

# 26G-pm07

Toll 様受容体 8(TLR8)と一本鎖 RNA 複合体の結晶構造

○丹治 裕美<sup>1</sup>, 大戸 梅治<sup>1</sup>, 柴田 琢磨<sup>2,4</sup>, 田岡 万悟<sup>3</sup>, 山内 芳雄<sup>3</sup>, 礒邊 俊明<sup>3,4</sup>, 三宅 健介<sup>2</sup>, 清水 敏之<sup>1,4</sup> (<sup>1</sup>東大院薬, <sup>2</sup>東大医科研, <sup>3</sup>首都大院理工, <sup>4</sup>CREST, JST)

【目的】TLR8 はウイルス由来一本鎖(ss)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。TLR8 は GU リッチな ssRNA を天然基質として活性化されるが、その認識機構は不明である。我々は、TLR8 による ssRNA の認識機構を明らかにすることを目的として、TLR8/ssRNA 複合体の X 線結晶構造解析を行った。

【方法・結果】ヒト TLR8 細胞外ドメイン全長をショウジョウバエ S2 細胞で発現させ、高純度精製した。20 塩基から成る異なる配列の ssRNA (ORN06, ssRNA40) 及び S 化 RNA (ORN06S) を用いて TLR8 と共結晶化した。さらに、TLR8/ウリジン複合体の結晶も作成し、分解能 1.9-2.6 Å で構造決定した。

いずれの TLR8 複合体構造も、活性化型 2 量体を形成していた。TLR8 は、ssRNA そのものを認識しているのではなく、ウリジンとオリゴヌクレオチド(UG)を別々の部位(1st site, 2nd site)で認識していた。これらは ssRNA の分解産物であると考えられる。1st site は低分子化合物結合部位に相当し、2 量体界面に存在していた。2nd site は新規の結合部位で、LRR 構造の凹面に存在していた。アラニン変異体を用いた NF- $\kappa$ B レポータージーンアッセイの結果、2nd site は ssRNA 認識に必須であること、さらに ssRNA とウリジンにより活性の増強が見られることが明らかになった。等温滴定カロリメトリーの結果、1st site にはモノヌクレオチド(A, G, U, C, dT)および UMP の中でウリジンが最も強く結合すること、また ssRNA 存在下でウリジンの結合が増強されることが明らかになった。これらの結果から、TLR8 の活性化は ssRNA とその分解産物のウリジンによるシナジー効果によって生み出されることがわかった。