

挥发性化合物分析——气相色谱和气相色谱质谱

溶剂残留，尤其对一类溶剂残留零容忍。未添加的溶剂，不代表在疫苗产品中没有残留。如何证明疫苗中没有有毒有害残留溶剂？气相色谱助您一臂之力。疫苗中的未知挥发性有机物，它是什么，从何而来？气相色谱质谱让它现出原形。



气相色谱仪 Nexis GC-2030



气相色谱质谱联用仪 GCMS-QP2020 NX

分析测试仪器客服热线电话：800-810-0439
400-650-0439

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>

北京
北京市朝阳区朝外大街16号中国人寿大厦14层
邮政编码：100020
电话：(010)8525-2310/2312 传真：(010)8525-2351

上海
上海市徐汇区宜州路180号华鑫慧享城B2栋
邮政编码：200233
电话：(021)3419-3888 传真：(021)3419-3666

广州
广州市天河区高唐路230号广电智慧大厦
邮政编码：510656
电话：(020)3718-3888 传真：(020)3718-3804

沈阳
辽宁省沈阳市青年大街167号北方国际传媒中心11层
邮政编码：110016
电话：(024)2341-4778 传真：(024)2325-5577

成都
成都市锦江区创意产业商务区三色路38号博瑞·创意成都写字楼B座12层
邮政编码：610063
电话：(028)8619-8421/8422 传真：(028)8619-8420

昆明
昆明市青年路432号天恒大酒店 908室
邮政编码：650021
电话：(0871)6315-2986/2987 传真：(0871)6315-2991

西安
陕西省西安市锦业一路56号研祥城市广场A座501
邮政编码：710000
电话：(029)6273-7878 传真：(029)6273-7879

南京
南京市鼓楼区汉中门2号亚大商务楼27层B座
邮政编码：210005
电话：(025)8689-0258 传真：(025)8689-0237

深圳
深圳市福田区天安数码城天展大厦1楼 F2.6-1C
邮政编码：518040
电话：(0755)8340-2852 传真：(0755)8389-3100

乌鲁木齐
乌鲁木齐市中山路339号中泉广场14H座
邮政编码：830002
电话：(0991)230-6271/6272 传真：(0991)230-6273

重庆
重庆市渝中区青年路38号重庆国贸中心1702座
邮政编码：400010
电话：(023)6380-6068/6058 传真：(023)6380-6551

香港
香港九龙尖沙咀海洋中心1028室
SUITE 1028, OCEAN CENTRE, HARBOUR CITY,
TSIM SHA TSUI, KOWLOON, HONG KONG
电话：(00852)2375-4979 传真：(00852)2199-7438

郑州
郑州市中原路220号裕达国际贸易中心A座20层2011室
邮政编码：450007
电话：(0371)8663-2981/2983 传真：(0371)8663-2982

武汉
湖北省武汉市武昌区临江大道96号武汉万达中心31层3112室
邮政编码：430060
电话：(027)5908-0488 传真：(027)5908-0471

本产品资料所宣传的内容，以本版本为准，资料中的试验数据除注明外均为本公司的试验数据。本资料所有信息仅供参考，如有变动恕不另行通知。
印刷日期：2019.07

株式会社 岛津制作所

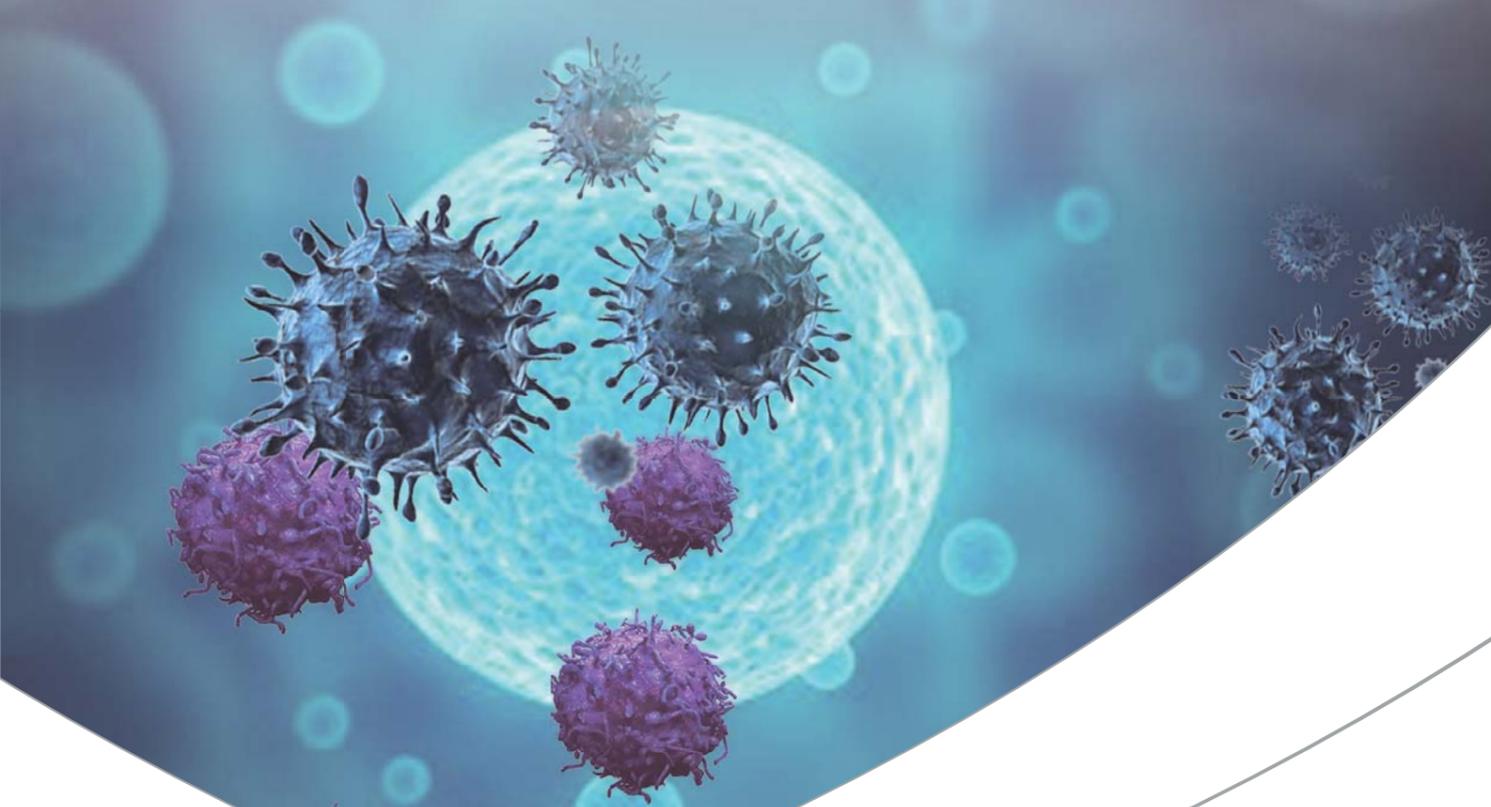
604-8511 京都市中京区西ノ京桑原町1
电话：81(75)823-1111 传真：81(75)811-3188
URL：<http://www.shimadzu.com>

