

中国计量测试学会

量学函〔2025〕13号

中国计量测试学会关于《蛋白质热变性温度（ T_m 值）的测定圆二色光谱法》团体标准征求意见的函

各有关单位：

根据国家标准化管理委员会、民政部印发的《团体标准管理规定》及《中国计量测试学会团体标准管理办法》有关规定，经中国计量测试学会批准立项，由中国计量科学研究院、北京石油化工学院、中国农业科学院农业质量标准与检测技术研究所、上海市计量测试技术研究院、中国医学科学院、SGS-CSTC 标准技术服务（上海）有限公司、山东立菲生物产业有限公司等单位牵头起草的《蛋白质热变性温度（ T_m 值）的测定圆二色光谱法》团体标准现已完成征求意见稿的编制，为保证标准的科学性、严谨性和适用性，现面向社会广泛公开征求意见。

请各有关单位及专家对上述标准提出宝贵意见和建议，于2025年7月12日前将《征求意见反馈表》反馈至以下联系方式。

联系人：李浩正

电 话：13681178893

电子邮箱：lihaozheng@nim.ac.cn

附件：1.《蛋白质热变性温度（ T_m 值）的测定圆二色光谱法》

征求意见稿

2.《蛋白质热变性温度（ T_m 值）的测定圆二色光谱法》

编制说明

3.征求意见反馈表



T/CSMT

团 体 标 准

T/CSMT XXXX—XXXX

蛋白质热变性温度（ T_m 值）的测定 圆二色光谱法

Determination of protein thermal denaturation temperature
(T_m value) by circular dichroism spectrometry method

(征求意见稿)

XXXX—XX—XX 发布

XXXX—XX—XX 实施

中国计量测试学会 发 布

目 次

前 言 II

引 言 III

1 范围 1

2 规范性引用文件 1

3 术语和定义 1

4 缩略语 2

5 原理 2

6 试剂和耗材 2

7 仪器设备 3

8 样品 3

9 试验步骤 3

10 结果报告 4

附 录 A 5

前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别这些专利的责任。

本文件由中国计量科学研究院提出。

本文件由中国计量测试学会归口。

本文件起草单位：中国计量科学研究院、北京石油化工学院、中国农业科学院农业质量标准与检测技术研究所、上海市计量测试技术研究院、中国医学科学院、SGS-CSTC标准技术服务（上海）有限公司、山东立菲生物产业有限公司。

本文件主要起草人：李浩正、武利庆、王晶、温振国、贾兆君、王腾、李亮、李凯、刘刚、李兰英、李莉、朱小琴、温明达、赵超。

引 言

随着国家对生物医药产业的重视，新型治疗策略、新药研发等领域蓬勃发展。蛋白质药物作为生物医药领域的重要组成部分，在过去几十年中取得了显著的发展，在包括癌症、自身免疫疾病、代谢性疾病和遗传疾病等在内的疾病治疗中发挥了重要作用。据统计，蛋白质药物已占据生物医药市场相当大的份额，目前对药物的稳定性测试是新版药典明确要求的，测定蛋白质热变性温度（ T_m 值）广泛应用于药物稳定性测试之中。与包括差示扫描量热法（DSC）在内的传统 T_m 值测定方法相比，圆二色光谱法不仅可以通过扫描光谱计算 T_m 值还能监测蛋白质二级结构的变化信息，实现待测蛋白的动态监测，获得更多的实时信息。这使基于圆二色光谱测定蛋白质热变性温度（ T_m 值）的方法成为蛋白质药物质量检测十分重要的技术手段。

目前，国内外均没有出台利用圆二色光谱仪测定蛋白质热变性温度（ T_m 值）的方法来指导蛋白质相关产品质量控制，缺乏相关方法的一些规范和要求。而利用圆二色光谱仪测定蛋白质热变性温度（ T_m 值）是一种对测试条件和测试程序具有依赖性的方法，且不同种类蛋白质之间具有较大的差异性，这导致了基于圆二色光谱法测定蛋白质热变性温度（ T_m 值）若无广泛认可的标准，将无法保证蛋白质 T_m 值数据的科学性和可比性。

由于目前国家、行业、团体和地方标准中都缺少利用圆二色光谱法测定蛋白质 T_m 值的标准方法，对 T_m 值的测量都依赖各自建立的方法，其中存在各种因素的影响，导致不能建立良好的量值传递，直接影响着相关蛋白质产品的质量，对生物医药行业质量评价体系的建立造成了阻碍。因此这样的大环境下建立基于圆二色光谱法测定蛋白质热变性温度（ T_m 值）稳定、可靠的标准方法，以保障蛋白质热变性温度（ T_m 值）在相关蛋白质产品质量控制中的准确可比，指导我国蛋白质药物等相关产品的研发和临床应用。

蛋白质热变性温度（ T_m 值）的测定 圆二色光谱法

1 范围

本文件规定了基于圆二色光谱法测定蛋白质热变性温度（ T_m 值）的测试方法及步骤。

本文件适用于基础生物学、生物医学和临床医学中需要评估热稳定性并且对紫外、可见波段有吸收的单一手性蛋白质分子（纯度 $\geq 95\%$ ）。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

