Supporting Information

Kitahara et al. 10.1073/pnas.1213609109



Fig. S1. Functionality test of metagenomically retrieved foreign 16S rRNA. (*A*) In-fusion cloning scheme of foreign 16S rRNA genes into an expression vector pRB103 containing the entire *rrnB* operon. The *Escherichia coli* 16S rRNA gene in pRB103 was substituted with foreign 16S rRNA genes amplified from the environmental DNA (metagenome). (*B*) A genetic method to test the functionality of foreign 16S rRNA genes. *E. coli* Δ 7 strain KT101was used to screen for foreign 16S rRNA genes compatible with an *E. coli* genetic background.

16S rRNA gene (E. coli numbering)

			8 8	6	91	92	8 3	95	96	67	86	66	8	5	02	03	8	8	8 2	5 8	8 8	10	÷	12	13	4	15	19	- 4	o 6	2 2	5	52	53	24	58	27	8 8	8 08	31	32	33	32 3	36	37	38	4 33	1	42	\$:	45 45	46	44	49	51
-		-	5 K	ŝ	ŝ	20	5	n n	ŝ	S G	ŝ	ŝ	0	0	0	0	9	9	9 0	0 6	0	9	9	9	9	9	9	9 0	2 6	9	9 9	9	9	9	0 0	9 9	9	99	6 6	9	9	9 9	0 0	9	9	9	9 9	9	9	9 9	0 0	9 0	0 0	0	0 0
E. C	oli			-	T	G	т 🛛	<u> </u>	1	G		C	A	G	A		G	Ξ.	G	<u> </u>	A A	Т	C	c	ç	C	G	G	5 9	2 I	C	A	A	C	C 1		G	G	A (C		G	9 A		C	T	GA	11	A .	C I	T G	G	CA	A	GC
A	0 1		6 C		T	G	1	<u> </u>		G		C	G	G	A		G	Ξ.	G	<u> </u>	A	T	C	c	ç	C	G	G	3 (2 I	C	A	A	C		G	G	G	<u> </u>	C		G	8 ^		C	С	GA	- T	A	C	r G	G	СТ	G	GC
A	0 2			- 14	T	G	T	<u> </u>	1	G	C	A	A	G	A		G		G	<u> </u>	A A	T	C	c	c	G	G	G	a (2 I	T	A	A	C		C	G	G	A (C		G	2 A		T	T	TG	A	A	ç	T G	G	CA	G	AC
A	0 3		6 C		G	T	T	<u> </u>	1	G	С	G	A	G	A		G		G	<u>`</u>	A	Т	C	c	ç	C	G	G	5 (2 T	C	A	A	C			G	G	<u> </u>	Т	G	G			T	T	CG	- A	A	C	r G	G	A C	G	GC
A	0 4				С	G	T 🛛	<u> </u>	1	G		1	A	G	G	A	G		G	A /	A A	G	C	C	ç	C	G	G	5 (2 I	C	A	A	C			G	G	A (T		G	T		C	Т	AA	<u> </u>	A	C I	T G	G	CG	A	GC
A	0 5		6 T		T	G	Т	<u> </u>	1	G	11	C	G	G	A		G		G	<u> </u>	A	G	C	c	C	С	G	G	5 C	2 Т	C	A	A	C			G	G	A (C		G	9 A		T	С	GA	1.1	A	C	r G	C	CA	G	GC
