

## ĐA DẠNG DI TRUYỀN GEN HSP70 Ở MỘT SỐ GIỐNG GÀ NUÔI TẠI VIỆT NAM

Phạm Doãn Lâm<sup>1</sup>, Lê Quang Nam<sup>1</sup>, Nguyễn Văn Ba<sup>1</sup>, Trần Thị Thu Thủy<sup>1</sup>, Giang Thị Thanh Nhân<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Nga<sup>2</sup> và Hồ Xuân Tùng<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Phòng thí nghiệm trọng điểm công nghệ tế bào động vật - Viện Chăn nuôi; <sup>2</sup>Trung tâm nghiên cứu gia cầm Thụy Phương; <sup>3</sup>Trung tâm huấn luyện chăn nuôi

Tác giả liên hệ: Phạm Doãn Lâm; Email: pdlanvn@yahoo.com

### TÓM TẮT

Gen Hsp70 mã hóa phân tử protein sốc nhiệt có trọng lượng 70kDa. Protein Hsp70 là một họ của phân tử chaperone có khả năng thúc đẩy sự đóng gói protein và tham gia vào nhiều chức năng của tế bào, đặc biệt chúng bảo vệ một số protein và tế bào trước các stress môi trường. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá tính đa hình di truyền gen stress nhiệt Hsp70 ở bốn giống gà: Ri, TP, HA và LV. Hai vị trí đa hình vùng bắt đầu mã hoá gen Hsp70, tại vị trí 258 có đột biến từ nucleotide A (Adenin) chuyển thành G (Guanin) và tại vị trí 276 có sự đột biến từ nucleotide C (Cytosin) chuyển thành G (Guanin), được tiến hành phân tích bằng phương pháp giải trình tự. Sản phẩm PCR đoạn gen Hsp70 có kích thước 648 bp sau khi khuếch đại thành công từ các mẫu thuộc 4 giống gà (mỗi giống 500 mẫu) được tiến hành giải trình tự trực tiếp. Kết quả xác định được 4 haplotype (H1, H2, H3, H4) và 9 kiểu gen trong đó kiểu gen H1H4 và H2H3 giống nhau về hình ảnh giải trình tự. Đa dạng di truyền tại 2 vị trí A258G và C276G thể hiện cao nhất ở giống gà Ri với 10 kiểu gen: H1H1(2,9%), H1H2 (8,2%), H1H3 (7,5%), H1H4/H2H3 (34,4%), H2H2 (6,8%), H2H4 (3,2%), H3H3 (27,2%), H3H4 (7,5%), H4H4 (2,2%); tiếp đến là giống gà TP với 8 kiểu gen: H1H1(2,1%), H1H2 (5,3%), H1H3 (7,4%), H1H4/H2H3 (57,9%), H2H2 (2,1%), H2H4 (1,1%), H3H3 (24,2%); gà LV với 8 kiểu gen: H1H1(8,4%), H1H2 (3,7%), H1H3 (11,6%), H1H4/H2H3 (31,6%), H2H2 (5,3%), H3H3 (27,2%), H3H4 (11,6%); đa dạng di truyền thấp nhất ở giống gà HA với 3 kiểu gen: H1H4/H2H3 (64,2%), H2H2 (9,0%), H3H3 (26,8%)

**Từ khóa:** gen Hsp70, đa dạng di truyền, giải trình tự

### ĐẶT VẤN ĐỀ

Gen mã hóa protein sốc nhiệt Hsp70 nằm trên nhiễm sắc thể số 5, có chiều dài khoảng 2,4kb mã hóa cho 634 axit amin. Gen Hsp70 không chứa vùng intron, bao gồm 3 phần chính: Phần đầu 5' UTR khoảng 115 nucleotide, phần khung đọc mở (open reading frame) có chiều dài 1905 nucleotide, phần đầu 3' UTR có chiều dài 350 nucleotide. Protein Hsp70 có trọng lượng phân tử 70kDa có chức năng bảo vệ một số protein và các tế bào dưới tác động bất lợi của môi trường bằng cách thúc đẩy tái tạo nếp gấp ở protein, tham gia trực tiếp vào quá trình thoái hóa các protein đã bị biến tính, cũng như giúp giảm quá trình chết theo chương trình (apoptosis) trong tế bào bằng cách giảm tín hiệu bên trong nhờ sự tương tác với BAX (Bcl-2-associated X protein) là loại protein truyền tín hiệu khởi động quá trình apoptosis (Kiang và Tsokos, 1998). Protein Hsp70 có mối liên kết chặt chẽ với khả năng chống chịu nhiệt (Morimoto, 1998, 2008; Wang và Edens, 1993, 1998).

