**TRANG THÔNG TIN LUẬN ÁN**

Tên đề tài luận án: Nghiên cứu tạo chủng đột biến tăng cường sinh astaxanthin từ nấm men *Rhodosporidium* *toruloides*

Ngành: Hoá sinh học

Mã số ngành: 62420116

Họ tên nghiên cứu sinh: Trần Thị Tuyết Nhung

Khóa đào tạo: K26-2016

Người hướng dẫn khoa học: PGS.TS Ngô Đại Nghiệp

Cơ sở đào tạo: Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQG.HCM

**1. TÓM TẮT NỘI DUNG LUẬN ÁN**:

Astaxanthin là một carotenoid có giá trị về mặt kinh tế, đã được tổ chức quản lý thuốc và thực phẩm Hoa Kỳ (FDA) chấp thuận để dùng làm chất tạo màu trong thực phẩm. Trong nghiên cứu này, bộ gen dự thảo của chủng nấm men *Rhodosporidium* *toruloides* VN1 đã được công bố trên DDBJ/EMBL/GeneBank với mã số truy cập là SJTE00000000. Từ chủng nấm men hoang dại ban đầu, đã đột biến tạo ra 4 chủng đột biến với 4 tác nhân tương ứng (UV, gamma, benomyl và EMS) cho khả năng sinh tổng hợp astaxanthin cao hơn chủng ba mẹ. Trong đó chủng cho khả năng sinh astaxanthin cao nhất là G17 (1990,26 µg/L cao gấp 5,4 lần chủng hoang dại). Qua phân tích sự khác biệt trong trình tự gen chịu trách nhiệm chính trong con đường sinh tổng hợp carotenoid bao gồm gen *car*1 (*crt*I) và *car*2 (*crt*YB) giữa chủng hoang dại *R. toruloides* VN1 và *R. toruloides* G17 cho thấy có sự mất đoạn xảy ra ở đầu mạch của cả hai gen này, phân tích dữ liệu genome cho thấy giữa chủng cha mẹ và G17 có xảy ra nhiều vị trí SNP và InDel do tác động của tia gamma. Phương pháp RSM với thiết kế thí nghiệm theo mô hình CCD đã được sử dụng để tối ưu ba thành phần chính của môi trường nuôi cấy cơ bản gồm nguồn carbon, nguồn nitơ và nguồn khoáng, kết quả xác định được giá trị tối ưu thành phần môi trường nuôi cấy là glucose 19,92 g/L, peptone 19,75 g/L và cao malt 13,56 g/L với kết quả tối ưu là 3012,68 µg/L, kết quả tối ưu đã được làm thí nghiệm kiểm chứng lại cho kết quả 3021,34 µg/L. Đối với môi trường rỉ đường thì kết quả thu nhận được giá trị tối ưu của bốn yếu tố ảnh hưởng là rỉ đường 49,596 g/L, urea 1,0 g/L, MgSO4 4,0909 g/L và tỉ lệ giống 9,9795 % với kết quả tối ưu là 1213,7 µg/L, kết quả tối ưu đã được làm thí nghiệm kiểm chứng lại cho kết quả 1262,08 µg/L. Cao chiết thô sau khi tinh sạch bằng ký thuật sắc ký cột và HLPC thu được astaxanthin tinh khiết, bằng phương pháp phân tích cộng hưởng từ NMR, astaxanthin thu nhận từ chủng nấm men đột biến *R. toruloides* G17 có cấu trúc all-*trans*-astaxanthin. Trong nghiên cứu này, cao thô và phân đoạn astaxanthin được thực hiện khảo sát kháng oxy hóa bằng phương pháp DPPH, so sánh với vitamin C và vitamin E. Giá trị IC50 của cao phân đoạn astaxanthin là 0,97 ± 0,01 µg/mL, thấp hơn 9,4 lần so với cao thô astaxanthin chưa được tinh sạch. Giá trị IC50­ của cao phân đoạn cũng thể hiện sự kháng oxy hóa vượt trội của astaxanthin so với các chất kháng oxy hóa phổ biến là vitamin C (IC50= 41,97 ± 2,01 µg/mL, cao hơn 43,3 lần) và vitamin E (IC50= 85,91 ± 0,91 µg/mL cao hơn 88,6 lần). Ngoài ra, astaxanthin còn thể hiện khả năng bảo vệ DNA trước tác động của gốc tự do khi DNA được bảo toàn đến 85,18 ± 5,98% tại nồng độ cao nhất của astaxanthin khảo sát là 400 µg /mL. Tại nồng độ astaxanthin cao nhất của khảo sát là 100 µg/mL, sự bảo vệ lipid màng tế bào tránh khỏi tác động của tác nhân oxy hóa lên đến 74,77 ± 0,88%. Astaxanthin thể hiện khả năng kháng lại sự oxy hóa protein mạnh, có thể giảm gốc carbonyl hình thành lên đến 83,41 ± 2,22% tại nồng độ cao nhất của khảo sát là 100 µg/mL. Sau 72 giờ ủ với tế bào trong môi trường nuôi cấy, astaxanthin thể hiện rõ sự chế phát triển của tế bào ung thư ở cả 3 dòng tế bào ung thư phổi A549, ung thư vú MCF7 và ung thư cổ tử cung HeLa và không gây độc đối với dòng tế bào thường HK2 (98% tế bào sống sót ở nồng độ 100 µg/mL sau 72 giờ nuôi cấy). Giá trị IC50 của các dòng tế bào ung thư A549, MCF7 và HeLa sau 72 giờ nuôi cấy lần lượt là 56,38 ± 4,1 µg/mL, 55,60 ± 2,64 µg/mL và 69,07 ± 2,4 µg/mL và đều khác biệt với mẫu đối chứng tại p < 0,05.

