

令和 5 年 5 月 17 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19H00936

研究課題名(和文)大腸菌宿主翻訳機能の革新技术開発

研究課題名(英文)Development of E. coli translational system

研究代表者

宮崎 健太郎 (Miyazaki, Kentaro)

大阪大学・生物学国際交流センター・特任教授(常勤)

研究者番号：60344123

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 35,100,000円

研究成果の概要(和文)：大腸菌の翻訳機能の革新を目的に、異種23S rRNAを環境メタゲノムよりPCR増幅した。発現ベクターに当該遺伝子を組み込み、大腸菌の23S rRNA遺伝子欠損株を宿主に相補性スクリーニングし、さらに増殖速度の速い変異体を集積した。こうして得られた異種23S rRNA遺伝子配列に、以前発見した *Rhodothermus marinus* の23S rRNA遺伝子に含まれるホーミングエンドヌクレアーゼ(HE)を含むイントロンを相同箇所挿入した。BL21(DE3)を宿主としてHE活性に基づくゲノム内の伝播を目指したが、大腸菌23S rRNAを置き換えるには至らなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

バクテリアイントロンはほとんど報告がないが、本研究提案の基礎となる23S rRNA遺伝子中のホーミングエンドヌクレアーゼを含むイントロンの発見も極めてユニークであり、高い意義がある。大腸菌のもつ23S rRNAより高性能の23S rRNAのスクリーニングを行い、宿主の増殖を良好化する遺伝子の獲得には成功し、大腸菌リボソームに改良の余地があることが示されたことは高い意義がある。

研究成果の概要(英文)：To innovate the translational function of E. coli, heterologous 23S rRNA gene was PCR amplified from the environmental metagenomes. The amplicon was incorporated into an expression vector, and E. coli strains deficient in the 23S rRNA gene were screened by means of genetic complementation as, and mutants with faster growth rates were accumulated. The 23S rRNA gene sequence was inserted at a homologous site with an intron containing a homing endonuclease (HE) in the 23S rRNA gene of *Rhodothermus marinus*, which was discovered previously, but failed to replace the E. coli 23S rRNA genes in the genome.

研究分野：生物学

キーワード：リボソーム ホーミングエンドヌクレアーゼ

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

大腸菌は異種遺伝子用の宿主として最も頻用される宿主微生物である。異種発現効率の向上のため、「転写」の改良については集中的に研究され、誘導剤の種類やプロモーター強度の異なる様々なプロモーターが開発されてきた。これに対し「翻訳」についてはほとんど手付かずである。タンパク質をコードする遺伝子には、アミノ酸配列を規定する情報とともに、どのタイミングで、どれだけの量を発現するか、といった発現調節情報が書き込まれており、翻訳装置であるリボソームは、これらの情報を読み取り、適切なタイミングと量で目的タンパク質を発現するよう進化してきた。そのため、宿主との共進化関係を築いてこなかった遺伝子の発現——異種遺伝子発現——においては、宿主翻訳装置と供与体遺伝子の間に「情報ギャップ」が生まれる。異種タンパク質の発現が一筋縄ではいかないのは、このギャップに起因する。レアコドンの補給という非常に単純化された解決方法も提案されているが、複数の因子が複雑に絡み合った翻訳問題に対して、その効果は限定的である。この問題の抜本的解決には、翻訳の担い手であるリボソームの改変を行うのが最も直接的であるが、そうした試みは皆無であった。

ではなぜ翻訳機能の中樞を担うリボソームに直接メスが入ることがなかったのか？ それはひとえにその複雑性による。リボソームは3つのRNAと50余りのタンパク質から構成される極めて精巧かつ複雑な超分子複合体である。特に中心骨格を占める16S/23S rRNAは種固有性が高く、その配列は進化系統解析の分子マーカーにも用いられている。リボソームは変異に対して極めて脆弱なため、積極的な分子改良(改変)の対象としてみなされておらず、そのための手法もなかった。

これに対し私は、大腸菌ゲノムに含まれる7つのrRNAオペロンを全欠損した変異株 $\Delta 7$ 株を宿主に、環境ゲノム由来の16S rRNA遺伝子を機能スクリーニングしたところ、進化系統的に門レベルで異なる極めて遠縁の16S rRNA遺伝子が生育相補することを発見した(Kitahara & Miyazaki, Nature Commun, 2011; Kitahara et al., PNAS, 2012; Tsukuda et al., Sci Rep, 2018)。この結果は、rRNAの種固有性の分子基盤 Complexity Hypothesis を否定するとともに、rRNAの種間入れ替えという手法がリボソームの大規模改変に有効であることを示した。

