

## 4P110

### KcsA カリウムチャンネルの金属イオン水和構造に関する密度汎関数計算

(三重大院工) ○三谷 昌輝・杉本 知美・吉岡 泰規

【序】カリウムチャンネルは、 $K^+$ イオンを細胞内から細胞外へ選択的に透過する。近年、放線菌由来の KcsA カリウムチャンネルについて  $K^+$ イオン濃度の異なる二種類の X 線構造 (PDB ID: 1K4C, 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外部に二箇所( $S0, S_{ext}$ )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、主に古典的な分子動力学計算やブラウン動力学計算により研究されている。

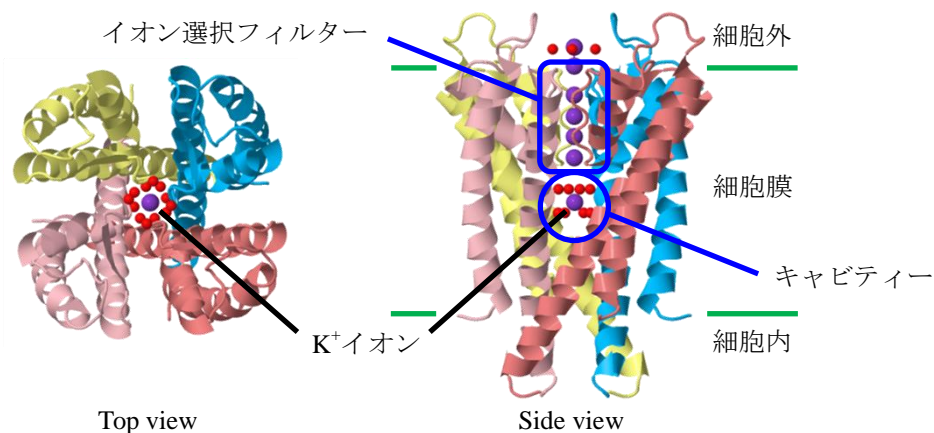


図 1. KcsA カリウムチャンネルの X 線構造 (PDB ID: 1K4C) [1]

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し、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(図 2)。金属イオンの選択はイオン選択フィルターの機能であると考えられているが、キャビティー中で水和した金属イオンがイオン選択フィルターへ侵入する際の脱水と過程もイオン選択性に寄与している可能性がある。したがって、イオン選択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、金属イオンの脱水過程を検討するための第一段階として、 $K^+$ イオン及び  $Na^+$ イオンに対してキャビティー内の  $S_{cav}$  サイトにおける可能な水和構造を密度汎関数計算により探索した。

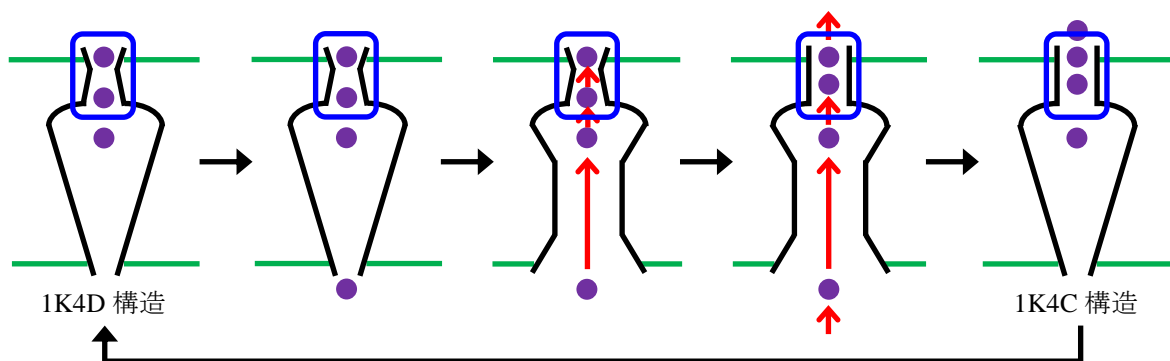


図 2.  $K^+$ イオンの透過における KcsA カリウムチャンネルの構造変化

【計算】 KcsA カリウムチャンネルは、4つのサブユニットから構成されている。キャビティーは (T74-T75, I100, F103-G104, T107)<sub>4</sub> のアミノ酸配列をもち、K<sup>+</sup>イオンの8水和構造がキャビティー内の S<sub>cav</sub> サイトを形成している。X線構造からキャビティーを構成するアミノ酸4量体を取り出し、水素原子で終端してモデル分子とした(図3)。

