

“十五”国家重点图书

现代生物技术丛书

生物制药技术

朱宝泉 主编



化学工业出版社

现代生物技术与医药科技出版中心

“十五”国家重点图书

现代生物技术丛书

生物制药技术

朱宝泉 主编

化学工业出版社

现代生物技术与医药科技出版中心

·北京·

(京) 新登字 039 号

图书在版编目(CIP)数据

生物制药技术/朱宝泉主编. —北京: 化学工业出版社, 2004.4
(现代生物技术丛书)
ISBN 7-5025-5287-1

I. 生… II. 朱… III. 生物制品: 药物-制造 IV. TQ464

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2004) 第 020529 号

现代生物技术丛书

生物制药技术

朱宝泉 主编

责任编辑: 孟 嘉 叶 露

文字编辑: 梁静丽

责任校对: 凌亚男

封面设计: 于 兵

*

化 学 工 业 出 版 社
现代生物技术与医药科技出版中心 出版发行

(北京市朝阳区惠新里 3 号 邮政编码 100029)

发行电话: (010) 64982530

<http://www.cip.com.cn>

*

新华书店北京发行所经销

北京永鑫印刷有限责任公司印刷

三河市延风装订厂装订

开本 787mm×1092mm 1/16 印张 26 字数 640 千字

2004 年 6 月第 1 版 2004 年 6 月北京第 1 次印刷

ISBN 7-5025-5287-1/Q·85

定 价: 60.00 元

版权所有 违者必究

该书如有缺页、倒页、脱页者, 本社发行部负责退换

序

建立在分子生物学、分子遗传学、生物化学、微生物学、细胞学以及化工、计算技术等基础之上的现代生物技术(生物工程),是20世纪后半期国际上突飞猛进的技术领域之一,它为人类保健、农牧业、食品工业、环境保护以及精细化工等产业的发展提供了前所未有的动力。展望新世纪,可以预料生物技术的前景更为光辉灿烂。本丛书将就该领域的研究动态逐个进行详细介绍,这里我们仅概述其突出进展与读者分享。鉴于各领域发展迅速和编者水平有限,丛书定有遗漏和不足之处,敬请读者指正。

一、基因组和后基因组学

人类基因组计划(HGP)正式启动于1990年,这是一个跨世纪、跨国界的最伟大的生命科学工程,经美、英、法、德、日、中6国的合作和努力,已于2001年完成全部序列测定。这一成就可以与原子弹计划和登月计划相媲美。它将对生命科学和人类健康产生巨大影响。应用各种技术,上千个与疾病相关的基因已被定位,并有近百个疾病基因被克隆。毫无疑问,这将为新药研究设计和疫苗制备提供依据,且已有多个物质进入临床试验。

与此同时,小家鼠、果蝇、线虫、拟南芥、水稻、啤酒酵母,以及多种真菌、细菌的基因组研究相继开展,其中拟南芥基因组的全序列测定业已完成。由于微生物的基因组远小于多细胞真核生物,且细菌和酵母基因中不存在内含子,因而便于分析,迄今已在酵母基因组中发现了一些与人类疾病基因同源的基因,研究这些基因在酵母中的生理功能,将有助于了解相关疾病的发病机理。

今天,一个崭新的领域——生物信息学迅速发展,它将基因的结构、蛋白质功能以及物种的进化在基因信息的基础上统一起来。这一学科的发展,对基因组和后基因组学研究及对人类健康和农业发展将产生深远的影响。

二、基因工程(重组DNA技术)

体外DNA重组技术始于1972年,首先在大肠杆菌中获得成功,继而扩展到其他微生物,生产出了多种新型发酵产品。美国批准上市的基因工程产品有人类胰岛素、人类生长因子、白介素、干扰素、牛型生长激素疫苗等,并不断有新的品种进入临床应用。重组微生物的应用,也为高等生物作为表达外源基因的宿主提供了技术和经验,如哺乳动物细胞株、昆虫细胞株、转基因动物、转基因植物,都有可能作为生产需要糖基化的重组蛋白质的宿主。

