

SỰ ĐA DẠNG CỦA GEN DEHYDRIN CỦA MỘT SỐ GIỐNG NGÔ VIỆT NAM

Trần Thị Phương Liên¹, Vũ Hoài Thu¹, Bùi Mạnh Cường²

¹Viện Công nghệ sinh học

²Viện Nghiên cứu Ngô

TÓM TẮT

Dehydrin – LEA (late embryogenesis abundant) - D11 protein là một họ protein thực vật phản ứng với những điều kiện stress môi trường như nóng, lạnh, muối cao. Loại protein này được tìm thấy trong hầu hết các loài thực vật khác nhau. Nhằm mục đích nghiên cứu sự đa dạng của ngô, gen dehydrin được phân lập bằng PCR sử dụng DNA tổng số của một số giống ngô với khả năng chịu hạn khác nhau: VN5 là giống ngô nếp, Q411 là giống địa phương Hà Giang, HQ2000 là giống ngô có hàm lượng protein cao, LCH9- giống có năng suất cao. Trình tự DNA gen dehydrin phân lập được có chiều dài 631 bp ở giống ngô HQ2000 và bằng 628 bp ở các giống VN5, Q411 và LCH9. Chúng có 2 exon với độ dài 507 bp với độ tương đồng từ 98,4 - 99,6%. Sự đa dạng được phát hiện thấy ở trình tự intron: intron dài 124 bp ở giống HQ2000 và 121 bp ở các giống còn lại và có một số vị trí thay đổi. Trình tự amino acid (aa) suy diễn của gen dehydrin ở các giống VN5, Q411, HQ2000, LCH9 đều có cùng độ dài 168 aa và có cấu trúc dạng YSK₂ và có một số vị trí thay đổi nhỏ. Các trình tự này giống với gen dehydrin-*dhn1* (từ giống ngô lai Bắc Mỹ) và *rab17* (*rab-response to ABA*) (từ dòng ngô thuần W64A của Tây Ban Nha) và đã được đăng ký trên Ngân hàng trình tự gen Quốc tế EMBL/GENBANK/DDBJ với mã số AM495893, AM495892 AM495891 và AM495894 tương ứng cho các giống VN5, Q411, HQ2000 và LCH9.

Từ khóa: Dehydrin DHN1, gen, ngô (*Zea mays* L), RAB17, tính chịu hạn

MỞ ĐẦU

Dehydrin là một họ bao gồm nhiều loại protein được biểu hiện trong những điều kiện stress như nóng, lạnh, hạn, muối cao. Dehydrin còn được gọi là protein D11-thuộc nhóm LEA (late embryogenesis abundant) protein- protein tổng hợp với số lượng lớn trong giai đoạn muộn của quá trình hình thành phôi. Khi có hiện tượng mất nước trong hạt, mRNA của chúng xuất hiện với lượng lớn. Mức độ phiên mã của LEA được điều khiển bởi abscisic acid (ABA), độ mất nước của tế bào và áp suất thẩm thấu trong tế bào (Close, 1996). Dựa vào các điều kiện để phát hiện ra các dehydrin khác nhau, chúng được gọi là dehydrin - DHN (sự mất nước) hay RAB (response to ABA - phản ứng với ABA). Nhìn chung, dehydrin đặc trưng bởi hàm lượng glycine cao và một số vùng bảo thủ như Y, K, S. Vùng K - chứa trình tự 15 amino acid (aa) giàu lysine EKKGIMDKIKEKLPG và có khả năng tạo xoắn α . Ngoài ra, còn có đoạn Y (DEYGNP) ở đầu C, đoạn S gắn với gốc phosphoryl và đoạn Φ giàu aa phân cực. Dehydrin được phân thành 5 nhóm theo các dạng cấu trúc phân tử protein: Y_nSK₂, K_n, SK_n, K_nS và YK_n. Dehydrin được dự đoán có chức năng bảo vệ các phức đại phân tử trong tế bào (Rorat, 2006).

