

微生物药物产业现状与发展趋势

于晴, 黄婷婷, 邓子新

(上海交通大学微生物代谢国家重点实验室, 上海 200240)

摘要: 微生物来源的天然产物药物具有结构多样、活性优良等优点, 临床应用潜力巨大。本研究系统分析了我国微生物药物产业发展现状, 梳理了微生物种质资源利用、优良菌种筛选和发酵工艺优化、菌株工程化改造、新型微生物药物创制等技术趋势, 助力我国破解产业瓶颈、加速产业升级。我国现代微生物药物产业已经具备了坚实的资源和技术基础, 但与国际领先水平有一定的差距。本研究针对产业面临的机遇与挑战, 从建立统筹创新的微生物医药大科学装置、加强微生物药物基础研究和自主研发、构建战略性人才引育系统、形成体系化产业激励政策等四个方面提出了发展建议。

关键词: 微生物药物; 发展趋势; 生物活性; 微生物代谢; 合成生物学

中图分类号: Q93 **文献标识码:** A

Microbial Medicine Industry: Current Status and Future Trends

Yu Qing, Huang Tingting, Deng Zixin

(State Key Laboratory of Microbial Metabolism, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China)

Abstract: The microbial sourced natural products possess diverse structures and excellent activities, implying great potentials for clinical application. This study systematically analyzes the current status of the microbial medicine industry in China and summarizes the development trends of the industry from the aspects of microbial strain resource utilization, excellent strain screening, fermentation process optimization, strain engineering, and new microbial medicine development. This aims to facilitate major breakthroughs and industrial upgrades for China's microbial medicine industry. Although China's microbial medicine industry has solid resource and technical foundations, it still lags behind the international advanced level. Considering the opportunities and challenges, we propose several suggestions for promoting China's microbial medicine industry: constructing large-scale scientific facilities for microbial medicine, strengthening basic research and independent technology development, establishing a talent cultivation system, and formulating systematic industrial incentives.

Keywords: microbial medicine; development trend; biological activity; microbial metabolism; synthetic biology

收稿日期: 2021-07-09; **修回日期:** 2021-08-30

通讯作者: 邓子新, 上海交通大学微生物代谢国家重点实验室教授, 生命科学技术学院院长, 微生物代谢国家重点实验室主任, 主要研究方向为 DNA 修饰、放线菌遗传学及抗生素生物合成研究; E-mail: zxdeng@sjtu.edu.cn

资助项目: 中国工程院咨询项目“中国微生物安全与健康产业发展战略研究”(2020-XZ-02)

本刊网址: www.engineering.org.cn/ch/journal/sscae

一、前言

微生物是地球上最庞大的物种资源和基因资源库，微生物在其生命活动过程中产生的生理活性物质及其衍生物形成的代谢产物库在医疗健康领域发挥着巨大的作用。人类利用微生物及其代谢产物治疗疾病已有数千年历史。1929年青霉素的发现是微生物药物发现的历史性突破，伴随着青霉素的商业化开启了天然产物发现的黄金期，也极大地改变了天然产物的研究方向。因其巨大的生物多样性、独特的结构及其可变性、相应的生物活性和可用性，微生物来源的商用药物数量远超过植物等其他来源[1,2]。近一半的畅销药物是天然产品或其衍生物，充分证明了微生物药物在治疗疾病、开发药物等方面的重要性[3]。

然而近年来日益严重的病原生物抗药性、新型疾病的发生、节能减排、高产需求等，都迫切地呼唤新药物、新机理、新菌株、新工艺等药物创新和高效制造。20世纪90年代以来，合成生物学、组学等学科技术的飞速发展推动微生物药物产业进入崭新阶段。

从微生物药物产业链来看，基因工程和组学技术对微生物菌种的系统性改造，生物信息学、合成生物学等技术方法助力新药的发现和开发以及复杂药物的高效创制，有助于实现产业的源头创新；发酵工艺的改进和新工艺的应用可实现微生物药物产业下游的产能提升。目前，我国已具备较为完整的微生物药物产业链，也拥有一批规模化的产业集团和基地。本文将在梳理分析我国微生物药物产业现状的基础上，展望微生物药物技术的发展趋势，在加强重大科学装置、合理前沿布局、强化人才培养和储备、优化资金保障和政策激励方面提出建议，期望有助于我国未来微生物药物产业的发展 and 布局。

二、微生物药物产业现状

（一）我国微生物药物产业的发展历程

我国是微生物制药生产大国，产品以抗生素类药物、特别是原料药为主，总体而言产业处于全球价值链低端，在国际上处于追赶状态。“十一五”期间，国家将生物产业提升到产业立国的高度，国

家发展和改革委员会、科学技术部先后批准建立国家生物产业基地和火炬计划特色生物产业基地近40个，微生物药物产业进入加速发展阶段。在政策的连续支持和引导下，到2010年，形成了以长江三角洲、环渤海地区为发展核心，珠江三角洲、东北等区域集聚的生物医药产业空间格局[4]。“十二五”期间，生物产业被确立为国家第三大战略性新兴产业。各省市分别推进出台支持生物产业迅速发展的相关政策，如《关于促进上海生物医药产业发展的若干政策规定》《广州市生物产业发展引导资金管理暂行办法》等。在多种药物在华专利相继过期的背景下，政策红利持续体现，我国微生物药物产业实现了跨越式发展，基本形成环渤海、长江三角洲、粤港澳大湾区等三个大型生物医药集聚区。其中，长江三角洲地区基础研究和产业技术创新能力突出，国际交流程度高，拥有最多的跨国生物医药企业。环渤海地区教育和临床资源丰富，产业人力资源储备充足，产业链基础优势较强。粤港澳大湾区市场体系成熟，流通体系发达，三地联通，对外辐射能力较强。同时，东北，中部地区的河南、湖北，西部地区的四川等地在龙头企业的带领下也形成了区域特色快速发展的产业格局[5]。

