

STUDI INTERAKSI SENYAWAKOMPLEKS BESI TERHADAP PROTEIN HEMOFOR PADA *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* (HasAp) SECARA *IN SILICO*

T. M. Fakhri*, M. L. Dewi, A. Arumsari, T. M. Syarza, dan N. Hazar

*Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,
Universitas Islam Bandung, Bandung, Jawa Barat, Indonesia*

**Email: taufikmuhammadf@gmail.com*

ABSTRAK

Sebuah protein hemofor yang dihasilkan oleh *Pseudomonas aeruginosa* (HasAp) dapat mengikat beberapa senyawa kompleks logam selain Protoporfirin-IX (heme). Struktur kristal dari protein HasAp yang mengandung senyawa kompleks logam hanya menunjukkan sedikit perubahan pada keseluruhan struktur protein HasAp. Fe-ftalosanina (Fe-Pc) dan Fe-mesoporfirin-IX (Fe-MPIX) mampu menghambat protein HasAp yang terikat heme sebagai sumber zat besi. Pada penelitian ini akan dilakukan identifikasi, evaluasi, dan eksplorasi terhadap mekanisme aksi dari senyawa Fe-Pc dan Fe-MPIX terhadap protein HasAp, serta mengamati pengaruhnya pada bagian sisi aktif protein HasR dengan menggunakan studi *in silico*. Simulasi penambatan molekuler berbasis protein-ligan dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak MGLTools 1.5.6 yang dilengkapi dengan Auto Dock 4.2 untuk mengamati afinitas dan interaksi molekuler yang terbentuk antara molekul senyawa Fe-Pc dan Fe-MPIX terhadap makromolekul protein HasAp. Kemudian dilakukan simulasi penambatan molekuler berbasis protein-protein terhadap sistem kompleks protein-ligan untuk mengamati pengaruhnya terhadap area pengikatan dari makromolekul protein HasR dengan menggunakan perangkat lunak PatchDock. Hasil simulasi penambatan molekuler berbasis protein-ligan menunjukkan bahwasenyawa Fe-MPIX memiliki afinitas yang lebih baik dari senyawa Fe-Pc pada makromolekul protein HasAp-FeMPIX, dengan nilai energi bebas ikatan masing-masing $-65,73$ kJ/mol dan $-63,97$ kJ/mol. Kemudian, hasil simulasi penambatan molekuler berbasis protein-protein antarakompleks senyawa Fe-MPIX dan protein HasAp-FeMPIX terhadap protein HasR memiliki nilai *atomic contact energy* (ACE) paling positif, yaitu $1051,44$ kJ/mol. Perbedaan ukuran struktur molekul senyawa terbukti mampu mempengaruhi mekanisme aksi terhadap protein target. Dengan demikian, diperlukan kehati-hatian dalam mendesain molekul senyawa inhibitor dari protein HasAp secara *in silico*.

Kata kunci: Fe-ftalosanina, Fe-mesoporfirin-IX, protein HasAp, protein HasR, *Pseudomonas aeruginosa*

ABSTRACT

A hemophore protein produced by *Pseudomonas aeruginosa* (HasAp) can bind several metal complex compounds besides Protoporphyrin-IX (heme). The crystalline structure of the HasAp protein-containing metal complex compounds shows only slight changes in the overall structure of the HasAp protein. Fe-phthalocyanine (Fe-Pc) and Fe-mesoporphyrin-IX (Fe-MPIX) can inhibit heme-bound HasAp proteins as a source of iron. In this research, identification, evaluation, and exploration of the mechanism of action of Fe-Pc and Fe-MPIX compounds on HasAp protein were performed, as well as observing their effects on the active site of HasR protein through *in silico* studies. Protein-ligand docking simulations were conducted using MGLTools 1.5.6 software with Auto Dock 4.2 to observe the affinity and molecular interactions formed between molecules of Fe-Pc and Fe-MPIX compounds on HasAp protein macromolecules. Then a protein-protein docking simulation was performed on a protein-ligand complex system to observe its effect on the binding area of the HasR protein macromolecules using Patch Dock software. Protein-ligand docking simulation results showed that the Fe-MPIX compound had a better affinity than the Fe-Pc compound in HasAp-FeMPIX protein macromolecules, with binding free energy values of $-65,73$ kJ/mol and $-63,97$ kJ/mol, respectively. Then, the simulation results of protein-protein docking between the complexes of Fe-MPIX compound and HasAp-FeMPIX protein to HasR protein had the most positive atomic contact energy (ACE) score, with the value of $1051,44$ kJ/mol. The difference in molecular structure size of compound could influence the mechanism of action on target proteins. Therefore, caution was needed in designing inhibitor compound molecules from HasAp protein through *in silico*.

