研究发现基于超氧阴离子的过氧化氢酶催化机制

过氧化氢酶是普遍存在于自然界的血红素铁酶。过氧化氢酶活性主要是分解H2O2，产生H2O和O2，以保护生物体不被过氧化氢毒害。当前，过氧化氢酶的主要研究方向为H2O2的分解机制及其生理功能研究，但过氧化氢酶的O2的代谢利用机制未见报道。有研究发现，过氧化氢酶EasC利用O2催化麦角生物碱核心骨架四并环结构中C环合成时不需要额外添加NADPH等还原剂，推测其可能代表未知的氧气激活与氧同化机制。

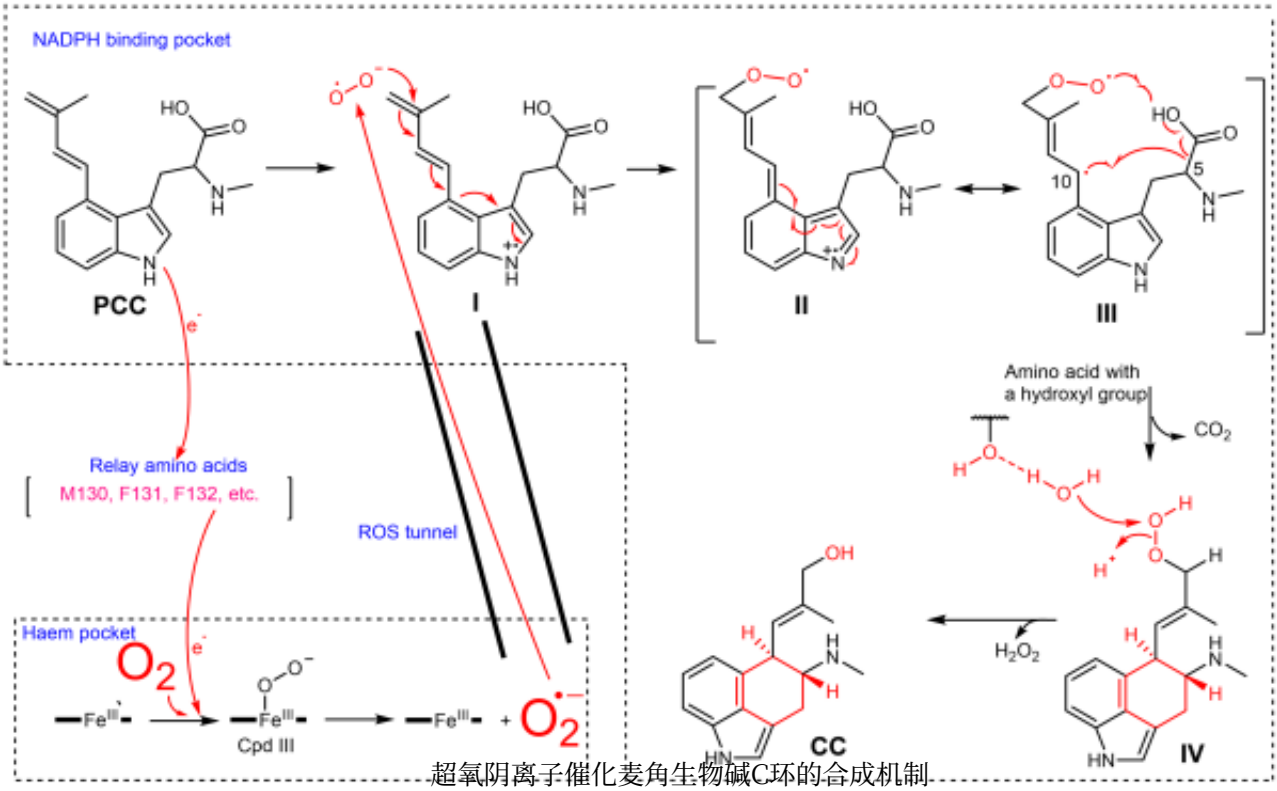
近日，中国科学院天津工业生物技术研究所高书山团队与杭州师范大学郭瑞庭团队合作，破解了EasC蛋白底物复合体结构，并利用波谱测定、体外生化、同位素标记和化学计算等手段，在分子水平阐明了EasC利用O2催化氧化环化反应的新机制。

该团队通过电镜获得EasC酶与底物PCC的复合体结构（2.33 Å），发现EasC呈现二聚体结构，并发现PCC不是结合在heme口袋上方而是结合在过氧化氢酶共有的NADPH口袋。该位置距离heme口袋20.7 Å，两口袋之间通过一个狭长ROS通道相连。进一步，为探讨EasC参与催化反应的铁氧复合物类型，研究检测了酶的波谱特征。在有氧条件下，研究将底物PCC和EasC酶进行快速混合，使用停留色谱检测到416nm、544nm和590nm的最大吸收。该吸收区别于血红素酶已报道的铁-氧复合体Compound I的最大吸收，而与文献报道的Compound III吸收一致，表明EasC中的血红素铁可能以Cpd III的方式参与催化反应。电子顺磁共振和紫外吸收测试显示，在有氧条件下，静息态EasC的Fe(III)接收底物电子并与O2结合耦合，直接形成Cpd III。由于Cpd III可以分解生成超氧阴离子并回归到静息态Fe(III)，研究推测EasC催化过程或由超氧阴离子介导。因此，研究进一步通过活性氧抑制实验、超氧阴离子恢复实验以及18O标记的超氧阴离子自由基竞争性实验，鉴定出氧气被活化成超氧阴离子的活性氧形式、参与底物的转化，而非传统的铁-氧复合物转化底物。

