



CHƯƠNG 4 KỸ THUẬT PHÂN TÍCH ĐA HÌNH

NGUYỄN NGỌC PHƯƠNG THẢO

117



NỘI DUNG

1. Kỹ thuật RAPD
2. Kỹ thuật RFLD
3. Kỹ thuật AFLD
4. Ứng dụng

11/4/2021

TS. Nguyen Ngoc Phuong Thao

118



CHỈ THỊ PHÂN TỬ (DNA MARKER)

- **Chỉ thị phân tử** (bằng DNA): đoạn gene/DNA ở một vị trí xác định trên nhiễm sắc thể được sử dụng để xác định một cá thể/chủng.
- Sự khác biệt về trình tự DNA: các biến thể (**đa dạng di truyền-đa hình**) được nhận diện.

11/4/2021

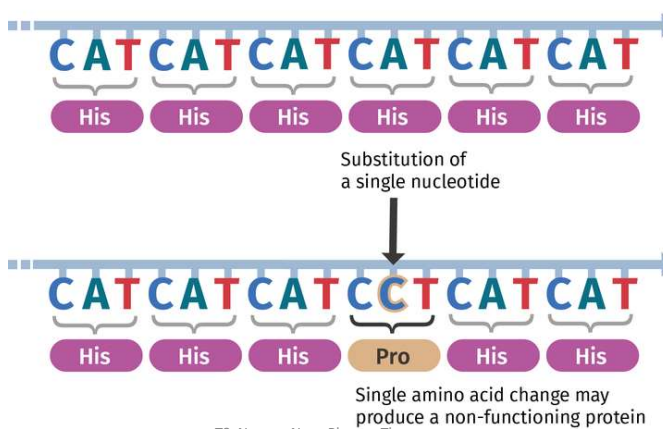
TS. Nguyen Ngoc Phuong Thao

119



ĐA DẠNG DI TRUYỀN (GENOMIC VARIANTS)

Single nucleotide variation (SNV)




11/4/2021

TS. Nguyen Ngoc Phuong Thao

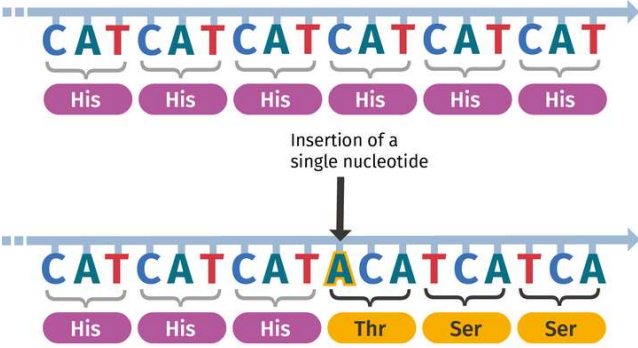
<https://www.garvan.org.au/research/kinghorn-centre-for-clinical-genomics/learn-about-genomics/dna-base/collection1/small-variants>

120



ĐA DẠNG DI TRUYỀN (GENOMIC VARIANTS)

Indel (insertion or deletion)



Insertion of a single nucleotide


Frameshift produces incorrect amino acid sequence

11/4/2021

TS. Nguyen Ngoc Phuong Thao

<https://www.garvan.org.au/research/kinghorn-centre-for-clinical-genomics/learn-about-genomics/dna-base/collection1/small-variants>

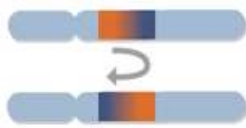
121



ĐA DẠNG DI TRUYỀN (GENOMIC VARIANTS)

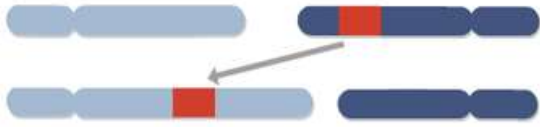
Structural variations

Inversion



DNA sequence is reversed end to end

Translocation




DNA is removed from one chromosome and added to another

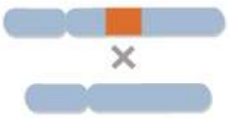
11/4/2021

TS. Nguyen Ngoc Phuong Thao

122

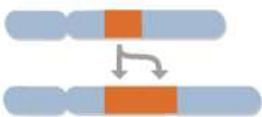
 **ĐA DẠNG DI TRUYỀN
(GENOMIC VARIANTS)**

