技术共识

医用胶原类产品的表征和质量评价

（最终稿征求意见）

最终稿征求意见（中检院）

目　录

1 背景和意义 **1**

2 适用范围 **2**

3 术语和定义 **2**

4 胶原类产品的性能和评价 **6**

4.1 胶原的特性及评价方法 6

4.2 胶原类产品的性能评价指标 18

5. 产品的质量控制和风险管理 **21**

5.1 存储条件/货架期稳定性 21

5.2 灭菌方法及灭菌过程对产品的影响 22

5.3 原材料来源控制 22

5.4 病毒和 TSE 的灭活 23

5.5 安全性和毒理评价 24

5.6 生物相容性评价 25

参考文献 **27**

编制说明 **31**

1 背景和意义

近年来，随着人们对胶原结构和功能等研究的不断深入，基于胶原的产品在世界范围内的需求快速增长。胶原在医疗领域的应用日益广泛，包括敷料、植入材料以及组织工程医疗产品等。胶原是结缔组织的主要蛋白，也是与机体的细胞、组织和器官功能紧密相关的功能性蛋白，具有良好的生物相容性和生物可降解性、高拉伸强度和低免疫性，并具有止血以及促进细胞生长等性能。因此，胶原在再生医学领域的应用备受关注，各类大中小企业纷纷介入相关产品的研发，显示了巨大的市场潜力。然而，相对于迅速发展的市场，胶原质量评价指标的要求、方法等标准和规范的建立相对滞后，影响了相应产业的规范健康发展。美国 ASTM 发布了关于胶原产品及其相关的胶原-细胞相互作用表征和标准化指南[1]，为胶原类产品的质量评价提供了参考。

胶原类产品在医疗领域的应用主要包括：作为初始材料用于外科植入物、组织工程医疗产品（TEMPs）的支架、敷料、治疗用细胞支架或药物的载体，以及用于基础研究、药物开发和毒性测试的体外三维（3D）组织系统或模型的构建。

胶原相关产品形式多样，其实际应用应基于材料的生物相容性和预期特定应用的功能性指标（包括物理、化学和生物学检测与评价的数据）进行设计开发。因此，规范胶原类产品质量和安全性相关的性能指标和建立相应的检测评价方法，对于产品研发生产、质量控制、

最终稿征求意见（中检院）

检测评价以及技术审评都具有重要意义。

2 适用范围

本文为基于特定的医疗用途，在筛选、表征和规范合适的胶原类产品时提供参考，例如（但不限于）创伤或止血敷料、外科植入物及组织工程医疗产品（TEMPs）等。

本文所列参数主要为基于纯化的Ⅰ型胶原及自组装胶原产品（统称Ⅰ型胶原类产品）的考虑，重组的胶原或者其它类型的胶原也可以参考，但并不一定适用于全部胶原产品。对于某一特定的Ⅰ型胶原类产品也不一定需要检测所有指标。

3 术语和定义

3.1 胶原（collagen）

一类含有至少 20 种在遗传学上不同类型的分泌蛋白质家族，主要担任机体的结构支撑功能，具有独特的由三条多肽链（被称为α链）组成的三螺旋构型，并具有一定的生物学功能。

3.2 胶原聚合物（collagen polymer）

纯化的胶原产物，在不引入外源物质（如交联剂）的条件下具有自组装或聚合成为更高级结构的能力。

3.3 胶原仿生多肽（collagen mimetic peptide）

是胶原的三螺旋结构部分的特定氨基酸序列，是天然胶原的三螺

旋构型的基本序列，通常是“脯氨酸-羟脯氨酸-甘氨酸” —[-(Pro-Hyp-Gly)-]。

3.4 前胶原（procollagen）

由三条羧基化多肽链（α链）组成的胶原分子，其多肽链的氨基（NH_2-）-和羧基（COOH-）-端前肽均保持完整（见图 1）。

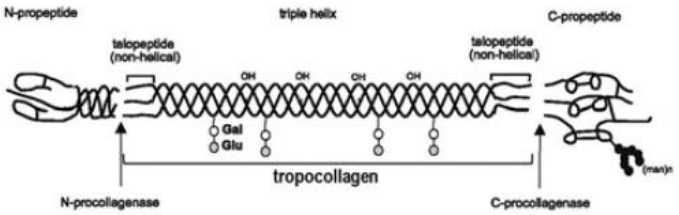

图 1. 前胶原分子和相关的前肽，端肽和三螺旋区域示意图。用前胶原酶通过酶切去除前胶原分子的氨基-和羧基-端前肽即获得原胶原。

3.5 前肽（propeptide）

单个前胶原多肽链（α链）中氨基-和羧基-端的非三螺旋区域，决定三螺旋折叠和前胶原分子的形成（见图 1）；胶原成纤维过程和自组装过程以前肽的去除为基础。

3.6 前胶原多肽链（protocallagen）

由核糖体合成的单个胶原α多肽链。

3.7 原胶原（tropocollagen）

由去除了氨基-和羧基-端前肽的三条α链组成的胶原分子(图 1)；羧基-和氨基-端的端肽仍保持完整。原胶原能进行自组装形成纤维化网络。

3.8 端肽（telopeptide）

原胶原α链上氨基-和羧基-端的非三螺旋区域。端肽对于成纤维过程和分子间交联键的形成至关重要（图 1）。

3.9 去端肽胶原（atelocollagen）

端肽区域被部分或全部从原胶原分子中去除的三螺旋分子。这是基于酶提取法（如胃蛋白酶等）从组织中纯化胶原过程的产物。

3.10 单体（monomer）

单个的原胶原分子（图 1）。

3.11 寡聚体（oligomer）

两个或多个原胶原分子通过分子间天然交联形成的共价聚合物。

3.12 重组胶原蛋白/多肽（recombinant collagen protein/peptide）

由重组技术获得的胶原或类似胶原的多肽，如通过在微生物、昆虫、植物或动物宿主中表达核苷酸序列编码的蛋白或多肽，通常含有 Gly-X-Y 的三联体，其中 Gly 表示甘氨酸，X 和 Y 可以相同也可以不同，并且通常是脯氨酸或羟脯氨酸，但也可以是任何其它已知的氨基酸。

