

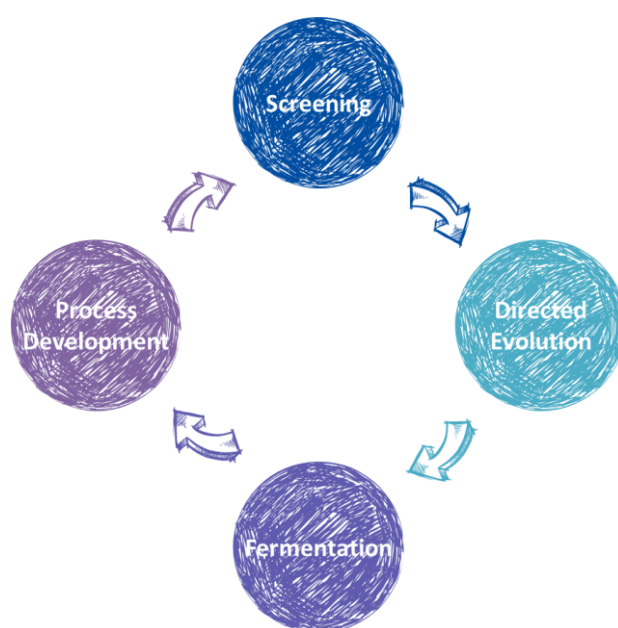
酶催化技术

酶的筛选、进化、发酵与工艺开发

PharmaBlock

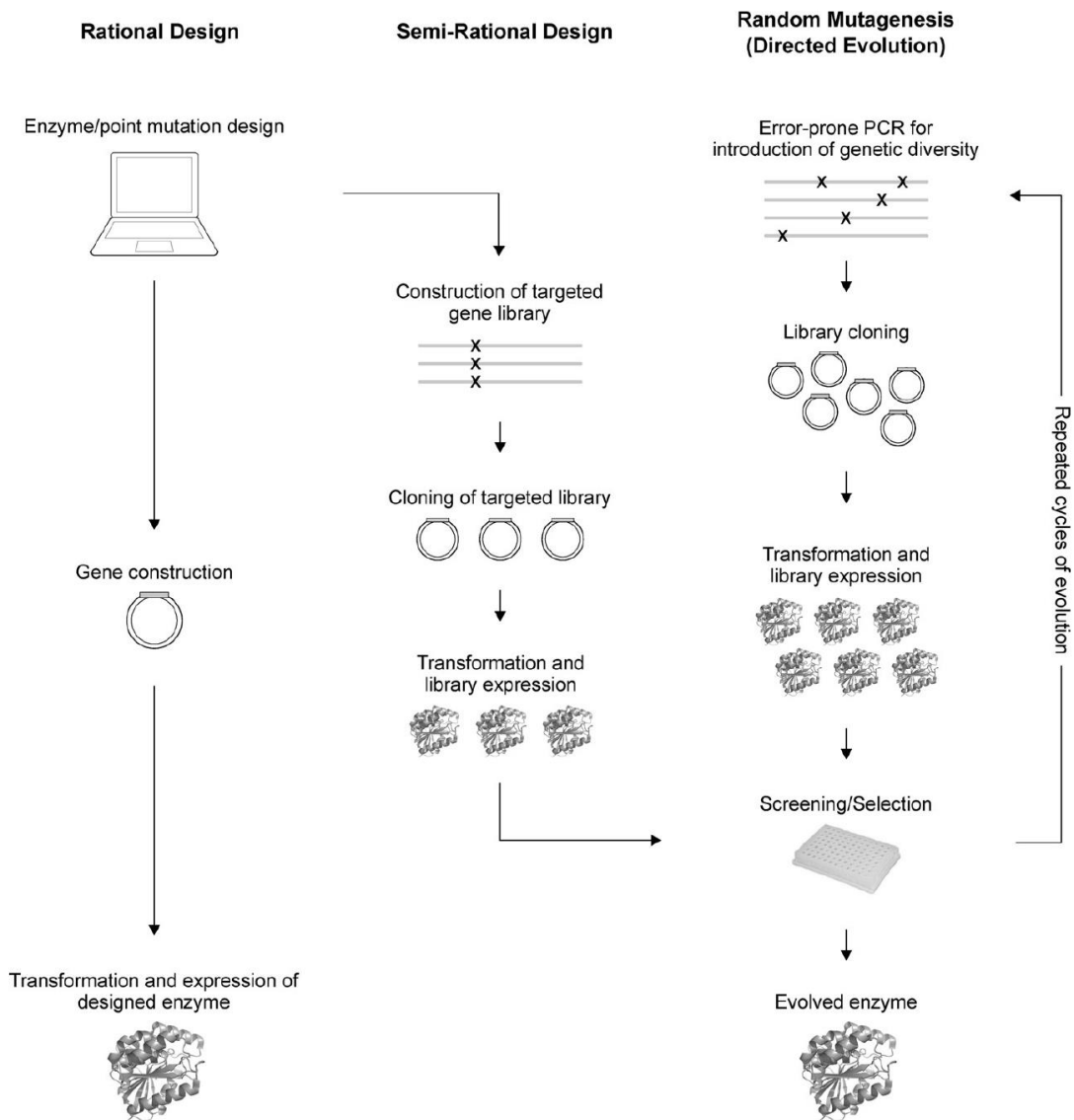
发现和应用高效、经济及环境友好的技术来推进药物发现和生一直是制药行业的重要目标。

