



宿主细胞DNA残留定量检测

快速、灵敏、准确、高通量

Applied Biosystems resDNASEQ宿主细胞DNA残留定量系统:

CHO、*E.coli*、Vero、NSO、MDCK、*Pichia pastoris*、Human

一切源于精确！

完整的实时荧光定量PCR系统，实现宿主细胞DNA残留的定量检测，可与手动或自动的样品制备配合使用。

我们的Applied Biosystems™ resDNASEQ™宿主细胞DNA残留定量系统(图1)可就生物制药产品中不同水平含量的宿主细胞DNA残留进行检测。系统提供：

- 经过优化的样品制备，适用于从各种复杂的样品基质中定量回收DNA
- 采用经考验的实时定量PCR技术进行高灵敏度的定量检测
- 特异针对目标宿主细胞DNA进行检测，与其他无关DNA不发生交叉反应
- 在预期的DNA片段大小范围内，结果保持良好的一致性
- 准确、可靠且可重复的结果

提供下列目前常用细胞系的分析检测：

CHO、*E.coli*、Vero、NS0、MDCK、*Pichia pastoris* 和Human。

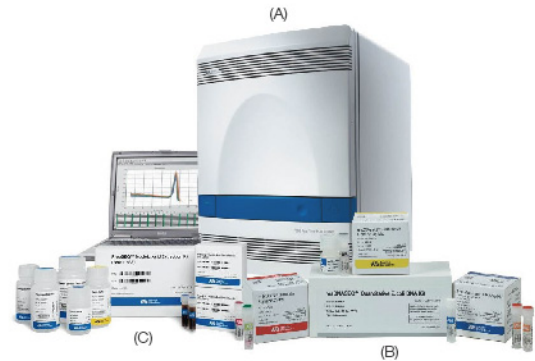


图1. resDNASEQ宿主细胞DNA残留定量系统的组成。(A) 7500型快速实时荧光定量PCR仪, AccuSEQ™或SDS软件, 以及可选的21 CFR Part 11模块; (B) resDNASEQ宿主细胞DNA残留定量试剂盒; (C) PrepSEQ™ DNA残留样品制备试剂盒及模块R。

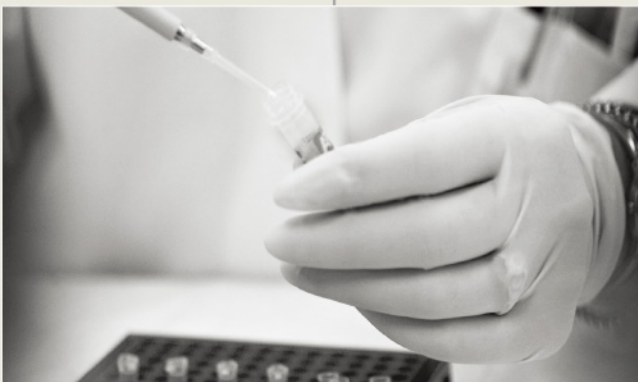
resDNASEQ™宿主细胞DNA残留定量系统包括：

- TaqMan™引物和探针
- TaqMan™ PCR Mix预混液
- 宿主细胞基因组DNA标准品
- 阴性对照

PrepSEQ™ DNA残留样品制备试剂盒包括：

- PrepSEQ™核酸提取试剂盒
- PrepSEQ™残留DNA提取专用模块

Manual Sample Preparation



Sample Collection



Automated Sample Preparation

从复杂基质中高效回收DNA

PrepSEQ DNA残留样品制备试剂盒及操作步骤经过优化，能对典型的生物制药纯化过程样品实现非常高效的DNA回收。其始终如一的性能已经在多种复杂的待测样品基质中得到了证明。我们还在加标了CHO DNA的下列基质中对DNA回收率进行了验证：

