مجله دنیای میکروب‌ها
سال یازدهم شماره اول (پیاپی ۳۴) بهار ۱۳۹۷
صفحات ۲۸-۶

Review Article

مهندسی تولید چربی در ریزسازواره های روغنی

فاطمه قناعتیان[۱]، احمدفرهاد طالبی[۲*]

[۱] دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشگاه سمنان، دانشکده زیست فناوری میکروبی، گروه زیست فناوری میکروبی، [۲] استادیار، دانشگاه سمنان، دانشکده زیست فناوری، گروه زیست فناوری میکروبی.

چکیده

روغن های میکروبی به دلیل تأمین اسیدهای چرب ضروری و به عنوان منابع تجدیدپذیر انرژی، مورد توجه محققین قرار دارند. ریزسازواره های روغنی تا بیش از ٦٠ درصد وزن خود، روغن را به شکل تری گلیسرید انباشته می کنند. چهار گروه از ریزسازواره ها شامل باکتری ها، ریزجلبک ها، قارچ ها و مخمرها از بزرگترین تولید کننده های روغن های میکروبی هستند. عوامل مختلف فیزیکی و شیمیایی در تولید روغن های میکروبی موثراند. از میان عوامل مختلف می توان به منبع کربن، فقر برخی از مواد مغذی دما، شدت نور و pH محیط اشاره نمود. بهینه سازی تولید روغن های میکروبی توسط عوامل مختلف فیزیکی و شیمیایی با محدودیت هایی روبه رو است. بنابراین، در حال حاضر بیشتر پژوهش ها به سمت اصلاحات ژنتیکی برای بهینه سازی تولید چربی در ریزسازواره های روغنی معطوف شده اند. در این مطالعه مروری، نخست مقالات مرتبط با عنوان مهندسی تولید چربی در ریزسازواره های روغنی با کلیدواژه های مرتبط، از سال ۱۹۹۰ تا سال ۲۰۱۷ در پایگاه علمی جستجو و از بین ۲۱۰ مقاله اصیل، جمعاً ۸۹ مقاله انتخاب و مورد بررسی قرار گرفت. به منظور تحقق هرچه بهتر جایگزینی منابع جدید روغن در ابعاد وسیع، این منابع باید از نظر ویژگی های منحصربفردی مانند تولید اسیدهای چرب غیراشباع، عملکرد تولید روغن، محتوی و نوع چربی تولید شده بهینه شوند. مقاله حاضر تلاشی است برای ارائه مجموعه جامعی از راهبردهای افزایش عملکرد تولید روغن در ریزسازواره های روغنی که ضمن حفاظت از محیط زیست و منابع ژنتیکی، می توانند در راستای اهداف اقتصادی بنگاه های دانش بنیان موثر واقع شوند.

واژگان کلیدی: روغن های میکروبی، ریزسازواره های روغنی، سوخت زیستی، مهندسی ژنتیک، متابولیسم چربی.

دریافت مقاله: شهریور ماه ۹٦ پذیرش برای چاپ: مهر ماه ۹٦

مقدمه

اسیدهای چرب و مشتقات آن ها از جمله مولکول هایی هستند که در صنایع مختلف غذایی، دارویی، بهداشتی و انرژی حائز اهمیت هستند. در قرن حاضر، تأمین غذا و انرژی اهمیت بسزایی در زندگی انسان یافته است. حدود ۹۰٪ از نیازهای انرژی جهان با اتکا به سوخت های فسیلی تامین می شود (۱). اما استفاده از این سوخت ها مشکلات عمده ای را به دنبال دارد؛ تغییر در شرایط اقلیمی به علت آزاد شدن گازهای گلخانه ای از احتراق سوخت های فسیلی، به صورت مستقیم زندگی انسانی و اکوسیستم را تهدید می کند (۲). از طرفی با افزایش قیمت سوخت های فسیلی و تجدیدناپذیری آن ها، نیاز به توسعه سوخت های تجدیدپذیر به صورت روزافزون احساس می شود (۳). از سوی دیگر با افزایش جمعیت انسانی، نیازهای تغذیه ای آن ها نیز در حال افزایش است که این خود کاهش دسترسی افراد به برخی از منابع غذایی تکمیلی را به دنبال دارد. به عنوان نمونه کاهش شدید تولید غذاهای دریایی منجر به سوء تغذیه به دلیل کاهش دریافت

*) آدرس برای مکاتبه: سمنان، دانشگاه سمنان، گروه زیست فناوری میکروبی.
تلفن: ۰۲۳۳۳٦٥٤۳۱٤ پست الکترونیک: aftalebi@semnan.ac.ir

اسیدهای چرب غیراشباع در برخی از مناطق دنیا شده است (٤). یافتن منابع جدید تولید کننده چربی های مفید ضمن اینکه می توانند به عنوان مکملی در کنار منابع غذایی رایج مورد توجه قرار گیرند، به عنوان منبعی پایدار برای تولید روغن در سوخت های زیستی نیز می توانند به کار گرفته شوند. در دهه های گذشته استفاده از روغن های گیاهی به عنوان ماده اولیه تولید کننده گازوئیل زیستی همواره مورد توجه بوده است. اما افزایش مصرف روغن های نباتی در بخش انرژی، فشار منتقدین کشاورزی را به منظور حفظ امنیت غذایی در پی داشته است.

از سوی دیگر همراه با کاهش دسترسی به منابع آب و خاک کشاورزی، نگرانی های زیست محیطی ناشی از استفاده افسار گسیخته این منابع و اثرات غیرقابل جبران از دست رفتن منابع طبیعی و محدود شدن مزارع کشاورزی، به صورت روزافزون افزایش می یابد. مجموع این عوامل متخصصین را در یافتن منابع جدیدی از انرژی های پاک و دوست دار محیط زیست تشویق کرده است (٥).

تولید جهانی روغن از دانه های گیاهی مثل دانه سویا، نخل روغنی و کلزا ١٦٠ تراکیلوگرم در سال تخمین زده شده است (٦). گیاهان از جمله منابع مهم تولید سوخت های زیستی هستند. اما محدودیت های زیادی در استفاده از آنها وجود دارد: وابسته بودن گیاهان به شرایط آب و هوایی و اقلیمی مانند فصل، درجه حرارت، شرایط جغرافیایی و نیاز به زمین های کشاورزی وسیع و نهاده های هزینه بر کشاورزی از این جمله هستند (٢ و ٧).

اما استفاده از ریزسازواره ها در تولید روغن های مشابه با روغن های گیاهی و حیوانی (برابری از نظر کیفیت و محتوی انرژی)، می تواند مزایای زیادی داشته باشد. تولید روغن از این منابع با داشتن چرخه زندگی کوتاه، مستقل از شرایط آب و هوایی، تولید انبوه در مقیاس بالا و عدم رقابت با تولید مواد غذایی، از مزایای درخور توجهی برخوردار است (٨).

اولین تحقیقات درباره استفاده از ریزسازواره ها به عنوان منابع تولید کننده چربی به جنگ جهانی اول بر می گردد. زمانی که آلمان ها از گونه های مختلف قارچ های *اندومایسس* (*Endomyces* spp.) و *فوزاریوم* (*Fusarium* spp.) در تولید سوخت مورد نیاز برای پخت و پز استفاده کردند (٣).

اما در سال های اخیر، تولید اسیدهای چرب غیر اشباع (poly unsaturated fatty acid= PUFA)، به ویژه اسیدهای چرب ضروری (essential fatty acids=EFA) مورد توجه بوده اند. اسیدهای چرب PUFA نقش های ساختاری و عملکردی ویژه ای برای موجودات پرسلولی مانند انسان ایفا می کنند. به عنوان نمونه، سلول های نورونی غنی از فسفولیپیدهایی هستند که دارای اسیدهای چرب غیر اشباع می باشند و بر میزان سیالیت غشا و فعالیت پروتئین های غشایی و واکنش آن ها با دیگر مولکول ها تاثیرگذار هستند.

اسیدهای چرب PUFA شامل امگا ٦-دی هوموگاما-لینولئیک اسید (v-6 dihomo-g-linolenic acid)، آراشیدونیک اسید (Arachidonic acid) و امگا ٣-ایکوزاپنتانوئیک اسید (v-3 eicosapentaenoic acid) هستند که با دو عملکرد متفاوت و اساسی شناخته می شوند. اولین نقش آن ها در غشای سلولی است که حالت سیالیت و انعطاف پذیری را ایجاد می کنند و موجب تعیین رفتار پروتئین های متصل شونده غشایی می شوند. اما کاربرد دوم این اسیدهای چرب، بیشترین مورد توجه بوده اند. زیرا می توانند پیش ساز تعداد زیادی از متابولیت های سلولی (مانند پروستاگلاندین ها، لکوترین ها و اسیدها چرب هیدروکسل شده) باشند. این متابولیت ها عملکردهای بیولوژیکی مختلفی را در بدن تنظیم می کنند (٩).

لینولئیک اسید (C18:2) و لینولنیک اسید (C18:3) از اسیدهای چرب ضروری هستند و باید در رژیم غذایی پستانداران گنجانده شوند. لینولئیک اسید در جلوگیری از تجمع پلاکت ها و در نتیجه جلوگیری از لخته شدن خون در رگ های خونی نقش دارد. همچنین این اسید چرب از اسیدهای ضروری است که خطر ابتلا به سکته قلبی را در موش ها از طریق کم کردن انسداد شراین کاهش می دهد و در نتیجه موجب افزایش جریان خون به قلب و کاهش کلسترول سرم می شوند (١٠).

اخیراً لینولئیک اسید کانژوگه شده

(conjugated linoleic acids=CLA) مورد توجه زیادی قرار گرفته است. به دلیل مزایای فراوانی که لینولئیک اسید در سلامتی دارد (مانند جلوگیری از سرطان، ضد گرفتگی عروق، ضد چاقی و تعدیل سیستم ایمنی) تلاش ها ی زیادی مبنی بر تولید آن توسط مخمرهای تولید کننده روغن مهندسی شده در حال انجام است (۱۱).

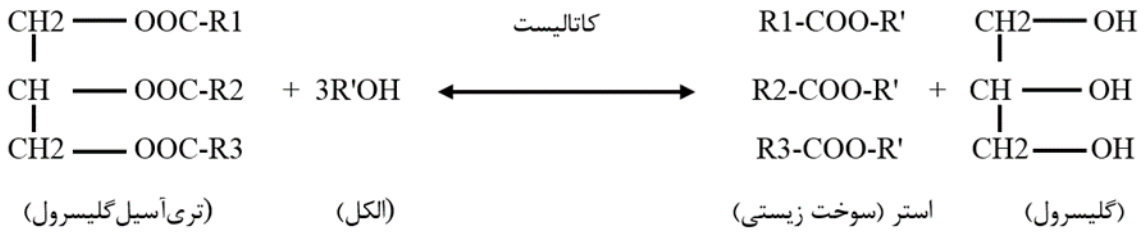
استفاده از چربی های غنی از PUFA به عنوان مکمل غذایی و به منظور تقویت یا اصلاح ترکیب اسیدچرب غذاهای خاص (مانند غذای نوزادان)، در صنعت تغذیه حائز اهمیت است (٤). غنی سازی مواد غذایی با استفاده از اسیدهای چرب به روش های مختلفی انجام می گیرد: مانند اضافه کردن مستقیم PUFA به مواد غذایی، یا تولید ریزسازواره های خوراکی حاوی مقادیر بالای PUFA، استفاده از PUFA در خوراک دام و طیور به منظور تولید محصولات غنی از PUFA (مانند تخم مرغ و گوشت). همچنین به منظور بهره بردن از مزایای اسیدهای چرب غیراشباع به صورت اختصاصی تر می توان چربی های میکروبی غنی از PUFA را استخراج نمود و آنها را به صورت خالص و با مقادیر مورد نیاز به مواد غذایی افزود. همچنین برخی از محصولات کشاورزی توسط ریزسازواره های تولید کننده PUFA، غنی سازی می شوند که می توان این محصولات غنی از اسیدهای چرب غیراشباع را به صورت مستقیم مورد مصرف خوراکی قرار داد (۱۲).

در این میان ریزسازواره ها می توانند از مهمترین عوامل تولید کننده PUFA برای انسان باشند. با توجه به معضلات بیان شده و نیاز اساسی به تولید روغن های میکروبی، در مقاله حاضر به معرفی برخی از ریزسازواره های روغنی خواهیم پرداخت. همچنین با بررسی مسیرهای مختلف تولید چربی در آن ها و با استفاده از عوامل مختلف داخلی و خارجی، چگونگی افزایش تولید چربی در آنها مورد بررسی قرار خواهد گرفت.