本书中所记载的公司名称、产品服务名称及商标均为株式会社岛津制作所
的注册商标或商标。本书中有未标明TM标志和®标志之处。
本书中所使用的其他公司的商号、商标的所有权非株式会社岛津制作所所有。

从生产到质量评价——疫苗行业整体解决方案



从生产到质量评价 ——疫苗行业整体解决方案



十四世纪，鼠疫导致欧洲三分之一的人口死亡；1900-1908年间，天花在欧亚大陆肆虐导致近5亿人的死亡；21世纪初，SARS的疯狂至今让人心有余悸……疫苗的出现和发展，终结了这种毁灭性的灾难，将人类从生存威胁中解救出来。

疫苗，作为预防性药物，在患病之前给予人体抵御疾病的能力，比治疗性药物意义更加重大。生产优质的疫苗、严把疫苗质量关是关乎民族存亡和国家兴衰的大事。然而，疫苗现存的大多数问题已无法依靠传统理化检测方法（如液相色谱和紫外分光光度计）进行应对。现代化、先进理化技术的参与，为解决疫苗现存问题提供了方向。

岛津企业管理（中国）有限公司（以下简称岛津）自2017年开始，先后与中国食品药品检定研究院多科室和国内知名疫苗企业开展合作。在合作中，除采用传统理化检测方法（如液相色谱和紫外分光光度计）以外，还以液相色谱质谱、聚集体分析、痕量元素分析、电子探针和MALDI-TOF等先进技术为支撑，开发了从疫苗生产到质量评价的全过程疫苗检测方法，覆盖蛋白类疫苗（如百白破）、多糖类疫苗（23价肺炎多糖疫苗等）、病毒类疫苗（如流感疫苗）和多糖蛋白结合疫苗（13价肺炎多糖疫苗、脑膜炎疫苗、Hib疫苗）等疫苗品种。



蛋白类疫苗 —— 百白破等

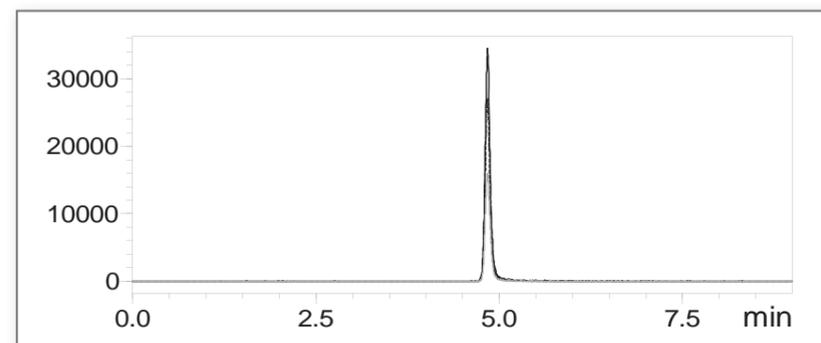
蛋白类疫苗，如重组蛋白疫苗、百日咳、白喉、破伤风及其三联疫苗百白破，是接种率最高的疫苗种类。以百白破为例，据WHO2018年统计数据，百白破已成为全球覆盖度最广的疫苗品种。随着百白破疫苗的使用增加，百白破疫苗的不良反案例也逐渐增加。近年来，百日咳疫情在部分地区（甚至在疫苗接种率较高的发达国家）出现了反复和爆发式发展。基于此，如何通过先进技术提升百白破疫苗的免疫活性并减少不良反应的思考越来越多。

