

过氧化氢酶利用超氧阴离子介导麦角生物碱的生物合成

王思礼 张文禹 刘 文*

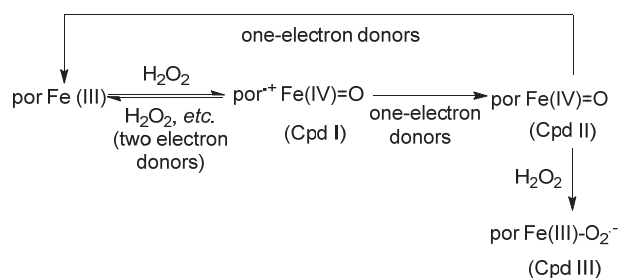
(中国科学院上海有机化学研究所 生命过程小分子调控全国重点实验室 上海 200032)

Catalase Uses Superoxide to Mediate Ergot Alkaloid Biosynthesis

Wang, Sili Zhang, Wenyu Liu, Wen*

(State Key Laboratory of Chemical Biology, Shanghai Institute of Organic Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200032)

血红素蛋白是广泛存在于生物体内的多功能金属蛋白, 凭借其核心辅因子血红素 Fe(III) (Fe-原卟啉 IX 复合物) 执行包括氧转运(血红蛋白)、药物代谢(细胞色素 P450)、电子转移(细胞色素 c)和信号传导(NO)等重要的生物学功能^[1]. 其中血红素过氧化氢酶(heme-catalases)用于分解 H₂O₂ 产生水和 O₂, 是几乎所有需氧生物细胞抗氧化防御系统的重要成员^[2]. 典型的过氧化氢酶利用两步过程分解 H₂O₂: 血红素 Fe(III) 与 H₂O₂ 作用得到水和铁氧基卟啉 π-阳离子自由基[por^{•+}Fe(IV)=O], 又称为复合体 I (Cpd I). Cpd I 可以再次促进 H₂O₂ 的分解得到水和 O₂, 同时自身再生为血红素 Fe(III) 完成催化循环^[2]. 其中 Cpd I 深埋于过氧化氢酶的活性口袋中, 可以由外部单电子供体还原为 por Fe(IV)=O (Cpd II), Cpd II 在少数情况下可以还原为天然的血红素 Fe(III), 或者与 H₂O₂ 作用生成相对稳定的 por Fe(III)-O₂^{•-} (Cpd III)^[3] (Scheme 1).



图式 1 过氧化氢酶中血红素铁复合体的转化

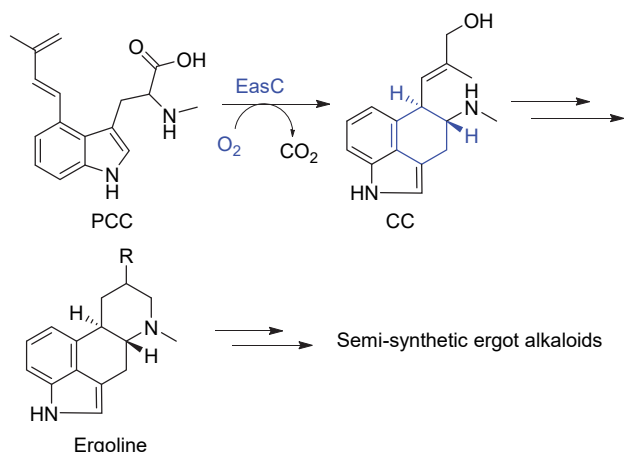
Scheme 1 Conversion of heme-ion complexes in catalases

通常在血红素蛋白如细胞色素 P450 催化的氧化反应中, 由还原型辅酶 II (reduced β -nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH) 等电子供体为血红素

Fe(III) 提供电子, 完成 O₂ 的激活并生成 Cpd I, 从而引发底物的进一步反应^[4]. 近期, 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/湖北大学郭瑞庭团队等^[5]对参与麦角生物碱生物合成的 O₂ 依赖性过氧化氢酶 EasC 展开了深入研究, 揭示一类采用双活性中心、利用活性超氧阴离子(O₂^{•-})引发自由基环化反应构筑麦角生物碱 C 环的罕见酶促反应机制.