ریزسازواره های روغنی

ریزسازواره های روغنی (oleaginous microorganisms) به سویه های روغنی با بیش از ۲۰٪ محتوی روغنی به ازای وزن خشک، گفته می شود. روغن های میکروبی که با نام روغن های تک سلولی (single cell oil =SCP) نیز شناخته می شوند، توسط تعدادی از ریزسازواره های روغنی مانند مخمرها، قارچ ها، باکتری ها و جلبک ها تولید می شوند (۱۳). در حالی که مخمرها، قارچ ها و ریزجلبک ها، یوکاریوت هایی هستند که می توانند تری آسیل گلیسرول هایی را تولید کنند که از نظر محتوی با روغن های گیاهی مشابه هستند، اما باکتری ها چربی های خاص با ترکیبی متفاوت را تولید می کنند. بسیاری از ریزسازواره های روغنی می توانند روغن ها را به ویژه تری گلیسریدها را در خود مجتمع سازند که ماده اصلی ساخت گازوئیل زیستی است. تری گلیسریدها در شرایط اسیدی یا قلیایی با الکل استریفیکه شده و متیل استر اسیدچرب (گازوئیل زیستی) و گلیسرول (به عنوان محصول فرعی) را تولید می کنند (١٤) (شکل ۱).

روغن های میکروبی می توانند در آینده به یکی از منابع مناسب برای تولید سوخت زیستی تبدیل شوند. برای کاهش هزینه تولید روغن های میکروبی، یافتن منابع غذایی غنی از کربن به جز گلوکز بسیار مهم است. گزارش شده است که



شکل ۱: تبدیل تری گلیسرید ریزسازواره های روغنی به گازوئیل زیستی (١٤).

زایلوز، گلیسرول، نشاسته ذرت و دیگر پسماندهای صنعتی و کشاورزی می توانند به عنوان منبع کربن توسط میکروارگانیسم ها مورد استفاده قرار گیرند. به دلیل کم بودن میزان روغن تولیدی در باکتری ها محققان در حال حاضر بیشتر توجه خود را به سمت ریزجلبک و مخمر سوق داده اند (۲).

الف) ریزجلبک های مولد چربی: ریزجلبک هایی که محتوی چربی سلولی شان بیش از ۲۰٪ وزن خشک آن ها باشد، ریزجلبک های مولد چربی نامیده می شوند. میانگین محتوی چربی در سلول های ریزجلبک بین ۱ تا ۷۰٪ از وزن خشک متغییر است و گاهی در شرایط خاص به ۹۰٪ نیز می رسد (۱۵). ریزجلبک هایی متعلق به رده *کلروفیتا* (*Cholorophyta*) و خانواده *باسیلاریوفیسیه* (*Bacillariophyceae*) محتوی روغن بیشتری دارند و کشت آن ها آسان است. به ویژه ریزجلبک های سبز جنس *کلرلا* (*Chlorella* spp.) که می تواند مورد استفاده صنعتی قرار گیرند (۱۶).

در حال حاضر اصلاح سویه *کلرلا* به منظور تولید صنعتی سوخت های زیستی توسط شرکت های توسعه انرژی زیستی و موسسه تحقیقات انرژی بین المللی مورد توجه قرار دارد. آزمایشگاه بین المللی انرژی های تجدیدپذیر در آمریکا، ریزجلبک متعلق به جنس *سایکلوتلا* (*Cyclotella* sp.) مهندسی شده را توسعه داده است به گونه ای که محتوی روغنی آن در شرایط آزمایشگاهی به بالاتر از ۶۰٪ و در شرایط محیطی به بالاتر از ۴۰٪ می رسد. درحالی که محتوی چربی این ریزجلبک در حالت طبیعی بین ۵ تا ۲۰٪ است. بنابراین استفاده از ریزجلبک های مهندسی شده در صنعت غذا و سوخت فسیلی، از نظر اقتصادی و محیطی اهمیت به سزایی دارد (۳).

ب) مخمرها و قارچ های مولد چربی: با آغاز جنگ جهانی دوم، ریزسازواره های مولد چربی مانند *لیپومایسیز استارکی* (*Lipomyces starkeyi*)، *رودوتورولا گلوتینیس* (*Rhodotorula glutinis*)، *آسپرژیلوس* (*Aspergilus* spp.) و *موکور* (*Mucor* spp.) مورد توجه قرار گرفتند.

بسیاری دیگر از سویه های مخمری متعلق به جنس های *کریپتوکوکوس* (*Cryptococcus* spp.)، *رودوسپوریدیوم* (*Rhodosporidium* spp.)، و *تریکوسپورون* (*Trichosporon* spp.) نیز یافت شدند که در شرایط خاصی از کشت، توانایی تولید و انباشت چربی را به مقدار زیاد در سلول دارند (۱۷). اگرچه برخی از انواع قارچ ها توانایی تولید چربی را دارند، اما از همین تعداد اندک برای تولید انواع خاصی از اسیدهای چرب مانند Docosahexaenoic acid، γ-linolenic acid، Eicosapentaenoic acid و Arachidonic acid استفاده شده است. اما تاکنون گزارش های کمی در مورد استفاده از روغن سویه های قارچی به منظور تولید سوخت زیستی گزارش شده است (۱۸).

ج) باکتری های مولد چربی: همانند قارچ ها، برخی از سویه های باکتریایی در شرایط خاص محیطی توانایی تجمع چربی را دارند. اما ترکیب چربی تولید شده توسط باکتری ها با دیگر روغن های میکروبی متفاوت است. بسیاری از باکتری ها کمپلکس چربی تولید می کنند (۱۷) و فقط تعداد محدودی از آن ها می توانند روغن های میکروبی مناسب برای استفاده به عنوان خوراک گازوئیل زیستی تولید کنند (۱۸).

در باکتری ها، از چربی های خنثی می توان به پلی هیدروکسی آلکانوئیک اسید اشاره کرد که به عنوان کربن درون سلولی و ترکیب ذخیره انرژی مورد استفاده قرار می گیرد. اما تعداد کمی از باکتری ها نیز هستند که تری گلیسرید را به عنوان چربی اصلی در خود مجتمع می سازند. از جمله این باکتری ها می توان به باکتری های متعلق به راسته *اکتینومایست ها* (*Actinomycetes*) مانند *مایکوباکتریوم* (*Mycobacterium* spp.)، *نوکاردیا* (*Nocardia* spp.)، *رودوکوکوس* (*Rhodococcus* spp.) و *استرپتومایسس* (*Streptomyces* spp.) اشاره کرد (۳).

در مطالعه ای در سال ۲۰۰۸ مشخص گردید که باکتری های جنس *گوردونیا* (*Gordonia* sp) و *رودوکوکوس اوپاکوس* (*Rhodococcus opacus*) درشرایط خاص توانایی تجمع چربی تا ۸۰ درصد را دارند (۱۹). در مقایسه با بقیه ریزسازواره ها،

مکانیسم های تنظیم ژن های درگیر در ساخت اسیدچرب از قبل در باکتری ها شناخته شده است. بنابراین با استفاده از تکنیک های مهندسی بیولوژیک، مهندسی ژنتیک و مهندسی متابولیک امکان بهینه سازی و هدایت سوخت و ساز باکتری ها به منظور افزایش تولید چربی وجود دارد. در بخش های بعدی پس از مرور مسیرهای متابولیسم چربی ها، به مجموعه این راهکارها پرداخته خواهد شد.

متابولیسم چربی

از مهم ترین عوامل موثر در بهبود تولید SCO، شناسایی چگونگی ساخت اسیدهای چرب و تجمع آن ها در ریزسازواره های تولید کننده است. ساخت اسیدهای چرب تقریباً در همه موجودات با شکل گیری اسیدهای چرب ۱۶ و ۱۸ کربنه به بلوغ خود می رسد. سپس این اسیدهای چرب با دخالت آنزیم های متنوع الانگاز و دسچوراز تغییر یافته و دامنه وسیعی از اسیدهای چرب غیر اشباع را تولید می کنند. البته فراوانی اسیدهای چرب تولید شده به آرایش ژنتیکی منحصر بفرد هر گونه نیز بستگی دارد.

به عنوان نمونه در مخمرهای مولد روغن، اولئیک اسید و لینولئیک اسید همراه با پالمتیک و پالمیتولئیک اسید از جمله اسیدهای چربی هستند که به فراوانی در آن ها یافت می شوند. این در حالی است که فراوانی لینولنیک اسید کمتر از ۱۰٪ است. تنها در قارچ ها و ریزجلبک ها است که میزان ظاهر شدن PUFA در سطوح بیش از ۲۰٪ از کل اسیدهای چرب است. بنابراین علایق تجاری بیشتر بر قارچ ها و ریزجلبک هایی متمرکز شده اند که بالاترین مقدار PUFA را با بیشترین محتوی تری گلیسریدها را داشته باشند (۲۰).

الف) ساخت اسید چرب: در ساخت اسید چرب دو مرحله اساسی طویل سازی و غیراشباع سازی وجود دارد. در مرحله طویل سازی اسیدچرب در مخمر و دیگر یوکاریوت ها، حاصل فعالیت آنزیمی کمپلکس اسیدچرب سنتاز (fatty acid synthetase=FAS) بر روی پیش ساز استیل کوآنزیم آ به تولید اسیدچرب پالمتیک اسید (16:0) منتهی می شود (۲۱). خلاصه ای از مراحل مختلف این مرحله در جدول ۱ به ترتیب معرفی شده اند. با این توضیح که اولین مرحله تعیین کننده ادامه این مسیر و محلی برای انجام دست ورزی کل مسیر، یک واکنش برگشت ناپذیر از کربوکسیلاسیون استیل کوآنزیم آ است که با کمک کاتالیستی کوآنزیم آکربوکسیلاز و مالونیل کوآنزیم A ساخته می شود. در ادامه چرخه، این واکنش تکرار شده تا در هر سیکل یک کربن به طول زنجیره اسید چرب افزوده شود (۲۲ و ۲۳).

این واکنش در مطالعات متنوع مهندسی سویه های تولید کننده روغن مکرراً هدف دست ورزی قرار گرفته است (۵). جزییات بیشتری از این چنین دست ورزی هایی در بخش های بعدی مورد بحث قرار گرفته است.

در مرحله غیراشباع سازی، اسیدهای چرب با پیوندهای دوگانه، در شرایط بی هوازی ساخته می شوند. یوکاریوت ها، سیانوباکترها و برخی از باسیل ها می توانند با استفاده از فعالیت وابسته به اکسیژن دسچورازها، پیوند دوگانه را در زنجیره اسید چرب وارد کنند. انواع مختلف دسچورازها، با توجه به موقعیت افزودن پیوند دوگانه به زنجیره اسید چرب، نام گذاری می شوند. بهترین دسچوراز شناخته شده برای

جدول ۱: واکنش های مختلف طویل سازی زنجیره اسیدچرب.

مرحله	واکنش	آنزیم
۱	$ADP + Pi + H^+$ <.....> مالونیل-کوآ + ATP + HCO_3^- استیل-کوآ	استیل کوآنزیم آ کربوکسیلاز
۲	استیل-کوآ + ACP <.....> COA + استیل-ACP	استیل ترنس آسیلاز
۳	مالونیل-کوآ + ACP <.....> COA + مالونیل-ACP	مالونیل ترنس آسیلاز
٤	استیل-ACP + مالونیل-ACP <.....> CO2 + ACP + استواستیل-ACP	آنزیم مبدل آسیل-مالونیل-ACP
٥	استواستیل-ACP + NADPH + H^+ <.....> $NADP^+$ + ACP-بوتیریل-۳-هیدروکسی	بتا-کتوآسیل-ACP ردوکتاز
٦	دی-۳-هیدروکسی-بوتیریل-ACP <.....> H2O + کروتونیل-ACP	۳-هیدروکسی-آسیل-ACP-دهیدراتاز
۷	کروتونیل-ACP + NADPH + H^+ <.....> $NADP^+$ + بوتیریل-ACP	انول-ACP ردوکتاز

مطالعات دست ورزی ترکیب اسیدهای چرب،Δ9 دسچورازها هستند که 16:0 را به Δ9-16:1 و 18:0 را به Δ9-18:1 تبدیل می کنند. در *ساکارمایسس سروزیه* ژن OLE1، Δ9 دسچوراز را کد می کند که برای تولید اسیدهای چرب با یک پیوند دوگانه مورد نیاز است (۲٤).

ب) ساخت تری گلیسرید: در سلول های پستانداران، ساخت تری آسیل گلیسرول ها (TAG) در دو فاز مختلف انجام می شود. فاز اول شامل واکنش های مختلفی است که باعث ساخت دی آسیل گلیسرول (DAG) می شود. در فاز دوم واکنش دیگر آسیلاسیون رخ می دهد که باعث تبدیل DAG به TAG می شود (۲۵). در مخمرها، ساخت دنوو(بدون الگو) DAG به دو مسیر مختلف تقسیم می شود که به مسیر گلیسرول ۳-فسفات (G-3-P) و دی هیدروکسی استون فسفات (DHAP) معروف است (۲٦). یکی از مهم ترین پیش ماده ها برای ساخت TAG فسفاتیدیک اسید (PtdOH) است. مسیر ساخت PtdOH در مخمر شامل دو واکنش است که G-3-P یا DHAP به عنوان پیش ماده اولیه مورد استفاده قرار می گیرند (۸).

