

## Ngô chuyển gen giàu carotenoid đầu tiên ở Việt Nam

Với mong muốn tăng hàm lượng carotenoid để gia tăng giá trị dinh dưỡng của cây ngô, các nhà khoa học thuộc Viện Công nghệ sinh học (Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam) đã triển khai đề tài “Nghiên cứu tạo cây ngô chuyển gen giàu carotenoid” do GS.TS Nguyễn Đức Thành làm chủ nhiệm. Đây là công trình đầu tiên trên thế giới cũng như ở Việt Nam thành công trong việc chuyển gen *lbOr* từ giống khoai lang Hoàng Long vào một số dòng ngô và tạo được cây ngô chuyển gen có hàm lượng  $\beta$ -carotene cao hơn 10 lần so với đối chứng không chuyển gen.

**N**gô là cây ngũ cốc quan trọng trong nền kinh tế toàn cầu vì nó nuôi sống 1/3 dân số thế giới. Ở Việt Nam, ngô là cây lương thực đứng thứ hai sau cây lúa. Tuy nhiên, chất dinh dưỡng của các loại ngô có mặt tại Việt Nam còn rất thấp, thiếu lysine, triptophan và rất ít carotenoid, đặc biệt là các carotenoid tiền vitamin A. Trong ngô, các carotenoid tiền vitamin A gồm  $\alpha$ -carotene,  $\beta$ -carotene và  $\beta$ -cryptoxanthin với giá trị tương ứng chỉ từ 0-1,3; 0,13-2,7 và 0,13-1,9 nmol/g.

Do cơ thể không tổng hợp được vitamin A, carotenoid thực vật là nguồn tiền vitamin A chính cho con người. Thiếu vitamin A là vấn đề quan trọng trong dinh dưỡng ở nhiều nơi trên thế giới. Theo Tổ chức Y tế thế giới (WHO), sự thiếu vitamin A ảnh hưởng tới 250 triệu người trên thế giới và dẫn đến mù lòa cho khoảng 500.000 trẻ em/năm. Ngoài ra, carotenoid còn có tác dụng giảm ung thư và các bệnh tim mạch. Chính vì vậy, vấn đề cải tạo để gia tăng hàm lượng carotenoid trong một số cây trồng phổ biến như cây ngô được nhiều nhà khoa học quan tâm.

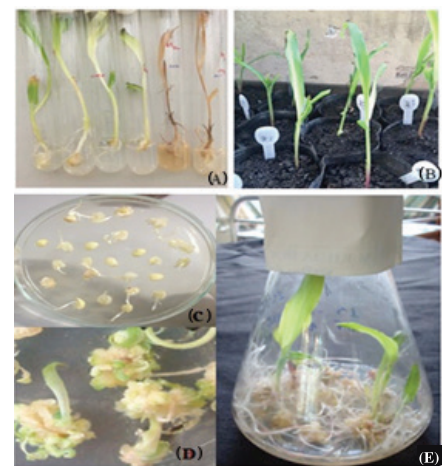
Để cải tiến hàm lượng carotenoid trong cây, có thể can thiệp vào chu trình tổng hợp carotenoid bằng cách tăng cường thể hiện một số gen mã hóa cho các enzyme then chốt tham gia vào tổng hợp hay ức chế một số gen mã hóa các chất phân giải và sử dụng các gen điều hòa quá trình tích

lũy carotenoid. Trong đó, ứng dụng công nghệ gen để thể hiện các gen điều hòa tích lũy carotenoid là một hướng quan trọng để cải tiến hàm lượng carotenoid. Gần đây, Berman và cộng sự [1] đã chuyển gen *Orange* (*Or*) của cây *Arabidopsis* (*AtOr*) vào giống ngô trắng M37W (chỉ chứa rất ít carotenoid như zeaxanthin, lutein, violaxanthin, antheraxanthin) và đã tạo được hai dòng ngô chuyển gen OR1 và OR2 có hàm lượng carotenoid tổng tương ứng vào khoảng 9 và 17  $\mu\text{g/g}$  khối lượng khô. Gen *Or* đóng vai trò quan trọng trong tích lũy carotenoid và tham gia vào sự phân hóa plastid không sắc tố thành thể nhiễm sắc, không can thiệp vào các khâu tổng hợp carotenoid nhưng lại điều hòa quá trình tạo ra bể dự trữ để cô lập và lưu trữ carotenoid. Sự thể hiện gen *Or* đã làm tăng tích lũy carotenoid trong mô sẹo lúa và khoai lang. Lu và cộng sự [2] đã chỉ ra rằng, gen *Or* mã hóa cho protein có chứa miền DnaJ giàu cysteine có liên quan đến sự tích lũy carotenoid cao. Đây là những cơ sở khoa học quan trọng cho việc ứng dụng công nghệ gen tạo cây ngô giàu carotenoid.