其中，生物催化因其高选择性(化学选择性、区域选择性和立体选择性)、温和的反应条件和可进化的催化性能而突出。酶库筛选、定向进化、酶发酵生产和化学酶工艺开发形成的酶催化技术流程可以帮助原料药和中间体的工艺开发和精益生产。



目前在小分子合成中使用最广泛的酶包括酮还原酶 (KRED)、转氨酶 (ATA)、脂肪酶、腈水解酶和氧化酶。其他一些新兴酶在工业中的用途越来越多，例如烯还原酶、亚胺还原酶和氨基脱氢酶。用于小分子合成的酶库不断扩大，越来越多类型的化学转化逐渐拥有了它们的生物催化解决方案。

酶工程，特别是酶定向进化，除了拓宽酶的种类外，还在反应活性、选择性、pH或温度相容性等催化性能方面提供了一种明确而精确的方法来修饰和提高酶的性能。通过引入氨基酸突变，进化出的酶可以表现出催化性能的改变。通过优选改良后的酶进行逐轮的进化，科学家们可以实现“定向进化”以实现更好的催化性能。定向进化的策略有随机突变、半理性设计和理性设计三种（如下图），在现有技术条件下前两种对工业具有较好的实用价值。



*参考文献：Porter, J. L.; Rusli, R. A.; Ollis, D. L. Directed Evolution of Enzymes for Industrial Biocatalysis. *ChemBioChem* 2016, 17, 197–203.

重点难点

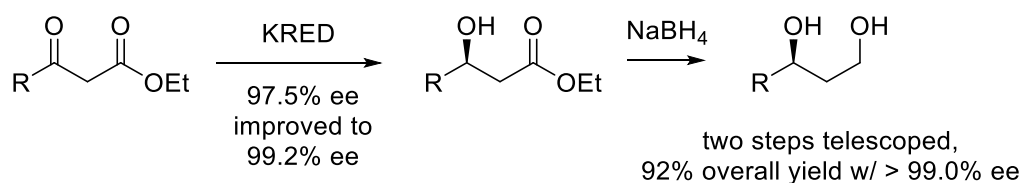
尽管路线图非常清晰，但是酶的进化技术在新药工艺开发特别是 CDMO 行业中的应用依然存在很大的挑战，如何加速酶的定向进化以满足多变且快速的交付需求是其中的核心问题。

