

ĐA HÌNH NUCLEOTIDE ĐƠN GENE AQUAPORIN 1aa CỦA CÁC NHÓM CÁ RÔ ĐỒNG (ANABAS TESTUDINEUS) SỐNG Ở ĐỒNG BẰNG SÔNG CỬU LONG, VIỆT NAM

*SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISM OF AQUAPORIN 1aa GENE OF CLIMBING
PERCH (ANABAS TESTUDINEUS) GROUP IN MEKONG DELTA, VIETNAM*

TRƯƠNG THẾ QUANG^(*)

TÓM TẮT: Nhận diện được các nhóm cá rô đồng (*Anabas testudineus*) sống ở các vùng nước có độ mặn khác nhau tại Đồng bằng sông Cửu Long dựa trên sơ đồ SNP gene *Aqp1aa*. Cá rô đồng sống ở vùng nước ngọt Cần Thơ (0,1 ppt), Bến Tre (0,3 ppt) có các đột biến điểm SNP không làm thay đổi cấu trúc protein *Aqp1aa* so với đối chứng. Cá rô đồng sống ở các vùng nước lợ Vĩnh Long (1,0 ppt), Long An (3,0 ppt), Tiền Giang (4,0 ppt) có các đột biến điểm SNP (A → T) thay thế amino acid Tyrosine (Y) bằng Phenylalanine (F), dẫn đến thay đổi cấu trúc protein *Aqp1aa* theo hướng thay thế kênh loại muối chậm R-H-Y bằng kênh loại muối nhanh R-H-F làm tăng khả năng hấp thu nước và loại bỏ muối lên gấp 13 lần so với đối chứng, các đột biến điểm thay thế SNP (A → C) làm thay đổi amino acid Tyrosine (Y) thành Threonine (T), dẫn đến thay đổi cấu trúc của protein *Aqp1aa* theo hướng thay thế kênh loại muối chậm R-H-Y bằng kênh loại muối nhanh R-H-T làm tăng khả năng hấp thu nước và loại bỏ muối nhanh hơn 4,6 lần so với đối chứng.

Từ khóa: cá rô đồng; đa hình nucleotide đơn; gene aquaporin 1aa; sắp hàng hai trình tự.

ABSTRACT: Climbing perch (*Anabas testudineus*) groups in different salinity waters of the Mekong Delta are identified based on the SNP diagrams of *Aqp1aa* gene. The climbing perch in freshwater areas of Can Tho (0.1 ppt), Ben Tre (0.3 ppt) with SNP point mutations did not change the *Aqp1aa* protein structure compared to the control. The climbing perch in brackish waters of Vinh Long (1.0 ppt), Long An (3.0 ppt) and Tien Giang (4.0 ppt) with the SNP point mutations (A → T) replace amino acids. That Tyrosine (Y) is equal to Phenylalanine (F) leads to *Aqp1aa* protein structural change towards replacing the R-H-Y slow salt channel with the R-H-F fast salt channel which increases water absorption and salt removal by 13 times compared to control; The SNP replacement point mutations (A → C) changed the amino acid Tyrosine (Y) to Threonine (T), leading to structural change of the *Aqp1aa* protein in the direction of replacing the R-H-Y slow salt channel with the R-H-T fast salt channel increased water absorption and salt removal 4.6 times faster than control.

Key words: climbing perch; single nucleotide polymorphism; aquaporin 1aa gene; pairwise sequence alignment.

^(*) TS. Trường Đại học Văn Lang, quangtruongthe@gmail.com, Mã số: TCKH26-02-2021

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cá rô đồng (*Anabas testudineus*) là loài cá thịt béo, thơm, dai, ngon, có giá trị kinh tế cao, tiêu thụ khá mạnh ở cả nông thôn và thành phố. Cá rô đồng lớn nhất phát hiện 300 g/con, cỡ cá tiêu thụ rộng rãi từ 7 đến 15 con/kg. Cá rô đồng sống rất khỏe, có thể chịu đựng được điều kiện thiếu nước trong một thời gian khá lâu do chúng có cơ quan hô hấp trên mang, thở khí trời. Cá rô đồng có thể ra khỏi nước 6 ngày mà không chết, dựa vào đặc điểm này có thể vận chuyển cá rô đồng tươi sống đi tiêu thụ ở các nơi. Cá rô đồng thích nghi với khí hậu nhiệt đới, lúc khô hạn cá có thể sống chui rúc trong bùn mấy tháng và có thể ra khỏi mặt nước đi một quãng tương đối xa để tìm nơi sinh sống, có thể lên đất khô tìm mồi ăn. Cá rô đồng sống ở nước ngọt, chúng thường sinh sống được ở các loại hình mặt nước như ruộng lúa, ao mương, đìa, sông, suối, rạch,...

