

高校生物で “葉緑体の外包膜の起源”を どう教えるか

——複数の説が並立する現状と
教科書での扱いについて考える

小林 康一 *Koichi Kobayashi*

大阪公立大学 国際基幹教育機構 理学研究科生物学専攻 准教授

佐藤 直樹 *Naoki Sato*

東京大学名誉教授

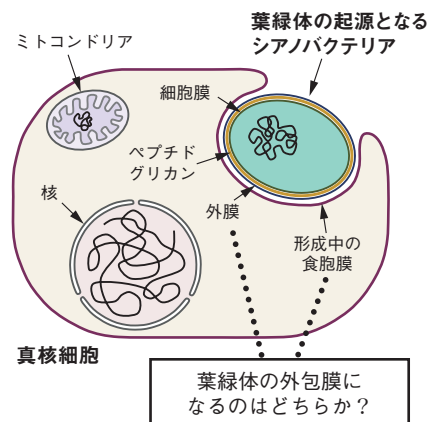
ミトコンドリアや葉緑体は細胞内に共生した細菌に由来するとされ、2枚の膜で囲まれていることが特徴である。一番外側の膜の起源については、書籍により、宿主細胞膜起源と共生体外膜起源という二通りの記述があり、発展的な学習をおこなう生徒や指導教員に混乱が生じかねない。本稿では、葉緑体に関して、これら二つの説を検証し、どちらの説にも決定的な証拠がないことを、わかりやすく解説する。

1 はじめに

「葉緑体の外包膜*の起源について、高校生物の教科書では、細胞内共生の際にシアノバクテリアを取り囲んだ真核生物の細胞膜に由来するとされていたが、最近では、シアノバクテリアの外膜に由来するという説が有力だと知った。実際にはどちらが正しいのか。」

高校の生物教員からの質問が、とある経由で筆

者らのところに届いた。葉緑体を囲む一番外側の膜の起源について、これまでの高校生物の教科書



用語解説 Glossary

【葉緑体の外包膜】

植物の葉緑体は2枚の膜で囲まれており、外側から順に、外包膜、内包膜とよぶ。内包膜の内側には酵素を含む基質(ストロマ)と光合成の初期反応をおこなうチラコイド膜が含まれる。

葉緑体の外包膜はどこからきたのか

における記述とは異なる説明が他の書籍などでなされており、教育の現場で混乱が生じているようである。そこで本稿では、葉緑体外包膜の起源について現時点でどのように考えるべきか、教育の現場でどのように扱うべきなのかについて、できるだけ平易に根拠を説明しながら議論したい。結論を先に述べておくと、現在の知見では、葉緑体外包膜の起源について明確な答えを出すことは不可能である、というのが筆者らの見解となる。教科書や参考書に書かれていることは、明確に答えの出たものと見なされがちであるが、実はそうでもないことが「生物」の科目には多い。その一例である葉緑体外包膜の起源について、なぜ明確な結論が出せないのかを解説するのが、本稿の目的である。

2 葉緑体の細胞内共生説

葉緑体は、藻類や陸上植物の細胞が独自にもつ細胞小器官で、主に光合成反応を担う。種子植物では、白色体や有色体などの光合成活性をもたない分化形態も存在し、それらをまとめて色素体とよぶが、ここでは高校生にもなじみの深い「葉緑体」の名称で統一する。高校の生物でも取り上げられる葉緑体の特徴は、独自のDNAをもつこと、分裂により増えること、そして2枚の包膜をもつことである。これらの特徴、とくに、葉緑体DNAの配列がシアノバクテリアのDNA配列によく似ていることから、葉緑体は真核細胞(宿主)の内部に共生したシアノバクテリア(共生体)を起源とする説、すなわち**細胞内共生説***が広く信

用語解説 Glossary

【細胞内共生説】

ミトコンドリアや葉緑体の起源が、細胞内に共生した好気性細菌やシアノバクテリアであるとする考え方で、1905年にロシアのメレシコフスキー、1967年にアメリカのマーギュリスなどによって提唱された。

