

講演番号：3B41p16

講演日時、会場：3月28日 17:15～ B校舎41会場

油糧性微生物 *Mortierella alpina* 1S-4 株における新規プロモーターの探索および評価

Selection and functional characterization of promoters in an oleaginous fungus *Mortierella alpina* 1S-4

○奥田 知生¹、安藤 晃規²、櫻谷 英治^{1,3}、鎌田 望⁴、落合 美佐⁴、小川 順^{1,2} (1京大院・農・応用生命、²京大・生理化学、³徳島大院・ソシオ、⁴サントリーグローバルイノベーションセンター)

○Tomoyo OKUDA¹, Akinori Ando², Eiji Sakuradani^{1,3}, Nozomu Kamada⁴, Misa Ochiai⁴, Jun Ogawa^{1,2} (1Grad. Sch. Agric., Kyoto Univ., ²Res. Unit Physiol. Chem., Kyoto Univ., ³Inst. Technol. Sci., Univ. Tokushima, ⁴Suntory Global Innovation Center Ltd.)

【背景】

Mortierella alpina 1S-4 株はアラキドン酸、エイコサペンタエン酸をはじめとする長鎖多価不飽和脂肪酸 (PUFA) を著量蓄積する油脂生産糸状菌である。本研究室ではこれまでに 1S-4 株の分子育種法を開発し、遺伝子操作によって脂肪酸合成経路を改変することにより、多彩な機能性 PUFA の生産を実現してきた。しかし、より精密な分子育種に向け、使用可能なプロモーターを多様化する必要がある。そこで本研究では、本株の分子育種に有用な新規プロモーターの取得を目的とし、本株におけるプロモーター評価系の確立および確立した評価系を用いたプロモーター解析を行なった。

【方法と結果】

Escherichia coli 由来 GUS(β -glucuronidase)遺伝子をレポーターとするプロモーターアッセイ系を確立すべく、GUS 遺伝子上流のプロモーター領域を容易に置換できるようデザインしたアッセイ用ベクターを構築した。このベクターを *M. alpina* 1S-4 ウラシル要求性株にアグロバクテリウム法にて導入した。得られた形質転換体において、GUS 発現カセットが染色体上に 1 コピーで挿入されていること、GUS 活性値を 4-nitrophenyl- β -D-glucuronide を基質とする酵素アッセイによって定量的かつ再現性良く測定できることを確認した。続いて、本株のゲノム情報及び EST 解析結果をもとに約 30 種類の有用プロモーター候補を選抜し、上述の評価系を用いて活性を評価した。その結果、従来のプロモーターの約 5 倍の活性を示す高発現プロモーター、時期特異的発現プロモーター等、分子育種に有用と考えられる特徴を示す新規プロモーターを多数見いだした。

Mortierella alpina, promoter, molecular breeding