

参赛学生姓名：彭思齐 管鑫怡 林照泉

中学：广州市第六中学

省份：广东省

国家/地区：中国

指导老师姓名：徐文华 田新朋

指导老师单位：广州市第六中学

中国科学院南海海洋研究所

论文题目：NH937 水解酶降解 PET 塑料的性能及
抗逆机制研究

摘要

海洋微塑料污染已成为全球性环境问题，聚对苯二甲酸乙二醇酯（PET）是海洋中检出频率最高的合成聚合物之一。目前已知的 PET 降解酶多源于陆生环境，在海水低温、高盐的复杂环境下活性急剧衰减，无法支撑海洋原位修复应用。本研究以 PET 水解酶保守功能基序（SMGGG）为着眼点，从南海近海沉积物宏基因组数据库中靶向筛选获得一条新型水解酶基因 *NH937*。该基因全长 852 bp，编码 283 个氨基酸，隶属于莫拉氏菌科（*Moraxellaceae*）新属。经密码子优化后在大肠杆菌 *SHuffle T7 Express* 中实现异源表达，纯化获得分子量约 30.1 kDa 的重组酶。酶学性质探究显示，*NH937* 最适反应温度为 40 °C，最适 pH 为 8.5，在 0~5.3 mol/L NaCl 范围内保持催化活性。在天然海水体系中，*NH937* 于 25~35 °C 范围内对结晶度 10%和 40%的 PET 粉末均表现出显著降解活性，催化效率显著优于对照酶 *IsPETase* 与 *DuraPETase*。结构解析揭示，*NH937* 通过负电势表面结合 Na⁺形成水化层、密集盐桥网络提升骨架刚性、小而分散的表面疏水区域规避聚集变性等三重策略协同适应高盐环境。定点突变证实盐桥网络是维持其结构稳定与催化活性的关键因素。本研究为海洋 PET 微塑料原位生物修复提供了候选酶资源与技术支持。

关键词：PET 水解酶；海洋微塑料；耐盐性；低温适配；生物降解

目 录

1.前言	1
2.实验材料与方法	2
2.1 实验材料	2
2.1.1 宏基因组数据来源	2
2.1.2 菌株与载体	2
2.1.3 主要试剂	2
2.2 实验方法	2
2.2.1 宏基因组挖掘	3
2.2.2 基因合成与表达载体构建	3
2.2.3 重组蛋白表达与纯化	3
2.2.4 酶学性质表征	4
2.2.5 海水环境中降解性能评价	4
2.2.6 NH937 蛋白结构分析	5
3.结果与分析	5
3.1 海洋沉积物宏基因组新型 PET 降解酶的挖掘	5
3.2 NH937 的物种归属、序列特征及 PET 降解活性	6
3.3 NH937 的酶学性质表征	7
3.3.1 温度、pH、海水金属离子对 NH937 酶活性的影响	7
3.3.2 高盐环境对 NH937 酶活性的影响	8
3.4 NH937 的原位生物降解性能与环境稳定性检测	9
3.5 NH937 耐受海洋多重胁迫的结构基础	10
3.6 NH937 耐受海洋多重胁迫的分子机制	11
4.讨论与展望	11
参考文献	13
致谢	14
团队介绍	16
指导教师	17

1. 前言

聚对苯二甲酸乙二醇酯（PET）因其优异的机械性能和加工特性，广泛应用于包装、纺织、电子等行业，全球年产量持续增长。然而，PET 塑料化学性质稳定，在自然环境中完全分解需数百年时间。海洋微塑料污染已成为全球重点关注的复合型环境问题，其中 PET 是海洋环境中检出频率最高、空间分布最广的人工合成聚酯聚合物之一，在人类活动密集近岸海域与沉积物汇区呈现显著富集特征^[1]。自然消减过程难以有效管控海洋 PET 微塑料污染态势。海洋低温、高盐、寡营养、离子动态波动等极端环境条件，会显著抑制海洋土著微生物的代谢活性与胞外酶催化效率，大幅延长微塑料降解周期，导致天然体系中 PET 微塑料存续时间可达数年至数十年。

酶促生物修复具有反应条件温和、降解特异性强、环境友好、适配原位修复场景等突出优势^[2]。近年来，研究者从环境样本中分离出多种 PET 降解微生物，如 *Thermobifida fusca* 及其水解酶 TfCut，以及塑料填埋场发现的 *Ideonella sakaiensis*——该菌株在 30 °C 条件下 42 天内几乎完全降解低结晶度 PET (1.9%)。基于理性设计与机器学习方法开发的工程酶 TurboPETase、FAST-PETase 等可实现数小时内完全降解^[3]。然而，通过查阅资料及聆听南海所老师讲解，我们了解到目前已报道的 PET 降解酶多数适用于高温条件，难以适应海洋低温、高盐的特殊环境。海洋环境具有低温（表层年均温度约 15~28 °C）、高盐（约 3.4~3.5%）、寡营养等特征，陆生来源酶在该条件下易出现结构崩坏、活性急剧衰减等问题。全球海洋宏基因组研究显示，虽然 PETase 在海洋中广泛分布（近 80% 样本可检出），且主要在 *Pseudomonadales* 目成员中编码转录，但功能验证仍十分有限。

海洋土著极端环境适配型降解酶，是突破现有技术瓶颈与理论短板的核心特色资源^[4]。宏基因组学为从海洋环境直接挖掘功能酶基因提供了有力工具^[5]。Alam 等通过整合生物信息学与 AI 结构预测，建立了区分功能性 PETase 与假基因的算法，在全球 415 个海洋样本中鉴定出 23 种 PETase 变体^[6]。这一研究证实了海洋微生物群落正在响应塑料污染而进化降解能力，也为从海洋宏基因组中发掘新型 PETase 提供了方法论参考。

