

β バレルナノポア形成タンパク質のβ ストランド数変化によるポアサイズ変換の検討

(群馬大理工¹・群馬大院理工²) ○登坂 俊行¹・神谷 厚輝²

Examination of pore size conversion by β -strand number in β -barrel nanopore-forming protein (¹Faculty of Science and Technology, Gunma University, ²Graduate School of Science and Technology, Gunma University) ○Toshiyuki Tosaka,¹ Koki Kamiya²

Nanopore-forming proteins, which are reconstituted into artificial cell membranes, allow a substrate transport from outside of the artificial cell membranes to inside of membranes and vice versa. However, a control of accurate substance transportation becomes an issue because a reconstitution of nanopore protein with different pore sizes into the same artificial cell membrane compositions is difficult. Therefore, we prepared mutant types of β -barrel nanopore protein with defected or inserted amino acid sequence from β -strand. First, the amount of ions through single-molecule nanopore protein mutants was measured using a patch clamp method of the artificial lipid bilayer. Next, the permeabilities of small molecules through multi-molecule nanopore protein mutants were investigated by a leakage of fluorescent molecules from liposomes.

Keywords : Nanopore-forming protein; Liposome; Patch clamp method

ナノポア形成タンパク質は細胞膜に再構成し、イオンや栄養物等の物質を透過させるポアを形成するタンパク質である。近年、ナノポア形成タンパク質は DNA シーケンスに代表されるような、センシングやリポソーム膜内外の物質輸送を行う生体分子として利用されている。単量体で一定のポアサイズを維持するタンパク質に Omp(Outer membrane protein)が挙げられる。Omp は β バレル構造からなり、ポアの直径は β ストランド数に依存している。Omp ファミリーのひとつである OmpG は 14 本の β ストランドからなる約 2.8 nm のポアを形成し、三糖類までの物質を透過させる¹⁾。

本研究では、ナノポア形成タンパク質による厳密な物質輸送の制御を目指し、ポアサイズの異なる OmpG の構築を目指した。そこで、 β ストランド数を変化させた OmpG 変異体を作製し、一分子 OmpG によるイオンの透過量について人工膜パッチクランプ法により確認した²⁾。また、多分子 OmpG による小分子の透過量について蛍光物質を封入したリポソームに OmpG を再構成することで測定した³⁾。そして、ポアサイズの変化について比較検討を行った。



図 1. 人工膜パッチクランプ法で OmpG 野生型のシグナル

1) Jim E. Home, et al. *Journal of Biological Chemistry*, 295, 10340-10367, 2020

2) Koki Kamiya, et al. *Scientific Reports*, 8, 17498, 2018

3) Meishan Lin, et al. *Biochimica et acta biomembranes*, 1859, 1180-1189, 2017