控制方面,需建

立供应商评估与管理系统。对关键原料如培养基、血清及生长因子实施批次管理,并对每批次进行功能验证。例如,对于血清,需进行生长曲线分析与细胞表型验证,以确保其对细胞生长与分化的影响一致。同时,建立原料库存预警机制,以避免因原料短缺而导致的生产中断。其次,过程监控。过程监控乃质量控制的关键环节。引入实时监测系统,如在线pH、溶氧及代谢物分析仪,以持续监测培养环境。建立关键工艺参数(Critical Process Parameters, CPP)数据库^[9],如细胞密度、代谢物浓度等,并设定预警阈值。当监测参数异常时,系统应自动报警并启动应急预案。特别是细胞密度的监测,不仅需了解当前密度值,还需结合代谢物浓度和培养时间等参数,预测未来培养趋势,从而优化传代时机及培养基更换频率。(2) 成品检验阶段。在成品检验阶段,应建立多层次的检测体系。首先进行快速筛查,例如活细胞染色与流式细胞术,以评估细胞活力及表型。接着,进行深入的功能分析,包括细胞因子分泌谱分析及体外功能测试。对于基因修饰细胞产品,更需进行靶向基因表达及基因组完整性分析。建立产品放行标准,确保只有满足所有指标要求的产品才能进入下一环节^[10]。(3) 售后跟踪与产品追溯。售后跟踪是质量控制的重要延伸。需建立产品追溯系统,为每批次产品赋予唯一编码,并记录从原料到最终使用的全过程信息。与临床机构紧密合作,收集产品使用后的疗效与不良反应数据。此外,应建立不良事件快速响应机制,一旦发现问题,能够迅速追溯原因并采取相应措施。(4) 风险评估与预防。风险评估与预防是质量控制体系的重要组成部分。采用失效模式与影响分析(Failure Mode and Effects Analysis, FMEA)方法^[11],识别生产过程中的潜在风险点。对于高风险环节如细胞分离与基因转导步骤,需制定详细的风险控制措施。定期进行模拟演练,以提高团队应对突发事件的能力。通过建立这样一个全面的质量控制体系,能够确保细胞产品的一致性与安全性,并为持续改进提供数据支持。这种系统化的方法将大大提升细胞产品的整体质量水平,为患者提供更可靠且有效的治疗选择^[12]。

5 数据解析与智能化管理

在细胞产品质量检验中,数据解析与智能化管理扮演着越来越重要的角色。通过整合先进的信息技术,我们可以从海量数据中提取有价值的信息,实现对产品质量的精准控制和预测。首先,建立集中式数据管理平台,整合来自生产、检测和临床应用各个环节的数据^[13]。可以通过实现数据的统一存储与实时监控,结合智能分析与闭环反馈,不仅能够显著提升生产效率和产品质量,还能为未来的工艺优化和创新研发提供强大的数据支持。同时,保障数据安全和推动标准化也是平台建设不可忽视的重要方面。这一举措必将为细胞产品产业化和临床应用提供坚实的技术支撑。另外,利用机器学习算法,从历史数据中识别影响产品质量的关键因素。例如,通过分析细胞生长曲线、代谢物浓度变化和最终产品质量的关系,建立预测模型^[14]。这些模型可以在生产早期预测最终产品的质量,为及时调整工艺参数提供依据。对于复杂的细胞功能评估,如免疫细胞的杀伤能力,可以通过深度学习算法分析时间序列显微图像,

自动量化细胞间相互作用的动态过程。再有,构建智能预警系统是数据应用的核心。这是推动细胞产品质量控制与生产管理迈向智能化、数字化的重要手段。通过实时监测、精准预测、多级响应以及数据驱动的持续改进,预警系统能够显著提升产品质量和生产效率,降低风险,并为未来工艺的优化与创新提供数据支撑。在实际应用中,应注重系统集成、个性化定制与数据安全,从而充分发挥智能预警系统的潜力,为细胞产品行业的发展注入强大动能^[15]。另外,人工智能技术在质量控制决策支持方面也发挥着重要作用。通过建立专家系统,将资深质控人员的经验和知识数字化,辅助新手快速做出正确判断^[16]。同时,建立产品全生命周期的数据追踪系统,从原料采购到临床应用,每个环节的数据都被记录和关联。这不仅有助于问题溯源,还能为产品优化提供宝贵信息^[17]。通过数据解析和智能化策略,我们能够将质量控制从被动响应转变为主动预测,大幅提高细胞产品的一致性和可靠性^[18]。

