

基于不同表达体系的重组胶原蛋白原料检查要点

(征求意见稿)

为规范和指导重组胶原蛋白原料生产、质量管理及现场检查工作，依据《医疗器械注册与备案管理办法》《医疗器械生产监督管理办法》《医疗器械生产质量管理规范》等要求，结合重组胶原蛋白原料技术特点及风险、生产工艺及质量控制要求制定本检查要点。

本检查要点是对用于医疗器械产品的重组胶原蛋白原料生产企业开展延伸检查的指导性要求，供检查员参考使用。医疗器械注册人在对重组胶原蛋白原料供应商审核采时可参考该要点对原料生产企业的物料控制、环境控制、生产过程管理和质量控制等方面重点关注。建议原料生产企业遵循该要点的要求建立质量管理体系并保持有效运行。

本检查要点是在现行法规、标准体系、当前科技认知水平和现有产品技术基础上形成的，随着法规和标准的不断完善、科学技术的不断发展，相关人员参考使用应注意其适宜性与充分性，密切关注适用标准及相关技术的最新进展，考虑原料体系及工艺的更新和变化。随着对该类产品理解的不断深入，本检查要点相关内容也将适时进行调整。

一、产品介绍

重组胶原蛋白是采用重组 DNA 技术，对编码所需人胶原蛋白质的基因进行遗传操作和（或）修饰，利用质粒或病毒载体将目的基因带入适当的宿主细胞（细菌、酵母或其他真核细胞等）中，表达并翻译成胶原蛋白或类似胶原蛋白的多肽，经过提取和纯化等步骤制备而成。

（一）重组胶原蛋白的分类

根据 2021 年 3 月 15 日国家药监局发布的《重组胶原蛋白生物材料命名指导原则》以及 2023 年 1 月 29 日国家药监局医疗器械标管中心会同器械审评中心对《重组胶原蛋白生物材料命名指导原则》的解读，重组胶原蛋白可分为三类，分别为重组人胶原蛋白、重组人源化胶原蛋白、重组类胶原蛋白。

“重组人胶原蛋白”是指由 DNA 重组技术制备的人胶原蛋白特定型别基因编码的全长氨基酸序列且具有三螺旋结构的重组胶原蛋白材料。

“重组人源化胶原蛋白”是指由 DNA 重组技术制备的人胶原蛋白特定型别基因编码的全长或部分氨基酸序列片段，或是含人胶原蛋白功能片段的组合。视其是否含有非人胶原蛋白氨基酸序列，可进一步分为 A 型和 B 型两种类型：A 型是指不含有非人胶原蛋白氨基酸序列的材料，

包括人胶原蛋白特定型别基因编码的全长氨基酸序列（不具有三螺旋结构），或者人胶原蛋白特定型别基因编码的部分氨基酸序列片段，或者人胶原蛋白功能片段的组合（其氨基酸序列中不含连接氨基酸、标签氨基酸等非人胶原蛋白氨基酸序列）；B型是指在人胶原蛋白功能片段组合基础上添加连接氨基酸、标签氨基酸等非人胶原蛋白氨基酸序列的材料。

“重组类胶原蛋白”是指由DNA重组技术制备的经设计、修饰后的特定基因编码的氨基酸序列或其片段，或是这类功能性氨基酸序列片段的组合。其基因编码序列或氨基酸序列与人胶原蛋白的基因编码序列或氨基酸序列同源性低。

（二）重组胶原蛋白型别和型式

根据主文档备案、专利等公开资料显示，常见的重组胶原蛋白型别主要为I型、II型、III型、IV型、V型、VII型、VIII型、XVII型等，型式包括溶液、凝胶、粉末、纤维、海绵等。

（三）重组胶原蛋白原料的预期用途

根据重组胶原蛋白的预期使用形式，可分为无源植入物、皮肤创面敷料等。其中，无源植入物又分为注射填充物、骨填充植入物、组织工程支架材料等。

重组胶原蛋白作为注射填充物注射至皮下或真皮层，可提供细胞黏附位点，支撑细胞与组织，增加组织体积，从而达到纠正皱纹的目的，用于填补凹陷和改善轮廓。目前，境内已有相关产品获批上市。

重组胶原蛋白作为骨填充植入物或组织工程支架材料，植入人体缺损部位后，主要通过支撑和填充作用，为病损组织和器官的修复提供良好的愈合环境。目前，境内尚无相关产品获批上市。

重组胶原蛋白作为止血和防粘连材料，可通过加速创面局部血液的凝固过程实现止血作用，同时能够有效隔离受损组织，达到防粘连的目的。目前，境内尚无相关产品获批上市。

重组胶原蛋白作为创面敷料，可在皮肤表面形成保护层，起到物理隔离和保湿作用，为创面愈合提供良好的微环境，从而促进创面愈合。目前，境内已有相关产品获批上市。

（四）重组胶原蛋白类医疗产品的管理类别

根据《重组胶原蛋白类医疗产品分类界定原则的通告》（2021年第27号），重组胶原蛋白类医疗产品，应当结合产品的材料特性、结构特征、预期用途、使用形式等综合判定产品管理类别。

1. 重组胶原蛋白类产品的管理类别应当不低于第二类。

2. 重组胶原蛋白类产品作为无源植入物应用时，应当按照第三类医疗器械管理。

3. 重组胶原蛋白类产品作为止血和防粘连材料应用时，若产品可部分或全部被人体吸收或者用于体内时，按照第三类医疗器械管理；若产品不可被人体吸收且仅用于体表时，按照第二类医疗器械管理。

4. 重组胶原蛋白类产品作为医用敷料应用时，若产品预期具有防组织或器官粘连功能，用于体内创面，或用于慢性创面，按照第三类医疗器械管理；若产品用于体表创面，或非慢性创面，按照第二类医疗器械管理。

二、重组胶原蛋白原料技术要求

(一) 相关法规、标准、指导性文件

1. 《重组胶原蛋白生物材料命名指导原则的通告》
(2021年第21号)

2. 《重组胶原蛋白类医疗产品分类界定原则的通告》
(2021年第27号)

3. 《整形美容用重组人源化胶原蛋白注射材料技术审评要点(试行)》(2022年第47号)

4. 《重组人源化胶原蛋白原材料评价指导原则》(2023

年第 16 号)

5.《重组胶原蛋白创面敷料注册审查指导原则》(2023 年第 16 号)

6.《医疗器械分类规则》(修订草案征求意见稿)

7.《YY/T 1849-2022 重组胶原蛋白》(2022 年 8 月 1 日实施)

