

ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
TRƯỜNG ĐẠI HỌC SƯ PHẠM

THÔNG TIN KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU ĐỀ TÀI KH&CN CẤP BỘ

1. Thông tin chung

- Tên đề tài: Nghiên cứu biểu hiện gen mã hóa nhân tố phiên mã DREB mới định hướng ứng dụng trong cải thiện tính kháng các yếu tố bất lợi phi sinh học của cây đậu tương [*Glycine max* (L.) Merr.]
- Mã số: B2021-TNA-18
- Chủ nhiệm đề tài: GS.TS. Chu Hoàng Mậu
- Tổ chức chủ trì: Đại học Thái Nguyên
- Thời gian thực hiện: 24 tháng (Từ 1-2021 đến 12-2022)

2. Mục tiêu

- Phân tích sự biểu hiện và đánh giá được chức năng sinh học của gen *DREB* mới mã hóa nhân tố phiên mã của cây đậu tương.
- Tạo được dòng cây đậu tương chuyển gen mã hóa nhân tố phiên mã *DREB* có khả năng chống chịu các yếu tố bất lợi phi sinh học cao hơn cây đối chứng.

3. Tính mới và sáng tạo

- 1) Lần đầu tiên, hai gene *GmDREB6* và *GmDREB7* được xác định có chức năng liên quan đến khả năng chịu hạn và chịu mặn.
- 2) Sự biểu hiện của gen *GmDREB6* từ đậu tương làm tăng mức độ phiên mã của các gen *NtP5CS* và *NtCLC* của cây thuốc lá chuyển gen trong điều kiện stress mặn.
- 3) Sự biểu hiện mạnh của gen *GmDREB7* trong điều kiện stress mặn đã làm giảm mức độ phiên mã của các gen *NtRD29A* và *NtSODFe* ở cây thuốc lá chuyển gen.
- 4) Đã biến nạp thành công gen *GmDREB6* vào giống đậu tương ĐT22 thông qua *A. tumefaciens* và tạo được 4 dòng đậu tương chuyển gene có khả năng chịu hạn là T2-2, T2-4, T2-7 và T2-10.

4. Kết quả nghiên cứu

- 4.1. Đã lựa chọn và tổng hợp được hai gen mã hoá protein DREB6, DREB7 thuộc phân họ nhân tố phiên mã DREB của đậu tương làm gen đích và thiết kế thành công 02 vector biểu hiện gen thực vật (PBI121_ *GmDREB6* và pBI121_ *GmDREB7*).
- 4.2. Đã biến nạp thành công và phân tích biểu hiện gen *GmDREB6* và *GmDREB7* trên cây thuốc lá chuyển gen.

Sự biểu hiện mạnh của gen *GmDREB6* từ đậu tương làm tăng mức độ phiên mã của các gen *NtP5CS* và *NtCLC* của cây thuốc lá chuyển gen trong điều kiện stress mặn

Sự biểu hiện mạnh của gen *GmDREB7* trong điều kiện stress mặn đã làm giảm mức độ phiên mã của các gen *NtRD29A* và *NtSODFe* ở cây thuốc lá chuyển gen.

4.3. Đã biến nạp thành công gen *GmDREB6* vào giống đậu tương ĐT22 thông qua *A. tumefaciens*. Tạo được 4 dòng đậu tương chuyển gen *GmDREB6* thông qua phân tích PCR, Southern blot ở T0 và Western blot ở thế hệ T1.

4.4. Đã chọn được 4 dòng đậu tương chuyển gene có khả năng chịu hạn, chịu mặn ở thế hệ T2 (T2-2, T2-4, T2-7 và T2-10). Các dòng chuyển gen và cây WT không có sự khác biệt về chiều cao cây, Số quả/cây, khối lượng 1000 hạt, hàm lượng protein, hàm lượng lipid. Tuy nhiên, ở cả điều kiện bình thường và điều kiện stress mặn các dòng chuyển gen đều có hàm lượng prolin cao hơn cây WT, với $p < 0,05$.

