

# Phân tích vai trò của gen *HSC70* đến sinh trưởng và phát triển của cây cà chua

Vũ Tuấn Nam<sup>1,2\*</sup>, Đào Quang Hà<sup>2</sup>, Nguyễn Nhật Linh<sup>2</sup>, Lưu Hàn Ly<sup>2</sup>,  
Hà Hồng Hạnh<sup>2</sup>, Huỳnh Thị Thu Huệ<sup>1,2</sup>, Lê Thị Thu Hiền<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Học viện KH&CN, Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam, 18 Hoàng Quốc Việt, phường Nghĩa Đô, quận Cầu Giấy, TP Hà Nội, Việt Nam

<sup>2</sup>Viện Nghiên cứu Hệ gen, Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam, 18 Hoàng Quốc Việt, phường Nghĩa Đô, quận Cầu Giấy, TP Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 11/7/2022; ngày chuyển phản biện 13/7/2022; ngày nhận phản biện 28/7/2022; ngày chấp nhận đăng 1/8/2022

## **Tóm tắt:**

Cà chua là một trong những cây nông nghiệp có giá trị kinh tế cao. Họ gen *HSP70* được cho là có vai trò quan trọng đối với khả năng chống chịu của cây trồng đáp ứng với các yếu tố môi trường khác nhau. *HSC70* là một gen trong họ gen *HSP70*, được dự đoán có vai trò đối với sự sinh trưởng và phát triển của cây trồng, tuy nhiên các chức năng sinh học của gen *HSC70* vẫn chưa được chứng minh cụ thể. Nghiên cứu này mô tả đặc điểm của gen *HSC70* ở cây cà chua, đồng thời đánh giá vai trò của gen *HSC70* đối với sự sinh trưởng của cà chua thông qua phân tích kiểu hình của thể đột biến. Kết quả cho thấy, đột biến vô nghĩa ở gen *HSC70* gây thấp cây, làm giảm tỷ lệ nảy mầm của hạt và tỷ lệ đậu quả của cà chua, tuy nhiên các đột biến sai nghĩa không làm thay đổi đáng kể về kiểu hình. Hình dạng và cấu trúc lá, thời gian ra hoa của cây cà chua không bị ảnh hưởng bởi tác động của các đột biến gen *HSC70*. Kết quả nghiên cứu đã cung cấp những hiểu biết ban đầu để tìm hiểu sâu hơn về cơ chế ảnh hưởng của gen *HSC70* đối với sự nảy mầm, sinh trưởng và quá trình tạo quả cà chua.

**Từ khóa:** cà chua, đột biến, *HSC70*, tỷ lệ đậu quả, tỷ lệ nảy mầm.

**Chỉ số phân loại:** 1.6

## **1. Đặt vấn đề**

Cà chua (*Solanum lycopersicum*) là một trong những loại cây trồng có giá trị cao, được trồng phổ biến trên thế giới [1]. Mặc dù vậy, sự sinh trưởng cũng như năng suất của cà chua bị ảnh hưởng rất lớn bởi các yếu tố ngoại sinh, chủ yếu là các yếu tố vô sinh như nhiệt độ, độ ẩm, độ mặn, bên cạnh một số yếu tố hữu sinh như vi khuẩn, virus gây bệnh [2, 3]. Điều kiện nắng nóng làm suy thoái hầu hết các đặc điểm sinh sản, làm giảm khả năng ra hoa, đậu quả của cà chua [4]. Các điều kiện khác như hạn hán làm cho cây thấp hơn, ít lá hơn, trong khi độ mặn cao làm chậm thời gian nảy mầm của hạt, ức chế phát triển rễ và chồi cũng như sự ổn định của màng tế bào, từ đó làm giảm hoàn toàn khả năng sinh trưởng và phát triển của cây [5, 6].

Trong quá trình sinh trưởng, thực vật đã phát triển các cơ chế thích nghi với điều kiện sống nhờ sự phản ứng linh hoạt của các gen trong hệ gen [7]. Các nghiên cứu đã chỉ ra rằng, có nhiều gen tham gia phản ứng với các điều kiện môi trường không thuận lợi, chẳng hạn như gen *HSP101*,

*GATA17*, *HSP70* hoặc kích thích hoặc ức chế quá trình sinh tổng hợp các chất điều hòa sinh trưởng, thông qua các yếu tố phiên mã sinh trưởng như gen *YACCA6* (*YUC6*), auxin/indole-3-acetic acid 9 (*IAA9*), hoặc *DELLA* [8-13]. Trong đó, *HSP70* là một trong những gen được phát hiện gần như sớm nhất, được cho là có liên quan đến quá trình chống chịu điều kiện nhiệt độ bất lợi, được phát hiện lần đầu tiên ở ruồi giấm (*Drosophila*) những năm 1960, sau đó được biết đến ở hầu hết các sinh vật khác [14]. Ở cà chua, các gen *HSP70* cũng được chứng minh là liên quan đến tính chống chịu nhiệt, trong mối quan hệ tương tác gen *HSP90* và các yếu tố phiên mã liên quan [13]. Bên cạnh đó, người ta còn phát hiện ra một trong những thành viên của họ gen không chỉ biểu hiện cao ở điều kiện bất lợi, mà còn biểu hiện ngay cả điều kiện sinh lý bình thường, được gọi là *HSC70* [15]. Sự biểu hiện của gen này được xác nhận trong hệ thống mạch dẫn, các tế bào phân chia của các chóp rễ bên và phần bên trong của hạt non, trong bao phấn chưa trưởng thành và trong phôi [15, 16]. Mặc dù vậy, vai trò cụ thể của nó trong quá trình sinh trưởng của cà chua vẫn chưa được biết đến.