Keywords: Fe-mesoporphyrin-IX, Fe-phthalocyanine, protein HasAp, protein HasR, *Pseudomonas aeruginosa*

PENDAHULUAN

Protein hemofor HasA disekresikan oleh beberapa bakteri patogen seperti *Pseudomonas aeruginosa* (Letoffe, Redeker, & Wandersman, 1998), *Serratia marcescens* (Ghigo, Letoffe, & Wandersman, 1997), *Pseudomonas fluorescens* (Idei *et al.*, 1999), dan *Yersinia pestis* (Letoffe, Omori, & Wandersman, 2000; Kumar *et al.*, 2013). Di bawah kondisi rendah zat besi yang ditemukan dalam sel hewan, bakteri patogen ini mengeluarkan HasA untuk menangkap Protoporfirin-IX (heme) dari inangnya sebagai sumber zat besi (Letoffe, Ghigo, & Wandersman, 1994). Heme yang ditangkap oleh HasA kemudian dipindahkan ke protein hemofor membran luar spesifik yang disebut HasR (Letoffe *et al.*, 2001). Protein hemofor HasA telah banyak menarik perhatian karena kemampuannya dalam mencapai target hemoprotein seperti hemoglobin dan berfungsi untuk transfer heme dari HasA ke HasR (Krieg *et al.*, 2009). Struktur kristal dalam bentuk hemofor yang terikat heme (bentuk holo) dari *Serratia marcescens* (HasAsm) pertama kali ditemukan oleh Arnoux *et al.* Struktur keseluruhan dari HasAsm yang terikat pada heme menyerupai “seekor ikan yang menggigit heme” (Arnoux *et al.*, 1999). Selanjutnya, Alontaga *et al.* melaporkan struktur kristal hemofor dari *Pseudomonas aeruginosa* (HasAp). Struktur kedua hemofor bakteri patogen ini pada dasarnya identik (Alontaga *et al.*, 2009).

Mode pengikatan heme yang unik ini, seperti sepasang pinset yang mencengkeram heme, menunjukkan bahwa senyawa kompleks logam dengan struktur berbeda dengan heme dapat diikat oleh protein HasA (Jepkorir *et al.*, 2010). Selain itu, senyawa kompleks logam yang relatif besar dapat memasuki area pengikatan dari heme. Akan tetapi, diperlukan penyelidikan lebih lanjut apakah HasA dapat menangkap senyawa kompleks logam selain heme serta bagaimana pengaruhnya terhadap transfer heme dari HasA ke HasR (Shirataki *et al.*, 2014). Protein hemofor dari *Pseudomonas aeruginosa* (HasAp) telah terbukti dapat menangkap beberapa senyawa kompleks logam seperti Fe-ftalosianina (Fe-Pc) dan Fe-mesoporfirin-IX (Fe-MPIX) serta mampu menghambat pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* (Satake *et al.*, 2007). Dengan demikian, maka diperlukan identifikasi, evaluasi, dan eksplorasi secara molekuler

untuk membandingkan kemampuan Fe-Pc dan Fe-MPIX dalam berinteraksi dengan HasAp secara *in silico*.

MATERI DAN METODE

Bahan

Penelitian ini menggunakan bahan yang meliputi struktur kristal makromolekul protein HasAp yang membentuk kompleks dengan Fe-ftalosianina (Fe-Pc) dan Fe-mesoporfirin-IX (Fe-MPIX), serta struktur kristal makromolekul protein HasR. Ketiga makromolekul protein tersebut diperoleh dari web Protein Data Bank (<http://www.rcsb.org/pdb>) dengan kode PDB masing-masing adalah 3W8O (Shirataki *et al.*, 2014), 3WAH (Shirataki *et al.*, 2014), dan 3CSL (Krieg *et al.*, 2009). Penelitian ini menggunakan molekul senyawa uji yang meliputi Fe-ftalosianina (Fe-Pc) dan Fe-mesoporfirin-IX (Fe-MPIX) yang memiliki aktivitas terhadap makromolekul protein HasAp serta telah dibuktikan pada penelitian sebelumnya.

