

《组织工程医疗器械 胶原蛋白》

行业标准编制说明

一、工作简况

（一）任务来源

根据《国家药监局综合司关于印发 2022 年医疗器械行业标准制修订计划项目的通知》（药监综械注〔2022〕47 号）的规定和要求，标准项目《组织工程医疗器械 胶原蛋白》（项目编号：N2022102-T-zjy）由全国外科植入物和矫形器械标准化技术委员会组织工程医疗器械产品分技术委员会归口，主要起草单位为中国食品药品检定研究院、中国科学院过程工程研究所、四川省药品检验研究院（四川省医疗器械检测中心）、广州创尔生物技术股份有限公司、河北考力森生物科技有限公司、无锡贝迪生物工程股份有限公司、中国科学院遗传与发育生物学研究所、中国科学院理化技术研究所、中国医学科学院生物医学工程研究所、四川大学轻纺与食品学院、浙江珂瑞康生物医疗科技有限公司。

（二）工作过程

2022年2月22日，全国外科植入物和矫形器械标准化技术委员会组织工程医疗器械产品分技术委员会秘书处召开了标准启动会，确定了本标准的起草小组成员单位。在2022年3月4日，本标准起草小组召开了第一次标准起草研讨会，形成了标准草案稿和标准验证工作安排。

在2022年5月12日，本标准起草小组召开了第二次标准起草研讨会，总结了当前的标准验证工作情况和对标准草案进行了修改完善，安排了进一步的标准验证工作。2022年6月27日，本标准起草小组召开了第三次标准起草研讨会，结合标准验证结果，形成了标准征求意见稿初稿。起草小组成员单位对标准征求意见稿初稿进行了审核和意见反馈，经讨论后对征求意见稿初稿进行了完善，在2022年8月19日形成了标准征求意见稿。

二、标准编制原则和确定标准主要内容的依据

（一）本标准制定背景

组织提取胶原蛋白的理化性能、生物学、免疫学或毒理学特性可能因来源和提取工艺而异。因为尚未完全了解胶原蛋白性质随来源材料和提取工艺的变化，因此需要充分研究不同来源和工艺制备的胶原蛋白的性质，并通过进行特定表征来比较不同的胶原蛋白材料。

同时，虽然胶原蛋白具有多功能性而在医疗领域中广泛应用，但是胶原蛋白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，规范胶原蛋白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，对于胶原蛋白研发生产、质量控制、检测评价以及技术审评都具有重要意义。

（二）本标准编制原则

本标准按照 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。坚持适用性和有效性为准

则，并结合当前行业发展现状与特点，提高标准贯彻实施的实用性和可操作性。

（三）本标准制定参考的主要依据

标准制定主要参考：《YY/T 0954-2015 无源外科植入物 I 型胶原蛋白植入剂》、《YY/T 1453-2016 组织工程医疗器械产品 I 型胶原蛋白表征方法》、《YY/T 1511-2017 胶原蛋白海绵》、《ASTM F3089-14 Standard guide for characterization and standardization of polymerizable collagen-based products and associated collagen-cell interactions》、《ASTM F2212-20 Standard Guide for Characterization of Type I Collagen as Starting Material for Surgical Implants and Substrates for Tissue Engineered Medical Products (TEMPs)》、《医用胶原类产品的表征和质量评价技术共识，中国药事，2019，33(11):1223-1234》等资料。

三、主要试验（或验证）的分析、综述报告，技术经济论证，预期的经济效果

1、红外分光光度法：按照《中华人民共和国药典》“红外分光光度法”测定，I 型胶原蛋白应具有图 1 所示的红外光谱特征峰：3488 cm^{-1} ~3188 cm^{-1} 、3102 cm^{-1} ~3062 cm^{-1} 、2985 cm^{-1} ~2915 cm^{-1} 、1667 cm^{-1} ~1627 cm^{-1} ，1548 cm^{-1} 、1452 cm^{-1} 、1402 cm^{-1} 、1338 cm^{-1} 、1238 cm^{-1} 。未给出范围的波数值，其变化值不应超过 0.5%。

