

光合成動物細胞「プラニマル細胞」の創出を目指して

東京大学大学院 新領域創成科学研究科 先端生命科学専攻 あおき りょうた 青木 遼太
 統合生命科学分野 博士課程後期

東京大学大学院 新領域創成科学研究科 先端生命科学専攻 まつなが さちひろ 松永 幸大
 統合生命科学分野 教授

働かざる者食うべからず？

「今日は何を食べよう？」。恐らくこの星を生きる全人類が毎日このように考えているだろう。自身の健康を考えながらスーパーに並ぶ食材やレストランの食品サンプルとにらめっこをし、その日食べたいものまたは食べるべきものを食べる。

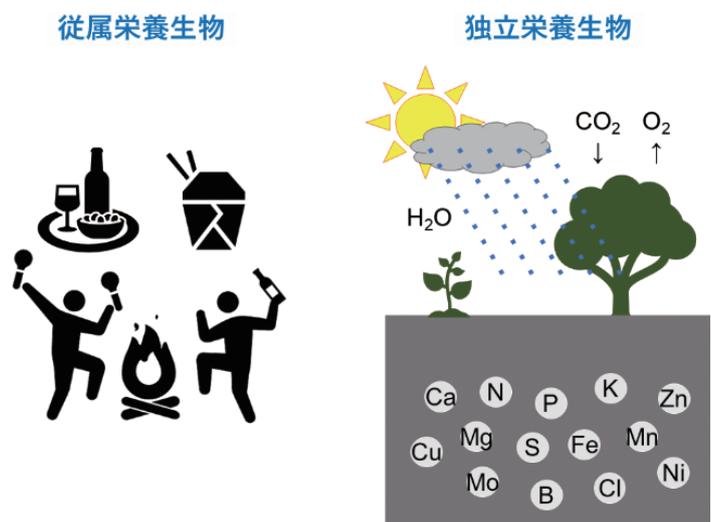
我々人間を始めとして犬や猫、魚、鳥などのすべての動物は、栄養源となる有機物を自身の体内で1から作り出せない。そのため、あちこちを動き回り他の動物や植物を食べることで栄養源を確保する。他の生命に従属しているため、従属栄養生物と呼ばれている。

一方、植物は太陽光と一定の土壌環境さえ整っていれば、動かずとも自ら栄養源を創り出し摂取することができる。なぜならば、彼らは光エネルギーを利用して大気中の二酸化炭素や水から有機物を合成する「光合成」というシステムを持ち合わせているからだ。このような生物は独立栄養生物と呼ばれ、その名の通り、他の生物に依存する必要のない独立した生命活動を営むことができる【図1】。光合成はその化学反応の場となる葉緑体があって初めて成立する。そして葉緑体は我々のような動物の細胞には存在し得ない植物細胞にのみ備わった特別な細胞内小器官である。光の捕集と光エネルギーから化学エネルギーへの変換を担うソーラーパネルのような機能を持ちながら、代謝回路による炭素の固定を行って有機物を合成する食料生産工場のような働きを持つ。葉緑体は、実に万能で精巧な光合成制御マシンである。光合成に関連する遺伝子は、細胞核にあるDNAと葉緑体自身が持つ独自のDNAの双方に保存されている。それらが細胞小器官の垣根を越えて協調して働くことで、葉緑体を巧みに制御し、光合成というシステムを遺憾なく発揮させている。

