

2P131

密度汎関数計算による第2水和殻を考慮した
KcsA カリウムチャンネルの金属イオン水和構造の検討
(三重大院工) 伊藤 瑞紀, 三谷 昌輝, 吉岡 泰規
A Density Functional Study on Hydration Structures of Metal Ions
Including Second Hydration Shell in the KcsA Potassium Channel
(Mie Univ.) Mizuki Itoh, Masaki Mitani, Yasunori Yoshioka

【序】カリウムチャンネルは細胞膜の脂質二重層を貫通するタンパク質であり、金属イオンを透過する細孔を形成している。刺激に応じて閉状態及び開状態を切り替えることにより、イオン半径の大きい K^+ イオンを選択的に細胞内から細胞外へ透過し、イオン半径の小さい Na^+ イオンはほとんど透過しない。

近年、高 K^+ イオン濃度及び低 K^+ イオン濃度において、放線菌由来の KcsA カリウムチャンネルの X 線構造 (PDB ID: 1K4C, 1K4D) が報告された[1]。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、選択フィルター・キャビティー・ゲートの機能部位に

区分される(図1)。金属イオンはゲートからチャンネルに進入し、キャビティーを移動し、選択フィルターを通り抜ける(図2)。選択フィルターのアミノ酸配列はよく保存されており、金属イオンの選別は選択フィルターの機能であると考えられているが、キャビティーで水和した金属イオンは選択フィルター入口で脱水和されるため、キャビティーでの金属イオンの移動過程も選択性に寄与している可能性がある。

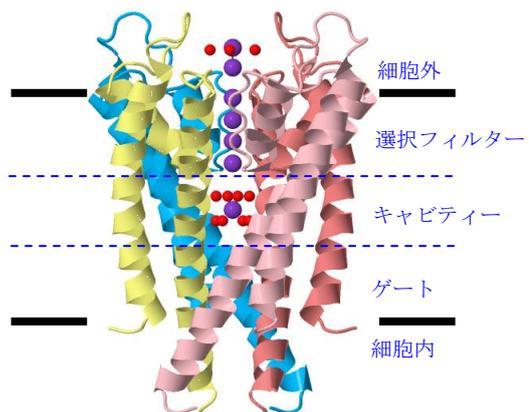


図1. KcsA カリウムチャンネルの X 線構造 (PDB ID: 1K4C) [1]

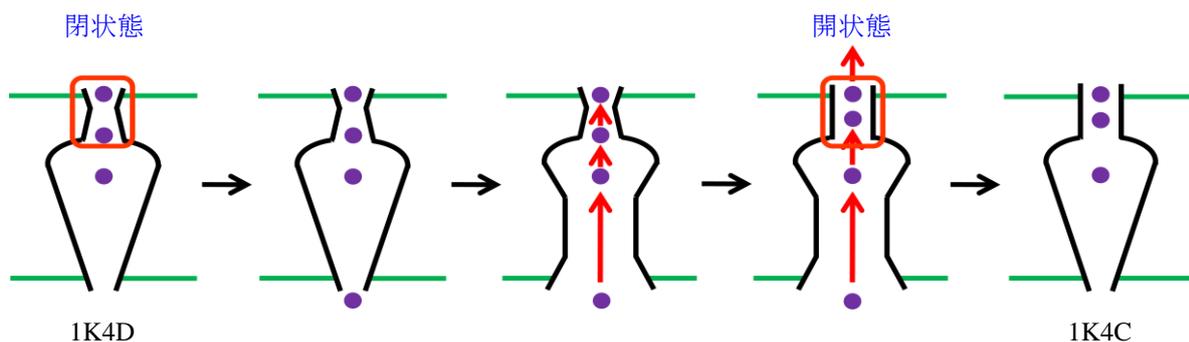


図2. K^+ イオンの透過に対する KcsA カリウムチャンネルの構造変化

1K4C 構造ではキャビティー内に8水和した K^+ イオンが観測されているが(図1)、水和構造の詳細は不明である。これまでに HF 計算により K^+ イオンと Na^+ イオンの水和構造が検討されており[2]、 K^+ イオンの安定位置はキャビティー中央にあるが、 Na^+ イオンの安定位置はキャビティー中央にないと結論している。しかしながら、1K4D 構造ではキャビティー中央に Na^+ イオンが観測されている。そこで本研究では、 K^+ イオン及び Na^+ イオンについて、DFT 計算により第2水和殻の水分子を考慮して、キャビティーでの安定な水和構造を探索した。

【計算】 1K4C 構造からキャビティを構成する T74, T75, I100, F103, G104, T107 の 4 量体を取り出し、水素原子を追加してキャビティのモデル分子とした(図 3)。

