

課題名 (タイトル) :

分子動力学法を用いたプレ B 細胞レセプター non-Ig 領域の相互作用の解析

利用者氏名 : 藤本 浩文

所属 : 和光研究所 基幹研究所 先端計算科学研究領域
システム計算生物学研究グループ高速分子シミュレーション研究チーム

1. 本課題の研究の背景、目的

一般的に細胞表面に発現される様々なレセプターは特異的リガンドと結合し、それが引き金となって細胞内へシグナルが伝達される。しかし、B リンパ球前駆細胞であるプレ B 細胞では、特異的リガンドを必要とせず、細胞表面に発現するプレ B 細胞レセプター (preBCR) 同士の架橋による自己活性化 (autonomous self-crosslinking) によって増殖が促されるという説が有力である。preBCR の自己架橋には μ H 鎖に結合する代替 L 鎖 (VpreB、および $\lambda 5$) の非免疫グロブリン (non-Ig) 領域が重要な役割を果たしていると推察されているが、結晶構造解析ではその構造は決められず、実際にレセプター同士がどのように相互作用しているかに関しては推測の域を出ない。本課題では、分子動力学 (MD) 法等の計算化学的手法を用いて preBCR の non-Ig 領域の挙動を解析し、上記仮説を検証することを目的に研究を行っている。

2. 具体的な利用内容、計算方法

マウス preBCR では、 $\lambda 5$ の non-Ig 領域を欠損させた突然変異体、もしくは、同領域中の塩基性アミノ酸を中性アミノ酸に置換した突然変異体では preBCR 同士が凝集しなくなると報告されているが、マウス preBCR の分子構造は明らかにされていない。そこでまず、既報のヒト preBCR の結晶構造 (PDB ID: 2H32) を元にマウス preBCR の Ig 領域のモデリングを行った。これまでのシミュレーションの結果から、non-Ig 領域は単独では溶液中で特定の分子構造を取らないと予測されている。そこで次に、作成したマウス preBCR の Ig 領域における VpreB、C 末端側、および $\lambda 5$ 、N 末端側に、non-Ig 領域のアミノ酸をそれぞれ付加し、これをマウス preBCR の分子モデルとした。さらに、野生型の分子モデルに加え、シミュレーション結果を検証するために実験で用いられたアミノ酸置換変異体と同じ変異型の分子モデルも作成した。

昨年度は、preBCR 分子同士の相互作用を解析するために、野生型、および変異型のマウス preBCR を 2 分子並べたものを初期配置とし、MD シミュレーションを行った。計算は RICC システム Linux クラスタを用い、MD シミュレーションには AMBER8 および AMBER9 を用いた。また明示的に水分子を加えた大規模な系に対しシミュレーションを効率よく実行するために理研 GSC 高速分子シミュレーション研究チームが開発した分子動力学シミュレーション専用アクセラレータ MDGRAPE-3 を用いた。昨年度は 2 例の初期配置について計算を行ったが、non-Ig 領域同士の相互作用は確認されなかった。

本年度は、2 分子の相対位置を変化させた初期配置を複数作成し、それぞれに対し数ナノ秒のオーダーで MD シミュレーションを行った。その結果、2 分子の Ig 領域同士が野生型同士で 20 Å 程度、変異型同士で 30 Å まで接近する場合があったものの、いずれの場合においても non-Ig 領域の相互作用は観察されず、また、野生型と変異型の差異も検出されなかった (図 1)。また、Ig 領域に付加する non-Ig 領域の初期構造を変化させた分子モデルに対しても同様にシミュレーションを行ったが、non-Ig 領域同士の相互作用は観察されなかった。

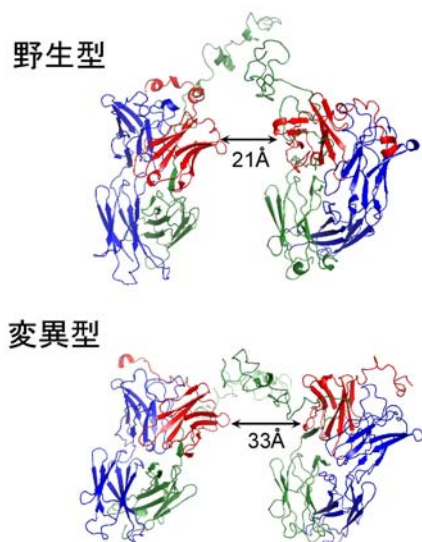


図1・マウス preBCR 分子間の距離が最も接近した場合

3. 今後の計画・展望

野生型と変異型で preBCR 同士の凝集に差が観察されるためには、2分子の VpreB および $\lambda 5$ の non-Ig 領域が相互作用するような初期配置を検索する必要がある。これまでの結果から、そのような相互作用が観察されるまでにはさらに長時間、少なくとも数十ナノ秒程度のシミュレーションを大量に行う必要があると予想されるが、これまでの手法では系が大きすぎ実用的ではない。水溶液中のシミュレーションでは Ig 領域の構造はほとんど変化しない。そこで次年度は、non-Ig 領域のみを用いてシミュレーションを行い、相互作用の有無を観察する予定である。

4. 利用研究成果が無かった場合の理由

本年度は既報の実験結果を反映する有効な結果が得られなかったため、成果を発表する事ができなかった。