

- Biyoteknolojik ürünlerde kalite kontrol geleneksel ürünlerden 3 konuda farklılık gösterir.
- 1. Üretim organizmalarının gelişimi ve karakterizasyonu
- 2. Fermantasyonun kontrolü ve hücre kültürü yöntemleri ile ilgili testler
- 3. Tanıma ve saflaştırma prosesi/ final ürün kalite kontrolleri

Kalite Kontrolü

- Biyoteknolojik ürünlerde safsızlık ve kontaminantlar

Konakçı Organizma Olarak E. coli¹¹

Avantajları	Günümüzdeki problemler
<ol style="list-style-type: none">1. Genetiği ve moleküler biyolojisi iyi araştırılmıştır.2. İyi konakçı/vektör sistemleri vardır3. Ucuz ortamlarda hızlı büyüme yeteneğine sahiptir.	<ol style="list-style-type: none">1. Potansiyel endotoksin kaynağıdır.2. Proteinler çözünmez ve saflaştırma güç olabilir.3. Bazı proteinler N-terminal metiyonin artığı içerir.4. Proteinler glikolizlenemezler.5. Proteinler genellikle ortama salınmaz.

Kalite Kontrolü

- Biyoteknolojik ürünlerde safsızlık ve kontaminantlar

Konakçı Organizma Olarak Mayalar¹¹

Avantajları	Günümüzdeki problemler
<ol style="list-style-type: none">1. Genetiği, moleküler biyolojisi ve fizyolojisi iyi araştırılmıştır.2. Patojenik değildir ve gıda endüstrisi için uygundur.3. Fermantasyon kapasitesi yüksektir.4. Salım mekanizması iyi araştırılmıştır.5. Bazı heterolog proteinler hücre içinde çözünür şekilde birikirler.	<ol style="list-style-type: none">1. Ekspresyon düzeyleri düşüktür.2. Glikolizasyon yüksek ökaryotlardan farklıdır.3. Salgılanan peptitlerin hepsi uygun bir şekilde işlenemez.4. Büyük molekül ağırlıklı proteinler az salgılanır.5. Ekspresyon için ticari işlemlerin geliştirilmesi sürmektedir.

Konakçı Olarak Memeli Hücreleri

Avantajları	Günümüzdeki problemler
<ol style="list-style-type: none">1. Doğal halde protein üretilir.2. Ürün ortama salgılanır.3. Bazı ürünler için serum içermeyen ortam kullanılabilir.4. Ürün verimi yüksektir.5. Translasyon sonrası doğru modifikasyonlar yürütülür.	<ol style="list-style-type: none">1. Hücreleri çoğaltmak pahalıdır.2. Moleküler biyolojisi üzerinde çalışmalar sürmektedir.3. Bazı hücrelerin uzun süreli stabilitesi belli değildir.4. Düzenleyici otoritelerin virüs kontaminasyonu gibi bazı konularda endişeleri mevcuttur.

Biyoteknoloji Ürünlerinde Safsızlık ve Kontaminantlar

Safsızlık veya Kontaminantlar	Saptama Yöntemi
<u>Safsızlıklar</u>	Bakteryal endotoksin testi, Pirojen testi
Endotoksin	SDS-PAGE ^a , Immunoassay
Konakçı hücre proteinleri	SDS-PAGE, HPLC ^b , Immunoassay
Diğer protein safsızlıkları	DNA hibridizasyon, UV spektrofotometre, Protein bağlama
DNA	Peptit haritalama, HPLC, IEF ^c , MS ^d
Mutant proteinler	Peptit haritalama, HPLC, MS
Formil metiyonin	Peptit haritalama, Aminoasit analizi, HPLC, Edman bozunma analizi, MS
Yükseltgenmiş metiyoninler	IEF, SDS-PAGE (indirgenmiş), HPLC, Edman bozunma analizi
Proteolitik ayrılma ürünleri	SDS-PAGE, HPSEC ^e
Agregatlaşmış proteinler	IEF, HPLC, MS, Edman bozunma analizi
Deamidasyon ürünleri	SDS-PAGE, Immunoassay
Monoklonal antikorlar	Aminoasit analizi, Peptit haritalama, MS, Edman bozunma analizi
Aminoasit değişiklikleri	Mikrobiyal sınır testleri, Sterilite testi, Mikrobiyolojik testler
<u>Kontaminantlar</u>	Modifiye edilmiş CFR 21 metodu ^f , DNAF ^g
Mikrobiyal (bakteri, maya, mantar)	CPE ^h ve Had ⁱ (ekzojen virüsler için), Ters transkriptaz aktivitesi, MAP ^j
Mikoplazma	
Virüsler (endojen veya ekzojen)	

a Sodyum Dodesil Sulfat-Poliakrilamid Jel Elektroforezi.

c İzoelektrik Odaklama

e Yüksek basınçlı iyon değişim kromatografisi.

g DNA bağlayıcı florokrom

i Hemadsorpsiyon

b Yüksek-basınçlı sıvı kromatografisi

d Mass spektrometre (kütle spektrometresi)

f Draft guidelines relating to code of Federal Regulations, Title 21.

h Sitopatik etki.

j Sıçan antikor üretimi

Biyolojik/ Biyoteknolojik Ürünlerde Uygulanan Analiz Metodları

1. Yapısal analiz metotları

- Edman degradesyon analizi
- C terminal sekanslama
- Aminoasit analizleri
- Peptit haritalama
- Karbohidrat analizleri
- Kütle/ optik spektrofotometri yöntemleri

2. Saflık Analizleri

Protein impüriteleri, kontaminantlar ve degradesyon ürünlerinin analizi için kullanılır.

- Elektroforez yöntemleri: SDS-PAGE, IEF
- Kromatografik yöntemler: HPLC, Size exclusion HPLC, Ters faz HPLC
- Endotoksin içeriği yöntemleri: USP tavşan testi, LAL testi, endojen pirojen testi,
- DNA içeriği testleri: Dot Blot analizleri
- İmmünolojik yöntemler: Elisa, antikor impüriteleri, ev sahibi hücre impüriteleri

3. Etkinlik Analizleri (Biyolojik yöntemler)

- Hayvan testleri, hücre kültürü yöntemleri, in vitro biyokimyasal yöntemler

4. Total Protein Miktar Tayini Yöntemleri

- Kantitatif aminoasit analizleri
- Kjeldahl nitrojen yöntemi
- Folin Lowry yöntemi
- Microbicinchoninic acid yöntemi
- UV spektrofotometri