

P-GE17: ỨNG DỤNG HỆ THỐNG CRISPR/CAS9 TẠO ĐỘT BIẾN NHẪM NÂNG CAO HÀM LƯỢNG ĐƯỜNG VÀ AXIT AMIN TRONG QUẢ CÀ CHUA**Nguyễn Hồng Nhung^{1,2}, Bùi Phương Thảo¹, Lê Thị Trà My¹, Chu Hoàng Hà^{1,3}, Đỗ Tiên Phát^{1,3*}**¹ Viện Công nghệ sinh học - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam² Viện Nghiên cứu hệ gen - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam³ Học Viện Khoa học và Công nghệ - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam**TÓM TẮT**

Hàm lượng đường và axit amin là một trong những tiêu chí cơ bản quyết định chất lượng và hương vị của quả cà chua (*Solanum lycopersicum*). Trên cây cà chua, gen *SibZIP1* và *SibZIP2* đã được chứng minh là có ảnh hưởng đến quá trình tích lũy đường và quá trình sinh tổng hợp các axit amin. Sản phẩm hoạt động của hai gen này chịu sự điều khiển của vùng không phiên mã phía trước của mỗi gen (uORFs). Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã phân tích trình tự của các gen *SibZIP1*, *SibZIP2* và vùng uORFs tương ứng của mỗi gen trên giống cà chua Việt Nam PT18. Các vector chuyển gen mang cấu trúc CRISPR/Cas9 với các trình tự định hướng gRNAs được xây dựng nhằm tạo đột biến đơn hoặc đồng thời vùng uORFs của các gen. Sử dụng quy trình chuyển gen thông qua vi khuẩn *Agrobacterium tumefaciens*, chúng tôi đã thu nhận được các dòng cà chua chuyển gen từ hai cấu trúc chỉnh sửa. Kết quả giải trình tự gen cho thấy các đột biến mất đoạn lớn (136 bp và 192 bp) tại vùng uORF của gen *SibZIP1* của các dòng cà chua chuyển gen. Ngoài ra, chúng tôi đã thu được các dòng cà chua đột biến đồng hợp tử ngay từ thế hệ chuyển gen đầu tiên (T₀). Thêm vào đó, các đột biến mất đoạn nhỏ đồng thời tại hai vùng uORFs của gen *SibZIP1* và *SibZIP2* đã được ghi nhận. Nghiên cứu đang được thực hiện nhằm đánh giá sự di truyền và phân ly của các đột biến tạo được đồng thời phân tích sự thay đổi hàm lượng đường cũng như axit amin trong quả của các dòng cà chua đột biến.

Từ khóa: Axit amin, cà chua, CRISPR/Cas9, gen *SibZIP*, hàm lượng đường.

APPLYING CRISPR/CAS9 SYSTEM TO GENERATE MUTANT TOMATO FRUITS ACCUMULATING A HIGH CONTENT OF SOLUBLE SUGAR AND SWEET-TASTING AMINO ACIDS**Nhung Hong Nguyen^{1,2}, Thao Phuong Bui¹, My Thi Tra Le¹, Ha Hoang Chu^{1,3}, Phat Tien Do^{1,3*}**¹ Institute of Biotechnology - Vietnam Academy of Science and Technology² Institute of Genome Research - Vietnam Academy of Science and Technology³ Graduate university of Science and Technology - Vietnam Academy of Science and Technology**SUMMARY**

The content of soluble sugar and sweet-tasting amino acids of tomato (*Solanum lycopersicum*) fruit was one of primary determinants of quality and taste. *SibZIP1* and *SibZIP2* genes in tomato were demonstrated affecting the processes of soluble sugar accumulation and amino acid biosynthesis. It was also determined that uORFs (upstream open reading frame) modulated the translation of *SibZIP1* and *SibZIP2* genes, respectively. In this study, *SibZIP1* gene, *SibZIP2* gene, and respective uORFs were identified in tomato cultivar PT18. Transformation vectors harboring CRISPR/Cas9 cassette in company with guide-RNAs (gRNAs) were designed to generate a single gene mutation or a dual gene mutation in targeted respective uORFs. Transgenic tomato lines for both of the constructs were generated via the *Agrobacterium tumefaciens* – mediated transformation. In transgenic lines, sequencing results indicated large fragment deletions (136 bp and 192 bp) in the target site of *SibZIP1* gene. Furthermore, we obtained homozygous mutant lines in initial transgenic generation (T₀). In addition, small fragment deletions were detected in respective uORF regions of both of *SibZIP1* and *SibZIP2* genes. We have been evaluating the genetics and the segregation of mutants in parallel with analyzing the change of soluble sugar content and sweet-tasting amino acid content in mutant tomato lines.

Keywords: amino acid, tomato, CRISPR/Cas9, *SibZIP* gene, soluble sugar content.

* Author for correspondence: Tel: +84-374212304; Email: dtphat@ibt.ac.vn