

毛细管等电聚焦电泳对胰岛素类产品的等电点分析

Isoelectric point analysis of insulin products by capillary isoelectric focusing electrophoresis

刘冬科，罗继，陈泓序，刘冰洁

Liu Dongke, Luo Ji, Chen Hongxu, Liu Bingjie

SCIEX, 中国

SCIEX, China

Key words: Capillary isoelectric focusing electrophoresis,
Glargine insulin, Aspartate insulin, protamine human insulin

引言

胰岛素类产品是指以重组技术表达的人胰岛素、人胰岛素序列突变体及其脂肪酸修饰物等，是治疗糖尿病的主要药物之一。2022年4月，国家药品监督管理局药品评审中心公布了《胰岛素类产品生物类似药药学研究与评价技术指导原则》¹，其中明确指出：应采用多批次代表性样品，在确保研究方法准确、可靠的前提下，对样品的结构特征、理化性质和生物学活性展开研究，其中在结构表征部分明确提到需要对胰岛素类产品的等电点进行研究。

毛细管电泳（CE）以其自动化程度高、分离模式多样、定量准确和分离效率高等特点，广泛应用于生物制品的质量监控。其中，基于等电点进行分离的毛细管等电聚焦电泳（cIEF）方法已经广泛应用于单抗的等电点分析，成功被《中国药典》三部通则3129收录，为等电点分析的金标准。本文借助于cIEF方法对三种重组胰岛素类产品：甘精胰岛素、天冬胰岛素、精蛋白胰岛素，进行了等电点分析，详细考察了方法的重复性，并将该方法应用于胰岛素类产品的批次一致性分析。

2. 实验部分

2.1. 仪器及方法

采用SCIEX PA 800 Plus药物分析系统，等电点分析实验需用紫

外检测器（UV），配备280 nm滤光片。缓冲液托盘的放置及毛细管预冲洗、分离方法、关机方法请参考SCIEX cIEF试剂盒说明书。

2.2. 试剂及样品

等电点分析：SCIEX cIEF等电点分析试剂盒（PN. A80976）。其他试剂请参照试剂盒说明书推荐厂家购买并进行配制。

本文使用了三种不同的胰岛素制剂：甘精胰岛素、天冬胰岛素、精蛋白胰岛素以及三个不同批次的精蛋白胰岛素，浓度均为3 mg/mL，样品无需超滤可直接使用。

2.3. 样品处理

分析多个样品时，SCIEX推荐按比例预先配置master mix，master mix可简化样品配置并且使误差最小化。按以下比例配置多个样品的master mix量：200 μL 6.25 M 尿素-cIEF胶、12.0 μL 3-10两性电解质、20.0 μL 阴极稳定剂、2.0 μL 阳极稳定剂和2.0 μL 每个pI标准品，置于1.5 mL离心管中，涡旋混匀。取240 μL master mix与10 μL蛋白样品混合，充分涡旋后，将200 μL样品转移至内插管中，低速离心除去气泡后，将PCR样品管放入样品瓶中并用蓝色盖子盖好，放入样品托盘中，最后将样品托盘放入仪器。

3. 结果与讨论

3.1. 不同胰岛素产品等电点分析

本文利用cIEF方法对三种胰岛素类产品的等电点进行了分析。甘精胰岛素仅能够观察到1个主峰，pI值为7.10（图1A）。门冬胰岛素有2个电荷异构体的峰，对应的pI值分别为5.66和5.62（图

