

Đặc điểm và sự phát sinh của phân họ gen *DREB* ở đậu tương [*Glycine max* (L.) Meril]

Nguyễn Thị Ngọc Lan¹, Phutthakone Vaciaxa^{1,2}, Nguyễn Thành Chung¹, Nguyễn Hữu Quân¹, Phạm Thị Thanh Nhân¹, Vũ Thị Thu Thủy¹, Chu Hoàng Mậu^{1*}

¹Khoa Sinh học, Trường Đại học Sư phạm Thái Nguyên

²Bộ môn Sinh học, Trường Cao đẳng Sư phạm Khang Khay, Xiêng Khoảng, Lào

Ngày nhận bài 18/9/2020; ngày chuyển phân biện 25/9/2020; ngày nhận phân biện 27/10/2020; ngày chấp nhận đăng 18/11/2020

Tóm tắt:

Nhân tố phiên mã DREB (Dehydration responsive element binding protein) liên kết với yếu tố tác động *cis* của vùng kích hoạt (promoter) có vai trò điều chỉnh sự hiện thị các gen phản ứng với stress phi sinh học của thực vật. Trong nghiên cứu này, 69 trình tự gen *DREB* của cây đậu tương từ cơ sở dữ liệu NCBI đã được xác định thuộc về 18 gen *GmDREB* (*Glycine max* DREB). Các gen *GmDREB* có từ 1 đến 8 bản copy, phân bố trên 17 nhiễm sắc thể (NST), trong đó *GmDREB3* có 8 copy, còn lại các gen *GmDREB* khác có 1-4 copy. Miền AP2 của protein DREB phổ biến là motif PTPEMAARAYDVAALALKGPSARLNFPPEL, chứa 11 điểm liên kết với promoter của các gen chức năng, với 4 dạng và phổ biến là RGRRWKERRWT (có ở 13/18 protein DREB). Cây phát sinh dựa trên trình tự nucleotide của các gen *GmDREB* và trình tự amino acid của miền AP2 trong protein DREB thể hiện sự tiến hóa và mối quan hệ của phân họ DREB ở đậu tương. Kết quả nghiên cứu cung cấp thông tin toàn diện về phân họ gen *DREB*, làm cơ sở cho các phân tích thực nghiệm nhằm làm rõ hơn chức năng của một số thành viên trong phân họ gen này.

Từ khóa: điểm liên kết DNA, *Glycine max*, miền AP2, phân họ DREB, phân tích phát sinh.

Chỉ số phân loại: 4.6

Đặt vấn đề

Đậu tương [*Glycine max* (L.) Merrill] là cây trồng quan trọng không chỉ ở Việt Nam mà còn ở nhiều quốc gia trên thế giới. Hạt đậu tương là nguồn thức ăn giàu đạm cho con người và là nguyên liệu quan trọng sử dụng trong công nghiệp thực phẩm, đồng thời có tác dụng tốt trong cải tạo đất. Đậu tương được xem là cây trồng nhạy cảm với các yếu tố bất lợi từ ngoại cảnh và được xếp vào nhóm cây chống chịu kém.

Đặc tính chống chịu các yếu tố phi sinh học của cây đậu tương do nhiều gen quy định và sản phẩm của mỗi gen có thể liên quan trực tiếp đến khả năng chống chịu (gen chức năng) hoặc điều hòa nhóm gen chức năng (gen điều hòa). Một số gen của đậu tương có phản ứng với các stress phi sinh học như hạn, mặn, lạnh, nóng... ở mức phiên mã, trong đó có nhóm gen mã hóa nhân tố phiên mã DREB, một phân họ thuộc họ AP2/ERF (APETALA2/Ethylene-Responsive) của thực vật [1]. Các protein DREB chứa miền AP2 phổ biến có khoảng 58-59 amino acid và bao gồm một số amino acid liên quan đến yếu tố phản ứng khử nước DRE (dehydration responsive element) hoặc hộp GCC box [2, 3]. Trình tự *cis* và nhân tố *trans* giữ vai trò quan trọng trong sự biểu hiện gen đáp ứng các stress phi sinh học. Việc nghiên cứu nhân tố phiên mã DREB - yếu tố có tác động *trans* liên kết với trình tự *cis* để kích hoạt sự biểu hiện của các gen mục tiêu khi có tín hiệu stress ở thực vật sẽ mang lại ứng dụng hữu ích trong việc cải thiện tính kháng của thực vật thông qua kỹ thuật chuyển gen [4].