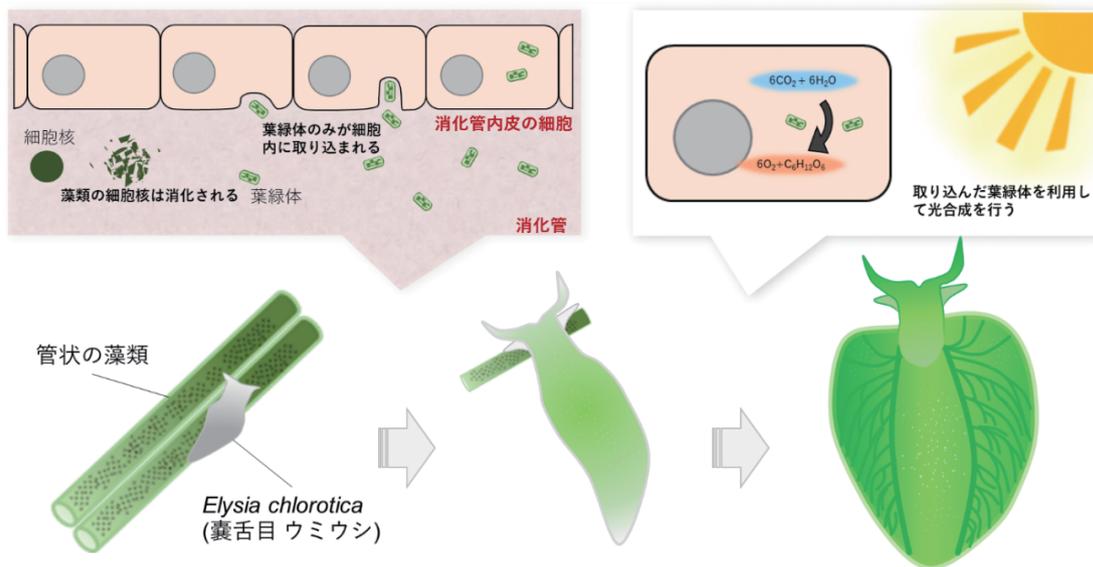
もしも、この葉緑体を動物が装備できればどうなるだろうか。もしも動物が光合成という能力を

獲得できたらどうなるだろうか。誰しもが一度はこういった疑問を抱えたことがあるはずだ。動物として活動的な生活を送りながらも、時には動かずして、食料の有無や量に左右されずに自身の力で栄養源を生み出せる。動物にとって最低限必要なビタミンやアミノ酸だけを摂取し、炭素源となる米や小麦などの炭水化物は自力で光合成して賄えばよい。スーパーやレストランであれこれ悩む必要もなくなる。我々人間は食べるために毎日一生懸命働いているが、光合成ができれば必要以上の労働をする必要もなく、正しく先人が唱えた「働かざる者食うべからず」という教えが過去のものとなるに違いない。誰もが羨むこの漫画のような世界は、やってくるのだろうか？ 実際問題、成人男性の1日の活動に必要なエネルギー量を光合成で賄うには、テニスコート1面分の葉緑体を含む体表面積が必要と言われている。残念ながら光合成人間を生み出すとなれば遠い未来の話になるだろう。しかし、動物培養細胞というスケールでならその実現可能性は十分にある。

我々の研究グループではそんな光合成ができる動物



【図1】従属栄養生物と独立栄養生物



【図2】ウミウシの一種 *Elysia chlorotica* による盗葉緑体現象 (Aoki & Matsunaga., 2021, Cytologia より改変)

培養細胞、「プラニマル細胞」の創出を目指している。プラニマル細胞は、植物の光合成に関連するゲノム情報と葉緑体をまるごと持った動物培養細胞である。その第一段階として、細胞融合を通じて植物の染色体を動物細胞に移植させ、安定的に維持できる融合細胞の構築を現在進めている。本稿では、進化の歴史を辿りながら、動物細胞に光合成を付与するために必要な知見や技術について、最先端の研究と共に概説する。

植物の誕生

光合成について論ずる前に、現存する植物細胞が如何にして葉緑体を手にし、光合成が出来るに至ったのか、その進化的背景を知る必要があるだろう。

今からおおよそ 16 億年前、まだ全ての生命が単細胞であった時代に、一次共生と呼ばれる生命の進化の分岐を大きく変えたイベントが発生した。一次共生は、シアノバクテリアと呼ばれる光合成細菌が、従属栄養生物であった真核細胞と細胞内共生の関係を築いた(時を同じくして好気性細菌による共生も生じたが本稿では言及しない)。これにより、シアノバクテリア由来の核の遺伝子情報が、長い年月をかけて宿主である真核生物の核内に移動する“遺伝子の水平伝播”が生じた。シアノバクテリアは自身を制御する遺伝子を宿主に抜き取られたため、本来の細胞機能を失った。その結果、遺伝子情報をいくつか欠けた DNA を持ち、宿主の細胞分裂と共に半自律的に複製する、現在の葉緑体として、宿主に依存した形態をとった。前述したように、