8.《YY/T 1888-2023 重组人源化胶原蛋白》(2023 年 7 月 20 日实施)

9.《YY/T 1947-2025 重组胶原蛋白敷料》(2026 年 3 月 1 日实施)

10.《中华人民共和国药典》

(二) 原料主要技术指标

1. 依据《YY/T 1849-2022 重组胶原蛋白》《YY/T 1888-2023 重组人源化胶原蛋白》一般应关注理化项目、鉴别、纯度、杂质、污染物和添加剂、含量、结构表征等项目。

2. 根据不同的表达体系，大肠杆菌表达体系应重点关注：外源性 DNA、宿主蛋白、诱导剂、促炎性污染物、残余抗生素含量；酵母表达体系应重点关注外源性 DNA、宿主蛋白、诱导剂；CHO 表达体系应重点关注外源性病毒、外源性 DNA、宿主蛋白、诱导剂、促炎性污染物、残余抗

生素含量。

3.企业应结合表达体系特点、工艺要求，产品的使用形式、使用状态、接触部位等，从风险管理角度，确定需要控制的技术指标及控制方式，根据风险程度不同设置差异化指标，以保证原料安全。

(1) 预期用于植入、可吸收体内止血/防粘连、体内或慢性创面等医疗器械的原料，至少应当关注以下项目：

①理化项目：外观、可见异物、溶解性、水分、炽灼残渣、pH值、渗透压摩尔浓度、动力黏度、热稳定性、装量及其差异。

②鉴别：肽图、末端氨基酸序列、分子量、等电点。

③纯度：应≥95%。

④杂质、污染物和添加剂：外源性DNA残留量、大肠杆菌蛋白质残留量、酵母蛋白质残留量、CHO细胞蛋白质残留量、残余抗生素含量/活性、促炎性污染物（肽聚糖等）、重金属及微量元素含量、添加剂。相关指标应当符合产品技术要求或相关标准要求。

⑤含量

⑥结构表征：异质性分析、一级结构的表征、红外光谱、圆二色(CD)光谱、微量差热分析(DSC)、蛋白酶敏感性分析、脯氨酸羟基化分析、糖谱/糖基化修饰分析、拉曼光谱。

⑦生物学功能：细胞增殖、细胞分化、细胞黏附性、细胞的迁移或移行。

⑧无菌、细菌内毒素或热原、微生物限度。

(2) 预期用于体表且不可被人体吸收的止血防粘连材料、体表创面或非慢性创面敷料等医疗器械的原料，至少应当关注以下项目：

①理化项目：外观、可见异物、溶解性、水分、炽灼残渣、pH值、渗透压摩尔浓度、动力黏度、热稳定性、装量及其差异。

②鉴别：肽图、末端氨基酸序列、分子量、等电点。

③纯度

④杂质、污染物和添加剂：外源性DNA残留量、大肠杆菌蛋白质残留量、酵母蛋白质残留量、CHO细胞蛋白质残留量、残余抗生素含量/活性、重金属及微量元素含量、添加剂。

⑤含量

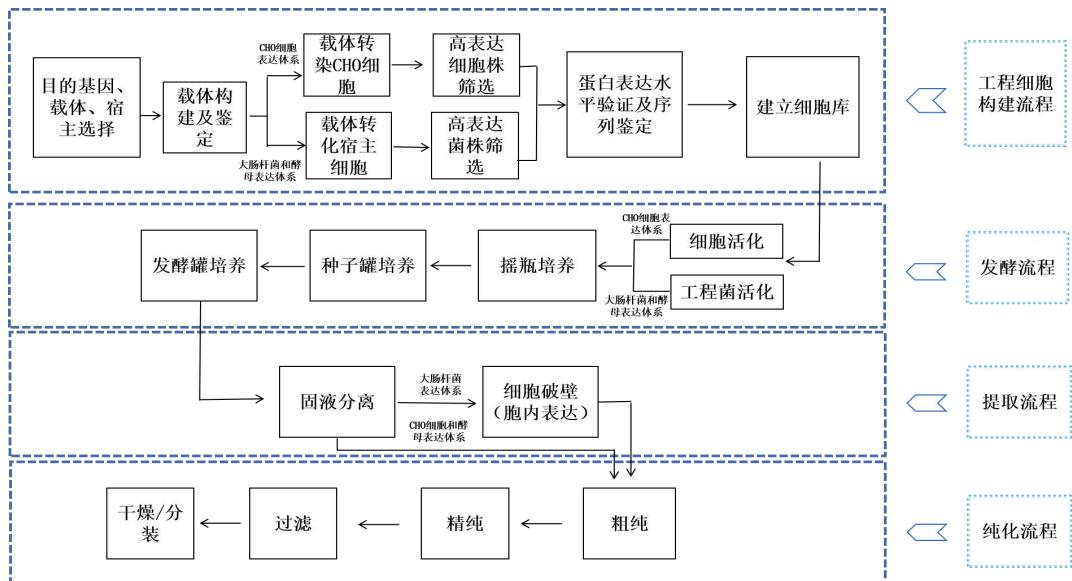
⑥无菌、微生物限度。

三、生产工艺和质量关键控制点

(一) 生产工艺

重组表达系统构建已应用多种表达系统，如大肠杆菌、酵母、动物细胞（如CHO细胞）、转基因动物和转基因植物等，

其中大肠杆菌表达、酵母表达、CHO 细胞表达为主要应用系统，生产工艺举例如下：



重组胶原蛋白原料生产过程主要分为工程细胞构建、发酵、提取和纯化四部分。

在工程细胞构建阶段首先进行重组胶原蛋白目的基因设计，表达载体及宿主细胞的筛选；将目的基因和表达载体通过酶切连接完成重组载体构建，并对构建的重组载体进行测序及酶切鉴定。将鉴定后的重组载体转化到相应的宿主细胞中，挑选阳性转化子确保目的基因在宿主细胞中高效和稳定表达。对工程细胞的蛋白表达量进行检测，序列进行鉴定，确保表达的重组胶原蛋白与设计一致，将经过鉴定的高表达工程细胞建立用于生产的细胞库。

在发酵阶段，先将细胞库中的工作细胞进行复苏，进行摇瓶培养和种子罐培养后进入发酵罐进行大规模表达培养，发酵

罐培养可采用分批发酵、补料分批发酵和连续发酵等方式。

提取阶段，采用膜分离及离心机对发酵液进行固液分离，如果是胞内表达的产物，需将固液分离后的细胞采用超声、高压匀浆等物理方法，或通过酶处理使细胞破裂后将目标蛋白释放出来，再将细胞碎片和目标蛋白进行分离。

