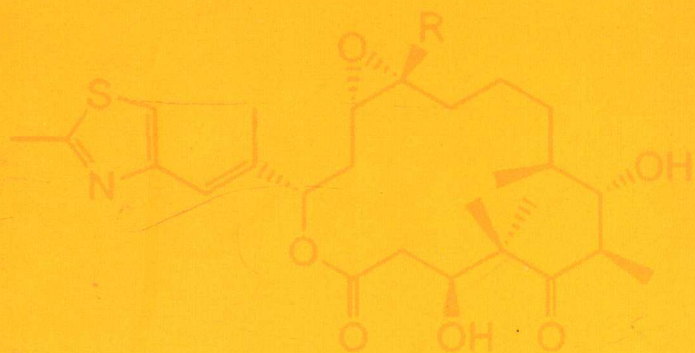




全国工程专业学位研究生教育国家级规划教材



赵广荣 主编

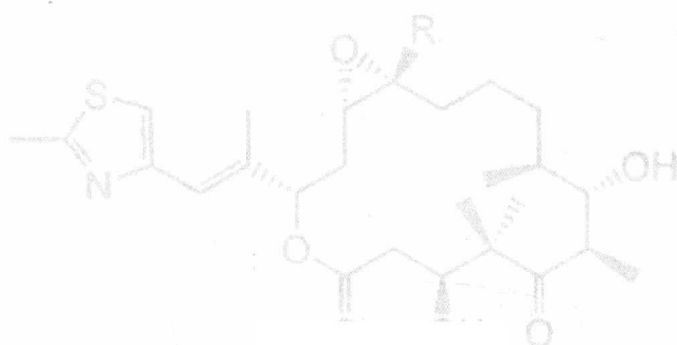
现代制药工艺学

Current Pharmaceutical Technology

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

清华大学出版社

全国工程专业学位研究生教育国家级规划教材



赵广荣 主编

现代制药工艺学

Current Pharmaceutical Technology

清华大学出版社
北京

内 容 简 介

制药工艺是把药物产品化的技术过程,是现代医药行业的关键技术领域。本教材在合成生物学制药、酶工程制药、先进化学制药等领域进行全面阐述。合成生物学制药包括工程生物系统、生物元器件的设计与表征、合成与组装等的基本原理和实践过程等,并以代谢途径工程为例,进行新途径的创建和工艺优化,以基因组工程为例进行底盘细胞设计和构建。酶工程制药包括固定化、手性药物的合成与拆分。先进化学制药包括固相化学合成多肽和核酸类药物的原理与技术、流动化学技术、手性记忆技术、仿生合成技术和串联反应与多组分反应等原理及其制药应用。

本教材把制药理论与企业生产实际密切联系起来,反映了现代医药行业的发展方向,体现了生物制药和化学制药领域的发展前沿。应用参考价值高,适用范围广,是全国工程专业学位研究生教育指导委员会推荐的制药工程领域教材,也适合生物工程、发酵工程、生物化工等专业的研究生选用,并可作为医药科研、生产等单位科技人员参考书。

版权所有,侵权必究。侵权举报电话:010-62782989 13701121933

图书在版编目(CIP)数据

现代制药工艺学/赵广荣主编.--北京:清华大学出版社,2015

全国工程专业学位研究生教育国家级规划教材

ISBN 978-7-302-38423-6

I. ①现… II. ①赵… III. ①制药工业—工艺学—研究生—教材 IV. ①TQ460.1

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2014)第 252857 号

责任编辑:柳 萍

封面设计:何凤霞

责任校对:刘玉霞

责任印制:李红英

出版发行:清华大学出版社

网 址: <http://www.tup.com.cn>, <http://www.wqbook.com>

地 址:北京清华大学学研大厦 A 座 邮 编:100084

社 总 机:010-62770175 邮 购:010-62786544

投稿与读者服务:010-62776969, c-service@tup.tsinghua.edu.cn

质 量 反 馈:010-62772015, zhiliang@tup.tsinghua.edu.cn

印 刷 者:北京富博印刷有限公司

装 订 者:北京市密云县京文制本装订厂

经 销:全国新华书店

开 本:185mm×260mm 印 张:19.75 字 数:476千字

版 次:2015年2月第1版 印 次:2015年2月第1次印刷

印 数:1~2000

定 价:48.00元

产品编号:054124-01

前言

制药工程是适应现代医药行业的需求而产生的一个新的交叉学科,是由化学工程、生命科学、药学和相关管理法规相互渗透而形成的,但不是这些学科的简单集合。制药工程是一门工程技术科学,研究化学或生物反应及分离、混合等单元操作,探索化学制药、中药制药、生物制药等领域的共性知识和普遍规律,发展新药创制的基本原理,实现药品“安全、有效、稳定、可控”的规模化生产和过程的规范化管理,达到药品质量与制药过程效率(drug quality with process efficiency, DQPE)的统一。