در اولین مسیر G-3-P توسط آنزیم G-3-P آسیل ترنسفراز (GAT)، در موقعیت sn-1 آسیله می شود تا ۱-آسیل-G-3-P (لایزوفسفاتیدیک اسید، LPA) تشکیل شود. سپس LPA با کمک آنزیم ۱-آسیل-G-3-P آسیل ترنسفراز (AGAT) در موقعیت sn-2، فسفاتیدیک اسید را به وجود می آورد. در مسیر دوم، DHAP در موقعیت sn-1 توسط آنزیم DHAP آسیل ترنسفراز (DHAPAT) آسیله شده و 1-آسیل-DHAP تشکیل شده توسط 1-آسیل-DHAP-ردوکتاز (ADR) احیا و LPA تشکیل می شود که سپس توسط AGAT به PA آسیله می شود. فسفاتیدیک اسید همچنین می تواند با فعالیت آنزیمی فسفولیپاز D از فسفولیپیدها یا از طریق فسفریلاسیون DAG توسط DAG کیناز ساخته شود. دفسفریلاسیون PA توسط فسفاتیدات فسفاتاز (PAP)، DAG را به وجود می آورد که همچنین می تواند توسط TAG لیپاز از TAG و یا توسط واکنش های فسفولیپازی از فسفولیپیدها نیز به وجود آید (۲٦).

عوامل موثر بر افزایش چربی در ریزسازواره ها

عوامل مختلف با منشأ درون و برون سلولی می تواند بر تولید

جدول ۲: عوامل مختلف درونی و بیرونی تاثیر گذار بر افزایش چربی در ریزسازواره های مختلف.

نوع ریزسازواره	گونه ریزسازواره	چگونگی دست ورزی	درصد افزایش تولید چربی	منبع
مخمر	*Trichoderma reesei*	شیمیایی (فقر نیتروژن همراه با کاهش نسبت کربن/نیتروژن)	٪۵/۵	(۲۹)
	Lipomyces. starkeyi	فیزیکی (دمای ۲۸ درجه سانتی گراد)	٪۵۵	(۳۰)
	Yarrowia. lipolytica	ژنتیکی (دی آسیل گلیسرید آسیل ترنسفراز *DGA1*)	٪٤۰	(۳۱)
	Rhodosporidium toruloides	ژنتیکی (افزایش بیان ژن *ACC1* و *DGA1*)	٪٦۱/۱	(۳۲)
جلبک	*Isochrysis zhangjiangensis*	شیمیایی (غلظت بالای نیترات (۹ گرم/لیتر در ۲٤ ساعت))	٪۵۳	(۳۳)
	Dunaliella sp.	شیمیایی (افزودن پیش ساز)	٪۵۰	(٦)
	Chlorella vulgaris	فیزیکی (فقر آهن)	٪۵٦/٦	(۳٤)
	Dunaliella sp.	فیزیکی (افزایش نمک محیط (۰/۵ تا ۰/۱ مولار)	٪۷۰	(۳۵)
	Chlamydomonas reinhardtii BAFJ5	ژنتیکی (حذف ژن *AGPase*)	٪۳/۵	(۳٦)
	Chlamydomonas	ژنتیکی (حذف ژن *AGPase*)	٪۱۰	(۳٦)
باکتری	*Streptomyces coelicolor* TR0123	شیمیایی (گلوکز)	٪۲	(۳۷)
	Alcanivorax borkumensis SK2	شیمیایی (پیروات)	٪۲۳	(۳۸)
	plant E. coli	ژنتیکی (افزایش بیان ژن های *ACC*، *acyl-CoA synthetase thioesterase*)	٪۲۰	(۳۹)
	E. coli	ژنتیکی (افزایش بیان ژن *fabF* (*KAS II*))	٪٤۰	(۲۷)
قارچ	*Cunninghamella echinulata*	شیمیایی (زایلوز)	٪۵۷/۵	(٤۰)
	Mucorales fungi	شیمیایی (روغن آفتاب گردان)	٪٦۵/۸-٤۲/۷	(٤۱)
	Trichosporon. fermentans	فیزیکی (نسبت کربن/نیتروژن ۱٦۳ مولار، دمای ۲۵درجه سلیسیوس، pH ٦/۵)	٪٦۲/٤	(٤۲)

چربی در ریزسازواره ها تاثیر کمی و کیفی داشته باشند. عوامل درونی شامل نهاده های درون زادی در سطح عوامل تنظیمی و آنزیم های درگیر هستند که متأثر از تدابیر ویرایش ژنوم، مهندسی ژنتیک و مهندسی پروتئین می باشند. این تغییرات ژنتیکی متشکل از: ۱- افزایش بیان آنزیم های کلیدی، ۲- مسدود کردن مسیرهای رقیب ساخت چربی، ۳- افزایش بیان همزمان چند ژن موثر در ساخت چربی، ٤- تغییر در عوامل رونویسی است (۵، ۲۷ و ۲۸). از طرف دیگر عوامل برون سلولی شامل تیمارهای فیزیکی مانند: دما، pH، اکسیژن محلول و شدت نور؛ و تیمارهای شیمیایی مانند: منابع مختلف کربنی مانند فقر نیتروژن، فسفات، سولفورو آهن و همچنین استفاده از سورفاکتانت است (٦). در جدول ۲ عوامل درونی و برونی موثر در افزایش تولید چربی در ریزسازواره های مختلف نشان داده شده است.

الف) عوامل شیمیایی:

۱- منابع مختلف کربن: از منابع مختلف کربنی برای تنظیم ساخت چربی در ریزسازواره ها استفاده می شود. از این میان می توان به گلوکز، پکتین، نشاسته، لاکتوز، زایلوز، فروکتوز، ساکاروز، هیدرولیزات لیگنوسلولز، نشاسته کاساوا، استات، گلوکز غنی شده با اسید آلی و تفاله گوجه فرنگی، لجن فاضلاب، همی سلولز، کاه گندم، سبوس برنج، تفاله نیشکر، دکستروز، گلیسرول و ... اشاره کرد. محتویات و غلظت منابع مختلف کربنی رشد توده سلولی و کمیت و کیفیت چربی تجمع یافته در میکروارگانیسم را تحت تاثیر قرار می دهد (۵). در صورتی که در محیط کشت ریزسازواره از مقادیر بالای کربن استفاده شود و مواد ضروری برای رشد و تکثیر مانند نیتروژن، سولفور، فسفر و آهن محدود شوند، تکثیر سلولی کاهش می یابد و منبع کربنی مستقیماً به سمت تولید چربی به ویژه چربی های خنثی پیش می رود (۸).

کریپتوکوکوس کوروواتوس (*Cryptococcus curvatus*)، *تامنیدیم الگانس* (*Thamnidium elegans*)، *اپیکوکوم پورپورسنس* (*Epicoccum purpurascens*)، *کاندیدا کوروواتا* (*Candida curvata*) و *لیپومایسس استارکی* (*L. starkeyi*) با استفاده از منابع مختلف کربنی به ترتیب شامل گلوکز، فروکتوز، سوکروز، زایلوز، نشاسته سیب زمینی محتوی چربی سلولی آن ها تا ۸۲/۷، ٦٤/۱، ۸۰، ٤۸/٦ و ٤۰ درصد افزایش یافت (٤۳).

۲- فقر نیتروژن: عصاره مخمر، پپتون، اوره، ال- آرژنین، گلوتن ذرت، کنسانتره آب پنیر و سایر ترکیباتی از این دست از منابع غنی تأمین نیتروژن در محیط های پرورش ریزسازواره ها هستند. فقر نیتروژن از ساده ترین راه های افزایش چربی در ریزسازواره ها است. در واقع افزایش نسبت کربن به نیتروژن ساخت چربی در ریزسازواره ها را تحریک می کند. در نسبت بالای کربن به نیتروژن، فقر نیتروژن باعث متوقف شدن تکثیر سلولی می شود و در نتیجه، کربن اضافی که در ساخت دیواره یا غشای سلولی جدید مصرف نشده است، جذب شده و تبدیل به چربی می شود (٤٤).

در سال ۲۰۱۰ گزارش شد که ترکیبات آلی نیتروژنی برای تجمع چربی مناسب هستند. اما برای رشد سلول مناسب نمی باشند و برعکس، ترکیبات معدنی نیتروژنی برای رشد سلول مناسب هستند، اما برای تجمع چربی مناسب نیستند (٤۵). به عنوان نمونه، فقر نیتروژن در ریزجلبک ها سه تغییر عمده شامل کاهش محتوی سلولی تیلاکوئیدهای غشایی، فعال شدن آسیل هیدرولازها و تحریک هیدرولیز فسفولیپید را در پی دارد. این تغییرات باعث افزایش درون سلولی آسیل کوآنزیم A اسید چرب شده و فقر فسفات موجب فعال شدن دی آسیل گلیسرول آسیل ترنسفراز می شود که آسیل کوآنزیم A را به تری گلیسرید تبدیل می کند (٤٦). در نتیجه فقر نیتروژن می تواند افزایش محتوی چربی و تری گلیسرید را به دنبال داشته باشد.

در گزارشی اعلام شد که رشد سویه قارچی *مورتیرلا ایزابلینا* (*Mortierella isabellina*) در شرایط فقر نیتروژن و مقدار بالای گلوکز، موجب تولید روغن میکروبی به مقدار ۱۸ گرم در هر لیتر محیط کشت شد که گامالینولئیک اسید با مقدار ۰/۸۰۱ گرم در لیتر، بیشترین غلظت چربی موجود در این روغن را شامل می شد (٤۷).

۳- فقر فسفات: فسفر از عناصر اصلی در رشد ریزسازواره ها است و در ساختمان اسیدهای نوکلئیک، فسفولیپید و کوآنزیم ها وجود دارد. این عنصر به صورت پلی متافسفات در سلول ذخیره می شود. برخلاف فقر نیتروژن که تجمع چربی را در سلول های ریزسازواره را به دنبال دارد، فقر فسفات موجب تحریک ساخت چربی در سلول می شود (٤٨). در گزارشی اعلام شد که ریزجلبک *سندسموس ابلیگوس* (*Scenedesmus obliquus*) در محیط دارای فقر فسفر، محتوی چربی آن به ٤٧/٦ درصد افزایش می یابد (٤٩). ایوای (Iwai) و همکارانش در گزارشی اعلام کردند که در جلبک *کلامیدوموناس رینهارتی* (*Ch. reinhardtii*) فقر فسفر موجب افزایش بیان آنزیم دی آسیل گلیسرول آسیل ترانسفراز نوع ۲ و در نتیجه افزایش تجمع تری گلیسریدها می شود. از طرفی بررسی های انجام شده نشان داد که محتوی اولئیک اسید در این تری گلیسریدهای تجمع یافته بیشتر است (٥٠).

٤- فقر سولفور: سولفور یکی از عناصر اصلی موجود در ترکیباتی مثل متیونین، بیوتین، سیستئین، کوآنزیم A و تیامین است. این عنصر یکی از عناصر ضروری برای رشد ریزسازواره ها می باشد. فقر سولفور هم به نوبه خود موجب افزایش تحریک ساخت چربی می شود (٥). در گزارشی اعلام شد که گونه های مختلف خانواده جلبکی *کلرلاسه* (*Chlorellaceae*) در محیطی با فقر سولفور نسبت به محیطی دارای سولفور کافی، محتوی چربی آن ها ۱/٥ تا ۲/٤ برابر افزایش می یابد. همچنین اعلام شد که بیش از ٧٥٪ از اسید چرب های موجود در این ریزسازواره ها در محیطی با سولفور کافی، اسیدهای چرب غیر اشباع هستند. به عنوان نمونه در جلبک سبز *پاراکلرلا کسلری* (*Parachlorella kessleri*) فقر سولفور منجر به افزایش محتوی اسیدهای چرب اشباع از ٢٤/٣٪ به ٥٩/٧٪ شد (٥١).

