

TRÍCH YẾU LUẬN ÁN TIẾN SĨ

Tên tác giả: Hoàng Thị Thu Hoàn

Tên luận án: “Nghiên cứu nuôi cấy *in vitro* và biểu hiện flavonoid 3’5’-hydroxylase nhằm tăng cường tổng hợp flavonoid ở cây Ô đầu (*Aconitum carmichaelii* Debx.)”.

Ngành: Di truyền học

Mã số: 9420121

Đơn vị đào tạo: Trường Đại học Sư phạm

Cơ sở đào tạo: Đại học Thái Nguyên

Mục tiêu và đối tượng nghiên cứu

1. Mục tiêu nghiên cứu

Xác định được một số điều kiện thích hợp trong nuôi cấy *in vitro* và cảm ứng tạo rễ tơ ở cây Ô đầu.

Chứng minh được sự biểu hiện của gen mã hóa Flavonoid 3’5’ hydroxylase của cây Ô đầu (*Aconitum carmichaelii* Debx.) làm tăng sự tích lũy flavonoid trong cây chuyển gen.

2. Đối tượng nghiên cứu

Nghiên cứu điều kiện thích hợp trong nuôi cấy *in vitro*, cảm ứng tạo rễ tơ và biểu hiện gen mã hóa Flavonoid 3’5’ hydroxylase làm tăng tích lũy flavonoid trong cây Ô đầu.

Các phương pháp nghiên cứu đã sử dụng

Các phương pháp nghiên cứu được chia thành 5 nhóm chính: (1). Nhóm phương pháp định danh loài Ô đầu, (2). Nhóm phương pháp nuôi cấy *in vitro* và cảm ứng tạo rễ tơ *in vitro*, (3). Nhóm phương pháp tách dòng gen và thiết kế vector chuyển gen, (4). Nhóm phương pháp chuyển gen và phân tích cây chuyển gen, (5). Nhóm phương pháp xử lý số liệu thống kê.

Các kết quả chính và kết luận

Các mẫu Ô đầu thu tại huyện Quán Bạ và Hoàng Su Phì, tỉnh Hà Giang, Việt Nam thuộc cùng loài *A. carmichaelii*, chi *Aconitum*, họ Hoàng Liên (Ranunculaceae) được định danh bằng sự kết hợp giữa phương pháp hình thái so sánh và mã vạch DNA.

Môi trường thích hợp cảm ứng tạo đa chồi ở cây Ô đầu là MS cơ bản + sucrose 30 g/l + agar 9 g/l + BAP 1,5 mg/l. Mô rễ là vật liệu thích hợp cho cảm ứng tạo rễ tơ ở cây Ô đầu. Lây nhiễm mô rễ bởi *R. rhizogens* với OD₆₀₀ = 0,6; AS 100 µmol/l; thời

gian nhiễm khuẩn 15 phút; thời gian đồng nuôi cấy 3 ngày; nồng độ cefotaxime 500 mg/l là những điều kiện thích hợp cho cảm ứng tạo rễ tơ ở cây Ô đầu. Môi trường MS ở trạng thái lỏng không bổ sung chất điều hòa sinh trưởng, nuôi lắc thích hợp cho sự tăng trưởng rễ tơ ở cây Ô đầu.

Vùng mã hóa của gen *AcF3'5'H* được phân lập từ mRNA của cây Ô đầu có kích thước 1521 nucleotide, mã hóa 506 amino acid. Vector chuyển gen thực vật *pCB301_AcF3'5'H* với sự điều khiển của promoter 35S, chứa gen *AcF3'5'H* phân lập từ cây Ô đầu, gắn thêm cấu trúc c-myc và KDEL đã được thiết kế thành công và tạo được hai dòng *A. tumefaciens* mang vector chuyển gen *pCB301_AcF3'5'H*.

Lần đầu tiên trên thế giới gen *AcF3'5'H* từ cây Ô đầu được biến nạp và biểu hiện thành công trên cây Thuốc lá và cây Ô đầu. Sự biểu hiện mạnh của gen *AcF3'5'H* đã làm tăng hàm lượng flavonoid trong cây Thuốc lá chuyển gen từ $691,20 \pm 2,02$ đến $907,83 \pm 5,14$ ($\mu\text{g/g}$) và cao hơn từ 69,23 đến 222,27 (%) so với các cây WT ($408,43 \pm 5,11$ $\mu\text{g/g}$), trong cây Ô đầu từ 39,13% đến 62,63% so với cây WT.

Kết quả nghiên cứu của luận án là báo cáo đầu tiên trên thế giới và ở Việt Nam về phân tích biểu hiện gen *AcF3'5'H* của cây Ô đầu.

Ý nghĩa khoa học và thực tiễn

1. Ý nghĩa khoa học

Kết quả phân tích biểu hiện gen trên cây Thuốc lá và cây Ô đầu là cơ sở cho các nghiên cứu tăng cường biểu hiện gen *AcF3'5'H* ở các loài dược liệu khác trong mục đích làm tăng sự tích lũy flavonoid trong các bộ phận của thực vật. Gen *AcF3'5'H* từ cây Ô đầu được nghiên cứu trong công trình này có thể được coi là một ứng cử viên để tăng cường tích lũy flavonoid trong thực vật bằng công nghệ gen.

Kết quả nghiên cứu nuôi cấy *in vitro* và cảm ứng tạo rễ tơ là cơ sở ứng dụng công nghệ này vào việc nâng cao hàm lượng và hiệu quả thu nhận các hợp chất có hoạt tính sinh học ở cây Ô đầu và một số loại cây dược liệu khác.

2. Ý nghĩa thực tiễn

Các dòng rễ tơ và dòng cây Ô đầu chuyển gen làm vật liệu cho chọn giống Ô đầu có hàm lượng flavonoid cao. Kết quả của nghiên cứu đã mở ra triển vọng ứng dụng kỹ thuật tạo dòng rễ tơ và kỹ thuật biểu hiện gen vào việc nâng cao hàm lượng các hợp chất có hoạt tính sinh học trong cây dược liệu.

Các bài báo đăng tải trên các tạp chí khoa học quốc tế và quốc gia cùng với các trình tự gen công bố trên Ngân hàng Gen là những tư liệu có giá trị tham khảo trong nghiên cứu và giảng dạy sinh học, công nghệ sinh học.

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 Số Đại học Thái Nguyên, Thư viện Trường Đại học Sư phạm-Đại học Thái Nguyên, Thư viện Quốc gia Việt Nam.

Thái Nguyên, ngày 09 tháng 02 năm 2022

Nghiên cứu sinh

Hoàng Thị Thu Hoàn

TẬP THỂ HƯỚNG DẪN

GS. TS Chu Hoàng Mậu

TS. Nguyễn Thị Ngọc Lan

**KT. TRƯỞNG KHOA
PHÓ TRƯỞNG KHOA**

TS. Nguyễn Thị Hằng