

戦略的創造研究推進事業(ALCA)  
技術領域(プロジェクト名)「生物資源の制御による  
バイオマス・有用成分の増産」

課題名「ゼロから創製する新しい木質の開発」

終了報告書

研究開発期間 平成 23年 10月～令和 2年 3月

研究開発代表者:光田 展隆  
(国立研究開発法人 産業技術総合研究所  
生物プロセス研究部門、研究グループ長)

## ○報告書要約（和文）

研究開発代表研究者：産業技術総合研究所 研究グループ長 光田 展隆

研究開発課題名：ゼロから創製する新しい木質の開発

### 1.研究開発の目的

木質由来の次世代バイオ燃料やバイオプラスチックあるいは有用木材の生産コストを減少させ、温室効果ガスの排出を低廉化させることを目的として、本研究開発では、木質を形成しない変異体をベースに、糖化しやすい形質や、木質を構成する各要素を取り出しやすい形質、木質生産量や材質が向上する形質などの有用性を備えた木質を人工的に構築する技術をまずはモデル植物（シロイヌナズナ）で開発し、それを木本モデル植物（ポプラ）、単子葉類モデル植物（イネ）に調整、適用して上記有用木質を持つ植物を開発する。また、一連の研究過程で得られる成果の一部を非遺伝子組換えで実現する研究開発も行う。

### 2.研究開発の概要

#### (1)内容:

植物の二次細胞壁（木質）は、セルロース、ヘミセルロース、リグニンからなる、化学的・生物学的に安定な構造物である。シロイヌナズナで木質形成を制御する転写因子 NST1、NST3 両遺伝子を欠損した二重変異体は茎や胚軸における繊維細胞での木質形成がまったく起きない。本研究開発ではこの変異体に様々な転写因子遺伝子を繊維細胞特異的に発現させるスクリーニングを行うことにより、天然にはない細胞壁を再構築させる試みを行ってきた。細胞壁が再構築された場合はその有用性を分析し、有用であった場合は森林総研、東京農工大に依頼してポプラに、石川県大に依頼してイネに、東京農工大に依頼してソルガムに遺伝子導入を行ってきた。また、得られた有用性の一つとして木質生産の増強があるが、これは一方で分解性を低下させることから、東京農工大、長岡技科大に依頼してリグニンを量的、質的に変化させる遺伝子を様々な生物種から集めてスクリーニングを行い、木質の分解性を上げる研究を行ってきた。

#### (2)成果:

シロイヌナズナ *nst1 nst3* 二重変異体を用いたスクリーニングでは 600 以上のコンストラクトを調査し、十数個の転写因子遺伝子が木質形成を回復させられることを見出した。とくに、①木質を大幅に増強できる遺伝子、②茎（幹）を肥大成長（二次成長）させられる遺伝子、③リグニンのない細胞壁を形成させられる遺伝子、④木質形成を負に制御している遺伝子、の発見は意義が大きく産業応用が期待される。これらの一部についてはポプラやイネ、ソルガムに導入し、期待されるような結果を得た。一部のポプラについてはリグノセルロースを原材料とする下流プロセスを研究している複数の研究グループに提供し、木質を増強しても通常の木材とほぼ同様に処理できることを確認したほかリグニンの低減がもたらす効果を確認した。また、リグニンを量的、質的に変化させる遺伝子のスクリーニングにおいては 100 遺伝子超を調査し、約 10 遺伝子が明らかにリグニンを変化させ、⑤うち 1 つはセルロースの糖化性を 2 倍以上に向上させられることを見出した。一連の研究過程で⑥細胞壁の糖組成を迅速に決定する技術を開発した。

#### (3)今後の展開:

前項に挙げた成果のうち①、④に関しては民間企業との共同研究が進んでおり、材質を強化した木材を有する樹木の開発を目指している。③についても成果を応用して民間企業と共同して果実の保存性を向上させる研究開発に取り組んでいる。⑤については外国の公的研究機関、および民間企業と共同して大型草本植物に適用すべく共同研究交渉を行っている。⑥についてはこの技術を利用して民間企業と大型草本植物の育種に取り組み、細胞壁成分の生産量が向上する系統の樹立にめどをつけた。このように本研究開発の成果の多くは民間企業との共同研究開発に結びついており、社会実装を目指して研究開発を継続していきたい。

## ○Report summary (English)

Principal investigator: MITSUDA Nobutaka, Group Leader, Bioproduction Research Institute, National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST)

R & D title: Development of new wood in plants without wood formation

### 1. Purpose of R & D

To reduce production cost of next-generation biofuels, bioplastic, and high-value wood for the reduction of CO<sub>2</sub> emission, we attempt to establish new technologies to produce new wood which is easy to be saccharified, extract each component, or has high quality with increased productivity first in model plant *Arabidopsis* and then in poplar, rice and other suitable plants for application. At the same time, we attempt to develop an alternative method which doesn't make the final plant as a transgenic plant to achieve same goals.

### 2. Outline of R & D

#### (1) Contents:

Plant secondary cell wall (wood) has a chemically and biologically very stable structure made of cellulose, hemicellulose, and lignin. *Arabidopsis* double mutant of *NST1* and *NST3* transcription factor genes showed almost complete loss of secondary cell wall formation in stem and hypocotyl fiber cells. In this study, we have been tried to develop new artificial cell walls in this double mutant by expressing various transcription factor genes in fiber cells. When the transgenic plants produced new cell walls as expected, we analyzed their characteristic and introduced the causal genes into poplar, rice, and sorghum if they appeared to be useful. While one of the obtained results was the increased production of woody substances, this could increase recalcitrance and therefore we also tried to change the quantity and quality of lignin by expressing various enzymatic genes from many organisms.

#### (2) Achievements:

We found out more than 10 genes which can reproduce cell walls in the *Arabidopsis nst1 nst3* double mutant by expressing more than 600 transcription factor genes in it and the systematic observation. Especially, the discoveries of 1. The gene which can dramatically increase wood production 2. The gene which can enlarge stem width by increased secondary growth 3. The gene which can induce cell wall with no lignin 4. The gene which negatively regulate wood formation, are quite significant and expected for industrial application. A part of these genes induced similar phenotype in poplar, rice, and sorghum. A part of the transgenic poplar was provided to the groups which focus on the study of downstream process of wood utilization. We found the reinforced wood can be similarly processed like normal wild-type wood in their processes and confirmed the effect of lignin reduction also for the reinforced wood. Furthermore, we found around 10 enzymatic genes from various organisms can change quantity or/and quality of lignin when they are expressed in *Arabidopsis* fiber cells from the screen of more than 100 genes. 5. One of them doubled saccharification rate of the cellulose from secondary cell wall. 6. We also developed a new high-throughput method to analyze sugar composition of cell wall.

#### (3) Future developments:

Among major achievements shown above, 1. and 4. are employed for the collaboration with private company to develop new reinforced wood. No. 3 is also served for the collaboration with another private company to increase fruit shelf life. No. 5 is now under negotiation for the collaboration with foreign institute and company to apply it to the particular grass species. We also utilized the new method No. 6 for the development of new strain of another large grass species suitable for biofuel production in collaboration with another private company. As described, most of our outcome is now served for the collaboration with private companies and on the way to commercialization in future.