

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 : 生命システム研究センター 生命モデリングコア 計算分子設計研究グループ

1. 本課題の研究の背景と目的

細胞表面レセプターは一般的に特異的な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 リンパ球の前駆細胞であるプレ B 細胞では特異的な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) 同士が自己架橋 (autonomous self-crosslinking) によってレセプターが活性化され、細胞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ことが分子細胞学的実験によって示されているが、この領域が特定の分子構造を持たないため、実際に preBCR 同士がどのように相互作用しているかは明らかになっていない。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、2つの preBCR 分子が non-Ig 領域が向き合うよう配置した分子モデルを設計し、MD シミュレーションプログラムパッケージ AMBER11 を用いて両分子の挙動を観察した。

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、数ナノ秒のオーダーの 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。これまで VpreB、および $\lambda 5$ の non-Ig 領域は主に任意に生成した分子構造にエネルギー最適化処理を行い初期構造とし

て用いていたが、一部 non-Ig 領域間に β シート構造が形成され、10 ナノ秒間安定に維持されるようなモデルは得られたものの、既報の実験結果を反映する分子モデルの構築には至っていない。そこで本年度は、non-Ig 領域のアミノ酸配列を元に相互作用しやすい領域を予想、両領域が作用した状態からシミュレーションを開始し、相互作用している領域が維持されるかどうかを検証した (図 1)。

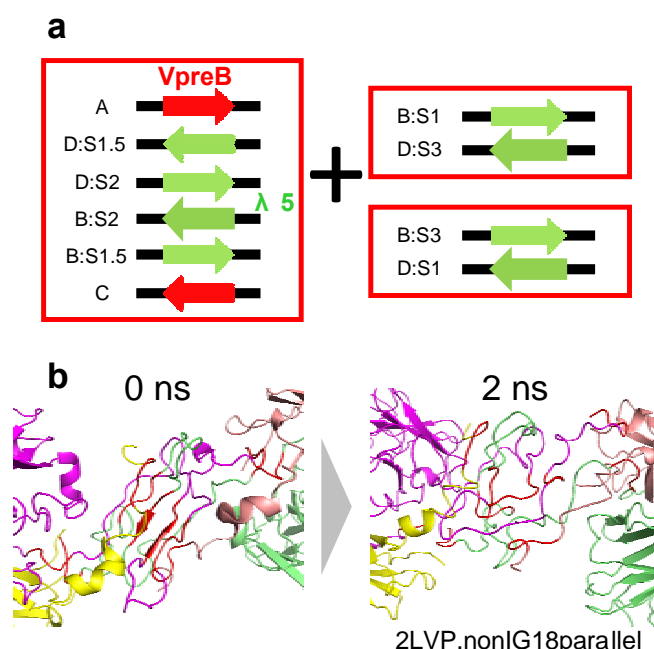


図1 a: 予想された相互作用しやすい non-Ig 領域の重ね合わせの模式図 (矢印左の記号は鎖番号と候補領域の番号) b: a の予想を元に non-Ig 領域をモデリングし (左図)、2 ns の間 MD シミュレーションを行った (右図)。

VpreB、および $\lambda 5$ の non-Ig 領域中の予想された相互作用部位を重ね合わせた分子モデルを数十種類設計し、その内 20 個のモデルについて分子のおおよその動態を知るために精度を落した計算条件で 2 ナノ秒間 MD シミュレーションを実行した。その結果、いずれのモデルにおいても相互作用していた初期構造は維持されず、両アミノ酸鎖間に形成されていた β シート構造が崩壊した (図 1 b 右図)。

4. 今後の計画・展望

次年度以降も引き続き残りの分子モデルに対し簡易

シミュレーションを行い、RICC の Linux クラスタシステムを用いて選抜された候補モデルに対し長時間の MD シミュレーションを行う予定である。本手法で候補が見つからなければ、preBCR 同士の相互作用モデルの検索を行うための新たな手段を検討する必要があると考えている。

5. 成果がなかった理由

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。

6. 利用がなかった理由

本年は VpreB、および $\lambda 5$ の non-Ig 領域中において予想された相互作用部位を重ね合わせた分子モデルの設計とスクリーニングをおこなったが、長時間の MD シミュレーションを行う候補となるモデルが見つからなかったため、RICC のシステムを利用することはなかった。