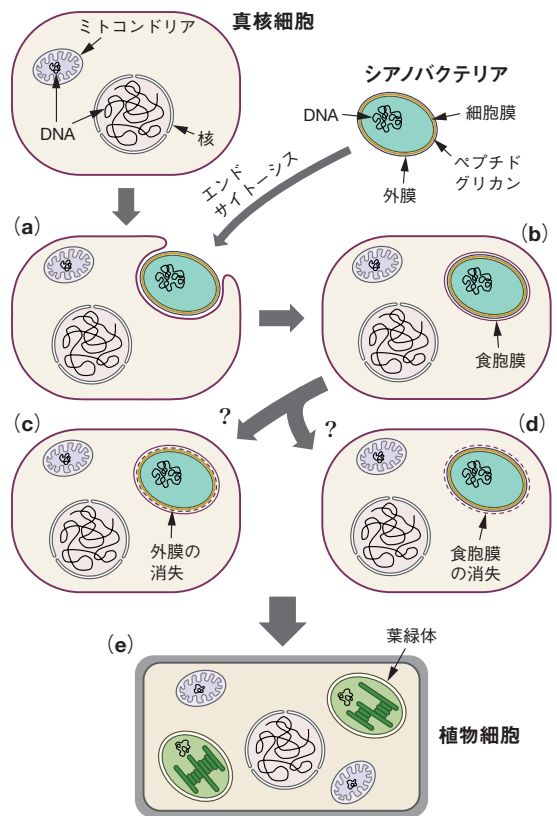


図1 葉緑体の細胞内共生起源説

(a) 真核細胞にエンドサイトーシスで取り込まれた共生体は、(b) 自身の細胞膜と外膜に加え、宿主の食胞膜を加えた3重の膜で覆われる。その後、(c) 共生体外膜が、(d) 食胞膜を消失し、被子植物ではペプチドグリカンも失って、(e) 現在の葉緑体となった。

じられており、好気性細菌に起源をもつとされるミトコンドリアと共に、高校の生物でもそのように紹介されている。しかし、近年のゲノム情報学の急速な進展により、葉緑体で働くタンパク質のなかには、複数のシアノバクテリアやその他の細菌に由来するものが数多く含まれることがわかってきている(ミトコンドリアでも同様の複雑な状況である)。そのため、真核細胞に取り込まれた1個のシアノバクテリアがそのまま葉緑体になったような様子が教科書ではよく描かれるが(図1)、実際には、複数のシアノバクテリアや細菌が関わったより複雑な過程によって葉緑体が誕生した可能性があり、細胞内共生説をめぐる議論が再び活発になっている¹⁾。ちなみに、真核光合成生物

