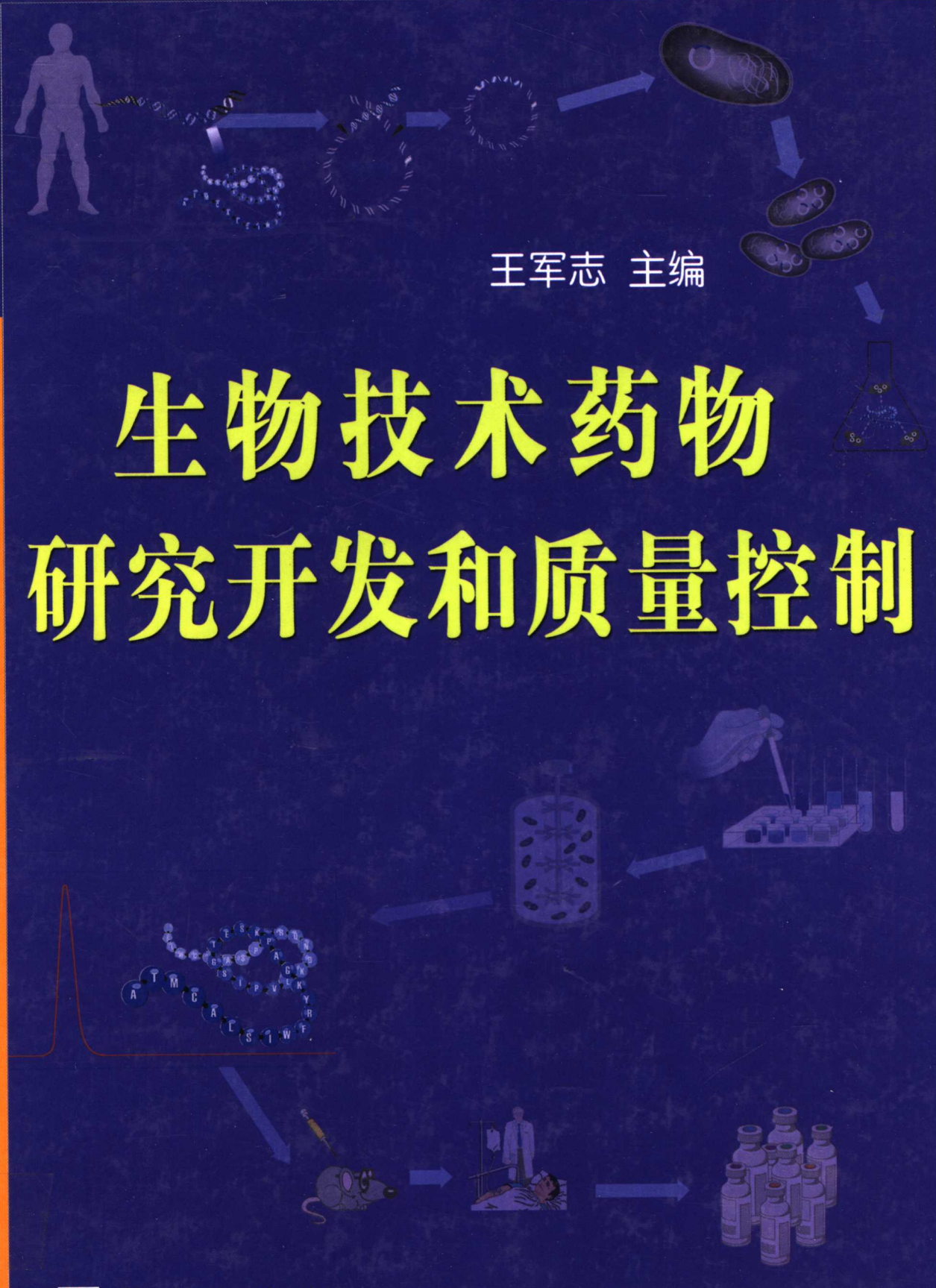




王军志 主编

生物技术药物 研究开发和质量控制



科学出版社

SCIENCE PRESS

生物技术药物研究开发 和质量控制

王军志 主编

科学出版社

2002

内 容 简 介

近10年来,我国的生物技术药物从无到有,取得了迅猛的发展。在生物技术药物研究开发过程中,工艺稳定性、质量标准、检定方法、安全评价、注册审评等方面是否科学规范达到相应的技术要求,是保证其顺利通过审评上市的关键。

