



GAODENG XUEXIAO ZHUANYE JIAOCAI

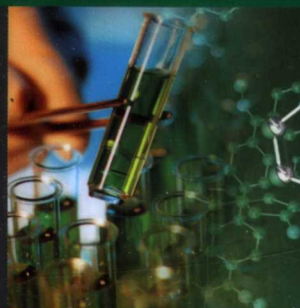
• 高等学校专业教材 •

[高等学校专业教材]

生物制药技术

郭勇 主编

BIOPHARMACY TECHNOLOGY



(第二版)



中国轻工业出版社

高等学校专业教材

生物制药技术

(第二版)

郭 勇 主编

 中国轻工业出版社

图书在版编目(CIP)数据

生物制药技术/郭勇主编. —2版. —北京:中国轻工业出版社,2007.1

高等学校专业教材

ISBN 7-5019-5623-5

I. 生... II. 郭... III. 生物制品:药物—制造—
高等学校—教材 IV. TQ464

中国版本图书馆CIP数据核字(2006)第112451号

责任编辑:江娟 李海燕 责任终审:滕炎福 封面设计:高建
版式设计:马金路 责任校对:李靖 责任监印:胡兵 张可

出版发行:中国轻工业出版社(北京东长安街6号,邮编:100740)

印刷:河北省高碑店市鑫昊印刷有限责任公司

经销:各地新华书店

版次:2007年1月第2版第1次印刷

开本:787×1092 1/16 印张:28.75

字数:658千字

书号:ISBN 7-5019-5623-5/Q·030

定价:45.00元

读者服务部邮购热线电话:010-65241695 85111729 传真:85111730

发行电话:010-85119817 65128898 传真:85113293

网址: <http://www.chlip.com.cn>

Email: club@chlip.com.cn

如发现图书残缺请直接与我社读者服务部联系调换

50822J4X101ZBW

内 容 简 介

本书是在 2000 年出版的《生物制药技术》第一版的基础上,根据国内外生物技术制药的最新进展和发展趋势修改补充而成。本书主要介绍生物制药技术的基本理论和基本技术,内容包括基因工程制药技术、细胞工程制药技术、酶工程制药技术、微生物发酵制药技术、动植物细胞培养制药技术和生物药物的分离纯化技术等。

本书可供高等院校生物制药、制药工程、生物工程、生物技术等专业的高年级学生作为教材使用,也可供有关的教学工作者、科学工作者和工程技术人员参考使用。

第二版前言

为了适应学科发展的需要,根据全国普通高等院校轻工食品类专业教学指导委员会生物工程专业教学指导小组的决定,来自华南理工大学、江南大学、天津科技大学的“生物制药技术”编写组成员在没有现成的教材可供参考、资料多而分散的情况下,克服重重困难,编写出《生物制药技术》新教材,并于2000年1月由中国轻工业出版社正式出版发行。本书第二版是在第一版的基础上,查阅国内外大量文献资料,根据生物制药技术的最新进展和发展趋势修改补充而成。

自从本书第一版出版以来,已在全国几十所高等院校作为专业教材使用,取得了良好的教学效果,得到好评。至今已经经过5年多的时间,在此期间,随着人类基因组计划的提前完成,作为21世纪的前沿学科,生物科学和生物技术以惊人的速度发展,而作为生物技术核心内容之一的生物制药技术更是有了长足的进步。为了更加全面、系统地反映生物制药技术的基本理论、基本技术及其最新进展和发展趋势,参编人员对第一版的内容进行了较大的修改和补充。

生物制药是利用生物体和各种生物技术手段进行药物生产的技术过程。其主要任务是通过各种技术生产获得疗效显著、副作用小、安全可靠、价格适宜的药物,为保障人民的身体健康服务。

