

講演番号：2E020

発表日時：3月5日 14:15~15:15、発表場所：ポスター発表会場エリア E

細菌細胞外膜小胞生産における新規 BAR ドメインタンパク質と細菌性ダイナミン様タンパク質の生理機能

Physiological function of novel BAR domain protein and bacterial dynamin-like protein in the production of bacterial extracellular membrane vesicles

○井上 宙夢、川本 純、小川 拓哉、栗原 達夫 (京都大学・化学研究所)

○Hiromu INOUE, Jun KAWAMOTO, Takuya OGAWA, Tatsuo KURIHARA (Kyoto Univ.)

我々は、細胞外膜小胞高生産性のグラム陰性細菌 *Shewanella vesiculosa* HM13 の膜小胞生産関連遺伝子のスクリーニングにより、新規 BAR (Bin/Amphiphysin/Rvs) ドメインタンパク質をコードすると推定される遺伝子 (*hm2405*) を同定した。*hm2405* は細菌性ダイナミン様タンパク質 LeoA のホモログ遺伝子 (*hm2406*) を含む遺伝子クラスターに存在した。本研究では、HM2405 による膜の曲率制御と HM2406 による膜小胞のピンチオフによって膜小胞形成が進行するという作業仮説に基づき、本遺伝子クラスターの膜小胞生産への関与を解析した。*hm2405* と *hm2406* の欠損はそれぞれ膜小胞生産性を 52% と 42% 低下させ、相補により親株と同程度まで膜小胞生産性が回復した。*hm2405* と *hm2406* の共過剰発現は膜小胞生産性を 1.6 倍増加させ、これらの遺伝子産物が協調して膜小胞生産に働くことが示唆された。直径約 100 nm のリポソームと部分精製 HM2405、精製 HM2406 をもちいたリポソーム共沈により、HM2405 と HM2406 はリポソームに結合することが示された。部分精製 HM2405 を giant unilamellar vesicle (GUV) に外部添加したところ、10–20% 程度の GUV に変形が生じ、HM2405 による膜の曲率制御が示された。精製 HM2406 と GTP、Mg²⁺ を GUV に外部添加したところ、GUV の凝集が観察され、HM2406 は GTP 加水分解依存的に膜の繫留もしくは融合を引き起こすことが示された。タンパク質局在性解析により HM2406 は内膜に局在することが示され、HM2405 と HM2406 は内膜と外膜を含む膜小胞の形成に協調して働くことが考えられた。

We identified a gene (*hm2405*) presumed to encode a novel BAR domain protein by screening for genes related to membrane vesicle (MV) production by a hyper-vesiculating bacterium, *Shewanella vesiculosa* HM13. *hm2405* is in a gene cluster containing *hm2406* encoding a bacterial dynamin-like protein, LeoA. This study aimed to elucidate the roles of *hm2405* and *hm2406* in the production of MVs by strain HM13. Deletion of *hm2405* and *hm2406* decreased MV productivity by 52% and 42%, respectively. Co-overexpression of *hm2405* and *hm2406* increased MV productivity by 1.6-fold. The addition of partially purified HM2405 to GUVs caused membrane deformation in 10–20% of GUVs, demonstrating membrane curvature control by HM2405. When purified HM2406, GTP, and Mg²⁺ were added to GUVs, GUV aggregation was observed, indicating that HM2406 causes membrane tethering or fusion in a GTP hydrolysis-dependent manner. We also found that HM2406 localizes to the inner membrane. These results suggest that HM2405 and HM2406 function cooperatively to form outer-inner membrane vesicles containing both the inner and outer membranes.

extracellular membrane vesicle, BAR domain, bacterial dynamin-like protein

発表責任者：栗原 達夫 (kurihara.tatsuo.8m@kyoto-u.ac.jp)