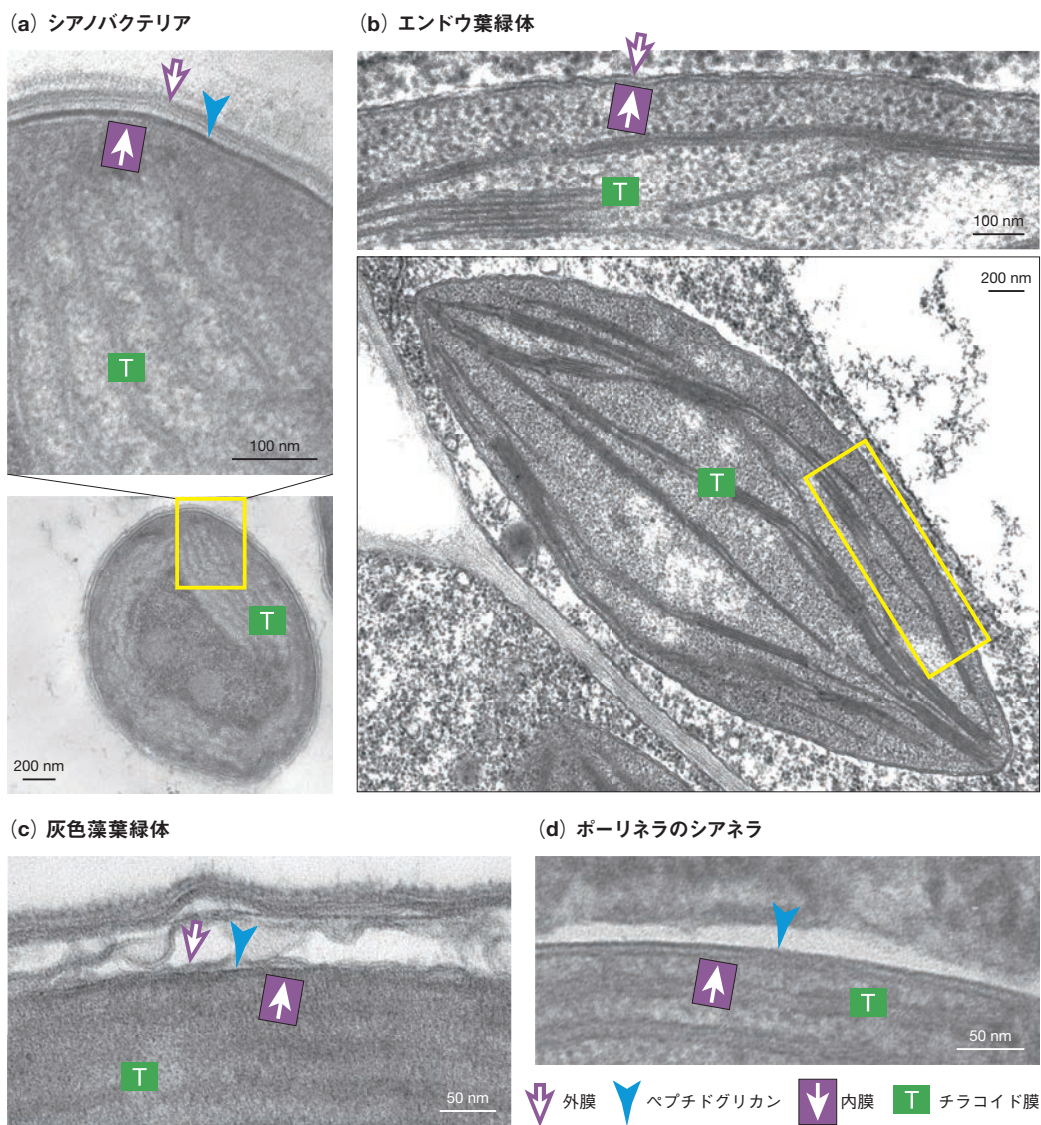


図2 葉緑体とシアノバクテリアの包膜の比較

(a) シアノバクテリア *Synechocystis* sp. PCC 6803 の細胞と黄色枠内の拡大図 (上), (b) エンドウ緑葉の葉緑体 (下) 黄色枠内の拡大図 (上), (c) 灰色藻 *Cyanophora paradoxa* の葉緑体表層部, (d) 根足類 *Paulinella chromatophora* のシアネラ表層部。[(d) は文献5) より改変]

をさらに別の真核生物が取り込み細胞小器官化する、二次共生という現象も見つかっている。二次共生はさまざまな生物種間で独立に何度も起きており、それにより獲得された葉緑体は3枚あるいは4枚の複雑に入り組んだ包膜をもつなど、その様態は極めて多様である。

3 葉緑体外包膜の起源をめぐる二つの説

さて、本稿の主題は、葉緑体外包膜の起源である。真核細胞が細菌のようなサイズのものを取り込む際には、標的を細胞膜で包み込むエンドサイトーシスが起こる(図1)。葉緑体は2枚の包膜できているので、シアノバクテリアが真核細胞に取り込まれて葉緑体になったとすると、外側の膜