さらに16S rRNAに加えて23S rRNAの種間互換性も確認したが、翻訳効率に与える影響は16S rRNAよりも顕著であった。例えば、大腸菌 $\Delta 7$ 株の生育倍加速度を劇的に短縮する変異株が得られている(元株40分に対し、変異株では28分)。一方、 $\Delta 7$ 株はrRNAの機能検証用に特化した特殊な株であり、組換え実験や工業用生産で利用される汎用的な大腸菌株ではない。このため、rRNAの機能解析という学術目的には極めて有効であるが、これまでの大腸菌に関する研究蓄積やツールをフル活用できないという欠点があった。逆に、リボソーム改変技術を汎用的な大腸菌株に拡張することができれば、翻訳にまつわる諸問題を解決できるのではないかと考えた。

私は、有馬温泉から単離した好熱菌 *Rhodothermus marinus* の23S rRNA 遺伝子内にイントロンを発見した(図1)。ゲノム配列が明らかになっている *R. marinus* 基準株にはイントロンはなく、有馬温泉株に特徴的であった。このイントロンが大腸菌でも機能するかどうかを検証するため、大腸菌23S rRNAの相当部位にイントロンを挿入し(Eco23S^{int})、 $\Delta 7$ 株に導入したところ、生育相補が確認された。セルフプライミングによりイントロンが切り出され、活性な23S rRNAが生成されたと考えられた。イントロンの切り出しにはイントロン中にコードされたホーミングエンドヌクレアーゼが関与する(図1, (i)-(iii)に対応)。

- (i) イントロンに含まれるホーミングエンドヌクレアーゼ (I-RmaI) が大腸菌内で発現し、
- (ii) I-RmaIにより23S rRNA遺伝子が切断される。

