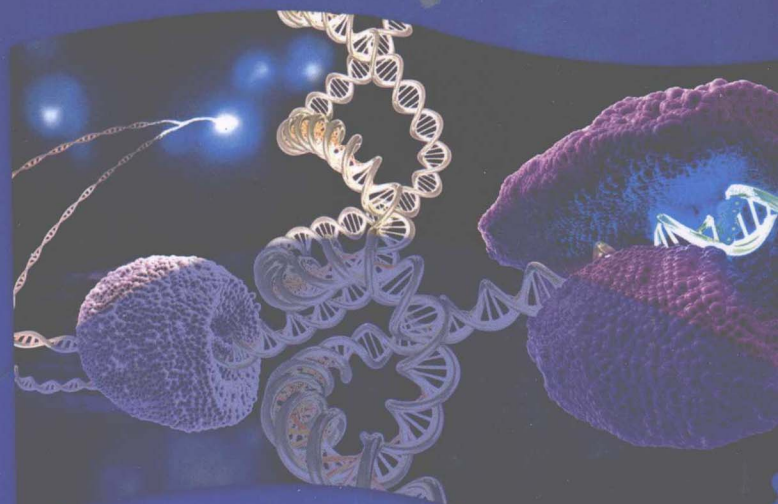




普通高等教育“十一五”规划教材

# 生物技术制药

张林生 主编



科学出版社  
[www.sciencep.com](http://www.sciencep.com)

普通高等教育“十一五”规划教材

# 生物技术制药

张林生 主编



科学出版社

北京

## 《生物技术制药》编写委员会

主 编 张林生

副 主 编 李军超 葛文中

编写人员 (按姓氏拼音排序)

葛文中 黄 洁 李军超

李术娜 刘建党 王世英

徐 艳 张林生 朱迎春

## 前 言

“生物技术”（译源自英文 biotechnics 一词，也有译作“生物工程” bio-engineering 或“生物工艺学” biotechnology）是一门综合性的新学科。它是 以生命科学为基础，用先进的科学原理和工程技术手段来加工生物材料，为 人类生产出所需要的产品或达到某种目的（如疾病防治、环境保护等）。在 现代高科技领域中，生物技术与信息技术、新材料科学已并立为当今三大前 沿科学。

分子生物学是生命科学范围发展最为迅速的一个前沿领域，推动着整个 生命科学的发展。迄今，分子生物学仍在迅速发展，新成果、新技术不断 涌现，这也从另一方面说明分子生物学发展还处在初级阶段。分子生物学已 建立的基本规律给人们认识生命的本质指出了光明的前景，但分子生物学的 历史还短，积累的资料还不够。例如：在地球上千姿万态的生物携带着庞大 的生命信息，而迄今人类所了解的只是其中极少的一部分，还未认识核酸、 蛋白质组成生命的许多基本规律；又如我们已经获得人类基因组 DNA  $3 \times 10^9$  bp 的全序列，确定了人的 5~10 万个基因的一级结构，但是要彻底搞清楚 这些基因的功能、调控、基因间的相互关系和协调，要理解 80% 以上不 为蛋白质编码的序列的作用等等，还要经历漫长的探索历程。可以说分子生 物学的发展前景光辉灿烂，道路还会艰难曲折。

当今生物制药已进入生物技术时代，基因工程、细胞工程、微生物工 程、蛋白质分离纯化技术和生物反应器的应用，为生物制药奠定了基础，生 产工艺的自动化、生产管理的计算机化和全面质量管理规程的实施，使得生 物制药正在成为综合性的高科技生物技术工业。生物技术的发展使生物制药 在产品结构上发生了很大变化，特别是基因工程产品的不断涌现，改变了生 物制药的面貌。生物制药在生产工艺上采用了先进的仪器设备和科学技术， 提高了制品质量。

基因技术革命是一场改变人类自身命运的一次革命，它开启了人类关于 自身生命秘密研究的崭新领域。目前，人们对基因工程技术的应用只是万里 长征走出的第一步，但它在发展中释放出了巨大能量。从 DNA 重组与转化的 成功到现在，生物技术的崛起仅有 30 多年的历史，但它已深入到医、农、 工等许多领域。

基因工程不仅可以培育出自然界不可能产生的新物种，而且可以培养带

有人体基因的动植物作为“生物反应器”生产基因工程产品，还可制造用于人体脏器移植的器官，从而解决供移植的人体器官来源不足的问题。相信在不远的将来，基因工程在人类生活中将会发挥更大的作用。

生物技术研究的最终目标是生产商业产品，因此，与很多科学研究不同，现代生物技术某种程度上是由商品经济发展所推动的，商业投资不仅在支撑着现代生物技术研究，而且对于商业回报的预期也使人们在现代生物技术发展的早期阶段积极地对它进行投资。基因工程不只是在医药、农业和材料制造方面能发挥作用，在日常生活中，基因工程产品几乎无孔不入，在军事、采矿、环保等各个领域，都已闪烁出光芒。我们有理由相信，基因工程必将改变整个人类乃至所有地球生物的历史进程。

