

团 体 标 准

T/CEAC 067—2024

重组弹性蛋白

Recombinant elastin

2024 - 11 - 05 发布

2024 - 12 - 01 实施

目 次

前言	II
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 术语和定义	1
4 原辅料要求	1
4.1 原料	1
4.2 辅料	2
5 生产工艺要求	2
5.1 生产工艺流程	2
5.2 工艺控制	2
5.3 安全与环保	2
6 技术要求	2
6.1 感官要求	3
6.2 理化指标	3
6.3 生物学功能	4
6.4 安全要求	4
6.5 稳定性	4
6.6 毒理学	5
7 标志、包装、运输和储存	5
7.1 标志	5
7.2 包装	5
7.3 运输	5
7.4 储存	5
参考文献	6

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。

本文件由芜湖英特菲尔生物制品产业研究院有限公司提出。

本文件由中国商业经济学会归口。

本文件起草单位：芜湖英特菲尔生物制品产业研究院有限公司、哈尔滨敷尔佳科技股份有限公司、西安德诺海思医疗科技有限公司、江苏创健医疗科技股份有限公司、陕西冠图生物科技有限公司、常州药物研究所有限公司、陕西慧康生物科技有限责任公司、四川百科美生物科技有限公司、百世美生物技术（浙江）有限公司、浙江诸暨聚源生物技术有限公司、营口营信生物研发有限公司。

本文件主要起草人：赵俊、李增、刘家炉、张立国、李健、张旭、周浩、侯增淼、李佳佳、王丽萍、李茂振、董昭锋、魏选明、耿文鑫、张锐、曹根霞、高恩、李晓颖、高海利、宋祥锐、范婷、李晓曦。

重组弹性蛋白

1 范围

本文件规定了重组弹性蛋白的原辅料要求、生产工艺要求、技术要求、标志、包装、运输和储存。本文件适用于化妆品用重组弹性蛋白的生产、检验和销售。

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 18278.1 医疗保健产品灭菌 湿热 第1部分：医疗器械灭菌过程的开发、确认和常规控制要求

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

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

YY/T 1805.2 组织工程医疗器械产品 胶原蛋白 第2部分：I型胶原蛋白分子量检测-十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳法

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

重组弹性蛋白 recombinant elastin-like polypeptide

通过基因工程技术，在体外合成的具有弹性蛋白生物活性的多肽或蛋白质。

3.2

基因工程技术 genetic engineering technology

一种利用分子生物学和基因学原理，通过体外DNA重组技术，对生物体的遗传物质进行改造和重组的技术。

3.3

生物活性 biological activity

指生物分子在生物体内或体外环境中，能够产生特定生物学效应的能力。

4 原辅料要求

4.1 原料

4.1.1 基因来源

应明确说明用于合成重组弹性蛋白的基因的来源，如特定的生物体、细胞系或基因库。保证基因来源的可靠性、稳定性和安全性。

4.1.2 表达系统

详细描述用于表达重组弹性蛋白的宿主细胞或系统，如大肠杆菌、酵母、哺乳动物细胞等。应提供表达系统的选择依据，确保其适用于重组弹性蛋白的高效、稳定表达。

4.1.3 培养基

对于使用细胞培养的表达系统，应明确培养基的成分、浓度和制备方法。培养基应满足细胞生长和重组蛋白表达的需求，并符合相关安全标准。

4.1.4 纯化材料

用于重组弹性蛋白纯化的试剂、色谱柱、滤膜等材料应明确列出。应保证纯化材料的质量和纯度，避免对重组弹性蛋白造成污染。

4.2 辅料

4.2.1 稳定剂

根据产品特性和稳定性要求，可添加适量的稳定剂。应明确稳定剂的种类、浓度和使用条件，确保其在产品中发挥稳定作用。

4.2.2 缓冲液

在产品的制备和储存过程中，若使用缓冲液来维持产品的稳定性和活性，应明确缓冲液的成分、pH值和离子强度等参数。

4.2.3 防腐剂

为防止产品在储存和运输过程中受到微生物污染，可添加适量的防腐剂。应选择符合安全标准的防腐剂，并明确其种类、浓度和使用条件。

4.2.4 其他辅料

根据产品特性和生产工艺的需要，可添加其他辅料，如抗氧化剂、表面活性剂等。应明确辅料的种类、浓度和使用条件，并确保其符合相关安全标准。

5 生产工艺要求

5.1 生产工艺流程

5.1.1 基因克隆与表达

设计并合成重组弹性蛋白基因的引物。通过PCR等技术从基因来源中扩增目标基因。将目标基因克隆到适当的表达载体中，并转化到宿主细胞中。在适当的条件下培养宿主细胞，诱导重组弹性蛋白的表达。

