

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 4 月 15 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24500362

研究課題名(和文)ケモカイン受容体・ウイルス性受容体・デコイ受容体における機能分化の情報解析

研究課題名(英文)Analyses for functional differentiation between chemokine receptors, viral receptors, and decoy receptors

研究代表者

大安 裕美(Daiyasu, Hiromi)

大阪大学・情報科学研究科・特任研究員

研究者番号：40362397

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,400,000円

研究成果の概要(和文)：ケモカイン受容体はGPCRに属し、恒常性維持や炎症・免疫反応を担っている。これに類縁なデコイ受容体、ウイルス由来受容体では機能が異なっている。進化の過程でこのような機能の多様化が引き起こされた機構を解明するために、計算科学的手法で3群間の比較を行った。アミノ酸配列、DNA配列の比較解析、モデル構造作成の結果から、リガンド結合、シグナル伝達に關与するサイトに各受容体群で特徴的な変異が蓄積されていることがわかった。本研究の成果から、GPCRの機能改変や創薬分野への応用が期待される。

研究成果の概要(英文)：Chemokine receptors (CKRs), which are involved in homeostasis, inflammation, and immune response, constitute a subfamily of the G protein-coupled receptors. Both decoy and viral receptors are the homologs of CKRs, but their functions are different not only from those of the typical CKRs, but also from each other. To identify the changes which have induced the functional differentiation of the CKR homologs during the molecular evolution, we compared the three groups with bioinformatics methods.

From amino acid or nucleotide sequence comparisons and model structure buildings, we found that the several sites, which might be involved in the ligand binding and/or the signal transduction in the CKRs, had changed in each group. The results of our analyses would be expected to the modification of GPCR functions and the drug development.

研究分野：バイオインフォマティクス

キーワード：ケモカイン受容体 ウイルス由来受容体 シグナル伝達 機能分化 分子進化

機能(シグナル伝達の攪乱)を獲得してきたことが示された。

(2) 類縁受容体 3 群間の配列と機能分化の関係性

機能差に関与するアミノ酸を推定するために、祖先型(CKR)と派生型(デコイあるいはウイルス由来受容体)の 2 群間で配列比較を行った。CKR と比較して各受容体サブファミリーに特徴的なサイトを KLI にて抽出し、それらを立体構造上にマッピングしたのが、図 2 である。

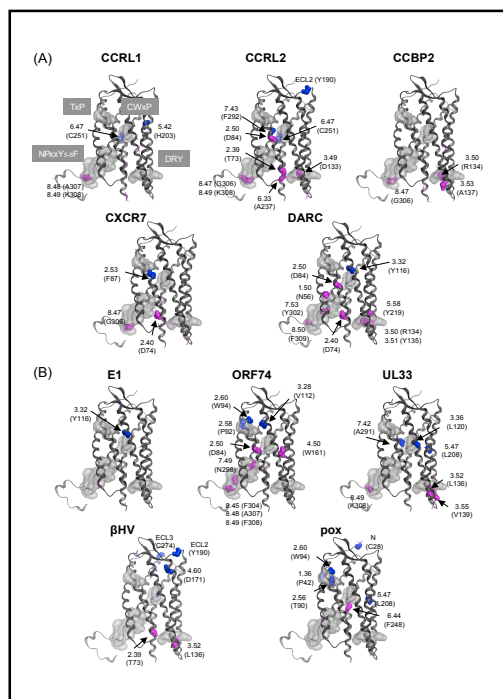


図 2 デコイ、ウイルス由来受容体各サブファミリーにおける KLI 上位 5% サイトの立体構造へのマッピング

この図から、デコイ受容体では細胞質側に KLI で選択されたサイトが集中しているように見える。この点を統計的に評価するために、細胞膜に垂直な軸を仮定して各アミノ酸の α 炭素をその軸に射影し、KLI から選択された特徴的なサイトが細胞外側、細胞質側のどちらに偏っているかを二項検定によって調べた (図 3)。その結果、デコイ受容体では細胞質側により多くの KLI で選択されたサイトが集まっていることが判明した。細胞質側で見つかったサイトの中には、シグナル伝達に不可欠とされている DRY motif に対応するものもあった。このことは、リガンド結合能を保持したままでシグナル伝達能を喪失したデコイ受容体の機能変化と合致するものである。一方、ウイルス由来受容体では、リガンドを認識する細胞外側にも変化が多く、構造全体に変化が分布していた。上記と同様に二項検定を行ったが、有意な結果は得られなかった。ウイルス由来受容体では立体構造の維持やシグナル伝達に関与するとさ

れるいくつかのモチーフ配列にも変化が生じていた。以上の結果は、リガンド結合に対する機能的制約が緩んだことに加え、活性型コンフォメーションを維持し構造的にシグナルを伝達できるような細胞質側での機能的制約の変化の両方が生じていることが示唆された。

