

有机磷农药水解酶的研究
Research on Organophosphorus
Hydrolase

汇报人：冯为民

G13小组：冯为民，项超，麦合·木提江

汇报内容

- 有机磷农药的应用现状
- 有机磷农药的危害
- 有机磷农药的降解
- 有机磷水解酶的研究

有机磷农药的简介

- **有机磷农药**是分子结构中含有有机磷酸酯的杀虫农药，可用于防治植物病虫害的有机化合物；
- 特点：品种多、药效高，防治范围广，成本低，选择作用高，易降解；
- 缺点：对人、畜毒性较高，常因使用、保管等不慎，发生中毒



加豆种衣剂

大豆迎茬根腐病

第一次不用是你的遗憾 第二次不用是你的遗憾

24.5%阿维菌素 柴油乳油

闻愁

专为中国农民制造

1.8%阿维菌素

减担子

通用名: abamectin

玉洁种衣剂

玉米黑穗病地下害虫

第一次不用是你的遗憾

农环种衣剂

玉米黑穗病地下害虫

玉洁种衣剂

25克·可溶性粉剂

24.5%阿维菌素 柴油乳油

闻愁

专业杀螨

大豆

克可溶

24.5%阿维菌素 柴油乳油

闻愁

通用名: 1) abamectin 2) petroleum

专业杀螨

24.5%阿维菌素 柴油乳油

闻愁

专业杀螨

24.5%阿维菌素

闻愁

专业杀螨

1.8%阿维菌素

减担子

通用名: abamectin

1.8%阿维菌素

减担子

通用名: abamectin

农药登记证号: LS20031932
生产批准证号: HNP23053-A257
产品标准证号: Q/SNCO01-2003
净含量: 90ml

1.8%阿维菌素

减担子

通用名: abamectin

农药登记证号: LS20031932
生产批准证号: HNP23053-A257
产品标准证号: Q/SNCO01-2003
净含量: 90ml

大豆种衣剂

克·可溶性粉体种衣剂

饿死虫
高效广谱
杀虫杀螨剂

1.8%阿维菌素
减担子

1.8%阿维菌素
减担子

1.8%阿维菌素
减担子

1.8%阿维菌素
减担子

有机磷农药的发展历史

- 1943年世界上第一例有机磷农药进入农业市场
- 1950年到1965年，商品化的有机磷开发的鼎盛时期
- 1985年到20世纪90年代，世界上大型的农药研究开发公司对有机磷杀虫剂的创新性研究逐渐进入低潮或终止
- 目前，有机磷仍是当今农药的主要类别之一

汇报内容

- 有机磷农药的应用现状
- 有机磷农药的危害
- 有机磷农药的降解
- 有机磷水解酶的研究

有机磷农药的危害

- 有些禁用或慎用之列的有机磷农药的大量生产并应用，造成环境污染和生态失衡；
 - 有机磷农药对人存在着程度不同的毒性：
 - 急性中毒可引起神经功能紊乱，从而导致肌体的损害等一系列神经中毒症状，甚至死亡；
- 残留在蔬菜、水果等食品上的低剂量有机磷农药可产生慢性毒性，会诱导多发性神经病、中风等。

汇报内容

- 有机磷农药的应用现状
- 有机磷的危害
- 有机磷农药的生物降解
- 有机磷农药水解酶的研究

有机磷农药的降解

- 非生物降解：吸附催化水解；光降解；氧化降解等。
- 生物降解：通过生物体的利用将农药分解为无毒或低毒的小分子化合物，并最终降解为水、二氧化碳和矿物质的过程。研究和应用较多的是微生物降解。