A	0 6		3		T	A	G	<u> </u>	A A	G	11	C	A	G	A	1	G		G	A /	A	G	C	C	c	T	G	G	G (2 T	T	A	A	C			G	G	A (C		G	2 A		T	T	GA	<u> </u>	A	C	T G	C	TG	A	AC
A	0 7		6	- 11	G	A	C		L A	G		C	G	G	G		G	Ξ.	G	<u>,</u> /	A	G	C	C	C	C	G	G	5 (с т	C	A	A	С			G	G	A (Т		G	9 A		Т	C	GA	11	A	C	T G	G	TT	G	GC
A	0 8		6 A		Т	A	Т	TA		\ G		C	G	G	A	1	G	Ξ.	G	A /	A	т	C	c	c	C	G	G	s c	εт	C	A	A	С			G	G	A (C	G	G			T.	С	GA	T	A	C	ΓG	G	TA	G	ТС
A	0 9		3 1		С	G	С	TA	A	۱ G	A	C	A	G	G		G	Т	G	۹ <i>۱</i>	A A	т	С	С	c	С	G	G	g (СТ	Т	Α	А	С			G	G	A A	C		G	G	C	Т	Т	G T	G	A	C .	T G	G	CA	G	GC
A	1 0		3 T	11	Т	G	т	TA	A	۱ G	T.	C	A	G	A	Т	G	т	G	A /	A A	т	С	С	c	С	G	G	s c	СТ	C	Α	А	С			G	G	A A	C		G		T	C	Т	G A	T	Α	C .	ΓG	G	C A	A	GC
в	0 1		G T		Т	Т	G	TA	A	۱ G	С	. т	G	G	G	Т	G	т	G	A /	A A	G	С	С	c	С	G	G	s c	СТ	C	Α	А	С			G	G	A A	C		G	C A		т	С	A G	<u> </u>	A	C .	ΤG	C	A A	G	GC
в	0 2		G T	G	Т	G	т	TA	A	۱ G	Т	Т	G	G	A	Т	G	т	G	A /	A A	G	С	С	c	С	G	G	s c	ст	C	A	А	С			G	G	A A	Т	T	G			т	С	A A	A	A	C .	ΓG	G	C A	C	GC
в	0 4		G	1	Т	Α	A	TA	A	۱ G	т	C	A	G	A	Т	G	Т	G	A /	A A	т	С	С	C	С	G	G	g (СТ	т	A	А	С			G	G	A A	C		G			Т	т	G A	A	A	C .	ΓG	Т	TG	A	GC
в	0 6		G T		Т	A	G	TA	A	۱ G	т	С	A	G	A	Т	G	т	G	۸	A A	G	С	С	С	т	G	G	s c	ст	Т	Α	А	С			G	G	A A	С	Τ.	G	C A	T.	Т	т	GA	A	A	C .	ΓG	С	TG	A	A C
в	0 7		G T	11	Т	Т	G	TA	A	G	Α	С	A	G	G	С	G	т	G	Α /	A A	т	С	С	c	С	G	G	g (СТ	C	А	А	С			G	G	A A	т	G	G	G	C	Т	Т	GT	G	Α	C .	ΓG	C	A A	A	GC
в	1 1		G T	G	A	С	т	TA	A	۱ G	т	G	A	G	G	Т	G	т	G	A /	A A	G	С	С	С	С	G	G	g (ст	т	Α	А	С			G	G	A A	Т	Т	G	C A		Т	т	CA	Т	Α	C .	ΓG	G	G T	C	GC
С	0 1		G T		A	С	т	TA	A	۱ G	С	G	A	G	A	Т	G	т	G	A /	A A	т	С	С	С	т	G	G	g (с т	C	Α	А	С			G	G	CA	C		G	C A		т	т	C G	i A	Α	C .	ΓG	A	G T	G	A C
С	0 2		G T	1	A	т	Т	TA	A	۱ G	Т	C	A	G	A	Т	G	т	G	Α,	A A	т	С	С	C	С	G	G	G (с т	C	A	А	С			G	G	A A	C		G	C A		Т	Т	G A	Т	A	C	F G	G	A T	A	GC
С	0 4		3 T	C	т	G	G	TA	A	G	T	C	G	G	A	Т	G	т	G	A /	A A	G	С	С	c	С	G	G	G (с т	Т	А	А	С			G	G	A A	т	Т	G		T.	Т	С	G A	Т	Α	C	F G	C	T G	G	GC
