●特集 : 人工膜と生体膜の接点をさぐる

生体膜のイオンチャネルの構造と機能

高 桑 雄 一

東京女子医科大学 生化学教室 ☎ 186 東京都新宿区河田町 8-1

Structure and Function of Ion Channels

Yuichi Takakuwa, M. D., Ph. D.

Department of Biochemistry Tokyo Women's Medical College
8-1 Kawada-cho, Shinjyuku-ku, Tokyo 162, Japan

The hydrophobic environment of the lipid membrane bilayer is virtually impermeable to ions in aqueous solution. Protein channels permit the rapid flux of ions across membranes. Ion channels have a common structural motif, the transmembrane α -helix. In its most energetically favorable form the protein must be configured such that its most hydrophilic residues point toward the aqueous channel and its hydrophobic residues face the lipid bilayer. Voltage-gated ion channel for Na^+ is constructed from a single large polypeptide chain. The polypeptide includes four internally homologous domains I-IV, each containing six hydrophobic membrane-spanning regions, S1-S6, that probably correspond to α -helices. These four interconnected domains are thought to arrange as a tetramer surrounding the voltage-gated ion channel. S4 is thought to function as the actual voltage sensor of depolarization that causes a conformational change to open the channel pore. A small pore size and the biochemistry of the pore lining conspire to determine the ion selectivity of a particular type of channel.

Key words : ion channel, α -helix, Na^+ channel, voltage sensor, ion selectivity

1. はじめに

生体内ではイオンは一般に水和している。例えば、 Na^+ 、 K^+ などの陽イオンは水分子の酸素原子と静電的に結合し、周囲に水の殻を持った状態となり、サイズも大きくなる。これらの水和イオンは脂質二重層を基本構造とする疎水性環境の細胞膜を単純には透過できない (Fig. 1)。しかるに細胞内外のイオン組成および濃度には大きな差がある。例えば、 Na^+ 濃度は細胞内より細胞外で高く、 K^+ はその逆である。また、 Ca^{2+} にい

たっては、細胞内 (10^{-7} M) は細胞外 (10^{-3} M) の1万分の1に低く保たれている。これらの濃度勾配は膜を貫通している種々のイオンポンプ (ATPase) によるイオンの能動輸送によって維持されており、その結果、膜を挟んで電気化学ポテンシャル electrochemical potential が生ずる (Fig. 2)。細胞膜にはそれぞれのイオンに特有のチャネルがあり、それぞれのイオンの作る電気化学ポテンシャルを駆動力として、高濃度側から低濃度側へ受動的にイオンを通過させることができる。これらのイオンチャネルは静止状態では閉

じており、刺激によって開きイオンを速やかに透過させる装置とみなせる。したがって、生体内でこのイオン電流は、一般的に細胞外からの刺激や情報を細胞内に伝える有効な手段となり、神経や筋肉では電氣的興奮を惹起する。また、細胞内の Ca^{2+} 増加は二次伝達物質として様々な生理機能を引き出す。

この総説では、生体膜におけるイオンチャネルの構造とイオン透過機構について、主に Na^+ チャネルを例に解説し、人工膜に再現可能であるか否かを含めて人工膜との接点をさぐることにする。なお、イオンチャネルの構造とイオン透過機構に関する他の成書も参照されたい^{1~5)}。

Fig. 1 Permeability of molecules across the biological membranes.

2. イオンチャネルの構造

脂質二重層を基本構造とする生体膜の内部は疎水性環境となっている。イオンチャネルの実体は膜貫通蛋白であり、イオンを透過させるチャネル内面は親水性で、脂質と接する外面は疎水性でなければならない。一般に、蛋白はアミノ酸がペプチド結合により連結したポリペプチドで、 $\text{C}=\text{O}^-$ 、 $\text{N}-\text{H}^+$ 部分は親水性であり、各アミノ酸 (20 種類) の側鎖には疎水性のもの (ロイシン Leu など) もあるが、親水性のもの (セリン Ser など) もある。したがってポリペプチド鎖を単にまっすぐ伸ばした場合は、疎水性の環境には存在できない (Fig. 3)。しかし、膜貫通蛋白は α -helix 構造をとっており、 $\text{C}=\text{O}^-$ 、 $\text{N}-\text{H}^+$ 間には水素結合が生じ、この部分の親水性は失われている (Fig. 4)。実験的に親水性側鎖をもつセリンと、疎水性側鎖をもつロイシンの合成ペプチドからなる α -helix を用いた場合、6 つの α -helix が集まり、内面に親水性のセリンからなる孔を形成し、膜脂質と接する外面に疎水性のロイシンが配置することによって脂質二重層を貫いて存在できる (Fig. 5)。生体における実際のイオンチャネルもいくつかの α -helix が集まっており、イオンが通過する内面の孔 (チャネル) は親水性アミノ酸で構成されている。複数のポリペプチド鎖の α -helix からなる場合 (アセチルコリン受容体など) と、1 本

Fig. 2 Passive and active transports across the biological membranes.