Đến nay, người ta đã xác định một số gen *GmDREB* (*Glycine*

max DREB) như *GmDREB1*, *GmDREB2*, *GmDREB3*, *GmDREB5* [5] có trong hệ gen đậu tương, các sản phẩm dịch mã của chúng có chức năng chịu hạn và chịu mặn [6-8]. Vấn đề đặt ra là trong hệ gen đậu tương có bao nhiêu thành viên của phân họ gen *DREB* và những gen *GmDREB* nào chưa được nghiên cứu làm rõ chức năng? Công tác nghiên cứu và minh chứng qua thực nghiệm nhằm phân tích dữ liệu gen *GmDREB* bằng công cụ tin sinh học là rất cần thiết để giải quyết vấn đề này. Dữ liệu gen và kết quả khai thác các gen *GmDREB* trên toàn bộ hệ gen đậu tương không những cung cấp cơ sở cho phân tích tiến hóa phân tử mà còn tạo cơ sở cho nghiên cứu tìm kiếm chức năng sinh học của một số gen *GmDREB* liên quan đến khả năng chống chịu các yếu tố bất lợi phi sinh học của cây đậu tương. Nghiên cứu này trình bày kết quả xác định và phân tích sự tiến hóa của các thành viên trong phân họ gen *DREB* ở đậu tương nhằm tạo cơ sở cho thực nghiệm chứng minh chức năng gen *GmDREB* và ứng dụng vào việc cải thiện tính chống chịu các stress phi sinh học.

Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

Vật liệu

Dữ liệu trình tự gen *GmDREB* và vùng AP2 của protein DREB được khai thác từ cơ sở dữ liệu NCBI [9], trong đó có các trình tự gen *GmDREB1*, *GmDREB2*, *GmDREB5*, *GmDREB6*, *GmDREB7* được phân lập từ các giống đậu tương Việt Nam [10-12].

Xác định các gen DREB trong hệ gen đậu tương

Các protein thành viên phân họ DREB chỉ chứa một miền AP2,

* Tác giả liên hệ: Email: chuhoangmau@tmu.edu.vn

Characteristics and phylogeny of *DREB* gene subfamily in soybeans [*Glycine max* (L.) Meril]

Thi Ngoc Lan Nguyen¹, Phutthakone Vaciaya^{1,2}, Thanh Chung Nguyen¹, Huu Quan Nguyen¹,
Thi Thanh Nhan Pham¹, Thi Thu Thuy Vu¹, Hoang Mau Chu^{1*}

¹Faculty of Biology, Thai Nguyen University of Education

²Department of Biology, Khangkhay Teacher Training College, Xiangkhoang, Laos

Received 18 September 2020; accepted 18 November 2020

Abstract:

Dehydration responsive element binding proteins (DREB) are transcription factors linked to *cis*-acting elements of the promoter region, which regulate plant gene expression in response to abiotic stress. In this study, 69 *DREB* gene sequences of soybean from NCBI belonging to 18 *GmDREB* (*Glycine max DREB*) genes of 1 to 8 copies distributed on 17 chromosomes were identified in which *GmDREB3* has 8 copies and the rest consisted of 1 to 4 ones. The motif PTPEMAARAYDVAALALKGPSARLNFPEL containing 11 points associated with the promoter of functional genes existed in 4 main types with the most popular one RGRRWKERRWT found in 13/18 *DREB* proteins was regarded as the popular AP2 domain of *DREB* protein. The phylogenetic tree based on the nucleotide sequences of *GmDREB* genes and the amino acid sequences of the AP2 domain expresses the evolution and relationship of the *DREB* subfamily in soybean. This study provides comprehensive information about the *DREB* subfamily, which formed the basis for experimental analyses to clarify the function of some members of this subfamily.

Keywords: AP2 domain, DNA binding site, *DREB* subfamily, *Glycine max*, phylogenetic analysis.

Classification number: 4.6

do vậy xác định các thành viên của phân họ gen *DREB* trong hệ gen đậu tương được tra cứu trên cơ sở dữ liệu NCBI [9], kết hợp kiểm tra vùng AP2 của protein *DREB* trên cơ sở dữ liệu họ protein Pfam.

Phân tích phát sinh phân họ gen *DREB* ở đậu tương

Phân tích phát sinh chủng loại phân tử thực hiện bằng phần mềm MEGAX theo phương pháp Maximum Likelihood và mô hình Tamura-Nei với bootstrap được lặp lại 1.000 lần trong MEGAX [13, 14]. Các trình tự gen *DREB* đã xác định được phân tích bằng ClustalW và một cây phát sinh được thiết lập thể hiện sự tiến hóa của phân họ gen *DREB* ở đậu tương.

Phân tích phát sinh miền AP2 trong phân họ protein *DREB* ở đậu tương

Lịch sử tiến hóa của miền AP2 trong phân họ nhân tố phiên mã *DREB* ở đậu tương được suy luận theo phương pháp Maximum Likelihood và mô hình JTT matrix-based [15] với bootstrap được lặp lại 1.000 lần trong MEGAX [13]. Trình tự amino acid của miền AP2 được phân tích bằng ClustalW và sơ đồ cây được thiết lập dựa trên 69 trình tự amino acid của miền AP2 [13].