（二）抗感染类药物是我国市场销售主体，增长平稳持续

根据药物综合数据库(PDB)显示，我国抗生素总产量世界第一，在青霉素、链霉素和四环素等原料药生产上拥有绝对优势，新品种研发能力不断提高，已在数十个产品上打破了欧美技术和市场垄断，百余品种实现产业化，形成了一批规模化的产业集团和完整的产业链。行业在经历了一个低谷期后，作为医药市场的重点产品，刚性需求巨大，国内市场叠加国外市场，仍将推动抗生素市场规模持续增长。

1. β -内酰胺类

抗生素市场中 β -内酰胺类份额最大，既包括原料药，也包括中间体，其中头孢菌素和青霉素类分别占世界抗生素市场的25%和20%。20世纪80年代，我国青霉素工业快速发展，后因产能过剩进入低谷。近10年来，头孢类抗生素成为抗感染药物的主力品种，发展十分迅速，头孢孟多酯、头孢呋辛钠等新品种层出不穷，30余个头孢品种成为临床

常用药。7-氨基头孢烷酸(7-ACA)、6-氨基青霉烷酸(6-APA)和7-氨基去乙酰氧基头孢烷酸(7-ADCA)等作为头孢类药物阿莫西林的核心中间体,也是当今国际抗生素市场的主角。总体来看,行业产能过剩较为严重,行业壁垒逐渐增高,“限抗”“限排”政策促进产能出清,龙头企业规模优势凸显,并正向下游发展。主要生产企业有健康元药业集团股份有限公司、石药控股集团有限公司、联邦制药国际控股有限公司等。

2. 氨基糖苷类

氨基糖苷类抗生素是最早开发上市的抗生素之一,是作为治疗革兰氏阴性菌导致的严重感染的首选药物,在临床中有着不可替代的作用,如能有效抑制结核菌繁殖的链霉素,20世纪50年代初上市后很快就成为国际医药市场的畅销产品。继链霉素及其衍生物之后,庆大霉素、新霉素、核糖霉素、卡那霉素、奈替米星、紫苏霉素、巴龙霉素以及我国自主开发的小诺霉素和依替米星等近20种氨基糖苷类产品相继开发上市,使氨基糖苷类成为抗生素家族成员最多的一类产品,但不可逆的耳肾毒性和日益严重的耐药性极大地限制了该类抗生素的应用和推广。为了进一步拓展氨基糖苷类抗生素的临床应用,寻找抗耐药、低毒性的衍生物已成为氨基糖苷类开发的重点[6]。国内主要企业有三峡制药有限公司、只楚药业有限公司、华北制药股份有限公司、长征药业股份有限公司等。

3. 大环内酯类

大环内酯类目前主要有三代,第一代有红霉素及其酯类衍生物,第二代有阿奇霉素、克拉霉素和罗红霉素等,使用范围广,耐药性逐渐显现,第三代有泰利霉素、喹红霉素等,毒性作用偏大。我国是半合成红霉素原料药的世界最大生产国和出口国,由于该类药物缺乏新品的支撑,也受其他抗菌药物市场的不断冲击,近几年国际需求几近饱和。但大环内酯类药物在慢性呼吸疾病的抗菌治疗中仍有重要价值[7]。

4. 四环素类

四环素类抗生素是一类具有菲烷母核的广谱抗生素,广泛应用于细菌、支原体、衣原体和立克次氏体引起的感染[8]。我国是全球最大的四环素生产国和主要出口国,万得(Wind)数据库显示,每

年我国四环素衍生物及其盐国内供大于求,产量60%以上出口海外市场。随着耐药菌的不断出现、四环素牙等不良反应和新型抗生素的诞生,四环素类药物一度淡出临床应用。欧美对我国该类产品的进口需求虽大,实际用于产业链低端,被大量用作动物生长促进剂。2001—2003年,欧盟“禁止抗生素作为饲料添加剂”的法令出台,对我国药企出口造成了巨大影响。2005年辉瑞等公司研发了第三代四环素替加环素、依拉环素等新的畅销药品,带动了我国四环素原料药新一轮出口热。经过几轮波动,我国的万吨级四环素发酵基地主要位于西部地区,代表企业有宁夏启元药业有限公司、华北制药股份有限公司、四川制药股份有限公司等。而江苏、浙江等东部省市曾经盛行的四环素生产线早已改产经济价值更高的药品。

5. 林可酰胺类

林可酰胺类抗生素目前种类较少,主要包括林可霉素、天青素以及克林霉素等半合成抗生素。我国从20世纪80年代开始大规模生产林可霉素,在菌种多年选育和优化的基础上,产量大幅提高,目前已超过7 g/L[9]。林可霉素市场需求量持续保持在一个较高水平上,且近年市场发展迅速,年均增长约为10%,价格也持续上涨,国内由四家企业主导,其中河南南阳普康居于全球龙头,另有天方药业有限公司、海翔药业股份有限公司(收购)等。目前,林可霉素国内的生产水平约在6500~7500 U/mL,而国外已达10 000 U/mL左右,差距巨大,因此,为增强林可霉素的国际市场竞争力,提高产量等问题亟需解决[10]。

(三) 抗肿瘤类药物市场稳定增长, 新产品异军突起

肿瘤是我国乃至全球范围内导致人类死亡的重要疾病之一,寻找有效的抗肿瘤药物和治疗方法一直是研究热点。2018年全球抗肿瘤药物市场规模为1520亿美元,前五年复合增长率为7.96%,虽然相比于前十年年均15%以上的速度有所减缓,但仍然显著高于全球药物市场的平均增长率。在我国肿瘤药市场中,近半数市场被进口药瓜分。实施抗癌药物零关税,加速推出国内药企仿制药,加强研发自主创新产品,有利于减轻癌症患者及家庭的治疗