纯化阶段粗纯包括盐析、吸附和膜分离等，精纯包括亲和层析、离子交换层析、疏水层析及凝胶过滤层析等方式。最终将纯化后得到符合纯度、杂质残留等要求的重组胶原蛋白溶液进行过滤和分装。

关键工序一般包括发酵培养、纯化精纯阶段的层析等；特殊过程一般包括培养基灭菌方式、纯化后蛋白的除/灭菌方式及效果。企业根据生产产品特点确定关键工序及特殊过程。

（二）生产质量管理关键控制点

1.工程细胞构建，应当关注生产用细胞的质量控制，包括细胞库的建立、管理、检定以及细胞的稳定性研究、生产过程中使用的细胞质量的控制要求。

2.发酵，应当关注发酵原料的控制、转罐（如适用）、诱导和终止培养（放罐）技术参数和发酵的工艺参数，包括培养基的灭菌参数、培养参数和主要质量控制指标，比如发酵液的 OD 值、湿菌重、pH 值、目标蛋白的分子量、蛋白表达量、质粒稳定性等。

3. 提取，应当关注细胞分离的条件和工艺参数，胞内表达体系（大肠杆菌）还需要关注细胞破壁的方式和工艺参数，以及离心或混合操作过程中采取的防止活性微生物扩散的隔离措施。设备的运行参数如转速、时间、温度等；分离参数如分离介质的材质、截留分子量、压力、温度、上样量、收率、料液比等。

4. 纯化，应当关注纯化工序环境控制要求，不同的纯化工艺路线、纯化方法和纯化工艺参数差别，纯化过程对于杂质的去除效率，比如目标蛋白收率、杂质去除率、目标蛋白纯度、层析介质清洁和再生效果等。

5. 杂质控制，应当关注：

(1) 生产过程中可能引入的工艺相关杂质，如宿主细胞蛋白、外源性 DNA，培养物（诱导剂、抗生素或其他培养基成分等），纯化等工艺产生的杂质（溶剂、载体、抗体等）。

(2) 环境污染杂质，包括细菌内毒素、可能携带的病毒和有害微生物、宿主细胞的污染。

(3) 材料相关杂质，应对肽链的截短或延长形式、修饰形式、聚合体、多聚体等分子变异体进行分离、鉴别和分析，如变异体的功能与目标产物一致时可不做杂质考虑。

6. 除/灭菌，应当关注除菌、灭菌方法与产品质量要求的适用性，采用除菌过滤的，应当重点关注过滤器管理要求、过滤

参数和滤膜完整性测试。采用其他方式除/灭菌的应当关注方法适用性，评估灭菌方法对重组胶原蛋白的影响并开展验证。

四、检查要点

(一) 质量保证与风险管理

1. (质量保证系统) 企业应当建立质量保证系统，制定符合产品质量管理要求的质量目标，建立完整的文件体系，配备足够的符合要求的人员、厂房设施和设备等资源，以保证系统有效运行。

(二) 机构与人员

1. (组织机构) 企业应当建立与产品生产相适应的组织机构，明确各部门的职责和权限。生产管理部门和质量管理部门负责人不得互相兼任。

2. (职责权限) 企业应当配备足够数量并具有相应资质的专业技术人员、专职检验人员、生产操作人员，应当明确规定每个岗位的职责。

3. (关键人员) 企业应当配备与生产产品相适应的关键岗位人员。关键岗位人员应当为企业的全职人员，至少应当包括企业负责人、管理者代表、生产管理负责人、质量管理负责人和产品放行审核人员等。关键岗位人员应当具有生产或者质量管理的实践经验，有能力对生产管理和质量管理中的实际问题做出正确的判断和处理。

管理者代表、生产管理负责人、质量管理负责人应当具有相应的专业知识（微生物学、生物学、免疫学、生物化学、化学工程、生物制品学、药学等），并同时具备三年以上生产或者质量管理经验。

4.（培训）应当加强对关键人员的培训和考核，从事重组胶原蛋白生产、质量保证、质量控制及其他相关人员（包括清洁、维修人员）均应当根据其生产的产品和所从事的生产操作进行法规、岗位职责、实际操作技能和安全防护要求的培训。

5.（健康管理）

（1）对从事影响产品质量工作的人员，企业应当根据产品特性对其进行健康管理，并建立健康档案。

（2）体检项目及频次应当满足企业实际需要并与产品风险相匹配。

（3）患有传染病、皮肤病以及皮肤有伤口者，对产品质量和安全性有潜在不利影响的人员，均不得进入生产区进行操作或质量检验。

6.（人员卫生）

（1）员工应当养成良好的卫生和健康习惯。

（2）避免直接接触原料、中间产品和成品。

（3）生产期间，未采用规定的去污染措施，不得从接触活有机体（种子培养区、发酵区、提取区）的区域穿越到纯化区、

分装区，或穿越至生产其他产品或处理不同有机体的区域中去。

(4) 员工穿着的工作服及其质量应当与生产操作的要求及操作区的洁净度级别相适应，必要时佩戴劳动保护用品，工作服、防护用品的清洗、处理、使用和存放方式应当能够保证其不携带有污染物，不会污染洁净区。

(5) 从事生产操作的人员应当与动物饲养人员分开，不得兼任（如适用）。

(三) 厂房与设施

1. (区域设置) 厂房设施应当根据所生产产品的特性、工艺流程及相应的洁净级别要求合理设计、布局和使用。生产区、生活区、行政区及辅助区布局应合理，生产区应有足够空间，有特殊管理要求的区域（如菌种培养、配液、发酵、提取、纯化、分装）应当确保其设置不会对产品质量产生影响，必要时应当进行验证。

2. (动物管理) 用于生产和质量控制的动物房、生产区应当各自分开。动物房的设计、建造及动物饲养、管理要求等，应当符合实验动物使用、伦理等管理相关规定。应当对生产及检验用动物的健康状况进行监控并有相应详细记录，内容至少包括动物来源、动物繁殖和饲养条件、动物健康情况等（如适用）。

