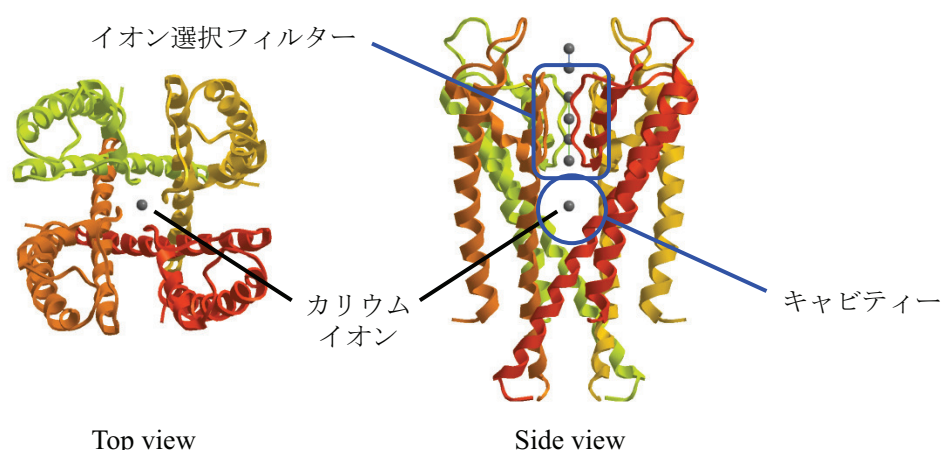


1P125

KcsA カリウムチャンネルの安定イオン配置に関する密度汎関数計算

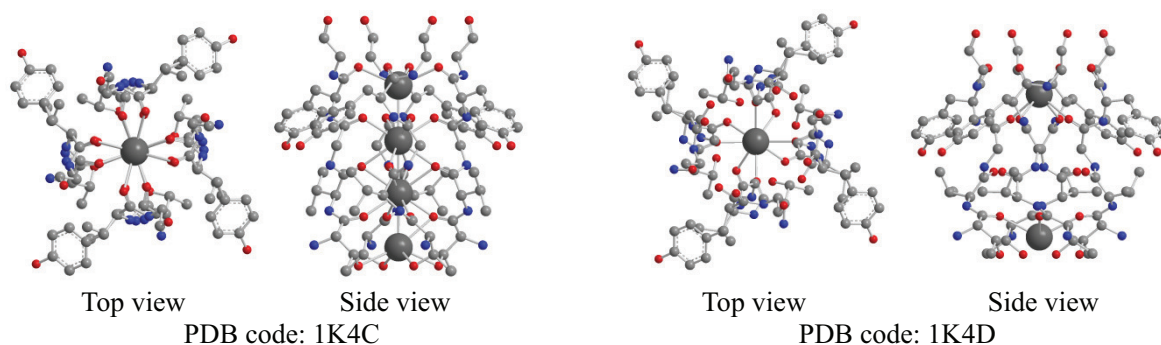
(三重大院工) ○三谷 昌輝・吉岡 泰規

【序】KcsA カリウムチャンネル(図 1)は K^+ イオンを選択的に透過するが、イオン透過及びイオン選択の機能に関して、主に古典的分子動力学計算により研究されている。近年、高 K^+ イオン濃度及び低 K^+ イオン濃度での X 線構造(PDB code: 1K4C 及び 1K4D) [1] が報告され、キャビティー内に一箇所とイオン選択フィルター内に四箇所のイオン結合サイトが確認された。キャビティーは (T74-T75, I100, F103-G104, T107)₄ のアミノ酸残基から構成され、キャビティー内に K^+ イオンの 8 水和構造が観測されている。イオン選択フィルターは (T75-V76-G77-Y78-G79)₄ のアミノ酸配列をもち、ペプチド主鎖のカルボニル酸素がイオン結合サイトを形成する。1K4C 構造は K^+ イオンを透過し、1K4D 構造は K^+ イオンを透過しない。本研究では、 K^+ イオン及び Na^+ イオンに対して、イオン選択フィルター内のイオン結合構造を密度汎関数計算により最適化し、安定イオン配置について検討した。



Top view Side view
図 1. KcsA カリウムチャンネルの X 線構造(PDB code: 1K4C) [1]

【計算】KcsA カリウムチャンネルの X 線構造(図 2)から T75-V76-G77-Y78-G79 のアミノ酸 4 量体を取り出して水素原子で終端し、モデル分子とした。X 線構造では、Y78 側鎖はイオン透過経路と反対方向に配向しており、金属イオンとは直接相互作用しないと考えられるので、 $-C_6H_4OH$ を $-H$ で置き換えて(Tyr を Ala で置き換えて)計算を行った。密度汎関数計算は B3LYP 法を適用し、基底関数は 6-31G*(K, Na, O)と 3-21G(C, N, H)を用いた。