成本，化解民生痛点。

在肿瘤治疗领域，寻找细胞毒性改良的药物仍然是发现现代抗癌药物的一条重要路线 [11]。许多重要的商业化新药是从天然来源或由天然化合物结构修饰而成，或是以天然化合物为模型、经人工设计合成的新化合物。在现已发现的治疗癌症的近 200 种小分子药物中，约三分之一直接来源于天然产物或是其衍生物，包括多糖类、萜环类、有机酸酯类、萜类、生物碱类、大环内酯类及烯二炔类等，多种已在临床肿瘤治疗中发挥了极其重要的作用 [2]。这些抗生素类肿瘤治疗药在肿瘤药物市场中占有重要地位，是肿瘤治疗市场中不可或缺的产品。近年来，随着新型抗肿瘤药物的陆续上市，抗肿瘤抗生素类药物市场增速逐年降低，市场份额大幅萎缩。国内抗生素类肿瘤治疗药物主要品种包括非核糖体肽类、芳香聚酮类、异源表达生物碱类等，如放线菌素 D、博来霉素 (BLM)、多柔比星 (ADM)、吡柔比星 (THP)、表柔比星 (E-ADM) 等。主要企业包括恒瑞医药股份有限公司、绿叶制药有限公司、海正药业股份有限公司等。

(四) 酶抑制剂需求与市场规模同步持续增长

酶也是一类重要的药物作用靶标。20 世纪 60 年代初，梅译滨夫提出了酶抑制剂的概念，认为在微生物有机体内酶及其抑制剂是共存的，拓展了新抗生素筛选的思路，引导了许多新筛选模型与方法的建立，开创了从微生物代谢产物中寻找其他生理活性物质的新时代 [12]。已上市的酶抑制剂药物主要以受体、酶、离子通道和核酸为作用靶点。微生物产生的酶抑制剂可来源于微生物的初级代谢或次级代谢，研究最多的是放线菌，也是产生微生物药物最多的类群，其中最重要的是链霉菌属；细菌、真菌也是酶抑制剂的重要药源微生物。除了筛选分离传统药源菌外，研究人员的注意力已逐渐集中到海洋微生物、极端微生物等新类群 [13]。我国对酶抑制剂的研究起步较晚，企业生产以仿制药为主，如华东医药的 α 糖苷酶抑制剂阿卡波糖等。

(五) 免疫抑制剂三大品种市场稳定增长

免疫抑制剂是对机体的免疫反应具有抑制作用的药物，主要用于防止器官移植中的排斥反应和抑

制某些自身免疫性疾病的进展等。微生物发酵生产的主要品种有环孢菌素 CsA 类、他克莫司、雷帕霉素及其衍生物 SDZ-RAD 等。我国免疫抑制剂市场主要存在十多种药物，以他克莫司、吗替麦考酚酯以及环孢素为主。从总量上看，三大免疫抑制剂在最近 5 年持续稳定增长，实现了 7.95% 的复合增长率，市场容量仍有提升空间。从细分药品来看，目前三种药品的市场均呈现“原研发厂商 +1~2 家国产厂商”的竞争格局，华东医药股份有限公司在其中处于国产厂商的绝对优势地位，占有国内免疫抑制剂市场合计 27% 的市场份额，与诺华集团、罗氏集团、安斯泰来制药集团三大原研发厂商合计市场份额超过 80%。

三、微生物药物技术的发展趋势

(一) 新型发酵工艺提升微生物药物产能

在工业上，复杂结构的微生物药物往往难以通过化学方法合成或不易于实现产业化，而利用微生物细胞工厂发酵、大量合成目标产物则是一种高效经济的方法。发酵工艺是整个微生物药物生产工艺的中心环节。

1. 固定化细胞技术

在常用的液体发酵过程中，微生物细胞首先在“非合成生长期”形成抗生素合成所需的酶类，组成抗生素“生产线”，随后基于酶催化反应的可循环性，实现精确调控并产生大量的抗生素。在实际发酵过程中，存在菌株易迅速退化的问题。

在酶固定化基础上发展起来的固定化细胞发酵技术是消除以上不利因素的一种解决方案。所谓固定化细胞就是利用物理化学等因素将细胞限制在一定的空间界限内，细胞保留催化活性并能在较长时间内被反复或者连续使用，在抗生素生产领域具有巨大的应用潜力，特别适用于高效生产分泌到培养液中的抗生素。与传统液体发酵相比，固定化细胞技术有许多优点，如可使用柱式生物反应器连续性流动发酵、可利用固定化材料增加细胞密度、控制微生物细胞的非合成生长期和密度、不需要额外添加酶反应辅因子等，从而降低成本、提高产量 [14-16]。

目前，已经成功利用固定化细胞技术生产的微生物药物有青霉素 G、头孢菌素 C、氨卞青霉

素、杆菌肽、头霉素、杀念菌素和达托霉素等抗生素 [17]。如乳酸链球菌肽 (Nisin) 是由乳酸链球菌生产的具有重要经济意义的多肽类抗生素, 具有抑制革兰氏阳性菌的活性, 被作为食品添加剂广泛使用。以玉米浆和酵母提取物为培养基的传统液体发酵, 进入发酵后期, 培养基呈酸性, Nisin 释放到胞外的过程受到明显抑制, 导致后续合成近乎停滞。利用聚丙烯酰胺、琼脂、凝胶、多聚糖等载体固定乳酸链球菌细胞, 可以使发酵液连续流动, 避免了酸性环境对菌株的抑制, 大大延长细胞的半衰期, 保持了单细胞活力, 实现了产量的大幅提升。