3. (洁净室/区管理) 应当根据产品的质量要求确定在相应级别洁净区内进行生产操作，避免对原材料、中间产品和成品造成污染。

(1) 工作菌种的活化应当不低于 100,000 级洁净级别，且应当配备相应的防护设备（如生物安全柜）；

(2) 动物细胞表达体系（CHO）发酵应当不低于 10,000 级洁净度级别；

(3) 纯化区应当不低于 100,000 级洁净度级别，预期用于非终端灭菌植入类等风险等级高的医疗器械产品的原料纯化区应当不低于 10,000 级，若整个生产过程经管道输送至密闭容器中进行，洁净度级别可适当放宽至 100,000 级；

(4) 以无菌形式提供采用无菌操作技术加工的原料分装区应当不低于 10,000 级下的局部 100 级；以非无菌提供的原料分装区应当不低于 10,000 级。

(5) 预期用于中低风险医疗器械（如外用敷料等）的原料，其末道清洁处理、初包装、封口的生产区域应当不低于 100,000 级洁净度级别；

(6) 其他区域洁净级别应当结合产品工艺和生产操作要求设置，必要时应当进行验证。

4. (生产区控制)

(1) 未经批准的人员不得进入生产操作区。

(2) 应当根据产品特性和设备情况，采取相应的预防交叉污染措施，如使用专用厂房和设备、阶段性生产方式、使用密闭系统等。洁净室（区）内人流、物流应当合理，避免交叉往复。对生产过程中容易造成污染的物料应当设置专用出入口，最大限度地避免污染、交叉污染、混淆和差错。

(3) 相同洁净级别的不同功能区域（操作间），污染程度高的区域应当与其相邻区域保持适当的压差梯度，且保持相对负压状态。应当明确对不同洁净级别压差、监测频次的要求，并保存相关记录。

5. (生产区维护) 应当制定生产区、洁净室（区）的卫生管理要求，按照规定进行适当周期和频次的清洁处理和消毒，并保留记录。

6. (仓储区管理) 仓储区应当能够满足原材料、包装材料、成品等的贮存条件要求，按照区域进行合理存放。有毒、易燃、易爆和其他危险品的验收、贮存、管理等应当符合相关法规要求。

7. (检验区管理) 应当配备与产品生产规模、品种、检验要求相适应的检验场所和配套设施，留样产品的贮存条件应当与成品贮存要求一致。

8. (公用系统管理) 企业应当根据产品特性、生产操作要求及外部环境等配置空调净化系统、工艺用水系统、工艺用气

等系统，应当对相关设施进行验证并开展日常监测和维护，确保符合预期用途。

(1) (空气净化系统) 应当配备满足生产要求的空气净化系统。存在微生物和病原体污染风险的操作区空气不得循环使用，并进行相应的验证和风险评估。来自危险度为二类以上病原体操作区的空气应当通过除菌过滤器排放，滤器的性能应当定期检查。

预期用于植入类医疗器械产品的原料且采用无菌操作技术加工的原料分装区域应当单独配备空调系统。

(2) (工艺用水系统) 企业应当根据所生产的产品工艺及特性确定所使用的工艺用水的种类、用量及质量要求，配备工艺用水系统。重组胶原蛋白原料工艺用水至少应当符合纯化水质量标准。预期用于植入类医疗器械产品的、采用无菌操作技术加工的原料其工艺用水应当符合注射用水质量要求。

(3) (工艺用气系统) 应当配备满足生产要求的工艺用气系统，洁净区内使用的压缩空气等工艺用气均应当经过净化处理，与产品接触的工艺用气应当根据评价和验证结果明确控制措施。

(4) (纯蒸汽要求) 应当确保培养基灭菌、发酵、纯化等工艺操作及管路、设备、工器具消毒过程中使用的纯蒸汽质量满足法规和质量标准要求。

(5) (维护要求) 应当建立公用系统的检查、检修制度并保留相关记录。

9. (人员防护设施) 应当根据产品特性和工艺特点评估建立人员防护相关措施，配备污染、粉尘、噪声防护设施及装备。

(四) 设备

1. (生产设备) 企业应当配备与所生产产品和规模相匹配的生产设备和工艺装备，并确保有效运行。设备和仪器的设计、选型、安装、维护和维修应当符合预定用途，便于操作、清洁、维护。

2. (设备材质) 发酵、提取、纯化设备应当根据不同表达体系选择适宜的材质。与物料或产品直接接触的设备、工艺装备及管道表面应当光洁、平整、无颗粒物质脱落、无毒、耐腐蚀，不与物料或产品发生化学反应和粘连，易于清洁处理、消毒或灭菌。

3. (清洁和消毒) 企业应当结合产品特性、工艺特点和设备设施的使用情况等，对发酵、提取、纯化等工艺环节使用的关键设备定期进行清洁和消毒，清洁方法应当经过验证，证实其清洁效果，以有效防止污染和交叉污染。

管道系统、阀门、呼吸器、过滤器等应当便于清洁和灭菌，宜采用在线清洁、在线灭菌系统，清洁、灭菌方式、频次和完整性测试要求应明确，清洁和灭菌效果应当进行验证。

4. (维护和使用) 应当建立主要生产设备使用、清洁、维护和维修的操作规程，并保存相关记录，确保相关活动可追溯。设备和仪器经过改造或者重大维修的，应当进行再确认，符合要求后方可使用。

5. (检验设备) 应当配备满足原辅料、包装材料、中间产品及成品的检验需求的检验设备，主要检验设备和仪器应当具有明确的操作规程。

6. (检定和校准) 企业应当按照操作规程和校准、检定计划，定期对主要设备和仪器进行校准或者检定，校准的量程范围应当涵盖实际使用范围。企业应当配备适当的计量器具，计量器具的量程和精度应当满足使用要求，并标明校准或者检定有效期，应当保存校准和检定相应记录。

(五) 文件和数据管理

1. (体系要求) 企业应当建立与重组胶原蛋白原料生产相适应的质量管理体系，包括质量方针和质量目标、质量手册、程序文件、技术文件和记录，以及法规要求的其他文件。

技术文件应当包括产品技术要求、物料标准、生产工艺规程、作业指导书和检验规程等相关文件。

2. (数据记录) 数据记录应当确保产品设计开发、物料采购、生产、质量控制、产品放行等活动可追溯。

(1) 应当按照文件控制相关要求起草、审核、批准和分发

中间产品和原料生产相关的所有文件，包括但不限于研发历史文档、工艺放大、工艺验证、培训、生产和检验记录等，并明确其保存期限。

(2) 每一批中间产品和原料都应当有唯一的批号和相应的批生产记录，内容应当包括与生产过程控制有关的所有信息，包括但不限于生产日期、名称、型别、批号或者产品编号、主要设备、原材料和中间产品、关键工艺参数、必要工艺阶段或时间点的实际产量或收率、所有偏差及相关评估和调查记录、取样检验及放行记录、操作人员等。