Nhiều gen dehydrin từ các cây trồng đã được phân lập và nghiên cứu về cấu trúc để dự đoán về chức năng, trong đó, phải kể đến nhóm dehydrin của đại mạch (*Hordeum vulgare*) (Rodriguez *et al.*, 2005), cây hoa hướng dương (*Helianthus annuus*) (Natali *et al.*, 2003). Trong những công trình trước đây, chúng tôi đã phân lập gen dehydrin từ một số giống đậu tương Việt Nam và hai giống ngô chịu hạn DF1, DF2. Ở các giống đậu tương được nghiên cứu, dehydrin có cấu trúc dạng Y_nK_n và gen không có intron (Cao Xuân Hiếu *et al.*, 2003), trong khi đó dehydrin DHN1 ở hai giống ngô - dạng YSK₂ và gen có đoạn intron ngắn (Trần Thị Phương Liên *et al.*, 2005). Trong bài này, chúng tôi thông báo kết quả nghiên cứu phân lập tiếp gen dehydrin từ các giống ngô với khả năng chịu hạn khác nhau trong tập đoàn giống ngô Việt Nam nhằm nghiên cứu sự đa dạng di truyền của chúng.

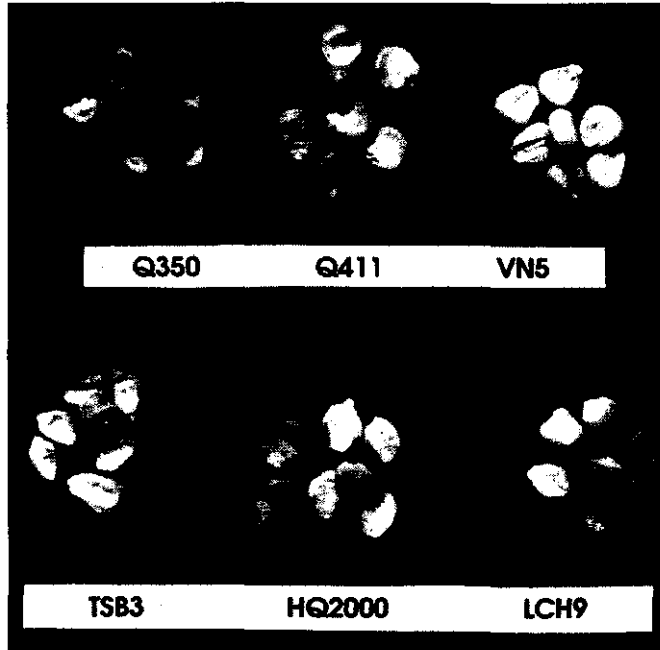
NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Nguyên liệu

Các giống ngô bao gồm: VN5, Q411, HQ2000, LCH9, TBS3 và Q350 do Viện Nghiên cứu Ngô

thuộc Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam cung cấp (Hình 1). Trong đó, VN5 là giống ngô nếp, Q411 là giống địa phương Hà Giang, HQ2000 là giống ngô có hàm lượng protein cao, LCH9 là giống có năng suất cao; TBS3 là giống ngô đường, Q350 là giống

chịu hạn tốt. Các plasmid pSK⁺, chủng *E. coli* DH-5 α , TOPO TA cloning Kit sử dụng trong nghiên cứu được lưu giữ tại Phòng Công nghệ ADN ứng dụng, Viện Công nghệ sinh học, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam.



Hình 1. Một số giống ngô Việt Nam: Q350 - giống chịu hạn tốt, Q411 - giống địa phương Hà Giang, VN5 - ngô nếp, TBS3 - là giống ngô đường, HQ2000 - giống ngô có hàm lượng protein cao, LCH9 - giống có năng suất cao.

Phương pháp

Tách chiết DNA tổng số từ mầm và lá ngô non theo phương pháp sử dụng CTAB (Keim *et al.*, 1988) với một số cải tiến nhỏ cho phù hợp với phòng thí nghiệm.

Gen *dhn1* của ngô (dựa trên dữ liệu của Close *et al.*, 1989) từ DNA tổng số được nhân bằng phương pháp PCR với cặp mồi đặc hiệu sau đây:

ZM1: 5'-GG ATG GAG TAC GGT CAG CAG GGG C-3';

ZM2: 5'-GG TCA GTG CTG TCC GGG CAG C -3'.