岛津与“中国食品药品检定研究院——百白破疫苗与毒素室”合作开发了从疫苗生产到质量评价全过程控制的百白破疫苗理化测试方法。

表1 百白破生产全过程监控解决方案

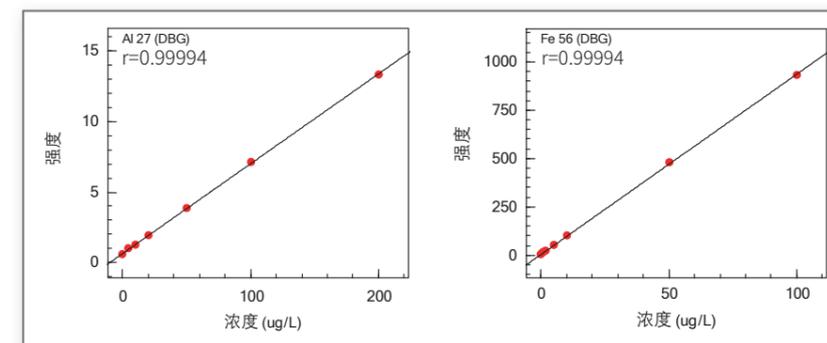
| 样品 | 检测项目 | 检测项目 | 检测项目 |
|--------------|--------------------|-------------|-----------|
| 百日咳培养基 | 培养基成分检测、批次重复性评价 | 全过程中TCT含量测定 | 全过程溶剂残留分析 |
| | 培养基中Fe、Mg等金属元素的检测 | | |
| 百日咳发酵 | 培养过程中培养基上清液组成变化 | | |
| | 培养过程中抗原蛋白累计曲线 | | |
| | 培养过程中金属元素的变化（包括Fe） | | |
| 百日咳一次盐析上清液 | 抗原蛋白含量测定 | | |
| 百日咳一次盐析透过液 | 抗原蛋白损失情况评估 | | |
| 百日咳二次盐析上清液 | 抗原蛋白含量测定 | | |
| 百日咳二次盐析透过液 | 抗原蛋白损失情况评估 | | |
| 百日咳浸提液 | 抗原蛋白含量测定 | | |
| 百日咳抗原蛋白粗制品 | 抗原蛋白含量测定 | | |
| 百日咳抗原蛋白精制品 | 抗原蛋白含量测定 | | |
| 百日咳抗原蛋白脱毒前样品 | 抗原蛋白含量测定 | | |
| 百日咳抗原蛋白脱毒后样品 | 脱毒工艺评价 | | |
| 白喉类毒素 | 脱毒工艺评价 | | |
| 破伤风类毒素 | 脱毒工艺评价 | | |
| 组分百日咳产品 | 抗原蛋白纯度评价 | | |
| | 抗原蛋白修饰评价 | | |
| | 抗原蛋白亚基分子量快速检测 | | |
| 共纯化百日咳产品 | 抗原蛋白含量测定 | | |
| 百白破疫苗成品 | 抗原蛋白含量测定 | | |
| | 铝佐剂中铝和重金属含量测定 | | |
| | 铝佐剂与抗原蛋白结合效果初步评价 | | |
| | 疫苗颗粒形貌分析 | | |
| | 疫苗颗粒大小、分布和浓度测定 | | |
| | 疫苗颗粒批内和批间一致性评价 | | |
| | 疫苗颗粒稳定性评价 | | |
| 疫苗成品中金属残留分析 | | | |