のポリペプチド鎖が複数の α -helix をもつ場合 (Na^+ チャネルなど) がある。本総説では、 Na^+ チャネルを例にアミノ酸配列、センサー、フィルター、ゲート機構について説明する。

3. Na^+ チャネルの構造

1984年、沼らによって、遺伝子組み換え技術を用いて、電気ウナギ発電器官の Na^+ チャネルの1820のアミノ酸配列が明らかになった⁶⁾。この二次構造について5つの構造上の特徴が挙げら

れる (Fig. 6)⁷⁾。第1は、分子内に相同性の高い4つの繰り返し構造 (ドメイン1~4) をもつことであり、第2は、各ドメインが6つのセグメント (S1~S6) に分けられることである。それぞれのセグメントは約20の疎水性アミノ酸に富む α -helix 構造をとり、脂質二重層を貫通している。 α -helix におけるアミノ酸1残基の長軸方向の長さは平均0.15 nmであり、20アミノ酸で生体膜の厚さ (約3 nm) に相当する。第3は、S2には正と負の、S1とS3には負の電荷が存在し、親水性のイオン通過孔を形成すると考えられる。

Fig. 3 Structure of a peptide chain in the aqueous phase.

Fig. 4 Structure of α -helix in the lipid phase.

Fig. 5 Prototypical ion channel constructed experimentally from transmembrane α -helical domain.

- A. a peptide containing only serine and leucine residues.
- B. formation of an ion channel by α -helices.
- C. a view through the channel. (from Text book¹⁾)

Fig. 6 Model for the secondary structure of voltage sensitive Na^+ channel. (from Review⁷⁾)

Fig. 7 Model for the channel-forming polypeptides.

A. schematic view.

B. a view through the channel.

第4に、S4は構成アミノ酸の1/3が正電荷をもつアルギニン Arg やリジン Lys で占められ、これらが3残基毎に規則正しく配置されている。ゲート機構に関連すると予想されている(後述)。第5に、S5とS6は完全な疎水性の α -helixでチャンネル外周に位置する。結局、これら6つのセグメントからなる束(ドメイン)が4つ集まって、中心にひとつのチャンネルが形成され、その内面は4つのS2からなっている(Fig. 7)。このような基本構造は、他の電位依存性イオンチャンネル

(Ca^{2+} チャンネルや K^+ チャンネル) にも存在することから、これらは共通の原型遺伝子に由来していると推定される。

4. イオン透過機構

イオンチャンネルを介するイオン輸送は、細胞膜内外のイオン濃度差によって生ずる電気化学ポテンシャルに従う受動輸送である。したがって、イオンチャンネルにはその特性を規定する3つの要素

がある。すなわち、チャネルの開閉状態を作り出すゲート、透過するイオンの選択性、イオンの通りやすさを規定するチャネル内部のポテンシャルエネルギー場が重要である。

4.1 ゲート機構

チャネルの開閉はチャネル蛋白の高次構造の変化によるゲート機構で説明される。刺激としては、電気的興奮と化学的興奮があり、 Na^+ チャネルなどの電位作働性チャネルは、脱分極によりゲートが開く。静止状態では細胞内が負電位であり、S

Fig. 8 Model for the action of the S4 region voltage sensor.

- A. amino acid sequence of the S4 helix.
- B. axial and outward rotation of the S4 helix on depolarization.
- C. conformational change of four domains to open the channel pore.

