

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

理研での所属研究室名 :

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と目的

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することで細胞内へシグナルを伝達する。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) 同士の間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つい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

preBCR における non-Ig 領域の機能解析は主にマウスの preBCR を用いた実験でおこなわれているが、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い、VpreB の C 末端側、および $\lambda 5$ の N 末端側に、non-Ig 領域のアミノ酸をそれぞれ付加した分子モデルを構築した。この分子モデルに対し MD シミュレーションをおこなうと、non-Ig 領域は単独では特定の分子構造をとらないことが判明した。次に preBCR 2 分子を non-Ig 領域が向き合うよう配置したモデルを作成し、preBCR 分子同士の相互作用の解析を行った。

原子数 10 万を超える大規模な系に対し、ナノ秒レベルのシミュレーションを複数回繰り返すためには高速な計算システムが不可欠である。計算は RICC の Linux クラスタシステムを用い、MD シミュレーションには

AMBER9 および AMBER11 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効率よくシミュレーションを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。

3. 結果

昨年度から引き続き 2 つの preBCR 分子の相対位置を変化させたモデルを作成し、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うことで non-Ig 領域同士が相互作用する配置の検索を行っている。

本年度は 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を新たに 40 種類設計し、うち 21 サンプルについて 2 ナノ秒間の MD シミュレーションを実行した。その結果 21 サンプル中 1 サンプルにおいて、 $\lambda 5$ の non-Ig 領域同士で β シート構造が形成された。シミュレーション時間を延長するとこの β シート構造は 10 ナノ秒間維持され、両分子が比較的安定した状態で結合することが確認された (図 1(a))。

マウス preBCR において $\lambda 5$ の non-Ig 領域中 7 箇所のアミノ酸残基をセリンに置換した突然変異体では preBCR 同士が凝集しなくなることが報告されている。そこで、今回得られた構造が既報の実験結果を反映しているか確認するために、報告と同じ部位のアミノ酸残基をセリン置換した変異型 preBCR モデルを作成し、同様に MD シミュレーションを実行したところ、10 ナノ秒後には野生型とは異なる部位で β シート構造が観察された (図 1(b))。変異型、野生型両モデルにおいて non-Ig 領域同士の結合エネルギーを比較したところ、野生型と変異型では大きな差異は検出されなかった (図 1(c))。

従って、今回得られた構造はマウス preBCR 同士が相互作用する 1 形態である可能性はあるが、実験的手法を用いて確認された相互作用のモデルとはなりにく

いと考えられる。

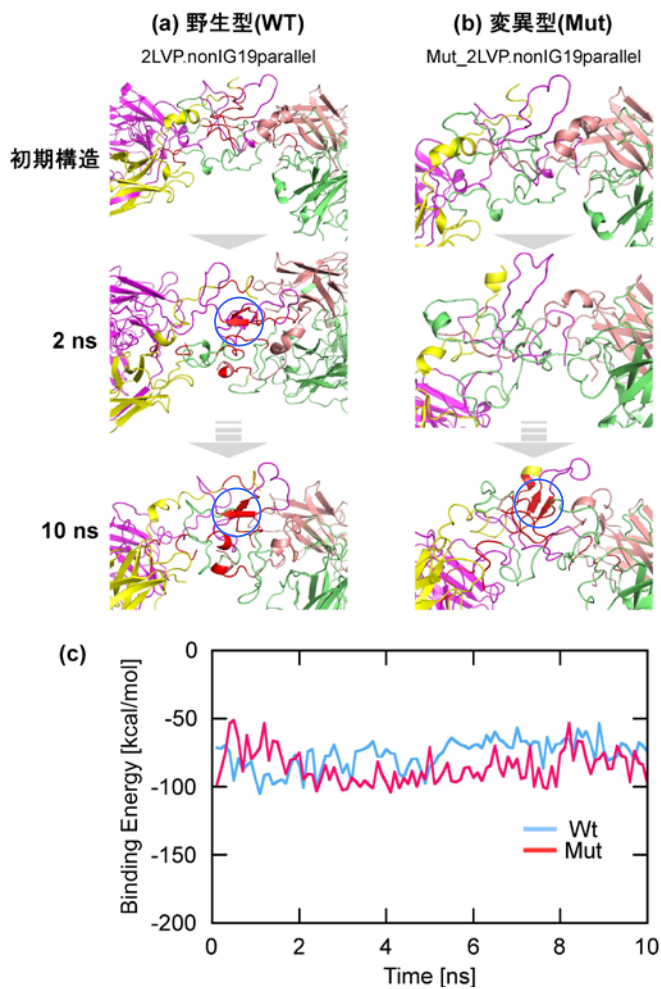


図1・マウス preBCR 間の相互作用 (a) 野生型, (b) $\lambda 5$, non-Ig 領域中 7 箇所 の Arg を Ser に置換した突然変異型, (c) 野生型 (Wt), 変異型 (Mut) における non-Ig 領域同士の推定結合エネルギーの推移。(a) 及び (b) において、青丸で示した箇所に β シート構造が観察された。

4. 今後の計画・展望

今回の一連の手法により、既報の実験結果を反映する有効な分子モデルを構築できる可能性が示唆された。次年度以降サンプル量を増やすことで引き続き preBCR 同士の相互作用モデルの検索を行いたいと考えている。

5. 利用研究成果が無かった場合の理由

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。