在 20 世纪后期,随着制药业的快速发展,西方发达国家和日本等先后设置制药工程学科并开展研究生教育。1995 年,受美国科学基金会的资助,在制药工业最集中的州,新泽西州立大学 Rutgers 分校(State University of New Jersey, Rutgers)诞生了第一个全美范围内的制药工程研究生教育计划。随后密歇根大学、加州大学分校、哥伦比亚大学、新泽西技术学院相继设置制药工程学科,开展制药工程研究生教育。除美国外,加拿大蒙特利尔 Ecole 多技术学院、英国 Leeds 大学和 Manchester 大学、德国、日本和印度等国家的高校也已设置了该学科,制定了相应的教育计划,并开展制药工程学科的研究生教育。

20 世纪 90 年代以来,制药科学技术及其行业的快速发展极大地驱动了对制药工程人才的需求。为适应我国医药行业发展对新型专业高层次工程技术人才的迫切需求,1998 年国务院学位办设立了制药工程领域工程硕士学位,主要面向制药生产企业与管理部门的在职工作人员。2009 年教育部决定,招收全日制制药工程领域专业学位研究生,将工程硕士的培养由在职扩展到在校,是对工程教育的一次重大改革。据不完全统计,目前全国约有 50 余家制药工程领域工程硕士培养单位。

天津大学从 1999 年招生培养制药工程专业本科生,从 2000 年开始培养制药工程领域在职工程硕士,2004 年开始招生培养制药工程工学硕士和博士,2009 年招生培养全日制制药工程领域工程硕士。在多年工程硕士教学的基础上,于 2004 年编写出版了《现代制药工艺学》,此后一直作为工程硕士和工学硕士研究生的教学参考用书。《现代制药工艺学》已经过 10 年的使用,其间毕业的制药工程专业工程硕士生 700 余名。近几年,国家把制药作为新兴战略产业,启动了重大新药创制专项,同时“973”计划、“863”计划、国家支撑计划都有相关支持,我国科研投入大幅度增加,对制药工程高层次人才培养提出了更高要求。特别是进入 21 世纪,基因组测序的大发展和合成生物学的出现,为制药工艺的创新研究提供了全新视角。为了适应新形势下制药工程人才的培养,满足医药行业和制药企业对人才科研素质的要求,我们对《现代制药工艺学》教材的结构和内容进行了改版,和本科生的《制药工艺学》课程密切衔接,形成新版教材。本教材包括生物技术制药和化学制药两部分。

在生物技术制药工艺部分,按照合成生物学的研究思路,进行内容的设计与组织编写,包括第1章至第7章。第1章合成生物学(天津大学赵广荣编写),介绍合成生物学的概念及发展。第2章制药的工程生物系统(天津大学赵广荣编写),介绍大肠杆菌、谷氨酸棒杆菌、链霉菌、酵母等微生物表达系统、植物和动物表达系统的特点及其制药应用。第3章生物元器件的设计与表征(天津大学赵广荣编写),介绍基因转录与蛋白质翻译装置、启动子与终止子、5'非翻译区和目标基因的设计与功能表征。第4章生物元器件的合成与组装(天津大学赵广荣编写),介绍PCR及其离体组装技术、基于连接酶的离体组装技术、同源重组的体内组装技术。第5章代谢途径工程制药(天津大学赵广荣编写),介绍莽草酸途径、聚酮途径、萜类途径的创建及其制药工艺的优化。第6章基因组工程制药(天津大学赵广荣编写),介绍了基因组编辑技术、合成基因组和最小基因组。第7章生物酶催化制药(浙江工业大学王普编写),介绍固定化酶、手性合成和拆分制药。

