

海洋细菌酶混杂催化功能的定向进化研究取得进展

作者：writer 来源：中国科学院

本文原地址：<https://www.iikx.com/news/progress/10242.html>

本文仅供学习交流之用，版权归原作者所有，请勿用于商业用途！

酶催化生物体内化学反应是维持生命代谢有序运转的重要驱动力。传统观点认为，酶催化化学反应是非常精确专一的，但近年越来越多研究表明酶具有多种“兼职”功能，这种酶催化功能的非特异现象被称为混杂性（Promiscuity）。酶的催化混杂性可为生物提供“兵器库”，帮助生物适应多变的化学环境。在工业界，开发利用酶的混杂催化功能可帮助人们合成化学分子、修复污染环境。

近期，中国科学院热带海洋生物资源与生态重点实验室藻类资源与生态工程研究团队在工程化改造酶蛋白的混杂催化功能方面取得进展。研究发现，一种海洋细菌脯氨酸二肽酶具有混杂水解对氧磷农药的功能。该酶水解二肽的活性（ $k_{cat}/K_m=(7.68 \pm 1.24) \times 10^4$

$M^{-1}s^{-1}$ ）是水解对氧磷（ $k_{cat}/K_m=(0.94 \pm 0.09) \times 10^3$

$M^{-1}s^{-1}$ ）的近100倍。研究团队期望通过优化底物结合口袋提高该肽酶水解对氧磷的活性，对组成该酶底物结合口袋的11个氨基酸残基进行了定点饱和突变和组合突变，经过多轮筛选从4000余个突变体

中获得最优突变D45W/H226G。

相较于野生型，D45W/H226G水解对氧磷的活性提高了30倍（ $k_{cat}/K_m=(2.96 \pm 0.05) \times 10^4$

$M^{-1}s^{-1}$ ），且对其他有机磷类化合物的底物谱也获得显著拓宽。此外，伴随着混杂活性的提高，天然肽酶活性显著下降（ $k_{cat}/K_m=1.76 \pm 0.02$

$M^{-1}s^{-1}$ ），突变酶与野生酶的催化选择性发生 10^6 倍转换（图1）。为探究两个氨基酸残基突变造成该酶底物选择性差异的原因，研究团队利用X-射线衍射技术解析了野生酶与突变酶的蛋白晶体结构。通过比较蛋白结构，该研究结合分子动力学模拟计算揭示了底物结合口袋形态的变化影响两种底物与酶活性中心的结合模式，对氧磷在突变酶中的结合构象更利于催化反应进行，但二肽底物在突变酶中的结合构象则刚好相反（图2）。

该研究改良利用酶的混杂催化功能，将细菌肽酶体外定向进化为对氧磷水解酶，为有机磷污染物的微生物降解提供了高效酶元件，也有助于提升酶催化底物选择性分子层面的认识。

相关成果以Repurposing a bacterial prolidase for organophosphorus hydrolysis: Reshaped catalytic cavity switches substrate selectivity为题，发表在Biotechnology and Bioengineering

上，副研究员杨键、博士肖运柱是论文共同第一作者，研究员龙丽娟是通讯作者。该研究得到中科院战略性先导科技专项、南方海洋科学与工程广东省实验室（广州）人才团队引进重大专项、广州市科技计划项目资助。

[论文链接](#)

