

甲 第 号

三須 政康 学位請求論文

# 審 查 要 旨

奈 良 県 立 医 科 大 学

## 論文審査の要旨及び担当者

	委員長	教授	堀江 恭二
論文審査担当者	委員	教授	笠原 敬
	委員(指導教員)	准教授	王寺 幸輝

主論文

Rapid whole genome sequencing methods for RNA viruses

RNA ウイルスに対する迅速な全ゲノム決定法の構築

Masayasu Misu, Tomoki Yoshikawa, Satoko Sugimoto, Yuki Takamatsu, Takeshi Kurosu, Yukiteru Ouji, Masahide Yoshikawa, Masayuki Shimojima, Hideki Ebihara, Masayuki Saijo

Front Microbiol. 2023 Feb 23;14:1137086.

## 論文審査の要旨

近年の新型コロナウイルス感染症に象徴されるように、RNA ウイルスが原因となる病態の解明や治療法およびワクチンの開発において、ウイルスの全ゲノム配列の解読は極めて重要である。しかし、従来法では、ウイルスの濃縮や各ウイルス特異的なプライマーの設定が必要なため、時間と労力の点で問題があった。本研究では、ロングリードのシーケンサである MinION を用いて、RNA ウイルスの全ゲノム配列を、特異的プライマーの使用やウイルスの濃縮を行わずに迅速に決定するプロトコルを確立した。

公聴会では、検体中の RNA ウイルスの一部に生じた変異を鋭敏に検出できるかどうかが問われたが、シーケンスデータの情報解析の改良を行うとともに、PCR による増幅時のバイアスを回避するための分子バーコードを使用することで微量の変異を定量できる可能性があることが述べられた。また、最近になって MinION の塩基配列決定精度が大幅に高まったことから、微量の変異の検出に期待が持てることが述べられた。地域や院内感染における流行株の評価において、大規模な設備を有しない施設でも本手法を用いることが可能かという質問に対しては、市販されている汎用試薬を用いて比較的安価な機器による解析が可能のため、十分に実行可能との説明がなされた。検体中に複数の RNA ウイルスが含まれていても独立した塩基配列決定が可能なことや、DNA ウイルスにおける検討も開始されていることも述べられた。汎用性を高めるためにキット化は可能かとの質問に対しては、これまでに試した全ての RNA ウイルスについて本実験系が適用できた実績はあるものの、風疹ウイルスのような GC 含量の多いゲノム配列の決定でも問題がないかどうかを確かめる必要があるとの説明があり、今後に向けた課題が明確に述べられていた。

上記研究で確立した手法は、RNA ウイルスの基礎研究、分子疫学研究、さらには、臨床検体の迅速な解析への利用も期待できる応用性の高いものであり、博士（医学）の学位に値すると評価できる。

## 参 考 論 文

1. Culture of organoids with vestibular cell-derived factors promotes differentiation of embryonic stem cells into inner ear vestibular hair cells  
Osaki D, Ouji Y, Sakagami M, Kitamura T, Misu M, Kitahara T, Yoshikawa M, J Biosci Bioeng. 2023 Feb;135(2):143-150
2. Schistosoma mansoni larvae in vitro cultures using Biomphalaria glabrata extracts  
Ouji Y, Hamasaki M, Misu M, Kitamura T, Hamano S, Yoshikawa M, Acta Tropica, 2022 Nov;235:106636
3. Impaired differentiation potential of CD34-positive cells derived from mouse hair follicles after long-term culture  
Ouji Y, Misu M, Kitamura T, Okuzaki D, Yoshikawa M, Sci Rep. 2022 Jun 30;12(1):11011
4. 蛍光標識住血吸虫による貝感染におけるリアルタイム可視化の試み  
王寺幸輝, 濱崎めぐみ, 三須政康, 北村知嵩, 尾崎大輔, 島田賢子, 濱野真二郎, 吉川正英, Clin Parasitol. 32 卷 1 号 Page34-36(2021.12)
5. 文献調査から見たわが国の糞線虫症の現況 2013年6月から2020年2月までの文献報告例の検討  
吉川正英, 一色厚志, 王寺幸輝, 平位暢康, 北村知嵩, 三須政康, 西村知子, Clin Parasitol. 31 卷 1 号 Page28-33(2020.12)

6. Two case of Taeniasis infection  
Misu M, Hirai N, Kitamura T, Ouji Y, Yoshikawa M, Kasamatsu T, Yoshihara S, Furukawa R, Nishimura T, Okuda N, Imakita N, Fukumori T, Fujikura H, Nishihara Y, Sekine T, Ogawa Y, Ogawa T, Mikasa K, Kasahara K, Sato M, Maeda K, J Nara Med Ass. 2020 Nov;71(4-6):59-63
7. Differentiation of embryonic stem cells into inner ear vestibular hair cells using vestibular cell derived-conditioned medium  
Sakagami M, Ouji Y, Kawai N, Misu M, Yoshikawa M, Kitahara T, Biochem Biophys Rep. 2019 May 15;19:100649
8. Expression of human REG family genes in inflammatory bowel disease and their molecular mechanism  
Takasawa S, Tsuchida C, Sakuramoto-Tsuchida S, Takeda M, Itaya-Hironaka A, Yamauchi A, Misu M, Shobatake R, Uchiyama T, Makino M, Ohbayashi C, Immunol Res. 2018 Dec;66(6):800-805
9. Expression of REG family genes in human inflammatory bowel diseases and its regulation  
Tsuchida C, Sakuramoto-Tsuchida S, Taked M, Itaya-Hironaka A, Yamauchi A, Misu M, Shobatake R, Uchiyama T, Makino M, Pujol-Autonell I, Vives-Pi M, Ohbayashi C, Takasawa S, Biochem Biophys Rep. 2017 Oct 23;12:198-205
10. Effects of Wnt-10b on proliferation and differentiation of murine melanoma cells  
Misu M, Ouji Y, Kawai N, Nishimura F, Nakamura-Uchiyama F, Yoshikawa M,



以上、主論文に報告された研究成績は、参考論文とともに生体防御・修復医学の進歩に寄与するところが大きいと認める。

令和5年6月13日

学位審査委員長

生体機能制御機構学

教授 堀江 恭二

学位審査委員

感染病態制御医学

教授 笠原 敬

学位審査委員(指導教員)

生体防御・修復医学

准教授 王寺 幸輝