化学制药部分,以先进的化学制药技术为前导,进行多肽、核酸、肽核酸和天然产物的化学合成制药,包括第8章和第9章。第8章固相化学合成制药(武汉大学唐初、周海兵编写),介绍合成多肽和核酸类药物的原理与技术。第9章化学药物合成新技术(武汉大学廖宗权、周海兵编写),介绍流动化学、手性记忆、仿生合成和串联反应与多组分反应等原理及其制药应用。

新版《现代制药工艺学》教材的特色在于:①以生物制药和化学制药技术为主体,充分体现每个知识领域及其核心知识点,符合目前我国制药行业的技术现状,具有较强的适用性;②以制药新技术、新方法为教材的主体内容,以工艺原理与实践过程为主线,具有较强的先进性。③将国内外最新科研成果融入教材,与国际学术前沿接轨,是一本内容和风格新颖的硕士生教材,适合制药工程高级复合型人才的培养。

制药工艺学的国内外进展很快,特别是新技术和新方法层出不穷。虽然编者进行了大量详细的取材和精心编写工作,但由于时间紧迫,加之编者自身的业务水平,缺点和错误在所难免,望读者在使用中提出宝贵的批评和建议。

编者

2014年11月

目 录

第 1 章 合成生物学	1
1.1 概述	1
1.1.1 合成生物学概念	1
1.1.2 合成生物学基础	1
1.2 合成生物的元器件	3
1.2.1 基因元件	3
1.2.2 生物元器件文库	4
1.3 合成生物学的发展	4
1.3.1 合成生物学发展的主要事件	4
1.3.2 合成生物学的主要研究内容	5
1.3.3 合成生物学的学术活动	6
本章小结	7
主要参考文献	7
第 2 章 制药的工程生物系统	8
2.1 大肠杆菌表达系统	8
2.1.1 大肠杆菌的生物学特性	8
2.1.2 常用蛋白质表达底盘菌株	9
2.1.3 大肠杆菌的表达载体	10
2.1.4 大肠杆菌表达系统的应用	14
2.2 谷氨酸棒杆菌表达系统	15
2.2.1 谷氨酸棒杆菌的生物学特性	15
2.2.2 谷氨酸棒杆菌的表达载体	16
2.2.3 谷氨酸棒杆菌表达系统的应用	17
2.3 链霉菌表达系统	17
2.3.1 链霉菌的生物学特性	17
2.3.2 链霉菌的表达载体	18
2.3.3 链霉菌表达系统的应用	19
2.4 酵母表达系统	20
2.4.1 酵母的生物学特性	20
2.4.2 酵母的表达载体	21

2.4.3	酵母表达系统的应用	22
2.5	植物表达系统	23
2.5.1	植物细胞的特点	23
2.5.2	植物表达载体结构	23
2.5.3	植物表达系统的应用	25
2.6	动物表达系统	25
2.6.1	制药动物细胞系	25
2.6.2	动物表达载体	25
2.6.3	动物表达系统的应用	26
	本章小结	27
	主要参考文献	29
第3章	生物元器件的设计与表征	31
3.1	基因转录装置与蛋白质翻译装置	31
3.1.1	基因转录装置	31
3.1.2	翻译装置	34
3.2	RNA 聚合酶的设计与表征	36
3.2.1	T7 RNA 聚合酶的正交转录设计	36
3.2.2	T7 RNA 聚合酶的合理使用	38
3.2.3	全局转录装置工程	39
3.2.4	RNA 聚合酶的表征	41
3.3	启动子与终止子的设计与表征	41
3.3.1	启动子的组织结构	42
3.3.2	启动子的设计	48
3.3.3	启动子的表征	50
3.3.4	终止子设计与表征	52
3.4	核糖体结合位点和核糖体开关设计与表征	54
3.4.1	核糖体结合位点的设计与表征	54
3.4.2	核糖体开关的设计	55
3.4.3	核糖体工程	56
3.5	密码子的选择与目标基因设计	57
3.5.1	基因组的密码子选择	57
3.5.2	基因组的密码子使用	62
3.5.3	目标基因的序列设计	63
3.5.4	目标基因表达优化	66
3.5.5	包含体的解决策略	69
	本章小结	71
	主要参考文献	72
第4章	生物元器件的合成与组装	76
4.1	DNA 的化学合成	76

