

Application News

No. Q118

微粒测量

致敏乳胶的分散性 / 稳定性评估

- qLD 法在体外诊断用药物（临床检查药）领域中的运用 -

体外诊断用药物（临床检查药）中，有时会用到表面的胶乳（致敏乳胶），其表面或将有抗原或抗体等蛋白质吸附。与其他方法相比，使用致敏乳胶能简单且迅速的实施检查，因此，被广泛运用于是否得病或怀孕等检查中。致敏乳胶的使用方法，包括利用由致敏乳胶和待测物质的抗原抗体反应产生凝聚来进行检查。采用该方法时，为提升灵敏度，要促进其与检查对象物质之间的凝聚，但另一方面，乳胶自聚以及与检查对象物质以外的物质发生非特异性凝聚可能会使可使用期限缩短或导致错误的检查结果，因此必须抑制这种情况的发生。所以，控制凝聚性成为了一大重要课题。凝聚性与致敏乳胶浓度、溶液组成（pH、盐浓度等）等多个因素相关，因此在药物研发时需要多变量考察，评价其与分散性、稳定性之间的关系。

生物药凝聚性评价系统“Aggregates Sizer TC”（以下、简称为 Aggregates Sizer TC）能够在单次测量中仅用几秒钟便完成粒径分布的定量测定，能高效地完成诸如此类的大范围的条件研究。此外，通过使用批式池进行搅拌试验，同时也使稳定性的加速试验的实施成为了可能。在本报告中，我们将使用 Aggregates Sizer TC，对 ProteinA 或 ProteinG 致敏胶乳的分散性和稳定性进行了评价。分散性方面，通过将 ProteinA 致敏胶乳储存过期使其产生凝聚，并分别对原液和稀释液实施分散处理，评价了浓度对分散性造成的影响。在确认稳定性时，针对 ProteinG 致敏胶乳，通过将其置于不同 pH 和盐浓度的溶液中，给予搅拌压力促进其凝聚，由此评价了溶液组成对稳定性造成的影响。评价结果显示，各条件下的分散性、稳定性存在差异，因此在本文中报告。

H. Maeda

■ 样本、测量方法

在分散性评价中，使用了市售的 ProteinA 致敏胶乳（粒径 1 μm 、原液浓度 25 mg/mL ）。首先是使用期限通过将样品冷冻储存至过期，让其产生了凝聚。然后对样品的原液和 10 倍稀释液分别用超声水浴（100 W）1 分钟进行分散处理，之后分别进一步稀释 5000 倍，进行粒径分布测定。

在稳定性评价中，针对市售的 ProteinG 致敏胶乳（粒径 1 μm 、原液浓度 14 mg/mL ），分别用磷酸盐缓冲生理盐水（pH 7.4）、磷酸盐缓冲生理盐水 + 1 M 氯化钠、以及柠檬酸磷酸缓冲液 pH 5.0 的 3 种溶液稀释 2800 倍后，在 25 $^{\circ}\text{C}$ 的温控下，使用材质为不锈钢的搅拌棒以 180 转 / 分钟的速度进行搅拌，并同时粒径分布进行 1 小时的监控测量。

粒径分布和定量值的测量通过使用了 Aggregates Sizer TC 的 qLD 法（Quantitative Laser Diffraction Method、量化激光衍射、散射法）进行。比色皿采用了批式比色皿。计算参数，折射率 E11.62-0.00i，密度为 1.05 g/cm^3 。

■ 结果、考察

首先是分散性评价的结果，分散处理前后的粒径分布如图 1 所示。可知在未进行分散处理的状态下，由于已过期，因此有凝聚产生。通过比较 2 种浓度进行分散处理的结果，可知在 10 倍稀释状态下进行分散处理时，粒子可被分散为一次粒子，在原液状态下分散时，与未进行分散处理的状态相比分散进展很慢，浓度会对分散性造成影响。