Đa hình trên gen Hsp70 của gà đã được một số tác giả nghiên cứu và công bố (Mazzi và cs., 2003; Tunim và cs., 2010; Hsiao-Mei Liang và cs., 2016; Duangjinda và cs., 2017). Mazzi và cs. (2003) đã chỉ ra 2 điểm đột biến tại vị trí A258G mã hoá axit amin Serine (đột biến từ A chuyển thành G ở bộ ba TCA) và C276G mã hoá axit amin Proline (đột biến từ C chuyển thành G ở bộ ba CCC) vùng bắt đầu mang mã gen Hsp70. Mặc dù những đột biến tại 2 vị trí nói trên là đột biến câm (không làm thay đổi axit amin của chuỗi protein), tuy nhiên nhiều tác giả đã chỉ ra rằng có mối liên quan giữa sự đột biến của 2 vị trí này đến mức độ biểu hiện của protein sốc nhiệt Hsp70 và khả năng chịu stress nhiệt ở gà đồng thời khuyến cáo sử dụng như là chỉ thị phân tử để chọn lọc dòng/giống gà có khả năng chịu stress nhiệt cho dù cơ chế về mối liên quan này hiện tại vẫn chưa được giải thích rõ (Mazzi và cs., 2003; Zhen và cs., 2006;

Duangduen và cs., 2007; Franco-Jimenez và cs., 2007; Gaviol và cs., 2008; Tamzil và cs., 2013, Duangjinda và cs., 2017).

Bốn giống gà Ri, gà LV, gà HA, gà TP được Trung tâm nghiên cứu Gia cầm Thụy Phương và Trung tâm Huấn luyện chăn nuôi Viện Chăn nuôi chọn tạo thành công từ các đề tài nghiên cứu trước, đây là những giống gà có hiệu quả kinh tế cao được các Trung tâm cung cấp con giống cho người chăn nuôi với số lượng lớn hàng năm. Trong nghiên cứu này chúng tôi tiến hành phân tích tính đa hình tại hai vị trí A258G và C276G gen Hsp70 ở 4 giống gà nói trên nhằm làm tiền đề cho việc chọn lọc các dòng/giống gà có khả năng chịu stress nhiệt.

## VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### Vật liệu nghiên cứu

Đối tượng của nghiên cứu là 4 giống gà Ri, gà TP, gà HA và gà LV. Trong đó các giống gà TP, gà HA, gà LV được nuôi tại Trung tâm Nghiên cứu Gia cầm Thụy Phương, giống gà Ri được nuôi tại Trung tâm Huấn luyện chăn nuôi, Viện Chăn nuôi. Các mẫu máu được tiến hành thu thập 0,5 ml từ ven dưới cánh từng cá thể bằng xi lanh, mỗi giống 500 mẫu. Các mẫu máu được chứa trong ống có chất chống đông heparin sau đó chuyển về phòng thí nghiệm trọng điểm công nghệ tế bào động vật Viện Chăn nuôi bảo quản tại 4°C và thực hiện các phân tích tiếp theo.

### Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện tại Phòng thí nghiệm trọng điểm công nghệ tế bào động vật Viện Chăn nuôi từ 6/2017 đến 12/2018.

### Phương pháp nghiên cứu

#### *Tách chiết ADN hệ gen*

ADN hệ gen được tách chiết từ các mẫu máu của 4 giống gà bằng bộ kit tách ADN của hãng Bioneer (Hàn Quốc). Chất lượng, nồng độ ADN được tiến hành kiểm tra trên điện di agarose 1% và máy đo quang phổ Nanodrop 2000.

#### *Nhân đặc hiệu đoạn gen Hsp70 bằng phản ứng PCR*

Một phần vùng khởi động và vùng bắt đầu mã hoá gen Hsp70 có kích thước 648 bp được nhân đặc hiệu bởi phản ứng PCR sử dụng cặp mồi theo công bố của Mazzi và cs. (2003) có trình tự như sau:

Mồi xuôi (F): 5'- GATTGGTCCTTAGCGTTCTGGC - 3'

Mồi ngược (R): 5'- CTGGGAGTCGTTGAAGTAAGCG -3'

Phản ứng PCR được thực hiện trong tổng thể tích 50 µl gồm các thành phần sau: 100ng ADN hệ gen (2µl); 0,3 µM mỗi loại mồi xuôi và mồi ngược; 200 µM dNTP; 1,5mM MgCl<sub>2</sub>; 2,5 UI Enzyme Taq polymerase (Thermo Scientific); 1X đệm PCR (Thermo Scientific); nước cất vô trùng. Phản ứng PCR được thực hiện theo chu trình nhiệt: Giai đoạn biến tính khởi đầu ở 94°C trong 5 phút, tiếp theo 35 chu kỳ với 94°C trong 1 phút; 58°C trong 1 phút; 72°C trong 1 phút. Giai đoạn kết thúc ở 72°C trong 10 phút.

#### *Phân tích đa hình đoạn gen Hsp70 bằng phương pháp giải trình tự gen*

Sản phẩm PCR đoạn gen Hsp70 được kiểm tra trên gel agarose 1%, sau đó được tinh sạch bằng bộ kit tinh sạch PCR của hãng Invitrogen (Thermo Scientific). Sản phẩm PCR sau khi

làm sạch được sử dụng là nguyên liệu cho phản ứng giải trình tự. Phản ứng giải trình tự được thực hiện theo bộ kit BigDye Terminator V 3.1. Làm sạch sau phản ứng giải trình tự bằng bộ kit BigDye® XTerminator™ Purification Kit. Tiến hành giải trình tự trên máy giải trình tự ABI 3130 sử dụng bộ POP7 và dây mao quản 36 cm (Capillary Array 36 cm).

