ポアサイズ変化させた改変型βバレルナノパオタンパクのリポソームへの再構成法の検討

（群馬大院理工[1]）○登坂俊行[1]・神谷 厚輝[1]
Method of reconstitution of β-barrel-modified nanopore protein into the liposome ([1]*Graduate Science and Technology, Gunma University*,) ○Toshiyuki Tosaka,[1] Koki Kamiya,[1]

Nanopore protein have been applied as membrane transporter into liposomes. We succeeded in changing the pore size of β-barrel nanopore protein such as Outer membrane protein G (OmpG) by modifying number of β-strands, and detecting DNA with various shapes by patch clamp method using planar lipid bilayer. Loop6 of OmpG is constantly opening and closing the entrance of the OmpG nanopore. In previous study, a deletion of Loop6 of OmpG causes an increase of the open state duration. In this study, we create mutants OmpG by deleting region of Loop6. The open state duration time was investigated using a patch clamp method. In addition, we investigated reconstitution method of OmpGs into the liposome membrane. Then, we compared the reconstitution amount and ion permeability between wild type and mutant OmpGs.

Keywords : nanopore protein; porin; liposome

ナノポアタンパク質は人工細胞膜リポソームに再構成させ、膜内外の物質を輸送する膜タンパク質として利用されている。これまでにβバレル型ナノポアタンパク質、Outer membrane protein G(OmpG)のポアサイズをβストランド数改変させることより変化させ、平面脂質二重膜を用いたパッチクランプ法により形状の異なるDNAの検出に成功した[1)]。OmpGは柔軟なLoop6構造をもち、この構造がナノポアの入り口を絶え間なく開閉している。このLoop6領域を欠損させることで、ナノポアの開状態の時間が増加すると報告されている[2)]。本研究では、OmpGを用いたより効率的な膜内外の物質輸送を実現するため、Loop6 領域を欠損したポアサイズの異なる改変型OmpGを、パッチクランプ法により開状態の時間変化を検討した。また改変型OmpGの球体膜リポソームへの再構成法を検討し、野生型と改変型の再構成量やポアサイズの違いによるイオン透過性を比較した(図1)。

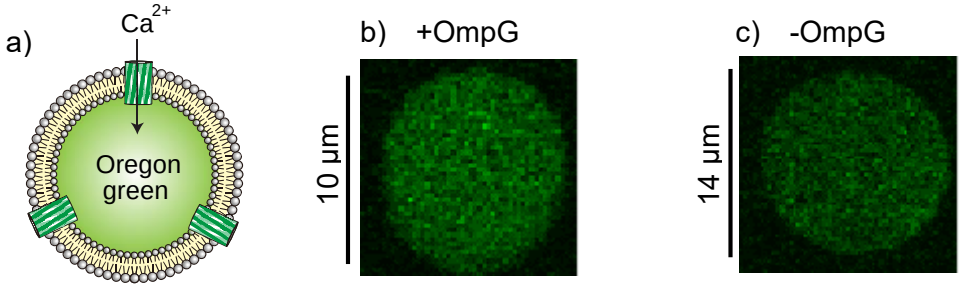

図1. OmpGによるCa^{2+}の流入観察

1) Toshiyuki Tosaka et al., *ACS Appl. Nano Mater.*, 2022, 5, 5, 6149-6158
2) Raghavendar Reddy et al., *ACS Sens.*, 2019, 4, 5, 1230-1235

© The Chemical Society of Japan