

3P087

K⁺チャネルでのイオン透過における中心空洞の役割とその濃度依存性

(福井大¹、分子研²) 炭竈 享司¹、齊藤 真司²、老木 成稔¹

【序論】1998年、MacKinnonらによりK⁺チャネルのX線結晶構造が解明され、細胞外溶液と細胞内溶液は1つの孔で繋がっていることが分かった。その孔の細胞外側は選択性フィルターと呼ばれる細い孔であり、そこでは水とイオンが1列に並ぶ。一方、細胞内側では太くなっており、中心空洞と呼ばれている。K⁺チャネルのX線結晶構造が解かれてから、様々な理論計算が行われてきているが、そのほとんどの研究は選択性フィルター内でのイオンの移動に関するものであり、細胞内溶液から細胞外溶液までのイオンの透過を扱ったものは2例しか報告されていない[1, 2]。しかし、これらの2例の研究においても、解析は選択性フィルターを通るイオンの運動に限られており、中心空洞のイオン透過における役割は明らかではない。また、イオンの透過機構についても、選択性フィルターをイオンと水が交互に透過（透過パターン1：図1の状態1と状態2を繰り返す透過パターン）するか、介在する水分子なしにイオンが隣り合って2つ透過（透過パターン2：図1の状態1→2→7→6→1と遷移する透過パターン）する可能性を指摘しているが、我々の実験で観測されているようなイオン間に水2分子を伴って透過（透過パターン3：図1の状態1→3→5→4→2→1と遷移する透過パターン）する機構については解析されていない[3]。

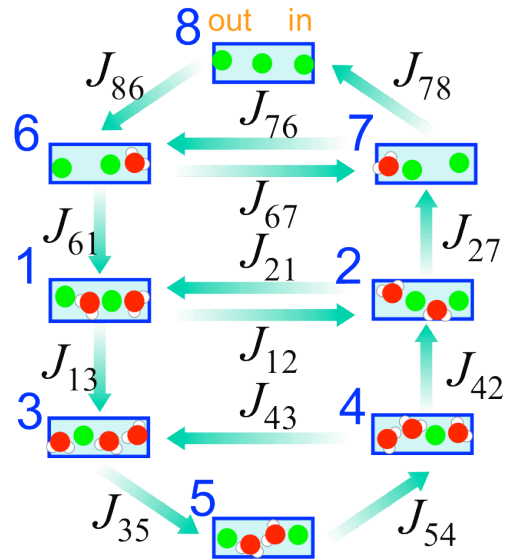


図1. イオンの透過モデル。K⁺チャネルでの8つのイオン占有状態を示す。緑の球はK⁺イオン、赤は水分子を示す。状態8のinは細胞質側、outは細胞外側を示す。 J_{ij} は状態iから状態jへの遷移の流束を示す。

【方法】本研究では、分子動力学 (Molecular Dynamics; MD) 法によるシミュレーションにより、K⁺チャネル (Kv1.2) におけるイオンの受動輸送を 0.02, 0.07, 0.12, 0.52, 1.09 M の5つのイオン濃度で観測し、イオンの透過機構と中心空洞の役割について解析した。

【結果】表1に示すとおり、どの濃度でも透過パターン1を主たる透過パターンとし

濃度 [M]	J_{21}	J_{12}	J_{13}	J_{42}	J_{35}	J_{54}	J_{61}	J_{27}	J_{86}	J_{78}	J_{76}	J_{67}	J_{43}
0.02	17.4	17.4	2.6	2.6	2.6	2.6	—	—	—	—	—	—	—
0.07	76.0	68.0	6.0	6.0	8.0	8.0	—	—	—	—	—	—	2.0
0.12	68.0	68.0	12.0	10.0	14.0	12.0	12.0	12.0	—	—	16.0	—	2.0
0.52	220.9	223.2	9.3	9.3	9.3	9.3	11.6	11.6	—	—	14.0	2.3	—
1.09	211.8	217.6	14.7	14.7	20.6	17.6	23.5	26.5	8.8	8.8	14.7	2.9	2.9

表 1. 図 1 のダイアグラムにおけるそれぞれの過程の流束 (J_{ij}) の濃度依存性。単位は μs^{-1} 。

ているものの、その他の透過パターンの利用頻度はバルクのイオン濃度に強く依存していることが分かった。生体内濃度 (0.12 M) より低濃度では、透過パターン 3 により透過する場合があります、その結果、イオンと水分子の透過比、いわゆるカップリング比 ($N_{\text{cpl}} = \text{透過した水分子数} / \text{透過したイオン数}$) は 1 以上になる。これは、我々の実験による結果と一致している [3]。一方、生体内濃度 (0.12 M) 以上では、透過パターン 1・3 に加え、透過パターン 2 も使うようになり、 N_{cpl} は、以前の理論計算でも示されたように [2]、1 以下になる。従来、生体内濃度での実験における $N_{\text{cpl}} = 1$ という結果の解釈は、イオンと水が必ず交互に透過することと考えられて来たが、本研究により、水とイオンの透過はそのようなタイトなカップリングではなく、透過パターン 1 を主に、透過パターン 2 と 3 を同程度使う結果であることが分かった。

さらに、生体内濃度以下では、中心空洞内のイオン濃度はバルクのイオン濃度よりも高く、中心空洞はイオンをその中に引きつける役割があることが分かった。つまり、イオンはその中から出て行きにくくなり、したがって、イオンが選択性フィルターに入る確率を高め、イオン透過を速くしている。 K^+ チャネルの電荷はバルクのイオン濃度には依存しないため、中心空洞がイオンを引きつける能力には限界がある。したがって、高濃度では、中心空洞内のイオン濃度はバルクのイオン濃度よりも低く、バルクのイオン濃度を高くしても中心空洞内のイオン濃度は上昇しなくなった。つまり、中心空洞内のイオン濃度は飽和し、それにともない、イオンの透過速度も飽和した。 K^+ チャネルでのイオンの透過速度は、バルクのイオン濃度の上昇にともない Michaelis-Menten 様の飽和を示すことが実験的に知られているが、本研究はこのようにその分子的機構を明らかにした。

[1] F. Khalili-Araghi, E. Tajkhorshid, and K. Schulten *Biophys. J.* **91**, L72 (2006).

[2] M. O. Jensen, D. W. Borhani, K. Lindorff-Larsen, P. Maragakis, V. Jogini, M. P. Eastwood, R. O. Dror, and D. E. Shaw *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **107**, 5833 (2010).

[3] S. Oiki, M. Iwamoto, and T. Sumikama *PLoS ONE* **6**, e16578 (2011).