現存する植物の光合成を司る関連の遺伝子が細胞核の DNA と葉緑体の DNA とでそれぞれ分けられているのは、その進化の名残である。これが独立栄養生物の誕生であり、言わば植物の誕生である。この一次共生により生じた植物は一次植物と呼ばれ、現在の陸上植物や藻類のほとんどがそれに該当する。しかし共生現象はこれに留まらず、一次植物の内のいくつかの紅藻類・緑藻類が、さらに真核生物に取り込まれる二次共生も発生した。ここで誕生した二次植物にはクリプト藻、ハプト藻、渦鞭毛藻などが当てはまり、二次共生により光合成能を獲得した植物である。

このように、真核生物とシアノバクテリアや藻類との共生は、数億年の年月をかけて、陸上植物を始めとする多種多様な光合成生物の誕生を促した。しかし、この光合成能の獲得は進化の中だけでなく、現在の動物界でも、遺伝的ではない一世代限りの生命現象としてしばしば観測される。例えば、刺胞動物であるサンゴは褐藻類と細胞内共生の関係を成立させている。褐虫藻から光合成により生成された炭素源を獲得し、一方で褐虫藻はサンゴからは生存に必要な窒素源を獲得している。サンゴ自身は光合成能を持たずとも、褐虫藻を通じて間接的に光合成による栄養源の確保を可能としていることになる。一方、細胞内共生ではないが、軟体動物で囊舌目のウミウシは、盗葉緑体現象と呼ばれる非常に奇抜な方法で光合成能を手に入れている【図2】。ウミウシは成長の過程で、フシナミドロのような多核で管状の藻類を餌として捕食して、葉緑体のみを器用に抽出して体内に取り込む。文字通り、葉緑体

を盗んでいるのだ。そのため、幼生では灰色だった体色が次第に緑色となる。葉緑体は最大でも10か月に渡り維持することができる。そして驚くべきことに、動物であるウミウシがその葉緑体のみを利用して光合成を發揮して栄養を獲得するのだ。繰り返しになるが、光合成関連の遺伝子は、その進化の果てに、葉緑体と細胞核の両方のDNAに分配された。つまり、囊舌目のウミウシは藻類の核にある光合成関連遺伝子を使わず、葉緑体のみで光合成を成立させていることになる。近年の研究により、ウミウシが本来持っているタンパク質が光合成の働きに寄与していることが示され、動物にも光合成を制御できる可能性が秘められていると捉えることができる。

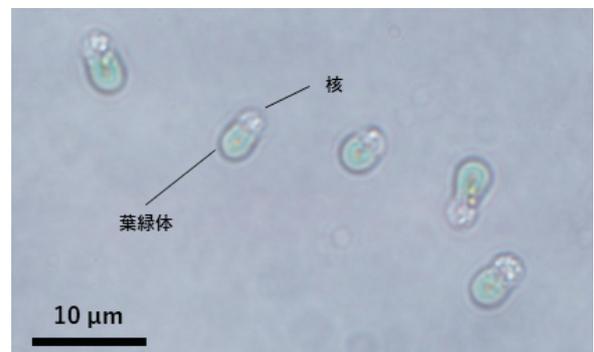
藻類が持つ力 「動物の植物化」

このように、長い進化の歴史における植物の誕生や、自然界における光共生生物の存在の背景には、光合成細菌や藻類のような微細な光合成生物の存在が常に関わっている。言い換えれば、彼らには従属栄養生物から独立栄養生物への転換、「動物の植物化」を可能とさせるポテンシャルがあると言える。事実、地球上で行われている光合成のおよそ40%が藻類により賄われており、近年ではバイオ燃料の生産を目的とした藻類のゲノム編集が盛んに行われている。その光合成能力や物質生産能力は多くの生物学者のお墨付きと言える。以上から、共生現象を実験的に再現するように、藻類を光合成遺伝子の提供者として動物培養細胞に丸ごと取り込ませることで、プラニマル細胞の創出を試みることにした。