生物制药技术的主要内容包括基因工程制药技术、细胞工程制药技术、酶工程制药技术、微生物发酵制药技术、动植物细胞培养制药技术和生物药物的提取分离纯化技术等。

希望本书第二版的出版能够更加全面、系统地反映生物制药技术的全貌,使读者能够更快更好地掌握生物制药技术的基本原理和基本方法,促进生物制药技术的进一步普及和提高,为人们的健康、科技的发展、经济的繁荣、社会的进步做出贡献。

本书由郭勇负责主编。全书共分为七章,其中第一章绪论由敖宗华编写,第二章基因工程制药技术由杨汝德编写,第三章细胞工程制药技术由王昌禄、王敏编写,第四章酶工程制药技术由郭勇编写,第五章微生物发酵制药技术由谭之磊、贾士儒编写,第六章动植物细胞培养制药技术由张毅编写,第七章生物药物的分离纯化技术由许贇荣编写。

在本书第二版的编写过程中,承蒙许多专家、学者的指导和帮助,在此表示衷心的感谢。

虽然本书第二版的内容有了较多的更新,但是由于生物制药技术发展很快,加上作者水平所限,不足之处诚请批评指正。

主编 郭 勇

2006年3月于广州

第一版前言

回顾 20 世纪,生物科学与生物技术的发展非常迅速,已从整体水平进入细胞和分子水平,在基础和应用研究中取得举世瞩目的成果。其中生物制药技术更是生物技术领域的一颗耀眼明星。自 1944 年青霉素液体深层发酵成功以来,随着生物科学和生物技术的发展,相继出现了微生物发酵制药、酶工程制药、基因工程制药、细胞工程制药、动植物细胞培养制药等前所未闻的新技术,初步形成了生物制药技术的学科体系。

展望 21 世纪,生物科学与生物技术的发展将进一步揭示生命的奥秘,在世界科技和经济发展中起主导和支柱作用。而作为生物技术核心内容之一的生物制药技术在保证和促进人类健康长寿方面将发挥巨大作用。

为了适应学科发展的需要,根据全国普通高等院校轻工食品类专业教学指导委员会生物工程教学指导小组会议决定,新编《生物制药技术》教材,供生物工程、制药工程、发酵工程和相关专业的研究生和本科高年级学生使用。

《生物制药技术》由郭勇负责主编,姚汝华教授担任主审。全书分为七章,其中第一章由陶文沂,第二章由杨汝德,第三章由王昌禄、王敏和路福平,第四章由郭勇,第五章由贾士儒、路福平,第六章由张毅,第七章由许赣荣负责编写。

在编写过程中,得到国家轻工业局、国家医药总局、华南理工大学、无锡轻工大学、天津轻工业学院及各有关单位领导的关怀和支持,保证了编写工作的顺利进行,并承蒙有关专家、教授的热情支持和帮助,提供了不少资料和宝贵意见,在此谨表衷心谢意。

本书中凡成分的含量(浓度)以%表示的,一般均指质量分数。

由于生物制药技术是一门正在飞速发展的新兴学科,没有现成的教材可供参考,资料多而分散,给编写带来不少困难。加上编者水平所限,不当之处,诚请批评指正。

主编 郭 勇

目 录

第一章 绪论	(1)
第一节 生物制药的概念和内容	(1)
第二节 生物药物的性质与分类	(2)
一、生物药物的性质及质量保证	(2)
二、生物药物的分类	(5)
第三节 新型生物药物研制的方法	(9)
一、新药研究和开发的主要过程	(9)
二、先导化合物的寻找	(10)
第四节 生物制药的发展历史和概况	(15)
一、生物制药的发展历史	(15)
二、生物制药的发展概况	(16)
第五节 生物制药的发展趋势	(23)
第六节 我国生物制药的发展状况	(28)
一、我国生物制药的研究现状	(28)
二、我国医药生物技术的战略对策及发展方向	(30)
第二章 基因工程制药技术	(32)
第一节 概述	(32)
一、基因工程制药发展态势	(32)
二、主要基因工程药物简介	(34)
三、基因工程技术的特点与步骤	(37)
第二节 基因工程制药中常用的工具酶	(38)
一、限制性核酸内切酶	(38)
二、DNA 连接酶	(41)
三、DNA 聚合酶	(43)
四、其他常用工具酶	(45)
第三节 基因工程制药中常用的克隆载体	(47)
一、质粒载体	(47)
二、 λ 噬菌体载体	(52)
三、黏粒载体	(56)
四、M13 噬菌体载体	(57)
五、病毒载体	(59)
第四节 基因工程药物目的基因的制取	(60)
一、目的基因的化学合成	(60)

