



Fiche d'information du matériau

Matériau de référence

OMIC-1

Matériau de référence pour la glycoprotéine spiculaire du variant Omicron BA.4/5 du SRAS-CoV-2

OMIC-1 est un matériau de référence (MR) conçu pour le développement de méthodes de détection de la glycoprotéine spiculaire du variant Omicron BA.4/5 du SRAS-CoV-2 ainsi que pour l'utilisation comme source d'antigène dans les dosages immunologiques du SRAS-CoV-2. Les valeurs de référence pour OMIC-1 indiquées dans le tableau 1 sont basées sur les résultats combinés de deux méthodes orthogonales dont les données ont été générées au Conseil national de recherches Canada (CNRC) [1]. Une unité de OMIC-1 comprend 0,2 mL de la glycoprotéine spiculaire du SRAS-Cov-2 BA.4/5 dans une solution saline tampon de phosphate de Dulbecco (DBPS) avec 10 mM de sel de sodium HEPES.

Tableau 1 : Valeurs de référence et incertitudes élargies ($k = 2$) pour OMIC-1

Composé	Concentration molaire $\mu\text{mol/L}$	Fraction massique mg/g	Concentration massique mg/mL (21 °C)
protéine spiculaire du SRAS-CoV-2 BA.4/5 (a,b) ¹	5,4 \pm 0,5	0,75 \pm 0,07	0,76 \pm 0,07
glycoprotéine spiculaire du SRAS-CoV-2 BA.4/5 (a,b) ²	5,4 \pm 0,5	0,97 \pm 0,10	0,97 \pm 0,10

¹Séquence de la protéine spiculaire du SRAS-CoV-2 BA.4/5 seulement (141 324 \pm 1 g/mol), la masse molaire des glycanes n'est pas incluse dans les calculs.

²Masse molaire totale de la glycoprotéine spiculaire du SRAS-CoV-2 BA.4/5 (181 000 \pm 7 000 g/mol), qui inclut la meilleure estimation de la masse molaire des glycanes.

Veuillez consulter les sections ci-dessous pour obtenir des explications supplémentaires

Période de validité: jusqu'à novembre 2032

Conditions d'entreposage: -80 °C

Tableau 2 : Valeurs informatives pour OMIC-1

Composé	Valeur relative %
trimère (c)	88
espèces de poids moléculaire élevé (c)	8
espèces de poids moléculaire bas (c)	4

Utilisation prévue

Distribué en unités de 0,2 mL, le présent matériau de référence est principalement destiné à être utilisé pour le développement, la validation et le déploiement des tests immunologiques du SRAS-CoV-2.

Préparation du matériau

La protéine a été produite dans des cellules de mammifères (CHO) et purifiée au Centre de recherche en thérapeutique en santé humaine du CNRC [2, 3]. La solution a été répartie en aliquotes de 0,2 mL dans des tubes stériles en propylène. Tout le processus d'embouteillage des échantillons a été effectué dans un environnement stérile avec des équipements pré-stérilisés.

Caractérisation du matériau

La liste explicative des lettres figurant à côté de chaque composé (tableaux 1 et 2) renvoie à la méthode instrumentale utilisée pour obtenir les mesures :

- a) Analyse des acides aminés par double dilution isotopique en chromatographie liquide couplée à un spectromètre de masse en tandem (LC-ID-MS/MS)
- b) Spectrophotométrie ultraviolet-visible (UV-Vis)
- c) Chromatographie liquide d'exclusion de taille couplée à un spectrophotomètre ultraviolet-visible (LC-SEC-UV)

La valeur de la concentration massique rapportée a été calculée en utilisant une densité de $1,005 \pm 0,008$ g/mL ($k = 2$) à 21 °C, déterminée au CNRC en utilisant la solution saline tampon du MR. Afin de tenir compte de l'incertitude significative de la masse des glycanes attachés à la protéine, la valeur de la fraction massique rapportée a été calculée en utilisant une masse moléculaire totale de $181\ 000 \pm 7\ 000$ g/mol.

Traçabilité métrologique

Les résultats présentés dans le présent certificat sont traçables au Système international d'unités (SI) au moyen de matériaux de référence certifiés du NRC préparés par gravimétrie, soit APRO-1 (L-proline), ALEU-1 (L-leucine) et APHE-1 (L-phénylalanine), qui ont été utilisés comme étalons de calibration pour la méthode LC-ID-MS/MS.

Homogénéité

De prime abord, le matériau est présumé homogène puisqu'il s'agit d'une solution de protéine. Néanmoins, l'homogénéité du matériau a tout de même été analysée au CNRC par UV-Vis. Les résultats d'échantillons d'un nombre représentatif de tubes, choisi à travers la série complète des tubes, ont été évalués en utilisant le modèle d'effets aléatoires Bayésien d'analyse de la variance (ANOVA) [4]. La variation inter-unités a été déterminée comme étant négligeable et donc, le matériau est jugé homogène.

