

细胞制药与尿激酶原

CELL PHARMACEUTICS AND PROUROKINASE

肖成祖 编著

细胞制药与尿激酶原

肖成祖 编著

军事医学科学出版社

· 北 京 ·

图书在版编目(CIP)数据

细胞制药与尿激酶原/肖成祖编著.

—北京:军事医学科学出版社,2011.12

ISBN 978-7-80245-829-1

I. ①细… II. ①肖… III. ①动物-细胞-
生物制品:药物-制造 ②尿激酶-酶制剂-
研究 IV. ①TQ464

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2011)第 207302 号

策划编辑:王国晨 责任编辑:王国晨 责任印制:丁爱军

出版人:孙宇

出版:军事医学科学出版社

地址:北京市海淀区太平路 27 号

邮编:100850

联系电话:发行部:(010)66931049

编辑部:(010)66931127,66931039,66931038

86702759,86703183

传真:(010)63801284

网址:<http://www.mmsp.cn>

印装:中煤涿州制图印刷厂北京分厂

发行:新华书店

开本:710mm×1000mm 1/16

印张:20(彩 3)

字数:324 千字

版次:2011 年 10 月第 1 版

印次:2011 年 10 月第 1 次

定价:38.00 元

本社图书凡缺、损、倒、脱页者,本社发行部负责调换

内 容 提 要

本书分上下两篇,上篇详细地阐述了用动物细胞制药在当前制药工业中的重要性、工程细胞的获得、细胞培养和培养基、反应器的选择和条件控制、产品的质量检测和要求。下篇是作者将其参与的 2011 年批准的一类溶栓新药——尿激酶原项目中所有已发表的文章作了系统的整理,作为一个细胞制药的实例介绍给读者,通过该实例可更好地了解用动物细胞制药该做哪些工作,药审部门对它有哪些要求。

本书不仅含有大量参考文献,而且含有作者和同事们大量实际工作经验。它不单对从事细胞制药的研究工作者和生产实践者有参考价值,也是正在学习生物技术和制药专业的本科生、研究生很好的教材。此外,对医院内需要采用尿激酶原进行急性心肌梗死治疗的医师也会有所帮助。

前 言

应用当代生物技术生产药物已成为当今药物生产的一个重要领域,从1998年开始,其年销售额增长率均保持在15%~33%,2007年基因工程药物的销售额已达到840亿美元,占整个医药产业销售额的12%左右,2010年已达到了约1400亿美元。更为重要的是,许多生物技术药物在治疗一些以前难以治疗的疾病,如癌症、遗传性疾病、免疫性疾病等方面,给病人带来了希望。

美国食品药品监督管理局自1982年批准第一种基因工程药物胰岛素humulin以来,至2010年年底,据不完全统计,共有147种产品已进入市场,其中有46种产品是用细菌表达的,有17种产品是用酵母表达的,有2种产品是合成的寡核苷酸,1种是用山羊的乳腺生产的,而用动物细胞生产的产品有81种,占了近60%,其产值占了70%以上,2009年销售额排在前10位的生物技术药品中,用动物细胞生产的产品有7种。随着单克隆抗体越来越多地被批准上市,动物细胞所占的比重将越来越大。

我在前些年有幸参加了由沈阳药科大学的熊宗贵教授和夏焕章教授先后主编的《生物技术制药》一版(1999年)和二版(2006年)的编写工作,我负责的是《动物细胞制药》一章。在撰写该教材的同时,我在军事医学科学院生物工程研究所承担了国家863课题——尿激酶原的中试工艺和临床前研究,尿激酶原正是一个典型的用动物细胞进行生产的基因工程药物。它的整个研究过程,包括尿激酶原cDNA的提取、工程细胞的构建、细胞大量高密度培养、产品的纯化和一系列质量检测方法的建立、药物的临床前动物试验和临床Ⅰ至Ⅲ期试验、新药的申报、直至获得新药证书,都是由军事医学科学院生物工程研究所与有关单位的协作下完成的。在此过程中,我们在国内外杂志和会议上有大量文章发表。通过该项目的研究和对这些文章的学习,我觉得这些研究内容和文章实际上是对我编写的上述教材最好的实例补充。为此,我试着将上述两方面内容编写在一起,将本书定