二、构建基因文库法分离目的基因	(63)
三、酶促合成法制取目的基因	(65)
第五节 目的基因与克隆载体的体外重组	(71)
一、目的基因与质粒载体的连接	(71)
二、目的基因与 λ 噬菌体载体的连接	(75)
第六节 重组克隆载体引入受体细胞	(77)
一、受体细胞概述	(77)
二、重组体 DNA 分子的转化或转染	(79)
三、重组 λ 噬菌体 DNA 的体外包装与转导	(80)
四、重组克隆载体导入哺乳动物细胞的转染	(81)
第七节 目的重组克隆的筛选、鉴定与分析	(83)
一、含目的基因重组克隆的筛选	(83)
二、目的重组克隆的鉴定	(87)
三、重组 DNA 的序列分析	(89)
第八节 目的基因在宿主细胞中的表达	(91)
一、外源目的基因在原核细胞中的表达	(91)
二、目的基因在原核细胞中的表达形式	(94)
三、目的基因在原核细胞中的高效表达	(95)
四、外源目的基因在真核细胞中的表达	(95)
第九节 基因工程菌(细胞)的培养与发酵	(97)
一、基因工程细菌的培养与发酵	(98)
二、基因工程酵母菌的培养与发酵	(101)
三、基因工程细胞的培养与发酵	(104)
第三章 细胞工程制药技术	(106)
第一节 概述	(106)
第二节 细胞工程常用技术	(108)
一、细胞形态与结构的观察技术	(108)
二、细胞组分分析技术	(112)
三、细胞内含物观察技术	(112)
四、细胞化学定量分析技术	(113)
第三节 细胞融合技术	(113)
一、细胞融合技术的发展	(113)
二、细胞工程中遗传物质的转移途径	(116)
三、细胞融合方法	(117)
四、影响细胞融合的因素	(120)
五、细胞融合操作中的技术问题	(120)
六、杂种细胞的筛选原理及系统	(123)
七、杂种细胞有用性状的检测系统	(124)

八、控制杂种细胞遗传表现型的机制	(126)
九、微生物原生质体融合技术	(127)
十、植物原生质体的制备、培养、融合及转化技术	(134)
十一、动物细胞融合技术	(144)
第四节 杂交瘤技术与单克隆抗体	(145)
一、单克隆抗体	(145)
二、杂交瘤技术	(146)
三、杂交瘤细胞培养及单克隆抗体的生产	(158)
第五节 微生物转化生产甾体药物	(160)
一、微生物转化及其特点	(160)
二、甾体药物	(162)
三、甾体药物生物转化反应的类型	(163)
四、甾体药物的生物转化工艺	(167)
第四章 酶工程制药技术	(173)
第一节 概述	(173)
一、酶的催化特性	(174)
二、影响酶催化反应的主要因素	(175)
三、酶活力测定	(178)
四、酶的分类与命名	(179)
第二节 药用酶的生产技术	(182)
一、酶的生物合成及其调节	(183)
二、药用酶生产细胞的选择	(189)
三、药用酶生产工艺条件及其控制	(190)
四、提高药用酶产量的措施	(194)
五、药用酶的分子修饰	(197)
六、酶在疾病治疗和预防方面的应用	(208)
第三节 药物的酶法生产技术	(212)
一、酶的选择与反应条件的确定与控制	(212)
二、固定化酶及其在制药方面的应用	(214)
三、酶的非水相催化及其在制药方面的应用	(222)
四、酶在制药方面的应用	(233)
第五章 微生物发酵制药技术	(239)
第一节 概述	(239)
一、微生物发酵制药发展沿革	(239)
二、微生物发酵制药的研究范围	(240)
三、微生物发酵药物的分类	(241)
四、微生物发酵制药研究的发展趋势	(242)
第二节 制药微生物与产物的生物合成	(242)

