

理学博士三浦謹一郎君の「二本鎖RNAウイルスの
分子遺伝学的研究、特にRNAキャップ構造の発見」に

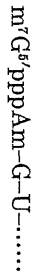
対する授賞審査要旨

ウイルスは生物としては最も簡単な構造を持つものの一つで、研究材料としてこれまでも分子生物学の発展に大きく貢献して来た。ウイルスの遺伝子はDNAだけでなく、RNAのこともあり、構造も一本鎖だったり二本鎖だったりと多様である。このため、遺伝子発現に関する基礎原理を探る上で好個の材料である。

三浦君は遺伝子の情報がどのように伝令RNAに転写されるか、また伝令RNA (mRNA) が蛋白質合成にどのように働くかを研究するためには、遺伝子も伝令RNAも両方とも純粋に多量に集める必要があると考えた。この目的のために、特に真核細胞系での情報発現を調べるために、植物ウイルスや昆虫ウイルスが重要な手がかりを与える良い系だと考えていた。こうした時期に、三浦君はイネ萎縮病ウイルスの遺伝子が二本鎖のRNAであることを発見した。続いて蚕の細胞質多角体病ウイルスでも、遺伝子は二本鎖RNA構造を持つことを見出した。RNAが二本鎖状態でのような物性を示すかについてはそれまで全く知られていなかったが、三浦君は種々の物理化学的方法によって一本鎖RNAと比較しながらRNAの二本鎖状態の特性を始めて明らかにした。この研究はよく引用されており、成書や教科書にもこの実験データがそのまま採録されている。

二本鎖RNAを変性して一本鎖状態にするとmRNA活性を示すが、二本鎖状態ではその活性がないことを天然のRNAを使って示したのは三浦君の実験が始めてで、これがmRNAが一本鎖状態で働くことの証明となった。ウイルスの二本鎖RNAは断片化しており、イネ萎縮病ウイルスのRNAでは十二個、カイコ細胞質多角体病ウイルスでは一〇個の断片から成り、それらの断片はそれぞれ一蛋白質の情報をもつ大きさであることもつきとめた。また、これらのウイルスは適当な処理を施すことによって、試験管内でmRNAの合成を行わせることができることもわかった。そのため、遺伝情報の発現を調べるために最も具合のよい系であると判断した。三浦君が日本の材料であるカイコの細胞質多角体病ウイルス(CPウイルス)を主材料としたのは慧眼であった。

三浦君は遺伝子RNAの二本鎖のうち、遺伝情報を持つ鎖とそうでない鎖とを区別する化学的特徴を追究した。その結果、情報をもつ鎖は5'端がメチル化されており、特殊なブロックされた構造を持つことを発見した。続いて、遺伝子の情報鎖のコピーであるmRNA鎖の5'端も同様な特殊構造であり、7-メチルグアノシンがリン酸基三個を以て5'末端で結合した構造であることを発見した。これはCPウイルスの場合次のように表わされる。



この構造は当時知られていた核酸の構造としては異例なもので、三浦君およびその共同研究者の努力によって世界に先がけて発見されたことは特筆に値いする。これは後に真核細胞またはそのウイルスのメッセンジャーRNAを特徴づける極めて一般的な構造であることが分り、キャップ構造(cap structure)と呼ばれるようになったものである。現在ではmRNAのキャップ構造は遺伝学、生化学、分子生物学、ウイルス学の教科書や成書に載っており、この構

造の発見が戦後日本で行われた分子生物学的研究における最大の成果の一つであることは広く認められている。「原論文は *Nature* 253: 374-375 (1975) に発表され、その解説は岩波「科学」増刊号「論文に見る科学五〇年」にも掲載されている。また、これらの原著論文の Citation 数は極めて多く、一九七五年度生物学関係の論文として三浦君らの三論文が上位二〇番以内に入った。」

三浦君はさらにこの mRNA のキャップ部分の高次構造、機能、形成機構などの研究を行い、キャップ構造は蛋白質合成開始複合体の形成効率を格段に上昇させること、mRNA の安定性を保つ役を果すことも明らかにした。この方向の同君の研究は総説論文3 「Adv. Biophysics 14: 205-238 (1981)」にまとめられている。

最近 mRNA のキャップ構造に続く、開始コドンまでの塩基配列（先導配列）を含めて蛋白質合成開始の問題を研究し、先導配列の役割を明らかにした。

一方、ウイルス粒子中の二本鎖 RNA 遺伝子の状態や転写活動中の遺伝子の状態を特殊な方法で電子顕微鏡によって観察することにも成功し、二本鎖 RNA ウイルスの増殖機構の解明にも貢献している。