名为《细胞制药与尿激酶原》。

全书分为两篇,上篇是细胞制药,基本上是在原先编写的那章《动物细胞制药》内容基础上作了一些修改和补充,如 FDA 从 1982 年至 2010 年批准的生物技术药物、各药使用的宿主细胞、支原体的污染和防治、氨的危害和防范措施、细胞培养的灌流系统、一次性生物反应器和微重力生物反应器、细胞的结团培养工艺、细胞培养中常用到的计算公式、抗体的生产、PER. C6 细胞等,此外,尽可能地将有关的参考文献补充列出,这些修改和补充的材料为原来材料的 30% 以上。进行这些补充的目的是想使之更全面,但由于体力问题,未能作更多的更新。下篇是尿激酶原,是将我们在尿激酶原研制过程中已发表的文章,以及部分虽未发表,但已申报且在一些专业会议上报告过的材料进行较系统的叙述。目的是希望读者通过该实例的研究过程,更好地了解用动物细胞制药应该做些什么?药管部门对此有些什么要求?但是科学在不断进步,对新药的要求也在不断提高,生产和检测的方法和手段也在不断更新,因此所述的材料有些可能已经过时,但我相信通过该实例的介绍对将要从事细胞制药的同事们还是会有所帮助的。而对那些在治疗心肌梗死时要使用该药的临床医生也可以对该药有更全面的了解。

尿激酶原是军事医学科学院生物工程研究所经过 20 多年研究的成果,也是上海天士力药业有限公司进一步改进完善,并即将投入生产的重要产品。临床试验表明,它在治疗急性心肌梗死方面有其突出的优点,毒性小、开通率高,与介入结合死亡率为 2.3%。2011 年 3 月获得了一类新药证书。能获得这样的成绩,那是由于有 30 多个单位 280 多人的共同努力的结果。大家的努力不仅给国家提供了一种新药,也提供了我编写下篇的内容。为此,我作为原来尿激酶原课题研究的负责人之一,也作为本书的编者,在此向大家表示感谢。

参加该项目研究或发表文章的同事有:

军事医学科学院生物工程研究所细胞工程研究室:肖成祖,张正光,胡显文,胥照平,高丽华,李世崇,陈昭烈,黄子才,郭志霞,王菲,刘红,叶建新,艾析,吴清法,于芳,吴本传,李文青,刘风云,刘高艳,李戡,孙彦洵,李琳,贾熙华,钱锋,王佃亮,郝永义,邵勇;

军事医学科学院生物工程研究所基因工程研究室:方继明,俞炜源,李凤知,韩素文,李秀珍,程度胜,李军,林建波,唐红娣,张宏权,刘桂芳,胡宝

成,关雪妮,黄翠芬,张劲夫;

军事医学科学院生物工程研究所工厂:鲍新华,龙应国,曲文禄;

军事医学科学院仪器中心:谢家仪,周围,魏开华,钱小红,张恂,徐桂云,常理文,袁生,纪建国,梁月琴,董方霆,张学敏;

军事医学科学院放射与辐射医学研究所:任建平,杨素娟,耿煌,徐兰平,周睿,窦桂芳,刘秀文,汤仲明,朱宝珍,张洋,王鹏;

军事医学科学院微生物流行病研究所:翟海峰,张敏,范志勤,邬伯安,王京燕,孔惟惟,于曼,周鹤山,李予川,武生明;

军事医学科学院毒物药物研究所:廖明阳,孙辉业,刘宝兴,张清林,马华智,沈伽弟,袁本利,余寿忠,瞿文生,郑德琪,李培忠,洪文清,盛和章,郭巧珍,黄春倩,梁金强,叶洪金,王和枚,关勇彪,石笑春,徐波,闻思真;

