

Aggregates Sizer 在疫苗聚集体评价系统中的应用

SALD-007

摘要： 本文通过岛津 Aggregates Sizer 生物药物聚集体分析仪测定了疫苗聚集体的粒径和浓度分布，探索了温度、外界压力等对疫苗聚集体产生的影响。通过实验发现，外界压力和温度都会对聚集体的粒径和浓度产生影响。Aggregates Sizer 生物药物聚集体分析仪可以对疫苗的生产工艺进行监控，评价疫苗药效和安全性能。

关键词： 疫苗 聚集体 Aggregates Sizer

聚集体是多个单体聚合后的物质。与低分子医药相比，生物医药具有抗压能力弱、容易聚合等弱点。有研究表明，生物药品因压力、温度等发生聚合后，会导致药效下降甚至药效消失，严重时还可能会产生副作用。因此，生物药物生产领域研究外界因素（运输、保存等）对其稳定性的影响是非常重要的。

疫苗是生物药品的一种，对其聚集体粒径的评价是非常重要的。疫苗聚集体的粒径范围通常在 0.2~10 μm 之间，该区域被称作亚可见区域（Sub Visible Particle, SVP）。传统蛋白聚集体评价方法中存在“无法一次性完成 SVP 区域测定”、“无法边施压边测定”、

“无法回收已测样品”和“无法完成定量”等问题，为解决上述问题，岛津公司研发了生物医药聚集体分析仪 Aggregates Sizer。

岛津公司聚集体分析仪 Aggregates Sizer 不但可以检测 7 nm 到 800 μm 粒子的粒径范围，而且还能定量检测 40 nm 到 20 μm 范围内生物制药聚集体的浓度，并可监测聚集体的形成过程。

本文利用岛津 -Aggregates Sizer 生物药物聚集体分析仪测定了疫苗在不同温度和压力下聚合体粒径和浓度的变化，从而确定温度和压力对疫苗聚集体的影响。

■ 实验部分

1.1 样品

市售疫苗

1.2 仪器

岛津公司 SALD-7500nano_Aggregates Sizer，批式池



图1 生物药品聚集体分析系统（Aggregates Sizer）

图2 批式池

1.3 测定方法

取市售疫苗一瓶（约 0.5 mL），用纯水定容至 50 mL，取适量样品置于批式池中，采用不同的搅拌时间及不同温度进行检测。

结果与讨论

2.1 搅拌对疫苗聚集体粒径分布的影响

测定了市售疫苗搅拌和不搅拌条件下聚集体的变化，搅拌 1 小时后，粒径变小，如图 3 所示，D90 由 32.0 μm 减小至 24.4 μm ，其分布范围也变窄。结果表明，搅拌过程即运输过程会对疫苗聚集体聚合反应产生影响，导致聚集体粒径变小，分布变窄。

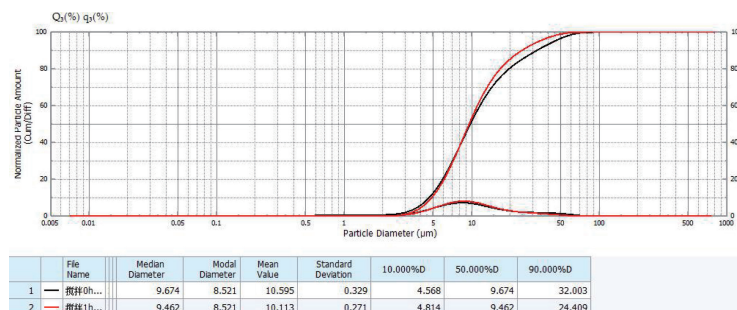


图3 不同搅拌时间疫苗聚集体的粒径分布

2.2 搅拌对疫苗聚集体浓度分布的影响

检测了市售疫苗在搅拌和不搅拌情况下聚合体浓度的变化，搅拌 1 小时后，亚可见区域 (0.1 μm ~10 μm) 聚集体浓度减少，从 32.3 $\mu\text{g/mL}$ 减少至 28.1 $\mu\text{g/mL}$ ，如图 4 所示。综上，搅拌过程即运输过程会对疫苗聚集体浓度产生影响，导致聚集体浓度降低。

