

紫杉醇生物合成相关酶基因的克隆与表达^{*}

骆建新^{1**} 陈永勤² 刘占杰¹

(1 第三军医大学成都军医学院生物化学与分子生物学教研室 成都 610083 2 湖北大学生命科学院 武汉 430062)

摘要 以牻牛儿苗牻牛儿苗基二磷酸为前体的紫杉醇生物合成大约有 20 步酶促反应,其反应过程已基本阐明,近一半的相关酶基因已得到克隆与表达。综述了编码参与紫杉醇生物合成的紫杉二烯合酶、紫杉二烯-5-羟化酶、紫杉烷-10-羟化酶、紫杉烷-13-羟化酶、紫杉二烯-5-醇-O-乙酰基转移酶、紫杉烷-2-苯甲酰转移酶、去乙酰基巴卡亭-10-O-乙酰转移酶、3-氨基-3-苯基丙酰转移酶和 3-N-去苯甲酰-2-脱氧紫杉醇-苯甲酰转移酶等 9 个酶基因的克隆和表达方面的研究情况,并指出随着紫杉醇生物合成的分子生物学研究的不断深入,利用分子生物技术大规模生产紫杉醇将为期不远。

关键词 紫杉醇 生物合成 基因克隆与表达

紫杉醇 (paclitaxel, 商品名 Taxol) 是从红豆杉属植物树皮中提取分离出来的一种具有显著抗癌作用的紫杉烷二萜类化合物,现已成为临床上治疗肿瘤的重要药物。但其资源十分匮乏,单纯从含量极低的天然红豆杉植物中提取紫杉醇无法满足临床应用需求,紫杉醇的药源问题引起人们的极大关注。十多年来,科学家一直在研究解决紫杉醇药源的途径,如化学合成紫杉醇、培育高产量红豆杉栽培品种、筛选生产紫杉醇的微生物、利用红豆杉细胞工程生产紫杉醇等,并取得了一定的进展。但紫杉醇的化学全合成(或半合成)步骤复杂、成本高,还无商业应用价值,利用内生真菌培养及红豆杉植物愈伤组织、细胞与原生质离体培养体生产紫杉醇不仅产量不高,而且稳定性也比较差,尚难以实现工业化生产。

目前,人们越来越认识到提高紫杉醇产量的关键在于深入研究紫杉醇生物合成的详细过程及其机理,尤其是相关酶基因的表达与调控机制。科学家们非常重视紫杉醇的生物合成及有关基因工程技术的研究,以期阐明紫杉醇生物合成的详细过程及其机理,进而利用基因工程等现代生物技术大量生产紫杉醇,解决紫杉醇的药源短缺问题。有关紫

杉醇相关酶基因的克隆与表达等方面的研究又有了一些新进展。

1 紫杉二烯合酶

紫杉二烯合酶 (taxadiene synthase, TS), 又称二萜烯环化酶 (diterpene cyclase), 它是红豆杉属植物细胞以广泛分布的牻牛儿苗牻牛儿苗基二磷酸 (geranylgeranyl diphosphate, GGPP) 为原料, 生物合成完整紫杉醇的第一个酶。1995 年, Koeppe 等^[1] 提出紫杉醇生物合成的第一步反应是 GGPP 环化生成紫杉二烯 [taxa-4(5), 11(12)-diene]。不久, Hezari 等^[2] 从太平洋红豆杉细胞中分离得到了催化该反应的紫杉二烯合酶。该酶是一个单体蛋白, 分子量为 79kDa, 最适 pH 8.5, 二价金属离子尤其是 Mg^{2+} 对其活性影响较大。1996 年, Wildung 等^[3] 利用同源 PCR 克隆技术从太平洋红豆杉中克隆得到了含 2586 个核苷酸阅读框的 cDNA 片段, 并在大肠杆菌中实现了功能性表达。重组酶由 862 个氨基酸残基组成, 分子量为 98303Da, N 末端有一段 137 个氨基酸残基的质体靶向肽。1998 年 Huang 等^[4] 将 cDNA 片段亚克隆到表达载体 pET3d 和 pET32a(+) 上与硫氧还蛋白在大肠杆菌中进行融合表达获得成功, 得到了过度表达的、有催化活性的紫杉二烯合酶 (每升菌液可得 26mg 有活性的纯化蛋白)。2000 年 Williams 等^[5] 发现全长 cDNA 表达的紫杉二烯合酶前蛋白的催化活性比较低, 将删去前蛋白靶

