

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 : 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、関係するプロジェクトとの関係

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  $\mu$ 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) シミュレーション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。そこで、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。preBCR 分子同士の相互作用を解析するために、この分子モデル 2 分子を non-Ig 領域が向き合うよう配置し、2~10 ナノ秒の MD シミュレーションを行った。

原子数 10 万を超える大規模な系に対し、10 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 も併用した。

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 も併用した。

### 3. 結果

VpreB、および  $\lambda$ 5 の non-Ig 領域を変化させた数十種類の分子モデルを設計し、MD シミュレーションを実効する過程を繰り返した。その結果、昨年度までに野生型 preBCR 分子同士が比較的安定した状態で結合するモデルを得ることができた。

次に、実験結果と比較する事でこれらのモデルの妥当性を検証した。マウス preBCR において  $\lambda$ 5 の non-Ig 領域中 7 箇所のアルギニン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、報告と同じ部位のアミノ酸を置換した変異型 preBCR モデルに対し 10 ナノ秒間 MD シミュレーションを行い、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(b))。

また昨年、VpreB の non-Ig 領域を欠損させると preBCR 同士の結合力が野生型より増強される現象が報告された (Knoll M. *et al. J Immunol* (2012), **188**, 6010)。

そこで、VpreB の non-Ig 領域を含まない分子モデルも複数設計し、5 ナノ秒間 MD シミュレーションを実行したところ、残った  $\lambda$ 5 の non-Ig 領域同士が絡み合い両分子が接近する様子が観察されたが (図 1(a))、5 ナノ秒間の non-Ig 領域間の結合エネルギーは、野生型における結合エネルギーと大きな差異はなく、実験報告にあるような結合力の増加は観察されなかった (図 1(b))。

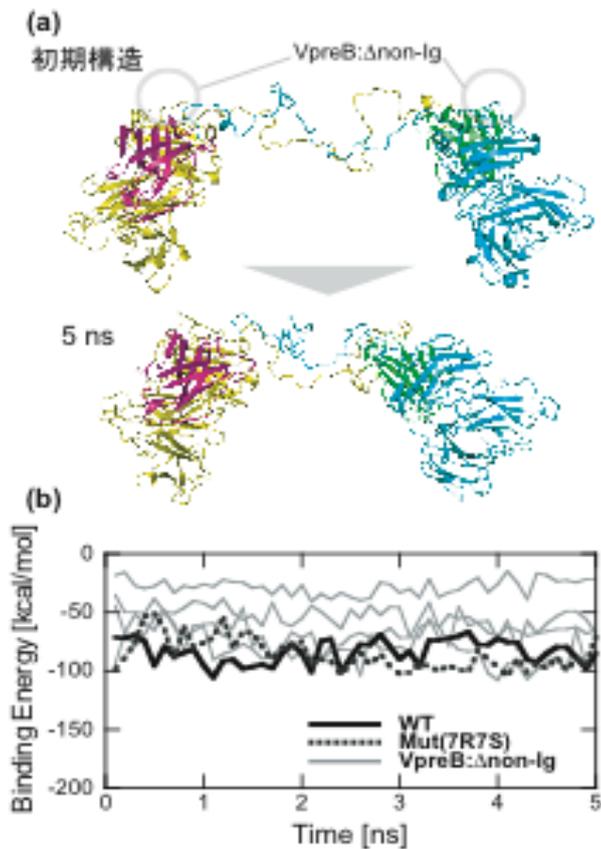


図1・マウス preBCR 間の相互作用 (a) VpreB の non-Ig 領域を欠損させた変異型 preBCR 間の相互作用の1例, (b) 野生型(WT),  $\lambda 5$ , non-Ig 領域中 7 箇所の Arg を Ser に置換した突然変異型 (Mut(7R7S)) および VpreB の non-Ig 領域を欠損させた変異型 (VpreB:Δnon-Ig, 4 サンプル) における non-Ig 領域同士の結合エネルギーの推移。y 軸の数値が小さいほどより強い相互作用が形成されていることを意味する。

従って、今回得られた分子構造は実験的手法を用いて確認された相互作用を検証するモデルとはなりにくいと考えられる。

#### 4. 今後の計画・展望

次年度以降も引き続きモデリングを繰り返し、野生型 preBCR 同士で安定した相互作用をする候補となるモデルを選抜、その中で、 $\lambda 5$  の non-Ig 領域のアミノ酸置換によって結合力が下がり、VpreB の non-Ig 領域欠損によって結合力が上がるモデルを検索する事で実際の preBCR 同士の相互作用モデルを構築したいと考えている。

#### 5. 成果がなかった場合の理由

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。