

## 藻類動物細胞共生リサイクル培養による革新的食料生産法の確立

研究代表者

清水 達也

東京女子医科大学 先端生命医科学研究所

共同研究者

原口 裕次

東京女子医科大学先端生命医科学研究所

高橋 宏信

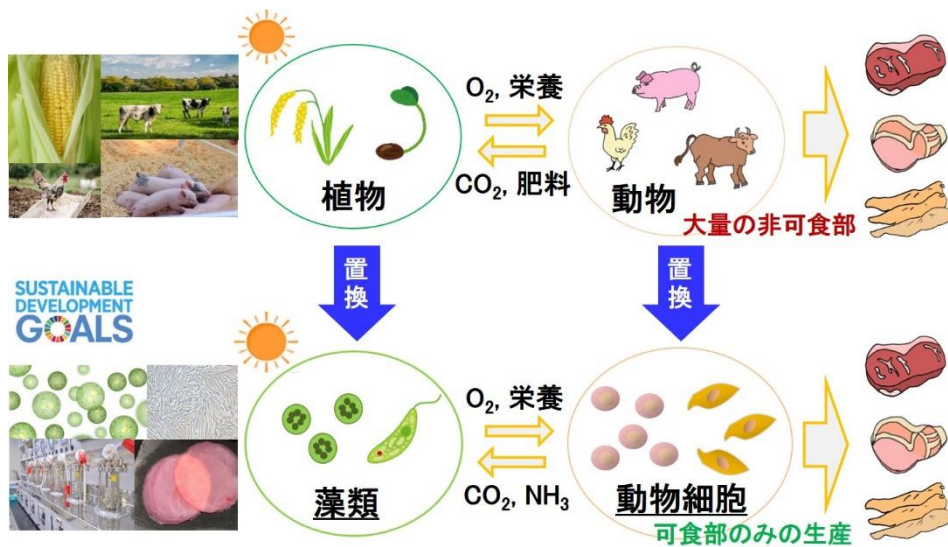
東京女子医科大学先端生命医科学研究所

佐々木 大輔

東京女子医科大学先端生命医科学研究所

坂口 勝久

早稲田大学理工学術院



穀物栽培と家畜飼育に替わる新たな食料生産システム

## 1. 研究の背景と達成目標

地球規模での急激な人口増加による食料不足や食料費高騰が危惧されている。特に畜産による食肉生産が消費に追いつかなくなる「タンパク質クライシス」の到来は目前に迫っていると予測されている。鳥インフルエンザ等の家畜の疾病や環境汚染は食の安全を脅かす社会問題となっている。現在畜産は極めて低効率で行われており、家畜肉を得るためにはその数倍の飼料が必要である。また家畜動物が排出する温室効果ガスは地球上の全排出量の15%を超えている。我が国は家畜飼料の大部分を輸入に頼っており、食料自給率を大幅に下げている。大きな自然災害は安定した食料確保の重要性を再認識させる。以上のような種々の食問題を解決し安全で安定した食料確保を実現するために、本プロジェクトでは新規細胞培養システム「藻類動物細胞共生リサイクル培養」による革新的な食料生産法を提案する。この共培養系において、家畜動物を動物細胞に、農産植物を藻類に置換することにより、畜産や穀物栽培に頼らない安定した食料確保の実現を目指す。藻類が光エネルギーで二酸化炭素や窒素から動物細胞の増殖に必要な酸素・栄養素を産生し、動物細胞の老廃物を藻類が再利用する新規共培養系の基盤技術を確認する。その実現により安全で持続的な食料生産システムを構築し、新産業システム創設につなげる。

種々の藻類および動物細胞に含有される栄養素の定量解析を行い、ヒトが必要とする栄養素を賄うことが可能な藻類と動物細胞の組み合わせを決定する。これらの藻類および動物細胞を用い、食料としての共培養立体組織を作製する技術を確認する。作製する立体組織厚さの達成目標値を、初年度においては培養液からの拡散による栄養素の供給が成立する限界値に近い0.2 mmに設定し、二年目においては組織内における藻類・動物細胞間での酸素・二酸化炭素・アンモニアのリサイクル成立に基づく0.5 mmに設定し、最終年度においては厚み1 cmの立体組織作製を目指す。藻類が光合成により生産した栄養成分を動物細胞に供給する技術を確認する。