麦角生物碱是一类重要的真菌代谢产物, 临床上广泛用于偏头疼、帕金森症和癌症等治疗. 麦角生物碱拥有四环 ergoline 骨架作为药效团, 这种与神经递质类似的结构赋予了其和人脑中神经递质受体的特异性结合能力^[6]. 长期以来, 麦角生物碱 C 环构筑的酶学机制不为人知. 早期研究揭示了过氧化氢酶 EasC 参与 C 环的生物合成^[7], 但 EasC 激活 O₂ 并介导底物 pre-chano-clavine (PCC) 环化的具体机制仍不明确(Scheme 2). 研究团队首先通过单颗粒冷冻电子显微镜技术解析了麦角菌 *Claviceps purpurea* 来源的 EasC_{cf} 和结合底物 PCC 的共晶结构, 其中 PCC 结合在 NADPH 结合口袋而非常规的血红素结合口袋. 体外生化表征显示 EasC_{cf} 不具备结合 NADPH 的能力, 推测 NADPH 通过蛋白-小分子相互作用稳定 EasC, 而非作为其电子供体. 通过停留谱学(Stopped flow UV-visible spectra)和电子顺磁共振(Electron paramagnetic resonance, EPR)等实验揭示了 por Fe(III)-O₂^{•-} (Cpd III) 为 EasC_{cf} 催化环化反应的活性过渡态, 并进一步利用点突变实验和计算等方式研究了 O₂ 激活与电子从 PCC 向血红素 Fe(III) 的传递. 最后提出 Cpd III 分解产生的超氧阴离子通过一个连接血红素和 NADPH 结合口袋的狭长活性氧传输通道(1.16 nm), 介导了底物 PCC 的自由基氧化环化过程.