Top view Side view Top view Side view
PDB code: 1K4C PDB code: 1K4D
図 2. KcsA カリウムチャンネルのイオン選択フィルターの X 線構造 [1]

イオン選択フィルター内の四箇所のイオン結合サイト(図3)におけるイオン配置(M^+ :金属イオン, W :水分子)は、1K4C 構造では $M^+(S1)W(S2)M^+(S3)W(S4)$ 及び $W(S1)M^+(S2)W(S3)M^+(S4)$ 、1K4D 構造では $M^+(S1)W(S3)M^+(S4)$ である。これらの安定イオン配置に対する水分子の配向について、水素原子がイオン選択フィルターの出口方向及び入口方向(u 及び d)に配向している場合が可能であるので、 $M^+ = K^+, Na^+$ として1K4C 構造の uu, du, ud, dd 配向と1K4D 構造の u, d 配向を検討した。

【結果】空のイオン選択フィルターに対するエネルギーを、表1に示す。構造1は水素原子とイオン結合サイトを形成

するカルボニル酸素及びアミノ酸残基の側鎖を最適化した構造を、構造2は全原子を最適化している途中の構造を表している。構造2のエネルギー変化は、0.001 hartree 以内まで収束している。ペプチド主鎖の構造を最適化すると1K4C 構造と1K4D 構造のエネルギー差は小さくなっているが、1K4D 構造の方が1K4C 構造よりも安定である。

表1. イオン選択フィルターの全エネルギー(hartree)及び相対エネルギー(kcal/mol)^a

イオン選択 フィルター	構造1		構造2	
	全エネルギー	相対エネルギー	全エネルギー	相対エネルギー
1K4C	-5389.31307	58.7	-5389.50427	29.7
1K4D	-5389.40664	0.0	-5389.55159	0.0

^aN 末端及び C 末端を終端する水素原子は固定

構造2におけるペプチド主鎖の2面角を、表2に示す。1K4C 構造ではX線構造からの構造変化が顕著であるが、1K4C 構造及び1K4D 構造の分子骨格はそれぞれX線構造に対応する骨格を保持しており、イオンが結合していない場合も2種類の局所的な安定構造が存在すると考えられる。

表2. イオン選択フィルターのペプチド主鎖の2面角(°)

2面角	1K4C(X線構造)	1K4C(構造2)	1K4D(X線構造)	1K4D(構造2)
(T75)NC _α CN(V76)	21.8	19.1 - 20.5	40.6	31.6 - 32.7
(T75)C _α CNC _α (V76)	179.1	-162.7 - -172.5	-178.0	-177.2 - -177.5
(T75)CNC _α C(V76)	-71.4	-55.4 - -97.8	-70.2	-79.0 - -80.2
(V76)NC _α CN(G77)	-52.5	-32.5 - -38.1	-24.6	-32.9 - -33.2
(V76)C _α CNC _α (G77)	177.8	157.3 - 166.1	176.3	174.9 - 175.5
(V76)CNC _α C(G77)	52.7	54.7 - 67.1	65.9	65.4 - 68.1
(G77)NC _α CN(Y78)	61.4	24.1 - 33.1	41.8	52.7 - 54.8
(G77)C _α CNC _α (Y78)	179.8	-155.8 - -157.9	178.5	-179.3 - -179.6
(G77)CNC _α C(Y78)	-53.9	-69.8 - -70.9	-72.3	-78.8 - -79.8
(Y78)NC _α CN(G79)	-39.8	-8.6 - 31.1	-33.8	-26.8 - -28.0
(Y78)C _α CNC _α (G79)	-178.3	165.9 - 171.7	179.9	-175.0 - -175.4
(Y78)CNC _α C(G79)	102.4	90.3 - 98.1	73.9	69.2 - 70.3
(G79)NC _α CN(D80)	6.2	-15.6 - -26.4	24.1	14.4 - 16.0

イオン結合構造に対する結果は、発表当日に報告する。

[1] Y. Zhou, J. H. Morais-Cabral, A. Kaufman, R. MacKinnon, *Nature*, **414**, 43–48 (2001).

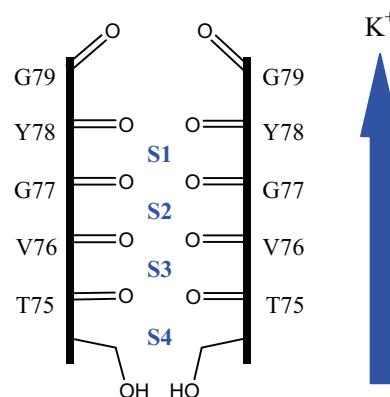


図3. KcsA カリウムチャンネルのイオン選択フィルター内のイオン結合サイト