### **Xử lý, phân tích số liệu**

Trình tự nucleotid đoạn gen Hsp70 của 4 giống gà được tiến hành phân tích so sánh để xác định các điểm đa hình, các haplotype và kiểu gen bằng các phần mềm BioEdit và R. Các haplotype (H1, H2, H3 và H4) được phân loại trên sự đa hình tại 2 vị trí A258G và C276G theo Zhen và cs. (2006) (Bảng 1).

Bảng 1. Bốn kiểu haplotype dựa trên đa hình tại 2 vị trí A258G và C276G

Haplotype	258	276
H1	A	C
H2	A	G
H3	G	C
H4	G	G

## **KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN**

### **Nhân đặc hiệu PCR và phân tích đa hình**

Đoạn gen Hsp70 có kích thước 648 bp gồm một phần vùng khởi động và vùng bắt đầu mã hóa được nhân lên đặc hiệu như đã mô tả ở phần phương pháp. Kết quả điện di cho thấy sản phẩm phản ứng PCR cho kích thước như đã công bố của Mazzi và cs. (2003). Để khẳng định sản phẩm PCR đúng là đoạn gen Hsp70, chúng tôi so sánh đoạn gen sau khi được giải trình tự với gen Hsp70 của gà đã được công bố trên ngân hàng gen với mã truy cập AY143693. Kết quả cho thấy đoạn gen thu được hoàn toàn tương đồng với đoạn gen Hsp70 đã được công bố. Phân tích đột biến tại vị trí A258G và C276G vùng đầu mã hóa gen Hsp70 trên 4 giống gà nghiên cứu bằng phương pháp giải trình tự đã xác định được 4 kiểu haplotype theo phân loại của Zhen và cs. (2006), trình tự ADN của 4 kiểu haplotype được thể hiện ở Hình 1. Kết quả phân tích trên 4 giống gà đã xác định được 9 kiểu gen: H1H1, H1H2, H1H3, H1H4 (hoặc H2H3), H2H2, H2H4, H3H3, H3H4 và H4H4. Các kiểu gen này được xác định qua việc phân tích sắc đồ kết quả giải trình tự. Tại các vị trí 258 và 276, nếu thể hiện dạng đồng hợp sẽ chỉ có một đỉnh đọc duy nhất, nếu là dạng dị hợp sẽ cho 2 đỉnh đọc lồng nhau. Trong đó, kiểu gen H1H4 và H2H3 (AG/CG) có cùng hình ảnh sắc đồ trình tự tại các vị trí đa hình nên không thể tách riêng (Hình 2).

