

2P121

KcsA カリウムチャンネルの金属イオン結合サイト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】放線菌由来の KcsA カリウムチャンネルは、細胞内から細胞外へ K^+ イオンを選択的に透過する。近年、 K^+ イオン濃度の異なる二種類の X 線構造 (PDB ID: 1K4C 及び 1K4D) が報告され [1]、キャビティーの内部に一箇所 (S_{cav})、イオン選択フィルターの内側に四箇所 ($S1, S2, S3, S4$)、イオン選択フィルターの出口に二箇所 ($S0, S_{ext}$) の K^+ イオン結合サイトが確認された (図 1)。これまで、金属イオンの透過及び選択の機能は、主に古典的分子動力学計算により研究されている。

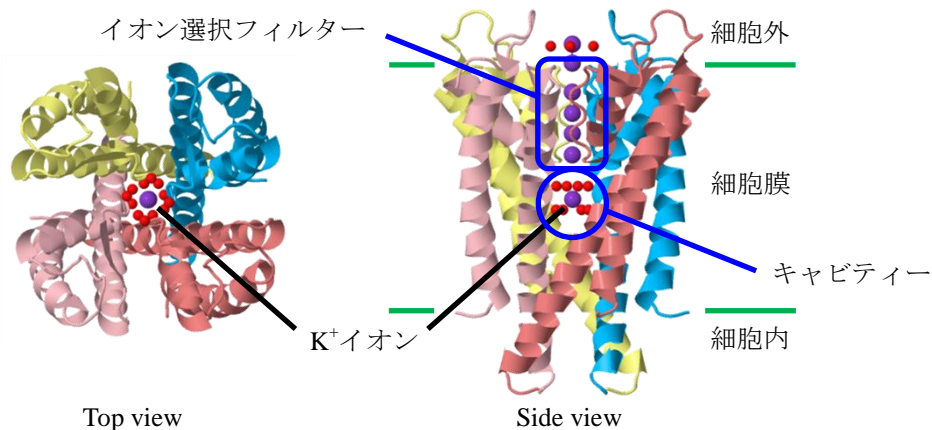


図 1. KcsA カリウムチャンネルの X 線構造 (PDB ID: 1K4C) [1]

イオン選択フィルターの構造は細胞内の K^+ イオン濃度により変化すると考えられており (図 2)、高濃度での 1K4C 構造は K^+ イオンを透過するが、低濃度での 1K4D 構造は K^+ イオンを透過しない。 K^+ イオンの選択的透過機構の詳細を明らかにするには、チャンネル内の金属イオン移動に対するエネルギー障壁を評価する必要がある。しかしながら、金属イオンの透過に関与している水分子の配向は、水素原子が観測されないため X 線構造から決定することはできない。本研究では、KcsA カリウムチャンネルの金属イオン選択性を検討するための第一段階として、 K^+ イオン及び Na^+ イオンに対して密度汎関数計算により金属イオン結合サイトの構造を最適化している。

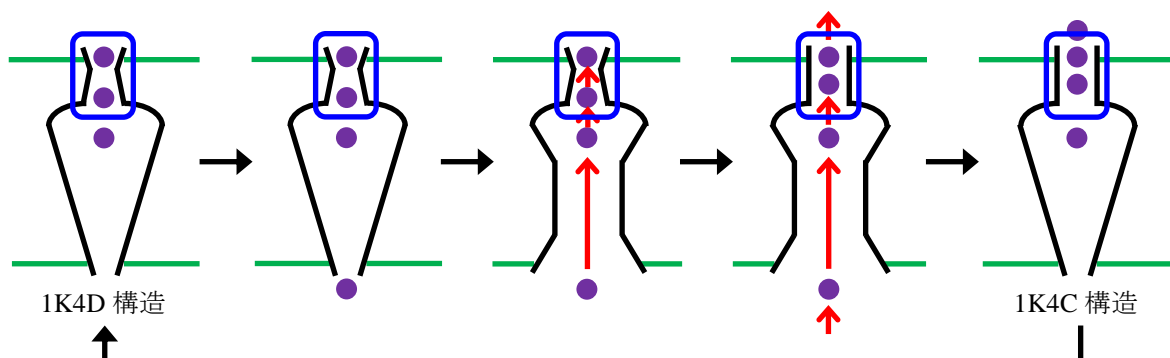


図 2. K^+ イオンの透過における KcsA カリウムチャンネルの構造変化

【計算】 KcsA カリウムチャンネルは 4 サブユニットから構成されており、キャビティーは (T74-T75, I100, F103-G104, T107)₄、イオン選択フィルターは (T75-V76-G77-Y78-G79)₄ のアミノ酸

