

YAOHAIBIO 耀海生物

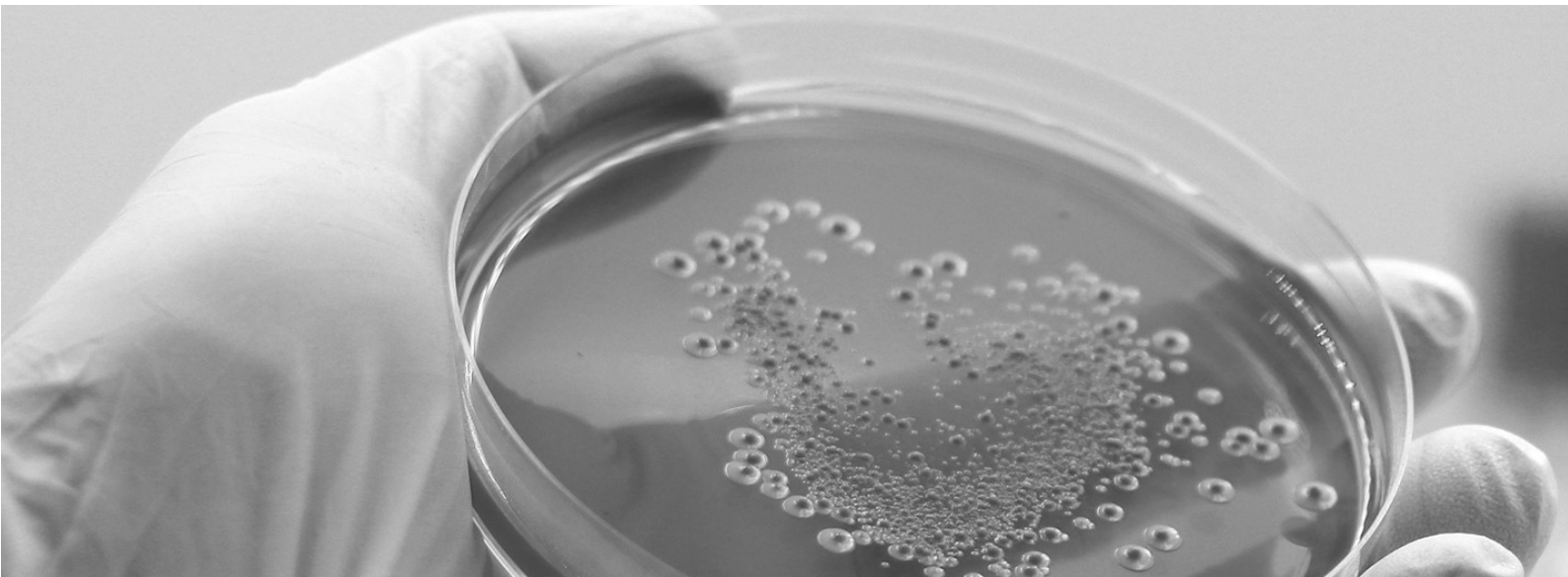
菌种库构建服务



大肠杆菌

酵母菌

江苏耀海生物制药有限公司



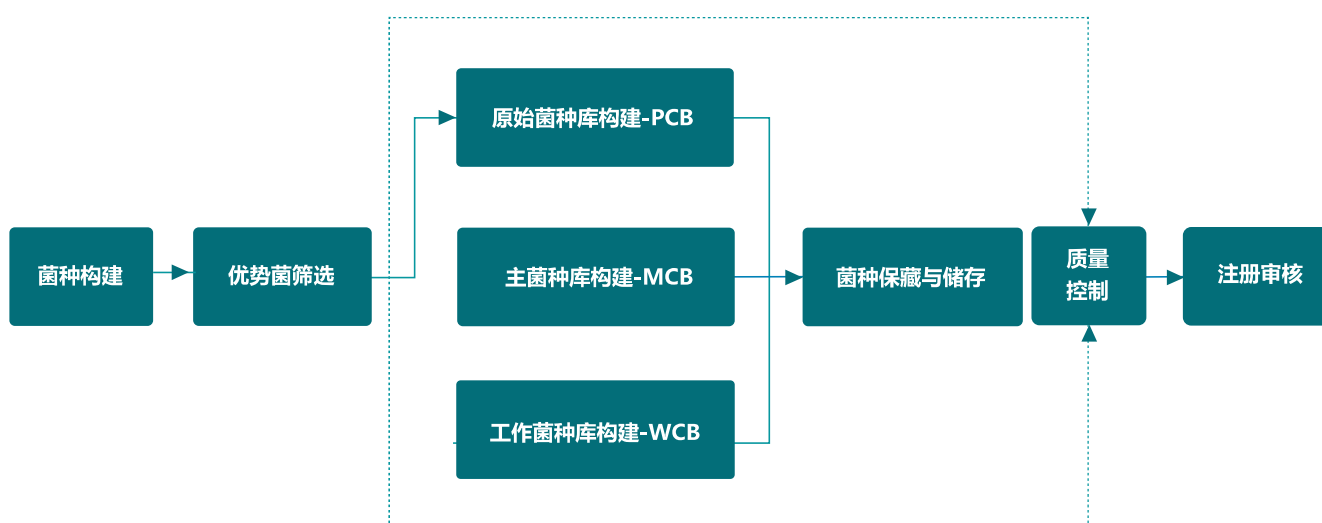
CONTENTS

01	菌种库构建服务概览	01-05
02	大肠杆菌表达体系	06-08
03	酵母菌表达体系	06-08
04	菌种构建与优势菌筛选服务	11-14
05	原始菌种库(PCB)构建服务	15-16
06	主菌种库(MCB)构建服务	17-18



07	工作菌种库(WCB)构建服务	19-20
08	菌种保藏与储存服务	21-22
09	菌种质量控制服务-大肠杆菌	23-25
10	菌种质量控制服务-酵母菌	26-28
11	注册申报服务	29-30
12	常见Q&A	31
13	菌种库构建平台	32

菌种库构建服务概览



生物制品生产用菌种的管理，应满足《中国药典》2020年版-生物制品生产检定用菌毒种管理及质量控制的规定，以提供检定合格、质量相同、能持续稳定传代的菌种。药典规定，生物制品生产用菌毒种应采用种子批系统，尽量减少传代次数以降低发生遗传变异的风险。原始菌种应验明其历史、来源和生物学特性，从原始菌种传代扩增后保存的为主菌种库，从主菌种库传代扩增后保存的为工作菌种库，工作菌种库用于生物制品的生产。

耀海生物重组蛋白/重组质粒CDMO服务依托于**大肠杆菌和酵母**表达系统，建立了**菌种构建、原始菌种库构建（PCB）、主菌种库构建（MCB）、工作菌种库构建（WCB）、菌种储存及传代稳定性研究、储存稳定性研究等质量检测与注册审核的一站式服务平台**，可承接二级菌种库或三级菌种库构建服务。

注：MCB与WCB二级菌种库构建服务在独立的GMP车间进行（C+A级：C级洁净区中的A级生物安全柜）。

服务详情

服务名称	服务项目 - 可选	服务详情	最短交付周期 (工作日)	交付内容
菌种构建服务	重组大肠杆菌构建 ¹	质粒转化 (多宿主)	5	菌种构建报告
		PCR 验证		
		菌种纯化与菌种保藏		
	重组酵母菌构建 ²	酵母感受态细胞制备	10	
		质粒线性化与电转		
		抗性 / 缺陷型平板筛选		
菌种纯化与保藏				
优势菌筛选服务	优势菌筛选	质粒提取 ¹ / 基因组提取 ²	15-20	
		PCR / 酶切验证 ¹ / 测序		
		高表达菌种筛选		
		稳定传代菌株筛选		
原始菌种库构建服务 PCB	PCB 建库	生长曲线测定	5	
		传代培养与菌种保藏		
	PCB 放行检测	详见质量控制部分		
主菌种库构建服务 MCB	MCB 建库 *	传代培养与菌种保藏	TBD	<ul style="list-style-type: none"> • 菌种库构建报告 • PCB 菌种 • MCB 菌种 • WCB 菌种
	MCB 放行检测	详见质量控制部分	4	
工作菌种库构建服务 WCB	WCB 建库 *	传代培养与菌种保藏	TBD	
	WCB 放行检测	详见质量控制部分	4	
菌种保藏与储存服务	-	-	TBD	
注册审核服务 ★	合规性审核	-	-	菌种可免费代存

注: 1 为大肠杆菌表达系统特有项目, 2 为酵母表达系统特有项目;

* 标项目 - MCB/WCB 建库在 GMP 车间进行.

