慶應義塾大学学術情報リポジトリ
Keio Associated Repository of Academic resouces

Title	RNA鎖の連結に関与する酵素群の同定とその性状解析
Sub Title	Identification and biochemical characterization of RNA ligases in archaea
Author	金井, 昭夫(Kanai, Akio)
Publisher	
Publication year	2013
Jtitle	科学研究費補助金研究成果報告書 (2012.)
JaLC DOI	
Abstract	超好熱性アーキアであるPyrococcus furiosusをモデル生物として用い、同アーキア由来でRNA鎖の連結に関わると考えられる3種の酵素に対応する遺伝子を単離し、その組換え体タンパク質を大腸菌にて産生、精製した。これらは、我々が発現クローニング法にて見いだした(a)2'-5' RNA リガーゼ様のPF0027タンパク質。また既に報告がある酵素のホモログとして同定した(b) T4 RNA リガーゼタイプのPF0353タンパク質、及び(c) RtcB リガーゼタイプのPF1615タンパク質である。さらに、これらの酵素と関連する複数の遺伝子を単離し、その組換え体タンパク質を用いて試験管内のRNA 連結反応を解析する系を構築した。
Notes	研究種目：基盤研究(B) 研究期間：2010～2012 課題番号：22370066 研究分野：生物学 科研費の分科・細目：生物科学・分子生物学
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=KAKEN_22370066seika

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

様式Ｃ－１９

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 ２５ 年 ６月 １１日現在

機関番号：３２６１２
研究種目：基盤研究（Ｂ）
研究期間：2010～2012
課題番号：２２３７００６６
研究課題名（和文）　ＲＮＡ鎖の連結に関与する酵素群の同定とその性状解析
研究課題名（英文）　Identification and biochemical characterization of RNA ligases in archaea

研究代表者
金井　昭夫（KANAI AKIO）
慶應義塾大学・環境情報学部・教授
研究者番号：60260329

研究成果の概要（和文）：
超好熱性アーキアである *Pyrococcus furiosus* をモデル生物として用い、同アーキア由来で RNA 鎖の連結に関わると考えられる 3 種の酵素に対応する遺伝子を単離し、その組換え体タンパク質を大腸菌にて産生、精製した。これらは、我々が発現クローニング法にて見いだした(a) 2'-5' RNA リガーゼ様の PF0027 タンパク質。また既に報告がある酵素のホモログとして同定した(b) T4 RNA リガーゼタイプの PF0353 タンパク質、及び(c) RtcB リガーゼタイプの PF1615 タンパク質である。さらに、これらの酵素と関連する複数の遺伝子を単離し、その組換え体タンパク質を用いて試験管内の RNA 連結反応を解析する系を構築した。

研究成果の概要（英文）：
RNA ligase is an enzyme that can catalyze the ligation of RNA molecules through phosphodiester bond. We cloned three RNA ligase genes from a hyperthermophilic archaeon, *P. furiosus* and characterized the recombinant proteins. The three enzymes are: (1) a putative 2'-5' RNA ligase (PF0027 protein), (2) a RtcB-type RNA ligases (PF1615 protein) and (3) a T4-type RNA ligase (PF0353 protein). We successfully reconstituted the ligation reaction *in vitro* by using each purified enzyme. Also, several new enzymes involved in the RNA ligation reaction are characterized.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合　計
２０１０年度	3,500,000	1,050,000	4,550,000
２０１１年度	3,800,000	1,140,000	4,940,000
２０１２年度	3,800,000	1,140,000	4,940,000
総　計	11,100,000	3,330,000	14,430,000