有机磷农药微生物降解的机制

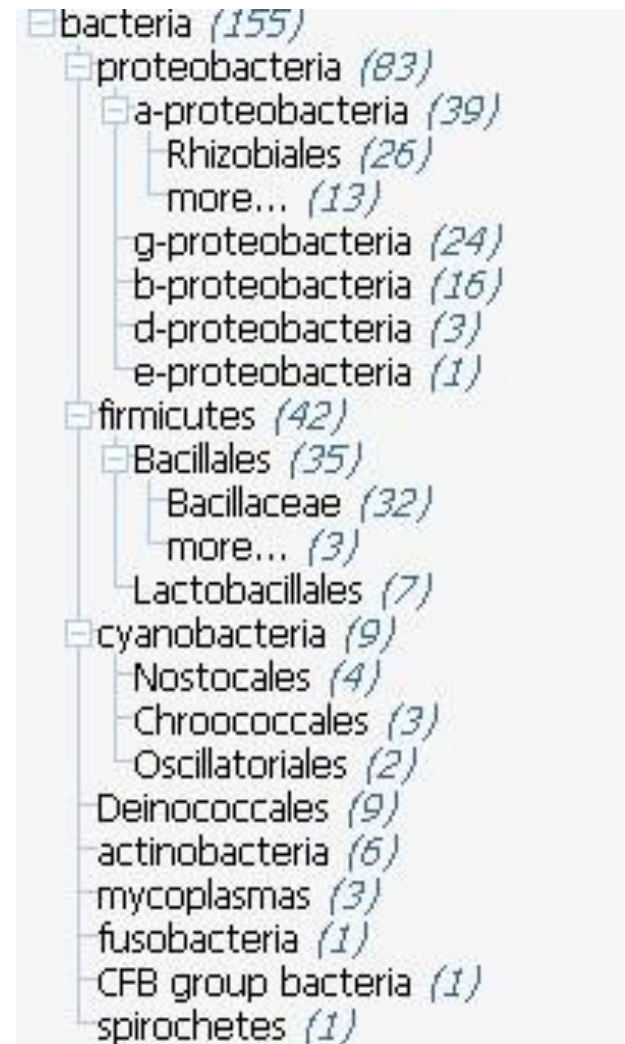
- 农药微生物降解作用其实质是酶促反应，综合来说，农药微生物降解的途径包括氧化、还原、水解、脱卤、缩合、脱拨、异构化等。
- 微生物降解因为其能耗低、高效、彻底和不易造成二次污染的优势，已成为研究热点。

汇报内容

- 有机磷农药的应用现状
- 有机磷农药的危害
- 有机磷农药生物降解
- 有机磷农药水解酶的研究

有机磷水解酶的研究

当前分离出具有降解有机磷功能的细菌有：变形菌门的如假单胞菌，厚壁菌类群，蓝细菌，异常球菌，放线菌，支源菌，梭杆菌门，螺旋菌，**Cytophaga-Flavobacterium-Bacteroides (CFB)** 群细菌等。



OPH: 有机磷水解酶 (Organophosphorus hydrolase)