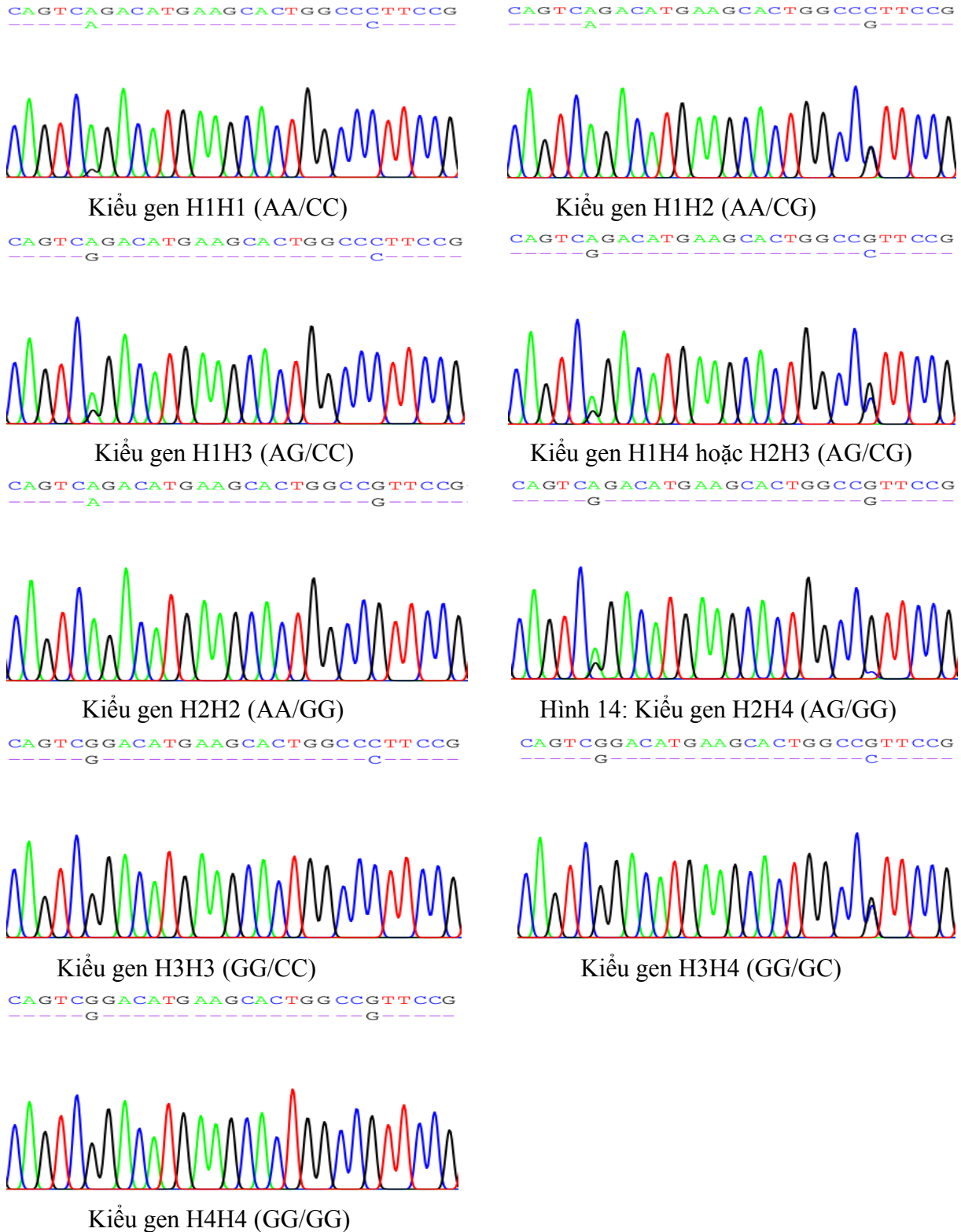
Một số phương pháp khác như PCR-RFLP, PCR-SSCP đã được sử dụng để phân tích đa hình ở vùng điều khiển và vùng mã hóa gen Hsp70 của gà (Mazzi và cs., 2003; Duangduen và cs., 2007; Zhen và cs., 2006; Zhang và cs., 2002), các phương pháp này dễ thực hiện, chi phí rẻ nhưng độ chính xác khi phân tích không cao đặc biệt khi những điểm đa hình không có đoạn nhận biết của enzyme giới hạn thì sẽ không thể phân tích được bằng phương pháp PCR-RFLP. Ở nghiên cứu này chúng tôi sử dụng phương pháp giải trình tự để phân tích sự đa hình tại 2 vị trí A258G và C276G vùng bắt đầu mang mã gen Hsp70, phương pháp giải trình tự để phân tích đa hình đòi hỏi chuyên môn và chi phí cao tuy đây là phương pháp cho kết quả chính xác nhất.

PHẠM DOÃN LÂN. Đa dạng di truyền gen *Hsp70* ở một số giống gà nuôi tại Việt Nam

	..... .....	..... .....	..... .....	..... .....	..... .....	..... .....
	5	15	25	35	45	55
AY143693	GATTGGTCCT	TAGCGTTCTG	GCAGGTTCCA	GAAGAAGGCT	AAGCGGACTA	TAAAGAGGGC
H1	-----	-----TG	GCAGGTTCCA	GAAGAAGGCT	AAGCGGACTA	TAAAGAGGGC
H2	-----	-----G	GCAGGTTCCA	GAAGAAGGCT	AAGCGGACTA	TAAAGAGGGC
H3	-----	-----G	GCAGGTTCCA	GAAGAAGGCT	AAGCGGACTA	TAAAGAGGGC
H4	-----	-----TG	GCAGGTTCCA	GAAGAAGGCT	AAGCGGACTA	TAAAGAGGGC
	..... .....	..... .....	..... .....	..... .....	..... .....	..... .....
	65	75	85	95	105	115
AY143693	GCGAGCGGCG	CCGTAACGGC	AGATCGCGCC	GCAGACAGCA	GCGAGAGCGG	GCGGAGGAGA
H1	GCGAGCGGCG	CCGTAACGGC	AGATCGCGCC	GCAGACAGCA	GCGAGAGCGG	GCGGAGGAGA
H2	GCGAGCGGCG	CCGTAACGGC	AGATCGCGCC	GCAGACAGCA	GCGAGAGCGG	GCGGAGGAGA
H3	GCGAGCGGCG	CCGTAACGGC	AGATCGCGCC	GCAGACAGCA	GCGAGAGCGG	GCGGAGGAGA
H4	GCGAGCGGCG	CCGTAACGGC	AGATCGCGCC	GCAGACAGCA	GCGAGAGCGG	GCGGAGGAGA
	..... .....	..... .....	..... .....	..... .....	..... .....	..... .....
	125	135	145	155	165	175
AY143693	CGTGACTGCG	AGCGAGCAAG	TGACTGGCGG	AGCGAGTGGC	TGACTGACCA	GAGGAATCTA
H1	CGTGACTGCG	AGCGAGCAAG	TGACTGGCGG	AGCGAGTGGC	TGACTGACCA	GAGGAATCTA
H2	CGTGACTGCG	AGCGAGCAAG	TGACTGGCGG	AGCGAGTGGC	TGACTGACCA	GAGGAATCTA
H3	CGTGACTGCG	AGCGAGCAAG	TGACTGGCGG	AGCGAGTGGC	TGACTGACCA	GAGGAATCTA
H4	CGTGACTGCG	AGCGAGCAAG	TGACTGGCGG	AGCGAGTGGC	TGACTGACCA	GAGGAATCTA
	..... .....	..... .....	..... .....	..... .....	..... .....	..... .....
	185	195	205	215	225	235
AY143693	TCATCATGTC	TGGCAAAGGG	CCGCCATCG	GCATCGATCT	GGGCACCACG	TATTCTTGCG
H1	TCATCATGTC	TGGCAAAGGG	CCGCCATCG	GCATCGATCT	GGGCACCACG	TATTCTTGCG
H2	TCATCATGTC	TGGCAAAGGG	CCGCCATCG	GCATCGATCT	GGGCACCACG	TATTCTTGCG
H3	TCATCATGTC	TGGCAAAGGG	CCGCCATCG	GCATCGATCT	GGGCACCACG	TATTCTTGCG
H4	TCATCATGTC	TGGCAAAGGG	CCGCCATCG	GCATCGATCT	GGGCACCACG	TATTCTTGCG
	..... .....	..... .....	..... .....	..... .....	..... .....	..... .....
	245	255	265	275	285	295
AY143693	TGGGTGTCTT	CCAGCATGGC	AAAGTGGAGA	TCATTGCCAA	CGACCAGGGG	AACCGCACCA
H1	TGGGTGTCTT	CCAGCATGGC	AAAGTGGAGA	TCATTGCCAA	CGACCAGGGG	AACCGCACCA
H2	TGGGTGTCTT	CCAGCATGGC	AAAGTGGAGA	TCATTGCCAA	CGACCAGGGG	AACCGCACCA
H3	TGGGTGTCTT	CCAGCATGGC	AAAGTGGAGA	TCATTGCCAA	CGACCAGGGG	AACCGCACCA
H4	TGGGTGTCTT	CCAGCATGGC	AAAGTGGAGA	TCATTGCCAA	CGACCAGGGG	AACCGCACCA
	..... .....	..... .....	..... .....	..... .....	..... .....	..... .....
	305	315	325	335	345	355
AY143693	CACCCAGCTA	TGTGGCCTTC	ACCGATACAG	AGCGCCTCAT	CGGGGATGCT	GCCAAGAACC
H1	CACCCAGCTA	TGTGGCCTTC	ACCGATACAG	AGCGCCTCAT	CGGGGATGCT	GCCAAGAACC