生物制药研究属于高科技领域，它是一个国家基础研究和各前沿学科研究进展的具体体现，涉及分子生物学、细胞生物学、生物工程学、组合化学、计算机科学等多学科，又是超微量分离分析技术、细胞培养技术、基因重组技术、标准化技术等多种技术的联合应用。生物制药研究内容所涉及的范围十分广泛，很难在一本书中完全包括并详述，本书力图从生物技术角度介绍生物制药的相关内容。另外生物制药学是在其他学科发展的基础上建立的，因此对于相关的知识（分门别类），同学们已在其他课程有所了解，但未能系统化，或者没能综合运用到生产实践中，生物制药学虽然不能包揽所有药物产品，但它从基本原理上提供了一个思路，起到抛砖引玉的作用。

参加本书编写的人员分工为：西北农林科技大学张林生（第一章），西北农林科技大学李军超（第二、三章），黑龙江八一农垦大学葛文中（第四章），西北农林科技大学刘建党（第五章），西北大学黄洁和河北农业大学李术娜（第六章），河北农业大学王世英和李术娜（第七章），沈阳农业大学徐艳（第八章）和山西农业大学朱迎春（第九章）。

由于编者时间仓促，虽然参考了许多有关书籍和期刊文献，但限于水平，不足之处在所难免，希望广大读者提出宝贵意见。

编者

2008年2月

# 目 录

## 前言

<b>第一章 绪论</b> .....	1
<b>第一节 生物技术的发展现状</b> .....	1
一、生物制药的发展简史 .....	2
二、生物制药现状和发展前景 .....	6
<b>第二节 生物制药概述</b> .....	10
一、生物药物的分类 .....	10
二、生物药物的发展特点.....	13
三、天然生物材料制药 .....	15
<b>思考题</b> .....	16
<b>第二章 基因工程制药</b> .....	17
<b>第一节 概述</b> .....	17
一、基因工程在制药中的地位和作用 .....	17
二、基因工程制药的基本技术 .....	18
三、基因工程制药的研究进展 .....	18
<b>第二节 基因工程制药的基本过程</b> .....	19
一、基因工程制药中常用的工具酶 .....	19
二、基因工程制药中常用的载体 .....	21
三、基因工程制药的关键技术 .....	23
<b>第三节 转基因动物制药</b> .....	28
一、转基因动物制药的基本方法 .....	28
二、转基因动物在制药中的应用 .....	34
三、存在的问题和展望 .....	35
<b>第四节 转基因植物制药</b> .....	36
一、转基因植物制药的基本方法 .....	37
二、转基因植物在制药中的应用 .....	40
三、存在的问题和展望 .....	41
<b>思考题</b> .....	42
<b>第三章 细胞工程制药</b> .....	44
<b>第一节 细胞融合与单克隆抗体生产制备技术</b> .....	44
一、概述.....	45
二、B淋巴细胞杂交瘤技术和单克隆抗体 .....	45
三、单克隆抗体的制备 .....	47

四、人单克隆抗体 .....	51
第二节 动物细胞工程制药 .....	52
一、动物细胞工程制药的特征 .....	53
二、动物细胞工程制药基本过程 .....	57
三、动物细胞大规模培养在制药中的应用 .....	62
第三节 植物细胞工程制药 .....	64
一、植物细胞工程的特征 .....	64
二、药用植物的细胞培养技术 .....	65
三、植物细胞培养技术在制药中的应用 .....	73
思考题 .....	75
第四章 微生物工程制药 .....	76
第一节 微生物药物的产生菌 .....	76
一、微生物药物生产菌的种类 .....	76
二、微生物药物生产菌的分离与筛选 .....	78
三、微生物药物生产菌的菌种改良 .....	79
第二节 微生物药物的生物合成 .....	84
一、微生物的代谢特征 .....	84
二、微生物药物生物合成的基本途径 .....	85
三、微生物代谢产物的合成调节机制 .....	89
第三节 微生物药物的发酵工艺 .....	91
一、微生物药物发酵工艺过程 .....	91
二、药物生产培养基的制备 .....	92
三、种子培养 .....	99
四、发酵工艺条件的确定及主要控制参数 .....	100
思考题 .....	112
第五章 酶工程制药 .....	113
第一节 酶工程制药概述 .....	113
一、酶的来源 .....	113
二、酶的生产菌 .....	113
三、酶工程 .....	114
四、酶工程制药的基本技术 .....	115
五、酶工程在制药工业中的应用 .....	116
第二节 固定化酶和细胞制药 .....	118
一、固定化酶的制备 .....	118
二、固定化酶的性质 .....	123
三、固定化细胞的制备 .....	126
四、固定化酶和细胞在生物制药中的应用 .....	128
第三节 酶的非水相催化技术 .....	129