Phản ứng PCR được tiến hành trong thể tích 25 μ l gồm những thành phần: DNA tổng số (10 ng); mồi tổng số (10 pmole); MgCl₂ (1,6 mM); dNTP (250 μ M), *Taq* DNA polymerase (Fermentas) (1 đơn vị). Chu trình nhiệt của phản ứng được sử dụng là: 95°C: 2 phút, 35 chu kỳ gồm ba bước 95°C: 50 giây, 52°C-58°C (tùy theo giống): 50 giây, 72°C: 1 phút

20 giây; sau đó 72°C: 8 phút và kết thúc ở 4°C trên máy PTC-100TM (MJ Research, Inc.).

Các phương pháp tách dòng sản phẩm PCR được tiến hành theo Sambrook và Russell (2001) sử dụng TOPO TA cloning Kit (Invitrogen). Trình tự DNA được xác định trên máy ABI 3100 - Avant Genetic Analyzer tại Phòng thí nghiệm Trọng điểm Công nghệ Gen, Viện Công nghệ sinh học, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Các trình tự dehydrin của đậu tương và ngô được truy cập qua Internet trong các Ngân hàng trình tự gen EMBL/ GENBANK/ DDBJ.

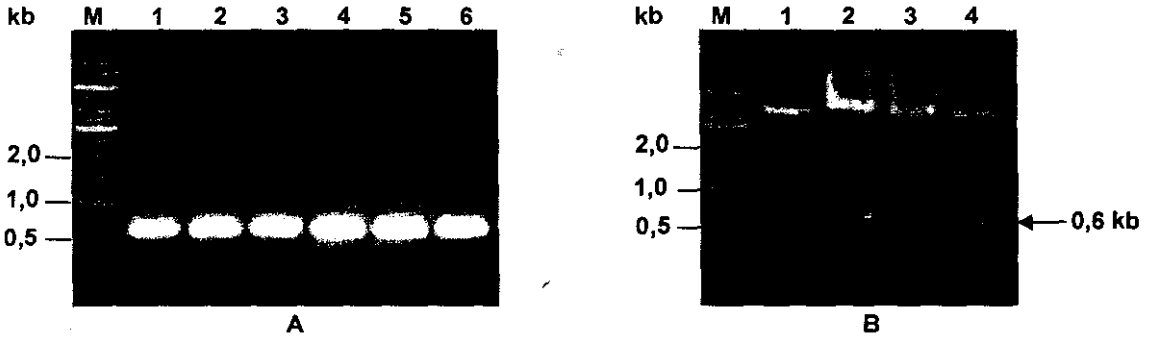
KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Nhân gen dehydrin

Lá non và mầm của các giống ngô VN5, Q411, HQ2000, LCH9, TBS3 và Q350 được sử dụng để

tách chiết DNA tổng số. Kết quả phản ứng PCR với cặp mồi ZM1 và ZM2 cho thấy hiệu suất nhân gen *Dhn1* từ DNA tổng số của mầm cao hơn từ DNA tổng số của lá non và đều nhận được lên băng đặc hiệu với kích thước phân tử khoảng 0,65 kb (Hình 2A). Sản phẩm PCR của các giống được gắn vào

plasmid pCR2.1 (TA cloning kit) và được biến nạp vào *E. coli*. Sau khi chọn lọc, chúng tôi nhận được hàng chục dòng có gắn các sản phẩm PCR của các giống VN5, Q411, HQ2000, LCH9, chọn ra một số dòng kiểm tra (Hình 2B) và đọc trình tự DNA của các dòng này.



Hình 2. Sản phẩm PCR (A) và các dòng của sản phẩm (B) từ các giống ngô. M: Marker 1 kb, 1. VN5, 2. Q411, 3. HQ2000, 4. LCH9, 5. DF1, 6. DF2.