(3) 检验记录应当包括规定标准全部检验的完整数据，包括但不限于样品信息、检验方法、检验用标准品/对照品、试剂和标准溶液制备、检验原始数据、检验结果、操作和复核人员、检验结果的超标调查记录（如适用）等。

(4) 采用信息化系统生成电子记录或者数据的，应当建立权限管理、数据更改和删除、数据查阅和备份的相关要求。

（六）设计开发

1. (总体要求) 企业应当建立设计和开发控制程序，对设计开发阶段进行划分，规定设计开发的策划、输入、输出、转换验证、确认、变更和评审等活动及相关文档控制要求，对产品的设计开发全过程实施策划和控制。

2. (策划) 在进行设计和开发策划时，应当确定设计和开

发的阶段及对各阶段的评审、验证、确认和设计转换等活动，应当识别和确定各个部门设计和开发的活动和接口，明确职责和分工。

产品设计方案至少应当包括表达体系、型别、结构、预期用途和功能、性能和安全要求及生产实现过程配套资源要求。

策划阶段应当输出项目策划书、项目计划书、风险管理计划、项目阶段及任务划分、职责权限及各阶段实施的结果和记录。

3.（输入）设计和开发输入应当清晰、完整并经过评审和批准，相关记录应保存。应当包括预期用途规定的功能、性能、安全以及法规要求、标准、风险管理控制措施等，包括但不限于以下内容：

（1）与产品相适应的法律法规、国家标准、行业标准等相关参考文件。

（2）用户需求，如结构、功能、性能、安全、稳定性等。

（3）产品型别、分子量范围、预期用途等产品性能和安全要求。

（4）前代或者同类产品的技术指标。

（5）风险管理计划及初始风险分析。

（6）其他相关要求。

4.（输出）设计和开发输出应当满足输入要求，应当进行

评审并得到批准，保持相关记录。应当包括采购、生产、检验、使用和服务所需的相关信息等，包括但不限于以下内容：

(1) 采购信息，如菌种、基因工程材料（质粒、工具酶、抗生素）、种子液制备与发酵培养基（碳源、氮源、无机盐、微量元素）、诱导剂（维生素、IPTG、甲醇）、细胞破碎用溶菌酶（如适用）、包涵体处理用变性剂、还原剂和复性缓冲液（如适用）、纯化层析介质与缓冲液、缓冲液与 pH 调节剂、转运和包装材料的技术规格要求。

(2) 生产和服务所需信息，如所用物料信息、生产场所和设备、生产工艺信息（配方、规程）、工艺流程图及关键控制点、环境要求等。

(3) 质量标准，应基于风险，根据原料预期应用场景和法规要求制定成品、中间产品质量标准。成品质量标准至少应包含理化性能、鉴别、纯度、杂质、污染物和添加剂、含量，以及上述性能指标的检验方法等。

(4) 产品检验规程（包含进货检验规范、过程检验规范、中间产品、成品检验规范）或检验作业指导书。

(5) 产品使用说明书、包装和标签要求等。

(6) 标识和可追溯性要求。

(7) 研究资料，包括原材料评价研究，如材料性能、生物相容性、免疫学等；产品实现相关研究，如生产工艺、关键工序和

特殊过程、除/灭菌方法、包装及运输、有效期等。

(8) 检验报告、安全有效基本要求等。

5. (转换) 企业应当在设计和开发过程中开展设计和开发到生产的转换活动，以使设计和开发的输出在成为最终产品规范前得以验证，确保设计和开发输出适用于生产。至少应当包括设计输出后到最终产品规范前的试产、转产、批量放大验证；关键工序、特殊过程的识别、验证与确认；厂房设施、设备的验证与确认；包装/储存/运输/防护作业要求等。

6. (评审) 企业应当在设计和开发的适宜阶段安排充分、适宜、准确、完整的阶段评审，并保持评审结果及任何必要措施的记录。

7. (验证确认) 企业应当基于风险评估结果来确定需要进行验证或者确认的工作范围和程度，并确保有关操作的关键要素能够得到有效控制。应当保持验证、确认结果和相关记录，确保产品满足规定的使用或者预期用途的要求。包括但不限于以下内容：

(1) 原料性能确认，包括但不限于氨基酸序列、氨基酸组成、分子量、三螺旋结构（如适用）、含量、纯度、理化指标、热稳定性、降解特性及产物等。

(2) 根据原料预期使用场景开展免疫学安全性确认，包括临床免疫应答、免疫原性、免疫毒理学等。

(3) 生物学风险评价，根据原料预期使用场景确定生物学评价内容及项目，主要包括：细胞毒性、致敏性、皮肤刺激、皮内反应、植入反应、材料介导的致热性、溶血、全身毒性、遗传毒性等。

(4) 根据原料预期使用场景开展有效性/功能性研究及验证，如细胞的增殖、迁移或粘附等。

(5) 杂质谱研究及清除验证，工艺相关杂质，如宿主细胞蛋白残留量、外源性 DNA 残留量、细菌内毒素、培养基成分残留（如抗生素残留）；产品相关杂质，如聚合体、降解片段、错误折叠的蛋白等；外来杂质，如 CHO 表达体系病毒的清除/灭活验证等。

(6) 细胞库建立与检定。微生物表达体系包括但不限于细胞形态学鉴定、目的基因、表达框架分析、表达产物检测、污染检测；CHO 表达体系包括但不限于无菌检查、支原体检查、内外源病毒因子、遗传稳定性等。

(7) 除/灭菌方法适用性、包装材料及方式适用性、储存运输条件及要求、货架有效期确认等。

8. (变更管理) 企业应当建立变更控制程序，根据变更可能对产品质量可控性影响的风险程度，对变更进行相应的评审、评估、验证和确认，并在实施前得到批准。

企业应当充分识别和评估基因序列表达载体、主要原材料、

层析填料、生产工艺、主要生产设备、生产环境、检验方法等发生变化可能对产品质量可控性影响的风险程度，并按照程序要求开展相关验证和确认，保存相关记录，并告知利益相关方。包括但不限于以下内容：

(1) 细胞基地层面的变更，如更换新的主细胞库；宿主/表达系统变更（如大肠杆菌变更为毕赤酵母，从一种宿主细胞变为另外一种宿主细胞）；编码序列的优化等。

(2) 关键工艺参数的变更，如 pH、诱导时间或溶氧水平、变更补料策略、培养温度、提取时间、培养周期；纯化工艺变更（增加、减少或替换层析步骤），CHO 表达体系病毒清除/灭活步骤；原液/制剂处方的变更，如变更缓冲液、冻干保护剂或防腐剂。

