

金属配位によって構築される剛直なヘムタンパク質多量体

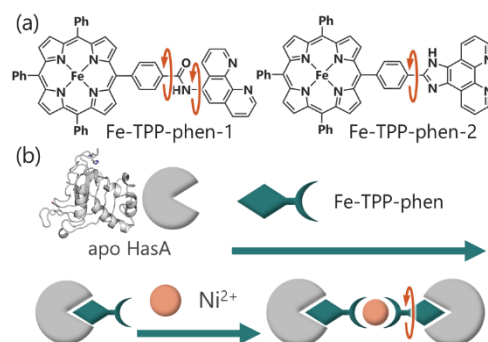
(名大院理¹・理研 SPring-8²) ○稲葉 大晃¹・四坂 勇磨¹・上田 我竜¹・榊原 えりか¹・有安 真也¹・愛場 雄一郎¹・杉本 宏²・荘司 長三¹

The creation of rigid hemoprotein multimers triggered by metal coordination (¹*Graduate School of Science, Nagoya University*, ²*RIKEN SPring-8*) ○Hiroaki Inaba¹, Yuma Shisaka¹, Garyo Ueda¹, Erika Sakakibara¹, Shinya Ariyasu¹, Yuichiro Aiba¹, Hiroshi Sugimoto², Osami Shoji¹

Heme acquisition system protein A (HasA) can capture various synthetic complexes other than heme such as Fe-tetraphenylporphyrin (Fe-TPP)^{[1][2]}. In this study, we have attempted to construct HasA multimers using a metal coordination site rigidly linked with the phenyl group of Fe-TPP (Fig.). Because this rigid structure can restrict the motion of multimers to rotary motion along a limited number of axes of the porphyrin derivatives, the multimer can be applied to recognition of biomolecules using interface between HasAs. We designed two porphyrin complexes linked with a phenanthroline moiety by two different linkers and successfully incorporated Fe-TPP-phen-1 into HasA. After adding Ni²⁺ ion to the solution of Fe-TPP-phen-1 HasA, the results of size-exclusion chromatography and UV/Vis spectroscopy suggest formation of HasA dimer. Moreover, structural prediction using a molecular mechanics method suggests the HasA dimer can be constructed without steric hindrance between HasAs.

Keywords : Hemoprotein; Porphyrin; Supramolecular chemistry

緑膿菌などのグラム陰性菌が分泌するヘム獲得タンパク質 (HasA) は、一般的にヘムタンパク質への複合化が困難な、鉄テトラフェニルポルフィリン (Fe-TPP) などの人工金属錯体を捕捉できる^{[1][2]}。そこで、TPP のフェニル基から配位子を連結することで、金属配位による HasA 多量体の構築が可能であると考えた。また、リンカー部分を剛直に設計することで、HasA 多量体の運動を金属錯体の回転運動に制限し、界面を利用して生体分子を認識できると予想している。剛直な HasA 多量体の構築を目指し、剛直な金属錯体として、Fe-TPP とフェナントロリン (phen) を剛直に連結した錯体 (Fe-TPP-phen) をリンカーの異なる 2 種類を設計した (図 a)。合成した Fe-TPP-phen-1 と HasA を混合することで複合化を行った。カラムクロマトグラフィーによる精製を行い、UV/Vis スペクトルと ESI-TOF-MS の結果から複合体形成を確認した。精製した複合体に Ni²⁺ を添加したところ、サイズ排除クロマトグラフィーと UV/Vis スペクトルの結果から 2 量体の形成が示唆された (図 b)。さらに、MM 法による 2 量体構造の予測を行ったところ、立体障害なく構築可能であることが示唆された。現在は、Fe-TPP-phen-2 についても同様の検討を行うとともに、得られた HasA 多量体の同定を行っている。



[1] H. Uehara, *et al.*, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2017**, 56, 15279. [2] Y. Shisaka, *et al.*, *Manuscript in preparation*.