本书共分上下两篇,上篇系统地介绍了生物技术药物的研制开发和非临床研究的全过程以及贯穿于全过程的质量控制要点和技术要求;下篇介绍了十四大类约100个品种的生物技术药物的理化特性和生物学功能,重点对质量标准和生物学活性测定等质控方法进行了阐述。本书反映了我国近10年来生物技术药物质量研究的成果,可作为广大从事生物技术药物研究开发的科研工作者、教师、学生、药品注册人员、质量检定人员等的参考书。

图书在版编目(CIP)数据

生物技术药物研究开发和质量控制/王军志主编.

-北京:科学出版社,2002.10

ISBN 7-03-010763-2

I. 生… II. 王… III. ①生物制品:药物-开发

②生物制品:药物-质量控制 IV. TQ464

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2002)第 063228 号

科学出版社 出版

北京东黄城根北街16号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

源海印刷厂 印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2002年10月第一版

开本:787×1092 1/16

2002年10月第一次印刷

印张:52 1/4 插页:1

印数:1-3 000

字数:1 230 000

定价:149.00元

(如有印装质量问题,我社负责调换〈杨中〉)



主 编 简 介

王军志，男，研究员。先后于1982年和1985年毕业于兰州医学院获得医学学士和医学硕士学位；1993年和1995年在日本国三重大学医学部获医学博士和完成博士后研究并兼任日本京都大学客座研究员。在日本留学期间对钙调蛋白拮抗剂（W-7）抗肿瘤转移的作用机制；鬼臼毒素与氮稳定的氮氧自由基结合衍生物抗肿瘤活性和机制；多种植物多糖的免疫调节作用以及NOD小鼠糖尿病发病分子机制等进行了研究。自1995年回国后在中国药品生物制品检定所从事生物技术产品质量控制和质量标准研究，曾担任生化室副主任、主任、所长助理，现任中国药品生物制品检定所副所长。主要研究领域为基因工程、基因治疗、反义核酸等生物技术药物的生物学活性及质量标准研究。

先后主持国家高技术发展计划等15项国家级、省部级有关生物技术目标产品质量研究的项目，以及北京市科委攻关项目“功能基因组筛选平台——基因工程药物筛选”。部分研究成果编入2000年版《中国生物制品规程》成为国家标准，并获得了北京市2000年科技进步二等奖。在国内外核心专业期刊上发表论文50余篇。2002年评为“有突出贡献的中青年专家”。负责中日友好合作GLP项目“国家药物安全评价监测中心”（国家1035工程重点项目）。现在指导硕士生9名，博士生2名。

社会兼职：国家药品监督管理局新药评审委员；国家药品监督管理局GMP检查员；第三届生物制品标准化委员会委员；《中国生物制品学杂志》编委；《药学报》编委；第四军医大学客座教授、博士生导师；北京生物工程学会理事。

《生物技术药物研究开发和质量控制》编著者

主编 王军志

编者 (按姓氏笔画排序)

尹红章	王佑春	王秀文	田野	白东亭
白坚石	纪宏	吴勇杰	张河战	张培培
张翊	李永红	李佐刚	李波	沈心亮
沈琦	陈杰	陈唯真	孟淑芳	岳秉飞
林建伟	贺争鸣	饶春明	袁佩娜	郭玮
高凯	常卫红			

序 一

1953 年 Watson 和 Crick 阐明 DNA 双螺旋结构是生命科学领域中的一项重大知识创新。20 世纪 70 年代初,限制性内切酶的发现和重组 DNA 技术的诞生加速了生物技术创新的脚步。由于技术创新,1982 年重组胰岛素投放市场,成为生物技术药物产业发展的开始。迄今已有 100 多种基因药物投放市场,对人类健康事业和经济发展做出了重大贡献。我国的生物技术药物在国家“863”计划支持下,自 1992 年第一个重组干扰素 $\alpha 1b$ 问世以来,目前我国已有 14 种重组药物和 3 种重组疫苗批准上市,打破了国外同类制品的垄断,奠定了我国现代生物技术药物产业的基础。