Stabilité

La stabilité de transport de OMIC-1 a été évaluée par LC-SEC-UV lors d'une étude de stabilité isochrone à un, sept et quatorze jours afin d'observer des changements lors d'une exposition à différentes températures, soit +40, +20, +4 et -20 °C. Les échantillons de référence ont été maintenus à -80 °C. Des changements significatifs dans l'hétérogénéité de la taille des protéines ont été observés après sept jours d'entreposage à +20 °C. Il est donc conseillé de maintenir le matériau congelé jusqu'à son utilisation. Cependant, il peut être conservé à +4 °C pendant 24 heures dans le cadre d'une expérience, par exemple dans un échantillonneur automatique. Le matériau est expédié sur de la glace sèche, mais l'incertitude de la stabilité de OMIC-1 comprend une estimation de l'instabilité à court terme à +40 °C pour représenter de potentiels délais d'expédition importants.

La stabilité aux cycles de congélation-décongélation (C/D) a également été évaluée par LC-SEC-UV. Les échantillons de référence ont été décongelés comme indiqué ci-dessous. Les échantillons pour la C/D ont été analysés après avoir subi 1, 2, 3, 4 et 5 cycles supplémentaires avec une température de congélation de -80 °C. Des changements mineurs ont seulement été observés après 4 cycles de C/D, il est donc recommandé de limiter les cycles de C/D à 3.

La stabilité à long terme de OMIC-1 a été évaluée par UV-Vis sur des échantillons entreposé à -80 °C pendant trente mois et comparés à la concentration molaire attribuée initialement. Aucune différence significative dans la concentration mesurée n'a été observée au cours de cette période. De plus, les résultats LC-SEC-UV de l'étude isochrone décrite ci-dessus ont été complétés par des mesures effectuées sur des échantillons conservés à -20 et -80 °C pendant dix semaines ainsi que douze, dix-huit et trente mois. Une dégradation simple de premier ordre avec un modèle d'Arrhenius a été ajustée aux données afin de prédire la dégradation potentielle de OMIC-1 après dix ans à -80 °C. Cette composante d'incertitude à long terme a été incluse dans l'incertitude finale de la stabilité de OMIC-1.

Il est à noter que la méthode LC-SEC-UV rapporte uniquement l'hétérogénéité de la taille du matériau et donc, les résultats de méthodes structurales ou fonctionnelles alternatives peuvent différer.

Incertainitude

L'incertitude élargie (U) pour toutes les valeurs est égale à $U = k u_c$, u_c étant l'incertitude type composée calculée conformément au Comité commun pour les guides en métrologie (JCGM) [5] et k étant le facteur de couverture. Un facteur de couverture de $k = 2$ a été appliqué, ce qui correspond à un niveau de confiance d'environ 95 %.

Toutes les sources raisonnables d'incertitude liées aux valeurs de référence du tableau 1 ont été prises en compte. L'estimation de l'incertitude combinée comprend les incertitudes dues à la caractérisation du lot, à la variation possible inter-unité et à la stabilité du matériau.

Entreposage

Le matériau doit être entreposé à une température de -80 °C. Un entreposage à court terme (< 2 mois) à -20 °C est acceptable. L'entreposage prolongé à -20 °C peut causer l'agrégation des protéines.

Instructions de manipulation et d'utilisation

Avant l'ouverture, chaque tube doit d'abord être décongelé à température ambiante jusqu'à ce qu'il n'y ait plus de cristaux de glace résiduels. Le tube doit ensuite être retourné cinq fois pour s'assurer que la solution est bien mélangée. Pour éviter la formation de mousse, une agitation vigoureuse du tube est déconseillée. Le tube doit ensuite être brièvement centrifugé dans une centrifugeuse afin de retirer tout liquide pouvant adhérer au bouchon. Une fois ouvert, le contenu du tube doit être utilisé immédiatement ou recongelé en aliquotes. Il est recommandé de limiter les cycles de congélation-décongélation à trois, tel que décrit ci-dessus. Il est à noter que le volume de la solution n'est pas certifié. En conséquence, tout le contenu du tube ne peut être dilué de façon volumétrique.

Renseignements sur la santé et la sécurité

Seul un personnel qualifié devrait manipuler ce matériau et des méthodes d'élimination appropriées doivent être suivies. Une Fiche de données de sécurité (FDS) est disponible à l'adresse doi.org/10.4224/crm.2023.omic-1. Réservé à l'usage du laboratoire uniquement; non destiné à la consommation humaine, aux usages thérapeutiques, aux médicaments, aux usages domestiques ou à tout autre usage.

