

28K-pm03S

電位依存性カリウムイオンチャネルの膜電位感受機構の解明

○野崎 智裕¹, 小澤 新一郎¹, 原田 瞳¹, 木村 友美¹, 大澤 匡範¹, 嶋田 一夫¹
(¹東大院薬)

【背景・目的】電位依存性カリウムイオンチャネル(K_v)は、膜電位依存的に K^+ を選択的に透過することで活動電位を制御する膜タンパク質であり、神経伝達や筋収縮において重要な役割を担う。 K_v は、膜貫通領域に電位センサードメイン(VSD)とポアドメイン(PD)を有し、 K^+ 透過路はPD同士が組んだ4量体の中央に存在する。VSDはS1-S4の4本のhelixからなり、正電荷を持つアミノ酸残基を多数有するS4が、静止膜電位存在下では細胞内側に、脱分極時には細胞外側に移行して、PDの K^+ 透過路の開閉をアロステリックに制御すると考えられている。しかし、膜電位存在下の立体構造解析は困難であり、膜電位依存的な構造変化様式は不明である。そこで本研究では、様々な膜電位存在下のVSDの構造解析法を確立し、構造情報を取得することにより、 K_v の膜電位感受機構を解明することを目的とする。

【材料・方法】古細菌由来 $K_v(K_vAP)$ のVSDを大腸菌にて発現・精製した。タンパク質の立体構造上でCysのSH基同士が近接するとS-S結合が形成される。そこで、S1とS4のそれぞれに1残基ずつCysを導入した36種類の変異体を調製した上でリポソームに再構成し、リポソーム内外の K^+ 濃度差を利用して膜電位を形成した際の分子内S-S結合の形成効率を、遊離のSH基の化学修飾により定量化した。また、形成された膜電位の大きさを膜電位感受性蛍光色素によって調べた。

【結果・考察】膜電位形成時に分子内S-S結合形成効率が増大するCys残基対を3組、減少する残基対を1組同定した。この結果より、脱分極時には報告されている結晶構造と同様の構造をとるものの、静止膜電位存在下ではS4がhelix軸に沿って細胞内側に11~17Å並進して軸周りに約60°回転した構造を形成することが示唆された。