Osaka University

PBBL SEI CSR

Presentation at Tsukuba
March 21, 2012

ジャトロファの分子育種へのアプローチ：形質転換体とDNAマーカーの利用

大阪大学大学院工学研究科
国際環境生物工学（住友電工グループ社会貢献基金）寄附講座
土本　卓

Jatropha curcas L.（ジャトロファ）（ナンヨウアブラギリ）

ジャトロファとは？

種子から重量比で約30%の油を採取可能

⇒ バイオディーゼル燃料や航空燃料の原料作物として注目される

＜注目される理由＞

- 半乾燥地でも生育可能である
- 食用にならない

⇓

- 二酸化炭素排出量の削減に寄与する
- 食糧生産と競合しない

しかし本格的な育種は
まだ十分になされていない

ジャトロファは垣根として用いられてきた

・家畜が忌避するため食害がない。
・その他の用途：
　傷薬
　虫歯の薬
　ランプの油　など

・石油代替燃料源としての歴史は浅い。
・本格的なバイオ燃料生産には、さらなる育種が必要とされる。

研究目的

ジャトロファ（*Jatropha curcas* L.) の分子育種：
耕作限界地でも生産可能な燃料作物の開発を
目指す。

1. 乾燥ストレス耐性形質転換植物の作製
2. DNAマーカーによる遺伝資源の活用

野生型ジャトロファの乾燥耐性

左：灌水中断79日目（11/19）

左：灌水再開後18日目（11/19）

60日間潅水を完全に中断すると葉を落とすが、
潅水を再開すると葉は再生する。

乾燥ストレス耐性を目指した形質転換ジャトロファの作製

② 乾燥ストレス応答強化
(NF-YB)

形質転換

① 浸透圧の強化
(グリシンベタイン)

③ 代謝活性の増強
(PPAT)

乾燥ストレス耐性を目指した
形質転換ジャトロファの作製

３種類のコンストラクトをアグロバクテリウム法で導入

乾燥ストレス耐性を目指した
形質転換ジャトロファの作製

形質転換体シュートを再生　→　発根後に馴化

ジャトロファのゲノム配列決定（2011）

DNA Research 18, 65–76, (2011)
Advance Access Publication: 13 December 2010
doi:10.1093/dnares/dsq030

DNA RESEARCH

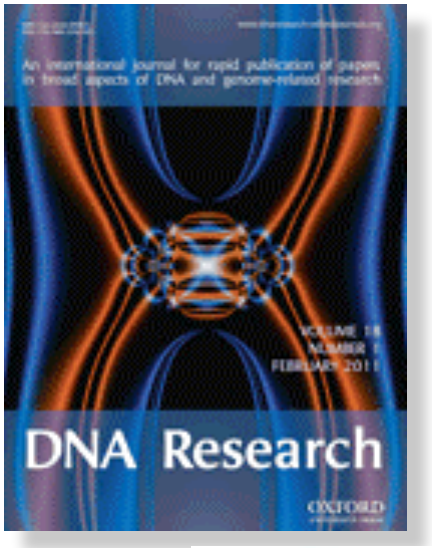
Sequence Analysis of the Genome of an Oil-Bearing Tree, *Jatropha curcas* L.

Shusei Sato[1], Hideki Hirakawa[1], Sachiko Isobe[1], Eigo Fukai[1], Akiko Watanabe[1], Midori Kato[1], Kumiko Kawashima[1], Chiharu Minami[1], Akiko Muraki[1], Naomi Nakazaki[1], Chika Takahashi[1], Shinobu Nakayama[1], Yoshie Kishida[1], Mitsuyo Kohara[1], Manabu Yamada[1], Hisano Tsuruoka[1], Shigemi Sasamoto[1], Satoshi Tabata[1,*], Tomoyuki Aizu[2], Atsushi Toyoda[2], Tadasu Shin-i[2], Yohei Minakuchi[2], Yuji Kohara[2], Asao Fujiyama[2,3], Suguru Tsuchimoto[4], Shin'ichiro Kajiyama[5], Eri Makigano[6], Nobuko Ohmido[6], Nakako Shibagaki[7], Joyce A. Cartagena[7], Naoki Wada[7], Tsutomu Kohinata[8], Alipour Atefeh[8], Shota Yuasa[8], Sachihiro Matsunaga[8], and Kiichi Fukui[8,*]

Abstract

The whole genome of *Jatropha curcas* was sequenced, using a combination of the conventional Sanger method and new-generation multiplex sequencing methods. Total length of the non-redundant sequences thus obtained was 285 858 490 bp consisting of 120 586 contigs and 29 831 singlets. They accounted for ~95% of the gene-containing regions with the average G + C content was 34.3%. A total of 40 929 complete and partial structures of protein encoding genes have been deduced. Comparison with genes of other plant species indicated that 1529 (4%) of the putative protein-encoding genes are specific to the Euphorbiaceae family. A high degree of microsynteny was observed with the genome of castor bean and, to a lesser extent, with those of soybean and *Arabidopsis thaliana*. In parallel with genome sequencing, cDNAs derived from leaf and callus tissues were subjected to pyrosequencing, and a total of 21 225 unigene data have been generated. Polymorphism analysis using microsatellite markers developed from the genomic sequence data obtained was performed with 12 *J. curcas* lines collected from various parts of the world to estimate their genetic diversity. The genomic sequence and accompanying information presented here are expected to serve as valuable resources for the acceleration of fundamental and applied research with *J. curcas*, especially in the fields of environment-related research such as biofuel production. Further information on the genomic sequences and DNA markers is available at http://www.kazusa.or.jp/jatropha/.