3.13 自组装（self-assembly）

表示一个复杂大分子（如胶原）或超分子系统（如病毒）由其组成单元自发组装的过程。

3.14 成纤维过程（fibrillogenesis）

原胶原单聚体组装形成成熟的纤维，并形成纤维网络结构的过程。

3.15 凝胶（gel）

胶原分子间通过大分子链相互作用形成的三维网络结构。在本质上这种相互作用可能是大分子链间的共价键、离子键、氢键或疏水键作用。

3.16 力传导（mechanotransduction）

细胞将机械刺激转化成一种化学响应的过程。

3.17 渗透性（permeability）

多孔材料传送液体的能力，液体通过多孔材料的速率。

3.18 粘附（adhesion）

稳定或牢固的附着；对于胶原而言，粘附是指细胞通过细胞膜表面蛋白质（如整合素等）以物理贴附或结合的方式连接到胶原及其自组装结构物上的能力。

3.19 胶原降解（collagen degradation）

胶原在化学、物理及生物因素的作用下，发生水解或氧化还原反应，最终导致胶原化学键断裂的过程（源于 YY 0954-2015），包括生理条件下蛋白水解酶（又称胶原酶）在中央三螺旋区域内的定点切割过程。

3.20 基质（matrix）

细胞外的松散网状结构或连接组织的排列物。基质中的胶原具有不可溶的纤维网络，或被间质液环绕的无定型的纳米结构。

3.21 溶解性（solubility）

胶原的溶解性是指在某一溶液中（部分、全部或多数）的溶解程度，可分为酸可溶和盐可溶，即在稀酸或中性盐溶液中的溶解性。

3.22 自组装胶原基产品（self-assembled collagen products）

由提纯的胶原自主装后形成的，如：可注射的胶原溶液，原位聚合形成的单层薄片、颗粒、微球、纤维、海绵、凝胶、涂层、薄膜或

其它形态。

4 胶原类产品的性能和评价

胶原类产品的性能及评价方法的选择宜依据胶原的型式和来源（如组织提取的胶原，或者合成的胶原多肽）[2]。应确保所选择方法的合理性，或采用可接受的蛋白质、聚合物、生物及生物材料的通用分析方法。同时，测试方法应有动态范围、检测限和灵敏度。

4.1 胶原的特性及评价方法

胶原类产品的性能包括物理、化学和生物学性能。以下列出了 I 型胶原类产品的各种性能及其相应的表征方法（包括但不限于这些方法），其专属性和灵敏度不尽相同，在具体使用过程中应充分了解这些方法的适用性和局限性；这些方法可能不完全适用于所有产品，也可以使用其它经过验证的方法。

4.1.1 胶原浓度

胶原浓度（含量）以“质量/体积”或“质量/质量”表示。可选择检测羟脯氨酸的氨基酸分析方法或凯氏定氮法（可参照 YY T 1453[3]或 GB/T 9695.2[4]），或天狼星红胶原染色比色法（仅适用于非交联的胶原），也可以采用液相色谱质谱联用法，通过特征肽标准品做定量曲线，通过胶原酶解产物中特征肽含量的定量检测，实现胶原的定量[5]。

4.1.2 粘度（动力粘度）

胶原类产品的粘度取决于多种因素，包括但不限于：溶液种类、

分散/悬浮状态、浓度、分子组成、分子大小、温度、操作条件等。粘度的测量通常用粘度计或流变仪，可参照《中华人民共和国药典》（2015 年版）[6]四部 0633 进行测定，需要详细描述实验条件。

4.1.3 胶原类型和鉴别

用于分离 I 型胶原的组织通常会含有其它类型的胶原。结缔组织和器官中 I 型胶原最丰富，如皮肤、骨、肌腱、角膜和细胞间质。II 型胶原主要分布在软骨。IV 型胶原是基底膜的主要成分。胶原类型的构成是决定胶原聚合程度和性能的重要因素。已有研究证明 III 型和 V 型胶原会影响 I 型胶原的自组装动力学及产物。因此，根据不同动物组织以及纯化方法所获得的 I 型胶原纯度会有所不同，在 I 型胶原产品的生产工艺中其它类型胶原的水平宜进行充分评价和控制。

——用不同类型的胶原对照品和待测样品一起进行蛋白质电泳（十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳法，SDS-PAGE），参考 YY 0954[8]，可粗略分析胶原类型。

——采用特异性抗体，通过蛋白质免疫印迹（Western blot）或酶联免疫吸附测定（ELISA）法可进行胶原类型分析[9]，但是宜采用标准化的方法，采用非标准化方法时应进行抗体特异性分析及方法学验证。可参考《中华人民共和国药典》（2015 年版）四部 3401。

——采用液相色谱质谱联用技术，通过 I、II、III、VI 等类型胶原的特征肽测定进行鉴别[10]。

对产品中存在的其它类型胶原宜进行风险分析。如果其它类型胶原疑似存在，宜对潜在的宿主反应进行评价。是否有必要进一步分析

取决于其它类型胶原作为不纯物在特定胶原产品中的风险程度。

4.1.4 重组或转基因细胞的 DNA 序列

可验证重组产品的 DNA 序列，如 COL1A1, COL1A2，或者胶原相关的蛋白或者肽。

4.1.5 氨基酸组成

氨基酸分析可以提供胶原的氨基酸组成的信息。对于组织提取的高纯度胶原，在酸性条件下可溶，其氨基酸组成应与公开数据（如 NCBI/Uniprot 数据库或文献）中氨基酸组成相对应。可参考 YY/T 1453-2016 的附录 B 第二法，也可使用反相高效液相色谱法（HPLC）进行氨基酸的组成分析。由于色氨酸的残留在非三螺旋端肽末端，可以作为端肽完整性的指示物。

4.1.6 肽图

肽图被用于鉴别寡聚体和胶原类型组成，常用溴化氰消化液测定。降解产物可用 SDS-PAGE，HPLC，MS，MALDI 等方法进行分析[11-13]。

4.1.7 分子间交联组成

从组织中分离纯化的胶原，基于所采用的具体提取工艺，可能存在去端肽胶原、胶原单体、寡聚体、多聚体及其复合物。因此依据特殊的工艺过程，宜最大程度地减少寡聚体和多聚体，或者利用酶解和二次纯化的方法进行去除，或使用年轻的动物，或使用特殊的方法（如山黧豆中毒）抑制胶原分子间交联的产物。

由于胶原分子的完整性和组成，包括分子间交联，在其自组装动力学和程度方面起到了重要作用，因此，组织提取胶原的分子表征宜

包括分子间交联的分析。可用于分子间交联的定量分析方法，包括：

——高效液相色谱法（HPLC）：阳离子交换法可快速、敏感地定量未成熟的（可还原的，二价的）和成熟的（非还原性的，三价的）交联组成，已被用于分析胶原或生物组织的水解产物。可参考《中华人民共和国药典》(2015 年版)四部 0512。

