

環境とバイオテクノロジー  
2021 年度採択研究代表者

2022 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

## 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。モデル実験として、弊社保有の酸性アルファアミラーゼを生産する *Bacillus licheniformis* 株 (以下 AA 株と呼ぶ) を使用する。大規模な変異株スクリーニングに向けて、今年度は初めに Automated colony picker Qpix 420 (Molecular Devices) を用いたハイスループットスクリーニング方法を検討した。さまざまな条件検討の結果、酵素生産性および酸性適応性を考慮して、適切な変異株をアガープレート上でスクリーニングするワークフローを確立した。アガープレート上での一次スクリーニング後、候補株を液体培養で二次スクリーニングする必要がある。二次スクリーニングの効率化のために、Automated liquid handler OT-2 (Opentrons) を用いたアミラーゼアッセイの自動化ワークフローを確立した。さらに、培養サンプルのアッセイだけでなく、OT-2 により AA 株の遺伝子操作実験なども自動化することができた。以上の研究により、AA 株の酸性適応変異体を取得するためのロボティックスクリーニング、およびゲノム上の責任変異を調べるための自動化遺伝子操作ワークフローを確立できた。今後、これらの知見を利用して、酸性適応株の大規模スクリーニングを行なう予定である。