



面向 21 世纪 课 程 教 材

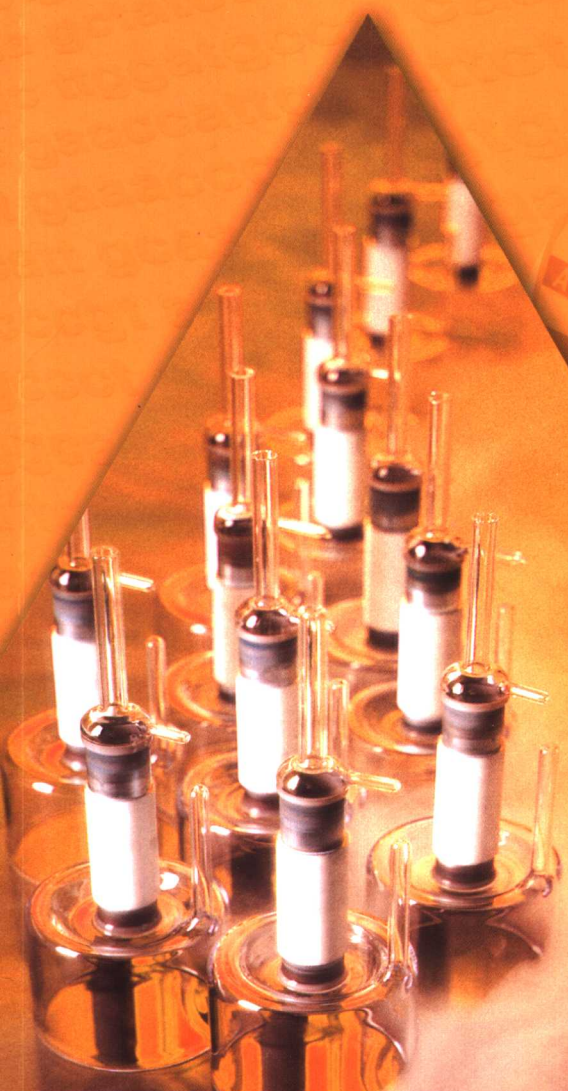
生物技术和生物工程专业规划教材

生物技术制药

(第 2 版)

Biotechnological Pharmaceutics

主编 夏焕章 熊宗贵



高等教育出版社

Higher Education Press



面向 21 世纪课程教材

生物技术和生物工程专业规划教材

生物技术制药

(第 2 版)

Biotechnological Pharmaceuticals

主编 夏焕章 熊宗贵

策划 熊宗贵 熊宗贵 熊宗贵 熊宗贵 熊宗贵 熊宗贵 熊宗贵 熊宗贵 熊宗贵 熊宗贵
设计 熊宗贵 熊宗贵 熊宗贵 熊宗贵 熊宗贵 熊宗贵 熊宗贵 熊宗贵 熊宗贵 熊宗贵

熊宗贵 熊宗贵 熊宗贵 熊宗贵 熊宗贵 熊宗贵 熊宗贵 熊宗贵 熊宗贵 熊宗贵
熊宗贵 熊宗贵 熊宗贵 熊宗贵 熊宗贵 熊宗贵 熊宗贵 熊宗贵 熊宗贵 熊宗贵
熊宗贵 熊宗贵 熊宗贵 熊宗贵 熊宗贵 熊宗贵 熊宗贵 熊宗贵 熊宗贵 熊宗贵
熊宗贵 熊宗贵 熊宗贵 熊宗贵 熊宗贵 熊宗贵 熊宗贵 熊宗贵 熊宗贵 熊宗贵

熊宗贵 熊宗贵 熊宗贵 熊宗贵 熊宗贵 熊宗贵 熊宗贵 熊宗贵 熊宗贵 熊宗贵
熊宗贵 熊宗贵 熊宗贵 熊宗贵 熊宗贵 熊宗贵 熊宗贵 熊宗贵 熊宗贵 熊宗贵
熊宗贵 熊宗贵 熊宗贵 熊宗贵 熊宗贵 熊宗贵 熊宗贵 熊宗贵 熊宗贵 熊宗贵
熊宗贵 熊宗贵 熊宗贵 熊宗贵 熊宗贵 熊宗贵 熊宗贵 熊宗贵 熊宗贵 熊宗贵

内容提要

本书是熊宗贵教授1999年主编的《生物技术制药》的修订版,第1版是国内第一本系统阐述生物技术制药基本原理的教材,经国内几十所院校使用,反映较好。此次修订是根据生物技术制药近年来的新发展和各校在使用中提出的意见而进行的,集中反映了该领域国内外的技术现状和研究趋势。

