

| LE DOSSIER |

OPTIMISATION ET VALIDATION D'ESSAIS EN PCR DIGITALE (dPCR)

Clean Cells, société certifiée BPF, est une experte de renommée mondiale du contrôle qualité bénéficiant d'un **historique d'évaluation par qPCR de milliers de produits biologiques** pour l'humain ou l'animal.

A la suite de la [qualification de notre plateforme de PCR digitale](#), l'équipe de Clean Cells a travaillé à **l'optimisation et à la validation initiales d'essais quantitatifs** pour renforcer des méthodes internes existantes. Ci-dessous, vous trouverez un résumé du travail effectué dans le cadre de notre système qualité afin de permettre le déploiement **des essais de dPCR en condition BPF**. Ces essais BPF sont désormais disponibles pour la caractérisation et la libération de produits biologiques variés.

L'optimisation et la validation montrent par ailleurs la capacité de nos équipes à **développer et valider des essais sur mesure** à destination de sponsors ayant des besoins spécifiques de caractérisation. La validation de méthode et de l'équipement est effectuée dans le cadre de notre système qualité et suivant les directives internationales, incluant **les référentiels ICHQ2(R1) et 21CFR part 11**.

La méthode et nos capacités

La méthode

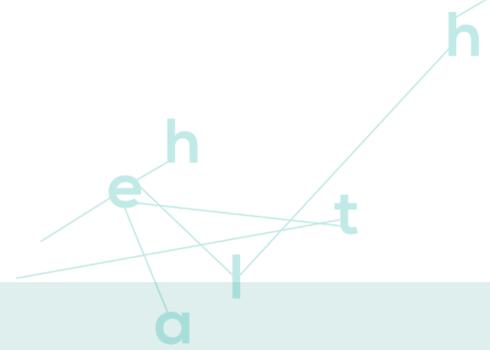
La PCR digitale représente une avancée majeure en termes de qualité. Basé sur une partition physique des échantillons et l'automatisation, elle permet d'offrir une **qualité améliorée et des résultats plus robustes**. Cette approche directe implique tout d'abord la dilution d'un échantillon, ensuite partitionné puis amplifié avant lecture. Avec une automatisation accrue, le temps opérateur est réduit, **améliorant ainsi la fiabilité**.

La PCR digitale peut être utilisée dans diverses conditions pour évaluer des produits requérant une **sensibilité accrue et une quantification absolue et avec une limite de détection abaissée**. Elle peut être utilisée de **manière indépendante** pour des projets de recherche ou **de manière complémentaire** à des essais en TCID50 ou FISH ou à des études de clonalité (nombre de copies de transgène) en contexte réglementaire.

Capacités et avantages

A Clean Cells, la PCR digitale peut être utilisée à diverses fins :

- Nombre de copies de génome ou de plasmide (GCN, PCN)
- Titrage (vecteur viraux ou lot de semence viral)
- Quantification des translocations en cellules modifiées
- Expression génique
- Quantification de l'ADN de cellule hôte



Clean Cells a implémenté une plateforme de PCR digitale (dPCR) **présentant un certain nombre d'avantages** en développement, optimisation, validation et en réalisation de méthodes dPCR :

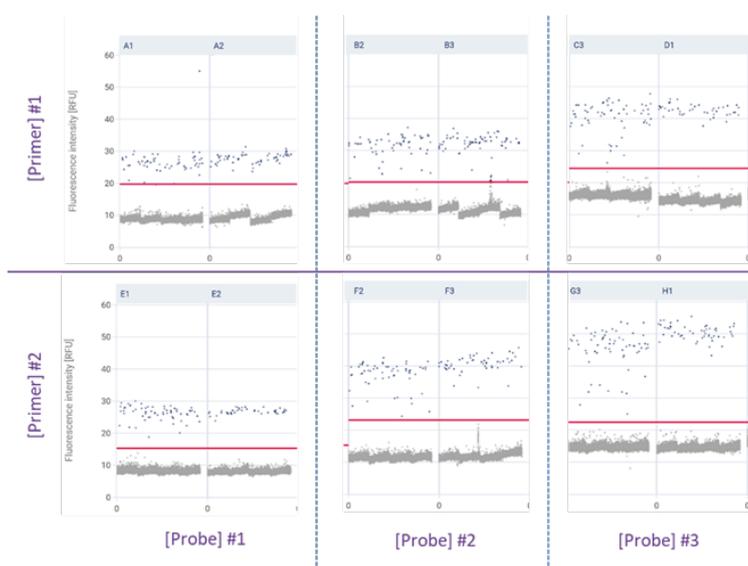
- **5 quantifications simultanées** dans le même puits grâce aux 5 canaux de fluorescence disponibles sur la plateforme QIAcuity One 5plex de QIAGEN.
- Même efficacité de développement et de validation que pour la qPCR

