

①酢酸塩の添加、②生育サポートのための微好気条件を検討した。結果として酢酸ナトリウムの 100 mM 添加時に栄養培地を用いた際と同等以上のコハク酸生産が認められた。一方、酢酸は消費濃度よりも高い初期濃度を要求し、嫌気条件での酢酸代謝に関わる Pta-Ack 経路の酢酸に対する親和性の低さが原因であると考えられた。当該無機塩酢酸培地・微好気条件でジャー培養をおこない、コハク酸最終濃度 113.7 mM (13.4 g/L)、生産速度 0.43 mM/hr を達成した。またバイオディーゼル生産の副産物である粗グリセロールを用いても同等のコハク酸生産が認められた。

第 4 章では無機塩酢酸培地・微好気条件でのコハク酸生成プロセスを解析した。グリセロール、酢酸塩、炭酸塩をそれぞれ ^{13}C 安定同位体でラベルし、発酵液を GC/MS で測定したところ、グリセロールからの炭酸固定によるコハク酸の生産が証明され、また酢酸は主にエタノールに代謝されることで NADH の再酸化に寄与すると示唆された。

第 5 章では第 4 章の結果をもとに微好気条件での嫌気部分の代謝フローを算出した。グリセロールは収率 72% でコハク酸へと変換され 17% がピルビン酸として蓄積していた。その際の Redox Balance の充足率は 56.9% であるが、酢酸による NADH 再酸化を考慮すると 99.9% とほぼ理論値に達した。すなわち酢酸は NADH を再酸化し、ピルビン酸の蓄積に影響を受けた Redox Balance の正常化に寄与すると示された。

第 6 章では酢酸代謝経路の増強、及び炭酸固定経路の増強を試みた。酢酸に親和性の高い Acs 経路の導入は特に低濃度の酢酸添加時に有効であった。一方、炭酸固定酵素群の大量発現はグルコースを原料とした報告と異なり、コハク酸生産に有効な結果を示さなかった。

以上、本研究では栄養培地、無機塩培地双方でのグリセロールからの炭酸固定によるコハク酸生産を達成した。また粗グリセロールからのコハク酸生産にも成功し、バイオディーゼル産業に応用可能であると期待される。また無機塩酢酸培地におけるコハク酸生成プロセスをカーボン及び Redox Balance の両面から明らかとした。これらの知見は、学術上また応用上寄与するところが多い。よって審査委員一同は、本論文が博士(農学)の学位にふさわしいと認めるものである。