٥- آهن: غلظت آهن نیز به عنوان یکی از عوامل مؤثر در تحریک تولید چربی در ریزسازواره ها گزارش شده است (٢٧). میتوکندری و کلروپلاست ریزجلبک ها غنی از آهن می باشند. در این اندامک ها پروتئین های وابسته به آهن به فراوانی یافت می شوند که عملکردشان برای انتقال الکترون ضروری است. عدم دسترسی کافی به این ریز ماده مغذی، فرایند فتوسنتز، تنفس و سرعت مصرف اکسیژن را محدود کرده و در نتیجه موجب کاهش دسترسی به انرژی زیستی و در نهایت کاهش تولید زیست توده می شود. مطالعات نشان داده است که نبود آهن نمی تواند محرک تولید چربی باشد بلکه حضور مقدار کمی از آن برای تجمع چربی ضروری است. طی مطالعه ای که توسط سان (Sun) و همکارانش انجام گرفت، نشان داده شد که ریزجلبک *نیوکلریس اولئوابندنس* (*Neochloris oleoabundans*) در محیط کشت با ۲ روز فقر نیتروژن و غلظت ۰/۰۳۷ mm آهن (Fe^{3+})، به حداکثر مقدار تولید تری آسیل گلیسرول (٥١/٥٨ mg/L/d) رسید (٥٢). همچنین در گزارشی دیگر، یسانگ (Yeesang) و همکاران اعلام کردند که محتوی چربی سلولی با افزایش Fe^{3+} تا mM ۰/۰۳۷ افزایش می یابد. اما افزایش بیشتر در غلظت آهن باعث افزایش بیشتر تولید چربی نخواهد شد (٥٣).

٦- سورفکتانت: برخی از سورفکتانت ها به عنوان عامل افزایش ساخت چربی در ریزسازواره ها شناخته شده اند (٥٤). سازوکار عمل آن ها به طور کامل شناخته نشده است. اما ظاهراً این ترکیبات باعث تغییر در سیالیت غشای سلول می شوند (٥٥). افزایش نفوذپذیری غشا توسط سورفکتانت ها، به ترکیب شیمیایی غشای سلولی مانند محتوی استرولی آن بستگی دارد (٥٦). پس حضور سورفکتانت در محیط کشت موجب آمیزندگی (emulsification) منابع کربنی و تبدیل آن ها به قطعات قابل جذب و در نتیجه با افزایش جذب مواد غذایی منجر به افزایش ساخت چربی می شود (٥٧).

در بررسی های انجام شده توسط سینگ (Saenge) و همکارانش در سال ۲۰۱۱، مخمر *رودوتورولا گلوتنیس* (*Rhodotorula glutinis*) با ۳ نوع سورفکتانت مختلف توئین ۲۰، توئین ۸۰ و صمغ عربی (گزانتان) با غلظت ۱٪ در محیط کشت حاوی پساب روغن نخل)، همراه با آمونیوم سولفات به عنوان منبع نیتروژن رشد داده شد. نتایج نشان داد که توده سلولی و محتوی چربی در حضور سورفکتانت نسبت به حالت

کنترل (بدون سورفکتانت) افزایش داشته است که در این بین میزان افزایش چربی در حضور توئین ۲۰، بیشتر از سایر تیمارها بود (۵۷).

ب) عوامل فیزیکی:

۱- دمای رشد: دمای محیط کشت یکی از عامل های اساسی در ساخت و تجمع چربی در ریزسازواره ها است. دمای رشد ریزسازواره های روغنی، ترکیب چربی تولید شده و درجه اشباع تری گلیسرید را تعیین می کند (۵۸). به عنوان نمونه در مخمر *ساکارومایسس سرویزیه* (*S. cerevisiae*)، وقتی سلول ها در محیطی با دمای پایین قرار بگیرند، درجه غیر اشباع بودن اسیدهای چرب افزایش و طول زنجیره اسید چرب کاهش می یابد (۵۹). در مخمر *لیپومایسس استارکی* (*L. starkeyi*) افزایش دما، با افزایش محتوی چربی سلولی، راندمان تبدیل گلوکز و نرخ تولید چربی همراه بود. اما درجه اشباع اسید چرب همچنان پایین باقی ماند (۳۰).

۲- قلیاییت محیط کشت: تغییر pH در محیط کشت ریزسازواره ها می تواند باعث تغییر در میزان تولید چربی و ترکیب آن شود. مثلاً در جلبک سبز *کلرلا* محیط قلیایی باعث افزایش ساخت تری آسیل گلیسرول می شود، بدون اینکه به فقر منابع کربن یا نیتروژن وابسته باشد. بر اساس شواهد مورفولوژیکی، pH قلیایی از رشد ریزجلبک جلوگیری می کند (موارد استثنا نیز وجود دارند)، در نتیجه انرژی حاصل صرف تولید تری آسیل گلیسرول می شود (۶۰).

انگربر (Angerbauer) و همکاران اثر pH ۵ تا ۷ را بر مخمر *لیپومایسس استارکی* در محیط کشت پایه بررسی کردند. نتایج این بررسی نشان داد که بالاترین میزان تولید چربی در pH برابر با ۵ به دست می آید در حالی که در pH برابر با ۶/۵ بالاترین حجم توده سلولی به دست می آید (۶۱).

۳- فلزات سنگین: فلزات سنگینی مانند کادمیوم، آهن، روی و مس نیز باعث تغییر در تولید چربی می شوند. به عنوان نمونه در ریزجلبک *اوگلنا گراسیلیس* (*Euglena gracilis*) در حضور کادمیوم محتوی کلی چربی به ازای توده خشک سلول افزایش یافت (۶۲). همچنین کاهش آهن باعث افزایش ۵۶/۶٪ تجمع چربی در ریزجلبک *کلرلا ولگاریس* (*C. vulgaris*) می شود (۶۳).

۴- اکسیژن محلول: اکسیژن محلول نیز در تجمع چربی در میکروارگانیسم نقش دارد. در یک مطالعه تأیید شد که افزایش اکسیژن محلول باعث افزایش رشد *رودوتورولا گلوتنیس* (*Rhodotorula glutinis*) می شود، اما الگوی عکس آن برای تولید چربی صادق بود، یعنی کاهش اکسیژن محلول ضمن کاهش سرعت رشد و تقسیم سلولی، موجب افزایش ساخت و تجمع چربی می شود (۶۴). شایان یادآوری است که اکسیژن محلول پروفایل چربی را تحت تاثیر قرار نمی دهد (۵).

ج) عوامل ژنتیکی: تولید روغن های میکروبی از راه افزایش بیان، حذف یا غیرفعال سازی ژن های درگیر در سوخت و ساز چربی انجام می شود. دست ورزی یک یا چند ژن کد کننده آنزیم های تولید چربی مانند ACC، ACS، ACL، ME، FAS و DGAT می تواند موجب افزایش تولید چربی شود. همچنین ترکیب چربی موجود در روغن های میکروبی می تواند با بیان آنزیم های دسچوراز و الانگازهای خاص تغییر کند و می تواند غنی از اسیدهای چرب غیراشباع شود. ترکیبات TAG از جمله چربی های خنثی هستند که ماده اصلی تولید سوخت زیستی را تشکیل می دهند. به علاوه این ها به یک عنوان ماده مغذی و مکمل غذایی در صورت غنی بودن از اسیدهای چرب ضروری می توانند مورد استفاده قرار گیرند. از این رو تولید و تجمع بیشتر ترکیبات TAG غنی از اسیدهای چرب دلخواه، هدف بسیاری از مطالعات در حوزه دست ورزی سازواره های روغنی هستند. ساخت این چربی خنثی تحت تاثیر دو مسیر مختلف قرار دارد: مسیر ساخت اسیدچرب و مسیر ساخت تری گلیسرید. مطالعات بسیاری در رابطه با راهبردهای مهندسی متابولیک به منظور افزایش تجمع چربی در ریزسازواره ها انجام شده است. این راهبرد ها را می توان در گروه های مختلفی طبقه بندی کرد.

۱- افزایش بیان ژن های کلیدی شامل: افزایش فعالیت ژن های درگیر در ساخت اسیدهای چرب، افزایش فعالیت ژن های درگیر ساخت تری گلیسرید، افزایش فعالیت

ژن های مسئول ساخت پیش سازها. ۲- متوقف کردن مسیرهای مصرف چربی ها و مسیرهای رقیب مشتمل بر راهکارهای: جلوگیری از بتا اکسیداسیون اسیدهای چرب، جلوگیری از تخریب تری گلیسرید، جلوگیری از بیوسنتز فسفولیپید به عنوان مسیر رقیب. ۳- دست ورزی عوامل رونویسی و ژن های تنظیمی، راهکارهای تلفیقی و چند ژنی. در ادامه جزئیات اجرائی در مورد این راهبردها ارائه می شود.

الف) افزایش بیان ژن های کلیدی:

اخیراً، مطالعات متعددی در مورد افزایش تجمع چربی از طریق افزایش بیان آنزیم های کلیدی مسیر چربی انجام شده است. این آنزیم ها یا در مسیر ساخت اسیدهای چرب شرکت دارند و یا در مسیر ساخت تری گلیسرید نقش اساسی را ایفا می کنند. در ادامه برخی از آنزیم های این مسیر معرفی شده اند.

* افزایش فعالیت ژن های درگیر در ساخت اسیدهای چرب:

- استیل کوآ کربوکسیلاز: تبدیل استیل کوآنزیمA به مالونیل کوآنزیم A توسط آنزیم استیل کوآ کربوکسیلازانجام می گیرد که از مسیرهای اصلی در ساخت اسیدچرب در بسیاری از ریزسازواره ها است (٦٥). بسیاری از گروه های تحقیقاتی مهندسی متابولیک نقش این آنزیم را در افزایش تولید چربی مورد بررسی قرار داده اند. به عنوان نمونه در مطالعه ای که توسط تای (Tai) و همکارانش انجام گرفت، افزایش بیان *ACC* در مخمر *یاروویا لیپولیتیکا* (*Yarrowia lypolytica*) باعث ۲ برابر شدن محتوی چربی نسبت به حالت کنترل شد (٦٦). در مطالعه ای دیگر با افزایش درون سلولی آنزیم ACC در مخمر *ساکارومایسس سرویزیه*، از طریق بیان ژن *ACC1* موجود در پلاسمید، تجمعی از مالونیل کوآنزیم A و به دنبال آن آسیل کوآنزیم A ایجاد شد. این تغییر موجب افزایش ۵۸ درصدی در محتوی چربی نسبت به حالت کنترل شد (٦٧). افزایش بیان هترولوگوس *ACC1* از منشأ قارچ روغنی *موکور روکسی آی* (*M. rouxii*) در مخمر غیرروغنی *هانسنولا پلی مورفا* (*Hansenula polymorpha*) می تواند باعث افزایش ٤٠٪ در محتوی کل اسید چرب سلول شود (٣١).

اسید چرب سنتتاز: با توجه به مطالعات رانگوفان (Runguphan) و همکارانش و مطالعات قبلی، افزایش بیان ژن *ACC1* باعث افزایش مالونیل کوآنزیم A، اولین سوبسترای ساخت اسید چرب می شود. سپس هدایت این سوبسترا به سمت ساخت اسید چرب از طریق افزایش بیان کمپلکس *FAS* صورت می گیرد. پلاسمیدی که بر پایه افزایش بیان *FAS1* و *FAS2* ساخته شد، افزایش ۳۰ درصدی در محتوی کلی لیپید در مخمر *ساکارومایسس سرویزیه* را نشان داد (٦٧).

- اسید چرب تیواستراز (*FAT*): *FAT* گروهی از آنزیم ها هستند که باعث هیدرولیز Acyl-ACP و تولید اسید چرب آزاد و ACP می شوند. در حضور *FAT* چرخه طویل سازی اسید چرب شکسته می شود و اسید چرب آزاد می شود (٦٨). گزارش شده است که با وارد کردن آنزیم FAT گیاهی با توانایی تخریب اسیدهای چرب با طول متوسط، به باکتری *اشریشیا کلی* فاقد ژن *FAT*، فعالیت هیدرولایتیک آن افزایش و تجمع اسیدهای چرب با طول زنجیره متوسط کاهش یافت. در حالت طبیعی Acyl-ACP به عنوان مهارکننده ساخت اسید چرب عمل می کند (٦٩). طی مطالعه ای اثر آنزیم های مختلف FAT از گیاهان مختلف برروی مقدار و ترکیب اسید چرب تولیدی توسط باکتری حامل *اشریشیا کلی* ML103 مورد بررسی قرار گرفت. باکتری که ژن *FAT* از گیاه *دیپلوکنما بوتیراسه* (*Diploknema Butyracea*) را در خود حمل می کرد، میزان اسید چرب تولیدی آن بیش از ۰/۲ g/l گزارش شد در حالی که گونه های حامل ژن *FAT* از گیاهان *ریسنوس کامیونیس* (*Ricinus communis*) و *جاتروفا کورکاس* (*Jatropha curcas*)، تولید اسیدچرب آن ها بیش از ۲ g/l به مدت ٤٨ ساعت بود. این دو گونه به ترتیب سه اسید چرب C14:0، C16:1 و C16:0 با مقادیر ٤٠٪، ٢٥٪ و ٣٠٪ تولید می کنند (٣٩).