交付周期: 除长期稳定性检测外, 建库平均周期为 4-6 个月.

大肠杆菌菌种质量控制

服务名称	服务项目	服务详情	最短交付周期 (工作日)	交付内容
大肠杆菌 菌种质量 控制服务	稳定性研究	传代稳定性	TBD	<ul style="list-style-type: none"> • 传代记录 • 检验记录 • 检验报告 COA
		储存稳定性		
	划种 LB 琼脂平板	培养法	3	
	染色镜检	革兰氏染色法		
	活菌数检测	培养法		
	对抗生素的抗性	培养法		
	生化反应	生化特性反应检查法		
	质粒拷贝数	qPCR 法	30	
	目的产物表达量	SDS-PAGE 法	5	
	质粒酶切图谱	琼脂糖凝胶电泳法		
	质粒丢失率	培养法		
	噬菌体检测	噬斑法或增殖法	30	
	目的基因核苷酸序列	Sanger 测序法	7	
	保守区 16SrRNA 序列	Sanger 测序法		
	电镜检测	电镜法	30	

酵母菌种质量控制

服务名称	服务项目	服务详情	最短交付周期 (工作日)	交付内容
酵母菌 菌种质量 控制服务	稳定性研究	传代稳定性	TBD	<ul style="list-style-type: none"> • 传代记录 • 检验记录 • 检验报告 COA
		储存稳定性		
	平板菌落特性	培养法	3	
	镜检形态	染色法		
	活菌数检测	培养法		
	抗性	培养法		
	目的产物表达量	SDS-PAGE 法		
	外源基因整合于宿主染色体检定	PCR 法	30	
	鉴别	WB	5	
	生化特性	生化检测		
	拷贝数测定	qPCR 法		
	目的基因测序	Sanger 测序法	30	
	ITS 鉴定	Sanger 测序法	7	
	18S rRNA 鉴定	Sanger 测序法		
	电镜检查	透射电镜法	30	

服务特色

一站式服务平台

菌种构建、优势菌筛选、三级菌种库构建与菌种检测一站式服务；

独立的 GMP 建库车间

MCB和WCB的构建在符合GMP规范的独立车间进行，有效避免交叉污染，保证菌种质量，满足法规要求；

多样化菌种保藏平台

甘油冻存/液氮/冻干等多种菌种保藏方式，满足异地保存需求；

完善的质检平台

药典等法规指导下的菌种传代稳定性、储存稳定性等检测项目；

合规性审核平台

注册团队参与项目审核，满足生物制品注册申报需求；

GMP 体系线上审计平台

开放线上审计端口，共享GMP车间VR视频；

周期性交流平台

根据客户需求及项目特点，设定周期性沟通会，及时分享项目进展。

大肠杆菌表达体系

大肠杆菌表达系统是基因表达技术中发展最早、应用最广且最为经济实惠的经典表达系统，其特点包括：遗传背景清楚、细胞增殖快、表达量高、稳定性好和抗污染能力强，是外源重组蛋白表达的首选体系，尤其是质粒或多肽类激素、细胞因子等无复杂糖基化蛋白的生产具有极大的优势：

质粒 DNA

裸质粒、病毒载体原料或mRNA原料，
应用于细胞与基因治疗（CGT）领域；

重组多肽

生长激素（GH）、
胰高血糖素样肽类似物（GLP-1类似物）、
促甲状旁腺激素（PTH）

细胞因子

白细胞介素-2（IL-2）、IL-15、IL-21

酶制剂

Cas9核酸酶、其他核酸酶、蛋白酶

重组蛋白疫苗

重组亚单位疫苗、
病毒样颗粒载体（VLP载体）

纳米抗体

不同效价（一价/二价/三价）纳米抗体

胶原蛋白

I型胶原蛋白、III型胶原蛋白

常用质粒及特点

基因重组技术快速发展的过程中，质粒这一可独立复制的DNA载体功不可没。质粒一般包括以下功能元件：复制起始位点(ORI)、多克隆位点(MCS)、启动子区(promoter)和抗性筛选标记。耀海生物大肠杆菌分子构建工艺平台常用质粒载体包括pET系列载体及其他适用型质粒。

用途	质粒	启动子类型	操纵子类型	抗性 / 筛选标记	拷贝类型
重组蛋白生产	pET28a	T7	lac	卡那霉素	高拷贝
重组蛋白生产	pET200/D-TOPO	T7	lac	新霉素、卡那霉素	低拷贝
重组蛋白或质粒生产	其他适用型质粒	-	-	-	-



常用宿主菌及特点

由于功能性元件的差异（突变或缺失），不同大肠杆菌宿主菌具备不同的表达特色，适用于生产特定的产物。耀海生物大肠杆菌分子构建工艺平台常用的宿主菌、及其表达特色如下表所示：

用途	宿主菌	抗体	适用启动子	菌种特色
质粒生产	DH5 α	-	-	适用于质粒扩增； RecA1 和 endA1 突变， 增加外源 DNA 的稳定性。
	TOP10	链霉素	-	
	Trans10	链霉素	-	
	JM108/JM109	-	-	
	Stbl3	链霉素	-	recA13 突变，适用于慢病毒载体的扩增。
重组蛋白生产	BL21 (DE3)	-	T7, 非 T7	蛋白酶缺陷型，用于非毒性蛋白的表达。
	BL21 star (DE3)	-	T7, 非 T7	RNaseE 缺陷型，用于非毒性蛋白的表达。
	BL21 AI	四环素	T7	蛋白酶缺陷型，可用于毒性蛋白的表达。
	BL21 (DE3) pLysS	氯霉素	T7	T7 溶菌酶抑制本底表达，可用于毒性蛋白的表达。
	BL21 (DE3) pLysE	氯霉素	T7	T7 溶菌酶抑制本底表达，可用于毒性蛋白的表达。
	C41(DE3)	-	T7	低 RNAP 活性抑制本底表达，用于毒性蛋白表达。
	Tuner(DE3)	-	T7, 非 T7	LacY 失活，IPTG 浓度依赖型，蛋白酶缺陷型。
	Origami B(DE3)	卡那 / 四环素	T7, 非 T7	LacY 失活；表达还原酶，增加蛋白的可溶性。
	Shuffle T7-B	壮观 / 链霉素	T7	组成型表达二硫键异构酶，有助于蛋白正确折叠。
	Clearcoli BL21(DE3) Duos	-	T7	内毒素缺失菌株，用于重组蛋白或质粒表达。
	JM108/109	-	T7, 非 T7	用于非毒性蛋白的表达。
其他	其他大肠杆菌	-	-	-