表1 高校生物の参考書と大学等で用いられる教科書における葉緑体外包膜の起源についての記述

種別	書籍	出版社	発行年	該当ページ	外包膜の起源
高校生物参考書	生物合格77講（第2版）	東進ブックス	2020	698	共生体外膜
高校生物参考書	大学入試 山川喜輝の生物が面白いほどわかる本（第8版）	KADOKAWA	2022	516	宿主細胞膜
高校生物参考書	大森徹の最強講義117講	文英堂	2015	13	宿主細胞膜
高校生物参考書	鈴川のとにかく伝えたい生物テーマ200（第1版）	代々木ライブラリー	2020	19	宿主細胞膜
大学などの教科書	キャンベル生物学（第11版）	丸善出版	2018	123, 687	共生体外膜
大学などの教科書	Essential細胞生物学（原書第5版）	南江堂	2021	18~19	共生体外膜
大学などの教科書	細胞の分子生物学（第6版）	ニュートンプレス	2017	27~28	共生体外膜*
大学などの教科書	ケイン生物学（第5版）	東京化学同人	2014	126	宿主細胞膜
大学などの教科書	モリス生物学（原著第2版）	東京化学同人	2020	150	宿主細胞膜
大学などの教科書	テイツ／ザイガー植物生理学・発生学（原著第6版）	講談社	2017	61	宿主細胞膜

*ミトコンドリアについての記述から類推。

(外包膜)はシアノバクテリアを包み込んだ宿主の細胞膜(食胞膜)に由来し、内側の膜(内包膜)はシアノバクテリア自身の細胞膜(内膜)に由来すると考えるのが自然である。しかし、ここで問題となるのが、シアノバクテリアは細胞膜に加え、ペプチドグリカン*を挟んだ外側に、もう1枚の膜(外膜)をもつことである。つまり、細胞内共生が起こった直後には、シアノバクテリアの2枚の膜に宿主の食胞膜を加えた3枚の膜があり、そのうちどれか1枚が進化の過程でなくなったと考えられる。この中で、シアノバクテリアの細胞膜は多種多様な機能を持ち、共生体が機能するうえでも不可欠であると考えられることから、それが消失した可能性はほとんど考慮されていない。実際、灰色藻の葉緑体では内包膜の外側にペプチドグリカン層が存在していることから(図2)、内包膜はシアノバクテリアの細胞膜に由来するとみなされている。ただし、葉緑体のペプチドグリカンの起源がシアノバクテリアではない可能性も指摘されている²⁾。

内包膜がシアノバクテリアの細胞膜に由来するならば、残った1枚は、シアノバクテリアの外膜か宿主の食胞膜かの、どちらかとなる。これまでの高校生物の教科書は、葉緑体の外包膜を宿主の

食胞膜由来とする説を採用してきた。しかし、近年では、シアノバクテリアの外膜が外包膜となったとする説が有力視されるようになってきており、代表的な海外の教科書では、外包膜の宿主由来説を採用している教科書と共生体由来説を採用している教科書に分かれている(表1)。では、それぞれの説はいったいどのような根拠で提唱されたのだろうか。包膜の構造と機能、構成成分の三つの観点から、これを検証する。

4 葉緑体包膜の構造や機能、成分からその起源を推測するのは難しい

まず膜の構造から考えてみる。種子植物の葉緑体はペプチドグリカンをもたないため、シアノバクテリアの膜構造とは大きく異なるが、ヒメツリ

用語解説 Glossary

【ペプチドグリカン】

大腸菌やシアノバクテリアなど、グラム陰性とよばれる細菌の細胞膜と外膜の間にある一種の細胞壁で、一部の葉緑体にも存在することが知られている。ほかに、グラム陽性とよばれる納豆菌(枯草菌)などでは、細胞の表層の構造が大きく異なる。

表2 葉緑体外包膜とシアノバクテリア外膜, 食胞膜との比較

	シアノバクテリアの外膜	葉緑体の外包膜	ミドリゾウリムシなどの食胞膜
構造	外層はリポ多糖, 内層は糖脂質からなる複雑な層構造	糖脂質とリン脂質からなる脂質二重層	リン脂質からなる脂質二重層
機能	外部環境に対する耐性を与える 物体・細胞に付着する [外部からの物質取り込みは主に内膜の機能]	細胞質から葉緑体にタンパク質を輸送する (輸送シグナルの認識, チャンネル) [代謝物質の輸入・排出は内包膜の機能]	共生体を酸性環境に保つ 共生体を作るマルトースを宿主側に輸送する
Toc75 (Omp85)	外膜タンパク質のアセンブリを助ける (大腸菌で知られた機能)	Toc159/Toc34によって認識されたタンパク質を葉緑体内に輸送する	Toc75は存在しない
研究の状況	外膜を単離した報告が数報あるのみで, 主に大腸菌外膜の知識に基づく	単離法が確立され, 詳しい研究が数多くなされている	物質組成・機能に関する詳しい研究は現在進行中である