(3) 生产批量的变更。

(4) 物料变更，关键发酵物料的变更（如碳源、氮源等关键物料）；培养基、培养液的变更；关键纯化物料的变更（变更层析填料品牌或型号，CHO 表达体系病毒过滤器的变更）。

(5) 生产设备变化，发酵罐、提取罐、分离和纯化等设备变更和重大维修、升级。

(6) 生产环境变更。

(7) 检验方法及质量标准变更等。

(七) 采购与物料管理

1.（总体要求）企业应当建立采购管理程序，确保采购的原材料或者服务符合规定要求，且不低于法律法规和强制性标准的相关要求。

2.（采购信息）企业应当建立主要原材料质量标准和采购要求，各类原材料的质量标准应当符合有关规定，并能满足目标蛋白的预期用途。原材料包括但不限于委托合成的基因片段、工程菌（如适用）、培养基、辅料、助剂、包装材料等。如确需使用动物源性添加成分，需阐明选择的理由，并说明该成分的来源和病毒安全性的控制方法。

3.（初包装材料）初包装材料的选择应当与重组胶原蛋白产品特性要求相适应。应当根据产品质量要求确定所采购初包装材料的初始污染菌和微粒污染可接受水平，并形成文件，按照文件要求对采购的初包装材料进行检验或验收，并保持相关记录。

4.（采购记录）应当建立和保持采购记录，包括采购合同、原材料清单、供应商资质证明文件、检验报告等，采购记录应当真实、准确、完整和可追溯。

（1）用于构建重组工程细胞的宿主细胞、目的基因来源应清晰，并保留构建过程资料和记录，包括但不限于基因选择和鉴定、宿主细胞检测和鉴定、表达载体组成、质粒检测、工程细胞的筛选、鉴别和确认等记录。动物细胞的培养历史应可溯

源。

(2) 企业委托第三方开展工程细胞构建的，应保留细胞的检定相关资料，检定资料包含对目的产物表达水平的定量分析、结构正确性的检定方法及结果、生物活性的检测依据及验证数据等，确保工程细胞能够稳定、高效地表达结构正确且具有生物活性的目的产物。

5. (采购验收) 企业应当建立原材料进货验收制度，对采购原材料进行检查、检验或者验证，确保满足要求。

6. (供应商管理) 企业应当建立包括供应商的分类、准入评价、定期审核等内容在内的供应商管理制度，并与主要原材料供应商、服务供应商签订质量协议并按要求保持质量档案。

(八) 验证与确认

1. (总体要求) 企业应当基于风险评估和质量回顾分析等因素确定验证、确认、再验证、再确认的范围、程度和开展时机、周期。

2. (验证或确认的范围) 企业应当通过验证和确认确保厂房、设施、设备、生产工艺、操作规程、检验方法以及生产过程中的关键因素得到有效控制，包括但不限于：

(1) 厂房、设施、设备和仪器的设计、安装、运行确认，经过厂房改造、设施设备重大维修和改造后应进行再确认。

(2) 工艺参数验证，应当证明生产过程按照规定的工艺参

数能够持续生产出符合预定用途和产品质量标准的产品。至少应当包括生产工艺的一致性、关键工艺参数、产品质量符合性和均一性等。

(3) 关键工序（如发酵、精纯、冻干）、特殊过程（如培养基灭菌、除菌过滤），应能证明能够持续、稳定生产出符合预定用途和质量标准要求的产品。

(4) 清洁方法、效果验证，如发酵罐、提取分离及纯化设备、管道系统、阀门、呼吸器、过滤器等。

(5) 关键设施设备、原材料、生产工艺、生产环境等影响产品质量因素变更验证。

(6) 生产、检验过程中采用的对产品质量有影响的计算机软件确认。

(7) 灭菌方法验证和确认，生产过程中设备、管道、设施灭菌、中间产品灭菌（如有）、终产品灭菌。若采用无菌加工技术保证产品无菌的，应开展过程模拟试验。

(8) 检验方法（如分子量、纯度、含量、无菌、细菌内毒素或微生物限度等）。检验方法的制定应当与相应的性能指标相适应，优先考虑采用已颁布的标准检验方法或者公认的检验方法。检验方法应当进行验证或者确认，验证或者确认需根据检测项目类型（鉴别、杂质检查、定量测定等）确定重点，包括

但不限于专属性、线性与范围、准确度、精密度、检测限或定量限、耐用性、系统适用性。

3. (记录要求) 验证或确认的实施应当符合企业质量管理文件要求，并保留计划、方案、过程记录和报告等原始记录文件。

(九) 生产管理

1. (总体要求) 企业应当建立生产过程控制程序，明确操作人员、生产设备、原材料和中间产品、生产工艺和操作规程、生产环境、过程检验或者监控等要求，并按要求组织生产。

2. (批生产记录) 应当建立从原料投入到产品出厂过程的批生产记录，并满足可追溯要求。每批中间产品和成品都应有相应的批生产记录，其内容应当包括生产和过程控制的完整信息。至少包括产品名称（表达体系）、原材料批号（菌种批号）、生产批号、生产日期、数量、主要设备、工艺参数、操作人员、物料（原料、中间产品、包装材料）、取样、监测和检测、物料平衡和偏差、放行等。应当对生产过程中关键工艺（如发酵、纯化等工艺）的相关参数进行监控，监控数据应当纳入批生产记录。

3. (污染控制) 应当建立产品的微生物控制策略，至少应包含工艺用水、工艺用气、原材料、生产过程控制与监测、膜工艺使用（如超滤、除菌膜等）、生产环境、中间产品的储存

和转运（如温度、时间、容器等）、成品的包装和储存条件、设备的清洗和消毒、人员卫生管理等。

4.（偏差管理）企业应当建立偏差控制程序，任何偏离生产工艺、收率、质量标准、检验方法、操作规程的偏差，均应按照程序要求进行识别、报告、记录、评估调查、处理以及采取纠正预防措施，并保持相关记录。

5.（批号管理）应当建立批号管理文件，需明确原材料批、生产批、除/灭菌批、中间产品批、成品等批号的编写方法，规定生产批和灭菌批组批方法，并明确生产批号和灭菌批号的关系，生产批的划分应科学合理，保证产品实现全过程的可追溯。

