

大学院教育支援機構 企業寄附奨学制度 (DDD) 報告書

氏名	迫野真大
研究科・専攻	農学研究科応用生命科学専攻
修士/博士・学年	修士 1 回
支援企業名	株式会社ニッポン

・提出期限：2024 年 3 月 29 日（金）17：00

・ページ数に制限はありません。

・写真や図なども組み込んでいただいて結構です。

・各項目について具体的に記述してください。

奨学金を得て行った研究の成果

【背景】

エイコサペンタエン酸(EPA)をはじめとする ω 3 系多価不飽和脂肪酸(ω 3-PUFA)は動脈硬化抑制や免疫調整等の機能が報告され、健康維持に有用な物質として注目を集め、需要が高まっている。

現状では、この EPA 含有油脂の生産は主に魚油が天然供給源となっているが、その純度・持続性の低さから、将来的な需要増加に対応すべく微生物・藻類・植物など安定供給が期待できる代替供給源の探索が必要とされている。

Mortierella alpina は土壌から単離される油糧糸状菌であり、一部の株は ω 6 系 PUFA であるアラキドン酸を著量蓄積する菌として産業利用されている。本菌は低温下で ω 3 不飽和化酵素を発現しアラキドン酸から EPA を生産するが、低温下での培養に際しては低温維持コスト、代謝低下による生産低下など、商業的生産においては課題が多い。

先行研究において常温 EPA 生産株の作出に卵菌類由来 ω 3 不飽和化酵素が用いられたことから、本研究においては、常温下でより高 EPA 生産性を示す株の作出を目的として、卵菌類由来の新規 ω 3 不飽和化酵素の探索および宿主株のスクリーニングを行った。

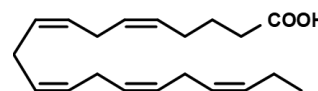


図1 EPA, 20:5 ω 3



図2 *Mortierella*属糸状菌

【研究成果】

1. 卵菌類由来の新規 ω 3 不飽和化酵素の探索

先行研究に基づき、卵菌類を対象としたスクリーニングにより、常温下での EPA/ARA 比および ω 3/ ω 6 比から、*Pythium sulcatum* と *Plectospira myriandra* の 2 株を選抜した。これら 2 株からそれぞれ *psul* ω 3、*pmd17c/g* を ω 3 不飽和化酵素遺伝子としてクローニングした。塩基配列をもとに系統解析から、これらの ω 3 不飽和化酵素遺伝子は既知の卵菌 ω 3 不飽和化遺伝子を含むクレードに属していた。

2. 酵母発現系を用いた基質特異性の確認

単離した ω 3 不飽和化酵素を *Saccharomyces cerevisiae* において発現させ、酵素の基質特異性の解析を行った。結果、PSUL ω 3 はすべての ω 6 系脂肪酸を基質とするのに対し、PMD17C と PMD17G は炭素数 20 の ω 6 系脂肪酸特異的に不飽和化することが確認された。

3. *M. alpina* における異種発現株の作出

M. alpina に対し、これら 3 つの ω 3 不飽和化酵素遺伝子をそれぞれ導入したところ、常温培養により、総脂肪酸の 38-40%に相当する EPA 生産を達成した。

4. 新規宿主株の探索

組み換え株の EPA 生産性は異種発現の宿主株におけるアラキドン酸蓄積量に依存することから、より EPA 生産に適する宿主株の探索を目的とし、分譲株および土壌単離株に対してスクリーニングを行った。結果、現行の株と同等以上のアラキドン酸生産性を示す株を 3 株得た。

産学協同の取組における成果

上述の通り、*M. alpina* は低温下で EPA 生産性を示すことから EPA の代替供給源として期待される。しかしながら、商業的生産を目的とする上で、低温での培養は低温維持にかかるコストや菌体生育低下による生産量の減少などが課題であった。本研究における成果から、EPA 生産の常温化が達成されることで、EPA の魚油非依存的で安定性・持続可能性の高い供給法の確立が期待される。

また、本奨学金の受給に際して、産学共同の取組の一環として、2月中旬に支援頂いた企業の方を含めた研究内容の発表を行った。この場において研究内容について産業的な観点から頂いた意見等を基に、今後の研究に活かしたい。

今後の展望

○スクリーニング株の同定および ω 3 不飽和化酵素の異種発現

スクリーニングにより得た新規な宿主候補株について、遺伝学的手法を用いた系統解析を行い、既存株との類縁性を明らかにする。さらにこの株について単離した ω 3 不飽和化酵素遺伝子の異種発現系を構築することで、より EPA 生産性の高い株の作出に取り組む。また、作出後にはスケールアップおよび培養条件の検討を行う。