4.1.1	DNA 的构建单元	76
4.1.2	DNA 的化学合成后处理	78
4.1.3	DNA 的溶解和保存	79
4.2	PCR 与 DNA 组装	79
4.2.1	PCR	79
4.2.2	PCA	84
4.2.3	重叠延伸 PCR 组装	85
4.3	基于连接酶的离体组装	85
4.3.1	常规酶切与连接组装	86
4.3.2	同尾酶切与连接酶组装	90
4.4	同源重组工程组装	92
4.4.1	位点特异性重组组装	93
4.4.2	大肠杆菌细胞内同源重组组装	93
4.4.3	酵母细胞内同源重组组装	95
	本章小结	97
	主要参考文献	98
第 5 章	代谢途径工程制药	100
5.1	莽草酸途径工程	100
5.1.1	莽草酸的生物合成途径	100
5.1.2	酪氨酸的途径工程	102
5.1.3	苯丙氨酸及其衍生物途径工程	106
5.2	聚酮药物途径工程	106
5.2.1	聚酮生物合成途径	107
5.2.2	链霉菌合成聚酮类药物	116
5.2.3	大肠杆菌合成 I 型聚酮	120
5.2.4	大肠杆菌合成 II 型聚酮	125
5.2.5	大肠杆菌合成 III 型聚酮	126
5.3	萜类药物途径工程	130
5.3.1	萜类药物的生物合成途径	130
5.3.2	萜类药物的生物合成	132
5.3.3	酵母合成氢化可的松	135
5.3.4	微生物合成紫杉二烯	136
5.3.5	大肠杆菌合成青蒿二烯	137
5.3.6	酿酒酵母合成青蒿酸	140
	本章小结	142
	主要参考文献	143
第 6 章	基因组工程制药	146
6.1	基因组编辑技术	146
6.1.1	多重自动化基因组工程	146

6.1.2	接合组装基因组工程	147
6.1.3	动物细胞基因组编辑技术	148
6.2	合成基因组	150
6.2.1	合成基因组的设计	150
6.2.2	合成疫苗	151
6.2.3	合成细菌基因组	154
6.2.4	合成细菌	156
6.2.5	合成酿酒酵母基因组	157
6.3	最小基因组工厂	160
6.3.1	最小基因组工厂的概念	160
6.3.2	最小基因组细菌	161
6.3.3	最小基因组链霉菌	161
6.3.4	最小基因组酵母	162
	本章小结	162
	主要参考文献	163
第7章	生物酶催化制药	164
7.1	固定化酶制药	165
7.1.1	酶固定化技术的发展	165
7.1.2	固定化酶反应器及其特点	167
7.1.3	固定化酶制药实例	167
7.2	酶法拆分制药	171
7.2.1	脂肪酶手性拆分	171
7.2.2	环氧化物水解酶手性拆分	175
7.2.3	内酯水解酶手性拆分	176
7.2.4	脲水合酶手性拆分	177
7.3	酶法合成手性制药	178
7.3.1	不对称还原制备手性醇	178
7.3.2	不对称还原胺化制备药物中间体	185
7.3.3	腈类化合物的生物转化	187
7.3.4	他汀类药物关键中间体的酶法制备	188
7.4	酶催化合成 β -内酰胺抗生素	195
7.4.1	β -内酰胺类抗生素	195
7.4.2	青霉素酰化酶	196
7.4.3	头孢菌素C酰化酶	196
7.4.4	α -氨基酸酯水解酶	199
	本章小结	199
	主要参考文献	200
第8章	固相化学合成制药	203
8.1	固相化学合成技术的发展	203

8.1.1	固相合成的基本原理	203
8.1.2	过渡金属催化的应用	205
8.1.3	寡糖的合成与分混式合成	212
8.1.4	组合化学合成与天然产物合成	214
8.2	固相化学合成多肽	216
8.2.1	固相合成多肽的基本过程	217
8.2.2	C端氨基酸与功能性载体的键合	217
8.2.3	保护基	220
8.2.4	缩合剂	225
8.2.5	肽链的组装与释放	231
8.3	固相化学合成环肽	234
8.3.1	均环肽的合成	234
8.3.2	杂环肽的合成	240
8.3.3	影响环肽合成的因素	246
8.4	固相化学合成核酸	247
8.4.1	固相合成核酸的基本过程	248
8.4.2	载体与3'端羟基的键合	249
8.4.3	核酸的保护基	249
8.4.4	活化剂	257
8.4.5	肽核酸的合成	261
	本章小结	263
	主要参考文献	264
第9章	化学药物合成新技术	268
9.1	流动化学技术制药	268
9.1.1	流动化学原理	268
9.1.2	流动化学合成小分子药物	269
9.1.3	流动化学全合成天然产物	273
9.2	手性记忆技术制药	280
9.2.1	手性记忆的原理	280
9.2.2	手性记忆合成 α -取代氨基酸衍生物	282
9.2.3	手性记忆用于分子内的环化反应	283
9.2.4	手性记忆用于Aldol反应	284
9.2.5	手性记忆用于自由基反应	286
9.2.6	手性记忆用于重排反应	288
9.2.7	手性记忆用于全合成天然产物	290
9.3	仿生合成制药	290
9.3.1	仿生合成原理	290

