



平成27年1月9日
科学技術振興機構（JST）
Tel：03-5214-8404（広報課）
東京農工大学
Tel：042-367-5895（総務課広報・基金室）
長岡技術科学大学
Tel：0258-47-9209（企画・広報室広報係）
森林総合研究所
Tel：029-829-8134（研究情報科）
理化学研究所
Tel：048-467-9272（広報室）

細胞壁リグニンの分子構造を変える新しい方法を開発

ポイント

- 木材などのバイオマス資源を利用する際のリグニンの分解や除去には、大量のエネルギーや化学薬品が使われている。
- 細菌の遺伝子を利用し、分解しやすいリグニンをシロイヌナズナへ導入することに成功した。
- 格段の分解性を備えた植物バイオマス創成へ向けた第一歩になると期待される。

JST 戦略的創造研究推進事業において、東京農工大学の梶田 真也 准教授らは、植物の細胞壁に多量に蓄積するリグニン^{注1}を、より分解しやすい構造に改変するための新しい技術を開発しました。

リグニンは、植物の細胞壁に含まれる複雑な構造をした高分子（芳香族ポリマー）です。木材などからパルプや化成品原料になるセルロースなどを取り出す際、リグニンを部分的に分解して取り除く必要があります。現在の高温高圧条件下でアルカリや酸を使う処理方法では莫大なエネルギーを消費します。また、リグニンを取り出しやすくする遺伝子工学技術が研究されてきましたが、リグニンを改変した植物が正常に育たないという問題がありました。そのため、生育に影響を及ぼさない新しいリグニン改変技術の開発が望まれていました。

本研究グループは、リグニンを分解するバクテリア *Sphingobium*（スフィンゴビウム）*sp.* SYK-6 株を単離し、分解反応に関わる遺伝子を網羅的に解析しました。その結果、このバクテリアには、植物がリグニンを合成するために持っている代謝経路を改変するために有効な遺伝子がいくつも存在することが明らかになりました。今回、そのうちの1つである *Li g D* 遺伝子を植物に導入し、植物の生育に影響を及ぼすことなく、リグニン分子に特徴的な β -O-4 型構造^{注2}の一部を改変することに成功しました。これにより、アルカリ反応液中でリグニンの分解性が向上することが期待されます。

この技術をさらに発展させ、分解性の高いリグニンを植物に蓄積させることができると、リグニンの除去に必要なエネルギーや薬品の消費を格段に減少させることで、植物からバイオ燃料やバイオプラスチックを作る際に大気中へ排出される二酸化炭素の大幅な抑制が期待されます。

本研究は、長岡技術科学大学 政井 英司 教授、森林総合研究所 菱山 正二郎 主任研究員、理化学研究所 菊地 淳 チームリーダーらをはじめとして、国内外の複数の研究機関に所属する研究者と共同で行ったものです。

本研究成果は、2015年1月9日（日本時間）に英国科学誌「*Plant Biotechnology Journal*」のオンラインに公開されます。

本成果は、以下の事業・開発課題によって得られました。

戦略的創造研究推進事業 先端的低炭素化技術開発（ALCA）

研究開発課題名：「環境微生物群の潜在的代謝能に基づくテラーメイドリグニンの創出」

研究開発代表者：梶田 真也（東京農工大学 准教授）

研究開発期間：平成24年10月～平成30年3月（予定）

JSTは本事業において、温室効果ガスの排出削減を中長期にわたって継続的かつ着実に進めていくために、ブレークスルーの実現や既存の概念を大転換するような『ゲームチェンジング・テクノロジー』の創出を目指し、新たな科学的・技術的知見に基づいて温室効果ガス削減に大きな可能性を有する技術を創出するための研究開発を実施しています。

