

30P-pm03S

TLR8/モノヌクレオシド複合体の結晶構造

○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】TLR7/8 は GU リッチな一本鎖 RNA を認識して自然免疫を活性化させる I 型膜貫通タンパク質であり、ウイルス感染や自己免疫疾患に関わっている。リガンド認識は細胞外ドメインで行われ、その途中にある長い挿入ループ(Z-loop)の切断が活性化に必要であることが示唆されている。本研究では、TLR8 における RNA の認識機構および Z-loop の構造学的意義の解明を目的とし、TLR8/モノヌクレオシド複合体および TLR8 Z-loop 未切断体の X 線結晶構造解析を行った。

【方法・結果】ヒト TLR8 細胞外ドメインをショウジョウバエ S2 細胞で発現させ、高純度精製を行った。野生型 TLR8 は発現後にすでに Z-loop で切断されていた。一方、切断部位を変異させた結果、Z-loop 未切断体を得られた。野生型 TLR8/モノヌクレオシド(G、A、C、U、dT)複合体、および TLR8 Z-loop 未切断体を蒸気拡散平衡法で結晶化し、分子置換法によりそれぞれ 1.7-2.4 Å と 2.5 Å で構造決定した。

いずれの野生型 TLR8/モノヌクレオシド複合体も、活性化型の 2 量体構造を構成していた。リガンド結合部位には各モノヌクレオシド 1 分子の電子密度が観察され、複数の相互作用により認識されていた。各モノヌクレオシドと TLR8 との結合を等温測定カロリメトリーで測定した結果、U が最も強く結合することが分かった。これらから、モノヌクレオシドは TLR8 を活性化しうると結論付けた。また、野生型 TLR8 はリガンド非存在下で 2 量体を形成することがわかっていたが、Z-loop 未切断体は溶液中および結晶中で単量体だった。Z-loop 未切断体の結晶構造では Z-loop が 2 量体界面を遮るように配置しており、未切断の Z-loop は 2 量体化を阻害すると結論付けた。