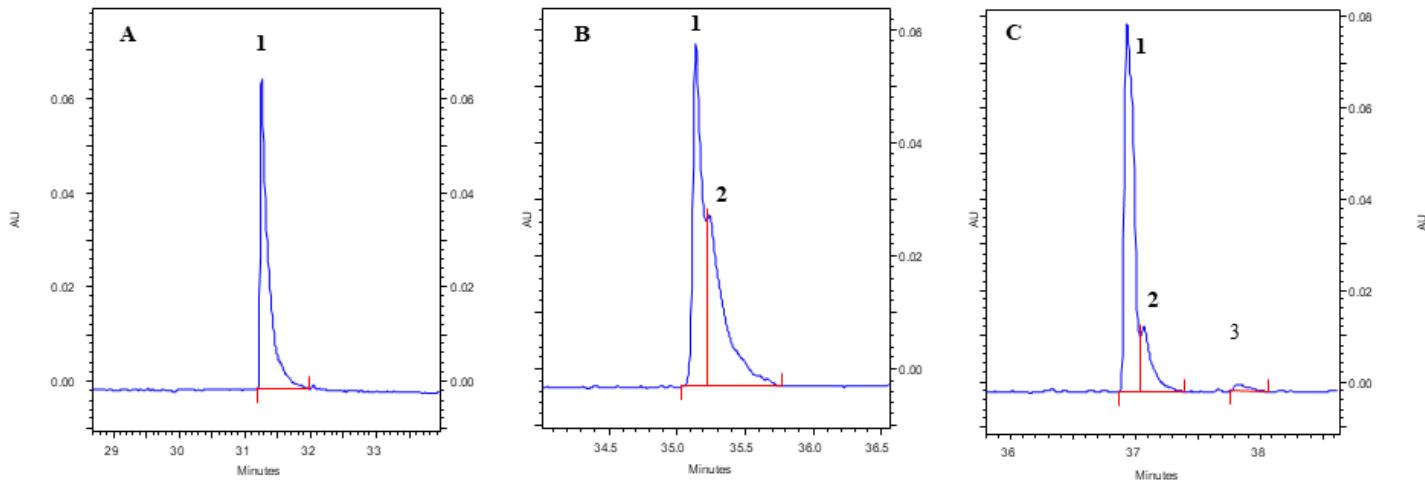


图1.三种胰岛素产品的cIEF分析谱图。图1A~1C依次为甘精胰岛素、门冬胰岛素和精蛋白胰岛素；1为每种胰岛素的主峰，2和3为对应的碱性异构体。

1B）。精蛋白胰岛素的有3个电荷异构体的峰，对应的pI值分别为6.04, 6.00, 5.78（图1C）。

为考察cIEF方法的重复性，本文以门冬胰岛素为例，连续测试6针，结果表现出了高度的谱图一致性（图2），峰1和峰2迁移时间和pI值的RSD均小于0.2%（表1），实验结果证明cIEF方法对于胰岛素等电点的分析表现出极佳的重复性。

3.2. 胰岛素类产品批次一致性分析

在胰岛素类产品的生产过程中，批次一致性分析对于药物申报来说非常重要。本文以精蛋白胰岛素为例，采用cIEF方法对其三个批次的样品进行了分析。三个批次的精蛋白胰岛素样品cIEF分析谱图一致性较好（图3），主峰及其碱性异构体的迁移时间和pI值的RSD均小于1%（表2），实验结果说明该方法适合胰岛素类产品的批次一致性分析。

表1. 门冬胰岛素连续6针cIEF分析迁移时间和pI值汇总表格

名称	迁移时间/min		pI值	
	Peak 1	Peak 2	Peak 1	Peak 2
Run 1	35.14	35.23	5.66	5.62
Run 2	35.16	35.28	5.65	5.61
Run 3	35.2	35.3	5.66	5.62
Run 4	35.25	35.32	5.64	5.63
Run 5	35.28	35.38	5.65	5.61
Run 6	35.26	35.33	5.65	5.61
平均值	35.21	35.31	5.65	5.62
RSD	0.16 %	0.15 %	0.13 %	0.15 %