收稿日期: 2002-10-27 修回日期: 2003-03-17

* 四川省应用基础研究重点项目 (01sy051-32)

** 电子信箱: luojianxinjs@hotmail.com

向肽 60 个氨基酸残基的 cDNA 片段于大肠杆菌中进行表达,得到的紫杉二烯合酶“假熟体”(pseudomature form)与天然酶相比,其表达水平、催化活性、稳定性、溶解度都显著提高,且更易分离、纯化。2002 年,Wang 等^[6]利用 PCR 扩增同源探针筛选 cDNA 文库,从中国红豆杉中克隆得到一个编码紫杉二烯合酶 3' 端的 2151bp 的 cDNA 片段和 5' 端的 611bp 的 cDNA 片段,将两片段拼接成 2712bp 的 cDNA 片段(阅读框为 2586bp)于大肠杆菌中进行融合表达,获得具有特异性催化活性的紫杉二烯合酶(862aa)。该重组酶与太平洋红豆杉紫杉二烯合酶的同源性为 97%。

2 细胞色素 P450 单加氧酶

2.1 紫杉二烯-5-羟化酶

1995 年,Floss 等^[7]提出在紫杉醇生物合成过程中共发生 8 次羟基化反应,紫杉烷的氧化顺序为 C5、C10、C2、C9、C13、C7 和 C1。1996 年,Hefner 等^[8]研究表明紫杉醇核心骨架 C5 羟基化生成紫杉二烯-5-醇[taxa-4(20),11(12)-dien-5 α -ol]的反应是紫杉醇生物合成过程中第一个羟基化反应,催化该反应的酶是细胞色素 P450 单加氧酶——紫杉二烯-5-羟化酶(cytochrome P450 taxdien 5 α -hydroxylase),并提出其余的 7 个羟基化反应也可能由类似的酶催化。1998 年 Eisenreich 等^[9]进一步证实发生在紫杉烷的所有羟基化反应以及紫杉醇侧连 C2 的羟基化反应均为细胞色素 P450 单加氧酶(同工酶)催化。紫杉二烯-5-羟化酶不仅催化核心骨架 C5 特异性地加入一个羟基,而且还催化 C4(5)的双键转移到 C4(20)位置上。2002 年,Jennewein S 等成功克隆和表达了有生物活性的紫杉二烯-5-羟化酶(待发表)。

2.2 紫杉二烯-10-羟化酶

紫杉醇核心骨架的第二个羟基化反应发生在 C10 位置,在细胞色素 P450 紫杉烷-10-羟化酶(cytochrome P450 taxane 10 β -hydroxylase)催化下,紫杉二烯-5-乙酰酯 C10 羟基化生成 10-羟紫杉二烯-5-乙酰酯(taxadien-5 α -acetoxyl-10 β -ol)。催化紫杉烷骨架羟基化反应的细胞色素 P450 同工酶较多,其物理性质很相似,极不容易将其分离,很难获得相应的 cDNA 片段。2001 年,Schoendorf 等^[10]以茉莉酮酸甲酯诱导培养红豆杉细胞为材料,利用差异显示逆转录 PCR 技术(differential