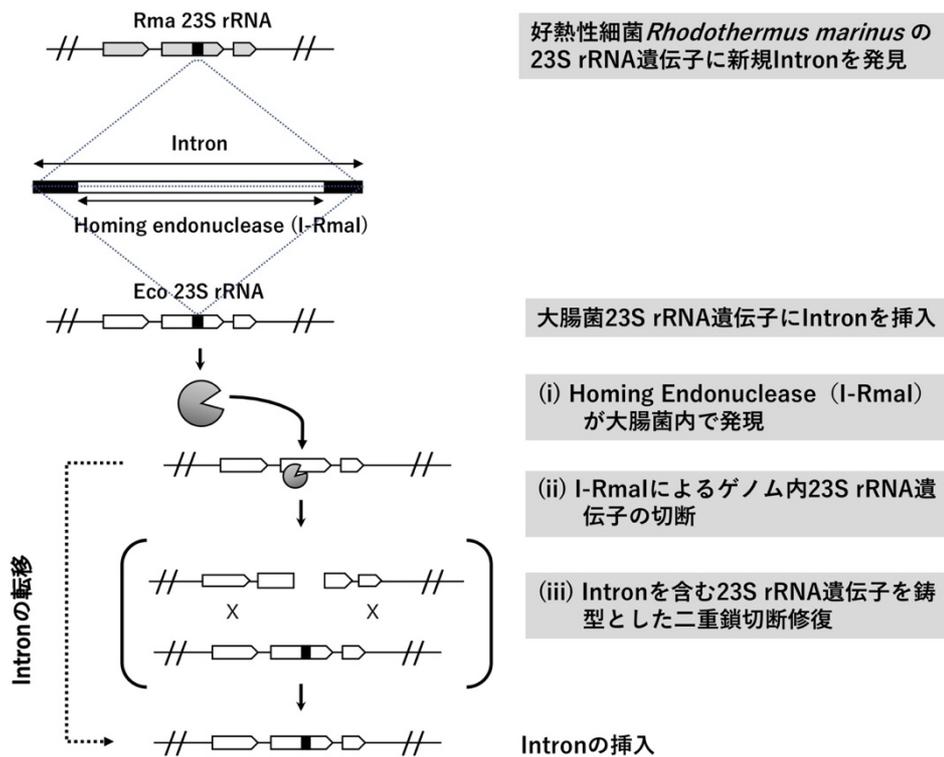


図 1. 新規 Intron の発見とそれを利用した 23S rRNA 遺伝子の編集。

(iii) 細胞内での二重鎖切断修復の過程で、Eco23S^{Int}が相同組換えの鋳型となり、Eco23Sにイントロンが挿入される。

ゲノム上の全ての 23S rRNA 遺伝子にイントロンが行き渡った後は、I-RmaI による切断部位は消失する。こうした利己的振る舞いを活用することで、生物種を問わず様々なバクテリアゲノム上の 23S (LSU) rRNA 遺伝子を一括編集できる見込みを得た。これを環境から単離される高性能 23S rRNA 遺伝子と組み合わせることで、ゲノム上の 23S rRNA 遺伝子を高機能型にアップグレード、すなわち高速増殖や異種遺伝子発現効率の向上が期待できると考えた。

rRNA は多くの生物種でゲノム上にマルチコピー存在する (例えば大腸菌では 7 コピー)。ゲノム上に散在する遺伝子を逐一改変するのは非常に手間であるが、I-RmaI の利己的振る舞いにより、切断配列が消失するまで連続的に編集は続く。イントロン挿入部位は 23S rRNA の保存領域にあり、環境から得られる 23S rRNA 遺伝子のほぼ全てが切断領域を含む。このため、天然の遺伝子を加工することなくそのまま利用可能である。I-RmaI の認識配列は数十塩基対と非常に長く、23S rRNA 以外に切断が起こらないのも、他のゲノム編集方法で懸念されるリスク (オフターゲット) に対する利点である。

以上の背景を踏まえ、本研究では、rRNA の種間互換性の発見をベースに、*R. marinus* の 23S rRNA 遺伝子配列中に見出された I-RmaI を含むイントロンを活用し、23S rRNA 遺伝子の編集とリボソームの高機能化を試みる。

2. 研究の目的

rRNA の生物種互換性と 23S rRNA 遺伝子に見出された I-RmaI をコードするイントロンを組み合

わせ、大腸菌ゲノム上に存在する7コピーの23S rRNA遺伝子を連続的に編集し、タンパク質合成機能を革新することを目的とした。

3. 研究の方法

本研究は、(1) 高性能23S rRNA遺伝子の取得、(2) イントロンの機能解明と改良、(3) ゲノム工学から構成される。

(1) 高性能23S rRNA遺伝子の取得

大腸菌で機能する高機能23S rRNA遺伝子を取得するため、大腸菌のリボソームオペロン完全欠失 $\Delta 7$ 株を宿主として、異種23S rRNAを生育相補性に基づきスクリーニングした。23S rRNA遺伝子は16S rRNA遺伝子とは異なり遺伝子両末端の配列保存性が低いため、系統ごとに8種のプライマーセットを設計した。遺伝子の分離源としては、イントロンを組み込む23S rRNAの相性を想定し、*R. marinus*の生育環境と類似した高温環境をメインターゲットとし、その他の一般土壌も含めた環境メタゲノムを用いた。なお、環境サンプリングの際には好熱菌の単離なども行い、ゲノム解析を行った。

(2) イントロンの機能解明と改良

イントロンに含まれるホーミングエンドヌクレアーゼI-RnaIの大腸菌発現系を構築した。I-RnaI遺伝子は、Native配列のものと大腸菌型にコドンに合わせて全合成したものを用いた。精製用のHisタグ位置、培養温度、誘導のタイミング等を検討した。生化学解析を行い、想定される基質であるイントロンを含まない*R. marinus* 23S rRNA遺伝子を基質に切断部位の認識配列について検討した。有馬温泉から単離した*R. marinus*については、今回使用する株以外にも複数の株を分離していた。これと同時に単離した株についても23S rRNA遺伝子の解析を行い、イントロンの分布・多様性について解析した。

(3) ゲノム工学

環境メタゲノムから得られたいくつかの23S rRNA遺伝子にイントロンを組み込み、プラスミドに保持させた。これを大腸菌宿主内で境内培養し、イントロンが転移する様子を観察した。

