脂質二分子膜につくられるアラメチシン・イオンチャンネル

浅見耕司¹⁾・岡崎 敬¹⁾・永井康晃¹⁾・長岡康夫²⁾

¹⁾京都大学化学研究所 ☎ 611-0011 宇治市五ヶ庄

²⁾京都大学大学院薬学研究科 ☎ 606-8501 京都市左京区下阿達町 46-29

アラメチシンは脂質二分子膜にイオンチャンネルを形成する抗菌性ペプチドである。このペプチドは20残基からなり、 α 炭素にメチル基が二つ付いた異常アミノ酸 (α -aminoisobutyric acid) を多く含むため、ヘリックスをとりやすい構造となっている。脂質二分子膜の中では、ヘリックスが束ねられたヘリックス-バンドル形のチャンネルをつくると考えられている。このアラメチシンは次のような理由から、チャンネルの構造と機能の相関を研究するための良いモデルを提供する。(1) ヘリックス-バンドル構造は、生体イオン・チャンネルの透過孔部分に見られる構造と似ている。(2) 低分子量であるため、ペプチド合成が比較的容易であり、また、分子動力学を用いた分子モデルの検討が可能である。

ここでは、アラメチシン・チャンネルを用いて、イオン透過孔の入口や中心部分にある固定電荷がイオンの透過にどのような影響を与えるのか調べた。アラメチシン・チャンネルでは、7番目のグルタミン (Q^7) と18番目のグルタミン酸 (E^{18}) がイオンの透過孔に面して環状に並ぶ (Fig. 1)。このため、イオンの透過はこの2つの親水性のアミノ酸残基によって大きく影響を受けることになる。そこで、グルタミンをグルタミン酸に置換、あるいは、その逆の置換したペプチドを合成し、

そのイオンチャンネルの性質を調べた。

用いたペプチドは7番目にグルタミン、18番目にグルタミン酸をもつアラメチシン (Q^7E^{18} と名付ける)、18番目をグルタミンで置換したペプチド (Q^7Q^{18})、7と18番目の両方にグルタミン酸をもつペプチド (E^7E^{18}) の3種類。これらのペプチドについて、平面脂質二分子膜を用いて単一チャンネル電流の測定を行った。ここでの主目的はグルタミン酸の解離状態とイオン透過の関係を調べることであるので、電解質溶液のpHを変えて測定した。アラメチシン・イオンチャンネルの特徴の1つは、複数のレベルのコンダクタンスを示すことである。各コンダクタンス・レベルはペプチドの会合数が異なるチャンネルに対応する。レベル2のチャンネル (5または6量体) について、コンダクタンスと電解質水溶液のpHとの関係を Fig. 2 に示す。電解質溶液のpHを上げて、グルタミン酸の解離を進めると、コンダクタンスが増加する。特に、チャンネル中央付近にある7番目のグルタミン酸の影響が大きい。

この測定結果を考察するために、イオン透過のシミュレーションを行った。計算の方針は、(1) はじめにイオンの透過に対する、チャンネル内のポテンシャル・エネルギーのプロファイルを求め、(2) 次にこのプロファイルを用いて、チャンネル電流と電圧の関係を計算する¹⁾。ポテンシャル・エネルギーのプロファイルの計算には、マクロスコピックな連続体モデルを採用した。ペプチドと脂質二分子膜の誘電率を2、孔と両側の電解質の誘電率を80として、ペプチドヘリックスの

Alamethicin ion-channels formed in bilayer lipid membranes

Koji Asami¹⁾, Takashi Okazaki¹⁾, Yasuaki Nagai¹⁾ and Yasuo Nagaoka²⁾

¹⁾Inst. Chem. Res., Kyoto Univ., Uji, Kyoto 611-0011

²⁾Graduate School of Pharmaceutical Science, Kyoto Univ., Sakyo-ku, Kyoto 606-8501

Fig. 1 A model of alamethicin ion-channels

Fig. 3 Potential energy profiles for a permeating cation calculated along a central pathway through the pore of a hexameric helix bundle.

双極子モーメントと解離基の固定電荷を置く。チャンネルの入り口付近まで電解質で満たされているとして、可動イオンの分布による静電シールドの効果を考慮した。このような系について、finite-difference Poisson-Boltzmann 法でポテンシャル計算を行い、イオンをチャンネル内に持ち込む際の“desolvation”エネルギー（自己エネルギー差）とチャンネル壁にある固定電荷や双極子と透過イオンの相互作用によるエネルギーを求めた。これらの足し合せがイオン透過に対するポテンシャル・エネルギーとなる。ここでは、アラメチシン・チャンネルが6量体のヘリックスからなる場合に、Tieleman ら²⁾が分子動力学で求めた孔の形状を用いて計算を行った。Fig. 3は一価カチオンの透過に対するポテンシャル・エネルギー

Fig. 2 pH dependence of ion-channel conductance for alamethicin (Q^7E^{18}) and its analogs (Q^7Q^{18} and E^7E^{18}).

ーの計算結果を示している。 Q^7E^{18} では18番目のグルタミン酸がチャンネル全体で1個だけ解離しているとして、また E^7E^{18} では7番目と18番目のグルタミン酸がそれぞれ1個ずつ解離しているとして計算した。このポテンシャル・エネルギーを用いて、Nernst-Planck 式で電流と電圧の関係を計算すると、pH6付近の測定結果と良く一致した。このことは、7番目や18番目の位置にあるグルタミン酸の環の中では、解離しているグルタミン酸は(pH6付近で) 高々1個程度であることを示唆している。これは解離した基が周りのグルタミン酸に対して静電的に作用し、その解離を押さえるためと考えられる。

チャンネルの分子構造から透過イオンの流速を計算する試みが多くなされているが、計算方法については議論のあるところである³⁾。ここに示したアラメチシンの分子構造とイオン透過に関する研究は、これらの議論をする際に必要な基礎データを提供することができる。

文 献

- 1) G. R. Dickmann, J. D. Lear, Q. Zhong, M. L. Klein, W. F. DeGrad and K. A. Sharp : *Biophysical J.* **76**, 618 (1999)
- 2) D. P. Tieleman, H. J. C. Berendsen, and M. S. P. Sansom : *Biophysical J.* **76**, 1757 (1999)
- 3) D. G. Levitt : *J. Gen. Physiol.* **113**, 789 (1999)