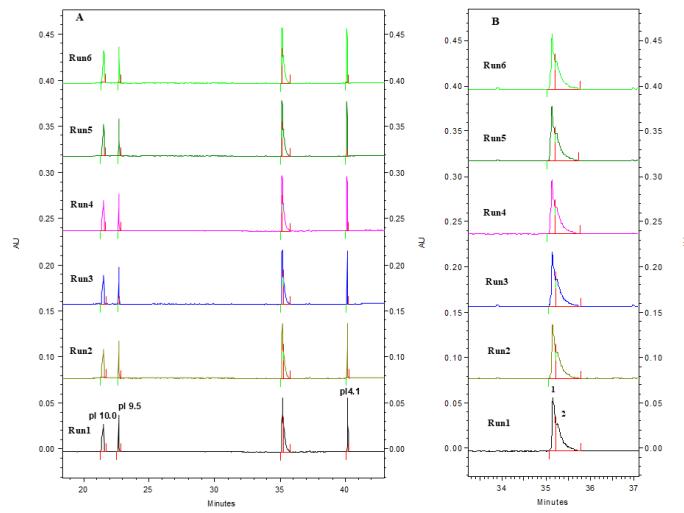


图2. A为门冬胰岛素制剂连续6针cIEF分析的叠加图。B为图样品区域的放大图。

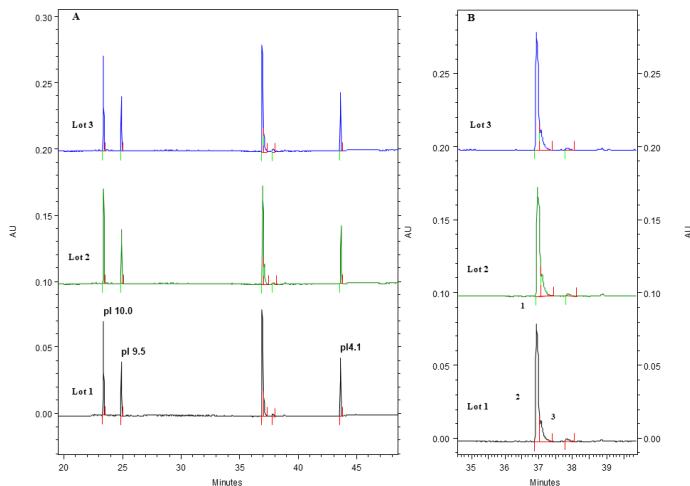


图3. A为三个不同批次的精蛋白胰岛素cIEF分析谱图的叠加图。B为样品区域的放大图。

表2.不同批次精蛋白胰岛素cIEF测定结果汇总表

名称	迁移时间/min			pI值		
	Peak 1	Peak 2	Peak 3	Peak 1	Peak 2	Peak 3
Lot1	36.93	37.07	37.84	6.05	6	5.76
Lot2	36.96	37.1	37.85	6.04	5.98	5.78
Lot3	36.97	37.1	37.86	6.06	5.99	5.72
平均值	36.95	37.09	37.85	6.05	5.99	5.75
RSD	0.06	0.05	0.03	0.16	0.17	0.53

SCIEX临床诊断产品线仅用于体外诊断。仅凭处方销售。这些产品并非在所有国家地区都提供销售。获取有关具体可用信息，请联系当地销售代表或查阅<https://sciex.com.cn/diagnostics>。所有其他产品仅用于研究。不用于临床诊断。本文提及的商标和/或注册商标，也包括相关的标识、标志的所有权，归属于AB Sciex Pte. Ltd. 或在美国和/或某些其他国家地区的各权利所有人。

© 2026 DH Tech. Dev. Pte. Ltd. MKT-37086-A

4. 结论

等电点作为胰岛素类产品的一项关键质量属性，在其生产过程中需要采用适当方法进行严格监控。cIEF方法作为《中国药典》认可的用于蛋白等电点分析的金标准，已经广泛应用于生物制品的等电点分析。基于SCIEX成熟稳定的PA 800 Plus药物分析系统及配套的cIEF等电点分析试剂盒，cIEF方法可以实现对胰岛素类产品的等电点准确分析，并可用于该类产品的稳定性研究、批次一致性分析，有效帮助生产企业对胰岛素类产品更好地进行质量控制。

参考文献

- 胰岛素类产品生物类似药药学研究与评价技术指导原则，国家药品监督管理局药品评审中心，2022年4月



SCIEX中国

北京分公司
北京市昌平区生命科学园科学园路
18号院A座一层
电话：010-5808-1388
传真：010-5808-1390
全国咨询电话：800-820-3488, 400-821-3897

上海公司及中国区应用支持中心
上海市长宁区福泉北路518号
1座502室
电话：021-2419-7201
传真：021-2419-7333
官网：sciex.com.cn

广州办公室
广州国际生物岛星岛环北路1号
B2栋501、502单元
电话：020-8842-4017
官方微信：[SCIEX-China](https://weixin.qq.com)