目前,人类和其他生命体基因组计划取得了重大突破,抗体工程、基因药物和疫苗、反义核酸、生物芯片、基因治疗、干细胞治疗等技术研究非常活跃,创新生物技术产品不断涌现。由于蛋白质、抗体等药物本身理化特性的复杂性,如何监控工艺的稳定性、产品的质量和安全,就显得特别重要。

本书的出版在这方面做出了巨大的贡献。本书共分上、下两篇,各 15 章。上篇系统地介绍了生物技术药物的研制开发和非临床研究的全过程以及贯穿于全过程的质量控制要点,下篇对 100 个品种的生物技术的理化特性和生物学特性进行了逐一介绍,资料丰富,内容广泛,切合实际,反映了我国十多年来在生物技术药物和疫苗质量研究方面的成果,是开发、申报新药的必读著作。本书的出版也必将对我国生物技术产业的发展产生巨大的推动作用。

中国工程院院士



2002 年 7 月于北京

序 二

2001年,人类基因草图序列测定顺利完成,预示着生物技术在21世纪将获得巨大的发展,并直接影响着人类生活的方方面面。随着功能基因组计划的启动,人们将不断发现具有生物学功能的新基因和功能蛋白,可望从中开发出具有更高特异性的治疗、诊断或预防作用的新药。

近10年来,我国生物技术医药产业以仿制为主,创仿结合,陆续已有十余种新生物技术药物上市,数十种产品正在申报或进行临床研究。同时建立了与国际接轨的基因工程药物质量控制体系,为保证产品质量打下了良好基础。在我国加入WTO后,研制和开发具有自主知识产权的生物技术药物是我们面临的艰巨而又紧迫的任务。在新生物技术药物产业化过程中,新药的注册申报与批准是一项新生物技术转化为一种新药的决定性的关键步骤,这里包括对申报资料的技术要求、质量标准和质控方法的研究及安全评价等,均直接关系到人民群众用药的安全有效,是保证新生物技术药物能否顺利上市的必要条件。

有关生物技术药物的文献、专著可谓浩如烟海,但本书根据新世纪生物技术药物发展趋势,反映我国近10年来在生物技术药物质量研究的成果,总结了我国生物技术制药在国家“863”高技术计划项目支持下在质量标准方面研究所取得的成绩,所介绍的质量标准与WHO和美国FDA基本相一致,为其显著之特点。

全书分上下两篇,共30章,内容新颖,信息量大,实用性强。上篇重点突出在新生物技术药物研究开发过程中,为保证目标产品的质量,对其工艺质量控制、质量标准、检定方法、实验动物、安全评价、申报注册等各方面的技术要求。下篇分类介绍基因工程药物、治疗用抗体、肿瘤疫苗与肿瘤诊断试剂、体细胞治疗和干细胞工程、基因治疗药物、基因工程病毒疫苗、基因工程细菌疫苗、微生物制剂、人血液代用品、基因芯片等内容。对每类产品的质量标准举实例说明,具有较强的参考价值。该书的出版将使我国从事生物技术药物开发研究申报单位更加明确生物技术新药开发的全过程及质量研究在新药开发中的重要性,以保证各类生物技术药物的安全有效与质量可控,我相信本书可以在加快我国新生物技术药物产业化进程中发挥重要作用。

中国工程院院士



2002年8月于北京

前 言

自 1982 年第一个基因工程产品——人胰岛素投入市场,生物技术药物发展已经 20 年了,据权威机构预测,2002 年全世界生物技术药物的销售额将超过 300 亿美元,生物技术药物将有很大的发展空间。我国的生物技术药物在国家“863”计划支持下,1992 年第一个基因工程药物干扰素 $\alpha 1b$ 上市,之后取得了迅猛的发展,目前我国已有 14 种基因工程药物、3 种基因工程疫苗批准上市,打破了国外同类制品的垄断,另外有几十种生物技术药物进入临床试验阶段。据不完全统计,我国从事生物技术药物的各类研发公司已达到千余家。