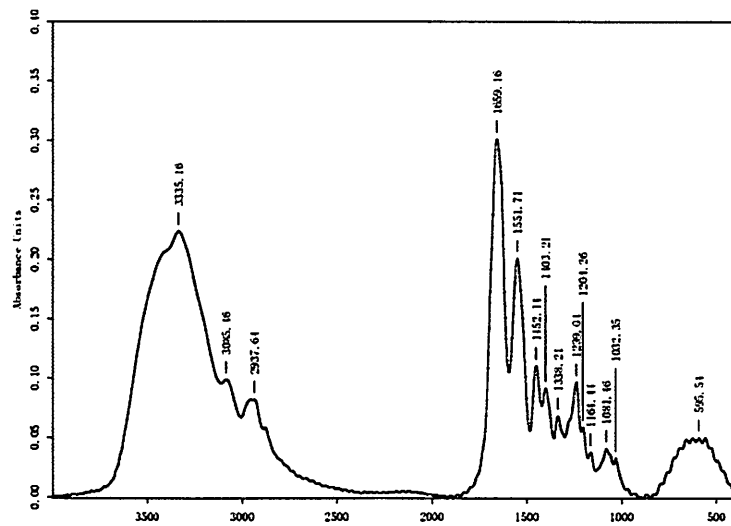


图1 牛 I 型胶原蛋白红外分光光度法谱图

2、拉曼光谱法：取供试品适量，按照《中华人民共和国药典》“拉曼光谱法”测定，I 型胶原蛋白应具有图 2 所示的拉曼光谱特征峰：
 856 cm^{-1} 、 876 cm^{-1} 、 922 cm^{-1} 、 938 cm^{-1} 、 1004 cm^{-1} 、 1033 cm^{-1} 、 1246 cm^{-1} 、 1271 cm^{-1} 、 1451 cm^{-1} 、 1668 cm^{-1} 。

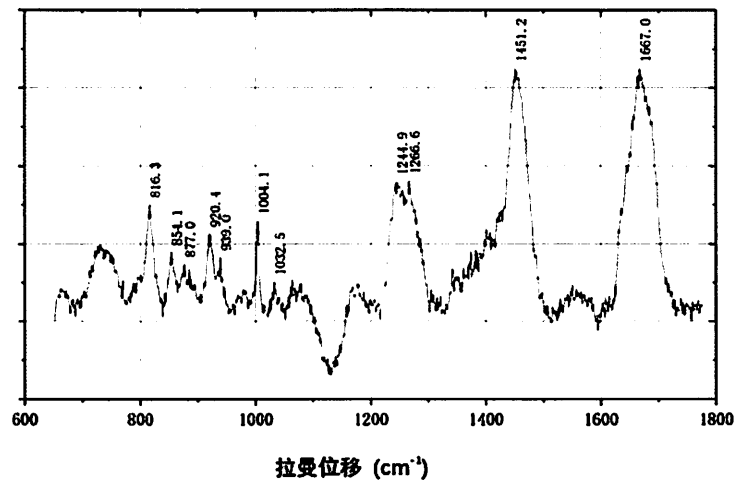


图 2 牛 I 型胶原蛋白拉曼光谱法谱图

3、圆二色(CD)光谱: 胶原蛋白供试品应在 221nm~222nm 出现正峰, 且在 195nm~220nm 出现负峰; 在 221nm 处正峰和 195 nm 处负峰的比值处于 0.09~0.15 之间。