在Uniprot数据库中，有12种有机磷水解酶蛋白，其中Q44238和P77814具有蛋白结构。

12种有机磷水解酶蛋白

Entry	Entry name	Protein names	Organism	Gene names
<input type="checkbox"/> D0VXD6	D0VXD6_GEOSE	Organophosphorus hydrolase	Geobacillus stearothermophilus 10	
<input type="checkbox"/> Q44238	PEPQ_ALTSX	Xaa-Pro dipeptidase	Alteromonas sp.	pepQ opaA
<input type="checkbox"/> Q5UB52	Q5UB52_9FLAO	Organophosphorus hydrolase	Flavobacterium sp. MTCC 2495	opd
<input type="checkbox"/> B3GN95	B3GN95_9SPHN	Organophosphorus hydrolase	Sphingomonas sp. JK1	opd
<input type="checkbox"/> P77814	PEPQ_PSEHA	Xaa-Pro dipeptidase	Pseudoalteromonas haloplanktis (Alteromonas haloplanktis)	pepQ opa
<input type="checkbox"/> C8C3Z2	C8C3Z2_9MICC	Organophosphorus insecticide hydrolase	Arthrobacter sp. scl-2	imh
<input type="checkbox"/> Q9S1C6	Q9S1C6_ARTSP	Organophosphorus insecticide hydrolase	Arthrobacter sp.	oph