——质谱法（MS）：基于串联质谱的多反应离子监测也可用于分子间交联分析。可参考《中华人民共和国药典》(2015 年版)四部 0431。

——比色法：吡咯交联物常通过比色方法进行定量检测。可参考《中华人民共和国药典》(2015 年版)四部 0401。

不同的分子间交联含量常表示为 mol/mol 胶原。

4.1.8 分子量

胶原分子量依据其来源及产品型式不同变化很大，胶原合成肽约 1000 g/mol，组织提取的胶原单体或寡聚体超过 300 000 g/mol。小分子（小于 100 000 g/mol）的胶原肽或蛋白质可用质谱（MS）和动态光散射（DLS）法检测；大分子（100 000 g/mol 或以上）的胶原用凝胶电泳法（SDS-PAGE）、排阻色谱法检测，可参照《中华人民共和国药典》(2015 年版)四部 0514、0541。

4.1.9 CD 光谱

圆二色(CD)光谱法用于测量对左旋和右旋圆偏振光的差异吸收，已被用于胶原的结构表征，尤其是胶原的三螺旋的结构及其变化[14]。

4.1.10 热稳定性

差示扫描量热分析（DSC）可用于胶原类产品的解聚温度分析。

胶原的热变性温度可提供结构转变信息，进而提供了样品一级序列、结构状态和样品纯度相关信息[15]。可参考《中华人民共和国药典》(2015 年版)四部 0661。

4.1.11 胰蛋白酶敏感性

胰蛋白酶敏感性可以检测在纯化步骤（如酸碱处理、溶剂处理等）中发生变性的胶原部分。胰蛋白酶可消化胶原中的变性部分，通过测定消化液中羟脯胺酸含量分析变性的胶原。三螺旋胶原能抵御大多数蛋白酶的消化。对胰蛋白酶或其它适宜的蛋白酶的敏感性可以通过胶原在酶中的暴露和对降解后消化液进行分析[10,16]。

4.1.12 杂质

I 型胶原溶液中存在的杂质主要指外源性物质和材料。引起关注的杂质主要包括（但不限于）：内毒素、糖胺聚糖、未正确排列的胶原分子、弹性蛋白、脂类、供体 DNA、供体细胞成分、细胞培养组分、重金属、生物负载、病毒、传染性海绵状脑病（TSE）载体、酶及制备/处理/提取或溶解过程中使用的试剂（如酸、表面活性剂、溶剂等）。这些杂质可以采用 western blot, ELISA, GC/MS 等进行检测。其中 DNA 残留检测可参照 YY/T 0606.25 [17]。

杂蛋白是指在胶原纯化过程中残留的除 I 型胶原外的其它蛋白质。主要包括（但不限于）：弹性蛋白、未正确排列的胶原分子、宿主细胞污染物、细胞培养污染物、酶制剂等。与 I 型胶原伴随的 III 型胶原不作为杂蛋白考虑（见 YY/T 1453）。

关于胶原中存在的加工助剂和其它杂质问题，生产者或供应商应

提供工艺中可能引入的杂质信息。

（a）弹性蛋白

弹性蛋白是组织提取胶原中的一种杂质成分，可以通过测定锁链素的进行检测，可使用 MS、Western blot 和 ELISA 或其它方法进行分析[18]。

（b）碳水化合物

可以用气液相色谱法或者光度测量法进行碳水化合物分析[19,20]，可参照《中华人民共和国药典》(2015 年版)四部，通则 0401 紫外-可见光光度法，0431 质谱法。基因重组或非常见动物组织提取的胶原其糖基化模式或糖链模式可能与人类胶原存在差异。如果使用了特殊来源的胶原，且其糖基化特征不清楚，存在引起自身免疫疾病的风险，这种情况下需要对胶原的糖基进行分析，在此基础上开展风险评估。必要时进行胶原糖基化特性的系统分析，并分析其导致自身免疫疾病发生的潜在风险。

（c）内毒素

内毒素检测方法有：凝胶法和光度测定法，可参照《中华人民共和国药典》(2015 年版) 四部 1143。

（d）重金属

依据材料来源和工艺，对可能存在的重金属进行总含量检测和必要的单项重金属含量检测，如：铅、汞、铋、砷、锑、锡、镉、银、铜和钼。检测方法包括（但不限于）：光谱法、比色法、质谱法以及原子吸收法，具体可参照《中华人民共和国药典》(2015 年版)四部

0406、0411、0412、0821。对毒性风险高的重金属应给出残留量的限量要求，如：铅、汞、镉、砷、锑等。

（e）微生物安全性评价

细菌、病毒和真菌均是生物样本中可能存在的污染物。应对灭菌过程进行验证并表征其对产品的影响。如：微生物限度，无菌检查，细菌内毒素检查等，可参照《中华人民共和国药典》（2015 年版，四部）1101、1105、1106、1143，并按照 GB 18280.1[21]、GB 18279.1[22]的要求进行灭菌和无菌保证水平的工艺验证。

按照 YY/T 0771.1[23]和《动物源医疗器械注册技术审查指导原则》（2017 年版）[24]进行风险管理和开展病毒灭活验证研究。

4.1.13 胶原的纯度

纯化的胶原产物宜是杂质水平低于其质量 2%的高度纯化的溶液。医用胶原类产品应根据预期的临床应用目的规定其纯度要求。I 型胶原作为植入剂时应符合 YY 0954 的要求（其杂蛋白总量应在总蛋白的 1%以下，当任意一种杂蛋白含量超过 1%时，应进行定性定量分析）。

胶原的纯度可以用 SDS-PAGE 凝胶电泳法，对聚合物直接分析，或分析特殊的酶（细菌胶原酶、胰酶）裂解后产物，或分析化学（溴化氰）分解后产物。

——SDS-PAGE；可参考 YY T 1453-2016 及其附录 A。

——肽图；可参考《中华人民共和国药典》（2015 年版）四部 3405 第一法进行测定。

——氨基酸 N-末端测序：可采用 Edman 降解法[7]，用氨基酸序列

分析仪测定，序列应与相应动物来源胶原的 N 末端氨基酸序列一致。可参考《中华人民共和国药典》（2015 年版）三部，重组人促红素注射液中“氨基酸 N-端测序”、“注射用重组人干扰素α1b”、“重组人干扰素α1b 注射液”、“注射用重组人干扰素α1a”的描述。

——特殊的非胶原杂质的检测，如：氨基己糖（即糖蛋白的测定）、脂肪、总糖、锁链素（可间接表征弹性蛋白含量）和氨基酸组成分析（胶原组成全貌，包括非胶原氨基酸）。其中，总糖含量的测定可参考 YY/T 1453-2016 的附录 E。脂肪含量的测定可参考 YY T 1453-2016 的 4.11 条款。