我国基因工程研究起步较晚,自1986年“863”计划实施以来,生物技术药物的研究和产业化获得迅猛发展,至1998年已有14种基因工程药物、3个基因工程疫苗和数十个重组诊断试剂投放市场。

三、转基因作物及其他农业生物工程

农业生物技术中最重要的是转基因作物 (GMC)。近十年间 GMC 发展速度极快, 1996~2001 年全球 GMC 的种植面积增长了 30 倍。2000 年达 4 420 万公顷, 比 1999 年增长 11%, 2001 年又在 2000 年的基础上增长 19%, 达 5 260 万公顷。GMC 种植面积占相关作物全球种植面积的比例依次为: 大豆 46%、棉花 20%、油菜 11%、玉米 7%。

我国 GMC 的种植面积在 13 个国家中居第四位。国产转基因 Bt 抗虫棉的育成和推广, 开创了国内基因工程农业应用的成功范例, 仅 2001 年种植面积达 60 万公顷。抗虫棉的杀虫性强, 农药用量可减少 70%~80%, 既降低了用工成本, 又保护了环境。

继获得第一代 GMC (抗除草剂、抗虫、抗病等) 之后, 第二代转基因作物已呼之欲出, 重点是进一步改良作物品质, 提高其营养水平 (如“金稻米”等), 或以植物作为生物反应器生产医疗保健产品 (如口服疫苗等)。同时, 针对旱、涝、盐碱、低温等恶劣自然环境, 培育各类抗逆作物。

此外重组根瘤菌、重组联合固氮菌, 抗病杀虫重组微生物的开发和应用也取得了明显的成效。

四、克隆动物及转基因动物

动物体细胞克隆技术的发展为生产蛋白质类药物、器官移植、挽救珍稀濒危动物以及培育优良品种等奠定了基础。最近, Wilmut 等用山羊胚胎的核转入去核未受精的卵母细胞, 产生了克隆动物——Dolly 羊, 成为科学上的重大突破, 并在多种动物中得到重复。

转基因动物的成功引导了一种新型制药工业, 即利用转基因山羊、绵羊和乳牛的乳汁来生产治疗人类疾病的蛋白类药物。转基因动物发展的另一动向是克隆修饰的猪, 为人体器官移植提供外源器官, 以缓解临床上对人体器官的迫切需求。

体细胞克隆山羊在我国的上海市转基因研究中心及陕西的中国杨凌克隆动物基地都获得了成功。

五、细胞工程和组织工程

多年来我国植物组织培养和细胞工程研究在国际上是领先的。我国学者通过花药和花粉单细胞培养培育出烟草、水稻、小麦、大麦、油菜、甘蔗等作物的新品种、新品系, 种植面积逾 100 万公顷。脱病毒快速繁殖的主要作物有香蕉、马铃薯、甘蔗、木薯、香草兰、草莓、柑橘、苹果、葡萄、花卉和观赏植物。紫草、三七等植物细胞已可在发酵罐中大量培养。我国的传统中药涉及 5 000 种左右植物, 细胞培养是中药资源开发的一个重要方面。

我国学者在动物细胞工程方面也作出了重要贡献。例如亲缘关系远近不同的鱼类可进行各种核质组合, 在变种间、属间及科间都获得了具有独特性状的

核质重组鱼。

动物发育工程中另一重大进展是干细胞株的建立，这已成为国际上研究的热点。干细胞是指未充分分化、但具有再生为各种组织器官和个体潜在功能的细胞。血液干细胞能够分化、生成整个血液系统，用造血干细胞移植来治疗白血病和一些遗传血液病，是医学界正在探索的课题。最近，以色列科学家首次从胚胎干细胞培养出人类心脏组织，它可以正常跳动，并且有新生心脏组织的电特性和机械特性。波兰科学家用脐血干细胞成功地培育出了脑细胞，有可能被用于帕金森病、脑震荡等疾病的治疗和脑部损伤的修复。美国科学家最近成功地将胚胎干细胞分化成人类骨髓中的造血先驱细胞，并进一步培养成红血球、白血球和血小板。这些结果预示着人类有可能获得取之不尽的血源。我国科学家已成功地将干细胞体外培养成胃和肠黏膜组织，这是继利用干细胞原位培养皮肤组织全能修复之后，人类再生组织器官方面的又一重大成果。