RAB17	MEYQQQQRGHGRTGHVDQYGNPVGVEHGTGGMRHGTGTTGGMGQLGEHGGAGMGGGQF
VN5	MEYQQQQRGHGATGHVDQYGNPVGVEHGTGGMRHGTGTTGGMGQLGEHGGAGMGGGQF
LCH9	MEYQQQQRGHGATGHVDQYGNPVGVEHGTGGMRHGTGTTGGMGQLGEHGGAGMGGGQF
DF1	MEYQQQQRGHGATGHVDQYGNPVGVEHGTGGMRHGTGTTGGMGQLGEHGGAGMGGGQF
Q411	MEYQQQQRGHGATGHVDQYGNPVGVEHGTGGMRHGTGTTGGMGQLGEHGGAGMGGGQF
DHN1	MEYQQQQRGHGATGHVDQYGNPVGVEHGTGGMRHGTGTTGGMGQLGEHGGAGMGGGQF
HQ2000	MEYQQQQRGHGATGHVDQYGNPVGVEHGTGGMRHGTGTTAGGMGQLGEHGGAGMGGGQF
	*****:*** *****:*****
RAB17	QPAREEHKTGGILHRSGSSSSSSSEDDGMGRRKGIKEKIKEKLPGGHKDDQHATATTG
VN5	QPAREEHKTGGILHRSGSSSSSSSEDDGMGRRKGIKEKIKEKLPGGHKDDQHATATTG
LCH9	QPAREEHKTGGILHRSGSSSSSSSEDDGMGRRKGIKEKIKEKLPGGHKDDQHATATTG
DF1	QPAREEHKTGGILHRSGSSSSSSSEDDGMGRRKGIKEKIKEKLPGGHKDDQHATATTG
Q411	QPAREEHKTGGILHRSGSSSSSSSEDDGMGRRKGIKEKIKEKLPGGHKDDQHATATTG
DHN1	QPAREEHKTGGILHRSGSSSSSSSEDDGMGRRKGIKEKIKEKLPGGHKDDQHATATTG
HQ2000	QPAREEHKTGGILHRSGSSSSSSSEDDGMGRRKGIKEKIKEKLPGGHKDDQHATATTG
	*****:*****
RAB17	GAYGQQGHTGSAYGQQGHTGGAYATGTEGTGEKKGIMDKIKEKLPGQH 168
VN5	GAYGQQGHTGSAYGQQGHTGGAYATGTEGTGEKKGIMDKIKEKLPGQH 168
LCH9	GAYGQQGHTGSAYGQQGHTGGAYATGTEGTGEKKGIMDKIKEKLPGQH 168
DF1	GAYGQQGHTGSAYGQQGHTGGAYATGTEGTGEKKGIMDKIKEKLPGQH 168
Q411	GAYGQQGHTGSAYGQQGHTGGAYATGTEGTGEKKGIMDKIKEKLPGQH 168
DHN1	GAYGQQGHTGSAYGQQGHTGGAYATGTEGTGEKKGIMDKIKEKLPGQH 167
HQ2000	GAYGQQGHTGSAYGQQGHTGGSYATGTEGTGEKKGIMDKIKEKLPGQH 168
	*****:*****

Hình 3. So sánh trình tự aa của các giống ngô Việt Nam với DHN1 và RAB-17.

So sánh trình tự các gen dehydrin của ngô

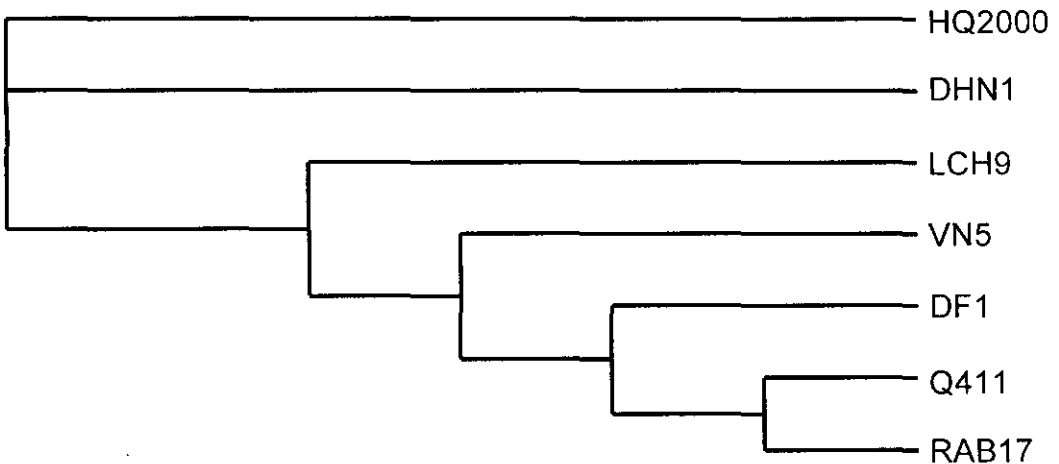
Kết quả đọc trình tự cho thấy gen dehydrin của giống ngô HQ2000 dài 631 bp, còn gen này của các