JY/T 0572-2020 圆二色光谱分析方法通则

3 术语和定义

JY/T 0572-2020界定的以及下列术语和定义适用于本文件。为了便于使用，以下重复列出了JY/T 0572-2020中的某些术语和定义。

3.1

蛋白质热变性温度 Protein Melting Temperature

蛋白质在加热过程中从折叠状态向展开状态转变的中点温度，即蛋白质的热变性中点温度，也称为转变温度或熔解温度，用 T_m 值表示。

3.2

平面偏振光 Plane Polarized Light

所有垂直于光传播方向的电矢量均被约束在一个平面上振动的光，即在光的传播方向上，光矢量只沿一个固定的方向振动，这种光称为平面偏振光，由于光矢量端点的轨迹为一直线，又叫做线偏振光（linearly polarized light）。

[JY/T 0572-2020，术语和定义，3.1]

3.3

圆偏振光 Circularly Polarized Light

垂直于光传播方向的固定平面内，光矢量的大小不变，但随时间以角速度 ω 旋转，电矢量末端在垂直于光传播方向的平面上呈圆形，这种光叫做圆偏振光。在垂直于光传播方向的平面内，若圆偏振光的光矢量随时间变化是顺时针旋转的，则这种圆偏振光叫做右旋圆偏振光；逆时针旋转的，叫做左旋圆偏振光。

[JY/T 0572-2020，术语和定义，3.2]

3.4

椭圆偏振光 Elliptically Polarized Light

在垂直于光传播方向的固定平面内，光矢量的方向和大小都在随时间改变，光矢量的端点描出一个椭圆，这样的偏振光叫做椭圆偏振光。

[JY/T 0572-2020，术语和定义，3.3]

3.5

手性 Chirality

物体不能与其镜像相重叠，这种性质称为手性。手性分子是指不能与其镜像相重叠的分子（chiral molecule）。

[JY/T 0572-2020，术语和定义，3.5]

3.6

圆二色性 Circular Dichroism

是涉及圆偏振光的二色性，即左旋光的和右旋光的差分吸收。由于手性生物分子结构的影响，使得左旋与右旋圆偏振光在折射率上有所差异，因此在重合后会产生附加的相位差，从而使射出的合成线偏光在角度上产生偏转形成椭圆偏振光，这种特性即称为圆二色性。

[JY/T 0572-2020，术语和定义，3.7]

4 缩略语

下列缩略语适用于本文件。

CD：圆二色性（Circular Dichroism）

T_m ：热变性温度（Thermal Denaturation Temperature）

5 原理

圆二色光谱（Circular Dichroism, CD）是通过测量蛋白质分子对左右旋圆偏振光的吸收差异来研究蛋白质结构的技术。蛋白质的二级结构（如 α -螺旋、 β -折叠等）会导致分子对不同偏振光的吸收不同，这种吸收差异即为圆二色效应。利用远紫外区（190-260nm）的光谱特征能够快速分析出溶液中蛋白质的二级结构以及研究蛋白质的折叠和构象变化。通过测定蛋白质在不同温度下的CD值，得到CD值随温度的变化曲线关系，计算 T_m 值及相关参数。

6 试剂和耗材

除特别说明外，本方法所用试剂均为分析纯，试验用水均为GB/T 6682规定的一级水。

6.1 0.2 mol/L 磷酸二氢钠溶液

准确称取 27.80g 一水磷酸二氢钠（ $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ），溶于水，定容至 1000 mL，混匀。

6.2 0.2 mol/L 磷酸氢二钠溶液

准确称取 53.65 g 七水磷酸氢二钠（ $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ），溶于水，定容至 1000 mL，混匀。

6.3 0.2 mol/L 磷酸盐缓冲液（pH 7.4）

量取 19 mL 浓度为 0.2 mol/L 的磷酸二氢钠溶液（6.1）和 81 mL 浓度为 0.2 mol/L 的磷酸氢二钠溶液（6.2），混匀，备用。

6.4 0.01 mol/L 磷酸盐缓冲液（pH 7.4）

量取 50 mL 浓度为 0.2 mol/L 的磷酸盐缓冲液（6.3）溶液加水稀释至 1000 mL，混匀。

6.5 比色皿清洗剂

6.6 无水乙醇

7 仪器设备

7.1 电子天平

感量 0.01 g, 0.0001 g。经过检定校准。

7.2 紫外分光光度计

检验波长准确度和波长重复性, 光度准确度和光度线性范围, 基线稳定性和基线平直度等关键性能指标, 确保仪器整体测量能力良好。

7.3 涡旋混合器

7.4 圆二色光谱仪

使用配置有控温装置的圆二色光谱仪, 确保基线噪声稳定, 检测电压在置信区间, 检测波长准确, 标准样品检测验证合格; 高精度温控设备使用检定合格的温度计进行校准确保温度控制和变温速率准确。

7.5 氮吹仪

8 样品

8.1 定量分析

用电子天平 (7.1) 准确称取至少 1 mg 蛋白质样品, 溶于 200 μ L-300 μ L 水中作为储存溶液, 可结合紫外分光光度计 (7.2) 进行定量, 根据样品特性选择合适储存环境, 如 -20 $^{\circ}$ C 储存备用。