<研究の背景と経緯>

我々の身近には、紙や繊維、飼料をはじめとして、植物の細胞壁を原料とした素材が豊富に存在します。植物の細胞壁は一次壁と二次壁に大別されますが、一般に二次壁は一次壁よりも厚く、その主成分としてセルロースやヘミセルロースなどの多糖類に加え、芳香族ポリマーであるリグニンを20~30%含みます(図1)。細胞壁の多糖類は、紙や繊維の原材料となり、最近ではバイオエタノールやバイオプラスチックなど、液体燃料や化学品の原料としての利用も検討されています。一方、植物の生存にとって重要なリグニンは、植物を工業原料として利用する際には邪魔になることが多く、何らかの方法でリグニンを多糖から分離する必要があります。例えば、木材から化学パルプを作る大規模な工場では、高圧高温条件の下で水酸化ナトリウムや硫化ナトリウムを含む薬液を使うことで木材中のリグニンを分解し、多糖を主成分とするパルプを製造しています。また、技術開発が進む植物バイオマスからのバイオエタノールやバイオプラスチックの製造に際しても、同様の方法でリグニンを分解・除去する必要があります。

一般に、このようなリグニンを取り除く処理は、大量のエネルギーと化学薬品を使うため、多くの二酸化炭素を大気中へ排出します。より温和な条件でリグニンを分解できれば、二酸化炭素の排出抑制に加え、工程中の過度な多糖の分解も防ぐことになり、植物原料のさらなる有効活用が期待できます。

このようなことを背景として、90年代から遺伝子組換えを利用して細胞壁に含まれるリグニンの量や分子構造を改変する試みが活発になりました。従来の多くの研究例では、リグニンのモノマー(単量体)が作られる時に働く酵素遺伝子の働きを抑え、ポリマーであるリグニンを作りにくくすることを目的としていました。しかし、このような研究で作出された遺伝子組換え植物は、正常には生育しないことが多く、リグニンの合成を上手く制御する方法の開発が望まれていました。リグニンを改変した植物が正常に育たない原因の1つは、リグニンを作るための代謝経路が、ほかの芳香族成分を作るためにも利用されているため、リグニンだけを調節しようとしても植物の生育に重要なほかの代謝物も同時に変動してしまうことでした。

<研究の内容>

本研究グループではリグニンの分子を特異的に改変する方法を検討してきました。リグニンには多様な分子間の結合様式がありますが、その中で最も多く存在するのが β -O-4型結合です。この結合様式はリグニン全体の50~70%を占めており、工業的なリグニンの分解工程においてはこの結合を優先的に切断する処理方法が採用されています。そこで、この β -O-4型構造を特異的に改変してリグニンの分解性を向上させることで、植物バイオマスの加工工程から排出される温室効果ガスの抑制に寄与する植物の育種技術の開発を目指しました。

政井教授らは、低分子のリグニンを分解するバクテリア *Sphingobium* sp. SYK-6株を自然界から単離し、その代謝機能の解析に加えて、このバクテリアの代謝物をバイオプラスチックへ応用する研究を精力的に進めてきました。一方、梶田准教授らは植物のリグニンを改変する方法を模索する中で、SYK-6株が持つ酵素 *LigD* に着目しました(図2)。この酵素は、リグニンの β -O-4型構造のベンジル位^{注3)}にあるアルコールをケト^{注4)}へと酸化する機能を持ちます。これまでに *LigD* がリグニンのダイマー(二量体)のモデル化合物を酸化することを明らかにしていましたが、今回、*LigD* が植物の中で合成されるリグニン二量体や多量体のベンジル位も酸化することを突きとめました。 β -O-4結合は、リグニンのモノマーやモノマーに至る代謝中間体には存在しないため、*LigD* の植物での発現によりリグニンに特異的な分子構造の改変が期待で

きます。また、リグニン分子のベンジル位にケト構造を導入することで、リグニンの主要な結合であるβ-O-4結合の分解が促進されることが古くから知られています。L i g D遺伝子をモデル植物であるシロイヌナズナで発現させたところ、組換え体では期待通りにL i g D活性が検出されました。さらに、L i g Dを発現する組換え体のリグニン構造を2次元NMRを用いて調べたところ、リグニン分子のベンジル位のケト構造が、野生型植物の約3倍にまで増加していることが明らかになりました。これは高分子のリグニンに特徴的な分子構造を認識する酵素を用いて、植物細胞壁に含まれるリグニンの構造改変に成功した世界初の事例です。