Kết quả và thảo luận

Xác định các gen trong phân họ gen *DREB* ở đậu tương

Kết quả khai thác cơ sở dữ liệu [9] giúp xác định được 41

gen *DREB* của đậu tương, phân tích mở rộng những bản copy gen *DREB* và trình tự gen *GmDREB*, chúng tôi đã phân lập và xác định được 69 trình tự gen *GmDREB* khác nhau từ một số giống đậu tương Việt nam (bảng 1).

Bảng 1. Dữ liệu trình tự gen *GmDREB* và protein thuộc phân họ *DREB* của đậu tương sử dụng trong phân tích (cập nhật ngày 9/5/2020).

TT	Gen/gen ID	Tên gen <i>DREB</i> của đậu tương	Vị trí trên NST	Mã số của gen trên GenBank	Mã số của protein trên GenBank
1	DREB/100499747	<i>GmDREB</i>	13	BT089389	ACU13469
2	DREB/100527471	<i>GmDREB</i>	13	BT092314	ACU16563
3	DREB/100499747	<i>GmDREB</i>	13	AY244760	AAP83131
4	DREB/100499747	<i>GmDREB</i>	13	NM_001248537	NP_001235466
5	<i>GmDREB*</i>	<i>GmDREB</i>	13	<i>GmDREB</i> , DT2008	<i>DREB</i> DT2008
6	AP2-2/100813069	<i>GmAP2-2</i>	4	NM_001252765	NP_001239694
7	AP2-IIe-DBDP/100819565	<i>GmAP2-IIe-DBDP</i>	16	NM_001280575	NP_001267504
8	DREB1/547622*	<i>GmDREB1</i>	9	HE647687; PB	CCF23018; PB
9	DREB1/547622	<i>GmDREB1</i>	9	FJ965342	ACR44232
10	DREB1/547622*	<i>GmDREB1</i>	9	FR822736; XBB	CBZ41764; XBB
11	DREB1/547622*	<i>GmDREB1</i>	9	HE647688; VNS	CCF23019; VNS
12	DREB1/547622*	<i>GmDREB1</i>	9	HE647689; YS	CCF23020; YS
13	DREB1/547622	<i>GmDREB1</i>	14	NM_001248850	NP_001235779
14	DREB1B/100813230	<i>GmDREB1B</i>	10	XM_003536997	XP_003537045
15	DREB1D/100778541	<i>GmDREB1D</i>	13	XM_006594135	XP_006594198
16	DREB1E/100789097	<i>GmDREB1E</i>	1	XM_003517407	XP_003517455
17	DREB1E/100797582	<i>GmDREB1E</i>	10	XM_003536435	XP_003536483
18	DREB1E/100779318	<i>GmDREB1E</i>	17	XM_003550832	XP_003550880

