



基因工程制药

生物技术制药

目 录

- ❖ 第一节 概述
- ❖ 第二节 基因药物生产的基本过程
- ❖ 第三节 目的基因的获得
- ❖ **第四节 基因表达**
- ❖ 第五节 基因工程菌的不稳定性
- ❖ 第六节 基因工程菌生长代谢的特点
- ❖ 第七节 基因工程菌发酵
- ❖ 第八节 基因工程药物的分离纯化
- ❖ 第九节 基因工程药物的质量控制
- ❖ 第十节 基因工程药物制造实例

第七节 基因工程菌的培养

培养工艺是发酵工艺的重要组成部分，对外源蛋白的表达至关重要，直接影响产品的产量和质量，从而影响产品成本及市场竞争力。

最佳的培养工艺还要考虑对纯化工艺的影响。

一、基因工程菌的培养方式：

- 1、**分批培养**：培养基的量一次性加入，产品一次性收获,分批培养操作简单，但因不能控制生长，获得的菌体密度也有限。
- 2、**补料分批培养**：在一次投料发酵的基础上，流加一定量的营养，使细胞进一步的生长，可得到更多的代谢产物。
- 3、**连续培养**：不断地流加营养，并不断地取出发酵液。连续培养则多用于动力学特性和稳定性等研究。
- 4、**透析培养**：
- 5、**固定化培养**：

基因工程菌培养方式

补料分批培养

补料分批培养是将种子接入发酵反应器中进行培养，经过一段时间，间歇或连续地补加新鲜培养基，使菌体进一步生长的培养方法。

在分批培养中，为保持基因工程菌生长所需的良好微环境，延长其生长对数期，获得高密度菌体，通常把**溶氧控制**和**流加补料**措施结合起来，根据基因工程菌的生长规律来调节补料的流加速率。

基因工程菌培养方式

连续培养

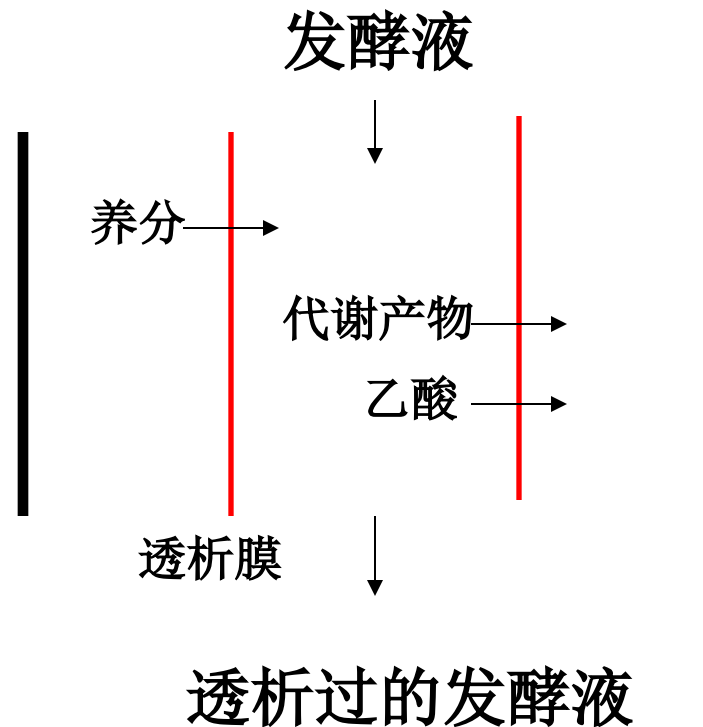
连续培养是将种子接入发酵反应器中，搅拌培养至菌体浓度达到一定程度后，开动进料和出料蠕动泵，以一定稀释率进行不间断培养。

但是由于基因工程菌的不稳定性，连续培养比较困难。为了解决这一问题，人们将工程菌的生长阶段和基因表达阶段分开，进行两阶段连续培养。

基因工程菌培养方式

透析培养

透析培养技术是利用膜的半透性原理使培养物和培养基分离，其主要目的是通过去除培养液中的代谢产物来解除其对生产菌的不利影响。



基因工程菌的培养方式

固定化培养

基因工程菌培养的一大难题是如何**维持质粒的稳定性**。有人将固定化技术应用到这一领域，发现基因工程菌经固定化后，质粒的稳定性大大提高，便于进行连续培养，特别是对分泌型菌更为有利。由于这一优点，基因工程菌固定化培养研究已得到迅速开展。

二、选择培养方式必须考虑的因素：

1、培养基

2、溶解氧

3、温度

4、pH

5、蛋白表达相关因素—表达时机、表达程序等

三、基因工程菌的培养设备

基因工程菌培养是为了获得最大量的基因表达产物。由于这类物质是相对独立于细胞染色体之外的重组质粒上的外源基因所合成的、细胞并不需要的蛋白质，因此，培养设备以及设备控制应满足获得高浓度的受体细胞和高效的表达基因产物。

基因工程菌的培养设备

发酵罐的组成部分有：

发酵罐体

保证高传质作用的搅拌器、

精细的温度控制和灭菌系统、

空气无菌过滤装置

残留气体处理装置

参数测量与控制系统（如 pH、 O_2 、 CO_2 等）

培养液配制及连续操作装置等。

基因工程菌的培养设备

基因工程菌在发酵培养过程中要求

环境条件恒定，不影响其遗传特性，更不能引起所带质粒丢失。

对发酵罐有特殊要求

如要提供菌体生长的最适条件

培养过程不得污染

保证纯菌培养

培养及消毒过程中不得游离出异物，干扰细菌代谢活动

基因工程菌的培养设备

1. 发酵罐的结构材料的稳定性要好，一般要应用不锈钢制成
2. 罐体表面光滑易清洗，灭菌时没有死角
3. 所有的连接接口均要用密封圈封闭，不留“死腔”，不得有泄漏
4. 发酵罐的排气口须有蒸汽灭菌或微孔滤器除菌后才将废气放出。
5. 搅拌器转速和通气应适当
6. 与发酵罐连接的阀门要用膜式阀，不用球形阀
7. 空气过滤系统要采用活性炭和玻璃纤维棉材料
8. 培养液要经化学处理或热处理后才可排放
9. 轴封可采用磁力搅拌或双端面密封

谢谢观看



thanks for watching