

# 生物分离纯化:难跑的最后一棒

■本报记者 王庆



科学家利用层析系统开发高效的蛋白分离介质。 诺维信供图

注射疫苗出现副作用,使用血液制品感染疾病,热销的生物制品紧急召回……这样的消息接连见诸报端。这在国家生化工程技术研究中心(北京)首席科学家苏志国看来,出现上述问题的背后,可能都是生物分离纯化技术不过关在“捣鬼”。

“生物制药对纯度要求颇高,需要通过生物分离纯化技术将有害物质或杂质去除,但又不能破坏目标产物的活性,其过程十分复杂。”苏志国说,包括生物制药在内的生物技术各相关产业流程,到最后都绕不过分离纯化这一步。

业内人士更是形象地将分离纯化技术,比作作为生物技术产业化的“最后一棒”,而跑过的人都知道这一棒的艰难程度。

### 不可替代的产业角色

根据业内人士的共识,生物技术有所谓的上、下游之分。习惯上,把由生物学家从事的工作,包括分子生物学、生物化学、生物物理学以及遗传、育种、细胞培养、代谢等的研究划分为上游技术,而把生物技术初级制品的进一步分离、纯化、精制,进而制成最终产品的过程统称为下游技术。

因此,生物分离纯化技术常常被称作生物技术的下游工程。

从工业流程上来看,分离纯化技术也是距离终端产品最近的关键一步。

在生物技术科研和生产过程中,存在着大量的蛋白质、多肽和核酸等大分子的分析、分离和纯化工作,需要高效快速的分析、分离和制备方法。

而生物分离纯化技术又有别于传统的化学分离方法。全球最大生物酶制剂生产商诺维信中国研发部高级经理吴桂芳向《中国科学报》记者表示:“与化学方法相比,生物分离纯化要保护生物分子的活性,通常需要低温、特定的酸碱度、渗透压等。”

苏志国进一步解释,化学分离法通常利用物质挥发度的不同,比如蒸馏、精馏,通过加热来分离;但对于生物分子,例如蛋白质,通过加热就容易失去活性,所以传统化学方法往往不适用于具有生物活性产物的分离纯化。因此,生物分离纯化技术具有不可替代的产业角色。

据吴桂芳介绍,在生物制品的生产流程中,分离纯化成本一般占总成本的60%以上,主要是因为分离过程中的选择性不高,有效成

分损失多。对于一些对终端产物纯度要求高的产品,分离步骤越多,产物的最终收率越低。

特别是用于临床的生物医药产品,不仅要达到很高的纯度,而且还要在分离过程中最大限度地保持其生物活性,因为一旦失活,不仅失效,甚至可能产生有毒有害物质。苏志国认为,不合格疫苗等生物制品在人体出现副作用,其背后往往存在生产企业生物分离纯化技术不过关的问题。

### 令学者又爱又怵

据苏志国观察,很多学生非常愿意学习生物分离纯化技术,甚至从其他专业“投奔”过来。“因为产业需求大,很多企业都需要这方面人才,毕业生好找工作。”

而与此形成鲜明对比的是,国内长期在这一领域从事研究的学者却并不多。

苏志国对《中国科学报》记者说:“有别于大多数基础科学研究,生物分离纯化技术的应用性很强,需要产业实践来检验,很难出理论

成果,也不容易在国际一流期刊上发论文。”

该领域的科研人员还需要直面来自企业的压力。花了真金白银的企业不会在乎学者发了多少文章,而是看能不能解决产业化问题。因此,研究者对于从事生物分离纯化技术研究的矛盾心理也就不难理解了。

那么,生物分离纯化技术到底难在哪里?