六、环境生物工程

我国是环境污染较严重的国家，环境生物工程在防治各种污染中将起重要作用。众所周知，油轮海上倾油可引起大面积海域污染，国外虽采用“超级细菌”（含有多个降解烃类的质粒）进行海面浮油处理，但其效果尚有待改进。化学农药对土壤的污染虽可用具专一性降解能力的特种细菌处理，但作用也甚缓慢。相对而言，较为先进的方法是采用可被降解的生物农药。此外，河流、湖泊水域的污染防治、酸雨危害以及城市垃圾的处理等，也都是亟待解决的问题。

七、酶工程

酶工程是现代生物技术的重要组成部分，其特点是利用酶、含酶细胞器或细胞（微生物、植物、动物）作为生物催化剂来完成某些重要的化学反应。应用范围包括医药、食品、化学工业，诊断分析和生物传感器等。涉及的品种不少，诸如糖化酶、淀粉酶、洗涤用酶以及与 β -内酰胺抗生素生产有关的青霉素酰化酶、7-ACA酰化酶等，其市场需求、生产规模和产值均很可观，并已产生巨大的经济效益。随着酶的大量应用，各种酶反应器和固定化技术应运而生，更进一步地推动了酶工程的发展。

当代酶工程发展的趋势之一是寻找耐极端条件的酶，如耐高温、耐酸碱、耐盐等。这些酶存在于嗜高温、嗜酸碱、嗜高盐的细菌中。近年来对这些细菌的研究进展迅速，这将为酶工业提供源源不断的新型酶类。

八、新型能源和清洁能源的开拓

随着化石能源逐年减少，再生能源的研制开发已备受国际关注。虽然我国石油和煤炭储量丰富，但从长远考虑，还需对这一课题予以重视。展望未来，新型能源，特别是清洁能源的开发很有必要。

氢气是无污染的清洁能源，燃烧后不产生二氧化碳、硫、氮氧化物等有害物质，国外的燃氢汽车已研制成功。产氢的微生物甚多，值得重视的是光合细

菌，该菌可利用工业废水产氢，同时具有农用肥效的作用。

巴西和美国是燃料乙醇生产技术和商业应用比较成熟的国家。作物秸秆、废报纸等生物材料是生产再生能源的最廉价原料，所生产的燃料乙醇成本可低到每加仑 1.10 美元，虽然仍高于每加仑 0.80~0.90 美元的汽油批发价，但随着技术的改进，生产成本将会逐步降低。

九、新型生物传感器的研制

要研制新型生物传感器，需要新型的酶和生物材料，这些酶需能耐高温、酸、碱或低温。已发现的这类特殊生物材料有嗜盐细菌的紫膜，这是一种光敏材料，可转化光子为 ATP。另一个例子是磁细菌细胞中的微小磁石 (Fe_3O_4)，对细胞起导航作用。当代正竞相研制 DNA 芯片，以色列学者已用其建成简单的计算机。

生物传感器应用范围广泛，包括临床检测、免疫反应、反应罐过程检测、环保毒物检测等，不胜枚举。

十、生化工程

包括发酵工艺、过程检测与控制、反应模型建立、反应器的设计 and 应用，以及包括产品提取纯化、包装在内的下游加工工艺等方面，这是生物技术产业化的最后重要过程。

本丛书以应用生物技术为主，包括必要的基础知识和前景展望。丛书包括 15 个分册，即基因工程、蛋白质工程、酶工程、生物信息学、植物细胞工程、动物细胞工程、微生物工程、生物制药技术、高级生物传感器、环境生物工程、农业生物工程、糖生物工程、生物技术与疾病诊断——兼论基因治疗、组织工程、生物工程下游技术。