\*Tác giả liên hệ: Email: vtnam@igr.ac.vn

# Evaluation of the involvement of *HSC70* gene in the growth and development of tomato

Tuan Nam Vu<sup>1,2\*</sup>, Quang Ha Dao<sup>2</sup>, Nhat Linh Nguyen<sup>2</sup>,  
Han Ly Luu<sup>2</sup>, Hong Hanh Ha<sup>2</sup>,  
Thi Thu Hue Huynh<sup>1,2</sup>, Thi Thu Hien Le<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Graduate University of Science and Technology, Vietnam Academy of Science and Technology,  
18 Hoang Quoc Viet Street, Nghia Do Ward, Cau Giay District, Hanoi, Vietnam

<sup>2</sup>Institute for Genomic Research, Vietnam Academy of Science and Technology,  
18 Hoang Quoc Viet Street, Nghia Do Ward, Cau Giay District, Hanoi, Vietnam

Received 11 July 2022; revised 28 July 2022; accepted 1 August 2022

## Abstract:

Tomato is one of the high-value agricultural crops. The *HSP70* gene family is thought to play an important role in plant tolerance to various environmental factors. A family member known as *HSC70* is predicted to be involved in plant growth and development, however, its biological functions have not been demonstrated clearly. This study was conducted with the aim to characterise the *HSC70* gene in tomato plants and evaluate its contribution to tomato growth through phenotypic analysis of plant mutants with defects in the *HSC70* gene. The research results showed that nonsense mutation in the *HSC70* gene caused short plant and reduced the seed germination rate and fruit set rate of tomato. However, these missense mutations did not change these phenotypes significantly. The leaf shape, leaf structure, and flowering time of tomato were not affected by the *HSC70* mutations. These findings provided preliminary insights for further study on the role of the *HSC70* gene in the germination, elongation, and fruit setting of tomato plants.

**Keywords:** fruit set rate, germination rate, *HSC70*, mutations, tomato.

**Classification number:** 1.6

Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành mô tả đặc điểm của gen *HSC70* ở cây cà chua, đồng thời phân tích kiểu hình của đột biến ngẫu nhiên trên gen, từ đó bước đầu đánh giá vai trò và chức năng sinh học của gen này đối với sinh trưởng và phát triển của cây cà chua.

## 2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

### 2.1. Vật liệu

Trình tự của gen *HSC70* (bao gồm trình tự phiên mã, mã hóa) và trình tự amino acid của protein tương ứng được trích xuất từ ngân hàng dữ liệu Phytozome [17]. Cấu trúc intron, exon, vị trí các vùng không dịch mã được hiển thị bằng công cụ Gene Structure Display Server (GSDS) [18]. Khối lượng phân tử và điểm đẳng điện của protein được phân tích bằng công cụ Compute pI/Mw trên cơ sở dữ liệu ExPASy (<https://web.expasy.org/protparam/>).

Hạt cà chua (*S. lycopersicum* cv. Micro-Tom) mang đột biến ngẫu nhiên trong gen *HSC70* và hạt đối chứng (cây dại, tiếng Anh là wild type - WT) được cung cấp bởi Ngân hàng đột biến TOMATOMA, Nhật Bản. Hạt cà chua được gieo và trồng trong nhà kính có nhiệt độ 24°C được chiếu sáng với cường độ 120  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ , chu kỳ chiếu sáng 16/8 giờ (sáng/tối).

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

#### 2.2.1. Tách chiết RNA, tổng hợp cDNA và realtime RT-PCR

RNA được tách chiết bằng kit tách chiết RNA IQeasy™ plus Plant RNA Extraction Kit (Introns, Hàn Quốc) từ thân dưới lá mầm (5 ngày tuổi), mô lá, thân, rễ, chồi ngọn (30 ngày tuổi), hoa, quả non (5 ngày tuổi), quả trưởng thành (25 ngày tuổi) và quả chín (35 ngày tuổi) của cây cà chua. cDNA được tổng hợp bằng kit RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit của Thermo Scientific (Hoa Kỳ). Quy trình thực hiện theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

0,2  $\mu\text{l}$  cDNA được thêm vào 10  $\mu\text{l}$  hỗn hợp phản ứng real-time PCR chứa 5,0  $\mu\text{l}$  Fast SYBR™ Green Master Mix (Thermo Scientific™, Hoa Kỳ) và 10 pmol mỗi mỗi đặc hiệu cho gen *HSC70*. Gen *UBQ* được sử dụng làm tham chiếu. Các môi được thiết kế bằng phần mềm Primer3web ver. 4.1.0 (<https://primer3.ut.ee/>) có trình tự được trình bày như ở bảng 1. Quá trình khuếch đại được thực hiện trên máy real-time PCR StepOnePlus™ (Applied Biosystem, Hoa Kỳ), bao gồm quá trình biến tính ban đầu ở 95°C trong 5 phút, tiếp theo là 40 chu kỳ biến tính ở 95°C trong 20 giây, gắn mỗi ở 58°C trong 20 giây và kéo dài ở 72°C trong 20 giây. Mức độ biểu hiện của gen mục tiêu được phân tích bằng phương pháp Delta-Delta Ct [19].