display of mRNA-reverse transcription-PCR)建立 cDNA 文库,通过比较诱导培养与非诱导培养的 cDNA 文库,从差异显示的 cDNA 文库中克隆得到了 21 条差异性片段,其中有 13 条 cDNA(同源性为 52%~83%)与细胞色素家族的 P85、P88 和 P90 片段十分相似。将这 13 条 cDNA 片段于酵母菌表达,有 8 条能表达出具有细胞色素 P450 的亚铁血红素特征(提示这 8 条 cDNA 片段可能是紫杉醇生物合成过程中催化 8 个羟基化反应的细胞色素 P450 羟化酶基因),有 4 条 cDNA 片段表达的细胞色素 P450 具有生物催化活性。编码紫杉烷-10-羟化酶的 cDNA 是其中之一,该 cDNA 片段(阅读框为 1494bp)在酵母菌中表达的重组酶含 498 个氨基酸残基,分子量约为 56690Da,具有较高的结构区域特异性和空间立体特异性,该酶专一性催化紫杉二烯-5-乙酰酯羟基化生成 10-羟紫杉二烯-5-乙酰酯。

2.3 紫杉烷-13-羟化酶

2001 年,Wheeler 等^[11]分别以紫杉二烯-5-醇和紫杉二烯-5-乙酰酯为底物,探讨紫杉醇核心骨架的羟基化反应及其次序,进一步证实了的紫杉烷-10-羟化酶特异性催化紫杉二烯-5-乙酰酯羟基化生成 10-紫杉二烯-5-乙酰酯的正确性,同时还发现紫杉二烯-5-醇的 C13 可发生羟基化反应生成紫杉二烯-5,13-二醇(taxa-4(20),11(12)-dien-5 α ,13 α -diol),进而羟基化生成 5,9,10,13-四羟紫杉二烯(taxa-4(20),11(12)-dien-5,9,10,13-tetraol),但紫杉二烯-5-乙酰酯的 C13 不能发生羟基化反应。不久,Jennewein 等^[12]将酵母菌不能表达的细胞色素 P450 的 cDNA 片段(阅读框为 1458bp)转入秋黏虫杆状病毒表达系统(spodoptera fugiperda-baculovirus-based system)进行表达,获得了有催化活性的细胞色素 P450 紫杉烷-13-羟化酶(cytochrome P450 taxane 13 α -hydroxylase)。该重组酶由 485 个氨基酸残基组成,分子量为 54652Da,最适 pH 为 7.5,在 tris-HCl 缓冲液中活性最高,与 10-羟化酶的同源性为 63%。该酶具有高度的区域特异性和立体结构特异性,只催化紫杉二烯-5-醇羟基化反应生成紫杉二烯-5,13-二醇,不能催化紫杉二烯-5-乙酰酯的 C13 发生羟基化反应。同时,反应生成的紫杉二烯-5,13-二醇的 C10 也不能被细胞色素 P450 紫杉烷-10-羟化酶催化。

催化紫杉醇生物合成其余 5 个羟基化反应的

细胞色素 P450 羟化酶的 cDNA 片段已经获得,但还需进一步鉴定和寻找合适的表达系统。

3 酰基转移酶

紫杉醇生物合成过程中总共发生 5 个酰基转移反应,相应的 5 个酰基转移酶催化是紫杉二烯-5-醇-O-乙酰转移酶 (taxadien-5 alpha-ol-O-acetyl transferase, TAT), 紫杉烷-2-苯甲酰转移酶 (taxane 2 alpha-O-benzoyltransferase, TBT), 10-去乙酰巴卡亭-10-乙酰转移酶 (10-deacetylbaicatin-10-O-acetyl transferase, DBAT), 3-氨基-3-苯基丙酰转移酶 (3-amino-3-phenylpropanoyltransferase, BAPT) 和 3-N-去苯甲酰-2-脱氧紫杉醇苯甲酰转移酶 (3-N-debenzoyl-2-deoxytaxol N-benzoyltransferase, DBTNBT)。迄今为止,5 个酰基转移酶基因的克隆与表达工作已全部完成。