4 セグメントの3つおきに並ぶ6個の正電荷は、隣接する他のセグメントの負電荷とつり合っているが、脱分極によって細胞膜外側の電位が負になると、電気的な力でこれら正電荷は外側に引っ張られる。その結果、S4の α -helixは60度ねじれる小さな変化でイオン対が1個ずれ、全体として膜の内側から外側へ正電荷が1個移動したことになる。この構造変化が4つのドメインのS4すべてに起こってはじめてイオン透過孔が開く (Fig. 8)。 Na^+ チャネルの不活性化はこの逆過程であるが、実際には予想されるより遥かに速やかに不活性化されることから、不活性化ゲートが別に存在すると考えられている。ドメイン3と4を結ぶ短い細胞質部分の関与が強く示唆されているが、明確なモデルはまだない。

4.2 イオン選択機構

それぞれのイオンチャネルは特定のイオンを選択的に透過させるフィルターの役割を果たしている。例えば Na^+ チャネルは Na^+ のみを透過させ、 K^+ や Ca^{2+} など他のイオンはほとんど透過できない。この選択性はチャネル孔径とイオン（水和イオン）サイズの大小関係で説明できる例もある。例えば、 Na^+ チャネルの最小孔径より大きな径をもつ Ca^{2+} は Na^+ チャネルを透過できない。しかし、大きさの比較のみでは Na^+ チャネルの最小孔径より小さな径の K^+ が Na^+ チャネルを透過できない理由を説明できない。したがって、イオン選択機構はチャネル孔を構成するアミノ酸の立体配置、電荷、電場とイオンの相互作用と考

Fig. 9 Model of a selectivity filter in the Na^+ channel.

- A. Na^+ movement at a proposed narrowing along the channel wall.
- B. diagram of energy barrier at the inlet.

Fig. 10 Expression of ion channel in a *Xenopus* oocyte.

えるべきである。

Na^+ が Na^+ チャネルのフィルター部を通過する過程と、それに対応するエネルギー障壁のダイアグラムが提唱されている (Fig. 9). フィルター部分は少なくとも1個のカルボキシル基と複数個の酸素原子 (セリンなど) で構成され、 Na^+ はカルボキシル基の電場の強い脱分極時に水和イオンとして透過する。この際、最大エネルギー障壁 (Fig. 9 B の3の位置) を超えることになる。 K^+ はカルボキシル基と相互作用する距離が Na^+ に比べてイオン半径の差 (0.38 Å) だけ遠いため、最大エネルギー障壁はより高くなり、選択性はより低くなる。また、チャネル内部にポテンシャルエネルギー場があることによって、チャネル全体の電位に勾配が生じ、順次エネルギー障壁を超えイオン透過の方向性が決定されると考えられている。

以上、生体膜 Na^+ チャネルについて解説したが、構造と機能の詳細については不明の点が少なくない。近年の特筆すべき遺伝子技術の進歩として、 Na^+ チャネル mRNA をアフリカツメガエル卵母細胞に注入して発現させ、膜電位固定法などで Na^+ チャネルの機能を測定できるようになったことが挙げられる (Fig. 10). この方法を応用し、遺伝子の特定部位を変異させた Na^+ チャネルの機能を調べるにより、センサー、ゲート、フィルターなどの機構とそれらの機能を担うドメインの関係の詳細な解明が期待される。

5. おわりに

生体膜におけるイオンチャネルは蛋白分子から成り、内部には透過イオン種を選択するフィルター部とチャネルの開閉を司るゲート機構が備わっている。上記の条件を満たす輸送システムを人工膜に作成することが可能であろうか。その場合、どのような素材の人工膜にどのような素材のチャネルを組み込む必要があるだろうか。生体膜イオンチャネルの仕組みの解明は、種々の目的の人工膜イオンチャネルの作成に有益な情報をもたらすと思われる。一方、種々の人工膜イオンチャネルの透過性の検討は、生体膜におけるイオン輸送の機構解明と理論解析に役立つと思われる。

文 献

- 1) S. R. Goodman, "Medical Cell Biology", J. B. Lippincott Company, Philadelphia (1994)
- 2) 二井将光, "生体膜工学", 丸善, 東京 (1991)
- 3) A. L. Lehninger, "Principle of Biochemistry", Worth Publishers, New York (1993)
- 4) 本郷理憲, 広重 力, 豊田順一, 熊田 衛, "標準生理学", 医学書院, 東京 (1990)
- 5) 宇井理生, 香川靖雄, 春日雅人, 野澤義則, "生体膜—新しい膜学への招待", 講談社, 東京 (1995)
- 6) M. Noda, T. Shimizu, T. Tanabe et.al. *Nature*, **312**, 121 (1984)
- 7) W. A. Catterall *Physiol. Rev.* **72**, S15-48 (1992)

(受付 1995年9月25日)