ガネゴケの葉緑体は, 内包膜と外包膜の間にペプチドグリカンをもつことが示唆されている³⁾⁴⁾。また, 灰色藻の葉緑体には明瞭なペプチドグリカン層が観察され (図2), かつてはシアノバクテリアがそのまま細胞内に共生しているとすら思われていた。いままでは単なる葉緑体であることがわかっているが, そのような背景からか, 包膜は内外膜とも共生体由来とみなされることが多い。しかし, ペプチドグリカンの内側の膜が共生体の細胞膜に相当するのはわかるが, ペプチドグリカンの外側では外膜の消失と食胞膜の消失のどちらも起こり得るため (図1), ペプチドグリカンの存在は, 外包膜を共生体由来とする説の根拠にはならない。ポーリネラ (*Paulinella chromatophora*) という単細胞生物は約1億年前にシアノバクテリアを細胞内共生させたといわれるが, その共生体(シアネラ)には, 薄いペプチドグリカンはあるものの, 外膜らしきものは見られない (図2)⁵⁾⁶⁾。この例は, シアノバクテリアの細胞内共生の過程で, ペプチドグリカンを残したまま外膜が消失する場面があることを示している。ちなみに, ポーリネラの共生体を包む宿主細胞由来の膜があるとされるが⁶⁾, その膜の解釈は定まっていない。

次に, それぞれの膜の機能を比較してみる (表2)。シアノバクテリアの外膜の主な機能は, 外部環境に対する耐性の付与や物体・細胞への付着などがあげられる。一方, 葉緑体の外包膜の機能は, 主

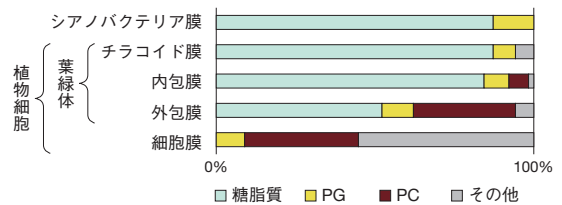


図3 膜におけるグリセロ脂質の組成の比較

糖脂質はモノガラクトシルジアシルグリセロール, ジガラクトシルジアシルグリセロール, スルホキノボシルジアシルグリセロールの和を示す。PG; ホスファチジルグリセロール, PC; ホスファチジルコリン。[小林 (2015)⁹⁾より改変]

に細胞質から葉緑体にタンパク質を輸送することである。その他に, 脂質の輸送や合成の場所にもなっている。最後に, 食胞膜の機能は何かというと, 文字どおり, 細胞内への物質の取り込みや消化であるが, もし, 取り込んだものを永続的に維持する包膜としてはたらくのであれば, その役割は変わるだろう。そこで, 緑藻のクロレラを共生体として細胞内に取り込むミドリゾウリムシを例として考えると, 食胞膜は, 共生体を酸性環境で維持したり, 共生体を作る糖を宿主側に輸送したりする機能をもつ⁷⁾。このように, 葉緑体外包膜の機能は他の膜とは異なる方向に進化しており, 膜の起源を考えるうえでの手掛かりにはならない。

最後に, 膜の構成成分から考える。生体膜は脂質二重層により形成されるが, シアノバクテリアの膜を構成する脂質分子は, ほとんどがリンを含

まない糖脂質である。葉緑体のチラコイド膜や内包膜も、シアノバクテリアと同様に糖脂質が主成分であるが、外包膜は、糖脂質に加え、シアノバクテリアがもたないホスファチジルコリンを多く含む⁸⁾⁹⁾(図3)。ホスファチジルコリンは真核生物の細胞膜の主成分となるリン脂質なので、これを多く含むという点では、外包膜は宿主の細胞膜に似ている。一方で、糖脂質が豊富であるという点では、外包膜はシアノバクテリアの外膜とも類似している。このように、脂質成分の観点からは、外包膜は宿主の膜と共生体の膜の両方の性質をもつため、その由来について決定的なことは言いえない。また、忘れてはならないのが、シアノバクテリアの外膜は、その外層にリポ多糖*を多く含むことである。葉緑体外包膜はリポ多糖をもたないため、この点においては、シアノバクテリア外膜と葉緑体外包膜は完全に異なっており、電子顕微鏡像においても両者の違いは明白である(図2)。