- Acetate [20 mMl pH 3.5
- Acetate [500 mMl pH 3.5
- HCl [12 mMl pH 3.0
- Glycine [20 mMl pH 2.0
- Glycine [500 mMl pH 2.0
- Acetate/NaCl [300 mM/0.5 Ml pH 4.5
- MES/NaCl [300 mM/0.5 M) pH 6.5
- Bis [300 mM) pH 6.5; MES [300 mM) pH 6.0
- Phosphate [300 mM) pH 5.0
- Tris [50 mM) pH 8.0

表1. 利用手动的PrepSEQ样品制备步骤回收DNA。分析性能数据来自独立的验证研究，研究经过2名不同的分析员，使用15个待测样品，每个样品平行测试3次，每个样品加标10 pg CHO gDNA。

Typical Antibody Drug Substance		
	Mean recovery	Mean %CV
CHO	89%	6.8%

通过自动化实现高效率的检测KingFisher Flex 96

采用核酸提取仪实现样品制备过程的自动化，有助于提高通量、效率和重复性。利用自动化的系统，可实现多达24个待测样品(每个样品重复三次)的分离，整个过程可在2小时内完成。

KingFisher Flex 96型核酸提取仪

- 与手动过程相比，通量是手工方法的6倍
- 磁珠捕获，无需抽真空或离心
- 能一次处理1-96个样品
- 更容易控制交叉污染
- 用户之间的差异性更小



实现更高灵敏度的宿主细胞DNA残留的定量分析

resDNASEQ宿主细胞DNA残留定量试剂盒展现出宽泛的动态范围和高灵敏度(图2)。分析的定量极限值(LOQ)是把基因组DNA标准品加入至含50 mg/ml IgG的待测样品基质，计算回收和定量检测结果而获得的。典型的结果为：

- CHO 1.5 pg/mL
- Vero 1.5 pg/mL
- NS0 1.5 pg/mL
- MDCK 1.5 pg/mL
- E.coli 15 pg/mL
- Human 15 pg/mL
- Pichia pastoris 15 pg/mL

即使是片段化的DNA，同样能获得一致的结果

为获得最准确的宿主细胞DNA残留定量，实验结果必须不受待测样品中DNA片段大小的影响(图3)。

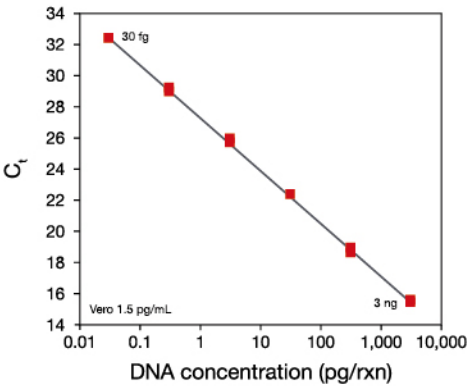
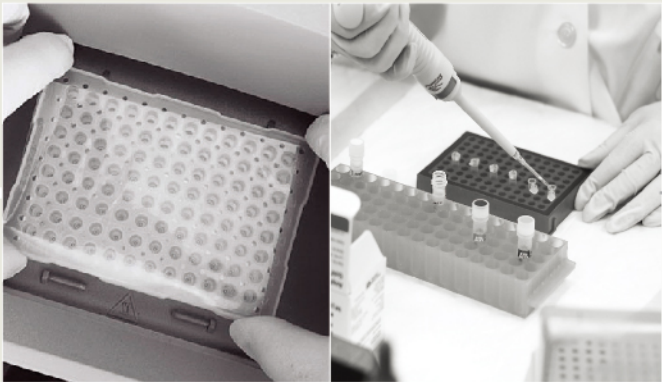


图2. Vero DNA标准品的10倍连续稀释所产生的标准曲线。



Real-Time PCR



自信地分析和阐释数据

AccuSEQ Real-Time PCR软件是一款直观易用的分析工具，用于数据分析。该软件能在整个实验和平板设置中指导用户，并提供易用的工具，来定义和设置标准品、对照及未知样品。对于标准曲线，用户指定浓度点、重复、起始量和连续稀释倍数等数字，软件会自动生成PCR曲线(图4)。每个resDNASEQ宿主细胞DNA残留定量试剂盒都有一个自定义的模板。在运行结束之后，未知样品的量、重复之间的平均量和标准偏差都以表格提供，可导出成.pdf、.xls和.txt形式。