Hiện nay, ở Đồng bằng sông Cửu Long, tình trạng xâm nhập mặn sâu vào nội đồng do biến đổi khí hậu đã gây khó khăn cho việc nuôi cá rô đồng ở các vùng nước lợ. Do đó, nghiên cứu về đa dạng di truyền đa hình nucleotide đơn SNP (Single Nucleotide Polymorphism) gene Aquaporin 1aa (Aqp1aa) của các nhóm cá rô đồng sống ở các vùng có độ mặn khác nhau ở Đồng bằng sông Cửu Long là thực sự cần thiết. Kết quả nghiên cứu là cơ sở khoa học phục vụ cho công tác chọn giống cá rô đồng thích nghi sống ở môi trường nước lợ và phổ biến cho người dân nuôi trồng.

Cấu trúc màng Aquaporin 1aa (Aqp1aa) trong các bộ phận cá rô đồng có chức năng hấp thu nước và loại bỏ muối ra khỏi cơ thể cá nên có tác dụng giảm stress mặn, giúp cá rô đồng sống được ở môi trường nước lợ. Do đó, nghiên cứu đa dạng di truyền về đa hình nucleotide đơn SNP có ý nghĩa quan trọng trong việc giải thích cơ chế hấp thu nước và loại bỏ muối của Aqp1aa. Cơ chế này gắn liền với các đột biến gene Aqp1aa cá rô đồng sống ở môi trường

nước lợ so với cá rô đồng đối chứng sống ở môi trường nước ngọt.

2. MỤC TIÊU VÀ NỘI DUNG NGHIÊN CỨU

Mục tiêu nghiên cứu phân tích đa dạng di truyền SNP các nhóm cá rô đồng (*Anabas testudineus*) sống tại các vùng nước có độ mặn khác nhau ở Đồng bằng sông Cửu Long. Nhận diện các giống cá rô đồng chịu mặn ở Đồng bằng sông Cửu Long bằng SNP dựa trên gene Aqp1aa, từ đó giải thích được cơ chế hấp thu nước và loại bỏ muối ra khỏi cơ thể cá khi sống trong môi trường nước lợ.

Nội dung nghiên cứu tách chiết DNA tổng số từ mô thịt cá rô đồng sống ở các vùng có độ mặn khác nhau tại Đồng bằng sông Cửu Long, khuếch đại gene Aqp1aa bằng kỹ thuật PCR. Phân tích SNP và giải thích được cơ chế loại bỏ muối của Aqp1aa cá rô đồng khi chịu áp lực mặn từ môi trường.

3. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

3.1. Mẫu vật thí nghiệm

Thu thập các mẫu cá rô đồng thuộc các vùng có độ mặn khác nhau tại Đồng bằng sông Cửu Long. Mẫu cá rô đồng được mang về phòng thí nghiệm để xử lý và bảo quản ở -20 °C cho việc tách chiết DNA tổng số và giải trình tự gene Aqp1aa.

3.2. Cơ chế hấp thu nước và loại bỏ muối của màng protein aquaporin 1aa ở cá rô đồng

3.2.1. Điều hòa áp suất thẩm thấu và cân bằng ion ở cá rô đồng

Giống như các loài sinh vật khác, một trong những chức năng tự điều chỉnh quan trọng nhất của cá rô đồng là điều hòa áp suất thẩm thấu và cân bằng ion nội mô hợp lý. Sự sai lệch vượt khỏi biên độ bình thường có thể gây hại tới chức năng sinh lý tự nhiên làm cho nước có thể giảm đi hoặc tăng thêm, làm thay đổi nồng độ ion trong cơ thể và làm lệch chuyển đường sức ion và thẩm thấu. Cá rô đồng có khả năng thẩm thấu, nghĩa là chúng có thể điều chỉnh môi trường thẩm thấu của cơ thể trong phạm vi tương đối hẹp phù hợp với chức

