

課題名 (タイトル) :

## 電位依存性イオンチャネルの分子動力学シミュレーション

利用者氏名 :

○近藤 寛子\*

理研での所属研究室名 :

\*生命システム研究センター 生命モデリングコア 計算分子設計研究グループ

本課題の研究の背景、目的、関係するプロジェクトとの関係

## 1. 具体的な利用内容、計算方法

電位依存性カリウムチャネルは細胞膜の脱分極により活性化され、カリウムイオンを選択的に透過する。6個の膜貫通領域を持ち、1-4番目の膜貫通領域が電位センサー、5-6番目の膜貫通領域がポアの役割を担っている。イオン透過は複数のゲーティング機構により制御されていることが知られており、その一つがC型不活性化である。C型不活性化は主にポアドメインの中の選択性フィルタ(SF)の構造変化によるものであると考えられているが、詳細な分子機構については議論の余地がある。そこで、Kv1.2-2.1のキメラタンパク質の結晶構造を基に、野生型および素早い不活性化が見られる変異体タンパク質(W366F)について分子動力学(MD)シミュレーションを行い、不活性化機構の解明を試みた。シミュレーションにはポアドメインのみを用い、z軸方向に一樣な電場をかけた際のSF部分の電位依存的な構造変化を解析した。比較のために電場のかかっていないシミュレーションも行った。初期構造は結晶構造(PDB ID: 2R9R)をもとに作成し、POPE膜に埋めて水和させた。ソフトウェアはGROMACSを用いた。また、トラジェクトリの解析には、SFの主鎖の重原子または酸素原子のみでフィッティングを行った座標を用いた。更に、タンパク質構造とイオンの分布を調べるためにAMBERを用いて3D-RISMによる解析も行った。

## 2. 結果

W366F変異体のシミュレーションでは、電場の有無にかかわらずイオン透過がほとんど見られなかったが、SF内のイオン分布には違いが見られた。電場がかかっていない状態では3個のカリウ

ムイオンが入っているのに対して、電場がかかっている状態では2個のカリウムイオンが入った状態で安定していた。WTとW366F変異体のSF部分の主鎖構造に対して主成分分析を行った結果、イオンが透過しているときと透過していないときでSFの構造が異なっていることがわかった。第一主成分軸では、特にSFのバリン残基とグリシン残基に特徴的な変化が見られ、この変化により、W366F変異体ではWTと比べてSFの中心付近が狭まっていた(以下、不活性化状態とする)。不活性化状態のW366F変異体に対して逆方向の電圧をかけたところ、不活性化状態から回復し、イオンの透過が見られた。電位依存性カリウムチャネルに関する先行研究では、SF内の構造変化に加えて出口付近の構造変化も起こることが示唆されていることから、完全な不活性化状態ではない可能性もあるが、W366F変異体では電位依存的にSFの構造変化が起こり、SFが狭まることでイオンの透過が妨げられることが示唆された。さらに3D-RISMによる解析から、W366F変異体の不活性化状態の構造では、SFの細胞外側にカリウムイオンの分布が見られなかったことから、SFが狭まるような構造変化により細胞外側のカリウムイオンが拡散することが示唆された。

## 3. まとめ

電位依存性カリウムチャネルで見られるC型不活性化の分子機構を明らかにすることを目的として、野生型および変異体タンパク質のMDシミュレーションを行った。シミュレーションの結果から、W366F変異体では電位依存的にSFの構造が変化し、この構造変化によりイオンの透過が阻害されることが示唆された。

## 4. 今後の計画・展望

現時点では、SF付近の特徴的な構造変化を抽出

## 平成 29 年度 利用報告書

することができたが、この構造変化の電位依存性が何に起因しているかについては解明できていない。今後は構造変化に重要な相互作用や刺激のヒステリシスの分子機構の解明を目指す。

平成 29 年度 利用研究成果リスト

**【論文、学会報告・雑誌などの論文発表】**

1. Yukako Katsura\*, Hiroko X. Kondo, Janelle Ryan, Vincent Harley, and Yoko Satta  
"The evolutionary process of mammalian sex determination genes focusing on marsupial SRYs"  
BMC Evolutionary Biology 18:3, January 2018