2000 年, Walker 等先后成功克隆与表达了 3 个酰基化反应的酶——紫杉二烯-5-O-乙酰转移酶^[13]、紫杉烷-2-苯甲酰转移酶^[14]和 10-去乙酰巴卡亭-10-乙酰转移酶^[15]。他们利用茉莉酮酸甲酯诱导培养的日本红豆杉细胞建立 cDNA 文库,通过比较诱导培养与非诱导培养的 cDNA 文库,从差异显示的 cDNA 文库中首先克隆得到了 1 条阅读框为 1317bp 的全长 cDNA 片段。该片段在大肠杆菌 JM109 中获得功能表达,表达的紫杉二烯-5-O-乙酰转移酶 (439 个氨基酸残基) 专一性催化紫杉二烯-5-醇的 C5 发生乙酰化反应。该酶的物理、化学性质与天然酶相同,分子量约 50kDa,等电点为 4.7,最适 pH 为 9.0。不久,他们又从差异显示的 cDNA 文库中获得了 2 条分别编码紫杉烷-2-苯甲酰转移酶和 10-去乙酰巴卡亭-10-乙酰转移酶的全长 cDNA 片段,2 条 cDNA 片段的阅读框都为 1320bp。分别将 2 条全长 cDNA 片段于大肠杆菌 JM109 中进行表达,获得的 2 种重组酶的氨基酸残基数都为 440,但 10-去乙酰巴卡亭-10-乙酰转移酶的分子量为 49052Da,最适 pH 为 7.5,而紫杉烷-2-苯甲酰转移酶的分子量为 50089Da,最适 pH 为 8.0;10-去乙酰巴卡亭-10-乙酰转移酶与紫杉二烯-5-O-乙酰转移酶的同源性为 64%,紫杉烷-2-苯甲酰转移酶与紫杉二烯-5-O-乙酰转移酶的同源性为 68%。10-去乙酰巴卡亭-10-乙酰转移酶具有高度专一性,只催化 10-去乙酰巴卡亭的 C10 羟基发生乙酰化反应,不能将 10-去乙酰巴卡亭的 1-,7-或 13-羟基乙酰化,也不能将紫杉二烯-

5-醇的 C5 羟基乙酰化。紫杉烷-2-苯甲酰转移酶也有很高的特异性,它专一性催化 2-去苯甲酰-7,13-二乙酰基巴卡亭 (2-debenzoyl-7,13-diacetylbaicatin) 与苯甲酰辅酶 A 反应生成 7,13-二乙酰基巴卡亭 (7,13-diacetylbaicatin),它只催化 C2 羟基发生苯甲酰化反应,不催化其它位置上的羟基发生苯甲酰化反应。至今,紫杉烷-2-苯甲酰转移酶所催化的、能与苯甲酰辅酶 A 反应生成 10-去乙酰巴卡亭的天然底物还没有确定。因此, Walker 等^[14]以 10-去乙酰巴卡亭为原料,人工合成 7,13-二乙酰基巴卡亭,进而合成 2-去苯甲酰-7,13-二乙酰基巴卡亭,将其作为底物证实了重组酶具有特异性催化 C2 羟基苯甲酰化反应的功能。重组酶催化 2-去苯甲酰-7,13-二乙酰基巴卡亭发生苯甲酰化反应,其产物是 7,13-二乙酰基巴卡亭,而不是 10-去乙酰巴卡亭,故催化生物合成 10-去乙酰巴卡亭的酶及机理有待进一步研究。

