

講演番号：2A21a05

講演日時、会場：3月27日 09:44～ A校舎21会場

油糧微生物 *Mortierella alpina* 1S-4 株における  $\Delta 12$  不飽和化酵素遺伝子破壊によるミード酸高生産株の構築

Construction of Mead acid-producing strain by knocking out  $\Delta 12$ -desaturase gene from an oleaginous fungus *Mortierella alpina* 1S-4 strain

○盤若 明日香<sup>1</sup>、菊川 寛史<sup>1</sup>、安藤 晃規<sup>1,2</sup>、櫻谷 英治<sup>1,3</sup>、落合 美佐<sup>4</sup>、清水 昌<sup>1,5</sup>、小川 順<sup>1,2</sup> (1京大院農・応用生命、<sup>2</sup>京大・生理化学ユニット、<sup>3</sup>徳島大院・ソシオ、<sup>4</sup>サントリーグローバルイノベーションセンター株式会社、<sup>5</sup>京都学園大・バイオ環境)

○Asuka HANNYA<sup>1</sup>, Hiroshi KIKUKAWA<sup>1</sup>, Akinori Ando<sup>1,2</sup>, Eiji Sakuradani<sup>1,3</sup>, Misa Ochiai<sup>4</sup>, Sakayu Shimizu<sup>1,5</sup>, Jun Ogawa<sup>1,2</sup> (1Div. Appl. Life Sci., Grad. Sch. Agric., Kyoto Univ., <sup>2</sup>Res. Uni. Physiol. Chem., Kyoto Univ., <sup>3</sup>Inst. Technol. Sci., <sup>4</sup>Suntory Global Innovation Center Ltd., <sup>5</sup>Fac. Bioenviron. Sci., Kyoto Gakuen Univ.)

### 【背景・目的】

近年、高度不飽和脂肪酸(PUFA)が心疾患の予防や、脳機能の発達、さらには、アレルギー抑制などに有効であることが報告され、医療・食品分野での需要が高まっている。これまでに我々は、化学変異剤を用いた油糧微生物 *M. alpina* 1S-4 の育種により、種々の PUFA の特異的生産を可能としてきた。本研究では、相同組換えによる遺伝子破壊を利用した稀少脂肪酸の高生産を目指し、 $\Delta 12$  脂肪酸不飽和化酵素 ( $\Delta 12DS$ ) 遺伝子破壊によるミード酸高生産株の取得を試みた。

### 【方法・結果】

非相同末端結合に不可欠な *lig4* 遺伝子をノックアウトすることで相同組換え頻度が向上した株を宿主とした。まず、二回交差相同組換えを想定した  $\Delta 12ds$  遺伝子破壊コンストラクトを構築し、アグロバクテリウム法により *M. alpina* 1S-4  $\Delta lig4$  株の胞子に導入した。得られた形質転換株を GY 液体培地 (Glucose 2%, Yeast extract 1%) にて培養後、菌体内総脂質をメチルエステル誘導体化し、ガスクロマトグラフィー分析に供した。その結果、形質転換株 13 株中 3 株において  $\omega 6$  脂肪酸蓄積量の減少に伴った  $\omega 9$  脂肪酸、特にミード酸の蓄積を認めた。宿主株との比較においてこれらの形質転換株の生育に差はなく、化学変異剤により取得した  $\Delta 12ds$  欠損株との比較において、より高いミード酸蓄積量を示した。

*Mortierella alpina* 1S-4, Mead acid,  $\Delta 12$ -desaturase