Peralatan

Penelitian ini menggunakan perangkat lunak yang meliputi Sistem Operasi Windows 10 dan Linux Ubuntu 18.10, MGL Tools 1.5.6 yang dilengkapi dengan AutoDock 4.2, PachDock, Chimera 1.14, dan BIOVIA Discovery Studio 2020. Penelitian ini menggunakan perangkat keras yang meliputi komputer yang memenuhi spesifikasi diantaranya processor Intel (R) Core i3-6100 CPU @ 2.30GHz (4 CPUs), memory 4096 MB RAM, Harddisk 320GB, dan VGA Intel HD Graphics 520.

Cara Kerja

Preparasi Makromolekul Protein HasAp

Struktur kristal makromolekul protein HasAp yang telah diunduh dari web Protein Data Bank selanjutnya dipreparasi terlebih dahulu. Preparasi makromolekul protein ini dilakukan dengan menghilangkan molekul air dan ligan alami, kemudian dilanjutkan dengan menambahkan atom hidrogen polar dan menghitung muatan parsial Kollman (Kurniawan *et al.*, 2018). Tahapan preparasi ini dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak BIOVIA Discovery Studio 2020 dan MGLTools 1.5.6 yang dilengkapi dengan AutoDock 4.2.

Preparasi Molekul Senyawa Uji

Dalam penelitian ini struktur molekul senyawa uji yang digunakan adalah Fe-Pc dan Fe-MPIX yang telah dipisahkan dari makromolekul protein HasAp. Molekul senyawa ini kemudian dipreparasi dengan penambahan atom hidrogen dan menghitung muatan parsial Gasteiger (Forli *et al.*, 2016). Preparasi ini dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak MGLTools 1.5.6 yang dilengkapi dengan AutoDock 4.2.

Simulasi Penambatan Molekuler Berbasis Protein-Ligan

Simulasi penambatan molekuler berbasis protein-ligan dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak MGLTools 1.5.6 yang dilengkapi dengan AutoDock 4.2. Jarak antara bagian permukaan makromolekul protein dan molekul senyawa uji dibatasi dengan radius maksimum 0,375 Å. Semua simulasi dilakukan menggunakan ukuran grid box 64 x 60 x 60. Kemudian dipilih metode Lamarckian Genetic Algorithm dengan 100 konformasi (Morris *et al.*, 1998). Tujuan dilakukan simulasi ini adalah untuk mengamati, mengidentifikasi, dan mengeksplorasi afinitas dan interaksi molekuler yang terjadi antara makromolekul protein HasAp dengan molekul Fe-Pc dan Fe-MPIX.

Preparasi Makromolekul Protein HasR

Struktur kristal makromolekul protein HasR yang telah diunduh dari web Protein Data Bank kemudian dipreparasi terlebih dahulu. Preparasi makromolekul protein HasR dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak BIOVIA Discovery Studio 2020 dan MGLTools 1.5.6 yang dilengkapi dengan AutoDock 4.2. Tahapan preparasi makromolekul protein ini dilakukan dengan menghilangkan molekul air dan ligan alami, kemudian dilanjutkan dengan menambahkan atom hidrogen polar dan menghitung muatan parsial Kollman (Kurniawan *et al.*, 2018).

Simulasi Penambatan Molekuler Berbasis Protein-Protein

Simulasi penambatan molekuler berbasis protein-protein dilakukan untuk mengidentifikasi dan mengevaluasi afinitas dan interaksi molekuler yang terbentuk antara kompleks HasAp-ligan dengan makromolekul

protein HasR dengan menggunakan perangkat lunak PatchDock. Jarak antara bagian permukaan makromolekul protein dan kompleks ligan-HasAp dibatasi dengan radius maksimum 4.0 Å. Simulasi penambatan molekuler ini menggunakan parameter dengan berdasarkan pada representasi bentuk molekul, bagian sisi aktif pengikatan makromolekul target, serta pemilihan dan penilaian. Simulasi ini juga dilakukan secara efisien tanpa adanya ikatan antar molekul yang bersifat rigid (Aruleba *et al.*, 2018).

