

近年来，我国体外诊断行业发展迅速，已成为全球IVD增速最快的市场之一。

目前，我国拥有比较完整的体外诊断产业链，包括上游原材料供应环节、中游仪器和试剂研发生产和销售环节，以及下游需求市场等。其中原材料尤其是核心原材料的质量决定着体外诊断试剂产品的质量。

上游的核心原料包括酶、血清引物、抗原、抗体等生物制品，此外还包括各种精细化学原料，如缓冲剂、各种氨基酸及有机酸等。其中酶是应用最为广泛的核心生物原料，包括酶、辅酶、酶底物，如辣根过氧化物酶、抗坏血酸氧化酶、蛋白酶K等，广泛用于生化、免疫、分子、POCT、凝血、血糖等几乎所有的体外诊断子领域。

酶 (enzyme) 是由活细胞产生的、对其底物具有高度特异性和高度催化效能的蛋白质或RNA。酶的催化作用有赖于酶分子的一级结构及空间结构的完整。若酶分子变性或亚基解聚均可导致酶活性丧失。

酶是一类极为重要的生物催化剂 (biocatalyst)。由于酶的作用，生物体内的化学反应在极为温和的条件下也能高效和特异地进行。

酶的化学本质是蛋白质 (protein) 或RNA (Ribonucleic Acid)，因此它也具有一级、二级、三级，乃至四级结构。按其分子组成的不同，可分为单纯酶和结合酶。仅含有蛋白质的称为单纯酶；结合酶则由酶蛋白和辅助因子组成。例如，大多数水解酶单纯由蛋白质组成；黄素单核苷酸酶则由酶蛋白和辅助因子组成。结合酶中的酶蛋白为蛋白质部分，辅助因子为非蛋白质部分，只有两者结合成全酶才具有催化活性。(先达分子诊断用酶)

酶的历史

18世纪清朝

康熙年间，提出了“酶者，酒母也”，现代汉语的意思就是酒之母，酒乃酶所生。

1814年，原俄国科学院院士Ckirc hoffK用少量的麦芽

提取液在室温下使淀粉转变为糊精和糖，初步认识了酶的催化作用，开始了酶的研究。

1833年，法国化学家Anselm Payen和ean-Francois Persoz，用乙醇从麦芽中提取淀粉酶，用于棉布退浆

。描述了从大麦的麦芽中分离淀粉酶多聚体的过程，并将之命名为淀粉酶 (diastase) 意思是“分离”。这是第一个无细胞制剂，并指出了它的催化特性和热不稳定性。

1836年，德国生理学家Theodor Schwann发现了一种可以溶解肉类的物质，这种物质在高温遇热后会失去作用，而且，它只是在强酸性环境中才能发挥作用。在研究消化过程时，分

离出一种在胃内消化蛋白的物质，将它命名为胃蛋白酶，用作消化药。

1857年，巴斯德提出酒精发酵是酵母细胞活动的结果。

1896，Eduard Buchner研究酵母时发现，酵母的无细胞抽提液也能将糖发酵成酒精。他把这种能发酵的蛋白质称为酒化酶 (eymase) ，表明酶能以溶解状态、有活性状态从

破碎细胞中分离出来而

非细胞本身。促进了酶的分离和对其理化性质

的探讨。酶学研究于此，Buchner获得了1907年诺贝尔化学奖。

1896年，日本高峰让吉发现了从米曲中制得高峰淀粉酶，用作消化剂，开启了酶应用生产的时代。

1926年，美国科学家萨姆纳

(J.B.Sumner , 1887—1955) 从刀豆种子中提取出脲酶的结晶，并通过化学实验证实脲酶是一种蛋白质。

20世纪30年代，科学家们相继提取出多种酶的蛋白质结晶，并指出酶是一类具有生物催化作用的蛋白质。

20世纪80年代，美国科学家切赫 (T.R.Cech , 1947—) 和奥尔特曼 (S.Altman , 1939—) 发现少数RNA也具有生物催化作用。

根据酶所催化的反应性质的不同，将酶分成七大类

01、氧化还原酶类 (oxidoreductase)