固定化细胞技术具有潜力, 但也存在自身瓶颈, 还需提高发酵过程中物质的传递效率、改良固定化方式、优化载体、提高产品提取效率等。另外, 虽然该技术成功案例很多, 但是真正公布全部技术细节的很少, 相关生产工艺被牢牢控制在国外几家知名企业手中, 难以被复制, 因此需要加强基础研究, 自主开发先进的固定化细胞技术工艺, 打破技术壁垒, 推动我国微生物药物生产提高到国际先进水平。

2. 连续发酵新型工艺

分批发酵是现代发酵工业中大多数产品采用的方式。在分批发酵过程中, 微生物的生长速度随时间而发生规律性变化, 但随着发酵时间延长, 营养成分不断减少, 菌种老化和代谢产物受抑制等问题严重。连续发酵是在一个开放的系统内, 以一定的速度向发酵罐内连续供给新鲜培养基的同时, 将含有微生物和代谢产物的培养液以相同的速度从发酵罐内放出, 从而使发酵罐内的液量维持恒定, 培养物在相对恒定的状态下生长和代谢。

定量代谢组学可用定量描述生命体系的数学模型描述复杂的动力学行为, 实现对系统的预测、设计以及优化, 将其与连续发酵工艺相结合, 能实现自动控制各参数维持在一定水平, 保持低基质浓度, 有利于提高设备的利用率和单位时间的产量, 优化工业发酵过程, 实现数字化、高效化控制 [18]。多维度的优化理论已经成功用于青霉素、红霉素、氯四环素、重组人血清蛋白和疟疾疫苗等工业生物过程的优化与放大。Douma 等人在以葡萄糖为限制性碳源的恒化培养过程中, 发现青霉素的合成能力与异青霉素 N 合成酶的活性呈较好的线性关系, 由此

建立了基因表达调控模型, 成功地描述了补料分批发酵过程青霉素的合成与比生长速率的动态关系, 不足之处在于没有涉及胞内氨基酸、磷酸糖、糖醇等组分和能量代谢动力学信息 [19]。

发酵过程中代谢物浓度变化时间在几十秒甚至秒级, 需要快速取样与高效可靠分析, 获得某个时刻真实可靠的代谢物浓度信息。代谢组学技术能够准确提供生物体系应对基因或者环境扰动的反馈信息。因此, 与发酵工艺串联的开发快速取样和代谢产物检测装置, 可减少或者避免样品处理过程中的变化, 以快速抽滤和滤饼冲洗取代传统的离心分离也可减少和避免胞内代谢物的渗漏, 有效减少损失 [20,21]。

(二) 基因工程及组学技术系统性改造微生物

现代基因工程与基因组学引领的多组学技术的综合应用极大地促进了微生物药物及其先导物的发现和研究, 有望显著缩短药物发现和前期开发时间, 降低药物研发和生产成本。对微生物“细胞工厂”中天然产物代谢途径进行调控, 不仅可以合成新型复杂化合物, 也可以生产植物或其他来源的活性化合物。中国医学科学院与沈阳同联集团合作, 在螺旋霉素产生菌中整合有异源酰化酶基因, 共同开发出国家一类新药可利霉素, 2019 年 6 月获批上市, 是国内外唯一一个实现产业化的利用基因工程技术获得的“杂合抗生素”。

机器学习也促进了高通量微生物组的性能提升。2020 年合成生物学初创公司 Zymergen 公开了高通量 (HTP) 微生物基因组工程平台, 基于计算机软件算法驱动, 集成了分子生物学、自动化以及先进的机器学习流程, 通过短时间内构建大量不同基因型的菌株, 测试产生大量数据, 并对上述数据进行自动化机器学习, 并依靠多次迭代学习加以分析从而构成完善的 HTP 遗传设计库。该平台具有任意宿主的兼容性, 因此适用于调节、改善任意微生物宿主性能。

发酵产率是微生物药物研究和开发的一个主要挑战。常规的工业高产菌种选育采用反复诱变加筛选, 逐步提高菌株的发酵效价。微生物基因组改组通过突变基因加基因重组, 筛选并积累有益突变的组合, 实现定向进化, 加速经典的菌株改良进程。

另外,通过基因工程系统性地改造微生物菌株,还可以改善前体和辅因子供应、消除竞争途径、增强产物外排和自身抗性。代谢组学技术可以检测中间体积累和底物供应状态,分析借鉴工业高产菌株的基因组、蛋白组、全基因组转座诱变等数据,为菌株改良提供靶标基因。随着合成生物学的发展,代谢产物/中间体人工生物传感器、自主可控调控体系的设计应用将为高产育种提供新的方法和技术[22]。然而,细胞内代谢网络复杂,人工改造易对系统产生不利或未知影响,也可能导致细胞活性降低甚至丧失,因此对于代谢网络的认知还需要进一步深入。

(三) 生物反应预测及设计实现新结构发掘

通过生物信息学对生物反应的预测,可以为新结构代谢产物的高通量和高效发掘提供便捷。放线菌强大的天然产物生物合成能力,蕴藏于基因簇中,首个全基因组测序的放线菌天蓝色链霉菌是菌株包含超过20个潜在的次生代谢物生物合成基因簇,阿维链霉菌、灰色链霉菌和卡特利链霉菌等基因组都超过了30个[23]。Kelleher等开发基因簇全局家族分类法(GCF),将已知小分子与潜在的生物合成基因簇相关联,利用大型生物信息数据,实现了新的天然产物从无到有的发现[24]。与链霉菌次生代谢物及其合成相关的生物信息学资源也大量涌现。例如,在线分析工具antiSMASH能够快速预测非核糖体肽类(NRPS)、聚酮类(PKS)、多糖类、细菌素类、萜类等多种典型次级代谢生物合成基因簇,现已更新至5.0版本[25]。ClusterMine360数据库则系统地收录了200多个PKS/NRPS生物合成基因簇和185个化合物家族。DoBISCUIT数据库侧重于维护微生物PKS基因簇的人工校正。此外,BAGEL2工具可分析多种类型的细菌素[26]。