4.1.14 聚合反应/自组装能力

胶原自组装或聚合成超分子结构的能力的差异常取决于胶原制备过程。胶原的聚合能引起不同的组装产物和组装动力学，有可能影响其在特定应用中的适宜性。

自组装动力学参数通常使用光度计或粘度计分别监测浊度或粘度（如剪切储存模量）随时间的变化来确定。这些分析常常产生 S 形的聚合曲线，通过曲线可定量一些聚合动力学参数，包含阻滞期时间，线性增长期的增长率以及聚合的半周期。但是，从分光光度计（浊度）数据中并不能得到聚合微结构的相关信息。基于图像的一些方法，如延时共聚焦反射显微镜可用来观察结构。可以通过浊度和粘弹性的动力学监测，结合实时的共聚焦反射显微镜观察结构的变化，来评价胶原的聚合反应/自组装能力[25]。

4.1.15 胶原聚合能力

为保证胶原类产品在制备过程中的高度一致性和减少在性能上的批间差异，宜建立评价胶原聚合能力的标准化方法或质量控制方法。如：通过定量自组装胶原产品的粘弹性（剪切储存模量，基质硬度）和发生聚合反应的胶原浓度之间的函数关系评价聚合能力。这些标准化策略能改善自组装胶原产品在体外与细胞及体内与宿主之间反应的预测性和可重复性[26,27]。

4.1.16 纳米和微米结构

许多成像技术和分析工具已被用来观察和定量自组装胶原产品在多种尺度下的结构信息。电镜可获得有纳米级分辨率的图像。透射电镜（TEM）和扫描电镜（SEM）均能提供高分辨率，代表样品表面形貌的二维图像。连续横截面 TEM 和连续块体表面 SEM 可用来进行三维分析。冷冻扫描电镜（cryo-SEM）的样品预处理能更好地保存胶原材料真实的结构细节且带来的人工假象较少。

电子显微图片通常用来确定纤维类材料的微结构参数如孔隙率，纤维面积比例，纤维直径和纤维的周期性 D 带。周期性 D 带是沿纤维长轴以 67nm 为间隔的横纹，是胶原分子交错排列的特征。电子显微镜也被用来确定不同纳米结构的尺寸和形状，包括由胶原仿生多肽形成的微丝，球形聚合体，以及纳米纤维。

共聚焦和多光子显微镜的成像技术，不经过额外的样品处理和染色，则可以获得胶原自组装材料的三维微结构细节。由于胶原纤维和周围环境的反射指数不同，反射模式的激光共聚焦显微镜能采集从完全含水的胶原微结构样品中反射出的或背散射的光线，从而减少样品

处理带来的假象。

在胶原聚合过程中进行延时的激光共聚焦成像也能提供自组装动力学和分子机制方面有用的信息。

另外，胶原固有的非中心对称（不是关于某一中心点的对称），三螺旋结构能产生非线性的，光的二级极化。二级谐波的生成（SHG）产生散射光，沿着螺旋轴极化，使得入射的多光子冲击波长减半。由于胶原自带荧光，它的自发荧光也能通过共聚焦和多光子显微镜观察到。但是自发荧光的强度通常相对较低，会影响成像的质量和分辨率。

对于固定的样品，胶原特异性的抗体和探针已被证实能改善信噪比和胶原微结构图像的质量。三维微结构信息的获得能支撑更复杂的，定量的微结构的描述，如纤维密度（纤维体积比），纤维直径，纤维分支相交的程度以及总的和平均的纤维长度。

原子力显微镜（AFM）成像通常用来观察干燥的或含水的胶原材料表面的纳米结构。因为该测量要求 AFM 探针尖和表面相互接触，通常它的应用限于在二维平面上。从这些图像中常能测量到纤维的粗糙度和直径（高度）。AFM 也被用来观察和定量纤维周期性 D 带的差异。

可根据具体样品情况，选择 SEM、TEM、cryo-SEM、AFM 及激光共聚焦显微镜中的 1 项或数项技术进行自组装胶原基产品的纳米和微米结构分析。

4.1.17 粘弹性和机械性能

胶原的粘弹性和机械性能是决定基本细胞行为和细胞诱导材料

重建特性的关键因素。胶原的机械性能可通过包括剪切、振荡剪切、压缩和拉伸（单轴或多轴）在内的测试方法进行表征。

蠕变、应力-松弛和动态力学测试常被用来测量时间相关的机械性能或粘弹性。胶原的机械性能不仅取决于材料的尺寸和形状，也取决于力的加载方式（应变率，动态加载的频率）以及加载过程中材料所处的条件（温度、介质）。因此，测量时应明确这些力学测试的参数和条件。

材料性质的测量通常包括模量、失效应力、失效应变以及泊松比。其它常见的力学测试，如缝线的拔出试验、球破试验和微米或纳米压痕试验，可根据产品的结构特性和预期使用性能进行确定。

由于测试装置通常只提供单一尺度的力学信息，有些新建立的试验体系和方法可用于胶原产品多尺度力学行为的评价。

4.1.18 物质转运特性

胶原材料或工程化的组织构建物中液体和溶质的转运对于引导细胞基础行为、组织形态和修复、组织结构及其功能的维持以及组织病理学（如癌症）方面发挥着关键作用。材料通过以下方式实现对细胞微环境的调控：（1）营养物质传递和代谢废物的移除；（2）可溶因子的时空分布；（3）物理因素（如剪切力）等。

材料的渗透性和扩散性是设计基于生物材料的治疗用细胞、药物或分子递送系统的关键因素。渗透性决定了施压条件下流体通过多孔材料的难易程度。测定扩散率的实验方法涉及有限空间内胶原材料上

的压力梯度和平均流速，达西定律被用来计算渗透率。扩散性能取决于浓度梯度驱动的溶液的随机运动。

消光后的荧光恢复（FRAP）方法是将一稀释的荧光标记物均匀分布于材料内，通过激光诱导光褪色产生出一定的浓度梯度，再通过分析标记物浓度随时间恢复的特征来获得扩散系数。集成光学成像（IOI）是通过微注射创建一种荧光标记物的点发射源，随后通过图像技术测量它们在时间和空间分布的扩散系数。

4.1.19 胶原酶降解

自组装胶原产品的降解通常通过细菌胶原酶处理后测量羟脯氨酸随时间的变化，也可通过胶原酶处理后胶原材料在宏观形貌或特定机械性能（如应力松弛率，剪切储存和耗损模量等）的变化进行分析。

4.1.20 胶原-细胞相互作用

细胞在体内对基于胶原的细胞外微环境的响应是通过生物化学和生物物理两个方面进行调控的。胶原固有的细胞信号传导能力在很大程度上受以下三个方面驱动：（1）支持整合素介导的细胞粘附；（2）通过结构和材料特性施加物理和机械的作用；（3）参与细胞诱导的动态重建过程（如生物降解，结合生长因子，和微结构的变形）。