## 2. 主な研究成果と社会、学術へのインパクト

- ・複数の藻類と動物細胞をバランスよく共培養立体組織に使用することで、食料としてヒトに必要な全ての栄養素を賄うことが可能であることが示された。
- ・遠心力の利用により藻類と動物細胞から迅速に立体組織を作製可能な技術を開発した。
- ・藻類・動物細胞共培養立体組織の作製および培養条件を検討することにより、厚さ0.4 mmの立体組織を作製し、また組織内部において藻類が動物細胞の代謝産物である二酸化炭素とアンモニアを消費し酸素を産生することにより、組織の壊死を抑制しつつ培養を維持することが可能であることを示した。共培養立体組織作製条件のさらなる検討により、厚さ6 mmの立体組織を作製した。
- ・藻類・動物細胞共培養系において藻類特異的分解酵素を用いることにより、動物細胞が成育に必要な栄養素を藻類から供給可能であることを示した。

### 【社会、学術へのインパクト】

上述した種々の食料問題が深刻化する中、その有力な解決策の一つとして現在世界的に細胞培養による食料生産技術の開発が進められており、また培養食料に関連するベンチャー企業の創設が相次ぎ、その世界市場規模は2030年に2億7810万米ドルに到達するとも予測されている（株式会社グローバルインフォメーション市場調査レポートより）。また食料自給率の低い我が国においては、食料を安定的に確保する手段の開発は不測の事態に備えた安全保障上の必要性も高い。このような情勢の中で本プロジェクトでは、世界に先駆け藻類と動物細胞の共生リサイクル培養に基づく食料生産という独自のコンセプトを提唱し、これを実証した。藻類と動物細胞それぞれに由来する栄養素をバランスよく含有する食料の作製が可能であり、また動物細胞の単独培養においては老廃物として廃棄される代謝産物を藻類

に利用させることにより、食料生産の効率化に寄与する。今後培養食料生産技術の発展がますます重要となっていく社会および学術に対し、本研究が与えるインパクトは大きいと考える。

### 3. 研究成果

#### 【動物細胞・藻類の含有栄養素解析】

動物細胞株 5 種類（筋細胞 2 種、肝細胞、線維芽細胞、腎細胞）、藻類株 11 種類（緑藻、シアノバクテリア等）について、食材として必要とされる栄養素（アミノ酸・脂肪酸・ビタミン・ミネラル）の含量を定量解析し、ウシ筋肉組織と比較した。藻類と動物細胞のアミノ酸含量は、ウシ筋肉組織のアミノ酸含量と同程度あるいはそれ以上であることが判明した。すなわち主要な栄養素であるアミノ酸に関しては細胞種に関わらず効率よく賄うことができることが明らかとなった。その他の栄養素に関して動物細胞と藻類を比較すると、動物細胞に多く含まれる栄養素はビタミン B3、B5、B12、リン、亜鉛であり、藻類に多く含まれる栄養素はビタミン B2、C、カルシウム、マグネシウム、鉄であった。また藻類株の中には、悪玉コレステロール抑制等の健康効果を有する不飽和脂肪酸（オレイン酸・ $\alpha$ -リノレン酸・DHA・EPA 等）を特に多く含有するものがあることも明らかとなった。すなわち複数種の藻類と動物細胞をバランスよく使用することで、ヒトが健康的に生きるために必要な栄養素を十分に含有する食料を作製することが可能であることが示された。

#### 【藻類・動物細胞共培養組織の作製と共生リサイクル培養】

動物細胞として高いアミノ酸含量を示した筋細胞（C2C12 細胞）を用い、立体組織の作製を試みた。既存の組織工学的手法で厚い立体組織を作製するためには通常数日から 1 週間程度の時間を要する。そこでより短時間での立体組織形成を実現するために遠心力を利用した新たな組織工学技術を開発した（図 1）。これにより  $10^7$  個オーダーの筋細胞を 1 時間以内で立体組織化することが可能となった。この技術を用い、動物細胞との共培養組織作製に適した藻類株を探索した。12 種の藻類株について筋細胞との共培養組織作製をおこない、アンモニア産生量と組織傷害性（LDH release）について解析した。その結果、アンモニア産生量と組織傷害性がともに低減する藻類として 3 種の緑藻株（*C. vulgaris*、緑藻 C、緑藻 S）が選別された。筋細胞と *C. vulgaris* を用いた共培養立体組織の作製条件および培養条件を検討した結果、動物細胞のみの組織においては内部壊死が生じる厚さ 0.4 mm の立体組織を、壊死を抑制しつつ培養維持することが可能であることが示された（図 2）。立体組織培養におけるアンモニア産生量の顕著な低減、および乳酸産生量とグルコース消費量の比（LG ratio）から評価される好氣的代謝量の増加が認められ、立体組織内部の藻類・動物細胞間において代謝産物のリサイクルが成立していることが示された。さらに厚みのある立体組織作製条件を検討した結果、最終的に筋細胞と緑藻 C を用いることにより厚さ 6 mm の共培養立体組織を作製することが可能となった（図 3）。

