

VERS UNE ÉTUDE STRUCTURALE DU MÉCANISME CATALYTIQUE DE LA SUPEROXYDE RÉDUCTASE (SOR) DE *DÉSULFOARCULUS BAARSII*

V. Adam^{1,2}, A. Royant³, V. Nivière⁴ & D. Bourgeois^{1,2}

¹ LCCP, UMR 9015, IBS, 41 avenue Jules Horowitz, 38027 Grenoble, Cedex 1, France

² ESRF, BP 220, 38043 Grenoble Cedex, France

³ EMBL, 6, rue Jules Horowitz, BP181, 38042 Grenoble Cedex 9, France

⁴ CBCRB, DRDC-CEA, 17 avenue des Martyrs, 38054 Grenoble, Cedex 9, France

Le radical superoxyde O_2^{\bullet} , espèce activée de l'oxygène, est toxique pour l'organisme. Les cellules l'élimine classiquement par la superoxyde dismutase (SOD), métalloenzyme bien connue, qui permet la dismutation de superoxyde en peroxyde d'hydrogène et en oxygène.

Récemment, il a été mis en évidence [1] que certaines bactéries sulfatoréductrices ou microaérophiles utilisent une autre voie d'élimination du superoxyde, par réduction en peroxyde d'hydrogène. Cette réaction est catalysée par une enzyme à fer nommée superoxyde réductase (SOR) [1]. Les structures cristallographiques des SORs de *Desulfovibrio desulfuricans* et *Pyrococcus furiosus* ont montré que son site actif est constitué d'un centre mononucléaire de fer possédant une coordination inhabituelle de type bipyramidal carré où le fer est lié par quatre histidines et une cystéine en position axiale [2, 3]. Les études du mécanisme catalytique de la SOR de *Desulfoarculus baarsii* ont montré que le substrat venait se fixer au niveau de la sixième position de coordination du fer à l'état réduit, pour former un intermédiaire réactionnel de type fer(III)-(hydro)peroxo [4]. Un mouvement du glutamate 47, venant compléter la sixième coordination du fer, permettrait le départ de l'intermédiaire peroxo sous forme d' H_2O_2 , produit de la réaction [3, 5, 6]. En effet, la mutation du glutamate 47 en alanine conduit à une stabilisation de l'espèce fer-peroxo sur le site actif de l'enzyme [6].

Dans le but d'élucider d'un point de vue structural le mécanisme de la SOR ainsi que sa spécificité vis-à-vis du superoxyde, nous avons obtenu la structure du mutant E47A de la SOR de *D. baarsii* à 1.5Å de résolution. La structure obtenue, correspondant à l'état réduit de la protéine, est globalement similaire aux autres structures de SOR déjà publiées. Cependant, elle montre au niveau de la sixième coordination du fer vacante la présence d'un atome de chlore positionné à 4Å, suggérant que la fixation du substrat comporte une large composante de type électrostatique.

A partir de ces premiers résultats, il est maintenant envisageable de piéger l'intermédiaire fer-peroxo après diffusion de peroxyde d'hydrogène dans le cristal, grâce aux techniques de cristallographie cinétique [7] développées à Grenoble dans le cadre d'une collaboration entre l'IBS et l'ESRF (http://www.esrf.fr/exp_facilities/laboratories/kinetic-crystallography/).

[1] Lombard M., Fontecave M., Touati D., Nivière V., J. Biol. Chem. **275** (2000) 115

[2] Coelho A., Matias P., Fulop V., Thompson A., Gonzalez A. *et al.*, J. Biol. Inorg. Chem. **2** (1997) 680

[3] Yeh A.P., Hu Y., Jenney Jr. F.E., Adams M.W.W., Rees D.C, Biochemistry **39** (2000) 2499

[4] Lombard, M., Houée-Levin, C., Touati, D., Fontecave, M., Nivière, V., Biochemistry **40** (2001), 5032

[5] Berthomieu, C., Dupeyrat, F., Fontecave, M., Verméglio, A., Nivière, V. Biochemistry, **41** (2002), 10360

[6] Mathé C., Mattioli T., Horner O., Lombard M., Latour J.M., Fontecave, M., Nivière, V., J. Am. Chem. Soc., **124** (2002) 4966

[7] Bourgeois D., Vernede X., Adam V., Fioravanti E., Ursby T., J. Appl. Cryst. **35** (2002) 319