С	0 8		GΤ	T	Т	G	G	T A	A	۱ G	Т	Т	A	т	C	Т	G	т	G	Α,	A A	т	С	С	С	т	G	G	G (СТ	С	А	А	С			G	G	CA	G	G	Т	C A	G	A	Т	A A	Т	A	C .	T G	C	T G	Α	A C
С	0 9		GΤ	G	Α	С	т	TA	A	G	T	G	A	G	G	Т	G	т	G	Α,	A A	G	С	С	c	С	G	G	G (с т	т	Α	А	С			G	G	A A	т	Т	G	C A		Т	Т	CA	Т	Α	C	F G	G	G T	С	G C
D	0 8		G (C	G	Α	Т	ΤA	A	G	т	C	G	G	A	Т	G	т	G	A /	A A	т	С	С	c	С	G	G	G (с т	т	Α	А	С			G	G	A A	C		G	G	T.	C	С	G A	Т	Α	C	T G	G	ΤТ	G	CC
E	0 1		G		Т	G	Т	ΤA	A	۱ G	т	C	G	G	A	Т	G	т	G	Α,	A A	G	С	С	c	С	G	G	G (ст	C	Α	А	С	C T		G	G	A A	т	Т	G	C A	С	С	С	G A	Т	Α	C	T G	G	C A	A	GC
E	0 3		GΤ	T	Т	G	G	TA	A	۱ G	т	C	G	G	G	Т	G	т	G	Α,	A A	G	С	С	c	С	G	G	G (с т	С	А	А	С	CC	G	G	G	A A	С		G	C A		т	С	G A	T	Α	C	T G	C	с т	G	A C
F	0 2		GΤ	11	Т	G	Т	ΤA	A	۱ G	T.	C	A	G	A	Т	G	т	G	Α,	A A	т	С	С	c	С	G	G	G (с т	С	Α	А	С			G	G	A A	С		G	C A	Т	C	Т	G A	T	Α	C	T G	G	C A	A	GC
F	0 4		G	: T	Т	Α	A	ΤA	A	۱ G	т	C	A	G	A	Т	G		G	Α,	A A	т	С		c	С	G	G	G (с т	т	Α	А	С			G	G	A A	С		G	C A		Т	т	G A	A	Α		T G	Т	T G	A	GC
F	0 6		G T	Т	Т	Α	G	ΤA	A	۱ G	Т	C	A	G	A	Т	G		G	Α,	A A	G	С		С	т	G	G	G (т	Α	А	С			G	G	A A	С		G	C A		Т	т	G A	A	A		T G	C	T G	Α	A C
F	1 0		G T	G	Α	С	Т	ΤA	A	G	т	G	A	G	G	т	G		G	Α,	A A	G	С		c	С	G	G	G (с т	т	Α	А	С			G	G	A A	т		G	C A		т	Т	CA	Т	Α		T G	G	G T	C	GC
G	0 1		G	: Т	Т	G	т	T A	A	G	Т	С	G	G	A	Т	G		G	A /	AA	т	С	С	С	С	G	A	G (сτ	С	A	А	С	Т		G	G	A A	С		G	C A		Т	С	G A	Т	A		ΤG	G	с т	С	GC
G	0 3		G	: т	A	т	т	ΤA	A	G	т	С	T	G	A	Т	G		G	Α,	A A	т	С	С	c	С	G	G	G (с т	С	Α	А	С			G	G	A A	т	G	G	C A		C	G	G A	Т	Α	C	ΤG	G	G T	A	GC
н	0 1		G	T	Т	G	G	ТС	A	G	Т	C	A	G	A	Т	G		G	A /	AA	G	С	С	С	С	G	G	G (сτ	Т	A	Α	С			G	G	A A	т	Т	G	C A		Т	т	G A	Т	A	C	T G	C	с т	G	GC
н	0 2		G T	C	A	т	т	TA	A	G	т	C	G	G	A	Т	G		G	A /	AA	т	С	С	С	С	G	G	G (сτ	С	Α	А	С			G	G	A A	C		G	C A		A	С	G A	Т	A	C	ΤG	G	G T	G	GC
н	0 3		G C	: 1	Т	A	т	T A	A	G	Т	C	T	G	A	C	G		G	A /	AA	G	С	С	с	С	G	G	G (ст	С	A	А	С			G	G	A A	Т		G	сΤ	T	C	A	GA	Т	A	C	ΤG	G	TA	A	GC
													-	14			-	-	0				-			-	~	-	~ ~								-			-	14	10 1								0					