K^+ イオンの上側に観測された水分子(W1)は、T75 と直接水素結合できる位置にあるが、 K^+ イオンの下側に観測された水分子(W2)はチャンネルタンパク質と直接水素結合できる位置にない。そこで、第 2 水和殻として 4 個の水分子(W3)を追加し、安定な結合サイトを検討した。W3 の結合サイトとして、キャビティへ向いた OH 基または CO 基をもつ T107, F103, I100 が考えられ、W3 が水素結合した $W3 \cdots T107$, $W3 \cdots F103$, $W3 \cdots I100$ をモデル 1, 2, 3 とした(図 4)。

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 に水色で示した、ペプチド結合を終端する水素原子は、固定して構造最適化を実行した。

【結果と考察】 最初に、得られた水和構造の特徴について述べる。モデル 1-3 に共通して、W1 の 4 個の水分子は水素結合により環構造をとる。モデル 1 では、次の異なる 3 つの構造が可能である：①W2 と W3 の 8 個の水分子間で水素結合

して環構造を形成 ②W2 の 4 個の水分子間は水素結合せず、W3 の 4 個の水分子間で水素結合して環構造を形成 ③W2 及び W3 の 4 個の水分子間で水素結合して、それぞれ環構造を形成。モデル 2 及び 3 では、W2 と W3 の 8 個の水分子間で水素結合して、環構造を形成する。

次に、金属イオンの安定位置について述べる。モデル 1 及び 2 では、金属イオンが W2 の水分子よりも上側に位置する構造と下側に位置する構造の、2 箇所の安定位置が得られた。モデル 3 では、W2 と W3 の水分子が平面配置をとり、金属イオンはその中心に位置する。各水和構造において、 K^+ イオンと Na^+ イオンはともにキャビティの中央にある。

最後に、水和構造の相対安定性について述べる。③は最適化中であるが、モデル 1 の 3 つの構造について、 K^+ イオンでは③が最も安定であり、 Na^+ イオンでは②が最も安定である。各モデルの最安定構造に対する相対エネルギーを比較すると、 K^+ イオンはモデル 1 よりモデル 2 が約 25 kcal/mol 不安定で、モデル 3 が約 8 kcal/mol 不安定であり、 Na^+ イオンはモデル 1 よりモデル 2 が約 27 kcal/mol 不安定で、モデル 3 が約 1 kcal/mol 不安定である。したがって、W3 の結合サイトは T107 であると考えられる(図 5)。

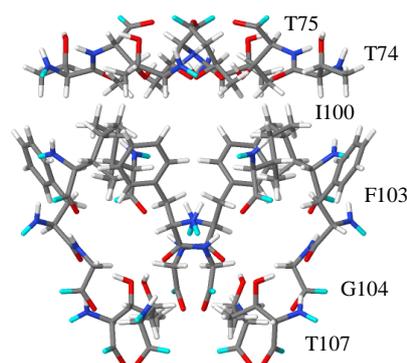


図 3. KcsA カリウムチャンネルのキャビティモデル

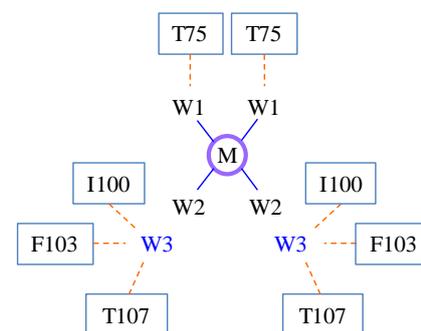


図 4. 金属イオンの水和構造モデル ($M = K^+, Na^+$)

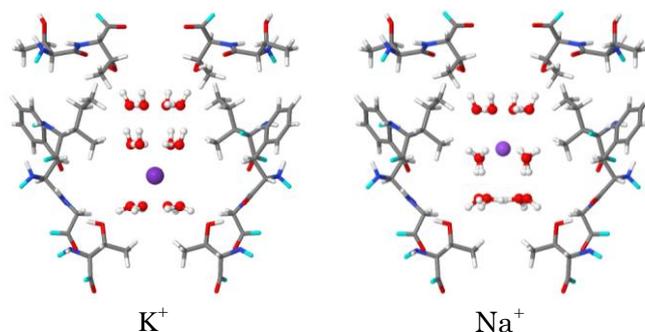


図 5. K^+ イオン及び Na^+ イオンに対する最安定の水和構造

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

[2] A. Kariev, M. E. Green, *J. Phys. Chem. B*, **112**, 1293–1298 (2008).