5.1.2 蛋白纯化

收集细胞培养物，通过离心、过滤等方式去除细胞碎片。使用纯化材料对重组弹性蛋白进行纯化，如色谱分离、超滤等。对纯化后的重组弹性蛋白进行质量检查，确保其符合标准。

5.1.3 后处理

根据需要对纯化后的重组弹性蛋白进行进一步的处理，如稳定化处理、浓度调整等。对处理后的重组弹性蛋白进行无菌包装和储存。

5.2 工艺控制

5.2.1 培养条件：明确培养过程中的温度、pH值、溶氧等参数的控制范围。

5.2.2 纯化条件：明确纯化过程中的流速、洗脱条件等参数的控制范围。

5.2.3 质量监控：在生产工艺的各个环节设立质量监控点，确保产品质量的一致性和稳定性。

5.3 安全与环保

5.3.1 生产过程中应严格遵守安全操作规程，确保人员和设备的安全。

5.3.2 采取必要的环保措施，减少废水、废气等的排放，确保生产过程符合环保要求。

6 技术要求

6.1 感官要求

无色至淡黄色粉末状、结晶体或液体，无异味，无正常视力可见外来异物。

6.2 理化指标

6.2.1 溶解性

应根据供试品的溶解特性，对供试品在水、稀酸或中性盐溶液中的溶解程度进行表征和阐述，溶解度应符合标示值。

6.2.2 粘度

供试品为液体和凝胶状态时应进行黏度测定，按照《中华人民共和国药典》“黏度测定法”中相应的方法测定。黏度值应符合所标示范围。

6.2.3 水分

固体样品应进行水分测定，标示水分含量。取供试品约1.0g~2.0g，按照《中华人民共和国药典》“水分测定法”第二法（烘干法）测定。或取供试品约10mg按照《中华人民共和国药典》“热分析法”热重法（TG）测定，升温程序：从室温以10℃/min速率升温至105℃，保持60min。减失重量应符合所标示范围。规定仲裁方法为水分测定法。

6.2.4 pH值

固体样品使用0.9%氯化钠溶液配制成1mg/mL的溶液，若使用其他溶剂溶解应明确说明使用溶剂及浓度，液体样品直接取样，按照《中华人民共和国药典》“pH值测定法”测定，pH值应符合所标示范围。

6.2.5 蛋白质含量

蛋白质含量应符合标示量的90%~110%。可按照以下方法之一进行：

- 按照《中华人民共和国药典》“蛋白质含量测定法”第一法（凯氏定氮法）测定；
注：关于凯氏定氮法计算蛋白质含量时的系数，需要根据理论氨基酸序列测算和验证予以确定。
- 按照《中华人民共和国药典》“蛋白质含量测定法”第三法（双缩脲法）测定；
- 按照《中华人民共和国药典》“蛋白质含量测定法”第四法（BCA法）测定。

6.2.6 鉴别

6.2.6.1 末端氨基酸序列

用氨基酸序列分析仪或质谱法测定N端和/或C端氨基酸序列，其结果应符合理论预测。

6.2.6.2 分子量

分子量按照以下方法进行测定：

- 参考 YY/T 1805.2 规定的方法进行试验，分子量应符合标示要求；
- 按照《中华人民共和国药典》“高效液相色谱法”进行分子量分析时，出峰保留时间应与定性参比品（经过飞行质谱鉴定过的重组弹性蛋白）保持一致；
- 按照《中华人民共和国药典》“质谱法”进行测定，其分子量应与理论分子量一致。

6.2.6.3 等电点

按照《中华人民共和国药典》“电泳法”的“等电聚焦电泳法”或“毛细管电泳法”测定，其等电点应在标识范围内。

6.2.7 蛋白纯度

6.2.7.1 电泳法

按照《中华人民共和国药典》“电泳法”的非还原性“SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳法”测定，纯度应符合标示要求。