(四) 合成生物学助力复杂化合物微生物合成

合成生物学综合酶工程、生物催化、结构生物学等多学科技术手段,对生物合成途径进行升级或再设计,发展出针对不同骨架或结构单元的生物合成与编辑策略,可对药物合成途径进行分析和设计,对微生物体系进行遗传改造和构建优化,赋予人工生物体系新的内涵和功能,实现药物的深度开发和高效生产。

1. 沉默基因簇激活

在充分认识药物的生物合成基因簇及其合成途径的基础上,通过对合成基因簇的改造,有望激活微生物内大量具有合成潜力但未表达的沉默基因簇,也能够产生大量具有重要应用前景的生物活性物质。暨南大学将推测合成烟曲霉酸的基因簇中的9个基因导入米曲霉NSAR1中,并在终产物中检测到烟曲霉酸,通过生物合成途径扩大夫西地酸类抗生素的结构多样性[27]。

2. 生物元件的优化和构建

通过缺失、替换微生物细胞中PKS或NRPS的结构域,可以改变底物识别和催化特性,加上前体喂养,组合生物合成可产生许多新的衍生物分子,改善药物的水溶性、治疗指数等。Kosan公司利用PKS模块的取代置换制备红霉素、格尔德霉素和埃博霉素的类似物,得到新的微管稳定剂和Hsp90抑制剂。达托霉素是由NRPS在玫瑰链霉菌中产生的环脂肽,对耐甲氧西林的金黄色葡萄球菌(MRSA)具有杀菌作用,Cubist公司通过交换NRPS模块组建的生物合成途径,产生了近百种新型达托霉素衍生物。组合生物合成的一个瓶颈是,新途径的催化效率往往显著低于野生型途径,关键酶的定向进化有望提高组合途径的适配性和效率[28]。

3. 植物源或动物源药物的微生物合成

微生物发酵平台为许多植物源性药物的生产提供了一种经济高效和可持续的植物培养和化学合成替代品。近年来,越来越多的研究采用了合成生物学技术,青蒿素、紫杉醇、丹参酮、 β -胡萝卜素、红景天苷等植物源药物及其前体得以在微生物中表达,为生产来源稀缺的天然药用物质提供了一种行之有效的方法和途径[29,30]。

抗疟疾药物青蒿素的商业化微生物生产是合成生物学重要的标志性成果。2003年Keasling团队首次在大肠杆菌中重构了青蒿素前体青蒿酸的合成途径[31],并将青蒿酸的产量提高了300倍,后在酿酒酵母构建了青蒿素前体青蒿酸的高效合成途径,为更可控和更高效的青蒿素药物供给提供了现代工业的途径。植物生物碱,特别是苄基异喹啉类生物碱和单萜吲哚类生物碱类化合物,由于其药用价值已成为微生物生物合成的诱人目标,其合成途径已经在大肠杆菌和酵母中成功组装表达[32]。

异喹啉生物碱和吲哚生物碱具有显著的抗肿瘤

活性。在一定程度上可以利用微生物转化模拟药物在动物体内的代谢。第一个现代海洋药物曲贝替定 (Et-743) 来自被囊动物红树海鞘, 天然获得非常困难, 目前则实现了由荧光假单胞菌发酵前体经半合成而大量获得 [33]。

(五) 基因编辑推动微生物代谢途径的精准改造

在微生物体系中, 次级代谢产物是由不同的小分子前体经顺序协作的酶催化形成, 参与合成的基因通常成簇存在, 由骨架结构基因、修饰基因以及调控基因组成代谢网络。对基因簇的精准编辑可以实现合成途径改造、表达精确调节、副产物降低、目标化合物增产等。

针对结构基因的微生物代谢途径精准化改造已有很多成功的实例。例如, 改变抗肿瘤抗生素柔红霉素糖基 4 位羟基的构型, 获得毒副作用较低的化疗药物表柔红霉素; 改变抗肿瘤抗生素小盘酰氨 (来源于海洋微生物) 前体肽氨基酸的组成, 利用原修饰酶体系合成了与临床上使用的抗凝血剂依替巴肽类似的新型环肽类抗生素。

这些研究绕开复杂结构类似物化学合成难或工艺低效的问题, 充分体现了基于理性设计的基因编辑在新药发现和发展方面的巨大潜力。值得关注的是, 基因编辑技术, 尤其是 CRISPR/Cas9 相关的核心专利基本都掌握在欧美等发达国家手中, 我国如在微生物药物领域产业化应用, 还需要开发具有独立自主知识产权的新型核心技术 [34]。

(六) 高通量筛选提高创新药物的研发效率

建立高通量筛选方法和技术平台, 从数以万计的菌株突变体库中快速获得性能优越的目标菌株, 在微生物药物产生菌的快速进化、特别是工业菌株筛选过程中尤为重要。

1. 工业高产菌株筛选

微生物基因组中编码小分子天然产物 (次级代谢产物) 生物合成的基因成簇排列, 易于识别, 可用于预测某个或某类微生物中天然产物生物合成的多样性、新颖性; 还可以根据特定的生物合成酶预测含有特定化学结构的天然产物, 实现定向挖掘。基因组挖掘已成为小分子天然产物药物发现的替代过程。抗癌活性天然产物莱那霉素家族通过此技术发现了药物新成员。