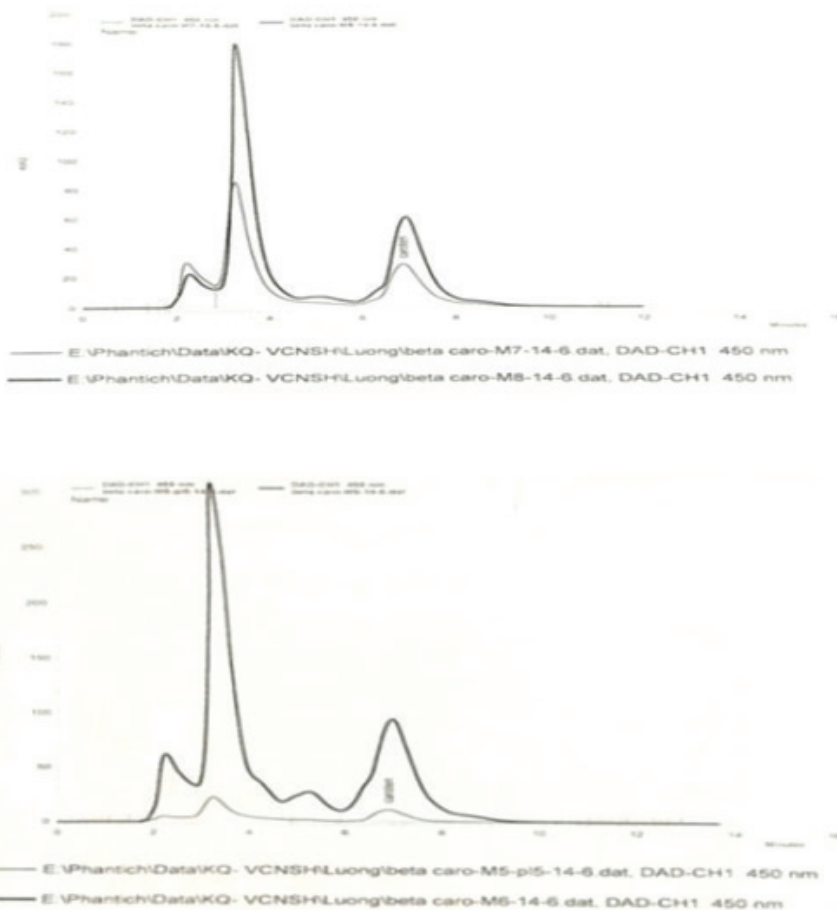
Từ các nghiên cứu đi trước, với mong muốn tăng hàm lượng carotenoid trong ngô để gia tăng giá trị dinh dưỡng của cây ngô, qua đó góp phần tăng cường sức khỏe cho người sử dụng và hiệu quả dinh dưỡng trong chăn nuôi, các nhà khoa học thuộc Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam đã triển khai đề

tài “Nghiên cứu tạo cây ngô chuyển gen giàu carotenoid”. Các mục tiêu cụ thể của đề tài là: (1) Xây dựng quy trình chuyển gen gia tăng tích lũy carotenoid ở ngô hiệu suất trên 1%; (2) Tách dòng gen *Or* và thiết kế được cấu trúc mang gen *Or* tăng cường tích lũy carotenoid phục vụ chuyển gen; (3) Tạo cây ngô chuyển gen tăng tích lũy carotenoid cao hơn đối chứng không chuyển gen. Sau hai năm triển khai, đề tài đã thu được những kết quả sau:

- Phân lập được gen *Or* từ giống khoai lang Hoàng Long ký hiệu là *lbOr* và đã đăng ký trên Ngân hàng gen quốc tế với mã số KX792094.1 và gen *Or* từ cây súp-lơ được đăng ký



Hình 1. Hình ảnh tạo cây ngô chuyển gen *lbOr* gia tăng tích lũy carotenoid thông qua *Agrobacterium tumefaciens* mang cấu trúc chuyển gen sử dụng mô phân sinh đỉnh (A, B) và sử dụng phôi non (C, D, E).