上海天士力药业有限公司:李小强,杨旭,陶铜静,孟昭平,张军,潘珂,赵群,姜燕,刘锐,赵敏,强桂芬,郭戈,丁文侠,李鸿斌,胡铁强,韩进,莫英,张军,田建林,陈维维,袁婀娜,黄华,李雪华,印玲,胡靖,段继芳;

中国科学院生物物理研究所:罗志勇;

中国科学院化学冶金研究所:李佐虎;

中国生物制品检定所:饶春明,张翊;

军事医学科学院实验动物中心:邵军石,叶华虎,张小飞,陈旖;

北京西苑医院:刘建勋,刘志云,尚晓泓,张晓丹,林成仁,石体仁,徐立,李宏坤,马雪英,王敏,魏翠娥,李彩熙;

北京安贞医院:王忠,李金荣,王金华,吴韦,陈雄;

解放军总医院:李天德,王禹,陈练,田新莉,孙中华,殷宗健,张德秀,王广义,余霞君,杜洛山,刘宏斌;

第四军医大学西京医院:贾国良,李成祥,李家一,袁铭,郭萱,曹丰,冯旭阳,王海昌,郭文怡,王小燕,李伟,党米婵;

首都医科大学附属北京同仁医院:赵秀丽,梁峰,马力,马春荣;

郑州大学第一附属医院:黄振文,张金盈,张晓,刘闯,卢长青,张军,李晨,李华,邱春光,党瑜华,赵洛沙,张彦周,张晓,张慧琴,刘保山;

天津医科大学第二医院:李广平,陈树涛,丛洪良,张梅,徐延敏,梁美姿,周长钰,尹力;

哈尔滨医科大学附属第一医院:李为民,王岚峰,李竹琴,陈严东,徐丹,孙新勇,汤青;

首都医科大学宣武医院:华琦,李静,李东宝,刘东霞,刘荣坤,许骥,刘力松,万云高,杨峥;

吉林省人民医院:王晓璐,邓杨,李元春,李世震;

解放军 254 医院:浦奎,李惠敏,孟永霞,郭峰,郭西延,马东丽,曹世恒,贾忠伟;

第三军医大学新桥医院:黄岚,王学军,赵刚,晋军,赵晖;

内蒙古医学院附属医院:崔晓迎,黄志民,宁荣霞,刘玉兰,刘改镛,陈凤英;

成都第三人民医院:何川,唐炯,王引利,吴镜,蒋晖,王伟,蔡琳,余秀琼,刘健雄,刘汉雄;

广州中山医科大学第一附属医院:马虹,吴素华,何建桂;

第二军医大学长海医院:秦永文,郑兴,游晓华,杨志宏,曹汇,王永春;

西安交通大学第一医院:袁祖贻,刘艳,王燕妮,刘豫,周朝霞;

东南大学附属中大医院:马根山,闫金川,丁澍;

沈阳军区总医院:韩雅玲,王东梅,隋因,王敦增,张剑,赵咏梅,杨桂棠,王颐玲,陶杰,王斌;

辽宁省人民医院暨辽宁省心血管病医院:李占全,徐桂萍,刘莹,曲海波,赵灏军,侯平,石蕴琦,倪锦辉,乔兴科;

北京大学第一医院医学统计室:姚晨,张高魁;

北京大学生命科学院蛋白质工程国家重点实验室:袁些生,纪建国。

此外,还要感谢临床试验指导委员会的专家胡大一、郭静萱和蒋宝琦,以及我所领导马清均、陈惠鹏和曹诚等对我们工作的关心和指导。特别要感谢天士力集团董事长闫希军等领导,由于他们的支持,我们的科研成果才能真正进入市场,造福人民。