9 试验步骤

9.1 测试样品制备

用 0.01 mol/L 的磷酸盐缓冲液 (6.4) 将样品稀释至 0.25-0.5 mg/mL, 用涡旋混合器 (7.3) 混匀备用。

9.2 测定

9.2.1 开机预热

按圆二色光谱仪 (7.4) 的使用要求, 开启前进行 10-15 min 氮气吹扫 (5 L/min), 开启后预热 15-30 min 再进行测试。

9.2.2 圆二色光谱测定参考条件

- a) 比色皿: 光程 1 mm 的带盖石英比色皿。
- b) 多波长变温扫描参数: 波长检测范围选取 190 nm-260 nm (远紫外区域), 检测通道包括圆二色谱 (Circular Dichroism, CD)、热滴定 (Heat Titration, HT) 和吸光度 (Absorbance, Abs), 数据间隔 0.1 nm、连续扫描模式、扫描速度 50 nm/min、响应时间 2 s、带宽 1 nm、累积 3 次。温度检测间隔为 2 $^{\circ}$ C, 加热速率为 2 $^{\circ}$ C/min, 保温 15 s, 起始温度 25 $^{\circ}$ C, 终止温度 95 $^{\circ}$ C, 可根据蛋白质性质适当调整。
- c) 单波长变温扫描参数: 选定检测波长, 检测通道包括 CD、HT 和 Abs, 响应时间 1 s、带宽 1 nm、温度检测间隔为 1 $^{\circ}$ C, 加热速率为 1 $^{\circ}$ C/min, 保温 15 s, 起始温度 25 $^{\circ}$ C, 终止温度 95 $^{\circ}$ C, 可根据蛋白质性质适当调整。

9.2.3 圆二色光谱测定步骤

- a) 比色皿清洗：用比色皿清洗液（6.5）彻底清洗比色皿，然后用大量水清洗去除洗涤剂，最后用无水乙醇（6.6）冲洗比色皿，并用氮吹仪（7.5）吹干，空比色皿使用圆二色光谱仪进行测试无手性吸收即符合要求。
- b) 多波长变温扫描：打开圆二色光谱仪多波长变温扫描程序，在比色皿中加入2/3体积的磷酸盐缓冲液（6.4），确保比色皿内无气泡进行基线扫描，扣除背景基线。基线背景扣除后，再次进行比色皿清洗，至空比色皿无手性吸收。在比色皿中加入2/3体积的待测蛋白质样品（9.1），确保比色皿内无气泡，按9.2.2中的多波长变温扫描参数对待测样品进行检测，获得CD光谱图，确定对温度响应灵敏的波长，初步获得待测样品的热变性信息。
- c) 单波长变温扫描：通过分析多波长变温扫描得到的CD光谱图选择合适的检测波长，打开圆二色光谱仪单波长变温扫描程序。在比色皿中加入2/3体积的磷酸盐缓冲液（6.4），确保比色皿内无气泡进行基线扫描，扣除背景基线。基线背景扣除后，再次进行比色皿清洗，至空比色皿无手性吸收。在比色皿中加入2/3体积的待测蛋白质样品（9.1），确保比色皿内无气泡，按9.2.2中的单波长变温扫描参数对待测样品进行检测，记录各温度点的CD值。

9.2.4 关机

测试完成后，取出样品，依次关闭光源、软件和仪器开关，5min后关闭氮气。

9.3 T_m 值计算及分析

9.3.1 T_m 值计算

将蛋白质样品测试波长下各温度点的CD光谱数据进行读取，绘制温度-CD值关系曲线，可根据测试结果进行适当平滑处理，利用仪器配置分析模块或其他分析软件将CD值随温度的变化曲线关系进行拟合，可计算出曲线中CD值变化最大点对应的温度，即为 T_m 值。

9.3.2 重复性

在重复条件下，获得的三次独立测定结果的相对标准偏差（RSD）不大于5%。

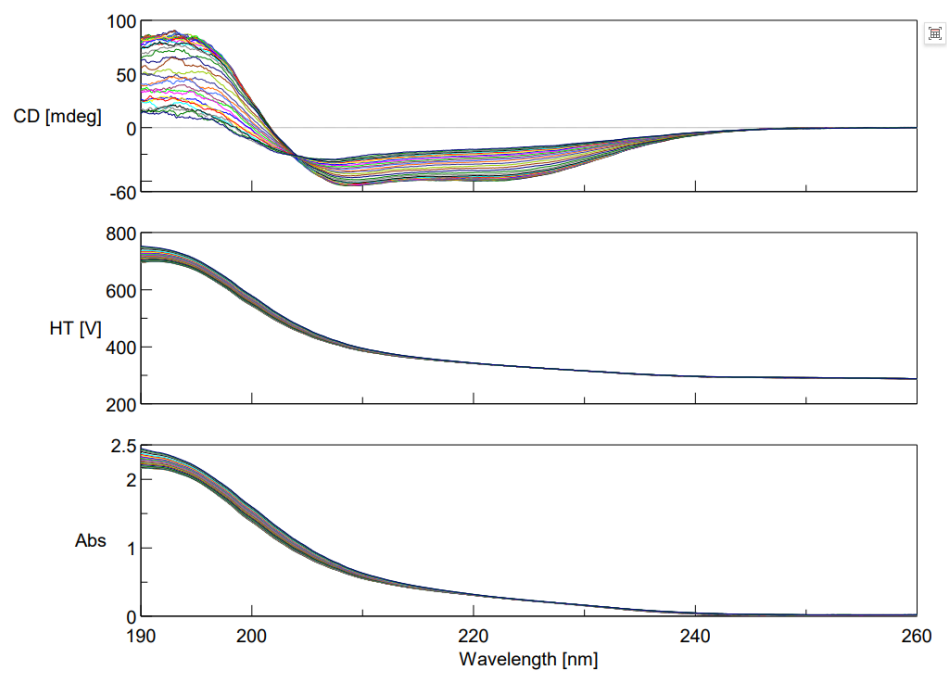
10 结果报告

结果报告中可包括：委托单位信息、样品信息、仪器设备信息、环境条件、制样方法、检测方法（依据标准）、检测结果（包含实验条件、CD光谱图、 T_m 值等）、检测人、校准人、批准人、检测日期等。