马宁宁来自北京义翔神州生物技术有限公司。该公司以蛋白和抗体生产见长,去年还被世界知名生物技术公司 Life Technologies 选为战略合作伙伴。身为研发副总经理的他对于生物分离纯化技术之难深有体会。

据他介绍,生物活性物质对外界很敏感,具有天生的不稳定性,对分离条件要求高,从而限制了分离的手段,而同时其分离和纯化又是一个非常复杂的过程。

例如,生物合成的发酵液或反应液是很复杂的多相体系。它含有微生物细胞、细胞碎片、代谢产物、未用完的培养基等,杂质含量较高,而目标产物的浓度却非常低,常常不到百分之一甚至千分之一;有的杂质还具有与产物非常

相似的化学结构及理化性能,很难去除;目标产物具有生理活性物质,极不稳定,遇热或遇某些化学试剂极易失活或分解,还容易受到环境微生物的污染,因此常常要求在无菌条件下进行分离纯化。

### 受制于人的局面必须打破

生物分离纯化的复杂性,直接导致了其工艺流程长、需要的设备多,对原材料要求高等特点。

而在生物分离纯化领域,我国生物产业却面临着受制于国外厂商的尴尬局面。

马宁宁表示,有些设备和原材料看似简单,但对精度和GMP规范符合程度的要求很高,国内还不能生产,只能从国外进口。

“例如色谱柱,国内产品精度和强度能达到生物制药生产要求的很难找到。”他对《中国科学报》记者说,“再比如分离介质,进口产品在国外的售价要比在原产国高出50%-100%。”

苏志国认为,这意味着我国具有战略意义的生物产业,其命脉却掌握在别国手中。“长期以来我国生物分离纯化关键技术、设备和部分原材料依靠国外引进,这是发展阶段所决定的,但我们若想实现生物技术新产品的创制,就必须打破这一局面。”

他建议,应加强生物分离纯化技术的基础研究,“因为基础科学是原动力,而如何在复杂系统中分离生物产品,其中某些科学规律还不清楚”。

而各个被访者均重点阐述的,就是要攻克在设备和原材料方面的难题,其中又以分离介质为甚。

吴桂芳表示,应针对特定的产品开发高选择性的分离纯化介质,从而缩短分离流程,提高产品得率。这需要材料学、化学、生物技术及化学工程的紧密合作,并与终端市场需求、生产企业需求紧密合作。

据马宁宁观察,分离纯化介质虽然附加值高,但由于用量低,并且技术要求高,对于习惯生产低端大宗工业品的企业不具吸引力,还需依靠有技术优势的中小企业来开发,但这些企业又因规模小不受国家重视。

他认为,国家在选择扶持对象时,应该更多关注于某个细分领域的小企业,“这样的企业非常重要,没有它们,现代化的生物技术产业链就无法建立,这些小公司不该被忽视”。

### 记者手记

## 产业化长跑不能倒在冲刺阶段

科技产品从基础研究到投放市场,会经历漫长的过程。如果把这比作长跑,那生物技术产业化就是马拉松。

这段时间记者接连跑了两家生物技术企业,其负责人无不感慨生物产业的煎熬:多少品种在中试阶段表现良好,结果一放大生产就功亏一篑。

而生物分离纯化正是产业化冲刺阶段的关键技术。

我们常说,不要输在起跑线上。经过近些年的努力,我国在生物技术基础研究上的成果可谓丰硕,已成为在国际顶级期刊上发表论文的常客。

而在距离产业化最近的生物分离纯化阶段,我们同样需要强大的合力共同攻坚。

与大多数基础科学不同,生物分离纯化技术研究的应用性很强,需要产业实践来检验,很难出理论成果,也不容易在国际一流期刊上发论文,不少学者望而却步或者来了又走。

那么,能不能针对这一特点调整科研评价体系,把更多优秀学者吸引过来呢?

生物分离纯化过程复杂,涉及多种设备和原材料,其中有些虽然附加值高,但由于用量低,并且技术要求高,对于习惯生产低端大宗工业品的企业不具吸引力,还需依靠有技术优势的中小企业来开发,但这些企业往往规模小,抗风险能力差,一个订单被国外抢走就可能倒闭。

它们就像机器上的一颗颗螺丝钉,易被忽视但又不可或缺。它们期盼扶持政策的甘露。国家能否鼓励更多的中小企业专于某一细分领域,给起跑不久的它们推上一把,这样,生物产业的整体才能尽早抵达终点。

### 演绎绿色农业神话 传播神农故里科技

# “杨凌绿都”之梦

■本报记者 张行勇

东风好作阳和使,逢草逢花报发生。中华农耕文明的发祥地——杨凌,在这万物复苏的春天里,黄土地里散发着让人陶醉、催人向上的气息。又到春耕农忙时。播下希望的梦想,期盼收获的喜悦。

