

2021年6月9日 15時解禁

令和3年6月9日
石川県公立大学法人 石川県立大学
国立大学法人 北陸先端科学技術大学院大学

新型コロナウイルスの重症化に関与するタンパク質 ORF8 の特異な性質を発見

新型コロナウイルスの重症化に関与するタンパク質 ORF8 は、過酷な環境下でも高い安定性、復元力を保つという特異な性質を持つことを発見しました。ORF8 は、70度においても天然状態を保持し、70度以上で変性させても、温度が下がると天然状態に戻ること、酸性条件で変性するが、弱アルカリ条件にすると天然状態に戻ることを明らかにしました。

概要

石川県立大学 森正之准教授が中心となり、今村智弘講師、東村泰希准教授、松本健司教授および北陸先端科学技術大学院大学 大木進野教授と共同で、新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)の重症化関与タンパク質 ORF8 の特異な性質を発見しました。本研究結果は、速報誌「Biochemical and Biophysical Research Communications」に公開されました。

SARS-CoV-2 が引き起こす新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) は、基礎疾患や肥満の罹患者が重篤化しやすく、全世界で大問題となっています。新型コロナウイルスが持つ ORF8 タンパク質は、SARS-CoV-2 において特徴的なタンパク質です。これまでの解析により、ORF8 は、免疫機能に重要な役割を持つ MHC クラス I タンパク質の働きを抑え、細胞障害性 T 細胞を介した免疫応答を損なう働きがあることが報告されております。さらに、ORF8 遺伝子領域が欠失した SARS-CoV-2 株や1つのアミノ酸残基が変異した ORF8 (L84S) を持つウイルス株では、重症化しにくいことが報告されています。このことから、ORF8 タンパク質は、COVID-19 の重症化に関与することが示唆されています。

ORF8 タンパク質は分子内に3か所のジスルフィド結合 (S-S 結合) を持ち、さらに S-S 結合で二量体になる複雑なタンパク質です。そのため大腸菌での均一な ORF8 の合成は極めて困難です。しかし、我々は、タバコ培養細胞 (タバコ BY-2 細胞) を用いて均一な ORF8 タンパク質の大量合成に成功しました (図1)。

タンパク質は一般的に、熱や酸、アルカリの影響を受けると、ひもが絡まったような変性という状態になって沈殿します。通常は、生卵が加熱されるとタンパク質が変性しゆで卵になるように、いったん変性したタンパク質は元の状態に戻りません。ORF8 タンパク質がどのような条件で変性するかはその機能を知るうえで重要です。そこで、本研究では、タバコ BY-2 細胞で合成した野性型 ORF8 と変異型 ORF8 (L84S) の温度および pH を変化させ ORF8 の状態変化を核磁気共鳴 (NMR) 装置で解析しました。その結果、ORF8 は耐熱性がとても高く 70度付近まで天然状態を保持し、70度以上で変性しました。しかし、一般的なタンパク質と異なり、温度を

下げると天然状態に戻ることがわかりました (図 2)。また ORF8 は、弱酸性条件で変性してしまうこと、中性条件に戻すと元の天然状態に戻ることがわかりました。これらの結果は、ORF8 が特別安定なタンパク質であることを意味します。また、興味深いことに、変異型 ORF8 (L84S) は ORF8 に比べて熱および酸への耐性がより高いことがわかりました (図 2)。これらの特異な性質は、ORF8 の機能と関係していることが予想されます。今後、この知見をもとにした解析を行うことにより、COVID-19 の重症化をおさえる治療法が確立する可能性が期待されます。

発表論文

論文タイトル : Similarities and differences in the conformational stability and reversibility of ORF8, an accessory protein of SARS-CoV-2, and its L84S variant

論文著者 : Shinya Ohki; Tomohiro Imamura; Yasuki Higashimura; Kenji Matsumoto; Masashi Mori

