



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

基因工程菌的不稳定性

基因工程菌的不稳定性主要表现在**重组质粒的不稳定性**，这种不稳定性具有下列两种表现形式：

一、质粒的不稳定性

分裂不稳定：指工程菌分裂时出现一定比例不含质粒子代菌的现象。

结构不稳定：指外源基因从质粒上丢失或碱基重排、缺失所致工程菌性能的改变。



基因工程菌的不稳定性

影响质粒分裂不稳定的因素：

- (1)含质粒菌产生不含质粒子代菌的频率；
- (2)这两种菌比生长速度率差异的大小。



基因工程菌的不稳定性

案例分析：基因工程操作过程中质粒存在不稳定，而同样用基因工程手段获得的转基因食品，是不是也存在安全隐患？



2012年8月1日，一篇发表在美国著名学术期刊《临床营养学》上的题为《“黄金大米”中的 β -胡萝卜素与油胶囊中 β -胡萝卜素对儿童补充维生素A同样有效》的论文里写到，2008年5月-6月，美国塔夫茨大学曾对中国湖南衡阳市25名6-8岁的小学生进行过转基因大米的人体试验。论文的作者中有三名中国人。“黄金大米”是一种转基因大米，因色泽金黄而得名，它不同于正常大米之处在于其主要功能是帮助人体增加吸收维生素A。



基因工程菌的不稳定性

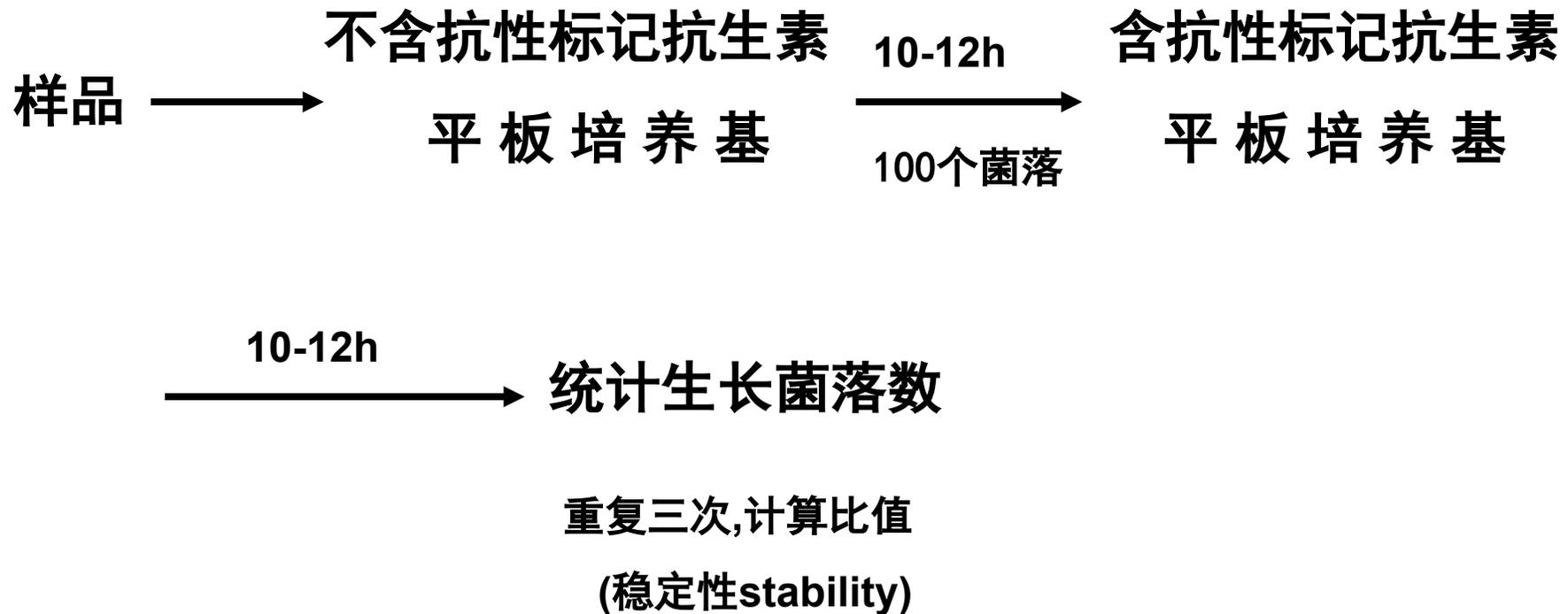
案例分析：基因工程操作过程中质粒存在不稳定，而同样用基因工程手段获得的转基因食品，是不是也存在安全隐患？

“黄金大米”事件一出，引起了轩然大波。人们进一步思考“黄金大米”是否安全，该不该拿儿童做实验。“黄金大米”事件暴露出目前一些科学家缺乏科研诚信和违规操作的现象。说明科学家应承担起相应的伦理责任。科学家只有承担伦理责任、才能促进科学技术事业的不断进步。我们认为科学家的伦理责任包括三方面：职业伦理责任，社会伦理责任和未来伦理责任。



基因工程菌的不稳定性

质粒稳定性的分析方法





基因工程菌的不稳定性

二、提高质粒稳定性的方法

1. 选择合适的宿主菌

- 受体细胞中的限制修饰系统对外源重组 DNA 分子的降解

2. 选择合适的载体

低拷贝质粒工程菌产生不含质粒子代菌频率高，增加工程菌质粒拷贝数可提高稳定性；

高拷贝质粒工程菌产生不含质粒子代菌频率低，但如果提高质粒拷贝数，可能抑制菌体生长，对稳定性不利。



基因工程菌的不稳定性

3. 施加选择压力

根据载体上的抗药性标记，向培养系统中添加相应的抗生素

药物和食品生产时禁止使用抗生素

加入大量的抗生素会使生产成本增加

添加一些容易被水解失活的抗生素，只能维持一定时间

添加抗生素选择压力对质粒结构不稳定无能为力

载体上的营养缺陷型标记，向培养系统中添加相应的营养组份

培养基复杂，成本较高



基因工程菌的不稳定性

4. 分阶段控制培养

因外源基因表达造成质粒不稳定时，可以考虑将发酵过程分阶段控制。

在生长阶段使外源基因处于阻遏状态，避免因表达造成不稳定性问题的发生；在获得需要的菌体密度后，再去阻遏或诱导外源基因表达。

连续培养时可以考虑采用多级培养，如在第一级进行生长，维持菌体的稳定性，在第二级进行表达。



基因工程菌的不稳定性

5. 控制培养条件

工程菌的培养条件对其质粒的稳定性和表达效率影响很大

可调控的环境参数为：培养基组分、培养温度、pH 和溶解氧浓度。

有些含质粒的菌对发酵环境的改变比不含质粒的菌反应慢，因而采用间隙改变培养条件的方法以改变这两种菌的比生长速率，从而改善质粒的稳定性。通过间隙供氧的方法和通过改变稀释速率的方法都可提高质粒的稳定性。

培养基组成：限制培养基比丰富培养基更有利于稳定

培养温度：较低的培养温度有利于重组质粒的稳定



基因工程菌的不稳定性

6. 固定化

固定化可以提高基因重组大肠杆菌的稳定性

基因重组大肠杆菌进行固定化后，质粒的稳定性及目的产物的表达率都有了很大提高。

在游离重组菌系统中常用抗生素，氨基酸等选择性压力稳定质粒的手段，往往在大规模生产中难以应用。而采用固定化方法后，这种选择压力则可被省去。

不同的宿主菌及质粒在固定化系统中均表现出良好的稳定性。

谢谢观看



thanks for watching