研究分野：生物学
科研費の分科・細目：生物科学・分子生物学
キーワード：RNA 連結、RNA リガーゼ、超好熱性アーキア、再構成系、tRNA

１．研究開始当初の背景

tRNA は 70-100 塩基程度の小さい RNA であるが、特定のアミノ酸と結合し、mRNA に内在された遺伝暗号をタンパク質に変換するステップにおいて極めて根源的な役割を担う。我々の研究グループでは世界に先立ち、様々なタイプの tRNA (転移 RNA)を各種のアーキア(古細菌)や原始的な真核生物であるシゾン菌から見いだして来た。これらの中には複数のイントロンを有するものや該当する遺伝子が 2-3 に分断されている(Split tRNA とよばれる)ものが存在するが、そのプロセシングの過程やメカニズムに関して、ほとんど研究が進んでいなかった。

我々はこれまでに、超好熱性アーキアである *Pyrococcus furiosus* 由来の RNA 関連タンパク質を網羅的に調べ、特に Pre-tRNA (tRNA 前駆体)のプロセシングに関わる因子の候補

を予想して来た。ここで、tRNA からイントロンが除かれた後に、それを連結する酵素（tRNA リガーゼ）に関しては、本研究を開始した 2010 年までに、酵母菌と植物でのみ、詳細な解析がなされていたが、アーキアはもとより、ヒトなどにおいても、該当する遺伝子のホモログは存在せず、分子的な同定はなされていなかった。この状況下において、我々は GTP 依存性の新規の RNA リガーゼの活性を *P. furiosus* 由来の PF0027 タンパク質に見いだした。活性の検出にはイントロンが除かれた後の tRNA を模した合成基質を用いている。ここで、基質となる tRNA 断片の 3'末端側に環状のリン酸が存在し、5'末端側に OH 基が存在した場合に RNA リガーゼの活性を示すが、この構造は Pre-tRNA が tRNA スプライシングエンドヌクレアーゼにより切断された RNA 断片の末端構造と一致している。その反面、本酵素による RNA 連結の効率は悪く、RNA の連結部分は 2'-5'の結合であることが示唆された。すなわち、本酵素のみでは tRNA リガーゼの候補になり得ないと判断された。

一方、Nature 誌にヒトの siRNA をリン酸化する酵素が Pre-tRNA のスプライシングに働いているとの報告があった（Weitzer, S.及び Martinez, J.2007）。この論文の著者らと話し合った結果、我々はアーキアゲノムから本酵素のホモログ遺伝子(PF0112 タンパク質：siRNA kinase-like enzyme をコードする)をクローニングすると共に、その産物のリン酸化活性を確認するに至った。そこで、本研究においては、これらの酵素やアーキアで T4 タイプの RNA リガーゼとして報告された酵素(*P. furiosus* では PF0353 タンパク質; 3'-P と OH-5'末端を連結する)の特性から、RNA の末端構造と RNA 連結の新しいメカニズムに迫ろうと考えた。また、このためには tRNA のプロセシングに関わる基本的な因子全体を明らかにすることが重要と考えられた。

２．研究の目的

主たる対象生物として、既に研究代表者らにより RNA 関連酵素解析の実験的なプラットフォームが構築されている超好熱性アーキア *P. furiosus* を用いて、Pre-tRNA のプロセシング（特に RNA 連結過程）に関わる因子の同定を目指す。また、その実態を(1)生化学的な再構成系、(2)アーキア抽出液からの複合体解析を通して明らかにする。

また、公共のデータベースに登録されているアーキアのゲノム情報や環境サンプルから得られたメタゲノム解析情報等を利用し、Pre-tRNA プロセシングに関わる新規因子に関する知見を得ると同時に、実験的な検証を行なう。