脂質に加えて、タンパク質も膜の性質を決める重要な要素であるが、シアノバクテリアの外膜のみをきれいに単離することが難しいため、後述するOmp85のような一部のタンパク質を除き、シアノバクテリア外膜に存在するタンパク質についてはよくわかっていない。一方、葉緑体においては、多くの外包膜局在タンパク質が実験的に確認されているが、そのうちシアノバクテリアに起源をもつものはごく一部である⁹⁾。つまり、タンパク質の構成においても、葉緑体外包膜とシアノバクテリアの外膜は際立って似ていてはならない。

5 Toc75の存在は外包膜の起源を示すのか

膜の構造や機能、成分からは外包膜の起源について明確な答えは得られないが、それではなぜ、葉緑体の外包膜が共生体の外膜に由来するという説が有力視されるようになったのだろうか。その主要な根拠となったのが、葉緑体外包膜にあるタ

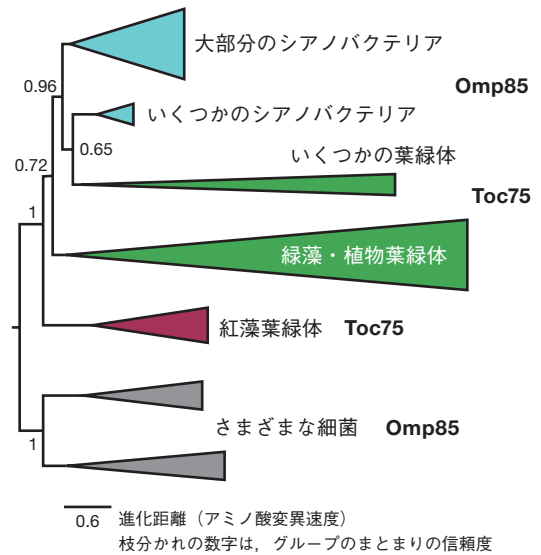


図4 Toc75 (Omp85) の分子系統樹

ンパク質輸送装置の構成因子 (Toc75) とよく似たタンパク質 (Omp85) が、シアノバクテリアの外膜に見つかったことである¹⁰⁾¹¹⁾¹²⁾¹³⁾。そのため、シアノバクテリアのOmp85がToc75の起源であると考えられてきたが、分子系統樹を詳しくみると、一部の例外を除き、Toc75はシアノバクテリアOmp85の一群の外側で分岐しており、Toc75はシアノバクテリア由来ではない可能性も見えてくる(図4)¹⁴⁾。ちなみに、Toc75は葉緑体ゲノムではなく、核ゲノムにコードされている。また、Toc75は細胞質から葉緑体内部へのタンパク質の輸送に関わるのに対し、Omp85は細胞の内から外への輸送に関わるとされており、働く向きが逆である。さらに、Toc75はToc34やToc159という別の外包膜タンパク質と複合体を形成して働くが、シアノバクテリアには、Toc34やToc159に相同なタンパク質は存在しない⁹⁾(図5)。した