因此，在南海所老师、学长学姐及本校生物老师的指导下，我们参与研究活

动，探究 NH937 水解酶降解 PET 塑料的性能及抗逆机制。本研究基于自建的南海近海沉积物宏基因组数据库，以 PET 水解酶保守功能基序（SMGGG）为核心筛选标记，采用逐级过滤策略发掘获得一条新型耐盐低温水解酶编码基因——NH937。通过异源表达、酶学性质表征及海水环境降解实验，系统评估其海洋原位修复应用潜力，并结合结构分析初步阐释其耐盐低温适配机制。

2. 实验材料与方法

2.1 实验材料

2.1.1 宏基因组数据来源

海洋沉积物宏基因组数据库由实验室前期对南海近海沉积物样本进行高通量测序组装获得。

2.1.2 菌株与载体

大肠杆菌 SHuffle T7 Express 感受态细胞购买于上海唯地生物技术有限公司，表达载体 pET-21a 由实验室保存。

2.1.3 主要试剂

DNA 聚合酶购买于南京诺唯赞生物科技有限公司。IPTG 购买于 Sigma-Aldrich。Ni-NTA 亲和层析填料购买于 GE Healthcare。PET 粉末（结晶度 10%和 40%）购买于上海麦克林生化科技有限公司。天然海水采集自深圳大亚湾海域，经 0.22 μm 滤膜过滤灭菌后使用。

2.1.4 培养基

2YT 培养基的配方为：每 1 L ddH₂O 中添加 5 g NaCl，10 g 酵母提取物和 16 g 胰蛋白胨。如需使用氨苄青霉素（Amp），Amp 的终浓度为 100 $\mu\text{g/mL}$ 。

2.2 实验方法

2.2.1 宏基因组挖掘

参照已报道的 PET 降解酶 (*IsPETase*、LCC、MHETase 等共 68 条) 构建隐马尔可夫模型 (HMM)，对 27 个宏基因组组装基因组进行同源序列比对。

筛选流程如下：①初步筛选：序列一致性>30%；②基序过滤：基于保守 SMGGG 活性中心基序筛选；③长度筛选：保留>250 个氨基酸的序列(已知 PETase 长度约 290~310 aa)，确保结构域完整性；④系统发育过滤：剔除与已知酶完全相同序列；⑤新颖性筛选：NCBI BLASTP 选择与已知酶相似度<60%的远缘同源物。

使用 Clustal Omega 进行多序列比对。使用 MEGA 11 软件以邻接法 (Neighbor-Joining) 构建系统发育树，Bootstrap 重复 1,000 次。使用 SignalP-6.0 预测蛋白信号肽。使用 ProtParam 预测等电点。

2.2.2 基因合成与表达载体构建

NH937 编码基因 (去除信号肽序列，第 1-19 位氨基酸) 经大肠杆菌密码子偏好性优化后，由天一辉远 (广州) 生物公司全基因合成，合成序列两端引入 EcoRI 和 HindIII 酶切位点。

将合成基因片段与 pET-21a 载体分别经 EcoRI/HindIII 双酶切，T4 DNA 连接酶连接，转化 *E. coli* DH5 α 感受态细胞，挑取单克隆测序验证，获得重组质粒 pET-21a-NH937。

将 4 μ L 重组质粒通过化学法转化至 SHuffle T7 Express 感受态细胞，涂布于含 100 μ g/mL Amp 的 2YT 固体培养基，37 $^{\circ}$ C 培养过夜。挑取单克隆进行测序验证，验证成功的工程菌株于 -80 $^{\circ}$ C 甘油保藏。

2.2.3 重组蛋白表达与纯化

在超净台中，用无菌枪头挑取单菌落。将菌样接种到 5 mL 2YT 液体培养基中，混合均匀。在 37 $^{\circ}$ C、180 rpm 条件下培养至 OD₆₀₀ $\approx$ 0.6~0.8 时，将 5 mL 菌液接种至 500 mL 2YT 液体培养基并继续培养。当 OD₆₀₀ $\approx$ 0.8 时，加入 IPTG 至终浓度 0.5 mM，混合均匀。在 16 $^{\circ}$ C、150 rpm 条件下，诱导培养 20 h。

4 °C、8,000 rpm 离心 10 min 收集菌体，重悬于裂解缓冲液（20 mM Tris-HCl, 500 mM NaCl, pH 8.0）。使用超声破碎菌液，超声仪的功率为 300 W，工作 1 s/停 2 s，超声的总时间为 30 min。超声后，4 °C、10000 rpm 离心 20 min 收集上清并转移至新的 50 mL EP 管中，获得粗酶液。

采用 Ni-NTA 亲和层析纯化：粗酶液上样至平衡后的 Ni-NTA 柱，分别用含 20 mM、50 mM、100 mM、250 mM 咪唑的洗脱缓冲液梯度洗脱，收集目标蛋白。脱盐后以超微量蛋白浓度检测仪测定浓度，SDS-PAGE（12%分离胶）检测纯度。

2.2.4 酶学性质表征

2.2.4.1 标准降解体系

称取 15 mg PET 粉末（结晶度 10%）于 2 mL EP 管，加入 100 mmol/L 磷酸钾缓冲液（pH=8.5）和 30 μ g 纯化酶，反应总体积 500 μ L，酶底物比 2 mg 酶/g PET。每组设置三个平行，于设定温度反应 12 h 后，加入 1 mol/L HCl 终止反应。

2.2.4.2 最适温度测定

反应体系分别于 20、25、30、40、50、60 °C 反应 12 h，HPLC 检测产物生成量。

2.2.4.3 最适 pH 测定

使用 pH 5.0~11.0 的 100 mmol/L 磷酸钾缓冲液，40 °C 反应 12 h。

2.2.4.4 金属离子影响

分别添加 CaCl_2 、 MgCl_2 、 KCl （0~100 mmol/L）和 FeCl_2 （0~50 mmol/L），40 °C 反应 12 h。

2.2.4.5 耐盐性测定

在 100 mmol/L 磷酸钾缓冲液（pH 8.5）中分别添加 NaCl 至终浓度 0.25、0.5、1.0、2.0、4.0、5.3 mol/L，40 °C 反应 12 h。