H2	CACCCAGCTA	TGTGGCCTTC	ACCGATACAG	AGCGCCTCAT	CGGGGATGCT	GCCAAGAACC
H3	CACCCAGCTA	TGTGGCCTTC	ACCGATACAG	AGCGCCTCAT	CGGGGATGCT	GCCAAGAACC
H4	CACCCAGCTA	TGTGGCCTTC	ACCGATACAG	AGCGCCTCAT	CGGGGATGCT	GCCAAGAACC
	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....
	365	375	385	395	405	415
AY143693	AAGTGGCAAT	GAACCCACCC	AACACCATCT	TTGATGCCAA	GCGTCTCATC	GGCCGCAAGT
H1	AAGTGGCAAT	GAACCCACCC	AACACCATCT	TTGATGCCAA	GCGTCTCATC	GGCCGCAAGT
H2	AAGTGGCAAT	GAACCCACCC	AACACCATCT	TTGATGCCAA	GCGTCTCATC	GGCCGCAAGT
H3	AAGTGGCAAT	GAACCCACCC	AACACCATCT	TTGATGCCAA	GCGTCTCATC	GGCCGCAAGT
H4	AAGTGGCAAT	GAACCCACCC	AACACCATCT	TTGATGCCAA	GCGTCTCATC	GGCCGCAAGT
	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....
	425	435	445	455	465	475
AY143693	ATGATGACCC	CACAGTGCAG	TCAGACATGA	AGCACTGGCC	GTTCCGTGTG	GTGAACGAGG
H1	ATGATGACCC	CACAGTGCAG	TCAGACATGA	AGCACTGGCC	GTTCCGTGTG	GTGAACGAGG
H2	ATGATGACCC	CACAGTGCAG	TCAGACATGA	AGCACTGGCC	GTTCCGTGTG	GTGAACGAGG
H3	ATGATGACCC	CACAGTGCAG	TCAGACATGA	AGCACTGGCC	GTTCCGTGTG	GTGAACGAGG
H4	ATGATGACCC	CACAGTGCAG	TCAGACATGA	AGCACTGGCC	GTTCCGTGTG	GTGAACGAGG
	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....
	485	495	505	515	525	535
AY143693	GTGGCAAGCC	CAAGGTGCAG	GTGGAGTACA	AGGGTGAGAT	GAAGACCTTC	TTCCCAGAGG
H1	GTGGCAAGCC	CAAGGTGCAG	GTGGAGTACA	AGGGTGAGAT	GAAGACCTTC	TTCCCAGAGG
H2	GTGGCAAGCC	CAAGGTGCAG	GTGGAGTACA	AGGGTGAGAT	GAAGACCTTC	TTCCCAGAGG
H3	GTGGCAAGCC	CAAGGTGCAG	GTGGAGTACA	AGGGTGAGAT	GAAGACCTTC	TTCCCAGAGG
H4	GTGGCAAGCC	CAAGGTGCAG	GTGGAGTACA	AGGGTGAGAT	GAAGACCTTC	TTCCCAGAGG
	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....
	545	555	565	575	585	595
AY143693	AGATCAGCTC	TATGGTGCTC	ACCAAGATGA	AGGAGATTGC	TGAGGCCTAT	CTGGGAAAAA
H1	AGATCAGCTC	TATGGTGCTC	ACCAAGATGA	AGGAGATTGC	TGAGGCCTAT	CTGGGAAAAA
H2	AGATCAGCTC	TATGGTGCTC	ACCAAGATGA	AGGAGATTGC	TGAGGCCTAT	CTGGGAAAAA
H3	AGATCAGCTC	TATGGTGCTC	ACCAAGATGA	AGGAGATTGC	TGAGGCCTAT	CTGGGAAAAA
H4	AGATCAGCTC	TATGGTGCTC	ACCAAGATGA	AGGAGATTGC	TGAGGCCTAT	CTGGGAAAAA
	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....
	605	615	625	635	645	
AY143693	AGGTACAGAA	TGCTGTTATC	ACAGTGCCCG	CTTACTTCAA	CGACTCCCG	
H1	AGGTACAGAA	TGCTGTTATC	ACAGTGCCCG	CTTACTTCAA	CGACTCCCG	
H2	AGGTACAGAA	TGCTGTTATC	ACAGTGCCCG	CTTACTTCAA	CGACTCCCG	
H3	AGGTACAGAA	TGCTGTTATC	ACAGTGCCCG	CTTACTTCAA	CGACTCCCG	
H4	AGGTACAGAA	TGCTGTTATC	ACAGTGCCCG	CTTACTTCAA	CGACTCCCG	