酵母菌表达体系

酵母表达系统，是工业生产中应用较为广泛的系统，其遗传背景清楚安全，兼具原核和真核表达系统的优点：增殖快、可在廉价培养基中进行高密度发酵、具有糖基化模式、且分泌表达能力强大，有效降低下游纯化成本，可使用酵母生产的重组生物制品包括但不限于：

重组蛋白疫苗

重组亚单位疫苗（包括病毒样颗粒疫苗, VLP疫苗）

重组多肽

生长激素（GH）、胰高血糖素样肽类似物（GLP-1类似物）

细胞因子

白细胞介素-2（IL-2）、IL-15、IL-21

纳米抗体

不同效价（一价/二价/三价）纳米抗体

胶原蛋白

I型胶原蛋白、III型胶原蛋白

常用质粒及特点

基因重组技术快速发展的过程中，质粒这一可独立复制的DNA载体功不可没。质粒一般包括以下功能元件：复制起始位点(ORI)、多克隆位点(MCS)、启动子区(promoter)和抗性筛选标记。耀海生物酵母菌分子构建工艺平台常用质粒载体包括pPIC9k、Pinka-HC与pPICZa系列载体等。

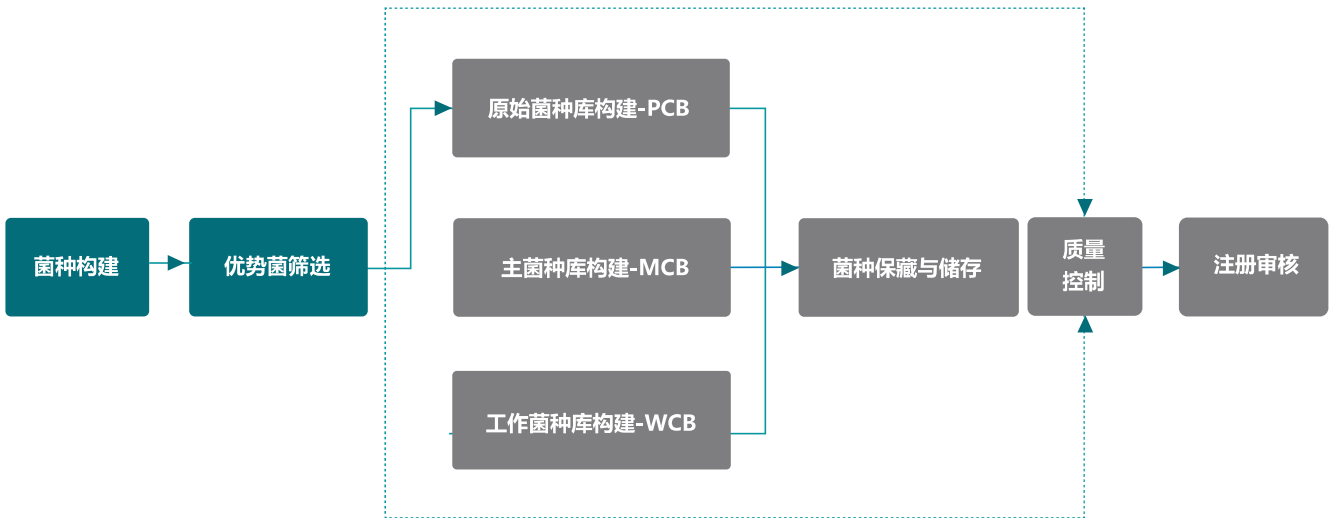
用途	质粒	启动子类型	信号肽类型	抗性 / 筛选标记	拷贝类型
重组蛋白生产	pPIC9K	AOX1	α -Factor	氨苄 / 卡那 / His4	高拷贝
	Pink α -HC	AOX1	α -Factor	氨苄 / Ade2	高拷贝
	pPICZ α A	AOX1	α -Factor (含 ATG)	Zeocin	高拷贝
	pPICZ α B	AOX1	α -Factor	Zeocin/His4	高拷贝
	pPICZ α C	AOX1	α -Factor	Zeocin	高拷贝
	pGAPZ α A/B/C	GAP	α -Factor	Zeocin/His4	高拷贝
	其他适用型质粒	-	-	-	-

常用宿主菌及特点

由于功能性元件的差异（突变或缺失），不同酵母宿主菌具备不同的表达特色，适用于生产特定的产物。耀海生物分子构建工艺平台常用的酵母宿主菌、及其表达特色如下表所示：

用途	宿主菌	菌种特色
重组蛋白生产	X-33	甲醇类型：Mut+；基因型：野生型。
	SMD1168H	甲醇类型：Mut+；基因型：Pep4- 蛋白酶缺陷型。
	GS115	甲醇类型：Mut+；基因型：His4- 组氨酸缺陷型；
	PichiaPink strain/2/3/4	甲醇类型：Mut+；基因型：Ade2- 腺嘌呤缺陷型； 2/3/4 为不同蛋白酶缺陷型：Strain2: Pep4-； strain3: Prb1-； strain4: Pep4-、Prb1-。
其他	其他酵母菌	-

菌种构建与优势菌筛选服务



表达菌种的构建与优势菌的筛选处于原始菌种库构建的上游，旨在提供高表达量、高稳定性（传代稳定性和储存稳定性）的原始菌种。药典规定，原始种子应验明其历史、来源（包括重组工程菌毒种的构建过程）和生物学特性。

耀海生物依托大肠杆菌和酵母菌分子构建工艺平台，可提供重组工程菌种构建和优势菌筛选服务，提供来源清晰、具备标准COA报告的质粒和宿主细胞。

耀海平台大肠杆菌表达系统包括常用的pET系列载体，常用的宿主细胞有DH5 α 、TOP10、BL21(DE3)、BL21 star(DE3)、BL21 AI等广泛使用的表达菌株。酵母表达系统包括pPIC9k、Pinka-HC与pPICZa系列载体，常用的宿主细胞包括SMD1168H、X-33、GS115、PichiaPink strain1/2/3/4等广泛使用的表达菌株。

服务详情

服务名称	服务项目	服务详情	最短生产周期 (工作日)	交付内容
大肠杆菌 菌种构建服务 ¹	质粒转化	质粒转化(多宿主)	5	菌种构建报告 • 菌种构建流程 • 高表达菌株筛选流程 • 传代稳定菌种筛选流程
		抗性或缺陷型筛选		
	菌种验证	PCR 验证		
	菌种纯化	单克隆纯化		
菌种扩培与保藏				
酵母菌 菌种构建服务 ²	质粒转化	酵母感受态细胞制备	10	
		质粒线性化		
		电转转化		
	高拷贝菌种筛选	抗性 / 营养缺陷性筛选		
	菌种纯化	单克隆纯化		
菌种扩培与保藏				
优势菌筛选服务	菌种验证	质粒提取 ¹ / 基因组提取 ²	15-20	
		PCR/ 酶切验证 ¹		
		目的基因测序		
	高表达菌种筛选	诱导表达 * 与产物分析		
	传代稳定性 菌种筛选	质粒丢失率检测 ¹		
		外源基因检测 ²		
		传代稳定性菌种筛选		
菌种保藏	菌种保藏			

注：1 为大肠杆菌表达系统特有项目，2 为酵母表达系统特有项目；

* 标项目为重组蛋白类项目特有工艺。

服务特色

多宿主菌转化平台

大肠杆菌包括DH5 α 、TOP10、Trans10及BL21衍生菌，酵母菌包括SMD1168H、X-33、GS115、PichiaPink strain1/2/3/4，宿主菌来源清晰、具备标准CoA报告；
平台工艺优先选择专利超期的宿主菌，以避免专利限制；