2.2.5 海水环境中降解性能评价

2.2.5.1 海水体系降解实验

称取 15 mg PET 粉末（结晶度 10%或 40%）于 2 mL EP 管，加入 500 μ L 灭菌天然海水和 30 μ g 纯化酶，于 25、30、35 °C 反应 12 h。以 *IsPETase* 和 *DuraPETase*（均在 *E. coli* BL21(DE3)中表达）为阳性对照。

2.2.5.2 高效液相色谱法（HPLC）定量分析产物

反应液在 12,000 rpm 条件下离心 10 min，取上清经 0.22 μm 滤膜过滤，以 HPLC 测定产物量。HPLC 参数如下：色谱柱为 TC-C18(2)，4.6 $\times$ 150 mm，5 μm ；检测波长为 240 nm；流动相 A 为 0.1%甲酸水溶液；流动相 B：0.1%甲酸甲醇溶液；洗脱程序为 0~5 min，30% B；20 min，80% B；23 min，100% B；25 min，30% B；30 min，30% B；流速为 1 mL/min；进样量：10 μL 。因为 PET 的降解过程中会产生对苯二甲酸（TPA）、单(2-羟乙基)对苯二甲酸（MHET）、双(2-羟乙基)对苯二甲酸酯（BHET），所以使用对应的标准品绘制标准曲线，用于定量分析。

2.2.6 NH937 蛋白结构分析

使用 AlphaFold2 预测 NH937 三维结构；使用 Pymol APBS 计算表面电荷分布，Pymol 软件进行结构可视化与盐桥网络分析。

3. 结果与分析

3.1 海洋沉积物宏基因组新型 PET 降解酶的挖掘

本研究建立了 HMM 与保守基序联合筛选的宏基因组靶向挖掘路线。以 68 条已知 PET 降解酶（涵盖 *IsPETase*、*MHETase*、*LCC*、*TfCut2*、*DuraPETase* 等不同来源类型）构建 HMM 模型，从 27 个南海近海沉积物宏基因组（涵盖不同深度、不同地理位置的沉积物样品）中获约 6000 条同源候选（一致性>30%，E 值<1e⁻⁵），表明海洋沉积物中蕴藏着远超预期的 PET 水解酶同源基因资源。经 SMGGG 保守基序筛选获 260 条，该基序为 PET 水解酶通用保守功能序列，主要负责维持酶的核心催化骨架与底物识别功能。再按长度>250 aa（确保催化结构域完整性）和 BLAST 相似度<60%（优先选择远缘同源物以保证新颖性）筛选，最终锁定 27 条远缘同源候选。经结构模拟与底物对接综合评估催化中心完整性、底物口袋疏水性和结构稳定性，NH937 表现出最为完整的催化三联体、适宜的底物结合口袋构象和独特的表面负电势分布，被选为重点研究对象。

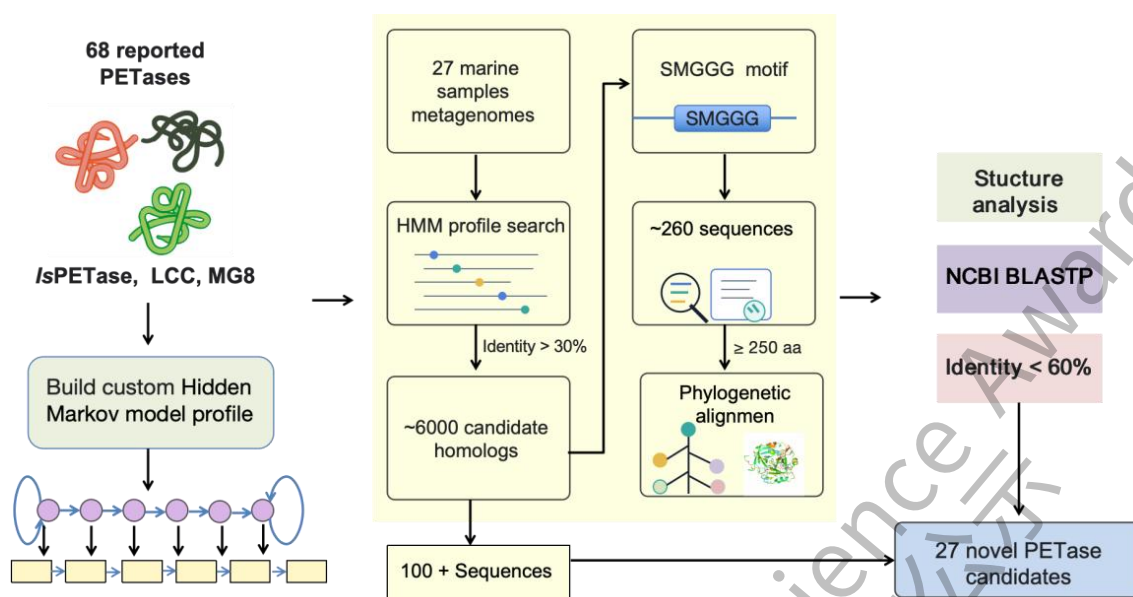


图 3-1 新型 PET 降解酶的宏基因组挖掘与逐级筛选技术路线

3.2 NH937 的物种归属、序列特征及 PET 降解活性

基于宏基因组拼接、分箱及系统发育分析结果，证实 NH937 编码基因隶属于莫拉菌科（*Moraxellaceae*）一新属。莫拉菌科成员广泛分布于海洋环境，许多种类具有适应低温高盐的生理特性。NH937 与 GlacPETase 的氨基酸序列一致性达 47.84%。NH937 含有保守的 PET 酶催化三联体（Ser137-His215-Asp186）及 1 对特征二硫键（C28-C38），成熟蛋白分子量约 30.1 kDa，理论等电点约为 5.2，呈酸性蛋白特征，这与其表面富含负电荷氨基酸的结构特征一致。以结晶度 10% 的 PET 粉末为底物，在总体积 500 μ L、酶底物比 2 mg/g、40 $^{\circ}$ C 条件下反应 12 h 后，初步活性实验结果表明 NH937 可催化 PET 解聚并产生约 20 mmol/L 的 MHET 与 TPA 单体，降解性能显著优于已报道的 *DuraPETase* 与 *IsPETase*，具备高效的 PET 降解能力。

