

Triển vọng ứng dụng công nghệ chỉnh sửa gen (CRISPR/Cas) phục vụ chọn tạo giống cây trồng, vật nuôi tại Việt Nam

PGS.TS Phạm Công Hoạt¹, PGS.TS Nguyễn Thị Bích Ngọc²,
ThS Phạm Lê Anh Tuấn³, TS Lê Huỳnh Thanh Phương⁴, TS Phạm Văn Tiềm¹

¹Bộ Khoa học và Công nghệ

²Viện Công nghệ Sinh học

³Trường Đại học Y Hà Nội

⁴Học viện Nông nghiệp Việt Nam

CRISPR (clustered regularly interspaced short palindromic repeats) là một trong những công nghệ chỉnh sửa gen hiện đại nhất hiện nay. Trong đó, CRISPR-Cas9 được xem là công nghệ quan trọng nhất, khởi đầu của kỷ nguyên công nghệ sinh học mới, giúp chỉnh sửa thông tin di truyền của mọi tế bào một cách nhanh chóng và chính xác. Bài viết giới thiệu triển vọng ứng dụng công nghệ này trong chọn tạo giống cây trồng, vật nuôi theo định hướng cải thiện chất lượng và tăng tính chống chịu tại Việt Nam.

CRISPR/cas9 - “chiếc kéo phân tử” đa năng

CRISPR/Cas là hệ thống đáp ứng miễn dịch ở tế bào vi khuẩn, được phát hiện trong thập niên 80 của thế kỷ trước. Hệ thống này được quan tâm và phát triển mạnh mẽ sau thành công đầu tiên trong việc chỉnh sửa hệ gen vào năm 2013. Với ưu điểm là dễ dàng thiết kế và sử dụng, độ chính xác cao..., CRISPR/Cas được xem là hệ thống có hiệu quả vượt trội so với các hệ thống chỉnh sửa gen trước đây. Hệ thống này đang được phát triển và ứng dụng rộng rãi trong nhiều lĩnh vực như nghiên cứu chức năng gen, điều hòa hoạt động của hệ gen, liệu pháp trong điều trị bệnh trên người và động vật, tăng cường năng suất và chất lượng cây trồng, vật nuôi...

Với ưu điểm là dễ dàng thiết kế và ứng dụng, đồng thời hiệu quả chỉnh sửa gen cao, hệ thống

CRISPR/Cas đang được ứng dụng rộng rãi trên nhiều đối tượng nghiên cứu khác nhau như vi sinh vật, thực vật, động vật và cả trên tế bào người.

Trên người, CRISPR/Cas9 được ứng dụng trong nghiên cứu điều trị bệnh về Leukaemia, AIDS và các bệnh liên quan đến ung thư... Các nghiên cứu trên động vật nhằm tăng cường khả năng chống chịu với bệnh hại, tăng năng suất và sản lượng của vật nuôi, nâng cao chất lượng sữa... Công nghệ này cũng được nghiên cứu và ứng dụng trên các đối tượng vi sinh vật nhằm phục vụ sản xuất thuốc, phát triển các vật liệu mới, tăng cường hiệu quả sản xuất nhiên liệu sinh học... [1]. Số lượng các công bố khoa học liên quan đến hệ thống chỉnh sửa gen CRISPR/Cas có sự tăng vọt trong những năm gần đây. Năm 2012 mới có trên 100 báo cáo về ứng dụng CRISPR/Cas9 trong chỉnh sửa hệ gen, nhưng con số