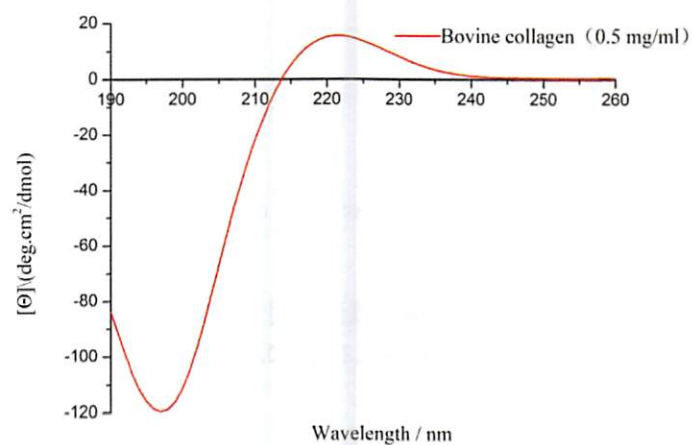


图 3 牛 I 型胶原蛋白圆二色谱图

$$R_{pn}=15.73/119.53=0.1316$$

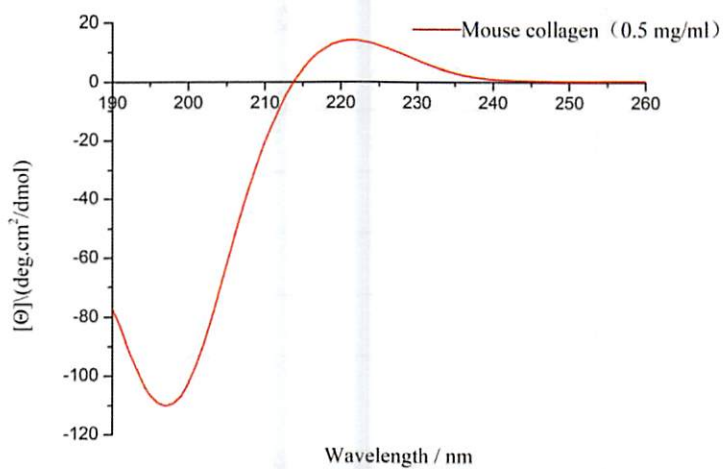


图 4 鼠 I 型胶原蛋白圆二色谱图

$$R_{pn}=14.18/110.01=0.1289$$

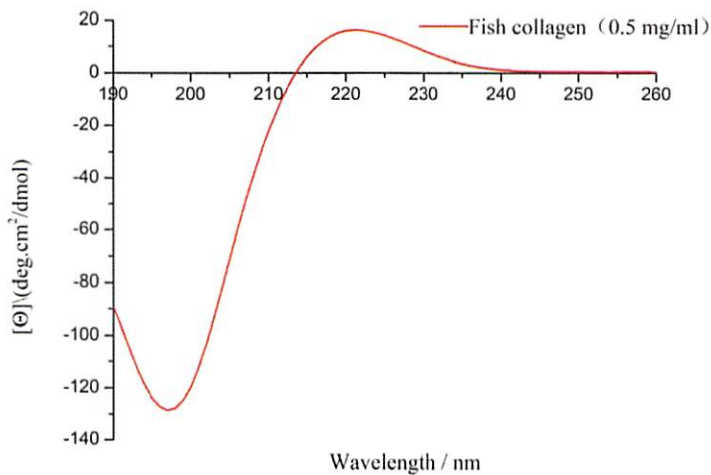


图 5 鱼 I 型胶原蛋白圆二色谱图
Rpn=16.24/128.67=0.1262

4、微量差示扫描量热法：牛、猪、大鼠 I 型胶原蛋白特征吸热峰应在（42±2）℃，罗非鱼 I 型胶原特征吸热峰应在（37±2）℃。

表 1 不同种属胶原蛋白变性温度 Tm

序号	种类	浓度 (mg/ml)	变性温度 Tm ℃	dH (kj/mol)
1	猪 I 型	0.562	41.79	1131.10
2	罗非鱼 I 型	0.514	36.76	1288.37
3	鼠 I 型	0.442	41.26	1621.73
4	牛 I 型	0.400	42.90	1517.09

5、胶原蛋白羟脯氨酸含量

表 2 不同种属胶原蛋白羟脯氨酸含量

种属	牛 I 型	猪 I 型	鼠 I 型	鱼 I 型
紫外分光光度法： 羟脯氨酸%	15.47	13.13	10.69	13.49
氨基酸分析仪法： 羟脯氨酸%	12.66	11.66	9.92	13.61

‘

表3 不同种属胶原蛋白动力黏度

样品名称	供试液 浓度	供试液 pH	粘度计型号	转子 型号	转速（转/ 分）	扭矩（%）	动力粘度 （mpa·s）
牛 I 型胶原蛋白冻干品	5mg/ml	3.55	NDJ-5S	3 号	12	43.3	4208
						40.6	3895
						42.9	4169
			Fungilab EVO series	R3	30	54.5	1807
						54.8	1818
						54.7	1815
猪 I 型胶原蛋白冻干品	5mg/ml	3.86	NDJ-5S	1 号	6	25.8	251
						25.5	247
						25.7	250
					12	46.0	223
						48.2	233
						46.7	226
			Fungilab EVO series	R2	60	24.7	163
						24.3	161.3
						24.6	163.5
					135	52.8	155.7
						52.8	155.8
						52.6	155.3
猪 I 型胶原蛋白冻干品	5mg/ml	3.88	NDJ-5S	1 号	6	21.5	209
						21.6	210
						22.0	213
					12	41.3	200
						43.2	209
						40.5	196
			Fungilab EVO series	R2	60	21.0	139.6
						20.8	138.3
						21.5	142.8
					135	48.7	143.7
						48.5	143.0
						49.1	144.9