4. 研究成果

(1) 高機能23S rRNA遺伝子の取得

環境メタゲノムを鋳型に8種類のプライマーセットを用いて23S rRNA遺伝子をPCR増幅した。各アンプリコンを発現系に組み込み、JM109を宿主として大規模なライブラリーを構築した。寒天培地上のJM109ライブラリーからプラスミドを回収し、 $\Delta 7$ 株を形質転換し、生育相補性に基づく機能スクリーニングを行った。得られたコロニーから23S rRNA遺伝子領域の遺伝子解析を行うとともに、変異株の増殖速度を算出した。その結果、大腸菌23S rRNA遺伝子により相補された株より高速に増殖する株を得た。こうした遺伝子はタンパク質合成に優れていると考えられ、大腸菌リボソームの機能改良に用いることとした。

(2) イントロンの機能解明と改良

ホーミングエンドヌクレアーゼI-RnaI遺伝子の発現プラスミドを大腸菌BL21 (DE3)に導入し、異

種タンパク質発現を行った。ORF配列の違い（Nativeのものとコドン最適化した全合成遺伝子）Hisタグ位置（N末端、C末端）や誘導プロモーター、培養温度（30~42° C）など、種々の条件検討を行った結果、タグ位置によらず、T7プロモーターでの誘導、42° Cで最も高い発現を確認した。ORF配列の違いについても大きな差はなかった。一方、I-RnaIは好熱菌酵素であるにも拘らず、大腸菌から抽出した粗酵素液は70° C、20分程度の熱処理で部分変性し、冷蔵保存すると失活しやすい性質も判明した。

次いで、異種発現させたI-RnaIを、ターゲット配列と予測されるイントロンを含まない*R. marinus* 23S rRNA遺伝子に対し作用させたところ、23S rRNA遺伝子配列の断片化が確認された。得られた断片についてサンガー法により配列を決定したところ、予想通り、I-RnaI遺伝子の挿入部位が切断箇所であることが判明した。

I-RnaIは好熱菌由来であり、ゲノム編集ツールとして有効利用するには、I-RnaIが大腸菌の倍加時間内に速やかに発現し、反応する必要がある。そこで、進化工学的な低温適応などの実験系構築に向け、蛍光基質を用いた活性スクリーニング系の構築を目指した。ターゲット配列を含む配列を化学合成し、5'、3'末端に蛍光色素による修飾を行い、切断前後で蛍光共鳴エネルギー移動（FRET）が解消される仕組みを用い、酵素反応のリアルタイム測定やエンドポイントでの活性スクリーニングを試みた。

23S rRNA遺伝子を基質とした際には切断後の生成物をアガロースゲル電気泳動により確認し、切断を確認することができた。一方、二本鎖の短鎖基質を用いた際には、同じ反応条件でも蛍光の変化が見られなかった。他のホーミングエンドヌクレアーゼで報告がある通り、酵素反応後に切断産物が酵素に結合したまま乖離しにくいことが知られている。この知見を踏まえ、反応後に界面活性剤等の変性剤の添加や加熱処理を試みたが、蛍光シグナルを観察する限り期待通りの変性効果は見られずハイスループット系の構築は困難であった。

有馬温泉からは今回材料として使用した2株以外に8つの株を単離していた。これらについて23S rRNA遺伝子をPCR増幅したところイントロン含有型遺伝子と同じ長さのアンプリコンが得られた。全長シーケンス解析の結果、全10株がイントロン入りの23S rRNA遺伝子を保持していた。ゲノム中には1コピーのみ存在することから、*R. marinus*株中で本イントロンが活性であり、かつ*R. marinus*株間に蔓延していることが判明した。同じ環境からは他の好熱菌も単離されているが、種を超えたイントロンの伝播は確認されていない。

（3）ゲノム工学

高機能23S rRNAにイントロンを挿入したコンストラクトを多数構築し、まずΔ7株に導入したが、生育相補が確認されることはなかった。イントロンの挿入位置は高度に保存されているが、イントロンの切り出しは、配列だけでなく二次構造などの影響も受けると考えられ、正しいプロセッシング、23S rRNAの生成に至らなかったためであると結論された。