<今後の展開>

現時点ではケト構造の導入効率が低いため、リグニンの分解性を顕著に向上させるまでには至っていませんが、遺伝子の発現効率の改善や細胞内でL i g Dを働かせる場所を最適化することで、リグニンへのケト構造の導入効率が高くなり、分解性の高いリグニンを植物に蓄積させることができると考えられます(図3)。リグニンの分解性の向上は、植物バイオマスの加工性を改善して原料の有効活用に役立つだけでなく、加工工程から排出される温室効果ガスの削減に大きな効果を発揮することが期待されます。

<参考図>

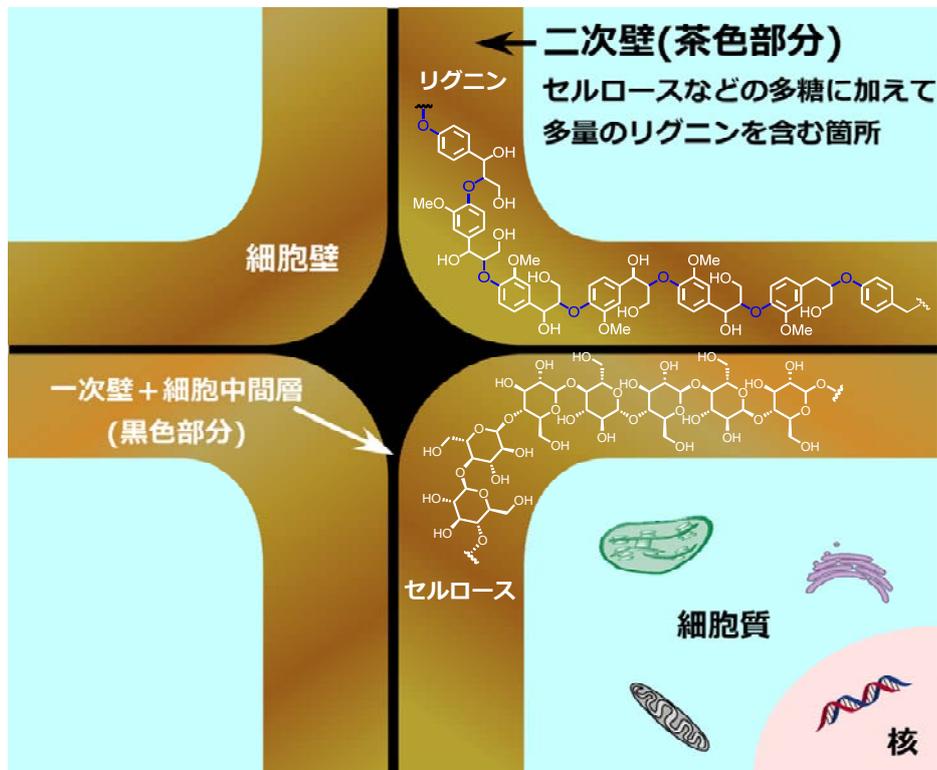


図1 植物細胞壁の構造

植物の細胞壁は、中間層を含む薄い一次壁とその内側に生成する厚い二次壁に大別されます。二次壁には多糖類であるセルロースやヘミセルロースに加え、リグニンが沈着し、植物の体制維持、水分の通導、病虫害に対する耐性などに重要な役割を果たしています。