基因簇异源表达是另一种有效的天然产物发现平台技术。采用细菌人工染色体、Gibson 组装、转化辅助重组、或 ExoCET 直接克隆等大片段基因簇捕捉技术, 将完整的合成途径克隆到系统性改良的微生物宿主实现高产表达, 通过高通量异源表达, 可进行新化合物的分离纯化和后期开发。如利用基于活性筛选的基因组挖掘方法 Library expression analysis system (LEXAS) 平台技术获得一个新型羊毛硫抗菌肽雷克肽 [35]。

利用生物传感器构建高通量的筛选技术, 通过微生物体内蛋白质或者核糖核酸 (RNA), 特异性识别并响应细胞内特定物质, 产生特性的信号输出, 再通过信号输出的强弱与目标产物进行可靠的关联, 实现对目标产物的定量检测。液滴微流控技术的高通量筛选平台具有良好的单细胞分离性能, 可以用于单细胞培养、蛋白表达分析、代谢物检测和多组学分析, 可以实现更高通量和精度的筛选。微生物细胞生长的高通量表型筛选技术, 一般是使用营养缺陷型菌株作为报告系统, 可用于代谢物高产菌株或特定酶的筛选。

2. 微生物药物源头的创新筛选

经典的小分子药物研发流程缓慢, 主要挑战是生产效价低、重复发现率高、新产物分离困难等。高通量技术在微生物药物中的创新应用, 大大提升了新药发现与制造的效率。利用高灵敏度的分离技术和高通量的活性筛选模型, 可以从次级代谢产物中筛选到抗生素、酶抑制剂、免疫调节剂等多种候选药物。小分子次级代谢产物作为先导化合物加以修饰, 有助实现药物分子的结构衍生和具有临床应用价值药物的高效制造。

目前, 随着人工智能技术在微生物领域的发展以及人类对于微生物各功能体系认识的深入, 以优质的微生物资源共享平台为依托, 建立多样化高通量的微生物药物筛选技术, 不仅可以推动微生物药物的创新发现效率, 而且可以为微生物药物的高效绿色智能制造奠定坚实的基础。

四、微生物药物产业的发展机遇与挑战

(一) 微生物药物产业的发展机遇

我国微生物药物资源丰富, 产业基础雄厚, 市场潜力巨大, 在国家扶持力度逐渐增大的背景下,

无疑为产业迅速发展创造了一种良好的外部环境。新型疾病不断涌现且环境问题日益突出，新型药物创制和高效绿色生产依然面临严峻的挑战。丰富的微生物资源、微生物药物创制、微生物制品为基础的诊断技术都使微生物在生物医药领域显现出极大的发展潜力。

特别是在“双循环”经济格局下，强调以国内大循环为主体，庞大的医药内需市场需要有大而高质量的产业供给与其匹配。生物医药产业作为战略性新兴产业、国家经济建设支柱产业正在逐步吸纳各项优质资源，新技术不断涌现，自主创新能力日趋增强；新型资本活跃，加速产业结构重构；利好政策不断出台，推动行业加速变革。微生物药物产业将迎来重大发展机遇。

（二）微生物药物产业发展的挑战

1. 新型病毒和疾病对人类健康带来巨大威胁

自人类 1898 年首次发现病毒以来，已发现病毒的种类达 4000 多种，正在肆虐全球的新型冠状病毒更是持续给全人类带来重大的生命和财产损失。世界卫生组织表示，这是一个面临传染病威胁的时代，没有一个国家可以独善其身。对病原体和传染病的研究要不断跟进，应对公共危机的疫苗和药物的研发更是刻不容缓，这就凸显构建大数据平台的重要作用。

2. 国际发达经济体对数据库等资源的标准制定和掌控封锁是潜在的重大危机

当前生物医药科学领域主要数据资源包括美国国家生物技术信息中心（NCBI）、欧洲生物信息研究所（EBI）、日本 DNA 数据库（DDBJ）。这些数据库和生物医学数据服务大多建于 20 世纪八九十年代，近年来欧美等国家和地区又启动了新的生命大数据中心建设，从国家安全战略层面提升生物医学信息管控和生命大数据利用能力 [36]。我国一方面因专属基因组、蛋白质组数据信息外漏带来潜在风险，另一方面面临数据标准制定及未来掌控数据应用权限的话语权危机。

3. “逆全球化”和“去中国化”背景下的产业链重塑风险加大

在重大公共卫生事件下，医药产业的重要性凸显。欧美已经开始反思产业失衡的影响，美国、法国均提出将医疗供应链转回本国。考虑抗生素在医

疗体系发达国家中的重要作用，不能排除产业链总体回流可能。同时，中国已在去产能，预计在需求减缓下，行业集中度进一步提升。因此，外向型医药企业在经济危机与去全球化中将面临更大的风险与挑战。

4. 科技发展与技术交流阶段性“脱钩”，发展受阻

近年来，中美“科技脱钩”趋势明显，美国出台一系列阻碍双方人才流动，科技流通的相关政策，极大地影响了创新的溢出和知识的传播。我国科技在各个方向上的交流都可能存在一定程度的障碍。只有对知识共享持开放的态度，才是在未来获得成功的基础。因此，应在微生物医药领域及时搭建一套“人才备份系统”。

五、对策建议

（一）统筹创新建立微生物医药大科学装置

充分发挥政府在投入中的引导作用，增设科技支持基金。设立微生物医药产业发展专项科技研发基金，增加科技投入，加强科技基础平台建设。组织国际领先的、融合型微生物相关的大科学装置，构建微生物菌种库、基因和蛋白质信息库、生物靶标库、化合物库、合成生物技术元件库等多层级共享模式的各类资源平台，打造资源共享服务体系，重点支持微生物菌种库等基础设施以及生物医学资源基础设施的建设，建成大数据深度融合、产业应用深化的数据库云平台，具备智能分析能力的生物预测和设计能力，以大科学装置拉动创新生态，实现微生物健康产业的弯道超车。