Analisis Hasil Simulasi Penambatan Molekuler

Hasil dari simulasi penambatan molekuler berbasis protein-ligan dan berbasis protein-protein kemudian diidentifikasi dan dievaluasi afinitasnya, masing-masing berdasarkan nilai energi bebas ikatan dan *atomic contact energy* (ACE) (Prabhu dan Rajeswari, 2016). Interaksi molekuler yang terbentuk selanjutnya diamati dan dieksplorasi dengan menggunakan perangkat lunak BIOVIA Discovery Studio 2020, terutama residu asam amino yang berperan pada bagian sisi aktif makromolekul protein target.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini akan dilakukan identifikasi, evaluasi, dan eksplorasi terhadap mekanisme aksi dari dua molekul senyawa kompleks besi ((Fe-ftalosanina (Fe-Pc) dan Fe-mesoporfirin-IX (Fe-MPIX)) terhadap makromolekul protein HasAp, serta mengamati kemampuannya dalam mentransfer makromolekul protein HasAp ke bagian sisi aktif pengikatan dari makromolekul protein HasR secara *in silico*. Adapun tahapan utama dari penelitian ini yaitu meliputi simulasi penambatan molekuler berbasis protein-ligan (antara protein HasAp dengan Fe-Pc dan Fe-MPIX) dan simulasi penambatan molekuler berbasis protein-protein (antara kompleks HasAp-ligan dengan protein HasR).

Struktur makromolekul protein HasAp digunakan sebagai reseptor target untuk molekul senyawa uji Fe-Pc dan Fe-MPIX. Makromolekul protein ini dipreparasi terlebih dahulu dengan menghilangkan molekul air dan ligan alami, kemudian dilakukan penambahan atom hidrogen polar, dan perhitungan muatan parsial Kollman dengan menggunakan

perangkat lunak MGLTools 1.5.6 yang dilengkapi dengan AutoDock 4.2. Preparasi makromolekul protein ini bertujuan untuk memastikan agar terbentuk interaksi molekuler yang stabil pada bagian sisi aktif dari makromolekul protein HasAp pada tahapan simulasi penambatan molekuler berbasis protein-ligan.

Molekul senyawa uji Fe-Pc dan Fe-MPIX yang telah dipisahkan dari masing-masing makromolekul protein HasAp terlebih dahulu dipreparasi dengan menambahkan atom hidrogen dan menghitung muatan parsial Gasteiger dengan menggunakan perangkat lunak MGLTools 1.5.6 yang dilengkapi dengan AutoDock 4.2. Preparasi molekul senyawa uji ini dilakukan dengan tujuan agar kedua molekul senyawa uji mendekati keadaan aslinya dan mampu membentuk ikatan kompleks yang stabil dengan bagian area sisi aktif pengikatan dari makromolekul protein HasAp pada tahapan simulasi penambatan molekuler berbasis protein-ligan.

Simulasi penambatan molekuler berbasis protein-ligan dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak MGLTools

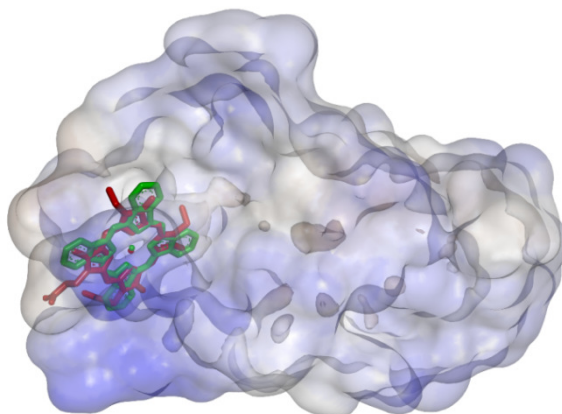
1.5.6 yang dilengkapi dengan AutoDock 4.2 untuk mengamati afinitas paling baik diantara kedua molekul senyawa uji. Kemudian dilakukan juga identifikasi, evaluasi, dan eksplorasi terhadap interaksi molekuler yang terbentuk pada bagian sisi aktif makromolekul protein HasAp. Model pengikatan protein-ligan dengan konformasi terbaik dipilih dan dibandingkan berdasarkan nilai energi bebas ikatan. Data hasil simulasi penambatan molekuler yang terdapat pada Tabel 1, menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan pada kedua molekul senyawa uji saat berinteraksi dengan makromolekul protein HasAp-FePc. Akan tetapi, hal berbeda terjadi ketika molekul senyawa uji membentuk kompleks dengan makromolekul protein HasAp-FeMPIX, senyawa Fe-MPIX memiliki afinitas yang lebih baik, yaitu dengan nilai energi bebas ikatan adalah $-65,73$ kJ/mol. Berdasarkan fenomena ini dapat diprediksi bahwa senyawa kompleks logam dengan ukuran struktur yang relatif besar mampu menempati area pengikatan dari makromolekul protein HasAp.