2002 年, Walker 等^[16,17]又从差异显示的 cDNA 文库中先后获得了分别编码 3-氨基-3-苯基丙酰转移酶和 3-N-去苯甲酰-2-脱氧紫杉醇苯甲酰转移酶的 2 条阅读框分别为 1335bp 和 1323bp 的全长 cDNA 片段,并在大肠杆菌 BL21 (DE3) 中获得功能表达。重组表达的 3-氨基-3-苯基丙酰转移酶和 3-N-去苯甲酰-2-脱氧紫杉醇苯甲酰转移酶分别含 445 和 441 个氨基酸残基,分子量分别为 49040 和 50546Da,最适 pH 分别为 6.8 和 8.0。3-N-去苯甲酰-2-脱氧紫杉醇苯甲酰转移酶与紫杉烷-2-苯甲酰转移酶的同源性为 60%,3-氨基-3-苯基丙酰转移酶与紫杉醇生物合成中的其它 4 个酰基转移酶的同源性为 58%~69%。3-N-去苯甲酰-2-脱氧紫杉醇苯甲酰转移酶具有很高的专一性,只催化 -苯丙氨酰巴卡亭侧链的 C3 氨基发生苯甲酰化反应,不催化 -苯丙氨酰巴卡亭 C3 氨基发生苯甲酰化反应,也不催化 -苯丙氨酸的氨基发生苯甲酰化反应。3-氨基-3-苯基丙酰转移酶也具有高度的专一性,在该酶的作用下 -苯丙氨酰辅酶 A 只与巴卡亭的 C13 羟基反应,不与巴卡亭的 C1 和 C7 羟基反应,该酶也不能催化 -苯丙氨酰辅酶 A 或 -苯基-异丝氨酰辅酶 A 与巴卡亭 C13 羟基反应。这一结果修正了 Floss 等^[7]认为紫杉醇侧链的生物合成是由 -苯丙氨酸羟基化生成 -苯基-异丝氨酸后连接到巴卡亭 C13 的观点。

4 结束语

紫杉醇生物合成全过程约 20 步酶促反应。其中紫杉二烯合酶、紫杉二烯-5-羟化酶、紫杉烷-10-羟化酶、紫杉烷-13-羟化酶、紫杉二烯-5-乙酰转移酶、紫杉烷-2-苯甲酰转移酶、10-去乙酰巴卡亭-10-乙酰转移酶、3-氨基-3-苯基丙酰转移酶和 3-N-去苯甲酰-2-脱氧紫杉醇苯甲酰转移酶等主要的相关酶基因已成功克隆与表达,为进一步利用现代生物技术提高紫杉醇产量奠定了良好基础。然而,紫杉醇生物合成的详细过程、反应机理还没完全阐明,近一半的相关酶基因还没有得到克隆与表达。其中,参与形成紫杉醇环氧 D 环的环氧化酶和 C5 的乙酰基转移到 C4 的变位酶还未确定;催化紫杉醇核心骨架及侧链 C2 羟基化反应的细胞色素 P450 羟化酶中有 5 个酶还未成功表达;参与侧链生物合成的苯丙氨酸变位酶^[18]也未克隆与表达。

紫杉醇的生物合成过程,尤其一些慢反应步骤机理的阐明对提高紫杉醇产量是非常重要的,利用现代生物技术改变紫杉醇生物合成的基因、调节其表达是解决紫杉醇药源短缺的有效途径之一。2001 年, Huang 等^[19]将异戊二烯焦磷酸异构酶、双牻牛儿基二磷酸合酶和紫杉二烯合酶的基因克隆到大肠杆菌进行共表达,通过融合 DXP 合成酶基因提高异戊二烯焦磷酸异构酶的表达量以及“假熟体”形式表达紫杉二烯合酶提高紫杉二烯合酶的溶解度,以异戊二烯焦磷酸为原料,获得了紫杉醇生物合成的重要中间产物紫杉二烯(产量可达 1.3mg/L),开创了利用基因工程菌生物合成紫杉醇(中间体)的先例。不久,参与紫杉醇生物合成所有的相关酶基因将陆续得到克隆与表达。紫杉醇生物合成过程、机理以及相关酶基因表达调控机制一旦阐明,利用现代分子生物学技术(第三代基因工程)或应用微生物组合生物合成技术大量生产紫杉醇将成为现实。

