

# SHENTEK 宿主细胞 DNA 残留检测试剂盒

## 性能验证

宿主细胞 DNA 残留检测试剂盒的性能验证包括对其所含的方法学验证, 和产品性能的评估。生物制品中残留 DNA 检测为杂质定量检测, 其验证参数包括了准确性、精密度、耐用性、线性、范围、专属性、定量限度、稳定性。

### 一、方法学验证参数

参照表 1 杂质检测 (定量) 所列项目进行方法学验证。

表 1 生物制品质量控制分析方法验证技术审评一般原则分析方法的验证参数

分析方法 参数	鉴别 试验	杂质检查		生物活性 (效价) 测 定	含量 测定
		定量	限度		
准确性	—	+	—	+	+
精密度	—	+	—	+	+
耐用性	+	+	+	+	+
线性	—	+	—	+	+
范围	—	+	—	+	+
专属性	+	+	+	+	+
检测限度	—	—	+	—	—
定量限度	—	+	—	—	—

### 二、验证定义、方法及判断标准

#### 1. 线性和范围

##### 1.1 定义及方法

线性范围是指能达到一定精密度、准确性和线性时, 测定方法适用的高低限度或量的区间, 建立试剂线性范围所用的样本基质应尽可能与实际检测的样本相似。建立一种定量测定方法的线性范围时, 需在预期测定范围内选择 7-11 个浓

度水平。例如，将预期测定范围加宽至 130%，在此范围内选择更多的浓度水平，然后依据实验结果逐渐减少数据点直至表现出线性关系，可发现最宽的线性范围。

## 1.2 判断标准

$R^2 > 0.98$ ,  $90\% \leq E \leq 110\%$ , 且各点的实测浓度与理论浓度的相对偏差  $\leq 15\%$  (最低点浓度的相对偏差  $\leq 20\%$ )，该浓度范围即是试剂盒的线性范围。

## 2. 准确度

### 2.1 定义及方法

准确性是指测定值与真值或认可的参考值的一致性 or 接近的程度，根据实际情况可以选用国家标准品比对试验或回收试验来评价，应保证分析物浓度在方法的线性范围内，且覆盖实际检测中的最高浓度和最低浓度。

### 2.2 判断标准

2.2.1 比对试验标准： $R^2 > 0.98$ ,  $90\% \leq E \leq 110\%$ , 各浓度点的相对偏差  $\leq 15\%$  (最低点浓度的相对偏差  $\leq 20\%$ )。

2.2.2 回收试验标准： $R^2 > 0.98$ ,  $90\% \leq E \leq 110\%$ 、各浓度点的回收率与总平均回收率均在 50%~150% 范围内。

## 3. 定量限

### 3.1 定义及方法

定量限是指准确性和精密性都能达到要求时，能够定量测定供试品中被分析物的最低量，在该浓度下试剂的检测结果可以达到一定精密度、准确性。

### 3.2 判断标准

浓度 CV% 最接近 20% 时所对应的最低浓度即为定量限。

## 4. 精密度

### 4.1 定义及方法

精密性是指在规定条件下对均质供试品对此取样进行一系列检测结果的接近程度，一般表示为变异系数 (CV%)。精密性可以从重复性、中间精密度和重现性三个方面考虑。

重复性是指在同样操作条件下，在较短时间间隔的精密性。

中间精密性是指在实验室内部条件改变，如不同日期、不同分析人、不同仪

器、不同批号或来源的试验材料等情况下的精密度。

重现性是指不同该实验室间的精密度，需要通过多个实验室之间的协作研究得到。

## 4.2 判断标准

### 4.2.1 重复性判断标准：

同一次实验内对同一样本重复至少测定 10 次，测定结果的变异系数 CV%应 $\leq$  15.0%。

### 4.2.2 中间精密度判断标准：

不同浓度样本分别由至少 3 个实验人员于不同时间进行总共至少 3 次独立检测，每次重复测定至少 3 次，各样本测定结果的变异系数 CV%应 $\leq$ 15.0%。

## 5. 耐用性

### 5.1 定义及方法

耐用性是指试验参数被有意进行微小改变时，测量结果不受影响的能力，用于说明通常使用条件下分析方法的可靠性。

### 5.2 判断标准

#### 5.2.1 不同大小 DNA 片段的判断标准

与未碎片化 DNA 对比，碎片化程度不同不会影响各个浓度下的检测结果。

#### 5.2.2 不同 qPCR 仪上的判断标准

$R^2 > 0.98$ ， $90\% \leq E \leq 110\%$ ，样本回收率 50%~150%。

## 6. 专属性

### 6.1 定义及方法

专属性指当制品中含有其它组分，如杂质、降解物、添加物（如缓冲液、赋形剂、稳定剂）等存在时，准确可靠测定供试品的能力。

### 6.2 特异性判断标准

6.2.1 添加不同干扰基因组 DNA 后的检测浓度与未添加干扰物质的检测浓度之间的差值，不大于未添加干扰物质的检测浓度标准偏差的 3 倍。

6.2.2 对同一物种细胞的不同细胞株的 DNA 进行 qPCR 反应检测，各梯度浓度点的 CT 值差异小于 0.5。

### 6.3 回收率实验判断标准

6.3.1 对常用的不同基质的样本进行回收检测，要求样本回收率应在 50~150% 范围内。

6.3.2 对于处于不同生产环节的生物制品进行取样，进行加标测定，要求样本回收率应在 50~150% 范围内。

## 7. 稳定性试验

### 7.1 定义及方法

稳定性是考察试剂有效期的最直接的方法，试剂应在指定保存条件下保存至预计时间点，期间考察试剂的重复性、准确性和定量限，应符合设计要求。稳定性应考察至试剂失效，且应考察不同条件下试剂的性能。

### 7.2 判断标准

#### 7.2.1 DNA 参考品稳定性判断标准

DNA 参考品于 2~8℃ 条件下放置至预设时间段末检测，要求  $R^2 > 0.98$ ， $90\% \leq E \leq 110\%$ ， $CV \leq 15\%$ ，相对偏差  $\leq 15\%$ 。

#### 7.2.2 MIX 4℃ 稳定性判断标准

MIX 解冻后于 2~8℃ 条件下放置至预设时间段末检测，要求  $R^2 > 0.98$ ， $90\% \leq E \leq 110\%$ ， $CV \leq 15\%$ ，定量限不改变。

#### 7.2.3 MIX 冻融稳定性判断标准

MIX 在保存条件与使用条件下反复冻融，考察冻融次数对试剂性能的影响，要求  $R^2 > 0.98$ ， $90\% \leq E \leq 110\%$ ， $CV \leq 15\%$ ，定量限不改变。

#### 7.2.4 长期稳定性判断标准

试剂在制定保存条件下，放置至预计有效期末，期间定期考察试剂关键性能参数，稳定性应考察至试剂失效，要求  $R^2 > 0.98$ ， $90\% \leq E \leq 110\%$ ， $CV \leq 15\%$ ，定量限不改变。

---

对于上述内容，若有任何意见或建议，请联系：info@nhc.ac.cn。谢谢！