限于本人的专业范围,对于一些文章的理解定有不全或错误的地方,望批评指正。在参加该项目和发表文章的人员名单中可能有遗漏的,希望给予原谅。

今年正值中国共产党建党 90 周年,也是军事医学科学院成立 60 周年,我愿将此书献给他们,以表示我的祝贺。

肖成祖

2011 年 9 月于北京

目 录

上 篇 细胞制药

第一章 概论	(1)
第二章 动物细胞的形态和生理特性	(15)
一、动物细胞的形态	(15)
二、动物细胞的结构和功能	(16)
三、动物细胞的化学组成和代谢	(18)
四、动物细胞的分裂和周期	(21)
五、动物细胞的生理特点	(22)
第三章 生产用动物细胞的要求和获得	(27)
一、生产用动物细胞的要求	(27)
二、生产用动物细胞的获得	(28)
三、基因工程细胞的构建和筛选	(30)
四、常用生产用细胞的特性	(33)
五、细胞库的建立	(37)
第四章 动物细胞的培养条件和培养基	(39)
一、动物细胞的培养条件	(39)
二、支原体的污染、预防和处理	(45)
三、动物细胞培养基的种类和组成	(50)
第五章 细胞培养的基本方法	(59)
一、细胞分离	(59)

二、细胞计数	(60)
三、细胞传代	(61)
四、细胞的冻存和复苏	(62)
 第六章 动物细胞大量培养的方法和操作方式	(65)
一、动物细胞大规模培养的方法	(65)
二、动物细胞培养的操作方式	(71)
 第七章 动物细胞生物反应器及其检测控制系统	(79)
一、动物细胞生物反应器的类型及其基本结构	(79)
二、动物细胞生物反应器的检测控制系统	(91)
 第八章 动物细胞产品的纯化方法和质量要求	(101)
一、动物细胞产品常用的纯化方法	(101)
二、动物细胞产品的质量要求	(105)
 第九章 动物细胞产品的实例	(111)
一、类淋巴细胞干扰素	(111)
二、组织型纤溶酶原激活剂	(114)
三、促红细胞生成素	(118)
四、凝血因子Ⅷ	(121)
五、乙型肝炎疫苗	(126)
六、基因工程抗体	(128)
 第十章 动物细胞制药的前景与展望	(135)
一、改进表达载体,提高表达水平和产量	(135)
二、利用“代谢工程”,改进培养工艺,降低生产成本	(137)
三、抑制细胞凋亡,延长培养周期	(139)
四、采用“糖基化”工程,提高产品质量	(140)
五、转基因动物的研究	(142)
六、组织工程的研究	(143)

参考文献	(144)
------------	-------

下 篇 尿激酶原

第十一章 尿激酶原在国外的研究概况	(165)
一、尿激酶原的性质和结构	(166)
二、尿激酶原的基因结构及表达调控	(168)
三、尿激酶原的功能和作用机制	(169)
四、糖基化与非糖基化尿激酶原的差别	(171)
五、尿激酶原的药代动力学	(171)
六、尿激酶原的临床研究	(172)
第十二章 尿激酶原基因工程方面的研究	(175)
一、人尿激酶原全长 cDNA 基因的克隆	(175)
二、尿激酶原 cDNA 在中国仓鼠卵巢细胞中的高效表达	(175)
三、尿激酶原工程细胞株的特性鉴定和细胞库建立	(177)
第十三章 尿激酶原工程细胞培养和产品纯化方面的研究	(179)
一、用微载体培养系统高密度培养尿激酶原工程细胞	(179)
二、连续培养的稳定性	(184)
三、重组人尿激酶原的纯化	(185)
四、纯化工艺的去病毒验证	(187)
第十四章 重组人尿激酶原的冷冻干燥和稳定性方面的研究	(189)
一、重组人尿激酶原的冷冻干燥	(189)
二、重组人尿激酶原冻干成品的稳定性观察	(191)
第十五章 重组人尿激酶原质量检测的研究	(195)
一、重组人尿激酶原半成品的质量检测项目、方法和结果	(195)
二、重组人尿激酶原成品的质量检测项目、方法和结果	(205)
三、重组人尿激酶原质量检测的其他项目、方法和结果	(208)
四、重组人尿激酶原当前制定的质量标准	(212)

