

- 521 メタノール誘導性遺伝子プロモーターの転写活性化領域の解析
 ○由里本博也、谷中美貴子、久保田貴之、阪井康能、加藤暢夫
 (京大院・農・応用生命)

【目的】メチロトローフ酵母 *Candida boidinii* がメタノールを単一炭素源として生育する際、メタノールをホルムアルデヒドへと酸化するアルコールオキシダーゼ (Aod1p) とホルムアルデヒドを固定するジヒドロキシアセトンシンターゼ (Das1p) が著量誘導される。これまでの両遺伝子プロモーター (*PAOD1*, *PDAS1*) の解析の結果、*PAOD1* はホルムアルデヒドの急激な蓄積を抑制するために、メタノールの代謝過程と共役した発現調節を受けていること、*PDAS1* は最も強力なメタノール誘導性プロモーターであり、メタノール応答性に優れていることがわかった。そこで本研究では、両プロモーターの転写活性化領域の特定を試みた。

【方法及び結果】メタノール代謝経路を寸断した *AOD1/DAS1* 二重遺伝子破壊株をプロモーター解析の宿主に用いた。*PAOD1* はメタノールだけでなく、代謝産物であるホルムアルデヒド、ジヒドロキシアセトン、グリセルアルデヒドによっても活性化されたので、これら4種の誘導基質に応答する領域を、*PAOD1* の様々な領域の欠失変異体を用いて探索した。*PDAS1* についても同様に解析し、メタノールとホルムアルデヒドに両方応答する領域 (*MRE1*, *MRE2*) を決定した。さらに *MRE1* に特異的に結合するタンパク質が核抽出液中に存在することを見出した。

Analysis of methanol-inducible promoters.

○Hiroya Yurimoto, Mikiko Yanaka, Takayuki Kubota, Yasuyoshi Sakai, Nobuo Kato
 (Div. Appl. Life Sci., Grad. Sch. Agric., Kyoto Univ.)

【Key Words】*Candida boidinii*, alcohol oxidase, dihydroxyacetone synthase, promoter, transcription, methanol induction

- 522 麹菌の固体培養特異的な遺伝子の機能解析
 (酒類総合研究所) ○吉内くみ、赤尾健、山田修、後藤邦康、秋田修

【目的】麹菌 *Aspergillus oryzae* は、培養条件によりその遺伝子発現パターンを大きく変化させる。産業上有用な麹菌の培養様式は多くの場合固体培養であり、酵素生産や分泌などにおいて液体培養時よりも優れた能力を発揮する。しかし、その発現機構についてはいまだ解明されていない部分が多い。そこで、固体培養時に特異的に発現する遺伝子をクローニングしその機能を解析することによって、固体培養条件下の麹菌の発現機構について考察する。

【方法および結果】小麦ふすまでの麹菌 *Aspergillus oryzae* の固体培養特異的遺伝子のライブラリーが、当研究室ですでに作成されている。これらは既知の遺伝子だけではなく機能未知遺伝子を多く含んでいることがわかった¹⁾。これらのうちマンノシダーゼ様、グルタミナーゼ様、機能未知のタンパク質をコードする遺伝子に関して、それぞれ構成的または誘導的プロモーターと連結し麹菌で発現させることにより、その産物の機能解析を試みている。

1) 2000年度 生物工学会要旨集、p.300

Functional analysis of the solid-state culture specific genes of *Aspergillus oryzae*

○Kumi Yoshiuchi, Takeshi Akao, Osamu Yamada, Kuniyasu Goto, Osamu Akita (National Research Institute of Brewing)

【Key words】*Aspergillus oryzae*, solid-state culture specific gene, functional analysis