本书是以生物技术为基础,围绕生物药物的制造方法进行编写的,涉及基因工程制药、动物细胞工程制药、抗体工程制药、植物细胞工程制药、酶工程制药、发酵工程制药等内容。

本书可作为高等院校生物技术、生物工程、医药及相关专业的本科生教材,也可供相关科研工作者及生产技术人员参考。

图书在版编目(CIP)数据

生物技术制药/夏焕章,熊宗贵主编.—2版.—北京:
高等教育出版社,2006.4

ISBN 7-04-017736-6

I. 生... II. ①夏... ②熊... 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019223号

策划编辑 王 莉 责任编辑 张晓晶 封面设计 张 楠 责任绘图 朱 静
版式设计 范晓红 责任校对 金 辉 责任印制 宋克学

出版发行 高等教育出版社
社 址 北京市西城区德外大街4号
邮政编码 100011
总 机 010-58581000

经 销 蓝色畅想图书发行有限公司
印 刷 北京人卫印刷厂

购书热线 010-58581118
免费咨询 800-810-0598
网 址 <http://www.hep.edu.cn>
<http://www.hep.com.cn>
网上订购 <http://www.landraco.com>
<http://www.landaco.com.cn>
畅想教育 <http://www.widedu.com>

开 本 787×1092 1/16
印 张 20.5
字 数 490 000

版 次 1999年9月第1版
2006年4月第2版
印 次 2006年4月第1次印刷
定 价 25.70元

本书如有缺页、倒页、脱页等质量问题,请到所购图书销售部门联系调换。

版权所有 侵权必究

物料号 17736-00

郑重声明

高等教育出版社依法对本书享有专有出版权。任何未经许可的复制、销售行为均违反《中华人民共和国著作权法》，其行为人将承担相应的民事责任和行政责任，构成犯罪的，将被依法追究刑事责任。为了维护市场秩序，保护读者的合法权益，避免读者误用盗版书造成不良后果，我社将配合行政执法部门和司法机关对违法犯罪的单位和个人给予严厉打击。社会各界人士如发现上述侵权行为，希望及时举报，本社将奖励举报有功人员。

反盗版举报电话：(010) 58581897/58581896/58581879

传 真：(010) 82086060

E - mail：dd@hep.com.cn

通信地址：北京市西城区德外大街4号

高等教育出版社打击盗版办公室

邮 编：100011

购书请拨打电话：(010)58581118

前 言

自 1982 年第一个基因工程产品——人胰岛素投入市场以来,生物技术制药得到迅速发展,医药生物技术已成为整个生物技术中发展最快、效益最好、影响最大的重要分支。生物药物的种类和数量迅速增加,对人类的健康、疾病治疗产生很大的影响,并产生了巨大的社会效益和经济效益。

1999 年熊宗贵教授主编的《生物技术制药》是国内第一本系统阐述生物技术制药基本原理的教材,已被国内几十所院校使用。本书是《生物技术制药》的修订版,此次修订是根据各学校在使用中提出的意见以及生物技术制药近 5 年来的新发展而进行的。

本书由长期从事生物技术药物教学和科研工作具有丰富教学和科研经验的教授及专家编写。以医药生物技术为基础,系统介绍生物技术药物的研究、开发和制造方法,反映生物技术制药领域的新进展。内容包括基因工程制药、动物细胞制药、植物细胞制药、抗体制药、酶工程制药和发酵工程制药等 7 章。使学生能够系统地掌握生物技术药物研发和规模化生产过程,培养和提高学生从事生物技术药物研发和生产的能力。

本教材是“生物技术和生物工程专业规划教材”之一,可作为生物技术、生物工程与生物制药等专业的专业课教材,也可作为生物化工与其他药学类专业的参考教材,还可作为生物医药科技人员的参考书。

生物技术制药领域涉及的知识广泛,发展迅速,限于编者知识水平,本书难免有错误和不足之处,敬请读者原谅并提出宝贵意见。

编 者

2005 年 8 月

《生物技术制药》(第2版)编写人员

主 编 夏焕章 熊宗贵

编 者 (以姓氏笔画为序)

于荣敏(暨南大学)

肖成祖(军事医学科学院生物工程研究所)

周正任(中国医科大学)

夏焕章(沈阳药科大学)

傅学奇(吉林大学)