Hình 1. Trình tự nucleotid các kiểu haplotype được xác định và so sánh với trình tự gen Hsp70 của gà từ GenBank (AY143693)



Hình 2. Hình ảnh các kiểu gen tại vị trí A258G và C276G gen Hsp70 được phân tích bằng máy giải trình tự

### Đa dạng di truyền tại vị trí A258G

Tại vị trí 258 xác định được 3 kiểu gen (AA, AG và GG), tần số alen và kiểu gen được thể hiện ở Bảng 2.

Bảng 2. Tần số kiểu gen và alen tại vị trí đa hình A258G

Giống	A258G (%)				
	AA	AG	GG	A	G
Gà LV	17,4 (87)	43,2 (216)	39,5 (197)	38,9	61,1
Gà TP	9,5 (48)	66,3 (331)	24,2 (121)	42,6	57,4
Gà Ri	17,9 (89)	45,2 (226)	36,9 (185)	40,5	59,5
Gà HA	9,0 (45)	64,2 (321)	26,8 (134)	41,0	59,0

Qua Bảng 2 cho thấy tần số alen A và G không có sự khác nhau nhiều giữa các giống gà nghiên cứu. Trong đó ở giống gà TP có tần số alen A cao nhất (42,6%) và thấp nhất là ở giống gà LV (38,9%). Tần số alen G xuất hiện cao nhất ở giống gà LV (61,1%) và thấp nhất ở giống gà TP (57,4%). Ở cả 4 giống gà tần số alen A thấp hơn tần số alen G, kết quả này giống với công bố của Liang và cs. (2016) phân tích trên giống gà của Đài Loan thì tần số alen A (46,1%) thấp hơn alen G (53,9%) nhưng khác so với kết quả của Zhen và cs. (2006) khi phân tích trên 3 giống gà lai của Trung Quốc cho thấy tần số alen A (dao động từ 51,8% - 66,6%) cao hơn tần số alen G (dao động từ 33,4% đến 48 - 2%).

### Đa dạng di truyền tại vị trí C276G

Tại vị trí 276 xác định được 3 kiểu gen là CC, CG và GG. Tần số alen và kiểu gen được thể hiện ở Bảng 3.

Bảng 3. Tần số kiểu gen và alen tại vị trí đa hình C276G

Giống	C276G (%)				
	CC	CG	GG	C	G
Gà LV	47,9 (239)	46,8 (234)	5,3 (27)	71,3	28,7
Gà TP	33,7 (169)	63,2 (315)	3,2 (16)	65,3	34,7
Gà Ri	37,6 (188)	50,2 (251)	12,2 (65)	62,7	37,3
Gà HA	26,8 (134)	64,2 (321)	9,0 (45)	59,0	41,0

Kết quả Bảng 3 cho thấy tần số alen C xuất hiện cao hơn so với alen G ở cả 4 giống gà, tần số alen C xuất hiện cao nhất ở gà LV (71%), khác biệt so với các giống còn lại, và thấp nhất là gà HA (59%). Tần số alen G xuất hiện cao nhất ở gà HA (41,0%) và thấp nhất ở gà LV (28,7%). Zhen và cs. (2006) phân tích trên 3 giống gà lai của Trung Quốc cũng cho thấy tần số alen C (dao động từ 49,1% đến 74,1%) cao hơn tần số alen G (dao động từ 25,9% đến 50,8%).

