

ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN  
TRƯỜNG ĐẠI HỌC SƯ PHẠM

ĐỖ THANH KIM HƯỜNG

**TÁCH DÒNG VÀ THIẾT KẾ VECTOR BIỂU HIỆN  
GEN *GmDREB7* PHÂN LẬP TỪ CÂY ĐẬU TƯƠNG**

**LUẬN VĂN THẠC SĨ SINH HỌC**

**Thái Nguyên - 2019**

ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN  
TRƯỜNG ĐẠI HỌC SƯ PHẠM

ĐỖ THANH KIM HƯỜNG

**TÁCH DÒNG VÀ THIẾT KẾ VECTOR BIỂU HIỆN  
GEN *GmDREB7* PHÂN LẬP TỪ CÂY ĐẬU TƯƠNG**

**Ngành: Di truyền học**

**Mã số: 8 42 01 21**

**LUẬN VĂN THẠC SĨ SINH HỌC**

*Cán bộ hướng dẫn khoa học: GS.TS. Chu Hoàng Mậu*

**Thái Nguyên - 2019**

## **LỜI CAM ĐOAN**

Tôi xin cam đoan những nội dung trong luận văn là kết quả nghiên cứu của tôi dưới sự hướng dẫn trực tiếp của GS.TS. Chu Hoàng Mậu. Các số liệu, kết quả sử dụng trong luận văn là trung thực và được sự đồng ý của cán bộ hướng dẫn và nhóm nghiên cứu.

*Tác giả luận văn*

**Đỗ Thanh Kim Hường**

## LỜI CẢM ƠN

Tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc nhất tới GS.TS. Chu Hoàng Mậu đã trực tiếp hướng dẫn, chỉ bảo và tạo mọi điều kiện tốt nhất để tôi thực hiện nghiên cứu và hoàn thành bản luận văn thạc sĩ này.

Tôi xin chân thành cảm ơn PGS.TS. Lê Văn Sơn - Viện Công nghệ Sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam và TS. Nguyễn Thị Hải Yến - Khoa Công nghệ sinh học, Trường Đại học Khoa học - Đại học Thái Nguyên đã tận tình giúp đỡ và tạo mọi điều kiện để tôi tiến hành các thí nghiệm trong đề tài luận văn.

Tôi xin chân thành cảm ơn sự giúp đỡ của thầy cô và cán bộ Bộ môn Sinh học hiện đại & Giáo dục Sinh học; cảm ơn các thầy cô Khoa Sinh học, Trường Đại học Sư phạm - Đại học Thái Nguyên đã giúp đỡ và tạo mọi điều kiện thuận lợi cho tôi hoàn thành khoá học này.

Cuối cùng, tôi xin được gửi lời cảm ơn đến gia đình và bạn bè đã động viên, chia sẻ và giúp đỡ để tôi có thể hoàn thành bài luận văn này.

*Thái Nguyên, tháng 5 năm 2019*

*Tác giả luận văn*

**Đỗ Thanh Kim Hương**

## TÀI TRỢ

Đề tài nghiên cứu trong luận văn thạc sĩ này được tài trợ bởi Quỹ Phát triển khoa học và công nghệ Quốc gia (NAFOSTED) trong đề tài mã số 106.01-2018.27" với tên đề tài là: “*Biểu hiện gen mã hóa nhân tố phiên mã dehydration responsive element binding của đậu tương (GmDREB) để tăng khả năng chịu hạn ở cây chuyển gen*” do GS.TS Chu Hoàng Mậu làm chủ nhiệm.

*Tác giả luận văn*

**Đỗ Thanh Kim Hường**

## MỤC LỤC

	<i>Trang</i>
LỜI CAM ĐOAN.....	i
LỜI CẢM ƠN.....	ii
TÀI TRỢ.....	iii
MỤC LỤC.....	iv
DANH MỤC CÁC BẢNG.....	v
DANH MỤC CÁC HÌNH.....	vi
DANH MỤC TỪ VÀ CHỮ VIẾT TẮT.....	vii
<b>MỞ ĐẦU</b> .....	<b>1</b>
1. Đặt vấn đề.....	1
2. Mục tiêu nghiên cứu.....	2
3. Nội dung nghiên cứu.....	2
4. Ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài.....	2
<b>Chương 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU</b> .....	<b>4</b>
1.1. Đặc tính chống chịu của thực vật.....	4
1.1.1. Tác động của các nhân tố phi sinh học đến thực vật.....	4
1.1.2. Cơ chế phân tử của đặc tính chống chịu các yếu tố bất lợi của thực vật.....	5
1.2. Họ nhân tố phiên mã AP2.....	6