5. Sản phẩm

5.1. Sản phẩm khoa học

1. Tan Quang Tu, Phutthakone Vaciaxa, Thu Thi Mai Lo, Nhung Hong Nguyen, Nhan Thi Thanh Pham, Quan Huu Nguyen, Phat Tien Do, Lan Thi Ngoc Nguyen, Yen Thi Hai Nguyen, Mau Hoang Chu (2021), “GmDREB6, a soybean transcription factor, notably affects the transcription of the *NtP5CS* and *NtCLC* genes in transgenic tobacco under salt stress conditions”, *Saudi Journal of Biological Sciences* 28, pp.7175–7181 (Q1, IF 2022: 4.052).

2. Yen Thi Hai Nguyen, Tan Quang Tu, Nhung Hong Nguyen, Doai Van Nguyen, Huyen Thi Tran, Phat Tien Do, Thu Thi Mai Lo, Nhan Thi Thanh Pham, Lan Thi Ngoc Nguyen, Thuy Thi Thu Vu, Quan Huu Nguyen, Mau Hoang Chu (2023), “A novel soybean transcription factor, DREB7, regulates *RD29A* and *SODFe* gene expression in transgenic tobacco plants”, *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant* (Q2, IF 2021; 2.347). (Accepted publication, 16/4/2023).

3. Phutthakone Vaciaxa, Trần Thị Hồng, Phạm Thị Thanh Nhân, Vũ Thị Thu Thủy, Chu Hoàng Mậu (2021), “Study on *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation of *GmDREB6* gene in Vietnamese soybean cultivar ĐT22”, *TNU Journal of Science and Technology* 226(01), pp. 57 – 64.

4. Nguyễn Thị Ngọc Lan, Trần Thị Thơm, Chu Hoàng Mậu (2021), “Phân tích sự biểu hiện của gen *GmDREB6* từ đậu tương trên cây thuốc lá chuyển gen trong điều kiện stress mặn”, *TNU Journal of Science and Technology* 226(10), pp. 62 – 70.

5.2. Sản phẩm đào tạo

Đào tạo tiến sĩ: 01 NCS hoàn thành luận án và được cấp Bằng Tiến sĩ Sinh học ngày 20-4-2022.

1. Phutthakone Vacixaxa (2022), *Nghiên cứu biểu hiện gen GmDREB6 nhằm nâng cao khả năng chịu mặn ở cây chuyển gen*, Luận văn tiến sĩ sinh học, chuyên ngành Di truyền học, Trường Đại học Sư phạm-ĐH Thái Nguyên (Nhận Bằng tiến sĩ ngày 20/4/2022).

Đào tạo thạc sĩ: 02 học viên cao học đã bảo vệ

1. Trần Thị Thơm (2021), *Phân tích biểu hiện và vai trò của gen GmDREB6 trên cây thuốc lá chuyển gen*. Luận văn thạc sĩ sinh học, Ngành Di truyền học, Trường Đại học Sư phạm-ĐH Thái Nguyên.

2. Bùi Thị Minh Thuý (2022), *Thiết kế cấu trúc biểu hiện gen mã hóa protein dehydration responsive element binding 7A của đậu tương [Glycine max (L.) Merr.]* Luận văn thạc sĩ sinh học, Ngành Di truyền học, Trường Đại học Sư phạm-ĐH Thái Nguyên.

5.3. Sản phẩm ứng dụng

1) Thiết kế thành công 02 cấu trúc vector chuyển gen: *pBI121_GmDREB6* và *pBI121_GmDREB7*;

2) Tạo được 04 dòng đậu tương chuyển gen GmDREB6 có khả năng chịu hạn, chịu mặn ở thế hệ T2 (T2-2, T2-4, T2-7 và T2-10).

