

30R-am10

自然免疫系 RNA 受容体 TLR8 の構造解析

○丹治 裕美¹, 大戸 梅治¹, 柴田 琢磨², 三宅 健介², 清水 敏之¹(¹東大院薬,
²東大医科研)

【目的】 Toll-like receptor (TLR) family は、病原体の分子パターンを認識して自然免疫系を活性化させる I 型膜貫通タンパク質である。TLR は細胞外にリガンド認識を行うロイシンリッチリピート (LRR) ドメインを有し、細胞内には TIR ドメインをもつ。TLR family の 1 つ TLR8 はエンドソームに局在し、ウィルス由来の single strand RNA やイミダゾピキノリン系低分子化合物を認識する。本研究では、TLR8 の認識機構及びシグナル伝達機構を解明するため、TLR8 と TLR8/リガンド複合体の X 線結晶構造解析を行った。

【方法】 ショウジョウバエ S2 細胞で発現させた human TLR8 を、protein A タグを用いたアフィニティークロマトグラフィー、酵素によるタグの切断と糖鎖の短縮を行い、ゲルろ過クロマトグラフィーと陰イオン交換クロマトグラフィーで精製した。リガンドとして低分子化合物を加えて蒸気拡散平衡法で結晶化し、重原子同型置換法で位相を求め、分解能 2.0 Å で構造決定した。またリガンドが結合していない状態の TLR8 について、リガンド結合型の構造を用い分子置換法により分解能 2.3 Å で構造決定した。

【結果】 TLR8 および TLR8/リガンド複合体は、いずれも C 末端が中央に配置した m 字型の 2 量体を形成していた。LRR14 と LRR15 の間のループが切断されていたが、これまで立体構造が報告されている TLR と同様の馬蹄形を保っていた。TLR8 と TLR8/リガンド複合体では顕著な構造変化が見られ、現在詳細なリガンド認識機構について検討中である。リガンド結合により TLR8 の 2 量体が再構成され、TLR ドメインの C 末端及び TIR ドメインが接近することでシグナルが下流へ伝えられると考えられる。