Hình 2. Kết quả phân tích bằng hệ thống Hitachi Elite LaChrom HPLC cho thấy các cây ngô chuyển gen *lbOr* có hàm lượng  $\beta$ -carotene cao hơn nhiều (đường cong đậm) so với cây đối chứng không chuyển gen (đường cong mờ).

trên Ngân hàng gen quốc tế với mã số KX396544.1.

- Thiết kế được 2 cấu trúc chuyển gen mang gen *lbOr* tăng cường tích lũy carotenoid là pCambia2300/Ubi/*lbOr*/Nos và pCambia2300/Glo1/*lbOr*/Nos.

- Chuyển thành công cấu trúc pCambia2300/Glo1/*lbOr*/Nos vào một số dòng ngô và tạo được 18 dòng ngô chuyển gen có hàm lượng carotenoid tổng tăng so với đối chứng tương ứng từ 1,756 đến 12,515 lần và hàm lượng  $\beta$ -carotene tăng từ 2,022 đến 19,002 lần. Trong đó, có 6 dòng có hàm lượng  $\beta$ -carotene tăng trên 10 lần (N618-*lbOr*.3, N618-*lbOr*.6,

N618-*lbOr*.8, N618-*lbOr*.9, H145-*lbOr*.10, H145-*lbOr*.15).

- Xây dựng được 1 quy trình chuyển gen *lbOr* gia tăng tích lũy carotenoid ở ngô sử dụng mô phân sinh đỉnh và *A. tumefaciens* cho hiệu suất chuyển gen từ 1,50 đến 2,63%.

- Công bố 1 bài báo trên tạp chí quốc tế thuộc danh mục SCIE [3] và 1 bài trên tạp chí thuộc danh mục VAST2 của Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam [4], đào tạo 1 thạc sỹ và 1 cử nhân.

Để đưa vào sản xuất đại trà, các dòng ngô chuyển gen cần được tiếp tục theo dõi, đánh giá tính ổn định

của gen chuyển và an toàn sinh học, song có thể khẳng định, đây là công trình đầu tiên trên thế giới cũng như ở Việt Nam thành công trong việc chuyển gen *lbOr* từ giống khoai lang Hoàng Long vào một số dòng ngô trồng và tạo được cây ngô chuyển gen có hàm lượng  $\beta$ -carotene cao gấp 10 lần so với đối chứng không chuyển gen. Các cấu trúc (vector) chuyển gen và quy trình chuyển gen của đề tài có thể áp dụng tại các viện nghiên cứu và các phòng thí nghiệm để cải tiến chất lượng dinh dưỡng ở cây ngô và các cây trồng khác.

Minh Nguyệt

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] J. Berman, U. Zorrilla-López, V. Medina, G. Farré, G. Sandmann, T. Capell, P. Christou, C. Zhu (2017), "The Arabidopsis *ORANGE* (*AtOR*) gene promotes carotenoid accumulation in transgenic corn hybrids derived from parental lines with limited carotenoid pools", *Plant Cell Rep.*, doi: 10.1007/s00299-017-2126-z.

[2] S. Lu, J. Van Eck, X. Zhou, A.B. Lopez, D.M. O'Halloran, K.M. Cosman, B.J. Conlin, D.J. Paolillo, D.F. Garvin, J. Vrebalov, L.V. Kochian, H. Küpper, E.D. Earle, J. Cao, L. Li (2006), "The cauliflower *Or* gene encodes a DnaJ cysteine-rich domain-containing protein that mediates high levels of beta-carotene accumulation", *Plant Cell*, **18**(12), pp.3594-3605, <https://doi.org/10.1105/tpc.106.046417>.

[3] Thi Luong Tran, Thi Huong Ho, Duc Thanh Nguyen (2017), "Overexpression of the *lbOr* gene from sweet potato (*Ipomea batatas* 'Hoang Long') in maize increases total carotenoid and  $\beta$ -carotene contents", *Turk. J. Biol.*, **41**, pp.1003-1010.

[4] Hồ Thị Hương, Nguyễn Thùy Ninh, Nguyễn Đức Thành (2017), "Tách dòng và thiết kế vector chuyển gen mang gen *lbOr* từ khoai lang (*Ipomea batatas* L.) tham gia vào sự tích lũy carotenoids", *Tạp chí Công nghệ sinh học*, **15**(2), tr.341-347.