每册均由工作在第一线的专家撰写，概要阐述了国内外生物技术的进展和趋势。期望本丛书的出版能够对推动我国生物技术的研究开发及产业化作出微薄的贡献。

编者衷心寄语青年朋友，认识生物技术的光辉前景，祝愿你们以聪明才智为我国的生物技术作出创新贡献。

焦瑞身 肖士学

2002 年 1 月

序 言

自 20 世纪 70 年代人类成功地实现了外源基因在大肠杆菌中的克隆和表达至 2001 年人类基因组工作草图的问世,这一领域的发展可谓是“日新月异,突飞猛进”。在短短 30 多年内生物技术的长足进步和一系列举世瞩目的成果的获得,不仅使我们对生物技术的认知有了很大的提高,而且大大地促进了生物技术相关产业的发展,其中,以生物技术为主要支撑的生物技术制药产业的发展尤为显著。现在,我们不但能通过传统的微生物发酵获得对人类的健康十分重要的抗生素和药用蛋白质等药品,并且还能通过基因克隆的方法获得一些原先的技术难以获得的昂贵药品。生物制药也不仅仅局限于大规模的工业化生产,一些转基因的牛和羊正在逐渐成为生产药用蛋白质的“工厂”。我们有理由相信,随着生物技术的不断进步,必将推动生物技术制药产业的飞速发展,21 世纪将是生物技术制药大展宏图的时代。

本书涵盖了微生物制药、生物转化制药、细胞培养制药、转基因制药、单克隆抗体制药、海洋生物制药、微生物发酵调控、产物的分离纯化及微生物菌种选育等生物技术制药领域的热门话题,既介绍了传统的微生物制药技术,也阐述了现代生物技术制药的一些新进展和微生物菌种选育的一些新技术,并附有详细的参考文献,是从事生物技术制药的科研工作者、大专院校师生的有益参考书。

愿我们以此书为良师益友,在汲取前人经验和技术的基础上,不断地总结和创新,共同把生物技术制药提高到一个新水平。

中国工程院院士

2003 年 12 月 5 日

前 言

《生物制药技术》作为《现代生物技术丛书》中的一册，经过近三年的努力，终于完稿了。

在编纂该书时，深感现代生物技术在日新月异、突飞猛进地发展着。以基因组学、功能基因组学、蛋白质组学为主要代表的现代生物技术领域的每一项新进展、新成果，均有力地促进了药学科学的发展和更新，并促进了制药工业技术水平的不断进步。各个与药学相关的学科，如微生物学、生物化学、有机化学、分子生物学、药理学、细胞生物学、药物化学、计算机科学等学科交叉已经并将衍生出一些新的学科增长点，同时也催生出越来越多、越来越完善的生物制药新技术、新方法。这些都将对我国的生物制药行业带来深远的影响。因此，本书的作者们力尽所能地把这些生物制药新技术和新方法收集、整理，撰写成此书，力求以完美的方式奉献给读者，以便为从事生物制药领域研究的广大科技工作者和大专院校的师生提供一本内容多样性的参考书。

本书共由十章组成，包括当代生物制药技术的方法与进展、微生物制药、生物转化与药物合成、转基因制药、抗体工程制药、细胞培养技术制药、海洋生物制药、新型发酵技术、生物制药的分离纯化技术和制药工业微生物的分子育种技术。涵盖了从常规的微生物制药技术到最近代的动物反应器、从陆地生物到海洋生物、从菌种的发现和发酵到应用分子育种技术对菌种的改良及产物的分离纯化、从小分子化合物到蛋白质和抗体等各个领域，内容翔实，信息量大。在素材的选取方面，力求新颖实用，突出生物制药的技术进步和发展趋势。

本书的完稿，凝聚了十余位作者的努力和心血，是集体智慧的结晶，如北京大学的茹炳根教授、中国人民解放军第二军医大学的焦炳华教授、复旦大学的史济平教授、上海交通大学的赵凤生教授等。全体作者在承担着繁重的教学、科研等任务的同时，尽心尽力地完成了所负责的章节编撰。尤其需要说明的是，上海医药工业研究院朱春宝研究员为本书的顺利脱稿做了许多具体的十分有意义的工作，在此，我一并表示由衷的感谢！

