

ICS 点击此处添加 ICS 号

CCS 点击此处添加 CCS 号

团 体 标 准

T/CMBN XXXX—XXXX

人源重组角蛋白（生物基）功能性原料制备 技术规范

Technical Specification for the Preparation of Human Recombinant Keratin
(Biobased) Functional Ingredients

XXXX - XX - XX 发布

XXXX - XX - XX 实施

全国商报联合会 发布

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 基本要求	1
5 工艺要求	2
6 质量控制	3
7 试验方法	3
8 检验规则	4
9 标识、包装、运输、贮存	4

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 提出。

本文件由全国商报联合会归口。

本文件主要起草单位：

本文件主要起草人：

人源重组角蛋白（生物基）功能性原料制备技术规范

1 范围

本文件规定了人源重组角蛋白（生物基）功能性原料制备技术规范的术语和定义、基本要求、工艺要求、质量控制、试验方法、检验规则、标志、包装、运输、贮存和保质期。

本文件适用于人源重组角蛋白（生物基）功能性原料的制备。

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 5009.1 食品卫生检验方法 理化部分 总则

《中华人民共和国药典》（现行版）

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

人源重组角蛋白（生物基）功能性原料 Human-derived recombinant keratin (bio-based) functional raw material

通过基因工程技术，将人角蛋白目的基因导入适宜工程宿主细胞，经生物发酵、蛋白表达、分离纯化、复性精制等工艺制备，氨基酸序列与人天然角蛋白高度同源，具备生物相容性、保湿修护、结构稳定等特定功能，可直接作为功能性原料应用的重组蛋白制品。

3.2

宿主细胞 host cell

经鉴定、筛选及验证，无致病性、无外源病毒污染、遗传性状稳定，用于表达人源重组角蛋白的基因工程细胞，包括但不限于重组大肠杆菌、毕赤酵母、哺乳动物细胞等合规表达体系。

3.3

蛋白纯度 protein purity

人源重组角蛋白目标蛋白占总蛋白的质量分数，反映原料的精制程度与杂质去除水平。

4 基本要求

4.1 原料与菌种管理

4.1.1 角蛋白目的基因序列应与天然角蛋白对应序列一致性 $\geq 98\%$ ，无突变、无嵌合非人源序列，经序列验证及功能确认后方可用于构建工程菌。

4.1.2 工程宿主细胞及工程菌应建立完整菌种库，包括原始种子库、主种子库、工作种子库，逐级传代管控，每代均需进行遗传稳定性、纯度、外源因子检测，留存完整溯源记录。