从发酵到成品，全过程产品中TCT监测



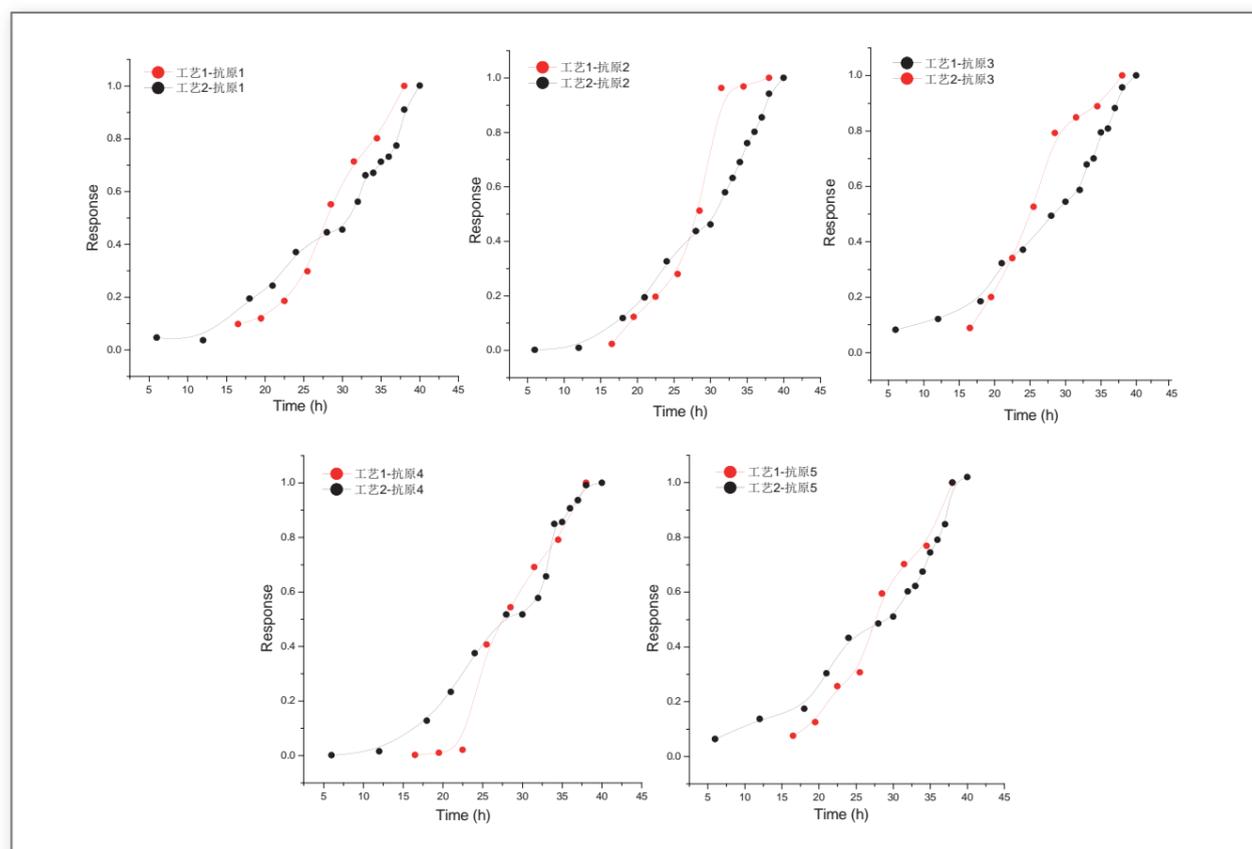
百日咳中间产品中TCT检测

金属元素的测定



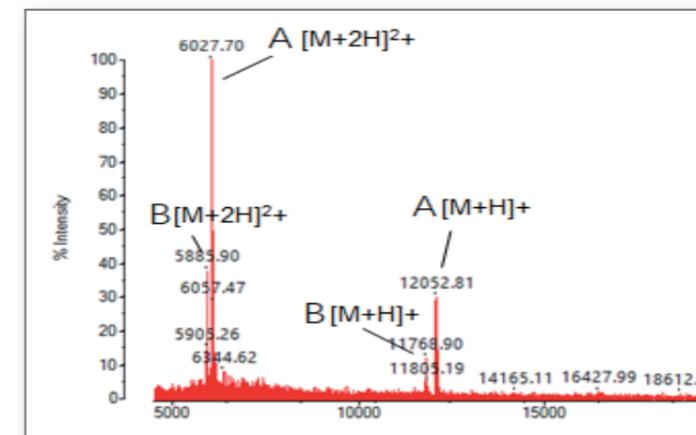
培养基中Al和Fe测试

发酵罐中抗原蛋白累计曲线



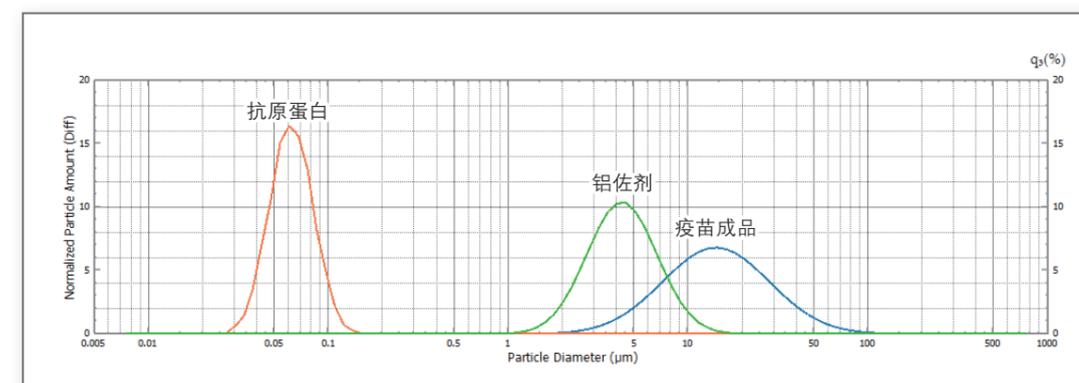
两种不同工艺所得抗原蛋白累计曲线

疫苗亚基分析



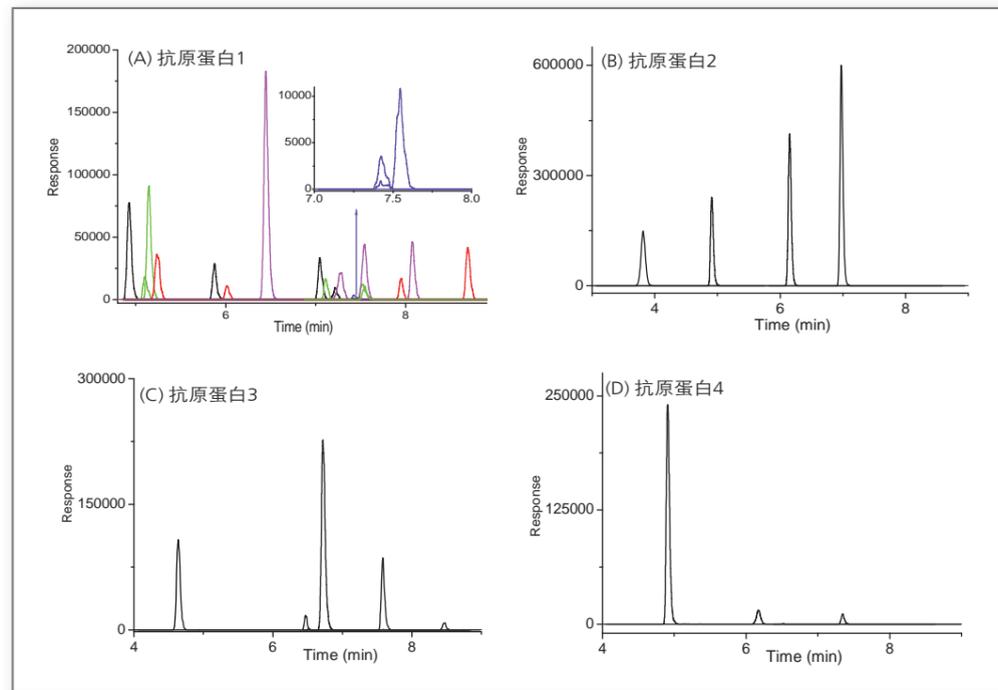
A, B亚基的一级质谱图

铝佐剂吸附抗原蛋白