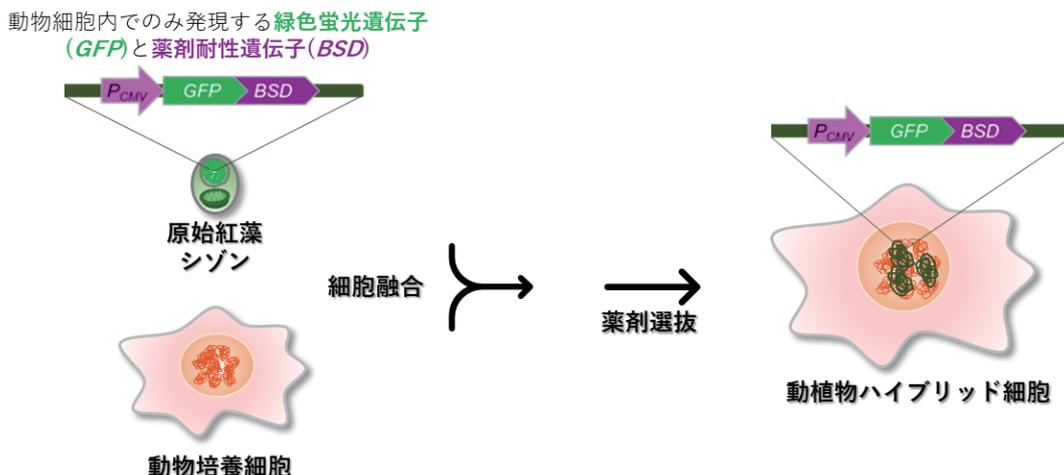
藻類のゲノムを動物へ移植する

20万種に上る藻類の中で我々が着目したのは、原始紅藻類である *Cyanidioschyzon merolae* (シゾン) である。シゾンは高温・強酸性 (42°C, pH2.5) の環境で生育する、直径2μmの微細な単細胞性の藻類である【図3】。真核生物としての必要最小限な核、葉緑体、ミトコンドリアをそれぞれ1個有しており、それらの塩基配列の解読は完了され、遺伝子操作技術も確立された、モデル生物として優れた藻類である。

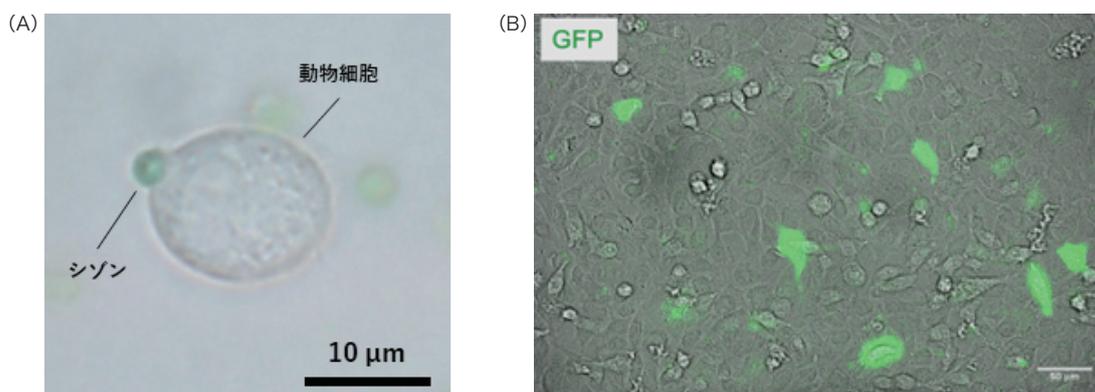
特筆すべきは、その核のゲノムサイズにある。シゾンが持つ遺伝子数は5335個、塩基配列で換算すると16.5 Mbと、光合成能を持つ真核生物としては最小のゲノムサイズである。光合成関連遺伝子に絞った場合、筆者らの調べでは、ATP合成、光リン酸化反応、炭素固定経路など各種化学反応に関与するタンパク質すべてを考慮すると最低でも100遺伝子、塩基数で換算するとおよそ68 kbであると推定している。しかし、データベースでは記録されていないような機能を持つ遺伝子の存在なども十分に考え得るため、実際にはより多くに遺伝子配列が必要となるだろう。一方で、



【図3】単細胞性の原始紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* (シゾン)