Optimisation et validation

Travail d'optimisation

L'optimisation des essais en dPCR peut être réalisée sur plusieurs paramètres, comme les concentrations en amorce et en sonde, la température d'hybridation ou le nombre de cycles d'amplification, avec un objectif commun : **améliorer la distinction** entre les partitions positives et négatives et réduire le phénomène de *rain* (partitions de fluorescence intermédiaire).

Des exemples de résultats pour les concentrations en amorce et sonde en essai dupliqué :

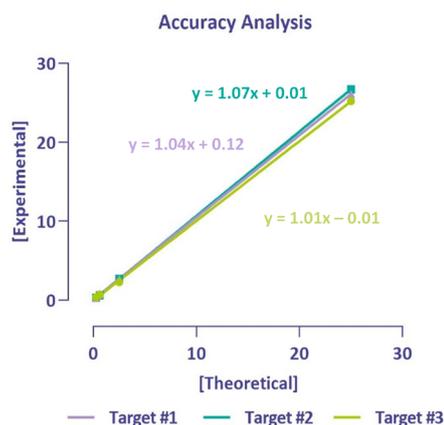


Les données montrent qu'il n'existe pas de différence significative entre les deux concentrations d'amorce testées, mais l'augmentation de la concentration de sonde améliore la distinction entre partitions positives et négatives.

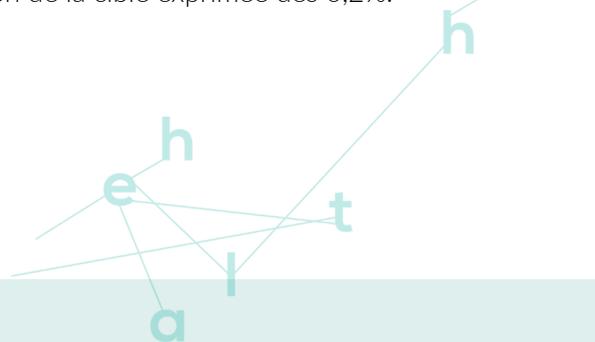
Validation d'essais

Un essai dupliqué vise à mesurer l'expression de trois gènes-cibles en cellules eucaryotes en quantifiant dans le même puits un gène domestique et la cible. Après optimisation, les trois **essais sont validés selon la directive ICHQ2(R1)**, incluant l'évaluation de la **précision, de la spécificité, de la linéarité, de la gamme, de l'exactitude et de la robustesse.**

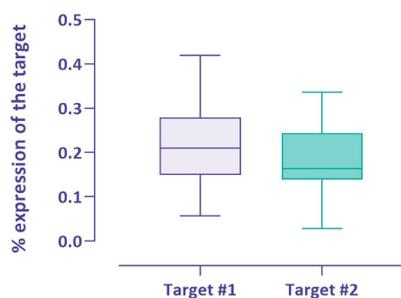
Exactitude



La quantification de ces trois cibles s'avère très exacte avec une sensibilité élevée, permettant la quantification de la cible exprimée dès 0,2%.



Sensibilité



Deux des trois cibles sont exprimées à de faibles niveaux dans les cellules. Le graphique montre la capacité des essais à quantifier ces gènes à l'expression faible. Plus de 20 mesures ont été effectuées et se sont avérées analysables malgré la faible représentativité.

Clean Cells : un partenaire de contrôle qualité pour le développement et la réalisation d'essais.

Depuis plus de 20 ans, Clean Cells affirme son expertise du contrôle qualité grâce à **son travail sur une grande diversité de produits biologiques** pour l'humain ou l'animal. Notre portefeuille d'essais, maintenant augmenté de référence en PCR digitale (dPCR), compte plusieurs centaines de tests pour l'évaluation de [l'activité biologique, de la biosécurité, de la pureté et de l'identité](#).

N'hésitez pas à [contacter notre équipe](#) pour discuter de besoins en tests et de développement sur-mesure.