由于胶原类产品在分子组成、微结构、物理性能方面可能差异显著，应检测材料与细胞之间相互作用及其引导细胞基础响应的性能。

——主要测试方法包括：在胶原聚合之前通过把细胞混悬在胶原溶液中，细胞很容易进入自组装胶原网内，或者将细胞接种到自组装

后的胶原材料表面。

——细胞响应的参数包括：细胞形态，面积和体积，均可通过二维（2D）或三维（3D）图像技术可视化评价。细胞骨架成分（如肌动蛋白）的协同作用被用来评价细胞与基质间的粘附与收缩解离。

——抗体阻断试验，可用来确定细胞表面的何种受体参与了与胶原的作用，如整合素或盘状结构域受体（DDRs）。

——在单个细胞或多细胞水平上评价细胞引导的收缩解离的方法有多种。自由漂浮组织构建物的尺寸随时间的变化、施加在培养-力学监测系统上力的大小、以及单个细胞在胶原网络的应力和形变。

——其它常规检测的细胞响应参数包括：存活率，增殖率，程序化凋亡以及迁移。

——其它适用于干细胞和祖细胞类型的细胞-胶原相互作用的功能性检测包括细胞株的定向分化，特定干细胞或祖细胞的增殖，或组织形态发生（始于内皮祖细胞的血管形成）。

上述关于胶原—细胞相互作用（生物学活性）的功能性测定也可作为产品标准化和质量控制的方法。三维支架材料中细胞活性评价方法可参考 YY/T 1562 [28]。

4.2 胶原类产品的性能评价指标

确定所使用的胶原类材料，包括用于外科植入物、TEMPs 等的要求时，需要考虑以下方面：胶原的来源，杂质成分，以及综合物理、化学和生物学的表征和测试。同时需要参照监管机构关于医疗器械、生物制品、药物和相关组合产品生产相关的法规和批准上市的文件及

其它相关指南。

胶原类产品应具有严格的质量标准，全面涵盖物理、化学和生物学性能。以下列举了表征特定胶原类产品时适用的指标，并非所有指标都要求表征，宜根据胶原材料的来源、制备工艺和终产品的形态、特性，合理选择适用的指标和方法，以达到对产品进行严格质量控制的目的。

4.2.1 Ⅰ型胶原的评价项目

纯化的胶原产物可考虑如下评价项目、

a）物理性能

外观、性状。

b）化学性能

1）浓度；

2）粘度；

3）纯度分析，包括非Ⅰ型胶原的类型，弹性蛋白，粘多糖，非胶原类蛋白质，脂类，碳水化合物分析，核酸，氨基酸分析，序列分析，肽图；

4）分子间交联分析；

5）分子量，平均聚合物分子量；

6）端肽完整性，螺旋结构含量；

7）热解离；

8）胰蛋白酶敏感性分析；

9）杂质组成，包括重金属分析，内毒素，生物负载；

10）聚合反应动力学；

11）聚合能力；

12）pH 值；

13）添加物（药物，分子，灭菌剂残留）。

c）胶原-细胞相互作用

包括生物相容性和基本的细胞响应，如：

1）材料形貌变化；

2）细胞-支架收缩解离特性；

3）细胞增殖；

4）细胞凋亡；

5）细胞分化；

6）细胞形态发生；

7）细胞的体内迁移。

4.2.2 自组装 I 型胶原产品评价项目

自组装 I 型胶原产品可考虑如下评价项目。

a）物理性能

1）形貌，纳米/微米结构；

2）液体传输性能（渗透性，扩散性）；

3）机械性能/粘弹性；

4）收缩/解聚温度。

b）化学

1）pH 值；

2）添加物（药物、分子、灭菌剂残留）；

3）胶原酶降解。

c）胶原-细胞相互作用

同以上 4.2.1，c）I 型胶原的胶原-细胞相互作用的评价项目。

5. 产品的质量控制和风险管理

胶原类产品的质量管理主要包括以下几个方面：

1）存储条件/货架期稳定性；

2）灭菌方法及灭菌过程对产品的影响（若适用）；

3）来源控制；

4）病毒和传染性海绵状脑病毒因子的灭活；

5）胶原的安全性和毒理学评价。

5.1 存储条件/货架期稳定性

理想的储存条件和货架期稳定性取决于胶原的物理形态（如溶液，或冻干品）。具体产品的货架期稳定性和储存条件受产品状态、制造工艺、包装形式等因素影响，应根据产品特性进行确定和验证。

组织提取的冻干胶原类产品宜在带干燥剂的环境下储存。组织提取的胶原的酸溶液宜在低温条件下储存。宜避免将组织提取的任一形式的胶原反复冻融，因为会产生变性。当进行胶原和相关自组装胶原产品的储存和货架期测试时，最相关的指示稳定性的参数是那些与胶原成品或材料的功能性相关的指标。根据最终胶原成品所要求的功能，

可考虑下述参数，如：粘度（表观的和固有的）、聚合动力学、聚合能力、微结构、物理性质和生物学活性及其它认为相关的参数。可参照 YY/T 0681.1[29]。

5.2 灭菌方法及灭菌过程对产品的影响

使用者宜确认灭菌方法不会对胶原类产品造成不利影响。胶原可通过不同的方法进行灭菌，例如（但不限于）：伽玛射线辐照、电子束或环氧乙烷，或利用无菌工艺进行制备。

宜对胶原潜在的降解产物或灭菌剂残留进行评估以确定对产品的影响。胶原溶液多通过：（1）在胶原溶液粘度许可的情况下过滤灭菌；或（2）伽马辐照灭菌。灭菌方法的选择主要取决于对终产品有效性的影响。所选方法需经过验证以确定灭菌方式的有效性。

可参照 GB 18280.1[30]和 GB 18279.1[31]。

5.3 原材料来源控制

包括适宜的动物供体筛查及组织采集程序，以保证控制原材料外源因子污染的风险。

胶原可通过任一方法从组织或细胞培养中分离出来，包括但不限于，用稀酸或稀盐溶液进行提取，或通过酶消化组织进行提取。尽管 III 型胶原分布不广泛，但除骨组织和肌腱外，通常与 I 型胶原同时存在。V 型胶原也常和 I 型胶原共存。非 I 型胶原可能会影响其聚合特性，也可能增加其免疫原性风险。因此，宜对组织来源进行控制和相应的风险评估[32-35]。