目 录

第一章 绪论	1	二、大肠杆菌体系中的基因表达	22
第一节 生物技术的发展史	1	三、酵母体系中的基因表达	26
一、生物技术	1	第五节 基因工程菌生长代谢的特点	30
二、生物技术的发展简史	2	一、菌体生长与能量的关系	30
第二节 生物技术药物	4	二、菌体生长和前体供应的关系	31
一、生物技术药物的分类	4	第六节 基因工程菌的不稳定性	32
二、生物技术药物的特性	4	一、质粒的不稳定性	32
第三节 生物技术制药	5	二、提高质粒稳定性的方法	33
一、生物技术制药的特征	5	第七节 基因工程菌中试	34
二、生物技术在制药中的应用	7	一、工程菌选择	34
三、我国生物技术制药现状和发展前景	11	二、反应器(发酵罐)设计	35
思考题	13	三、发酵培养基组成	35
主要参考文献	13	四、工艺最佳化与参数监测控制	35
		五、计算机的应用	35
第二章 基因工程制药	14	第八节 重组工程菌的培养	36
第一节 概述	14	一、基因工程菌的培养方式	36
第二节 基因工程药物生产的过程	15	二、基因工程菌的培养工艺	37
第三节 目的基因的获得	16	三、基因工程菌的培养设备	40
一、反转录法	16	第九节 高密度发酵	41
二、反转录-聚合酶链反应法	19	一、影响高密度发酵的因素	41
三、化学合成法	19	二、实现高密度发酵的方法	43
四、筛选基因的新方法	19	第十节 基因工程药物的分离纯化	46
五、对已发现基因的改造	20	一、建立分离纯化工艺需了解的各种因素	46
第四节 基因表达	20	二、分离纯化的基本过程	47
一、宿主菌的选择	20		

目 录

三、细胞的破碎方法	47	三、基因工程细胞的构建和筛选	88
四、固液分离	49	四、常用生产用细胞的特性	89
五、重组蛋白质的分离纯化	50	五、细胞库的建立	91
六、非蛋白质类杂质的去除	61	第四节 动物细胞的培养条件和培 养基	92
七、选择分离纯化方法的依据	61	一、动物细胞的培养条件	92
第十一节 变性蛋白的复性	63	二、动物细胞培养基的种类和 组成	95
一、包含体形成的原因	63	第五节 动物细胞培养的基本方法	99
二、包含体的分离和溶解	63	一、细胞分离	100
三、包含体蛋白复性方法	64	二、细胞计数	100
第十二节 基因工程药物的质量 控制	65	三、细胞传代	101
一、医药生物技术产品质量保证 的一般性要点	66	四、细胞的冻存和复苏	102
二、生物材料的质量控制	66	第六节 动物细胞大量培养的方法和 操作方式	103
三、培养过程的质量控制	67	一、动物细胞大规模培养的方法	103
四、纯化过程的质量控制	67	二、动物细胞培养的操作方式	106
五、目标产品的质量控制	67	第七节 动物细胞生物反应器	107
六、产品的保存	71	一、动物细胞生物反应器的类型及 其基本结构	108
第十三节 基因工程药物的制造 实例	72	二、动物细胞生物反应器的检测 控制系统	114
一、干扰素	72	第八节 动物细胞产品的纯化方法和 质量要求	116
二、人粒细胞巨噬细胞集落刺激 因子	75	一、动物细胞产品常用的纯化 方法	117
三、人白细胞介素-2	76	二、动物细胞产品的质量要求	119
思考题	77	第九节 动物细胞产品的制造实例	122
主要参考文献	78	一、类淋巴细胞干扰素	122
第三章 动物细胞工程制药	79	二、组织型纤溶酶原激活剂	124
第一节 概述	79	三、单链尿型纤溶酶原激活剂—— 尿激酶原	127
第二节 动物细胞的形态和生理 特性	80	四、促红细胞生成素	129
一、动物细胞的形态	80	五、凝血因子Ⅷ	131
二、动物细胞的化学组成和代谢	82	六、乙型肝炎疫苗	133
三、动物细胞的生理特点	83	第十节 动物细胞制药的前景与 展望	135
第三节 生产用动物细胞的要求 和获得	85	一、改进表达载体,提高表达水平	
一、生产用动物细胞的要求	85		
二、生产用动物细胞的获得	86		

目 录

和产量	135	一、血清学鉴定用的抗体试剂	161
二、利用代谢工程,改进培养工艺, 降低生产成本	137	二、免疫标记用的抗体试剂	164
三、抑制细胞凋亡,延长培养 周期	138	三、导向诊断药物	169
四、采用糖基化工程,提高产品 质量	138	四、CD单克隆抗体系列	169
五、转基因动物的研究	139	第七节 抗体治疗药物	171
六、组织工程的研究	140	一、放射性同位素标记的抗体治疗 药物	171
思考题	141	二、抗癌药物偶联的抗体药物	171
主要参考文献	141	三、毒素偶联的抗体药物	172
		思考题	175
		主要参考文献	175
第四章 抗体制药	143	第五章 植物细胞工程制药	176
第一节 概述	143	第一节 基本概念	177
第二节 单克隆抗体及其制备	144	第二节 植物细胞工程发展简史	179
一、抗原与动物免疫	144	第三节 植物细胞的形态及生理 特性	180
二、细胞融合与杂交瘤细胞的 选择	146	一、植物细胞的形态	180
三、筛选阳性克隆与克隆化	147	二、植物细胞的结构特征	180
四、杂交瘤细胞抗体性状的鉴定	148	三、植物细胞的主要生理活性物质 及其他化学组分	182
五、单克隆抗体的大量制备	149	四、植物培养细胞的生理特性	183
六、单克隆抗体的纯化	149	第四节 植物细胞培养的基本技术	185
第三节 基因工程抗体及其制备	150	一、植物材料的准备	185
一、人-鼠嵌合抗体	152	二、培养基及其组成	186
二、改形抗体	152	三、培养方法	190
三、Fab 与 Fv 抗体	153	第五节 影响植物次级代谢产物累积 的因素	192
四、单链抗体	154	一、外植体选择	193
五、单域抗体和分子识别单位	155	二、培养条件的影响	193
第四节 多功能抗体及其制备	155	第六节 植物细胞培养的生物反 应器	199
一、双功能抗体	155	一、机械搅拌式生物反应器	201
二、多功能抗体	157	二、鼓泡塔生物反应器	201
三、抗体融合蛋白	157	三、气升式生物反应器	202
第五节 抗体工程	159	四、转鼓式生物反应器	202
一、噬菌体抗体库技术的基本 方法	159	五、固定化细胞生物反应器	202
二、噬菌体抗体库技术的特点	160	六、各种生物反应器性能比较	203
三、基因工程抗体的表达	160		
第六节 抗体诊断试剂	161		