**Bảng 1. Trình tự các đoạn mồi cho phản ứng PCR và real-time PCR.**

Thứ tự	Tên mồi	Trình tự	%GC	T <sub>m</sub> (°C)	Độ dài sản phẩm (bp)
<i>Trình tự mồi cho phản ứng real-time PCR</i>					
1	HSC70-F	CAAAATGCCTAACCCGAAGCC	52,4	59,8	200
2	HSC70-R	CGTAGTCCCCAAATCAATTCCGA	47,8	60,6	
3	UBQ-F	CACCAAGCCAAAGAAGATCA	45,0	56,3	179
4	UBQ-R	TCAGCATTAGGGCACTCCTT	50,0	57,3	
<i>Trình tự mồi cho phản ứng PCR</i>					
1	FR1_F	AAATGCCTAACCCGAAGCCA	50,0	59,96	859
2	FR1_R	GCAGATCGGTCGTAGCCTTT	50,0	60,18	
3	FR2_F	AAAGGCTACGACCGATCTGC	55,0	60,18	1027
4	FR2_R	CTCGAATCTGGCACGGGTAA	55,0	59,83	
5	FR3_F	ATGGACAAGAGCACCGTTCA	50,0	59,6	893
6	FR3_R	TCCATAGGAACACTGCGTC	50,0	59,46	

### 2.2.2. Tách chiết DNA

DNA tổng số được tách từ lá cây cà chua 10 ngày tuổi theo phương pháp sử dụng cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) [20]. DNA sau đó được đo nồng độ bằng máy NanoDrop 2000c (Thermo Scientific™, Hoa Kỳ) và điện di kiểm tra trên gel Agarose 1%.

### 2.2.3. Sàng lọc đột biến gen HSC70

Các phân đoạn của gen *HSC70* được khuếch đại bằng PCR, sử dụng 3 cặp mồi đặc hiệu được thiết kế bằng phần mềm Primer3web ver. 4.1.0 và có trình tự như ở bảng 1. Phản ứng PCR có tổng thể tích 20 µl, bao gồm 2 µl DNA khuôn, 1 µl mỗi loại mồi đặc hiệu được trộn đều với 10 µl DreamTaq PCR Master Mix (2X) (Thermo Scientific™, Hoa Kỳ). Quá trình PCR được tiến hành với giai đoạn biến tính khởi đầu ở 95°C trong 5 phút, tiếp theo là 35 chu kỳ nhiệt (bao gồm 95°C trong 30 giây, 58°C trong 30 giây, 72°C trong 1 phút) và bước kéo dài cuối cùng ở 72°C trong 5 phút. Sản phẩm PCR sau đó được tinh sạch bằng kit MEGA quick-spin™ Plus Fragment DNA Purification Kit (Intron, Hàn Quốc) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Các đột biến điểm trên gen *HSC70* được xác định thông qua giải trình tự Sanger, sử dụng BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystem, Hoa Kỳ) và được tiến hành trên máy giải trình tự tự động 3500xL Genetic Analyzers (Applied Biosystem, Hoa Kỳ). Các cây mang đột biến *HSC70* được lai ngược với cây WT 3 lần liên tiếp, sau đó sàng lọc lại để thu được đột biến duy nhất trên gen *HSC70*.

### 2.2.4. Phân tích kiểu hình của thể đột biến HSC70

Để phân tích kiểu hình, cây mang đột biến *HSC70* được gieo trên đất dinh dưỡng với các điều kiện được mô tả như trên. Tỷ lệ hạt nảy mầm, chiều dài thân cây ở ngày thứ 30 sau khi gieo được phân tích và so sánh giữa các thể đột biến với WT. Cấu trúc lá được đánh giá và so sánh đối với 30 cây riêng lẻ ở cùng độ tuổi. Thời gian ra hoa đầu tiên và tỷ lệ đậu quả được phân tích và so sánh giữa các dòng đột biến và WT.

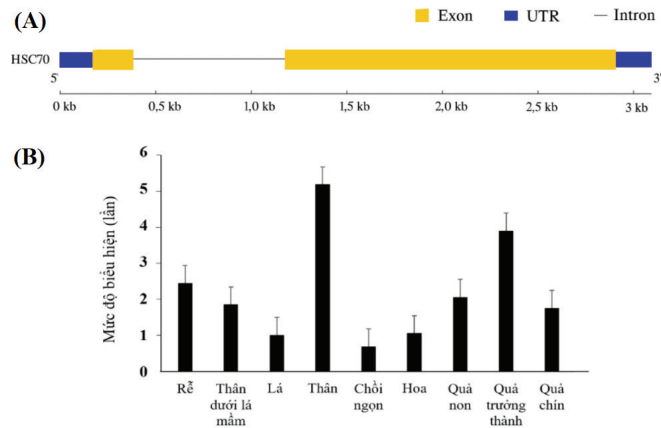
### 2.3. Phân tích thống kê

Sự khác biệt kiểu hình giữa các thể đột biến và WT được kiểm tra thông qua việc so sánh giá trị trung bình của các yếu tố được phân tích, sử dụng phép kiểm định ANOVA một yếu tố bằng phần mềm Graphpad Prism 9.00 (GraphPad, Hoa Kỳ). Dữ liệu được biểu diễn bằng đồ thị dưới dạng giá trị trung bình (Mean) ± độ lệch chuẩn (SD) của 30 giá trị độc lập cho mỗi yếu tố được phân tích, với độ lặp lại 3 lần cho mỗi phân tích.

