

IV-O-1.9

NGHIÊN CỨU PHƯƠNG PHÁP CHUYỂN GEN VÀO CÂY MÍA *SACCHARUM OFFICINARUM* L. THÔNG QUA VI KHUẨN *AGROBACTERIUM TUMEFACIENS*

Cung Hoàng Phi Phương, Trần Văn Hà, Bùi Văn Lê

Khoa Sinh học, Trường ĐH KHTN, ĐHQG-HCM

Tóm tắt

Chúng tôi đã thử nghiệm chuyển gen thành công bằng phương pháp gián tiếp sử dụng vi khuẩn *Agrobacterium tumefaciens* trên cây mía *Saccharum officinarum* L. dựa trên nguồn vật liệu ban đầu là mô sẹo mía in vitro được nuôi cấy trên môi trường MS rắn có bổ sung 3 mg/L 2,4 D. Chủng vi khuẩn *A. tumefaciens* EHA101 được sử dụng có mang plasmid pGII0229 TRgus cp148 luc chứa gen *bar* và *gus*. Chúng tôi đã khảo sát tối ưu hóa nồng độ acetosyringone, thời gian ủ mẫu với vi khuẩn và thời gian phơi khô mẫu cấy nhằm nâng cao hiệu quả chuyển gen. Sau 3 tuần chọn lọc trên môi trường tái sinh cây có chứa 1,0 mg/L BA; 0,1 mg/L GA3 và 5 mg/L PPT, chồi tái sinh được chuyển gen sẽ được kiểm tra bằng cách nhuộm GUS và khuếch đại bằng PCR với cặp mồi đặc hiệu của gen Bar (BAR3/BAR4) cho kết quả dương tính là 25% khi sử dụng nồng độ acetosyringone 100µM, thời gian ủ mẫu với dịch khuẩn 15 phút, thời gian phơi khô mẫu sau khi ủ khuẩn là 30 phút.

STUDIES ON METHOD FOR AGROBACTERIUM – MEDIATED TRANSFORMATION OF SUGARCANE (*SACCHARUM OFFICINARUM* L.)

Abstract

We have succeeded in studying on method for Agrobacterium-mediated transformation of Sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) by using callus cultured in MS solid medium with 3 mg/L 2,4D. *A.tumefaciens* EHA101 containing pGII0229 TRgus cp148 luc with the *bar* gene and *gus* gene in the T-DNA was used. We have tested many experiments with acetosyringone concentration, time of incubating callus with *A. tumefaciens* and time of drying callus after incubating in order of getting the best transformation efficiency. Transformation was confirmed by a histochemical b-glucuronidase (GUS) assay and PCR amplification of the bar gene. Positive result of PCR analysis with specific primers (BAR3/BAR4) for sugarcane shoots after 3 weeks on selection and regeneration medium containing 1,0 mg/L BA; 0,1 mg/L GA3 and 5 mg/L PPT is 25% when using acetosyringone concentration 100 µM, callus were incubated for 15 min and dried for 30 min.

Email liên hệ: cunghoangphiphuong@gmail.com