在本书的编撰过程中亦多次得到《现代生物技术丛书》编委会主任焦瑞身先生的指教，中国科学院上海生物工程研究中心杨胜利院士为本书作了序言，在此深表谢意！

生物制药这一领域可谓博大精深，限于编者的学识水平，难免会有错误和遗漏之处，恳请广大读者指正。

朱宝泉

2004年1月6日

目 录

第一章 当代生物制药技术的方法与进展	1
第一节 药物筛选模型改进、高通量筛选与虚拟筛选.....	1
第二节 从微生物、海洋中开拓药物的新来源.....	2
第三节 组合生物合成与表面展示技术.....	3
第四节 生物芯片技术.....	4
第五节 微生物基因组.....	5
第六节 生物手性合成技术.....	6
参考文献.....	8
第二章 微生物制药	9
第一节 微生物药物.....	11
一、抗细菌抗生素.....	11
二、抗真菌抗生素.....	23
三、抗肿瘤抗生素.....	34
四、抗病毒抗生素.....	40
五、生物农药.....	45
六、微生物产生的酶抑制剂.....	51
七、免疫调节剂.....	56
八、微生物来源的受体拮抗剂.....	63
第二节 核酸、核苷和核苷酸类药物.....	68
一、制备核酸类药物的微生物方法.....	68
二、核酸类药物的生物合成途径.....	71
三、核苷酸生物合成的控制机理.....	74
四、代谢控制发酵和育种.....	75
五、辅酶 A 的生物合成.....	79
第三节 药用氨基酸.....	81
一、氨基酸产生菌的选育.....	83
二、氨基酸生物合成途径的研究.....	86
三、代谢工程研究.....	89
四、应用代谢工程研究提高氨基酸产量.....	94
五、氨基酸的酶法生产.....	101
六、展望.....	105
第四节 微生物产生的其他药用产品.....	107
一、透明质酸.....	107
二、维生素及辅酶类.....	111
参考文献.....	118

第三章 新型发酵技术制药	122
第一节 微生物发酵技术制药的基础.....	122
一、微生物的种类及其营养需求.....	122
二、微生物的培养条件及其生长代谢调节规律.....	126
第二节 微生物发酵制药的技术.....	130
一、制药工业中的微生物和纯培养技术.....	130
二、微生物代谢调节的控制手段.....	133
第三节 微生物发酵罐与参数检测.....	136
一、微生物发酵的设备.....	136
二、微生物发酵参数的检测与控制.....	138
第四节 原位发酵和连续发酵.....	139
一、原位发酵.....	139
二、连续发酵.....	141
第五节 微生物发酵制药新技术.....	142
一、基因工程菌和高密度发酵.....	142
二、计算机控制最优化.....	144
参考文献.....	146
第四章 生物转化与药物合成	148
第一节 微生物(酶)转化与手性合成.....	148
一、基本概念.....	148
二、开发手性药物的意义.....	152
三、目前单一异构体药物的开发进展.....	153
四、生物转化与手性中间体制备.....	157
第二节 甾体药物的生物转化.....	162
一、生物降解边链与甾体药物制备.....	162
二、生物羟基化反应与甾体药物制备.....	165
三、生物脱氢反应与甾体药物制备.....	166
四、其他一些生物转化反应与甾体药物制备.....	167
第三节 生物转化与单一构型氨基酸的制备.....	168
一、生物转化与L型氨基酸制备.....	168
二、生物转化与D型氨基酸的制备.....	168
三、乙内酰胺酶的多样性.....	169
四、脱氨基甲酰酶的多样性.....	170
五、乙内酰胺酶和脱氨基甲酰酶的应用.....	172
第四节 D型泛酸盐的生物转化.....	172
第五节 不饱和脂肪酸的生物转化.....	175
一、花生四烯酸产生菌.....	175
二、脂肪酸转化过程中所涉及的酶.....	176
第六节 氧化葡萄糖酸菌与维生素C和 α -葡萄糖苷酶抑制剂米格列醇的生物转化.....	177
一、糖尿病与米格列醇.....	177