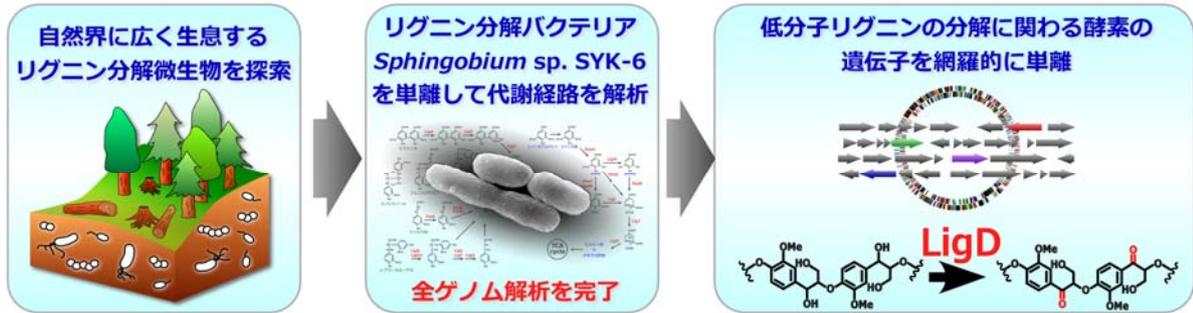


図2 低分子のリグニンを分解することができるバクテリア *Sphingobium* sp. SYK-6 株とリグニン分解に働く酵素 *LigD*

SYK-6 株は、多様な低分子リグニンを分解して生育することができる、極めてユニークな性質を持つバクテリアです。研究グループの政井らはこのバクテリアの全ゲノムを解析し、リグニン分解に関与する遺伝子を既に40個以上単離しています。今回は、その中の1つ *LigD* 遺伝子を植物へ導入しました。