9.3.2	仿生全合成 flinderoles	291
9.3.3	仿生合成长春氟宁	292
9.4	串联反应与多组分反应制药	294
9.4.1	串联反应	294
9.4.2	多组分反应	298
	本章小结	300
	主要参考文献	300

第 1 章

合成生物学

在 20 世纪末和 21 世纪初,先后出现了基因组、转录组、蛋白质组、代谢组、微生物组等高通量生物分析技术,这些成果为工程技术人员创造新世界提供了有力的生物元器件。随着生物大数据的积累,生物技术由单基因操作进入基因组设计和编写的合成生物学时代,在制药领域具有广阔应用前景。本章介绍合成生物学的研究内容和发展。

1.1 概 述

1.1.1 合成生物学概念

合成生物学(synthetic biology)是通过设计和构建人工生命,使之按照预定的程序和方式运行的学科。目前合成生物学的研究主要有两方面:一方面是对自然生物的人工改造,使之具有全新的功能;另一方面是对生物元件进行重新设计和组装,创造自然界不存在的生物。合成生物学的核心思想是,认为生物的所有元件都能化学合成,再通过工程化方式组装成特定功能的生物体。

合成生物的工程类似于计算机的组装(表 1-1)。可在不同层次上进行设计和合成,如病毒、细菌、酵母等微生物,功能高度分化的组织或器官等,甚至是高等生物。但合成生物不像组装计算机那样简单,因为生物的行为(表型)是遗传和环境相互作用的结果,外因环境直接影响内因遗传信息的表达,它们之间存在复杂的关系。更重要的是,任何一种生物都经历发生、发展和死亡过程,不同生命阶段的表型是动态变化的。

表 1-1 合成生物学与计算机工程的层阶比较

类型	元件	模块	器件	个体	局部	全局
计算机	电子元件	功能单元	芯片	单台	局域网	全球网
生物	生物元件	代谢途径	核酸/蛋白质合成装置、基因组	细胞	组织或器官	生物系统

1.1.2 合成生物学基础

合成生物学是生物学、化学、工学等融合的交叉学科,其发展与这些学科有密切联系。

1. 合成生物学与生物科学

生物学是研究生物发生与发育、感知与应答、遗传与变异规律的科学,其研究思路是逐阶层分解与分析,为合成生物学提供基础知识和模型。合成生物学可近似看成是逆向工程生物学,基于生物学知识,构建实用工程生物,其研究思路是逐阶层设计和集成。

20世纪60年代科学家基于大肠杆菌在双糖(葡萄糖和乳糖)培养基中表现出二次生长现象,发现了乳糖操纵子及其调控原理。大肠杆菌首先利用葡萄糖进行生长,在葡萄糖耗尽后,才转运和分解利用乳糖。该现象由乳糖操纵子控制,乳糖与阻遏蛋白 LacI 结合,使之从操纵基因 *lacO* 上解离, RNA 聚合酶结合到 *lac* 启动子上,转录乳糖操纵子(包括乳糖透过基因、半乳糖苷酶基因和激酶基因),启动了乳糖的代谢。各种操纵子调控机理为合成生物学中基因线路的设计提供了基本模型。

在20世纪90年代,完成了大肠杆菌和酵母等微生物的基因组测序,启动了人类基因组计划,促进了测序技术的突破和生物信息学的发展,出现了各种组学及其高通量分析技术。对于系统生物学,将在基因、蛋白质、代谢物等多维分子水平获得大量的细胞行为知识和建立细胞网络,为合成生物学奠定了基础。合成生物学构建的新生物系统,也可为生物学的定量分析和系统解析提供实验材料。