7、胶原蛋白色氨酸含量

不同种属批次的胶原蛋白色氨酸含量分别为：125.7ug/g、155.2ug/g、96.9ug/g 等。

8、热稳定性

胶原蛋白冻干品样品 A、B、C 和 D 等样品在 50-56 °C 均有一个热吸收峰，该吸收峰值对应样品的解聚温度 (T_d) 表征其热稳定性。样品 A、B、C 和 D 的 T_d 值分别为 52.1 °C、55.8 °C、54.1 °C 和 54.6 °C。可以看到不同形态的样品 A 和 B 的 T_d 值具有较大差异，这可能是由于样品形态的不同影响了在 DSC 测定中样品间的传热，进而影响 T_d 值。样品 A 和 B 经压实剪碎再压实处理后得到的样品 C 和 D 的 T_d 值很相近，约为 54°C，这表明不同形态的胶原蛋白冻干品样品经压实剪碎再压实处理可以减小形态带来的热稳定性差异，得到稳定的热稳定性结果。

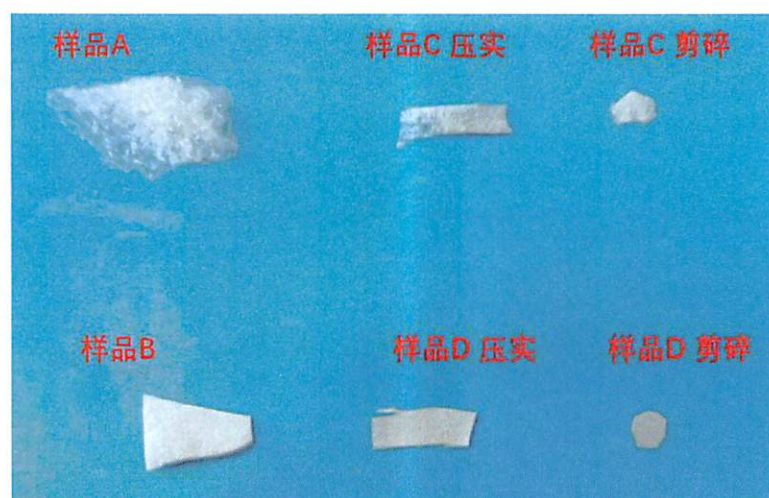


图 6 胶原蛋白冻干品样品 A、B、C 和 D 的形态

9、胶原蛋白自组装：根据供试液 OD 值随时间的变化曲线，供试品胶原具有自组装能力，呈现典型的 S 型。

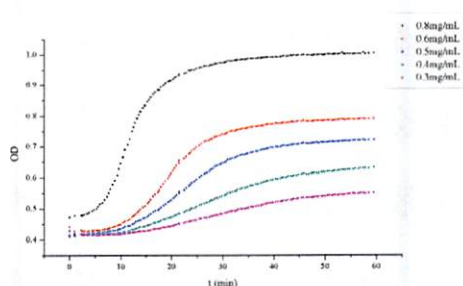


图 7 猪 I 型胶原蛋白 A 的 OD 值变化曲线

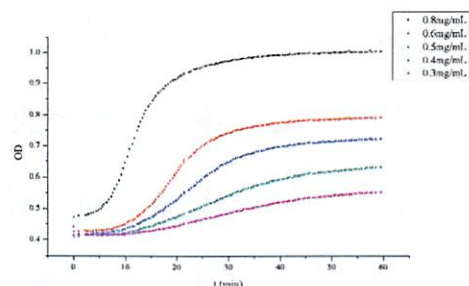


图 8 猪 I 型胶原蛋白 B 的 OD 值变化曲线

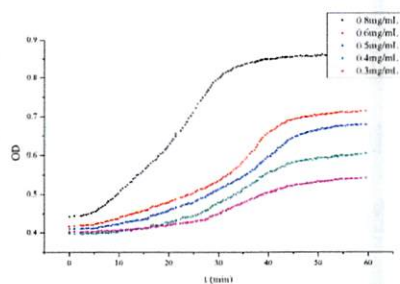


图 9 牛 I 型胶原蛋白的 OD 值变化曲线

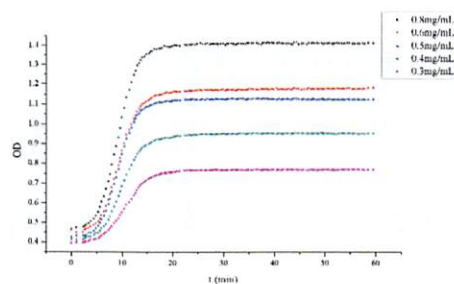


图 10 鱼 I 型胶原蛋白的 OD 值变化曲线

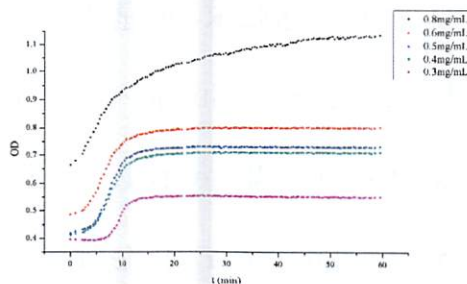


图 11 鼠 I 型胶原蛋白的 OD 值变化曲线

四、采用国际标准和国外先进标准的程度，以及与国际、国外同类标准水平的对比情况，或与测试的国外样品、样机的有关数据对比的情况。

《ASTM F3089-14 Standard guide for characterization and standardization of polymerizable collagen-based products and associated collagen-cell interactions》为以下方面的生产、表征、测试和标准化提供指导：(a) 胶原蛋白聚合物作为外科植入物的起始材料、组织工程医疗产品（TEMP）的基质、治疗细胞和分子的载

体以及用于基础研究的 3D 体外组织系统，药物开发和毒性试验；和