Key words: *Jatropha curcas* L.; genome sequencing; cDNA sequencing; microsatellite markers

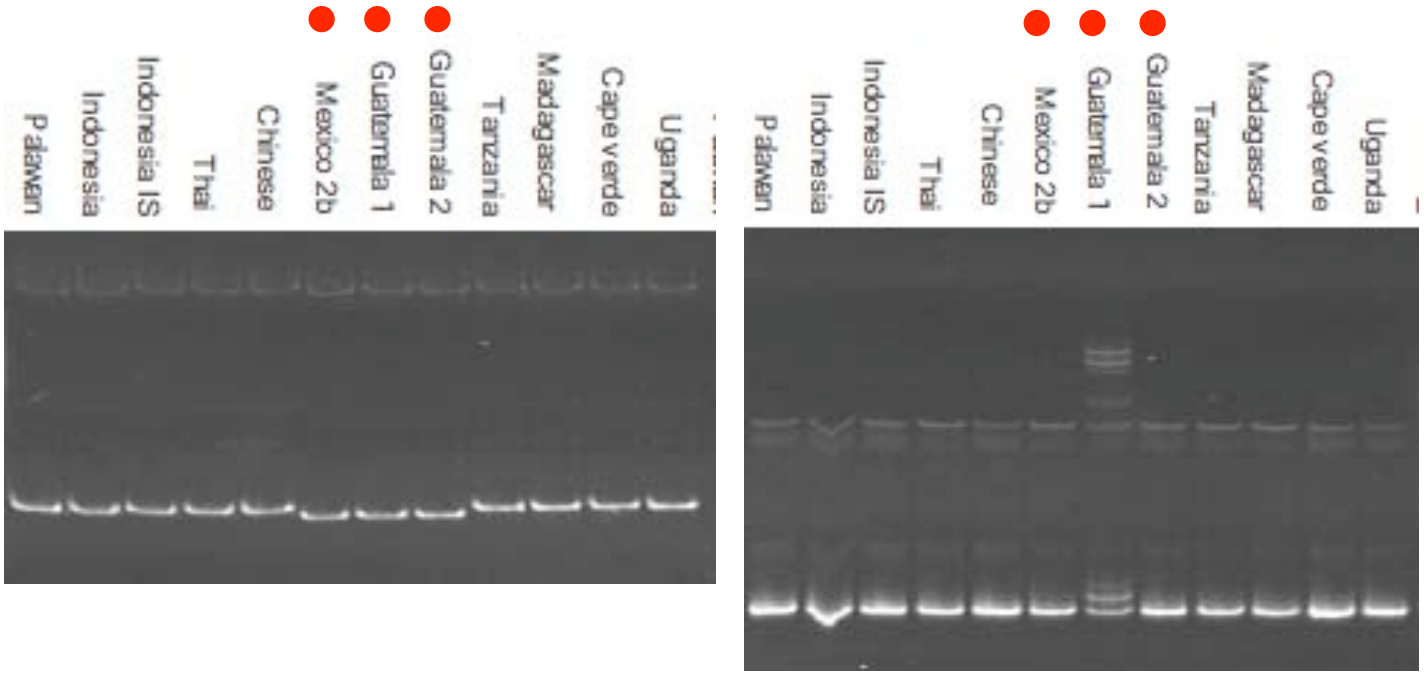


Osaka Univ.

Kazusa DNA Res. Inst.

ゲノム配列の決定により、41,428個のSSRを同定。
SSRマーカーを多数作製することが可能に。

ジャトロファ12系統のSSR 解析



Philippines
Indonesia (2)
Thailand
China
Tanzania
Madagascar
Cape Verde
Uganda

Guatemala (2)
Mexico

●
●

アジア及びアフリカ系統: 90 マーカーで全て多型なし
メソアメリカ系統: 90マーカー中、26マーカーで多型

まとめ

1. 乾燥耐性ジャトロファの作製を目指して3種類の形質転換体を作製した。

2. １６種類のSSRマーカーを作製し、メキシコ系統の系統解析を行った。

3. アジア・アフリカ系統からはSSRマーカーの多型は検出されなかった。

4. メキシコ系統はアジア・アフリカ系統よりも遺伝的多様性が高く、育種材料として優れている。