３．研究の方法

これまで、明らかとなっている酵母の tRNA 連結モデルや、ヒトで見いだされ、Pre-tRNA プロセシングに関わることが報告されているリン酸化酵素の特性から、アーキアの Pre-tRNA プロセシングとその反応を司る酵素からなる「作業仮説モデル」を考案し、図１に示した。まず、各反応ステップに対応する *P. furiosus* 由来の酵素の組換え体タンパク質を産生、高度に精製し、該当するステップの酵素反応系を作り上げる。１つの系が出来たら、徐々に複数の酵素を共存させて、ステップワイズな反応が円滑に進む条件を決める。また、同アーキアよりタンパク質の抽出液を調製し、抗体や、タグを連結した組換え体をプローブに用いて、試験管内の再構成系で活性を得たタンパク質が実際に Pre-tRNA のプロセシングに関わっていることを示す。必要に応じて、モデルの変更や最適化を見当する。最終的には、Pre-tRNA のイントロンを tRNA スプライシングエンドヌクレアーゼが切断してから RNA リガーゼがエクソンを連結するまでの試験管内再構成系を構築する。

さらに、tRNA や Pre-tRNA プロセシングに関わる因子の情報科学的な知見を公共の塩基配列データベースや共同研究（海洋開発研究機構、米国カルフォルニア大学 等）を介し入手し、比較ゲノム解析を行なうことで、これまでの常識と異なる事象を列挙する。可能なら、分子生物学に基盤をおいた実験的な証明を実践する。

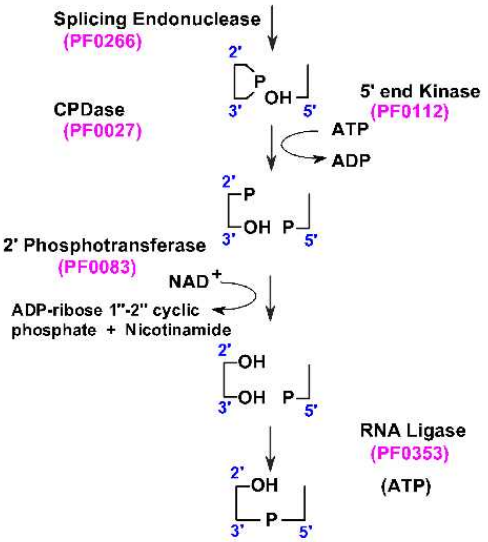

図１　アーキアの tRNA スプライシング中間体連結の作業仮説モデル。Pre-tRNA からイントロンが切り取られた tRNA 断片の末端構造を示している。各酵素が連続的に働き、これらの断片を連結する。

４．研究成果

(1)2 種の RNA リガーゼ（PF0027 タンパク質と PF0353 タンパク質）による試験管内 tRNA 断片連結系の構築

前述のように PF0027 タンパク質も PF0353 タンパク質も特異的な末端構造を有した RNA 基質に対し、各々単独で試験管内の RNA リガーゼ反応を遂行することができる。図１のパスウエイを実験的に証明するために、これら 2 種の RNA リガーゼに加えて、PF0112 タンパク質（5’リン酸化酵素）と PF0083 タンパク質（NAD 依存性の 2’脱リン酸化酵素）を用いた試験管内の tRNA 断片基質連結反応系を構築した。図 2 に示す通り、これら 4 種の酵素を全て使用した場合に、分断された tRNA エクソンを模した基質が連結し、成熟 tRNA に対応するバンドが最も強く出現した。また、この反応は ATP により促進された。

この結果を受け、図１のパスウエイを簡単に解説しておきたい。まず、アーキアの Pre-tRNA に存在するイントロンは特異的な tRNA スプライシングエンドヌクレアーゼ(PF0266 タンパク質)により切断されると考えられる。この時に 5’側半分の tRNA の 3’末端に存在するリン酸基が環状構造をとることが知られている。これを解裂させリボースの 2’の位置にリン酸基を出すのが PF0027 タンパク質である（PF0027 タンパク質は前述した GTP 依存性の RNA リガーゼの活性と共に環状型のリン酸を解裂させる CPDase 活性を併せ持ち、GTP が存在しない時には、CPDase 活性のみが検出されると考えられる）。リボースの 2’の位置のリン酸基はいずれ、この位置に特異的な脱リン酸化酵素（PF0083 タンパク質)により除去される。一方、3’側半分の tRNA の 5’末端にリン酸基を付加するのが PF0112 タンパク質である。この一連の反応の結果、T4 型の RNA ligase（PF0353 タンパク質)が認識出来る末端構造となり、3’-5’の連結が完成すると予想される。