随着科学技术的不断进步,人类基因组计划的完成,后基因组计划开始了对基因功能的深入研究,新兴生物技术领域将有重大突破。除了新的基因重组蛋白的研究以外,抗体工程药物、基因工程疫苗、肿瘤疫苗、反义核酸药物、基因芯片技术应用、基因治疗、干细胞治疗等技术的应用研究日趋活跃。由于生物技术药物研究历史短,本身理化特性复杂,关于质量标准文献少,所以在开发过程中,工艺稳定性、质量标准、检定方法、安全评价、注册审评等方面是否规范科学并达到相应的技术要求,是保证新药顺利通过审评上市的关键因素。

本书共分上下两篇,各 15 章,均由在第一线从事生物技术药物质量研究和检定工作的中青年专家撰写。上篇系统地介绍了生物技术药物的研制开发和非临床研究的全过程以及贯穿于全过程的质量控制要点和技术要求,包括基因工程药物的上游和中试研究、生物技术药物的质量控制及其标准品的研制、检测方法验证、新药审评和申报的基本要求、对某些生物技术产品的病毒清除的验证、生物技术药物的药代动力学及安全性评价特点、对实验动物的要求、生物技术药物生产 GMP 和安全性评价 GLP 要求,并简要介绍了质量研究相关仪器设备和生物安全问题。下篇对十四大类约 100 个品种的生物技术的理化特性和生物学特性进行了介绍,在此基础上比较详细地介绍已进入申报临床研究阶段的产品质量标准和质控方法,并对每一类产品的应用前景做了展望,其中包括基因工程细胞因子类药物、重组溶血栓类药物、重组激素类药物、重组肽类药物、血管生成抑制剂类药物、治疗用抗体、肿瘤疫苗与肿瘤诊断试剂、细胞治疗与干细胞工程、基因治疗药物、基因工程病毒疫苗、基因工程细菌疫苗、微生态制剂、人血液代用品、基因芯片等。

本书作为国家“十五”、“863”高技术计划项目任务之一,反映了我国近 10 年来在国家“863”高技术计划项目和其他各种课题的支持下,在生物技术药物和疫苗质量研究中的成果,所介绍质量标准方面的内容与 WHO 和美国 FDA 等发达国家的质量标准基本相一致。立足现在已批准上市的和正在研发中的项目,介绍不同专题领域产品的发展现状、理化性质、生物学功能、临床前景、质量标准及生物学测定方法。目的是为广大从事生物技术研发的单位和人员提供一本比较系统全面的参考书,帮助他们在研究开发中,规范研究程序,重视质量标准研究,以保证新药的安全有效与质量可控,从而缩短注册周期,早日实现产业化并发挥应有的经济效益和社会效益。

本书适用于生物制药相关领域(包括企业、科研院所、研发机构)的生产工艺部门技术人员、质量保证和质量检定人员、从事生物技术药物安全评价研究人员、药品注册管理的技术人员、新生物技术药物注册申报人员及各药检部门从事生物技术药物质量检定人员,也可作为大专院校从事生物工程开发研究的教师、研究生、技术人员的参考书。

由于生物技术药物发展非常迅速,新内容不断增加,虽然编者尽最大努力,但难免仍有反映不到之处,敬请读者原谅并提出宝贵意见。

本书由于全体编者所贡献的智慧和劳动得以出版,在编写过程中非常荣幸得到侯云德院士和桑国卫院士的指导和鼓励,他们在百忙之中为本书欣然命序,谨代表全体编者深表敬意。本人自1995年8月从日本归国以来,在从事生物技术药物的质量研究工作中得到了中国药品生物制品检定所周海均、李德富、周国安、李成明、丁锡申等老领导的指导帮助,生化室刘长暖、韩春梅、刘兰、田登安、丁有学、郭莹等同志在日常工作中的支持;另外,孙玉芳、王飞志老师承担了大量相关日文文献的翻译工作,在此一并表示衷心的感谢。

