
用了这款万能酶，苯甲醇绿色合成不是事儿

作者：writer 来源：爱科学

本文原地址：<https://www.iikx.com/news/progress/17370.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！

用了这款万能酶，苯甲醇绿色合成不是事儿。



该研究获选为ACS Catalysis封面文章。受访者供图

化妆品、药品、化学品等工业制备中有一种重要的中间体，就是苯甲醇。传统上用化学法生成苯甲醇的工艺流程繁琐，且会生成大量污染环境的副产物。

苯甲醇能否实现绿色高效生产？这一直是工业界和学术界共同关注的问题。

湖北大学生命科学学院、省部共建生物催化与酶工程国家重点实验室教授李爱涛、陈纯琪和郭瑞庭团队合作，成功解决了这一难题。他们首次解析了万能酶——细胞色素P450tol及其复合体晶体结构，并基于此构建了一种活性和稳定性均明显提升的人工融合酶，实现了苯甲醇的高效绿色合成。

北京时间2月14日，相关研究成果在线发表于《美国化学学会会刊—催化》（ACS Catalysis），并被选为封面文章。

万能酶P450的神奇定向进化

论文通讯作者李爱涛告诉《中国科学报》，苯甲醇工业生产采取两步法，以甲苯为原料，需要用到剧毒的氯气和强碱氢氧化钠，才能实现甲苯中惰性C-H键的官能团化，制备出苯甲醇。

C-H键具有较高的解离能，通常具有较高的热力学稳定性和较低的化学反应性，因此，C-H键官能团化是传统化学合成中一个极大的难题，被认为是有机化学中的一座‘圣杯’。李爱涛说。

能不能找到一种办法，将甲苯绿色高效地转化为苯甲醇呢？

李爱涛和他的团队想到了酶这种地球上生命中最强大的化学工具。通过理性设计和定向进化手段，酶展现出了在生物催化领域的强大功能。

其中，细胞色素P450酶能够识别多种参与生化反应的物质（即底物），利用基因工程改造P450酶来量身定制化学反应，成为一个热门研究方向。2018年诺贝尔化学奖得主阿诺德教授，就是利用P450酶的定向进化实现了各种特殊的化学反应而获奖。

在前期研究中，李爱涛从甲苯降解菌中鉴定了一种特殊的P450酶，命名为P450tol。它以甲苯为底物，生成专一的产物苯甲醇。这是迄今发现的唯一可以天然催化甲苯生成苯甲醇的酶。

然而，P450tol三维结构信息的缺乏，限制了针对P450tol的基础研究与未来的应用。

揭开特殊P450酶的神秘面纱

要改造高效的P450tol，必须揭开酶结构的面纱。

2020年5月，郭瑞庭团队在世界上首次解析了一种自给自足P450酶的全长晶体结构，获得了广泛的关注。

为此，李爱涛团队和郭瑞庭团队展开了合作。我们非常高兴能与李爱涛合作。郭瑞庭说，这次合作解开了P450tol的结构谜团。

在这项研究中，郭瑞庭、陈纯琪团队顺利解析了P450tol的空结构以及与底物甲苯及产物苯甲醇的复合体结构。通过这些结构信息，精准的揭示了P450tol由甲苯通过一步反应生成苯甲醇且没有副产物生成的酶结构与催化机制。

陈纯琪告诉《中国科学报》，P450酶的活性区都会带一个血红素分子参与催化反应，这次解析的P450tol也不例外。底物甲苯位于由一系列疏水的氨基酸组成的口袋中，甲苯的甲基朝向血红素中心的铁离子，两个氨基酸（F329和A279）分别位于底物的两侧，牢牢钳住了甲苯的苯环，甲苯前方还有一个氨基酸（V326）负责固定整个甲苯的位置。

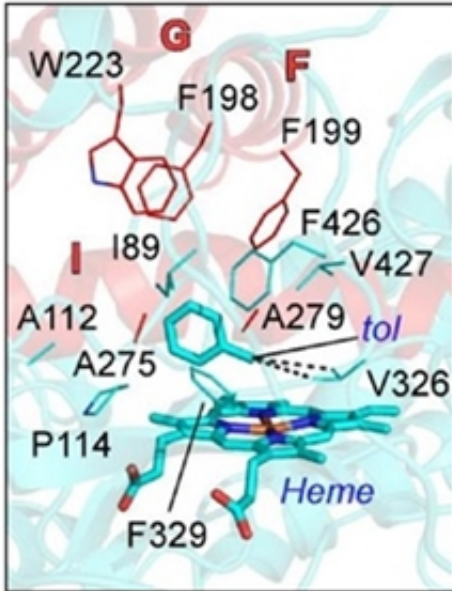
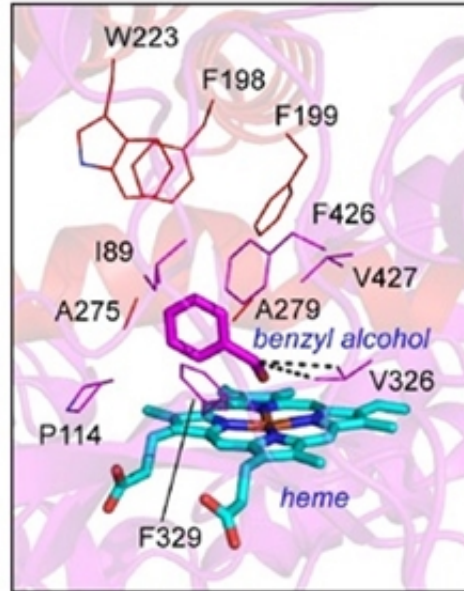
这样，催化反应发生时就可以精确的发生在苜基位，而不是其它任意的位置，如此精巧的反应也只有酶可以做到。陈纯琪说。