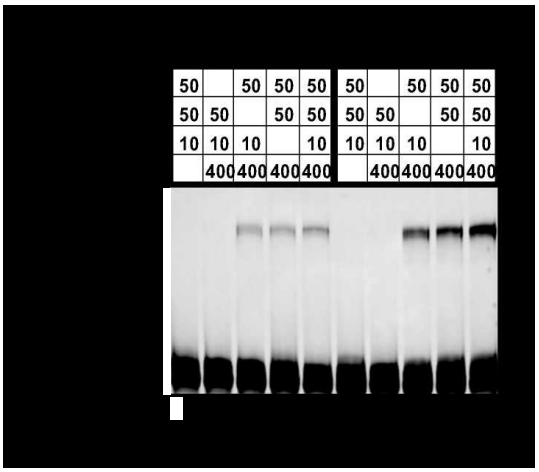

図２　試験管内 tRNA 断片連結系の構築

(2)GTP 依存性 RNA 3’末端リン酸環状化酵素（PF1549 タンパク質）の発見

先の RNA リガーゼ反応を試験管内で遂行するための鋳型を作る過程で *P. furiosus* より RNA 鎖の 3’ 末端に存在するリン酸基を環状化する酵素（RNA 3’末端リン酸環状化酵素［RNA サイクラーゼ］，*Pf*-Rtc と命名）を見出した。*Pf*-Rtc をコードする PF1549 遺伝子は、 アーキアはもとより、大腸菌からヒトに至るまで非常に良く保存されているが、その生物学的な機能は不明な部分が多い。ここで、 *Pf*-Rtc の解析が提示した新しさのうち、興味深いことの一つは、本酵素も PF0027 タンパク質と同じく GTP 依存性であることだ。これまでに報告された酵素は皆 ATP により、そのサイクラーゼ活性が活性化することが分かっているが、*Pf*-Rtc は ATP の 1/10 の GTP 濃度(5 μM)で十分な活性を示した。さらに dGTP を用いた時も，わずかな活性の上昇が認められ，他の dNTP では，まったく影響がなかったことより、本酵素におけるグアニン塩基の重要性が明らかとなり、世界初の GTP 依存性 RNA 3’末端リン酸サイクラーゼとして報告することが出来た（Sato，A.ら 2011)。さらに、基質 RNA の 3’側が環状型でなく通常のリン酸基の場合も、本サイクラーゼの共存下に PF0027 タンパク質による RNA 連結反応が可能となった。生体内での働きについてはさらなる解析が必要である。

(3) tRNA リガーゼである PF1615 タンパク質の解析とさらなる新展開

米国エール大学のグループは、tRNA からイントロンが除去された末端構造を基質として、これを連結させる活性を *Methanopyrus kandleri* から精製し、その構造を決めることで、まったく新しい（RtcB タイプ）RNA リガーゼを発見し、本酵素が tRNA リガーゼの実態であることを証明した(Englert，M.ら 2011)。面白いことにこの酵素遺伝子は大腸菌においては、先に我々が解析した *Pf*-Rtc のホモログ遺伝子である RtcA とオペロンを形成している。我々は、*P. furiosus* における該当遺伝子 *PF1615* をクローニングし、その組換え体タンパク質を解析することで、本酵素も GTP 依存性であることを見出したが、この知見は、その反応機構も含めて、米国の 3 つの研究グループが相次いで報告することになった。また前述した 2 種の RNA リガーゼに含めて、第 3 の RNA リガーゼが同一のアーキアで見出されたことで、*P. furiosus* ゲノム中には少なくとも 3 種の RNA リガーゼが存在し、tRNA のプロセシングにおいても異なる 2 つの経路があることが示唆された。これらの発見はヒトにおける tRNA プロセシング経路とアーキアのそれが相同なものである可能性を示した。