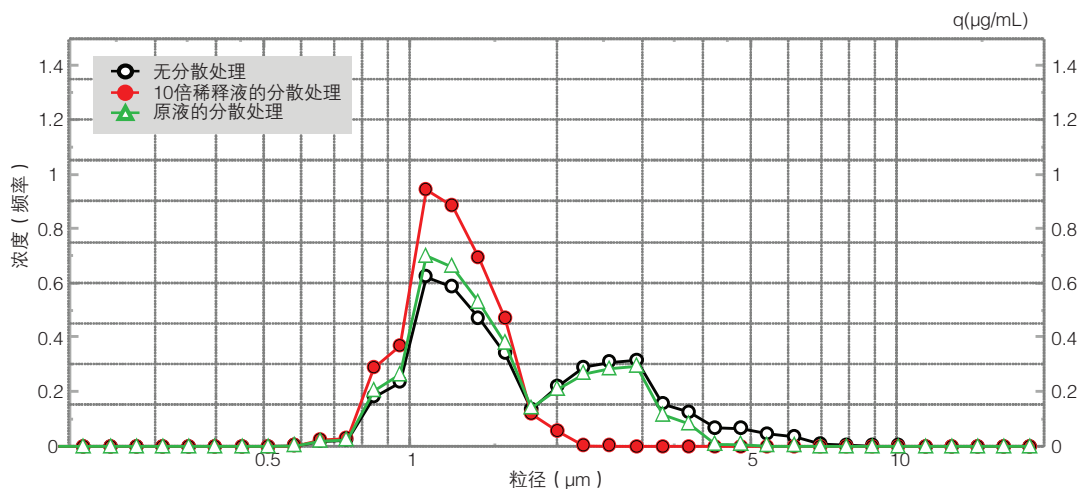
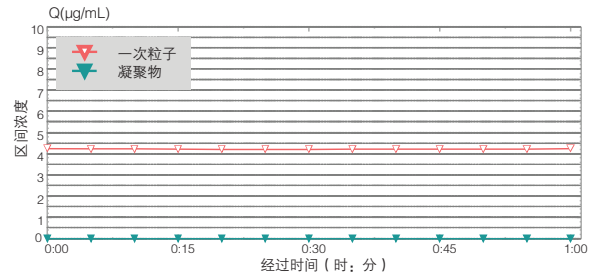
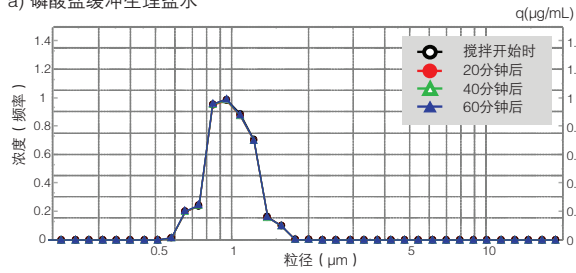
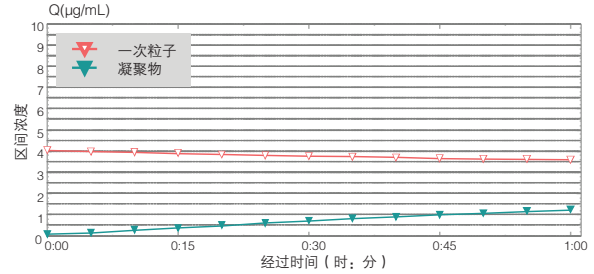
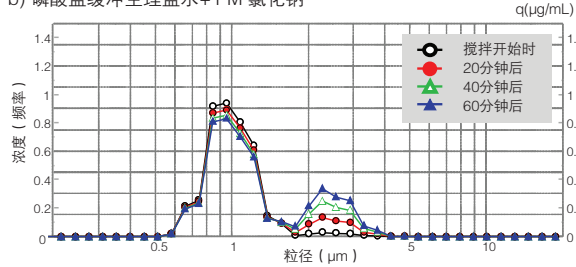


