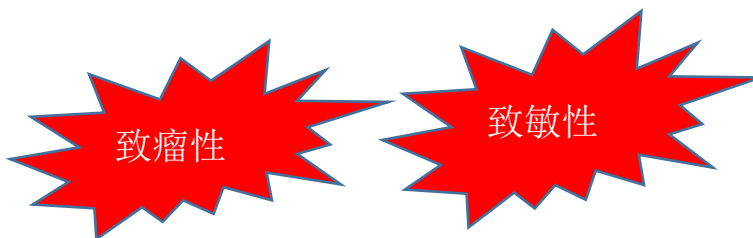


发酵型抗生素中宿主菌残留 DNA 检测

抗生素类药物的临床使用剂型很多为注射剂。生物制造药物的纯化工艺必须进行切实可行的优化，以便稳定地去除尽可能多的来自宿主细胞的残留物，使产品尽可能地纯净，并控制其残留量，提高产品质量，减少用药风险。

宿主细胞残留 DNA 潜在危害



宿主残留 DNA 风险分析

PARAMETER	TYPE	LIMIT	RISK FACTOR
Cell line (CL)	Primary cells	-	1
	Diploid cell strains	-	1
	Continuous nontumorigenic	≤10 ng	2
	Continuous tumorigenic	≤100 pg	3
Administration (A)	Oral	≤100 µg	1
	Subcutaneous	≤10 ng	2
	Intramuscular	≤10 ng	3
	Intravenous	≤100 pg	4
	Perfusion	≤100 pg	5

宿主 DNA 残留量规定

组织或法规	残留量	片段大小
WHO	10ng/剂	小于 200bp
FDA	100pg/剂(单克隆抗体 10ng/剂)	小于 200bp
USP	10ng/剂 (个别疫苗 100pg/剂)	/
中国药典	100pg/剂 (个别疫苗 10pg/剂)	/

湖州申科已为国内多家原料药出口企业提供抗生素发酵菌残留 DNA 检测（qPCR 法）服务，并成功通过欧盟注册审评；为客户解决：

1. 确认纯化工艺的合理性，有效去除宿主菌 DNA 残余；
2. 确认产品中杂质含量符合标准要求。

已建立宿主菌 DNA 检测方法（qPCR 法）的抗生素及其宿主菌

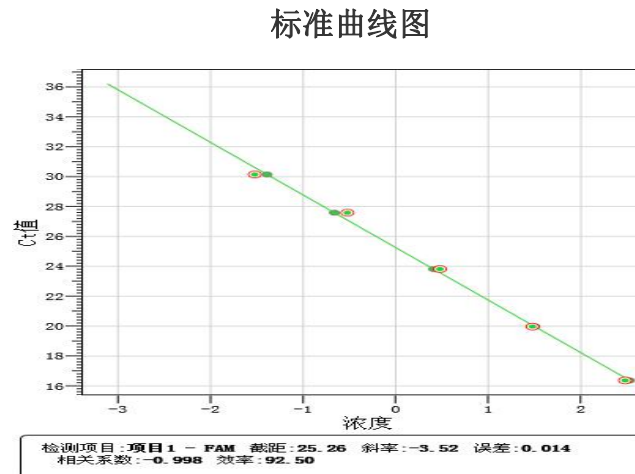
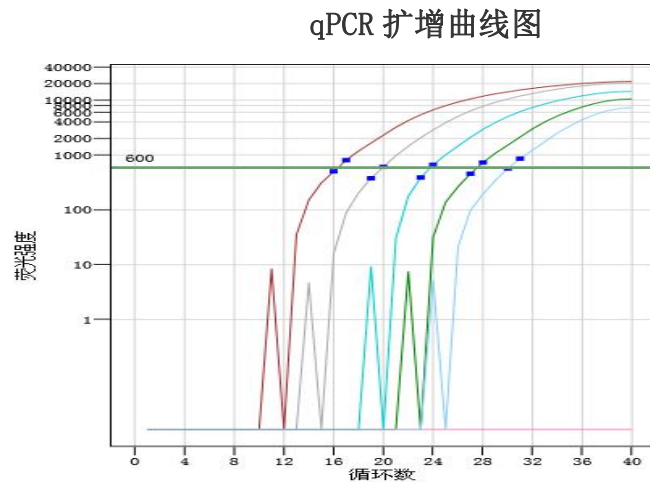
原料药名称	生产菌株
替考拉宁	游动放线菌
硫酸庆大霉素	小单孢菌
达托霉素	玫瑰孢链霉菌
粘菌素甲磺酸钠	多粘类芽孢杆菌
米尔贝肟	冰城链霉菌
美伐他汀	桔青霉菌
洛伐他汀	土曲霉菌
林可霉素	盐酸林可菌

案例：盐酸林可霉素中林可霉菌 DNA 残留检测

盐酸林可霉素由林可霉菌发酵而得，其可能残留有林可霉菌的基因组 DNA。传统的检测生物制品中残留的宿主细胞 DNA 的方法通常有 DNA 杂交法、阈值法、DNA 荧光染料结合法等。这些方法都存在一定的技术缺陷。

qPCR (Taqman 探针) 法的特异性、灵敏度、准确度和操作的方便性等优势，使其 qPCR 成为检测生物制品中宿主残留 DNA 的技术趋势，已被各国相关监管机构认可，是欧美及中国最新药典中的推荐方法。

使用磁珠纯化 DNA 的方法来提取纯化替考拉宁中可能存在的微量 DNA，可以评估加标回收率。根据游动放线菌基因组序列，选择其保守序列为目标序列，设计特异性引物和 Taqman 探针，进行多目标序列的 qPCR 检测。根据药典对核酸检测方法要求进行方法学性能验证，包括检测线性、范围、特异性、灵敏度、耐用性、定量限（检测限）、精密度等，并对样本进行适用性验证和多批次样本的残留量检测，形成完整的系统的检测报告。



qPCR 法特点:

1. 高特异性
2. 高灵敏度
3. 重现性好
4. 人为干扰因素少

盐酸林可霉素（林可霉菌宿主残留 DNA 检测）