Tabel 1. Nilai Energi Bebas Ikatan Hasil Simulasi Penambatan Molekuler Berbasis Protein-Ligan.

Senyawa uji	Energi bebas ikatan (kJ/mol)	
	Protein HasAp-FePc	Protein HasAp-FeMPIX
Fe-ftalosanina (Fe-Pc)	-68,45	-63,97
Fe-mesoporfirin-IX (Fe-MPIX)	-68,24	-65,73

Pengamatan lebih lanjut dilakukan terhadap visualisasi dari kompleks molekul senyawa Fe-Pc dan Fe-MPIX terhadap makromolekul protein HasAp-FeMPIX. Sebagaimana yang ditunjukkan oleh Gambar 1, dapat diamati bahwa kedua molekul senyawa uji memiliki konformasi yang identik pada bagian sisi aktif pengikatan dari makromolekul protein HasAp-FeMPIX. Kemudian, apabila diidentifikasi berdasarkan interaksi molekuler yang terbentuk, senyawa Fe-MPIX memiliki

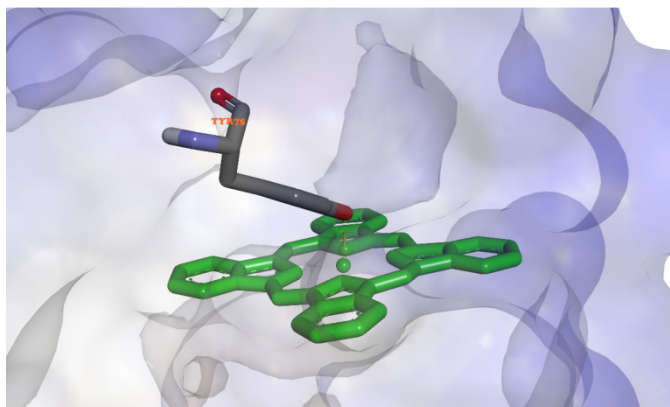
interaksi yang lebih banyak apabila dibandingkan senyawa Fe-Pc. Interaksi yang terbentuk antara senyawa Fe-MPIX dengan protein HasAp-FeMPIX terdiri dari 34 interaksi yang meliputi 9 ikatan hidrogen (dengan His32, Gly35, Tyr75, His83, dan Arg129), 23 interaksi hidrofobik (dengan Val37, Phe46, Phe51, Tyr56, Tyr75, Leu77, His83, Leu85, His134, Tyr138, dan Met141), dan 3 interaksi elektrostatis (dengan His83 dan Arg129).



Gambar 1. Konformasi Fe-ftalosianina (Fe-Pc) (hijau) dan Fe-mesoporfirin-IX (Fe-MPIX) (merah) pada Sisi Aktif Makromolekul Protein HasAp-FeMPIX

Sementara, interaksi yang terjadi antara senyawa Fe-Pc dengan protein HasAp-FeMPIX hanya mampu membentuk 26 interaksi yang terdiri dari 6 ikatan hidrogen (dengan His32 dan Tyr75), 18 interaksi hidrofobik (dengan His32, Pro34, Val37, Tyr75, His83, Leu85, Val137, Tyr138, dan Met141), dan 1 interaksi elektrostatik (dengan His32). Menariknya, senyawa Fe-Pc ini

memiliki 1 ikatan pada logam besi (Fe), yaitu dengan residu asam amino Tyr75 (Gambar 2). Fenomena dari hasil penambatan molekuler berbasis protein-ligan ini perlu dieksplorasi lebih lanjut untuk mengevaluasi kemampuan kedua sistem kompleks protein-ligan terhadap kemampuannya dalam berinteraksi dengan protein HasR.



