

## Toll 様受容体 (TLR 4) の X 線小角散乱

松嶋範男<sup>1</sup>、西谷千明<sup>2</sup>、高橋素子<sup>2</sup>、黒木由夫<sup>2</sup>、神保雄次<sup>3</sup>、和泉義信<sup>3</sup>

(札幌医大医療人育成センター<sup>1</sup>、札幌医大医学部<sup>2</sup>、山形大院理工<sup>3</sup>)

生体防御の機構として、獲得免疫に加えて自然免疫の重要性も認識されている。自然免疫は、ヒトなどの脊椎動物ばかりではなく、植物においても病原体を防御するために働く。脊椎動物の自然免疫においては、Toll-like receptor (TLR) が中心的な役割を果たしている。TLR は糖鎖を結合するタイプ I 型の膜蛋白質である。膜の外側はエクドメインと呼ばれ、ロイシン・リッチ・リピート (Leucine Rich Repeat, LRR) を含む。この LRR を含むエクドメインが、リポサッカライド、ペプチドグリカン、フラジエリン、RNA や DNA などのリガンドと相互作用して、そのシグナルが細胞質側に伝えられ一連の自然免疫機構が発現すると考えられている。ヒト TLR は、TLR1 から TLR10 のメンバーがある。これまで、TLR1、TLR2、TLR3 および TLR4 のエクドメインの結晶構造解析が成功している。これらのエクドメインはすべて、他の LRR 構造と同様に、分子全体が馬蹄型をしている。本研究の目的は、X 線小角散乱 (SAXS) の実験から TLR4 単独、及び TLR4 と MD-2 複合体の溶液中の構造情報を得ることである。

SAXS 測定は PF の BL-10C で行った。TLR4 エクドメイン単独においては、タンパク濃度 1.78 $\mu$ M、測定時間 20 分から 30 分の条件下においてデータを得ることができた。TLR4 エクドメインの慣性半径 (Rg) は 32.8 Å であった。また、TLR4・MD-2 複合体の慣性半径の測定値 Rg は、タンパク濃度 1.78 $\mu$ M、測定時間 30 分の条件下において、Rg = 52.8 Å であった。

TLR4・MD-2 複合体の結晶構造解析が成功している [2Z64.pdb]。その原子座標を使って TLR4 エクドメインおよび TLR4:MD-2 複合体の Rg を計算した。計算値は、Rg=31.2 Å (TLR4 エクドメイン)、Rg=31.2 Å (TLR4:MD-2 複合体) であった。TLR4・MD-2 複合体の結晶構造は、1:1 の複合体である。生理的な条件下では 2:2 の複合体を形成することが提案されている。SAXS の結果は、TLR4 エクドメインおよび MD-2 共存下においては、明らかに 1:1 ではなくそれ以上の複合体を形成していることを示している。現在、2:2 の TLR4・MD-2 複合体の予測構造の原子座標を使って、その慣性半径 (Rg) と散乱曲線を計算している。この理論曲線と散乱データと比較したい。