

Toll 様受容体 (TLR 4) の X線小角散乱

松嶋範男¹、西谷千明²、高橋素子²、黒木由夫²、神保雄次³、和泉義信³

(札幌医大医療人育成センター¹、札幌医大医学部²、山形大院理工³)

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 μ 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32.8Åであった。また、TR4・MD-2複合体の慣性半径の測定値Rgは、タンパク濃度1.78 μ M、測定時間30分の条件下において、Rg = 52.8Å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=31.2Å (TLR4エクドメイン)、Rg=31.2Å (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。