以上の通り、環境から高性能23S rRNAの単離を行い、I-RnaIの生化学的解析を行った。一方、それらを組み合わせて大腸菌の23S rRNA遺伝子を編集するという当初の目標には至らなかった。I-RnaIの温度適応などに鑑み、異種での*in vivo*発現を達成すべく、今後は、好熱菌*Thermus thermophilus*を宿主に、2コピー存在する23S rRNA遺伝子の1つにイントロンを移植するなどして、ホーミングエンドヌクレアーゼをツールとした23S rRNA遺伝子の編集を実現したい。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計20件（うち査読付論文 18件 / うち国際共著 3件 / うちオープンアクセス 18件）

1. 著者名 Miyazaki Kentaro, Tokito Natsuko	4. 巻 10
2. 論文標題 Complete Genome Resequencing of <i>Thermus thermophilus</i> Strain TMY by Hybrid Assembly of Long- and Short-Read Sequencing Technologies	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Microbiology Resource Announcements	6. 最初と最後の頁 e00979-21
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/MRA.00979-21	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Miyazaki Kentaro, Tomariguchi Natsuki, Ueno Yuko	4. 巻 10
2. 論文標題 Complete Genome Sequences of Four Halophilic <i>Thermus thermophilus</i> Strains Isolated from Arima Hot Spring in Japan	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Microbiology Resource Announcements	6. 最初と最後の頁 e00874-21
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/MRA.00874-21	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Miyazaki Kentaro, Moriya Toshiyuki, Tokito Natsuko, Oshima Tairo, Yura Kei, Bessho Yoshitaka	4. 巻 10
2. 論文標題 Complete Genome Sequences of <i>Thermus thermophilus</i> Strains HB5002 and HB5008, Isolated from Mine Hot Spring in Japan	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Microbiology Resource Announcements	6. 最初と最後の頁 e00272-21
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/MRA.00272-21	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 宮崎健太郎	4. 巻 5
2. 論文標題 リボソーム改変による好熱菌の低温適応進化	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 アグリバイオ	6. 最初と最後の頁 905-910
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Miyazaki Kentaro, Moriya Toshiyuki, Nemoto Naoki, Oshima Tairo, Yura Kei, Bessho Yoshitaka	4. 巻 10
2. 論文標題 Complete Genome Sequence of <i>Thermus thermophilus</i> Strain HB5018, Isolated from Mine Hot Spring in Japan	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Microbiology Resource Announcements	6. 最初と最後の頁 e00039-21
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/MRA.00039-21	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Miyazaki Kentaro, Hase Erina, Tokito Natsuko	4. 巻 9
2. 論文標題 Complete Genome Sequence of <i>Geobacillus</i> sp. Strain E55-1, Isolated from Mine Geyser in Japan	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Microbiology Resource Announcements	6. 最初と最後の頁 e00339-20
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/MRA.00339-20	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Miyazaki Kentaro, Hase Erina, Maruya Tomomasa	4. 巻 9
2. 論文標題 Complete Genome Sequence of <i>Pseudomonas otitidis</i> Strain MrB4, Isolated from Lake Biwa in Japan	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Microbiology Resource Announcements	6. 最初と最後の頁 e00148-20
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/MRA.00148-20	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Miyazaki Kentaro, Wischart Apirak, Pootanakit Kusol, Kitahara Kei	4. 巻 9
2. 論文標題 Complete Genome Sequence of <i>Vibrio rotiferianus</i> Strain AM7	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Microbiology Resource Announcements	6. 最初と最後の頁 e01591-19
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/MRA.01591-19	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 宮崎 健太郎	4. 巻 53-54
2. 論文標題 リボソーム改変による好熱菌の低温適応進化	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 細胞	6. 最初と最後の頁 44-48
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Miyazaki Kentaro, Hase Erina, Maruya Tomomasa	4. 巻 9
2. 論文標題 Complete Genome Sequence of Bacillus cereus Strain PL1, Isolated from Soil in Japan	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Microbiology Resource Announcements	6. 最初と最後の頁 e00195-20
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/MRA.00195-20	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Miyazaki Kentaro, Izumi Kouki	4. 巻 8
2. 論文標題 Complete Genome Sequence of Alteromonas sp. Strain I4, Isolated from the Japan Sea	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Microbiology Resource Announcements	6. 最初と最後の頁 e01277-19
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/MRA.01277-19	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yu Hiroki, Taniguchi Makoto, Uesaka Kazuma, Wischart Apirak, Pootanakit Kusol, Nishitani Yudai, Murakami Yota, Ishimori Koichiro, Miyazaki Kentaro, Kitahara Kei	4. 巻 8