Fig. 52. Multiple alignment of the h21 region (G588–C651) of the 16S rRNA genes obtained from the environmental metagenome. The residues conserved in all of the sequences are shaded in black, those conserved in 80% of the sequences are in dark gray, and those conserved in 60% are in light gray. The consensus sequence is shown in red at the bottom of the alignment.

E. coli	A CCUGGOA CUGCAUCUGU CU GOCAAGC -C 11-111	B02	A^CCUUGGA ^J UUCAUUCA ^M LU GOCACO 	F02	A CCUGGGA CUGCAUCUGA CUGGGAAGC -C IIIII • · · · · · · · · · · · · · · · ·
A01	A^CCUGGGA ^A CUGCAUCCGACUGGC -C II-III - IIIIIIIIIII UCGGGCCCC GUGGGCUGAUUCUUCG /AA ^A 600 A	B04	4 CCUUGGGA ^A GUG AUUUGA GU GUUGAGG -U COUGGGA U COUGGGCC GUILIGAI GA AAAUUGG AAA soo	F04	4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 4
A02	A^CCUCGGA ^{AC} UGCAUUUUUGAU GGCAGAC -U 11-114	B06	** ccusosa ^A Guoc Augu ok cu ocusa c 	F06	4 CCUGGGA CUGC AUUUGA CU GCUGA C -U CGGGUCCC GUGACUGA CU GUGA C AA 600 A
A03	A^CCUGGGA ^A UGGCAUUUUCG ^C CUGGACGGC -C IIIIIG UCGGGGCCCC C GUGAAGCGAUUUUGUCG /AA ^A 000	B11	**************************************	F10	A^CCUGGGA ^I U OC AUUUCA ^{IU} A -U CGGGCCCC C GGGCCCC AAA 600 A
A04	A^CCUBGGA ^A UUGUUUAAACUUGGGAGG -CII-II- -CII-II- -CGGGGGGGGGGAUGGAUUGAUUGGUUG -CAA -CAA	C01	** ccuagac ⁴ Cuoc Auuu c ¹ 8 Cu a Auuo c - u coaauce auuch a cuoch c - u coaauce auuch au chu chu c - A & couch a cuoch auuch u a - A & cuoch a cuoch au	G01	A^CUUGGGA ^A CUGCAUUCA ^{WA} CUGCUGC -C UCGAGCCCCG GUGAGCUGAUUGUUCG VAA 600
A05	A^CCUGGGA ^A CUGCAUUGGUA UCGGGGCCC UCGGGGCCCC GUGUAGGCU GAUUGUUG /AA 600	C02	**************************************	G03	-C-C-C-C-C-C-C-C-C-C-C-C-C-C-C-C-C-C-C
A06	A^CCUGGGA ^{AC} UGCAUUUG ^A CU GCUGAAC -UCGGGGCGC GUGUAGACU GAUUUG -AA ^A 000	C04	**************************************	H01	
A07	A^CCUGGGA ^{AU} UGCAUUCGA ^{CU} UGGUGGC -C IIIGIA UGGGGCCC G GUGGGCU GAUGAGUCG AAA 600 A	C08	**************************************	H03	A^CCUGGGA ^L UGCUUCAGACUGUAAGC C C C GUGCAGCUGUAUAUUCG C GGGGCCCC GUGCAGCUGUAUUAUUCG
A08	A^CCUGGGA ^A CGGCAUUCGA CU GGUAQUC -C 11.000 UCGGGCCCC G GUGUAGGCU GAUUANUA G /AA ^A 600	C09	4 ccuasa ^{4 u} uoc Auu u v v cu a agu ca u ccasa cco au au casa a u u cagu ca u ccasa cco au au au u cagu ca u ccasa cco au au au u cagu ca u ccasa cco au au u ccasa cco au	Consensus	
A09	AACCUGGGACCG, GUUGGACCGAU GGG -U 11-11-0 -U 11-0 -U 1	D08			
A10	AACCUGGGACUGCAUCUGACUGGGACG -C 11-110	E01	4 CCUBGGA UUC ACCCGA CU GGAAGC 		
B01	ΔΑ CCUGGGA CUGA UUGAU - Δ CCUGGGA CUGA UGAUGA - UCGGGCCCC GUGUGGUGA UGUUUG - ΔΑΑ	E03	800 A * cccaca * Cuo u u u u u u u v - Cuo u u u u u u u u u u u u u u u u u u		

Fig. S3. Conserved nature of the secondary structure of h21 of the 165 rRNA obtained from the environmental metagenome.

PNAS PNAS



Interface view

Fig. S4. Length polymorphism of RNA helices. (A) Comparison of secondary structures. The RNA h6, h10, and h17 of H01 are shorter than those of *E. coli* by 7, 15, and 25 bases, respectively. h6 of B01 is elongated by 13 bases. (B) Positions of h6, h10, and h17 in the crystal structure of the *E. coli* ribosome.