## 3. Kết quả và bàn luận

### 3.1. Mô tả gen HSC70 ở cây cà chua

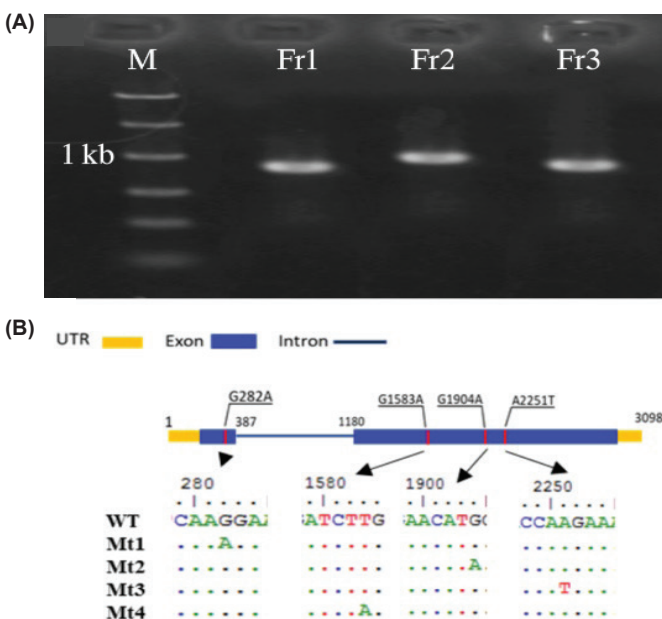
Gen *HSC70* ở cây cà chua có mã định danh là Solyc06g076020.2 trên cơ sở dữ liệu hệ gen *S. lycopersicum* ITAG2.4. Gen có độ dài 3147 bp, bao gồm 189 bp ở đầu 5' không dịch mã (5'-UTR), 219 bp ở đầu 3'-UTR và 2739 bp nằm trong vùng mã hóa của gen, trong đó có 1 intron dài 792 bp nằm xen giữa 2 exon có độ dài lần lượt là 214 và 1733 bp. Trình tự phiên mã (mRNA) của gen dài 2355 bp, trong khi trình tự mã hóa (coding sequence - CDS) dài 1947 bp mã hóa cho 1 protein dài 648 amino acid. Cấu trúc intron-exon của gen *HSC70* được biểu thị như ở hình 1A. Protein HSC70 ở cây cà chua vẫn chưa được mô tả chi tiết. Dựa vào trình tự amino acid, protein này được dự đoán có kích thước khoảng 71 kDa và có điểm đẳng điện (pI) khoảng 5,04 cho thấy đây là một protein trung tính. Phân tích biểu hiện của gen *HSC70* ở cây cà chua trong điều kiện bình thường cho thấy gen này biểu hiện tương đối cao ở thân và quả trưởng thành, trong khi biểu hiện thấp ở hoa, lá và chồi ngọn (hình 1B). Sự tồn tại của gen *HSC70* cũng được phát hiện ở hầu hết các mô sinh trưởng của cây cà chua như ở rễ, thân, lá, hoa và quả đang phát triển, trong bao phấn chưa trưởng thành và trong phôi, mặc dù vai trò của gen này vẫn chưa được làm sáng tỏ trong các công bố trước đây [15].



**Hình 1. Mô tả đặc điểm của gen *HSC70* ở cây cà chua.** (A) Cấu trúc intron-exon của gen *HSC70*; (B) Biểu hiện gen *HSC70* ở các mô khác nhau trên cây cà chua. Biểu đồ cột thể hiện giá trị Mean  $\pm$ SD của mức độ biểu hiện tương đối của gen *HSC70* được so sánh với gen tham chiếu *UQB*, với mức độ lặp lại 3 lần.

### 3.2. Sàng lọc đột biến *HSC70* của cây cà chua bằng giải trình tự Sanger

Các đoạn trình tự gen *HSC70* ở cây cà chua đột biến được khuếch đại bằng PCR được thể hiện trên gel agarose như ở hình 2A. Sau khi tinh sạch, các phân đoạn này được giải trình tự Sanger, thu được 4 dòng mang đột biến, được đặt tên lần lượt là Mt1, Mt2, Mt3, Mt4 (hình 2B). Vị trí của các đột biến điểm được trình bày như ở bảng 2.



**Hình 2. Sàng lọc đột biến gen *HSC70* ở cây cà chua.** (A) Điện di sản phẩm PCR các phân đoạn của gen *HSC70*. M, Fr1, Fr2, Fr3 tương ứng là vị trí thang DNA chuẩn và các phân đoạn của gen *HSC70* được nhân bản từ các cặp primer (FR1\_F/R), (FR2\_F/R), (FR3\_F/R); (B) Vị trí và đặc điểm các đột biến điểm trên gen *HSC70*. Mt1, Mt2, Mt3 và Mt4 tương ứng là tên các thể đột biến như ở bảng 2.

