กรดไขมันแกมม่าลิโนเลนิค (gamma-linolenic acid, GLA) เป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวชนิดที่จำเป็นต่อมนุษย์ และมีความสำคัญทางการแพทย์ ปัจจุบันการผลิต GLA ในทางการค้าโดยใช้เมล็ดพืชเป็นวัตถุดิบได้ประสบปัญหาในเรื่องการขาดแคลนวัตถุดิบ ซึ่งขึ้นอยู่กับฤดูกาล พื้นที่ในการเพาะปลูก และยากต่อการควบคุมคุณภาพ จึงเกิดความสนใจในการนำเอาจุลินทรีย์มาใช้เป็นแหล่งทดแทน โครงการวิจัยนี้ได้ประยุกต์ใช้วิธีทางวิศวกรรมเมทตาโบลิคมาวิเคราะห์หาชุมทางหลักที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ไขมันภายในเซลล์ของรา *Mucor rouxii* ATCC24905 โดยอาศัยวิธีการวิเคราะห์อัตราการไหลผ่านของคาร์บอนในแต่ละปฏิกิริยาชีวเคมี (metabolic flux analysis) ซึ่งจะนำไปสู่การพัฒนาและควบคุมการสังเคราะห์ GLA ในราชนิดนี้ต่อไป

การศึกษาเริ่มจากการออกแบบกระบวนการเมทตาโบลิซึมของ *M. rouxii* โดยรวบรวมข้อมูลเกี่ยวกับกระบวนการเมทตาโบลิซึมของ *Aspergillus oryzae* และ *Saccharomyces cereviae* กอรปกับข้อมูลการศึกษาจากห้องปฏิบัติการ และผลการวิเคราะห์หลังการสร้างแบบจำลอง จากนั้นนำมาสร้างเป็นแบบจำลองทางคณิตศาสตร์โดยใช้หลักของสมดุลมวลสารของเมทตาโบไลท์ภายในเซลล์ แบบจำลองที่สร้างขึ้นประกอบด้วยปฏิกิริยาชีวเคมีอยู่ 70 ปฏิกิริยาและ เมทตาโบไลท์ภายในเซลล์อยู่ 63 เมทตาโบไลท์ ต่อมาผู้วิจัยได้ใช้แบบจำลองนี้มาคำนวณหาการกระจายตัวของฟลักซ์ภายในเมทตาโบลิซึมของเซลล์ที่เลี้ยงในสภาวะที่อุณหภูมิ 15 และ 35 องศาเซลเซียส โดยอาศัยข้อมูลอัตราการเปลี่ยนแปลงของสารที่ลำเลียงเข้าออกเซลล์ในทั้งสองสภาวะและโปรแกรมคอมพิวเตอร์ MATLAB เมื่อเปรียบเทียบผลของการกระจายตัวในทั้งสองสภาวะโดยการทำ flux split ratio พบว่ามีชุมทางหลักที่เกี่ยวกับการสร้างไขมันคือชุมทาง Glucose-6-phosphate ชุมทาง pyruvate และ ชุมทาง acetaldehyde ซึ่งจะเป็นเป้าหมายที่สำคัญสำหรับการทำวิศวกรรมเมทตาโบลิคเพื่อวัตถุประสงค์ในการเพิ่มปริมาณการผลิตกรดไขมันโดยเฉพาะกรด GLA ต่อไป

Mucor rouxii ATCC24905, a filamentous fungus, is a rich source of nourishment, e.g., gamma linolenic acid (GLA) which is of great importance because of its pharmaceutical properties such as preventing heart diseases. In this study, we applied metabolic flux analysis to determine the cellular carbon flux distributions and principle nodes in a simplified metabolic network of *M. rouxii* ATCC24905 during aerobic growth at 15°C and 35°C on glucose –limited chemostat culture. The simplified metabolic pathways of *M. rouxii* were constructed primarily from the existing biochemical reactions of *Aspergillus oryzae, and Saccharomyces cerevisiae*.. The metabolic pathways include transport reactions, catabolism; EMP, pentose phosphate pathways, TCA cycle, anaplerotic reaction, and biosynthesis reactions. Then, a stoichiometric model reflecting the pathway was setup. The stoichimetric network consists of 70 pathway reactions and 63 intracellular metabolites, resulting in a system having a degree of freedom of 7. To successfully quantify the internal metabolic fluxes by applying metabolite balances around the pseudo- steady state assumed intracellular metabolites, we experimentally measured the specific consumption rate of glucose and ammonia, the specific secretion rate of ethanol and the specific formation rate of lipid, protein, DNA, and RNA. Comparison of flux distributions of cells cultured at the two temperature, and the analysis of flux split ratio indicates that there are three principal nodes affecting lipid yield of *M. rouxii* : the glucose 6-phosphate node, pyruvate node and acetaldehyde node. These nodes would be main targets for further pathway modification for an improved GLA production in *M. rouxii*.