



中华人民共和国国家标准

GB/T 34777—2017

中国仓鼠卵巢(CHO)细胞表达产品 残留 DNA 检测 荧光定量 PCR 法

Detection of residual DNA in biological product which expressed from
Chinese hamster ovary(CHO) cell—
Fluorescent quantitative polymerase chain reaction assay

2017-11-01 发布

2018-05-01 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局
中国国家标准化管理委员会 发布

中 华 人 民 共 和 国
国 家 标 准
中国仓鼠卵巢(CHO)细胞表达产品
残留 DNA 检测 荧光定量 PCR 法
GB/T 34777—2017

*

中国标准出版社出版发行
北京市朝阳区和平里西街甲 2 号(100029)
北京市西城区三里河北街 16 号(100045)

网址: www.spc.org.cn

服务热线: 400-168-0010

2017 年 11 月第一版

*

书号: 155066 · 1-58352

版权专有 侵权必究

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由全国生化检测标准化技术委员会(SAC/TC 387)提出并归口。

本标准起草单位:信达生物制药(苏州)有限公司、中国测试技术研究院生物研究所。

本标准主要起草人:孙左宇、周李华、李雪峰、黄晓刚、袁志军、郭燕红。

中国仓鼠卵巢(CHO)细胞表达产品 残留 DNA 检测 荧光定量 PCR 法

1 范围

本标准规定了检测残留宿主 DNA 的荧光定量 PCR 法。

本标准适用于 CHO(中国仓鼠卵巢细胞)宿主细胞系表达的生物制品的残留宿主 DNA 的检测。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本文件。凡是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

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

Ct 值 cycle threshold

每个反应管内荧光信号达到设定阈值时所经历的循环数。

4 缩略语

下列缩略语适用于本文件。

CHO:中国仓鼠卵巢(Chinese Hamster Ovary)

5 原理

以真核细胞基因组中具有高拷贝数的 16SrRNA 为目的基因,设计特异性扩增该基因的 PCR 引物,包括正向引物:Forward Primer(5'-CCAGGCATTGGTGGCAC-3')和反向引物:Reverse Primer(5'-AGACAGGGTTTCTCTGT-3')。

采用 SYBR 荧光定量 PCR(FQ-PCR)法,采集荧光绘制出的 PCR 扩增曲线 Ct 值,与扩增体系中起始目的基因模板的对数值呈反比,以起始模板 DNA 对数值为纵坐标,Ct 值为横坐标,制作标准曲线。根据标准曲线方程计算样品的 DNA 残留量,从而达到定量检测样品残留 DNA 的含量目的。

6 仪器设备

6.1 荧光定量 PCR 仪:含有 SYBR 荧光染料检测通道。

6.2 紫外-可见分光光度计:波长范围:200 nm~760 nm。

6.3 微型离心机:转速范围:2 000 r/min~23 000 r/min。