以上に代表されるような mRNA の構造と機能の研究の他にも、三浦君は極めてユニークな研究方法によって転移 RNA、ウイルス一本鎖 RNA、リボソームなどの多様な生理機能をもった RNA の構造と機能を分子レベルで解明する上で数多くのすぐれた業績を上げた。同君はこの他 DNA や蛋白質についても秀れた研究をしている。三浦君は RNA の分子生物学では、世界的にみても最高水準の研究者として高い評価を受け、日本が世界に誇ることできるすぐれた分子遺伝学者である。

- 1) K. Miura, A. Muto: Lack of messenger RNA activity of a double-stranded RNA. *Biochim. Biophys. Acta* **108** (1965) 707-709.
- 2) H. Hayashi, K. Miura: Functional sites in transfer ribonucleic acid. *Nature* **209** (1966) 376-378.
- 3) K. Miura, I. Kimura, N. Suzuki: Double-stranded ribonucleic acid from rice dwarf virus. *Virology* **28** (1966) 571-579.
- 4) T. Sato, Y. Kyogoku, S. Higuchi, Y. Mitsui, Y. Itaka, M. Tsuboi, K. Miura: A preliminary investigation on the molecular structure of rice dwarf virus ribonucleic acid. *J. Mol. Biol.* **16** (1966) 180-190.
- 5) Y. Hayashi, S. Osawa, K. Miura: The methyl groups in ribosomal RNA from *Escherichia coli*. *Biochim. Biophys. Acta* **129** (1966) 519-531.
- 6) H. Hayashi, K. Miura: Anticodon sequence as a possible site for the activity of transfer RNA. *Cold Spring Harbor Symposia for Quant. Biol.* **31** (1966) 63-70.
- 7) M. Kuwano, Y. Hayashi, H. Hayashi, K. Miura: Photochemical modification of transfer RNA and its effect on aminoacyl RNA synthesis. *J. Mol. Biol.* **32** (1968) 659-671.
- 8) T. Samejima, H. Hashizume, K. Imahori, I. Fujii, K. Miura: Optical rotatory dispersion and circular dichroism of rice dwarf virus ribonucleic acid. *J. Mol. Biol.* **34** (1968) 39-48.
- 9) K. Miura, I. Fujii, T. Sakaki, M. Fulke, S. Kawase: Double-stranded ribonucleic acid from cytoplasmic polyhedrosis virus of silkworm. *J. Virol.* **2** (1968) 1211-1222.

- 10) K. Miura, I. Fujii, S. Kawase, H. Iwata: Electron microscopic observation of a cytoplasmic polyhedrosis virus from the silkworm. *J. Invert. Pathol.* **14** (1969) 262-265.
- 11) N. Shimizu, H. Hayashi, K. Miura: Functional sites of transfer RNA for the binding to messenger RNA-ribosome complex. *J. Biochem.* **67** (1970) 373-387.
- 12) I. Fujii-Kawata, K. Miura, M. Fukue: Segments of genome of viruses containing double-stranded ribonucleic acid. *J. Mol. Biol.* **51** (1970) 247-253.
- 13) A. Wada, I. Kawata, K. Miura: Flow-dichroic spectra of double-stranded RNA. *Biopolymers* **10** (1971) 1153-1157.
- 14) Y. Furuchi, K. Miura: The 3'-termini of the genome RNA segments of silkworm cytoplasmic polyhedrosis virus. *J. Mol. Biol.* **64** (1972) 619-632.
- 15) K. Shimotohno, K. Miura: Transcription of double-stranded RNA in cytoplasmic polyhedrosis virus *in vitro*. *Virology* **53** (1973) 283-286.
- 16) K. Shimotohno, K. Miura: Single-stranded RNA synthesis *in vitro* by the RNA polymerase associated with cytoplasmic polyhedrosis virus containing double-stranded RNA. *J. Biochem.* **74** (1973) 117-125.
- 17) Y. Furuchi, K. Miura: Identity of the 3'-terminal sequences in ten genome segments of silkworm cytoplasmic polyhedrosis virus. *Virology* **55** (1973) 418-425.
- 18) K. Shimotohno, K. Miura: 5'-terminal structure of messenger RNA transcribed by the RNA polymerase of silkworm cytoplasmic polyhedrosis virus containing double-stranded RNA. *J. Mol. Biol.* **86** (1974) 21-30.