可参照 YY/T 0771.1/2[23,36]、《动物源医疗器械注册技术审查指导原则》（2017 年版）的要求进行源头控制。

5.4 病毒和 TSE 的灭活

病毒和传染性海绵状脑病病毒因子（TSE）可通过原材料或外来途径被引入终产品中。应采取经过验证的灭活工艺，确保可能存在于终产品中的病毒和 TSE 被完全灭活或清除。

病毒清除——对人源或动物源的初始材料，应对人源高风险传染病、人畜共患疾病的病原体进行筛查，以减少或消除潜在的传染性，参照 GB/T 36988 [37]或 YY/T 0771.1 进行风险评价和风险管理。

病毒清除方法包括但不限于清洁剂处理、酸或碱（高或低 pH）处理、尿素处理或其它化学处理、以及过滤和其它纯化方法。但是，即使这些较为严格的处理方法也不能保证病毒完全被灭活。病毒清除过程宜在适宜的经过验证的病毒清除研究方案中进行。宜确认病毒清除工艺与原材料和成型的终产品是相匹配的。

对于动物来源的材料可参照 YY/T 0771. 3[38]及《动物源医疗器械注册技术审查指导原则》（2017 年版）；对于人体组织来源的材料参照《同种异体材料病毒灭活验证指导原则》[39]进行病毒灭活工艺验证。

TSE 来源问题和 TSE 清除率——对于能耐受灭活 TSE 因子所要求的严苛处理方式的产品来说，宜对原材料的来源，去除潜在 TSE 因子的工艺设计，以及灭活 TSE 因子的处理方式有细致的考量[40-42]。尽管

在一种组织中检测到普遍存在的朊病毒的蛋白酶耐受性，常常意味着这种组织含有传染性因子，不适合用于制备植入人体或动物体的胶原材料，但是反过来却不一定正确。因此，仅仅一项耐蛋白酶朊病毒测试的阴性结果可能不足以保证用于制备胶原的原材料是安全的。可参照 YY/T 0771.4[43]进行风险管理。

5.5 安全性和毒理评价

胶原类产品在生物医学和药学领域的应用以及用于 TEMPs 方面的安全性应根据现行的国家标准，如《中华人民共和国药典》（2015 年版）有关生物制品和生化药品部分、国际人用药品注册技术要求国际协调会（ICH）相关指南、GB/T16886 系列标准和组织工程产品相关标准以及相关的指导原则进行全面的临床前评价及生物学评价。特别是需要临床试验审批的临床前安全性评价研究需根据相关生物制品或医疗器械指导原则的要求进行全面的安全性和毒理评价。

用于药物缓释的胶原的安全性评价宜结合对预期的临床给药途径和产品的制剂进行考虑，对于一些特定研究，给药途径和制剂形式可能与临床实际情形不一致。非临床毒性研究的需求、时机、以及如何开展，均可参照药物研发和申报相关指导原则。这些研究可能包括但不限于：

a) 急性毒性试验，与预期的临床使用治疗机制和时间相关的重复给药毒性试验（ICH M3）[44]；

b) 超敏反应试验；

c）遗传毒性试验（GB/T16886.3[45]、ICH S2A[46]，ICH S2B[47]）；

d）根据预期的药物使用（如适用）还包括生殖/发育毒性试验（GB/T16886.3、CH S5A[48]、ICH S5B[49]）；以及致癌性试验（GB/T16886.3、ICH S1A[50]，ICH S1B[51]，ICH S1C[52]，ICH S1C(R)[53]）

e）另外一些试验可能是针对特定给药途径的，例如注射部位刺激试验：眼刺激试验，皮肤致癌性试验，或光刺激和光联合致癌潜力试验。

5.6 生物相容性评价

I 型胶原在结构方面存在较少的种属间差异。I 型胶原的主要结构和更高级的结构在不同种属间也有高度的相似性，这解释了为什么动物源的胶原能被作为一种可接受的材料用于植入人体。然而，胶原材料的生物相容性还取决于其纯度、杂质成分、工艺中使用的化学试剂残留等因素。

胶原类产品可按照下述标准进行生物相容性评价：GB/T 16886 系列标准（如，GB/T 16886.1/9/17 [54-56]）、YY/T 0771.1/3，组织工程医疗器械产品的相关标准。

免疫原性——胶原的免疫原性根据材料来源的不同而不同（可以是提取的或重组来源的），尽管上文提到一些原因，仅仅基于种属间差异引起的免疫反应是不常见的。不同生产商的产品可能在性质方面存在如下差异（但不限于），胶原纤维质量（纯度、杂质成分、端肽有无）及羟脯氨酸百分比等。胶原在结构和化学方面的差异可能导致

潜在的免疫反应的变化。生产商宜确定对天然胶原在结构上的改变（例如通过化学交联或其它仿生方法）可能在多大程度上影响（增强或减弱）胶原植入人体后的免疫原性。

胶原制备工艺中使用的化学试剂也可能引起胶原免疫原性的改变。免疫原性试验宜考虑，但不限于，皮肤致敏试验（GB/T 16886.10[57]）及动物体内的免疫毒理学试验（GB/T 16886.20[58]），具体要求可参照《动物源医疗器械注册技术审查指导原则》（2017 年版）的附录 A。如果植入材料是可降解的，开展动物体内的免疫毒理学试验时宜充分评价降解周期内的免疫原性风险，至少涵盖最坏情况（Worse case，植入材料大量降解，潜在免疫原充分暴露的时期），以评价剩余免疫原性风险是否可接受。

参考文献

[1] ASTM F3089-2014 Standard Guide for Characterization and Standardization of Polymerizable Collagen-Based Products and Associated Collagen-Cell Interaction.

[2] Abraham L C, ZuenaE, Perez-Ramirez B, and Kaplan D L,“Guide to Collagen Characterization for Biomaterial Studies,” J Biomed Mater Res Part B: Appl Biomater, 2008, 87B: 264–285.

[3] YY T 1453《组织工程医疗器械产品 I 型胶原蛋白表征方法》。

[4] GB/T 9695.23《肉与肉制品羟脯氨酸含量测定》。

[5] 孙坤，杨帆，孔英俊，康跻耀，曹玮，张贵锋. 基于生物质谱的胶原蛋白定量检测方法, 生物工程学报，2015, 31(11): 1660−1668。

[6] 《中华人民共和国药典》（2015 年版）。

[7] 史新昌，杨靖清，韩春梅，陶磊，饶春明. N-末端氨基酸测序数据估计 N-末端不均一的单链重组蛋白制品主肽链比例方法的建立[J].中国生物制品学杂志, 2016, 29(10):1073-1081.

[8] YY 0954《无源外科植入物　I 型胶原蛋白植入剂专用要求》。

[9] Dusemund B, Barrach H J. Double-antibody enzyme-linked immunosorbent microassay for quantification of collagen types I and II. Journal of Immunological Methods, 1982, 50(3):255-268.

