

《助推计划》高校转化项目登记表

日期 : 2013-03-025

编号 : YY1310HY

项目名称	基于基因工程的鱼类抗菌肽制备技术	所属领域	<input type="checkbox"/> 先进重大装备 <input type="checkbox"/> 新材料 <input type="checkbox"/> 新能源 <input checked="" type="checkbox"/> 生物医药 <input type="checkbox"/> 电子信息制造 <input type="checkbox"/> 新能源汽车 <input type="checkbox"/> 海洋工程装备 <input type="checkbox"/> 软件和信息服务 <input type="checkbox"/> 民用航空制造 <input type="checkbox"/> 其它
院校名称	上海海洋大学 (盖章)		
项目成熟度	<input type="checkbox"/> 已实现产业化, 产品供不应求 <input type="checkbox"/> 已实现小批量生产, 产品有市场需求 <input type="checkbox"/> 已通过中试鉴定 <input checked="" type="checkbox"/> 处在中试阶段		
技术水平	<input type="checkbox"/> 国际领先 <input type="checkbox"/> 国际先进 <input checked="" type="checkbox"/> 国内先进 <input type="checkbox"/> 一般水平		
推广范围	<input type="checkbox"/> 国际推广 <input type="checkbox"/> 国内推广 <input checked="" type="checkbox"/> 区域推广 <input type="checkbox"/> 特定地区推广		
知识产权状态	<input type="checkbox"/> 授权国外有效发明专利 <input type="checkbox"/> 授权国内有效发明专利 <input type="checkbox"/> 国内有效实用新型专利 <input type="checkbox"/> 其它知识产权		
项目获奖情况			各类基金 资助情况
是否具有以下资料	<input checked="" type="checkbox"/> 项目可行性报告 <input checked="" type="checkbox"/> 查新报告 <input type="checkbox"/> 鉴定证书 <input checked="" type="checkbox"/> 检测报告 <input type="checkbox"/> 认定证书 <input checked="" type="checkbox"/> 用户意见		
课题组简介:(概述研发优势和成功案例等) 项目申请人于 2000 年 10 月至 2004 年 3 月在日本东京大学农学生命科学研究科攻读水圈生物科学专业的博士学位期间, 主要从事鱼类肌肉蛋白质功能基因的克隆、表达模式和原核真核细胞重组表达等方面的研究工作; 2007 年受邀作为客座研究员在日本东京大学进行了为期半年的合作研究工作; 在 PCR 技术、DNA 克隆、重组体蛋白质表达及纯化等方面具有丰富的实际操作经验和实验技能; 自 2004 年回国工作以来, 已先后主持完成了两项上海市科委国际合作项目、两项上海市教委重点创新基金、上海市浦江人才基金; 作为主要参与者参加完成了国家自然科学基金项目的主要研究工作。 在 2008.3-2011.2 期间, 课题组以罗非鱼和斑点叉尾鮰为材料, 成功克隆到多个抗菌肽基因, 并实现了在大肠杆菌中的融合表达, 其中 2 个通过酶切和纯化以后显示了对于革兰氏阳性和阴性菌的良好抗菌活性, 这些工作已有 5 篇论文在核心期刊发表, 并已申报 2 项专利。为了进一步获得高表达量的抗菌肽以及符合实际生产的需要, 自 2011 年 3 月以来, 课题组在上述前期研究工作的基础上, 进一步通过 DNA 串联技术, 并构建了酵母表达系统, 成功实现了多种鱼类抗菌肽在毕赤酵母中的高效表达, 已经在实验室水平上获得了具广谱抗菌活性的鱼类重组体抗菌肽。进一步的研究工作将结合生产实际, 聚焦于发酵罐水平的小试和中试。			

项目简介：(项目背景、政策导向、应用领域和服务对象、项目进展情况、成熟程度以及项目预计产业化周期、项目鉴定或产品检测报告的结论性表述。如是生物医药项目，写明是否具有临床批文和药证等文件。)

过去的五年中，虽然我国水产品出口总量一直位居大宗农产品出口的首位，但水产品出口遭受技术性贸易壁垒的形势也很严峻，而遭遇技术壁垒的主要原因是出口水产品中的抗生素超标。据此，开发无微生物耐药问题、能够替代或部分替代抗生素的绿色饲料添加剂对于水产生物的养殖安全和水产食品安全来讲刻不容缓。

抗菌肽是由包括水产生物在内的各种生物细胞中特定基因编码的一类具有强抗菌作用的小分子多肽，一般由 20~60 个氨基酸残基组成；其抗菌谱广、无耐药诱导性且耐热性好，并具免疫调节功能，在机体天然免疫和获得性免疫中发挥了重要作用。水产生物因其栖息的水域环境比其他生物复杂而更易遭遇病原微生物的侵染，它们的机体必须拥有比其他生物更强的免疫系统才能适应这种复杂的生存环境，而这种特殊的免疫系统得益于它们机体中多种抗菌肽的适时表达。因此，水产生物来源的抗菌肽是水产生物养殖中饲用抗生素替代品的最佳候选者，极具开发应用前景。