一、制药微生物的选择	(242)
二、制药微生物菌种的选育	(243)
三、微生物菌种的保藏	(245)
四、微生物代谢产物的生物合成	(249)
五、微生物生物合成的主要调节机制	(256)
第三节 发酵工艺条件的确定	(262)
一、培养基及其制备	(262)
二、灭菌操作技术	(268)
三、发酵工艺条件的确定及主要控制参数	(270)
第四节 发酵过程及其优化控制	(285)
一、抗生素发酵生产	(285)
二、维生素及辅酶类药物的生产	(296)
三、蛋白质、多肽、氨基酸和核酸类药物	(298)
四、微生物生产的其他药物	(303)
第五节 微生物制药的质量控制	(311)
一、微生物制药质量控制的意义	(311)
二、微生物制药成品的主要检验项目	(312)
第六章 动、植物细胞培养制药技术	(316)
第一节 动物细胞培养制药技术	(316)
一、概述	(316)
二、动物细胞培养的特性	(323)
三、动物细胞培养基的组成与制备	(323)
四、细胞培养过程的检测	(330)
五、动物细胞培养方法与操作方式	(335)
六、动物细胞大规模培养系统	(340)
七、动物细胞大规模培养技术的应用	(345)
八、动物细胞培养制药工艺实例	(346)
第二节 植物细胞培养制药技术	(350)
一、植物细胞培养技术的研究进展	(350)
二、植物细胞培养的特性与营养	(354)
三、植物细胞培养的类型与技术	(361)
四、植物细胞培养的应用	(371)
第七章 生物药物的分离纯化技术	(380)
第一节 概述	(380)
第二节 预处理及固液分离技术	(384)
一、概述	(384)
二、直接从发酵液中提取产品	(385)
三、细胞破碎	(386)

四、离心	(387)
五、膜分离技术	(388)
六、膜分离技术的应用	(394)
第三节 沉淀	(397)
一、沉淀	(397)
二、盐析	(398)
三、有机溶剂沉淀	(399)
四、其他沉淀技术	(399)
五、亲和沉淀	(400)
六、沉淀的应用	(401)
第四节 萃取	(402)
一、概述	(402)
二、抗生素萃取操作的影响因素	(403)
三、萃取剂的选择	(403)
四、萃取方式	(404)
五、萃取技术的应用	(405)
六、脂类药物的提取和纯化	(406)
七、双水相萃取	(407)
八、反胶束提取纯化技术	(410)
九、超临界萃取技术	(413)
第五节 吸附	(415)
一、层析	(415)
二、离子交换技术	(418)
三、大网格聚合物吸附	(423)
四、凝胶过滤	(424)
第六节 亲和层析	(426)
一、概述	(426)
二、共价亲和层析	(427)
三、疏水层析	(428)
四、固定化金属离子亲和层析	(429)
五、免疫亲和层析	(430)
六、染料配体亲和层析	(431)
七、凝集素亲和层析	(432)
八、核酸类亲和层析	(432)
九、置换层析	(433)
十、色谱聚焦	(434)
十一、高压亲和层析	(435)
第七节 药用蛋白分离纯化策略	(435)

一、分离纯化需注意的问题	(435)
二、合理设计层析方案	(436)
三、蛋白质分离纯化方法的组合	(439)
第八节 新型层析分离纯化装置及介质	(441)
一、分离纯化装置	(441)
二、预装柱层析介质	(444)
主要参考文献	(446)