二、氧化葡萄糖酸菌及其酶的应用	178
三、氧化葡萄糖酸菌转化米格列醇的主要方法	180
第七节 生物转化与 R-(+) 硫辛酸的制备	181
一、R-(+) 硫辛酸制备简介	181
二、用于 Baeyer-villiger 反应的单加氧酶	182
三、微生物 Baeyer-villiger 转化方法	182
第八节 其他一些重要品种的生物转化	183
一、生物转化与青霉素和头孢菌素母核及有关产品的制备	183
二、生物转化 HMG-CoA 还原酶抑制剂普伐他汀的制备	184
三、生物转化与其他一些药物的制备	184
第九节 新生物转化系统的研究和应用	185
一、双水相系统的生物转化	185
二、细胞和酶的固定化	194
三、其他一些生物转化系统	201
参考文献	203
第五章 转基因制药	206
第一节 转基因动物制药	206
一、概述	206
二、转基因动物的操作原理与方法	208
三、转基因动物反应器的当前进展	219
第二节 植物医药基因工程	222
一、原理与方法	222
二、研究进展	226
三、问题与对策	231
四、展望	237
参考文献	238
第六章 抗体工程制药	240
第一节 抗体分子和相关的免疫学问题	240
第二节 多克隆抗体	243
一、多克隆抗体的制备	243
二、多克隆抗体的纯化	245
三、多克隆抗体的质量检测	246
第三节 单克隆抗体	246
一、单克隆抗体的制备	246
二、大鼠单克隆抗体的研制	251
三、人单克隆抗体的制备	252
第四节 基因工程抗体的研制	254
一、鼠单克隆抗体人源化	255
二、双特异性抗性	258
三、抗体融合蛋白	259

四、其他类型抗体	259
五、噬菌体展示技术和基因工程抗体	260
六、基因工程抗体的表达系统	263
第五节 抗体在生物医学中的应用	265
一、免疫诊断试剂	265
二、治疗性抗体药物的研究和开发	269
第六节 工程抗体的中试和产业化	271
一、不同表达系统的中试及产业化	271
二、工程抗体的中试和产业化	272
三、工程抗体的分离纯化	272
参考文献	274
第七章 细胞培养技术制药	277
第一节 哺乳动物细胞培养	277
一、哺乳动物细胞培养的营养和特性	278
二、哺乳动物细胞培养方法	279
三、细胞培养过程的检测	281
四、哺乳动物细胞大规模培养技术与应用	282
第二节 植物组织细胞培养	285
一、药用蛋白质的分子技术生产	285
二、植物组织细胞培养的营养与特性	287
三、植物组织细胞培养的方法	290
四、植物组织细胞培养过程的检测	296
五、植物细胞大规模培养技术与应用	298
第三节 昆虫细胞培养	304
一、昆虫细胞培养的营养与特性	305
二、昆虫细胞培养方法	305
三、昆虫细胞培养过程的检测	309
四、昆虫细胞培养技术与应用	310
参考文献	311
第八章 海洋生物制药	315
第一节 海洋微生物活性成分的研究及药物的开发	316
一、抗菌物质	316
二、抗肿瘤及抗病毒物质	321
三、抗心血管病化合物	322
四、其他活性物质	322
五、海洋微生物技术的其他应用	323
第二节 海洋动植物活性成分的研究及药物的开发	325
一、海藻类活性物质	325
二、海洋多孔动物活性物质	325
三、海洋腔肠动物活性物质	326

四、海洋软体动物活性物质	327
五、海洋棘皮动物活性物质	328
六、海洋脊索动物活性物质	329
第三节 海洋毒素研究及其应用	331
一、海洋生物毒素的生物来源	331
二、海洋生物毒素的化学结构	332
三、海洋生物毒素的作用机理或作用部位	332
四、海洋生物毒素的致毒方式和类型	333
五、海洋生物毒素在药物开发中的应用	333
第四节 海洋药物研究现状及我国在这一研究领域中的对策	334
一、国内外海洋药物研究现状	334
二、我国海洋药物研究现状	335
三、政策的支持及企业的参与	335
参考文献	335
第九章 生物制药的分离纯化技术	337
第一节 细胞及组织的破碎	337
一、机械法	338
二、化学处理法	338
三、物理处理法	339
四、酶解法	339
五、包含体的破碎	340
第二节 沉淀	341
一、盐析法	341
二、其他沉淀法	343
第三节 溶剂萃取	344
一、有机溶剂萃取	344
二、双水相分配	348
三、反胶束萃取	351
第四节 色谱分析	353
一、层析的基本原理	353
二、凝胶过滤层析	354
三、离子交换层析与吸附层析	359
四、亲和层析	361
五、疏水作用层析	363
参考文献	366
第十章 制药工业微生物的分子育种技术	368
第一节 传统突变筛选技术	368
第二节 基因克隆	371
一、原理和方法	371
二、基因克隆技术的应用	371