一、酶的非水相催化的反应体系	130
二、酶非水相催化反应的影响因素	130
三、酶在非水相介质中的催化特性	131
四、酶的非水相催化在药物生产中的应用	132
第四节 手性药物的酶法合成	134
一、酶法手性合成中所用的酶类	134
二、酶法手性合成反应的类型	138
三、提高酶法手性合成药物对映选择性的工艺措施	139
四、酶催化工艺在制药中的应用	140
第五节 药用酶的化学修饰	142
一、药用酶化学修饰常用的修饰剂	142
二、药用酶化学修饰的方法	142
第六节 酶工程在制药中的应用	145
一、固定化细胞法生产 6-氨基青霉烷酸	145
二、固定化酶法生产 L-氨基酸	147
思考题	148
第六章 蛋白质工程制药	149
第一节 蛋白质和多肽类药物的分类	149
一、多肽类药物的分类	149
二、蛋白质类药物的分类	150
三、多肽和蛋白质类药物的性质	150
四、多肽和蛋白质类药物的作用	151
五、多肽和蛋白质类药物的制备	153
第二节 蛋白质分子设计与合成	156
一、基于天然蛋白质结构的分子设计	156
二、蛋白质的合成技术	159
第三节 天然和重组蛋白质结构测定	161
一、X 射线晶体结构分析	161
二、核磁共振波谱的溶液结构解析	166
第四节 蛋白质工程在制药中的应用	167
一、组织型纤溶酶原激活剂的蛋白质工程	167
二、基于蛋白质结构的小分子药物设计	169
三、重要蛋白质类生化药物制造工艺	171
思考题	174
第七章 生物化学制药	175
第一节 生化药物概述	175
一、生化药物的定义和特点	175
二、生化药物的分类	175



第二节 生化药物生产的工艺过程	176
一、生化药物的制造方法	176
二、生化药物的制备工艺	177
第三节 氨基酸类药物	178
一、氨基酸类药物	179
二、氨基酸类药物的一般制备方法	180
三、亮氨酸的制造工艺	181
第四节 糖类药物	183
一、糖类药物的一般制备方法	184
二、糖类药物的生产	185
第五节 维生素及辅酶类药物	189
一、维生素及辅酶类药物的一般生产方法	190
二、维生素及辅酶类药物的生产	191
第六节 核酸及其衍生物类药物	196
一、核酸类药物概述	197
二、核酸类药物的一般制备方法	198
三、重要核酸类药物的生产	200
第七节 脂类药物	203
一、脂类药物概述	203
二、脂类药物的一般生产方法	205
三、重要脂类生化药物的制备工艺	207
思考题	210
<b>第八章 生物制药的下游技术</b>	<b>212</b>
第一节 预处理及固液分离技术	213
一、发酵液的预处理	213
二、细胞破碎	217
三、固液分离	219
第二节 沉淀	220
一、盐析	221
二、重金属盐沉淀蛋白质	222
三、有机溶剂沉淀蛋白质	223
四、加热凝固	223
五、非离子多聚物沉淀法	224
第三节 溶剂萃取	224
一、分配定律	224
二、反胶束	225
三、有机溶剂萃取	225
四、化学萃取剂萃取	226

---

五、乳化现象 .....	226
六、双水相萃取 .....	226
七、萃取设备 .....	228
第四节 生物药物的色谱分离法 .....	230
一、常用的色谱分离方法 .....	230
二、选择分离纯化的依据 .....	236
思考题 .....	237
<b>第九章 医药生物制品</b> .....	<b>238</b>
第一节 医药生物制品的基本概念 .....	238
一、生物制品的分类 .....	238
二、生物制品的质量要求 .....	240
三、生物制品的发展 .....	241
第二节 医药生物制品的生物学基础 .....	242
一、生物制品的微生物学基础 .....	242
二、生物制品的免疫学基础 .....	244
三、生物制品的生物化学基础 .....	245
第三节 医药生物制品的一般制造方法 .....	246
一、疫苗的制造方法 .....	246
二、细菌类疫苗和类毒素的一般制造方法 .....	249
三、生物制品的分包装 .....	251
第四节 重要的医药生物制品 .....	252
一、疫苗 .....	252
二、菌苗 .....	255
三、类毒素 .....	257
思考题 .....	258
<b>主要参考文献</b> .....	<b>259</b>

# 第一章 绪 论

**内容提要：**现代生物技术是一门以现代生命科学为基础，由多学科综合而形成的崭新学科。生物技术制药就是以现代生物技术为主要手段来研究和制造药物。现代生物技术的发展孕育并推动着现代生物制药产业的诞生和成长。生物制药的研究与开发充满生机，使生物技术医药产品的类型更加多样化、来源更趋广泛，新产品上市的数量逐年增加，市场份额迅速增长。由于生物技术产品生产成本低，产品附加值高，整个行业的发展前景十分看好。