目 录

第七节 进展与展望	203	二、酶化学修饰的方法	243
一、诱导子在植物细胞工程研究中的应用	204	三、修饰酶的特性	244
二、前体饲喂	208	四、酶化学修饰的应用及其局限性	246
三、两相法培养	208	五、酶化学修饰的前景	247
四、转基因技术在次级代谢产物生产中的应用	209	第六节 酶工程研究的进展	247
五、植物生物转化技术与生物制药	209	一、有机相的酶反应	247
思考题	214	二、核酶和脱氧核酶	249
主要参考文献	214	三、抗体酶	252
第六章 酶工程制药	216	第七节 酶工程产品的制造实例	254
第一节 概述	216	一、固定化细胞法生产 6-氨基青霉烷酸	254
一、酶工程简介	216	二、固定化酶法生产 L-氨基酸	256
二、酶的来源	216	思考题	257
三、酶的生产菌	217	主要参考文献	258
四、酶在医药领域的应用	218	第七章 发酵工程技术概论	259
第二节 酶和细胞的固定化	218	第一节 概述	259
一、固定化酶的制备	219	一、发酵工程	259
二、固定化细胞的制备	225	二、发酵工程发展的 4 个阶段	259
三、固定化方法与载体的选择依据	226	三、发酵工程的研究内容	261
四、固定化酶与固定化细胞的形状和性质	227	第二节 优良菌种的选育	261
五、评价固定化酶(细胞)的指标	231	一、菌种选育的物质基础	261
第三节 固定化酶和固定化细胞的反应器	232	二、自然选育	262
一、反应器的类型和特点	232	三、诱变育种	262
二、反应器的选择依据	234	四、原生质体融合	266
第四节 酶的人工模拟	235	第三节 发酵的基本过程	267
一、模拟酶的概念	235	一、菌种	267
二、模拟酶的理论基础	235	二、种子的制备	267
三、模拟酶的分类	236	三、发酵	268
四、人工模拟酶的研究意义及展望	241	四、产物提取	268
第五节 酶的化学修饰	242	第四节 发酵方式	268
一、酶化学修饰概述	242	一、分批发酵	268
		二、补料分批发酵	269
		三、连续发酵	269
		第五节 发酵工艺控制	269
		一、培养基的影响及其控制	269
		二、温度的影响及其控制	270

目 录

三、溶氧的影响及其控制	272	应用	283
四、pH 的影响及其控制	274	一、基因工程在抗生素生产中的	
第六节 发酵产物的提取	275	应用	283
一、吸附法	275	二、基因工程在氨基酸生产中的	
二、沉淀法	276	应用	304
三、溶剂萃取法	276	三、基因工程在维生素生产中的	
四、离子交换法	276	应用	306
第七节 发酵设备	277	第十节 发酵工程的发展展望	309
第八节 发酵工程产品的制造实例	278	思考题	309
一、青霉素	278	主要参考文献	309
二、赖氨酸	281		
三、维生素 B ₂	282		
第九节 基因工程在发酵工程中的		索引	311