样品制备、分析设置、仪器运行和数据分析通常可在4小时内完成。准确的当天结果有助于实现一班制的在线检测，减少外包服务的需求。

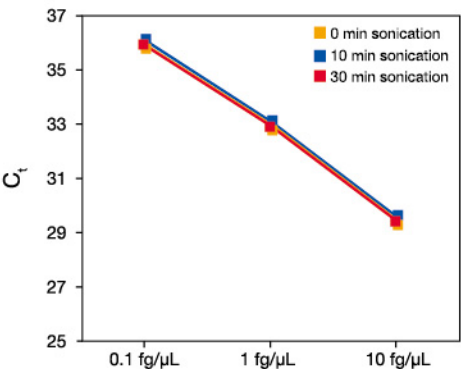


图3. 片段化DNA的分析。从高分子量DNA (0分钟)到片段化DNA (10和30分钟)产生的标准曲线。

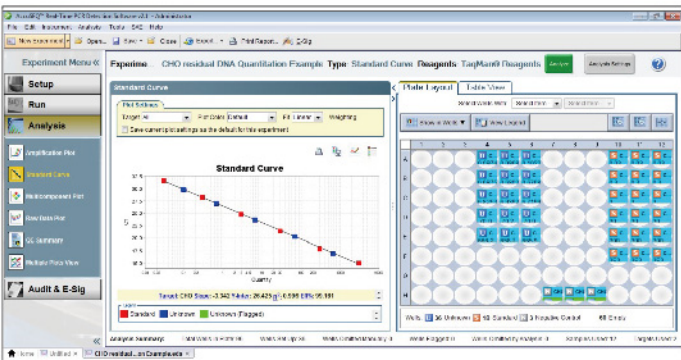


图4. AccuSEQ软件输出。软件根据实验参数自动生成标准曲线。

快速高效的验证

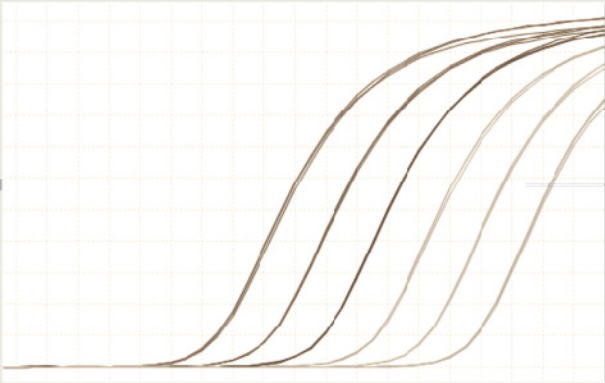
为证明试剂盒性能并为实验设计验证提供指导，PrepSEQ和resDNASEQ试剂盒参数(CHO试剂盒)已通过一家生物制药外包研究机构(CRO)进行检测和研究，该研究是根据ICH Q2 (R1)指引-分析步骤的验证来设计的。在研究中，采用典型的单克隆抗体替代实验样品基质，评估了PrepSEQ试剂盒回收DNA的效率以及使用resDNASEQ试剂盒的定量检测结果。采用PrepSEQ和resDNASEQ试剂盒获得的结果(如范围、线性、特异性、准确性、精确度和定量极限(LOQ))全都达到甚至超过试剂盒提供的性能参数。