1.2.1. Cây đậu tương.....	6
1.2.2. Nhân tố phiên mã DREB ở cây đậu tương.....	8
1.3. Vector biểu hiện gen thực vật và đánh giá hoạt động của vector chuyển gen trên cây thuốc lá mô hình.....	12
<b>Chương 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU....</b>	<b>16</b>
2.1. Vật liệu nghiên cứu.....	16
2.1.1. Vật liệu thực vật.....	16
2.1.2. Các loại vector và chủng vi khuẩn sử dụng trong nghiên cứu.....	16
2.2. Hóa chất, thiết bị và địa điểm nghiên cứu.....	16
2.2.1. Hóa chất, thiết bị nghiên cứu.....	16
2.2.2. Địa điểm nghiên cứu.....	17
2.3. Phương pháp nghiên cứu.....	17
2.3.1. Nhóm phương pháp phân lập và xác định trình tự nucleotide của gen <i>GmDREB7</i> .....	18
2.3.1.1. Tách chiết RNA tổng số và nhân bản gen <i>GmDREB7</i> từ cDNA.....	18
2.3.1.2. Tách dòng gen <i>GmDREB7</i> .....	19
2.3.1.3. Xác định trình tự nucleotide.....	21
2.3.2. Nhóm phương pháp thiết kế gen <i>GmDREB7</i> , vector chuyển gen và tạo dòng vi khuẩn <i>A. tumefaciens</i> CV58 mang vector chuyển gen chứa gen <i>GmDREB7</i> .....	

	21
2.3.3. Phương pháp tạo cây chuyển gen thông qua <i>A. tumefaciens</i> ...	22
2.3.4. Nhóm phương pháp phân tích, xử lý số liệu.....	24
<b>Chương 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN.....</b>	<b>25</b>
3.1. Đặc điểm của gen <i>GmDREB7</i> phân lập từ giống đậu tương DT2008.....	25
3.1.1. Kết quả nhân bản, tách dòng và giải trình tự gen <i>GmDREB7</i> .....	25
3.1.2. Mối quan hệ di truyền giữa giống đậu tương DT2008 và các mẫu đậu tương mang mã số BT092314, BT089389, NM001249580, NM001248527, AY244760 trên GenBank.....	31
3.2. Thiết kế gen và vector chuyển gen thực vật mang gen <i>GmDREB7</i> .....	33
3.2.1. Thiết kế gen <i>GmDREB7</i> nhân tạo.....	33
3.2.2. Tạo vector chuyển gen mang cấu trúc chứa gen <i>GmDREB7</i> .....	34
3.3. Chuyển gen và phân tích sự biểu hiện của gen <i>GmDREB7</i> trên cây thuốc lá.....	36
3.3.1. Kết quả chuyển cấu trúc mang gen <i>GmDREB7</i> vào cây thuốc lá thông qua <i>A. tumefaciens</i> .....	36
3.3.2. Phân tích sự có mặt và sự biểu hiện ở mức phiên mã của gen chuyển <i>GmDREB7</i> trên cây thuốc lá chuyển gen.....	39



<b>KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ.....</b>	<b>41</b>
1. Kết luận.....	41
2. Đề nghị.....	41
<b>CÔNG TRÌNH CÔNG BỐ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN VĂN.....</b>	<b>42</b>
<b>TÀI LIỆU THAM KHẢO.....</b>	<b>43</b>

## DANH MỤC CÁC BẢNG

	<i>Trang</i>
<b>Bảng 2.1.</b> Trình tự nucleotide của các cặp mồi PCR.....	19
<b>Bảng 2.2.</b> Thành phần môi trường nuôi cấy vi khuẩn.....	20
<b>Bảng 2.3.</b> Thành phần phản ứng gắn gen <i>GmDREB7</i> vào vector tách dòng pBT.....	20
<b>Bảng 2.4.</b> Thành phần môi trường tái sinh cây thuốc lá.....	24
<b>Bảng 3.1.</b> Các vị trí sai khác trong trình tự nucleotide của gen <i>GmDREB7</i> giữa giống đậu tương DT2008 và trình tự nucleotide mang mã số BT092314 trên GenBank.....	28
<b>Bảng 3.2.</b> Các vị trí sai khác trong trình tự amino acid suy diễn từ gen <i>GmDREB7</i> giữa giống đậu tương DT2008 và trình tự nucleotide mang mã số BT092314 trên GenBank.....	30
<b>Bảng 3.3.</b> Kết quả biến nạp cấu trúc <i>pBI121_GmDREB7</i> vào cây thuốc lá giống K326.....	38