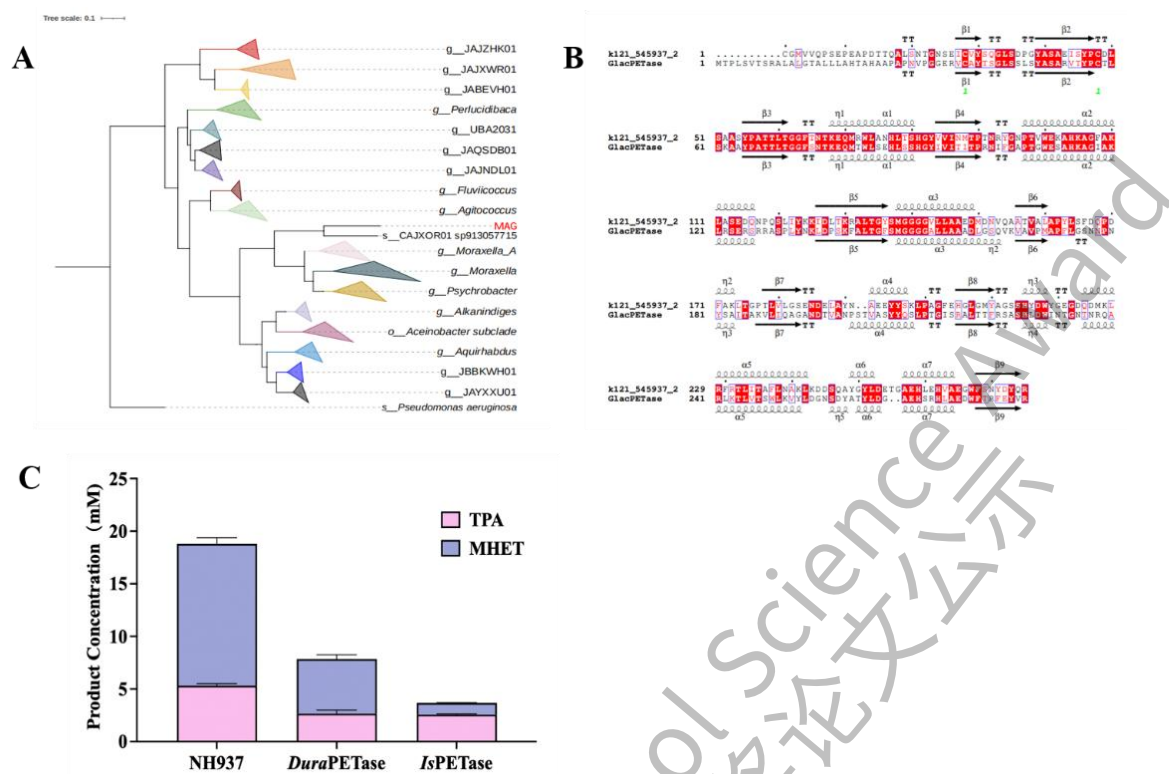


图 3-2 NH937 的物种归属、序列特征及 PET 降解活性

(A) NH937 物种溯源进化树分析。(B) NH937 与 GlacPETase 的氨基酸序列比对。(C) NH937 的 PET 降解活性验证。

3.3 NH937 的酶学性质表征

3.3.1 温度、pH、海水金属离子对 NH937 酶活性的影响

NH937 的最适温度为 40 °C, 并且在较宽的温度区间均具有良好的催化活性。由于在正常环境中, 海水的温度低于 40 °C, 因此我们选取在 25 °C, 30 °C, 35 °C 海水中, 检测 NH937 对 10% 结晶度 PET 的降解效率。同时, 我们选取已报道的具有较低最适温度的 2 种水解酶 (*IsPETase* 和 *DuraPETase*) 作为对照组。实验结果表明, NH937 对 10% 和 40% 结晶度 PET 的降解效率均显著高于 *IsPETase* 和 *DuraPETase*。更重要的是, NH937 对 40% 高结晶度 PET 也表现出优异降解能力。多数 PET 降解酶对高结晶度 PET 效率极低, 而 NH937 同时高效降解低、高结晶度 PET 的特性对海洋微塑料实际修复具有重要意义。NH937 最适 pH 为 8.5, 在 pH 7.0–10.0 保持 >70% 相对活性, pH 5.0 和 11.0 仍保留约 30% 活性。其弱碱性偏好与海水 pH (7.5–8.4) 高度吻合。5 mmol/L Ca^{2+} 和 10 mmol/L Mg^{2+} 显著促进活

性（分别提升至 200%和 120%），可能因二价离子与表面负电荷残基配位增强结构稳定。低浓度 K^+ 无显著影响，高浓度轻微抑制； Fe^{2+} 呈浓度依赖性抑制，10 mmol/L 时活性降至约 40%，可能与其氧化还原活性导致蛋白氧化损伤有关。

