

**VIỆN HÀN LÂM VÀ KHOA HỌC VIỆT NAM  
VIỆN SINH THÁI TÀI NGUYÊN VÀ SINH VẬT**

**PHẠM THỊ HẰNG**

**NGHIÊN CỨU ĐẶC ĐIỂM GEN *ZmBZIP72* PHÂN LẬP TỪ GIỐNG NGÔ ĐỊA  
PHƯƠNG VIỆT NAM VÀ THIẾT KẾ CẤU TRÚC MANG GEN PHỤC VỤ  
NGHIÊN CỨU CHUYÊN GEN VÀO CÂY TRỒNG**

**Chuyên ngành: Sinh học thực nghiệm**

**Mã số: 60 42 01 14**

**LUẬN VĂN THẠC SỸ SINH HỌC  
GIẢNG VIÊN HƯỚNG DẪN: TS. HUỲNH THỊ THU HUỆ**

**Hà Nội - 2017**

## LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan đây là công trình nghiên cứu của tôi. Các số liệu, kết quả nêu trong luận văn là trung thực và chưa từng được công bố trong bất kỳ công trình nào khác.

*Hà Nội, Ngày tháng năm 2017*

Tác giả luận văn

Phạm Thị Hằng

## LỜI CẢM ƠN

Trước hết, tôi xin bày tỏ lòng biết ơn chân thành và sâu sắc tới **TS. Huỳnh Thị Thu Huệ** - Phó trưởng phòng Đa dạng sinh học hệ gen – Viện Nghiên cứu hệ gen đã tận tình hướng dẫn và dìu dắt tôi trong quá trình hoàn thành luận văn.

Luận văn này được thực hiện tại phòng Đa dạng sinh học hệ gen – Viện Nghiên cứu hệ gen với sự hỗ trợ kinh phí của Đề tài cấp nhà nước: “Phân lập thiết kế gen chịu hạn phục vụ công tác tạo giống ngô biến đổi gen” giai đoạn 2014-2018 do Bộ Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn quản lý.

Tôi xin chân thành cảm ơn các thầy cô giáo thuộc cơ sở đào tạo Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật và ban lãnh đạo Viện Nghiên cứu hệ gen đã giảng dạy và tạo điều kiện cho tôi học tập và thực hiện luận văn.

Tôi xin bày tỏ lòng biết ơn tới toàn thể các cán bộ Phòng Đa dạng sinh học hệ gen, Viện Nghiên cứu hệ gen đã luôn nhiệt tình giúp đỡ và cho tôi những lời khuyên cũng như những góp ý quý báu trong quá trình tôi thực hiện luận văn.

Cuối cùng, tôi xin chân thành cảm ơn gia đình và bạn bè đã luôn động viên, giúp đỡ tôi trong suốt quá trình học tập và nghiên cứu.

*Hà Nội, Ngày tháng năm 2017*

Tác giả luận văn

Phạm Thị Hằng

## DANH MỤC CÁC TỪ VIẾT TẮT

ABA	Abscisic acid
ABF	ABRE binding factor
ABRE	AB -responsive element
AP2/EREBP	APETALA2/ethylene responsive element binding protein
AREB	ABA responsive element binding protein
AS	Acetosyringone
bZIP	basic leucine zipper
CaMV	Cauliflower mosaic virus
CBF	CRT binding factor
CBU	Crop Biotech Update
cDNA	Complementary DNA
CDPK	Calcium-dependent protein kinase
CDS	Coding DNA sequence
CRT	C-Repeat
CSP	Cold shock protein
CUC2	Cupshaped cotyledon 2
CYP	Cyclophilin
DEPC	Diethyl pyrocarbonate
DNA	Deoxyribonucleic acid
DRE	Dehydration responsive element
DREB	Dehydration responsive element binding

DST	Drought and Salt Tolerance
EAR	ERF-associated amphiphilic repression
EDTA	Ethylenediaminetetraacetic acid
ERD1	Early responsive to dehydration
ERF	Ethylene responsive element
EtBr	Ethidium bromide
FAO	Food and Agriculture Organization
FAS-USDA	Foreign Agricultural Service-United States Department of Agriculture
HSP	Heat Shock Protein
LB	Lysogeny broth
LEA	Late embryogenesis abundant
MALDI-TOF	Matrix-assisted laser desorption/ionization- time of flight
MCS	Multiple cloning site
mRNA	Messenger RNA
NAC	NAM, ATAF1,2, CUC2
NACRS	NAC recognition sequence
NAM	No apical meristem
NF-Y	Nuclear factor Y
PCR	Polymerase Chain Reaction
PIS	Phosphatidylinositol synthase
PKC	Protein kinase C
PTMs	Post translation modifications

RNA	Ribonucleic acid
RT-PCR	Reverse transcription-polymerase chain reaction
sHSP	Small heat shock protein
TF	Transcription factor
WFP	World Food Programme
WMO	World Meteorological Organization
ZAT	Zinc transporter
ZFP	Zinc finger protein

## DANH MỤC CÁC BẢNG

<b>Bảng</b>	<b>Tên bảng</b>	<b>Trang</b>
Bảng 1.1	Sản lượng ngô trên toàn thế giới qua các niên vụ 2011/2012 – 2016/2017	14
Bảng 2.1	Trình tự môi sử dụng trong nghiên cứu	21 - 22
Bảng 2.2	Thành phần các môi trường sử dụng trong nuôi cấy mô thực vật	22 - 23
Bảng 3.1	Kết quả biến nạp gen <i>ZmbZIP72</i>	57
Bảng 3.2	Danh sách mẫu cây chuyển gen <i>ZmbIP72</i> thu được	58