* افزایش فعالیت ژن های موثر در ساخت تری گلیسرید:

- آسیل کوآ گلیسرول ۳ فسفات آسیل ترنسفراز: این آنزیم

اولین واکنش مسیر ساخت تری گلیسرید را کاتالیز می کند و لایزوفسفاتیدات را از مسیر کندی (Kennedy pathway) سنتز می کند. لیزوفسفاتیدات همچنین می تواند از آسیله شدن دی هیدروژن استون فسفات توسط آنزیم دی هیدروژن استون فسفات آسیل ترنسفراز و به دنبال آن از آنزیم دی هیدروژن استون فسفات ردوکتاز ایجاد شود (۳).

در مخمر *ساکارومایسس سرویزیه*، دو ژن *GAT1* و *GAT2* کد کننده آنزیم GPAT می باشند. با بررسی اختصاصی سوبستراهای مصرفی هرکدام، *GAT1* از هردو سوبسترای گلیسرول-۳ فسفات و دی-هیدروژن-استون-فسفات به صورت یکسان استفاده می کند. این درحالی است که *GAT2*، گلیسرول-۳ فسفات را به دی-هیدروژن-استون-فسفات ترجیح می دهد و ۲/۵ تا ۵ برابر تولید آسیل چرب های ۱۶ کربنه افزایش می یابد (۷۰). مطالعات مختلف نشان داد که تولید تری گلیسرید در مخمر با حذف ژن *GAT1* تا ۵۰٪ افزایش می یابد اما حذف ژن *GAT2* کاهش ۵۰٪ ساخت تری گلیسرید را نشان می دهد. این مساله نشان دهنده این است که *GAT1* نقش مهم تری را در ساخت تری گلیسرید ایفا می کند (۷۱).

- آسیل کوآ دی آسیل گلیسرول آسیل ترنسفراز: این آنزیم آخرین واکنش از مسیر ساخت تری گلیسرید را کاتالیز می کند. طی این واکنش تری آسیل گلیسرول از دی آسیل گلیسرول و اسید چرب متصل به کو آنزیم A ساخته می شود. این واکنش در مخمر به عنوان واکنش محدود کننده سرعت شناخته شده است. سوبسترای این آنزیم، دی-آسیل گلیسرول، علاوه بر ساخت تری گلیسرید به عنوان پیش ساز فسفولیپید نیز مورد استفاده قرار می گیرد. افزایش بیان *DGAT*، دی آسیل گلیسرول بیشتری را به تری گلیسرید تبدیل می کند (۳).

پاکتر (Packter) و همکاران (۷۲) طی مطالعه ای اعلام کردند که یک ارتباط قوی بین فعالیت آنزیم DGAT، فاز رشد و محتوی تری گلیسرید گونه های *استرپتومایسس* وجود دارد. آن ها بیان داشتند که آنزیم DGAT مسئول تبدیل دی آسیل گلیسرول به تری گلیسرید و جلوگیری از ساخت فسفولیپیدهای غشایی در فاز رشد ثابت است. DGAT از جمله آنزیم های مورد استفاده در مهندسی متابولیک برای افزایش تولید تری گلیسرید در گیاهان و مخمرهایی مانند *ساکارومایسس سرویزیه* و *یاروویا لیپولیتیکا* است (٦٦ و ۷۳).

در یک تحقیق افزایش بیان ژن *DGA1* در مخمر *یاروویا لیپولیتیکا*، افزایش ٤ برابری در محتوی چربی نسبت به نمونه کنترل را باعث شد (٦٦).

- گلیسرول ۳ فسفات دهیدروژناز: ایزوفورم آنزیم GPDH که باعث کاهش دی هیدروکسی استون تری فسفات به گلیسرول ۳ فسفات می شود، GPD1 است. گلیسرول ۳ فسفات ساختار اصلی گلیسرول فعال را در ساخت تری گلیسرید تامین می کند. در مطالعه ای با بیان ژن *GPD1* مخمر در دانه روغنی کلزای دست ورزی شده، تحت کنترل پروموتر گیاه کلزا، افزایش دوبرابری در فعالیت آنزیم GPDH مشاهده شد. که این خود باعث افزایش ۳-٤ برابری گلیسرول ۳ فسفات و در نهایت افزایش ٤۰٪ محتوی کلی چربی در دانه کلزا شد (۷٤).

ژن *GUT2* باعث ساخت دی هیدروکسی استون فسفات از گلیسرول سه فسفات می شود. با حذف این ژن از مخمر *یاروویا لیپولیتیکا*، گلیسرول ۳ فسفات برای ساخت تری گلیسرید فراهم شد که به این ترتیب میزان تجمع چربی تا ۳ برابر کنترل افزایش یافت (۷۵). همچنین گزارش شد که افزایش بیان *GPD1* و یا غیر فعال سازی *GUT2* یا ایجاد هر دو تغییر در همین مخمر، به ترتیب باعث افزایش ۱/۵، ۲/۹ و ۵/٦ برابری در میزان گلیسرول ۳ فسفات شد که این نیز به نوبه خود افزایش تجمع تری گلیسرید را به دنبال داشت (۷٦).

❋ افزایش فعالیت ژن های مسئول ساخت پیش سازها:

برخی از آنزیم ها اگرچه بطور مستقیم در مسیر ساخت چربی درگیر نیستند، اما می توانند با افزایش تجمع پیش سازهای مورد نیاز، بیوسنتز چربی را افزایش دهند. به برخی از این آنزیم ها در ادامه اشاره شده است:

- استیل کوآنزیم A سنتتاز: واکنش تبدیل استات به استیل کوآنزیم A را کاتالیز می کند. استات در سلول به دو صورت

مورد مصرف متابولیک قرار می گیرد. یا در مسیر ساخت چربی مورد استفاده قرار می گیرد و یا این که در چرخه کربس اکسید می شود (۷۷). افزایش بیان ژن *ACS* در باکتری *اشریشیا کلی* موجب افزایش ۹ برابری در فعالیت این آنزیم شد که این خود افزایش جذب استات از محیط کشت و افزایش ساخت چربی را به دنبال داشت (۷۸).

– آنزیم مالیک (ME): ME واکنش برگشت ناپذیر دکربوکسیلاسیون مالات به پیروات که همراه با تولید NADPH همراه است را هدایت می کند. این واکنش برای ساخت اسید چرب لازم است. گزارش شده است که عملکرد ME برای تولید NADPH مصرفی برای آنزیم های اسید چرب سنتتاز و دسچوراز ضروری است (۷۹).

در گونه قارچی جهش یافته *آسپرژیلوس نیدولانس* (*Aspergillus nidulans*) با حذف *ME* از ژنوم، میزان تجمع چربی به نصف حالت وحشی رسید (۸۰). همچنین مشاهده شده است که افزایش ذخیره NADPH از طریق افزایش بیان *ME*، باعث افزایش فعالیت آنزیم های مسیر ساخت تری گلیسرید شده که به نوبه خود افزایش محتوی چربی سلول را به همراه خواهد داشت. طی گزارشی با افزایش بیان *ME* در باکتری *اشریشیا کلی* و افزودن مالات به محیط کشت، محتوی لیپید سلولی به ٤ برابر حالت وحشی افزایش یافت (۸۱).

– ATP سیترات لیاز(ACL): آنزیم ACL تبدیل سیترات به استیل کوآ و اگزالواستات را کاتالیز می کند. این آنزیم از جمله آنزیم های کلیدی و محدود کننده سرعت در ساخت چربی در پستانداران، مخمر ها و قارچ های روغنی است (۸۲). افزایش بیان ژن *ACL* در گونه جهش یافته *آسپرژیلوس اوریزی*(*Aspergillus oryzae*)، افزایش ۱/۹ برابری در تری گلیسرید و افزایش ۱/۷ برابری در اسید چرب آزاد مشاهده شد (۸۳).

ب) توقف مسیرهای تجزیه کننده چربی و مسیرهای رقیب:

– جلوگیری از بتا اکسیداسیون اسیدهای چرب: یکی از راهبردهای افزایش چربی، جلوگیری از مصرف آنها است. حذف یا غیر فعال کردن ژن هایی که بطور مستقیم در بتا اکسیداسیون اسیدهای چرب شرکت می کنند می تواند به افزایش ذخایر چربی کمک کند. در بررسی های انجام شده بر روی مخمر *ساکارومایسس سرویزیه*، نشان داده شد که غیر فعال کردن ژن موثر در بتا اکسیداسیون اسید چرب نه تنها موجب افزایش تجمع درون سلولی آن شد بلکه در برخی موارد منجر به افزایش ترشح آن به محیط خارج از سلول نیز شد. یکی از آنزیم های اساسی که در بتا اکسیداسیون اسید چرب نقش دارد آسیل کوآنزیم A اکسیداز (AOX) است (۸٤). غیرفعال کردن AOX در مخمرغیر روغنی *ساکارومایسس سریوزیه* موجب متوقف شدن مسیر بتا اکسیداسیون و در نتیجه افزایش اندکی در تجمع چربی ها می شود (۸۵).

مخمرهای روغنی نیز مجموعه ای از ژن های AOX را در ژنوم خود به همراه دارند. به عنوان نمونه گونه *یاروویا لیپولیتیکا* ٦ نوع آنزیم AOX در عصاره سلولی خود دارد که توسط ژن های *POX1* تا *POX6* کد می شوند. آنزیم های وابسته مراحل مختلفی از بتا اکسیداسیون پراکسی زومی را در سلول به پیش می برند. به عنوان نمونه آنزیم Aox2p در این مخمر، تنظیم اندازه تری گلیسریدهای درون سلولی و اجسام چربی مجتمع کننده اسیدهای چرب را به عهده دارد (۸٦). در نتیجه تغییر فعالیت ژن های *POX* برای جلوگیری از تخریب لیپیدها و افزایش غیر مستقیم تجمع چربی می تواند راهبرد مؤثری باشد.

جلوگیری از کاتابولیسم تری گلیسریدها: متوقف کردن ژن های کد کننده دی آسیل گلیسرول لیپاز مانند *TGL3* و *TGL4*، در مخمر *یاروویا لیپولیتیکا* که در تجزیه تری گلیسریدها نقش دارد، یک راه آسان در افزایش تجمع چربی است (۵).

– متوقف کردن ساخت فسفولیپید به عنوان مسیر رقیب: بیوسنتز فسفولیپیدها یکی از مسیرهای رقیب در تشکیل تری گلیسریدها و چربی های خنثی بشمار می رود. این رقابت بر سر سوبسترایی بنام فسفاتیدات است. اگر فسفاتیدات بجای تبدیل به دی آسیل گلیسرول به CDP–دی–آسیل–گلیسرول تبدیل شود، وارد مسیر ساخت فسفولیپید می شود (۸۷). پس با

متوقف کردن آنزیم فسفولیپید سنتتاز می توان افزایش ساخت تری گلیسرید را انتظار داشت.

ج) عوامل رونویسی و ژن های تنظیمی:

تنظیم مسیرهای متابولیسمی نه تنها در سطح یک مسیر بلکه باید در سطح کل سلول بررسی شود. استفاده از عامل های تنظیمی مانند عوامل رونویسی در جهت کنترل فعالیت چندین آنزیم بصورت هم زمان از راهکارهای موثر در افزایش بیان چربی درون سلولی است. عوامل رونویسی پروتئین هایی هستند که تنظیم نسخه برداری از DNA را با استفاده از شناسایی توالی خاصی از DNA برعهده دارند و برهم کنش پروتئین–DNA و پروتئین–پروتئین را تثبیت می کنند. عوامل رونویسی با توجه به توالی حفاظت شده و دومین های اتصال DNA، به ۵۰ خانواده مختلف تقسیم بندی می شوند.

عوامل رونویسی با اتصال به DNA پلی مراز و افزایش فعالیت آن، نسخه برداری از گروه خاصی از ژن ها را افزایش می دهند. در مقایسه با روش مهندسی ژنتیک، که در آن فقط یک ژن دستخوش تغییر می شود، با استفاده از عوامل رونویسی می توان طیف گسترده ای از ژن ها که در مسیرهای مختلف متابولیسمی قرار دارد را تحت تاثیر قرار داد. برای افزایش تولید چربی در ریزسازواره ها عوامل رونویسی مختلفی شناسایی شده اند. تعداد اندکی از عوامل رونویسی به عنوان مسئول تنظیم چربی سلولی در گیاهان و حیوانات شناسایی شده اند. به عنوان نمونه پروتئین متصل شونده به عنصر تنظیم کننده استرول یا (Sterol regulatory element binding protein=SREBP) از جمله عوامل تنظیم کننده اصلی در هوموستاز چربی در پستانداران است. این توالی در گیاهان و ریزسازواره ها به صورت حفاظت شده وجود دارد اما عملکرد تنظیمی آنها نسبت به پستانداران متفاوت است. به عنوان نمونه در مخمر *ساکارومایسس پمبه*، آنالوگ SREBP، Sre1p نامیده می شود. مسیرهای ساخت و ساز وابسته به اکسیژن برای ساخت ارگوسترول، آهن، اسفنگولیپید و یوبی کینون از اهداف اولیه Sre1p هستند. این پروتئین با اتصال مستقیم روی پروموتر ژن های درگیر، میزان رونویسی آنها را تنظیم می کند (۸۸).