Gambar 2. Interaksi Molekuler yang Terbentuk terhadap Logam Besi (Fe) pada Senyawa Fe-ftalosianina (Fe-Pc).

Selanjutnya, dilakukan simulasi penambatan molekuler berbasis protein-protein terhadap kedua kompleks protein-ligan makromolekul HasR menggunakan perangkat lunak PatchDock. Pose pengikatan protein-protein dengan konformasi terbaik hasil penambatan molekuler dipilih dan dibandingkan berdasarkan nilai *atomic contact energy* (ACE). Data hasil simulasi penambatan molekuler yang terdapat pada Tabel 2

menunjukkan bahwa kompleks Fe-MPIX dan HasAp-FeMPIX memiliki nilai ACE paling positif sebesar 1051,44 kJ/mol. Fenomena tersebut membuktikan bahwa senyawa Fe-MPIX mampu menghambat secara lebih kuat terjadinya ikatan terhadap makromolekul protein HasR sehingga proses persinyalan pada *Pseudomonas aeruginosa* tidak dapat diteruskan.

Tabel 2. Nilai *Atomic Contact Energy* (ACE) Hasil Simulasi Penambatan Molekuler Berbasis Protein-Protein.

Kompleks ligan-protein	Nilai <i>atomic contact energy</i> (ACE) (kJ/mol)
Fe-ftalosanina (Fe-Pc) + HasAp-FeMPIX	614,88
Fe-mesoporfirin-IX (Fe-MPIX) + HasAp-FeMPIX	1051,44

Oleh karena itu, dalam penelitian ini terbukti bahwa perbedaan ukuran struktur molekul senyawa uji yang terikat pada makromolekul protein HasAp dapat berpengaruh terhadap afinitas dan interaksi molekuler yang akan terbentuk dengan makromolekul protein HasR.

KESIMPULAN

Pada penelitian ini telah dilakukan identifikasi, evaluasi, dan eksplorasi terhadap mekanisme aksi dari molekul senyawa Fe-ftalosanina (Fe-Pc) dan Fe-mesoporfirin-IX (Fe-MPIX) terhadap makromolekul protein HasAp, serta pengaruhnya terhadap makromolekul protein HasR. Perbedaan ukuran struktur molekul terbukti mampu mempengaruhi afinitas senyawa uji sehingga akan berpengaruh terhadap kemampuan kompleks protein-ligan dalam berinteraksi dengan protein HasR yang berperan sebagai pengaturpersinyalan pada sel bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Dengan demikian, diperlukan kehati-hatian dalam mendesain dan mengembangkan struktur molekul senyawa inhibitor makromolekul protein HasAP secara *insilico*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada LPPM (Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat), Universitas Islam Bandung, atas dukungan finansial yang diberikan melalui skema hibah Penelitian Dosen Muda tahun 2019, No.137/B.04/LPPM/XI/2019.

DAFTAR PUSTAKA

- Alontaga, A.Y., Rodriguez, J.C., Schonbrunn, E., Becker, A., Funke, T., Yukl, E.T., Hayashi, T., Stobaugh, J., Moenne-Loccoz, P., Rivera, M. 2009. Structural characterization of the hemophore HasAp from *Pseudomonas aeruginosa*: NMR spectroscopy reveals protein-protein interactions between HoloHasAp and hemoglobin. *Biochemistry*. 48 (1): 96-109.
- Arnoux, P., Haser, R., Izadi, N., Lecroisey, A., Delepierre, M., Wandersman, C., Czejek, M. 1999. The crystal structure of HasA, a hemophore secreted by *Serratia marcescens*. *Nat. Struct. Biol.* 6 (6): 516-520.
- Aruleba, R.T., Adekiya, T.A., Oyinloye, B.E., Kappo, A.P. 2018. Structural studies of predicted ligand binding sites and molecular docking analysis of Slc2a4 as a therapeutic target for the treatment of cancer. *Int. J. Mol. Sci.* 19 (2): 386.
- Forli, S., Huey, R., Pique, M.E., Sanner, M., Goodsell, D.S., Olson, A.J. 2016. Computational protein-ligand docking and virtual drug screening with the AutoDock suite. *Nat. Protoc.* 11 (5): 905-919.
- Ghigo, J.M., Lettofe, S., Wandersman, C. 1997. A new type of hemophore-dependent heme acquisition system of *Serratia marcescens* reconstituted in *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* 179 (11): 3572-3579.
- Idei, A., Kawai, E., Akatsuka, H., Omori, K. 1999. Cloning and characterization of the *Pseudomonas fluorescens* ATP-binding cassette exporter, HasDEF, for the heme acquisition protein HasA. *J. Bacteriol.* 181 (24): 7545-7551.
- Jepkorir, G., Rodriguez, J.C., Rui, H., Im, W., Lovell, S., Battaile, K.P., Alontaga, A.Y., Yukl, E.T., Moenne-Loccoz, P., Rivera, M. 2010. Structural, NMR spectroscopic, and computational investigation of heme loading in the hemophore HasAp from *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Am. Chem. Soc.* 132 (28): 9857-9872.
- Krieg, S., Huche, F., Diederichs, K., Izadi-Pruneyre, N., Lecroisey, A., Wandersman, C., Delepierre, P., Welte,

