

519 麹菌 *Aspergillus oryzae* 硫黄代謝の転写制御ネットワークの解析  
(産業技術総合研究所) ○佐野元昭、高瀬久美子、町田雅之

【目的】 麹菌 *Aspergillus oryzae* は日本の発酵産業で幅広く利用されているが、その転写制御についての解析はあまり進んでいない。そこで今回、硫黄代謝の正の制御を行う *metR* 遺伝子と負の制御を行う *sconB* 遺伝子を取得し解析を行ったので報告する。

【方法および結果】 既に報告されている *A. nidulans* 遺伝子のアミノ酸情報を元にプライマーを合成し、*A. oryzae* RIB40 染色体 DNA を鋳型として PCR を行った。得られた断片の塩基配列にもとづいてさらにプライマーを合成し、gene walking 法により *metR*, *sconB* 両遺伝子の全塩基配列を決定した。*sconB* 遺伝子は *A. nidulans* の *sconB* 遺伝子と高い相同性を示したが、*metR* 遺伝子は DNA 結合領域のみ *A. nidulans* の *metR* 遺伝子と高い相同性を示し、他の部分の相同性は低かった。両遺伝子とも塩基配列中に 1 つのイントロンが存在し、*metR* 遺伝子のイントロンは約 700 bp に達した。また、両遺伝子のプロモーター配列中には *metR* 蛋白が結合すると思われる配列があり、現在ゲルシフト解析により、この部分に *metR* 蛋白が結合するか確認をおこなっている。

Analysis of sulfur regulatory network in *Aspergillus oryzae*

○Motoaki Sano, Kumiko Takase, Masayuki Machida (AIST)

**Key Words** *Aspergillus oryzae*, sulfur regulatory, gel shift

520 *Aspergillus oryzae* エノラーゼ遺伝子(*enoA*)プロモーターの GUS およびゲルシフトによる解析

(産総研、\*生産技術) ○戸田 智美、佐野 元昭、本田 宗央\*、Omar J Rimoldi、町田 雅之

【目的】 近年、麹菌の遺伝子レベルでの解析が急速に進み、遺伝子の機能や発現制御に関する統括的な知見が今後益々重要になると予想される。本研究では、*A. oryzae* 解糖系遺伝子の中でもグルコース存在下で高い発現を示すエノラーゼ遺伝子(*enoA*)に着目し、そのプロモーターの転写制御に関する知見を得ることを目的とした。

【方法及び結果】 PCR により、*enoA* の翻訳開始点から約 100bp ごとに上流約 800bp までの異なる長さの DNA 断片を調製し、 $\beta$ -グルクロニターゼ(GUS)をレポーター遺伝子として *A. oryzae* niaD300 株に導入した。得られた形質転換株のレポーターアッセイの結果、翻訳開始点の上流-224 から-121nt に位置する約 100bp の領域が、エノラーゼ遺伝子の発現に関与する最も重要な領域であることが明らかとなった。さらに、この領域に特異的に結合する転写制御因子の有無を調べるため、ゲルシフト解析を行ったところ、-195 から-181nt の 15bp の領域をターゲットとする特異的因子の存在が認められた。

Deletion analysis of the enolase gene (*enoA*) promoter from the filamentous fungus *Aspergillus oryzae* ○Tomomi Toda, Motoaki Sano, Munechika Honda\*, Omar J. Rimoldi, Masayuki Machida (National Institute of Advanced Industrial Science and Technology, \*Gifu Prefectural Institute for Bioindustrial Technology)

【Key words】 *Aspergillus oryzae*, gel mobility shift assay, enolase gene, transcription regulation