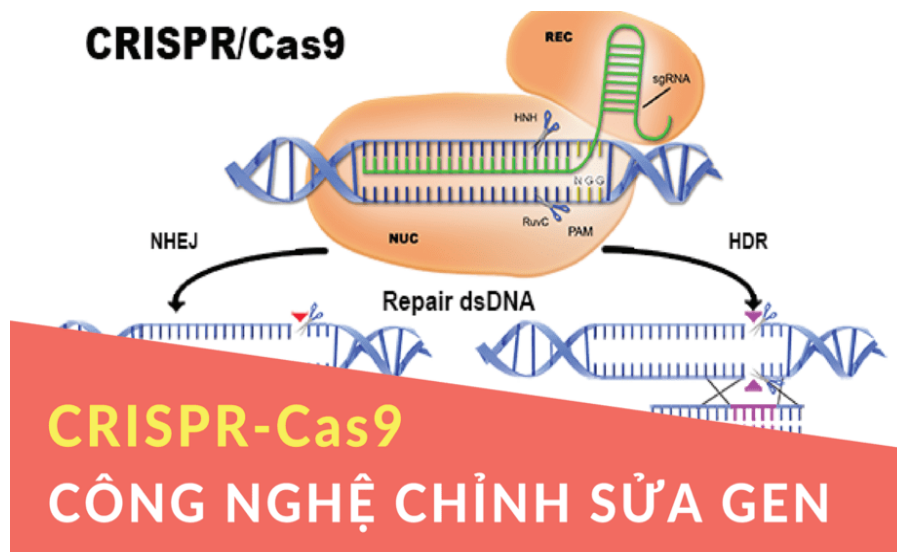
này đã tăng lên đến hơn 2.000 vào năm 2017, khẳng định sự hấp dẫn, tính hiệu quả cũng như tiềm năng của công nghệ này. Không dừng lại ở đó, các nhà khoa học tiếp tục cải tiến và phát triển hệ thống này nhằm phục vụ các nghiên cứu sâu hơn về biểu hiện của gen, điều hòa hoạt động của gen, nâng cao tính đặc hiệu của hệ thống, cũng như tạo ra các thế hệ mới của protein Cas9... [2].

Trên đối tượng thực vật, hệ thống CRISPR/Cas9 đã được ứng dụng thành công trong chỉnh sửa hệ gen của nhiều loài thực vật khác nhau, bao gồm cả loại 1 và 2 lá mầm. Hệ thống CRISPR/Cas9 có thể tạo ra các đột biến theo định hướng, có thể tác động tới nhiều gen cùng một lúc và đặc biệt là các đột biến tạo được không mang theo bất cứ trình tự DNA ngoại lai nào trong hệ gen [3]. Do vậy, công nghệ chỉnh sửa hệ gen thông qua hệ thống CRISPR/Cas9 đang được xem là

■ Khoa học - Công nghệ và Đổi mới sáng tạo

phương pháp hiệu quả và chính xác nhất được sử dụng trong chọn tạo giống cây trồng. Trong các công bố gần đây, hàng loạt các tính trạng quý đã được tạo ra khi sử dụng hệ thống CRISPR/Cas9 như: nâng cao chất lượng nông sản, tăng tính kháng virus, vi khuẩn, nấm, thuốc trừ cỏ...; tăng tính chống chịu điều kiện ngoại cảnh bất lợi bao gồm hạn hán, lạnh, mặn, thiếu dinh dưỡng... [4]. Tính đến thời điểm hiện tại, 3 loại cây trồng gồm cải dầu (canola), ngô và nấm với những tính trạng quý tạo được bằng công nghệ chỉnh sửa hệ gen CRISPR/Cas9 đang được đánh giá thử nghiệm cho sản xuất.

Trong lĩnh vực chọn tạo giống cây trồng, CRISPR/Cas9 đã được áp dụng thành công trong việc tạo ra các đột biến tiềm năng trên trình tự gen mong muốn. Với các phương pháp tạo đột biến truyền thống như sử dụng phóng xạ hay hóa chất, các đột biến tạo ra hoàn toàn ngẫu nhiên và không thể kiểm soát. Tuy nhiên, ở hệ thống CRISPR/Cas9, các đột biến được tạo ra chính xác trên các vị trí đã định hướng. Đột biến có thể được tạo ra trên từng gen hay nhiều gen, thậm chí là trên các họ gen khác nhau. Hiện nay, sự phát triển nguồn dữ liệu về hệ gen của nhiều loài thực vật đã mở ra tiềm năng to lớn trong cải tạo giống cây sử dụng hệ thống chỉnh sửa gen CRISPR/Cas9. Hệ thống này đang được nghiên cứu, ứng dụng nhằm nâng cao năng suất, chất lượng cây trồng, tăng cường khả năng chống chịu với sâu bệnh và điều kiện ngoại cảnh bất lợi cũng như tạo ra các đặc điểm và tính trạng mới cho cây trồng... Đặc biệt, các dòng cây mang các tính trạng nông học quý được tạo ra



bằng công nghệ này không chứa đựng bất kỳ đoạn ADN ngoại lai nào trong hệ gen nên không được xem là cây trồng biến đổi gen và được sử dụng như các giống cây trồng tạo được bằng các phương pháp truyền thống.