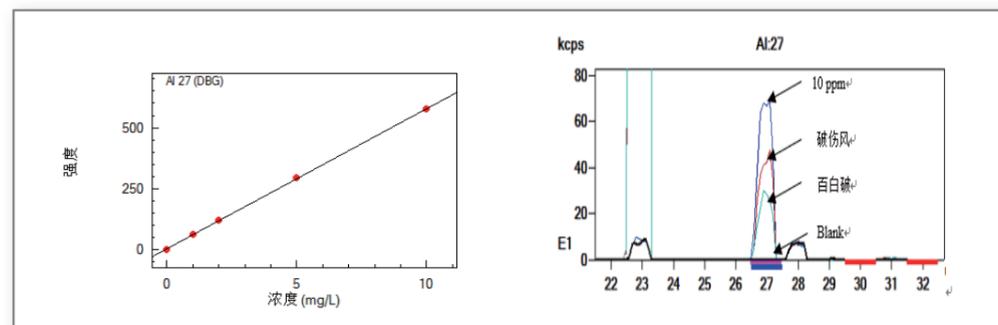
抗原蛋白与铝佐剂结合效果初步评价

从发酵到成品，抗原蛋白的测定



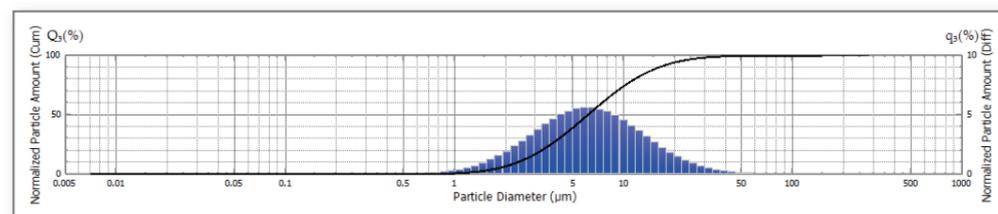
百白破疫苗中活性蛋白含量测定

疫苗成品中铝佐剂的测定



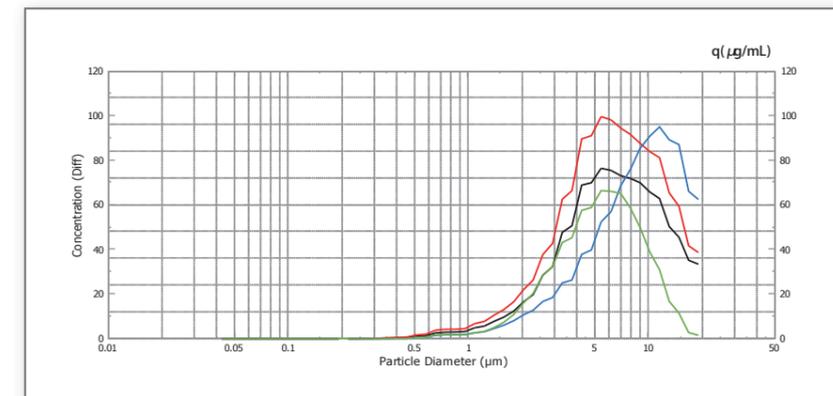
标准曲线线性图和不同疫苗中铝佐剂含量

疫苗成品颗粒粒度评价



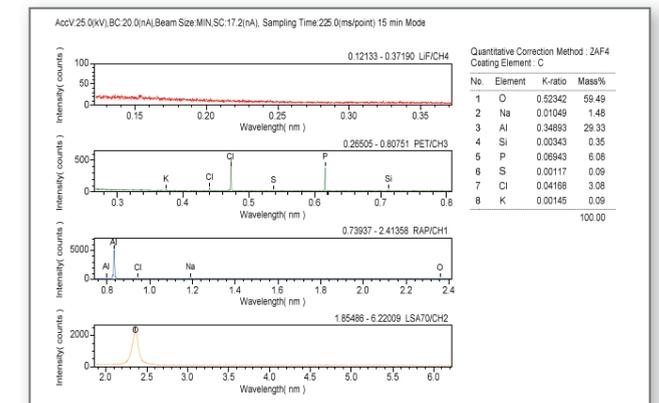
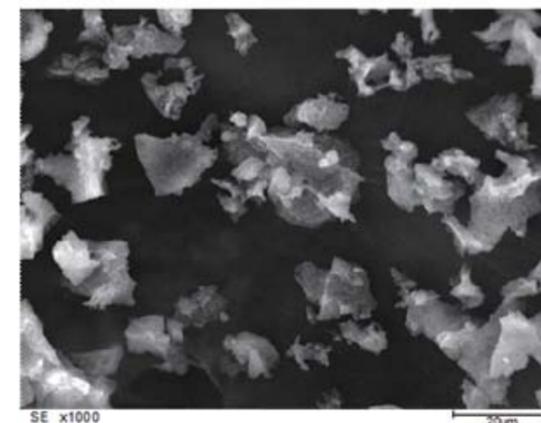
疫苗颗粒大小和分布