多样化抗性标记

无抗生素或法规指导下的抗生素选择，满足监管要求；

优势菌筛选平台

平台具备一定的筛选通量，SDS-PAGE单次可检测50+样品；

良好的记录书写规范

保证重组工程菌种的构建流程可溯源，满足法规要求。

服务案例

项目背景

某重组蛋白项目，使用大肠杆菌表达体系，重组蛋白以胞内可溶性蛋白形式表达。

菌种构建与筛选流程

客户提供了重组质粒和初始表达菌种，我们将重组质粒转化至三种不同的BL21衍生菌种，用于筛选优势宿主菌。以目的蛋白占比为导向，先后经过优势宿主菌筛选、优势宿主的优势菌种筛选、优势菌单克隆纯化，获得了高蛋白产量、高传代稳定性的优势菌种。

蛋白表达量

经摇瓶培养、诱导表达与SDS-PAGE分析，鉴定了优势宿主菌，随后筛选出优势菌种S1；对优势菌种S1的2个单克隆S1-1和S1-2的表达产物进行SDS-PAGE分析。结果显示，与客户初始菌种相比，S1-1和S1-2菌种的目的蛋白表达量显著提高。



高表达菌种的筛选 (SDS-PAGE)

菌种稳定性

S1-1的传代菌株P5、P10质粒保有率不低于95%。

对S1-1的传代菌株P5~P10的产物进行SDS-PAGE分析，其目的蛋白表达量与原始菌株基本保持一致。

以上结果提示，

菌株S1-1在连续传代10代次的过程中质粒丢失率较低，重组蛋白的表达水平没有显著变化，菌株传代稳定。

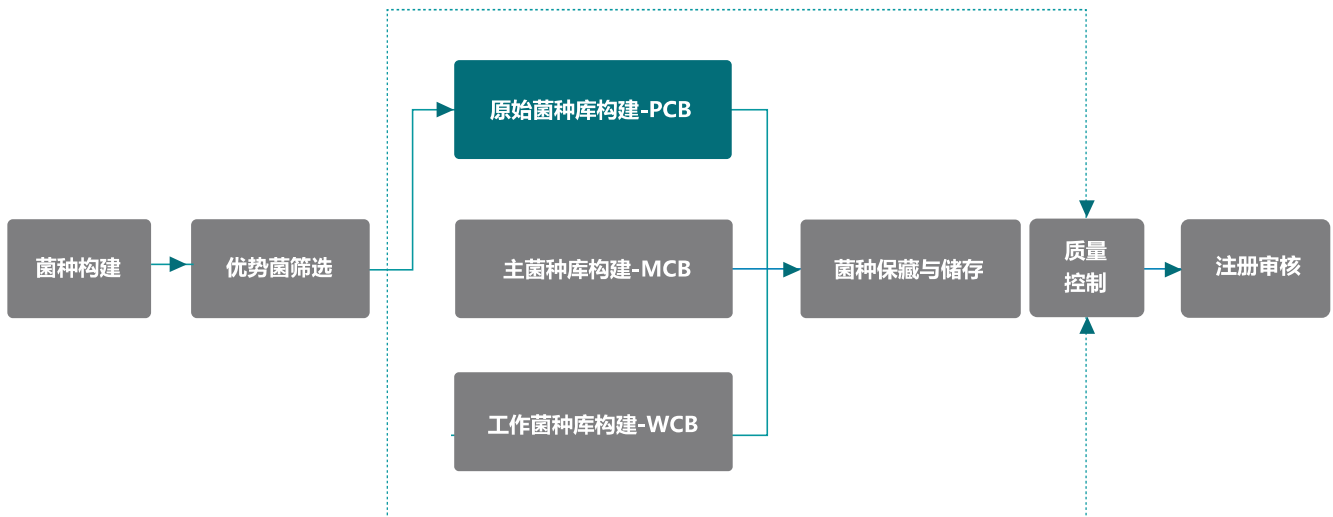


传代稳定菌种的筛选 (SDS-PAGE)

其他服务

- 菌种构建
- 原始菌种库构建-PCB
- 工作菌种库构建-WCB
- 菌种质量控制
- 优势菌筛选
- 主菌种库构建-MCB
- 菌种保藏与储存
- 注册审核服务

原始菌种库(PCB)构建服务



原始菌种库/原始细胞库 (PCB, Primary Cell Bank) , 来源于前期筛选的高表达量、高稳定性的优势菌种, PCB的放行需制定合规的质量标准。

耀海生物依托大肠杆菌和酵母分子构建工艺平台与质量控制平台, 可提供原始菌种库(PCB)构建服务, 并根据药典等法规制定完善的质量控制和放行标准, 保障PCB建库流程和质量研究方法的合规性, 全方位满足注册申报需求。



服务详情

服务名称	服务项目	服务详情	最短生产周期 (工作日)	交付内容
原始菌种库 构建 PCB	PCB 建库	生长曲线测定	5	菌种库 构建报告 PCB 菌种
		传代培养		
		菌种保藏		
	PCB 放行检测	详见质量控制部分	TBD	

注：表格以大肠杆菌为例展示了最短服务周期，酵母项目适当增加。

服务特色

完善的质控平台

检测项目包括但不限于质粒丢失率、传代稳定性、储存稳定性等；

多样化菌种保藏平台

冻干/液氮/甘油冻存等多种菌种保藏方式，满足异地储存需求；

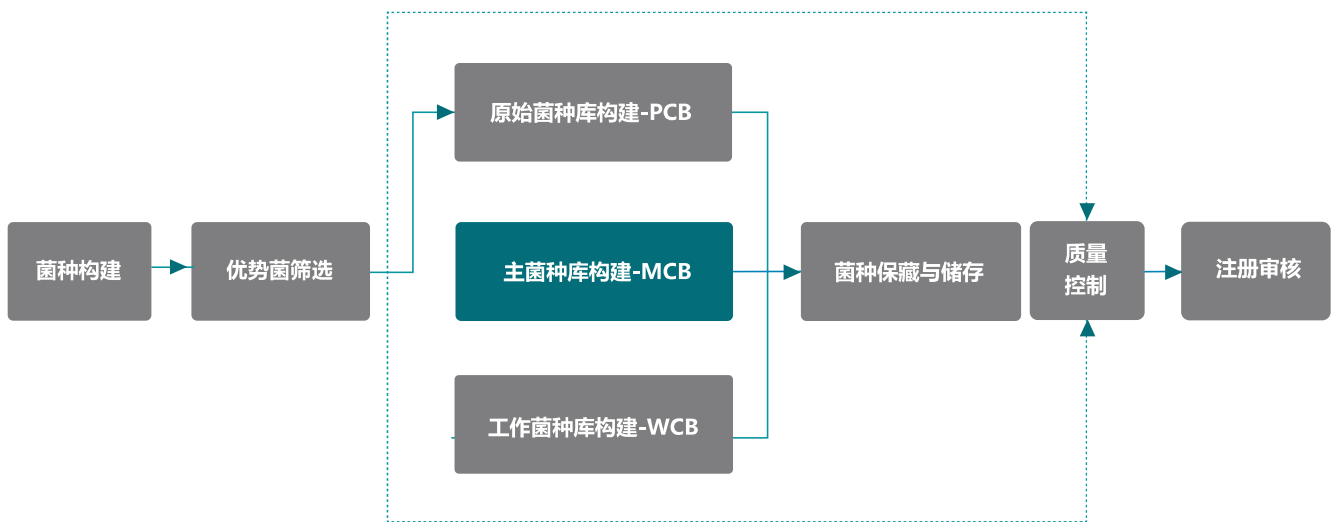
良好的记录书写规范

保证实验流程可溯源，满足审计要求。

其他服务

- 菌种构建
- 主菌种库构建-MCB
- 菌种质量控制
- 优势菌筛选
- 工作菌种库构建-WCB
- 注册审核服务
- 原始菌种库构建-PCB
- 菌种保藏与储存