对于抗菌肽的研究目前比较成熟的主要是昆虫来源的抗菌肽，还有一些两栖动物和哺乳动物来源的抗菌肽，它们的应用领域集中在畜禽养殖业。相比之下，对于水产生物来源抗菌肽的研究报道很少，即使在 2009 年深圳召开的第一届全国抗菌肽学术研讨会上亦无一例是关于水产生物抗菌肽的研究报告。国内外迄今为止发表的对于水产生物来源抗菌肽的研究报道大多数仅局限于直接从生物细胞中提取或化学合成；即便是做原核或真核的重组 DNA 表达，也是使用合成的 DNA，而非克隆的天然抗菌肽基因，且表达量都很低，以至于实现产业化的可能性很小。

在 2008.3-2011.2 中，课题组已经获得了多种鱼类的 5 种天然抗菌肽基因，并成功实现了在大肠杆菌中的表达，其中有 2 个显示了明显的抵抗革兰氏阳性和阴性菌的功能，且耐热性和耐酶水解性良好；进一步在 5 立升发酵罐中扩大制备后，经高压匀浆和超滤处理的产品被初步应用于虾的养殖，显示了较明显的促生长作用。上述研究成果已经申报 2 项发明专利。

然而，基于大肠杆菌表达的抗菌肽的表达量较低，且对于表达产物的后续处理复杂，很难实现大规模的制备和投产。而酵母表达系统不仅具有大肠杆菌表达系统繁殖迅速、费用低廉及操作方便的特点，还具有对表达产物进行正确加工折叠和适度糖基化的优点，更重要的是它能进行分泌表达，大大方便了发酵液的后续处理，有利于大规模投产。因此，自 2011.3 开始，课题组开展了建立鱼类抗菌肽酵母表达系统方面的研究工作，至目前为止，已经通过特殊的 PCR 技术，对前期研究工作中获得的多种鱼类抗菌肽基因进行了成功的 DNA 串连，并实现了在毕赤酵母中的高效表达，在实验室水平上获得了具广谱抗菌活性的多种鱼类重组体抗菌肽；纯化分离的产品经 MALDI-TOF-TOF 鉴定，结构属实。

本项目的目标主要是对相关生技公司或企业进行现有抗菌肽酵母表达技术的转让，期盼通过与合作，利用现有实验室的研究成果，进一步聚焦于在发酵罐的小试和中试水平上探索符合生产实际的发酵条件和后续处理技术以及确定产品的最终形式，并初步应用于水产养殖，以期鉴定使用效果。

技术特点：(项目的技术特征和优势，可与国内或国际现有技术进行比较。)

不同于目前为止研究得比较成熟的或已经应用于畜禽养殖业的昆虫类等其他来源的抗菌肽，本技术以鱼类抗菌肽为研发对象，通过采用 DNA 串连技术获得基于酵母细胞表达的几种鱼类抗菌肽混合物，以期提高表达量和扩大抗菌谱，并实现中试水平的投产。该项技术在国内外尚无报道。

市场前景：(市场规模、市场占有率、市场进入壁垒、市场竞争等状况。)

就国家经济发展的需要而言，近十年以来，我国在世界水产品贸易中占有举足轻重的地位，占世界水产品贸易总额的十分之一，水产品是我国换取外汇的重要农产品。然而，技术性贸易壁垒已成为国家之间贸易的重要障碍。据统计，近几年，中国水产品出口由于欧盟执行严格的药物残留标准而损失数亿美元。

在目前我国水产养殖安全所面临的严峻形势下，研究和开发基于基因工程技术的鱼类天然抗菌肽以替代水产养殖中使用的抗生素，可望解决水产品药残超标问题。因此，本项目完成后，其研究成果对于消除当前水产品出口的技术性贸易壁垒、增强国际市场竞争力和保障国民身体健康具有极其重要的现实意义，其潜在的经济效益和应用前景也是不言而喻的。

我国 2010 年水产饲料产量为 5350 万吨，仅以平均 15%使用上述产品计算，市场规模将高达 10700 吨，以 450 元/公斤计算，产值达到 48.15 亿多元，利润 12.04 亿元、税收 2.05 亿元。

经济和社会性效益：

1. 该项目产业化最低投资金额 1200 万元。其中研发费投资 250 万元，设备投资 600 万元，流动资金 350 万元。
2. 由于发酵产物全部利用，故环境影响比较小。能源要求 100kW，蒸汽 50 立方/天。厂房面积 600 平方米。所需职工 8 人；
3. 根据最低投资，预期投产后三年内能达到的年产值 5000-8000 万元、年销售值 3800-5000 万元、年利润 1100-2000 万元；
4. 投资回收期限 (5) 年。

合作要求：1. 合作方式、对合作方及合作价格的要求。 金额： (50) 万元 面议
合作方式：技术转让。