成品批间一致性评价



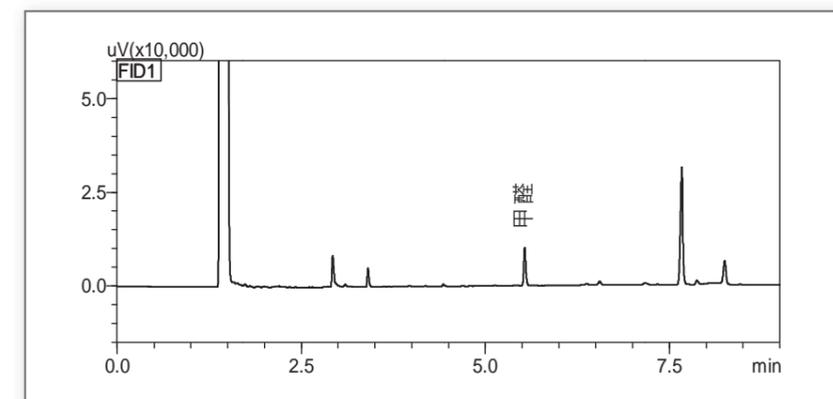
疫苗颗粒批间一致性评价结果

疫苗成品形貌分析



疫苗二次电子成像分析和能谱定性分析结果

疫苗成品中甲醛残留分析



疫苗样品中甲醛残留检测

多糖类疫苗 —— Hib、脑膜炎、23价肺炎和13价肺炎结合疫苗等

常规检测

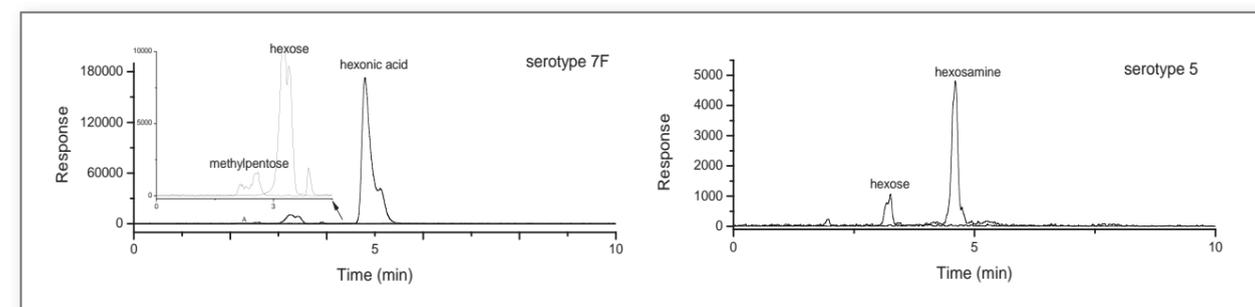
多糖疫苗常常以多价疫苗形式存在，如23价肺炎多糖疫苗，四价脑膜炎疫苗等。紫外分光光度法是多糖疫苗糖单元含量测定的药典方法，岛津UV-1900采用最新的LO-RAY-LIGH低杂散光衍射光栅，具有高分辨率、高测光重复性、超快扫描速度和彩色触摸屏等优点，既可单机操作也可联机控制。通用型UV probe软件实现真正的QA/QC功能，完全支持GLP/GMP。

多糖疫苗质量提升方案

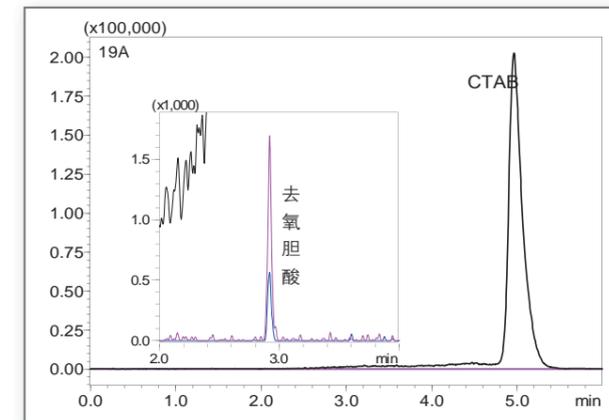
虽然紫外分光光度法使用已久，但也存在一定的局限性：如氨基己糖的含量测定问题、CTAB检测方法缺乏的问题、去氧胆酸钠检测干扰大的问题以及无法实现多组分同时测定的问题。为了弥补紫外分光光度法的不足，岛津发展了以液相色谱质谱和气相色谱质谱为基础的检测方法。

| 样品 | 检测项目 | 国标方法及局限性 | 岛津检测方案 |
|------------|---------------------|-------------------------------------|---------------------------|
| 多糖疫苗原液 | 蔗糖残留 | 无检测方法 | 液相色谱法、 液相色谱质谱法 |
| 脱糖后疫苗样品 | | | |
| 23价肺炎多糖疫苗 | 氨基己糖、己糖酸、 己糖、鼠李糖 | 衍生-紫外分光光度法，衍生效率 受基质干扰大，耗时较长，通量较低 | 紫外分光光度法、 液相色谱质谱法 |
| | CTAB | 无检测方法 | 液相色谱质谱法 |
| | 去氧胆酸钠 | 衍生-紫外分光光度法 | |
| Hib疫苗粗/精制品 | CTAB | 无检测方法 | 液相色谱质谱法 |
| 脑膜炎A粗/精制品 | CTAB | 无检测方法 | |
| 脑膜炎C粗/精制品 | CTAB | 无检测方法 | |
| 脑膜炎W粗/精制品 | CTAB | 无检测方法 | |
| 脑膜炎Y粗/精制品 | CTAB | 无检测方法 | |
| 多糖疫苗及中间产品 | 溶剂残留 | 衍生-紫外分光光度法,干扰大, 通量小 | 紫外分光光度法、气相色谱法、 气相色谱质谱法 |