主菌种库(MCB)构建服务



主菌种库/主细胞库 (MCB, Master Cell Bank) ，通过将原始菌种库(PCB)的菌种通过规定的方式传代增殖后，达到特定倍增水平或传代水平的均质细胞悬液，随后经过适当的保藏方法储存备用。传代菌种须按其特定的质控要求进行全面检定，检定合格后作为MCB。MCB的合规性主要体现在GMP车间，以及更为严格的质量放行标准。

耀海生物依托独立的GMP级菌种建库车间与质量控制平台，可提供主菌种库(MCB)构建服务，对MCB的质量标准严格高于PCB，且严格限定MCB的传代代次，全方位满足注册申报需求。

服务详情

服务名称	服务项目	服务详情	最短生产周期 (工作日)	交付内容
原始菌种库 构建 MCB	MCB 建库	传代培养	4	菌种库 构建报告 MCB 菌种
		菌种保藏		
	MCB 放行检测	详见质量控制部分	TBD	

注：表格以大肠杆菌为例展示了最短服务周期，酵母项目适当增加。

服务特色

独立的 GMP 建库车间

主菌种库-MCB和工作菌种库-WCB的构建在符合GMP规范的独立车间进行，有效避免交叉污染，保证菌种质量，满足法规要求；

多样化菌种保藏平台

冻干/液氮/甘油冻存等多种菌种保藏方式，满足异地保存需求；

合规的质检平台

药典等法规指导下的菌种传代稳定性、储存稳定性等检测项目，多个项目获临床批件，含中国、美国和澳洲；

GMP 体系线上审计平台

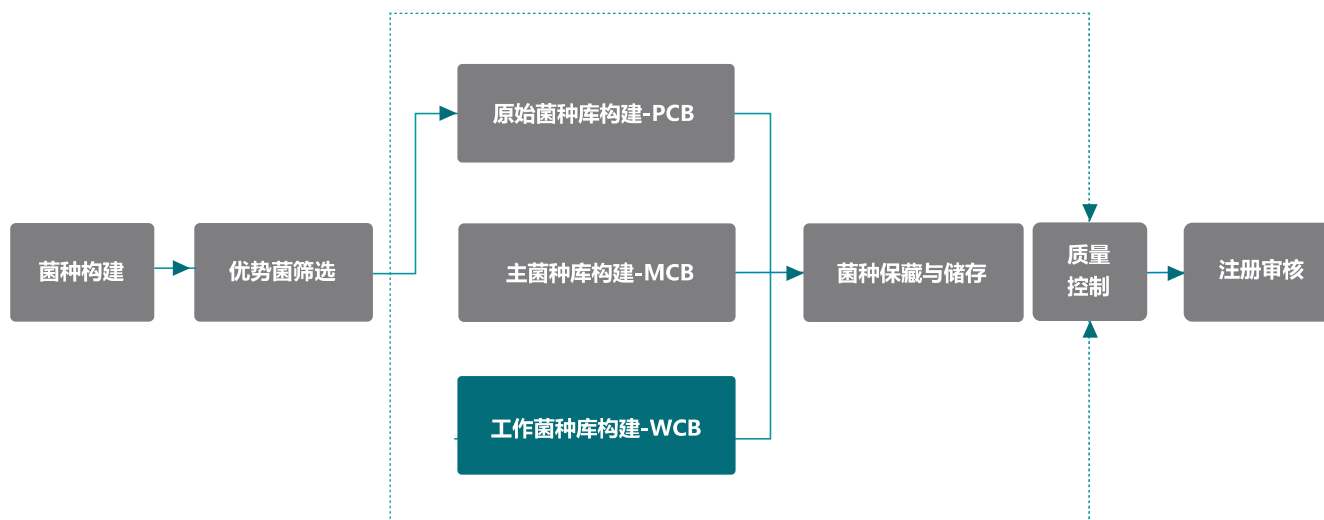
开放线上审计端口，共享GMP车间VR视频。

其他服务

- 菌种构建
- 主菌种库构建-MCB
- 菌种质量控制
- 优势菌筛选
- 工作菌种库构建-WCB
- 注册审核服务
- 原始菌种库构建-PCB
- 菌种保藏与储存



主菌种库(MCB)构建服务



工作菌种库/工作细胞库 (WCB, Working Cell Bank)，经主菌种库(MCB)传代增殖，达到一定代次水平的均质细胞悬液，随后经过适当的保藏方法储存备用。制备的WCB经检定合格后可用于生产，WCB的质量标准应在MCB的质量基础上建立。

耀海生物依托独立的GMP级菌种建库车间与质量控制平台，可提供工作菌种库(WCB)构建服务。质量放行标准依据不同菌种的传代能力而制定，严格限定WCB菌种的传代次数，全方位满足注册申报需求。

服务详情

服务名称	服务项目	服务详情	最短生产周期 (工作日)	交付内容
原始菌种库 构建 WCB	WCB 建库	传代培养	4	菌种库 构建报告 WCB 菌种
		菌种保藏		
	WCB 放行检测	详见质量控制部分	TBD	

注：表格以大肠杆菌为例展示了最短服务周期，酵母项目适当增加。

服务特色

独立的 GMP 建库车间

主菌种库-MCB和工作菌种库-WCB的构建在符合GMP规范的独立车间进行，有效避免交叉污染，保证菌种质量，满足法规要求；

多样化菌种保藏平台

冻干/液氮/甘油冻存等多种菌种保藏方式，满足异地保存需求；

合规的质检平台

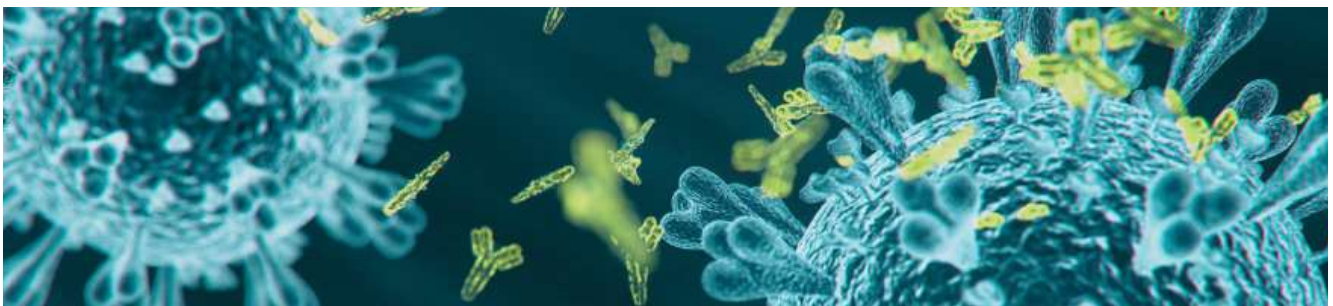
药典等法规指导下的菌种传代稳定性、储存稳定性等检测项目，多个项目已申报临床（中美澳）；