<input type="checkbox"/> E7CKT6	E7CKT6_9PSED	Organophosphorus hydrolase	Pseudomonas sp. BF1-3	oph
<input type="checkbox"/> Q6DTN5	Q6DTN5_9BURK	Methyl parathion hydrolase	Burkholderia sp. FDS-1	opdB mpd1
<input type="checkbox"/> A4ZYB5	A4ZYB5_9BURK	Organophosphorus hydrolase	Burkholderia sp. JBA3	ophB
<input type="checkbox"/> Q5W503	Q5W503_PSEPS	Organophosphorus hydrolase	Pseudomonas pseudoalcaligenes	ophc2
<input type="checkbox"/> B2ZF61	B2ZF61_9GAMM	Organophosphorus hydrolase	Stenotrophomonas sp. SMSP-1	ophC2

Q44238蛋白的介绍

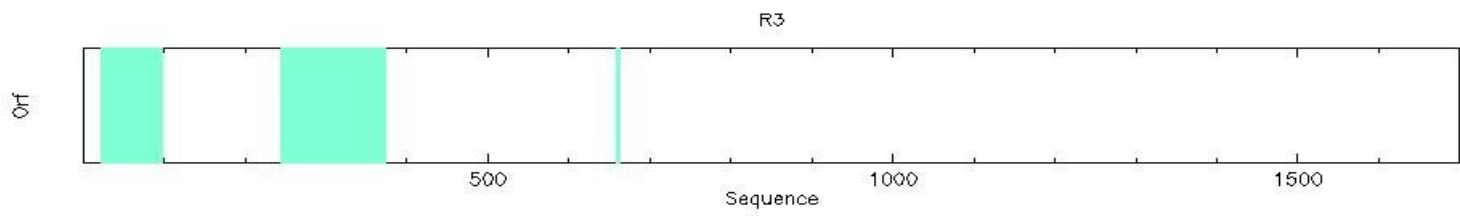
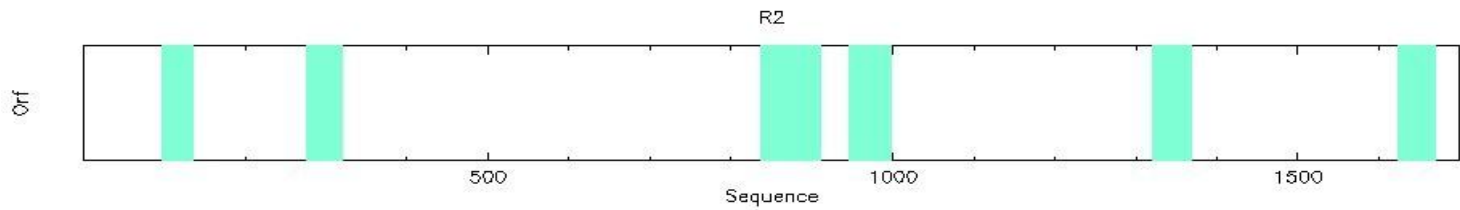
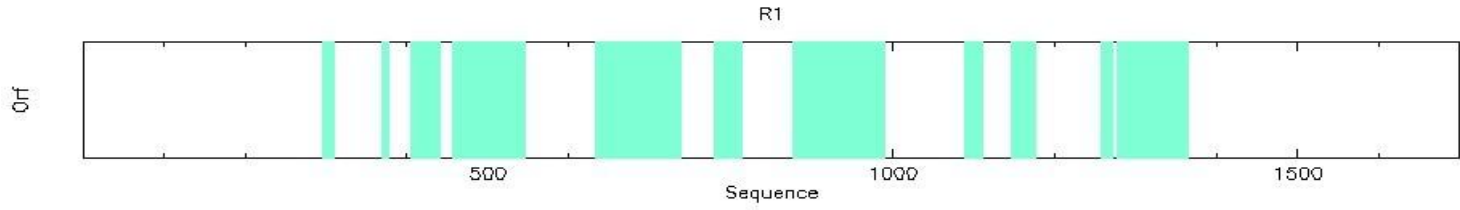
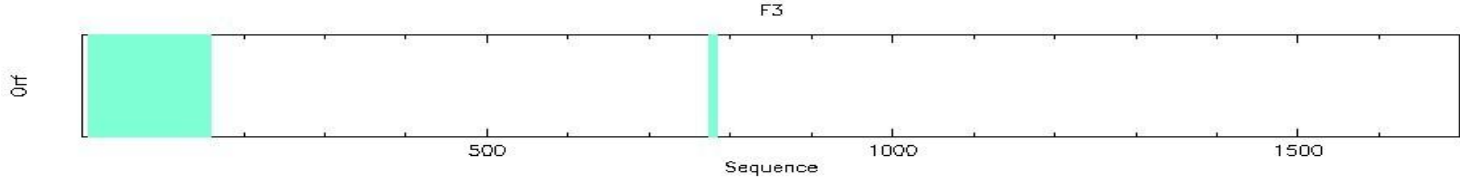
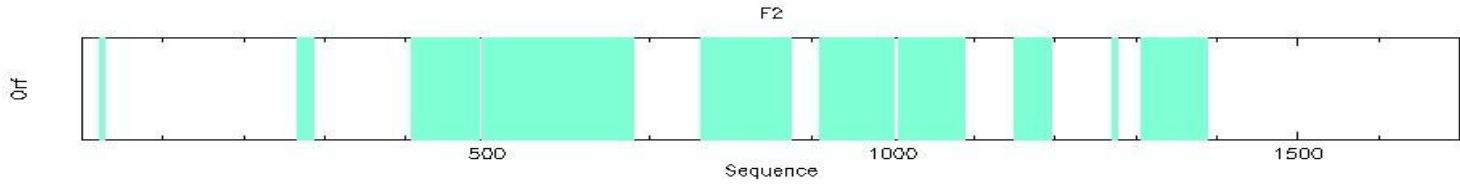
- Protein name: ***Xaa-Pro dipeptidase***
gene name: **pepQ**
Organism: *Alteromonas. sp*