第一章 绪 论

第一节 生物制药的概念和内容

以基因工程、细胞工程、酶工程、发酵工程为代表的现代生物技术近 30 年来发展迅猛,并日益影响和改变着人们的生产和生活方式。目前,60% 以上的生物技术成果应用于医药工业,并不断在新药开发和传统医药生产改进上取得可喜的进展。生物技术的应用正逐渐使医药工业发生越来越深刻的变革。生物制药作为生物工程研究开发和应用中最活跃、进展最快的领域,被公认为是 21 世纪最有前途的产业之一。

生物制药是指利用生物体或生物过程生产药物的技术。生物制药技术是一门讲述生物药物,尤其是生物工程相关药物的研制原理、生产工艺及分离纯化技术的应用学科。生物制药技术是一门既古老又年轻的学科,人们利用生物药物治疗病有着悠久的历史。古代的中国在此方面曾创造了光辉的成就。现代生物制药是医学、生物化学、分子生物学、细胞生物学、有机化学和重组 DNA 技术、单克隆抗体技术等综合而形成的。近代抗生素的工业化生产是现代生物制药工业化的开端。特别是进入 20 世纪 50 年代,DNA 双螺旋结构的发现及随之而来的分子生物学的诞生、重组 DNA 技术的应用,不仅改造了生物制药的旧领域,而且还开创了许多新领域,给生物制药带来了变革性的影响。生物制药的研究内容按生物工程学科范围分为以下 4 类:

(1) 发酵工程制药 发酵工程制药是指利用微生物代谢过程生产药物的生物技术。此类药物有抗生素、维生素、氨基酸、核酸有关物质、有机酸、辅酶、酶抑制剂、激素、免疫调节物质以及其他生理活性物质。主要研究微生物菌种筛选和改良、发酵工艺的研究、产品后处理(分离纯化)等问题。当今重组 DNA 技术在微生物菌种改良中起着越来越重要的作用。

(2) 基因工程制药 基因工程制药是通过重组 DNA 技术将治疗疾病的蛋白质、肽类激素、酶、核酸和其他药物的基因转移至宿主细胞进行繁殖和表达,最终获得相应药物,包括蛋白质类生物大分子、初级代谢产物,如苯丙氨酸、丝氨酸以及次生代谢产物抗生素等。这些药物通常是一些人体内的活性因子,如干扰素、胰岛素、白细胞介素-2、EPO 等。主要研究相应基因的鉴定、克隆、基因载体的构建与导入、目的产物的表达及分离纯化等问题。自 20 世纪 70 年代初以来,基因工程药物发展十分迅速,基因治疗技术、基因制备技术、载体构建技术、宿主表达系统及细胞反应器均有较大的进步,基因工程药物前景广阔。

(3) 细胞工程制药 细胞工程制药是利用动、植物细胞培养生产药物的技术。利用动物细胞培养可生产人类生理活性因子、疫苗、单克隆抗体等产品;利用植物细胞培养可大量生产经济价值较高的植物有效成分,也可生产人活性因子、疫苗等重组 DNA 产品。现今重组 DNA 技术已用来构建能高效生产药物的动、植物细胞株系或构建能产生原植物

中没有的新结构化合物的植物细胞系。它主要研究动、植物细胞高产株系的筛选、培养条件的优化以及产物的分离纯化等问题。

(4) 酶工程制药 酶工程是现代生物技术的重要组成部分,酶工程制药是将酶或活细胞固定化后用于药品生产的技术。应用固定化的酶或细胞除了能全程合成药物分子,还能用于药物的转化。如我国成功地利用微生物两步转化法生产维生素 C。酶工程制药主要研究各种产药酶的来源、酶(或细胞)的固定化、酶反应器及相应的操作条件等。酶工程生产药物具有生产工艺结构简单紧凑、目的产物产量高、产品回收容易、回收效率高、可重复生产及污染少等优点。酶工程作为发酵工程的替代者,其应用具有广阔的前景,将导致整个发酵工业和化学合成工业的巨大变革。

