



中华人民共和国医药行业标准

YY/T 1805.3—2022

组织工程医疗器械产品 胶原蛋白 第3部分：基于特征多肽测定的胶原蛋白 含量检测 液相色谱-质谱法

Tissue engineering medical device products—Collagen protein—
Part 3: Quantification of collagen based on marker peptide detection—
Liquid chromatography-mass spectrometry

2022-01-13 发布

2022-08-01 实施

国家药品监督管理局 发布

目 次

前言	I
引言	II
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 术语和定义	1
4 概述	1
5 试剂及其配制	2
6 仪器和设备	3
7 检测方法	3
8 结果计算	5
附录 A (规范性) 牛 I 型胶原蛋白特征多肽含量检测	6
附录 B (规范性) 牛 II 型胶原蛋白特征多肽含量检测	9
附录 C (规范性) 猪 I 型胶原蛋白特征多肽含量检测	12
参考文献	15

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。

本文件是 YY/T 1805《组织工程医疗器械产品 胶原蛋白》的第 3 部分。YY/T 1805 已经发布了以下部分：

——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；

——第 3 部分：基于特征多肽测定的胶原蛋白含量检测 液相色谱-质谱法。

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。

本文件由国家药品监督管理局提出。

本文件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 (SAC/TC 110/SC 3) 归口。

本文件起草单位：中国科学院过程工程研究所、中国食品药品检定研究院、岛津企业管理(中国)有限公司、国科卓越(北京)医药科技研究有限公司。

本文件主要起草人：张贵锋、高建萍、张天宏、李晓东、冀峰、李敬来、范行良、冯倩倩、张乐、徐丽明。

引 言

用于组织工程医疗器械产品的胶原蛋白类材料包括组织提取的胶原蛋白和基因重组的胶原蛋白。胶原蛋白被广泛应用于各种医疗器械产品的研发和产品制备。胶原蛋白类材料具有不同的特性,如:分子量、纯度、种属、型别差异、三螺旋结构、细胞黏附特性等,这些性能直接关系到胶原蛋白的质量和性能。YY/T 1805《组织工程医疗器械产品 胶原蛋白》旨在建立胶原蛋白某些特殊性能的检测和表征方法,拟由4个部分构成。

- 第1部分:术语和定义。目的在于给出包括组织提取的胶原蛋白和基因重组胶原蛋白的各种术语和定义。
- 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。目的在于提供可用于胶原蛋白分子量检测的方法。
- 第3部分:基于特征多肽测定的胶原蛋白含量检测 液相色谱-质谱法。目的在于给出基于特征多肽定量测定,间接地反映胶原蛋白含量的液相色谱-质谱检测方法。该方法也可用于种属来源和型别的鉴别。
- 第4部分:胶原蛋白螺旋结构表征方法。目的在于建立不同参数和指标的胶原蛋白结构分析和三螺旋结构表征方法,用于评价其三螺旋结构的有无、相对含量及其完整性。

胶原蛋白含量的检测目前常用的有羟脯氨酸法,通过羟脯氨酸含量的检测来反映胶原蛋白含量。本文件给出的是基于合成特异性胶原蛋白特征多肽对照品,利用液相色谱-质谱法进行胶原蛋白特征多肽含量的测定,间接地反映胶原蛋白的含量。

组织工程医疗器械产品 胶原蛋白

第 3 部分:基于特征多肽测定的胶原蛋白 含量检测 液相色谱-质谱法

1 范围

本文件规定了用液相色谱-质谱法测定不同类型胶原蛋白特征多肽含量的方法。

本文件适用于组织提取纯化的胶原蛋白及其胶原类产品中不同类型胶原蛋白特征多肽含量的测定。

注:重组胶原蛋白、脱细胞基质经胶原蛋白提取后的样品可参考本方法进行相应的胶原蛋白特征多肽含量测定。

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 6682 分析实验室用水规格和试验方法

YY/T 1453 组织工程医疗器械产品 I 型胶原蛋白表征方法

中华人民共和国药典(2020 年版)

3 术语和定义

YY/T 1453 界定的术语和定义适用于本文件。

4 概述

将胶原蛋白试样溶解,加热变性后进行胰蛋白酶酶解,释放特征多肽;再用液相色谱-质谱法测定。以不同类型胶原蛋白特征多肽的保留时间和二级子离子碎片的质荷比进行定性和确证,用外标法或内标法进行定量。

用合成的不同类型胶原蛋白特征多肽作为标准品,实现外标法定量检测;用合成的相同特征多肽序列的同位素标记特征多肽与非同位素标记特征多肽按一定比例混合,实现内标法定量检测。同位素内标法有助于改善基质效应对测定准确性的干扰。

本文件以同位素内标法为例,分别给出牛 I 型、牛 II 型和猪 I 型胶原蛋白特征多肽含量检测的标准操作规程和要求。其中,牛 I 型胶原蛋白特征多肽含量检测按附录 A,牛 II 型胶原蛋白特征多肽含量检测按附录 B,猪 I 型胶原蛋白特征多肽含量检测按附录 C 进行测定。针对不同动物来源或不同型别的胶原蛋白,也可自行筛选合适的特征多肽经验证后进行定量检测。