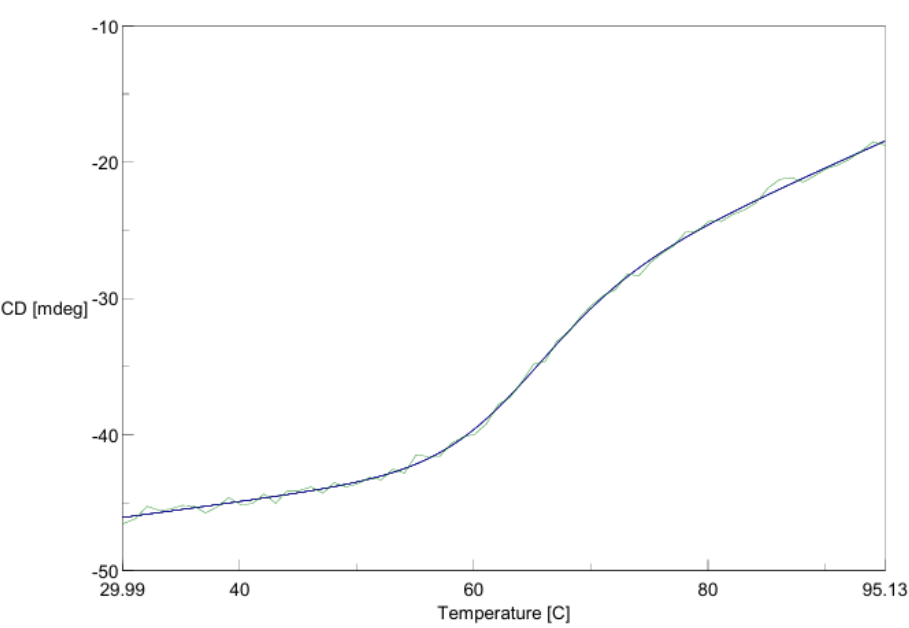
附 录 A

(示例)

A. 1 多波长变温扫描示例图



A. 2 单波长变温扫描示例图



《蛋白质热变性温度（ T_m 值）的测定 圆二色光谱法》

（团体标准）编制说明

一、工作简况

（一）任务来源

《蛋白质热变性温度（ T_m 值）的测定 圆二色光谱法》团体标准是由中国计量测试学会批准立项，文件号量学发【2024】193 号。本标准立项申请由中国计量科学研究院提出，并牵头研究制定。

（二）目的、意义及必要性

随着国家对生物医药产业的重视，新型治疗策略、新药研发等领域蓬勃发展。蛋白质药物作为生物医药领域的重要组成部分，在过去几十年中取得了显著的发展，在包括癌症、自身免疫疾病、代谢性疾病和遗传疾病等在内的疾病治疗中发挥了重要作用。据统计，蛋白质药物已占据生物医药市场相当大的份额，尤其是单克隆抗体已经成为销售额最高的药物类别之一。并且蛋白质药物从研发到上市的时间正逐渐缩短，越来越多的蛋白质药物逐渐进入市场。目前对药物的稳定性测试是相关法律法规明确要求的，测定蛋白质热变性温度（ T_m 值）已广泛应用于药物稳定性测试之中，而圆二色光谱仪不仅可以通过扫描光谱计算 T_m 值还能监测蛋白质二级结构的变化信息，这使基于圆二色光谱测定蛋白质热变性温度（ T_m 值）的方法成为蛋白质药物质量检测十分重要的技术手段。

英国国家物理实验室（NPL，National Physical Laboratory，UK）通过对蛋白质热稳定性表征技术的研究，开发了基于圆二色光谱技术评价蛋白质热稳定性的参考程序，并和中国计量科学研究院（NIM，National Institute of Metrology，China）主导开展了蛋白质抗生素热稳定性国际比对（VAMAS TWA 40 project 6），证实了圆二色光谱技术在测定蛋白质热稳定性中的可行性，其中测定的 T_m 值也作为评价该测量方法的重要量化指标。NPL 计划将比对采用的方法作为表征蛋白质热稳定性的标准参考方法应用于欧洲药典，作为药物物质控的一种手段。

在目前 GMP 监管体系下,国内外法规均没有出台应用于制药企业质量控制实验室的蛋白质热变性温度 (T_m 值) 测定方法, 缺乏对相关方法的一些规范和要求。利用圆二色光谱仪测定蛋白质热变性温度 (T_m 值) 是一种对测试条件和测试程序具有依赖性的方法, 且不同种类蛋白质之间具有较大的差异性, 这导致了基于圆二色光谱法测定蛋白质热变性温度 (T_m 值) 若无广泛认可的标准, 将无法保证蛋白质 T_m 值数据的可靠性和科学性。

综上所述, 由于目前国家、行业、团体和地方标准中都缺少对蛋白质 T_m 值测定的标准方法, 对 T_m 值的测量都依赖各自建立的方法, 其中存在各种因素的影响, 导致不能建立良好的量值传递, 严重影响了蛋白质药物质量控制, 对生物医药行业质量评价体系的建立造成了阻碍。在国际上, 英国 NPL 已经针对这部分缺失对蛋白质稳定性计量方法进行了研究, 并计划建立参考方法指导医药行业质量控制。因此这样的大环境下, 急需建立基于圆二色光谱法测定蛋白质热变性温度 (T_m 值) 稳定、可靠的标准方法, 以保障蛋白质热变性温度 (T_m 值) 在相关药物质量控制中的准确可比, 指导我国蛋白质药物等相关产品的研发和应用。