**Bảng 2. Vị trí các đột biến gen *HSC70* ở cây cà chua.**

Thứ tự	Tên đột biến	Kiểu đột biến	Vị trí đột biến trên gen	Hậu quả
1	Mt1	Sai nghĩa	G282>A	G37>R
2	Mt2	Vô nghĩa	T1583>A	G207>Stop
3	Mt3	Sai nghĩa	G1904>A	Q285>H
4	Mt4	Sai nghĩa	A2251>T	M313>I

Dấu ">" chỉ sự thay thế nucleotide hoặc amino acid ở vị trí đột biến.

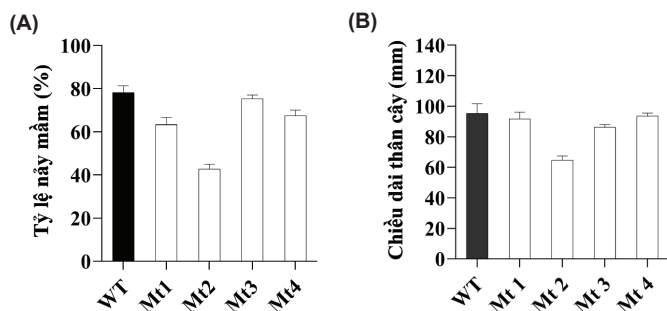
Giải trình tự gen cho thấy, các đột biến thu được là đột biến thay thế nucleotide, trong đó có một đột biến thay thế từ nucleotide A sang T (Mt4), một đột biến thay thế nucleotide T sang A (Mt2) và 2 đột biến thay thế nucleotide từ G sang A (Mt1 và Mt3). Điều này cho thấy, sự thay thế nucleotide một cách ngẫu nhiên trong quá trình xử lý với EMS như đã được khảo sát trong một số nghiên cứu trước đây [21]. Có 3 đột biến sai nghĩa thu được sau khi sàng lọc, dẫn đến việc thay thế một amino acid bằng amino acid khác trong cấu trúc cơ bản của protein. Có 1 đột biến vô nghĩa, dẫn đến chuỗi amino acid bị rút ngắn từ 648 xuống còn 207 amino acid (bảng 2).

### 3.3. Đột biến *HSC70* ảnh hưởng đến sinh trưởng của cây cà chua

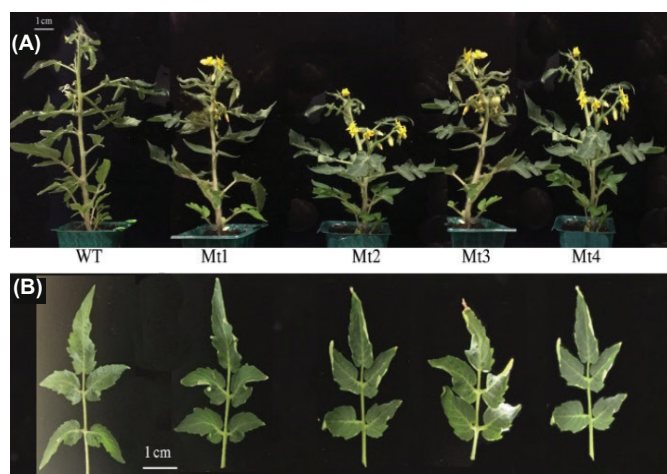
Khả năng nảy mầm của hạt cà chua đột biến được đánh giá và so sánh với WT. Tỷ lệ nảy mầm của dòng WT khoảng  $79,75 \pm 6,85\%$ , trong khi tỷ lệ nảy mầm của các dòng đột biến từ  $43,19 \pm 5,8\%$  (ở Mt2) đến  $75,31 \pm 5,35\%$  (ở Mt3) (hình 3A). Phân tích thống kê chỉ ra rằng, tỷ lệ nảy mầm của dòng WT khác biệt đáng kể so với từng dòng Mt1 ( $p$  ở 0,0148), Mt2 ( $p$  ở 0,0001) và Mt4 ( $p$  ở 0,0096) cho thấy ảnh hưởng của đột biến gen *HSC70* đối với tỷ lệ nảy mầm. Bên cạnh đó, so sánh tỷ lệ nảy mầm giữa các dòng đột biến với nhau cho thấy, dòng đột biến Mt2 mang đột biến vô nghĩa có tỷ lệ nảy mầm của hạt thấp hơn hẳn so với các dòng đột biến sai nghĩa khác ( $p < 0,05$ ). Kết quả này cho thấy, vị trí đột biến đóng vai trò quan trọng đối với sự thay đổi kiểu hình, trong đó đột biến vô nghĩa để lại hậu quả rõ rệt hơn các đột biến sai nghĩa (hình 3A).

Chiều cao của cây đột biến và WT được đo ở ngày thứ 30 sau khi gieo, thể hiện trong hình 3B. Chiều cao trung bình của cây Mt2 khoảng  $65,4 \pm 11,07$  mm, thấp hơn đáng kể so với cây WT ( $p$  ở 0,0001) cũng như các dòng đột biến khác. Các dòng Mt1, Mt3 và Mt4 có chiều cao cây trung bình từ  $80,26 \pm 4,67$  mm đến  $89,45 \pm 5,15$  mm, thấp hơn chiều cao trung bình của cây WT (khoảng  $95,37 \pm 16,81$  mm), tuy nhiên sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ).

