有很多因素能够影响人的基因（外源基因）在大肠杆菌的表达型质粒中的表达。有可能是是转录效率较低，也有可能是翻译效率的影响。由于这两个基因是克隆在同一种质粒上，启动子的影响应该比较小，更有可能是以下因素引起的，例如：

1.核糖体结合位点——影响了mRNA翻译起始效率：翻译起始密码子效率低；SD序列与翻译起始密码子之间的距离及碱基组成影响了核糖体结合；基因编码区5‘端若干密码子的碱基序列不利于核糖体结合

2.密码子——不同生物对密码子的偏爱性不同：tRNA含量少，SD样序列多，稀有密码子

3.质粒拷贝数——少，翻译与复制冲突

4.mRNA不稳定——被降解，无法翻译重组蛋白

5.

除了以上影响重组蛋白产生的原因，也有可能是重组蛋白会被快速降解：异源蛋白稳定性低，或者能被大肠杆菌的蛋白酶降解（具有PEST序列）

“N 端 富 含 Pro、Glu、Ser、Thr 的 真 核 生 物 蛋 白 质 在 真 核 或 原 核 细 胞 中 的 半 衰 期 通 常都很短，至少E1A、c Myc、c Fos和p53等蛋白都具有这种特性，特别是由这四种氨基 酸残基构成的Pro Glu Ser Thr四肽序列(即PEST序列)显示出对细胞内蛋白酶系统 的超敏感性。在大多数情况下，PEST序列的两侧拥有一些带正电荷的极性氨基酸，据推测 PEST序列实质上是一个钙结合位点，它能促进那些钙依赖性蛋白酶系统对蛋白质的降解 作用。尽管有些实验结果并不能证实PEST序列对蛋白质稳定性的负面影响，但当某一真 核生物基因在大肠杆菌中不能稳定表达时，注意PEST序列是否存在，并在不影响异源蛋白 生物功能的前提下对之进行适当的改造，不失为一种提高表达产物稳定性的尝试。”——来自张惠展《基因工程》