【図4】動植物ハイブリッド細胞の創出に向けた概念図



【図5】ハイブリッド細胞の様子

(A) シゾンと動物培養細胞が融合している様子

(B) シゾンに形質転換された GFP 遺伝子がこのように動物細胞で発現して緑色の蛍光を示していることから、シゾンのゲノムが動物細胞の核内に移植されていることが示唆された。

モデル植物として広く用いられている陸上植物シロイヌナズナの場合、必要な遺伝子数は最低でも 180 個、155 kb 程度である。同じ光合成生物でもシゾンのゲノム情報が如何に必要最小限であるか、動物細胞へ光合成能を付与するドナーとして最適であることが理解いただけるだろう。光合成を稼働するための遺伝子情報が同じであれば、DNA 配列は短い方が移植のされやすさや遺伝子操作を行う上でも都合が良い。

それでは、如何にして藻類のゲノムを動物細胞の核に移植するだろうか。合成生物学の発展に伴い、多彩で驚くような実験手法が次々と開発されている。しかし、最低でも 68 kb という長さの DNA 配列を正確に合成して動物細胞に送達し、尚且つ安定的に維持するには莫大な時間とコストを要するのが実情である。そこで我々は、細胞融合を通じてシゾンの染色体を丸ごと動物の核内に移植するというアプローチを採用した。染色体スケールでゲノムを移植することができれば、必要な遺伝子数や塩基数について厳密に考慮する必要がない。光合成に限らず植物の機能そのものを動物に付与することができる。大雑把で大胆なアイデアのように思われるが、染色体をドナーとした DNA の運搬という発想は、マウス人工染色体 (mouse artificial chromosome: MAC) やヒト人工染色体 (human artificial chromosome: HAC) をシャトルベクターとして実用されている。また、細胞融合という手法自体も染色体の移植を目的として、1970 年代から既に広く行われている。医学の面では、マウスやヒトなどの動物培養細胞を材料としては、モノクローナル抗体産生や腫瘍形成のメカニズムの解明など幅広く活用されてきた。農学の面では、ハクサイとキャベツの雑種“ハクラン”やオレンジとカラタチから“オレタチ”など、農作物の品種改良などで有効利用されている。古典的ではあ

るが、細胞融合は遺伝子レベルではなく染色体レベルでの生命現象の新規機能の獲得を可能とする点で極めて有効な手段である。

シゾンと動物培養細胞を融合するにあたり、融合の成否の判別と融合した細胞の単離が重要となってくる。シゾンも動物培養細胞のいずれも細胞集団として管理および実験を進めるので、1 細胞単位での融合の追跡となると莫大なコストを要する。そこで、我々はシゾンの形質転換体を作製した【図4】。シゾンのある染色体に、動物細胞の核内環境でのみ発現するように設計された緑色蛍光タンパク遺伝子 (GFP 遺伝子) と薬剤耐性遺伝子を組み込んだ。これにより、融合によりシゾンの染色体が動物の核内に移植された場合のみ、蛍光タンパクが発現するので、融合による染色体の移植の成否を視覚的に判別できる。同時に、シゾンの染色体が移植された場合でのみ薬剤耐性遺伝子が発現するので、細胞融合後の動物細胞集団を薬剤入りの培地で培養することで、シゾン染色体上の薬剤耐性遺伝子を持たない細胞や、そもそも融合していない細胞は死滅し、結果としてシゾンの染色体を抱えた動物細胞、すなわち動植物ハイブリッド細胞の単離が可能となる。実際に融合している細胞の様子と、数週間のスクリーニングにより得られた融合細胞株が【図5】である。

さて、こうして完成されたシゾンと動物のハイブリッド細胞株だが、宿主である動物細胞の核内にシゾンの染色体はどのようにして存在しているのだろうか。動物の核内で新たな染色体として独立して存在しているのか、あるいは動物の染色体上のどこかに挿入されて維持されているのか。ハイブリッド細胞の核内の様子を視覚的に確認するべく、蛍光色素を用いた核型解析を行った。シゾンの全染色体を蛍光標識し、その蛍光シグナルが動物の核内にどのように局在しているの