6 应对实验室技术在细胞产品质量检验中的挑战

随着细胞治疗技术的不断进步,实验室技术在确保细胞产品质量方面扮演着越来越重要的角色。然而,这一过程中也面临着诸多挑战。首先,细胞产品的复杂性和多样性要求检验技术必须具有更高的灵敏度和特异性。其次,快速变化的监管环境要求实验室技术能够迅速适应新的标准和指南。此外,数据的海量增长对数据管理和分析提出了更高的要求^[19]。为了应对这些挑战,建议采取以下措施:首先,加强跨学科合作,整合生物学、工程学和信息技术等领域的专业知识,以开发更先进的检测技术。其次,建立灵活的质量管理体系,以适应监管政策的更新和行业实践的变化。再次,利用人工智能和机器学习技术来优化数据分析流程,提高数据的利用率和分析的准确性。最后,加强国际合作和知识共享,通过交流最佳实践和技术创新,共同推动细胞产品质量检验技术的发展。通过这些措施,我们可以提高实验室技术在细胞产品质量检验中的适应性和有效性,确保细胞治疗产品的安全性和有效性,最终造福患者^[20]。

7 结束语

本文全面审视了酶联免疫ELISA实验室技术在提升细胞产品质量检验中的关键作用。通过融合高精度检测技术,构建了一个多维度、高通量的质量评估体系,确保了细胞产品的安全性和有效性。标准化流程的精心设计和严格执行,为产品质量的一致性和可追溯性提供了坚实保障。完善的质量控制体系,从原材料到最终产品,形成了闭环管理,进一步强化了产品的整体质量。数据解析与智能化策略,提高了质量控制的预测性和响应速度,使质量控制从被动响应转变为主动预测。面对挑战,我们提出了跨学科合作、灵活的质量管理体系建立、人工智能在数据分析中的应用,以及国际合作的重要性,旨在共同推动细胞产品质量检验技术的发展。综合这些策略,我们有信心显著提升细胞产品的质量控制水平,为细胞治疗及相关产业的健康发展提供坚实基础,为人类健康事业作出积极贡献。

参考文献

- [1] 喇文军,蒋伟,王妍.大规模细胞培养技术与公共技术服务平台实验室建设浅谈[J].生物化工,2017,3(04):71-76.
- [2] 陈泳,陈昌星,杨清海.细胞块制备技术及在实验室病理诊断应用的研究进展[J].福建医药杂志,2018,40(02):133-135.
- [3] 吴鹏飞,林筠.实验室验证对技术转移影响研究:二元学习视角[J].科研管理,2022,43(03):164-172.
- [4] 河南省-科技部共建细胞分化调控国家重点实验室培育基地介绍[J].河南师范大学学报(自然科学版),2024,52(01):158.
- [5] 细胞治疗产品生产用原材料的质量管理规范[J].中国医药生物技术,2023,18(S1):46-72.
- [6] 杜新.细胞和基因治疗(CGT)产品生产变更的实施和监管[J].中国医药导刊,2023,25(09):873-880.
- [7] 细胞产品质量风险管理培训班圆满结束[J].中国医药生物技术,2023,18(03):233.
- [8] 林巧.干细胞治疗产品质量管理策略分析[J].药学进展,2019,43(06):404-411.
- [9] 韦薇,常卫红.关于细胞制剂产品质量研究与质量控制的一些思考[J].中国肿瘤生物治疗杂志,2016,23(05):609-612.
- [10] 李丽莉,高尚先,张春涛.流式细胞术产品质量标准的建立及应用[J].中国生物制品学杂志,2010,23(10):114-116.
- [11] 刘素霞.重组单克隆抗体生产的宿主细胞系的研究进展[J].科技风,2018,18(25):36.
- [12] 高丽丽,刘晓,王玉珠,等.嵌合抗原受体T细胞治疗产品的临床药理学研究有关问题的探讨[J].中国临床药理学杂志,2023,39(12):1820-1824.
- [13] 高建超,韦薇,张旻,等.细胞和基因治疗产品监管科学研究进展和展望[J].中国新药杂志,2022,31(02):105-108.
- [14] 冯依曼,丁锦希,李佳明,等.嵌合抗原受体T细胞产品卫生技术评估新思路[J].世界临床药物,2022,43(04):377-385.
- [15] 刘昌孝,闫凤英,曹彩.发展监管科学,促进细胞治疗产品和技术应用科学规范发展[J].药物评价研究,2019,42(11):2125-2135.
- [16] 张成良,张作芳.酶联免疫吸附技术—I 酶联免疫吸附法(ELISA)实验技术[J].植物检疫参考资料,1982,(01):16-28,15.
- [17] 施伟,何周,金华君.基因治疗与细胞治疗产品所用原辅料质量标准[J].中国医药生物技术,2023,18(S1):29-31.
- [18] 孙璐,王蓓.食品实验室检验环节技术风险点及其质量控制[J].食品安全导刊,2021,(29):44-45.
- [19] 食品化学检验实验室质量控制技术国际研讨会在广州召开[J].检验检疫科学,2007,(06):2.
- [20] 何荣强.基于纸基ELISA检测技术的应用及研究进展[J].质量安全与检验检测,2024,34(02):64-67.

作者简介

刘冬梅,硕士,研究方向为质量管理。