

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(1)

理研における所属研究室名:

(1) 生命機能科学研究センター 計算分子設計研究グループ

1. 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

電位依存性カリウムチャネル(Kv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。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選択性フィルタ(SF)または細胞外側の構造変化によるものと考えられているが、詳細な分子機構については明らかになっていない。C型不活性化に関わる変異体として、Kv1.2のW366Fが知られており、W366F変異体では野生型と比べて素早い不活性化が見られる。そこで、Kv1.2の野生型(WT)およびW366F変異体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。更に、タンパク質構造とイオンの分布の相関を調べるために3D-RISMによる解析も行った。

2. 具体的な利用内容、計算方法

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。シミュレーションにはポアドメインのみを用いた。ソフトウェアはGROMACSを用い、z軸正方向に一律な電場をかけた。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。W366F変異体については逆向き(z軸負方向)に電場をかけたシミュレーションも行った。トラジェクトリの解析には、酸素原子でフィッティングを行った座標を用いた。3D-RISMによる解析については、ソフトウェアAMBERを用いてテスト計算を行った。

3. 結果

WTでは電場を印加するとイオン透過が見られたのに対し、W366F変異体ではイオン透過がほとんど見られなかった。WTとW366F変異体ではSF内のイオ

ン分布の違いが見られ、WTではSFに3個のカリウムイオンが入った3イオン状態、W366Fでは2イオン状態が多く観察された。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ところ、2つのトラジェクトリは第一主成分軸(PC1)でほぼ分かれた。W366F変異体では、イオンが透過しているときはWTに近い構造を取っているが、透過していないときはSFの構造が異なっていることがわかった。PC1では、特にSFのV375とG376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、逆方向のイオン透過が見られた。Kvチャネルの一種であるShakerチャネルに関するContiらによる先行研究では、SF内の構造変化に加えて細胞外側の出口が広がるような構造変化も観察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、SFの構造とイオン分布の相関が見られ、PC1方向の構造変化(SFが狭まるような構造変化)により2イオン状態が安定化され、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。

4. まとめ

Kv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、WTおよびW366F変異体のMDシミュレーションを行い、電場をかけた状態での動態を比較した。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特徴的な構造変化が起こり、SFが狭まることによりイオンの透過が阻害されることが示唆された。

5. 今後の計画・展望

本解析からタンパク質構造とイオン分布に相関があることはわかったが、これらは一方向の因果関係ではなく、どのように不活性化を引き起こすのか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ヒステリシスの分子機構の解明を目指す。さらに、イオン透過に変化が見られる他の変異体についても解析を行いたい。

平成 30 年度 利用研究成果リスト

【雑誌に受理された論文】

1. "Molecular mechanism of depolarization-dependent inactivation in W366F mutant of Kv1.2"

Hiroko X. Kondo, Norio Yoshida, Matsuyuki Shirota, and Kengo Kinoshita*

The Journal of Physical Chemistry B **122**, 10825–10833, November 2018

2. "Zn²⁺-binding to the voltage-gated proton channel Hv1/VSOP"

Masayo Iwaki, Kohei Takeshita, Hiroko X. Kondo, Kengo Kinoshita, Yasushi Okamura, Yu Takano, Atsushi Nakagawa, and Hideki Kandori*

The Journal of Physical Chemistry B **122**, 9076–9080, October 2018

【口頭発表】

1. 「電位依存性カリウムチャネル変異体の不活性化機構の解析」

近藤寛子

第 3 回イオンチャネル研究会, 福井, 2018 年 7 月

2. 「電位依存性カリウムチャネル変異体の電位依存的な不活性化機構の解析」

"Molecular dynamics study on the mechanism of voltage dependent inactivation in a mutant of the voltage-gated potassium channel"

○Hiroko X. Kondo, Matsuyuki Shirota, Yu Takano, Kengo Kinoshita

第 18 回日本蛋白質科学会年会 ワークショップ「蛋白質の分子内情報伝達機構研究の新展開」, 新潟, 2018 年 6 月

【ポスター発表】

1. "Molecular dynamics study on the mechanism of voltage dependent inactivation in a mutant of the voltage-gated potassium channel"

○Hiroko X. Kondo, Norio Yoshida, Matsuyuki Shirota, Yu Takano, Kengo Kinoshita

Asian Biophysics Association Symposium and Annual Meeting of the Australian Society for Biophysics, RMIT University, Melbourne, Australia, December 2018