

---

附件：质粒丢失率检查法公示稿

3406 质粒丢失率/保有率检查法

（曾用名：3406 质粒丢失率检查法）公示稿

3406 质粒丢失率/保有率检查法

大肠埃希菌表达系统的工程菌含有表达目的蛋白的表达质粒，质粒上一般带有抗生素抗性基因便于筛选，在菌体传代过程中，在一定浓度的抗生素环境下（如种子培养液），质粒丢失后菌体便不能存活，而在不含抗生素的发酵培养液中，随着传代代次的提高，可能有部分大肠埃希菌丢失了质粒，失去了抗生素抗性基因，也同时失去表达目的蛋白的能力。通过比较在含有或和不含抗生素培养基的菌体存活数，可以检测质粒的丢失率或保有率，考察质粒稳定性。

实际操作中一般用模拟发酵或发酵过程实时收集的发酵液，包括最后阶段（传代最多代次）的收集液，经过适当稀释后涂布于不含抗生素的培养基上，置 37℃ 培养过夜；挑取不少于 100 个单菌落，分别接种到含抗生素和不含抗生素的培养皿中，置 37℃ 培养过夜。比较两者差异，一般应重复 2 次以上，计算质粒丢失率或保有率。工艺验证中应规定质粒丢失率或保有率，并应在允许的范围内。