GMP 体系线上审计平台

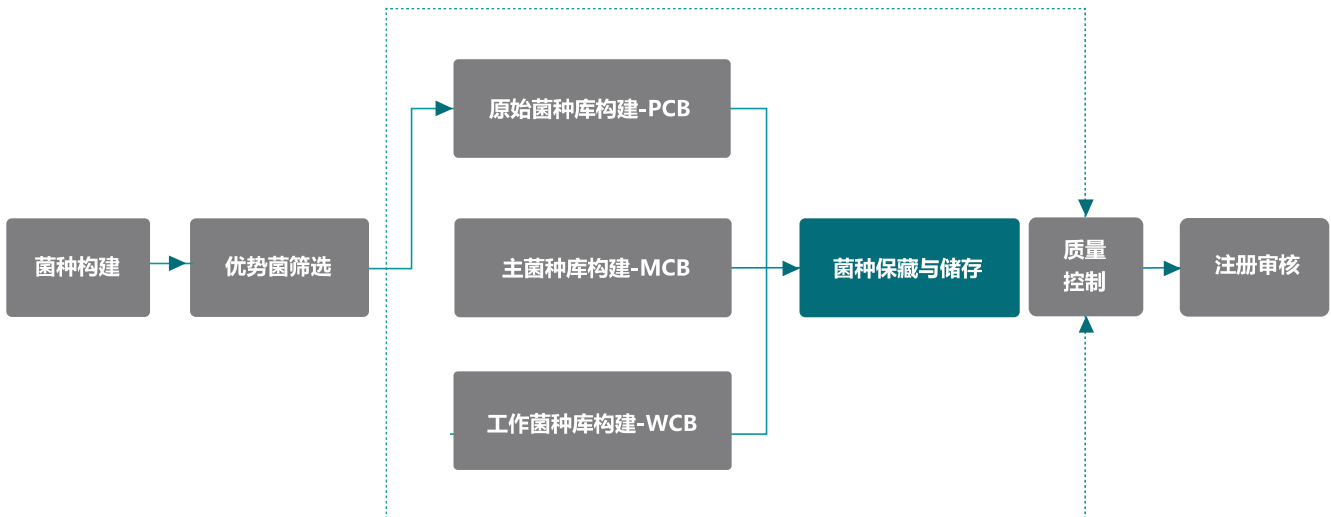
开放线上审计端口，共享GMP车间VR视频。

其他服务

- 菌种构建
- 主菌种库构建-MCB
- 菌种质量控制
- 优势菌筛选
- 工作菌种库构建-WCB
- 注册审核服务
- 原始菌种库构建-PCB
- 菌种保藏与储存

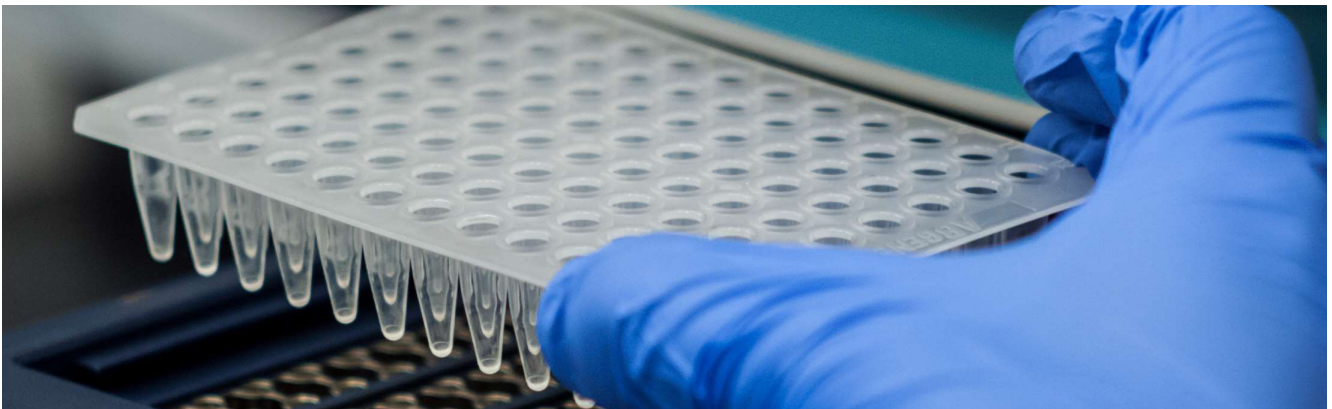


菌种保藏与储存服务



菌种经检定后，应根据其特性，选用甘油管、冻干、液氮或其他适当方法及时保存，以降低菌种新陈代谢的速度，使菌种处于半永久性休眠状态，保障菌种的合格状态。大肠杆菌常用的保藏方法包括：冻干法、液氮法和甘油冻存法。

耀海生物建立了独立的GMP菌种保藏和储存车间，以完善二级菌种库构建与菌种储存的服务流程，可承接菌种冻干或甘油冻存、以及菌种储存等服务项目，满足重要菌种异地储存备份的需求。



服务详情

服务名称	服务项目	服务详情	最短生产周期 (工作日)	交付内容
菌种保藏 与储存	菌种保藏	冻存保藏 (-70°C)	TBD	- 免费保藏 6 个月 - 满足异地储存需求
		液氮保藏		
		冻干保藏		
	菌种储存	菌种异地储存备份		

服务特色

多种菌种保藏方案

根据菌种特征，提供定制化的菌种保藏服务；

独立的 GMP 级冻干车间

独立车间运营，避免菌种交叉污染，有效保障菌种质量；

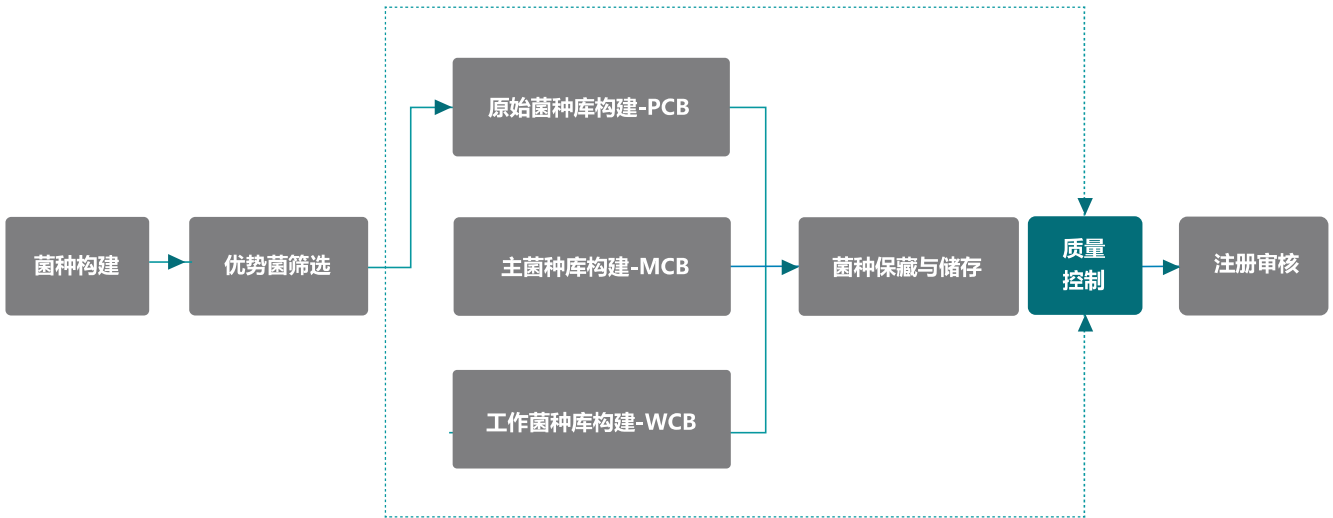
独立的 GMP 级储存车间

承接菌种储存服务，满足重要菌种异地储存备份的需求。

其他服务

- 菌种构建
- 主菌种库构建-MCB
- 菌种质量控制
- 优势菌筛选
- 工作菌种库构建-WCB
- 注册审核服务
- 原始菌种库构建-PCB
- 菌种保藏与储存