(三) 团体标准起草单位和主要起草人

本标准起草单位: 中国计量科学研究院、北京石油化工学院、中国农业科学院农业质量标准与检测技术研究所、上海市计量测试技术研究院、中国医学科学院、SGS-CSTC 标准技术服务(上海)有限公司、山东立菲生物产业有限公司。

本标准主要起草人: 李浩正、武利庆、王晶、温振国、贾兆君、王腾、李亮、李凯、刘刚、李兰英、李莉、朱小琴、温明达、赵超。

(四) 主要工作

(1) 2024 年 8 月 13 日, 完成《蛋白质热变性温度 (T_m 值) 的测定 圆二色光谱法》团体标准立项。

(2) 2024 年 8 月-9 月, 根据立项审查会意见, 修改了《蛋白质热变性温度 (T_m 值) 的测定 圆二色光谱法》草案, 形成第一稿标准草案。

(3) 2024 年 10 月-12 月, 开展方法验证实验, 结合实验结果和起草小组专家的建议, 修改完善标准草案。

(4) 2025 年 1 月-3 月, 广泛咨询方法应用端的资深专家并与国家标准制定

的相关专家深入研讨，对标准草案进行修订和完善，确定标准的框架结构、内容细节，确保草案的准确性、完整性和一致性。

(5) 2025 年 4 月-5 月，根据实验结果、讨论内容以及反馈意见，进一步形成标准征求意见稿与编制说明，并向本领域公开征求修改建议。

二、标准编制原则和确定标准主要内容的依据

(一) 标准制定原则

本标准的制定符合生物产业发展需要的原则，本着标准化、科学性、实用性、安全性和创新性原则进行本标准的制定工作。根据《中华人民共和国标准法》、《标准化工作导则 第 1 部分：标准化文件的结构和起草规则》(GB/T 1.1-2020) 进行编制。

(二) 标准的主要技术内容

本团体标准主要包含采用圆二色光谱法测定蛋白质热变性温度 (T_m 值) 的样品处理、检测方法、数据处理等内容，标准架构上包括前言、范围、规范性引用文件、术语和定义、原理、要求、仪器性能指标及测试条件、试验步骤、数据处理和分析、结果报告等。

(三) 关键技术问题说明

(1) 技术原理

圆二色光谱 (Circular Dichroism, CD) 是通过测量蛋白质分子对左右旋圆偏振光的吸收差异来研究蛋白质结构的技术。蛋白质的二级结构 (如 α -螺旋、 β -折叠等) 会导致分子对不同偏振光的吸收不同，这种吸收差异即为圆二色效应。利用远紫外区 (190~260nm) 的光谱特征能够快速分析出溶液中蛋白质的二级结构以及研究蛋白质的折叠和构象变化。通过测定蛋白质在不同温度下的 CD 值可以获得蛋白质的 T_m 信息。

蛋白质的二级结构 (如 α -螺旋、 β -折叠) 在远紫外区 (190-260 nm) 具有特征性 CD 吸收峰。例如 α -螺旋在 222 nm 和 208 nm 处呈现负峰， β -折叠在 218 nm 附近有负吸收峰，而无规卷曲在 200 nm 附近呈现较宽的负峰。当温度升高时，

蛋白质的二级结构逐渐去折叠，导致这些特征峰的强度发生变化。 α -螺旋的减少会使 222 nm 处的负峰减弱。通过连续监测特定波长（如 222 nm）的 CD 值随温度的变化，可绘制出热变性曲线。因此，通常情况会选择 α -螺旋敏感的 222 nm 或 β -折叠敏感的 218 nm 作为监测波长，但是也需要结合不同待测蛋白的特性进行综合分析才能确定合适的 CD 峰值波长。通过匀速升高样品池温度，同时记录 CD 值变化，将 CD 值随温度的变化曲线关系用波尔兹曼方程等模型拟合，计算出 T_m 值及相关参数。

（四）主要试验（或验证）情况分析

为验证本团体标准的方法准确性、适用性、可重复性等，起草小组选取了几种行业内代表性蛋白质相关产品（牛血清白蛋白、溶菌酶、卵清白蛋白、蛋白酶、某三聚体抗原、人血清白蛋白）进行了测试，同时与业内公认的“金标准”差示扫描量热法（DSC）进行了比较。结果显示，使用本团体标准方法进行 T_m 值测定的准确性、重复性良好，与 DSC 测试结果相符，证明本标准切实可行。

表 1 圆二色光谱法测定蛋白质 T_m 值结果汇总

样品名称	圆二色光谱法测定 T_m 值（℃）			平均值（℃）	RSD
	1	2	3		
牛血清白蛋白	64.19	63.70	64.08	63.99	0.40%
溶菌酶	76.91	76.79	76.38	76.69	0.36%
蛋白酶	76.88	77.94	77.31	77.38	0.69%
卵清白蛋白	75.54	75.42	75.13	75.36	0.28%
某三聚体抗原	82.40	82.51	82.20	82.37	0.19%
人血清白蛋白	66.88	65.96	67.34	66.73	1.05%

起草小组通过采用本团体标准的方法对牛血清白蛋白、溶菌酶、卵清白蛋白、蛋白酶、某三聚体抗原、人血清白蛋白进行了变温广谱扫描确定合适的峰值波长。图 1 中列举了部分蛋白质的变温光谱扫描谱图，图 2 列举了部分蛋白质单波长（222 nm）变温扫描测定 T_m 值的变温曲线。对每种蛋白重复测定三次计算平均值和 RSD，所得结果汇总于表 1。其中三聚体抗原 CD 值随时间变化相对较小，

