

## β ストランド数変化による β バレルナノポアタンパク質のポアサイズ変換と生体分子の検出

(群馬大院理工<sup>1</sup>) ○登坂 俊行<sup>1</sup>・神谷 厚輝<sup>1</sup>

Detection of biological molecule using β-barrel nanopore protein by changing number of β-strands ( <sup>1</sup>*Graduate School of Science and Technology, Gunma University*) ○Toshiyuki Tosaka,<sup>1</sup> Koki Kamiya<sup>1</sup>

Nanopore proteins have been applied as single-molecule detections. α-Hemolysin (α-HL), which is most commonly used for a single molecule detection, forms a nanopore assembled by heptamer or hexamer. Therefore, the nanopores of α-HL have two different diameters with each form. On the other hands, outer membrane protein G (OmpG) has β-barrel structure with 14 β-strand and forms a stable nanopore from monomer. In this study, to detect various types of biological molecule, we create mutants of OmpG by changing number of β-strands. The ion permeability and pore size of mutant of OmpG were investigated using a patch clamp method with nonelectrolyte martials at different molecular weights. In addition, we demonstrated the detection of various structures of DNA depending on the nanopore sizes using the OmpG WT or mutated OmpG.

**Keywords :** nanopore protein; nanopore sensing; patch clamp method

ナノポアタンパク質は物質を一分子レベルで検出できる生体分子として利用されている<sup>1)</sup>。DNA シーケンサーとして研究されている α-ヘモリシンは細胞膜上で多量体を形成することでナノポアを形成する。α-ヘモリシンの安定構造に 6 量体と 7 量体が存在し、それぞれポアサイズが異なる<sup>2)</sup>。対して、グラム陰性菌の外膜に存在する Outer membrane protein G (OmpG) は 14 本の β ストランドからなる β バレル構造をもち、単量体で安定的なナノポアを形成する<sup>3)</sup>。本研究では様々な大きさの生体分子の検出を目指し、OmpG の β ストランド数を増減させることによりポアサイズの異なる変異型 OmpG を作製した。まず野生型 OmpG と変異型 OmpG のイオン透過性やポアサイズの違いを種々の大きさの非電解質物質を用いた人工膜パッチクランプ法<sup>4)</sup>により検討した。また、ポアサイズ変化により異なる形状の生体分子が検出可能かを、種々の形状の DNA を用いて検討した。

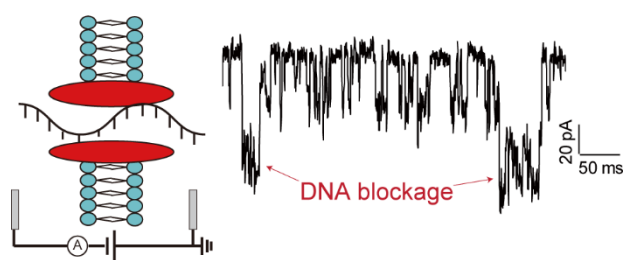


図 1. OmpG による一本鎖 DNA の検出

1) Ana Crnkovic et al. *Life*, 2021, 11, 27.

2) Simone Furini et al. *Biophysical Journal*, 2008, 95, 2265-2274.

3) Gowtham V. Subbarao et al. *Journal of Molecular Biology*, 2006, 360, 750-759.

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