4.1.3

4.1.4 生产用培养基、缓冲液、试剂等原辅材料，应符合食品级或医药级要求，不得添加违禁成分，每批次需检验合格后方可投入使用。

4.2 生产环境与设备

4.2.1 生产车间应按照生物制品生产规范布局，划分洁净区与非洁净区，洁净区环境控制应符合对应产品应用领域要求，定期进行环境微生物监测。

4.2.2 生产设备应专用、耐腐蚀、易清洁灭菌，发酵、纯化、除菌、冻干等关键设备需定期校验，具备完整运行参数记录，避免交叉污染。

4.2.3 生产全过程应执行批次管理，每批次产品对应唯一生产批号，全程可追溯。

4.3 人员要求

生产及质检人员应经专业培训合格，熟悉生物制品生产操作规范与质量管控要点，洁净区作业人员需符合健康及卫生管理要求，定期开展生物安全及标准规范培训。

5 工艺要求

5.1 工艺流程

工艺流程图见图1。

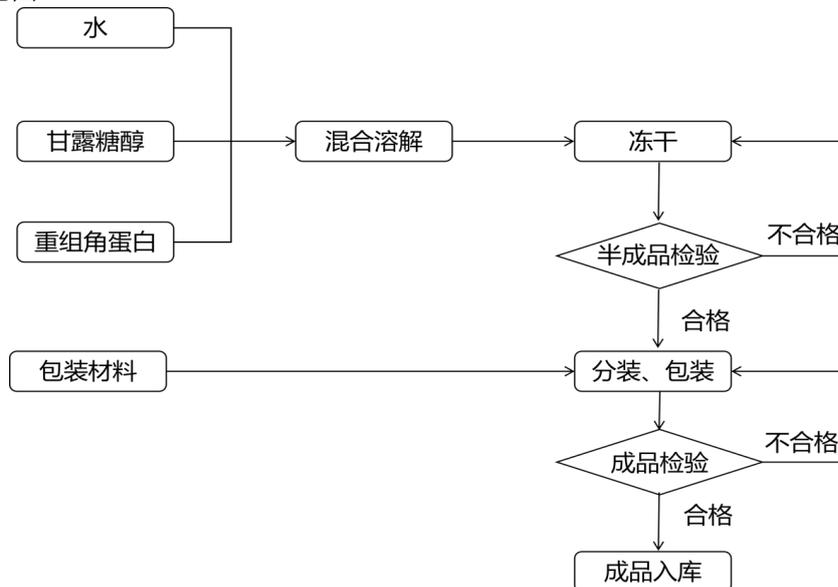


图1 工艺流程图

5.2 工程菌活化与发酵培养

5.2.1 取工作种子库工程菌，按既定工艺活化扩增，接种至发酵体系，严格控制发酵温度、pH、溶氧、搅拌转速、培养时间等参数，确保蛋白高效稳定表达。

5.2.2 发酵终止后，及时收集菌体，检测菌体浓度与目标蛋白表达量，合格后方可进入下游纯化工序。

5.3 菌体破碎与蛋白提取

采用高压均质、酶解或物理破碎等合规方法破碎菌体，释放目标蛋白；破碎后离心去除菌体碎片，收集含目标蛋白的粗提液，去除不溶性杂质，保证蛋白提取效率与完整性。

5.4 分离纯化与蛋白复性

5.4.1 采用亲和色谱、离子交换色谱、凝胶过滤色谱等联用工艺，逐级去除宿主蛋白、残留DNA、内毒素、培养基杂质等工艺相关杂质，实现目标蛋白高效纯化。

5.4.2 针对包涵体表达产物，按优化工艺进行变性、复性处理，恢复蛋白天然空间结构与生物活性，复性过程需监控蛋白结构稳定性。

5.4.3 纯化后蛋白溶液经超滤浓缩、除菌过滤处理，控制蛋白浓度与理化指标，得到蛋白原液。

5.5 精制与成品制备

蛋白原液按产品形态需求，可经冻干、喷雾干燥制成固体粉末，成品制备过程应无菌操作，避免二次污染，最终产品需符合质量控制指标要求。

5.6 工艺验证

生产工艺应经连续三批次验证，确认工艺稳定性、蛋白得率、纯度及杂质去除效果，关键工艺参数固化，工艺变更需重新验证并备案。

6 质量控制

6.1 感官要求

白色、类白色至淡绿色海绵状固体，有极轻微气味。

6.2 技术参数

技术参数见表1。

表 1 技术参数

项目	要求
蛋白含量	≥95%
蛋白纯度	≥95%
甘露糖醇	<5%
分子量	16 KDa~20 KDa
pH 值	5.5~8.0 (液态)
水分	≤10%
可溶性	>100 mg/ml;
内毒素	<0.05

6.3 卫生与杂质指标

卫生与杂质指标见表2。

表 2 卫生与杂质指标

项目	要求
甲醇	≤100mg/kg
二甘醇	≤30mg/kg
铅	≤1mg/kg
砷	≤0.1mg/kg
汞	≤0.1mg/kg
镉	≤0.1mg/kg
菌落总数	≤100cfu/g
霉菌和酵母菌总数	≤10cfu/g
耐热大肠菌群	不得检出
金黄色葡萄球菌	不得检出
铜绿假单胞菌	不得检出

6.4 功能性指标

应具备对应应用场景的核心功能，指标由供需双方约定，每批次需验证功能稳定性。

7 试验方法

7.1 感官检验

自然光下目视观察形态、色泽，嗅闻气味，核对有无杂质、沉淀、结块，记录结果。

7.2 理化指标检测

7.2.1 蛋白含量

按照《中华人民共和国药典》现行版蛋白含量测定方法（凯氏定氮法或考马斯亮蓝法）检测。

7.2.2 蛋白纯度

采用高效液相色谱法或SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳法检测，计算目标蛋白峰面积占比。

7.2.3 分子量

采用质谱法或SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳法，与标准品比对测定。

7.2.4 pH值

按GB/T 6682规定，用酸度计测定液态样品。

7.2.5 水分

按《中华人民共和国药典》现行版水分测定法检测。

7.3 卫生与杂质检测

- 宿主细胞蛋白残留：采用酶联免疫吸附法检测；
- 残留DNA：采用荧光定量PCR法检测；
- 内毒素：采用鲎试剂法检测；
- 微生物限度：按GB 5009.1及化妆品安全技术规范相关方法检测。

7.4 功能性检测

按双方约定的功能验证方法或行业通用方法检测，记录功能指标数值，判定是否符合要求。

8 检验规则

8.1 批次划分

同一生产周期、同一工艺、同一批次原料制得的均质产品为一个检验批次，每批次赋予唯一批号。

8.2 出厂检验

每批次产品需经出厂检验，检验项目包括感官、蛋白含量、蛋白纯度、pH值、微生物限度，合格后方可出厂，附产品检验合格证。

8.3 型式检验

正常生产每6个月或工艺、原料重大变更后，应进行型式检验，检验项目为本文件第5章全部指标，型式检验合格方可持续生产。

8.4 判定与复检

检验结果全部符合本文件要求，判定为合格；若有指标不合格，可从同批次产品中加倍抽样复检，复检仍不合格则判定该批次产品不合格，不得出厂。

9 标识、包装、运输、贮存

9.1 标识

产品外包装应标注产品名称、生产批号、生产日期、有效期、净含量、生产单位、执行标准号、贮存条件、警示说明等信息，标识清晰、牢固，符合GB/T 191要求。

9.2 包装

采用无菌、无异味、耐腐蚀、密封性良好的包装材料，固态产品真空或充惰性气体包装，液态产品无菌密封包装，防止破损、泄漏及污染。

9.3 运输

运输工具应清洁、干燥、避光，避免日晒、雨淋、剧烈震荡，严禁与有毒、有害、有异味物品混运；需低温保存产品，应采用冷链运输，温控符合产品要求。

9.4 贮存

固态产品应置于阴凉、干燥、避光、通风处贮存，温度 $\leq 25^{\circ}\text{C}$ ，相对湿度 $\leq 60\%$ ；液态产品建议 $2^{\circ}\text{C} \sim 8^{\circ}\text{C}$ 冷藏贮存，避免冻结；产品应离地、离墙存放，远离污染源，有效期按产品特性标定，一般不少于12个月。

9.5 保质期

在符合本文件规定在符合本文件规定的包装、运输、贮存条件下，产品自生产之日起， 8°C 以下保质期为24个月，常温状态保质期为12个月。