(b) 用胶原聚合物配方生产的自组装胶原基材料。本标准提出了外观、含量、粘度、纯度分析（其他型别胶原蛋白、弹性蛋白、糖胺多糖、非胶原的其他蛋白、脂质、核酸）、氨基酸分析（氨基酸序列分析、肽图）、碳水化合物分析、分子间交联分析、分子量、端肽完整性、螺旋结构、热变性温度、胰酶敏感性、杂质（重金属、内毒素、微生物负载）、添加物、聚合动力学分析、聚合性能、自组装纳米/微米结构、物质传输（可渗透性、扩散性）、力学/粘弹性能、胶原酶降解、热变性温度、胶原-细胞相互作用（包括细胞形态、增殖、凋亡、分化、迁移）等方面的指标要求，但基本未提供具体的检测方法。

《ASTM F2212-20 Standard Guide for Characterization of Type I Collagen as Starting Material for Surgical Implants and Substrates for Tissue Engineered Medical Products (TEMPs)》为作为外科植入物和组织工程医疗产品（TEMP）基质的 I 型胶原原材料的表征提供指导，列出了与胶原蛋白功能直接相关的物理和化学参数，包括外观、含量、纯度、氨基酸分析、肽图、杂质（重金属）、碳水化合物分析、胰酶敏感性、胶原酶降解、pH、添加物（交联剂）、热变性温度、粘度、透射电镜检测、SDS-PAGE、含水量、内毒素、微生物负载、其他类型胶原蛋白、DNA、脂质、天然胶原表征（胰酶敏感性、圆二色光谱）等指标要求，但基本未提供具体的检测方法。

五、与有关的现行法令、法规和强制性国家标准、行业标准的关系。

本标准按照《中华人民共和国标准化法》和相关法规的要求进行

编写，符合相关法律、法规。与已经发布的系列胶原蛋白行业标准之间存在互相补充的关系，与现有的强制性国家标准、行业标准不冲突。

六、重大分歧意见的处理经过和依据

本标准在起草过程中无重大分歧。

七、作为强制性行业标准或推荐性行业标准的建议。

本标准规定了胶原蛋白的检测指标和检测方法，由于胶原蛋白原材料的特定预期应用决定了对其功能性指标（包括物理、化学和生物学检测与评价的数据）的要求，因此建议本标准按推荐性标准实施。

八、贯彻行业标准的要求和措施建议（包括组织措施、技术措施、过渡办法等内容）

建议标准发布后实施前由技委会组织对标准内容进行宣贯。为了标准使用者更好的理解和应用本标准，建议本标准自发布之日起 12 个月后将开始实施。

九、废止现行有关标准的建议

本标准规定了胶原蛋白的检测指标和检测方法，《YY/T 1453-2016 组织工程医疗器械产品 I 型胶原蛋白表征方法》的相关技术条款（包括规范性附录）已经纳入本标准中，在本标准发布实施后，可适时废止 YY/T 1453-2016。

十、其他应予说明的事项

无。

全国外科植入物和矫形器械标准化技术委员会
组织工程医疗器械产品分技术委员会

2022 年 08 月