

超级工程菌剂和解毒酶制剂的开发

“超级工程菌剂和解毒酶制剂的开发”是中国科学院动物研究所农业虫鼠害综合治理研究国家重点实验室承担的国家环境科技发展“十五”计划目标中“水污染控制技术与治理工程”重大专项、国家高技术研究发展计划(863计划)课题。该工作一直受到国家自然科学基金委自然科学基金(NSFC),国家高技术研究发展计划(863计划)项目,中国科学院知识创新项目、院长基金特别支持经费、中国科学院重大项目,北京市自然科学基金委自然科学基金和国家留学回国人员基金等的支持。

长期以来在多种类型杀虫药剂的选择压力作用下,昆虫经过进化,其体内产生了能降解各种杀虫药剂的解毒酶,这种解毒酶可以将大剂量的杀虫药剂脱去毒性。在对杀虫药剂的降解方面,昆虫的解毒酶比微生物更强、更全面。因此,该项目采用现代生物技术,将昆虫酯酶 B1、A2B2、E4 和 p450 基因克隆,并从微生物中克隆了 PTE 基因,构建了 4 种具有一个解毒酶基因的表达载体 pET28B1、pET28A2B2、pETDuet-B1 和 pETDuet-OPH,3 种具有多个解毒酶基因的表达载体 pETDuet-B1-OPH、pETDuet-E4-OPH 和 pETDuet-CYP9G2-NADPH p450 reductase 分别转化大肠杆菌,已筛选得到具有高表达活性,生物降解广谱的高效超级工程菌 3 种及其相关的解毒酶。研究了 pETDuet-B1-OPH 超级工程菌 BL21(DE3)生产解毒酶的最适发酵条件,发酵生产的解毒酶可以高效降解有机磷类农药残余,例如,对氧磷(paraoxon)、对硫磷(parathion)、甲基对硫磷(methyl parathion)、二嗪啉(diazinon)和蝇毒磷(coumaphos)等,并且通过生化测定得到了验证。生物活性测定实验中,用解毒酶处理的 90% 蚊虫致死剂量(LC₉₀)的有机磷杀虫药剂的水源,能够使 4 龄蚊虫全部存活。现在已经研究出“蔬果专用酯类农药残留降解剂”,并申请了国家发明专利。目前,正在放大发酵培养超级工程菌,以制备不同的水解酶以期用于蔬、果专用农药残留降解剂的大量研制。

农药残留不仅直接威胁着我国的农副产品,而且威胁着我国农副产品对外的出口市场。当前受农药污染的食品:蔬菜、水果、肉类、蛋类、食油、家禽、粮食、水产品等,其中蔬菜、水果、地下水的污染对人的危害最为直接和严重。“降解酶制剂的研制开发”将为消除农副产品中有机磷农药的残留,提高人民的生活质量提供良好的物质基础。