さらに、我々は *P. furiosus* の全細胞抽出液中に PF1615 タンパク質 54kDa 中のうちの C 末端側約 5kDa を特異的に切断するプロテアーゼ活性を見出した。阻害剤の解析より、本活性はキモトリプシン様セリンプロテアーゼによるものと類推され、また全細胞抽出液のゲル濾過解析より、本プロテアーゼは 400kDa におよぶ高分子複合体を形成している可能性を指摘した。

また、我々は PF1615 タンパク質を含め、PF0112、PF0353、PF1549 の各タンパク質を特異的に認識するペプチド抗体を作成し、これらのタンパク質全てが、高次の複合体を形成している可能性を示した。従って、近い将来に RNA プロセシングに関わる複合体の構成因子やその機能研究を行うことが急務となることだろう。

(4)ゲノム情報の解析から得られた Pre-tRNA プロセシング因子や tRNA 断片化過程の新たなる知見

上記の解析に加え、tRNA や Pre-tRNA プロセシングに関わる幾つかの知見を明らかにできた。

まず、米国カルフォルニア大学との共同研究で ARMAN と称される極小のアーキアにおいて 3 つのドメイン構造をもつ新規の tRNA スプライシングエンドヌクレアーゼを発見し、ε2 型として提唱した（Fujishima, K.ら 2011）。

また、海洋開発機構の布浦拓郎博士らは、深海底熱水環境に生息する未培養性アーキアのゲノムをメタゲノムの手法を用いて再構築し、*Caldiarchaeum subterraneum* と命名したが（Nunoura, T.ら 2011）、我々は同グループと共同で研究に用いた Fosmid ライブラリーを解析し、$tRNA^{Thr}$(GGU)のゲノム領域には、少なくとも 3 種の異質性があることを見いだした。これら異質性に関わる塩基配列を詳細に比較検討した結果，tRNA のイントロンが 1 個から 2 個へ増加するに伴い、トランスポゾン様の因子がゲノムに入り込んでいる可能性を指摘した(Sugahara,J.ら 2012)。

さらに、山形県鶴岡市の湯野浜温泉源泉から得た環境サンプル由来の低分子 RNA 分画を次世代シークエンサーにより決定することで、本環境サンプルにはβプロテオバクテリアに由来すると考えられる tRNA およびその断片が膨大に存在することを見出した。詳細にその塩基配列を解析してみると、tRNA 断片は単なる非特異的な分解物でなく、特定のアミノ酸に対応する tRNA が決まった配列で切断されたものであることを明らかに出来た。バクテリアにおいても tRNA を分断化するような特別な未知のヌクレアーゼがあるものと考えられた（Murakami, S.ら 2012）。

本研究ではアーキアを対象としたが,研究課題を遂行しながら、同時にその裏を確認するような形で、真核生物の線虫類で特異的に進化した奇妙な tRNA 群を見いだすことが出来た（Hamashima, K.ら 2012）。興味深いことに、 この tRNA（nev-tRNA と命名）はアンチコドンがグリシンでもロイシンをチャージしてリボソームに入り込み、タンパク質合成に使用可能であった。いわば、高等真核生物で初めて見出された遺伝暗号の例外と云っても良い。nev-tRNA の生物学的な機能に関しては、さらなる研究が必要である。

(5) まとめ

本研究では、アーキアにおいて 3 種の RNA リガーゼの生化学的な解析を行なった。また、精製した複数のタンパク質を用いて、数ステップに渡る tRNA 断片の連結反応を試験管内で再構成することに成功した。これは国内外で初めての知見となる。また、この研究過程を通して、新たな tRNA や tRNA スプライシングエンドヌクレアーゼ、RNA サイクラーゼ等の発見があった。これらも世界に誇れる基礎研究の成果と思われる。

５．主な発表論文等
（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕（計 8 件）

(1) Hamashima, K. and Kanai, A. (2013) Alternative genetic code for amino acids and transfer RNA revisited. ***BioMolecular Concepts*** *in press.* 査読有り

(2) Sugahara, J., Fujishima, K., Nunoura, T., Takaki, Y., Takami, H., Takai, K., Tomita, M. and Kanai, A. (2012) Genomic heterogeneity in a natural archaeal population suggests a model of tRNA gene disruption. ***PLoS ONE*** 7(3): e32504. 査読有り doi: 10.1371/journal.pone.0032504.