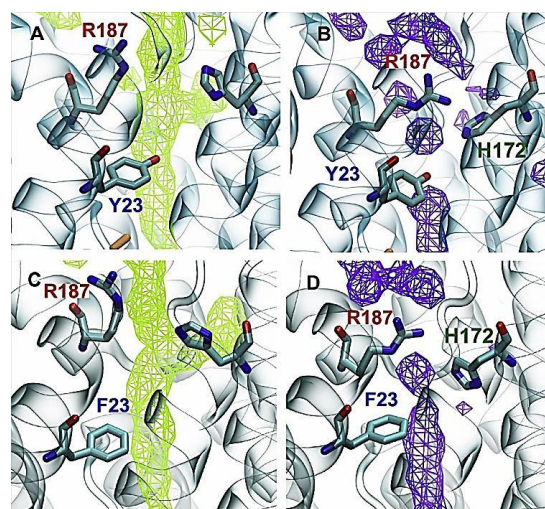
năng của tế bào đủ cho môi trường thẩm thấu bên ngoài thay đổi. Cá rô đồng sống ở nước ngọt ưu trương so với môi trường nên có khuynh hướng hấp thu thêm nước và mất bớt muối bằng quá trình thẩm thấu qua màng mỏng ở hầu và ở mang. Muối cũng bị đào thải ra ngoài môi trường qua da, thận và ruột. Nếu không kiểm soát được, tế bào của cơ thể cá sẽ trương phồng lên và bể đi do hấp thu nước liên tục. Để tránh điều này, cá nước ngọt bài tiết một lượng lớn nước tiểu loãng và tích cực tái hấp thu muối vào máu.

Cá rô đồng có thể thích nghi đặc biệt để thay đổi chức năng của nó, cho phép cá có thể di chuyển từ môi trường nước ngọt sang môi trường nước mặn. Nồng độ muối cao của nước làm cá bị mất nước, còn muối thì thẩm qua màng vào cơ thể. Để giải quyết vấn đề mất nước cá phải hấp thu thêm nước và tích cực loại bỏ muối thừa. Muối dưới dạng các ion như Na^+ , Cl^- , NH_4^+ ,... sẽ do các màng protein Aqp1aa ở mang, da, thận và ruột thải ra ngoài.

3.2.2. Cơ chế hấp thu nước và loại bỏ muối của Aqp1aa

Cá rô đồng có thể tích lũy từ nước ngọt đến nước biển thông qua sự gia tăng dần dần về độ mặn trong phòng thí nghiệm [4, tr.708-723]. Khi cá rô đồng sống ở môi trường nước ngọt, các phân tử protein Aqp1aa tại các lớp màng ở mang, da, thận và ruột cá (Aqp1aa) có cấu trúc kênh Arginine-Histidine-Tyrosine (R-H-Y hoặc RHY) hấp thu nước và loại bỏ muối chậm, trong đó R-Y cổng mở và R-H-Y cổng đóng. Thí nghiệm cho cá rô đồng tập sống trong nước có độ mặn tăng dần, các phân tử protein Aqp1aa có cấu trúc đột biến theo hướng thay thế Tyrosine $\rightarrow$ Phenylalanine (Y $\rightarrow$ F) hoặc Tyrosine $\rightarrow$ Threonine (Y $\rightarrow$ T), các đột biến thay thế này biến đổi kênh Arginine-Histidine-Tyrosine thành kênh Arginine-Histidine-Phenylalanine (R-H-Y $\rightarrow$ R-H-F) với R-F cổng mở và R-H-F cổng đóng; hoặc Arginine-Histidine-Threonine (R-H-Y $\rightarrow$ R-H-T)

với R-T cổng mở và R-H-T cổng đóng là những kênh hấp thu nước và loại bỏ muối nhanh để điều hòa áp suất thẩm thấu và cân bằng ion nội mô hợp lý (Hình 1). Đột biến thay thế Tyrosine $\rightarrow$ Phenylalanine (Y $\rightarrow$ F) tạo thành kênh R-H-F làm tăng khả năng hấp thu nước và loại bỏ muối lên gấp 13 lần. Còn đột biến thay thế Tyrosine $\rightarrow$ Threonine (Y $\rightarrow$ T) tạo thành kênh R-H-T làm tăng khả năng hấp thu nước và loại bỏ muối lên gấp 4,6 lần [5, tr.953-965], [6, tr.872-878].