6. Phương thức chuyển giao, địa chỉ ứng dụng, tác động và lợi ích đem lại của kết quả nghiên cứu

- Kết quả chuyển thành công cấu trúc mang gen GmDREB vào thuốc lá và đậu tương là cơ sở cho việc sử dụng cấu trúc vector *pBI121_GmDREB6* và *pBI121_GmDREB7* chuyển vào các cây họ đậu khác nhằm tạo các dòng chuyển gen có khả năng chống chịu cao.

- Các kết quả nghiên cứu là cơ sở phát triển nghiên cứu ứng dụng kỹ thuật chuyển gen nhằm cải thiện khả năng chịu hạn, chịu mặn tại các phòng thí nghiệm: Công nghệ gen, Công nghệ tế bào thực vật của Trường Đại học Sư phạm-ĐH Thái Nguyên và tại các phòng thí nghiệm khác trong ĐH Thái Nguyên.

- Kết quả nghiên cứu và các bài báo công bố trên các tạp chí khoa học- công nghệ được sử dụng làm tài liệu phục vụ đào tạo và nghiên cứu cho sinh viên, học viên cao học, nghiên cứu sinh và cán bộ của Trường Đại học Sư phạm - Đại học Thái Nguyên và các trường đại học khác ở Việt Nam.

INFORMATION ON RESEARCH RESULTS

1. General information

- Project title: *Study on gene expression that encodes new DREB transcription factor in the application orientation to improve the resistance to adverse abiotic factors of soybean*
- Code number: B2020-TNA-18
- Coordinator: Prof. Dr. Chu Hoang Mau
- Implementing institution: Thai Nguyen University.
- Duration: 24 months.

2. Objectives

- i) Analyze the expression and evaluate the biological function of the new DREB gene that encodes the transcription factor of soybean plants.
- ii) Create the transgenic soybean lines of transgenic soybeans that encode transcription factors resistant to adverse abiotic factors higher than that of non-transgenic control plants (WT).

3. Creativeness and innovativeness

- 1) For the first time, the GmDREB6 and GmDREB7 genes were determined to have a function related to drought and salinity tolerance.
- 2) The overexpression of the GmDREB6 gene from soybean increases the transcription level of the NtP5CS and NtCLC genes in transgenic tobacco under saline stress conditions.
- 3) The overexpression of the GmDREB7 gene in saline stress has reduced the code transcription level of NtRD29A and NtSODFe genes in transgenic cigarettes.
- 4) Successfully transformed the GmDREB6 gene into the soybean DT22 through *A. tumefaciens* and created four lines of genetic soybeans with drought tolerance, saline tolerance is T2-2, T2-4, T2-7, and T2 -10.

4. Research results

- 4.1. Selected and synthesized two genes encoding proteins of DREB6 and DREB7 of gene sub-family DREB to make the target gene and successfully designed 02 plant expression vectors (PBI121_GmDREB6 and PBI121_GmDREB7).
- 4.2. Successfully transformed and expression analyzed the GmDREB6 and GmDREB7 on transgenic tobacco.

The overexpression of the GmDREB6 gene from soybean increases the code transcription of the NtP5CS and NtCLC genes of the transgenic tobacco plants in saline stress conditions. The overexpression of the GmDREB7 gene in saline stress has

reduced the code transcription levels of NtRD29A and NtSODFe genes in transgenic tobacco plants.

4.3. Successfully transformed GmDREB6 gene into DT22 soybean through *A. tumefaciens*. PCR, Southern Blot analysis in T0, and Western Blot in the T1 generation have created four transgenic lines of GmDREB6 gene soybeans.

4.4. 4.4. Four lines of transgenic soybeans are drought resistant, and saline tolerance in the T2 generation (T2-2, T2-4, T2-7, and T2-10) have been selected. The transgenic lines and WT plants have no differences in the tree's height, the number of fruits/trees, the weight of 1000 seeds, protein content, and lipid content. However, the transgenic lines have a higher proline content in both normal and saline stress conditions than the WT tree, with $p < 0.05$.