第二节 生物药物的性质与分类

一、生物药物的性质及质量保证

(一) 生物药物的性质与特点

在人类文明进步的漫长历程中,生物药物的发现和使用也伴随着这一历程而发展。生物药物的使用越来越多,范围越来越宽。经人们长期使用后发现生物药物使用安全,毒性小。伴随着现代医疗理论的进步,开发出的人体生理活性因子,由于其源自人体自身,使用时毒性低、副作用小、疗效可靠。在药理学上,这类人体活性因子具有特异的治疗活性。另外,生物药物的有效成分在生物体中浓度很低,杂质含量相对较高。如胰腺中脱氧核糖核酸酶的含量为 0.004%,胰岛素的含量为 0.002%。大多数生物药物功能的发挥需要保持其特定的生理活性结构,故它们对酸碱、重金属、热等理化因素的变化较敏感。而且生物制药所用的材料大多含有丰富的营养成分,利于微生物生长,故易被微生物分解。另外,生产中搅拌力、金属器械及空气等也可能对活性产生影响。所以,在生产中必须全面严格控制,包括从原料选择和预处理、生产工艺、制剂成型、保藏、运输及使用各个环节。生物药物的性质包括:

(1) 在化学构成上,生物药物十分接近于人体内的正常生理性质,进入人体后也更容易为机体所吸收利用和参与人体的正常代谢与调节。

(2) 在药理上,生物药物具有更高的生化机制合理性和特异诊疗有效性。

(3) 在医疗上,生物药物具有药理活性高、针对性强、毒性低、副作用小、疗效可靠及营养价值高等特点。

(4) 生物药物的有效成分在生物材料中浓度很低,杂质的含量相对较高。

(5) 生物药物常常是一些生物大分子,它们不仅相对分子质量大,组成结构复杂,而且具有严格的空象以维持其特定的生理功能。

(6) 生物药物对热、酸、碱、重金属及 pH 变化都比较敏感,各种理化因素的变化易对生物活性产生影响。

生物药物的检测包括:相对分子量的测定;生物活性的检查;安全性的检查;效价测定;生化法确证结构。

特别需要提到的是利用重组 DNA 技术生产的药品,即新生物技术药品,或简称为生

物新药。生物新药是指将生物体内的生物活性物质的遗传基因分离出来,并通过大肠杆菌、酵母菌等宿主进行大量生产的药品(疫苗),如胰岛素、干扰素、白细胞介素-2等。生物新药具有以下一些特点:

(1) 成分复杂,大多是复杂的蛋白质混合物,不能简单地用其最终产品来鉴定,不像化学药品一样可对其成分进行精确的定性、定量分析。

(2) 不稳定,易变性,易失活。

(3) 易为微生物污染、破坏。

(4) 生产条件的变化对产品质量影响较大。导入的基因在宿主细胞中的转录、翻译及翻译产物在细胞内运送、储存或分泌的各个环节在工艺放大时,都有可能受到诸多因素的影响,产生或多或少的杂质。

(5) 用量少,价值高。

(二) 生物药物的质量控制

许多基因工程药物,特别是细胞因子药物都可参与人体机能的精细调节,在极微量的情况下就会产生显著的效应,任何性质或数量的偏差都可能贻误病情甚至造成严重危害。因此,对基因工程药物产品进行严格的质量控制就显得十分必要。

1. 原材料的质量控制

原材料的质量控制主要是对基因表达载体,如细菌、酵母、哺乳动物细胞和昆虫细胞的检查,以及使用它们时所制订的严格要求。①对表达载体所转入的产生编码基因应该对标准细胞库和生产细胞库进行全面的特性鉴定后方可使用,包括细胞库的来源、形式、储藏、稳定等。质量控制往往采用细胞学方法、表型鉴定、抗生素抗性检测、限制性内切酶图谱测定、序列分析与稳定性监控等方法。②应提供宿主细胞的资料,包括细胞株(系)名称、来源、传代历史、检定结果及基本生物学特性等;应详细说明载体引入宿主细胞的方法及载体在宿主细胞内的状态,是否整合到染色体内及拷贝数;应提供宿主和载体结合后的遗传稳定性资料。③应提供插入基因和表达载体两侧端控制区的核苷酸序列,所有与表达有关的序列均应详细叙述。同时要详细叙述在生产过程中,启动和控制克隆基因的宿主细胞中的表达所采用的方法和表达水平。