giống VN5, Q411, LCH9 bằng 628 bp và đều có đoạn intron nhỏ. So sánh với các trình tự gen dehydrin của ngô trên Ngân hàng trình tự gen Quốc tế, trình tự DNA gen dehydrin phân lập được ở các

giống ngô Việt Nam giống với gen *rab17* (phân lập từ cDNA và genome dòng ngô thuần W64A của Tây Ban Nha) hơn *dhn1* (từ cDNA ngô lai ở Bắc Mỹ). Với độ tương đồng rất cao, trên thực tế *Rab17* và *Dhn1* là một gen được phân lập từ các dòng ngô khác nhau trong các điều kiện khác nhau. So với cDNA của gen *Dhn1* có chiều dài 504 bp, hai exon của các gen phân lập được có tổng chiều dài 507 bp, như vậy dài hơn 3 bp - ACC (ở vị trí từ 121 đến 123- mã hóa cho threonine). Ngoài ra, chúng còn có 9 vị trí thay đổi khác trong trình tự DNA. Còn so với trình tự gen *rab17*, các gen này đều có 2 exon với tổng chiều dài 507 bp và có 10 vị trí nucleotide thay đổi trong vùng này: tỉ lệ tương đồng từ 98,4 - 99,6%.

So sánh trình tự 168 aa của RAB17, trình tự aa suy diễn của gen dehydrin ở các giống VN5, Q411, HQ2000, LCH9 đều có cùng độ dài 168 aa và có 3 vị

trí thay đổi: Arg(R)13 → Ala(A) 13 ở tất cả 4 giống; Thr(T)41 → Ala41 và Ala142 → Ser(S)142 ở giống HQ2000. Còn so với trình tự 167 aa của DHN1, trình tự aa suy diễn của gen dehydrin ở các giống ngô Việt Nam đều thêm 01 aa là Threonin(T) ở vị trí 40 và ngoài ra còn 3 vị trí thay đổi: His(H)9 → Arg9 ở tất cả 4 giống; Thr40 → Ala41 và Ala141 → Ser142 ở giống HQ2000 (Hình 3). Các trình tự này đã được đăng ký vào Ngân hàng trình tự gen Quốc tế với mã số AM495893, AM495892, AM495891 và AM495894 tương ứng cho các giống VN5, Q411, HQ2000 và LCH9. Protein của chúng đều có cấu trúc dạng YSK₂. Trên sơ đồ hình cây cho thấy trình tự aa của 3 giống ngô VN5, Q411, LCH9 cũng như của giống DF1 (Trần Thị Phương Liên *et al.*, 2005) đều gần nhau, gần giống protein RAB17 (Tây Ban Nha) và protein DHN1. Còn protein này ở giống HQ2000 tách riêng thành nhánh khác hơn so với các giống còn lại (Hình 4).



Hình 4. Sơ đồ biểu thị sự đa dạng di truyền dehydrin giữa các giống ngô.