参考文献

- [1] Koepp AE, Hezari M, Zajicek J, et al. Cyclization of geranylgeranyl diphosphate to taxadiene is the committed step of taxol biosynthesis in Pacific yew. *J Biol Chem*, 1995, 270 (15) : 8686 ~ 8690
- [2] Hezari M, Lewis NG, Croteau R. Purification and characterization of taxadiene synthase from Pacific yew (*Taxus brevifolia*) that catalyzes the first committed step of taxol biosynthesis. *Arch Biochem Biophys*, 1995, 322 (2) : 437 ~ 444
- [3] Wildung MR, Croteau R. A cDNA clone for taxadiene synthase, the diterpene cyclase that catalyzes the committed step of Taxol biosynthesis. *J Biol Chem*, 1996, 271 (16) : 9201 ~ 9204
- [4] Huang KX, Huang QL, Wildung MR, et al. Overproduction, in *Escherichia coli*, of soluble taxadiene synthase, a key enzyme in the Taxol biosynthetic pathway. *Protein Expr Purif*, 1998, 13 (1) : 90 ~ 96
- [5] Williams DC, Wildung MR, Jin AQ, et al. Heterologous expression and characterization of a "Pseudomature" form of taxadiene synthase involved in paclitaxel (Taxol) biosynthesis and evaluation of a potential intermediate and inhibitors of the multistep diterpene cyclization reaction. *Arch Biochem Biophys*, 2000, 379 (1) : 137 ~ 146
- [6] Wang W, Shi Q, Zhu P, et al. cDNA cloning expression and characterization of Taxadiene synthase, a diterpene cyclase from *Taxus chinensis*. *Acta Botanica Sinica*, 2002, 44 (2) : 181 ~ 187
- [7] Floss HG, Mbeck U. In *Taxol: Science and Applications* (M. Suffness, Ed), CRC Press, Boca Raton, FL, 1995, 191 ~ 208
- [8] Hefner J, Rubenstein SM, Ketchum RE, et al. Cytochrome P450-catalyzed hydroxylation of taxadiene to taxadien-5 α -ol: the first oxygenation step in taxol biosynthesis. *Chem Biol*, 1996, 3 (6) : 479 ~ 489
- [9] Eisenreich W, Menhard B, Lee M S, et al. Multiple oxygenase reactions in the biosynthesis of taxoids. *J Am Chem Soc*, 1998, 120 (38) : 9694 ~ 9695
- [10] Schoendorf A, Rithner CD, Williams RM, et al. Molecular cloning of a cytochrome P450 taxane-10 β -hydroxylase cDNA from *Taxus* and functional expression in yeast. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2001, 98 (4) : 1501 ~ 1506
- [11] Wheeler AL, Long RM, Ketchum RE, et al. Taxol biosynthesis: differential transformations of taxadien-5 α -ol and its acetate ester by cytochrome P450 hydroxylases from *Taxus* suspension cells. *Arch Biochem Biophys*, 2001, 390 (2) : 265 ~ 278
- [12] Jennewein S, Rithner CD, Williams RM, et al. Taxol biosynthesis: taxane-13 α -hydroxylase is a cytochrome P450-dependent monooxygenase. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2000, 98 (24) : 13595 ~ 13600
- [13] Walker K, Schoendorf A, Croteau R. Molecular cloning of a taxadien-5 α -ol-O-acetyl transferase cDNA from *Taxus* and functional expression in *Escherichia coli*. *Arch Biochem Biophys*, 2000, 374 (2) : 371 ~ 380
- [14] Walker K, Croteau R. Taxol biosynthesis: molecular cloning of a benzoyl-CoA:taxane-2 α -O-benzoyltransferase cDNA from *Taxus* and functional expression in *Escherichia coli*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2000, 97 (25) : 13591 ~ 13596
- [15] Walker K, Croteau R. Molecular cloning of a 10 β -deacetyltransferase cDNA from *Taxus* and functional expression in *Escherichia coli*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2000, 97 (2) : 583 ~ 587
- [16] Walker K, Fujisaki S, Long R, et al. Molecular cloning and