第十六章 尿激酶原临床前的动物研究	(215)
一、重组人尿激酶原一般药理作用研究	(215)
二、重组人尿激酶原动物药代动力学研究	(217)
三、重组人尿激酶原主要药效学研究	(222)
四、重组人尿激酶原毒理学研究	(233)
第十七章 重组人尿激酶原的临床研究	(241)
一、重组人尿激酶原 I 期临床试验	(241)
二、重组人尿激酶原治疗急性心肌梗死的 II 期临床试验	(249)
三、重组人尿激酶原治疗急性心肌梗死的 III 期临床试验	(253)
第十八章 对重组人尿激酶原的评价和今后的工作展望	(259)
一、溶栓在治疗急性心肌梗死中仍然占有重要地位	(259)
二、尿激酶原治疗心肌梗死是安全的、有效的	(260)
三、尿激酶原有可能成为“易化 PCI”和“补救性 PCI”的理想溶 栓药	(262)
四、采用无血清灌流培养的生产工艺生产尿激酶原是可行的	(263)
五、为进一步发挥尿激酶原的溶栓治疗作用,还有很多工作可做	(264)
参考文献	(264)
附录	(277)
一、人用重组 DNA 制品质量控制技术指导原则(国家食品药品 监督管理局,2003)	(277)
二、生物组织提取制品和真核细胞表达制品的病毒安全性评价 技术审评一般原则(药品审评中心,2005)	(284)
三、重组制品生产用哺乳动物细胞质量控制技术评价一般原则 (药品审评中心,2006)	(297)

上 篇 细胞制药

第一章 概 论

人类认识细胞的历史不长,1665 年英国的物理学家 Hooke,用自制的显微镜观察切成薄片软木,发现了许多蜂窝状的小室,他把它们称为细胞(cell),实际上这只是死细胞留下的细胞壁。不久,荷兰科学家 Leeuwenhoek 才真正首次观察到了活的细胞。1838 年德国的植物学家 Schleiden 和 1839 年动物学家 Schwann,在各自观察了动、植物组织后的报道中把细胞作为一切动、植物体的基本结构单位,从而创立了细胞学说。恩格斯把该学说列为 19 世纪自然科学的三大发现之一。

组织培养或细胞培养——将组织或细胞从机体取出,在体外模拟机体体内的生理条件下进行培养,使之生存和生长,至今已有近百年的历史。1885 年德国人 Roux 用生理盐水培养鸡胚组织,使之存活了数月之久;1897 年 Loeb 证明从血液和结缔组织中分离到的细胞可以在血清和血浆中存活;1903 年 Jolly 观察到蝶螈细胞在体外可进行分裂。这些实验被认为是组织和细胞培养的早期萌芽实验。1907 年 Harrison 成功地在凹玻片的淋巴液内无菌条件下培养了离体的蛙胚神经组织,并观察到神经细胞突起的生长过程,由此开创了现代细胞培养的新纪元(表 1-1)。100 多年来,细胞培养工作已取得了巨大进展。近年来随着细胞生物学、分子生物学、生物化学和基因工程学等一系列学科和技术的发展,原先的细胞培养技术已发展成为一门崭新的学科——细胞工程学(cell engineering 或 cytotechnology)(肖成祖 1990)。尽管它还很年轻,但它已成为当今高技术——生物工程研究领域不可缺少的一部分,并已在国民经济的许多部门,包括制药工业中发挥了巨大的作用。