（二）加强前沿布局，抢占全球技术制高点

紧跟微生物医药领域科技前沿，孕育重大原始创新，汇聚国家科技力量，组织高校、科研机构及领先企业研发实施重大科技研发专项。微生物天然产物药效分子的源头创新，围绕微生物药物合成功能基因挖掘、创新高通量菌株与代谢物分离手段、人工微生物体系设计与基因编辑、高通量生物活性评估等组织科学探索攻关，围绕沉默基因组激活、生物大数据分析预测、单细胞图谱等“卡脖子”技术开展聚焦攻关。

(三) 加强高端人才精准引育和后备人才系统培养

实施更具竞争优势的人才引育政策,通过人才特区专项政策和资金,为微生物药物产业领军型人才、团队完善保障条件,鼓励创新人才实施科技成果转化。建立和完善微生物医药产业领域高级人才信息库,大力吸引“海外智力”建立人才柔性流动机制体制,支持国家、省市级院士专家工作站,搭建产业人才备份系统。

打造更加完备的人才培养发展平台,引导科研院所扩大生物医药类本科与职业技术人才培养规模。采用“嵌入式”人才培养模式,通过校企共建实验室,将人才学历教育“嵌入”产业第一线,将研究生在实验室的学习成果计入学分,加强企业博士后科研工作站建设,创建为企业定制高级人才的新模式。

(四) 加强多元资金保障和体系化产业激励政策

拓展融资渠道。整合现有政策资金和资金渠道,引导发展创投基金、债券基金、天使基金等,构建多层次投资基金体系。地方政府加强对创新型企业开展技术开发业务的财政配套支持,培育和扶持企业直接融资。完善风险投资市场,鼓励各种投资主体建立风险投资机构;建立补偿机制,完善退出机制,鼓励风险投资实行灵活的产权流转和交易制度。

打造更具引领性的国际级微生物产业集群。充分发挥各地方的积极性,依托现有生物产业基地、园区和集群,有步骤、有重点地推动若干生物经济集群建设,促进人才、技术、资金等资源向优势区域集中,引导生物产业特色化、集聚化发展,使生物产业在地方促进产业转型升级中发挥引领作用。

参考文献

- [1] Abdel-Razek A S, El-Naggar M E, Allam A, et al. Microbial natural products in drug discovery [J]. *Processes*, 2020, 8(4): 1–19.
- [2] Newman D J, Cragg G M. Natural products as sources of new drugs over the nearly four decades from 01/1981 to 09/2019 [J]. *Journal of Natural Products*, 2020, 83(3): 770–803.
- [3] Demain A L, Sanchez S. Microbial drug discovery: 80 years of progress [J]. *Journal of Antibiotics*, 2009, 62(1): 5–16.
- [4] 生物医药产业“十二五”开局 [J]. *中国经济和信息化*, 2011 (9): 74–75.
The status of biopharmaceutical industry at the “12th Five-Year Plan” opening [J]. *China Economy & Informatization*, 2011 (9): 74–75.
- [5] 李炎炎,高山行.中国生物医药产业发展现状分析——基于1995—2015年统计数据 [J]. *中国科技论坛*, 2016 (12): 42–47, 97.
Li Y Y, Gao S X. Biopharmaceutical industry's developing situation based on statistical data from 1995 to 2015 [J]. *Forum on Science and Technology in China*, 2016 (12): 42–47, 97.
- [6] Kudo F, Eguchi T. Aminoglycoside antibiotics: New insights into the biosynthetic machinery of old drugs [J]. *Chemical Record*, 2016, 16(1): 4–18.
- [7] 郝天怡,赫卫清.大环内酯类抗生素代谢工程的研究进展 [J]. *生物工程学报*, 2021, 37(5): 1737–1747.
Hao T Y, Hao W Q. Advances in metabolic engineering of macrolide antibiotics [J]. *Chinese Journal of Biotechnology*, 2021, 37(5): 1737–1747.
- [8] 李振,殷瑜,陈代杰.四环素类抗生素的复苏 [J/OL]. *中国抗生素杂志*: 1–7. [2021-09-06]. <https://doi.org/10.13461/j.cnki.cja.007168>.
Li Z, Yin Y, Chen D J. The tetracyclines resuscitation [J/OL]. *Chinese Journal of Antibiotics*: 1–7. [2021-09-06]. <https://doi.org/10.13461/j.cnki.cja.007168>.
- [9] 孟思童.林可霉素生物合成的高产及硝酸盐效应机制解析 [D].上海:上海交通大学(博士学位论文),2017.
Meng S T. Overproduction mechanism and nitrate stimulating effect on Lincomycin biosynthesis [D]. Shanghai: Journal of Shanghai Jiaotong University (Doctoral dissertation), 2017.
- [10] 谢婷,刘守强,张宏周,等.林可霉素生产中三级种子罐的发酵工艺优化 [J]. *微生物学通报*, 2020, 47(12): 4359–4365.
Xie T, Liu S Q, Zhang H Z, et al. Optimization of fermentation process of the third-stage seed fermenter in lincomycin production [J]. *Microbiology China*, 2020, 47(12): 4359–4365.
- [11] Gordaliza M. Natural products as leads to anticancer drugs [J]. *Clinical & Translational Oncology*, 2007, 9(12): 767–776.
- [12] 赵东方,何荣景,侯旭东,等.源于天然的酶抑制剂高效发现及评价新技术:进展与展望 [J]. *上海中医药大学学报*, 2021, 35(1): 1–11, 19.
Zhao D F, He R J, Hou X D, et al. New technologies for efficient discovery and evaluation of natural enzyme inhibitors: Research progress and perspectives [J]. *Academic Journal of Shanghai University of Traditional Chinese Medicine*, 2021, 35(1): 1–11, 19.
- [13] 唐章勇,唐灿.酶抑制剂筛选的研究进展 [J]. *上海医药*, 2007 (3): 117–119.
Tang Z Y, Tang C. Research progress in screening enzyme inhibitors [J]. *Shanghai Medical & Pharmaceutical Journal*, 2007 (3): 117–119.
- [14] Kisukuri C M, Andrade L H. Production of chiral compounds using immobilized cells as a source of biocatalysts [J]. *Organic & Biomolecular Chemistry*, 2015, 13(40): 10086–10107.
- [15] Wang G, Haringa C, Noorman H, et al. Developing a computational framework to advance bioprocess scale-up [J]. *Trends Biotechnol*, 2020, 38(8): 846–856.
- [16] Elibol M. Product shifting by controlling medium pH in immobilised *Streptomyces coelicolor* A3(2) culture [J]. *Process Biochemistry*, 2002, 37(12): 1381–1386.
- [17] Chakravarty I, Kundu S. Improved production of Daptomycin in an airlift bioreactor by morphologically modified and immobilized