### 农民的梦

“我的梦想就是能有更多像杨凌绿都生物科技有限公司研发生产的‘绿都菌剂1号’一样的科技成果用在我这两个大棚生产中,使一个棚一季草莓或西红柿收入由5万多元提高到10万元。”杨陵区五泉镇王上村的曹增平满怀欣喜地说。

“现在种地的人越来越少,地里、大棚里基本没有年轻人的影子。原因是本来不多的土地被征走的不少,一人或一家若只种1亩或2亩地那基本上不挣钱!如遇上病虫害,再不靠科技成果只有喝西北风了!当下有好科技是妙方,是梦想。”同村的王满勋说。

### 老板的梦

“自己吃的苦相对同龄人多一些,一言难尽!经历这些年的风雨之后,目前最大的梦想就是让农民兄弟用上真正的国际创新水平的生物菌剂、微生物菌肥等制剂,增产增收,让人们不但吃出美味还吃出健康。”杨长锁用其一贯的神态阐述道。

杨长锁,杨凌绿都生物科技有限公司董事长。1964年出生于杨凌五泉乡上湾村,为家中五个孩子中的老大,自幼家庭生活拮据,但不屈服命运,勇敢创业。2012年公司资产总额2601万元,其中固定资产585多万元。

杨长锁,个头不高,不苟言笑,一双不大的眼睛显露出朴实、内敛、坚毅的个性。在其14岁的暑假,带着10岁的弟弟杨轩拉着架子车到集镇上贩卖生产队的苹果,日挣6元钱,大喜。自此喜欢倒腾小生意。

1988年,杨长锁高中毕业后有幸成为五泉乡中学的一名代课老师。为替父母承担更多的生活重担,故而在节假日悄悄地倒腾服装、蔬菜、瓜果及农资产品,赚些小钱。

时光飞转到1996年的春天,在看不到成为国家正式中学教师的可能和受到多年做小生意的好处的吸引,杨长锁辞去代课老师的工作,专职做当时杨凌一家小企业生产的植物生长调节剂产品——“红果88”的销售员。

历经闯东北、涉华南、跑华东、挺进中原、跨



►杨长锁(左一)、安德荣(左二)、杨轩(右一)等在观察菌株培养情况。

海到海南,他跑遍了上述区域的乡间小路和田间地头,到2002年实现年销售200万元,算赚了第一桶金。

2003年4月,与辞去中航514厂团干部的杨轩联手创建杨凌绿都生物科技有限公司,生产销售腐殖酸水溶性肥料。2007年,投资700万元入驻杨凌高新农业示范区工业园区,寻求更大的发展。

“自己长期做农资产品,特别是‘红果88’一类化学合成的产品,经常因农民使用不当而造成农产品里残留含量高、污染土壤,遗留问题多。因此,自己一直寻找这方面的无污染的生物学研究,曾去西农大学、南京农业大学、北京大学等咨询、寻找,均没有一种可以在生产上实现工业化生产的有益微生物菌株成果。”杨长锁说。

据了解,一般有益微生物菌株都不耐高温,只能在60℃以下存活而无法实现产业化。这也是目前微生物产业发展的一个普遍性的制约瓶颈。

杨长锁再次强调:“我是对科研成果水平要求比较高的人,做生意、企业的信念是‘四两拨千斤’!这个‘四两’就是最先进的科技创新成果。”

### 教授的梦

众里寻她千百度,蓦然回首,那人却在灯火阑珊处。

在寻找不到好成果的失意之时,一位朋友向杨长锁建议可与西北农林科技大学植物保护学院资源微生物学专家安德荣教授联系。

“自己上西北农林科大、留学德国、回国教学与项目研究,一直都是资源微生物学专业,梦想就是让每项研究成果都实现产业化,产生效益。”性格直率、睿智的安德荣说。

据记者了解,安德荣的人生信条之一就是“奋斗一生,上下求索”。他信奉作研究的最高境界就是实现成果的产业化和市场化,仅发表论文不是追求的全部!

