

可靠 高效 | 细胞系遗传稳定性检测方案确保产品质量一致性

CHO 细胞系遗传稳定性检测

Genetic stability Testing for CHO Cell Line

4 CHO 生产细胞系的遗传稳定性和克隆性与单克隆产品的质量一致性密切相关。博瑞策生物为您的生产细胞系遗传稳定性检测提供全面解决方案，确保细胞系构建开发 (CLD)，克隆性 (Clonality) 遗传稳定性 (Genetic stability) 等的稳定一致，以确保产品质量。

遗传稳定性检测法规监管要求



根据指导方针，监管机构要求必须在两个时间点 (即 MCB 和 EOPC 水平) 分析细胞基质，监测其基因稳定性、确认表达载体的编码序列或相应的 RNA 转录产物、转基因的拷贝数、以及限制性内切酶图谱证明其完整性和整合模式。
参考 ICH Q5B



WHO 建议检测 MCB/WCB 和 ECB 或 EOPC 之间的稳定性。如基因的拷贝数、插入基因位置、使用一代测序检测插入序列等。
参考 TRS 978 / Annex 3

遗传稳定性传统检测方法

检测项目	传统解决方案
检测样品	MCB, EOPC
转录本完整性	GOI and Flanking SequencingRT-PCR
基因组结构	Restriction enzyme analysis by Southern Blot
插入基因拷贝数	qPCR
转录本大小	Northern blot
细胞检定	C01
核型分析	Karyology

- ☒

GMP 合规的检测体系
- ☒

满足生物药质量要求
- ☒

经全面验证的方法学
- ☒

符合各国的法规标准
- ☒

完善的项目管理模式
- ☒

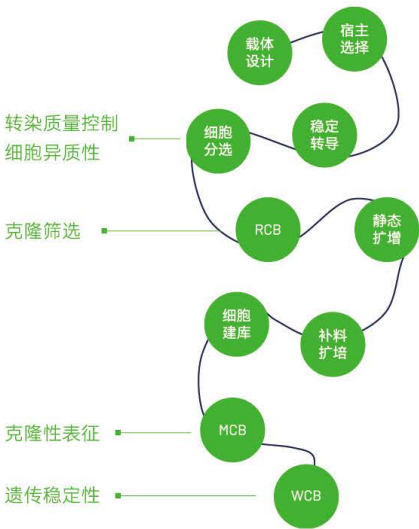
专业的法规技术支持

基于高通量测序技术 (NGS) 的遗传表征分析

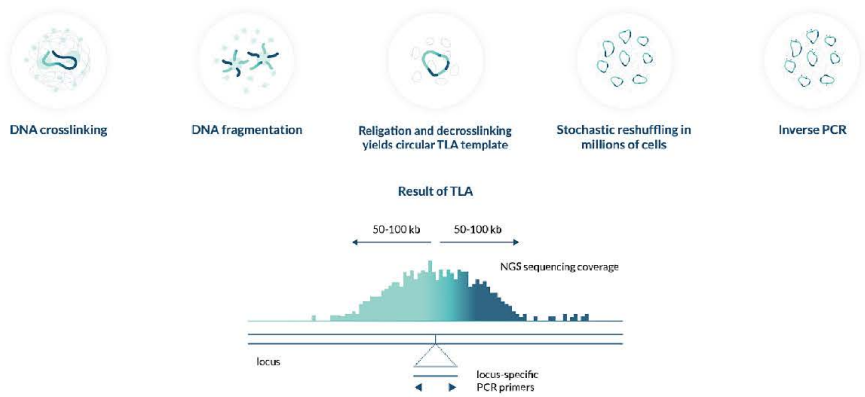
采用重组技术构建的中国仓鼠卵巢细胞 (CHO) 广泛用于重组蛋白和治疗性抗体生产。然而几乎所有构建技术都可能导致脱靶、多位点整合、骨架序列结构变异等。

根据 ICHQ5B 和 WHO 指南要求，细胞基质需要进行主细胞库 (MCB) 和终末生产细胞 (EOPC) 的遗传稳定性对比分析，包括编码 DNA 序列准确性，插入位点结构稳定性和插入位点拷贝数等。

与传统 Southern Blotting, FISH 和扩增子测序相比，基于靶向基因座扩增技术 (Targeted Locus Amplification) 的高通量测序分析将为遗传表征分析带来全新解决方案。



Cergentis独有的TLA 技术是对样本进行DNA 交联，片段化，连接和去交联建立TLA 扩增模板，再通过反向PCR 建立TLA 文库，利用NGS 进行序列分析。可实现任何目标基因座的靶向扩增和高通量测序 (NGS)。



多数传统方法无法在一次实验中解析所有遗传表征，基于 TLA 检测相较于传统方法具有明显优势。作为 Cergentis唯一授权的国内合作方，博瑞策生物为您提供：

	表征	TLA+NGS	WGS	Amplicon/Capture based	qPCR/ddPCR	Southern Blot	FISH
	整合位点	√	—	—	X	X	√
	结构变异	√	X	—	X	X	X
	共整合	√	X	X	X	X	X
载体或GOI 整合	SNVs	√	—	√	X	X	X
	Indels	√	—	—	X	X	X
	重排	√	X	X	X	√	X
	串联	√	√	X	X	X	X
	拷贝数	—	√	—	√	X	X

参考文献
①. Paula JP de Vree et al. Targeted sequencing by proximity ligation for comprehensive variant detection and local haplotyping Nature Biotechnology 32: 1019-1025 (2014);
②. Jie Zhu & Diane Hatton New Mammalian Expression Systems. Advances in Biochemical Engineering/ Biotechnology 165: 9-50 (2016)
③. Justin Eyquem et al. Targeting a CAR to the TRAC locus with CRISPR/Cas9 enhances tumour rejection Nature 543: 113-117 (2017)
④. 6.Dan Boyd et al. Isolation and characterization of a monoclonal antibody containing an extra heavy-light chain Fab arm mAbs 10(3):346-353 (2018)