Kết quả này cho thấy, đột biến gen *HSC70* có tác động tiêu cực đến sự tăng trưởng chiều cao của cây cà chua, với mức độ ảnh hưởng khác nhau phụ thuộc vào vị trí của đột biến (hình 4A).



**Hình 3.** So sánh tỷ lệ nảy mầm (A) và chiều cao cây (B) giữa thể đột biến *HSC70* so với cây đối chứng kiểu dại. Biểu đồ cột thể hiện giá trị Mean  $\pm$ SD của tỷ lệ nảy mầm được tính bằng tỷ lệ số cây non mọc lên từ 30 hạt ban đầu (A) và chiều cao trung bình của 30 cây ngẫu nhiên từ mỗi thể đột biến, so sánh với WT (B).

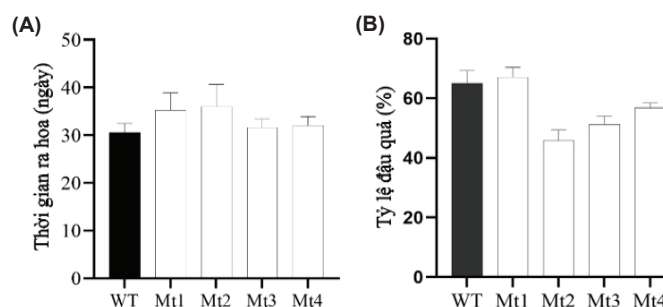


**Hình 4.** Chiều cao cây (A) và cấu trúc lá (B) của cây cà chua mang đột biến gen *HSC70*.

Phân tích cấu trúc lá cho thấy, không có sự khác biệt rõ ràng về hình dạng và độ phức tạp của lá giữa cây đột biến so với cây WT, điều này chứng tỏ đột biến *HSC70* không ảnh hưởng đến hình thái và cấu trúc của lá cây cà chua (hình 4B).

### 3.4. Đột biến gen *HSC70* có thể làm giảm tỷ lệ đậu quả cà chua

Cây WT cần trung bình khoảng  $30,59 \pm 1,86$  ngày kể từ khi gieo hạt để bắt đầu ra hoa, trong khi cây đột biến cần  $31,63 \pm 1,7$  đến  $35,31 \pm 3,59$  ngày để đạt được trạng thái tương tự (hình 5A). Kết quả trên chỉ ra rằng, đột biến gen *HSC70* không có ảnh hưởng rõ ràng đến thời gian ra hoa của cây cà chua ( $p > 0,05$ ).



**Hình 5.** So sánh thời gian ra hoa (A) và tỷ lệ đậu quả (B) của cây cà chua mang đột biến gen *HSC70* với WT.

Tỷ lệ đậu quả được đánh giá trên tổng số hoa nở sau 1 tháng kể từ khi bắt đầu ra hoa. Tỷ lệ đậu quả của WT là 66%, trong khi cây đột biến có tỷ lệ đậu quả khoảng 45% (dòng Mt2) đến 67% (dòng Mt1) (hình 5B). Phân tích thống kê cho thấy, tỷ lệ đậu quả của dòng đột biến Mt2 đã giảm rõ rệt so với dòng WT ( $p < 0,0001$ ). Ngược lại, tỷ lệ đậu quả của các dòng đột biến Mt1, Mt3 và Mt4 không thể hiện sự khác biệt mang ý nghĩa thống kê so với WT ( $p > 0,05$ ). Điều này khẳng định rằng, đột biến vô nghĩa ở gen *HSC70* có ảnh hưởng tiêu cực đến khả năng đậu quả của cà chua, trong khi đột biến sai nghĩa chưa có tác động rõ ràng đến khả năng đậu quả. Do đó, cần phải nghiên cứu sâu hơn về mối liên hệ giữa đột biến gen *HSC70* đến tỷ lệ đậu quả của cà chua.

*HSC70* là một gen thành viên trong họ gen *HSP70*, một họ gen đa thành viên, có tính bảo thủ cao trong trình tự và cấu trúc protein [22]. Cấu trúc các protein HSP70 đã được mô tả bao gồm vùng đầu N liên kết với nucleotide, hay N-terminal nucleotide binding domain (NBD), có kích thước 44 kDa, có hoạt tính ATPase và 1 vùng đầu C có kích thước khoảng 30 kDa, còn gọi là vùng liên kết peptide (peptide-binding domain) hoặc vùng liên kết cơ chất (substrate-binding domain, SBD) [23-25]. Vùng NBD có chức năng phân giải ATP thành ADP và cung cấp năng lượng cho các hoạt động của tế bào, trong khi vùng SBD liên kết với các đồng yếu tố khác như *HSP90*, *HSP40* nhằm điều hòa tốc độ trao đổi cơ chất, đồng thời kích thích hoạt động phân giải ATP [26]. Nghiên cứu cấu trúc phân tử protein HSC70 ở nấm men và động vật có vú cho thấy, protein này có kích thước khoảng 646 amino acid, trong đó vùng NBD có trình tự amino acid từ 1 đến 383. Các vị trí quan trọng trong vùng này bao gồm các amino acid Serine (S), Threonine (T), các trình tự tạo nên cấu trúc alpha helix (G230-H249 và K257-S275), cấu trúc beta-sheet (Q279-I284 và F293-T298) trực tiếp tham gia vào hoạt động phân giải ATP [27].