菌种质量控制服务-大肠杆菌



药典规定了生产用菌种的检定项目，包括菌种生物学特性、生化特性和遗传特性等，并要求检定各级菌种库的传代稳定性，以限定菌种库的传代代次，为生物制品生产提供检定合格、质量相同、能持续稳定传代的菌种或细胞。

耀海生物依托质量研究与控制平台，建立了完善的三级菌种库质量控制与放行标准，涵盖PCB、MCB和WCB。耀海生物以注册申报为导向，在多项已申报项目的经验基础上，可针对不同的菌种特性为客户建立合规的质量控制和放行标准，以满足注册申报需求。



服务详情

服务名称	服务项目	服务详情	最短生产周期 (工作日)	交付内容
菌种质量控制	稳定性研究	传代稳定性	TBD	<ul style="list-style-type: none"> • 传代记录 • 检验记录 • 检验报告 COA
		储存稳定性		
	划种 LB 琼脂平板	培养法	3	
	染色镜检	革兰氏染色法		
	活菌数检测	培养法		
	对抗生素的抗性	培养法		
	生化反应	生化特性反应检查法	30	
	质粒拷贝数	qPCR 法		
	目的产物表达量	SDS-PAGE 法	5	
	质粒酶切图谱	琼脂糖凝胶电泳法		
	质粒丢失率	培养法		
	噬菌体检测	噬斑法或增殖法	30	
	目的基因核苷酸序列	Sanger 测序法	7	
	保守区 16SrRNA 序列	Sanger 测序法		
电镜检查	电镜法	30		

服务特色

高标准的质控原则

根据菌种特异性，制定符合监管需求的质量控制和放行标准；

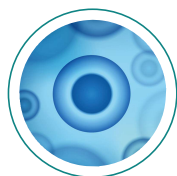
合规的质控平台

药典等法规指导下的菌种传代稳定性、储存稳定性等检测项目；

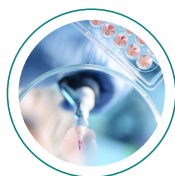
专业的质控团队

以注册申报为导向，精于药典等法规研读，助力项目快速申报。

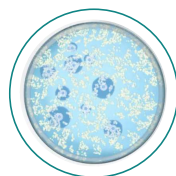
其他特色



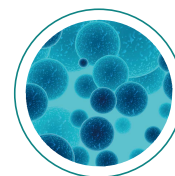
菌种构建



优势菌筛选



原始菌种库构建-PCB



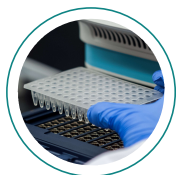
主菌种库构建-MCB



工作菌种库构建-WCB



菌种保藏与储存

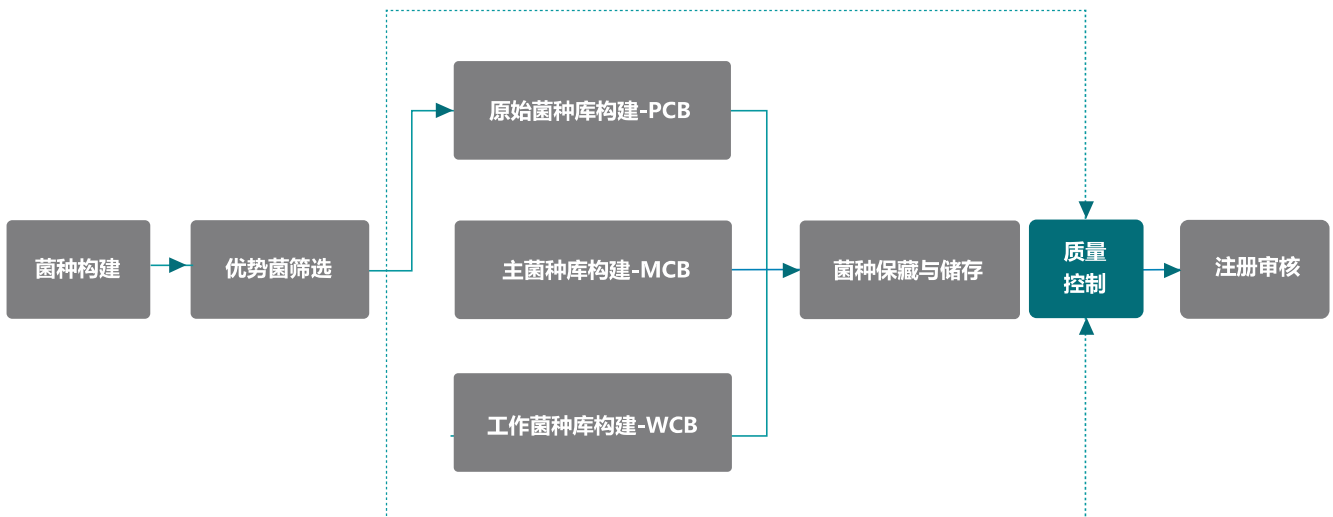


菌种质量控制



注册审核服务

菌种质量控制服务-酵母菌



药典规定了生产用菌种的检定项目，包括菌种生物学特性、生化特性和遗传特性等，并要求检定各级菌种库的传代稳定性，以限定菌种库的传代代次，为生物制品生产提供检定合格、质量相同、能持续稳定传代的菌种或细胞。

耀海生物依托质量研究与控制平台，建立了完善的三级菌种库质量控制与放行标准，涵盖PCB、MCB和WCB。耀海生物以注册申报为导向，在多项已申报项目的经验基础上，可针对不同的菌种特性为客户建立合规的质量控制和放行标准，以满足注册申报需求。



服务详情

服务名称	服务项目	服务详情	最短生产周期 (工作日)	交付内容
菌种质量控制	稳定性研究	传代稳定性	TBD	<ul style="list-style-type: none"> • 传代记录 • 检验记录 • 检验报告 COA
		储存稳定性	TBD	
	平板菌落特性	培养法	5	
	镜检形态	染色法	5	
	活菌数检测	培养法	5	
	抗性	培养法	5	
	目的产物表达量	SDS-PAGE 法	7	
	外源基因整合于宿主染色体检定	PCR 法	7	
	鉴别	WB	7	
	生化特性	生化检测	18	
	拷贝数测定	qPCR 法	40	
	目的基因测序	Sanger 测序法	14	
	ITS 鉴定	Sanger 测序法	7	
	18S rRNA 鉴定	Sanger 测序法	14	
电镜检查	透射电镜法	35		