专业的应用支持给您带来的帮助

我们的销售和服务网络是由训练有素的支持和应用人员组成的，遍布六大洲的150个国家。为了实现最高效的执行、资格鉴定和验证，特提供以下更多的服务：

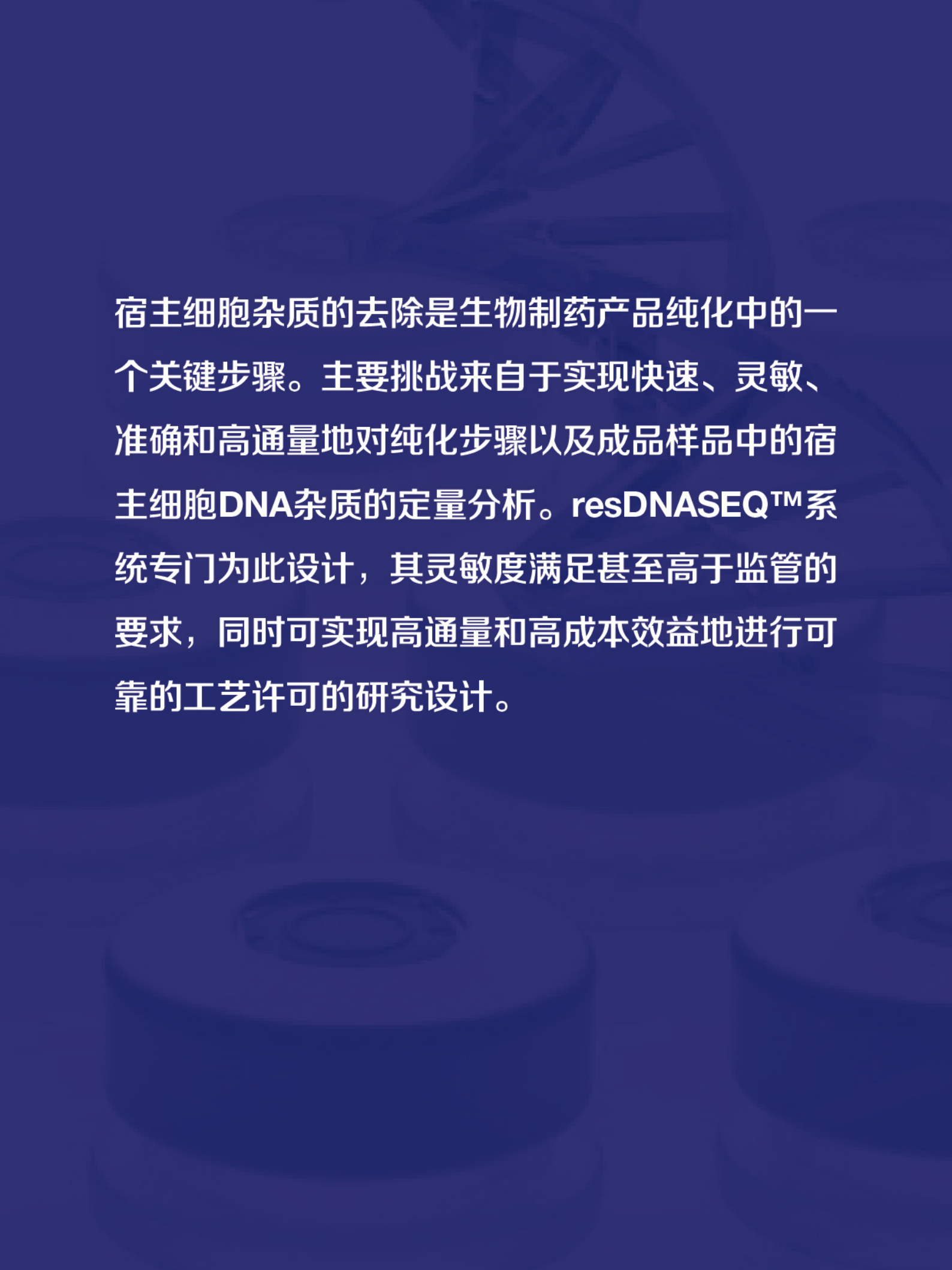
- IQ/OQ操作步骤和执行
- PQ指导
- 现场仪器支持和技术培训
- 方法验证指导
- 为您选定的宿主细胞系提供试剂定制服务

