

| | |
|--------------|---|
| Title | Establishment of a Genetic Transformation Method for the Oil Producing Plant, <i>Jatropha curcas</i> L. |
| Author(s) | Naruemon, Khemkladngoen |
| Citation | 大阪大学, 2011, 博士論文 |
| Version Type | |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/59198 |
| 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"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。 |

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【2】

| | |
|------------|---|
| 氏名 | <small>ナルモン</small> <small>ケムダラーゲン</small> Naruemon Khenkladngoen |
| 博士の専攻分野の名称 | 博士（工学） |
| 学位記番号 | 第 24844 号 |
| 学位授与年月日 | 平成23年6月20日 |
| 学位授与の要件 | 学位規則第4条第1項該当 工学研究科生命先端工学専攻 |
| 学位論文名 | Establishment of a Genetic Transformation Method for the Oil Producing Plant, <i>Jatropha curcas</i> L. (油糧植物 <i>Jatropha curcas</i> L. に適した形質転換技術の確立に関する研究) |
| 論文審査委員 | (主査) 教授 福井 希一 (副査) 教授 福崎英一郎 教授 藤山 和仁 教授 大竹 久夫 教授 原島 俊 教授 金谷 茂則 教授 紀ノ岡正博 教授 渡邊 肇 教授 村中 俊哉 教授 清水 浩 教授 四方 哲也 教授 仁平 卓也 |

論文内容の要旨

The non-edible plant, *Jatropha curcas* L. is one of the most promising feedstocks for sustainable biodiesel production. However, varietal improvement by genetic engineering to enhance its productivity and to improve its oil quality is essential. Then, genetic transformation system for *J. curcas* was studied. As a result, an *in vitro* shoot regeneration system from juvenile cotyledons for *Agrobacterium*-mediated transformation was developed. The influence of different concentrations of plant growth regulators (PGRs; BA, IBA and TDZ) on plant regeneration was clarified. High frequency (~78%) of adventitious shoots was obtained from the regeneration system established. The plantlets regenerated from this system grew normally and showed no phenotypic abnormality, compared to the plants that were obtained from seeds.

The regeneration system developed for *J. curcas* was applied to *Agrobacterium*-mediated transformation. The effect of physical wounding of plant tissues on the transformation efficiency was studied. Based on kanamycin resistance, physical wounding by sonication could increase the stable transformation efficiency in *J. curcas*, comparing to shaking. The highest stable transformation frequency (~53%) was achieved when explants were subjected to 1 min sonication, followed by 9 min shaking in the infection solution. The transformation efficiency obtained from our method was 4-folds and 2-folds higher than the previous transformation studies using mature cotyledons and young leaves, respectively. The stable integration of *GUS* gene was confirmed by Southern hybridization. The *GUS* transgenic plantlets were successfully acclimatized and grew normally in a greenhouse. Furthermore, the application of the established systems in transformation of *J. curcas* using a functional gene was also validated. The *Arabidopsis PPAT* (*AtPPAT*) gene, which encodes phosphopantetheine adenylyltransferase in the Coenzyme A biosynthesis pathway, was introduced into *J. curcas*. *AtPPAT* gene was successfully transformed into the *Jatropha* genome and new plantlets were obtained using the regeneration system developed.

In conclusion, the transformation system developed was efficient in the transformation and it will facilitate molecular breeding in *J. curcas* using other valuable genes in the future. Furthermore, this report would facilitate the study on molecular analysis and genetic improvement of *J. curcas*, which might drive usage of this biodiesel crop as an energy source more feasible and sustainable in the near future.

論文審査の結果の要旨

本論文は、油糧植物 *Jatropha curcas* (和名：南洋アブラギリ、以下 *J. curcas*) の組織培養法、ならびに遺伝子組み換え方法の確立について述べている。ここで研究された *J. curcas* は、バイオディーゼル燃料植物として最近注目を集めている植物であり、近年の化石燃料の枯渇、食糧問題を考えると、今後非常に重要な植物となる可能性が大きいと言える。本論文ではその *J. curcas* の遺伝子工学を用いた育種を可能にするため、効率的な組織培養方法（組織、培地成分）の開発と物理的な処理を併用したアグロバクテリウム法による形質転換法について述べている。

すなわち組織分化を誘導するための培地中の植物ホルモンの組み合わせならびに濃度を検討した結果、子葉を実験材料として効率的に *J. curcas* を再分化させる条件を確立するのである。さらにアグロバクテリウム法においてボルテックス、超音波処理などの物理的処理を併用してその形質転換効率への影響を解析した結果、*J. curcas* に効率的に遺伝子を導入するには超音波処理1分間と振とう培養を9分間に供することが最も効果的である事を示すのである。

本論文では、*J. curcas* の子葉を材料として効率的に形質転換を行い、かつ組織培養を用いて再分化個体を得るシステムを確立することで、油糧植物 *J. curcas* の遺伝子工学による育種に重要な知見を加え、今後の油糧植物の育種に大きく貢献するものである。

よって本論文は博士論文として価値のあるものと認める。