19	DREB1F/100810401	GmDREB1F	12	XM_003540738	XP_003540786
20	DREB1F/100795696	GmDREB1F	5	XM_003525492	XP_003525540
21	DREB1F/100793751	GmDREB1F	11	XM_003539131	XP_003539179
22	DREB1F/100815039	GmDREB1F	12	XM_003539412	XP_003539460
23	DREB1F/100803317	GmDREB1F	13	XM_003541928	XP_003541976
24	DREB2/732579	GmDREB2	6	DQ208968	ABB36645
25	DREB2/732579	GmDREB2	6	FJ965341	ACR44231
26	DREB2/732579*	GmDREB2	6	HG965097; CB	CD019437_CB
27	DREB2/732579	GmDREB2	6	DQ054363	AAV89658
28	DREB2/732579*	GmDREB2	6	LK936508; DT51	CDU32446_DT51
29	DREB2/732579*	GmDREB2	6	LK936509; DT26	CDU32447_DT26
30	DREB2/732579*	GmDREB2	6	HG965098; DVN5	CD019438_DVN5
31	DREB2/732579*	GmDREB2	6	HG965099; CBD	CD019439_CBD
32	DREB2/732579*	GmDREB2	6	HG965100; BG	CD019440_BG
33	DREB2/732579*	GmDREB2	6	HG965101; BS	CD019441_BS
34	DREB2/100801528	GmDREB2	4	JF946769	AEQ61581
35	DREB2/100801528*	GmDREB2	4	LK936507; DT2008	CDU32445_DT2008
36	DREB2/100801528	GmDREB2	4	XM_026128165	XP_025983950
37	DREB2/732579	GmDREB2	6	NM_001250325	NP_001237254
38	DREB2A2/100800134	GmDREB2A2	14	NM_001254013	NP_001240942
39	AP2-8/100798277	GmDREB2C-like	2	NM_001253076	NP_001240005
40	DREB2C-like/100783729	GmDREB2C-like	6	XM_006580923	XP_006580986
41	DREB2D/10079005	GmDREB2D	4	XM_003523515	XP_003523563
42	DREB2D/100797850	GmDREB2D	6	XM_003527831	XP_003527879
43	DREB2F/100808363	GmDREB2F	2	XM_003518062	XP_003518110
44	DREB2F/100819966	GmDREB2F	3	XM_003520476	XP_003520524
45	DREB2F/100808719	GmDREB2F	10	XM_003525116	XP_003525164
46	DREB2F/100801311	GmDREB2F	19	XM_003553372	XP_003553420
47	DREB3/732559	GmDREB3	4	NM_001250024	NP_001236953
48	DREB3/732559	GmDREB3	4	DQ055133	AAZ03388
49	DREB3/732656	GmDREB3	17	NM_001251571	NP_001238500
50	DREB3(AP2-1)/100794316	GmDREB3-like	3	NM_001254427	NP_001241356
51	DREB3/100804801	GmDREB3	1	XM_003517021	XP_003517069
52	DREB3/100804056	GmDREB3	7	XM_003529711	XP_003529759
53	DREB3/100783790	GmDREB3	9	XM_003534380	XP_003534428
54	DREB3/100817503	GmDREB3	11	XM_003538700	XP_003538748
55	DREB3/100784419	GmDREB3	13	XM_003542042	XP_003542090
56	DREB3-like/100786075	GmDREB3-like	1	XM_003516413	XP_003516461
57	DREB5/100101898*	GmDREB5	12	HE648567; XBB	CCF23312_XBB
58	DREB5/100101898*	GmDREB5	12	HE648568; Bgi	CCF23313_Bgi
59	DREB5/100101898	GmDREB5	12	EF583447	ABQ53928
60	DREB5/100809887*	GmDREB5	13	FR822737; XTD	CBZ41765_XTD
61	DREB5/100809887*	GmDREB5	13	HE598783; PB	CCD42020_PB
62	DREB5/100809887*	GmDREB5	13	HE647690; NS	CCF23021_NS
63	DREB5/100101898	GmDREB5	12	NM_001248171	NP_001235100
64	DREB6/100101914	GmDREB6	5	EF551166	ABQ42205
65	DREB6/100101914	GmDREB6	5	NM_001248412	NP_001235341
66	DREB6*	GmDREB6	5	GmDREB6; DT2008	DREB6_DT2008
67	DREB7/100101894	GmDREB7	20	NM_001248108	NP_001235037
68	DREBa/100788110	GmDREBa	12	NM_001358347	NP_001345276
69	DREBa/100788110	GmDREBa	12	AY542886	AAT12423

Ghi chú: *: gen *GmDREB* được phân lập từ các giống đậu tương Việt Nam của nhóm tác giả [10-12].

Kết quả bảng 1 cho thấy, 69 trình tự gen *DREB* ở đậu tương khai thác từ cơ sở dữ liệu NCBI thuộc về 18 gen *GmDREBi*, trong khi Phang và cs (2008) [5] cho rằng, có hơn 10 gen *DREB* trong hệ gen đậu tương. Các kết quả nghiên cứu chức năng gen *DREB* rất

có thể sẽ phát hiện thêm các gen *GmDREB* mới và các bản copy của chúng. Trong nghiên cứu này, các gen *GmDREB* có từ 1 đến 8 copy (bảng 2), phân bố trên 17 NST số 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 16, 17, 19 và 20. Gen *GmDREB3* có 8 copy phân bố trên các NST 1, 3, 4, 7, 9, 11, 13, 17, hai gen *GmDREB1F* và *GmDREB2F* có 4 copy, gen *GmDREB1E* có 3 copy, các gen còn lại có 1-2 copy. Nhân tố phiên mã *DREB* liên quan đến khả năng chống chịu các stress phi sinh học.

Bảng 2. Số bản copy và vị trí của mỗi gen *GmDREB* trong hệ gen cây đậu tương.