[10] Zhang G, Sun A, Li W, Liu T, Su Z. Mass spectrometric analysis of enzymatic digestion of denatured collagen for identification of collagen type. Journal of Chromatography A, 2006, 1114: 274-277.

[11] Deyl Z, Novotna J, Miksik I, Jelinkova D, Uhrova M, Suchánek M. Quantitation of collagen types I, III and V in tissue slices by capillary electrophoresis after cyanogen bromide solubilization.Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications, 1997, 689(1):181-194.

[12] Pataridis S, Eckhardt A, Mikulikova K, Sedlakova P and Miksik I. Determination and Quantification of Collagen Types in Tissues Using HPLC-MS/MS. Current Analytical Chemistry, 2009, 5:316-323.

[13] Novotna J, Deyl Z, Miksik I. Capillary zone electrophoresis of collagen type I CNBr peptides in acid buffers. Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications, 1996, 681(1), 77-82

[14] Drzewiecki K E, Grisham D R, S. Parmar A S, et al. Circular Dichroism Spectroscopy of Collagen Fibrillogenesis. Biophysical Journal, 2016, 111(11): 2377-2386.

[15] Schroepfer M, Meyer M. DSC investigation of bovine hide collagen at

varying degrees of crosslinking and humidities International Journal of Biological Macromolecules, 2017, 103: 120-128.
[16] Pataridis S, Eckhardt A, Mikulikova K, Sedlkova P, Miksik I. Identification of collagen types in tissues using HPLC-MS/MS.J. Sep. Sci., 2008, 31:3483 – 3488.
[17] YY/T 0606.25《组织工程医疗产品 第 25 部分：动物源性生物材料 DNA 残留量测定法》
[19] Kaga N, Soma S, Fujimura T, et al. Quantification of elastin cross-linking amino acids, desmosine and isodesmosine, in hydrolysates of rat lung by ion-pair liquid chromatography–mass spectrometry. Analytical Biochemistry, 2003, 318: 25–29.
[20] ASTM E 1821-2008 Standard Test Method for Determination of Carbohydrates in Biomass by Gas Chromatography.
[21] ASTM E1758-2001(2007) Standard Test Method for Determination of Carbohydrates in Biomass by High Performance Liquid Chromatography.
[20] GB 18280.1《医疗保健产品灭菌辐射第 1 部分：医疗器械灭菌过程的开发、确认和常规控制要求》。
[22] GB 18279.1《医疗保健产品灭菌环氧乙烷第 1 部分:医疗器械灭菌过程的开发、确认和常规控制的要求》。
[23] YY/T 0771.1《动物源医疗器械 第 1 部分：风险管理应用》。
[24] 《动物源医疗器械注册技术审查指导原则》（2017 年版）。
[25] Brightman A O, Rajwa B P, Sturgis J, et al. Time-lapse confocal reflection microscopy of collagen fibrillogenesis and extracellular matrix assembly in vitro. Biopolymers, 2000, 54(3): 222-234.
[26] 闫婷婷,郑学晶,刘捷,裴莹,汤克勇.胶原大分子自组装研究进展[J].高分子通报,2016(08):18-28.
[27] Kar K, Amin P, Bryan M A, et al. Self-association of Collagen Triple Helix Peptides into Higher Order Structures. Journal of Biological Chemistry, 2006, 281(44): 33283-33290.
[28] YY/T 1562《组织工程医疗器械产品 生物支架材料 细胞活性评价指南》。
[29] YY/T 0681.1《无菌医疗器械包装试验方法 第 1 部分：加速老化试验指南》。
[30] GB 18280.1《医疗保健产品灭菌辐射 第 1 部分：医疗器械灭菌过程的开发、确认和常规控制要求》。
[31] GB 18279.1《医疗保健产品灭菌 环氧乙烷 第 1 部分：医疗器械灭菌过程的开发、确认和常规控制的要求》。
[32] Rubin, A., Drake, M. P., Davison, P. F., Pfahl, D., Speakman, P. T., andSchmitt, F. O., “Effects of Pepsin Treatment on the Interaction Properties of Tropocollagen Macromolecules,” Biochemistry, 1965, 4: 181–190.
[33] Helseth, D. L. and Veis, A. J., “Collagen Self-assembly In

Vitro.Differentiating Specific Telopeptide-dependent Interactions using Selective Enzyme Modifications and the Addition of Free AminoTelopeptide," Biol Chem, 1981, 256: 7118–7128.
[34] Capaldi, M. J. and Chapman, J. A., "The C-terminal Extrahelical Peptide of Type I Collagen and its Role in Fibrillogenesis In Vitro,"Biopolymers, 1982, 21: 2291–2313.
[35] Gelman, R. A., Poppke, D. C., and Piez, K. A., "Collagen Fibril Formation In Vitro. The Role of the Nonhelical Terminal Regions,"J Biol Chem, 1979, 254: 11741–11745.
[36] YY/T 0771.2《动物源医疗器械 第 2 部分：来源、收集与处置的控制》。
[37] GB/T 36988《组织工程用人源组织操作规范指南》。
[38] YY/T 0771.3《动物源医疗器械 第 3 部分：病毒和传播性海绵状脑病（TSE）因子去除与灭活的确认》。
[39]《同种异体材料病毒灭活验证指导原则》
[40] Hellman, K. B. and Asher, D. M., "Meeting Report: International Workshop on Clearance of TSE Agents from Blood Products andImplanted Tissues," Biologicals, 2000, 28:189–192.
[41] Cooley, W. A., et al., "Evaluation of a rapid western immunoblotting procedure for the diagnosis of bovine spongiform encephalopathy(BSE) in the UK," J Comp Pathol, 2001, 125(1):64–70.
[42] Handley, J. and Zubritsky, E., "Blood-based Prion Test," Anal Chem, 2001, 73(9): 252A.
[43] YY/T 0771.4《动物源医疗器械 第 4 部分：传播性海绵状脑病（TSE）因子的去除和/或灭活及其过程确认分析的原则》。
[44] ICH M3 Guidance on Nonclinical Safety Studies for the Conduct of Human Clinical Trials and Marketing Authorization for Pharmaceuticals.
[45] GB/T16886.3《医疗器械生物学评价 第 3 部分：遗传毒性、致癌性和生殖毒性试验》。
[46] ICH S2A Guidance on Specific Aspects of Regulatory Genotoxicity Tests for Pharmaceuticals.
[47] ICH S2B Genotoxicity: A Standard Battery for Genotoxicity Testing for Pharmaceuticals.
[48] CH S5A Detection of Toxicity to Reproduction for Medicinal Products
[49] ICH S5B Maintenance of the ICH Guideline on Toxicity to Male Fertility: An Addendum to the Guideline on Detection of Toxicity to Reproduction for Medicinal Products.
[50] ICH S1A Guideline on the Need for Carcinogenicity Studies of Pharmaceuticals.
[51] ICH S1B Testing for Carcinogenicity of Pharmaceuticals.