第一章 绪 论

第一节 生物技术的发展史

一、生物技术

生物技术(biotechnology)属于当今国际上重要的高技术领域,它与微电子技术、新材料和新能源并列,成为影响国计民生的四大科学技术支柱,被公认为 21 世纪科学技术的核心。我国多数学者认为,生物技术是以生命科学为基础,利用生物体(或生物组织、细胞及其组分)的特性和功能,设计构建具有预期性状的新物种或新品系,并与工程相结合,利用这样的新物种(或品系)进行加工生产,为社会提供商品和服务的一个综合性的技术体系。它所含的主要技术范畴有:基因工程、细胞工程、酶工程、发酵工程及生化工程。基因工程是生物技术的核心和关键,是主导技术;细胞工程是生物技术的基础;酶工程是生物技术的条件;发酵工程是生物技术获得最终产品的手段,4 个方面是相互联系的。蛋白质工程(protein engineering)则是在基因工程基础上综合蛋白质化学、蛋白质晶体学、计算机学辅助设计等知识和技术发展起来的研究新领域,开创了按人类意愿设计和研制人类需要的蛋白质的新时期,被称为第二代基因工程。生物技术研究的对象已从微生物扩展到动植物,从陆地生物扩展到海洋和空间生物,因而继 20 世纪 80 年代出现的第二代蛋白质工程之后,又出现了第三代生物技术——海洋生物技术,这就大大地扩大了研究范围。与生物技术相关的学科很多,有生物学(含微生物学、分子生物学、遗传学等)、化学、工程学(化学工程、电子工程等)、医学、药学及农学等。但从基础学科来讲,生物学、化学和工程学是其主要学科。正因为如此,生物技术是一门多学科的综合技术体系,而不是单学科的技术体系,因此,要求从事生物技术研究 and 开发生产的人员,要尽可能掌握全面的知识,并能与有关学科研究人员进行协作从事研究,特别是当今生物技术已不像初期停留在技术操作水平,已向纵深发展,并与其他学科交叉,形成了许多分支学科。将糖生物学的各种知识具体应用到生物技术领域后形成了一个新领域——糖链工程,糖链工程与人类健康相关的医药有密切关系,尤其是在细胞表层存在的糖蛋白和糖脂等糖链化合物对生命信息的传递有着重要作用,它是各种生物生存所不可缺少的。生物体的生命信息,过去都是以生物信息为特征,如今计算机科学的大力发展,促

进了计算机科学和生命科学相结合,形成了一门新的学科——生物信息学。生物信息学已成为生命科学研究中不可缺少的知识,能够使生物学家更好地理解生命现象和疾病的发生过程,也能使药物学家发现更好的新药。目前,生物技术研究的广度还在扩大并向纵深发展。

二、生物技术的发展简史

生物技术,从广义角度来看,是人类对生物资源(包括微生物、植物、动物)的利用、改造并为人类服务的技术。它具有悠久的历史,人类在古代就已利用生物体和古老的技术来生产各种产品,并为自身服务。生物技术的发展过程按其技术特征来看,可以分为三个不同的发展阶段,即传统生物技术、近代生物技术和现代生物技术。它们的发展过程、技术特征和产品类型概述于下。

1. 传统生物技术阶段

传统生物技术的产品和有关技术的应用已有悠久的历史,远在公元前几千年,就有了酿酒和制醋的生产技术,传统生物技术的技术特征是酿造技术。但是,人们在很长的时期内,不知道这些技术的内在原因。直到出现了显微镜,才知道自然界有微生物的存在。1857年,利用实验的方法证明了乙醇发酵是活酵母所引起的结果,其他不同的发酵产物则是由其他微生物发酵所形成的。1897年,发现磨碎的“死”酵母仍能使糖发酵而形成乙醇,并将其中所含的活性物质称为“酶”。经过这一系列的研究,才揭开了发酵现象的奥秘。

由于上述研究结果的启示,从19世纪末到20世纪30年代,陆续出现许多产品的工业发酵,开创了工业微生物的新时期,生产出的产品有乳酸、乙醇、丙酮、丁醇、柠檬酸及淀粉酶等。这些产品的生产过程比较简单,大多数属于兼气发酵或表面培养,生产设备的要求也不高。产品的化学结构较为简单,属于微生物的初级代谢产物。

2. 近代生物技术阶段

20世纪40年代初,由于第二次世界大战的爆发,急需疗效好而毒副作用小的抗细菌感染的药物。1941年,美国和英国合作开发研究了英国人Fleming发现的并于1940年经Florey及Chain等所提取、经临床证明具有卓越疗效和低毒性的青霉素。经过大量研究工作后,终于在1943年把要花费大量劳动力(从清洗、装料、灭菌、接种及培养到出料等过程)和占用大量空间(生产1 kg含量为20%的青霉素要用约80 000个1 L的培养瓶,产品的价格非常昂贵)的表面培养法,发展为生产效率高、产品质量好、通入无菌空气进行搅拌发酵的沉没培养法,发酵罐的体积最初达5 m³,产品的产量和质量大幅度提高,生产效率明显提高,成本显著下降。这给生物技术的发酵工业带来了革命性的变化,因而近代生物技术的技术特征是微生物发酵技术。此后,又开发了一系列发酵新技术,如无菌技术、控制技术、补料技术等。这就构成当代微生物工业兴旺发达的开端。