Protein HSC70 ở cây cà chua có độ dài 648 amino acid, tương đương với độ dài của protein HSC70 ở nấm men. Do đó, 4 đột biến của gen *HSC70* trong nghiên cứu này nhiều khả năng đều nằm trong vùng NBD của protein HSC70. 3 đột biến sai nghĩa (Mt1, Mt3 và Mt4) chỉ làm thay đổi 1 amino acid tương ứng ở vị trí G37, Q285 và M313 trong trình tự protein HSC70. Sự thay thế amino acid ở những vị trí kể trên đều không nằm trong khu vực tạo nên cấu trúc alpha helix,  $\beta$ -sheet, do đó chúng không ảnh hưởng quá nghiêm trọng đến chức năng của protein, dẫn đến kiểu hình của thể đột biến không có thay đổi đáng kể. Trong khi đó, đột biến Mt2 làm cho protein HSC70 bị cắt ngắn 68% (441/648 amino acid) so với đối chứng, bao gồm toàn bộ vùng SBD và một phần của vùng NBD. Protein HSC70 sau khi cắt ngắn bị mất chức năng liên kết với cơ chất và có thể bị mất hoạt tính phân giải ATP do thiếu các cấu trúc alpha helix và  $\beta$ -sheet, do đó ảnh hưởng trực tiếp đến kiểu hình của thể đột biến, bao gồm làm thấp cây, giảm tỷ lệ nảy mầm của hạt và giảm khả năng đậu quả. Những ảnh hưởng tiêu cực của đột biến vô nghĩa trong gen *HSC70* đối với chiều cao cây, tỷ lệ nảy mầm và khả năng đậu quả của cà chua chưa từng được công bố trước đây. Do đó, những phát hiện này có thể cung cấp những hiểu biết ban đầu để nghiên cứu tiếp theo tìm hiểu sâu hơn về cơ chế ảnh hưởng của gen *HSC70* đối với sự nảy mầm, sinh trưởng và quá trình tạo quả cà chua.

#### 4. Kết luận

Nghiên cứu này đã đánh giá vai trò của gen *HSC70* đối với sự phát triển và khả năng đậu quả của cây cà chua. Sự biểu hiện của gen *HSC70* được tìm thấy ở hầu hết các mô, cơ quan và trong các giai đoạn sinh trưởng, phát triển khác nhau của cây cà chua. Vai trò của gen *HSC70* đối với sinh trưởng của cây cà chua được đánh giá thông qua phân tích kiểu hình của các thể đột biến. Đột biến vô nghĩa làm xuất hiện bộ ba kết thúc sớm, do đó làm trình tự protein HSC70 bị ngắn lại, gây ảnh hưởng đến chức năng của protein, dẫn đến kiểu hình thay đổi, bao gồm gây thấp cây, giảm tỷ lệ nảy mầm của hạt và tỷ lệ đậu quả. Đột biến sai nghĩa không làm thay đổi kiểu hình của cây cà chua do những đột biến này không nằm ở những vị trí quan trọng liên quan đến cấu trúc và chức năng của protein HSC70. Hình dạng và cấu trúc lá, cũng như thời gian ra hoa của cây cà chua không bị ảnh hưởng bởi đột biến gen *HSC70*.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] J.K. Willcox, G.L. Catignani, S. Lazarus (2003), "Tomatoes and cardiovascular health", *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **43(1)**, pp.1-18, DOI: 10.1080/10408690390826437.
- [2] A. Gerszberg, K.H. Konka (2017), "Tomato tolerance to abiotic stress: A review of most often engineered target sequences", *Plant Growth Regulation*, **83(2)**, pp.175-198, DOI:10.1007/s10725-017-0251-x.
- [3] M.D. Campos, M. Patanita, M.D.R. Felix, et al. (2021), "High throughput sequencing unravels tomato-pathogen interactions towards a sustainable plant breeding", *Horticulture Research*, **8(1)**, DOI: 10.1038/s41438-021-00607-x.
- [4] J.M. Xu, M.W. Arts, C. Mariani, et al. (2017), "Heat stress affects vegetative and reproductive performance and trait correlations in tomato (*Solanum lycopersicum*)", *Euphytica*, **213(7)**, DOI:10.1007/s10681-017-1949-6.
- [5] Z. Wu, X. Yu, C.O. Ottosen, et al. (2017), "Drought stress had a predominant effect over heat stress on three tomato cultivars subjected to combined stress", *BMC Plant Biology*, **17(1)**, DOI: 10.1186/s12870-017-0974-x.
- [6] K. Tanveer, S. Gilani, Z. Hussain, et al. (2020), "Effect of salt stress on tomato plant and the role of calcium", *Journal of Plant Nutrition*, **43(1)**, pp.28-35, DOI: 10.1080/01904167.2019.1659324.
- [7] C.E. Bitá, T. Gerats (2013), "Plant tolerance to high temperature in a changing environment: Scientific fundamentals and production of heat stress-tolerant crops", *Frontiers in Plant Science*, **4**, DOI: 10.3389/fpls.2013.00273.
- [8] G.W. Bassel, R.T. Mullen, J.D. Bewley (2008), "Procera is a putative DELLA mutant in tomato (*Solanum lycopersicum*): Effects on the seed and vegetative plant", *J. Exp. Bot.*, **59(3)**, pp.585-593, DOI: 10.1093/jxb/erm354.
- [9] F. McLoughlin, M. Kim, R.S. Marshall, et al. (2019), "*HSP101* interacts with the proteasome and promotes the clearance of ubiquitylated protein aggregates", *Plant Physiol*, **180(4)**, pp.1829-1847, DOI: 10.1104/pp.19.00263.
- [10] J. Cheng, H. Yang, C. Shang, et al. (2019), "The roles of auxin biosynthesis YUCCA gene family in plants", *International Journal of Molecular Sciences*, **20(24)**, DOI: 10.3390/ijms20246343.
- [11] H. Wang, B. Jones, Z. Li, et al. (2005), "The tomato Aux/IAA transcription factor IAA9 is involved in fruit development and leaf morphogenesis", *The Plant Cell*, **17(10)**, pp.2676-2692, DOI: 10.1105/tpc.105.033415.
- [12] T. Zhao, T. Wu, T. Pei, et al. (2021), "Overexpression of SIGATA17 promotes drought tolerance in transgenic tomato plants by enhancing activation of the phenylpropanoid biosynthetic pathway", *Frontiers in Plant Science*, **12**, DOI: 10.3389/fpls.2021.634888.