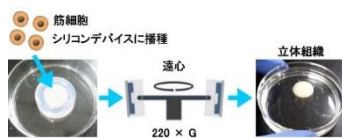


図 1 遠心力による立体組織作製

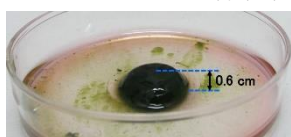


図 3 厚さ 6 mm 共培養立体組織

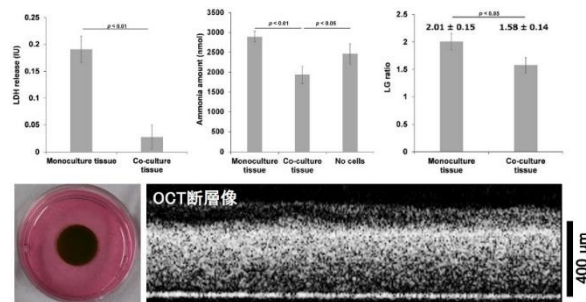


図 2 藻類動物細胞共生リサイクル培養による立体組織作製

### 【藻類から動物細胞への栄養素供給技術】

培養食料としてさらなる厚みを有する共培養立体組織の作製を実現するために、藻類が光合成により産生した栄養素を動物細胞に供給する技術開発をおこなった。筋細胞と緑藻Sの共培養系において、藻類特異的分解酵素を加えたグルコース不含培養液を用いて光照射下にて培養をおこなった結果、培養液中にグルコースが溶出することにより筋細胞の傷害性を抑制しつつ培養維持することが可能であることが示された（図4）。今後藻類特異的分解酵素の使用に要するコストの問題を解決する技術が開発されれば、培養食料生産のみならず再生医療などへの応用展開も可能な革新的細胞培養技術となる可能性がある。

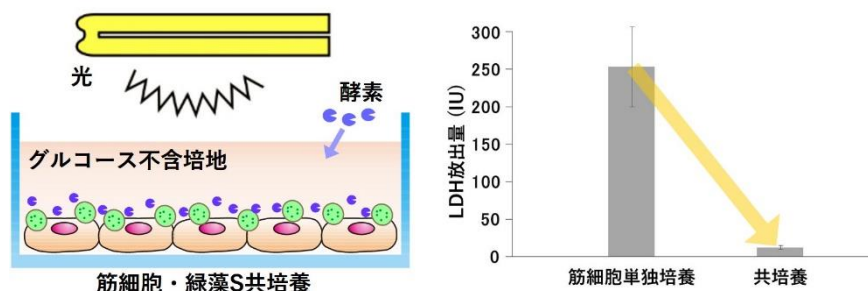


図4 藻類特異的分解酵素による藻類から動物細胞への栄養

## 4. 今後の展開

細胞培養を基盤とした食料生産技術の実用化を今後実現していくために残された課題として、細胞培養に要するコストの低減と動物細胞の大量増幅培養技術開発が挙げられる。これらの課題解決に向けて、現在複数の研究プロジェクトを開始するに至っている（JST 未来社会創造事業「3次元組織工学による次世代食肉生産技術の創出」、ムーンショット型農林水産研究開発事業「藻類と動物細胞を用いたサーキュラーセルカルチャーによるバイオエコノミカルな培養食料生産システム」、農林水産省「月面等における長期滞在を支える高度資源循環型食料供給システムの開発」戦略プロジェクト）。いずれのプロジェクトも動物細胞培養プロセスに藻類を有効利用するという本研究プロジェクトでのコンセプトと研究成果が基盤となっている。これらの研究開発を引き続き推進していくことにより、地球規模での食料不足到来に備え、自然災害などの影響を受けにくく環境への負荷も低い持続可能な食料供給を実現する培養食料生産技術の確立を目指していく。

## 5. 発表実績

### 【論文】

1. Haraguchi Y, Shimizu T. Three-dimensional tissue fabrication system by co-culture of microalgae and animal cells for production of thicker and healthy cultured food. *Biotechnol Lett.* 2021 Jun;43(6):1117-1129.

### 【学会発表】

1. 原口裕次. 持続可能社会を目指した微細藻類と動物細胞を用いたリサイクル細胞培養システムの開発. 2022年3月17-19日, 第21回日本再生医療学会総会 (オンライン)