后来,链霉素、金霉素、红霉素等抗生素相继问世,兴起了抗生素工业,促使工业微生物的生产进入了一个新的阶段。抗生素生产的经验很快地促进了其他发酵产品的发展,最突出的成果是20世纪50年代的氨基酸发酵工业、60年代的酶制剂工业以及一些原来用表面培养法生产的产品生产都改用沉没培养法。近代生物技术产业的主要产品有:医药业的抗生素、维生素、甾体激素、氨基酸,轻工食品业的工业酶制剂、食用氨基酸、酵母、啤酒,化工业的乙醇、丙酮、丁醇、沼气,农林业的农用抗生素等农药,环境保护业的生物治理污染等。

近代生物技术时期的特点有:①产品类型多。不但有菌体的初级代谢产物(氨基酸、有机酸、酶制剂等),也有次级代谢产物(抗生素、多糖等),还有生物转化(菌体化合物等的转化)、酶反应(如6-

第一节 生物技术的发展史

氨基青霉烷酸的酰化反应)等的产品。②生产技术要求高。主要表现在发酵过程中,要求在纯种或无杂菌条件下进行运转;大多数菌体是需氧菌,需要通入无菌空气进行好气发酵;发酵产品不少是医药用品或食品,产品质量要求也非常严格。③生产设备规模巨大,从发酵罐看,常用的搅拌通气罐可大至 500 m³,作为这一时期技术最高、规模最大的单细胞蛋白工厂的气升式发酵罐的容积已超过 2 000 m³。④技术发展速度快。以发酵工业中提高产品的产量和质量所需的关键物质菌种为例,其活力和性能获得了惊人的提高,如青霉素发酵的菌种,初期的发酵效价仅为 200 U/ml,目前国际上已达 80 000 U/ml,可见其发展速度之快。发酵控制技术等都得到前所未有的提高。

与此同时,在理论与实践相结合的基础上,化学工程的学者参与了发酵过程的开发研究,经过了大量的实践和理论探讨,在 20 世纪 40 年代,形成了生物学科与化工学科相交叉的新兴学科——生化工程。随后,它得到迅速的发展,至今已成为现代生物技术的组成部分。

3. 现代生物技术

1953 年 Watson 和 Crick 共同提出了生命物质 DNA 的双螺旋结构。此后的 20 年中,科学家们又研究出了一系列与 DNA 有关的新发现和突破(表 1-1),为分子生物学和分子遗传学的建立和发展奠定了基础,也为 DNA 的重组奠定了基础。此后很快将这些基础研究的成果向应用研究和开发研究拓展。1974 年美国的 Boyer 和 Cohen 首次在实验室中实现了基因转移,为基因工程开启了通向现实的大门,使人们有可能在实验室中组建按人们意志设计出来的新的生命体。

表 1-1 1953 年以来现代生物技术主要发现和进展

年代	主要发现和进展
1953 年	提出了 DNA 互补双螺旋结构模型
1956 年	提出了遗传信息是通过 DNA 的碱基对的顺序来传递的理论
1957 年	论证了 DNA 的复制过程包括双螺旋互补链的分离
1958 年	分离得到 DNA 聚合酶 I,用它在试管内制得 DNA
1960 年	发现信使 RNA,并证明 mRNA 传递信息指挥蛋白质的合成
1966 年	破译了全部遗传密码
1967 年	分离得到 DNA 连接酶
1969 年	成功地分离出第一个基因
1970 年	发现第一个限制酶,发现反转录现象
1971 年	用限制酶酶切产生 DNA 片段,用 DNA 连接酶连接得到第一个重组 DNA 分子
1972 年	合成了完整的 tRNA 基因
1974 年	Boyer 和 Cohen 建立了 DNA 重组技术
1975 年	Kohler 和 Milstein 建立了单克隆抗体技术
1976 年	DNA 测序技术诞生
1978 年	在大肠杆菌中表达出胰岛素
1981 年	第一个单克隆抗体诊断试剂盒在美国被批准使用
1982 年	用 DNA 重组技术生产的第一个动物疫苗在欧洲被批准使用
1983 年	基因工程 Ti 质粒用于植物转化
1988 年	PCR 方法问世
1990 年	美国批准第一个体细胞基因治疗方案
1997 年	英国培养出第一只克隆羊多莉
1998 年	美国批准艾滋病疫苗进行人体实验
2001 年	人类基因组草图完成
2003 年	中国研制的重组腺病毒-p53 注射液获新药证书,成为世界上第一个正式批准的基因治疗药物