第三节 组合生物合成.....	375
一、组合生物合成的原理.....	375
二、芳香化聚酮类化合物合成的一些要素.....	376
三、组合生物合成的方法.....	377
四、组合生物合成的应用.....	377
第四节 定向进化.....	382
一、定向进化的原理和方法.....	382
二、DNA 改组的原理和方法	383
三、定向进化的应用.....	387
第五节 展望.....	391
参考文献.....	391
中西文名词对照.....	393

第一章 当代生物制药技术的方法与进展

20世纪中后叶，随着分子生物学（molecular biology）的诞生和发展，传统的医药工业和制药技术发生了革命性的变化。同时，以基因工程、细胞工程为主体的现代生物技术亦取得了突飞猛进的进展，开创了新的生物产业，其中生物医药产业的发展尤为迅速。进入21世纪，人们不再怀疑生物医药产业将是国民经济中主导性的产业之一。当代生物制药技术的不断发展为新的药物品种和药物生产提供了不少新方法、新工艺，也提高了医药工业的整体技术水平。

第一节 药物筛选模型改进、高通量筛选与虚拟筛选

一般筛选新药的过程是：首先，通过各种最佳筛选模型的设置来寻找先导化合物（leading compounds）；然后，对筛得的先导化合物进行较为系统的构效关系研究；最后，根据构效关系研究结果进行化合物分子修饰，直至获得较为理想的新化合物继而进行一系列新药临床前的研究和开发。在这一过程中，筛选模型的设计和使用对能否发现先导化合物是至关重要的。

传统的模型往往是整体细胞水平的，如直接以各种病原微生物为药靶进行抗感染药物的筛选，或以各种离体的肿瘤细胞株（cell lines）来进行抗肿瘤药物的筛选等。这些传统筛选模型随着岁月的流逝，越来越难筛选出新的先导化合物。

近年来，人类基因组测序获得成功，微生物基因组研究计划不断推进，人们发现了一批与疾病有关的基因，因而一批新的药物筛选靶点不断建立了起来；随着蛋白质组学（proteomics）研究的进展、克隆技术的日益完善，与许多重大疾病有关的酶和受体的高级三维结构和活性中心不断被揭示阐明，因此，可以较为便利地获取大量供筛选用的作为靶点的酶和受体的有效部位，为开展高通量筛选（high throughput screening, HTS）打下了扎实的基础。现在，在一些欧美发达国家的制药大公司中，通过高通量筛选技术每周筛选数以万计的样品已是十分普遍。而在一般传统的筛选过程中，每周仅能筛选数以百计的样品。高通量筛选技术的问世大大提高了发现新的先导化合物的效率。

为了更快更好地发现新先导化合物，借助于生物信息学（bioinformatics）这一新兴学科的发展，这几年虚拟筛选^[1,2]（virtual screening）技术得到了长足的进展，并且日益成为寻找新的先导化合物的重要手段之翘。生物信息学是一门应用信息科学、计算机科学、生物计算数学、比较生物学等观点和方法对生命现象及其组成的生物大分子（核酸、蛋白质等）进行研究的交叉学科。生物信息学以计算机为工具，以互联网为平台，对已发表的浩瀚的生物信息进行提取、存储、加工、比较和分析，不仅能理解已有的核酸、蛋白质等生物大分子的序列及其功能，而且能更好地着手研究新的基因和蛋白质序列与功能。生物信息学的兴起和迅速发展使原有的药物计算机辅助设计技术跃上了更高的台阶。随着组合化学^[3,4]（combinatorial chemistry）、组合生物合成^[5]（combinatorial biosynthesis）及各种新的天然来源（植物、微生物等）的化合物不断发现，世界范围的化合物库（chemical library）得以发展到拥有数以十万、百万计的化合物，而且它们的化学结构往往公开，信息可以共享。这为药