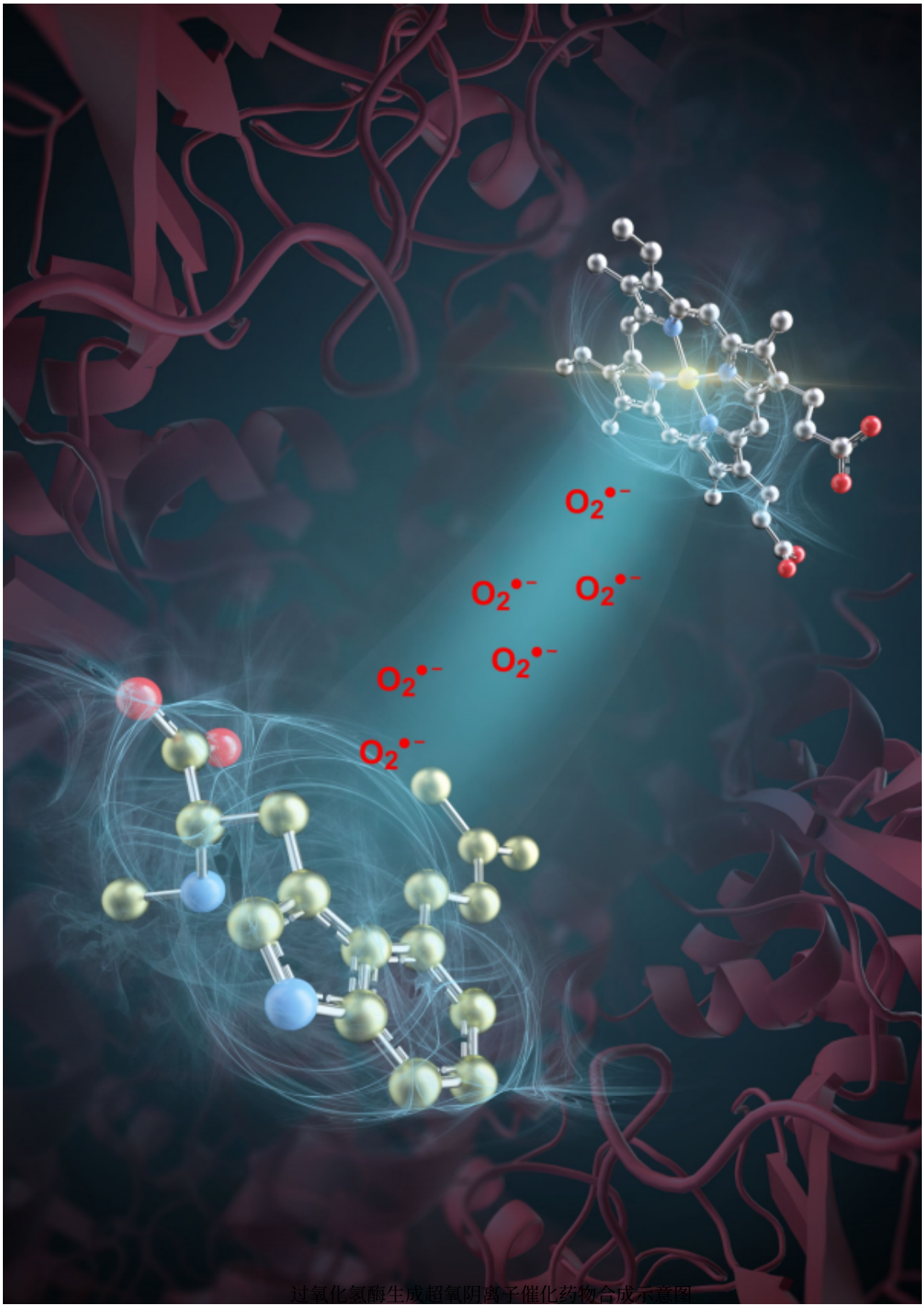
基于上述实验结果，该团队提出了基于活性氧超氧阴离子的反应机制。结合在NADPH口袋的底物PCC，其吲哚氨基将一个电子传递给血红素口袋的Fe(III)，后者同时和氧气结合形成Fe(III)-O2・- (Cpd III)；Cpd III进一步分解成Fe(III)和超氧阴离子，生成的超氧阴离子通过两个口袋之间的ROS通道进入NADPH口袋；超氧阴离子与底物PCC结合，催化复杂的氧化环化反应，完成麦角生物碱C环的合成。

这一研究阐释了麦角生物碱核心骨架C环的生物合成机制，发现了过氧化氢酶EasC利用超氧阴离子以实现氧气激活并进一步催化氧化环化反应。该机制代表了全新的血红素金属酶的催化模式即氧气无需形成活性铁-氧复合物。同时，该成果使过氧化氢酶的相关研究从H2O2依赖性酶转向O2依赖性酶，拓展了过氧化氢酶这一生物催化剂的研究领域。

相关研究成果发表在《自然》（Nature）上。研究工作得到国家重点研发计划、国家自然科学基金、中国科学院战略性先导科技专项、天津市合成生物技术创新能力提升行动专项等的支持。



超氧阴离子催化麦角生物碱C环的合成机制



过氧化氢酶生成超氧阴离子催化药物合成示意图

原文地址：http://www.china-nengyuan.com/tech/222263.html