Hình 1. Cấu trúc 3D màng protein Aqp1aa

A, B: Cấu trúc 3D màng protein Aqp1aa kênh R-H-Y hấp thu nước và loại bỏ muối chậm khi cá rô đồng sống ở môi trường nước ngọt, trong đó (A) cổng mở, (B) cổng đóng. C, D: Cấu trúc 3D màng protein Aqp1aa kênh R-H-F hấp thu nước và loại bỏ muối nhanh khi cá rô đồng sống ở môi trường nước lợ, ứng với đột biến SNP làm amino acid Y23 được thay thế bằng F23 (Y23 $\rightarrow$ F23), trong đó (C) cổng mở, (D) cổng đóng [5, tr.953-965].

3.3. Tách chiết DNA tổng số, khuếch đại PCR và giải trình tự gene Aqp1aa

DNA tổng số (Total Deoxyribonucleic Acid) được trích ly từ mô cơ thịt cá rô đồng bằng bộ kit PHUSA-IHHNV theo quy trình của Công ty Sinh hóa Phù Sa. Kiểm tra nồng độ và độ tinh sạch của các mẫu DNA tổng số bằng phương pháp đo hai bước sóng 260 nm và 280 nm trên

máy quang phổ hấp thụ phân tử UV-VIS, hãng Bio-Rad, USA. Cặp mồi DNA/Aqp1-f và DNA/Aqp1-r khuếch đại trình tự gene Aqp1aa được thiết kế bằng công cụ Primer-BLAST, National Center for Biotechnology Information (NCBI) và được tổng hợp tại Phòng Oligo, Công ty Sinh hóa Phù Sa [1, tr.137-141].

Sau khi chạy PCR khuếch đại trình tự gene Aqp1aa, tiến hành điện di trên gel agarose 2% để kiểm tra chất lượng và độ tinh sạch sản phẩm PCR (Polymerase Chain Reaction). Sử dụng thang chuẩn DNA 100 bp (từ 100 bp đến 1500 bp) để ước lượng kích thước band sản phẩm PCR. Band sản phẩm PCR phải sáng rõ, chiều rộng của band lớn và có kích thước khoảng 780 bp thì xem như phản ứng khuếch đại thành công. Sản phẩm PCR sau đó được tinh sạch theo quy trình của Công ty Sinh hóa Phù Sa và giải trình tự theo nguyên tắc Sanger bằng hệ thống 3130, hãng Applied Biosystems. Chỉnh sửa các file trình tự gene Aqp1aa thu được bằng phần mềm BioEdit phiên bản 7.0.5.2 và công cụ Nucleotide Blast, NCBI.

3.4. Đa hình vị trí nucleotide đơn gene Aqp1aa

Phân tích đa hình vị trí nucleotide đơn (SNP) bằng cách sắp hàng hai trình tự gene Aqp1aa của các nhóm cá rô đồng thuộc các vùng có độ mặn khác nhau ở Đồng bằng sông Cửu Long với trình tự gene Aqp1aa đối chứng là giống cá rô đồng sống trong môi trường nước ngọt (Aqp1aa ĐC) có Version JX645188.1 trên GenBank bằng công cụ Nucleotide BLAST (NCBI).

4. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

4.1. Mẫu vật thí nghiệm

Các mẫu cá rô đồng (*Anabas testudineus*) được thu thập từ năm vùng có độ mặn khác nhau ở Cần Thơ, Bến Tre, Vĩnh Long, Long An, Tiền Giang vào tháng 18-04-2019 (Bảng 1).

4.2. Tách chiết DNA tổng số, khuếch đại và giải trình tự gene Aqp1aa

Tách chiết DNA tổng số của 15 mẫu cá rô đồng (*Anabas testudineus*). DNA tổng số thu được kiểm tra bằng điện di trên gel agarose 2%

để xác định độ tinh sạch, nguyên vẹn của DNA. Kết quả điện di trên gel agarose cho thấy các band DNA thu được từ cá mẫu cá rô đồng đều có band đậm, sáng rõ. Kết quả đo tỷ số OD_{260nm} / OD_{280nm} của các mẫu cá rô đồng đều nằm trong khoảng từ 1,8 đến 2,0. Điều này cho thấy DNA tổng số tách chiết có nồng độ và độ tinh sạch khá cao không lẫn tạp chất protein và các phân tử hữu cơ khác.