雑誌 : Biochemical and Biophysical Research Communications

問い合わせ先

石川県立大学 生物資源工学研究所
准教授 森 正之 e-mail : mori@ishikawa-pu.ac.jp

北陸先端科学技術大学院大学 ナノマテリアルテクノロジーセンター
教授 大木進野 e-mail : shinya-o@jaist.ac.jp



図1 タバコ培養細胞を用いた ORF8 タンパク質の大量生産

タバコ BY-2 細胞で生産した ORF8 タンパク質は全て二量体を形成する。(A) ORF8 タンパク質を合成するタバコ BY-2 細胞 (B)タバコ BY-2 細胞の大量培養 (C)培養液中に放出された ORF8 タンパク質 (D)精製し NMR 解析に用いた ORF8 タンパク質。WT：野生型 ORF8 タンパク質、L84S: 変異型 ORF8 タンパク質、矢じり：ORF8 タンパク質、M：分子量マーカー

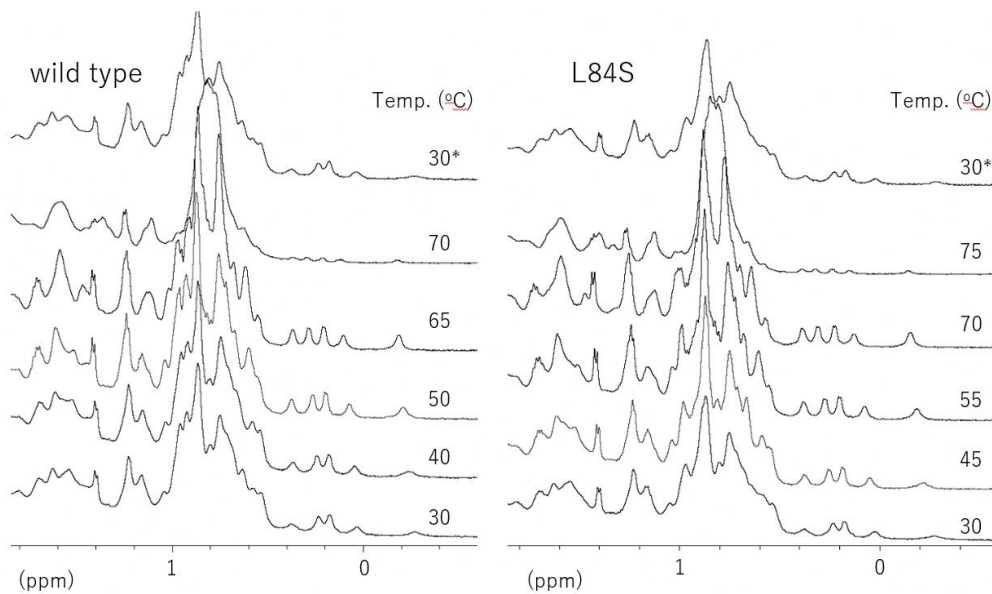


図2 ORF8(wild type)とその変異体 L84S の各温度での ^1H -NMR スペクトルのメチル基領域の拡大図 *印は、昇温後に再びその温度に戻したことを表す。

ORF8、L84S とともに 70 度くらいまではスペクトルに大きな変化が見られない。これは、立体構造が保持されていることを示している。ORF8 では 70 度、L84S では 75 度のときにピークが広幅化し、特に 0 ppm 付近ではピークが消失しかかっている。これは、試料が多量体化もしくは会合により熱変性状態になったことを示している。ところが、両試料ともに温度を下げたときのスペクトルは実験開始時のスペクトルと一致している。これは、変性状態の試料が天然状態に戻ったことを示している。

用語説明

細胞傷害性 T 細胞：リンパ球 T 細胞の一種。異物となる異常細胞（ウイルス感染細胞、がん細胞など）を認識し、それらを攻撃して破壊する細胞。

MHC クラス I タンパク質：免疫応答に関わるタンパク質。細胞内のタンパク質に由来するペプチド断片を細胞表面に輸送し、細胞障害性 T 細胞に提示するタンパク質。

ジスルフィド結合 (S-S 結合)：2つのシステインによって形成される共有結合で、タンパク質の立体構造形成に重要な役割をはたす。

二量体：2個のタンパク質が、物理的・化学的な力によって形成した分子。

核磁気共鳴 (NMR) 装置：強力な磁場中に置いた試料に電磁波を照射して応答信号を得る装置。信号を解析することで、試料の構造や運動性を知ることができる。