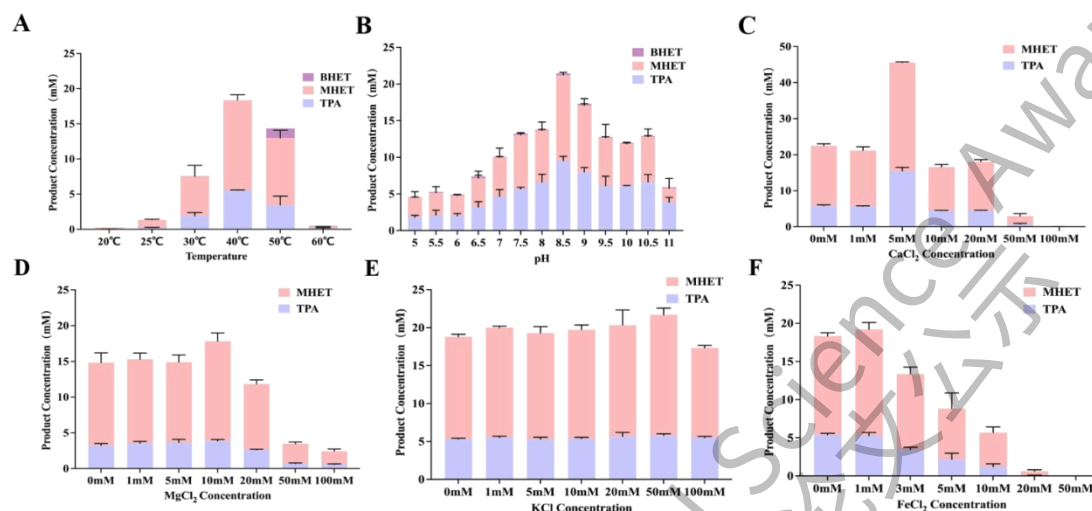


图 3-3 典型环境因子对 NH937 酶活性的影响

(A) 最适反应温度。在 pH 8.5 条件下，设置 20 - 60 °C 温度梯度孵育 12 h，探究 NH937 催化活性的温度响应特征。(B) 最适反应 pH。在 40 °C、pH 5.0 - 11.0 梯度缓冲体系中反应 12 h，探究表征 pH 对 NH937 催化活性的影响。(C-F) 金属离子耐受性。在 40 °C、pH 8.5 的标准体系下，探究不同浓度的海洋典型金属离子 ($CaCl_2$ 、 $MgCl_2$ 、KCl、 $FeCl_2$) 对 NH937 催化活性的调控作用。其中 $CaCl_2$ 、 $MgCl_2$ 、KCl 设置 0 - 100 mM 浓度梯度， $FeCl_2$ 设置 0 - 50 mM 浓度梯度。

3.3.2 高盐环境对 NH937 酶活性的影响

在 NaCl 浓度 0.25~5.3 mol/L 范围内，NH937 维持显著 PET 降解活性。在模拟海水盐度（约 0.6 mol/L NaCl 当量）条件下活性最高，5.3 mol/L NaCl（约 30% 盐度）仍保留约 20% 相对活性。