王军志

2002年仲夏于北京

目 录

上篇	1
第1章 生物技术药物发展现状	3
第1节 生物技术药物的开发和应用	4
一、生物技术药物关键技术的发展	4
二、生物技术药物应用现状	8
第2节 国外生物技术药物研究开发现状	11
一、美国生物技术药物研究开发现状	11
二、日本生物技术制药发展现状	42
三、欧洲国家生物技术制药发展现状	49
四、古巴生物技术制药发展现状	49
第3节 我国生物技术药物研究开发现状	50
一、基因工程药物	50
二、基因工程抗体	51
三、核酸药物与基因治疗	52
四、干细胞与组织工程	53
五、基因工程疫苗	55
第4节 面对新的国际形势中国生物技术药物发展战略	60
一、我国生物技术药物发展的成功经验和存在的问题	60
二、面对挑战应采取的战略对策	62
第5节 我国生物技术药物研究开发和注册的程序	64
第2章 基因工程药物的上游及中试研究	67
第1节 基因工程药物的上游研究	67
一、目的基因的获得和功能研究	67
二、目的基因研究的相关检测及鉴定	71
三、表达载体的构建和筛选	71
第2节 基因工程药物的中试研究	75
一、中试研究的概念及原则	75
二、发酵、纯化、复性等工艺研究	76
三、建立质控方法并形成完善的质控标准	80
四、中试样品复核检定的基本要求	82
第3章 生物技术药物质量控制	85
第1节 概述	85
一、生物技术药物分类及质量标准研究依据和现状	85

二、国外生物技术药物质量标准的制定要求	88
第2节 生物技术药物产品的质量控制	91
一、生物学活性测定和比活性	92
二、蛋白质纯度检查	99
三、蛋白质含量测定	101
四、蛋白质物理化学性质的鉴定	105
五、蛋白质的二硫键分析	111
六、对糖蛋白的特殊要求	111
七、残余杂质检测	113
八、安全性及其他检测项目	116
九、生物技术药物待测样品保存	118
第3节 其他类型生物技术药物的质量控制问题	118
一、单克隆抗体	118
二、基因药物	119
三、基因工程疫苗	120
四、特殊剂型的蛋白质药物	120
五、聚乙二醇化蛋白质和多肽药物	121
六、合成多肽类药物	123
七、小结	124
第4章 生物技术药物检测方法的验证	128
第1节 生物技术药物检测方法的特点和种类	128
一、生物技术药物及其检测方法的特点	128
二、生物技术药物检测方法的来源	128
三、生物技术药物特殊的检测方法	129
第2节 生物技术药物检测方法的验证要求	129
一、方法的专属性	129
二、线性	130
三、测定范围	131
四、准确性	131
五、精密度	132
六、检测限度	133
七、定量限度	133
八、耐用性	134
九、系统适用性试验	134
十、生物测定的特殊性	135
第3节 生物技术药物生物学活性测定方法的验证	135
一、生物学活性测定方法验证应考虑的几个问题	135
二、采用96孔板测定生物学活性方法的验证	136

第5章 生物技术药物标准物质的研究方法	139
第1节 关于药品标准物质的概述	140
一、药品标准物质的历史	140
二、药品标准物质的必备条件	142
第2节 生物标准物质的研究	143
一、生物标准品效价的表示方法	143
二、建立生物标准物质的必要性	144
三、国际生物标准物质的分类与制备情况介绍	144
第3节 生物学效价测定用国家标准物质制备	154
一、生物标准物质原料的选择	154
二、生物标准物质的分装熔封	155
第4节 基因工程药物标准品的质量要求	156
一、原料检定	156
二、成品检定	156
三、标准品制备基本要求	157
四、协作研究与协作标定	158
五、稳定性试验和保管要求	163
六、rhTNF- α 国家标准品的研究实例	163
第5节 新生物技术药物开发研究中工作标准品的制备	165
第6章 生物技术药物申报资料的要求	167
第1节 生物技术药物注册资料的技术要求(药学部分)	167
一、上游研究工作总结	167
二、生产工艺研究资料	169
三、制剂研究资料	169
四、表达产物结构确证资料	170
五、中试产品质量研究资料	171
六、中试产品制造和检定记录	172
七、制造和检定规程草案及起草说明	173
八、稳定性研究资料	173
第2节 新药受理中形式审查的要求及相关问题	174
一、新药受理中形式审查的意义	174
二、我国现行新药注册流程	175
三、新药受理的形式审查的基本要求	175
四、申报技术资料形式审查中常见问题	177
五、关于做好申报资料的建议	178
第7章 生物技术药物的生物安全性问题	180
第1节 概述	180
一、转基因生物安全性问题的由来	180