- [13] A. Hahn, D. Bublak, E. Schleiff, et al. (2011), “Crosstalk between *HSP90* and *HSP70* chaperones and heat stress transcription factors in tomato”, *Plant Cell*, **23**(2), pp.741-755, DOI: 10.1105/tpc.110.076018.
- [14] F. Ritossa (1962), “A new puffing pattern induced by temperature shock and DNP in *Drosophila*”, *Experientia*, **18**(12), pp.571-573, DOI: 10.1007/BF02172188.
- [15] N. Duck, S. McCormick, J. Winter (1989), “Heat shock protein *HSP70* cognate gene expression in vegetative and reproductive organs of *Lycopersicon esculentum*”, *Proceedings of The National Academy of Sciences*, **86**(10), pp.3674-3678, DOI: 10.1073/pnas.86.10.3674.
- [16] N.B. Duck, W.R. Folk (1994), “*HSP70* heat shock protein cognate is expressed and stored in developing tomato pollen”, *Plant Molecular Biology*, **26**(4), pp.1031-1039, DOI: 10.1007/BF00040686.
- [17] D.M. Goodstein, S. Shu, R. Howson, et al. (2012), “Phytozome: A comparative platform for green plant genomics”, *Nucleic Acids Research*, **40**(D1), pp.1178-1186, DOI: 10.1093/nar/gkr944.
- [18] B. Hu, J. Jin, A.Y. Guo, et al. (2015), “GSDS 2.0: An upgraded gene feature visualization server”, *Bioinformatics*, **31**(8), pp.1296-1297, DOI: 10.1093/bioinformatics/btu817.
- [19] K.J. Livak, T.D. Schmittgen (2001), “Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) method”, *Methods*, **25**(4), pp.402-408, DOI: 10.1006/meth.2001.1262.
- [20] J. Doyle (1991), “DNA protocols for plants”, *Molecular Techniques in Taxonomy*, Springer, Berlin, Heidelberg, **57**, pp.283-293, DOI: 10.1007/978-3-642-83962-7\_18.
- [21] K. Shirasawa, H. Hirakawa, T. Nunome, et al. (2016), “Genome-wide survey of artificial mutations induced by ethyl methanesulfonate and gamma rays in tomato”, *Plant Biotechnol Journal*, **14**(1), pp.51-60, DOI: 10.1111/pbi.12348.
- [22] E. Yu, T. Yoshinaga, F.L. Jalufka, et al. (2021), “The complex evolution of the metazoan *HSP70* gene family”, *Scientific Reports*, **11**(1), DOI: 10.1038/s41598-021-97192-9.
- [23] D.Y. Sung, F. Kaplan, C.L. Guy (2001), “Plant *HSP70* molecular chaperones: Protein structure, gene family, expression and function”, *Physiologia Plantarum*, **113**(4), pp.443-451, DOI: 10.1034/j.1399-3054.2001.1130402.x.
- [24] F.U. Hartl (2006), “Molecular chaperones of the *HSP110* family act as nucleotide exchange factors of *HSP70S*”, *Embo J.*, **25**(11), pp.2519-2528, DOI: 10.1038/sj.emboj.7601138.
- [25] D. Sharma, D.C. Masison (2009), “*HSP70* structure, function, regulation and influence on yeast prions”, *Protein & Peptide Letter*, **16**(6), pp.571-581, DOI: 10.2174/092986609788490230.
- [26] T. Liu, C.K. Daniels, S. Cao (2012), “Comprehensive review on the *HSC70* functions, interactions with related molecules and involvement in clinical diseases and therapeutic potential”, *Pharmacology & Therapeutics*, **136**(3), pp.354-374, DOI: 10.1016/j.pharmthera.2012.08.014.
- [27] Y. Liu, L.M. Gierasch, I. Bahar (2010), “Role of *HSP70* ATPase domain intrinsic dynamics and sequence evolution in enabling its functional interactions with NEFs”, *PLOS Computational Biology*, **6**(9), DOI: 10.1371/journal.pcbi.1000931.