



Title	Studies on chlorophyll degradation in leaves of Ginkgo biloba
Author(s)	唐, 薈
Citation	大阪大学, 2006, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/46874">https://hdl.handle.net/11094/46874</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名	唐 蕤 (Lei TANG)
博士の専攻分野の名称	博士(工学)
学位記番号	第 20566 号
学位授与年月日	平成 18 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学位論文名	Studies on chlorophyll degradation in <i>Ginkgo biloba</i> (イチョウ葉のクロロフィル分解に関する研究)
論文審査委員	(主査) 教授 小林 昭雄 (副査) 教授 関 達治 教授 福井 希一

### 論文内容の要旨

Chlorophyll (Chl) degradation takes place during various phases of the life cycle of plant. The results of the research on Chl degradation will be potentially useful to industry, agriculture and horticulture by controlling both the retardation and acceleration of Chl breakdown. This thesis is comprised of four chapters dealing with Chl degradation in *Ginkgo biloba* tree leaves.

Chapter 1 described the recent evidence accumulated in Chl degradation research, the remained puzzles in the proposed degrading pathway, and the objective and framework of this research on *G. biloba*.

Chapter 2 described the analysis of Chl catabolites and their degrading enzymes activities in *G. biloba*. Leaves at various stages (green, yellow-green and yellow stage) during autumnal tinting were chosen. The contents of Chl *a* and *b* decreased dramatically with the yellowing from 31.3  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  in the green leaves to 1.6  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  in the yellow leaves. The profile of high performance liquid chromatography (HPLC) showed that only Chl *a*, Chl *b* and Pheophytin *a* (Pheo *a*) were detectable. The ratio of Pheo *a* to Chl *a* increased during the Chl-degrading process. The Mg-dechelatase activity was observed in the three stages of the leaves and increased in the leaves at the yellow-green and yellow stages. However, the chlorophyllase (Chlase) activity dramatically decreased. The pheophorbide *a* oxygenase (PaO) was higher when the leaves turned to yellow. The data indicated that Mg-dechelatase catalyzed the first step of Chl-degradation during the process of autumnal coloring. And the high PaO activity accelerated the further reaction, which led to the lack of intermediate accumulation.

Chapter 3 dealt with the cloning and expression of *G. biloba* Chlase (*GbCLH*). The multiple alignment of the deduced amino acid sequence of *GbCLH* and other known Chlases indicated that the conserved region including lipase motif existed in *GbCLH*. The expression of recombinant *GbCLH* in *E. coli* showed high Chlase activity. Northern hybridization showed that the expression level of *GbCLH* decreased significantly with the yellowing of leaves, which was consistent with the activity analysis in Chapter 2.

Chapter 4 described the subcellular localization analysis of *GbCLH*. There was strong Chlase activity in the chloroplasts fraction after subcellular fractionation of Chlase activity from *G. biloba* leaves. When the 40 amino acids of N-terminal of *GbCLH* were fused with green fluorescent protein (GFP) and expressed in the

protoplast from *A. thaliana* transiently, fluorescence of GFP was observed within the chloroplasts, indicating that *GbCLH* was targeted to the chloroplasts

### 論文審査の結果の要旨

本論文は、植物の葉緑素分解過程のうちでも、自然界で最も顕著に現れる紅葉に注目し、そのメカニズムについての新しい知見を得ることを目的としている。この目的のために、日本で広く街路樹として植栽されているイチョウを実験材料として、葉緑素の代謝物分析ならびに代謝酵素の分子生物学的研究を行っている。ここで得られている、主な成果は以下の通りである。

- (1) イチョウ集中の葉緑素代謝物を黄葉過程で経時に分析し、フェオフィチン $\alpha$ が蓄積することを見いだしている。この現象は、これまでに報告されている植物葉の老化過程では見られないものである。
- (2) 酵素学的な解析によって、イチョウの黄葉時に葉緑素分解の初発酵素であると考えられていたクロロフィラーゼの活性が低下することを見いだしている。同時に、 $Mg^{2+}$  脱キレート化酵素活性が上昇することを見いだしている。
- (3) イチョウからクロロフィラーゼの分子クローニングに成功し、この遺伝子がイチョウ染色体中にシングルコピーで存在することを明らかにするとともに、その発現量が酵素活性と同様に黄葉時に減少することを明らかにしている。
- (4) GFP 蛍光タンパク質との融合タンパク質として発現解析を行い結果、植物のクロロフィラーゼとしては初めてこれが葉緑体に局在することを明らかにしている。

以上のように、本論文はイチョウの黄葉が、一般的な植物葉の老化とは異なり、 $Mg^{2+}$  の回収などを合目的に行うための高度に制御された過程であることを示唆するとともに、これまで葉緑素の分解に重要な役割を果たすと考えられていたクロロフィラーゼが、葉緑素の代謝回転のために機能していることを示す新しい知見が得られている。本研究の結果は、今後、植物の葉緑素代謝を制御するための戦略設計に貢献することが期待出来る。よって、本論文は博士論文として価値あるものと認める。