他们在P450tol与苯甲醇的复合体结构中看到了类似的现象，只不过苯甲醇的羟基代替甲苯的甲基朝向血红素中心的铁离子。

我们还观察到了一个非常有意思的现象，甲苯或苯甲醇并不能将P450tol的活性区完全占据，还有一些多余的空间，所以我们猜测P450tol或许可以结合比甲苯或苯甲醇更大一些的底物。陈纯琪说。

进一步实验结果与他们推测的一致，P450tol也可以与一些卤代甲苯形成复合体，且可以精确的在苜基位发生羟基化反应。

所有这些结果都显示，底物会以有利于反应发生的方式结合并参与反应，这也使酶的反应更精准而高效。

A**B**

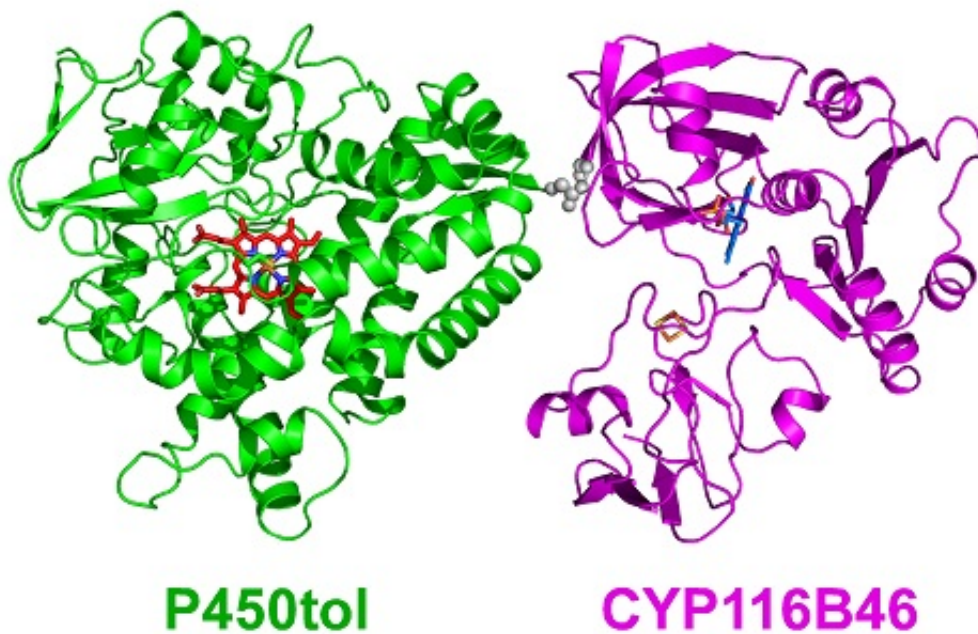
P450tol及复合体晶体结构。受访者供图

人工融合酶催化苯甲醇绿色合成

李爱涛告诉记者，自然界中大部分的P450酶都需要一个能够与之匹配的还原酶来提供电子以发生催化反应，这对于后续的应用是一个难题。

为了实现工业应用，寻找天然的自给自足型P450酶或者索性构建高效的自给自足型P450人工融合酶成为科研工作者关注的焦点。

2020年5月郭瑞庭团队解析的自给自足型P450酶（CYP116B46）的全长晶体结构，给我们构建自给自足型人工融合酶带来了非常大的启发。李爱涛说，他们将P450tol和CYP116B46的还原酶结构域融合，构建出一个新的自给自足型人工融合酶。



P450tol(绿色部分)与CYP116B46(紫红色部分)融合后的结构示意图。 受访者供图

新的酶不论在酶活性、稳定性，还是半衰期方面都获得了很大的提升，且两种融合酶具有相似的底物亲和力。

目前，P450tol和CYP116B46的融合是世界上首例报道的稳定性和活性均大幅提升的人工融合酶，有很大的希望应用于实际的工业生产中。李爱涛说，最近已经有企业向他们伸出了橄榄枝，表示对该项技术很感兴趣，有意向进行下一步研发或中试。

不仅如此，P450tol-CYP116B46还可以催化丙基苯，形成羟基化产物，其中有些是非常重要的药物中间体。李爱涛说，基于P450tol的三维结构，他们使用蛋白质工程的手段理性设计和改造，使其反应更多的朝向对人类有益的方向发生。

在论文投稿过程中，审稿的三位审稿人指出原来的苯甲醇生产，是利用高污染、多副产物的化学合成法来完成的，审稿意见中都非常赞同本文利用酶的生物催化来准确的生成苯甲醇这些的重要化学品。另外，原来的这个酶要能够催化酶反应，还需要和另一个与之匹配的还原酶来提供电子

以进行反应，作者们在本篇文章中，构建了非常稳定的人工融合酶，对于应用到未来的绿色生物催化生产制程中，具有非常大的潜力。

在未来的研究领域，随着结构生物学、人工智能、酶定向进化等的大力发展，通过理性设计和改造，获得更多新的具有重要功能的酶来造福于人类，将会是一个重要的研究和发展方向，我们也将继续致力于更多P450tol人工融合酶的构建，期待获得更具挑战的新反应和性能获得极大提升的新酶。郭瑞庭说。(来源：中国科学报李晨)

相关论文信息：<https://doi.org/10.1021/acscatal.1c05845>

版权声明：凡本网注明来源：中国科学报、科学网、科学新闻杂志的所有作品，网站转载，请在正文上方注明来源和作者，且不得对内容作实质性改动；微信公众号、头条号等新媒体平台，转载请联系授权。邮箱：shouquan@stimes.cn。

作者：李爱涛等 来源：《美国化学学会会刊—催化》

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