Heterologous expression of the C-13 phenylpropanoid side chain-CoA acyltransferase that functions in taxol biosynthesis. Proc Natl Acad Sci U S A, 2002, 99(20):12715~12720

- [17] Walker K, Long R, Croteau R. The final acylation step in taxol biosynthesis: cloning of the taxoid C13-side-chain N-benzoyltransferase from Taxus. Proc Natl Acad Sci U S A, 2002, 99(14):9166~9171

[18] Walker K, Floss HG. Detection of phenylalanine aminomutase in cell-free extracts of Taxus brevifolia and preliminary characterization of its reaction. J Am Chem Soc, 1998, 120(21):5333~5334

- [19] Huang Q, Roessner CA, Croteau R, et al. Engineering Escherichia coli for the synthesis of taxadiene, a key intermediate in the biosynthesis of taxol. Bioorg Med Chem, 2001, 9(9):2237~2242

Cloning and Expression of Genes Responsible for Taxol Biosynthesis

Luo Jianxin¹ Chen Yongqin² Liu Zhanjie¹

(1 Chengdu Medical College Third Military Medical University Chengdu 610083

2 School of Life Sciences Hubei University Wuhan 430062)

Abstract The pathway of Taxol biosynthesis from geranylgeranyl diphosphate consists of about 20 enzymatic steps, which has been elucidated approximately. This paper summarized the cloning and expression of the 9 genes encoding taxadiene synthase, cytochrome P450 taxdien 5 alpha-hydroxylase, cytochrome P450 taxane10 beta-hydroxylase, cytochrome P450 taxane 13 alpha-hydroxylase, taxadien-5 alpha-ol-O-acetyl transferase, taxane 2 alpha-O-benzoyltransferase, 10-deacetyl baccatin-III 10-O-acetyl transferase, 3-amino-3-phenylpropanoyltransferase and 3-N-debenzoyl-2-deoxytaxol N-benzoyltransferase, respectively. The production of Taxol on large scale by biotechnology will become true recently with the development of study on Taxol biosynthesis in molecular biology.

Key words Taxol Biosynthesis Gene cloning and expression

2003 '中国国际生物医药高峰论坛暨研讨会

本次会议因非典疫情延期至 2003 年 9 月 16~18 日举行,地点仍为上海万豪虹桥大酒店。会议将邀请世界著名生物医药企业、学术团体和投资机构的专家做精彩报告,包括辉瑞、默克、安玛西亚、罗氏、诺华、拜耳、先灵、昆泰(Quintiles)、MDS Pharma、纽英伦生物技术、法国赛诺菲和圣德拉堡、台湾赛亚、上海睿星、深圳微芯等国内外知名医药公司和生物技术公司的高级科学家和高层管理人员,世界银行、Rouse & Co International 和 Biotech Research Ventures 等投资机构的资深金融专家和律师以及美国国家卫生院(NIH)、贝勒医学院、华大基因研究中心、复旦大学、中国协和医科大学、香港中文大学、武汉大学、日本筑波大学、神户大学等研究机构的专家学者等。主要议题为中国以及亚洲地区的生物技术新经济模式、生物项目合作的成功策略、生物技术专利申请与保护、生物项目风险投资、新药研发及其产业化、纳米技术、基因组学、蛋白组学、生物芯片、生物信息学、RNA 干扰、反义技术、药物安全性评估、临床研究、药物筛选、药理学等。会议期间还将举办 CEO 论坛,探讨生物技术发展的新经济模式,展望生物医药的未来发展方向和可能出现的机遇。

详情请咨询本次会议的中国大陆总代理:北京生物通生物科技有限公司,联系人:唐女士、李先生,电话:010-80483456/57-276,传真:010-80483458,电子信箱:meeting@ebiotrade.com,或直接登陆生物通会议网页:<http://www.ebiotrade.com/bbsf/meeting/biomed/>