综合来看，NH937 宽温度、宽 pH 适应范围及对海洋常见二价离子的促进响应，与其海洋来源的进化背景一致。

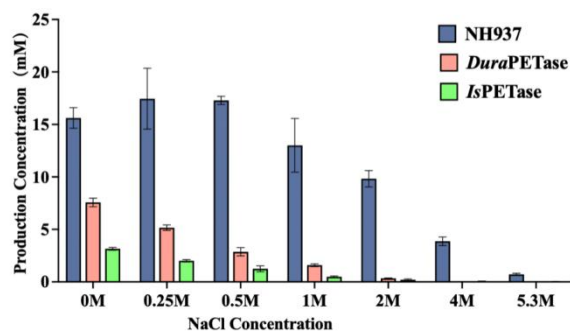


图 3-4 高盐环境对 NH937 酶活性的影响

3.4 NH937 的原位生物降解性能与环境稳定性检测

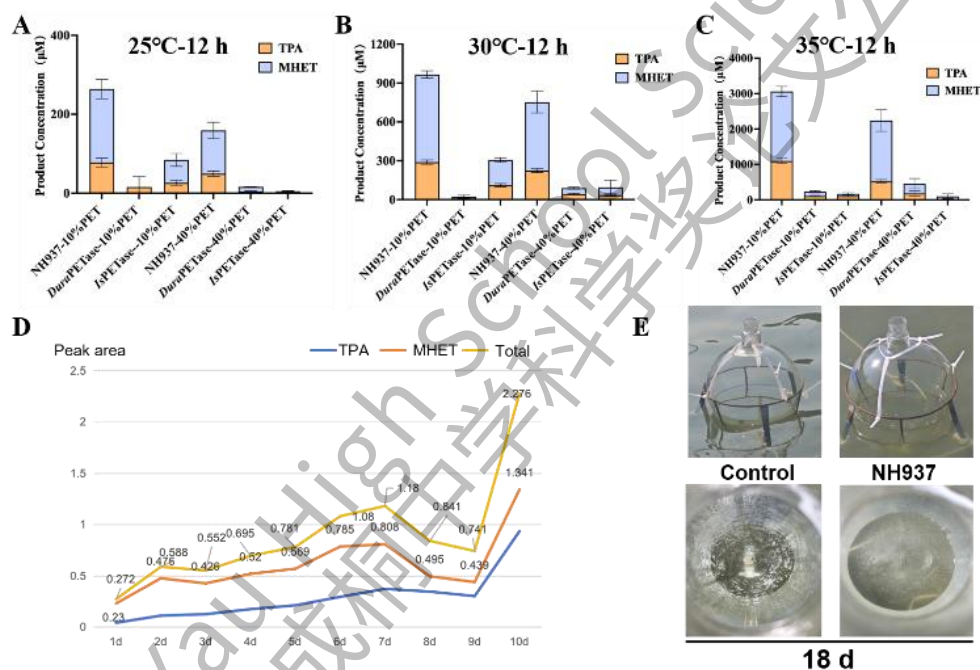


图 3-5 NH937 的原位生物降解性能与环境稳定性检测

(A-C) 天然海水体系中短时间 PET 微塑料降解动力学特征。称取 PET 粉末 15 mg (结晶度 10% 和 40%) 置于 2 mL 的 EP 管中，随后加入 500 μL 海水和纯化后的 30 μg NH937 (物料比为 2mg/g PET)，在 25 °C、30 °C 和 35 °C 下反应 12h，以酶 IsPETase 与 DuraPETase (在 *E. coli* BL21(DE3) 中表达) 作为阳性对照，每组处理设置三个平行，研究 NH937 在不同温度的海水环境中分别对 10% 和 40% 结晶度 PET 塑料降解效率，采用 HPLC 对反应液中的降解产物进行定量分析。(D) 海水长期孵育下的酶活性稳定性。称取 PET 粉末 0.5 mg (结晶度 10%) 置于 2 mL 的 EP 管中，通过海水体系长期孵育处理 (物料比为 3mg/g PET)，总反应体系为 500 μL，持续检测残存酶催化活性。(E) 海洋原位围格实验验证真实场景下的微塑料降解效率。称取 PET 粉末 5 g (结晶度 >10%) 置于装有 10 L 原位海水的漏斗中，按照物料比为 3 mg/g PET 投放 NH937，在自然光照和环境温度下反应 18 天。

通过与野生酶 *IsPETase* 与工程酶 *DuraPETase* 在不同反应条件下催化活性比较, 研究发现 NH937 具有较好的耐盐特性, 在不同温度的海水中 NH937 同时具有高效降解低结晶度和高结晶度 PET 塑料的能力。该酶表现出耐盐特性以及在海水中高效催化能力, 表明该酶可用为海洋微塑料原位降解的候选酶。NH937 在天然海水中催化产生的 TPA 和 MHET 随时间持续增加, 第 10 天降解率达 50%, 表明其在海水中具有优异的长期催化稳定性。海洋原位围格实验结果表明, 反应 18 天后 NH937 对 PET 微塑料的原位降解效果显著, 达到 90% 降解率, 充分证明其实际应用潜力。

综合短期动力学、长期稳定性和围格实验, NH937 在真实海水中表现出宽温度适应、同时降解高低结晶度 PET、长期稳定、高效原位降解等突出优势。

3.5 NH937 耐受海洋多重胁迫的结构基础

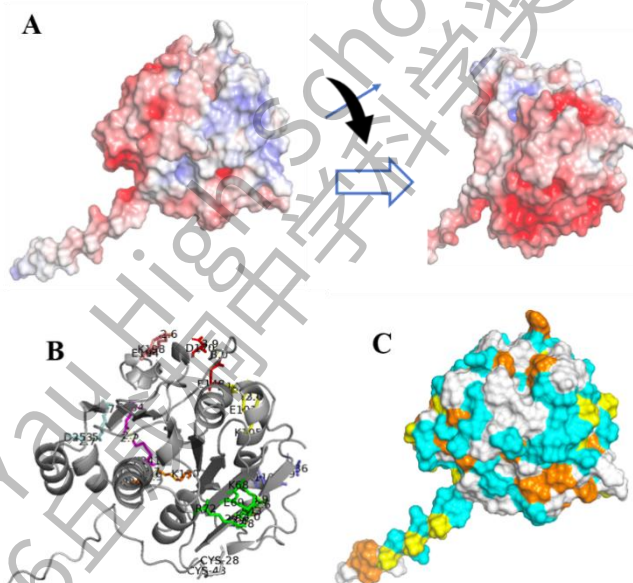


图 3-6 NH937 耐受海洋多重胁迫的结构基础

(A) 表面静电势以负电势为主, 与 Na^+ 形成稳定的水和层。(B) 表面盐桥结构密集, 可增强高盐下的刚性。(C) 表面疏水区域 (黄色与橙色) 面积小分布散, 核心口袋为疏水区域。避免高盐诱导的蛋白聚集。

通过蛋白结构解析, 系统揭示 NH937 适配海洋高盐极端环境的关键结构基础。与 *IsPETase* 的均衡分布显著不同, NH937 蛋白整体以负电势表面为主, 可与环境中 Na^+ 结合形成稳定水化层, 有效抵御高盐环境引发的蛋白结构扰动。NH937 表面分布密集的盐桥结构, 可显著提升蛋白骨架刚性, 保障其在高盐胁迫条件下的结构稳定性。NH937 蛋白表面疏水区域面积小且分布分散, 数量显

著多于 *IsPETase* 和 *LCC*。这些盐桥广泛分布于结构域间和表面环区，形成错综复杂的分子内盐桥网络，显著提升蛋白骨架刚性，使其在高盐低温下维持紧密三维结构。与此同时，催化核心口袋内部呈强疏水性，有利于疏水性 PET 底物的结合定位，保障催化效率。

3.6 NH937 耐受海洋多重胁迫的分子机制

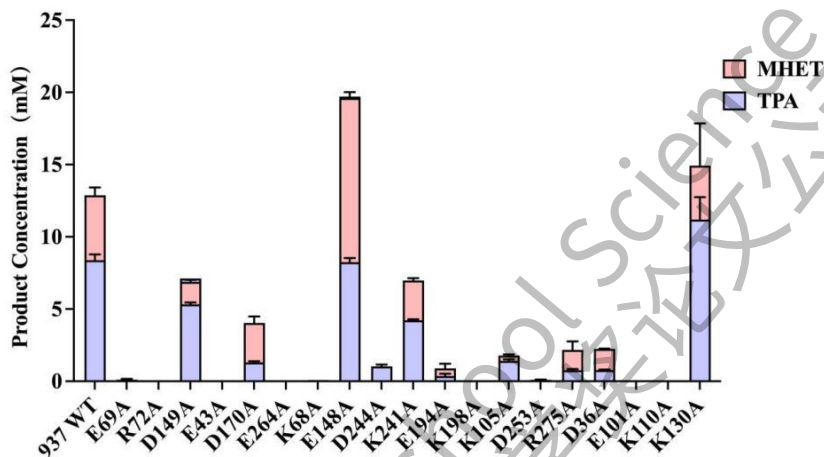


图 3-7 NH937 蛋白突变体的功能检测

将 3 对关键盐桥的带电残基突变为中性氨基酸后，NH937 突变体在标准条件下活性已下降，在 1.0 mol/L NaCl 高盐体系中活性几乎完全丧失。因此，我们推测密集分子内盐桥网络是 NH937 在多重海洋胁迫环境中维持空间结构完整、保留催化活性的核心分子机制。