عوامل رونویسی سلسله مراتبی دارند. به گونه ای که عوامل رونویسی با سطح بیان بالا، عوامل رونویسی با سطح بیان پایین را تحت تاثیر خود قرار می دهند. فعالیت عوامل رونویسی متفاوت است و بستگی به سطح آن ها در سلول دارد. عوامل رونویسی با بیان بالا تأثیر زیادی بر دیگر عوامل رونویسی دارند و طیف وسیعی از ژن ها را تنظیم می کند. عوامل رونویسی با سطح بیان پایین دارای توالی کمتر حفاظت شده ای هستند، از این رو دستکاری و مهندسی متابولیت در بین گونه های مختلف سخت تر است. عواملی موثر در تنظیم ساخت چربی، عوامل رونویسی با سطح بیان پایین هستند که در گونه های متفاوت با پروتئین های مختلفی در تنظیم سوخت و ساخت چربی نقش دارند (۲۷). در مجموع می توان گفت مهندسی عوامل رونویسی از روش های نوین و کارآمد در تنظیم تولید چربی توسط ریزسازواره های روغنی می باشد.

د) راهکارهای تلفیقی و چند ژنی:

در این مجموعه از اقدامات از هم افزایی راهبردهای متنوع معرفی شده، به منظور افزایش عملکرد تولید چربی در ریزسازواره های روغنی استفاده می شود. به عنوان نمونه از افزایش بیان چند ژن کلیدی در مسیر ساخت چربی ها استفاده می شود و یا اینکه چند ژن خارجی از ریزسازواره های مختلف که می توانند در افزایش تولید یک چربی خاص نقش مؤثری ایفا کنند مورد استفاده قرار می گیرند. با تغییرات گسترده انجام شده بر روی ژنوم باکتری *اشریشیا کلی*، تولید چربی تا ۲۰ برابر حالت شاهد افزایش یافته است. این تغییرات شامل افزایش بیان ژن های کدکننده آنزیم های استیل کوآنزیم A کربوکسیلاز، تیواستراز داخلی، تیواستراز گیاهی همراه با خاموش کردن ژن های درگیر در مسیر بتا اکسیداسیون اسید چرب بوده است (۶۸).

ژانگ (Zhang) و همکارانش در سال ۲۰۱۳ با بیان هم زمان ژن، دلتا ۱۲–دسچوراز همراه با ژن ایزومراز لینولئیک اسید با

کدون بهینه شده در مخمر *یاروویا لیپولیتیکا*، در حضور گلوکز به عنوان منبع کربن موفق شدند میزان تولید ایزمرهای ترانس و سیس لینولئیک اسید کانژوگه شده را تا سطح ۱۰ درصد کل اسید چرب داخل سلولی افزایش دهند. در این تحقیق همچنین علاوه بر گلوکز از روغن دانه سویا نیز به عنوان منبع کربن استفاده شد که این میزان را به ٤٤ درصد کل اسیدهای چرب افزایش داد (۸۹). در مطالعه ای دیگر بیان همزمان دو ژن مهم در مسیر ساخت چربی،از جمله استیل کوآنزیم آکربوکسیلاز و دی-آسیل-گلیسرول-آسیل-ترنسفراز -۱ در مخمر *یاروویا لیپولیتیکا* موجب افزایش تولید چربی تا ٦٥٪ از وزن خشک مخمر گردید، یعنی افزایش ۵ برابری در محتوی چربی مخمر نسبت به نمونه شاهد مشاهده شد (٦٦).

جایگاه ریزسازواره های روغنی در ایران

تنها یک سوم از کل زمین های ایران می تواند برای تولید محصولات کشاورزی مورد استفاده قرار گیرد. با این حال، به دلیل محدودیت آب تنها ۱۲ درصد از کل زمین های حاصلخیز کشور را می توان برای فعالیت های کشاورزی استفاده کرد (۹۰). بنابراین تولید پایدار روغن از منابع گیاهی همواره با محدودیت هایی مواجه است. برای غلبه بر این چالش، یکی از راهکارهای پیش روی صنایع غذایی و انرژی در ایران، سرمایه گذاری در منابع جایگزین مانند ریزسازواره های روغنی است. به عنوان مثال، خطوط ساحلی طولانی کشور و همچنین حضور دریاچه های آب شور مختلف در ایران مانند دریاچه ارومیه، امکان پرورش طیف گسترده ای از گونه های مختلف ریزجلبک را برای تولید گازوئیل زیستی فراهم کرده است (۹۱).

بنابراین، با توجه به مزایای ذاتی ریزجلبک ها، مهندسی ژنتیک ریزجلبک ها می تواند به تولید اقتصادی سوخت زیستی در ایران کمک کند. در حال حاضر مراکز تحقیقاتی بسیاری مانند پژوهشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی ایران (۲۸)، دانشگاه فردوسی مشهد (۹۲)، دانشگاه تهران (۹۳) و دانشگاه تربیت مدرس (٩٤) در این زمینه به تربیت نیروی متخصص و انتشار یافته های علمی مشغول هستند. از جمله پروژه های بزرگی که در زمینه سوخت زیستی از منابع ریزسازواره های روغنی در کشور انجام شده است می توان به طرح ملی ریزجلبک در ایران، سال ۱۳۸۹، در مرکز پژوهش های بیوتکنولوژی خلیج فارس اشاره کرد که ضمن تولید سوخت زیستی، توان عرضه محصولات بهداشتی، دارویی و مکمل های غذایی را نیز به عنوان محصولات جانبی دارد. سایر ریزسازواره های روغنی از جمله باکتری ها، قارچ ها و مخمرهای مولد چربی که در بخش های پیشین مقاله حاضر به آن اشاره شد نیز به نوبه خود مورد توجه مراکز علمی و پژوهشی کشور هستند. برخی از این مطالعات به شناسایی تنوعات ژنتیکی و بیوشیمیایی این ریزسازواره ها پرداخته اند (۹۸-۹۵) و برخی دیگر از این مطالعات با گذر از مرحله شناسایی، در بهینه سازی تولید زیست توده و روغن های تک سلولی متمرکز شده اند (۱۰۲-۹۹).

بر اساس مطالعات نویسنده، هنوز گزارشی از کاربرد روش های نوین مهندسی ژنتیک و باز طراحی سامانه های زیستی در این حوزه از مراکز علمی داخل کشور منتشر نشده است. با توجه به اهمیت بالای منابع تجدیدپذیر انرژی، شورای آغازین سیاست گزاری انرژی های تجدید پذیر ایران، توسط معاونت علمی و فناوری ریاست جمهوری، در سال ۱۳۸۷ با هدف آماده سازی و ارائه مستندات راهبردی ایران در تولید انرژی های تجدید پذیر تأسیس شد. نتیجه این تلاش ها، تصویب قانون اساسنامه سازمان انرژی‌های تجدیدپذیر و بهره وری انرژی برق (ساتبا) در مجلس شورای اسلامی در سال ۱۳۹۵ بود. همچنین انجمن سوخت های زیستی ایران که در سال ۱۳۹٤ تاسیس شد به تبیین راهکارهای مختلف نظام جمهوری اسلامی ایران در حوزه سوخت های زیستی و همکاری در وضع و تدوین استانداردها در زمینه های مختلف سوخت های زیستی پرداخته است. همچنین این انجمن علمی وظیفه جهت دادن به پروژه های تحقیقاتی مختلف سوخت زیستی و انجام هماهنگی بین مراکز پژوهشی و صنعتی را بر عهده دارد.

دورنمای آینده

توسعه شتابزده فناوری در سال های اخیر اثرات عمیقی را در حوزه کاوش های علمی به جا گذاشته است. از زمانیکه ریچارد الیور (Richard W. Oliver) در کتاب خود با عنوان عصر بیوتکنولوژی، قرن ۲۱ را قرن انقلاب زیست فناوری نامید، ۱۵سال بیشتر نمی گذرد. اما پیشرفت های سریع در ابزار فناورانه مورد نیاز دانشمندان، زمینه های متنوعی برای انتفاع از خدمات زیست فناوری در ابعاد مختلف بهداشت، غذا، انرژی، محیط زیست و اقتصاد پایدار ظهور پیدا کرده است.

روش های جدید اصلاح ژنتیک و همچنین زیست شناسی مصنوعی (Synthetic Biology) امروزه این امکان را به محققین داده است که با دست باز همه موانع ژنتیکی را کنار زده و به تولید اقتصادی و البته دوست دار محیط زیست فراورده های زیست فناوری بپردازند. در کشور ما نیز محققین حوزه زیست فناوری پا به پای آزمایشگاه های مرجع دنیا به بازطراحی و دست ورزی مسیرهای بیوشیمیایی و ژنتیکی در میکروارگانیسم ها پرداخته اند. این محققین با بهره گیری از دانش اومیکس پس از شناسایی تنوعات ژنتیکی بومی کشور، ریزسازواره هایی در حوزه های متنوع دارویی و متابولیت های ثانویه، صنایع غذایی و غذاهای فراسودمند و نهایتاً حفاظت از محیط زیست تولید و معرفی کرده اند. از آنجایی که توسعه اقتصادی پایدار در گرو حفظ محیط زیست و منابع طبیعی کشور است، فعالیت بیشتر محققین و حمایت دستگاه های مسئول در حوزه زیست پالایی و تولید سوخت های زیستی می تواند گامی مؤثر در انتقال سرمایه های کشور به نسل های بعدی باشد. دانش زیست فناوری میکروبی کشور در راستای نیل به این هدف متعالی، از ظرفیت های سخت افزاری و نرم افزاری مناسبی برخوردار است.

نتیجه گیری

مطالعات زیادی بر روی ریزسازواره های مختلف (باکتری ها، ریزجلبک ها، قارچ ها و مخمرها) به منظور افزایش تولید چربی انجام شده است. در این راستا دو راهکار اصلی توجه اکثر محققین را به خود جلب کرده است. اولین راهکار، تغییر عوامل خارجی تاثیرگذار بر ریزسازواره هاست که از طریق بهینه سازی جذب مواد مغذی و شاخص های مختلف محیط کشت و همچنین تنش های مختلف محیطی، می تواند تولید چربی را تحت تاثیر خود قرار دهد. از مهمترین این عامل ها می توان به عوامل فیزیکی مانند دما، pH، اکسیژن محلول و شدت نور و عوامل شیمیایی مانند منابع مختلف کربنی، فقر نیتروژن، فقر فسفات، فقر سولفور، آهن و سورفاکتانت اشاره کرد که هر کدام به طریقی تولید چربی را تحریک می کنند.

دومین راهکار، استفاده از ابزار مهندسی ژنتیک است. راهبردهای دست ورزی ژنتیکی اخیراً در اکثر پژوهش ها به عنوان اولین و تنها گزینه مهندسی تولید چربی در ریزسازواره ها مطرح بوده است.

اگرچه دستکاری ژنتیکی این امکان را فراهم می کند تا با اختصاصیت بیشتری ساختار و ویژگی های خاص تری گلیسریدها را به منظور استفاده های هدفمند تعیین و طراحی کرد، اما این نکته را نباید از نظر دور کرد که استفاده از ابزارهای دست ورزی ژنتیکی اولین راهبرد مهندسی مسیرهای متابولیک نبوده و تا حد امکان باید سایر روش های نیل به پروفایل اسیدهای چرب مورد نظر نیز بررسی شوند. اصولاً روش های جایگزین علاوه بر اینکه ارزان تر و سریع تر هستند، با اهداف ایمنی زیستی و رعایت حقوق مصرف کنندگان نیز در انطباق بیشتری می باشند. لذا بخشی از تلاش مقاله حاضر، ارائه مجموعه ی جامعی از راهبردهایی است که ضمن حفاظت از محیط زیست و منابع ژنتیکی، می توانند در راستای افزایش عملکرد ذاتی تولید روغن توسط ریزسازواره های تولید کننده موثر واقع شوند.

تشکر و قدردانی

نویسنده مقاله از تمام محققینی که پژوهش های آن ها زمینه ساز نگرش فن آورانه به مهندسی تولید چربی شده کمال امتنان را دارند.