Intron của các gen dehydrin

Intron có hầu hết trong cấu trúc gen của các tế bào nhân thực và đang được tập trung nghiên cứu để tìm ra chức năng của chúng. Trong cấu trúc intron thường giàu AT và có thể có những yếu tố khác ví dụ như yếu tố nhảy (transposone element). Sự đa dạng về số lượng và độ dài trình tự intron có thể ảnh hưởng đến chức năng biểu hiện gen tổng hợp phytochelatin (polypeptide giữ vai trò quan trọng trong việc loại bỏ độc tố kim loại nặng trong tế bào) khi phản ứng với kim loại nặng calcium (Ramos *et*

al., 2007). Số lượng và độ dài của intron còn được nghiên cứu kỹ ở gen mã hóa cho protein vận chuyển qua màng ty thể (porin) để tìm hiểu về sự tiến hóa giữa các loài (Young *et al.*, 2007). Phần lớn gen dehydrin không có intron. Người ta phát hiện thấy đoạn intron nhỏ trong các dehydrin có cấu trúc Y₂SK₂ hoặc SK₂, nằm ở vùng có đoạn chứa các gốc S ở các cây hoa hướng dương, *Arabidopsis*, đại mạch, cây phong. Những intron này được nghiên cứu kỹ ở cây hoa hướng dương cho thấy rằng trình tự này ở các giống hoang dại đa dạng hơn so với các giống đã thuần hóa (Natali *et al.*, 2003).

Khác với intron của *Rab17*, vùng intron ở các trình tự gen dehydrin của giống VN5, Q411 và LCH9 (Hình 5): khuyết một đoạn dài 16 nucleotide: (AATCCGTGGGTTTCGT). Vì vậy, độ dài của đoạn intron của gen *rab17* là 137 bp, còn độ dài đoạn intron của các gen dehydrin của các giống ngô Việt Nam là 121bp. Đặc biệt hơn, vùng intron của giống HQ2000 có độ dài 124 bp, tuy không có đoạn 16 nucleotide (AATCCGTGGGTTTCGT) giống như các giống ngô Việt Nam khác, nhưng khác ở 3 vị trí nucleotide và có thêm 3 nucleotide CCT từ vị trí 274 đến 276. Như vậy, trình tự intron của các giống ngô Việt Nam được nghiên cứu ngắn hơn 16 bp so với *rab17*, ngoài ra, còn nhận thấy sự khác nhau giữa giống có chất lượng protein cao HQ2000 so với các giống khác, nhưng giữa giống địa phương (Q411,

VN5) và giống đại trà (LCH9, DF1) không thấy có sự thay đổi rõ rệt.

Gen *dhn1/rab-17* được nghiên cứu kỹ ở ngô. Protein tồn tại cả ở trong nhân tế bào và tế bào chất, trong giai đoạn phân hóa chúng được phosphoryl hóa và có khả năng gắn với hạt phospho lipid nằm ở giữa nhân và tế bào chất và được dự đoán là đóng vai trò trong việc vận chuyển protein nhân (Goday *et al.*, 1994). Protein này gắn với hạt phospho lipid nhỏ nhiều hơn hạt to và sự liên kết này tăng khả năng tạo xoắn a (Koag *et al.*, 2003). Trong vùng promoter của gen *dhn1/rab-17* có ít nhất 9 yếu tố điều hòa cảm ứng với ABA và điều kiện mất nước. Ảnh hưởng của intron đến biểu hiện các gen này như thế nào vẫn còn là vấn đề cần nghiên cứu tiếp.

<i>rab17</i>	TCCAGCTCGGTAATTACGACTCTGGATACTTCT---TTCTTTTGTGTGCGCGCTGCTTCG	297
<i>rab17-cDNA</i>	TCCAGCTCG-----	249
LCh9p8	TCCAGCTCGGTAATTACGACTCTGGATACTTCT---TTCTTTTGTGTGCGCGCTGCTTCG	297
VN5p12	TCCAGCTCGGTAATTACGACTCTGGATACTTCT---TTCTTTTGTGTGCGCGCTGCTTCG	297
DF1	TCCAGCTCGGTAATTACGACTCTGGATACTTCT---TTCTTTTGTGTGCGCGCTGCTTCG	297
Q411p4	TCCAGCTCGGTAATTACGACTCTGGATACTTCT---TTCTTTTGTGTGCGCGCTGCTTCG	297
HQ2000	TCCAGCTCGGTAATTACGACTCTGGATACTTCTCCTTTCTTTTGTGTGCGCGCTGCTTCG	300