2. 培养过程的质量控制

基因工程产品的生产采用种子批(seedlot)系统。从已建立的原始细胞库(master cell bank)中,再进一步建立生产用细胞库(MWCB)。含表达载体的宿主细胞应经过克隆而建立原始细胞库。应详细叙述种子材料的来源、方式、保存和预计使用寿命。高等真核细胞用于生产时,细胞的鉴别标志应有详细报告。如采用微生物培养为种子,应叙述其特异表型特征。克隆基因的DNA序列一般应在基础种子阶段予以证实,但是在某些情况下,除了对总细胞DNA或相关mRNA序列的分析,还应特别注意对最终产品的特征鉴定。应提供证明种子批无传染性细菌、支原体、真菌、病毒、潜在致癌(必要时)和外源因子资料。对用于培养和诱导基因产物的材料和方法应有详细资料。培养周期结束时,应监测宿主细胞/载体系统特性。

3. 纯化工艺过程的质量控制

纯化方法的设计应考虑到尽量去除污染病毒、核酸、宿主细胞杂蛋白、糖及其他杂质以及纯化过程带入的有害物质。如用柱层析技术应提供所用填料的质量认证证明(ISO9001 证书),并证实从柱上不会掉下有害物质,上样前应清洗除去热原质等。若用亲和层析技术,例如单克隆抗体,应有检测可能污染此类外源性物质的方法,不应含有可测出的异种免疫球蛋白。关于纯度的要求可视产品的来源、用途、用法而确定。纯化工艺的每一步均应测定纯度,计算提纯倍数、收获率等。

4. 最终产品的质量控制

纯化的最终产品要根据纯化工艺过程、产品理化性质、生物学性质、用途等来确定质量控制项目,一般要考虑以下几方面:物理化学性质,生物学活性(比活性),纯度,杂质检测,安全试验。

(1) 蛋白质理化性质的鉴定 特异性鉴别、相对分子质量、等电点、肽图、吸收光谱、氨基酸组成分析、N 端氨基酸测序(15 个)、C 端氨基酸测序(3 个)、其他。

(2) 生物学活性(比活性)

① 生物学效价测定:效价测定必须采用国际上通用的方法,多肽或蛋白质药物的生物学活性是蛋白质药物的重要质控指标。蛋白质的生物学活性与其免疫学活性不一定相平行,因此,免疫学效价的测定不能替代生物学活性的测定。

② 比活性(UI/mg):比活性是每毫克蛋白质的生物学活性,这是重组蛋白质药物的一项重要指标。蛋白质的空间结构不能常规测定,而蛋白质空间结构的改变特别是二硫键的错配对可影响蛋白质的生物学活性,从而影响蛋白质药物的药效,比活性可间接地部分反映这一情况。

③ 生物学效价测定方法的特点:临床相关性;工艺相关性;测定方法较复杂;误差较大。

(3) 杂质检测 外源 DNA 测定;残余宿主细胞蛋白测定;残余鼠源型 IgG 含量测定;残余小牛血清测定;内毒素测定;生产和纯化过程中加入的其他物质测定。

(4) 安全性试验 无菌试验;热原试验;安全试验;水分测定。

5. 生物药物的检测方法

(1) 生物药物检测方法的特点 生物学活性是反映生物药物质量的重要指标;蛋白质多肽、核酸等具有结构多样性和可变性等特点,结构的细微变化将会影响药物的活性和质量;生物学测定的结果波动范围比较大,具有很大的可变性;生物药物质量标准特殊性一方面是由于生物学测定方法的变异性决定的,但其检定方法的验证也有其特殊性。