物虚拟筛选的开展奠定了基础。

值得进一步指出：与生物信息学一样起着支撑和推进药物筛选不断走向成熟的重要新兴学科是结构生物学 (structural biology)。它是从分子生物学和生物化学中分离发展起来的一门新兴学科。其主要方向是利用 X 射线衍射晶体学方法、多维核磁共振方法和电镜技术测定生物大分子的三维结构，为从原子和分子结构水平上研究生物大分子 (蛋白质、核酸和多糖等) 的结构和功能的关系、生物大分子与生物大分子之间以及生物大分子与生物小分子之间的相互作用奠定了基础。

因此，生物信息学和结构生物学的发展为虚拟药物筛选——计算机辅助药物设计的又一种重要策略和方法——提供了极其重要的条件。虚拟筛选是指利用各种计算方法 (这往往要动用每秒上亿万次运算速度的大型计算机)，以某一已设定的靶酶 (或靶受体) 活性部位的三维结构主要参数为依据，对化合物数据库进行定向“筛选”，在确定潜在的有效先导化合物后，再辅以进一步的体内、体外活性复筛，以确定此类先导化合物的取舍，为进一步的新药研究打下基础。虚拟筛选过程可以大大减少工作量和成本，有效加快新药发现的步伐，因此，受到了国内外许多科学家的重视，并正在不断取得新的进展。

第二节 从微生物、海洋中开拓药物的新来源

自 1928 年英国科学家 Fleming 发现青霉素的来源后，已公开报道了数以万计的从微生物中产生的抗生素及其他各种生理活性物质。人们普遍认为：仅靠传统的筛选模型和手段筛选获得的各种微生物往往是已经被人类所熟知的一些微生物种、属，很难发现新的微生物药物。因此，不断开辟各种新的来源，发掘研究各种生物的新的种、属已成为各国药学研究人员的共识^[6]。

就微生物而言，目前已被人类分离而且认识的微生物种类不会超过自然界天然存在的总量的 5%。如何更多地分离获得新的微生物种群是一项世界性的大课题。据统计，在已报道的微生物药物中，超过总数 60% 的产生菌属于放线菌科 (*Actinomycete*)，因此，如何不断发掘属于放线菌科的新的属、种，即分离研究“稀有放线菌” (rare actinomycetes)、“超级稀有放线菌” (ultra-rare actinomycetes) 已显得十分重要，近年来，世界上的少数著名制药公司均在这方面投入了巨大的财力和物力，以期有所新的发现。

人们要了解，在不同的生存环境下存在着不同的微生物种群。为了适应周围的生存环境，微生物在进化过程中就有可能形成与普通环境下微生物不同的体内代谢途径，因此，产生新的微生物药物的可能性就大为增加。目前，世界各国药学工作者对于生存在极端环境下的微生物种群给予了越来越多的重视。如南极、北极地区的微生物；火山口高温下生存的微生物；深海生存的微生物；太空中生存的微生物；与植物、动物共生或寄生的微生物等。对于陆地微生物而言，人烟稀少地区的微生物资源，因其很少受到人为污染而仍然受到人们的关注。

人们在千方百计分离寻找迄今尚未被分离得到的绝大多数微生物种群的同时，随着基因克隆技术、细胞培养、DNA 扩增等现代生物技术的不断发展，美国等一些研究机构正着手利用基因工程手段，把存在于土壤中目前还无法分离出来的土壤微生物的总 DNA 克隆到预先设定的宿主系统中，生成各种带有未知微生物 DNA 的“工程菌株”，然后再将这些“工程菌株”进行发酵、初筛、复筛等研究程序，以期发现新的微生物产生的新化合物。当然，进行这方面研究，必须在确保没有基因污染风险的前提下进行，尤其是对于获得的带有各种