<i>rab17</i>	TCCTATATATAATAATACATGAGTTAGGCTTAGTAATAATCAATTAATTTAATCCGTGGG	357
<i>rab17-cDNA</i>	-----	249
LCh9p8	TCCTATATATAATAATACATGAGTTAGGCTTAGTAATAATCAATTAATTTAATCCGTGGG	357
VN5p12	TCCTATATATAATAATACATGAGTTAGGCTTAGTAATAATCAATTAATTTAATCCGTGGG	357
DF1	TCCTATATATAATAATACATGAGTTAGGCTTAGTAATAATCAATTAATTTAATCCGTGGG	357
Q411p4	TCCTATATATAATAATACATGAGTTAGGCTTAGTAATAATCAATTAATTTAATCCGTGGG	357
HQ2000	TCCTATATATAATAATACATGAGCTAGGCTTAGCAATAATCAATTAATTTAATCCGTGGG	360
<i>rab17</i>	TTTCGTAATCCGTGGGTTTCGTGTTAAGTCCGAGGACGACGGCATGGGCGGAAGGAGGA	417
<i>rab17-cDNA</i>	-----TCCGAGGACGACGGCATGGGCGGAAGGAGGA	280
LCh9p8	TTTCGT-----GTTAAGTCCGAGGACGACGGCATGGGCGGAAGGAGGA	401
VN5p12	TTTCGT-----GTTAAGTCCGAGGACGACGGCATGGGCGGAAGGAGGA	401
DF1	TTTCGT-----GTTAAGTCCGAGGACGACGGCATGGGCGGAAGGAGGA	401
Q411p4	TTTCGT-----GTTAAGTCCGAGGACGACGGCATGGGCGGAAGGAGGA	401
HQ2000	TTTCGT-----GTTAAGTCCGAGGACGACGGCATGGGCGGAAGGAGGA	404

Hình 5. Vùng intron của gen dehydrin ở các giống ngô.

KẾT LUẬN

Đã phân lập gen dehydrin *dhn1* từ bốn giống ngô VN5, Q411, HQ2000 và LCH9.

Trình tự gen dehydrin dài 631 bp ở HQ2000 và 628 bp ở các giống còn lại, có độ đồng nhất cao 98,4-99,6% và đều có một đoạn intron ngắn. Trình tự intron của các gen này có sự đa dạng: intron dài 124

bp ở giống HQ2000 và 121 bp ở các giống còn lại và có một số vị trí thay đổi. Trình tự intron của các gen này đều ngắn hơn trình tự intron của gen *rab17* một đoạn 16 nucleotide. Sự khác nhau còn nhận thấy ở một số vị trí trong trình tự intron của HQ2000.

Trình tự aa dehydrin của 4 giống ngô nghiên cứu đều có dạng YSK₂, đều bằng nhau và bằng 168 aa. Trình tự này ở 3 giống ngô VN5, Q411 và LCH9

giống nhau, chỉ khác với RAB17 (Tây Ban Nha) ở 01 vị trí Arg13 → Ala13; còn khác với DHN1 có thêm Threonin ở vị trí 40 và 01 vị trí His(H)9 → Arg9. Trình tự aa dehydrin của giống ngô HQ2000, ngoài 2 vị trí số 9 và 13 được nêu trên đây, còn có 2 vị trí thay đổi so với các giống khác là Ala 41 và Ser 142. Trên sơ đồ hình cây biểu thị sự đa dạng di truyền của dehydrin giữa các giống ngô, giống HQ2000 tách thành nhánh riêng.