近代科技史实表明，每一次技术革命浪潮的兴起，都使人们认识自然和推动社会发展的能力提高到一个新的水平。生物技术的发展也不例外，它的发展将越来越深刻地影响着世界经济、军事和社会发展的进程。近 30 年来，随着基因工程、发酵工程、细胞工程、酶工程等为代表的现代生物技术的迅猛发展，全球的生物医药技术大规模产业化已经步入初始阶段，预计 2020 年后将进入快速发展期，并逐步成为世界经济的主导产业之一。“十一五”期间中国把生物技术作为未来高技术以赶上世界先进水平，加强了生物技术在医药、农业、工业、环保、能源、海洋生物等领域的应用。生物医药年复合增长率达到 15% 以上，远超全球药品市场增长率以及全球 GDP 增长水平。相对于传统医药行业，生物医药产业的市场集中度较高，更有利于优势企业的发展壮大。

## 第一节 生物技术的发展现状

生物技术药物 (biotech drugs) 又称生物药物 (biopharmaceuticals)，生物制药产业是集生物学、医学和药学的先进技术为一体，以组合化学、药学基因、功能抗原学、生物信息学等高新技术为依托，以分子遗传学、分子生物学、生物物理学等基础学科的突破为后盾形成的产业。现在，世界生物制药技术的产业化已进入投资收获期，生物技术药品已应用和渗透到医药、保健食品和日用化工产品等各个领域，尤其在新药研究、开发、生产和改造传统制药工业中得到日益广泛的应用，生物制药产业已成为最活跃、进展最快的产业之一。

生物技术这个词最初是由匈牙利工程师 Karl Ereky 于 1917 年提出的。当时他提出的生物技术这一名词的含义是用甜菜作为饲料进行大规模养猪，即利用生物将原材料转变为产品。鉴于生物技术的迅速发展，1982 年国际合作及发展组织对生物技术这一名词的含义进行了重新定义：生物技术是应用自然科学及工程学的原理，依靠微生物、动物、植物体作为反应器将物料进行加工以提供产品来为社会服务的技术。生物技术逐步成为与微生物学、生物化学、化学工程等多学科密切相关的综合性边缘学科 (图 1-1)。

生物制品是指以微生物、寄生虫、动物毒素、生物组织为起始材料，采用生物学工艺或分离纯化技术制备，并以生物学技术和分析技术控制中间产物和成品质量制成的生物活性制剂，包括菌苗、疫苗、毒素、类毒素、免疫血清、血液制品、免疫球蛋白、抗原、抗体、变态反应原、细胞因子、激素、酶、发酵产品、单克隆抗体、DNA 重组产品和体外免疫诊断制品等。在此基础上，生物制品又分为预防用生物制品、治疗用生物制品和诊断用品三类。预防用生物制品包括疫苗、菌苗和类毒素；治疗用生物制品包括抗血清与抗毒素、血液制品、细胞因子与抗体；诊断用品包括细菌学试剂、免疫试剂、

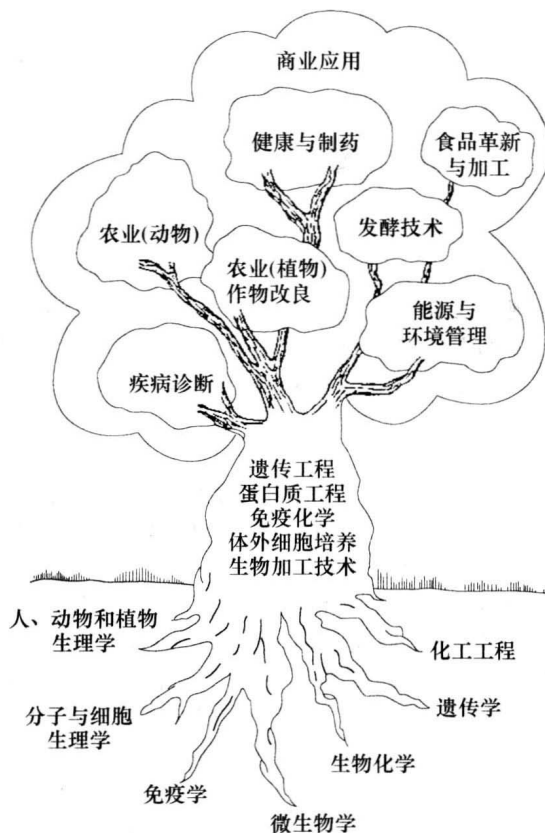


图 1-1 生物技术树

临床化学试剂。

### 一、生物制药的发展简史

#### (一) 生物制药是一个既古老又年轻的学科

生物技术不完全是一门新兴学科，它包括传统生物技术和现代生物技术两部分。传统的生物技术是指古有的制造酱、醋、酒、面包、奶酪、酸奶及其他食品的传统工艺；现代生物技术则是指 20 世纪 70 年代末 80 年代初发展起来的，以现代生物学研究成果为基础，以基因工程为核心的新兴学科。目前所谓的生物技术基本上都是指现代生物技术。