图 1 分散处理前后的 ProteinA 致敏乳胶的粒径分布

a) 磷酸盐缓冲生理盐水



b) 磷酸盐缓冲生理盐水+1 M 氯化钠



c) 柠檬酸磷酸缓冲液 pH 5.0

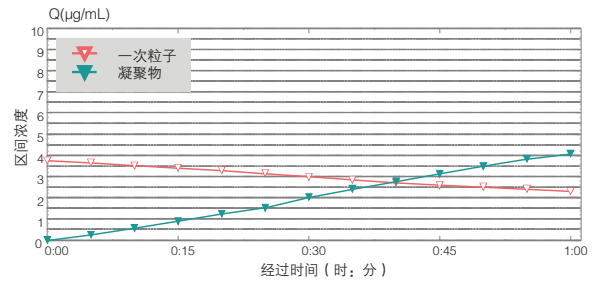
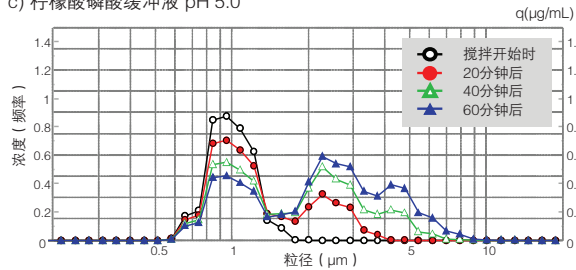


图 2 各种溶液结构的 ProteinG 致敏乳胶的粒径分布以及粒子量的时序变化

左图：粒径分布；右图：粒子量的时序变化

* 时序变化图中的一次粒子、凝聚物分别根据 0.50-1.74 μm、1.74-20 μm 的区间粒子量计算而得。

接下来，稳定性评价的结果如图 2、图 3 所示。

根据图 2 中各溶液结构的粒径分布，可知溶液为磷酸盐缓冲生理盐水时不会产生凝聚物，溶液为磷酸盐缓冲生理盐水+1 M 氯化钠时会产生 2 μm~3 μm 处有波峰的凝聚物，溶液为柠檬酸磷酸缓冲液 pH 5.0 时会产生在 2 μm~7 μm 内广范围分布的凝聚物。此外，根据一次粒子和凝聚物粒子量的时序变化图，可知溶液为磷酸盐缓冲生理盐水时粒子量无变化，没有产生凝聚物。并且，溶液为磷酸盐缓冲生理盐水+1 M 氯化钠、柠檬酸磷酸缓冲液 pH 5.0 时可见一次粒子的减少和凝聚物的增加，柠檬酸磷酸缓冲液 pH 5.0 时的梯度更陡（此处的一次粒子量以 0.50-1.74 μm 的区间粒子量、凝聚物量以 1.74-20 μm 的区间粒子量计算）。

一次粒子在总粒子量中的占比的时序变化如图 3 所示。可知在搅拌 60 分钟后，溶液为磷酸盐缓冲生理盐水+1 M 氯化钠时一次粒子的比例为 3:4 左右，柠檬酸磷酸缓冲液 pH 5.0 时的比例为 1/2 左右。综上所述，可认为稳定性按磷酸盐缓冲生理盐水、磷酸盐缓冲生理盐水+1 M 氯化钠、柠檬酸磷酸缓冲液 pH 5.0 的顺序依次降低。

根据上述结果，可知 Aggregates Sizer TC 可有效适用于致敏乳胶的分散性、稳定性的评价。

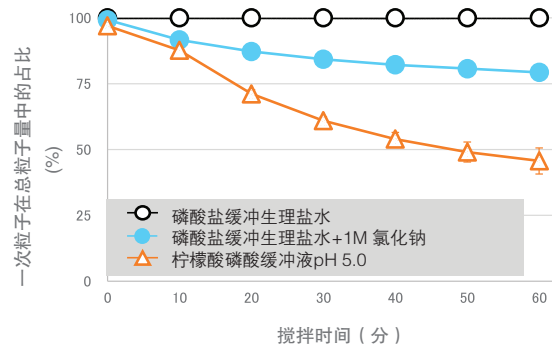


图 3 ProteinG 致敏乳胶中各结构溶液的一次粒子在总粒子量中占比的时序变化

* 误差线表示 n=3 时的标准偏差。



岛津企业管理（中国）有限公司
岛津（香港）有限公司

<http://www.shimadzu.com.cn>

用户服务热线电话： 800-810-0439
400-650-0439

免责声明：

* 本资料未经许可不得擅自修改、转载、销售；
* 本资料中的所有信息仅供参考，不予任何保证。
如有变动，恕不另行通知。

第一版发行日：2017 年 7 月