(3) Murakami, S., Fujishima, K., Tomita, M. and Kanai, A. (2012) Metatranscriptomic analysis of microbes in an ocean-front deep subsurface hot spring reveals novel small RNAs and type-specific tRNA degradation. ***Applied and Environmental Microbiology*** 78(4): 1015-1022. 査読有り doi: 10.1128/AEM.06811-11.

(4) Hamashima, K., Fujishima, K., Masuda, T., Sugahara, J., Tomita, M. and Kanai, A. (2012) Nematode-specific tRNAs that decode an alternative genetic code for leucine. ***Nucleic Acids Research*** 40(8): 3653-3662. 査読有り doi: 10.1093/nar/gkr1226.

(5) Fujishima, K., Sugahara, J., Miller,

CS., Baker BJ., Di Giulio, M., Takesue, K., Sato, A., Tomita, M., Banfield, JF. and Kanai, A. (2011) A novel three-unit tRNA splicing endonuclease found in ultrasmall archaea possesses broad substrate specificity. ***Nucleic Acids Research*** 39(22): 9695-9704. 査読有り doi: 10.1093/nar/gkr692.

(6) Sato, A., Soga, T., Igarashi, K., Takesue, K., Tomita, M. and Kanai, A. (2011) GTP-dependent RNA 3'-terminal phosphate cyclase from the hyperthermophilic archaeon *Pyrococcus furiosus*. ***Genes to Cells*** 16: 1190-1199. 査読有り doi: 10.1111/j.1365-2443.2011.01561.x.

(7) Nunoura, T., Takaki, Y., Kakuta, J., Nishi, S., Sugahara, J., Kazama, H., Chee, G.-J., Hattori, M., Kanai, A., Atomi, H., Takai, K. and Takami, H. (2011) Insights into the evolution of archaea and eukaryotic protein modifier systems reveled by the genome of a novel archaeal group. ***Nucleic Acids Research*** 39 (8): 3204-3223. 査読有り doi: 10.1093/nar/gkq1228.

(8) 藤島皓介、菅原潤一、金井昭夫 (2010) Tri-split tRNA: 超好酸好熱性アーキアから発見された 3 つの遺伝子に分断された tRNA **生化学** Vol.82, No.7, pp. 606-612 (社)日本生化学会 査読なし URL: http://www.jbsoc.or.jp/event/magazine/pdf/82-07-04.pdf

〔学会発表〕(計 28 件)

(1) 金井昭夫 (2013) 3 月 24-28 日、アーキアにおける tRNA 遺伝子の多様性と進化 シンポジウム 4SY21 アーキア研究から見える遺伝情報伝達系の保存性と多様性 日本農芸化学会 2013 年度大会 仙台

(2) 佐藤朝子、増田豪、冨田勝、伊藤隆、金井昭夫 (2012) 12 月 11-14 日、超好熱性アーキア *Pyrococcus furiosus*における 3 タイプの RNA リガーゼと試験管内 tRNA 断片連結再構成系の構築 第 35 回日本分子生物学会年会 福岡

(3) 金井昭夫 (2012) 12 月 11-14 日、アーキアの進化的位置づけと tRNA 遺伝子の分子進化 ワークショップ 6 生物進化への新しいアプローチ 第 35 回日本分子生物学会年会 福岡

(4) A. Kanai (2012) September 18-21, Molecular evolution of disrupted transfer RNA genes and their introns in Archaea. 16th Evolutionary Biology Meeting at Marseilles, France