- cells of *Streptomyces roseosporus* [J]. *AMB Express*, 2016, 6(1): 101.
- [18] Tan Z L, Zheng X, Wu Y, et al. In vivo continuous evolution of metabolic pathways for chemical production [J]. *Microb Cell Fact*, 2019, 18(1): 82.
- [19] Douma R D, Verheijen P J T, de Laat W T A M, et al. Dynamic gene expression regulation model for growth and penicillin production in *penicillium chrysogenum* [J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2010, 106(4): 608–618.
- [20] Veiter L, Kager J, Herwig C. Optimal process design space to ensure maximum viability and productivity in *Penicillium chrysogenum* pellets during fed-batch cultivations through morphological and physiological control [J]. *Microb Cell Fact*, 2020, 19(1): 33.
- [21] Schadel F, Franco-Lara E. Rapid sampling devices for metabolic engineering applications [J]. *Applied Microbiology Biotechnology*, 2009, 83(2): 199–208.
- [22] Weber T, Charusanti P, Musiol-Kroll E M, et al. Metabolic engineering of antibiotic factories: New tools for antibiotic production in actinomycetes [J]. *Trends in Biotechnology*, 2015, 33(1): 15–26.
- [23] 欧竑宇. 链霉菌基因组岛和次生代谢物合成相关的生物信息学工具及数据库 [J]. *微生物学通报*, 2013, 40(10): 1909–1919.
Ou H Y. Bioinformatics tools and databases focused on genomic islands and secondary metabolite biosynthesis of *Streptomyces* [J]. *Microbiology China*, 2013, 40(10): 1909–1919.
- [24] Doroghazi J R, Albright J C, Goering A W, et al. A roadmap for natural product discovery based on large-scale genomics and metabolomics [J]. *Nature Chemical Biology*, 2014, 10(11): 963–968.
- [25] Medema M H, Blin K, Cimermancic P, et al. antiSMASH: Rapid identification, annotation and analysis of secondary metabolite biosynthesis gene clusters in bacterial and fungal genome sequences [J]. *Nucleic Acids Research*, 2011, 39: W339–346.
- [26] Boddy C N. Bioinformatics tools for genome mining of polyketide and non-ribosomal peptides [J]. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 2014, 41(2): 443–450.
- [27] Lyu J M, Hu D, Gao H, et al. Biosynthesis of helvolic acid and identification of an unusual C-4-demethylation process distinct from sterol biosynthesis [J]. *Nature Communications*, 2017, 8(1): 1644.
- [28] Malico A A, Nichols L, Williams G J. Synthetic biology enabling access to designer polyketides [J]. *Current Opinion in Chemical Biology*, 2020 (58): 45–53.
- [29] Ajikumar P K, Xiao W H, Tyo K E, et al. Isoprenoid pathway optimization for Taxol precursor overproduction in *Escherichia coli* [J]. *Science*, 2010, 330(6000): 70–74.
- [30] Zhou Y J, Gao W, Rong Q, et al. Modular pathway engineering of diterpenoid synthases and the mevalonic acid pathway for multiradiene production [J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2012, 134(6): 3234–3241.
- [31] Paddon C J, Westfall P J, Pitera D J, et al. High-level semi-synthetic production of the potent antimalarial artemisinin [J]. *Nature*, 2013, 496(7446): 528.
- [32] Ozber N, Watkins J L, Facchini P J. Back to the plant: Overcoming roadblocks to the microbial production of pharmaceutically important plant natural products [J]. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 2020, 47(9–10): 815–828.
- [33] Menchaca R, Martinez V, Rodriguez A, et al. Synthesis of natural ecteinascidins (ET-729, ET-745, ET-759B, ET-736, ET-637, ET-594) from cyanosafracin B [J]. *Journal of Organic Chemistry*, 2003, 68(23): 8859–8866.
- [34] 卢俊南, 褚鑫, 潘燕平, 等. 基因编辑技术: 进展与挑战 [J]. *中国科学院院刊*, 2018, 33(11): 1184–1192.
Lu J N, Chu X, Pan Y P, et al. Advances and Challenges in Gene Editing Technologies [J]. *Bulletin of Chinese Academy of Sciences*, 2018, 33(11): 1184–1192.
- [35] Xu M, Zhang F, Cheng Z, et al. Functional genome mining reveals a class v lanthipeptide containing a d-Amino acid introduced by an F420 H₂-dependent reductase [J]. *Angewandte Chemie-International Edition*, 2020, 59(41): 18029–18035.
- [36] 胡黔楠, 吴玲, 涂伟忠, 等. 微生物药物生物合成知识库研究进展 [J]. *生物产业技术*, 2015 (6): 59–62.
Hu Q N, Wu L, Tu W Z, et al. The trends in microbial drug biosynthetic databases [J]. *Biotechnology & Business*, 2015 (6): 59–62.