综合以上结果，本研究提出 NH937 耐受海洋胁迫的四重协同机制：（1）负电势表面结合 Na^+ 形成水化层抵御扰动；（2）密集盐桥网络提升骨架刚性；（3）小而分散的表面疏水区域规避聚集变性；（4）催化口袋内部强疏水性保障底物结合与催化效率。这一机制模型为理解海洋酶的极端环境适应性提供了新的理论视角。

4. 讨论与展望

本研究建立的“HMM 同源检索→保守基序过滤→长度筛选→新颖性评估→系统发育定位”五步法，充分利用了海洋宏基因组数据中蕴藏的功能基因资源。

Alam 等（2025）的研究表明，全球海洋中功能性 PETase 广泛分布于

Pseudomonadales 目成员中，本研究发现的 NH937 隶属 *Moraxellaceae* 科（*Pseudomonadales* 目下），与上述规律高度吻合。

与陆生来源的 IsPETase（最适反应温度~30 °C，不耐盐）相比，NH937 在 20~40 °C 宽温区保持高活性，且在高达 5.3 M NaCl 条件下仍具催化功能。这种极端环境适应性与其海洋起源密切相关——南海近海沉积物环境（年均温约 15~28 °C、盐度 3.4~3.5%）构成了定向筛选压力，驱动 NH937 获得陆生同源酶不具备的多重胁迫耐受特性。

结构功能关系分析表明，表面负电势富集和密集盐桥网络是 NH937 耐盐的关键分子基础，这与海洋来源 III 型 PETase（HaloPETase1 等）的结构特征一致。同时，NH937 在海水体系中低温（20 °C）活性优于多数工程化突变体，说明野生型酶在复杂环境中的综合适应性可能超越单一性能指标优化后的突变体。本研究在实验室规模（mL 级）、中试规模（10 L 围格）两个层面验证了 NH937 的降解性能。围格实验 18 天达 90% 降解率的结果，为后续工程化应用奠定了初步基础。与近期报道的工程酶 IsPETase-M8（在海水体系中可连续解聚 PET）相比，NH937 作为野生型酶在表达产量（30 mg/L）和天然稳定性方面具有独特优势。

然而，从实验室到实际海洋环境仍面临挑战：（1）开放环境中酶活性受微生物竞争、温度波动等因素影响；（2）降解产物（TPA、MHET）的生态归趋与潜在毒性需进一步评估；（3）大规模酶生产成本控制。这些问题需要在后续研究中系统解决。本研究的局限性包括：（1）未解析 NH937 的晶体结构，机制阐释依赖 AlphaFold2 预测模型；（2）围格实验时间跨度较短（18 天），长期生态效应不明；（3）未评估 NH937 对真实 PET 塑料制品的降解效率（本研究使用商业化 PET 粉末）；（4）未探索 NH937 与海洋土著微生物的协同降解潜力。

综上所述，本研究从南海近海沉积物宏基因组中发掘获得新型 PET 水解酶 NH937，该酶在 *E. coli* 中高效表达（30 mg/L），具备以下显著特征：（1）宽温度适应（20~60 °C，最适 40 °C）；（2）宽 pH 适应（5.0~11.0，最适 8.5）；（3）极端耐盐性（0~5.3 M NaCl）；（4）海水体系中高效降解高结晶度和低结晶度 PET；（5）结构基础为表面负电势富集与密集盐桥网络。这些特性使 NH937 成为海洋 PET 微塑料原位生物修复的候选酶，本研究也为海洋宏基因组功能酶挖掘提供了可借鉴的技术路径。

参考文献

- [1] 田新朋,郭巧巧,刘雨晴,等.一种海洋宏基因组来源高效降解 PET 塑料的低温耐盐水解酶及其应用:CN202511647578.0[P].CN121555468A.
- [2] Turak O , Hcker B , Borchert E ,et al.A third type of PETase from the marine *Halopseudomonas* lineage[J].Protein Science : A Publication of the Protein Society, 2025, 34(10):e70305.
- [3] Danso D , Schmeisser C , Chow J ,et al.New Insights into the Function and Global Distribution of Polyethylene Terephthalate (PET)-Degrading Bacteria and Enzymes in Marine and Terrestrial Metagenomes[J].Appl Environ Microbiol, 2018:AEM.02773-17.
- [4] Huang X , Jia Q , Li G ,et al.Engineering a robust *Is*PETase for energy-efficient PET depolymerization in natural seawater at ambient temperatures[J].Advanced Biotechnology, 2026, 4(2):14-.
- [5] Tournier V , Topham C M , Gilles A ,et al.An engineered PET depolymerase to break down and recycle plastic bottles[J].Nature, 2020, 580(7802):216-219.
- [6] Alam I , Marasco R , Momin A A ,et al.Widespread distribution of bacteria containing PETases with a functional motif across global oceans[J].ISME Journal: Multidisciplinary Journal of Microbial Ecology, 2025, 19(1).

