

NGS在生物制品品质控中的应用

生物制品品质控检查中常用核酸检测方法，其中NGS方法相比于传统方法和qPCR方法，具有对未知新型病毒检测的能力，无偏检测，检测范围广，具有较高的准确性和敏感度，安全性高等优势。目前，NGS用于生物制品品质控检测尚无标准化检测流程，相关法规虽已建议使用，但缺乏细节和验证。

依托严格的质量控制体系，湖州申科根据生物制品品质控要求，建立了满足生物制品安全检测需要的HZSKBio® NGS检测平台。

HZSKBio® NGS服务平台提供包含核酸提取、文库构建、上机测序、生信分析、报告解读的符合生物制品品质控安全要求的全流程的专业的GMP级NGS检测服务。

专业、高质量、符合法规的GMP级 HZSKBio® NGS服务

稳定的实验流程



质控

- ① 内质控
- ② 外质控（阳性/阴性）
- ③ 过程质控和全流程质控



严格的中间质控参数

- ① 核酸的纯度和完整性，无偏扩增效率，文库片段大小及总量
- ② 测序数据量，Q30，宿主占比等质控参数



全面验证的检测流程

- ① 实验流程中阳性标准品、内质控品与生信流程的相互验证
- ② NGS、qPCR、ddPCR&体外法四平台的相互验证

湖州申科生物技术股份有限公司



0572-2115083

✉ info@shenkebio.com

📍 浙江省湖州市红丰路1366号南太湖科创中心6B8F



微信公众号



微信小程序

完整的生信分析



专业的生物制品质控NGS数据库

自主构建适用于生物制品和细胞基质检查所需的病毒数据库

- ① 包含中国药典及国内外法规、药典要求检测的病毒
- ② 包含历史报告污染事件所涉及的病毒
- ③ 不同宿主，工业细胞株(如293T、CHO等细胞株)常见污染病毒
- ④ 入库病毒序列进行校正，防止假阳性

生物制品用宿主细胞基因组库

生物制品中使用的载体数据库

完善的数据管理



HZSKBio® NGS检测流程

根据待检测样品特性进行处理，包括样本收集、去除宿主细胞、病毒核酸提取、宿主核酸去除、病毒全基因组扩增、病毒核酸（dsDNA/ssDNA/dsRNA/ ssRNA）文库构建、上机测序、生信分析等过程（图1、图2）。

