

## （様式6-c） C. 学位論文（Thesis）で発表論文のない場合

上野 栞 氏から学位申請のため提出された論文の審査要旨

題 目 Eight-amino-acid sequence at the N-terminus of SARS-CoV-2 nsp1 is involved in stabilizing viral genome replication  
(SARS-CoV-2のnsp1のN末端にある8アミノ酸配列はウイルスゲノム複製の安定化に  
関与する)  
学位論文 (Thesis)  
上野 栞 (氏名)  
発表予定論文  
タイトル Eight-amino-acid sequence at the N-terminus of SARS-CoV-2 nsp1 is  
involved in stabilizing viral genome replication  
Virology (投稿中)  
Shiori Ueno, Sodbayasgalan Amarbayasgalan, Yoshiro Sugiura,  
Tatsuki Takahashi, Kenta Shimizu, Keisuke Nakagawa,  
Reika Kawabata-Iwakawa and Wataru Kamitani

## 論文の要旨及び判定理由

Severe acute respiratory syndrome coronavirus (SARS-CoV)-2 は、コロナウイルス科に属するエンベロープウイルスである。ゲノムは1本鎖のRNAで末端に非翻訳領域 (UTR)を有し、5' 末端側は特にウイルス複製に重要である。コロナウイルスの非構造タンパク質のnsp1の機能はリボソームを介した宿主タンパク質抑制と宿主mRNA分解が知られている。本研究では、SARS-CoV-2 I 004株由来の8アミノ酸 (GDSVEEVL) 残基が欠損していたnsp1 (delta8-nsp1)に着目した。

nsp1によるタンパク質抑制とmRNA分解促進機能を検討するために、293T細胞にnsp1とルシフェラーゼを共発現させ解析した。その結果、delta8-nsp1は、野生型と同程度にルシフェラーゼ活性とルシフェラーゼRNA量を低下させた。レプリコンDNAを用いてウイルスのRNA複製をルシフェラーゼ活性で評価したところ、野生型nsp1発現サンプルに比べて、delta8-nsp1発現サンプルにおいてルシフェラーゼ活性が低下した。次に、ルシフェラーゼを発現する組換えウイルスを作製して培養細胞とハムスターで感染実験を行ったところ、delta8-nsp1の組換えウイルス(r-delta 8)感染サンプルではウイルス力価が減少し、肺炎が軽度であった。さらに感染ハムスターの肺組織の宿主遺伝子発現をRNA-seqで解析したところ、特にCXCL10の遺伝子発現に差が認められた。5' UTR領域の塩基配列をRACE法により解析した。その結果、r-delta8ではウイルスゲノムの5' UTR塩基欠損が多く認められた。

まとめると、8アミノ酸欠損ウイルスでは、5' UTRが欠損することにより増殖能を失ったウイルスが多く産生され、その結果、感染性ウイルス量が減少し肺における炎症が軽度となったと考えられた。以上の結果から、この8アミノ酸残基はウイルスゲノムの5' UTRの安定性に寄与している可能性が示唆された。

本研究は、SARS-CoV-2 nsp1の8アミノ酸が5' UTRの安定化に重要な役割を持つ可能性を初めて示すものであり、新規性が有ると認められ、博士(医学)の学位に値するものと判定した。

(審査年月日) 令和6年2月19日

審査委員

主査 群馬大学教授（医学系研究科）  
細菌学分野担任 富田 治 芳 印

副査 群馬大学教授（医学系研究科）  
機能形態学分野担任 岩崎 広 英 印

副査 群馬大学教授（医学系研究科）  
公衆衛生学分野担任 浜崎 景 印

参考論文

1. Establishment of a new reverse genetics system for respiratory syncytial virus under the control of RNA polymerase II  
(RNAポリメラーゼII制御下における呼吸器合胞体ウイルスの新しい逆遺伝学システムの確立)  
Microbiology and Immunology, 67:413- 421, 2023  
Takahashi T, Ueno S, Sugiura Y, Shimizu K, Kamitani W
2. Human antibody recognition and neutralization mode on the NTD and RBD domains of SARS-CoV-2 spike protein  
(ヒト抗体におけるSARS-CoV-2スパイクタンパク質のNTDおよびRBDドメイン認識と中和様式)  
Scientific reports, 12:20120, 2022  
Otsubo R, Minamitani T, Kobiyama K, Fujita J, Ito T, Ueno S, Anzai I, Tanino H, Aoyama H, Matsuura Y, Namba K, Imadome K, Ishii K, Tsumoto K, Kamitani W & Yasui T
3. Versatile live-attenuated SARS-CoV-2 vaccine platform applicable to variants induces protective immunity  
(汎用性の高いSARS-CoV-2生ワクチンは免疫防御を誘導し変異株にも対応可能である)  
iScience, 25 :105412, 2022  
Yoshida A, Okamura S, Torii S, Komatsu S, Miyazato P, Sasaki H, Ueno S, Suzuki H, Kamitani W, Ono C, Matsuura Y, Takekawa S, Yamanishi K, and Ebina H
4. COVID-19 cynomolgus macaque model reflecting human COVID-19 pathological conditions.  
(カニクイザルCOVID-19モデルはヒトCOVID-19病態を反映している)  
Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 118, 2021  
Urano E, Okamura T, Ono C, Ueno S, Nagata S, Kamada H, Higuchi M, Furukawa M, Kamitani W, Matsuura Y, Kawaoka Y, and Yasutomi Y

（様式6， 2頁目）

最終試験の結果の要旨

「SARS-CoV-2 nsp1の8アミノ酸残基による5' UTRの安定化の分子メカニズム」についておよび「SARS-CoV-2 nsp1の8アミノ酸残基の研究結果がどのように治療に役立つか」について試問し満足すべき解答を得た。

（試験年月日） 令和6年2月19日

試験委員

群馬大学教授（医学系研究科）  
生体防御学分野担任

神 谷 亘 印

群馬大学教授（医学系研究科）  
細菌学分野担任

富 田 治 芳 印