P77814 蛋白的介绍

- Protein name: ***Xaa-Pro dipeptidase***
gene name: **pepQ**
Organism: *Pseudoalteromonas haloplanktis (Alteromonas haloplanktis)*

读码框分析

- 提取RefSeq中有机磷水解酶蛋白编码基因**pepQ**全长mRNA序列。
- 用Jemboss中PlotORF程序分析其可能的读码框
- ShowORF程序分析**pepQ**全长mRNA序列读码框特征。
- GetORF程序提取全长**pepQ**序列中编码区核苷酸序列和所编码的氨基酸序列。

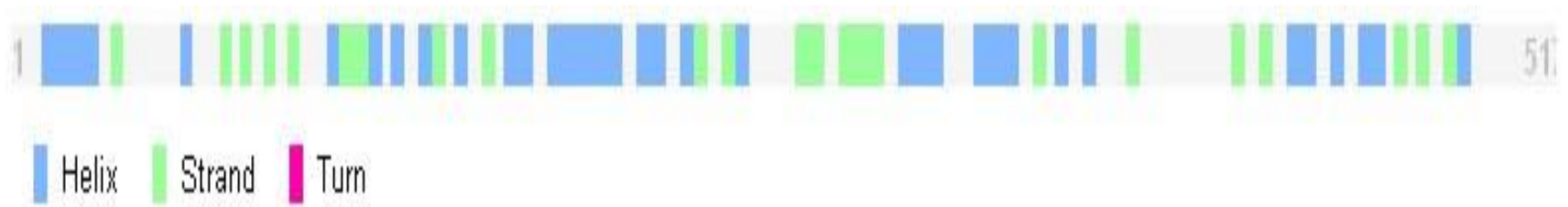


Q44238和P77814蛋白的氨基酸序列比对

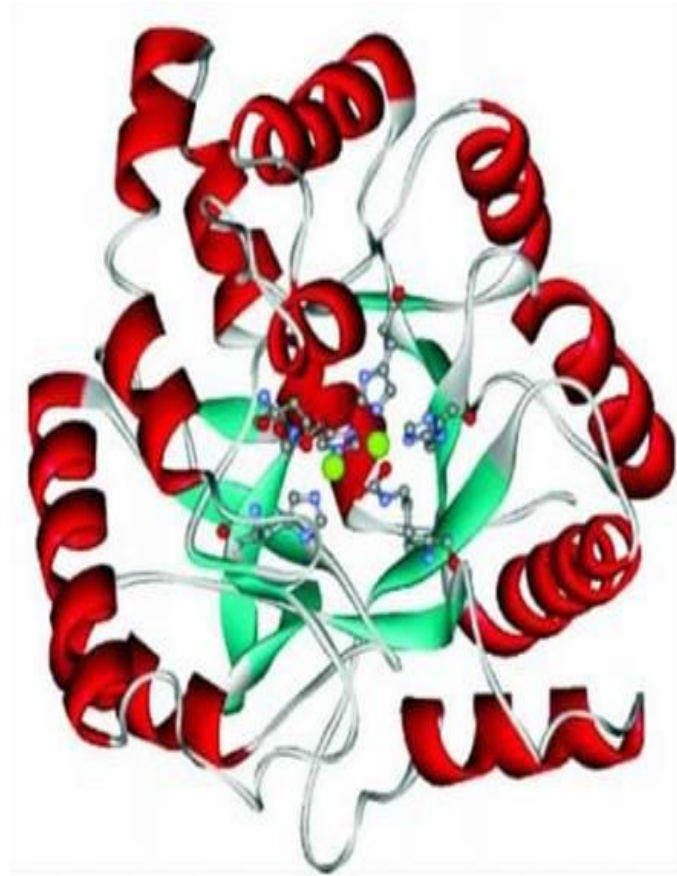
- detical positions: 352; Identity: 68.085%; Similar positions: 53*

