

游动放线菌DNA检测方法开发

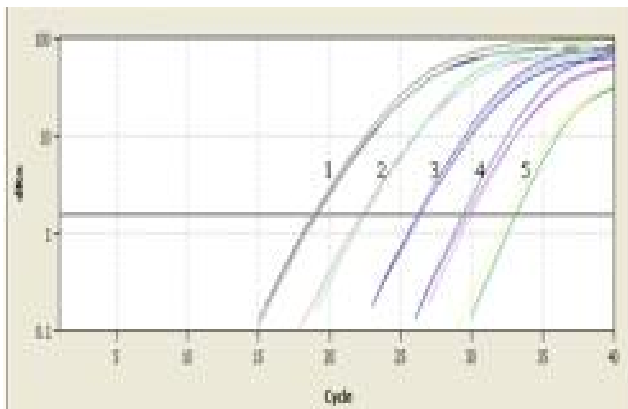
介绍

替考拉宁由游动放线菌发酵而得，其可能残留有游动放线菌的基因组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，很难达到杂质限量检测的要求，已经被欧美药典摒弃。

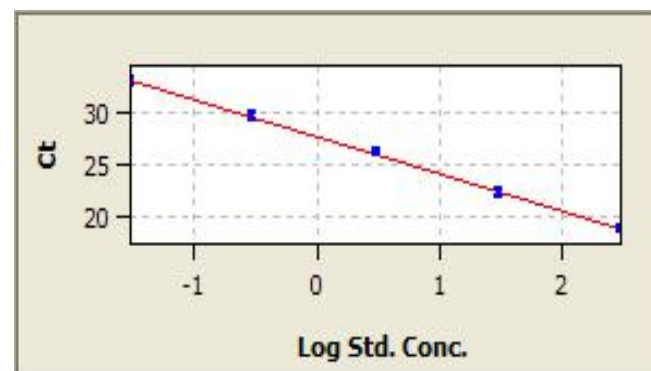
qPCR（Taqman探针）法的特异性、灵敏度、准确度和操作的方便性等优势，qPCR方法成为检测生物制品中宿主残留DNA的技术趋势，已被各国相关监管机构认可的主流技术，是欧美最新药典中的推荐方法。

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。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。

qPCR 扩增图 (FAM)



标准曲线图 (FAM)



标准曲线 $R^2=99.9\%$ ，扩增效率 $E=93.0\%$