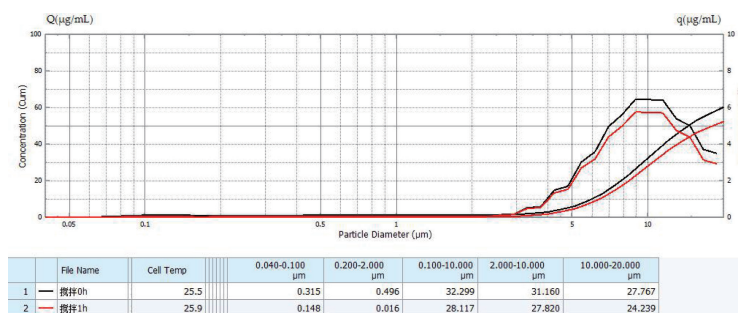


图4 不同搅拌时间疫苗聚集体的浓度变化

2.3 温度对疫苗聚集体粒径分布的影响

检测了不同温度下聚集体粒径的变化，温度从室温 25 $^{\circ}\text{C}$ 升高至 35 $^{\circ}\text{C}$ 时，聚集体粒径向小粒径方向移动，如图 5 所示，D90 由 32.0 μm 减小至 20.3 μm ，粒径范围变窄；将样品 -20 $^{\circ}\text{C}$ 冷冻保存再恢复至室温后检测，发现粒径分布变宽，D90 增大至 35.9 μm 。综上所述，温度也会对疫苗聚集体的粒径分布产生影响，导致粒径变小，分布范围变窄；样品经过 -20 $^{\circ}\text{C}$ 保存后，粒径范围变宽。

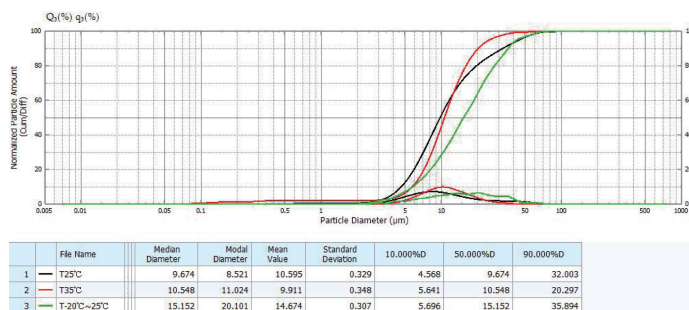


图5 不同温度下疫苗聚集体的粒径分布

2.4 温度对疫苗聚集体浓度分布的影响

如图 6 所示, 温度从 25°C 升高至 35°C 时, 聚集体浓度减少, 亚可见区域 (0.1 μm~10 μm) 聚集体浓度由 43.8 μg/mL 减少至 23.5 μg/mL。将样品 -20°C 冷冻保存再放回至室温后检测, 发现聚集体浓度同样减少, 亚可见区域 (0.1 μm~10 μm) 聚集体浓度为 22.5 μg/mL。综上所述, 温度会对疫苗聚集体的浓度分布产生影响, 温度升高, 浓度变小, 分布范围变窄; 样品经过 -20°C 冷冻之后, 聚集体浓度减少, 但分布范围变宽。

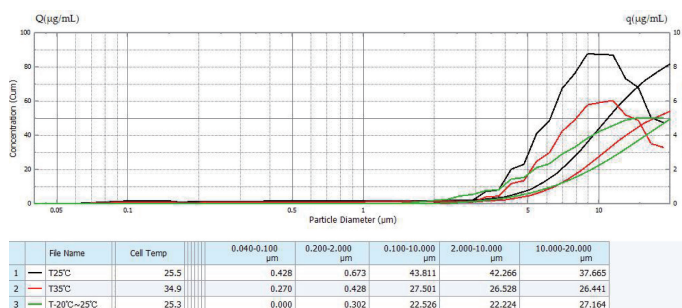


图6 不同温度下疫苗聚集体的浓度变化

2.5 仪器精密度实验

取适量样品置于批式池中, 在无搅拌条件下, 重复测定 3 次, 考察仪器的精密度, 如图 7 所示, 在亚可见区域聚集体浓度 3 次测定的 RSD 值小于 1%。

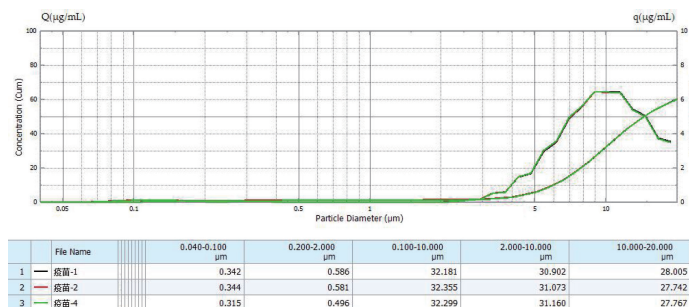


图7 疫苗聚集体的浓度结果 (n=3)

结论

使用岛津 Aggregates Sizer 生物药物聚集体分析仪测定了疫苗聚集体的粒径和浓度分布, 并探讨了搅拌过程和温度对疫苗聚集体聚合反应的影响。通过实验发现, 外界压力和温度都会对疫苗聚合体的粒径和浓度产生影响, 搅拌以及升高温度, 聚合体的粒径变小, 分布变窄, 且浓度减少。样品经过冷冻后, 聚集体粒径变大, 范围变宽, 浓度减少。该聚集体分析系统操作简单、快速, 重复性良好, 仪器适应于疫苗聚集体的粒径和浓度分析, 可以从聚集体的粒径和浓度方面对疫苗药效、安全性能等进行评价。