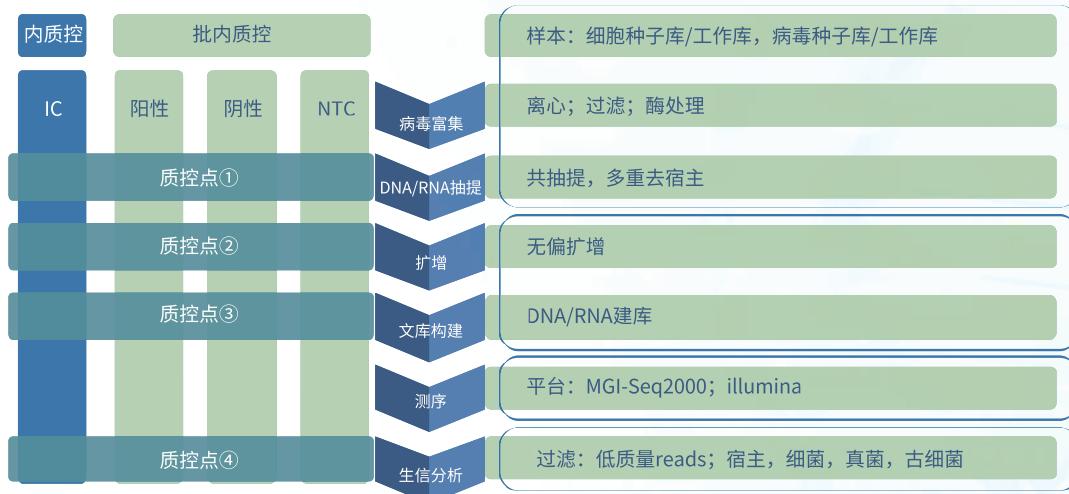


图1. HZSKBio® NGS检测流程

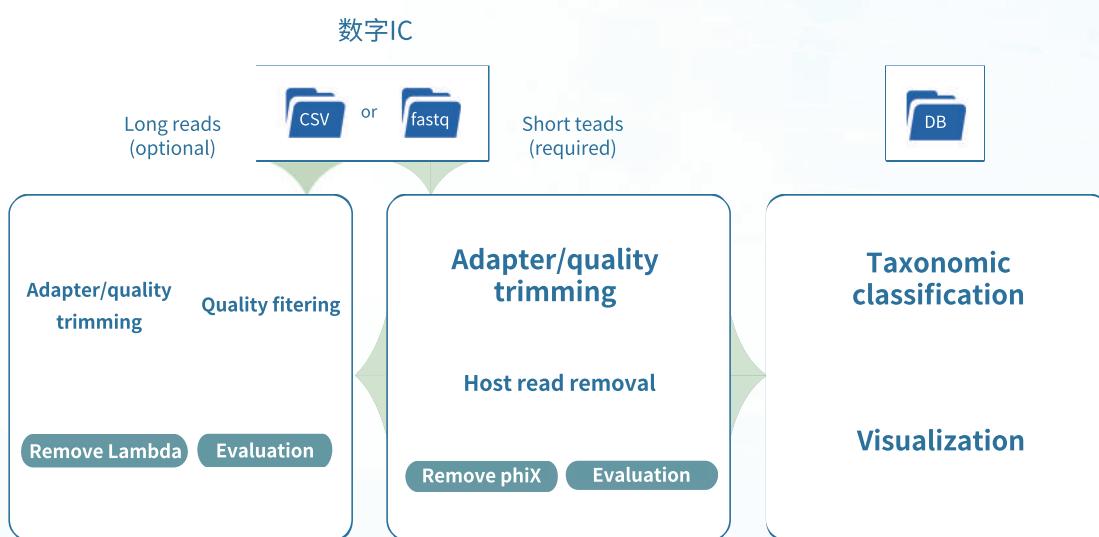


图2. HZSKBio® NGS生信分析流程（病毒比对分析模块）

HZSKBio® NGS生物制品质量控制检测服务

01

外源病毒检测

生产用的细胞和改造的病毒种子，因生产过程中操作者、原材料、环境而引入外源病毒或潜伏性病毒。HZSKBio® NGS可以针对样品中宿主类型不同在实验流程中进行去除宿主基因，提高检测灵敏度，开发了针对生物制品的细胞库、菌种库、病毒库的数据库（表1、表2），可检测样品中存在的外源病毒。

HZSKBio® NGS可以对样品中已知的和未知的病毒同时进行检测，在生信分析流程中采用不同的分析策略，最后整合出具报告，见图3。

表1. HZSKBio® NGS细胞和菌种数据库列表

生物制品检测样本类型	样本（宿主）	来源物种
细胞库	CHO	Cricetulus griseus (中国仓鼠)
	NS0,SP2/0	Mus musculus(小鼠)
	HEK293,293T	Homo sapiens (人)
	Vero	Chlorocebus sabaeus (非洲绿猴)
	MDBK	Bos taurus (牛)
	PK15	Sus scrofa (猪)
	BHK	Mesocricetus auratus (叙利亚仓鼠)
	MDCK	Canis lupus familiaris (狗)
菌株库	Sf9	Spodoptera frugiperda (草地贪夜蛾)
	E.coli, S.cerevisiae, 毕赤酵母	