6.2.7.2 高效液相色谱法

按照《中华人民共和国药典》“色谱法”的“分子排阻色谱法”测定，按面积归一化法计算纯度，其结果应符合标示要求。

注1：适用时，可采用反相高效液相色谱法。

注2：适用时，可采用样品图谱与参比品一致，或主峰保留时间与参比品主峰保留时间一致进行判断。

6.3 生物学功能

6.3.1 细胞黏附性

重组弹性蛋白应具有良好的细胞粘附性，能够促进细胞在材料表面的附着和生长。细胞贴壁情况可通过细胞贴壁率试验简单评价细胞黏附性。但是细胞黏附性还包括黏附强度（相对细胞黏附百分比），参照 YY/T 1849 中附录 B 或其他经验证的方法进行。

6.3.2 细胞增殖

用重组弹性蛋白包被细胞培养板或其他经验证的方法，采用合适的预期临床应用时可能接触的细胞（如皮肤成纤维细胞），接种密度在 50%左右，常规培养 2 天~3 天后检测细胞增殖情况，考察重组弹性蛋白包被梯度浓度的剂量-效应关系。具体检测方法可采用 MTT 法、CCK8 法等进行检测（按照试剂盒的操作说明进行）采用无重组弹性蛋白包被的细胞培养板作为对照，分析细胞增殖率。

6.3.3 细胞迁移

重组弹性蛋白用于组织修复与重建时，应有利于细胞的识别、移行，细胞移行试验按照 YY/T 1849 附录 C 或其他经验证的方法进行。

6.4 安全要求

6.4.1 污染物限量

应根据原材料来源、制备工艺对可能存在的污染物含量进行检测。按照《化妆品安全技术规范》“理化检验方法”中相应的方法测定。应对污染物限值进行规定。铅含量应不大于 10mg/kg；砷含量应不大于 2mg/kg；汞含量应不大于 1mg/kg；镉含量应不大于 5mg/kg。

6.4.2 微生物限量

若重组弹性蛋白以无菌方式提供，应按照 GB 18278.1、GB 18279.1、GB 18280.1 对灭菌过程进行确认和常规控制。按《中华人民共和国药典》“无菌检查法”进行无菌检测，结果应为无菌。

若重组弹性蛋白以非无菌方式提供按照《化妆品安全技术规范》中“微生物检验方法”测定，菌落总数应不大于 1000CFU/g。对于眼部化妆品、口唇化妆品及儿童化妆品的产品，菌落总数应不大于 500CFU/g。霉菌和酵母菌总数应不大于 100CFU/g。耐热大肠菌、金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌均不应检出。

6.4.3 细菌内毒素

按照《中华人民共和国药典》“细菌内毒素检查法”进行检测，应符合标示的规定限值。

6.4.4 添加剂

如果使用了防腐剂、冻干保护剂等添加剂，应给出其限量要求和检测方法。

6.4.5 其他风险物质

若在工艺过程中无法避免引入《化妆品安全技术规范》中规定的禁限用物质，国家有限量规定的应符合其规定；未规定限量的，应进行安全性风险评估，对于禁限用物质应给出限量要求和检测方法。

6.5 稳定性

重组弹性蛋白稳定性受多种因素影响，包括纯化工艺、微生物负载、包装贮存条件等。因此，应对其稳定性进行研究。

与稳定性相关的工艺验证宜采用连续三批次重组弹性蛋白进行。在相关工艺条件无变化时，每年宜进行至少一个批次产品的稳定性检验。在工艺条件有变化时，应考虑对重组弹性蛋白稳定性的影响，必要时进行再次验证。

6.6 毒理学

作为化妆品用原料，应按照《化妆品安全技术规范》规定的毒理学试验方法对重组弹性蛋白原料进行相应的试验，具体项目宜根据原料的用途及使用目的进行选择。

7 标志、包装、运输和储存

7.1 标志

产品包装上应标注产品名称、制造商名称、地址、生产日期或批号、保质期、储存条件、警告标志（若有必要）。

7.2 包装

包装材料应符合国家相关标准和规定，确保产品的安全性和稳定性。包装应具有良好的密封性和防潮性，以防止产品在储存和运输过程中受到污染或损坏。

7.3 运输

选择适当的运输方式，如冷藏运输、恒温运输等，以确保产品在运输过程中保持稳定的温度和湿度。在运输过程中，应确保包装完好无损，防止产品受到挤压、碰撞等物理损伤。

7.4 储存

产品应储存在干燥、阴凉、通风良好的环境中，避免阳光直射和高温。明确产品的储存期限，并在包装上标注。

参 考 文 献

- [1] YY/T 1849—2022 重组胶原蛋白
 - [2] 化妆品安全技术规范（2015年版）
 - [3] 中华人民共和国药典（2020年版）
-

全国团体标准信息平台