用語解説 Glossary

【リポ多糖】

細菌の外膜表層に埋まった脂質部分に多糖類からなる糖鎖が結合したもの。

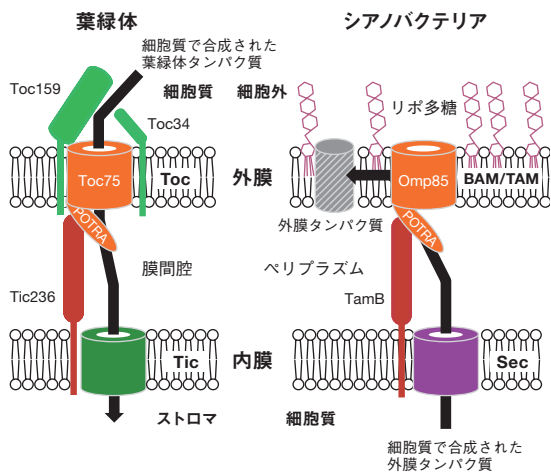


図5 葉緑体のToc75とシアノバクテリアのOmp85の比較

Toc75はToc34やToc159、Tic236と相互作用し、細胞質で合成されたタンパク質を葉緑体内に輸送する役割を担う。その際、Toc75のPOTRAドメインがTic236と相互作用することが重要とされている。Omp85は、植物のTic236に相同なTamBと相互作用し、細胞質で合成された外膜タンパク質を、外膜に送り込む役割を担う。この場合もPOTRAドメインが重要とされる。シアノバクテリア外膜の外層にはリポ多糖が多く含まれるが、葉緑体の外膜には存在しない。シアノバクテリア（原核生物）系の成分を暖色系で、植物・藻類特有の成分を緑色系で表示している。[文献13]より改変]

がって、輸送装置全体としては植物が独自に作ったものであり、シアノバクテリアの外膜に由来するわけではない。このように、Toc75は、その起源が本当にシアノバクテリアなのか明らかでなく、機能はシアノバクテリアのOmp85とはまったく異なっており、このタンパクが葉緑体の外膜に存在するからといって、外膜がシアノバクテリアの外膜に由来したと考えるのは論理が飛躍していて、短絡的に思える。

6 教育の現場で包膜の起源をどう教えるべきか

平成21年の文部省学習指導要領では、『生物基礎』で「ミトコンドリアと葉緑体の起源」を扱うこととなっていたが、平成30年の指導要領では、「細胞内共生」を『生物』の生物進化の最初で扱うこととなった。このため、現在は端境期にあたり、

『生物基礎』では、「発展」として細胞内共生説を取り上げている教科書が多い。包膜の起源に着目すると、平成23年や28年に検定を受けた旧版では、各社ともそれぞれいくつかの教科書が、外膜は宿主由来で、内膜は共生体由来と記載していた。葉緑体やミトコンドリアの細胞内共生の根拠として、独自のDNAの存在に加えて、二重の膜で囲まれているということをほとんどの教科書が挙げており、そのため、内外膜のそれぞれの由来を記載することが一般的であったのだろう。しかし、最新の教科書（令和3年、4年検定）では、『生物』『生物基礎』とも、包膜の起源について明言しているものはない。また、図の中でも膜を1枚で描いているなど、最新の教科書では、膜の由来は曖昧にされている。

一方、副教材や参考書では、現在でも、外包膜を宿主由来と明示しているものが複数ある（表1）。すでに述べたように、海外の生物教科書では、外包膜もシアノバクテリア由来とする見方も多く、どちらの説明も存在する。そのため、発展的な学習をしようとする生徒やその指導をする教員にとっては、参照するものによって書かれていることが異なり、混乱を招きかねない事態になっている。しかしここで留意すべきことは、生物の進化においては、特にそれが長い時間を経ている場合、一つの明確な答えが出せないことの方が多いということである。生物科目はどうしても暗記中心になりがちであり、教科書にどちらか一方の説が披露されていれば、それを事実として覚えよう、覚えさせようとしてしまうかもしれないが、少なくとも、葉緑体外包膜の起源についてはどちらの説も確たる証拠を欠いており、葉緑体ができあがるまでの進化的なプロセスもまだほとんどわかっていないという点を、改めて強調したい。

7 おわりに

本稿では葉緑体の外包膜の起源に絞って議論を

進めた。生物学において、起源を語る意味は、何らかの形で現在の形態・機能を説明できることである。しかし、ここで説明したように、包膜の形態・機能を起源から説明することはできない。細胞内共生説のように、非常に古い出来事を考える場合には、都合の良いストーリーを作ろうと思えばいくらでも作れるが、どのような説であっても、それらを強固に支持する証拠はないのが現状である。教科書や参考書に書かれていると、その裏には強い根拠があると思われるがちであるが、ここであげた包膜の起源問題のように、実はそうでもないこともあるだろう。説はあくまで説として、わかっていない点も含めて伝える姿勢が教える側には重要であり、教科書や試験問題を作る側においては、定説とされることでも最新の状況を精査するような慎重さが求められるだろう。