表2. HZSKBio® 建立的符合法规要求的NGS病毒数据库

病毒类型	病毒名称
人源病毒	人EB病毒、人巨细胞病，人免疫缺陷病毒，人T细胞白血病病毒，人细小病毒B19，人乳头瘤病毒，人多瘤病毒，人腺病毒，人疱疹病毒-6/7/8，人肝炎病毒（甲型,乙型,丙型），人诺如病毒，人环状病毒
牛源病毒	牛腺病毒，牛细小病毒，牛副流感病毒3型，牛病毒性腹泻病毒，牛呼肠孤病毒，狂犬病病毒，蓝舌病毒，牛呼吸道合胞病毒，牛多瘤病毒，水疱型口炎病毒，牛疱疹病毒1型（牛传染性鼻气管炎病毒），牛白血病，赤羽病毒，牛轮状病毒，口蹄疫，牛瘟，牛圆环病毒，传染性牛鼻气管炎病毒，卡什谷病毒
猪源病毒	猪腺病毒，猪细小病毒，猪血凝性脑脊髓炎病毒，猪传染性胃肠炎病毒，猪圆环病毒，猪繁殖与呼吸综合征病毒，脑心肌炎病毒，猪肠道病毒，猪巨细胞病毒，猪流感病毒，伪狂犬病毒，猪痘病毒，猪瘟病毒（非洲猪霍乱病毒），尼帕病毒，猪逆转录病毒，猪无环病毒，猪霍乱病毒，猪博卡病毒，猪戊型肝炎病毒
鼠源病毒	出血热病毒，淋巴细胞脉络丛脑膜炎病毒，仙台病毒，脱脚病病毒（鼠痘病毒），小鼠腺病毒，小鼠肺炎病毒，逆转录病毒，鼠白血病病毒，鼠细小病毒，小鼠肝炎病毒，大鼠冠状病毒，基尔汉大鼠病毒，小鼠汉坦病毒，小鼠轮状病毒，鼠脑脊髓炎病毒，小鼠唾液腺病毒（小鼠巨细胞病毒），乳酸脱氢酶升高病毒
猴源病毒	猿猴病毒40，猴免疫缺陷病毒，猴泡沫病毒，猴逆转录病毒
禽源病毒	外源性禽腺病毒I型，外源性禽腺病毒II型，外源性禽白血病病毒
昆虫病毒	Sf-弹状病毒、flock house virus