[52] ICH S1C Dose Selection for Carcinogenicity Studies of Pharmaceuticals.
[53] ICH S1C(R) Addendum: Addition of a Limit Dose and Related Notes.
[54] GB/T 16886.1《医疗器械生物学评价 第 1 部分：风险管理过程中的评价与试验》。
[55] GB/T 16886.9《医疗器械生物学评价 第 9 部分：潜在降解产物的定性和定量框架》。
[56] GB/T 16886.17《医疗器械生物学评价 第 17 部分：可沥滤物允许限量的建立》。
[57] GB/T 16886.10《医疗器械生物学评价 第 10 部分：刺激与皮肤致敏试验》。
[58] GB/T 16886.20《医疗器械生物学评价 第 20 部分：医疗器械免疫毒理学试验原则和方法》。

编制说明

一、 目的和意义

见正文中的“背景和意义”。

二、起草单位

本文件由中国食品药品检定研究院（中检院）、中国科学院过程工程研究所和四川省食品药品检验检测院联合起草。

三、起草依据

本文件的起草参考了 ASTM F 3089-2014 （Standard Guide for Characterization and Standardization of Polymerizable Collagen-Based Products and Associated Collagen-Cell Interaction），并结合我国的相关指导性文件、标准、药典及相关文献，

四、起草过程

本年度初，中国食品药品检定研究院医疗器械检定所质量评价室，结合对 ASTM F 3089-2014 标准的预研工作，在四川省检验研究院（医疗器械检测中心）刘兴兰老师团队的初步翻译稿基础上，组织了文件的编写工作。确定编写原则为：结合我国的产业发展和监管需求，选择确定合理的胶原类产品表征和评价指标，尽可能给出检测和评价方法，以期具有更大的参考价值和发挥更好的指导作用。

2019 年 3 月底起草小组完成初稿，4 月 2 日由起草小组在中国科学院过程工程研究所进行了一整天的逐句讨论，修改完善，并经过后续的补充相关标准和文献，完成征求意见稿。2019 年 5 月 17 日在中检院官网向全社会发出征求意见的通知。截止在 2019 年 6 月 27

日，合计收到 5 家单位（四川大学生物材料工程研究中心、北京银河巴马生物技术股份有限公司、广州创尔生物技术股份有限公司、北京市医疗器械检验所、悦景（镇江）生物科技有限公司）的反馈，合计 39 条意见和建议。起草小组对反馈意见进行了逐条讨论，大部分意见和建议采纳或修改采纳，形成“医用胶原蛋白类产品的表征与质量评价”（送审稿）。

2019 年 6 月 28 日，中检院组织召开了医用胶原蛋白及其相关产品表征与质量控制学术论坛。来自全国相关研究机构、大专院校、检测机构、监管机构及生产企业的代表，合计约 180 人参加了会议。论坛特邀专家 7 人（张贵锋研究员——中国科学院过程控制研究所，张其清教授——中国医学科学院生物医学工程研究所，范代娣教授——西北大学化工学院，刘文博审评员——国家药品监督管理局医疗器械技术审评中心三部，郭全义教授——中国人民解放军总医院，金岩教授——空军军医大学，郭晓磊审评员——国家药品监督管理局医疗器械技术审评中心四部）为论坛提供了精彩的报告。报告内容涉及胶原基生物材料质量控制方法、胶原基医用材料及其制品的基础研究与产业化、重组类人胶原蛋白水凝胶的特性及应用前景、基于胶原蛋白的组织工程产品研发、医用胶原蛋白类医疗器械的技术审评要求探讨、软骨基质的特性和软骨修复材料的选择与应用、再生型软骨植入物的注册与审评。

下午，与会专家和代表共同交流和研讨了“医用胶原蛋白类产品的表征与质量评价”（送审稿）文件。起草小组就文件的征求意见处

理概况及未采纳的反馈意见未采纳理由进行了说明，对照文件送审稿中重点意见部分带领与会代表进行了现场讨论，并初步达成共识。对个别没有达成共识的内容由起草小组于会后进一步查找文献和依据，进行完善。于 2019 年 7 月 8 日形成初步定稿，为进一步获得共识，再次向社会广泛征求意见。

五、最终稿重要修改内容说明

1、增加了术语和定义：3.22 自组装胶原产品（self-assembled collagen products）——由提纯的胶原自主装后形成的，如：可注射的胶原溶液，原位聚合形成的单层薄片、颗粒、微球、纤维、海绵、凝胶、涂层、薄膜或其他形态。

由于提纯的胶原和自组装胶原产品的表征和评价项目不完全一样，有必要明确自组装胶原产品包括哪些产品类型，便于对全文的理解。

2、4.1.3 胶原的纯度，因主要是指组织提取的胶原，其他形式的自组装胶原产品的初始材料也是提取的胶原，因此，正文进行了明确（纯化的胶原产物宜是杂质水平低于其质量 2%的高度纯化的溶液），并增加“医用胶原类产品应根据预期的临床应用目的规定其纯度要求”及“I 型胶原作为植入剂时应符合 YY 0954 的要求（其杂蛋白总量应在总蛋白的 1%以下，当任意一种杂蛋白含量超过 1%时，应进行定性定量分析）”。

同时，鉴于此处提到了“杂质”和“杂蛋白”，为便于读者理解，将该条款（4.1.3）移至“杂质”（4.1.13）的后面，调整顺序号为：4.1.12

杂质，4.1.13 胶原的纯度。

3、明确了 3.19 胶原降解（collagen degradation）特指胶原的降解，修改为：胶原在化学、物理及生物因素的作用下，发生水解和或氧化还原反应，最终导致胶原化学键断裂的过程（源于 YY 0954-2015）。-----

4、明确了 4.2.1 I 型胶原是指纯化的胶原产物。

5、明确了 4.2.2 自组装 I 型胶原产品评价项目，特指“自组装” I 型胶原产品。

6、删除了 5.1 存储条件/货架期稳定性项下，容易引起争议的储存温度和保存期的具体数字，修改为：组织提取的冻干胶原类产品宜在带干燥剂的环境下储存。组织提取的胶原的酸溶液宜在低温条件下储存。

7、删除了所引用标准的年代号（引用了标准中指定条款的除外），并进行了全文（包括参考文献）的编辑性（文字和格式）修改。

起草小组

2019 年 7 月 6 日