

α ヘリックスで連結した 3 ユニット環状ヘムタンパク質の設計と構築

(奈良先端大先端科技) ○大西遥喜・藤原綱大・真島剛史・小林直也・山中優・緒方英明・廣田俊

Design and construction of a three-unit cyclic heme protein linked with α -helices (*Graduate School of Science and Technology, Nara Institute of Science and Technology*) ○Haruki Onishi, Kodai Fujiwara, Tsuyoshi Mashima, Naoya Kobayashi, Masaru Yamanaka, Hideaki Ogata, Shun Hirota

A circularly permuted cytochrome c_{555} (CPC), which has been designed by circular permutation and α -helix linker insertion based on the domain-swapped structure of hyperthermophile cytochrome c_{555} , mainly forms a cyclic trimer by ethanol treatment.^[1] Here, to construct a stable building block for supramolecular proteins, we designed a covalently linked CPC trimer (CPC₃). CPC₃ was expressed in *E. coli* and purified by ion-exchange and size-exclusion column chromatography. CPC₃ formed a cyclic structure by ethanol treatment. The structural changes of CPC₃ by the ethanol treatment were evaluated by size-exclusion chromatography and UV-vis spectral measurements.

Keywords : heme protein, protein design, domain swapping, cytochrome c_{555}

超好熱菌シトクロム c_{555} のドメインスワップ構造を基に C 及び N 末端領域を円順列変異で入れ替え、 α ヘリックスリンカーで連結した人工タンパク質 CPC (circularly permuted cytochrome c_{555}) は、エタノール処理により主に環状三量体を形成する。^[1] 本研究では、タンパク質超分子構造体の安定なビルディングブロックの構築を目指して、CPC を 3 分子連結したタンパク質 (CPC₃) を設計した (図 1)。CPC₃ を組換え大腸菌により発現させ、イオン交換およびサイズ排除クロマトグラフィーにより精製した。CPC₃ をエタノール処理により環化させ、エタノール処理前後の構造変化をクロマトグラフィー及び紫外可視吸収スペクトルにより評価した。

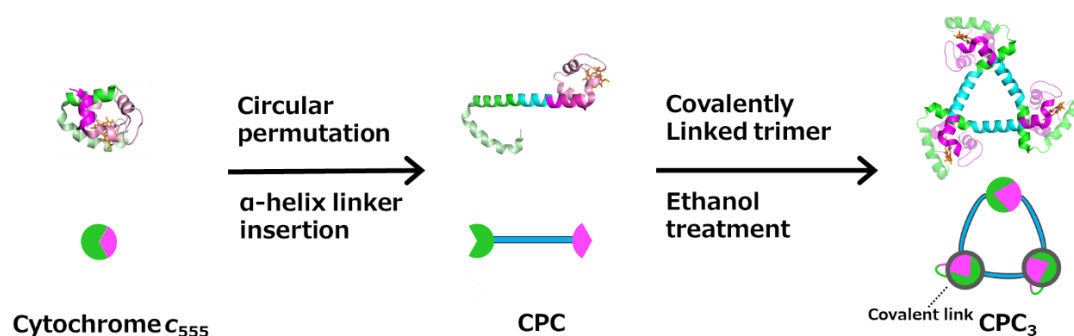


Figure 1. Schematic representation of CPC₃.

[1] A. Oda, *et al.*, *Chem. Asian J.*, **13**, 964-967 (2018).