传统的生物制药主要表现在两大方面。

#### 1. 从生物体中直接提取

据《左传》记载，曾宣公 12 年（公元前 597 年）就有“糲”（类似植物淀粉酶制剂）的使用；到公元 4 世纪，葛洪著《肘后良方》也有用海藻酒治疗瘰病（地方性甲状腺肿）的记载。我国将生物材料作为治疗药物的最早应用者为神农，他开创了用天然产品治疗疾病的先例，如用羊靥（包括甲状腺的羊头部肌肉）治疗甲状腺肿，用紫河车（胎盘）作强壮剂，用羚羊角治中风。明代李时珍著的《本草纲目》所载药物 1892 种，除植物药外，还有动物药 444 种，书中还详述了入药的人体代谢物、分泌物及排泄物等。早期的生物制药主要表现在生化药物方面，多从动物脏器中提取，有效成分不明确，曾有脏器制剂之称。到 20 世纪 20 年代，对动物脏器的有效成分逐渐有所了解，纯

化胰岛素、甲状腺素、各种必需氨基酸、必需脂肪酸以及多种维生素开始用于临床或保健。40~50年代相继发现和提纯了肾上腺皮质激素和脑垂体激素,使这类药物的品种日益增加。50年代开始利用发酵法生产氨基酸类药物,60年代以来,从生物体分离、纯化酶制剂的技术日趋成熟,酶类药物很快获得应用。尿激酶、链激酶、溶菌酶、天冬酰胺酶、激肽释放酶等已成为具有独特疗效的常规药物。

近30年来,生化药物种类迅速增加。20世纪60年代生化药物有100余种,80年代有350多种,到90年代已有500多种,还有100多种临床诊断试剂。在生物机体的许多器官中广泛存在着各种具有一定生理和生物化学功能的有机物质,这类有机物质能起到补充生命要素,调节和恢复机体功能的作用。例如,在健康动物的胃黏膜中含有一种能分解和消化蛋白质的物质,在猪的胃黏膜中还含有一种以黏蛋白为主的成分;在健康动物的胰脏中存在着几种酶的混合物(胰酶),猪的胰腺中含有蛋白水解酶——胰蛋白酶和糜蛋白酶;动物心肌中含有一种能促进氧化磷酸化反应的细胞代谢激活剂——辅酶 $Q_{10}$ ;家禽或其他动物胆汁中含有一种能促进胆石溶解的胆烷酸;健康人尿中含有可使纤维蛋白溶酶原激活形成纤维蛋白溶酶的一种酶——尿激酶等。生物化学家和生化制药学家从生物体的器官中用生物提取法将这类具有生物化学活性的物质——酶类、蛋白质类、糖蛋白类及有机酸类等提取、分离、纯化而制得了用于临床治疗的药物即生化药物。目前,《中国药典》(2005版)收录的生化药品有:胃蛋白酶与胃蛋白酶片、胰酶与胰蛋白酶溶片、抑肽酶与注射用抑肽酶、尿激酶与注射用尿激酶、辅酶 $Q_{10}$ 与辅酶 $Q_{10}$ 注射液、垂体后叶粉与垂体后叶粉注射液等。近年来,随着提取分离和纯化技术、半合成技术、结构修饰以及多肽固相合成等技术的发展,应用这类新技术生产的新生化药物不断涌现。例如根据已知天然生物活性多肽分子结构合成生长激素释放因子及其同系物的6~20多肽及低分子肝素等。

## 2. 与传统的生物技术相伴随而产生的初级发酵产品

实际上生物技术的发展和应用可以追溯到1000多年以前,而人类有意识的利用酵母进行大规模发酵生产是在19世纪。当时进行大规模生产的发酵产品有乳酸、酒精、面包酵母、柠檬酸和蛋白酶等初级代谢产物。1929年,Flemming爵士发现了青霉素,从此生物技术产品中增加了一大类新的产品,即抗生素。到20世纪40年代,以获取微生物的次生代谢物——抗生素为主要特征的抗生素工业成为生物技术的支柱产业。50年代后,氨基酸发酵工业又成为生物技术产业的一个新成员,到了60年代,生物技术产业中又增加了酶制剂工业这一新成员。

### (二) 生物制药的发展

1982年美国Eli Lilly公司宣布第一个基因工程药物胰岛素投放市场,标志着生物技术向着产业化大踏步地前进。1993年另一项重大生物技术——聚合酶链式反应(PCR)的发明者获得诺贝尔化学奖。这些基本理论的发展和技术的突破,奠定了生物技术的基础,也推动了生物技术制药的迅猛发展。

#### 1. 现代分子生物学的建立和发展

在生物学和生物技术发展中两个最伟大的里程碑,就是1953年发现了DNA双螺旋结构和20年后实现了DNA重组和转化。1953年Watson和Crick提出的DNA双螺旋结构模型,奠定了现代分子生物学的基础,开创了分子遗传学基本理论建立和发展的黄金时代。DNA双螺旋结构发现的最深刻意义在于,确立了核酸作为信息分子的结构基础,提出了碱基配对是核酸复制、遗传信息传递的基本方式,从而最终确定了核酸是