* Corresponding author. E-mail: wliu@sioc.ac.cn. Published online April 12, 2025

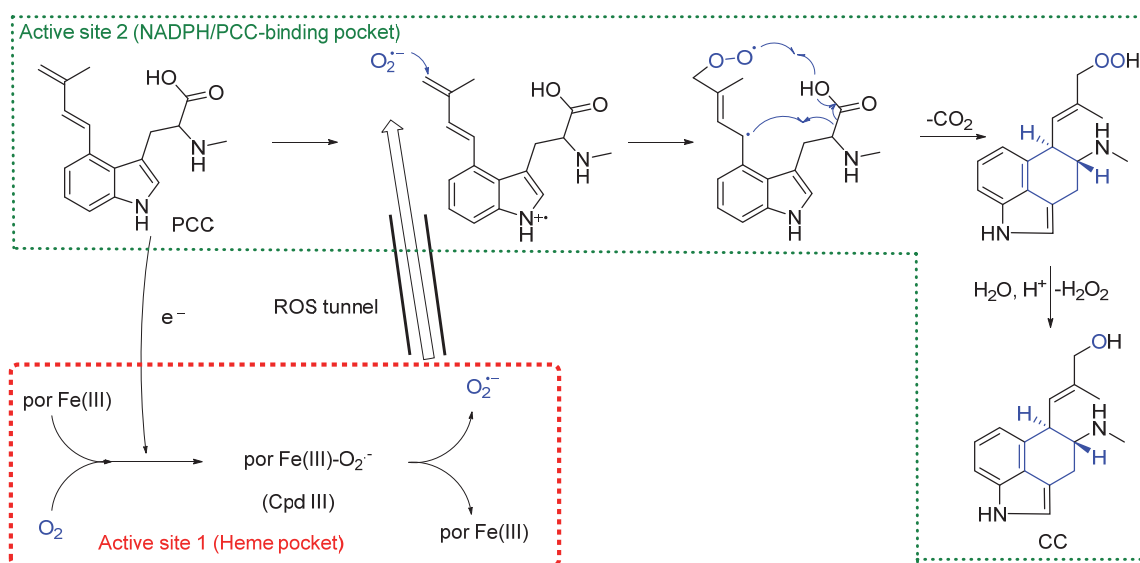


图式 2 EasC 参与麦角生物碱的生物合成
Scheme 2 EasC-catalyzed ergot alkaloid biosynthesis

在典型的血红素蛋白 O_2 激活机制中, O_2 在 NADPH 等电子供体的还原下与血红素 $Fe(III)$ 生成 $Fe-O$ 复合体, 进一步催化底物的氧化等过程^[1]. 值得关注的是, 在 EasC 催化 PCC 的环化过程中, 超氧阴离子的产生和其介导的底物转化发生在两个不同的活性位点(Scheme

3). 对 EasC_{cr}-PCC 复合物的结构解析、波谱表征和体外生化反应等实验表明: PCC 结合在 EasC 的 NADPH 结合口袋, 其吲哚部分作为单电子供体还原血红素 $Fe(III)$, 并与 O_2 结合得到 Cpd III; 随后 Cpd III 分解得到的超氧阴离子经由活性氧传输通道, 从血红素结合口袋转移至 PCC 所在的 NADPH 结合口袋; 超氧阴离子引发底物 PCC 的自由基反应经由脱羧、 sp^2-C-sp^3-C 偶联和 H_2O_2 消除等过程, 完成麦角生物碱 C 环的构筑(Scheme 3).

EasC 建立了一条连接血红素 $Fe(III)$ 活性口袋和底物结合口袋的活性氧传输通道, 使得来自血红素 $Fe(III)$ 区域的超氧阴离子可以穿梭至底物口袋引发反应, 这在氧化还原相关的酶促反应中十分罕见. 由一条通道连接两个活性中心并无缝协作的区室化架构, 既扩大了底物转化的空间, 又实现了自由基环化反应的精准调控, 为生物催化剂的设计提供了启发. 此外, 对典型的过氧化氢酶的认知长期局限于 H_2O_2 的歧化反应^[2]. EasC 的表征使得对过氧化氢酶的研究转向 O_2 依赖的成员, 拓展了过氧化氢酶作为生物催化酶元件的能力, 为通过基因组挖掘获得更多 O_2 依赖的过氧化氢酶创造了条件.



图式 3 推定的 EasC 催化机理
Scheme 3 Proposed mechanism of EasC

References

- [1] Shimizu, T.; Lengalova, A.; Martínek, V.; Martínková, M. *Chem. Soc. Rev.* **2019**, *48*, 5624.
- [2] Gebicka, L.; Krych-Madej, J. *J. Inorg. Biochem.* **2019**, *197*, 110699.
- [3] Vlasits, J.; Jakopitsch, C.; Bernroither, M.; Zamocky, M.; Furtmüller, P. G.; Obinger, C. *Arch. Biochem. Biophys.* **2010**, *500*, 74.
- [4] Zhang, X.; Guo, J.; Cheng, F.; Li, S. *Nat. Prod. Rep.* **2021**, *38*, 1072.
- [5] Chen, C.; Yu, Z.; Liu, Z.; Yao, Y.; Hagedoorn, P.; Schmitz, R. A.; Yang, L.; Yu, L.; Liu, A.; Sheng, X.; Su, H.; Ma, Y.; Wang, T.; Huang, J.; Zhang, L.; Yan, J.; Bao, J.; Cui, C.; Li, X.; Shen, P.; Zhang, W.; Min, J.; Wang, C.; Guo, R.; Gao, S. *Nature* **2025**, *640*, 840.
- [6] Liu, H.; Jia, Y. *Nat. Prod. Rep.* **2017**, *34*, 411.
- [7] Yao, Y.; An, C.; Evans, D. Liu, W.; Wang, W.; Wei, G.; Ding, N.; Houk, K. N.; Gao, S. *J. Am. Chem. Soc.* **2019**, *141*, 1751.

(Lu, Y.)