历经30余年,安德荣带领研究生、课题组成员通过从秦岭原始森林土壤中采集特有微生物菌株,分离鉴定,建立数十万株微生物菌库,直到从中筛选出解淀粉芽孢杆菌Ba168。

研究证明,解淀粉芽孢杆菌Ba168是一种高效、杀菌谱广、抗逆性强,对作物、非靶标生物及环境安全的生物菌株,并经中国科学院微生物研究所16S rDNA基因序列和gyrB基因序列测定,被确定为解淀粉芽孢杆菌,为原创

性科技成果,达到国际领先水平,取得发明专利2项,新型实用专利1项等,相关研究成果论文30多篇发表于国际知名期刊《作物保护》(Crop Protection)和国内的《植物保护学报》等期刊。

尤其是Ba168菌株对高温、酸碱和紫外线有着极强的抗性,非常适合研发成高活性微生物制剂,保证了产品在生产、贮存、运输中的质量稳定性和大田中具有的生物防治功效。

但是,实验室创新成果到实现规模化应用需要一个企业支撑的平台。因为菌株还是不能够用到大田的产品。

实现梦想需要现实物质等客观条件的支撑。

### 梦想实现的平台

杨长锁、杨轩与安德荣协作后,组建研发实验室和成立以安德荣为首席科学家的5位教授、博士为骨干的研究团队,发挥绿都生物科技有限公司研发和生产肥料的技术优势,研制出多功能微生物菌剂——绿都菌剂1号。经西安交通大学医学院“大鼠急性经口毒性试验”和“大鼠急性经皮毒性试验”,结果表明:绿都菌

剂1号属无毒类。

在陕西、福建、云南、山西、河北等地应用表明,该菌剂具有抗病抑菌、促进生长、活化土壤的多重功效,3年来已累计推广面积790.27万亩。

中国农业发展银行杨凌示范区分行经过考察、论证等程序后,决定支持发展这一具有典型意义的战略新兴生物产业项目,发挥金融在科技资源统筹中的作用,使绿都生物科技公司也作为能起起到杨凌农业示范区探索、示范、引领、带动干旱半干旱地区乃至全国农业向现代化发展的使命任务的一个代表企业。

目前,杨凌绿都生物公司建设的年产1000吨的新型解淀粉芽孢杆菌生物制剂生产线车间即将竣工,产品用于种植业、养殖业生产过程,将起到促进作物生长、提高品质以及防治多种真菌和细菌传播的土传病害的三大功效,可以减少化学肥料的过度使用,筑起生态环境和食品安全的第一道防线,成为一些乡村实现由植物、动物资源为主组成的“二维结构”传统农业,转变为植物种植业、动物养殖业和微生物发酵转化业的“三维结构”现代农业发展案例。因为菌剂无药物残留、无环境污染、见效快,能大幅度降低成本,深受广大农民喜爱。仅以陕西的果业生产计算,陕西苹果种植面积1000万亩,猕猴桃面积30万亩,5000吨的生物菌剂,可用于50万吨的生物有机肥生产,可直接供应或带动100万亩有机果园的施肥,实现果园土壤有机质提升和果品品质改善,并向市场提供400万吨有机苹果(苹果产量4吨/亩),或作为生防制剂用于设施农业生产,有效解决面积200万亩设施农业土地的连作障碍问题。

农民的梦、老板的梦、教授的梦在协同创新的平台上不断交织、相互支撑,经历反复坎坷的实践磨合、融合,正走在实现“杨凌绿都之梦”的征程上。

“杨凌绿都”之梦——打造国际知名,国内一流的芽孢杆菌生产基地。“杨凌绿都”的实现过程也是编织和实现广袤田野绿色农业、农民增收富裕梦的过程。

中国梦,最终是由一个个鲜活生动的个体梦想会聚而成。你的梦、他的梦、企业的梦……每一个人的奋斗努力,都是中国梦的组成部分。中国梦的实现,必须紧紧依靠人民的力量奋斗。

相信这一天并不遥远。因为中国微生物学奠基人、中科院院士魏曦讲过:抗生素之后的时代,必将活菌制剂时代的到来。