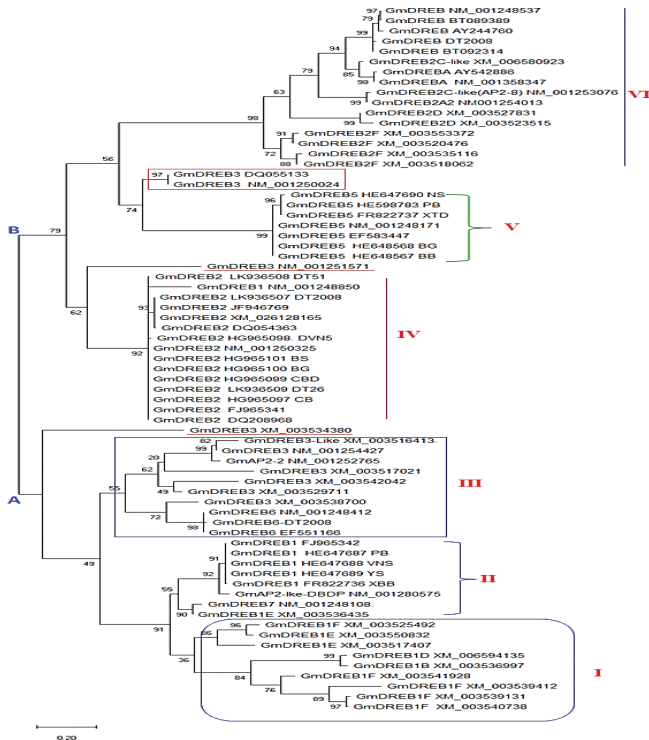
TT	Tên gen	Số bản copy	Vị trí trên NST số
1	<i>GmDREB</i>	1	13
2	<i>GmDREB1</i>	2	9, 10
3	<i>GmDREB1B</i>	1	10
4	<i>GmDREB1D</i>	1	13
5	<i>GmDREB1E</i>	3	1, 10, 17
6	<i>GmDREB1F</i>	4	5, 11, 12, 13
7	<i>GmDREB2</i>	2	4, 6
8	<i>GmDREB2A2</i>	1	14
9	<i>GmDREB2C-like</i>	2	2, 6
10	<i>GmDREB2D</i>	2	4; 6
11	<i>GmDREB2F</i>	4	2; 3; 10; 19
12	<i>GmDREB3</i>	8	1, 3, 4, 7, 9, 11, 13, 17
13	<i>GmDREB5</i>	2	12, 13
14	<i>GmDREB6</i>	1	5
15	<i>GmDREB7</i>	1	20
16	<i>GmDREBa</i>	1	12
17	<i>GmAP2-2</i>	1	4
18	<i>GmAP2-Ile-DBDP</i>	1	16

Trong số 18 gen *GmDREB* ở bảng 2, một số gen đã được làm rõ chức năng, như *GmDREB1*, *GmDREB2*, *GmDREB3*, *GmDREB6*. Trong đó, *GmDREB1* có chức năng chịu nóng, hạn và lạnh [16]; *GmDREB2* được xác nhận làm tăng khả năng chịu hạn, chịu mặn của cây chuyển gen [6, 7, 17]; *GmDREB3* làm tăng cường khả năng chịu lạnh, hạn và mặn ở cây *Arabidopsis* biến đổi gen [18]; *GmDREB5* liên quan đến khả năng chịu mặn [19]. Tăng cường biểu hiện gen *GmDREB6* đã làm tăng sự tích lũy proline và khả năng chịu muối của cây đậu tương biến đổi gen [8]. Tuy nhiên, còn một số thành viên trong phân họ gen *DREB* ở đậu tương chưa rõ chức năng về đặc tính chống chịu cụ thể đối với các stress phi sinh học cần tiếp tục làm sáng tỏ.

Sự phát sinh của các thành viên trong phân họ gen *GmDREB* ở đậu tương

Kết quả phân tích phát sinh gen thuộc phân họ *DREB* ở hình 1 cho thấy, 69 gen *GmDREB* được chia thành hai nhánh A, B với 6 nhóm được ký hiệu là I, II, III, IV, V, VI. Nhóm I gồm các gen *GmDREB1* (B, D, E, F), nhóm II gồm các gen *GmDREB1* và *GmDREB7*, nhóm III gồm các gen *GmDREB3* và *GmDREB6*, nhóm IV có các gen *GmDREB2* và *GmDREB1*, nhóm V gồm các gen *GmDREB5*, nhóm VI gồm các gen *GmDREB* và *GmDREB2*. Như vậy, có 4 nhóm chứa các cặp gen *GmDREB1-GmDREB7* (nhóm II), *GmDREB3-GmDREB6* (nhóm III), *GmDREB2-GmDREB1* (nhóm IV) và *GmDREB-GmDREB2* (nhóm VI). Điểm chú ý là