原始数据直接拟合变温曲线相对困难，因此我们对曲线进行了平滑处理后进行拟合。重复测量结果显示该方法的 RSD 均在较低水平，本团体标准通过规范仪器参数设置和相关试验操作可以很好的标准化该方法的应用。

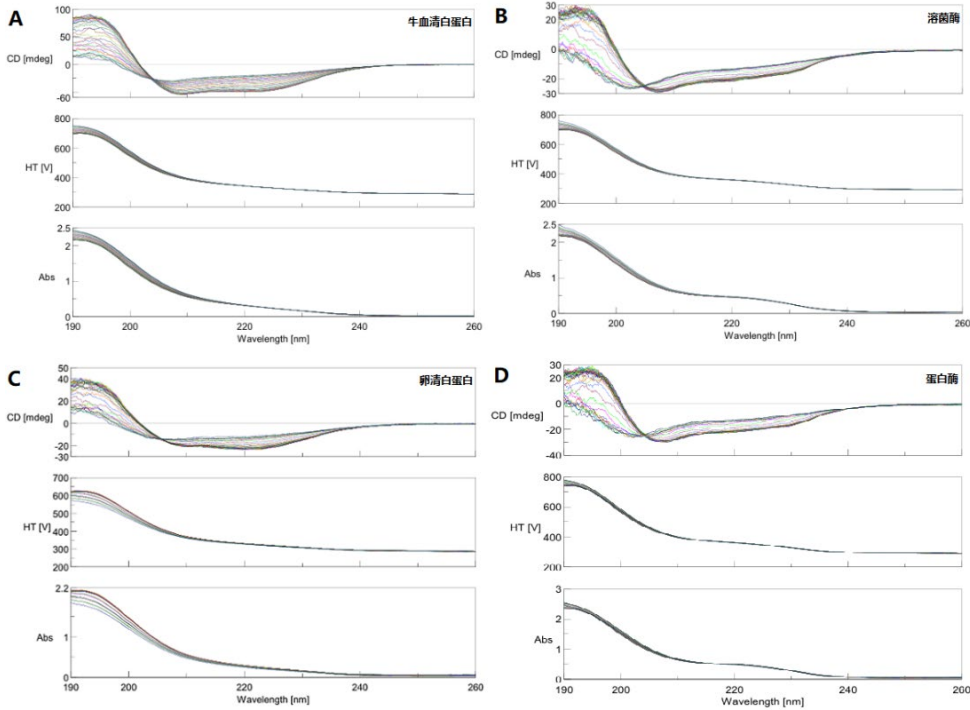


图 1：部分蛋白质圆二色光谱变温广谱扫描图

(A: 牛血清白蛋白、B: 溶菌酶、C: 卵清白蛋白、D: 蛋白酶)