2. 合成生物学与化学

如果我们把基因组测序看成阅读和解码遗传信息的过程,那么合成生物学就是人工书写和编码过程,是测序的逆过程。合成生物需要原料(如基因元件)的高速合成,因此需要高效、保真、低成本的化学合成技术提供支持。

3. 合成生物学与工学

在合成生物学的研究过程中,与不同工程领域交叉,相关名词术语层出不穷。由于生物系统的复杂性,还没有完全了解系统内各组分的相互作用、相互依赖的关系。可采用标准化、解耦和抽提的工程策略,解决复杂生物系统的设计和合成问题。标准化是确立基本生物元件的方法、对生物功能的定义和特征描述。从系统生物学的角度,对基因组序列进行分析和归类有助于定义生物功能,这对计算生物学提出了更大的挑战。解耦是把复杂问题简单化的过程,把复杂生物表型分解成相互独立的简单组分(如基因、蛋白质或代谢物等),把设计和装配分开,以便完成设计后,能有效组装成系统。抽提是建立元件和模块的层阶,分开和限制各层阶之间的信息交流,隐藏生物信息和调控的复杂性,形成简化的再设计的元件和模块,建立可识别界面的元器件库。最后,将解耦的组分按抽提的层阶装配成具有特定功能的生物系统。

基因工程和 PCR 技术是生物分子工程的核心技术。合成生物学与它既有联系,也有区别。它们都以 DNA 为对象,需要核酸酶和连接酶、载体作为工具,进行重组、扩增和保存。基因工程只能在较小的范围内对自然生物进行简单改造,PCR 技术只能对较短 DNA 片段进行扩增和组装。构建表达人胰岛素的重组菌相对容易,但要构建青蒿素工程菌却很难。如果进行合成生物学的研究,把青蒿素合成途径解耦成数个功能模块,完成设计和密码子优化后,用寡核苷酸为原料并行组装,能较快构建代谢途径,较容易得到生产青蒿素的工程

生物。

把电信工程中的电路与分子遗传学交叉,形成了基因线路或遗传线路(genetic circuit)概念。基因线路是通过逻辑门关系,把不同功能的生物元件连接起来,行使特定功能。由于合成生物学的工程应用目的,把操纵子模型工程化,设计和构建了早期的基因线路。目前已经开发出了具有多种功能的基因线路,不仅可以控制单基因表达、细胞内信号转导,还可以控制生物群体的行为。

把建筑领域的砖(brick)引入合成生物学,出现了生物砖(biobrick),它是标准化的生物构建单元。把汽车制造领域的底盘(chassis)引入合成生物学,诞生了底盘生物(chassis organisms)或底盘细胞(chassis cells)概念。底盘细胞就是具有自我复制功能的最小细胞,能忠实运行精心设计的代谢途径,高效生产目标产物。它应该具有基因组最简、代谢效率最高、抗环境干扰能力最强、与外源途径最适配的特征。基因组最小化和合成基因组是实现底盘细胞的两种策略。

1.2 合成生物的元器件

按照组成生物的材料性质,生物元件可分为基因元件、蛋白质元件、膜元件和包被元件等。其中以基因元件研究最为广泛和深入,以下介绍基因元件。

1.2.1 基因元件

基因元件(genetic part)是具有某种特定生物学功能的 DNA 或 RNA,是设计和合成生物的基本单位。基因元件能应答特定的环境条件,能接收信号和输出,具有调节信息流、代谢和生物合成的功能。根据生物学功能,基因元件可以是生化反应的功能元件,包括编码一个生化反应酶的功能基因或编码一组生化反应酶的操纵子或功能基因簇。基因元件也可以是调控元件,包括 DNA 复制、基因转录、蛋白质翻译与修饰、功能酶反应等的调控基因,如复制子、启动子、阻遏子、诱导子、核糖体结合位点、转录终止子、翻译终止密码、酶切位点、选择标记等。从工程角度,这些基因元件可用不同图形编码显示,以便工程制图(表 1-2)。

表 1-2 部分基因元件及其对应的图形

元件名称	复制子	启动子	阻遏子	诱导子	核糖体结合位点	蛋白质编码区基因	转录终止子	翻译终止序列	酶切位点	选择标记
图形										
功能作用	载体的自主复制	开启功能基因的转录	阻止基因的转录	诱导基因的转录	开启蛋白质的翻译	决定细胞行为	mRNA 合成停止	蛋白质合成停止	生物元件标准化及组装	元件或载体在底盘细胞中稳定存在