促进底物进行氧化还原反应

的酶类，是一类催化氧化还原反应的酶，可分为氧化酶和还原酶两类。

02、转移酶类 (transferases)

催化底物之间进行某些基团 (如乙酰基、甲基、氨基、磷酸基等) 的转移或交换的酶类。例

如，甲基转移酶、氨基转移酶、乙酰转移酶、转硫酶、激酶和多聚酶等。

03、水解酶类 (hydrolases)

催化底物发生水解反应的酶类。例

如，淀粉酶、蛋白酶、脂肪酶、磷酸酶、糖苷酶等。

04、裂合酶类 (lyases)

催化从底物 (非水解) 移去一个基团并留下双键的反应或其逆反应的酶类。例如，脱水酶、脱羧酶、碳酸酐酶、醛缩酶、柠檬酸合酶等。许多裂合酶

催化逆反应，使两底物间形成新化学键并消除一个底物的双键。合酶便属于此类。

05、异构酶类 (isomerases)

催化各种同分异构体

、几何异构体或光学异构体之间相互转化的酶类。例如，异构酶、表构酶、消旋酶等。

06、合成酶类 (ligase)

催化两分子底物合成为一分子化合物，同时偶联有ATP

的磷酸键断裂释能的酶类。例

如，谷氨酰胺合成酶、DNA连接酶

、氨基酸：tRNA连接酶以及依赖生物素的羧化酶等。 (www.gendx.cn)

07、易位酶类 (translocase)

催化离子或分子跨膜转运或在膜内移动的酶类。其中有些涉及ATP水解反应的酶被归为水解酶类 (EC 3.6.3-)，但水解反应并非这类酶的主要功能。因此，命名委员会近期决定将这类酶归为第七大类酶。

按照国际生化协会公布的酶的统一分类原则，在上述七大类基础上，在每一大类酶中又根据底物中被作用的基团或键的特点，分为若干亚类；为了更精确地表明底物或反应物的性质，每一个亚类再分为几个组 (亚亚类)；每个组中直接包含若干个酶。

体外诊断原料酶 | 研发的基本原则

酶的获得主要通过纯化的方式来进行。因此蛋白纯化技术和抗体制备技术作为两项关键的核心技术是生物活性原料开发的关键。会涉及到生物化学，分子生物学，免疫学，微生物学，基因工程，蛋白质工程，酶工程等多种学科

体外诊断原料酶 | 规模化制备

包括原材料准备，预处理，初纯和精纯。

原材料准备可以直接选择动植物的组织或细胞，或是通过基因工程手段得到的工程细胞和工程菌。

原材料预处理，通常而言可以采用高速匀浆，液氮研磨或超声等机械方式来破碎组织和细胞，也可以通过低渗，反复冻融，酶消化或表面活性剂处理等非机械方式，但要注意的是破碎的强度，太小释放不充分，太大又会导致生物活性原料变性。破碎后的原料会呈现浑浊，可以通过高速离心，滤膜过滤等方式去除或者采用饱和硫酸铵沉淀后去除。

初纯阶段主要通过沉淀和离心过滤的方法，常用的有硫酸铵沉淀法，球蛋白沉淀法，等电点沉淀法等非变性沉淀法，或者利用有机溶剂，酸碱，热等变性沉淀法。

精纯主要依据分子大小，形状，表面电荷分布，亲疏水性以及特异性结合等性质进行的各种层析分离，主要包括离子交换层析，分子筛交换层析，亲和层析，疏水层析以及电泳等技术进行分离。

体外诊断原料酶 | 保存

影响生物活性原料溶液状态保持的因素包括pH、离子强度、污染或残留的蛋白酶、保存的温度和反复冻融的次数。可以通过添加一系列的，缓冲体系，低温保存，表面活性剂，蛋白酶抑制剂，防腐剂，还原剂等来维持原材料的稳定。这里最常用的技术就是冻干技术。

体外诊断原料酶 | 质量控制

质量控制

最关键的是对每批纯化

后的原料进行浓度，纯度鉴定，通过Elisa，蛋白定量，SDS-PAGE等方法进行，最终的体外诊断试剂的生物活性原料应该是高纯度，高活性且状态均一的成品，应保证外观，浓度，纯度，均一性和生物活性。