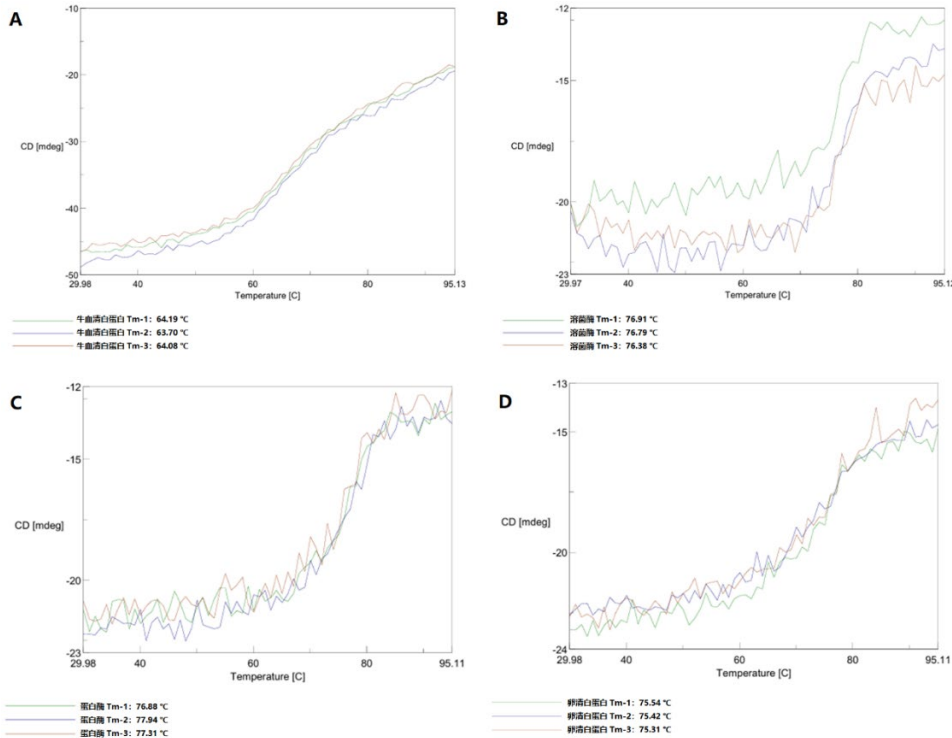
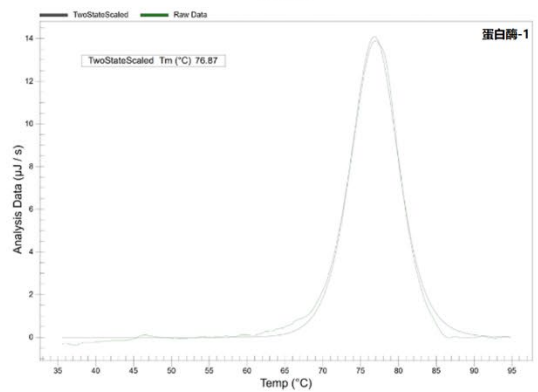
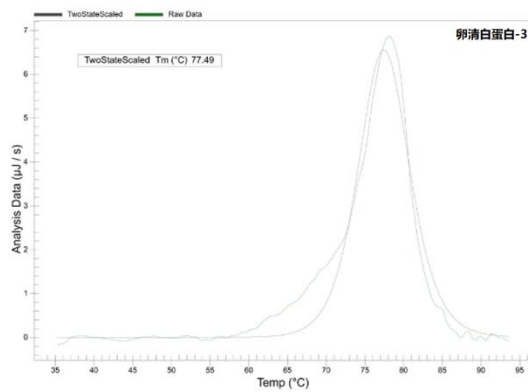
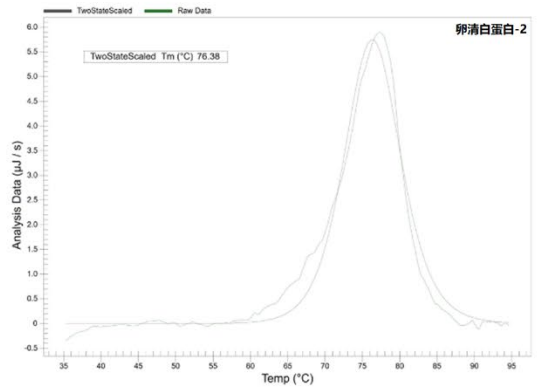
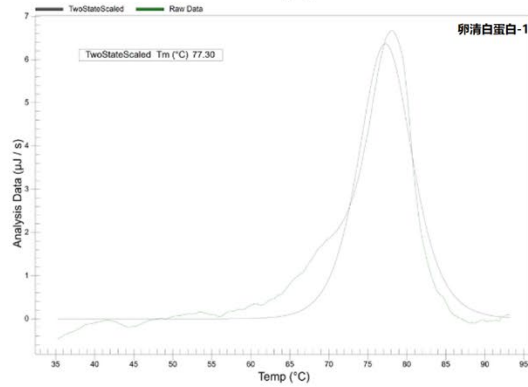
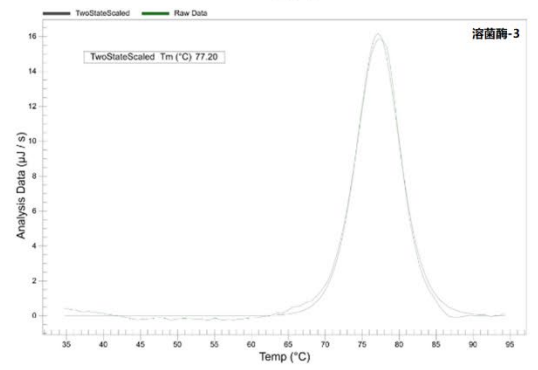
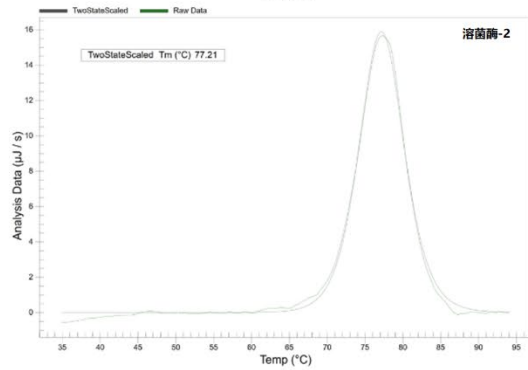
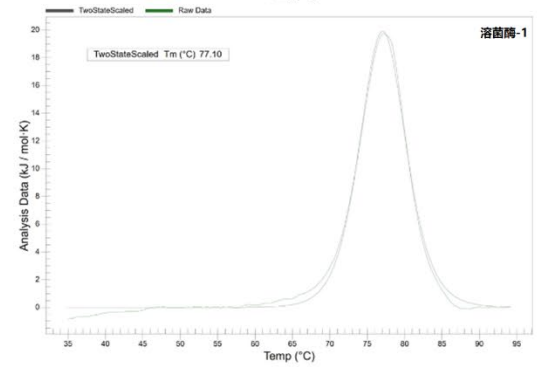
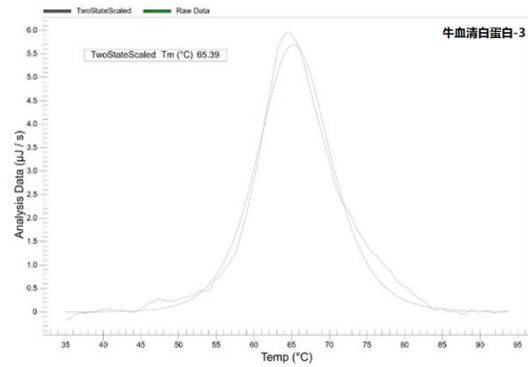
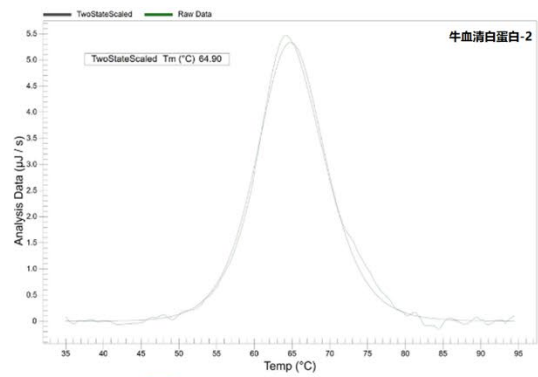
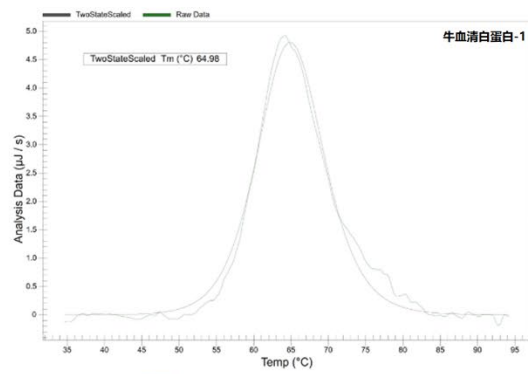