二、各国政府和国际社会对生物安全的认识和行动	182
第2节 医药生物技术及其产品的安全性问题及评价	183
一、实验室重组 DNA 试验隐含的生物危害	184
二、基因工程工业化生产的潜在危害	187
三、重组活疫苗的安全性问题	189
四、质粒 DNA 疫苗的安全性问题	189
五、基因治疗的生物安全性问题	190
六、人类细胞,组织与细胞、组织来源产品安全性问题	191
第3节 医药生物技术产品潜在危险的预防措施	192
一、重组 DNA 试验的安全控制措施	193
二、DNA 疫苗质量保证指南	194
三、基因治疗考虑要点	195
四、FDA 对人类细胞,组织及细胞、组织来源产品的安全管理	196
五、国际医药生物技术及其产品安全管理法规和技术指南	198
六、我国医药生物技术及其产品安全管理法规和技术指南	200
第4节 展望和建议	200
附1 基因工程安全管理办法	202
附2 有关生物安全的部分重要网址	206
第8章 生物技术药物生产 GMP 要求	207
第1节 概述	207
第2节 药品 GMP 的形成与发展	207
第3节 生物技术药物生产质量管理规范的基本内容	209
一、总则	209
二、机构与人员	209
三、厂房与设施	210
四、设备	214
五、物料	215
六、卫生	217
七、验证	218
八、文件	222
九、生产管理	223
十、质量管理	225
十一、产品销售与收回	227
十二、投诉与不良反应报告	227
十三、自检	228
十四、附则	228
十五、药品生产质量管理规范附录	229
第4节 药品 GMP 认证管理办法	233

一、认证申请	233
二、资料审查与现场检查	233
三、审批与发证	233
四、监督管理	234
第 5 节 药品 GMP 认证工作程序	234
一、职责与权限	234
二、认证申请和资料审查	234
三、制定现场检查方案	234
四、现场检查	235
五、审核与批准	235
第 9 章 生物技术药物病毒清除灭活及其验证	237
第 1 节 概述	237
第 2 节 潜在的病毒污染源与病毒污染的预防	238
一、潜在的病毒污染源	238
二、病毒污染的预防	239
第 3 节 灭活与清除病毒的方法	242
一、灭活与清除病毒方法的选择及考虑	242
二、常用的去除/灭活病毒的方法	244
第 4 节 去除与灭活病毒效果的验证	248
一、去除与灭活病毒验证病毒的选择	249
二、去除与灭活病毒效果验证试验的设计	250
三、关于去除与灭活病毒验证的说明	252
四、病毒清除研究的局限性	254
五、病毒清除研究的统计学分析	255
六、去除与灭活病毒方法的再验证	256
第 5 节 病毒检测方法及应用	256
附 1 精制人白细胞干扰素低 pH 法和低温酸乙醇法灭活水疱性口炎病毒效果验证报告	259
附 2 精制人白细胞干扰素低 pH 法和低温酸乙醇法灭活 SINDBIS 病毒效果验证报告	260
第 10 章 生物技术药物安全性评价及 GLP 规范	262
第 1 节 前言	262
一、GLP 的发展历史	262
二、GLP 的制定过程	263
三、发达国家 GLP 的发展及相互承认协议	264
四、中国 GLP 的发展过程	264
第 2 节 GLP 的概要	265
一、GLP 试验范围	265
二、规范的概要	265
三、GLP 制定的目的	267