- 19) K. Miura, K. Watanabe, M. Sugiyura: 5'-terminal nucleotide sequences of the double-stranded RNA of silkworm cytoplasmic polyhedrosis virus. *J. Mol. Biol.* 86 (1974) 31-48.
- 20) K. Miura, K. Watanabe, M. Sugiyura, A.J. Shatkin: The 5'-terminal nucleotide sequences of the double-stranded RNA of human reovirus. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* 71 (1974) 3979-3983.
- 21) Y. Furuichi, K. Miura: A blocked structure at the 5'-terminus of mRNA of cytoplasmic polyhedrosis virus. *Nature* 253 (1975) 374-375.
- 22) T. Urushibara, Y. Furuichi, C. Nishimura, K. Miura: A modified structure at the 5'-terminus of mRNA of vaccinia virus. *FEBS Lett.* 49 (1975) 358-389.
- 23) K. Miura, Y. Furuichi, K. Shimotohno, T. Urushibara, K. Watanabe, M. Sugiyura: Modification at the 5'-terminus of messenger RNA strand. *Les Colloques de INSERM (EMBO Symp.)* 47 (1975) 153-160.
- 24) K. Miura, Y. Furuichi, K. Shimotohno, T. Urushibara, M. Sugiyura: Synthesis of viral messenger RNA carrying a unique modified structure. *Proc. 10th FEBS Meeting* 39 (1975) 95-108.
- 25) K. Shimotohno, K. Miura: The process of formation of the 5'-terminal modified structure in messenger RNA of cytoplasmic polyhedrosis virus. *FEBS Lett.* 64 (1976) 204-208.
- 26) H. Shinshi, M. Miwa, T. Sugimura, K. Shimotohno, K. Miura: Enzyme cleaving the 5'-terminal methylated blocked structure of messenger RNA. *FEBS Lett.* 65 (1976) 254-257.
- 27) T. Ohno, Y. Okada, K. Shimotohno, K. Miura, H. Shinshi, M. Miwa, T. Sugimura: Enzymatic removal of the 5'-terminal methylated blocked structure of tobacco mosaic virus RNA and its effects on infectivity and reconstitution with coat protein. *FEBS Lett.* 67 (1976) 209-213.

- 28) T. Hata, I. Nakagawa, K. Shimotohno, K. Miura: The synthesis of α , γ -dinucleoside triphosphates. The confronted nucleotide structure found at the 5'-terminus of eukaryote messenger ribonucleic acid. *Chem. Lett.* **9** (1976) 987-990.
- 29) K. Shimotohno, T. Urushihara, K. Miura: The N²,2',7'-trimethylguanylic acid-blocking structure at the 5'-terminus of some low molecular weight RNAs in nucleus of an animal cell. *Proc. Japan Acad.* **52** (1976) 563-566.
- 30) K. Shimotohno, K. Miura: Nucleoside triphosphate phosphohydrolase associated with cytoplasmic polyhedrosis virus. *J. Biochem.* **81** (1977) 371-379.
- 31) M. Sugiyura, K. Miura: Transcription of double-stranded RNA by *Escherichia coli* DNA-dependent RNA polymerase. *Eur. J. Biochem.* **73** (1977) 179-184.
- 32) K. Shimotohno, Y. Kodama, J. Hashimoto, K. Miura: Importance of 5'-terminal blocking structure to stabilize mRNA in eukaryotic protein synthesis. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **74** (1977) 2734-2738.
- 33) K. Yazaki, K. Miura: Terminal structure involving a single-stranded stretch in the double-stranded RNA from *Penicillium chrysogenum* virus. *Virology* **82** (1977) 14-24.
- 34) S. Hidaka, K. Shimotohno, K. Miura, Y. Takanami, S. Kubo: Nucleotide sequence near the 5'-terminal of cucumber mosaic virus RNA No. 5 segment. *FEBS Lett.* **98** (1979) 115-118.
- 35) K. Miura, Y. Kodama, K. Shimotohno, T. Fukui, M. Ikehara, I. Nakagawa, T. Hata: Inhibitory effect of methylated derivatives of guanylic acid for protein synthesis with reference to the functional structure of the 5'-cap in viral messenger RNA. *Biochim. Biophys. Acta* **564** (1979) 264-274.
- 36) K. Yazaki, K. Miura: Relation of the structure of cytoplasmic polyhedrosis virus and the synthesis