1	MNKLAVLYAEHIATLQKRTREI IERENLDGVVHSGQAKRQFLDDMYYPFKVNPQFKAWL	60	Q44238	PEPQ_ALTIX
1	MEKLAVLYAEHIATLQQRTRTICEQEGLEGLVIHSGQAKRQFLDDMYYPFKVNPQFKAWL	60	P77814	PEPQ_PSEHA
	*:*****:*** * *: * *:*****:*****:*****			
61	PVIDNPHCWIVANGTDKPKLI FYRPFVDFWHKVPDE PNEYWADYFDIELLVKPDQVEKLLP	120	Q44238	PEPQ_ALTIX
61	PVIDNPHCWIVVNGSDKPKLI FYRPFDFWHKVPDE PRDFWAEYFDIELLQPDQVEKLLP	120	P77814	PEPQ_PSEHA
	*****.*:*****:*****.:***:*****:*****			
121	YDKARFAYIGEYLEVAQALGFELMNPEPVMNFYHYHRAYKTQYELACMREANKIAVQGHK	180	Q44238	PEPQ_ALTIX
121	YDKAKFAYIGEYLEVAQALGFSIMNPEPVLNYIHYHRAYKTQYELECLRNANRIAVDGHK	180	P77814	PEPQ_PSEHA
	****:*****.:*****:*****:***** * *:***:***:***			
181	AARDAFFQ GKSEFEIQQAYLLATQHSENDNAYGNIVALNENCAILHYTHFDRVAPATHRS	240	Q44238	PEPQ_ALTIX
181	AARDAFFNGGSEFDIQQAYLMATRQSENEMPHYGNIVALNENCAILHYTHFEPKAPQTHNS	240	P77814	PEPQ_PSEHA
	*****:* ***:*****:***:***: *****:*****: ** **.*			
241	FLIDAGANFNGYAADITRITYDFTEGEGEFAELVATMKQHQIALCNQLAPGKLYGELHLDCH	300	Q44238	PEPQ_ALTIX
241	FLIDAGANFNGYAADITRITYDFKKQGEFADLVNAMTAHQIELGKSLKPGLLYGDLDHIDCH	300	P77814	PEPQ_PSEHA
	*****:*****.:*****:** :*. *** * :.* ** *****:***			
301	QRVAQTLSDFNIVDLSADEIVAKGITSTFFPHGLGHHIGLQVHDVGGFMADEQGAHQEPP	360	Q44238	PEPQ_ALTIX
301	NRIAQLLSDFDIVKLPAAEIVERQITSTFFPHGLGHHLGAQVHDVGGFMRDETGAHQAPP	360	P77814	PEPQ_PSEHA
	:** ** *****:*** * * ** : *****:***** ** ***** **			
361	EGHPFLRCTRKIEANQVFTIEPGLYFIDSLGDLAATDNNQHINWDKVAELKPFGGIRIE	420	Q44238	PEPQ_ALTIX
361	EGHPFLRCTRLIEKNQVFTIEPGLYFIDSLGDLAQTDNKQFINWEKVEAFKPFGGIRIE	420	P77814	PEPQ_PSEHA
	***** ** *****:***** ** * :*.***:** :*****			
421	DNIIVHEDSLENMTRELRARLTTHSLRGLSAPQFSINDPAVMSEYSYPSEPLSYEEEEIKK	480	Q44238	PEPQ_ALTIX
421	DNIIVHEDSLENMTRNLLD-----	440	P77814	PEPQ_PSEHA
	*****:***			
481	STFIVHVRTRRILVRRRTLSPIIAVTPMPAITAGLM	517	Q44238	PEPQ_ALTIX
441	-----	440	P77814	PEPQ_PSEHA

Q44238蛋白的二级结构



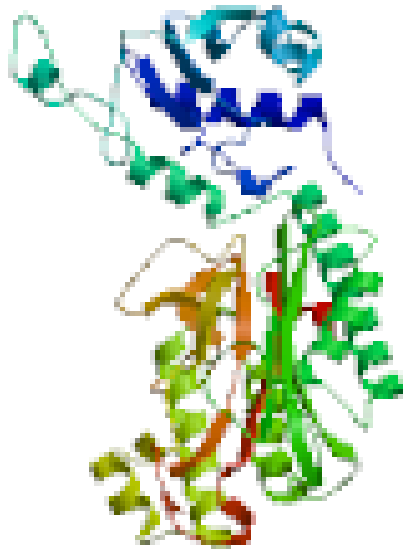
该蛋白的二级结构共有20螺旋，19单链。



Metal binding	244
Metal binding	255
Metal binding	255
Metal binding	336
Metal binding	381
Metal binding	420
Metal binding	420