Ứng dụng CRISPR/cas9 tại Việt Nam

Ở Việt Nam, công nghệ chỉnh sửa hệ gen sử dụng hệ thống CRISPR/Cas9 đang được tiếp cận, ứng dụng triển khai vào thực tiễn tại một số đơn vị và bước đầu mang lại kết quả khả quan. Tại Viện Di truyền Nông nghiệp, các kết quả nghiên cứu phân lập gen và thiết kế vector biểu hiện gen đã được Viện triển khai nhằm tạo nguồn vật liệu di truyền cho các nghiên cứu chuyển gen, tạo cây trồng biến đổi gen có khả năng chống chịu với điều kiện bất lợi. Viện đã phân lập được 19 gen điều khiển tăng cường tính chịu hạn phục vụ nghiên cứu tạo giống cây trồng chuyển gen chịu hạn và đã xây dựng được quy trình chuyển gen vào giống lúa Indica (PB1), Japonica (J02), ngô, đậu tương và thuốc lá.

Tại Viện Công nghệ Sinh học,

trong khuôn khổ các đề tài hợp tác quốc tế cũng như các dự án trong nước, hệ thống chỉnh sửa gen CRISPR/Cas9 đã được xây dựng và ứng dụng thành công trên một số cây trồng quan trọng như đậu tương, thuốc lá, đu đủ. Xuất phát từ đòi hỏi của thực tế sản xuất ở Việt Nam cần thiết phải có các giống cây đu đủ và cam quýt kháng bệnh, nhóm các nhà khoa học của Viện đã thực hiện đề tài "Nghiên cứu tạo giống cây ăn quả kháng bệnh virus phổ rộng bằng chuyển gen đa đoạn". Kết quả, đã tách dòng và xác định trình tự thành công các đoạn gen CP, Nib của PRSV; CP, CPm và RDRP của CTV; hoàn thiện quy trình đánh giá cây chuyển gen kháng virus trong phòng thí nghiệm và ngoài nhà lưới; đã tạo được cây đu đủ chuyển gen kháng bệnh đốm vòng và cây cam quýt kháng bệnh tàn lụi. Hiện tại, nhóm nghiên cứu tại Phòng Công nghệ tế bào thực vật của Viện đã thành công trong ứng dụng hệ thống CRISPR/Cas9 tạo đột biến gen trên cây đậu tương và thuốc lá. Kết quả cho thấy hiệu suất tạo đột biến rất cao (>90% với đậu tương, 20-40% với thuốc lá).

Ngoài ra, đột biến có thể tạo được trên đơn gen, đa gen và có thể di truyền ổn định qua các thế hệ tiếp theo. Kết quả phân tích cho thấy, đột biến tạo được thông qua CRISPR/Cas9 không ảnh hưởng tới khả năng sinh trưởng, phát triển của cây đậu tương và thuốc lá so với giống gốc.

Thông qua việc thực hiện đề tài “Nghiên cứu ứng dụng công nghệ chỉ thị phân tử và chỉnh sửa hệ gen trong chọn tạo giống lúa năng suất, chất lượng, chống chịu sâu bệnh và bất lợi ngoại cảnh” thuộc Chương trình đổi mới công nghệ quốc gia đến năm 2020, Công ty Cổ phần Giống cây trồng Thái Bình đã góp phần quan trọng đẩy mạnh việc ứng dụng công nghệ chỉnh sửa gen trên một số giống lúa nền của Công ty như: biểu hiện của promoter/gen mục tiêu liên quan đến tính kháng bệnh/cơ chế xâm nhiễm của mầm bệnh (bạc lá/đạo ôn); xây dựng thành công quy trình chuyển gen vào giống lúa chủ lực (TBR225/BC15 - giống lúa này nếu bị úng vài ngày chỉ cần còn 1 dẻ, hay gốc lúa cũng có thể dẻ thành khóm lúa to, cho năng suất cao và cơm rất ngon); đánh giá, chọn lọc các thế hệ G0 để nhân duy trì hạt giống A17 vụ mùa; chọn lọc và đánh giá dòng G1 trên giống A17, A22 ở vụ xuân.