第3节 国际药品注册协调组织(生物技术药物安全性实验指导原则).....	269
一、简介	269
二、生物技术药物的安全性试验指导原则	269
第4节 生物技术药物安全性评价方案及试验要求.....	275
一、概要	275
二、一般性要求	275
三、安全性试验要求	275
第11章 生物技术药物的安全性评价	278
第1节 蛋白和多肽类药物的安全性评价要求及特点	279
一、主要研究目的	279
二、对受试品的要求	279
三、一般原则	280
四、各项试验	282
第2节 基因治疗的安全性评价要求及特点	287
一、研究目的	287
二、临床前研究实验设计的一般问题	288
三、动物种属的选择和替代动物的使用	288
四、体细胞和基因修饰的细胞治疗	289
五、载体直接导入	290
六、申报资料尚应涉及的内容	293
第12章 生物技术药物的药代动力学研究	295
第1节 前言	295
一、药代动力学研究的目的和意义	295
二、生物技术药物的药代动力学特点	295
第2节 生物技术药物药代动力学研究的方法学	295
一、放射性核素标记示踪法	296
二、免疫分析法	297
三、生物检定法	298
第3节 实验设计中的基本技术要求	298
第4节 研究报告的内容要求	299
第5节 生物技术药物评价中毒代动力学的研究方法	300
一、概要	300
二、毒代动力学研究的目的和主要参数	300
三、毒代动力学研究中实验设计的一般原则	301
第13章 国内外生物技术药物注册中委托研究机构的作用	305
第1节 委托研究机构的功能	305
一、什么是委托研究机构	305
二、为什么需要委托研究机构	305

三、委托研究机构的发展历史	306
四、委托研究机构的资源构成	307
五、委托研究机构在生物技术药物注册中的作用	308
第2节 委托研究机构的主要服务内容	309
一、药物临床研究咨询、策划与监督	309
二、承担非临床实验	309
三、承担部分研究工作	309
四、制备临床用药	309
五、新药研究方案和申报文件咨询	310
六、注册代理	310
七、其他	310
第3节 CRO 发展趋势和面临的挑战	310
一、CRO 的发展趋势	310
二、CRO 所面临的挑战	311
三、我国 CRO 的发展机遇	311
第14章 实验动物质量及动物源性药物外源病毒的检测	313
第1节 实验动物的质量控制	313
一、实验动物的质量标准	313
二、影响实验动物的生物因素及其控制	321
三、影响实验动物的环境因素及其控制	323
第2节 动物源性药物中外源病毒的检测	325
一、实验动物在药物生产中的应用	325
二、动物源性药物的安全性	329
三、动物源性药物中病毒污染的检测技术	330
四、动物源性药物的质量管理	334
第15章 生物技术药物质量研究相关仪器设备	337
第1节 高效液相色谱仪	337
一、色谱柱	337
二、检测器	339
三、柱温箱	342
第2节 电泳及相关设备	344
一、毛细管电泳仪	344
二、双向凝胶电泳仪	347
第3节 氨基酸序列测定仪	348
一、N 末端氨基酸序列测定仪	348
二、C 末端肽段分馏仪	349
第4节 质谱仪	350
第5节 聚合酶链反应技术与相关仪器	353

第6节 流式细胞仪	355
第7节 用于蛋白质结构分析的部分仪器	356
一、紫外-可见差光谱	356
二、圆二色谱仪	357
三、傅里叶红外光谱仪与激光拉曼光谱仪	357
下篇	359
第16章 基因工程细胞因子类药物	361
第1节 白细胞介素	361
一、白细胞介素-1	361
二、白细胞介素-2	365
三、白细胞介素-3	371
四、白细胞介素-4	374
五、白细胞介素-5	380
六、白细胞介素-6	385
七、白细胞介素-7	389
八、白细胞介素-8	393
九、白细胞介素-9	397
十、白细胞介素-10	400
十一、白细胞介素-11	402
十二、白细胞介素-12	408
十三、白细胞介素-13	411
十四、白细胞介素-14	413
十五、白细胞介素-15	415
十六、白细胞介素-16	420
十七、白细胞介素-17	422
十八、白细胞介素-18	424
十九、其他白细胞介素	426
第2节 干扰素	427
一、IFN 的定义与分类	427
二、 α 干扰素	428
三、 β 干扰素	433
四、 γ 干扰素	435
第3节 肿瘤坏死因子	437
一、肿瘤坏死因子- α	437
二、肿瘤坏死因子- β	441
第4节 造血生长因子	443
一、粒细胞集落刺激因子	443
二、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子	448