

# NGHIÊN CỨU NÂNG CAO HÀM LƯỢNG ISOFLAVONE TRONG CÂY ĐẬU TƯƠNG BẰNG CÔNG NGHỆ GEN

## MỤC TIÊU

- (i) Phân tích được đặc tính phân tử của gen mã hoá enzyme chìa khoá (chalcone synthase và isoflavone synthase) trong con đường sinh tổng hợp isoflavone phân lập từ cây đậu tương;
- (ii) Biểu hiện được gen mã hoá enzyme chìa khoá của con đường tổng hợp isoflavone trong thực vật;
- (iii) Tạo được dòng cây đậu tương chuyển gen có hàm lượng isoflavone trong mầm hạt cao hơn đối chứng không chuyển gen.

## NỘI DUNG

Nội dung 1: Nghiên cứu nhân bản, tách dòng phân tử và xác định trình tự gen mã hoá enzyme chalcone synthase và isoflavone synthase từ cây đậu tương

- Thu thập thông tin và thiết kế cặp môi PCR nhân bản gen mã hoá enzyme chalcone synthase và isoflavone synthase từ mRNA của cây đậu tương;
- Tách dòng phân tử và xác định trình tự gen mã hoá enzyme chalcone synthase và isoflavone synthase từ cây đậu tương.

Nội dung 2: Nghiên cứu phát triển vector biểu hiện gen chalcone synthase, isoflavone synthase ở thực vật

- Thiết kế vector chuyển gen thực vật mang cấu trúc gen mã hoá enzym chìa khoá (chalcone synthase, isoflavone synthase) trong con đường tổng hợp isoflavone ở thực vật;
- Tạo vi khuẩn Agrobacterium tái tổ hợp mang cấu trúc gen mã hoá chalcone synthase/ isoflavone synthase;
- Kiểm tra hoạt động của vector chuyển gen trên cây mô hình.

Nội dung 3: Nghiên cứu chuyển cấu trúc gen mã hoá enzym chìa khoá chalcone synthase/isoflavone synthase vào đậu tương

- Chuyển cấu trúc mang gen chalcone synthase/isoflavone synthase vào đậu tương nhờ vi khuẩn Agrobacterium lây nhiễm qua rách lá mầm hạt chín;
- Tái sinh chồi, ra rễ, chọn lọc bằng kháng sinh và tạo cây đậu tương chuyển gen T0;
- Ra cây đậu tương chuyển gen T0 và trồng trong nhà lưới.

Nội dung 4: Phân tích dòng đậu tương chuyển gen

- Phân tích dòng cây chuyển gen thông qua xác định sự có mặt của gen chuyển ở thế hệ T0;
- Phân tích sự biểu hiện của gen chuyển ở thế hệ T1 thông qua phiên mã bằng kỹ thuật RT-PCR;
- Đánh giá mức độ biểu hiện của gen chuyển của các dòng đậu tương chuyển gen ở thế hệ T1 bằng Real-time RT-PCR
- Phân tích sự biểu hiện protein tái tổ hợp của gen chuyển bằng điện di và Western blot;

Nội dung 5: Phân tích sự biểu hiện chức năng sinh học của gen chuyển

- Đánh giá sự sinh trưởng và phát triển của các dòng đậu tương chuyển gen ở thế hệ T0 và T1;
- So sánh hàm lượng isoflavone giữa dòng đậu tương chuyển gen và đối chứng không chuyển gen.

## KẾT QUẢ DỰ KIẾN

6.1. Kết quả dự kiến:

- Phân lập được 2 gen mã hoá enzyme chìa khoá (chalcone synthase và isoflavone synthase) của con

đường tổng hợp isoflavone từ cây đậu tương và đăng ký trên Ngân hàng gen quốc tế;

- Thiết kế được vector chuyển gen mang cấu trúc gen mã hoá chalcone synthase/isoflavone synthase;
- So sánh được mức độ biểu hiện của gen chuyển thông qua phiên mã giữ a các dòng cây chuyển gen và đối chứng bằng Real-time RT-PCR;
- Biểu hiện được protein tái tổ hợp từ gen mã hoá enzyme chìa khoá của con đường tổng hợp isoflavone ở thực vật;
- Tạo được dòng cây đậu tương chuyển gen có hàm lượng isoflavone trong mầm cao hơn đối chứng không chuyển gen.

6.2. Sản phẩm dự kiến:

a. Sản phẩm khoa học:

Số bài báo đăng tạp chí quốc tế: 02

Số bài báo khoa học đăng ở tạp chí quốc gia, tạp chí trường đại học: 3

Đăng ký trình tự gen trên ngân hàng gen quốc tế (GenBank): 02 trình tự gen.

Xuất bản 01 cuốn sách chuyên khảo về Công nghệ sinh học cây đậu tương

Sản phẩm đào tạo: Đào tạo 03 thạc sĩ và 01 tiến sĩ.

Sản phẩm ứng dụng:

- 02 dòng đậu tương chuyển gen được sử dụng làm vật liệu chọn giống đậu tương có khả năng tổng hợp isoflavone cao.
- Vector chuyển gen có thể được sử dụng để biến nạp vào đối tượng cây họ đậu khác.