2. 論文標題 Complete Genome Sequence of Staphylococcus arlettae Strain P2, Isolated from a Laboratory Environment	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Microbiology Resource Announcements	6. 最初と最後の頁 e00696-19
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/MRA.00696-19	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Miyazaki Kentaro	4. 巻 8
2. 論文標題 Complete Genome Sequencing of <i>Thermus thermophilus</i> Strain HC11, Isolated from Mine Geyser in Japan	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Microbiology Resource Announcements	6. 最初と最後の頁 e00873-19
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/MRA.00873-19	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Tomariguchi Natsuki、Miyazaki Kentaro	4. 巻 8
2. 論文標題 Complete Genome Sequence of <i>Rubrobacter xylanophilus</i> Strain AA3-22, Isolated from Arima Onsen in Japan	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Microbiology Resource Announcements	6. 最初と最後の頁 e00818-19
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/MRA.00818-19	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Miyazaki Kentaro、Tomariguchi Natsuki	4. 巻 9
2. 論文標題 Occurrence of randomly recombined functional 16S rRNA genes in <i>Thermus thermophilus</i> suggests genetic interoperability and promiscuity of bacterial 16S rRNAs	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 11233
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-47807-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Miyazaki Kentaro、Tomariguchi Natsuki	4. 巻 8
2. 論文標題 Complete Genome Sequences of <i>Thermus thermophilus</i> Strains AA2-20 and AA2-29, Isolated from Arima Onsen in Japan	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Microbiology Resource Announcements	6. 最初と最後の頁 e00820-19
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/MRA.00820-19	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Tomariguchi Natsuki、Miyazaki Kentaro	4. 巻 9
2. 論文標題 Complete Genome Sequences of Rhodothermus marinus Strains AA2-13 and AA3-38, Isolated from Arima Onsen Hot Spring in Japan	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Microbiology Resource Announcements	6. 最初と最後の頁 e01475-19
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/MRA.01475-19	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Miyazaki Kentaro、Hosoya Kae	4. 巻 11
2. 論文標題 Complete Genome Sequences of Four Parageobacillus Strains Isolated from Soil in Japan	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Microbiology Resource Announcements	6. 最初と最後の頁 e00204-22
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/mra.00204-22	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Miyazaki Kentaro	4. 巻 11
2. 論文標題 Complete Genome Sequences of Thermus Strains Isolated from Senami Hot Spring in Japan	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Microbiology Resource Announcements	6. 最初と最後の頁 e00354-22
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/mra.00354-22	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Sakuma Morito、Honda Shingo、Ueno Hiroshi、Tabata Kazuhito V.、Miyazaki Kentaro、Tokuriki Nobuhiko、Noji Hiroyuki	4. 巻 145
2. 論文標題 Genetic Perturbation Alters Functional Substates in Alkaline Phosphatase	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of the American Chemical Society	6. 最初と最後の頁 2806 ~ 2814
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/jacs.2c06693	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 4件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 宮崎健太郎
2. 発表標題 Genetic Interoperability and Promiscuity of Bacterial 16S rRNA: Proposal for a Random Patch Model
3. 学会等名 第22回 日本RNA学会年会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 宮崎 健太郎、泊口菜月
2. 発表標題 16S rRNAは遺伝子組み換えにより進化する
3. 学会等名 極限環境生物学会 第21回年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 泉 洗輝、佐藤 勝也、大野 豊、宮崎 健太郎、鳴海 一成
2. 発表標題 Rubrobacter sp. AA3-22株の放射線と紫外線に対する耐性
3. 学会等名 QST高崎サイエンスフェスタ2020
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 宮崎 健太郎
2. 発表標題 Directed evolution: irrational approach to molecular engineering
3. 学会等名 日本育種学会 第61回シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 宮崎 健太郎
2. 発表標題 多様性工学 ~進化を利用したセンサー分子探索と高機能化~
3. 学会等名 日本分析化学会第68年会(招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 宮崎 健太郎
2. 発表標題 16SrRNAは遺伝子組み換えにより進化する - リボソーム進化のRandom Patch Modelの提唱 -
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会(招待講演)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関