5. Products

5.1. Journal papers

1. Tan Quang Tu, Phutthakone Vaciaya, Thu Thi Mai Lo, Nhung Hong Nguyen, Nhan Thi Thanh Pham, Quan Huu Nguyen, Phat Tien Do, Lan Thi Ngoc Nguyen, Yen Thi Hai Nguyen, Mau Hoang Chu (2021), "GmDREB6, a soybean transcription factor, notably affects the transcription of the NtP5CS and NtCLC genes in transgenic tobacco under salt stress conditions", *Saudi Journal of Biological Sciences* 28, pp.7175–7181 (Q1, IF 2022: 4.052).

2. Yen Thi Hai Nguyen, Tan Quang Tu, [Nhung Hong Nguyen](#), Doai Van Nguyen, Huyen Thi Tran, Phat Tien Do, Thu Thi Mai Lo, Nhan Thi Thanh Pham, Lan Thi Ngoc Nguyen, Thuy Thi Thu Vu, Quan Huu Nguyen, Mau Hoang Chu (2023), "A novel soybean transcription factor, DREB7, regulates *RD29A* and *SODFe* gene expression in transgenic tobacco plants", *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant* (Q2, IF 2021; 2.347) (Accepted publication, 16/4/2023).

3. Phutthakone Vaciaya, Tran Thi Hong, Pham Thi Thanh Nhan, Vu Thi Thu Thuy, Chu Hoang Mau (2021), "Study on *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation of GmDREB6 gene in Vietnamese soybean cultivar DT22", *TNU Journal of Science and Technology* 226(01), pp. 57 – 64.

4. Nguyen Thi Ngoc Lan, Tran Thi Thom, Chu Hoang Mau (2021), "Expression analysis of the GmDREB6 gene from soybean on transgenic tobacco plants under the saline-stress condition", *TNU Journal of Science and Technology* 226(10), pp. 62 – 70.

5.3. Education

5.3.1. Ph.D. student training: 01 Ph.D. student completed the thesis and and is granted Degree of Ph.D. in April 20, 2022

1. Phutthakone Vaciaxa (2022), *Study on GmDREB6 gene expression to improve salt tolerance in transgenic plants*. Doctoral thesis in biology, major in Genetics, University of Education - Thai Nguyen University.

5.3.2. Master training: 02 master students graduated.

1) Tran Thi Thom (2021). *Analysis of the expression and role of GmDREB6 gene on transgenic tobacco*, The Biological Master thesis, major in Genetics, Thai Nguyen University of Education, Thai Nguyen University.

2) Bui Thi Minh Thuy (2022), *Expressional structural design of the dehydration Responsive Element Binding 7A protein gene of soybean [Glycine max (L.) Merr.]*. The Biological Master thesis, major in Genetics, Thai Nguyen University of Education, Thai Nguyen University.

5.4. In terms of application

1) Successfully designed 02 transgenic vector structures: pBI121_GmDREB6 and pBI121_GmDREB7;

2) Created 04 transgenic soybean lines of GmDREB6 with drought tolerance and salinity tolerance in the T2 generation (T2-2, T2-4, T2-7 and T2-10).

6. Transfer alternatives, application institutions, impacts, and benefits of research results

The result of successfully transforming GmDREB into cigarettes and soybeans is the basis for using the Vector pBI121_GmDREB6 and pBI121_GmDREB7 structures to gene transfer into other legumes to create high-resistant transgenic lines to abiotic stress.

- The research results are the basis of research development on the application of transgenic technology to improve the content of medicinal substances in medicinal plants at the laboratory, such as genetic engineering, plant cell Biotechnology of TNU-University of Education and at the laboratory of Thai Nguyen University.

- Research results and articles published in scientific and technological journals are also used as references in teaching and scientific research for students, undergraduate students, and graduate students from TNU-University of Education and other universities in Viet Nam.