遗传的物质基础，为认识核酸与蛋白质的关系及其在生命中的作用打下了最重要的基础，为整个生命科学的发展带来了一场革命。

## 2. 遗传信息传递中心法则的建立

在发现 DNA 双螺旋结构的同时，Watson 和 Crick 又提出 DNA 复制的可能模型；1956 年 A. Kornberg 首先发现 DNA 聚合酶；1958 年 Meselson 和 Stahl 用同位素标记和超速离心分离实验为 DNA 半保留模型提出了证明；1968 年 Okazaki (冈崎) 提出 DNA 不连续复制模型；1972 年证实了 DNA 复制的开始需要 RNA 作为引物；20 世纪 70 年代初获得 DNA 拓扑异构酶，并对真核 DNA 聚合酶特性做了分析研究，这些都逐渐完善了对 DNA 复制机理的认识。

同时人们认识到蛋白质是接受 RNA 的遗传信息而合成的。20 世纪 50 年代初 Zamecnik 等在形态学和分离亚细胞组分的实验中发现微粒体是细胞内蛋白质合成的部位；1957 年 Hoagland 等分离出 tRNA 并对它们在合成蛋白质中转运氨基酸的功能提出了假设；1961 年 Brenner 和 Gross 等观察了在蛋白质合成过程中 mRNA 与核糖体的结合；1965 年 Holley 首次测出了酵母丙氨酸 tRNA 的一级结构；特别是在 60 年代 Nirenberg、Ochoa 以及 Khorana 等几组科学家共同努力，破译了 RNA 上编码合成蛋白质的遗传密码，随后的研究表明这套遗传密码在生物界具有通用性，从而认识了蛋白质翻译合成的基本过程。

上述重要发现共同建立了以中心法则为基础的分子遗传学基本理论体系。1970 年 Temin 和 Baltimore 又同时从鸡肉瘤病毒颗粒中发现了以 RNA 为模板合成 DNA 的反转录酶，进一步补充和完善了遗传信息传递的中心法则。

## 3. 对蛋白质结构与功能的进一步认识

1956~1958 年 Anfinsen 和 White 根据对酶蛋白的变性和复性实验，提出蛋白质的三维空间结构是由其氨基酸序列来确定的。1958 年 Ingram 证明，正常的血红蛋白与镰刀状细胞溶血症病人的血红蛋白之间，亚基的肽链上仅有一个氨基酸残基的差别，使人们对蛋白质的一级结构影响其功能有了深刻的印象。与此同时，对蛋白质研究的手段也有改进，1969 年 Weber 开始应用 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳测定蛋白质分子量；60 年代先后分析获得血红蛋白、核糖核酸酶 A 等一批蛋白质的一级结构；1973 年氨基酸序列自动测定仪问世。中国科学家在 1965 年人工合成了牛胰岛素；在 1973 年用 1.8AX-线衍射分析法测定了牛胰岛素的空间结构，为认识蛋白质的结构做出了重要贡献。

### (三) 初步认识生命本质并开始改造生命的深入发展阶段

20 世纪 70 年代后，以基因工程技术的出现作为新的里程碑，标志着人类深入地认识生命本质并能能动地改造生命的新时期开始。

#### 1. 重组 DNA 技术的建立和发展

分子生物学理论和技术发展的积累使得基因工程技术的出现成为必然。1967~1970 年 R. Yuan 和 H. O. Smith 等发现的限制性内切核酸酶，为基因工程提供了有力的工具；1972 年 Berg 等将 SV-40 病毒 DNA 与噬菌体 P22DNA 在体外重组成功，转入大肠杆菌，使本来在真核细胞中合成的蛋白质能在细菌中合成，打破了种属界限；1977 年 Boyer 等首先将人工合成的生长激素释放抑制因子 14 肽的基因重组入质粒，成功地在大肠杆菌中合成得到此 14 肽；1978 年 Itakura (板仓) 等把人生长激素 191 肽在大肠杆菌中表达成功；1979 年美国基因技术公司用人工合成的人胰岛素基因重组转入大肠杆



菌中合成人胰岛素。迄今我国已有人干扰素、人白细胞介素-2、人集落刺激因子、重组人乙型肝炎疫苗、基因工程幼畜腹泻疫苗等多种基因工程药物和疫苗进入生产或临床试验阶段；世界上还有几百种基因工程药物及其他基因工程产品在研制中，成为当今医药业发展的重要方向，将对医学发展和人类生活做出新贡献。

基因诊断与基因治疗是生物技术在医学领域发展的一个重要方面。1991年美国将一重组的 ADA 基因导入患先天性免疫缺陷病（遗传性腺苷脱氨酶 ADA 基因缺陷）的女孩体内，获得成功。我国也在 1994 年用导入人凝血因子Ⅸ基因的方法成功治疗了乙型血友病的患者，我国使用的基因诊断试剂盒已有近百种，基因诊断和基因治疗正在发展之中。