第一章 绪 论

现代生物技术的发展趋势主要体现在下列几个方面：①基因操作技术日新月异，不断完善。②新技术、新方法一经产生便迅速地通过商业渠道出售专项技术，并在市场上加以应用。③基因工程药物和疫苗的研究和开发突飞猛进。④新的生物治疗制剂的产业化前景十分光明，21世纪整个医药工业将面临全面的更新改造。⑤转基因植物和动物取得重大突破。⑥现代生物技术 在农业上的广泛应用将给农业和畜牧业生产带来新的飞跃。⑦阐明生物体基因组及其编码蛋白质的结构与功能是当今生命科学发展的一个主流方向，目前已有多个原核生物和真核生物的基因组序列被全部测定，与人类重大疾病相关的基因和农作物产量、质量、抗性等有关基因的结构与功能及其应用研究是今后一个时期研究的热点和重点。⑧基因治疗取得重大进展，有可能革新整个疾病的预防和治疗领域。⑨蛋白质工程是基因工程的发展，它将分子生物学、结构生物学、计算机技术结合起来，形成一门高度综合的学科。⑩信息技术的飞跃发展渗透到生命科学领域中，形成引人注目、用途广泛的生物信息学。

第二节 生物技术药物

一、生物技术药物的分类

采用现代生物技术可以人为地创造一些条件，借助某些微生物、植物或动物来生产所需的医药品，称为生物技术制药。一般来说，采用 DNA 重组技术或其他生物新技术研制的蛋白质或核酸类药物，称为生物技术药物。生物技术药物是重组产品概念在医药领域的扩大应用，并与天然生化药物、微生物药物、海洋药物和生物制品一起归类为生物药物。

现代生物药物已形成四大类型：一是应用重组 DNA 技术（包括基因工程技术、蛋白质工程技术）制造的基因重组多肽、蛋白质类治疗剂；二是基因药物，如基因治疗剂、基因疫苗、反义药物和核酶等；三是来自动物、植物和微生物的天然生物药物；四是合成与部分合成的生物药物。

生物药物广泛用于医学的各领域，在疾病的治疗、预防、诊断等方面发挥着重要作用。按其功能用途可以分为三类：一是治疗药物，治疗疾病是生物药物的主要功能。生物药物以其独特的生理调节作用，对许多常见病、多发病、疑难病均有很好的治疗作用，且毒副作用低。如对糖尿病、免疫缺陷病、心脑血管病、内分泌障碍及肿瘤等的治疗效果是其他药物无法替代的。二是预防药物，对于许多传染性疾病来说，预防比治疗更重要。预防是控制感染性疾病传播的有效手段，常见的预防药物有各种疫苗、类毒素等。在疾病的预防方面只有生物药物可担此任。三是诊断药物，疾病的临床诊断也是生物药物重要用途之一，用于诊断的生物药物具有速度快、灵敏度高、特异性强的特点。现已应用的有免疫诊断试剂、酶诊断试剂、单克隆抗体诊断试剂、放射性诊断药物和基因诊断药物等。

二、生物技术药物的特性

① 分子结构复杂。生物药物是应用基因修饰活的生物体产生的蛋白或多肽类产物，或是依据目的基因化学合成互补的寡核苷酸，所获产品往往相对分子质量较大，并具有复杂的分子结构。

第三节 生物技术制药

② 具有种属特异性。许多生物药物的药理学活性与动物种属及组织特异性有关,来自人源基因编码的蛋白质或多肽类药物,其中有的与动物的相应蛋白质或多肽的同源性有很大的差别,因此对一些动物无药理学活性或不敏感。

③ 治疗针对性强、疗效高。生物药物是天然存在的蛋白质或多肽,量微而活性强,用量极少就会产生显著的效应,相对来说它的不良反应较少,毒性较低,安全性较高。

④ 稳定性差。蛋白质或多肽药物较不稳定,易变性,易失活,也易为微生物污染或酶解破坏。

⑤ 基因稳定性。生产菌种及细胞系的稳定性和生产条件的稳定性非常重要,它们的变异将导致药物生物活性的变化或产生意外的或不希望的一些生物学活性。

⑥ 免疫原性。许多来源于人的生物药物,在动物中有免疫原性,所以在动物中重复给予这类药品将产生抗体,有些人源性蛋白在人体中也能产生血清抗体,可能是重组药物蛋白质在结构及构型上与人体天然蛋白质有所不同所致。

⑦ 体内的半衰期短。生物药物降解迅速,并且在体内降解的部位广泛。

⑧ 受体效应。许多生物技术药物是通过与特异性受体结合,信号传导机制而发挥药理作用,且受体分布具有动物种属特异性和组织特异性,因此药物在体内分布有组织特异性和药效反应快的特点。

⑨ 多效性和网络性效应。许多生物药物可以作用于多种组织或细胞,且在人体内相互诱生,相互调节,彼此协同或颉颃,形成网络性效应,因而可具有多种功能,发挥多种药理作用。

⑩ 检验的特殊性。生产系统的复杂性,致使它们的同源性,批次间一致性及安全性的变化要大于化学产品,所以对生产过程的检测,GMP步骤的要求和质控的要求就更为重要和严格。