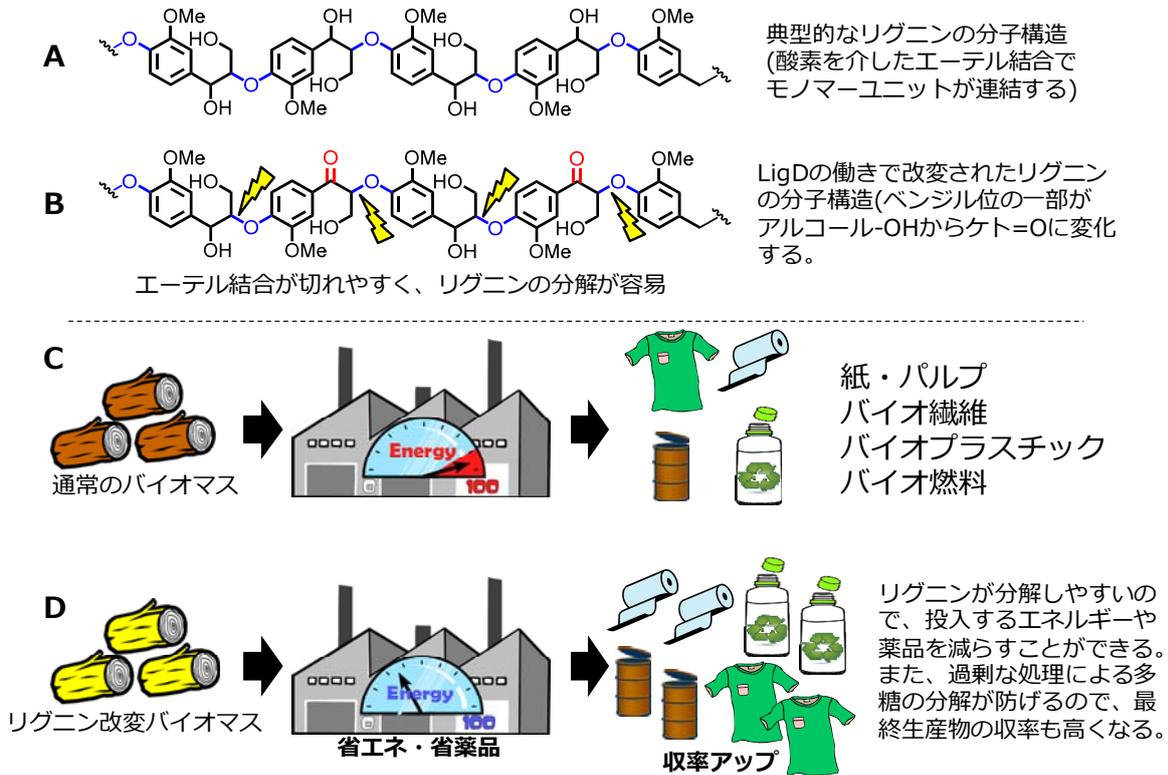


図3 *LigD*によるリグニン改変の原理とその効果

*LigD*は、リグニンに含まれる結合様式の中で最も多く存在する β -O-4型構造を認識し、そのベンジル位を酸化する酵素です(Aで青く色を付けたエーテル結合を β -O-4型結合と呼びます)。 *LigD*を発現する植物では、リグニンのベンジル位が酸化され、部分的にケト型構造が作られます(B)。ケト構造を持つリグニンの β -O-4結合は、アルカリ性の反応液中で分解されやすく、結果としてリグニンの分解性が向上します(CとD)。分解性の向上は、リグニン分離工程に必要なエネルギーや薬品の消費を抑制することにつながります。また、リグニンの分解性を高めることで、反応温度や反応に使うアルカリの濃度を下げることができるため、結果として多糖の過度な分解を防ぐことにつながり、セルロースなどの回収率が向上します。

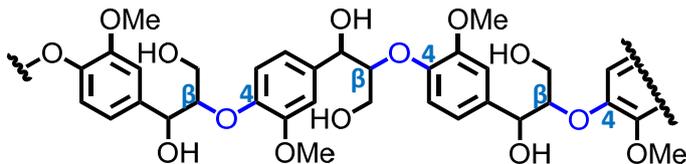
<用語解説>

注1) リグニン

植物の細胞壁の主要な構成成分であり、細胞壁を固く丈夫な構造に保つためのポリマー。

注2) β -O-4型構造

リグニン分子内の全結合様式の50~70%を占めるエーテル結合。植物細胞におけるリグニンの重合過程では、モノマーの側鎖 β 位と隣接するモノマーの芳香核4位の間が連続的に連結して高分子化する。



注3) ベンジル位

有機化合物の炭素の位置を表す用語であり、芳香（ベンゼン）環に直接結合している炭素のこと。

注4) ケト

有機化合物の部分的な化学構造を表す用語であり、炭素と酸素が二重結合で結合したカルボニル基（ケトン構造、図2を参照）のこと。

<論文タイトル>

“Introduction of chemically labile substructures into *Arabidopsis* lignin through the use of LigD, the C α -dehydrogenase from *Sphingobium* sp. strain SYK-6”
doi: 10.1111/pbi.12316

<お問い合わせ先>

<研究に関すること>

梶田 真也（カジタ シンヤ）

東京農工大学 大学院農学研究院 准教授

〒183-8538 東京都小金井市中町2-24-16

Tel : 042-388-7391 Fax : 042-388-7391

E-mail : kajita@cc.tuat.ac.jp

<JSTの事業に関すること>

吉田 秀紀（ヨシダ ヒデキ）

科学技術振興機構 環境エネルギー研究開発推進部 低炭素研究担当

〒102-0076 東京都千代田区五番町7 K's五番町

Tel : 03-3512-3543 Fax : 03-3512-3533

E-mail : alca@jst.go.jp

<報道担当>

東京農工大学 総務課広報・基金室

〒183-8538 東京都府中市晴見町3-8-1

Tel : 042-367-5895 Fax : 042-367-5553

E-mail : koho2@cc.tuat.ac.jp

長岡技術科学大学 企画・広報室広報係

〒940-2188 新潟県長岡市上富岡町1603-1

Tel : 0258-47-9209 Fax : 0258-47-9010

E-mail : skoho@jcom.nagaokaut.ac.jp

森林総合研究所 企画部 研究情報科長 森澤 猛

〒305-8687 茨城県つくば市松の里1

Tel : 029-829-8134 Fax : 029-873-0844

E-mail : kouho@ffpri.affrc.go.jp

理化学研究所 広報室 報道担当

〒351-0198 埼玉県和光市広沢2-1

Tel : 048-467-9272 Fax : 048-462-4715

E-mail : ex-press@riken.jp