Période de validité

Les valeurs de référence sont valides jusqu'en novembre 2032, pourvu que les conditions d'entreposage et les instructions de manipulation et d'utilisation précisées dans le présent certificat soient respectées.

Système de gestion de la qualité

Le CNRC est l'institut national de métrologie (INM) du Canada et est signataire de l'Arrangement de reconnaissance mutuelle du Comité international des poids et mesures (CIPM MRA). Le CIPM MRA a été développé en réponse à un besoin croissant d'un système ouvert, transparent et complet pour donner aux utilisateurs des informations quantitatives fiables sur la comparabilité des services nationaux de métrologie et de fournir la base technique des accords plus larges négociés pour les échanges internationaux, le commerce et les affaires réglementaires. Notre Système de gestion de la qualité pour les services de mesure et les matériaux de référence certifiés est conforme aux exigences des normes ISO/IEC 17025 et ISO 17034.

Description de la terminologie

Les valeurs de référence sont celles pour lesquelles l'estimation de toutes les sources d'incertitudes n'est pas exhaustive ou pour lesquelles la traçabilité métrologique n'a pas été entièrement établie par le CNRC.

Les valeurs informatives sont celles qui peuvent intéresser les utilisateurs, mais pour lesquelles le CNRC n'a pu fournir suffisamment de renseignements pour inclure une estimation de l'incertitude, ou qui reflètent l'absence de consensus entre différentes méthodes d'analyse.

Informations supplémentaires

Les renseignements bibliographiques et toute autre information technique complémentaire comme la séquence d'acides aminés de la protéine OMIC-1 sont disponibles à l'adresse doi.org/10.4224/crm.2023.omic-1.

Références

1. Stocks BB, Thibeault M-P, L'Abbé D, et al. Characterization of biotinylated human ACE2 and SARS-CoV-2 Omicron BA.4/5 spike protein reference materials. *Anal Bioanal Chem.* 2024, 416: 4861–4872. <https://doi.org/10.1007/s00216-024-05413-7>
2. Stuiblé M, Gervais C, Lord-Dufour S, et al. Rapid, high-yield production of full-length SARS-CoV-2 spike ectodomain by transient gene expression in CHO cells. *J Biotech.* 2020, 326: 21–27. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2020.12.005>
3. Isho B, Abe K, Zuo M, et al. Persistence of serum and saliva antibody responses to SARS-CoV-2 spike antigens in COVID-19 patients. *Sci Immunol.* 2020, 5: eabe5511. <https://doi.org/10.1126/sciimmunol.abe5511>
4. van der Veen AMH. Bayesian analysis of homogeneity studies in the production of reference materials. *Accred Qual Assur* (2017), 22 (6): 307–19. <https://doi.org/10.1007/s00769-017-1292-6>
5. JCGM 100:2008. Evaluation of measurement data – Guide to the expression of uncertainty in measurement. Joint Committee for Guides in Metrology (JCGM); 2008. <https://doi.org/10.59161/JCGM100-2008E>

Auteurs

Bradley Stocks et Marie-Pier Thibeault

Centre de recherche en métrologie, Conseil national de recherches du Canada, 1200, chemin Montréal, Ottawa (Ontario) K1A 0R6, Canada

Remerciements

Les membres du personnel du CNRC suivants ont contribué à la production et à la certification de OMIC-1: Jennifer Bates, Joshua Marleau-Gillette, Juris Meija, Jason Baardsnes, Louis Bisson, Brian Cass, Simon Lord-Dufour, Matthew Stuible et Yves Durocher.

Date d'émission : Mars 2023

Révisé :

Décembre 2023 (mises à jour des valeurs de référence (Tableaux 1), mises à jour éditoriales aux sections d'introduction et de stabilité, date d'expiration prolongée)

Juin 2025 (section de stabilité mise à jour, mises à jour éditoriales et date d'expiration prolongée)

Version du document : 20250620

Approuvé par : _____

Andreas Brinkmann, PhD
Chef d'équipe, Métrologie chimique – Organique

Ce certificat est valide uniquement si le matériau correspondant a été obtenu directement auprès du CNRC ou d'un revendeur autorisé. Les utilisateurs doivent s'assurer que le certificat à leur disposition est à jour. Pour les mises à jour, veuillez consulter le site suivant : doi.org/10.4224/crm.2023.omic-1 .

Veillez adresser tout commentaire, renseignement ou demande au :

Conseil national de recherches du Canada
Centre de recherche en métrologie
1200, chemin Montréal
Bâtiment M-36, salle 1029
Ottawa (Ontario) K1A 0R6

Téléphone : 613-993-2359

Télécopieur : 613-993-8915

Courriel : CRM.sales-ventes.MRC@nrc-cnrc.gc.ca

Canada