第三节 生物技术制药

一、生物技术制药的特征

1. 高技术

生物技术制药的高技术性主要表现在其高知识层次的人才和高新的技术手段。生物制药是一个知识密集、技术含量高、多学科高度综合互相渗透的新兴产业。以基因工程药物为例,上游技术(即工程菌的构建)涉及目的基因的合成、纯化、测序,基因的克隆、导入,工程菌的培养及筛选;下游技术涉及目标蛋白的纯化及工艺放大,产品质量的检测及保证。生物医药的应用扩大了疑难病症的研究领域,使原先威胁人类生命健康的重大疾病得以有效控制。21世纪生物药物的研制进入成熟的研发阶段,使医药学实践产生了巨大的变革,从而极大地提高了人们的健康水平。

2. 高投入

生物制药是一个投入相当大的产业,主要用于新产品的研究开发及医药厂房的建造和设备仪器的配置方面。目前国外研究开发一个新的生物医药的平均费用为1亿~3亿美元,并随新

药开发难度的增加而增加(有的高达 6 亿美元)。一些大型生物制药公司的研究开发费用占销售额的比率超过了 40%。显然,雄厚的资金是生物药品开发成功的必要保障。

3. 长周期

生物药品从开始研制到最终转化为产品要经过很多环节: 试验室研究阶段, 中试生产阶段, 临床试验阶段(I、II、III期), 规模化生产阶段, 市场商品化阶段以及监督每个环节的严格复杂的药政审批程序(图 1-1), 而且产品培养和市场开发较难, 所以开发一种新药周期较长, 一般需要

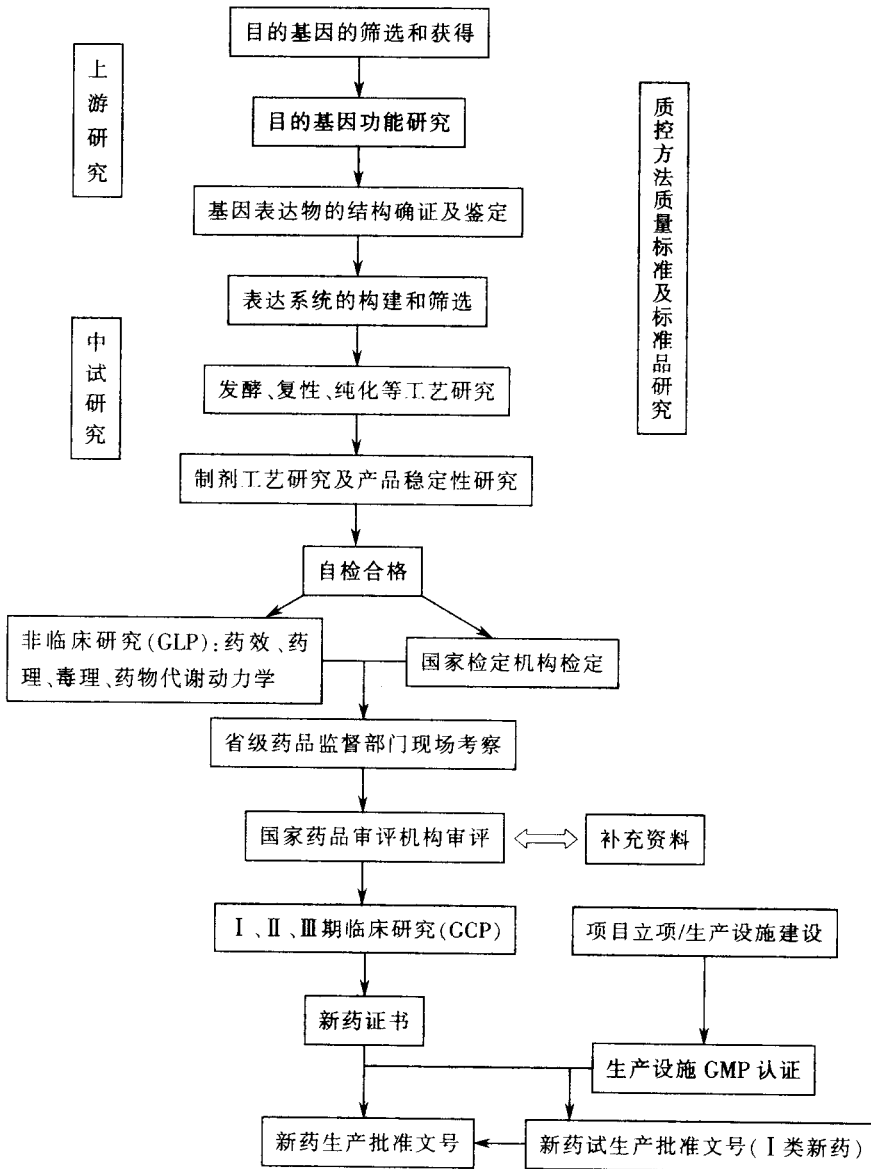


图 1-1 我国生物技术药物开发和注册程序