かを調べた。

その結果、動物の染色体上にシゾンのゲノムの蛍光シグナルが局在していることが分かった。つまり、細胞融合を通じて動物の核内に移植されたシゾンの染色体は、動物の染色体の一部となって保持されているということになる。勿論、挿入されず独立染色体として維持されている可能性も考え得るが、そのような染色体は動物の細胞分裂を通じて脱落していると考えられる。いずれにせよ、シゾンのゲノムサイズの小ささが染色体の移植に効率的に働いたと考えてよいだろう。我々はこの結果を踏まえ、藻類の染色体を動物の染色体上で安定的に保持した動植物ハイブリッド細胞の構築に成功した。

将来的に動物のゲノム上でシゾンの光合成関連遺伝子を機能させるには、いくつもの課題をクリアしなければならない。まずは、移植されたシゾンの DNA 配列が動物の染色体上のどこにどれくらいの長さで挿入されているのかを明らかにすること、そして動物ゲノム上におけるシゾンの遺伝子の転写と翻訳を可能とさせることが急務である。また、宿主側の動物ゲノムと移植された植物ゲノムの両者の相互作用も調べる必要がある。実際、宿主である動物細胞が外来であるシゾンのゲノムに対して DNA やヒストン修飾を介した、エピジェネティック修飾による防御応答を働かせている可能性が極めて高い。今後は、確立された動植物ハイブリッド細胞株を用いて、次世代シーケンス解析を駆使した、ゲノムの解読や遺伝子発現解析を進め、光合成遺伝子が動物細胞で発現するためのプラットフォームを築いていく。当然、光合成に必要な不可欠な葉緑体を動物細胞へ導入する研究開発も進めていく必要がある。

従属から独立へ 世界での試み

近年の国際研究の動向をみると、従属栄養生物から独立栄養生物への転換を目的とした研究がいくつか報告され、世界的なトレンドとなりつつある。中でも注目されているのが酵母である。酵母は生物材料としても非常に扱いやすく、遺伝子操作技術も確立された真核生物のモデルの一種である。当然、葉緑体を持たない従属栄養生物であるが、これを様々なアプローチで独立栄養生物に転換させようという試みがなされている。ある研究グループは、酵母の代謝経路に新たに光合成細菌に由来する糖生成に必要な酵素に組み込ませることで二酸化炭素を炭素源として生育できる株を作

製した¹⁾。一方、別のグループでは、酵母細胞内にシアノバクテリアを取り込ませ、人工的な共生関係を構築したことを報告した²⁾。この酵母は、シアノバクテリアを葉緑体のように扱い、光合成を稼働させてエネルギーの通貨である ATP の合成を可能とした。合成生物学は今まさに過渡期を迎え、新たな技術や知見の蓄積と共有が世界規模でなされている。

おわりに

プラニマル細胞の完成までの道のりは長い。しかし、近年の国際研究の潮流に乗り、様々な知見や技術を本研究に取り込むことで更なる進展が期待されるだろう。冒頭で述べた“もしも”は遠い未来の話ではないのかもしれない。光合成ができる人間が生み出されれば、働かずとも食べていける日がやってくるかもしれない。食料の調達が困難な環境下でも光と水さえあれば栄養を確保できるので、更に遠い未来では過酷な惑星間移住などにも寄与できるかもしれない。プラニマル細胞の創出はそんな夢ある世界を築くためのきっかけになるはずだ。一方で、現段階で我々が構築した動物と藻類のゲノムが共存したハイブリッド細胞株は、基礎生物学という分野で考えた場合、異なる2種のゲノムが同一の細胞環境下に置かれた場合のゲノムの動作原理を解明する材料として有用な研究材料である。そして、動植物に限らずに系統的に困難な生物種間のハイブリッド化への方法論として活用されることで、有用物質を生産できる多種多様なハイブリッド細胞や育種の構築が可能となるだろう。

【参考文献】

- 1) Gassler, T. et al. The industrial yeast *Pichia pastoris* is converted from a heterotroph into an autotroph capable of growth on CO₂. *Nat Biotechnol* 38, 210–216 (2020).
- 2) Cournoyer, J. E. et al. Engineering artificial photosynthetic life-forms through endosymbiosis. *Nat Commun* 13, 2254 (2022).