- of its messenger RNA. *Virology* **105** (1980) 467-479.
- 37) Y. Nishimura, S. Takahashi, T. Yamamoto, M. Tsuboi, M. Hattori, K. Miura, K. Yamaguchi, S. Ohkami, T. Hata: On the base-stacking in the 5'-terminal cap structure of mRNA: a fluorescence study. *Nucleic Acids Research* **8** (1980) 1107-1119.
- 38) A. Inoue, M. Nakamura, S. Nakanishi, S. Hidaka, K. Miura, S. Numa: 5'-terminal nucleotide sequence of the messenger RNA coding for bovine corticotropin/ β -lipotropin precursor. *Eur. J. Biochem.* **113** (1981) 513-519.
- 39) T. Urushibara, C. Nishimura, K. Miura: Process of cap formation of messenger RNA by vaccinia virus particles carrying an organized enzyme system. *J. gen. Virol.* **52** (1981) 49-59.
- 40) K. Yamaguchi, S. Hidaka, K. Miura: Relationship between structure of the 5'-noncoding region of viral mRNA and efficiency in the initiation step of protein synthesis in a eukaryotic system. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **79** (1982) 1012-1016.
- 41) K. Yamaguchi, Y. Miura, K. Miura: Difference in degradation modes of capped and decapped mRNAs in various eukaryotic cells. *FEBS Lett.* **139** (1982) 197-200.
- 42) S. Hidaka, K. Ishikawa, Y. Takanami, S. Kubo, K. Miura: Complete nucleotide sequence of RNA 5' from cucumber mosaic virus (strain Y). *FEBS Lett.* **174** (1984) 38-42.
- 43) K. Yamaguchi, I. Nakagawa, M. Sekine, T. Hata, K. Shimotohno, M. Hiruta, K. Miura: Chemical synthesis of the 5'-terminal part bearing cap structure of messenger RNA of cytoplasmic polyhedrosis virus (CPV): m⁷G^{5'}pppAmpG and m⁷G^{5'}pppAmpGpU. *Nucleic Acids Research* **12** (1984) 2939-2954.
- 44) T. Kamimura, M. Tsuchiya, K. Urakami, K. Koura, M. Sekine, K. Shinozaki, K. Miura, T. Hata:

- Synthesis of a dodecaribonucleotide, GUUUCUAUUAUUG, by use of "fully" protected ribonucleotide building blocks. *J. Am. Chem. Soc.* **106** (1984) 4552.
- 45) S. Hidaka, S. Tsunasawa, J. Yoon, K. Narita, Y. Takanami, S. Kubo, K. Miura: Messenger RNA structure participating in the initiation of synthesis of cucumber mosaic virus coat protein. *J. Biochem.* **97** (1985) 161-171.
- 46) K. Kawakami, K. Mizumoto, A. Ishihama, K. Shinozaki-Yamaguchi, K. Miura: Activation of influenza virus-associated RNA polymerase by cap-1 structure (m⁷GpppNm). *J. Biochem.* **97** (1985) 655-661.
- 47) K. Yazaki, A. Mizuno, T. Sano, H. Fujii, K. Miura: A new method for extracting circular and supercoiled genome segments from cytoplasmic polyhedrosis virus. *J. Virol. Meth.* **14** (1986) 275-283.
- 48) I. Hirao, M. Ishikawa, K. Miura: Partial synthesis of leader sequence of phage f1 coat protein mRNA. *Chem. Lett.* (1986) 1929-1932.
- 49) A. Mizuno, T. Sano, H. Fujii, K. Miura, K. Yazaki: Supercoiling of the genomic double-stranded RNA of rice dwarf virus. *J. gen. Virol.* **67** (1986) 2749-2755.
- 1) K. Miura: Specificity in the structure of transfer RNA. *Progress in Nucleic Acid Research and Molecular Biology*, ed. by J.N. Davidson and W.E. Cohn, Academic Press (New York), vol. 6 (1967)

p. 39-82.

- 2) K. Miura: Viruses-Chemistry of their structural unit, in "*Methodicum Chimicum*", Georg Thieme (Stuttgart), vol. 11, part 1, (1976) p. 84-102
- 3) K. Miura: The cap structure in eukaryotic messenger RNA as a mark of a strand carrying protein information. *Adv. ances in Biophysics*, ed. by M. Kotni, Japan Scientific Societies Press (Tokyo), vol. 14 (1981) p. 205-238.