服务特色

前沿的质控方案

根据菌种特异性，制定合规的质量控制和放行标准；

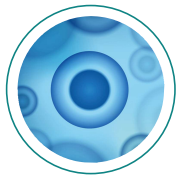
合规的质控平台

药典等法规指导下的菌种传代稳定性、储存稳定性等检测项目；

专业的质控团队

以注册申报为导向，精于药典等法规研读，助力项目快速申报。

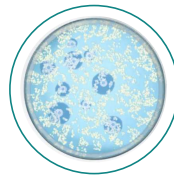
其他特色



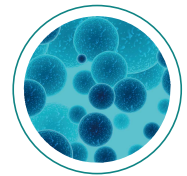
菌种构建



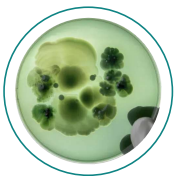
优势菌筛选



原始菌种库构建-PCB



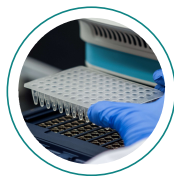
主菌种库构建-MCB



工作菌种库构建-WCB



菌种保藏与储存

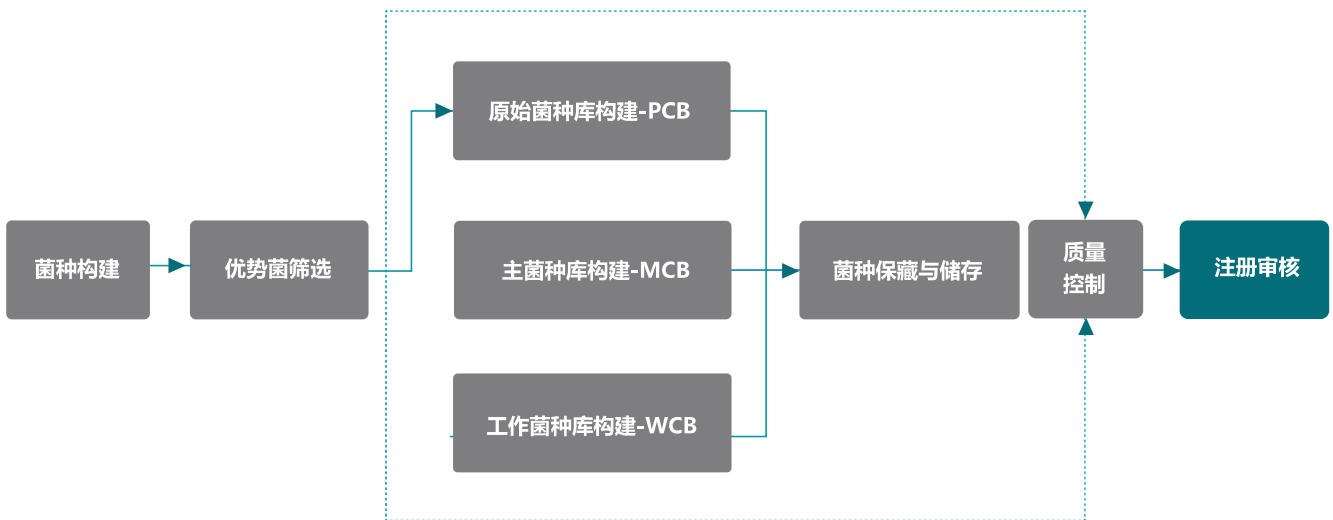


菌种质量控制



注册审核服务

注册申报服务



耀海生物注册团队全流程参与菌种库构建服务，为菌种库构建流程、传代稳定性和储存稳定性等放行标准提供法规支持，审核建库报告并给予合规反馈，全方位满足客户日后的IND申报需求。



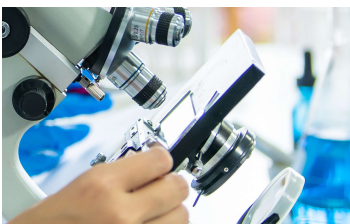
菌种构建与筛选流程

宿主菌溯源应清晰，尽量避开专利限制，支持客户项目商业化生产；
原始菌种来源清晰，构建过程清晰可追溯。



菌种库构建与保藏条件

二级菌种库构建应严格在GMP车间操作；
制定适合的菌种保藏条件和保藏周期。



菌种放行标准

菌种生物学特性、噬菌体等质量标准应不低于法规要求；
传代稳定性鉴定中检测代次、关键代次应符合监管要求；
储存稳定性鉴定中取样时间、长期稳定性研究应符合监管要求。

服务特色

丰富的项目经验

服务客户超200家，涵盖多种项目类型，精准把握法规指南、审评要求及药品注册要点，对项目重难点可提前预判，极大提升项目效率。

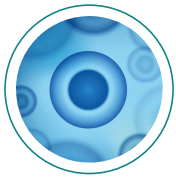
专业的注册团队

核心成员拥有丰富的注册申报经验，对国内外注册相关法规有着深入研究和理解，可全面地为客户在产品研发的整个生命周期内提供法规策略指导。

全面的法规调研

全面覆盖全球药品监管机构的法规调研、内容解读和项目落地。

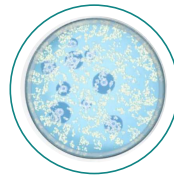
其他特色



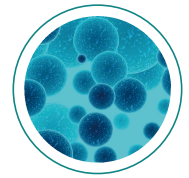
菌种构建



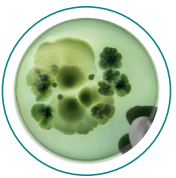
优势菌筛选



原始菌种库构建-PCB



主菌种库构建-MCB



工作菌种库构建-WCB



菌种保藏与储存



菌种质量控制



注册审核服务

常见 Q&A

01 宿主菌的筛选过程是必要的吗？

TIPs: 筛选宿主菌是一个重要步骤，除特殊情况外，建议进行宿主菌的筛选。若客户已有前期研究基础，评估后可不进行宿主菌的筛选。

02 重组质粒转化至宿主菌后，优势菌筛选前的测序验证是必要的吗？

TIPs: 质粒转化后建议进行简单的验证，如PCR确认和酶切验证，确认重组菌种携带质粒或目的基因，以避免后续测序结果不正确，浪费时间。但主代菌种库和工作种子库的构建、及传代和储存稳定性检测前，应完成PCB建库和测序的工作。

03 PCB 建库过程中是否需要考察传代稳定性？

TIPs: PCB建库的目的是筛选出能够稳定遗传、且高表达量的菌株，PCB菌种的传代稳定性和筛选时的传代稳定性是两种概念。建议菌种构建和筛选过程中进行传代稳定性的考察。

04 是否可以在 PCB 建库后再进行传代稳定性？

TIPs: 如果菌种传代稳定的话，可以减少工作量；但是也存在风险，如果菌种传代不稳定，则需重新筛选优势菌株，工作量也会相应增加。

05 已构建 PCB 库，想要找耀海构建 MCB 和 WCB 二级菌种库，需提供什么材料呢？

TIPs: 客户交接PCB的同时需提供一份检测报告，包含活菌数、质粒拷贝数、抗生素抗性、目的产物表达量等，最大程度避免日后的申报障碍。

菌种库构建平台



Bio-Rad 凝胶成像仪



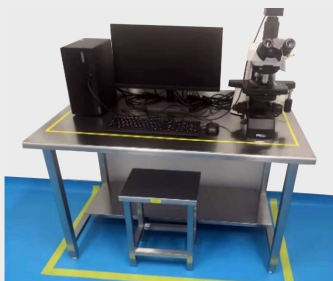
Thermo qPCR 仪



Bio-Rad PCR 仪



Thermo 全波长酶标仪



显微镜 (GMP建库车间)



A级生物安全柜

GMP建库环境：C级洁净区中的A级生物安全柜

SERVE
WITH HEART &
CREATE
THE FUTURE TOGETHER

CONTACT US

www.yaohai-bio.com.cn/

Enterprise mailbox:BD@yaohaibio.cn

Link : <https://www.linkedin.com/company/yaohaibio/>

Address: Building 29, No. 801, Jiankang Dadao, Taizhou, Jiangsu