首先，大多数情况下难以直接在已有酶库中筛选获得令人完全满意的酶。定向进化过程又需要一轮又一轮的循环，耗费大量而且难以预计的时间和资源，特别是随机突变，极端情况下甚至需要测试数百万个突变体。更让工艺化学开发人员头

疼的是，以上的种种投入还未必能够保证获得理想的酶催化剂。而在新药开发中，时间是最宝贵的。尝试解决该困境的一个可能方法是使用“聪明”酶库，也即数量较少而质量较高的酶库作为筛选起点。它既可以提供有用的酶，即使无法一步到位，也往往能够提供进一步进化的高质量起点。基于这样的酶库，进化通常可以依靠半理性的设计，大大节省了时间和资源。

过去，酶进化服务和化学 CDMO 服务往往是由不同的供应商提供，针对客户的项目需要进行包括新药开发客户在内的三方对接。然而，这两个服务供应商之间的沟通协作存在着很多壁垒，生物学、化学、工程等方面的知识和经验很难在多供应商之间流畅地形成合力。比如，化学反应的底物结构、反应条件优化和底物质量控制等要素对于生物学研究背景的酶进化服务供应商而言无异于黑盒子，其实这些要素对于酶催化反应的开发和生产应用也是同等重要的。将酶进化服务集成到 CDMO 中必然可以降低成本，缩短交付时间，提高交付质量，提供更好的一站式体验，其实这也是近几年 CDMO 行业纷纷建设酶进化技术平台的一个重要原因。

案例分享：半理性进化快速提高酶的活性和立体选择性



在该反应中，步骤 1 是 KRED 催化的酮的对映选择性还原，步骤 2 使用 NaBH₄ 产生第二个羟基。筛选中，我们发现药石的内部酶库的一个 KRED 的 ee 值可达 97.5%，转化率方面也表现较好，在反应 5 小时后可达到 99%。团队立即确定了进化的目标：一是 ee 选择性需要进一步提高到至少 99.0%，二是酶的活性需要更高，尽可能避免原料酮的剩余，因为任何残留的酮都会在步骤 2 中无选择性地还原为醇并降低终产品的 ee。

基于我们以往的知识经验，我们对这个较高水平的起点酶采用了半理性进化。我们设计并测试了 20 种进化的酶，很幸运地找到了一种酶能同时满足上述两种改进要求。团队在一周内就完成了这个快速的进化，在第二周中完成了随后的酶

发酵和公斤级反应。本案例展示了药石酶库和进化策略的成功应用，以及生物催化和化学酶促工艺开发的综合能力。

药石的优势与亮点

药石科技拥有内部酶库，并辅以许多优质商业酶。随着大量进化项目的实施，我们的酶库也在不断扩大和优化。此外，分子砌块极大地帮助了我们的生物催化能力的发展，多种多样的分子砌块结构给我们的酶进化赋予了非常丰富的“进化压力”，进而形成了异常丰富的酶库。我们的团队和药石酶库一起在快速而多样的项目中也得到了持续的进化和提升，在许多 CDMO 项目中已经展示了我们的能力。



未来一瞥

生物催化团队已经具备了公斤级发酵生产的设备和能力，更大规模的发酵工厂也在计划之中。通过与我们的工程和设备团队的合作，我们也将进一步探索固定酶和新型生物反应器等前沿领域。为客户提供更好、更快、更经济的生物催化解决方案是我们一直以来的目标。

关于作者



王苑先 博士

催化研发总监
明尼苏达大学有机化学博士
北京大学化学学士、经济学学士
已发表 6 篇 SCI 文章

联系我们

南京药石科技股份有限公司

电话: +86-400 025 5188

邮箱: sales@pharmablock.com

官网: www.pharmablock.com

美国药石公司

电话 : 1-877 878 5226 / 1-267 649 7271

邮箱: salesusa@pharmablock.com



PharmaBlock