致谢

这个暑假，我们有幸被老师们选上，前往南海所进行这次科研项目。在老师指导下，我们在实践中学习了诸多知识，对生物学有了更深刻的认识，也在短短几天时间里发展出深厚的友情，实在是受益匪浅。借此次致谢的机会，我们想郑重表达我们的感激之情。

首先，感谢本次实验中老师们的悉心指导。在南海所度过的这几天时光中，我们尤其感激南海所老师们对我们的帮助。感谢南海所田主任的热情，为我们协调安排本次活动，保证了本次活动的顺利开展。我们也要感谢南海所郭巧巧老师，在她详细而生动的讲解中，我们逐渐熟悉了实验流程，开始上手操作。在整个实验过程中，郭老师也不遗余力地指导提点我们，帮助我们完成了实验操作。还要感谢田老师团队提供的本次项目的数据，以及曾琦硕士、刘雨晴硕士的论文作为参考。我们同样要感谢学校带队老师们的教诲与付出。此次活动中，冯充闯老师牺牲休息时间，带领我们一起前往实验室。在郭巧巧老师讲解后，他总能联系课本知识，引导我们将理论与实践结合，在动手实验过程中加深了对日常学习的理解。他还为我们补充了未学习的相关知识，指导我们设计实验，对我们提出的疑问，他知无不言。在面对一些晦涩的专业术语时，他用我们知识范围内的语言讲解，方便我们理解。徐文华老师则对我们的论文撰写进行了指导，在我们对论文格式与具体内容茫然无知时，她毫无保留地耐心指导我们，让我们能够突破自我，以高中生的知识水平写出了超乎我们预期的文章。感谢所有老师，让我们在这次实践中认识到生物绝不仅仅是我们笔下的公式和理论，更是我们能够用来解析污染，守护海洋生态的实际力量。没有您们的支持与付出，我们不可能有如今的成果。

其次，我们要感谢活动期间给予我们陪伴的同伴。对环境保护的关注与对生物学的热情使我们相遇，有幸共同参与本次活动。在学校提供的诸多参考方向中，我们共同选择了微塑料的污染治理，一起动手实验获取必要数据并进行分析，携手撰写论文，未来也将一起参与论文的展示和讲解。感谢我们的友情和团结，让我们在活动中坚持下去，互相鼓励着完成了项目的每一步，也鼓舞着我们继续前行。

最后,我们还要感谢那些夜晚埋头努力的自己。没有前面的一点一滴的进步,我们不会有机会参与如此重大的活动与比赛。我们也将继续努力,从这段成长历程中汲取力量,争取在未来也能在我们所热爱的领域不断探索,也能不愧对过去的一分一秒,书写属于自己的华章。

2026 S.-T. Yau High School Science Award
仅用于2026丘成桐中学科学奖论文公示

团队介绍

彭思齐 高二（2）班

我对生命科学具有浓厚热情，对生态保护方面充满兴趣，充满求知欲望，期望在本次科研活动及往后生活中不断了解海洋环境保护相关知识。

本次课题实验中，与团队成员积极学习并交流相关知识，上手实验操作。在不断的学习中，掌握了基本的实验技巧，习得了基础实验操作，掌握了许多仪器运行的原理，逐渐培养了科学思维，扩展了知识领域。

在本次科研活动中，主要负责实验和讲解。

管鑫怡 高二（3）班

我对微生物研究与环境保护抱有浓厚兴趣，尤其关注海洋环境中的微塑料污染问题，也对于从微观层面探索生态治理的可能路径存在探索欲。课余时间，我常阅读相关科普文章，不断拓展知识边界，也愈发意识到环境问题的紧迫性与科学介入的必要性。

在老师指导下，我与团队积极协作，亲身参与实验操作，逐步掌握了基础实验技能，理解了规范操作与重复验证的意义。这段经历锻炼了我的动手能力，也加深了对科研思维和团队配合的体会。

未来，我希望能将所学持续运用于环境保护实践，以实际行动为海洋生态的可持续发展贡献力量。

林照泉 高二（10）班

本人对环境微生物与海洋生态治理，尤其是海洋 PET 微塑料降解方向有着浓厚兴趣。曾参与市级科创实验、科普征文比赛，在实践中培养了严谨的科研思维，具备基础的实验操作、数据分析以及方案设计能力，能够独立开展探究实验并总结成果。

课余主动阅读海洋生物相关前沿资料，注重理论联系实际，做事沉稳细致，乐于钻研难题。在本次课题项目中，跟随老师与团队开展海洋微塑料降解研究，熟练掌握微生物实验操作，提升数据分析能力，认识学习了常用仪器的基本操作，懂得团队协作，深刻体会科研严谨，增强海洋生态保护意识。

在本次活动中主要负责撰写和讲解。

指导教师

徐文华

广州市第六中中学生物学教师，毕业于武汉大学，获得细胞生物学理硕士学位。参加教师工作以来，积极参加各项课题和市教研活动；积极参与校园开放日公开课、户外观鸟实践等活动；担任生物竞赛兼职教练，开展《细胞生物学》教学；通过校本课程、实验课程、学科竞赛等方式，扩展学生视野并提高实践能力。指导多位学生在 2026 年广州市中学生数学与科学联赛（生物学）中获得一、二、三等奖；获得 2026 年广州市中学生数学与科学联赛（生物学）优秀指导教练荣誉称号。指导学生在 2025 年广州市中小学科学实验大赛中获得高中组三等奖。获得 2025 年广东省中学生物学教师原创手写概念图大赛三等奖。在本研究项目中担任实验指导与论文写作指导工作。

田新朋

中国科学院南海海洋研究所研究员，博士生导师。

主要从事海洋微生物资源学、生态学及应用研究。研究方向聚焦于海洋难培养微生物（特别是放线菌）的纯培养限制机理、选择性分离技术、特色物种发掘以及塑料降解等生物酶资源的应用研究。保藏鉴定超 2 万多株海洋微生物，构建了亚洲重要的海洋放线菌菌株资源库。发表 SCI 论文 130 余篇，申请发明专利 40 多项，发现并命名多个海洋微生物新物种，参编《中国海洋微生物多样性》等学术著作 5 部。

在本研究项目中担任选题与理论指导，指导实验结果分析与论文写作工作。