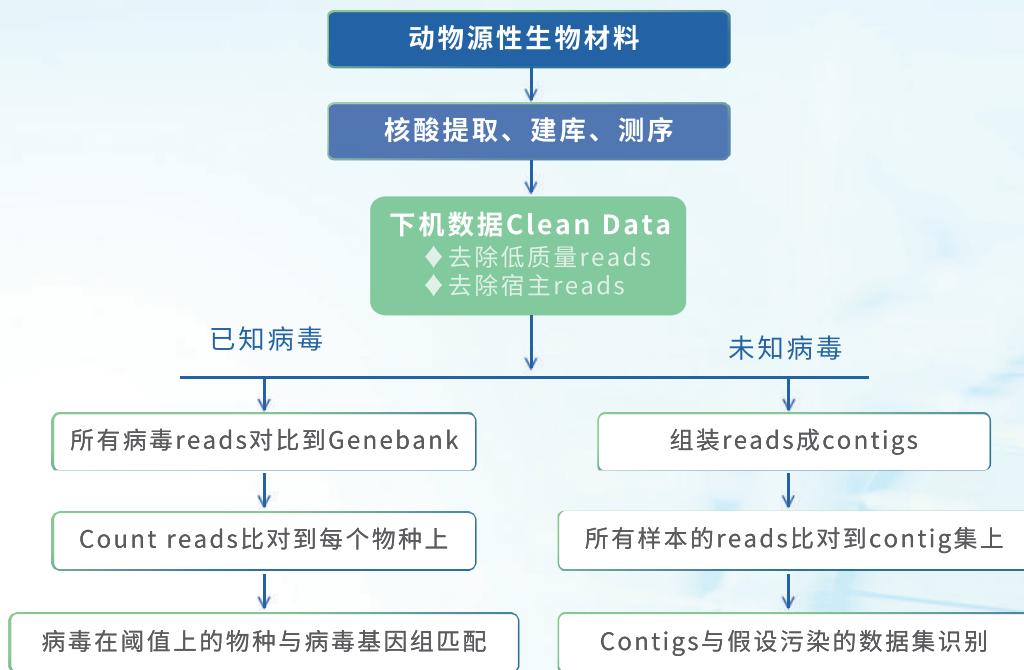


图3. HZSKBio® NGS外源病毒检测流程

02

病毒种子序列监测

基因治疗(Gene Therapy)通常由含有工程化基因构建体的载体或递送系统组成，其活性成分可为DNA、RNA、基因改造的病毒、细菌或细胞等，其中以病毒和质粒DNA为载体的基因治疗产品较为常见。目前常用的病毒载体通常进行了毒力、致病性或复制能力相关基因的删除，以确保使用的安全性。HZSKBio® NGS可以对病毒种子样本进行NGS全基因测序，对测序结果与预期序列进行对比分析，检测并确证病毒的序列。

03

细胞种属鉴别

在生物制药中细胞库的种属鉴定中，NGS具有表中所示的全面优势，HZSKBio® NGS可以一次性获取细胞库的以下全部信息：

评估指标	染色体核型分析	STR	SNP	特异产物扩增	NGS
物种鉴定	√	√		√	√
种属来源		√	√		√
染色体大结构变化	√				√
遗传漂变		√	√		√
外源因子污染				√	√
种间污染	√	√	√		√
种内污染		√	√		√

04

遗传稳定性检测

HZSKBio®NGS平台可以提供细胞库表征中遗传稳定性测试的相关服务：

01

全转录组测序

确认产物转录本完整性的测定

02

全基因组测序

整合位点的基因组结构

03

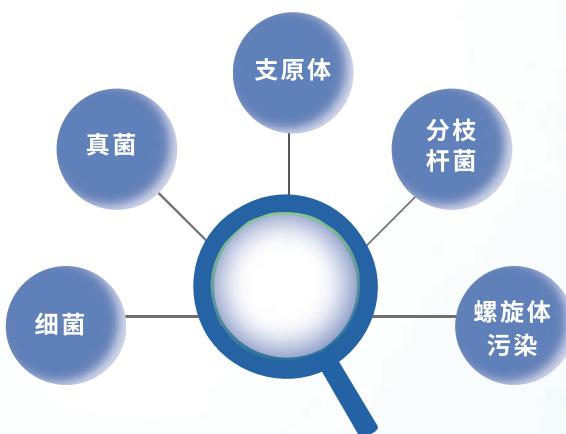
全基因组测序

插入物的比例相对于宿主基因组的基因拷贝数

05

微生物鉴别

HZSKBio®NGS平台通过宏基因组测序方法，可提供外源因子，如细菌、真菌、支原体、分枝杆菌、螺旋体污染的检查和鉴别。



06

针对生物制品质控的生信分析服务

HZSKBio®生信平台可为用户提供基于NGS数据的生物制品质控分析，如外源病毒检测、病毒基因组组装和变异检测、遗传稳定性分析等等。

▶ 外源病毒检测

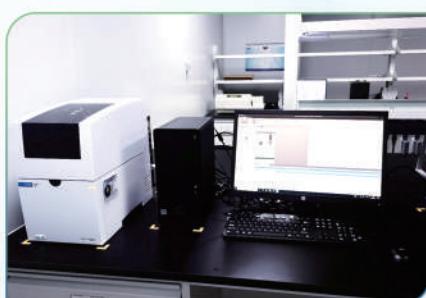
▶ 病毒基因组组装和变异检测

▶ 遗传稳定性分析

硬件设施



测序仪-华大MGISEQ-2000



自动化电泳系统-安捷伦 TapeStation 4150



建库室超净工作台

参考文献

[1] Krakau S, Straub D, Gourle H, Gabernet G, Nahnsen S. nf-core/mag: a best-practice pipeline for metagenome hybrid assembly and binning. NAR Genom Bioinform. 2022;4(1):lqac007. Epub 2022/02/05. doi: 10.1093/nar/gab/lqac007. PubMed PMID: 35118380; PubMed Central PMCID: PMC8808542.