[文献]

- 佐藤直樹. 光合成は葉緑体の細胞内共生説を支持するの—最近の知見から. *光合成研究* **29**, 212–220 (2019).
- Sato, N. & Takano, H. Diverse origins of enzymes involved in the biosynthesis of chloroplast peptidoglycan. *J. Plant Res.* **130**, 635–645 (2017).
- Sato, N., Toyoshima, M., Tajima, N., Takechi, K. & Takano, H. Single-pixel densitometry revealed the presence of peptidoglycan in the intermembrane space of the moss chloroplast envelope in conventional electron micrographs. *Plant Cell Physiol.* **58**, 1743–1751 (2017).
- Hirano, T. *et al.* Moss chloroplasts are surrounded by a peptidoglycan wall containing D-amino acids. *Plant Cell* **28**, 1521–1532 (2016).
- Sato, N., Yoshitomi, T. & Mori-Moriyama, N. Characterization and biosynthesis of lipids in *Paulinella microphora* MYN1: Evidence for efficient integration of chromatophores into cellular lipid metabolism. *Plant Cell Physiol.* **61**, 869–881 (2020).
- Kies, L. Elektronenmikroskopische Untersuchungen an *Paulinella chromatophora* Lauterborn, einer Thekamöbe mit blau-grünen Endosymbionten (Cyanellen). *Protoplasma* **80**, 69–89 (1974).
- Fujishima, M. & Kodama, Y. Mechanisms for establishing primary and secondary endosymbiosis in *Paramecium*. *J. Eukaryot. Microbiol.* **69**, e12901 (2022).
- Block, M. A., Dorne, A. J., Joyard, J. & Douce, R. Preparation and characterization of membrane fractions enriched in outer and inner envelope membranes from spinach chloroplasts. II. Biochemical characterization. *J. Biol. Chem.* **258**, 13281–13286 (1983).
- 小林康一. 植物のチラコイド膜脂質の合成と葉緑体発達における役割. *光合成研究* **25**, 126–137.
- Day, P. M. & Theg, S. M. Evolution of protein transport to the chloroplast envelope membranes. *Photosynth. Res.* **138**, 315–326 (2018).
- Bölter, B., Soll, J., Schulz, A., Hinnah, S. & Wagner, R. Origin of a chloroplast protein importer. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **95**, 15831–15836 (1998).
- Reumann, S., Davila-Aponte, J. & Keegstra, K. The evolutionary origin of the protein-translocating channel of chloroplastic envelope membranes: Identification of a cyanobacterial homolog. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **96**, 784–789 (1999).
- Richardson, L. G. L. & Schnell, D. J. Origins, function, and regulation of the TOC-TIC general protein import machinery of plastids. *J. Exp. Bot.* **71**, 1226–1238 (2020).
- Day, P. M., Potter, D. & Inoue, K. Evolution and targeting of omp85 homologs in the chloroplast outer envelope membrane. *Front. Plant Sci.* **5**, 535 (2014).



小林 康一 *Koichi Kobayashi*

大阪公立大学 国際基幹教育機構 理学研究科生物学 専攻 准教授

2007年、東京工業大学大学院博士課程修了、博士(理学)。日本学術振興会特別研究員、理化学研究所基礎科学特別研究員、東京大学助教を経て、2018年より大阪府立大学(現大阪公立大学)准教授。専門分野は、植物脂質科学、植物生理学。日本植物学会奨励賞(2014年)。文部科学大臣表彰若手科学者賞(2015年)を受賞。



佐藤 直樹 *Naoki Sato*

東京大学名誉教授

1981年、東京大学大学院博士課程単位修得退学、同年理学博士。東京大学助手、東京学芸大学助教授、埼玉大学教授を経て、2004年、東京大学総合文化研究科教授。2019年、定年退職。専門分野は、植物脂質科学、植物進化学、生物基礎論。日本植物学会特別賞(2021年)などを受賞。主な著書に、植物生理学(裳華房, 2014)、創発の生命学(青土社, 2018)、細胞内共生説の謎(東京大学出版会, 2018)ほか。