企业应对发酵批次做出规定，提取、纯化等工序与发酵批之间应有清晰的对应关系，并能满足追溯要求。

6.（清场管理）企业应当按照产品特性和生产实际建立清场管理制度，防止生产涉及的物料和产品的污染与混用、相关文件误用。下次生产开始前，企业应当对前次清场情况进行确认。清场记录和确认应当纳入批生产记录。

7.（返工管理）应当结合产品特点建立返工控制程序。不合格品可以返工的（如层析工序），企业应当编制返工控制文件，识别关键质量控制点，确定关键工艺参数，中间产品检测点，返工后产品按原检验标准或更高的标准进行成品检验。不能返工的，应当建立相关处置制度。

应当对返工带来的风险进行充分评估。

8. (共线生产) 应当避免同一生产车间、生产线或者生产设备内进行不同体系的菌种培养、发酵操作。如共线生产时，企业应当基于产品质量风险管理原则，对设备、容器、管路等进行清洁和验证，并开展共线风险评估，防止可能产生的物料或者产品混淆、交叉污染、工艺参数误用等风险。

9. 细胞库的管理

(1) 细胞库系统。应当建立生产和检定用细胞库（至少应当包括主细胞库和工作细胞库）。

企业应建立细胞库管理制度，内容应当涵盖细胞库建立、管理、检定、稳定性研究、生产过程细胞质量控制、风险评估与控制等。

企业应基于细胞的稳定性研究对生产用细胞的最高限定代次做出明确规定，确保在限定代次内细胞的增殖能力、胶原蛋白表达量、基因序列和翻译后修饰等关键质量特性保持稳定。

(2) 细胞库检定。各级种子库的细胞需经过全面检定后方可使用，项目一般包括细胞鉴别、纯度（无菌和外源因子）和细胞基质特性（如适用）特性和表达稳定性。

(3) 细胞库管理。应当参照《中华人民共和国药典》的要求，结合产品和企业管理实际，明确细胞库细胞的建立、启用、保藏（温度、时间）、使用、转移、销毁等管理要求，并建立

专账、专册管理。

(4) 应当在受控环境下建立种子批和细胞库；操作人员不得在同一区域同时处理不同活性或具有传染性的物料。

(5) 主细胞库必须在物理隔离的异地场所进行备份，主细胞和工作细胞应分开存放，贮存条件应一致。

(6) 细胞的保存和贮藏条件应当满足规定要求，贮存设施应确保持续正常运行，具备报警、温度在线监测等功能，配备双路电源或者 UPS 等设施，并建立相应记录。

(7) 细胞库应当由专人负责管理，进入细胞库的人员应当经授权。在指定人员的监督下，经批准的人员才能进行种子批和细胞库操作。未经批准，不得接触种子批和细胞库。

(8) 应当建立细胞的制备、冻存和复苏规程，建立专账，记录冻存管编号、位置、制备日期、取用情况等。

细胞库取用遵循先进先出原则，移出使用的细胞无论开瓶与否，均不得再返回细胞库。

(9) 应当定期对细胞库进行质量跟踪检测，包括杂菌、表达产物、生长特性、纯度等项目，以确定其适用性；必要时进行鉴别（包括表型和基因型的分析鉴别）。

(10) 任何涉及细胞基质、培养条件或细胞库系统的变更（如更换血清、冻存液配方、场地转移）均应进行全面风险评估并按照变更控制要求实施管控。

10. 种子培养

(1) 应当规定种子批最大的传代次数，并经过验证，至少包括基因水平的比较、目的产物表达水平的比较、细胞自身的稳定性，工程细胞为动物细胞的，还应包括病毒因子检查、致瘤性监测等，以确保实际生产过程中细胞整体扩增水平以及伴随的内源性病毒和/或致瘤性风险等的抑制状态在预期限度范围内。

(2) 操作人员在接种时应正确着装并采取相应的预防措施防止污染。

(3) 用于种子培养的培养基应当进行湿热灭菌或其他方式除/灭菌，除/灭菌的方法和效果应得到验证和确认。

(4) 应当关注种子培养工艺的运行参数（如温度、pH 值、培养基装量、振荡培养速度、培养周期等），并确定培养终点的种子浓度、种子状态，保障纯种发酵。

(5) 种子罐进料、出料、取样时，应当检查并确保管路连接正确，取样在控制条件下进行，在进料、出料及取样结束后应对进料口、出料口、取样口进行清洁灭菌，确保不会发生污染和差错。

11. 发酵

(1) 应当确保发酵接种前所有与物料接触的管道、阀组、罐体和培养基等均采用适宜的方式进行灭菌或除菌，灭菌或除

菌效果应得到确认。培养基宜在线灭菌。向发酵罐或反应罐中通气以及添加培养基、酸、碱、消泡剂等成分所使用的过滤器宜在线灭菌（一次性使用耗材除外）。

（2）应当关注发酵工艺参数（如温度、pH值、搅拌速度、空气流量、压力、溶氧等）和控制因素（如碳、氮和其他关键元素），并对运行和控制的关键因素进行有效识别，必要时应对关键因素进行验证。

（3）若采用连续发酵培养方式进行生产的，应对连续发酵循环次数、循环比例进行控制。另外要保证菌种长时间的生产活性，需确定相应的工艺控制参数和中间关键指标，以确保规定循环次数内的“稳态”下批的质量稳定性，结合控制指标和染菌风险等因素综合评估确认。

企业应通过验证连续发酵的最大循环次数或者连续发酵的最长时间来确定生产批。

（4）向发酵罐或其他容器中加料时，应当检查并确保管路连接正确，敞口操作应有保护措施，确保不会发生污染和差错。

（5）应当明确发酵过程取样的时间节点、取样方法、取样量、取样的详细操作等，同时应采取措施防范取样操作对发酵液的污染，如取样前后对取样口及取样管路进行蒸汽灭菌、罐体正压取样等措施来保证纯种发酵。

（6）应当明确规定发酵终点，控制参数如生产时长、诱导

时长、菌体密度等。

(7) 应当建立发酵工序染菌控制制度及发酵异常批次处理制度，以确保发酵染菌现象能得到有效地确认、调查、评估和处理。发酵失败时对废弃物应进行湿热灭菌或其他方式灭活后处理，避免对环境造成污染。应当保持发酵染菌事件和发酵异常批次处理的所有文件与记录。

12. 提取

(1) 应当关注细胞分离的条件、工艺参数和收率。如采用离心方法应当明确设备运行参数，关注转速、时间、温度等；采用膜分离方式应当关注分离介质的材质、截留分子量、压力、温度等。采用凝胶过滤方法应关注上样量、收率、料液比等相关参数。必要时工艺参数应经过验证。