(5) 金井昭夫 (2012) 8 月 21-24 日、真核生物の変則 tRNA 遺伝子群 第 14 回日本進化学会大会 ワークショップ WS10「遺伝暗号マジック 20 の起源と進化」 東京

(6) K. Fujishima, J. Sugahara, C. S. Miller, B. J. Baker, M. Di Giulio, K. Takesue, A. Sato, M. Tomita, J. F. Banfield and A. Kanai (2012) May 29–June 2, A novel three-unit tRNA splicing endonuclease found in an ultrasmall Archaea. RNA2012: The 17th Annual Meeting of the RNA Society, Michigan, USA

(7) S. Murakami, Y. Ikeda, E. Noro, M. Tomita, K. Nakahigashi and A. Kanai (2012) May 29–June 2, Characterization of small RNAs by using a ribosome-enriched fraction in *Escherichia coli*. RNA2012: The 17th Annual Meeting of the RNA Society, Michigan, USA

(8) A. Sato, T. Masuda, M. Tomita, T. Itoh and A. Kanai (2012) May 29–June 2, Biochemical Characterization of Three RNA Ligases from the Hyperthermophilic Archaeon *Pyrococcus furiosus*. RNA2012: The 17th Annual Meeting of the RNA Society, Michigan, USA

(9) A. Sato, T. Soga, K. Igarashi, K. Takesue, M. Tomita and A. Kanai (2011) 12 月 13-16 日、A GTP-dependent RNA 3'-terminal phosphate cyclase and its possible role in RNA ligation. 第 34 回日本分子生物学会年会 横浜

(10) A. Kanai (2011) 12 月 13-16 日、Evolution of disrupted transfer RNA genes and their introns in Archaea. 第 34 回日本分子生物学会年会 シンポジウム「A new frontier of computational analysis of functional RNAs」横浜

(11) A. Kanai (2011) November 16-17, Systematic analysis of non-coding RNAs and their regulatory proteins. 大阪大学蛋白質研究所および iFReC (免疫学フロンティア研究センター)合同セミナー (Multilevel Systems Biology: Genomes, Structures, and Networks) 大阪

(12) 金井昭夫、竹末可奈子、佐藤朝子、増田豪、冨田勝 (2011) 9 月 21-24 日、超好熱性アーキア *Pyrococcus furiosus*における 3 種の RNA ligase の性状解析 第 84 回日本生化学会大会 シンポジウム 3S4a「アーキア研究の最前線」京都

(13) 金井昭夫 (2011) 9/15-16 日、RNA 鎖の末端構造と RNA 連結の酵素について 第 10 回新しい RNA/RNP を見つける会 沖縄

(14) 佐藤朝子、曽我朋義、五十嵐香織、竹末可奈子、冨田勝、金井昭夫 (2011) 9 月 2-3 日、超好熱性アーキア *Pyrococcus furiosus* 由来 RNA 3'-terminal phosphate cyclase は GTP 依存にリン酸