References

1. Yen HW, Hu IC, Chen CY, Ho SH, Lee DJ, Chang JS. Microalgae-based biorefinery from biofuels to natural products. Bioresour Technol. 2013; 135: 166-174.
2. Talebi AF, Mohtashami SK, Tabatabaei M, Tohidfar M, Bagheri A, Zeinalabedini M, Mirzaei H, Mirzajanzadeh M, Shafaroudi S, Bakhtiari S. Fatty acids profiling: a selective criterion for screening microalgae strains for biodiesel production. Algal Res. 2013; 2(3): 258-267.
3. Liang MH, Jiang JG. Advancing oleaginous microorganisms to produce lipid via metabolic engineering technology. Prog Lipid Res. 2013; 52(4): 395-408.
4. Bellou S, Triantaphyllidou IE, Aggeli D, Elazzazy AM, Baeshen MN, Aggelis G. Microbial oils as food additives: recent approaches for improving microbial oil production and its polyunsaturated fatty acid content. Curr Opin Biotechnol. 2016; 37: 24-35.
5. Talebi AF, Tohidfar M, Mousavi Derazmahalleh SM, Sulaiman A, Baharuddin AS, Tabatabaei M. Biochemical modulation of lipid pathway in microalgae *Dunaliella* sp. for biodiesel production. Biomed Res Int. 2015; 2015: 1-12.
6. Donot F, Fontana A, Baccou J, Strub C, Schorr-Galindo S. Single cell oils (SCOs) from oleaginous yeasts and moulds: production and genetics. Biomass Bioenergy. 2014; 68: 135-150.
7. Adrio JL. Oleaginous yeasts: promising platforms for the production of oleochemicals and biofuels. Biotechnol Bioeng. 2017; 144(19): 1915-1920.
8. Beopoulos A, Nicaud J-M, Gaillardin C. An overview of lipid metabolism in yeasts and its impact on biotechnological processes. Appl Microbiol Biotechnol. 2011; 90(4): 1193-1206.
9. Bazinet RP, Layé S. Polyunsaturated fatty acids and their metabolites in brain function and disease. Nat Rev Neurosci. 2014; 15(12): 771-778.
10. Bruen R, Fitzsimons S, Belton O. Atheroprotective effects of conjugated linoleic acid. Br J Clin Pharmacol. 2017; 83(1): 46-53.
11. Passoth V. Lipids of yeasts and filamentous fungi and their importance for biotechnology. Biotechnology of Yeasts and Filamentous Fungi: Springer; 2017; 83(1): 149-204.
12. Bača M, Marcinčák S, Čertík M, Popelka P, Marcinčáková D, Guothová L, Molnár L, Klempová T, Maskaľová I. Effect of adding prefrmented cereal product containing gamma-linolenic acid to broiler feed on production indicators and fatty acid profile of chicken breast. Acta Ve Brno. 2014; 83(4): 379-384.
13. Madani M, Enshaeieh M, Abdoli A. Single cell oil and its application for biodiesel production. Process Saf Environ. 2017; 92(3): 46-53.
14. Li Q, Du W, Liu D. Perspectives of microbial oils for biodiesel production. Appl Microbiol Biotechnol. 2008; 80(5): 749-756.
15. Spolaore P, Joannis-Cassan C, Duran E, Isambert A. Commercial applications of microalgae. J Biosci Bioeng. 2006; 101(2): 87-96.

16. Odjadjare EC, Mutanda T, Olaniran AO. Potential biotechnological application of microalgae: a critical review. Crit Rev Biotechnol. 2017; 37(1): 37-52.

17. Shaojin Y, Yiping Z. Research and application of oleaginous microorganism. China Foreign Energy. 2006; 2: 21-32.

18. Xue F, Zhang X, Tan T. Research advance and prospect in microbial oils. Chinese J Bioprocess Engin. 2005; 3(1): 23-27.

19. Gouda MK, Omar SH, Aouad LM. Single cell oil production by *Gordonia* sp. DG using agro-industrial wastes. World J Microbiol Biotechnol. 2008; 24(9): 1703-1659.

20. Ratledge C. Fatty acid biosynthesis in microorganisms being used for single cell oil production. Biochem. 2004; 86(11): 807-815.

21. Haslam TM, Kunst L. Extending the story of very-long-chain fatty acid elongation. Plant Sci. 2013; 210: 93-107.

22. Koolman J, Röhm KH, Wirth J, Robertson M. Color atlas of biochemistry. Thieme Stuttgart; 2005; 120: 120-152.

23. Berg JM, Tymoczko JL. Biochemistry/Jeremy M. Berg, John L. Tymoczko, Lubert Stryer; web content by Neil D. Clarke. 1998; pp: 524-560.

24. Zhang JY, Kothapalli KS, Brenna JT. Desaturase and elongase-limiting endogenous long-chain polyunsaturated fatty acid biosynthesis. Curr Opin Clin Nutr. 2016; 19(2): 103-110.

25. Kosa M, Ragauskas AJ. Lipids from heterotrophic microbes: advances in metabolism research. Trends Biotechnol. 2011; 29(2): 53-61.

26. Rajakumari S, Grillitsch K, Daum G. Synthesis and turnover of non-polar lipids in yeast. Prog Lipid Res. 2008; 47(3): 157-171.

27. Courchesne NMD, Parisien A, Wang B, Lan CQ. Enhancement of lipid production using biochemical, genetic and transcription factor engineering approaches. J Biotechnol. 2009; 141 (1): 31-41.

28. Talebi AF, Tohidfar M, Bagheri A, Lyon SR, Salehi-Ashtiani k, Tabatabaei M. Manipulation of carbon flux into fatty acid biosynthesis pathway in *Dunaliella salina* using *AccD* and *ME* genes to enhance lipid content and to improve produced biodiesel quality. Biofuel Res J. 2014; 1(3): 91-97.

29. Yang S, Wang W, Wei H, Van Wychen S, Pienkos PT, Zhang M, Himmel M. Comparison of nitrogen depletion and repletion on lipid production in yeast and fungal species. Energies. 2016; 9(9): 685-699.

30. Subramaniam R, Dufreche S, Zappi M, Bajpai R. Microbial lipids from renewable resources: production and characterization. J Ind Microbiol Biotechnol. 2010; 37(12): 1271-1287.

31. Ruenwai R, Cheevadhanarak S, Laoteng K. Overexpression of acetyl-CoA carboxylase gene of *Mucor rouxii* enhanced fatty acid content in *Hansenula polymorpha*. Mol Biotechnol. 2009; 42(3): 327-332.

32. Zhang S, Skerker JM, Rutter CD, Maurer MJ, Arkin AP, Rao CV. Engineering

Rhodosporidium toruloides for increased lipid production. Biotechnol Bioeng. 2016; 113(5): 1056-1066.

33. Feng D, Chen Z, Xue S, Zhang W. Increased lipid production of the marine oleaginous microalgae *Isochrysis zhangjiangensis* (Chrysophyta) by nitrogen supplement. Bioresour. Technol. 2011; 102(12): 6710-6716.

34. Khozin-Goldberg I, Cohen Z. The effect of phosphate starvation on the lipid and fatty acid composition of the fresh water eustigmatophyte *Monodus subterraneus*. Phytochemistry. 2006; 67(7): 696-701.

35. Lei A, Chen H, Shen G, Hu Z, Chen L, Wang J. Expression of fatty acid synthesis genes and fatty acid accumulation in *Haematococcus pluvialis* under different stressors. Biotechnol Biofuels. 2012; 5(1): 1-25.

36. Li Y, Han D, Hu G, Sommerfeld M, Hu Q. Inhibition of starch synthesis results in overproduction of lipids in *Chlamydomonas reinhardtii*. Biotechnol Bioeng. 2010; 107(2): 258-268.

37. Arabolaza A, Rodriguez E, Altabe S, Alvarez H, Gramajo H. Multiple pathways for triacylglycerol biosynthesis in *Streptomyces coelicolor*. Appl Environ Microbiol. 2008; 74(9): 2573-2582.

38. Kalscheuer R, Stöveken T, Malkus U, Reichelt R, Golyshin PN, Sabirova JS, Ferrer M, Timmis K, Steinbüchel A. Analysis of storage lipid accumulation in *Alcanivorax borkumensis*: evidence for alternative triacylglycerol biosynthesis routes in bacteria. J Bacteriol. 2007; 189 (3): 918-928.

39. Zhang X, Li M, Agrawal A, San KY. Efficient free fatty acid production in *Escherichia coli* using plant acyl-ACP thioesterases. Metab Eng. 2011; 13(6): 713-722.

40. Fakas S, Papanikolaou S, Batsos A, Galiotou-Panayotou M, Mallouchos A, Aggelis G. Evaluating renewable carbon sources as substrates for single cell oil production by *Cunninghamella echinulata* and *Mortierella isabellina*. Biomass Bioenergy. 2009; 33(4): 573-580.

41. Čertík M, Balteszov L, Šajbidor J. Lipid formation and γ-linolenic acid production by Mucorales fungi grown on sunflower oil. Lett Appl Microbiol. 1997; 25(2): 101-105.

42. Zhu L, Zong M, Wu H. Efficient lipid production with Trichosporonfermentans and its use for biodiesel preparation. Bioresour Technol. 2008; 99(16): 7881-7885.

43. Xu J, Du W, Zhao X, Zhang G, Liu D. Microbial oil production from various carbon sources and its use for biodiesel preparation. Biofuel Bioprod Bior. 2013; 7(1): 65-77.

44. Cheirsilp B, Kitcha S, Torpee S. Co-culture of an oleaginous yeast *Rhodotorula glutinis* and a microalga *Chlorella vulgaris* for biomass and lipid production using pure and crude glycerol as a sole carbon source. Ann microbiol. 2012; 62(3): 987-993.

45. Kraisintu P, Yongmanitchai W, Limtong S. Selection and optimization for lipid production of a newly isolated oleaginous yeast, *Rdodosporidium toruloides* DMKU3-TK16. Kasetsart J Nat

Sci. 2010; 44: 436-445.

46. Xin L, Hong-ying H, Ke G, Ying-xue S. Effects of different nitrogen and phosphorus concentrations on the growth, nutrient uptake, and lipid accumulation of a freshwater microalga *Scenedesmus* sp. Bioresour Technol. 2010; 101(14): 5494-5500.

47. Tang S, Chen M, Yang J, Ni Q, He D, Chen T. Research of producing oil by *Mortierella isabellina*. China Oils Fats. 2007; 32(12): 35-37.

48. Wu S, Hu C, Jin G, Zhao X, Zhao ZK. Phosphate-limitation mediated lipid production by *Rhodosporidium toruloides*. Bioresour Technol. 2010; 101(15): 6124-6129.

49. Esakkimuthu S, Krishnamurthy V, Govindarajan R ,Swaminathan K. Augmentation and starvation of calcium, magnesium, phosphate on lipid production of *Scenedesmus obliquus*. Biomass Bioenergy. 2016; 88: 126-134.

50. Iwai M, Hori K, Sasaki-Sekimoto Y, Shimojima M, Ohta H. Manipulation of oil synthesis in Nannochloropsis strain NIES-2145 with a phosphorus starvation–inducible promoter from *Chlamydomonas reinhardtii*. Front Microbiol. 2015; 6: 912-918.

51. Mizuno Y, Sato A, Watanabe K, Hirata A, Takeshita T, Ota S, Sato N, Zachleder V, Tsuzuki M, Kawano S. Sequential accumulation of starch and lipid induced by sulfur deficiency in *Chlorella* and *Parachlorella* species. Bioresour Technol. 2013; 129: 150-155.

52. Sun X, Cao Y, Xu H, Liu Y, Sun J, Qiao D, Cao Y. Effect of nitrogen-starvation, light intensity and iron on triacylglyceride/carbohydrate production and fatty acid profile of *Neochloris oleoabundans* HK-129 by a two-stage process. Bioresour Technol. 2014; 155: 204-212.

53. Yeesang C, Cheirsilp B. Effect of nitrogen, salt, and iron content in the growth medium and light intensity on lipid production by microalgae isolated from freshwater sources in Thailand. Bioresour Technol. 2011; 102(3): 3034-3040.

54. Kim JH, Choi SK, Park YS, Yun C-W, Cho WD, Chee KM, Chang H. Effect of culture conditions on astaxanthin formation in red yeast *Xanthophyllomyces dendrorhous* mutant JH1. J Microbiol Biotechnol. 2006; 16(3): 438-442.

55. Kruszewska J, Palamarczyk G, Kubicek CP. Stimulation of exoprotein secretion by choline and Tween 80 in *Trichoderma reesei* QM 9414 correlates with increased activities of dolichol phosphate mannose synthase. Microbiol. 1990; 136(7): 1293-1298.

56. Dalmau E, Montesinos J, Lotti M, Casas C. Effect of different carbon sources on lipase production by *Candida rugosa*. Enzyme Microb Technol. 2000; 26(9): 657-663.