1.2.2 生物元器件文库

生物元器件库就像菌种库一样,可根据使用目的,从文库中选择,这样将大大方便合成生物学的研究和推动学术的交流。从事合成生物学研究的机构已经建立了各种生物元器件文库。

1. 标准生物元件库

通过世界范围的国际遗传工程机器设计竞赛(International Genetically Engineered Machine Competition, iGEM),在美国麻省理工学院(MIT)收集每年参赛者贡献的生物元器件,建立了标准生物元件库(Registry of Standard Biological Parts)(<http://parts.igem.org>)。经过 10 年的收集,该文库的元器件以 BbA 为字头,容量已达到约 2 万个。

该元件库包括生物元件、生物器件和不同底盘库。按照生物学功能,生物元件可分为生物安全、生物合成、细胞通讯与群体效应、细胞凋亡、DNA 结合转移、细胞运动与趋化性、气味与传感、DNA 重组、病毒载体等。器件类型包括蛋白质合成(由启动子-核糖体结合位点-编码区-终止子组成)器件、报告蛋白器件、逻辑器件、信号接收与发送器件、检测器件等。

元器件的标准化信息主要包括元件名称、功能或特征描述、长度、贡献者等,也分类列出了经常使用和表征的元件。除了通用元器件外,还建立了大肠杆菌、酿酒酵母、噬菌体、芽孢杆菌、动物细胞、无细胞体系等不同底盘的元器件库。

2. 其他生物元件库

数据库 RegulonDB 中,大肠杆菌天然操纵基因中有 1000 余个启动子,及其他功能元件序列。数据库 BIOFAB(International Open Facility Advancing Biotechnology, <http://biofab.org/data>)有数千个人工合成并表征的启动子、核糖体结合位点等元件。天津大学生物信息学中心建有必需基因数据库(<http://tubic.tju.edu.cn/deg>),包括大肠杆菌、芽孢杆菌、结核杆菌等 31 种原核生物,人、小鼠、线虫、果蝇、酵母、拟南芥等 10 余种真核生物。

1.3 合成生物学的发展

早 1911 年 7 月 8 日的医学杂志《柳叶刀》上,就已出现了“合成生物学”一词。但伴随化学合成寡核苷酸成本的突破,系统生物学知识的积累,直到 2000 年以后,合成生物学才在学术刊物及互联网上逐渐大量出现。人们的注意力转向合成生物学这个领域,并得到了迅速发展。

1.3.1 合成生物学发展的主要事件

回顾合成生物学发展的简短历史,主要涉及基因线路设计、DNA 合成与组装、基因组编

辑与基因组合成等方面(表 1-3)。

表 1-3 合成生物学发展的主要事件举例

时间	基因线路设计	DNA 合成与组装	代谢途径工程	基因组编辑与合成
2000—2005	触发器开关线路, 自负反馈线路, 细胞群体通讯线路, 组合合成遗传网络, 细菌成像, 程序化配体控制的转录调控, 多细胞图案	DNA 合成子组装, 芯片合成 DNA, 合成 RNA 装置	大肠杆菌合成青蒿素前体, 酵母合成氢化可的松, 大肠杆菌合成埃博霉素	单链 DNA 重组工程, 合成脊髓灰质炎病毒, 合成 T7 噬菌体, 合成 X174 噬菌体
2006—2010	逻辑门的 RNA 装置, 鲁棒和稳定的张弛振荡器, 计数器, 程序化微生物杀死开关; 同步化的生物钟; 攻击癌细胞的工程细菌	BioBrick, Gateway 技术, Gibson 组装技术, USER 技术, SLIC 技术, 酵母细胞内一步组装	酵母合成青蒿素前体, 大肠杆菌合成紫杉醇前体, 大肠杆菌合成甘草素, 大肠杆菌合成 D-苯甘氨酸	MAGE, 合成细菌基因组, 合成细菌, 合成小鼠线粒体基因组, 合成减活流感病毒疫苗, 合成减活脊髓灰质炎病毒疫苗
2011—2014	大肠杆菌中的 Boolean 逻辑门, 级联输入逻辑; 代谢流的动力学控制	DNA 组装子技术, BglBrick, BldgBrick, ePathBrick, Retro-Path, 迭代重组	大肠杆菌合成丹参素, 酵母合成丹参酮前体、原人参醇和人参皂苷, 工程酵母商业化生产青蒿素	CAGE, TALEN, CRISPR-Cas, 合成酵母染色体臂, 合成酵母染色体