Tại Học viện Nông nghiệp Việt Nam, thông qua việc thực hiện đề tài độc lập cấp quốc gia “Nghiên cứu cải tạo bò vàng Việt Nam theo hướng chuyên thịt bằng công nghệ chỉnh sửa gen CRISPR/Cas9”, các nhà khoa học trong nước đã làm chủ quy trình tạo phôi bò mang gen MSTN được chỉnh sửa; tạo 500 phôi bò thụ tinh trong ống nghiệm có tỷ lệ chỉnh sửa gen tối thiểu 5%, trong đó có 20

phôi (dâu và nang) đã được chỉnh sửa bằng công nghệ CRISPR/Cas9; đã lai tạo thành công 3 bê con mang gen MSTN được chỉnh sửa, giúp tăng lượng cơ tối thiểu 15% sau 12 tháng... Bên cạnh đó, Học viện cũng đã nghiên cứu chọn tạo được giống lúa có đa tính trạng ưu việt: thời gian sinh trưởng ngắn, năng suất cao >7,0 tấn/ha, chất lượng tốt (gạo trong, tỷ lệ gạo nguyên cao >55%, hàm lượng amylose trung bình thấp từ 18-22%, có mùi thơm), chống chịu tốt với nhiều loại sâu bệnh (rầy nâu, bạc lá, đạo ôn và khô vằn), thích ứng rộng, chống chịu với hạn và mặn; nghiên cứu sự tương tác giữa các nhóm vùng gen trong genome cây lúa, tiến tới tạo giống lúa lý tưởng, đa dụng, rơm rạ dùng làm thức ăn cho gia súc và sản xuất nhiên liệu sinh học (ethanol), gạo vừa làm thực phẩm vừa làm thuốc do chứa anthocyanin, một chất chống ô xy hóa, phòng chống bệnh ung thư, phục vụ xã hội. Hiện tại, các nhà khoa học của Học viện đang tiến hành nghiên cứu sử dụng hệ thống CRISPR/Cas9 tạo đột biến định hướng trên gen IAA9 ở cây cà chua nhằm tạo dòng cà chua mang đặc điểm tính trạng của dòng không hạt...

Những kết quả bước đầu đã đạt được tại một số đơn vị cho thấy khả năng làm chủ kỹ thuật và công nghệ chỉnh sửa hệ gen cũng như tiềm năng ứng dụng của công nghệ này ở Việt Nam. Thành công bước đầu này mở rộng khả năng trao đổi thông tin, kỹ thuật cũng như nâng cao sự kết nối giữa các đơn vị, trung tâm nghiên cứu, các cơ sở đào tạo trong nước nhằm thúc đẩy việc ứng dụng công nghệ này trong chọn tạo giống cây trồng, vật nuôi.

Thay lời kết

Ở nước ta, công nghệ chỉnh sửa gen là lĩnh vực còn mới mẻ. Đẩy mạnh hướng nghiên cứu này, chúng ta có thể tạo ra những giống cây trồng (lúa) có sức chống chịu dịch bệnh, chống chịu các điều kiện bất lợi cao, thích ứng với môi trường khắc nghiệt; hoặc tạo ra các giống vật nuôi như bò vàng, có hệ cơ phát triển, khối lượng và tỷ lệ thịt xẻ tăng mà không làm ảnh hưởng đến những ưu việt của giống bò này (tính mắn đẻ, khả năng chống chịu tốt với bệnh tật và điều kiện bất lợi từ thời tiết, chăn thả dễ dàng...), đồng thời giúp giảm đáng kể chi phí nhập khẩu giống mới và góp phần bảo tồn giống bò bản địa... ✍

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] P.D. Hsu, D.A. Scott, J.A. Weinstein, F.A. Ran, S. Konermann, V. Agarwala, Y. Li, E.J. Fine, X. Wu, O. Shalem (2013), “DNA targeting specificity of RNA-guided Cas9 nucleases”, *Nat. Biotechnol.*, **31**, pp.827-832.
- [2] J. Song, D. Yang, J. Xu, T. Zhu, Y.E. Chen, J. Zhang (2016), “RS-1 enhances CRISPR/Cas9-and TALEN-mediated knock-in efficiency”, *Nat. Commun.*, **7**, p.10548.
- [3] L. Arora, A. Narula (2017), “Gene editing and crop improvement using CRISPR-Cas9 system”, *Plant Science*, **8**, p.1932.
- [4] D. Jaganathan, K. Ramasamy, G. Sellamuthu, S. Jayabalan, G. Venkataraman (2018), “CRISPR for crop improvement: An update review”, *Plant Science*, **9**, p.16786.