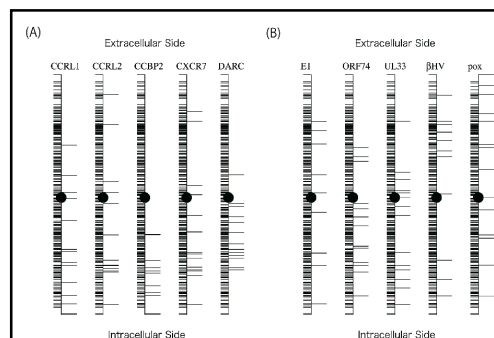


図 3 KLI 上位 5% サイトの空間的配向の模式図

(3) 正の選択圧の検出

これまでに、いくつかの CKR とウイルス由来受容体から、非同義塩基置換速度が同義塩基置換速度より大きい正の選択 (positive selection, 以下 ps) が検出されたことが報告されている。今回、CKR17 種類、デコイ、ウイルス由来受容体のそれぞれ 5 種類のサブファミリー内で、ps の有無を計算した。その結果、CKR からは 6 グループ、デコイ受容体は 4 グループ、ウイルス由来受容体では 3 グループに ps が検出された。デコイ受容体での ps の報告は本研究が初めてであり、他の 2 群からも、今回初めて検出されたグループがあった。

KLI で選択されたサイトや ps をうけているサイトの機能的な意義を調べるため、立体構造情報 (今回はモデル構造の座標データ) を使い、選択されたサイトやモチーフ、突然変異実験対象の残基などをネットワーク図として可視化するツールを開発した (図 4)。このように、1 つの図にサイト間の相互作用や空間的分布を表記することは、選択されたサイトと機能に重要なサイトとの関係を考察する手助けとなる。当プログラムでは、側鎖の幾何重心間距離が 7.5 Å 以内の残基ペアを接触しているものと設定した。KLI 計算プログラムからの入力データと構造情報データからネットワーク図を作成するプログラムは、R のスクリプトとして作成された。各サイトは、ネットワーク中に色分けされたノードで表した。接触している残基ペアのノードはエッジで結ばれている。R のスクリプト中、構造情報の読み取りには bio3d パッケージ、ネットワーク図作成には sna パッケージを用いた。

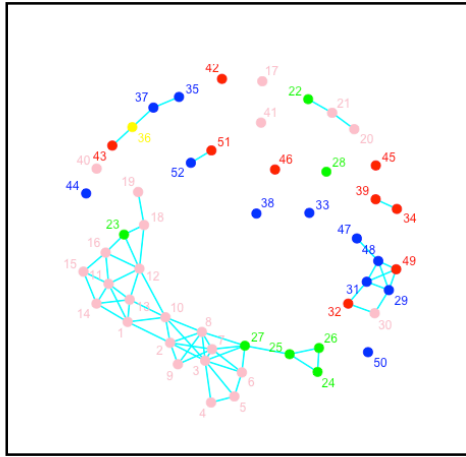


図3 ps サイトと他のサイトとの近接性を示すネットワーク図

3群ともリガンド認識に関与するとされるN末側や第4ループ上に多くのpsが検出された。これは、1つの受容体が複数種のリガンドと結合することができるCKRファミリーの特性を示している可能性がある。デコイ受容体では、さらにDRY motif近傍にもpsが検出され、これらがシグナル伝達阻害に加担している可能性がある。また、デコイ受容体のうち、とりわけCCRL2とDARCでは検出されたサイトが際立って多かった。この2種の受容体は、ケモカイン以外のリガンドも基質として認識することが知られており、他のCKRとは異なる選択圧を受けている可能性が示唆された。デコイ受容体におけるpsの存在や、psが細胞外のみならず細胞内でも作用することはこれまで指摘されておらず、進化的にも、またこれらの機能を考える上でも新たな方向を示唆する重要な発見であると考えられる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 2 件)

① Elahi M, Islam MM, Noguchi K, Yohda M, Toh H, Kuroda Y.
Computational prediction and experimental characterization of a “size switch type repacking” during the evolution of dengue envelope protein domain III (ED3). *Biochim Biophys Acta*. 2014, 1844(3), 585-592 査読有

② Daiyasu H, Nemoto W, Toh H.
Evolutionary analysis of functional divergence among chemokine receptors, decoy receptors, and viral receptors. *Front. Microbiol.* 2012, 3:264, 1-20 査読有

[学会発表] (計 6 件)

① 大安 裕美、藤 博幸

ケモカイン受容体ファミリーにおける選択圧の変化
第15回日本蛋白質科学会年会 2015年6月
日にち未定 あわぎんホール (徳島市)

② 大安 裕美、藤 博幸

Detection of Positive Selection for Viral and Decoy Receptors
第37回日本分子生物学会年会 2014年11月
25日 パシフィコ横浜 (横浜市)

③ 大安 裕美、藤 博幸

Evolutionary analysis of domesticated genes derived from LTR retroelements
第36回日本分子生物学会年会 2013年12月
5日 神戸国際会議場 (神戸)

④ 藤博幸、根本航、大安裕美

Change of the functional constraints associated with the functional differentiation of the chemokine receptor family.
第35回日本分子生物学会年会 2012年12月
13日 福岡国際会議場 (福岡)

⑤ 藤博幸、根本航、大安裕美

Computational analysis of the functional sites of chemokine receptors.
第12回日本蛋白質科学会年会 2012年6月
20日 名古屋国際会議場 (名古屋)

⑥ Toh H

Computational analysis of functional divergence of chemokine receptors (Invited)
Conference on Computational and Systems Biology (CCSB) 2013年1月7日 Sanya (China)

6. 研究組織

(1)研究代表者

大安 裕美 (DAIYASU Hiromi)
大阪大学・情報科学研究科・特任研究員
研究者番号：40362397

(2)研究分担者

藤 博幸 (TOH Hiroyuki)
独立行政法人産業技術総合研究所・ゲノム
情報研究センター・副研究センター長
研究者番号：70192656