1.3.2 合成生物学的主要研究内容

合成生物学的研究内容包括基础研究和应用研究两方面(图 1-1)。

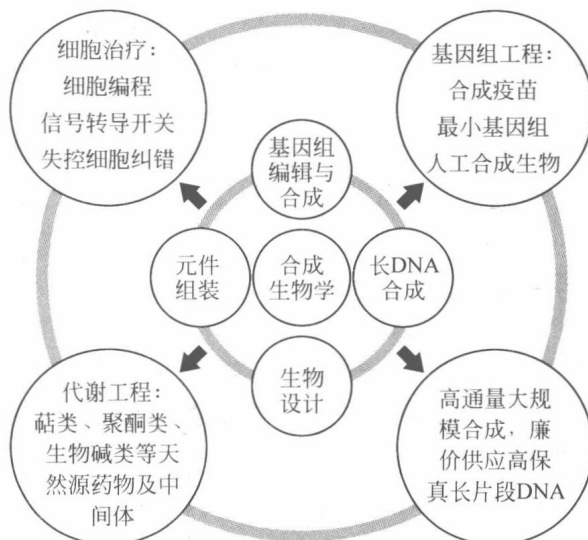


图 1-1 合成生物学研究主要内容

1. 合成生物学的基础研究

合成生物学的基础研究主要涉及生物设计、组装、编辑等理论和使能技术(enabling technology)。生物设计是合成生物的前提,需要对系统生物数据进行大规模集成,包括基因组、转录组、蛋白质组、代谢组、调控组等不同尺度上的数据,创新算法,开发实用的软件工具,帮助工程技术人员进行生物模拟、运算和设计。

基因线路是最简单的生物设计。通过基因线路设计,为复杂生物设计建立模型和指导。目前已经设计和构建出了具有多种功能的基因线路,主要包括生物开关、逻辑门、基因振荡器、计数器及核糖体开关等。

高通量、长片段、大规模的 DNA 合成技术是合成生物学的基础使能技术,它为合成生物提供廉价原料。目前,常规化学方法合成一个碱基核苷酸商业化价格是 2 元人民币左右,合成长度约 80bp。寡核苷酸的合成能力远远不及 DNA 测序的能力。正在发展的具有纠错功能的芯片合成等新方法有望提高 DNA 长度和保真性,同时可降低成本,解决基因操作的经济性问题,使合成生物学成为常规技术应用于普通实验室。

生物元件组装技术是把寡核苷酸连接在一起,形成功能化元件。需要研究开发通用性强、能连续、并行、高通量、非 DNA 序列依赖性的组装方法,减少实验时间,提高工作效率。

基因组编辑是对基因组直接操作的技术,与生物元件组装技术一样,需要开发连续化、高通量、定向编辑的技术。

2. 合成生物学的应用研究

通过基因线路设计和编程,纠正失控细胞,实现细胞的表型和信号转导行为的精准控制,可用于细胞治疗中。利用细胞感应外界信号的特性,进行基因线路设计,对细胞活动过程进行精确人工控制,使细胞处于特定状态,具有很大的应用前景。

应用 DNA 元件组装技术,构建新型代谢途径或高度重复序列基因,用于药物发现、药物及其中间体、特殊蛋白质或酶、生物基化学品的合成与制造,解决药物、新材料、生物能源等来源问题。

通过基因组编辑,简化细胞遗传组成,获得最小基因组,为生物制药提供定制化的菌株或细胞系。

通过基因元件的自下而上的层级组装,合成基因组,进而构建人工合成生物系统,则直接到达合成生物的终极目标。

1.3.3 合成生物学的学术活动

2004 年合成生物学被美国麻省理工学院出版的《技术评论》(*Technology Review*)评为“改变世界的十大新技术”之一。2004 年 6 月在麻省理工学院举行了第一届合成生物学国际会议,截至 2014 年,已经举行 6 届。

为了适应合成生物学的发展,2007 年 Springer 出版公司创办了 *Systems and Synthetic Biology* 杂志,美国化学会于 2012 年创办了 *ACS Synthetic Biology* 杂志,发表合成生物学方面的学术论文。