(2) 生物新药的鉴定方法 由于生物新药结构的特点(一般为生物大分子)及生产方式的特殊性,因此在生产工艺、结构研究及检测项目等方面的要求与化学药品有所不同。由于其相对分子质量一般为几千至几十万,所以很难用元素分析、红外、紫外、核磁共振、质谱等方法进行结构确证。另外,大分子的生化药品即使组成成分相同,也会因相对分子质量不同而产生不同的生理活性。即使相对分子质量相同,由于空间结构的改变也可使之失去生理活性,所以对生化药品的结构、组分的鉴定还要用生化分析方法加以确证。重组蛋白质药物产品常用的鉴定方法如下:

电泳方法: SDS - PAGE; 等电聚焦; 免疫电泳; 高效毛细管电泳法 (HPCE)。

免疫学分析方法: 放射免疫法 (RIA); 放射性免疫扩散法 (RID); 酶联免疫吸附法 (ELISA); 免疫印渍 (immunoblotting)。

其他: 受体结合试验 (receptor binding); 各种液相色谱法; 肽图分析法; Edman *N* - 末端序列分析法; 圆二色谱法 (CD); 核磁共振法 (NMR)。

(3) 生物药物特殊的检测方法

- ① 化学结合试验: 抗原抗体结合, 如残留菌体蛋白测定方法。
- ② 酶反应试验: 如重组链激酶活性测定溶圈法。
- ③ 体外细胞测定试验: 影响细胞生长或增殖的因子如细胞因子活性的测定。
- ④ 动物实验: 疫苗效力试验。

(4) 生物药物检测方法的验证要求 专属性 (selectivity/specificity); 线性 (linarly); 测定范围 (range); 准确性 (accuracy); 精密度 (precision); 检测限度 (limit of detection, LOD); 定量限度 (limit of quantitation, LOQ); 耐用性 (robustness/ruggedness); 系统适用性试验 (system suitability)。

现代生物药物生产过程中采用原位清洗/原位灭菌 (CIP/SIP) 系统以替代人工清洗、灭菌, 并将单元操作设备设计成可自动控制、自动监测的模块, 从而为稳定生产提供了设备保证, 最大程度地消除人为因素对产品质量的影响, 这也是现代生物技术产业的发展方向。

二、生物药物的分类

生物药物的分类既可按照其来源与生产方式分为生化药物、生物技术药物和生物制品, 又可按照其生理功能与临床用途分为治疗药物、预防药物、诊断药物和用作其他生物医药用品。但通常是按照生物药物的化学本质和化学特性来分类。由于生物药物结构多样, 功能广泛, 因此任何一种分类方法都会有一定的不完美之处。下面根据生物药物的化学本质和化学特性对生物药物进行了分类:

1. 氨基酸及其衍生物药物

氨基酸类药物使用量大, 全世界每年总产量已达到百万吨, 主要生产品种有谷氨酸、蛋氨酸、赖氨酸、天冬氨酸、精氨酸、半胱氨酸、苯丙氨酸、苏氨酸和色氨酸。其中谷氨酸产量最大, 占氨基酸总产量的 80%。氨基酸的使用可用单一氨基酸, 如用蛋氨酸防治肝炎、肝坏死和脂肪肝, 谷氨酸用于防治肝昏迷、神经衰弱和癫痫等; 也可用复方氨基酸作血浆代用品和向病人提供营养等。

2. 有机酸、醇酮类

用发酵法生产的有机酸有乙酸、葡萄糖酸、2 - 酮葡萄糖酸、5 - 酮葡萄糖酸、D - 异抗坏血酸、水杨酸、丙酮酸、丙酸、 α - 酮戊二酸、乳酸、柠檬酸、丁二酸、富马酸以及苹果酸等。

醇酮类有乙醇、丁醇、丙醇和甘油等。

3. 维生素

维生素 B₂、维生素 B₁₂、 α - 胡萝卜素和维生素 D 的前体麦角醇均可由发酵获得。维