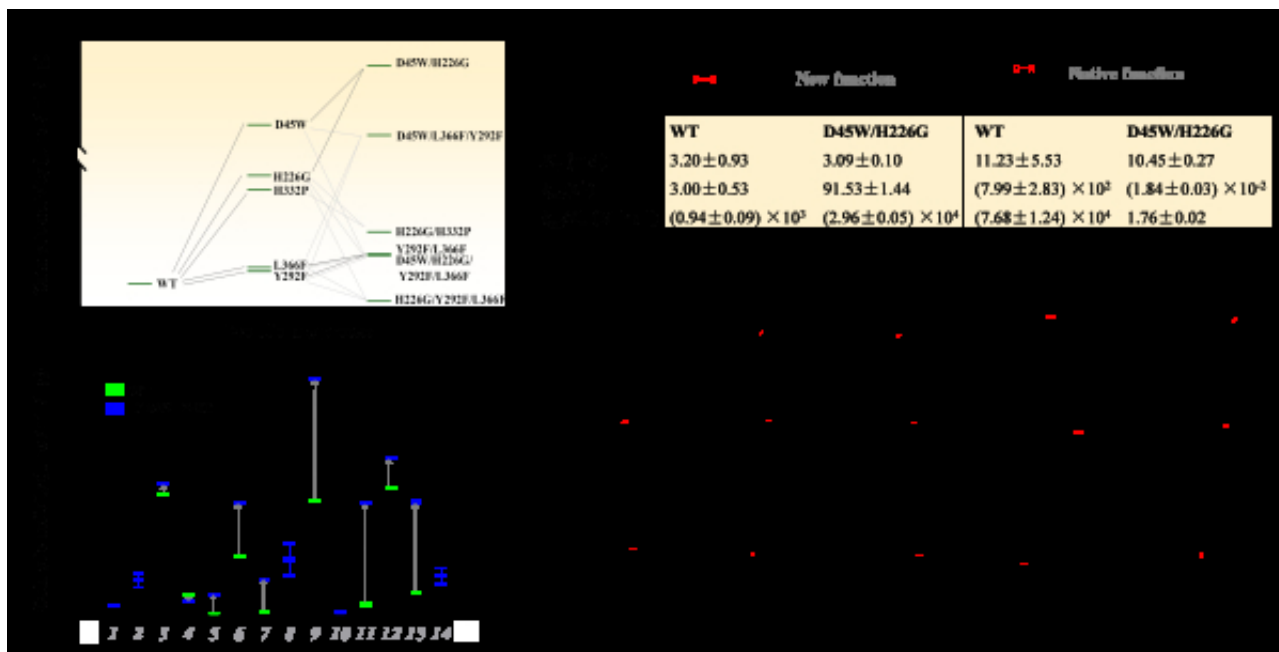


图1. (a) 海洋细菌脢酶的体外定向进化过程；(b) 野生酶与突变酶的催化动力学参数；(c) 野生酶与突变酶对不同有机磷水解活性的比较；(d) 有机磷类底物的化学结构

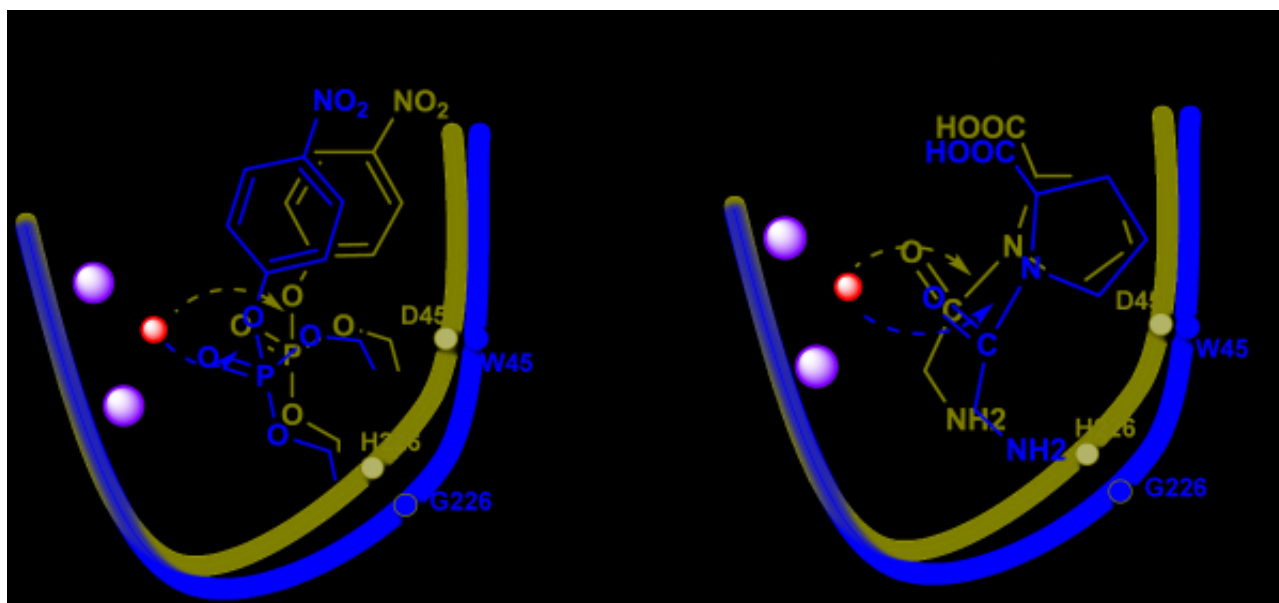


图2.底物选择性转换机制示意图

研究团队单位：南海海洋研究所

更多 科学进展 请访问 <https://www.iikx.com/news/progress/>

本文版权归原作者所有，请勿用于商业用途，[爱科学iikx.com](http://www.iikx.com)转发