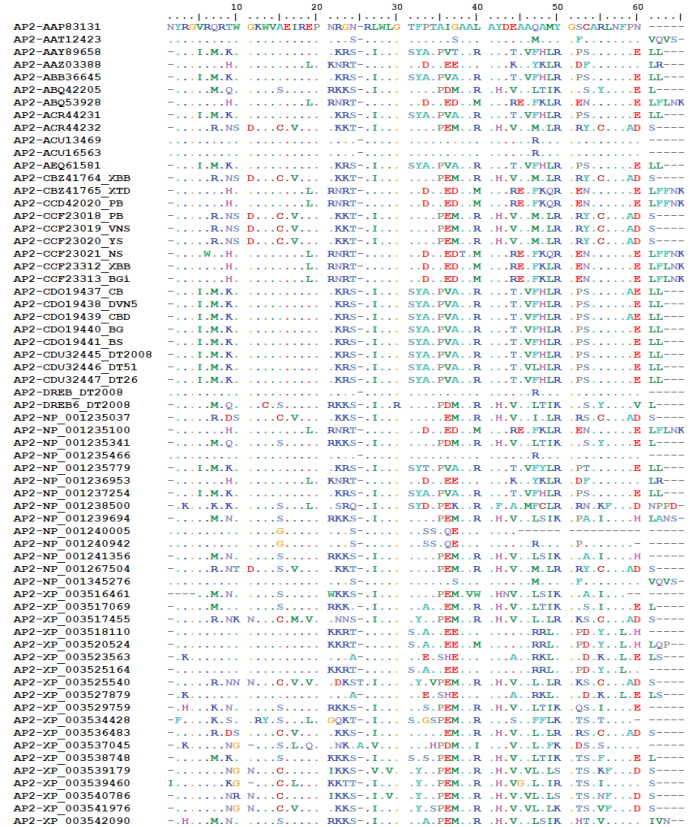
một số trình tự *GmDREB3* phân bố ở những nhánh riêng trong sơ đồ cây. Trình tự *GmDREB3* mang mã số XM_003534380 là một nhánh phụ của nhánh A, *GmDREB3* (NM_001251571) là một nhánh tách riêng khỏi nhóm IV, 2 gen *GmDREB3* (DQ055133 và NM_001250024) phân bố trong một nhánh, tách khỏi nhóm IV. Gen *GmDREB3* có 8 copy trên các NST khác nhau (bảng 2), trong đó gen *GmDREB3* (XM_003534380) có vị trí trên NST số 9, *GmDREB3* (NM_001251571) trên NST 17 và *GmDREB3* (DQ055133 và NM_001250024) trên NST số 4 (bảng 1). Trong quá trình tiến hóa, các NST khác nhau có tốc độ đột biến phân tử khác nhau, cho nên có thể các bản copy của gen *GmDREB3* đã dần tách xa nhau trong cây phát sinh của phân họ gen DREB ở đậu tương.



Hình 1. Cây phát sinh và quan hệ tiến hóa giữa các thành viên của phân họ gen *DREB* ở đậu tương được thiết lập dựa trên 69 trình tự gen *GmDREB* theo phương pháp Maximum Likelihood và JTT matrix-based model trong MEGAX [13].

Đặc điểm của miền AP2 trong phân họ *DREB* ở đậu tương

Hình 2 thể hiện sự khác nhau cơ bản về trình tự amino acid miền AP2 ở protein DREB suy diễn từ 18 gen *GmDREB* của đậu tương. Sự sai khác giữa các trình tự amino acid miền AP2 biểu hiện ở thành phần và số lượng amino acid. Miền AP2 trong các protein thuộc phân họ nhân tố phiên mã DREB phổ biến từ 59 đến 60 amino acid, tuy nhiên một số protein DREB chứa miền AP2 có tới 62 amino acid (DREB5), 63 (DREBA), hoặc chỉ có 43 amino acid (DREB2C-like) (hình 2). Motif PTPEMAARAYDVAALALKGPSARLNFPDEL của miền AP2 có ở tất cả các protein DREB của đậu tương. Miền AP2 của các thành viên trong phân họ protein DREB có các điểm liên kết với promoter của gen chức năng mà nhân tố phiên mã DREB kích hoạt phiên mã. Kết quả so sánh ở bảng 3 cho thấy, trong miền



Hình 2. So sánh trình tự amino acid miền AP2 của các protein trong phân họ DREB ở đậu tương.

AP2 của 18 protein DREB ở đậu tương đều có 11 amino acid liên kết với sợi ADN ở vùng promoter (ADN binding site) với 4 dạng và phổ biến là RGRRWKERRWT, có mặt ở 13 trong tổng số 18 protein DREB. Hai dạng KGRRNKERRWT và KGRRWKERRWT xuất hiện ở 2 protein DREB, còn dạng RGRRTKERRWT chỉ có ở một loại protein DREB (bảng 3).