Sau khi giải trình tự hai chiều bằng hệ thống máy ABI 3130, hiệu chỉnh hai đầu 5' và 3' của trình tự bằng phần mềm GENTle phiên bản 1.9.4 và công cụ nucleotide BLAST (NCBI) ta thu được các trình tự gene AQP1aa của các mẫu cá rô đồng. Trình tự gene Aqp1aa hoàn chỉnh có kích thước 786 bp thu được từ cá rô đồng đã được GenBank cấp mã số gia nhập (Accession Number) MT012828 và phát hành ngày 07/06/2020 [7], mã hóa cho màng protein AQP1aa với 261 amino acid và có khối lượng phân tử là 27,4 kDa [2, tr.60].

Bảng 1. Số lượng mẫu cá rô đồng (*Anabas testudineus*)

STT	Tên mẫu	Độ mặn	Số lượng
1	<i>Anabas testudineus</i> Cần Thơ	0,1 ppt	3
2	<i>Anabas testudineus</i> Bến Tre	0,3 ppt	3
3	<i>Anabas testudineus</i> Vĩnh Long	1,0 ppt	3
4	<i>Anabas testudineus</i> Long An	3,0 ppt	3
5	<i>Anabas testudineus</i> Tiền Giang	4,0 ppt	3

4.3. Nhận diện các dòng cá rô đồng sống ở các vùng nước có độ mặn khác nhau ở Đồng bằng sông Cửu Long dựa trên sơ đồ SNP gene Aquaporin 1aa

Trình tự gene Aqp1aa đối chứng trên GenBank có Version JX645188.1. Sơ đồ SNP được xây dựng từ kết quả sắp hàng hai trình tự gene Aqp1aa của cá rô đồng với trình tự gene

Aqp1aa đối chứng bằng công cụ Nucleotide BLAST (NCBI).

4.3.1. Sơ đồ SNP gene Aqp1aa của cá rô đồng Cần Thơ sống ở vùng nước ngọt (0,1 ppt)

Vị trí Amino acid	2	5	8	11
Amino acid	M	R	E	F
AQP1aa_Cần Thơ	A T G A G A G A A T T C A			
Vị trí	1		6 7	12
AQP1aa_GenBank	A T G A G A G A A T T C A			
Amino acid	M	R	E	F

Hình 2. Sơ đồ SNP gene Aqp1aa của cá rô đồng Cần Thơ sống ở vùng nước ngọt (0,1 ppt)

Sơ đồ SNP gene Aqp1aa của cá rô đồng Cần Thơ sống ở vùng nước ngọt có độ mặn 0,1 ppt (Hình 2) cho thấy tỷ lệ tương đồng đạt 100% và không có đột biến điểm thay thế. Gene Aqp1aa của cá rô đồng sống ở Cần Thơ giống nhau hoàn toàn so với đối chứng.

4.3.2. Sơ đồ SNP gene Aqp1aa của cá rô đồng Bến Tre sống ở vùng nước ngọt (0,3 ppt)

Vị trí Amino acid	122
Amino acid	L
AQP1aa_Bến Tre	T C T A A
Vị trí	366
AQP1aa_GenBank	T C T C A
Amino acid	L

Hình 3. Sơ đồ SNP gene Aqp1aa của cá rô đồng Bến Tre sống ở vùng nước ngọt (0,3 ppt)

Sơ đồ SNP gene Aqp1aa của cá rô đồng Bến Tre sống ở vùng nước ngọt có độ mặn 0,3 ppt (Hình 3) cho thấy tỷ lệ tương đồng đạt 99,87% và có 1 SNP tại vị trí 366 (C → A) tuy nhiên không làm thay đổi amino acid Leucine (L) tại vị trí 122. Như vậy, đột biến điểm thay thế này không làm thay đổi cấu trúc của protein Aqp1aa so với đối chứng.

4.3.3. Sơ đồ SNP gene Aqp1aa của cá rô đồng Vĩnh Long sống ở vùng nước lợ (1,0 ppt)

Sơ đồ SNP gene Aqp1aa của cá rô đồng Vĩnh Long sống ở vùng nước lợ có độ mặn 1,0

ppt (Hình 4) cho thấy tỷ lệ tương đồng đạt 99,74% và có 2 SNP tại vị trí 610 (T → A) và 611 (A → C). Trong đó, SNP đột biến điểm thay thế tại vị trí 610 (T → A) không làm thay đổi amino acid Valine (V). SNP đột biến điểm tại vị trí 611 (A → C) thay thế amino acid Tyrosine 204 (Y204) bằng Threonine 204 (T204) dẫn đến làm thay đổi cấu trúc protein Aqp1aa theo hướng thay thế kênh loại muối chậm R-H-Y bằng kênh loại muối nhanh R-H-T làm tăng khả năng hấp thu nước và loại bỏ muối nhanh hơn 4,6 lần so với đối chứng.

