

大腸菌由来膜タンパク質によるリポソームへの2つの機能付与

(群馬大学大学院¹⁾) ○大西 瀬蓮¹・神谷 厚輝¹

Reconstitution of *Escherichia Coli*-expressed membrane protein with two functions into liposomes (¹Gunma University) ○Seren Ohnishi,¹ Koki Kamiya¹

To incorporate two functions into a liposome, a reconstitution of some proteins into the liposome is required. OmpLA (outer membrane protein phospholipase A1), one of the membrane protein in *E. Coli*, which formed nano-pore, allows a transport of ions and molecules. Moreover, OmpLA have an enzyme activity of phospholipid hydrolysis under calcium ions⁽¹⁾. By reconstituting OmpLA, we can construct the liposomes with the two functions. In this study, we observed transports of small molecules and generations of budding vesicle due to the phospholipid hydrolysis using OmpLA-reconstituted liposomes. The insertion of OmpLA into artificial lipid bilayer was promoted in the presence of negatively or positively-charged lipids. The orientation of OmpLA was also controlled by the charges of lipids because hydrophilic region of OmpLA has asymmetric distribution of charge. By the orientation of OmpLA, we controlled a budding direction of small vesicles from the cell-sized lipid vesicles by OmpLA enzyme activity of phospholipid hydrolysis.

Keywords : membrane protein, artificial lipid bilayer, pore-forming protein, electrophysiological method

人工細胞膜リポソームに2つの機能を付与するために、2種類以上のタンパク質を再構成する必要がある。大腸菌の外膜に存在する膜タンパク質 OmpLA は、ポアを形成しイオン等の輸送を行い、更にカルシウムイオン存在下でホスホリパーゼ活性を有しリン脂質のアシル基を切断する⁽¹⁾。OmpLA をリポソームに再構成することで、2つの機能を付与できる。我々は、OmpLA 再構成リポソームによる物質輸送と、アシル基切断による膜の屈曲の観察を行った。OmpLA の人工膜への挿入は有電荷脂質により促されることを確認し、また人工膜の電荷により OmpLA の配向性を制御できることを見出した。この OmpLA の配向性により、カルシウムイオン活性による膜屈曲の方向制御に成功した(Figure)。

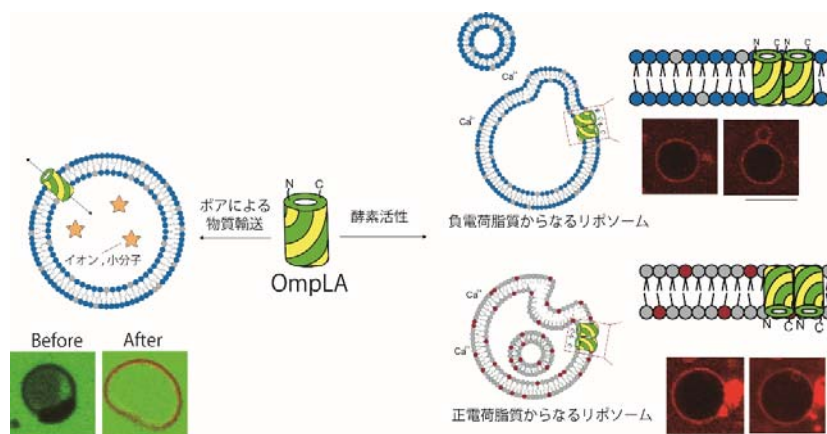


Figure : リポソームへ再構築された OmpLA の機能。スケールバー : 10 μm

1) Martina Rangl. et al., *Journal of Molecular Biology*, 429, 977-986, 2017.