

チャンネル蛋白質の1分子測定でみえる構造と機能：イオン透過とゲーティング

老木 成稔

福井大学・医・分子生理

蛋白質とはどんなものなのか。生物のハードウェアを成り立たせている蛋白質の構造と機能の関係を明らかにすることは生命科学の本質的課題である。私たちはこの課題を「機能する蛋白質の姿はどのようなものか」という観点からアプローチしたい。このとき蛋白質を1分子レベルで見るということに研究の焦点を絞る。多数の分子の平均像ではなく、1分子を観察することによって見えてくるものがある。そのようにしてみえてくる蛋白質のダイナミクスを統べる原理は、蛋白質の種類にかかわらず共通であろう。そうであるなら、数ある蛋白質の中でもチャンネル蛋白質を研究対象としたい。その理由は、チャンネルを対象とすることで、機能を1分子レベルで見ることができる（単一チャンネル電流記録）実験上の利点を利用できるからである。さらに、X線一分子計測法という構造変化を1分子で捉えられる新しい方法をチャンネル研究に適用することによって、「機能するチャンネル蛋白質の1分子ダイナミクスはどのようなものか」を捉えることを目標とする。

本講演ではチャンネルとはどのような蛋白質であるかについて概観し、チャンネルの構造機能1分子測定によって明らかになったイオン透過とゲーティングについてお話したい。

1. チャンネルとは何か

チャンネルは膜蛋白質の中でもその機能が比較的単純な分子である。脂質二重膜という絶縁物の中に埋められて、親水性イオン透過路を作る。これをポアと呼ぶ。イオンは、膜の両側に形成されたイオンの電気化学的勾配に従って、受動的にチャンネルポアを流れる。流束は109個/秒に達することも珍しくなく、しかも特定のイオンを選択する能力がある。たとえばカリウムチャンネルの場合、細胞外に高濃度の Na^+ が存在しても外向きの K^+ の流れを生み出す。 K^+ の選択性としては Na^+ の1000倍に達する。この選択性をもたらす構造を選択性フィルタとよぶ。チャンネルは、細胞内外の環境変化を感じるセンサーを介し、イオン流をオン・オフすることができる。これがポアに備えられたゲートであり、ゲートの開閉にかかわる構造変化をゲーティングと呼ぶ。チャンネルの本質的な機能はイオン透過とゲーティングであり、この両方の機能を電氣的測定により1分子レベルで見ることができる点がチャンネルを研究対象とする所以である。

2. イオン透過機構

イオン選択透過性はチャンネル分子特有の現象である。他のトランスポーターやポンプでのイオ

ン輸送が構造変化を伴うのに対し、チャンネルを介するイオン透過ではほぼ固定した構造のポア・選択性フィルタを受動的にイオンが透過する。このとき水分子の寄与がきわめて重要である。またイオン透過速度はトランスポータなどにくらべ圧倒的に速いにもかかわらず、きわめて高い選択性を示す。「速い透過性と高い選択性をどう両立しているか」、これがイオン選択透過性の最大の課題である。

イオン透過過程は、単一チャンネル電流として測定できるマクロなイオン流束やそのゆらぎ（開チャンネルノイズ）から分子動力学法でシミュレートできるイオンの微細な軌跡まで、ミリ秒からナノ秒までの広い時間軸にわたる現象である。この時間枠の中に埋め込まれた階層的なイオン透過過程の中で、中間領域の現象を実験的に捉える方法がなかった。このギャップを埋める方法として、私たちは流動電位という概念を見直し、流動電位測定法を開発した。さらに流動電位でえられる水 イオンカップル比について、イオン透過過程のサイクル流束というものに注目し、その理論的意義を検討した。これらについて解説したい。

3. ゲーティング機構

イオン透過がチャンネルに特有の現象であるのにくらべ、ゲーティングは蛋白質構造変化そのものであり、蛋白質に普遍的な現象である。単一チャンネル電流では電流の離散的なオンオフとして観察されるその裏には、どのような構造変化が起こっているのだろうか。チャンネルの立体構造が明らかにされたからと言って、ゲーティングにともなう構造変化、さらにどのような構造変化の経路を辿ってチャンネルが開閉するのか、明らかではなかった。

図は最近発表された KcsA チャンネル全長の立体構造である。私たちが研究を開始した当時は細胞質ドメインの構造が明らかでなかったので、表面プラズモン共鳴法を使ってその構造とダイナミクスを求めた。さらに私たちはゲーティングにおける構造変化の軌跡を辿るために X 線 1 分子計測 (Diffracted X-ray Tracking) 法を適用した。KcsA カリウムチャンネルがゲーティングに際し、チャンネル分子の長軸のまわりのねじれ構造変化を観察することに成功した。

研究会報告

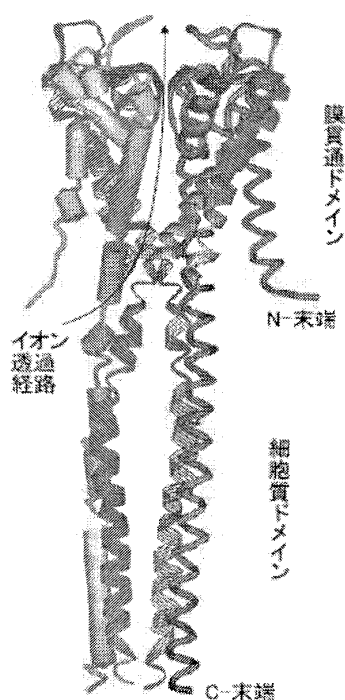


図 KcsA チャンネルの全体像。4 量体サブユニットを別の表示法で示す。PDB: 3eff.

チャンネル研究は今、急速に進展している。若い意欲ある人たちの参入を望みたい。

参考文献

1. Ando, H., M. Kuno, H. Shimizu, I. Muramatsu and S. Oiki: Coupled K⁺-Water Flux through the HERG Potassium Channel Measured by an Osmotic Pulse Method. *J. Gen. Physiol.* 126, 529-538, 2005.
2. Iwamoto, M., H. Shimizu, F. Inoue, T. Konno, Y. C. Sasaki and S. Oiki: Surface structure and its dynamic rearrangements of the KcsA Potassium channel upon gating and tetrabutylammonium blocking. *J. Biol. Chem.* 281: 28379-28386, 2006.
3. Shimizu, H., M. Iwamoto, T. Konno, A. Nihei, Y.C. Sasaki and S. Oiki: Global Twisting Motion of Single Molecular KcsA Potassium Channel Upon Gating. *Cell* 132: 67-78, 2008.
4. 老木成稔: K チャンネルの結晶構造に至る道: K 選択性透過を担うポア構造. *蛋白質核酸酵素*, 43, 1990-1997, 1998.
5. 老木成稔: 機能する K チャンネルが見える. *蛋白質核酸酵素*, 45, 1946-1959, 2000.
6. 老木 成稔、安藤博之、久野みゆき、清水啓史、岩本真幸: K チャンネルのイオン透過機構: 流動電位によるアプローチ. *生物物理* 48: 246-252, 2008
7. 老木 成稔: X線一分子追跡法により明らかになった KcsA カリウムチャンネルの開閉機構. 放射光、印刷中