

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) 同士の自己架橋 (autonomous self-crosslinking) が刺激となってレセプターが活性化し、細胞増殖が促されるという説が有力である。preBCR の自己架橋には遺伝子再構成後の 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。次に 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

これまで VpreB、および $\lambda 5$ の non-Ig 領域の初期構造には単独のマウス preBCR 分子に対してエネルギー最適化処理を行う過程で得られた分子構造を用いてきたが、2 つの preBCR 分子を相対位置を変えて配置し、数ナノ秒のオーダーの MD シミュレーションを繰り返して実行しても、一部 non-Ig 領域間に β シート構造が形

成される場合があったものの、既報の実験結果を反映するような明確な相互作用が観察されることはなかった。

そこで non-Ig 領域のアミノ酸配列を元に β シート構造を取りうる領域を予想し、preBCR 2 分子のそれぞれの non-Ig 領域間であらかじめ β シート構造を形成した状態の分子構造のモデリングを行った。得られた分子モデルを初期構造として MD シミュレーションを実行し、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。

サンプル名	原子数	ピコ秒
2LVP.nonIG1antiparallel	172716	2000
2LVP.nonIG1antiparallel+constr20	122727	2000
2LVP.nonIG2antiparallel	158271	2000
2LVP.nonIG3antiparallel	148308	2000
2LVP.nonIG7antiparallel	156435	2000
2LVP.nonIG7antiparallel+constr20	105231	2000
2LVP.nonIG7parallel	168051	2000
2LVP.nonIG7parallel+constr20	121761	2000
2LVP.nonIG12antiparallel	119433	2000
2LVP.nonIG12parallel	119013	2000
2LVP.nonIG13antiparallel	121128	2000
2LVP.nonIG13parallel	131940	2000
2LVP.nonIG18antiparallel	112866	2000
2LVP.nonIG18parallel	107139	2000
2LVP.nonIG19antiparallel	110769	2000
2LVP.nonIG19parallel	116079	10000
Mut_2LVP.nonIG19parallel	116165	10000
2LVP.nonIG25antiparallel-parallel	141846	8000
Mut_2LVP.nonIG25antiparallel-parallel	141968	2500
2LVP.nonIG25parallel-parallel	156987	8000
Mut_2LVP.nonIG25parallel-parallel	153041	2500

表1: preBCR2分子間であらかじめ β シート構造を形成させた状態でMDシミュレーションを行ったサンプルのリスト。長時間 β シート構造を維持できたモデルに対しては $\lambda 5$ のnon-Ig領域中のアミノ酸を置換したモデルに対しても計算を行った。

18の野生型のアミノ酸配列をもつpreBCR同士に対してMDシミュレーションを行い、うち β シート構造を比較的維持できそうなモデルに対しては既報の実験からpreBCR同士が凝集しなくなることが報告されている $\lambda 5$ 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を作成し、野生型モデルと同条件のシミュレーションを行って両者のシミュレー

シオン結果を比較した（表 1）。しかし、最大 10 ナノ秒間の計算を実行した場合でも両者に大きな差異は観察されなかった。

4. 今後の計画・展望

これまで考えうる実行可能な手法をつくしたが、preBCR 同士に既報の実験結果を反映するような明確な相互作用は観察されなかった。相互作用を観察するためにはさらに長時間・大規模なシミュレーションが必要である可能性があるが、MD シミュレーション技法をそのまま適用するのは実用的ではない。新たな計算手段の開発を検討する必要がある。

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。