表 1-1 细胞培养发展过程中的历史事件

时间(年)	事 件
1885	Roux 在生理盐水培养中能保持鸡胚细胞存活
1897	Loeb 证明从血液和结缔组织中分离的细胞在血清和血浆中可活存
1903	Jolly 观察到蝾螈细胞在体外可进行细胞分裂
1907	Harrison 用“悬浮法”在淋巴凝块中培养了蛙神经细胞, Borrows 改进了该技术, 采用了血浆凝块
1913	Carrel 采用了严格的无菌技术致使细胞可长期培养
1916	Roux 和 Jones 采用了胰酶对贴壁的细胞进行传代培养
1923	Carrel 培养瓶作为第一种专门设计的细胞培养容器被引入细胞培养中
40 年代	在培养基中采用抗生素, 青霉素和链霉素减少了细胞培养中的污染问题
1948	Earle 分离出鼠 L 成纤维细胞, 它可从单细胞形成克隆
1952	Gey 从人的子宫癌建成了一株称为 Hela 细胞的连续的细胞系
1955	Eagle 研究了各种选择的细胞在培养中的营养要求, 提出了第一种被广泛使用的合成培养基
1961	Hayflick 和 Moorhead 分离出一株人成纤维细胞(WI-38), 并证明它在细胞培养中有一定的寿命
1964	Littlefield 引入 HAT 培养基可用于细胞筛选
1965	Ham 引入了第一个无血清培养基, 它可支持一些细胞增长
1965	Harris 和 Watkins 用病毒使人和小鼠细胞融合
1975	Kohler 和 Milstein 生产了第一株能分泌单克隆抗体的杂交瘤细胞
1978	Sato 用激素和生长因子的混合配方形成了开发无血清培养基的基础
1982	人胰岛素成为第一种获准作为治疗药物的重组蛋白
1985	用重组细菌生产的人生长激素被用于治疗
1987	用重组动物细胞生产的组织型纤溶酶原激活剂成为商品

材料来自 Butler(1991)

细胞工程是以细胞为单位,按人们的意志,应用细胞生物学、分子生物学等理论和技术,有目的地进行精心设计,精心操作,使细胞的某些遗传特性发生改变,从而达到改良或产生新品种的目的,以及使细胞增加或重新获得产生某种特定产物的能力,从而在离体条件下进行大量培养、增殖,并提取出对人类有用的产品。这是一门应用科学和工程技术,它包括真核细胞的基因重组、导入、扩增和表达的理论和技术,细胞融合的理论和技术,细胞器特别是细胞核移植的理论和技术,染色体改造的理论和技术,转基因动、植物的理论和技术,细胞大量培养的理论和技术,以及将有关产物提取纯化的理论和技术。

如上所述,细胞是一切动、植物生命体的基本组成单位。细胞虽小(直径10 μm 左右),但却非常精密、复杂,并有着巨大的生产效率,可以生产出许许多多维持机体生命所必需的产物。因此很早以前人们就考虑到要很好地利用这个“加工厂”。1949年 Enders 及其同事发表了第一篇关于在培养细胞中生长病毒的报道,为以后采用细胞培养技术生产疫苗奠定了基础。随着基因工程的发展,人们逐渐认识到有许多基因产物不能在原核细胞内表达,它们需要经过真核细胞所特有的翻译后修饰,以及正确的切割、折叠后,才能具有与自然分子一样的功能和抗原性。这就使动物细胞一跃成为一种重要的宿主细胞,用以生产各种各样的重要的生物制品(Mizrahi 1988; Griffiths 1991),包括疫苗、细胞因子、溶栓药物、单克隆抗体、凝血因子、激素等。这些药品对临床疾病的诊断、治疗和预防,包括病毒病、癌症、心血管病、血液病、内分泌病、贫血等疾病和外伤都有着重要意义。其中已有许多被批准用于临床,成为商品。据不完全统计,美国FDA自从1982年批准第一种生物技术药物以来至2010年底,一共批准了约147种产品,其中用细菌表达的有46个,用酵母表达的有17种,而用哺乳动物细胞表达的有81种,另有2种是合成的寡核苷酸和1种转基因羊乳(表1-2)。用哺乳动物细胞表达的产品,其销售额在2003年已占有生物技术药物销售额中的65%,2009年销售额在前10位的,有7种产品是由哺乳动物细胞表达的(表1-3)。它已成为许多发达国家一个重要的新兴产业。