图 2：部分蛋白质单波长（222 nm）圆二色光谱法测定 T_m 值变温曲线

(A: 牛血清白蛋白、B: 溶菌酶、C: 蛋白酶、D: 卵清白蛋白)



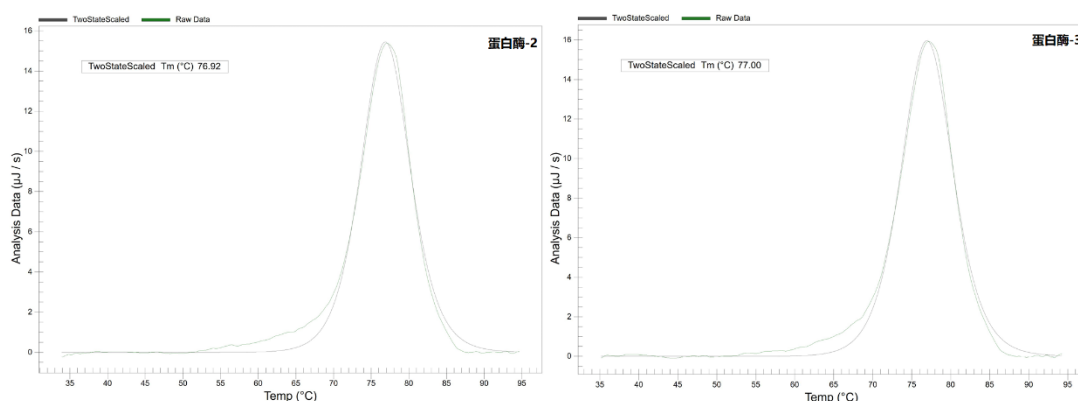


图3 部分蛋白质差示扫描量热法测定 T_m 值的 DSC 曲线
(A: 牛血清白蛋白、B: 溶菌酶、C: 卵清白蛋白、D: 蛋白酶)

为了验证结果准确性，起草小组还使用差式扫描量热法对相同的样品进行了检测验证，图3列举了部分蛋白质的DSC曲线。每种测试样品重复测量三次，计算平均值和RSD，所得结果汇总于表2。通过对两种方法结果的对比发现，两种方法测得相同蛋白的 T_m 值能够吻合。

此外，前期蛋白质抗生素热稳定性国际比对（VAMAS TWA 40 project 6）开展过程中，本团体标准中5家起草单位参与其中，使用了不同型号圆二色光谱仪进行了热稳定性的测定。最终的比对结果通过收集汇总具有可比性，也为本团体标准的制定提供了支撑。

综上所述，使用本团体标准建立的圆二色光谱法测定 T_m 值结果准确可比，达到了规范使用圆二色光谱法测量 T_m 值的目的，符合应用预期。

表2 差示扫描量热法测定蛋白质 T_m 值结果汇总

样品名称	差示扫描量热法测定 T_m 值（°C）			平均值 （°C）	RSD
	1	2	3		
牛血清白蛋白	64.98	64.90	65.39	65.09	0.40%
溶菌酶	77.10	77.21	77.20	77.17	0.08%
蛋白酶	76.87	76.92	77.00	76.93	0.09%
卵清白蛋白	77.30	76.38	77.49	77.06	0.77%
某三聚体抗原	82.80	82.74	82.51	82.68	0.19%
人血清白蛋白	65.69	65.94	65.79	65.81	0.02%

三、与现行法律法规、强制性标准和其他有关标准的关系，采用国际标准的程度

及水平简要说明

本标准与现行法律法规、强制性标准和其他有关标准协调一致。

本标准制定过程中未查询到国际标准。

四、重大分歧意见的处理结果和依据。

本标准制定过程中无重大分歧意见。

五、贯彻促进会标准的要求和措施建议（包括组织措施、技术措施、过渡办法等内容）

本标准属于团体标准，供学会会员和社会自愿使用。

六、其他应予说明的事项。

无。

《蛋白质热变性温度（ T_m 值）的测定 圆二色光谱法》团体标准起草小组

2025 年 6 月

附件3

团体标准（征求意见稿）反馈意见表

团体标准名称：蛋白质热变性温度（Tm值）的测定 圆二色光谱法

归口单位：中国计量测试学会

起草单位：中国计量科学研究院

联系人：李浩正

地址邮编：北京市朝阳区北三环东路18号 100029

电话：13681178893

E-mail：lihaozheng@nim.ac.cn

序号	章条号	意见内容	修改建议及理由	提出单位

填表人：

联系地址：

电子邮箱：

手机号：