(2) 胞内表达体系（大肠杆菌）需要关注细胞破壁的方式和工艺参数，必要时对工艺参数进行验证。

(3) 应当对产品的离心或混合操作采取防护措施，防止操作过程中产生的悬浮微粒导致活性微生物扩散。

13. 纯化

(1) 应当关注纯化的方法、工艺参数和收率。如采用膜过滤（微滤或超滤等）应关注膜材质、膜规格及系统运行参数，并对膜进行完整性检测，明确过滤终点。如采用层析介质纯化应充分考虑层析参数的选择和层析介质对胶原蛋白材料的质量

影响，关注平衡体系、分离体系配比等。如采用沉淀法时应对乙醇等试剂质量进行控制，关注胶原浓度、温度、pH值、离子强度、处理时间等。纯化工艺和工艺参数应进行验证和确认。

(2) 应当关注纯化过程对于生产中引入的工艺杂质质控指标，质控项目包括目标蛋白收率、杂质残留、胶原浓度、纯度等。

(3) 应当根据产品的质量要求建立内毒素控制要求，包括与物料接触的所有工器具、设备、注射用水、工艺用气及洁净区生产环境等。

(4) 采用层析介质纯化的应当明确规定层析分离柱的清洁或消毒方法，并开展必要的验证和确认。不同表达体系的纯化应当分别使用专用的层析介质。不同批次之间，应当对层析分离柱进行清洁或消毒。不得将同一层析分离介质用于生产的不同阶段。应当采取适宜的方式对填料的稳定性进行持续的评估和确认。

(5) 应当关注纯化工序环境控制要求，并开展必要的验证、确认、监测检测并保持相关记录。

14.除/灭菌

(1) 采用过滤的方法进行除菌的，应当明确除菌滤膜材质、膜规格及系统运行参数，滤膜使用前及使用后，应采取适当的方法立即对其完整性进行检测，同一规格和型号的除菌过滤器

使用期限应有规定。除菌过滤的工艺及控制方式应经过验证和确认，并保持相关记录。

(2) 采用其他除/灭菌方式的，应当进行方法适用性评估或验证，应能证明除/灭菌过程不会对蛋白结构和生物活性产生负面影响，并保持相关记录。

15. 分装

应当对分装工艺进行验证并保持相关记录。应当关注分装环境、人员、设备控制要求和分装用设备参数、装量及装量监控等。

(十) 质量控制与产品放行

1. (总体要求) 企业应当建立质量控制程序，规定产品质量管理组织机构、检验人员、检验操作规程及取样、检验设备、产品放行及留样要求，确保物料或者产品在放行完成前完成必要的检验，质量符合要求。检验能力应与产品和生产能力相适应。

2. (质量控制) 企业应当基于风险管理，制定原材料、中间产品、成品的质量标准及质量控制要求。

(1) (原辅料) 原辅料应当符合相关标准要求，无强制性标准的，可结合产品质量要求制定质量标准。使用动物源性原料的，需明确来源，保持质控检验记录，发酵用培养基若添加抗生素的，应符合 YY/T 1849 的要求。

(2) (中间产品)企业应当基于风险管理，识别中间产品，并建立其质量标准及质量控制要求。需对中间产品进行稀释或者加入其他辅料的（如防腐剂、冻干保护剂等），需严格控制添加量及其在终产品中的残留量，并对蛋白特性进行评估。

(3) (成品)企业应当结合表达体系、预期用途和风险程度建立成品的质量标准和放行要求，预期用于高风险、中低风险医疗器械的原料应参考本要点“原料主要技术指标”制定质量标准。

3. (检验记录) 应当按照质量标准开展检验检测活动。每批产品均应当有检验记录，并满足可追溯的要求。检验记录应当包括进货检验、过程检验和成品检验的检验记录、检验报告等。

4. (委托检验) 需要常规控制的进货检验、过程检验和成品检验项目不得进行委托检验。对于检验条件和设备要求较高，确需委托检验的，应当委托有资质或相应能力的机构并与受托单位签订质量协议项目，明确双方的责任和委托检验要求。委托方应当对受托检验机构的检验能力开展评价，确保检验结果准确、可靠。

5. (生产过程监控要求) 企业应当基于风险建立各工序的质量控制要求和标准。

(1) 原始细胞库和/或主细胞库，需按照《重组人源化胶原

蛋白原材料评价指导原则》进行一次全面系统的研究检定。各级细胞库的细胞需按照特定的要求经过检定合格后方可使用，应持续对各级细胞库进行稳定性的考察。

(2) 种子培养结束后应当进行检测，确保菌体生长稳定。检测项目包括但不限于菌种浓度、菌种状态及杂菌检测。

(3) 发酵过程中应当对关键的运行参数和控制因素进行监测及记录。监测项目包括但不限于菌体浓度、pH 值、菌体形态等。

(4) 纯化阶段应当对每批次纯化后蛋白的收率进行控制，检测项目包括蛋白表征项目、理化性能、污染物残留控制项目。

(5) 各工序取样应有代表性，应当考虑取样物料性质和取样要求，明确避免污染、转运、暂存等操作要求。

(6) 中间产品的检验应当在适当的生产阶段完成，当检验周期较长时，可先进行后续工艺生产，待检验合格后方可放行成品。

6. (检验方法) 检验方法应当与产品的性能指标相适应并开展经过验证或确认。

7. (检验设备) 应当定期对检验设备进行校准或检定，并应予以标识和记录。应明确检验设备的防护要求，防止检验结果失准，当检验设备不符合要求时，应对以往检验和试验结果的有效性进行评价，采取适当的措施，并保持相关记录。

8. (污染控制) 对用于实验取样、检测或日常监测（如空气采样器）的用具和设备，应当制定严格的清洁和消毒操作规程，避免交叉污染。应当根据生产的风险程度对用具或设备进行评估，必要时做到专物专区专用。

9. (留样管理) 企业应当根据产品和工艺特点制定留样管理规定，按规定进行留样，并保持留样观察记录。必要时，中间产品应当留样，以满足复试或对中间产品控制确认的需要，留样数量应当充足，并在适宜条件下贮存。成品的留样条件应当与产品的包装方式、贮存条件一致。

10. (放行要求) 应当建立产品放行控制程序，明确产品放行条件、审核和批准要求等，并保持每批中间产品、成品的放行审核和批准记录。