キャビティーのX線構造では K<sup>+</sup>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個の水分子を追加して計12個の水分子を考慮した。上側と下側の水分子はそれぞれ水分子間で水素結合すると仮定し、水素原子が T107 を向く配向(構造1)と F103 を向く配向(構造2)を検討した。

構造1と構造2のそれぞれについて、上下の水分子同士が形成する水素結合の方向が異なる、4通りの組合せを計算した(1a-1d, 2a-2d)。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。アミノ酸残基のペプチド結合を終端する水素原子(図3で空色の水素原子)の位置を固定し、他の全ての原子位置について構造最適化を実行した。

【結果】表に、得られている最適化構造について、金属イオンと上側及び下側にある水分子(W<sub>u</sub>, W<sub>l</sub>)の酸素原子との原子間距離及び相対エネルギー(E<sub>rel</sub>)と相互作用エネルギー(E<sub>int</sub>)を示す。

表. 各モデル分子に対する金属イオンと水分子の距離及び相対エネルギーと相互作用エネルギー

構造	K				Na			
	K-W <sub>u</sub> (Å)	K-W <sub>l</sub> (Å)	E <sub>rel</sub> (kcal/mol)	E <sub>int</sub> (kcal/mol)	Na-W <sub>u</sub> (Å)	Na-W <sub>l</sub> (Å)	E <sub>rel</sub> (kcal/mol)	E <sub>int</sub> (kcal/mol)
1a	3.340	2.912	0.0	-326.5	4.145	2.365	0.0	-342.5
1b	3.333	2.912	0.5	-326.0	4.165	2.369	0.4	-342.1
1c	3.333	2.905	0.9	-325.6	3.968	2.357	0.5	-342.0
1d	3.328	2.903	1.3	-325.2	4.064	2.370	1.0	-341.4
2a	3.286	2.988	20.8	-305.7	3.865	2.399	24.3	-318.2
2b	3.278	2.994	21.4	-305.1	3.865	2.405	25.0	-317.4
2c	3.281	2.984	21.6	-304.9	3.807	2.397	25.0	-317.4
2d	3.277	2.988	22.2	-304.3	3.834	2.405	25.8	-316.6

金属イオンと水分子の距離から、K<sup>+</sup>イオンは上側及び下側の水分子との8水和構造であり、Na<sup>+</sup>イオンは下側の水分子のみとの4水和構造であると考えられる。K<sup>+</sup>イオンと Na<sup>+</sup>イオンのどちらの場合も、構造1は構造2よりも20 kcal/mol程度安定である。この安定性の差には、I100とG104間の水素結合の有無が寄与していると考えられる。キャビティーにおける金属イオンの安定化は、8水和のK<sup>+</sup>イオンよりも4水和のNa<sup>+</sup>イオンの方が約15 kcal/mol大きい。

Na<sup>+</sup>イオンについては、よりイオン選択フィルターに近い位置に更にエネルギーの低い水和構造が存在しており、現在、構造最適化の途中である。発表当日は、X線構造との比較や水分子とアミノ酸及びアミノ酸同士間の水素結合等について、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).

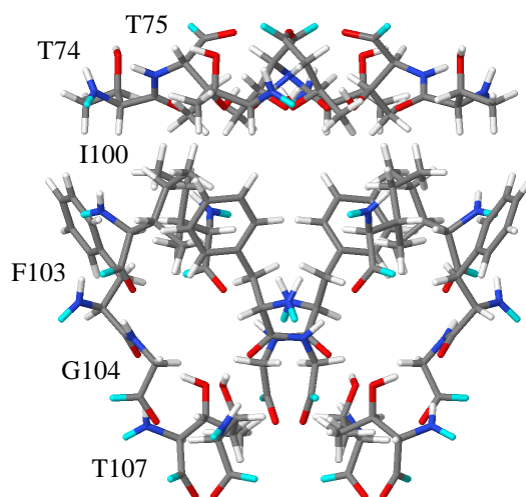


図3. KcsA カリウムチャンネルのキャビティーモデル