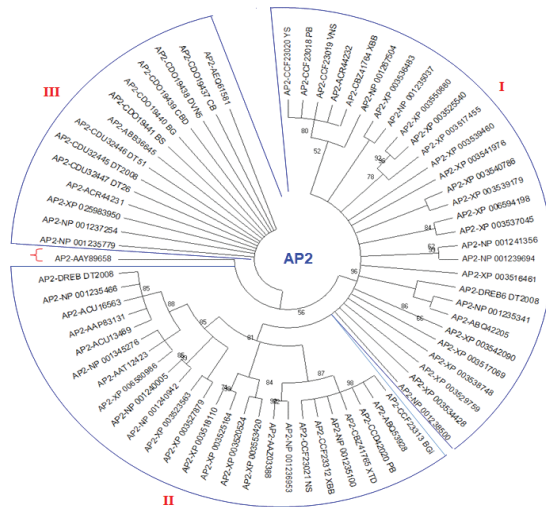
Bảng 3. So sánh các điểm liên kết trong miền AP2 với sợi DNA vùng promoter của 18 thành viên trong phân họ nhân tố phiên mã DREB ở đậu tương.

TT	Tên gen	Các dạng amino acid liên kết với sợi ADN của promoter (DNA binding site)	TT	Tên gen	Các dạng amino acid liên kết với sợi ADN của promoter (DNA binding site)
1	<i>GmDREB</i>	RGRRWKERRWT	10	<i>GmDREB6</i>	RGRRWKERRWT
2	<i>GmDREB1</i>	RGRRWKERRWT	11	<i>GmDREBa</i>	RGRRWKERRWT
3	<i>GmDREB1E</i>	RGRRWKERRWT	12	<i>GmAP2-2</i>	RGRRWKERRWT
4	<i>GmDREB1F</i>	RGRRWKERRWT	13	<i>GmDREB7</i>	RGRRWKERRWT
5	<i>GmDREB2</i>	RGRRWKERRWT	14	<i>GmAP2-Ile</i>	RGRRTKERRWT
6	<i>GmDREB2A2</i>	RGRRWKERRWT	15	<i>GmDREB1B</i>	KGRRNKERRWT
7	<i>GmDREB2C</i>	RGRRWKERRWT	16	<i>GmDREB1D</i>	KGRRNKERRWT
8	<i>GmDREB3</i>	RGRRWKERRWT	17	<i>GmDREB2D</i>	KGRRWKERRWT
9	<i>GmDREB5</i>	RGRRWKERRWT	18	<i>GmDREB2F</i>	KGRRWKERRWT

Cây phát sinh miền AP2 ở đậu tương

Phân tích tiến hóa protein DREB dựa trên trình tự amino acid của miền AP2 trong 69 protein DREB của đậu tương bằng phương

pháp Maximum Likelihood và mô hình JTT matrix-based [15] trong MEGAX [13]. Sơ đồ cây được thiết lập dựa trên 69 trình tự amino acid của miền AP2 theo tỷ lệ và chiều dài nhánh được đo bằng số lần thay thế trên mỗi vị trí amino acid. Tất cả các vị trí chứa khoảng trống và dữ liệu bị thiếu đã được loại bỏ. Bộ dữ liệu cuối cùng có tổng cộng 38 vị trí amino acid.



Hình 3. Cây phát sinh miền AP2 của phân họ protein DREB ở đậu tương được thiết lập dựa trên 69 trình tự amino acid miền AP2 theo phương pháp Maximum Likelihood trong MEGAX [13] và JTT matrix-based model [15] với bootstrap được lặp lại 1.000 lần.

Phân tích tiến hóa miền AP2 trong protein DREB của đậu tương thực hiện theo MEGAX [13], kết quả cho thấy, cây phát sinh thiết lập từ 69 trình tự amino acid của miền AP2 phân thành 4 nhánh, trong đó có 1 nhánh chỉ có một trình tự AP2 của protein DREB2 (AAY89658) và 3 nhánh còn lại, mỗi nhánh có một nhóm ký hiệu là I, II, III (hình 3). Nhóm I gồm 29 trình tự AP2 của các loại protein DREB1, DREB1B, DREB1D, DREB1E, DREB1F, DREB3, DREB6, AP2-2, AP2-Ile-DBDP; nhóm II gồm 25 trình tự AP2 của các loại protein DREB, DREBA, DREB2A2, DREB2C-like, DREB3, DREB5; nhóm III gồm 14 trình tự AP2 của các loại protein DREB2 (13 trình tự) và DREB1 (1 trình tự).

Kết luận

Khai thác dữ liệu từ NCBI đã xác định được 18 gen *GmDREB* thuộc phân họ *DREB* trong hệ gen đậu tương với các bản copy phân bố trên 17 NST, trong đó *GmDREB3* có 8 copy, các gen còn lại có 1-4 copy.

Miền AP2 phổ biến có 59-60 amino acid và motif PTPEMAARAYDVAALALKGPSARLNFPEL có ở tất cả các protein DREB của đậu tương. AP2 chứa 11 điểm liên kết với promoter của các gen chức năng, với 4 dạng và phổ biến là GRRRWKERRWT (có ở 13/18 protein DREB).

