

TRÍCH YẾU LUẬN ÁN TIẾN SĨ

1. Tên tác giả: Phutthakone VACIAXA

2. Tên luận án: “Nghiên cứu biểu hiện gen *GmDREB6* nhằm nâng cao khả năng chịu mặn ở cây chuyển gen”.

3. Ngành: Di truyền học

Mã số: 9420121

4. Đơn vị đào tạo: Trường Đại học Sư phạm

5. Cơ sở đào tạo: Đại học Thái Nguyên

6. Mục tiêu và đối tượng nghiên cứu

6.1. Mục tiêu nghiên cứu

- 1) Phân tích đặc điểm của phân họ gen *DREB* trong hệ gen của cây đậu tương (*Glycine max* (L.) Merrill).
- 2) Biểu hiện được protein tái tổ hợp *GmDREB6* và đánh giá được chức năng sinh học của gen chuyển *GmDREB6* trên cây chuyển gen.
- 3) Biến nạp được cấu trúc mang gen chuyển *GmDREB6* vào đậu tương và tạo được cây đậu tương chuyển gen.

6.2. Đối tượng nghiên cứu

Nghiên cứu đặc điểm của phân họ gen *DREB* ở đậu tương, chuyển gen và phân tích biểu hiện gen *GmDREB6* trên cây thuốc lá và cây đậu tương nhằm nâng cao khả năng chịu mặn của cây chuyển gen.

7. Các phương pháp nghiên cứu đã sử dụng

Luận án đã sử dụng các nhóm phương pháp nghiên cứu, bao gồm: 1) Nhóm phương pháp phân tích phân họ gen *DREB* ở đậu tương; 2) Nhóm phương pháp thiết kế vector chuyển gen thực vật và phân tích hoạt động của vector biểu hiện gen *GmDREB6* trên cây thuốc lá; 3) Nhóm phương pháp phân tích mức độ biểu hiện của gen *GmDREB6*, *NtP5CS*, *NtCLC* trên cây thuốc lá chuyển gen; 4) Nhóm phương pháp chuyển gen *GmDREB6* vào cây đậu tương và 5) phân tích, xử lý số liệu.

8. Các kết quả chính và kết luận

8.1. Mười tám gen *GmDREB* thuộc phân họ *DREB* trong hệ gen đậu tương đã được xác định từ cơ sở dữ liệu NCBI. Miền AP2 của protein *DREB* phổ biến có 59-60 amino acid và motif PTPEMAARAYDVAALALKGPSARLNFPEL có ở tất cả các protein *DREB* của đậu tương. AP2 chứa 11 điểm liên kết với promoter của các gen chức năng.

8.2. Vector chuyển gen thực vật *pBI121_GmDREB6* chứa cấu trúc *35S-GmDREB6-cmyc* được thiết kế và biến nạp vào cây thuốc lá. Sự hợp nhất và sự biểu hiện của gen chuyển *GmDREB6* trong hệ gen cây thuốc lá chuyển gen đã được xác định bằng phân tích Southern blot và RT-PCR.

8.3. Bằng phân tích qRT-PCR đã chứng minh được sự biểu hiện của gen *GmDREB6* từ đậu tương đã làm tăng mức độ phiên mã các gen *NtP5CS* và *NtCLC* của cây thuốc lá chuyển gen trong điều kiện xử lý mặn. Các dòng thuốc lá chuyển gen L1 và L9 có mức phiên mã của gen *GmDREB6* tăng từ 2,40 đến 3,22 (lần) so với điều kiện không xử lý mặn. So với cây WT, mức độ phiên mã của gen *NtP5CS* ở các dòng chuyển gen tăng từ 1,24 - 3,60 lần và của gen *NtCLC* tăng 3,65 - 4,54 (lần) ($P < 0,05$). Sự tăng cường biểu hiện đồng thời ở cả gen chuyển

GmDREB6 và hai gen nội sinh, *NtP5CS* và *NtCLC*, đã được xác nhận ở các dòng thuốc lá chuyển gen L1.

8.4. Cấu trúc mang gen *GmDREB6* đã biến nạp thành công vào giống đậu tương ĐT22 qua nách lá mầm nhờ *A.tumefaciens*, tái sinh được 583 chồi từ 450 mẫu biến nạp. Sau 3 lần chọn lọc bằng kanamycin đã thu được 53 cây được trồng trên giá thể và 12 cây sinh trưởng bình thường trong điều kiện nhà lưới. Phân tích phân tử các dòng chuyển gen *GmDREB6* ở thế hệ T0 xác định được 8/12 dòng dương tính với PCR và gen chuyển *GmDREB6* ở 7 dòng cây cho kết quả biểu hiện ở mức phiên mã. Hiệu suất chuyển gen *GmDREB6* ở giai đoạn phân tích PCR đạt 1,78% và giai đoạn phân tích RT-PCR đạt 1,56%.

9. Ý nghĩa khoa học và thực tiễn

9.1. Ý nghĩa khoa học

Về mặt khoa học, kết quả nghiên cứu phân họ gen *DREB* ở đậu tương đã làm rõ đặc điểm cũng như sự phát sinh của phân họ gen *DREB* ở cây đậu tương tạo cơ sở dữ liệu cho các nghiên cứu chức năng của các gen *DREB* trong hệ gen của cây đậu tương.

Kết quả phân tích sự biểu hiện mạnh của gen *GmDREB6* làm tăng mức độ phiên mã của gen *NtP5CS* và *NtCLC* của cây thuốc lá chuyển gen đã chứng minh vai trò của nhân tố phiên mã *DREB6* đối với khả năng chịu mặn của cây đậu tương trong điều kiện stress mặn.

Các bài báo công bố trên các tạp chí khoa học – Công nghệ quốc gia và quốc tế là những tư liệu tham khảo có giá trị trong nghiên cứu, giảng dạy sinh học và công nghệ sinh học.

9.2. Ý nghĩa thực tiễn

Về mặt thực tiễn, vector chuyển gen pBI121_ *GmDREB6* có thể sử dụng chuyển vào cây đậu tương hoặc các loại cây trồng khác trong mục đích tăng cường khả năng chịu mặn của cây chuyển gen, mở ra triển vọng ứng dụng công nghệ gen vào thực tiễn chọn giống cây trồng. Đồng thời, những kết quả bước đầu tạo cây chuyển gen *GmDREB6* đã mở ra hướng nghiên cứu ứng dụng kỹ thuật chuyển gen tạo ra giống đậu tương chịu mặn góp phần ứng phó với biến đổi khí hậu và hạn mặn thường xuyên xảy ra hiện nay ở Việt Nam.

10. Những đề nghị sử dụng các kết quả nghiên cứu của luận án

Bạn đọc có thể tham khảo kết quả đề tài tại Trung tâm học liệu Đại học Thái Nguyên, Thư viện Trường Đại học Sư phạm-Đại học Thái Nguyên và Thư viện Quốc gia Việt Nam.

Thái Nguyên, ngày 19 tháng 11 năm 2021

Xác nhận của cán bộ hướng dẫn khoa học

Nghiên cứu sinh

GS.TS. Chu Hoàng Mậu

TS. Phạm Thị Thanh Nhân

Phutthakone VACIAXA

Trưởng khoa

TS. Nguyễn Thị Ngọc Lan