57. Saenge C, Cheirsilp B, Suksaroge TT, Bourtoom T. Efficient concomitant production of lipids and carotenoids by oleaginous red yeast *Rhodotorula glutinis* cultured in palm oil mill effluent and application of lipids for biodiesel production. Biotechnol Bioprocess Eng. 2011; 16(1): 23-33.

58. Ageitos JM, Vallejo JA, Veiga-Crespo P, Villa TG. Oily yeasts as oleaginous cell factories. Appl Microbiol Biotechnol. 2011; 90(4): 1219-1227.

59. Beltran G, Novo M, Guillamón JM, Mas A, Rozès N. Effect of fermentation temperature and culture media on the yeast lipid composition and wine volatile compounds. Int J Food Microbiol. 2008; 121(2): 169-177.

60. Sharma KK, Schuhmann H, Schenk PM. High lipid induction in microalgae for biodiesel production. Energies. 2012; 5(5): 1532-1553.

61. Angerbauer C, Siebenhofer M, Mittelbach M, Guebitz G. Conversion of sewage sludge into lipids by *Lipomyces starkeyi* for biodiesel production. Bioresour Technol. 2008; 99(8): 3051-3056.

62. Einicker-Lamas M, Mezian GA, Fernandes TB, Silva FLS, Guerra F, Miranda K, Attias M, Oliveira M. *Euglena gracilis* as a model for the study of Cu^{2+} and Zn^{2+} toxicity and accumulation in eukaryotic cells. Environ Pollut. 2002; 120(3): 779-786.

63. Liu ZY, Wang GC, Zhou BC. Effect of iron on growth and lipid accumulation in *Chlorella vulgaris*. Bioresour Technol. 2008; 99(11): 17-22.

64. Yen HW, Zhang Z. Enhancement of cell growth rate by light irradiation in the cultivation of *Rhodotorula glutinis*. Bioresour Technol. 2011; 102(19): 9279-9281.

65. Nielsen J. Synthetic biology for engineering acetyl coenzyme A metabolism in yeast. MBio. 2014; 5(6): 2141-2153.

66. Tai M, Stephanopoulos G. Engineering the push and pull of lipid biosynthesis in oleaginous yeast *Yarrowia lipolytica* for biofuel production. Metab Eng. 2013; 15: 1-9.

67. Runguphan W, Keasling JD. Metabolic engineering. of *Saccharomyces cerevisiae* for production of fatty acid-derived biofuels and chemicals. Metab Eng. 2014; 21: 3-13.

68. Lu X, Vora H, Khosla C. Overproduction of free fatty acids in *E. coli*: implications for biodiesel production. Metab Eng. 2008; 10(6): 333-339.

69. Voelker TA, Davies HM. Alteration of the specificity and regulation of fatty acid synthesis of *Escherichia coli* by expression of a plant medium-chain acyl-acyl carrier protein thioesterase. J Bacteriol. 1994; 176(23): 7320-7327.

70. Zheng Z, Zou J. The initial step of the glycerolipid pathway identification of glycerol 3-phosphate/dihydroxyacetone phosphate dual substrate acyltransferases in *Saccharomyces cerevisiae*. J Biol Chem. 2001; 276(45): 14710-14716.

71. Zaremberg V, McMaster CR. Differential partitioning of lipids metabolized by separate yeast glycerol-3-phosphate acyltransferases reveals that phospholipase D generation of phosphatidic acid mediates sensitivity to choline-containing lysolipids and drugs. J Biol Chem. 2002; 277 (41): 39035-39044.

72. Olukoshi ER, Packter NM. Importance of stored triacylglycerols in *Streptomyces*: possible carbon source for antibiotics. Microbiol. 1994; 140(4): 931-943.

73. Qiao K, Abidi SHI, Liu H, Zhang H, Chakraborty S, Watson N, Ajikumar P, Stephanopoulos G. Engineering lipid overproduction in the oleaginous yeast *Yarrowia lipolytica*. Metab Eng. 2015; 29: 56-65.

74. Vigeolas H, Waldeck P, Zank T, Geigenberger P. Increasing seed oil content in oil-seed rape (*Brassica napus* L.) by over-expression of a yeast glycerol-3-phosphate dehydrogenase under the control of a seed-specific promoter. Plant Biotechnol J. 2007; 5(3): 431-441.

75. Beopoulos A, Mrozova Z, Thevenieau F, Le Dall M-T, Hapala I, Papanikolaou S, Chardot T, Nicaud J. Control of lipid accumulation in the yeast *Yarrowia lipolytica*. Appl Environ Microbiol. 2008; 74; 7779-7789.

76. Dulermo T, Nicaud J-M. Involvement of the G3P shuttle and β-oxidation pathway in the control of TAG synthesis and lipid accumulation in *Yarrowia lipolytica*. Metab Eng. 2011; 13 (5): 482-491.

77. Pietrocola F, Galluzzi L, Bravo-San Pedro JM, Madeo F, Kroemer G. Acetyl coenzyme A: a central metabolite and second messenger. Cell Metab. 2015; 21(6): 805-821.

78. Lin H, Castro NM, Bennett GN, San K-Y. Acetyl-CoA synthetase overexpression in *Escherichia coli* demonstrates more efficient acetate assimilation and lower acetate accumulation: a potential tool in Metabolic engineering. Appl Microbiol Biotechnol. 2006; 71 (6): 870-874.

79. Ratledge C. The role of malic enzyme as the provider of NADPH in oleaginous microorganisms: a reappraisal and unsolved problems. Biotechnol Lett. 2014; 36(8): 1557-1568.

80. Hou L, Shi D, Cai Z, Song D, Wang X. Regulation of lipids synthesis in transgenic *Escherichia coli* by inserting Cyanobacterial sense and antisense *pepcA* gene. China Biotech 2008; 52: 25-28.

81. Meng X, Yang J, Cao Y, Li L, Jiang X, Xu X, Liu W, Xian M, Zhang Y. Increasing fatty acid production in *E. coli* by simulating the lipid accumulation of oleaginous microorganisms. J Ind Microbiol Biotechnol. 2011; 38(8): 919-925.

82. Beopoulos A, Cescut J, Haddouche R, Uribelarrea JL, Molina-Jouve C, Nicaud JM. *Yarrowia lipolytica* as a model for bio-oil production. Prog Lipid Res. 2009; 48(6): 375-387.

83. Tamano K, Bruno KS, Karagiosis SA, Culley DE, Deng S, Collett JR, Umemura M, Koike H, Baker S, Machida M. Increased production of fatty acids and triglycerides in *Aspergillus oryzae* by enhancing expressions of fatty acid synthesis-related genes. Appl Microbiol Biotechnol. 2013; 97(1): 269-281.

84. Scharnewski M, Pongdontri P, Mora G, Hoppert M, Fulda M. Mutants of *Saccharomyces cerevisiae* deficient in acyl-CoA synthetases secrete fatty acids due to interrupted fatty acid recycling. FEBS J. 2008; 275(11): 2765-2778.

85. Beopoulos A, Chardot T, Nicaud J-M. *Yarrowia lipolytica*: A model and a tool to understand the mechanisms implicated in lipid accumulation. Biochem. 2009; 91(6): 692-696.

86. Mlíčková K, Roux E, Athenstaedt K, d'Andrea S, Daum G, Chardot T, Nicaud J. Lipid accumulation, lipid body formation, and acyl coenzyme A oxidases of the yeast *Yarrowia lipolytica*. Appl Environ Microbiol. 2004; 70(7): 3918-3924.

87. Coleman RA, Lee DP. Enzymes of triacylglycerol synthesis and their regulation. Prog Lipid Res. 2004; 43(2): 134-176.

88. Todd BL, Stewart EV, Burg JS, Hughes AL, Espenshade PJ. Sterol regulatory element binding protein is a principal regulator of anaerobic gene expression in fission yeast. Mol Cell Biol. 2006; 26(7): 2817-2831.

89. Zhang B, Chen H, Li M, Gu Z, Song Y, Ratledge C, Chen Y, Zhang H, Chen W. Genetic engineering of *Yarrowia lipolytica* for enhanced production of trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid. Microb Cell Fact. 2013; 12: 70.

90. Najafi G, Ghobadian B, Tavakoli T, Yusaf T. Potential of bioethanol production from agricultural wastes in Iran. Renew Sust Energ Rev. 2009; 13(6): 1418-1427.

91. Tabatabaei M, Tohidfar M, Jouzani GS, Safarnejad M, Pazouki M. Biodiesel production from genetically engineered microalgae: future of bioenergy in Iran. Renew Sust Energ Rev. 2011; 15(4): 1918-1927.

92. Raeesossadati MJ, Ahmadzadeh H, McHenry MP, Moheimani NR. CO_2 bioremediation by microalgae in photobioreactors: impacts of biomass and CO_2 concentrations, light, and temperature. Algal Res. 2014; 6: 78-85.

93. Madadi R, Pourbabaee AA, Tabatabaei M, Zahed MA, Naghavi MR. Treatment of petrochemical wastewater by the green algae *Chlorella vulgaris*. Int J Environ Res. 2016; 10 (4): 555-560.

94. Najafi G, Ghobadian B, Yusaf TF. Algae as a sustainable energy source for biofuel production in Iran: a case study. Renew Sustainable Energy Rev. 2011; 15(8): 3870-3876.

95. Abdoli A, Enshaeieh M, Nahvi I, Madani M. Isolation of oleaginous yeasts and optimization of lipid production using taguchi design. New Cell Mol Biotechnol J. 2012; 4(14): 13-20.

96. Ghasemi L, Samadlouie H, Jalali H, Gharanjik S. Isolation and identification of *Candida orthopsilosi* SAGSGC as oleaginous yeast in perch fish by using ribosomal gene and optimization of oil and biomass production. J Agr Food Chem. 2017; 14(70): 1-12.

97. Pourbabaee A, Mondaniizadeh M. Single cell oil production from petroleum sludge by native yeast strains. J Rene Energy Environ. 2014; 2: 19.

98. Enshaeieh M, Abdoli A, Madani M. Single cell oil (SCO) production by *Rhodotorula mucilaginosa* and its environmental benefits. J Agr Sci Tech. 2015; 17(2): 387-400.

99. Enshaeieh M, Abdoli A, Nahvi I, Madani M. Bioconversion of different carbon sources in to microbial oil and biodiesel using oleaginous yeasts. J Biol Todays World. 2012; 1(2): 82-92.

100. Shafiei N, Beheshti MK, Madani M. Isolation, optimization, and investigation of production of linoleic acid in *Aspergillus niger*. Qom Univ Med Sci J. 2016; 10(6): 24-31.

101. Mohammadi Nasr M, Nahvi I, Biria D, Mirbagheri M. Optimization of culture media for enhancing gamma-linolenic acid production by *Mucor hiemalis*. Biological J Microorganism. 2016; 4(16): 25-31.

102. Nasr MM, Nahvi I, Keyhanfar M, Mirbagheri M. The effect of carbon and nitrogen sources on the fatty acids profile of *Mortierella vinacea*. Biological J Microorganism. 2017; 5(20): 1-8.

Journal of Microbial World
Volume 11, No. 1, April 2018

Review Article

Engineering of lipid production in oleaginous microorganisms

Fateme Ghanaatian[1], Ahmad Farhad Talebi[2]

[1]M.Sc. student, Faculty of Biotechnology, Semnan University, Semnan, Iran.
[2]Assistant Professor, Faculty of Biotechnology, Semnan University, Semnan, Iran.

Abstract

Microbial oils are of great interest to researchers as they provide essential fatty acids and are among renewable energy sources. Oleaginous microorganisms have the ability to produce oils up to 60% of their weight, most of which are accumulated in the form of triglycerides. Four oleaginous genera including bacteria, microalgae, fungi, and yeasts are among the largest producers of microbial oils. A variety of physical and chemical factors are effective in microbial oils production, among which carbon source, nutrient deficiency, temperature, light intensity and pH of the environment can be noticed. Considering the constraints faced by various physical and chemical treatments in microbial oils production, most researches are currently focusing on genetic modifications to enhance lipid production in oleaginous microorganisms. This article reviewed 210 peer-reviewed articles entitled engineering of lipid production in oleaginous microorganisms in scientific databases during 1990-2017, among which 89 to particles were selected for further assessments. In order to have the best achievement in replacement of new oil sources on a large scale, these resources should be optimized in terms of unique properties such as unsaturated fatty acids production, lipid yield, as well as lipid profile. The present study is an attempt to recommend some basic approaches to increase microbial oils production by oleaginous microorganisms. These strategies should be in line with genetic and environment-protection priorities. Concurrently, they could be useful for knowledge-based enterprises from the economical point of view.

Keywords: Microbial oils, Oily microorganisms, Biodiesel, Genetic engineering, Lipid metabolism.

Correspondence to: Ahmad Farhad Talebi

Tel: +98 2331533506

E-mail: aftalebi@semnan.ac.ir

Journal of Microbial World 2018, 11(1): 6-28.