表 1-2 美国 FDA 已批准的生物技术药物 (1982 ~ 2010)

商品名 (通用名)	产品	适应证	宿主	批准年
humulin (human insulin)	胰岛素	糖尿病	<i>E. coli</i>	1982
protropin (somatrem)	生长激素	儿童生长失调	<i>E. coli</i>	1985
roferon A (interferon- α -2a)	干扰素- α -2a	丙肝、毛细胞白血病、 慢性骨髓性白血病、 Kaposi 肉瘤	<i>E. coli</i>	1986
intron A (interferon- α -2b)	干扰素- α -2b	白血病、黑色素瘤、 Kaposi 肉瘤、非何杰 金淋巴瘤、乙肝、丙肝	<i>E. coli</i>	1986
orthoclone OKT3 (murumona-CD3)	抗 CD3 的鼠单抗	肾移植排斥	Hybridoma cell line	1986
recombivax (hepatitis B vaccine)	乙肝表面抗原	乙肝	<i>S. cerevisiae</i>	1986
activase (alteplase)	重组人组织型纤溶酶 原激活剂	急性心肌梗死	CHO	1987
humatrope (somatropin)	生长激素	生长失调	<i>E. coli</i>	1987
epogen/procrit (epoetin)	促红细胞生成素	病衰贫血	CHO	1989
engerix B (hepatitis B vaccine)	乙肝表面抗原	乙肝	<i>S. cerevisiae</i>	1989
kogenate/helixate (antihaemophilic factor VIII)	凝血因子 VIII	血友病 A	BHK	1989
alferon (interferon- α -N3)	自然白细胞干扰素 α - N3	生殖器疱疹	White blood cells	1989
actimmune (interferon- γ -1b)	重组干扰素- γ -1b, N 端加甲硫氨酸	慢性肉芽肿	<i>E. coli</i>	1990
neupogen (filgrastim)	粒细胞克隆刺激因 子, 加有 Met 残基, 无 糖基化	化疗白细胞减少	<i>E. coli</i>	1991

续表

商品名(通用名)	产品	适应证	宿主	批准年
leukine (sargramostim)	粒细胞-巨噬细胞克 隆刺激因子,23 位由 Leu 取代	骨髓移植	<i>S. cerevisiae</i>	1991
novolin L, novolin N, novolin R (human insulin)	胰岛素	糖尿病	<i>S. cerevisiae</i>	1991
recombinate (antihemophilic factor VIII)	凝血因子Ⅷ	血友病 A	CHO	1992
proleukin (aldesleukin)	白介素-2	肾瘤、黑色素瘤	<i>E. coli</i>	1992
oncoSint CR/OV (satu- momab)	鼠单抗结合放射性钬	结直肠癌和卵巢癌	Hybridoma cell line	1992
betaseron/betaferon (Interferon- β -1b)	干扰素- β -1b,17 位的 Cys 被 Ser 取代	多发性硬化症	<i>E. coli</i>	1993
pulmozyme (dornase α)	脱氧核糖核酸酶-I	囊性纤维化	CHO	1993
bioclate (antihemophilic factorⅧ)	凝血因子Ⅷ	血友病 A	CHO	1993
cerezyme (imiglucerase)	β -葡糖脑苷脂酶	Caucher 症	CHO	1994
reoPro (abciximab)	嵌合性抗体 Fab 抗血 小板糖蛋白 II a/III b 受体	缺血性心脏病,心绞 痛	Hybridoma cell line	1994
nutropinAQ (somatropin)	人生长激素	儿童生长不良	<i>E. coli</i>	1995
norditropin (somatropin)	生长激素	儿童生长失调	<i>E. coli</i>	1995
biotropin(somatropin)	生长激素	儿童 hGH 不足	<i>E. coli</i>	1995
genotropin (somatropin)	生长激素	儿童 hGH 不足	<i>E. coli</i>	1995
avonex (interferon- β -1a)	干扰素- β -1a	多发性硬化症	CHO	1996