## 2. 基因组研究的进展

目前分子生物学已经从研究单个基因发展到研究生物整个基因组的结构与功能。1977 年 Sanger 测定了  $\phi$ X174-DNA 全部 5375 个核苷酸序列；1978 年 Fiers 等测出 SV-40DNA 全部 5224 对碱基序列；20 世纪 80 年代  $\lambda$  噬菌体 DNA 全部 48 502bp 对的序列全部测出；一些小的病毒包括乙型肝炎病毒、艾滋病毒等基因组的全序列也陆续被测定；1996 年在许多科学家共同努力下，测定了大肠杆菌基因组 DNA 的全序列长  $4 \times 10^6$  bp。测定一个生物基因组核酸的全序列无疑对理解该生物的生命信息及其功能有极大的意义。1990 年人类基因组计划（Human Genome Project）开始实施，这是生命科学领域有史以来全球性最庞大的研究计划，2000 年完成了人类基因组有 31.6 亿个核苷酸、3~3.5 万个基因的一级结构的测定，这将使人类能够更好地掌握自己的命运。

## 3. 单克隆抗体及基因工程抗体制备技术的建立和发展

1975 年 Kohler 和 Milstein 首次用 B 淋巴细胞杂交瘤技术制备出单克隆抗体，从此，人们利用这一细胞工程技术研制出多种单克隆抗体，为许多疾病的诊断和治疗提供了有效的手段。20 世纪 80 年代以后随着基因工程抗体技术的发展而相继出现的单域抗体、单链抗体、嵌合抗体、重构抗体、双功能抗体等，为广泛和有效地应用单克隆抗体提供了广阔的前景。

## 4. 基因表达调控机理

分子遗传学基本理论建立者 Jacob 和 Monod 最早提出的操纵子学说，打开了人类认识基因表达调控的窗口，在分子遗传学基本理论建立的 20 世纪 60 年代，人们对原核生物基因表达与调控的规律有了较深入的认识，70 年代以后才逐渐认识了真核生物基因组结构和调控的复杂性。1977 年最先发现猴 SV-40 病毒和腺病毒中编码蛋白质的基因序列是不连续的，这种基因内部的间隔区（内含子）在真核基因组中是普遍存在的，揭开了认识真核基因组结构和调控的序幕；1981 年 Cech 等发现四膜虫 rRNA 的自我剪接，从而发现了核酶（ribozyme）；80~90 年代，人们逐步认识到真核基因的顺式调控元件与反式转录因子、核酸与蛋白质间的分子识别与相互作用是基因表达调控的根本所在。

## 5. 细胞信号转导机理研究成为新的前沿领域

细胞信号转导机理的研究可以追溯至 20 世纪 50 年代。Sutherland 在 1957 年发现 cAMP、1965 年提出第二信使学说，是人们认识受体介导的细胞信号转导的第一个里程碑。1977 年 Ross 等用重组实验证实 G 蛋白的存在和功能，将 G 蛋白与腺苷环化酶的作用相联系，深化了对 G 蛋白偶联信号转导途径的认识。70 年代中期以后，癌基因和

抑癌基因的发现、蛋白酪氨酸激酶的发现及其结构与功能的深入研究、各种受体蛋白基因的克隆和结构功能的探索等,使近 10 年来细胞信号转导的研究更有了长足的进步。目前,对于某些细胞中的一些信号转导途径已经有了初步认识,尤其是在免疫活性细胞对抗原的识别及其活化信号的传递途径方面和细胞增殖控制方面等都形成了一些基本的概念,当然要达到最终目标还需相当长时间的努力。

综上所述,在近半个世纪中生物技术是生命科学领域发展最为迅速的一个前沿领域,推动着整个生命科学的发展。至今分子生物学仍在迅速发展,新成果、新技术不断涌现,这也从另一方面说明分子生物学发展还处在初级阶段。分子生物学已建立的基本规律给人们认识生命的本质指出了光明的前景,但分子生物学的历史还短,积累的资料还不够,例如:在地球上千姿万态的生物携带庞大的生命信息中,迄今人类所了解的只是极少的一部分,还未认识核酸、蛋白质组成生命的许多基本规律。可以说分子生物学的发展前景光辉灿烂,道路还会艰难曲折。

## 二、生物制药现状和发展前景

人们认为,20 世纪的科学技术是以物理学和化学的成就占主导地位,而 21 世纪的科学技术将是以生物学的成就占主导地位。无论这种说法是否得到普遍的认同,生物技术是当今高科技中发展最快的领域似乎是不争的事实。这些进展可以帮助人类解决很多目前无法医治疾病的治疗问题、消除营养不良、改善食品的生产方式、消除各种污染、延长人类寿命、提高生命质量、为社会安全和刑侦提供新的手段。有些成果还可以帮助人类加速植物和动物的人工进化以及改善生态环境等,产生新的有机生命的研究也会取得进展。