基の環状化を触媒する 日本 Archaea 研究会　第 24 回公演会　鶴岡
(15) 金井昭夫 (2011) 8 月 8 日、機能性 RNA とその制御タンパク質から考える生命科学　富山大学 第 72 回生命科学先端研究センター学術セミナー　富山
(16) S. Murakami, K. Fujishima, M. Tomita, and A. Kanai (2011) June 14-18, Metatranscriptomic analysis of microbial communities in Yunohama Hot spring reveals type-specific tRNA degradation and novel small RNAs. RNA2011, Kyoto, Japan
(17) 藤島皓介、菅原潤一、冨田勝、金井昭夫 (2010) 12 月 7-10 日、超好熱性アーキアにおける大規模な tRNA イントロン転移現象の進化的考察　第 33 回日本分子生物学会年会、第 83 回日本生化学会大会合同大会　神戸
(18) 菅原潤一、藤島皓介、布浦拓郎、高木善弘、高見英人、高井研、冨田勝、金井昭夫 (2010) 12 月 7-10 日、メタゲノム情報に基づくアーキア tRNA 遺伝子における分断化過程の解析　第 33 回日本分子生物学会年会、第 83 回日本生化学会大会合同大会　神戸
(19) 喜久田薫、菅原潤一、藤島皓介、冨田勝、金井昭夫 (2010) 12 月 7-10 日、Stepwise processing of pre-tRNA containing three introns in a hyperthermophilic archaeon *Thermofilum pendens.* BMB2010 第 33 回日本分子生物学会年会、第 83 回日本生化学会大会合同大会　神戸
(20) 金井昭夫 (2010) 12 月 7-10 日、Pre-tRNA プロセシングと siRNA の制御を結ぶ酵素の解析 ワークショップ「機能性 RNA とその制御タンパク質から考える生命科学」BMB2010 第 33 回日本分子生物学会年会、第 83 回日本生化学会大会合同大会　神戸
(21) K. Fujishima, J. Sugahara, M. Tomita and A. Kanai (2010) December 1-3, Large-scale intron transposition has contributed to the late gain of introns in the deep-branching Archaea. The 4th Asian Young Researchers Conference on Computational and Omics Biology, Singapore
(22) 金井昭夫 (2010) 11 月 7-9 日、情報科学と実験科学の手法に基づく機能性 RNA 研究　第 58 回日本ウイルス学会学術集会　イブニングシンポジウム「ゲノミクス、情報科学、計算科学とウイルス学」　徳島
(23) 藤島皓介、菅原潤一、冨田勝、金井昭夫 (2010) 8 月 2-5 日、アーキアゲノムにおける tRNA の多様性と進化　日本進化学会 第 12 回東京大会　ワークショップ WS6 ゲノムから見る微生物進化　東京
(24) 金井昭夫、佐藤朝子、冨田勝 (2010) 8 月 2-5 日、アーキア由来核酸関連酵素における RNA と DNA の曖昧な認識について 日本進化学会 第 12 回東京大会　東京
(25) 金井昭夫 (2010) 7 月 9-10 日、超好熱性アーキア *Pyrococcus furiosus* の Pre-tRNA プロセシングに関わる酵素群の解析 第 23 回日本 Archaea 研究会講演会　名古屋
(26) A. Sato, M. Tomita and A. Kanai (2010) June 22-26, Biochemical characterization of a GTP-dependent RNA 3'-terminal phosphate cyclase from a hyperthermophilic archaeon *Pyrococcus furiosus.* RNA2010, Seattle, USA
(27) K. Fujishima, J. Sugahara, M. Tomita and A. Kanai (2010) June 22-26, Large-scale transposition of tRNA introns in the archaeal order Thermoproteales. RNA2010, Seattle, USA
(28) K. Fujishima, J. Sugahara, M. Tomita and A. Kanai (2010) March 10-12, The Origin and Evolution of Disrupted tRNA Genes in Archaea. Asian Young Researchers Conference on Computational and Omics Biology 2010, Taiwan

〔図書〕（計 2 件）
(1) Kanai, A. (2013) Molecular evolution of disrupted transfer RNA genes and their introns in archaea. in "***Evolutionary Biology: Exobiology and Evolutionary Mechanisms***" Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Germany. *in press.* 査読なし
(2) Fujishima, K. and Kanai, A. (2011) Diversity, function and processing of archaeal non-coding RNAs. in "***Archaea: Structure, Habitats and Ecological Significance***" Nova Science Publishers, Inc. New York. pp. 69-94. 査読有り

６．研究組織
(1)研究代表者
金井 昭夫（KANAI AKIO）
慶應義塾大学・環境情報学部・教授
（同・先端生命科学研究所・教授）
研究者番号：60260329

(2)研究分担者
なし

(3)研究協力者
慶應義塾大学大学院学生
同大学・先端生命科学研究所・技術員