Sự tiến hóa của phân họ DREB và miền AP2 ở đậu tương thể hiện trên cây phát sinh thiết lập dựa trên trình tự nucleotide của các gen *GmDREB* và trình tự amino acid của miền AP2 trong protein DREB.

Kết quả nghiên cứu đã cung cấp thông tin toàn diện về phân họ

gen *DREB*, tạo cơ sở cho các phân tích thực nghiệm tiếp theo để làm rõ chức năng của một số thành viên trong phân họ gen này.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Quỹ phát triển khoa học và công nghệ quốc gia (NAFOSTED) thông qua đề tài mã số 106.01-2018.27. Các tác giả xin chân thành cảm ơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Z.S. Xu, et al. (2011), "Functions and application of the AP2/ERF transcription factor family in crop improvement", *J. Integr. Plant Biol.*, **53**, pp.570-585.
- [2] D. Kizis, et al. (2001), "Role of AP2/EREBP transcription factors in gene regulation during abiotic stress", *FEBS Letters*, **498**, pp.187-189.
- [3] M. Tang, et al. (2007), "Isolation and functional characterization of the JcERF gene, a putative AP2/EREBP domain-containing transcription factor, in the woody oil plant *Jatropha curcas*", *Plant Mol. Bio.*, **63**, pp.419-428.
- [4] C. Lata, M. Prasad (2011), "Role of DREBs in regulation of abiotic stress responses in plants", *Journal of Experimental Botany*, **62**, pp.4731-4748.
- [5] T.H. Phang, et al. (2008), "Salt tolerance in soybean", *J. Integr. Plant Biol.*, **50**, pp.1196-1212.
- [6] Dao Xuan Tan, Ho Manh Tuong, Vu Thi Thu Thuy, Le Van Son, Chu Hoang Mau (2015), "Cloning and overexpression of *GmDREB2* gene from a Vietnamese drought-resistant Soybean variety", *Braz. Arch. Biol. Technol.*, **58**, pp.651-657.
- [7] Thi Thanh Nhan Pham, Huu Quan Nguyen, Thi Ngoc Lan Nguyen, Xuan Tan Dao, Danh Thuong Sy, Van Son Le, Hoang Mau Chu (2020), "Overexpression of the *GmDREB2* gene increases proline accumulation and tolerance to drought stress in soybean plants", *Australian Journal of Crop Science*, **14**, pp.495-503.
- [8] Huu Quan Nguyen, Thi Kim Lien Vu, Thi Ngoc Lan Nguyen, Thi Thanh Nhan Pham, Thi Hai Yen Nguyen, Van Son Le, Hoang Mau Chu (2019), "Overexpression of the *GmDREB6* gene enhances proline accumulation and salt tolerance in genetically modified soybean plants", *Scientific Reports*, **9**, DOI: 10.1038/s41598-019-55895-0.
- [9] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/?term=Glycine+max+gene+for+dehydrati+on-responsive+element-binding+protein> (updated on 9 May 2020).
- [10] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/?term=Soybean+gene+for+DREB2%2C+Chu+MH/> (updated on 9 May 2020).
- [11] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/?term=Glycine+max+gene+for+DREB1%2C+Chu+HM/> (updated on 9 May 2020).
- [12] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/?term=Soybean+gene+for+DREB5%2C+Chu+MH/> (updated on 9 May 2020).
- [13] S. Kumar, et al. (2018), "MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms", *Molecular Biology and Evolution*, **35**, pp.1547-1549.
- [14] K. Tamura, M. Nei (1993), "Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees", *Molecular Biology and Evolution*, **10**, pp.512-526.
- [15] D.T. Jones, et al. (1992), "The rapid generation of mutation data matrices from protein sequences", *Computer Applications in the Biosciences*, **8**, pp.275-282.
- [16] S. Kidokoro, et al. (2015), "Soybean DREB1/CBF-type transcription factors function in heat and drought as well as cold stress-responsive gene expression", *Plant J.*, **81**, pp.505-518.
- [17] M. Chen, et al. (2007), "GmDREB2, a soybean DRE-binding transcription factor, conferred drought and high-salt tolerance in transgenic plants", *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **353**, pp.299-305.
- [18] M. Chen, et al. (2009), "Cold-induced modulation and functional analyses of the DRE-binding transcription factor gene, *GmDREB3*, in soybean (*Glycine max L.*)", *Journal of Experimental Botany*, **60**, pp.121-135.
- [19] N. Rahmawati, et al. (2019), *Evaluation of resistance improvement of soybean (*Glycine max (L) Merr.*) against salinity using mass selection and gene expression of salinity tolerant*, Proceedings of the International Conference on Natural Resources and Technology (ICONART).