### (一) 生物制药现状

当传统化学制药和中医药在癌症、艾滋病、冠心病、贫血、骨质疏松、糖尿病、心力衰竭、血友病、囊性纤维变性和罕见遗传疾病等恶性病症面前显得力不从心甚至束手无策时,生物医药则显示出巨大的市场潜力和良好的发展前景,这正是生物医药为世人所关注的根本所在。目前生物制药研制主要集中在以下几个方面。

#### 1. 肿瘤性疾病

在世界范围内肿瘤患者的死亡率居首位,美国每年诊断为肿瘤的患者为 100 万,死于肿瘤者达 54.7 万,用于肿瘤的治疗费达 1020 亿美元。肿瘤是多机制发生的复杂疾病,目前仍用早期诊断、放疗、化疗等综合手段治疗。今后 10 年抗肿瘤生物药物会急剧增加,如应用基因工程抗体抑制肿瘤,应用导向 IL-2 受体的融合毒素治疗 CTCL 肿瘤,应用基因治疗法治疗肿瘤(如应用  $\gamma$ -干扰素基因治疗骨髓瘤)。基质金属蛋白酶抑制剂(TNMPs)可抑制肿瘤血管生长,阻止肿瘤生长与转移。这类抑制剂有可能成为广谱抗肿瘤治疗剂,已有 3 种化合物进入临床试验。

#### 2. 神经退化性疾病

老年痴呆症、帕金森氏病、脑中风及脊椎外伤等的生物技术药物治疗,胰岛素生长因子 rhIGF-1 已进入 III 期临床试验。神经生长因子(NGF)和 BDNF(脑源神经营养因子)用于治疗末梢神经炎和肌萎缩硬化症,均已进入 III 期临床试验。

美国每年有中风患者 60 万,死于中风的人数达 15 万,但中风症的有效防治药物不多,尤其是可治疗不可逆脑损伤的药物更少。已证明 Cerestal 对中风患者的脑力能有明显改善和稳定作用,现已进入 III 期临床;Genentech 的溶栓活性酶(Activase 重组



t-PA) 用于中风患者治疗, 可以消除症状 30%。

### 3. 自身免疫性疾病

许多炎症由自身免疫缺陷引起, 如哮喘、风湿性关节炎、多发性硬化症、红斑狼疮等。风湿性关节炎患者有 4000 多万, 每年医疗费达上千亿美元, 一些制药公司正在积极攻克这类疾病。例如, Genentech 公司研究的一种人源化单克隆抗体免疫球蛋白 E, 用于治疗哮喘, 已进入 II 期临床; Ceter's 公司研制一种 TNF- $\alpha$  抗体用于治疗风湿性关节炎, 有效率达 80%; Chiron 公司的  $\beta$ -干扰素用于治疗多发性硬化病。还有的公司在应用基因疗法治疗糖尿病, 如将胰岛素基因导入患者的皮肤细胞, 再将细胞注入人体, 使工程细胞产生全程胰岛素供应。

### 4. 冠心病

美国每年 100 万人死于冠心病, 治疗费用高于 1170 亿美元。今后 10 年, 防治冠心病的药物将是制药工业的重要增长点。Centocor's Reopro 公司应用单克隆抗体治疗冠心病的心绞痛和恢复心脏功能取得成功, 标志着一种新型冠心病治疗药物的诞生。

基因组科学的建立与基因操作技术的日益成熟, 使基因治疗与基因测序技术的商业化成为可能, 正在达到未来治疗学的新高度。转基因技术用于构造转基因植物和转基因动物, 已逐渐进入产业化阶段, 用转基因绵羊生产蛋白酶抑制剂 ATT, 用于治疗肺气肿和囊性纤维变性, 已进入 II、III 期临床。大量的研究成果表明转基因动、植物将成为未来制药工业的另一个重要发展领域。

## (二) 生物制药展望

生物学的革命不仅依赖于生物科学和生物技术的自身发展, 而且依赖于很多相关领域的技术走向, 如微机电系统、材料科学、图像处理、传感器和信息技术等。尽管生物技术的高速发展使人们难以做出准确的预测, 但是基因组图谱、克隆技术、遗传修改技术、生物医学工程、疾病疗法和药物开发方面的进展正在加快。

生物技术将为当代重大疾病治疗创造出更多的有效药物, 并在所有前沿性的医药学科形成新领域。目前热门的药物生物技术如表 1-1, 正在研究开发的生物技术药物类型见表 1-2。

表 1-1 热门药物生物技术

技 术	新颖性	技 术	新颖性
组合化学	成熟领域	前导物综合鉴定技术	新生技术
药学基因组科学	发展领域	核糖酶	新生技术
蛋白质工程	发展领域	抗体酶	新生技术
基因治疗	发展领域	药物设计与人工智能	新生技术
糖类治疗剂	发展领域	功能抗原	新生技术

除了遗传学之外, 生物技术还可以继续改进预防和治疗疾病的方法。这些新疗法可以抑制病原体进入人体及传播的能力, 增强人的免疫功能。这些方法可以克服病原体对抗生素的耐受性越来越强的不良趋势。