### Đa dạng kiểu gen kết hợp cả 2 vị trí đa hình A258G và C276G

Tần số kiểu gen của cả 2 vị trí A258G và C276G được xác định trên 4 giống gà được trình bày ở Bảng 4.

Bảng 4. Tần số kiểu gen kết hợp cả 2 vị trí đa hình A258G và C276G

Giống	Tần số kiểu gen (%)								
	H1H1 AA/CC	H1H2 AA/CG	H1H3 AG/CC	H1H4/H2H3 AG/CG	H2H2 AA/GG	H2H4 AG/GG	H3H3 GG/CC	H3H4 GC/GG	H4H4 GG/GG
Gà LV	8,4 (42)	3,7 (18)	11,6 (58)	31,6 (158)	5,3 (27)	0	27,2 (129)	11,6 (58)	0
Gà TP	2,1 (11)	5,3 (26)	7,4 (37)	57,9 (289)	2,1 (11)	1,1 (5)	24,2 (121)	0	0
Gà Ri	2,9 (14)	8,2 (41)	7,5 (38)	34,4 (172)	6,8 (34)	3,2 (16)	27,2 (136)	7,5 (38)	2,2 (11)
Gà HA	0	0	0	64,2 (321)	9,0 (45)	0	26,8 (134)	0	0

Kết quả Bảng 4 cho thấy sự đa dạng về kiểu gen xuất hiện nhiều nhất ở giống gà Ri (9 kiểu gen), tiếp đến là gà LV và TP với 8 kiểu gen. Đa dạng di truyền thấp nhất ở giống gà HA chỉ xác định được 3 kiểu gen. Kiểu gen H4H4 (GG/GG) chỉ xuất hiện ở gà Ri, không xuất hiện ở 3 giống gà TP, HA, LV. Kết quả nghiên cứu này cho thấy có sự khác nhau tương đối rõ ràng về sự đa dạng di truyền kiểu gen Hsp70 giữa 4 giống gà Ri, TP, HA và LV. Tính đa dạng di truyền về kiểu gen Hsp70 ở 4 giống gà trong nghiên cứu này cao hơn so với công bố của Mazzi và cs. (2003) khi phân tích trên 3 giống gà của Brazil chỉ xác định được từ 2 đến 4 kiểu gen. Như vậy ngoại trừ giống gà HA có tính đa dạng kiểu gen thấp nhất, 3 giống gà Ri, TP và LV xuất hiện gần đầy đủ các kiểu gen do vậy có thể lựa chọn để thực hiện các nghiên cứu đánh giá tiếp theo về mối liên quan giữa kiểu gen và mức độ biểu hiện protein Hsp70.

## KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

### Kết luận

Đã xác định được 4 kiểu haplotype và 9 kiểu gen tại 2 vị trí đa hình A258G và C276G gen Hsp70 ở 4 giống gà Ri, gà TP, gà LV và gà HA. Đa dạng di truyền gen Hsp70 có sự khác nhau giữa 4 giống gà, đa dạng di truyền thể hiện cao nhất ở giống gà Ri với 9 kiểu gen, tiếp đến là giống gà LV và TP với 8 kiểu gen. Đa dạng di truyền thấp nhất ở giống gà HA chỉ xác định được 3 kiểu gen.

### Đề nghị

Tiến hành nghiên cứu đa dạng di truyền gen Hsp70 trên nhiều giống gà khác và phân tích mối liên quan giữa kiểu gen với sự biểu hiện protein Hsp70 dưới điều kiện gây stress nhiệt (nóng).

## LỜI CẢM ƠN

Nhóm tác giả xin trân trọng cảm ơn tới Chương trình ứng dụng Công nghệ sinh học trong nông nghiệp-thủy sản, Bộ nông nghiệp & Phát triển nông thôn đã tài trợ cho nghiên cứu này.



## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Duangduen C., Duangjinda M., Katawatin S. and Aengwanich, W. 2007. Effects of heat stress on growth performance and physiological response in Thai indigenous chickens (Chee) and broilers. *Kasetsart Veterinarians*; 17, pp. 122–133
- Duangjinda, M., Tunim, S., Duangdaen, C. and Boonkum, W. 2017. Hsp70 Genotypes and Heat Tolerance of Commercial and Native Chickens Reared in Hot and Humid Conditions. *Brazilian Journal of Poultry Science*; 19, pp. 007-018.
- Franco-Jimenez, D. J., Scheideler, S. E., Kittok, R. J., Brown- Brandl, T. M., Robeson, L. R., Taira, H. and Beck, M. M. 2007. Differential effects of heat stress in three strains of laying hens, *J. Appl. Poult. Res.*, 16, pp. 628–634.
- Gaviol, H. C., Gasparino, E., Prioli, A. J., and Soares, M. A. 2008. Genetic evaluation of the HSP70 protein in the Japanese quail (*Coturnix japonica*), *Genet. Mol. Res.*, 7, pp. 133–139
- Hsiao-Mei Liang., Der-Yuh Lin., Yan-Der Hsuuw., Tsung-Ping Huang., Hsiu-Luan Chang., Cheng-Yung Lin., Hsi-Hsun Wu., and Kuo-Hsiang Hung. 2016. Association of heat shock protein 70 gene polymorphisms with acute thermal tolerance, growth, and egg production traits of native chickens in Taiwan. *Arch. Anim. Breed*; 59, pp. 173–181
- Kiang, J. G. and Tsokos, G. C. 1998. Heat shock protein 70 kDa: molecular biology, biochemistry, and physiology. *Pharmacology and Therapeutics*; 80, pp. 183–201.
- Mazzi, C. M., Ferro, J. A., Ferro, M. I. T., Savino, V. J. M., Coelho, A. A. D. and Macazi, M. 2003. Polymorphism analysis of the HSP70 stress gene in broiler chickens (*Gallus gallus domesticus*) of different breeds. *Genetics and Molecular Biology*, 26, pp. 275–281.
- Morimoto, R. I. 1998. Regulation of the heat shock transcriptional response: cross talk between a family of heat shock factors, molecular chaperones, and negative regulators. *Genes and Development* 12, pp. 3788–3796.
- Morimoto, R. I. 2008. Proteotoxic stress and inducible chaperone networks in neurodegenerative disease and aging. *Genes and Development* 22, pp. 1427–1438.
- Tunim, S., Duangjinda, M. and Katawatin, S. 2010. Study of HSP 70 gene polymorphism in various strains of Thai indigenous Chickens. *KhonKaen Agriculture journal*; 38 Suppl, pp. 71-75
- Tamzil, M. H., Noor, R. R., Hardjosworo, P. S., Manalu, W. and Sumantri, C. 2013. Acute heat stress responses of three lines of chickens with different heat shock protein (HSP)-70 genotypes, *Int. J. Poult. Sci.*, 12, pp. 264–272, 20
- Wang, S. and Edens, F. W. 1993. Stress-induced heat-shock protein synthesis in peripheral leukocytes of turkeys (*Meleagris gallopavo*). *Comparative Physiology and Biochemistry* 106B, pp. 621–628.
- Wang, S., Edens, F. W. 1998. Heat conditioning induces heat shock proteins in broiler chickens and turkey poults. *Poultry Science* 77, pp. 1636–1645.
- Zhang, X., Du, H. and Li, J. 2002. Single nucleotide polymorphism of chicken heat shock protein (hsp70) gene, in: 7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, France, Montpellier
- Zhen, F. S., Du, H. L., Xu, H. P., Luo, Q. B. and Zhang, X. Q. 2006. Tissue and allelic-specific expression of HSP70 gene in chickens: basal and heat-stress-induced mRNA level quantified with real-time reverse transcriptase polymerase chain reaction. *British Poultry Science*, 47, pp. 449–455.

## ABSTRACT

### Genetic polymorphisms of Hsp70 gene in some chicken breeds raised in Viet Nam

The Hsp70 gene encodes a heat shock protein with 70kDa molecule weight. The Hsp70 protein is a family of chaperone molecules that promote protein folding and participate in many cellular functions, in particular they protect certain proteins and cells from environmental stressors. This study was conducted to evaluate the genetic polymorphism of Hsp70 gene in four chicken breeds (Ri, TP, HA and LV chicken). Two polymorphic sites in the beginning of coding region of Hsp70 gene, one transition from A (Adenine) to G (Guanine) on position 258 and one transversion from C (Cytosine) to G (Guanine) on position 276, were analyzed by sequencing method. The 648 base pairs fragment of the Hsp70 gene was amplified from four chicken breeds (500 samples/breed) and sequenced directly. The results identified 4 haplotypes (H1, H2, H3 and H4) and 9 genotypes in total samples. Genetic diversity at position A258G and C276G showed the highest in Ri chicken with 9 genotypes: H1H1(2,9%), H1H2 (8,2%), H1H3 (7,5%), H1H4/H2H3 (34,4%), H2H2 (6,8%), H2H4 (3,2%), H3H3 (27,2%), H3H4 (7,5%), H4H4 (2,2%); followed by TP chicken with 9 genotypes: H1H1(2,1%), H1H2 (5,3%), H1H3 (7,4%), H1H4/H2H3 (57,9%), H2H2 (2,1%), H2H4 (1,1%), H3H3 (24,2%); LV chicken with 9 genotype: H1H1(8,4%), H1H2 (3,7%), H1H3 (11,6%), H1H4/H2H3 (31,6%), H2H2 (5,3%), H3H3 (27,2%), H3H4 (11,6%); and the lowest genetic diversity in HA breeds with four genotypes: H1H4/H2H3 (64,2%), H2H2 (9,0%), H3H3 (26,8%).

**Keywords:** *Hsp70 gene, genetic diversity, sequencing*

Ngày nhận bài: 05/12/2019

Ngày phản biện đánh giá: 14/12/2019

Ngày chấp nhận đăng: 30/12/2019

**Người phản biện:** *TS. Ngô Thị Kim Cúc*