配列をもつ。K⁺イオンの8水和構造がキャビティー内のK⁺イオン結合サイトであり、ペプチド主鎖のカルボニル酸素がイオン選択フィルター内のK⁺イオン結合サイトを形成する。X線構造からキャビティー及びイオン選択フィルターを構成するアミノ酸4量体を取り出し(図3)、水素原子で終端してモデル分子とした。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。

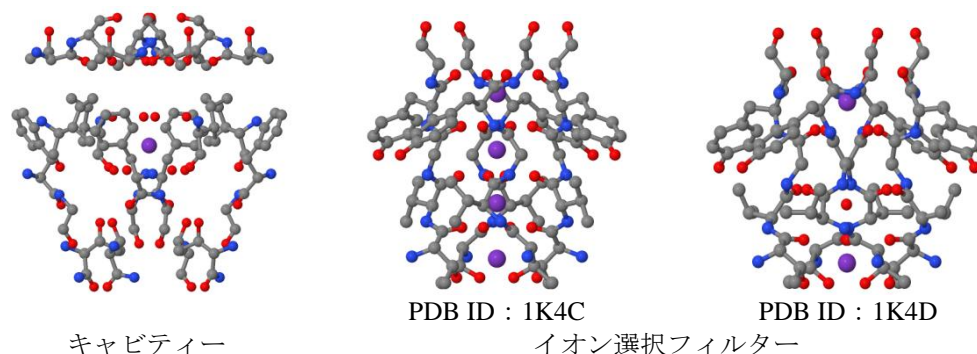


図3. KcsA カリウムチャンネルのキャビティー及びイオン選択フィルターのX線構造[1]

キャビティーのX線構造ではK⁺イオンの上下に4個ずつの水分子が観測されているが、更に4個の水分子をモデル分子に追加して計12個の水分子を考慮した。金属イオンの水和水の配向は、T107と水素結合する構造(構造1)とF103と水素結合する構造(構造2)を検討した。

イオン選択フィルター内の金属イオン結合サイト(図4)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)と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して、水分子の水素原子がイオン選択フィルターの出口及び入口を向く配向(u及びd)を考慮し、1K4C構造のuu, ud, du, dd配向と1K4D構造のu, d配向を検討した。また、X線構造ではS0サイトのK⁺イオンの上に4個の水分子が観測されており、これらの水分子もモデル分子に追加した。S0サイトを形成する水分子について、イオン選択フィルターのペプチド鎖と水素結合する配向を考慮し、隣接鎖でG79-W-Y78を形成する構造(構造1)、同一鎖でG79-W-Y78を形成する構造(構造2)、G79-W-Wを形成する構造(構造3)、Y78-W-Wを形成する構造(構造4)を検討した。

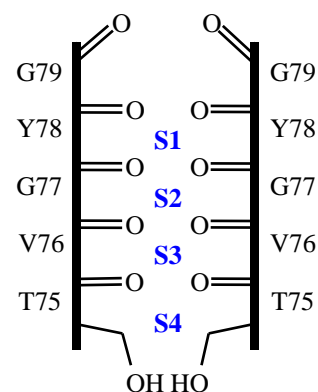


図4. KcsA カリウムチャンネルのイオン選択フィルター内の金属イオン結合サイト

【結果】モデル分子の構造最適化は、ペプチド鎖を終端する水素原子の位置を固定して実行している。空のキャビティー及びイオン選択フィルターに対するモデル分子の構造はそれぞれ最適化されており、イオン選択フィルターは1K4D構造が1K4C構造よりも約50 kcal/mol安定である。キャビティーの金属イオン結合構造は、最適化の途中段階では、構造1が構造2よりも安定であり、イオン選択フィルターの金属イオン結合構造は、最適化の途中段階では、構造3と構造4が構造1と構造2よりも安定である。発表では、キャビティー及びイオン選択フィルターの1K4D構造について、結果の詳細を報告する。

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