Q44238蛋白分子为同型二聚体，每个亚单位形成一个 α/β 桶，8个平行的 β 折叠构成桶，依次与14个 α 螺旋侧向连接

P77814 蛋白的结构

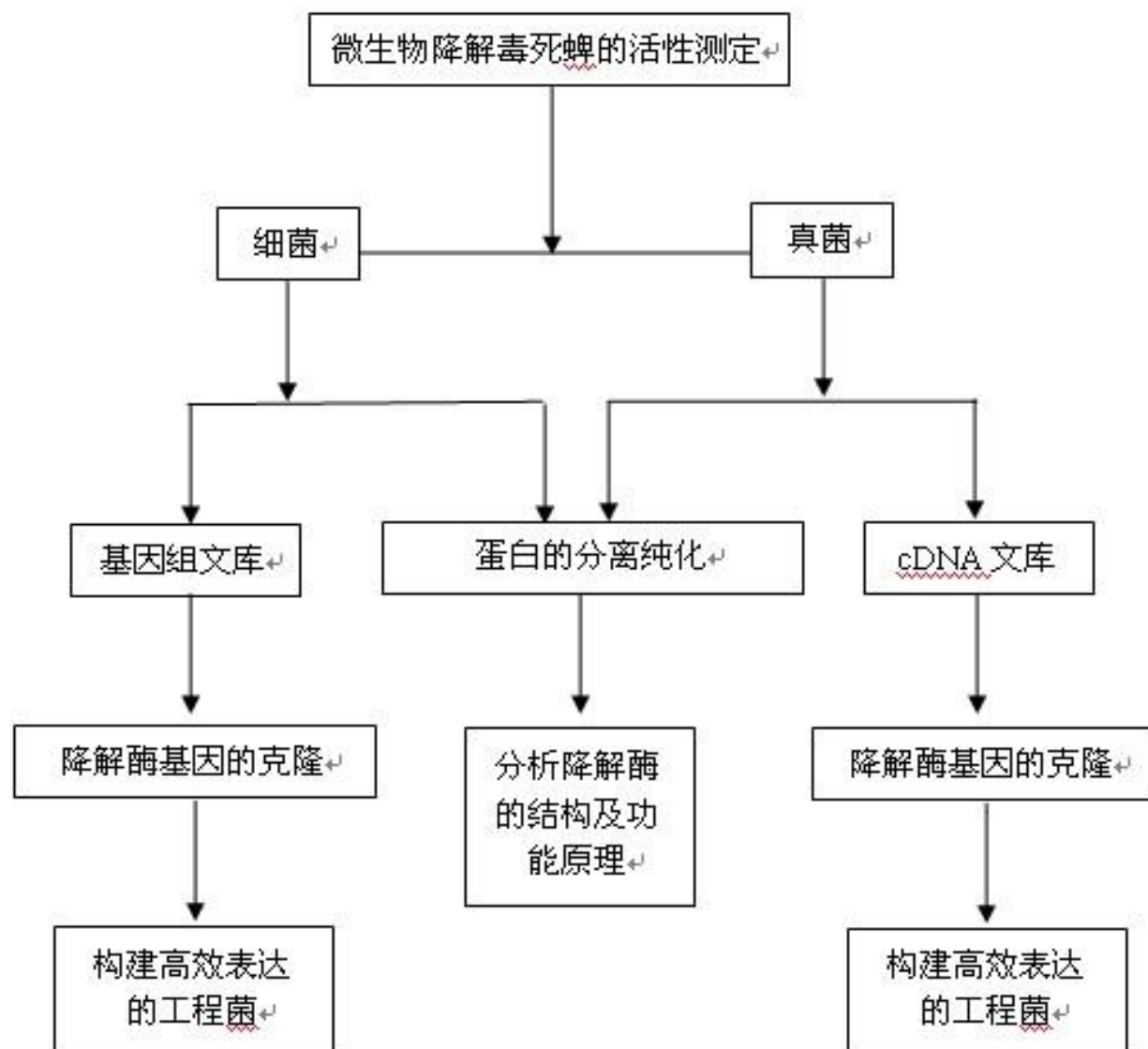


Metal binding	244
Metal binding	255
Metal binding	255
Metal binding	336
Metal binding	381
Metal binding	420
Metal binding	420

实验构思

- 高效降解有机磷的微生物的鉴定，以及生理生化测定, 优化菌株的生长条件。
- 分离纯化天然有机磷降解酶并克隆降解酶基因，利用突变方法获得毒死蜱降解酶新基因。
- 确定维持有机磷降解酶催化活性的结构域和残基，找出能显著提高毒死蜱降解酶降解活性的关键残基，进一步阐明毒死蜱降解酶的结构与其降解性能之间的关系。

技术路线



thanks for your attention