



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

第十节 基因工程药物制造实例

干扰素（interferon, IFN）是人体细胞分泌的一种活性蛋白质，具有广泛的**抗病毒、抗肿瘤和免疫调节**活性，是人体防御系统的重要组成部分。

根据分子结构和抗原性的差异分为 α 、 β 、 γ 、 ω 等 4 个类型。 α 型干扰素在分为 $\alpha 1b$ $\alpha 2a$ $\alpha 2b$ 等亚型。

人类是如何发现干扰素的

- 就像弗莱明发现青霉素一样，干扰素的出现也充满了神奇和偶然色彩，50年代之前由病毒造成的传染病大流行严重影响了人类的健康，仅1918年的一次全球爆发的流感大流行就造成了4千万人的死亡，此外天花、麻疹、脊髓灰质炎等病毒引起的传染病也是非常流行，然而，人类一直没有找到一个象对抗细菌感染一样对抗病毒的有力武器，索性当时免疫学的发展促成了人类疫苗的研制成功，通过疫苗人们成功的抵御住了天花、麻疹、脊髓灰质炎的侵袭，然而，对于流感病毒感染却一直没有取得很好的突破，由于流感病毒容易变种的原因，流感疫苗一直未能研发成功，但仍有很多科学家在不遗余力的进行着流感病毒疫苗及其免疫接种等相关的研究。

人类是如何发现干扰素的

- 1957年，英国医生Alick Isaacs在进行流感病毒试验时，发现鸡胚中注射灭活流感病毒后生成了一种物质，这种物质具有“干扰”流感病毒感染的作用，于是Isaacs将这种物质称之为“**interferon**”，也就是今天我们所说的干扰素。
后又经过许多科学家的努力，干扰素终于成功从实验室应到临床。



2、重组干扰素的临床应用

- 广谱抗病毒活性 (rhuIFN α)

慢性乙型、丙型、丁型肝炎；疱疹、病毒性角膜炎。

- 直接抗肿瘤活性 (rhuIFN α)

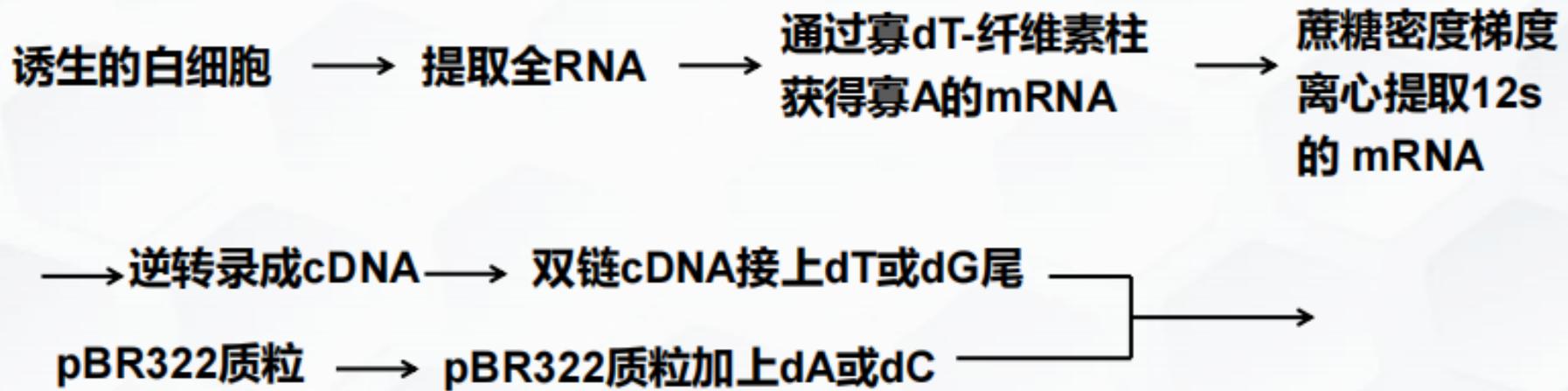
毛细细胞和慢性髓样白血病、Kaposi肉瘤、非霍奇金淋巴瘤。

- 免疫调节活性——治疗慢性肉芽肿瘤 (rhuIFN γ)

- 多发性硬化症rhuIFN β



基因工程菌的组建





基因工程菌的组建

退火 → 获得杂交质粒 → 转化大肠杆菌 → 扩增杂交质粒

→ 筛选抗青霉素但对氨苄青霉素敏感细菌克隆 → 用杂交翻译法挑选含干扰素cDNA克隆 →

将干扰素cDNA克隆入表达载体
在大肠杆菌 中进行高效表达





基因工程菌的组建

启开种子 → 制备种子液 → 发酵培养 → 粗提 →

精提 → 半成品制备 → 半成品检定 → 分装 →

冻干 → 成品检定 → 成品包装



重组人干扰素生产过程

01 发酵

工程菌：SW-IFN α -2b/*E.coli* DH5 α ，质粒用P_L启动子，含氨苄青霉素抗性基因。

种子培养基含1%蛋白胨0.5%酵母提取物0.5%NaCl。

制备种子液作为发酵罐种子使用。



重组人干扰素生产过程

发酵培养基

1%蛋白胨，0.5%酵母提取物，0.05%NaCl，0.01%的 NH_4Cl 等。
发酵培养基加入氨苄青霉素，消泡剂。30℃发酵8h，然后在42℃诱导2-3h可完成发酵。每隔不同的时间取发酵液，离心称量湿菌体。



重组人干扰素生产过程

02 产品的提取与纯化

- 1) 冷却后离心，除上清液，得湿菌体悬浮于缓冲液中，冰浴条件下超声破碎；
- 2) 离心，取沉淀部分；加尿素、缓冲液和二巯基苏糖醇；
溶液溶解。搅拌抽提2h，离心取上清；
- 3) 加入复性缓冲液，离心，除去不溶物；
- 4) 超滤器浓缩后，经Sephadex G50 分离；
- 5) 经SDS-PAGE检查；
- 6) 再经DE-52柱纯化。



质量控制标准和要求





成品检定



谢谢观看



thanks for watching