Lời cảm ơn: Công trình nghiên cứu được hỗ trợ kinh phí từ Chương trình Nghiên cứu Cơ bản trong Khoa học Tự nhiên 2003 - 2005.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Cao Xuân Hiếu, Nguyễn Đăng Tôn, Trần Thị Phương Liên, Nông Văn Hải, Lê Thị Muội, Trần Đình Long (2003) Gen mã hóa dehydrin từ một số giống đậu tương Việt Nam. *Tạp chí Công nghệ Sinh học* 1(2): 237-244.
- Close TJ (1996) Dehydrin: Emergence of a biochemical role of a family of plant dehydration proteins. *Physiol Plant* 97: 795-803.
- Close TJ, Kortt AA, Chandler PM (1989) A cDNA based comparison of dehydration-induced proteins (dehydrins) in barley and corn. *Plant Mol Biol* 13: 95-108.
- Goday A, Jensen AB, Cullanez-Macia FA, Alba MM, Figueras M, Serratos J, Torrent M, Pages M (1994) The maize abscisic acid- responsive protein rab17 is located in the nucleus and interacts with nuclear localization signals. *Plant Cell* 6: 351-360.
- Keim P, Olson TC, Shoemaker RC (1988) A rapid protocol for isolating soybean DNA. *Soybean Genet Newsl* 15: 150-152.
- Koag M, Fenton RD, Wilkens S, Close TJ (2003) The binding of maize DHN1 to lipid vesicles. Gain of structure and lipid specificity. *Plant Physiol* 131: 309-316.
- Natali L, Giordani T, Cavallini A (2003) Sequence variability of a dehydrin gene within *Helianthus annuus*. *Theor Appl Genet* 106: 811-818.
- Ramos J, Clemente MR, Naya L, Loscos J, Perez-Rontome C, Sato S, Tabata S, Becana M (2007) Phytochelatin synthases of the model legume lotus japonicus. A small multigene family with differential response to cadmium and alternatively spliced variants. *Plant Physiol* 143: 1110-1118.
- Rodriguez EM, Svensson JT, Malatrasi M, Choi DW, Close TJ (2005) Barley Dhn13 encodes a KS-type dehydrin with constitutive and stress responsive expression. *Theor Appl Genet* 110: 852-858.
- Rorat T (2006) Plant dehydrins - tissue location, structure and function. *Cell Mol Biol Lett* 11: 536-556.
- Sambrook J, Russell D (2001) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 3rd edn. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY.
- Trần Thị Phương Liên, Nguyễn Đăng Tôn, Lương Thị Thu Hương, Bùi Mạnh Cường, Ngô Hữu Tinh (2005) Phân lập gen dehydrin của ngô. *Tạp chí Công nghệ Sinh học* 3(3): 347-352.
- Young MJ, Bay DC, Hausner G, Count DA (2007) The evolutionary history of mitochondrial porins. *BMC Evol Biol* 7: 31 (<http://www.biomedcentral.com/1471-2148/7/31>)

POLYMORPHISM OF DEHYDRIN GENES OF SEVERAL VIETNAMESE MAIZE CULTIVARS

Tran Thi Phuong Lien^{1,*}, Vu Hoai Thu¹, Bui Manh Cuong²

¹Institute of Biotechnology, VAST

²Maize Research Institute, VAAS

SUMMARY

Dehydrin - LEA (late embryogenesis abundant) - D11 is a plant protein family responded to stress such as drought, low temperature, high salt. They are found in almost plant species. In order to study on genetic diversity of maize, dehydrin genes were amplified by PCR using total genomic DNA of maize cultivars with different drought ability: VN5 is a sticky maize cultivar, Q411- local Hagiang cultivar, HQ2000 - cultivar with high quality protein and LCH9 - high yield cultivar. PCR products were cloned

* Author for correspondence: Tel: 84-4-7562934; Fax: 84-4-8363144; E-mail: tphien@ibt.ac.vn

and sequenced. The genes from VN5, Q411 and LCH9 have 628 bp in length, including two exons of 507 bp and an introns of 121 bp; while the gene from HQ2000 have 631 bp in length, including two exons of 507 bps and an intron of 124 bp. The coding sequences have similarity of 98,4 - 99,6%. The putative amino acid sequences have 168 amino acid in length with YSK₂ structure and have changed significantly polymorphism. These genes were registered in EMBL database with Accession numbers AM495893, AM495892, AM495891 and AM495894 for cultivars VN5, Q411, HQ2000 and LCH9, respectively. The dehydrin genes are similar to dehydrin maize *Rab17* in GenBank. The changes were in the segment considered as intron, and needed further studies.

Keywords: *Dehydrin DHN1, drought tolerance, gene, maize (Zea mays L.), RAB17*