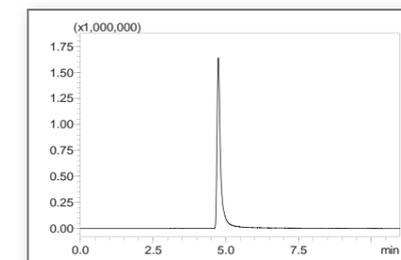
23价肺炎多糖疫苗精制品水解液中糖单元检测



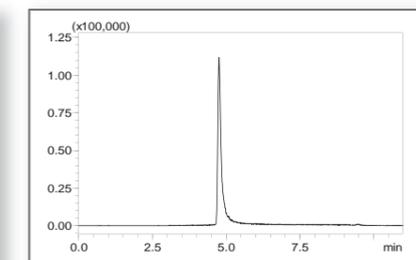
23价肺炎多糖疫苗中去氧胆酸和CTAB残留检测



Hib粗制（左）和精制疫苗（右）中CTAB残留检测

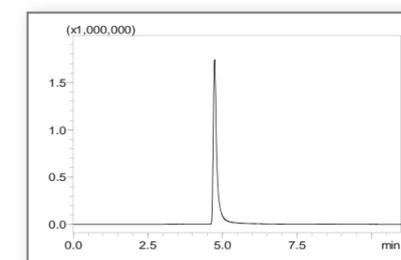


Hib粗制疫苗中CTAB残留检测

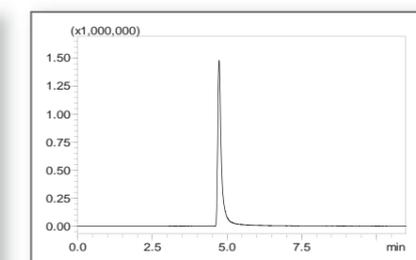


Hib精制疫苗中CTAB残留检测

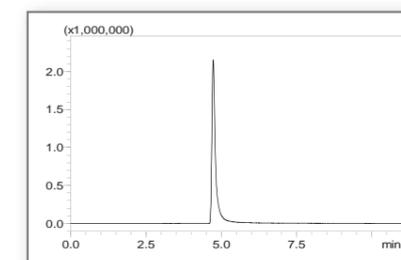
脑膜炎疫苗中CTAB残留检测



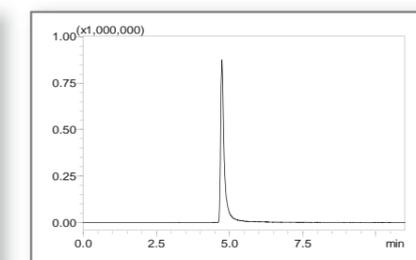
脑膜炎A型疫苗中CTAB的残留分析



脑膜炎C型疫苗中CTAB的残留分析



脑膜炎Y型疫苗中CTAB的残留分析



脑膜炎W型疫苗中CTAB的残留分析

二代测序

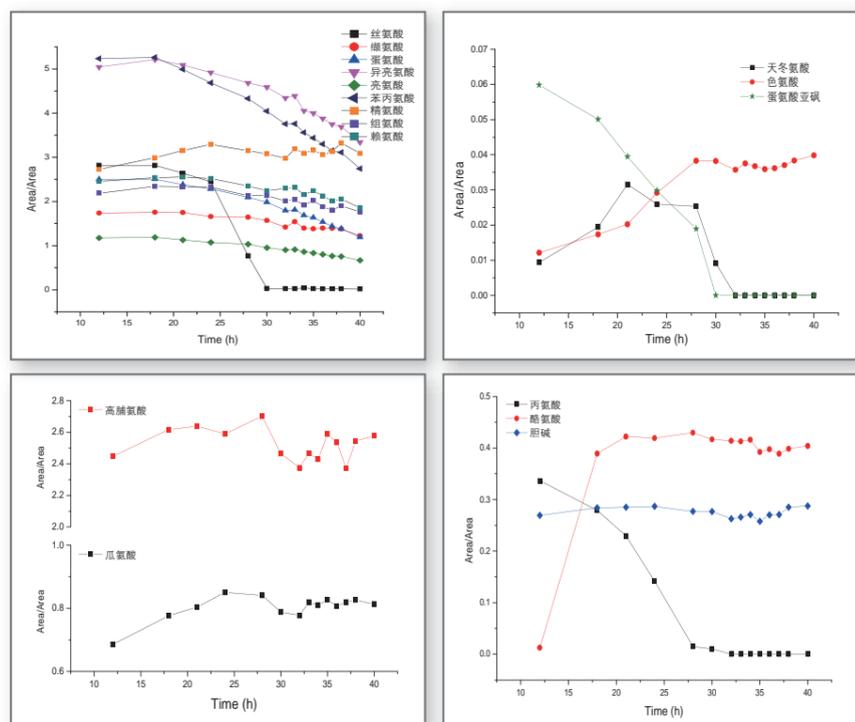
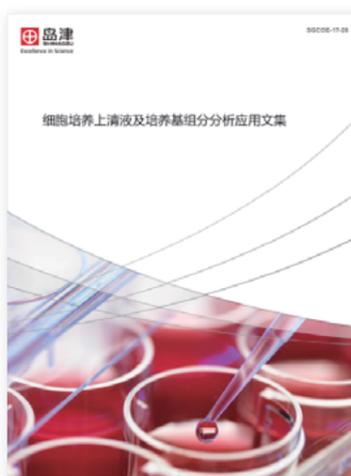
DNA和RNA的测定是病毒类疫苗的重要环节。传统的DNA和RNA分析方法为琼脂糖凝胶电泳，该方法存在手工操作过程繁琐、重复性差和EB毒性大的缺陷。岛津MultiNA-微芯片电泳专为弥补传统琼脂糖凝胶电泳缺陷而设计，具有自动化操作、操作简便、重复性好和所用试剂无毒的优点。



疫苗通用技术解析

疫苗培养（发酵）

培养基的批次重复性影响疫苗有效成分的产率，如氨基酸和糖类对氨基己糖产率的影响；培养基的组成对抗原蛋白累计曲线的生产速率和生长程度的影响等。疫苗在发酵过程中，发酵罐内疫苗菌株在生长和变化，从而引起营养成分的消耗、代谢产物的生成和疫苗有效成分的合成等。如何监测这些变化，确保生产出批次重复性好的疫苗？岛津为疫苗生产提供全面的培养基上清液和发酵液监测方案，涵盖氨基酸、维生素、糖类、核苷酸、有机酸和金属元素等近110种检测项目。



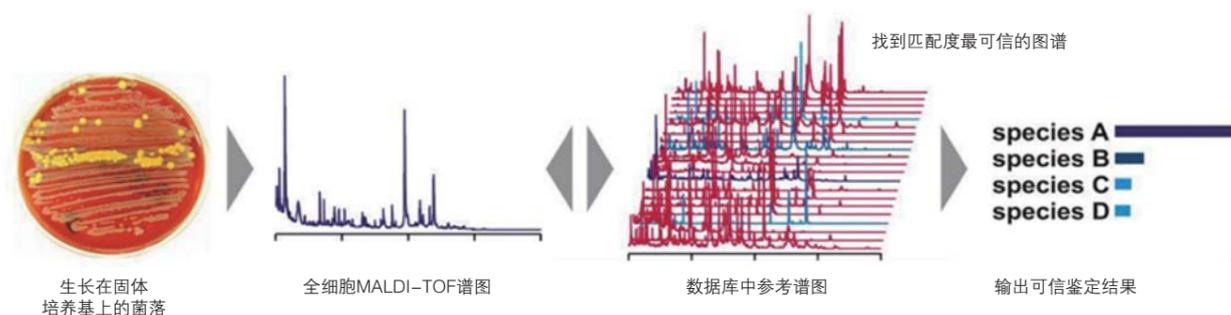
液相色谱质谱法监测疫苗发酵液组分含量变化

菌种鉴别

以往分析微生物（含菌种）由来组成成分时，需要从微生物（或者培养液等）提取微生物成分，再进行纯化、分析等步骤，费时费力。基于MALDI-TOF-MS的“微生物整体测定”系统（intact-cell MALDI-TOF Mass Spectrometry）解决了这一难题：