Vị trí Amino acid	204
Amino acid	V T
AQP1aa_Vĩnh Long	T G A C C
Vị trí	610 611
AQP1aa_GenBank	T G T A C
Amino acid	V Y

Hình 4. Sơ đồ SNP của gene Aqp1aa ở cá rô đồng Vĩnh Long (1,0 ppt)

4.3.4. Sơ đồ SNP gene Aqp1aa của cá rô đồng Long An sống ở vùng nước lợ (3,0 ppt)

Vị trí Amino acid	91										219																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																			
Amino acid	F										I										T																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																									
AQP1aa_Long An	G	T	T	C	A	T	C	A	C	T	G																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																			</

Hình 5. Sơ đồ SNP gene Aqp1aa của cá rô đồng Long An sống ở vùng nước lợ (3,0 ppt)

Sơ đồ SNP gene Aqp1aa của cá rô đồng Long An sống ở vùng nước lợ có độ mặn 3,0 ppt (Hình 5) cho thấy tỷ lệ tương đồng 99,62% và có 3 SNP tại các vị trí 272 (A → T), 655 (T → A) và 656 (A → C). Trong đó, SNP đột biến điểm tại vị trí 272 (A → T) thay thế amino acid Tyrosine 91 (Y91) bằng Phenylalanine 91 (F91), dẫn đến thay đổi cấu trúc protein Aqp1aa theo hướng thay thế kênh loại muối

chậm R-H-Y bằng kênh loại muối nhanh R-H-F làm tăng khả năng hấp thu nước và loại bỏ muối lên gấp 13 lần so với đối chứng. Còn đột biến điểm tại vị trí 656 (A → C) thay thế amino acid Tyrosine 219 (Y219) bằng Threonine 219 (T219), dẫn đến thay đổi cấu trúc protein Aqp1aa theo hướng thay thế kênh loại muối chậm R-H-Y bằng kênh loại muối nhanh R-H-T làm tăng khả năng hấp thu nước và loại bỏ muối nhanh hơn 4,6 lần so với đối chứng.

4.3.5. Sơ đồ SNP gene Aqp1aa của cá rô đồng Tiền Giang sống ở vùng nước lợ (4,0 ppt)

Vị trí Amino acid	107					204					245				
Amino acid	F					T					T				
AQP1aa_Tiền Giang	T	T	T	T	G	A	C	C	T	A	C	T	G		
Vị trí	320					610 611					733 734				
AQP1aa_GenBank	T	A	T	T	G	T	A	C	T	T	A	T	G		
Amino acid	Y					Y					Y				

Hình 6. Sơ đồ SNP của gene Aqp1aa cá rô đồng Tiền Giang sống ở vùng nước lợ (4,0 ppt)

Sơ đồ SNP gene Aqp1aa của cá rô đồng Tiền Giang sống ở vùng nước lợ có độ mặn 4,0 ppt (Hình 6) cho thấy tỷ lệ tương đồng đạt 99,36% và có 5 SNP tại các vị trí 320 (A → T), 610 (T → A), 611 (A → C), 733 (T → A), 734 (A → C). Trong đó, SNP đột biến điểm tại vị trí 320 (A → T) thay thế amino acid Tyrosine 107 (Y107) bằng Phenylalanine 107 (F107), dẫn đến thay đổi cấu trúc protein Aqp1aa theo hướng thay thế kênh loại muối chậm R-H-Y bằng kênh loại muối nhanh R-H-F làm tăng khả năng hấp thu nước và loại bỏ muối lên gấp 13 lần so với đối chứng. Còn các đột biến điểm thay thế SNP tại vị trí 611 (A → C) và 734 (A → C) làm thay đổi amino acid Tyrosine 204 (Y204) thành Threonine 204 (T204) và Tyrosine 245 (Y245) thành Threonine 245 (T245), dẫn đến thay đổi cấu trúc của protein Aqp1aa theo hướng thay thế kênh loại muối chậm R-H-Y bằng kênh loại muối nhanh R-H-T làm tăng

khả năng hấp thu nước và loại bỏ muối nhanh hơn 4,6 lần so với đối chứng [3, tr.62-63].

5. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

5.1. Kết luận

Nhận diện được các nhóm cá rô đồng sống ở các vùng nước có độ mặn khác nhau tại Đồng bằng sông Cửu Long dựa trên sơ đồ SNP gene Aqp1aa.

Cá rô đồng (*Anabas testudineus*) sống ở vùng nước ngọt Cần Thơ (0,1 ppt), Bến Tre (0,3 ppt) so với đối chứng có các đột biến điểm SNP không làm thay đổi cấu trúc protein Aqp1aa so với đối chứng.

Cá rô đồng sống ở các vùng nước lợ Vĩnh Long (1,0 ppt), Long An (3,0 ppt), Tiền Giang (4,0 ppt) có các đột biến điểm SNP (A → T) thay thế amino acid Tyrosine (Y) bằng Phenylalanine (F), dẫn đến thay đổi cấu trúc protein Aqp1aa theo hướng thay thế kênh loại muối chậm R-H-Y bằng kênh loại muối nhanh R-H-F làm tăng khả năng hấp thu nước và loại bỏ muối lên gấp 13 lần so với đối chứng, các đột biến điểm thay thế SNP (A → C) làm thay đổi amino acid Tyrosine (Y) thành Threonine (T), dẫn đến thay đổi cấu trúc của protein Aqp1aa theo hướng thay thế kênh loại muối chậm R-H-Y bằng kênh loại muối nhanh R-H-T làm tăng khả năng hấp thu nước và loại bỏ muối nhanh hơn 4,6 lần so với đối chứng.

Sơ đồ SNP gene Aqp1aa cá rô đồng cho thấy độ mặn của môi trường có ảnh hưởng đến số vị trí các SNP đột biến điểm thay thế của cá rô đồng sống ở các vùng có độ mặn khác nhau. Qua đó, thể hiện khả năng thích nghi của cá rô đồng khi độ mặn môi trường thay đổi. Điều này phù hợp với kết quả nghiên cứu của Sui [6] và Saboe [5].

5.2. Kiến nghị

Nghiên cứu mở rộng về đa hình nucleotide đơn (SNP) các gene Aqp1, Aqp1a, Aqp1b, Aqp1ab trên các bộ phận của cá rô đồng sống ở môi trường có độ mặn khác nhau, gắn với việc giải thích cơ chế hấp thu nước và loại bỏ muối.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Trương Thế Quang (2018), *Tin sinh học (Bioinformatics)*, Nxb Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh.
- [2] Trương Thế Quang và Huỳnh Ngọc Mỹ Phương (2020), *Biểu hiện gene Aquaporin 1 (AQP1) trên cá rô đồng (Anabas testudineus) nuôi thử nghiệm trong nước mặn*, *Tạp chí Khoa học Đại học Văn Lang*, 21.
- [3] Trương Thế Quang và Huỳnh Ngọc Mỹ Phương (2020), *Đa dạng di truyền và biểu hiện chịu mặn của cá rô đồng (Anabas testudineus) sống ở Đồng bằng sông Cửu Long dựa trên gene Aquaporin 1aa (Aqp1aa)*, Trường Đại học Văn Lang.
- [4] Chang E.W.Y., Loong A.M., Wong W.P., Chew S.F., Wilson J.M. & Ip Y.K. (2007), *Changes in tissue free amino acid contents, branchial Na^+/K^+ -ATPase activity and bimodal breathing pattern in the freshwater climbing perch, Anabas testudineus (Bloch), during seawater acclimation*, *Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology*, 307(12).
- [5] Saboe P.O., Rapisarda C., Kaptan S., Hsiao Y.S., Summers S.R., De Zorzi R., Dukovski D., Yu J., De Groot B.L. & Kumar M. (2017), *Role of pore-lining residues in defining the rate of water conduction by aquaporin-0*, *Biophysical Journal*, 112(5).
- [6] Sui H., Han B.G., Lee J.K., Walian P. & Jap B.K. (2001), *Structural basis of water-specific transport through the AQP1 water channel*, *Nature*, 414(6866).
- [7] Trương Thế Quang và Huỳnh Ngọc Mỹ Phương (2020), *Anabas testudineus aquaporin 1 (aqp1) mRNA, complete cds*, Accession MT012828, GenBank, National Center for Biotechnology Information (NCBI), USA, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/MT012828>.

Ngày nhận bài: 17-12-2020. Ngày biên tập xong: 02-3-2021. Duyệt đăng: 25-3-2021