**2. NHỮNG KẾT QUẢ MỚI CỦA LUẬN ÁN**:

- Giải mã trình tự bộ gen của chủng nấm men *Rhodosporidium toruloides* VN1 được phân lập và định danh tại Việt Nam cho khả năng sinh tổng hợp astaxanthin.

- Từ chủng nấm men hoang dại ban đầu, đã đột biến tạo ra 4 chủng đột biến với 4 tác nhân tương ứng (UV, gamma, benomyl và EMS) là UV6, G17, B18 và E4 cho khả năng tăng sinh astaxanthin cao hơn chủng ba mẹ.

- Các enzyme trong con đường sinh tổng hợp astaxanthin bao gồm phytoene synthase/ lycopene cyclase và phytoene desaturase bị ảnh hưởng bởi tác nhân oxy hoá là tia gamma Coban60.

- Astaxanthin của chủng nấm men *Rhodosporidium toruloides* G17 có cấu trúc *all-trans* astaxanthin.

- Phương pháp đáp ứng bề mặt (RSM) mô hình CCD phù hợp với việc khảo sát sự ảnh hưởng của các thành phần môi trường nuôi cấy nấm men đến sự sinh tổng hợp astaxanthin.

- Astaxanthin của chủng nấm men *Rhodosporidium toruloides* G17 cho khả năng ức chế cao đối với các tế bào ung thư như ung thư phổi A549, ung thư vú MCF7 và ung thư cổ tử cung HeLa.

**3.** **CÁC ỨNG DỤNG/ KHẢ NĂNG ỨNG DỤNG TRONG THỰC TIỄN HAY NHỮNG VẤN ĐỀ CÒN BỎ NGỎ CẦN TIẾP TỤC NGHIÊN CỨU**

- Nghiên cứu nuôi cấy chủng *R. toruloides* G17 ở quy mô pilot hướng đến lên men công nghiệp để thu nhận astaxanthin ứng dụng trong thức ăn nuôi trồng thuỷ hải sản hoặc chất màu cho thực phẩm.

|  |  |
| --- | --- |
| **TẬP THỂ CÁN BỘ HƯỚNG DẪN**PGS.TS. Ngô Đại Nghiệp | **NGHIÊN CỨU SINH**Trần Thị Tuyết Nhung |

**XÁC NHẬN CỦA CƠ SỞ ĐÀO TẠO**

**HIỆU TRƯỞNG**