



# Microbial production of dihomono- $\gamma$ -linolenic acid by $\Delta 5$ -desaturase gene-disruptants of *Mortierella alpina* 1S-4

$\Delta 5$ -不飽和化酵素遺伝子を破壊した *Mortierella alpina* 1S-4 によるジホモ- $\gamma$ -リノレン酸の微生物生産

(JBB, Vol. 122, No. 1, 22–26, 2016)

菊川 寛史<sup>1,a</sup>・櫻谷 英治<sup>1,2</sup>・安藤 晃規<sup>1</sup>・奥田 知生<sup>1</sup>・清水 昌<sup>1,3</sup>・小川 順<sup>1\*</sup>

不飽和脂肪酸 (C=C二重結合を有する脂肪酸) のもつ生理機能が明らかになり、健康増進に資する機能性食品や医薬品としての開発が進められている。なかでも、エイコサペンタエン酸 (EPA) などの $\omega 3$ 脂肪酸は、その機能に関する科学的エビデンスが充実しており、特に EPA は、EPA エチルエステル誘導体に血中の中性脂肪濃度を低下させる機能が認められ、高脂血症や動脈硬化の治療薬として使用されている。その他にも、今後の基礎研究により機能性食品や医薬原料としての利用が期待される不飽和脂肪酸がある。ジホモ- $\gamma$ -リノレン酸 (DGLA, 図1) も応用が期待される不飽和脂肪酸であり、抗がん作用・抗炎症作用を促進すると報告されている<sup>1)</sup>。しかし、DGLA を蓄積する天然資源はあまり知られておらず、菌類・藻類・原虫などがわずかに蓄積するのみである。そこで、DGLA など希少な有用脂肪酸の安定供給源として、大量培養が簡便な微生物が注目されており、さまざまな育種研究が推進されている。

筆者らの研究室では、京都大学周辺の土壌から単離した糸状菌 *Mortierella alpina* 1S-4 が不飽和脂肪酸の一つであるアラキドン酸 (ARA) を微量蓄積することを見だし、ARA 高含有油脂の工業生産を実現した<sup>2)</sup>。本菌においては、宿主ベクター系および遺伝子導入法が確立されており、近年ようやく相同組換えを介した標的遺

伝子の破壊技術も確立された<sup>3)</sup>。本研究では、標的遺伝子破壊により本菌の代謝を改変することで、DGLA 生産株の開発を目指した。

DGLA は ARA の代謝前駆体であり、1ステップの不飽和化反応により DGLA から ARA が生合成される (図1)。そのため、本菌を親株とした DGLA 高生産株の分子育種には、ARA への変換を担う  $\Delta 5$ -不飽和化酵素 ( $\Delta 5$ -desaturase,  $\Delta 5ds$ ) の欠損が有効であると考えられた。

まず、二回交差相同組換え断片をアグロバクテリウム法にて本菌に導入し、 $\Delta 5ds$ 破壊株を作製した。この際、50%の効率で目的の破壊株を取得し、本菌における遺伝子破壊技術の効率性を再現するに至った。これら破壊株の菌体内総脂肪酸を分析したところ、親株で含有率が20%以上も蓄積されていた ARA はまったく検出されず、親株での含有率が5%ほどであった DGLA が最大で約40% (884 mg/L of broth) 蓄積した。DGLA 含有率の顕著な改善だけでなく、ARA を蓄積しないことは、DGLA 精製における ARA の混入を克服する利点となる。また、本菌を低温条件で培養することで $\omega 3$ -不飽和化酵素 ( $\omega 3ds$ ) 活性が発現し、DGLA や ARA をそれぞれ対応する $\omega 3$ 脂肪酸へと変換する。 $\Delta 5ds$ 破壊株を低温培養することで、親株での含有率が0.4%であったエイコテトラエン酸 (ETA) の含有率が4.5%まで向上し、その生理機能解析に向けたサンプル供給が初めて可能となった。

今後、本親株を宿主とする種々の不飽和脂肪酸生産株のライブラリー化が可能となり、それらによって生産される各種不飽和脂肪酸の有用性の発見・解明と応用面での開発が期待される。

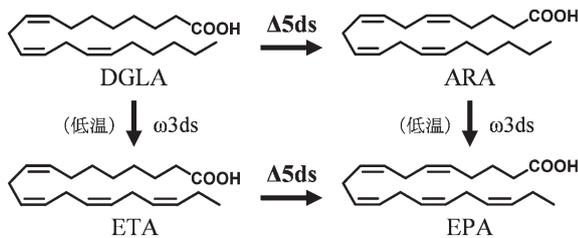


図1. 本菌がもつ不飽和脂肪酸生合成経路の一部

- 1) Wang, X. *et al.*: *Lipids Health Dis.*, **11**, 25 (2012).
- 2) Sakuradani, E. *et al.*: *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **84**, 1 (2009).
- 3) Kikukawa, H. *et al.*: *J. Biotechnol.*, **208**, 63 (2015).

\* 著者紹介 <sup>1</sup> 京都大学大学院農学研究科応用生命科学専攻 (教授) E-mail: ogawa@kais.kyoto-u.ac.jp

<sup>2</sup> 徳島大学生物資源産業学部, <sup>3</sup> 京都学園大学バイオ環境学部, <sup>a</sup> 現 岐阜大学工学部化学・生命工学科 (助教)