- 只需将微生物与基质溶液混合便可进行MS测定，无需繁琐的样品前处理；
- 测定开始后仅2分钟，即可完成作业；
- 实现高通量分析；
- 无需前处理试剂的低运行成本分析。

菌种鉴定流程



鉴定界面

The screenshot shows the MALDI-TOF MS identification software interface. It displays a table of identified files with columns for acquisition time, name, sample, %, family, genus, and species. A legend indicates confidence levels: 深绿: 99.9%, 浅绿: 90-99.9%, 黄色: 85-90%, 白色: 70-85%, 低于70%不显示置信度, 红色: 提醒复杂的结果. A yellow box at the bottom states: 只需数秒，全自动添加新采集数据至鉴定结果界面!

| acquisition time | name | sample | % | family | genus | species |
|-------------------|--------------------|---------------|-------|-------------------------------|------------------|-------------|
| 19 Nov 2008 14:38 | ANAS_001_0621_1010 | 31116258-1 | 99.90 | Family I Enterobacteriaceae | Providencia | sergenti |
| 19 Nov 2008 14:38 | ANAS_001_0621_1F40 | 31106236-1_02 | 99.90 | Family I Xanthomonadaceae | Stenotrophomonas | multivorans |
| 19 Nov 2008 14:38 | ANAS_001_0621_1F30 | 31106236-1 | 99.90 | Family I Xanthomonadaceae | Stenotrophomonas | multivorans |
| 19 Nov 2008 14:38 | ANAS_001_0621_1F20 | 31106225-1_02 | 99.90 | Family I Enterobacteriaceae | Escherichia | coli |
| 19 Nov 2008 14:38 | ANAS_001_0621_1F10 | 31106225-1 | 99.90 | Family I Enterobacteriaceae | Escherichia | coli |
| 19 Nov 2008 14:38 | ANAS_001_0621_1E40 | 31054438-1_02 | 99.90 | Family I Enterobacteriaceae | Escherichia | coli |
| 19 Nov 2008 14:38 | ANAS_001_0621_1E30 | 31054438-1 | 94.90 | Family I Enterobacteriaceae | Escherichia | coli |
| 19 Nov 2008 14:38 | ANAS_001_0621_1E20 | 31053559-1_02 | 95.20 | Family VI Streptococcaceae | Streptococcus | terrestris |
| 19 Nov 2008 14:38 | ANAS_001_0621_1E10 | 31053559-1 | 95.20 | Family VI Streptococcaceae | Streptococcus | terrestris |
| 19 Nov 2008 14:38 | ANAS_001_0621_1D40 | 31062218-1_02 | 99.90 | Family VIII Staphylococcaceae | Staphylococcus | aureus |
| 19 Nov 2008 14:38 | ANAS_001_0621_1D30 | 31062218-1 | 99.90 | Family VIII Staphylococcaceae | Staphylococcus | aureus |

Legend for confidence levels:

- 深绿: 99.9%
- 浅绿: 90-99.9%
- 黄色: 85-90%
- 白色: 70-85%
- 低于70%不显示置信度
- 红色: 提醒复杂的结果

Matched 2 or more species, confidence > 99%: Identified mixed culture

疫苗质量评价仪器一览图

有机物定量定性分析——液相色谱质谱

岛津为您提供所有类型的液相色谱质谱仪（液相色谱-单四极杆质谱、液相色谱-三重四极杆质谱和以液相色谱-离子阱-飞行时间质谱、液相色谱-四极杆-飞行时间质谱为代表的高分辨质谱）。液相色谱-单四极杆质谱可提供基础的定量、定性服务；液相色谱-三重四极杆质谱可为复杂样品提供高稳定性、高灵敏度、高选择性定量分析和定性分析，如蛋白定量、糖单元定量、残留试剂定量、多糖蛋白结合率检测等，可用于疫苗从生产到质量评价的全过程。高分辨质谱可为蛋白提供定性分析服务，如精确分子量检测、蛋白修饰和氨基酸序列覆盖度分析等。

液相色谱-单四极杆质谱



LCMS-2020

液相色谱-三重四极杆质谱



LCMS-8040



LCMS-8045



LCMS-8050



LCMS-8060

液相色谱高分辨质谱



LCMS-IT-TOF



LCMS-9030

菌种鉴定——生物质谱

随着生物制药的兴起和需求的增加，以MALDI-TOF为代表的质谱仪器逐渐从液相色谱质谱联用仪中独立出来成为新的一类质谱，即生物质谱。它可用于蛋白质的鉴定、菌种鉴定和糖链分析等。

激光解吸附离子化飞行时间型质谱



AXIMA-Performance
(MS/MS:CID/PSD)



AXIMA-Confidence
(MS/MS:PSD)



AXIMA-Assurance
(MS:Linear)

形貌、颗粒粒度和重金属分析——光谱分析

光谱分析涵盖紫外、红外、痕量无机元素分析和颗粒粒度分析在内的所有仪器。如紫外分光光度计可检测化合物的紫外吸收，从而提供基础的定量分析，成为疫苗发展初期的主要理化分析仪器。痕量元素分析包括原子吸收分光光度计、电感耦合等离子体质谱仪（ICP-MS）等，可监测样品中重金属的含量和种类。颗粒粒度分析和聚集体分析，可监测疫苗的颗粒大小、分布和浓度，为寻找疫苗颗粒粒度与免疫活性和不良反应之间的关系，评价疫苗颗粒批次一致性和稳定性提供新的方法。同时，岛津扫描探针还能帮助您“看到”疫苗。



生物制药聚集体分析系统 Aggregates Sizer



电感耦合等离子体质谱仪 ICPMS-2030



扫描探针



紫外分光光度计 UV-1900