- W. 2009. Heme uptake across the outer membrane as revealed by crystal structures of the receptor-hemophore complex. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 106 (4): 1045-1050.
- Kumar, R., Lovell, S., Matsumura, H., Battaile, K.P., Moenne-Loccoz, P., Rivera, M. 2013. The hemophore HasA from *Yersinia pestis* (HasAyp) coordinates heme with a single residue, Tyr75, and with minimal conformational change. *Biochemistry*. 52 (16): 2705-2707.
- Kurniawan, F., Miura, Y., Kartasmita, R.E., Yoshioka, N., Mutalib, A., Tjahjono, D.H. 2018. In silico study, synthesis, and cytotoxic activities of porphyrin derivatives. *Pharmaceuticals*. 11 (1): 8.
- Letoffe, S., Deniau, C., Wolff, N., Dassa, E., Delepelaire, P., Lecroisey, A., Wandersman, C. 2001. Haemophore-mediated bacterial haem transport: evidence for a common or overlapping site for haem-free and haem-loaded site on its specific outer membrane receptor. *Mol. Microbiol.* 41 (2): 439-450.
- Letoffe, S., Ghigo, J.M., Wandersman, C. 1994. Iron acquisition from heme and hemoglobin by a *Serratia marcescens* extracellular protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 91 (21): 9876-9880
- Letoffe, S., Omori, K., Wandersman, C. 2000. Functional characterization of the HasAPF hemophore and its truncated and chimeric variants: determination of a region involved in binding to the hemophore receptor. *J. Bacteriol.* 182 (16): 4401-4405.
- Letoffe, S., Redeker, V., Wandersman, C. 1998. Isolation and characterization of an extracellular haem-binding protein from *Pseudomonas aeruginosa* that shares function and sequence similarities with the *Serratia marcescens* HasA hemophore. *Mol. Microbiol.* 28 (6): 1223-1224.
- Morris, G.M., Goodsell, D.S., Halliday, R.S., Huey, R., Hart, W.E., Belew, R.K., Olson, A.J. 1998. Automated docking using a Lamarckian genetic algorithm and an empirical binding free energy function. *J. Comput. Chem.* 19 (14): 1639-1662.
- Prabhu, D.S., Rajeswari, V.D. 2016. In silico docking analysis of bioactive compounds from Chinese medicine *Jinqi Jiangtang* Tablet (JQJTT) using Patch Dock. *J. Chem. Pharm. Res.* 5 (8): 15-21.
- Satake, Y., Abe, S., Okazaki, S., Ban, N., Hikage, T., Ueno, T., Nakajima, H., Suzuki, A., Yamane, T., Nishiyama, H., Watanabe, Y. 2007. Incorporation of a phebox rhodium complex into apomyoglobin affords a stable organometallic protein showing unprecedented arrangement of the complex in the cavity. *Organometallics*. 26(20): 4904-4908.
- Shirataki, C., Shoji, O., Terada, M., Ozaki, S., Sugimoto, H., Shiro, Y., Watanabe, Y. 2014. Inhibition of heme uptake in *Pseudomonas aeruginosa* by its hemophore (HasAp) bound to synthetic metal complexes. *Angew. Chem. Int. Ed.* 53 (11): 2862-2866.