Analysis



Report

Results Summary			
Sample	Target	Quantity (Mean)	Quantity (Std Dev)
Ion Exchange_1	CHO	7.36	1.01
Ion Exchange_2	CHO	8.01	0.96
Ion Exchange_3	CHO	8.13	1.23
Hydrophobic Interaction_1	CHO	7.07	0.72
Hydrophobic Interaction_2	CHO	7.18	0.27
Protein A_1	CHO	9.09	0.13
Protein A_2	CHO	8.30	.074



宿主细胞杂质的去除是生物制药产品纯化中的一个关键步骤。主要挑战来自于实现快速、灵敏、准确和高通量地对纯化步骤以及成品样品中的宿主细胞DNA杂质的定量分析。resDNASEQ™系统专门为此设计，其灵敏度满足甚至高于监管的要求，同时可实现高通量和高成本效益地进行可靠的工艺许可的研究设计。

订购信息

产品	货号
resDNASEQ残留DNA (CHO)定量检测系统	
resDNASEQ残留DNA (CHO)定量检测试剂盒(100rxn, 不含说明书)	4402085
resDNASEQ残留DNA (CHO)定量检测试剂盒+PrepSEQ残留DNA样品制备试剂盒(100rxn, 不含说明书)	4413713
resDNASEQ残留DNA (E.coli)定量检测系统	
resDNASEQ残留DNA (E.coli)定量检测试剂盒(100rxn, 不含说明书)	4458435
resDNASEQ残留DNA(E.coli)定量检测试剂盒+prepSEQ残留DNA样品制备试剂盒(100rxn, 不含说明书)	4460366
resDNASEQ残留DNA (NSO)定量检测系统	
resDNASEQ残留DNA (NSO)定量检测试剂盒(100rxn, 不含说明书)	4458441
resDNASEQ残留DNA(NSO)定量检测试剂盒+prepSEQ残留DNA样品制备试剂盒(100rxn, 不含说明书)	4460364
resDNASEQ残留DNA (Vero)定量检测系统	
resDNASEQ残留DNA(Vero)定量检测试剂盒(100rxn, 不含说明书)	4458444
resDNASEQ残留DNA(Vero)定量检测试剂盒+prepSEQ残留DNA样品制备试剂盒(100rxn, 不含说明书)	4460367
resDNASEQ残留DNA (MDCK)定量检测系统	
resDNASEQ残留DNA (MDCK)定量检测试剂盒(100rxn, 不含说明书)	4464335
resDNASEQ残留DNA (MDCK)定量检测试剂盒+prepSEQ残留DNA样品制备试剂盒(100rxn, 不含说明书)	4464339
resDNASEQ残留DNA (Pichia pastoris)定量检测系统	
resDNASEQ残留DNA (Pichia pastoris)定量检测试剂盒(100rxn, 不含说明书)	4464336
resDNASEQ残留DNA (Pichia pastoris)定量检测试剂盒+prepSEQ残留DNA样品制备试剂盒(100rxn, 不含说明书)	4464340
resDNASEQ残留DNA (Human)定量检测系统	
resDNASEQ残留DNA (Human)定量检测试剂盒(100rxn, 不含说明书)	A26366
resDNASEQ残留DNA (Human)定量检测试剂盒+prepSEQ残留DNA样品制备试剂盒(100rxn, 不含说明书)	A27335
PrepSEQ残留DNA样品制备试剂盒	
PrepSEQ残留DNA样品制备试剂盒(100rxn, 不含说明书)	4413686
AccuSEQ实时荧光定量PCR软件	
AccuSEQ实时荧光定量PCR软件v2.1 (含AccuSEQ软件v2.1)	4443420
自动化核酸提取仪	
KingFisher Flex 96磁珠法核酸自动提取仪(96 Deep-well)	A31508



赛默飞
官方微信



赛默飞
Applied Biosystems
官方微信

免费服务电话: 800 820 8982/400 820 8982
销售服务信箱: sales.china@thermofisher.com
技术咨询信箱: lifescience-cn@thermofisher.com

ThermoFisher
SCIENTIFIC