

環境とバイオテクノロジー
2021 年度採択研究者

2021 年度 年次報告書

中西 貴士

ノボザイムズジャパン(株) 研究開発部門
主任研究員

人工進化実験による産業用酵素生産 *Bacillus* 株の耐酸性化

§ 1. 研究成果の概要

本研究では、弊社保有の産業用酵素生産 *Bacillus* 株を酸性条件下でも生育・酵素生産できるよう育種することを目的とする。大規模な変異株スクリーニングに向けた準備として、本年度は先行研究の知見を基にした点変異体の作成と、点変異体の培養特性の解析を行なった。大腸菌を用いた先行研究で、酸性条件に実験室進化させた株のすべてに *rpoBC* 遺伝子への点変異が確認されており、これらの変異が重要な役割をもつことが示唆されている。これらのうち、*Bacillus licheniformis* 株の *rpoBC* 遺伝子でも保存されたアミノ酸残基について、ゲノム編集技術を用いて点変異株を作成した。この株は、レポーターとして酸性アルファアミラーゼを生産する。次に、*rpoBC* 変異株の培養特性を調べるため、shake flask によるバッチ培養を試した。まず、本研究の重要な指標の一つである酵素生産能力を調べるために、弊社で酵素生産性試験に利用される培地、培養条件 (pH6.5-7.5 程度) を用いた。5 つの点変異株のうち、3 つは親株とほとんど変わらない酵素生産性を示したが、2 つは酵素生産能が顕著に下がると同時に、他の株では見られない pH の低下も確認された。点変異により、代謝特性が大きく変化したことが示唆される。今後、酸性条件下での細胞増殖能や酵素生産能を調べるために、さまざまな培養条件を検討し、その知見を変異株の大規模スクリーニングに活かす予定である。