## DANH MỤC CÁC HÌNH

Hình	Tên hình	Trang
Hình 2.1	Sơ đồ vector biểu hiện mang gen <i>ZmbZIP72</i>	29
Hình 3.1	Sản phẩm tách chiết RNA tổng số từ mẫu mô lá ngô xử lý hạn nhân tạo	38
Hình 3.2	Sản phẩm PCR nhân gen <i>Actin</i> từ các mẫu cDNA	39
Hình 3.3	Kết quả RT-PCR nhân gen <i>ZmbZIP72</i>	40
Hình 3.4	Tách chiết và chọn lọc plasmid mang gen <i>ZmbZIP72</i>	41
Hình 3.5	Kiểm tra plasmid pJET 1.2 mang đoạn gen <i>ZmbZIP72</i>	42
Hình 3.6	So sánh trình tự nucleotide giữa đoạn gen <i>ZmbZIP72</i> từ giống Tẻ vàng chất đạo (Lai Châu) với trình tự tham chiếu	43
Hình 3.7	So sánh trình tự acid amin suy diễn của đoạn CDS trên đoạn gen <i>ZmbZIP72</i> giống Tẻ vàng chất đạo (Lai Châu) với trình tự tham chiếu	44
Hình 3.8	Kiểm tra sản phẩm PCR sử dụng cặp mồi <i>ZmbZIP72</i> SacI F/R	45
Hình 3.9	Kết quả cắt enzyme giới hạn <i>BglII</i> trên các plasmid pJET 1.2	46
Hình 3.10	Tách chiết và chọn lọc plasmid pRTL2 mang gen <i>ZmbZIP72</i>	47
Hình 3.11	Sản cắt plasmid pRTL2_ <i>ZmbZIP72</i> bằng enzyme <i>HindIII</i>	47
Hình 3.12	Sản phẩm cắt plasmid pRTL2_ <i>ZmbZIP72</i> với enzyme <i>BamHI</i> và <i>HindIII</i>	48
Hình 3.13	Chọn lọc plasmid pCAMBIA1300 mang gen <i>ZmbZIP72</i>	50
Hình 3.14	Sản phẩm cắt plasmid pCAM1300_ <i>ZmbZIP72</i> bằng enzyme <i>HindIII</i>	51
Hình 3.15	Sản phẩm cắt plasmid tái tổ hợp 01 bằng enzyme <i>SacI</i> , <i>HindIII</i>	51
Hình 3.16	Sản phẩm PCR nhân đoạn gen <i>ZmbZIP72</i> từ 4 dòng plasmid	53
Hình 3.17	Minh họa quá trình biến nạp và tái sinh cây ngô chuyển gen	56
Hình 3.18	DNA tổng số tách chiết từ mẫu lá cây chuyển gen <i>ZmbZIP72</i> thế hệ T0	60



Hình 3.19	Sản phẩm PCR nhân gen chỉ thị <i>hygromycin</i> ở các cây chuyển gen T <sub>0</sub>	61
Hình 3.20	Sản phẩm PCR nhân gen đích <i>ZmbZIP72</i> ở cây chuyển gen T <sub>0</sub>	62

# MỤC LỤC

LỜI CAM ĐOAN.....	i
LỜI CẢM ƠN .....	ii
DANH MỤC CÁC TỪ VIẾT TẮT .....	iii
DANH MỤC CÁC BẢNG.....	vi
DANH MỤC CÁC HÌNH .....	vii
MỞ ĐẦU.....	1
CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN TÀI LIỆU .....	3
1.1. Phản ứng của thực vật trong điều kiện hạn hán , .....	3
1.1.1. Tác động của hạn hán đến sinh trưởng và phát triển của thực vật .....	3
1.1.3.1. Các gen mã hoá protein chức năng .....	5
1.1.3.2. Các gen mã hoá protein truyền tín hiệu .....	6
1.1.3.3. Các gen mã hoá yếu tố điều khiển phiên mã .....	7
1.2. Họ bZIP là yếu tố điều khiển phiên mã trong cảm ứng chống chịu hạn ở thực vật .....	10
1.3. Cấu trúc và chức năng của gen <i>ZmbZIP72</i> .....	12
1.4. Cây ngô và vấn đề chịu hạn .....	14
1.5. Nghiên cứu tạo giống ngô biến đổi gen .....	17
1.6. Chuyển gen vào thực vật thông qua vi khuẩn <i>Agrobacterium tumefaciens</i> .....	19
CHƯƠNG 2: VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU .....	21
2.1. Vật liệu và hoá chất nghiên cứu.....	21
2.1.1. Mẫu thực vật .....	21
2.1.2. Các vật liệu khác .....	21
2.1.3. Hoá chất .....	21
2.1.4. Thiết bị nghiên cứu .....	23
2.2. Phương pháp nghiên cứu .....	24
2.2.1. Tách chiết DNA tổng số từ thực vật.....	24
2.2.2. Tách chiết RNA tổng số từ thực vật.....	25
2.2.3. Sinh tổng hợp cDNA sợi thứ nhất .....	26
2.2.4. Phương pháp nhân gen bằng kỹ thuật PCR.....	26