Deletion




DNA is removed from a chromosome

Duplication



Large section of DNA is repeated within the same chromosome


Insertion



DNA is added to a chromosome

11/4/2021 TS. Nguyen Ngoc Phuong Thao

123

 **MỤC ĐÍCH CỦA
KỸ THUẬT PHÂN TÍCH ĐA DẠNG DI TRUYỀN**

- Xác định **sự khác biệt về di truyền** của những cá thể mà **không cần đến giải trình tự**
- Phân tích trên đối tượng mẫu lớn
- Tạo chỉ thị phân tử cho từng loài

11/4/2021 TS. Nguyen Ngoc Phuong Thao

124



MỘT SỐ ỨNG DỤNG PHÂN TÍCH ĐA HÌNH

“Xây dựng bộ chỉ thị phân tử bằng RAPD để quản lý và tuyển chọn giống đầu dòng làm cơ sở chọn giống đột biến hoa salem tại Lâm Đồng”



<https://www.vista.gov.vn/news/ket-qua-nghien-cuu-trien-khai/xay-dung-bo-so-lieu-rapd-de-quan-ly-va-tuyen-chon-giong-dau-dong-lam-co-so-chon-giong-dot-bien-hoa-salem-tai-lam-dong-2633.html>
11/4/2021 TS. Nguyen Ngoc Phuong Thao

125



MỘT SỐ ỨNG DỤNG PHÂN TÍCH ĐA HÌNH


“Ứng dụng chỉ thị phân tử trong phân biệt các loại sâm trên thế giới”

- Công cụ RFLP, RAPD
- Phân biệt: *P. ginseng* với *P. americana* và *P. grandiflorus*

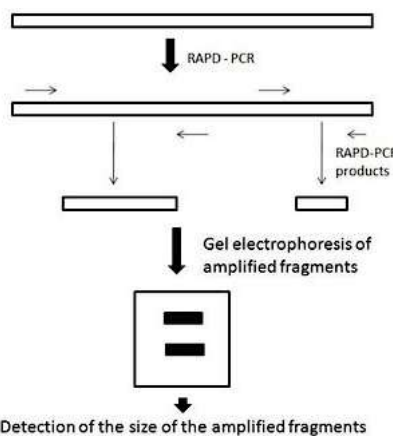


https://vjst.vn/vn/_layouts/15/CT.Webparts.TCKHCN/mt_poup/Intrangweb.aspx?IdNews=1255
11/4/2021 TS. Nguyen Ngoc Phuong Thao

126



1. Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD)




Detection of the size of the amplified fragments

- Sử dụng PCR
- Đoạn mồi ngẫu nhiên: kích thước nhỏ 10bp
- Nhiệt độ bắt cặp Ta rất thấp 35oC
- Kiểm tra chiều dài của hỗn hợp sản phẩm

https://www.youtube.com/watch?v=i5_ecgyY3dY
11/4/2021 TS. Nguyễn Ngọc-Phồng Thảo

127




2. Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP)

- Xác định sự đa dạng di truyền ở những trình tự DNA tương đồng
- **Nguyên tắc:** khác biệt di truyền giữa các cá thể có thể tạo ra hoặc xóa mất vị trí cắt giới hạn. Sự khác biệt là: chiều dài của sản phẩm sau khi cắt giới hạn


GATTCGAGATTCTGA

↓ Enzyme cắt giới hạn



GATTGAGATTCTGA

↓ Enzyme cắt giới hạn



https://www.youtube.com/watch?v=swQ_pn4cR5o
11/4/2021

128



3. Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP)

Kết hợp của RAPD và RFLP = PCR + R.E

Các bước:

1. Cắt giới hạn DNA (bằng enzyme cắt giới hạn R.E)
2. Gắn các đoạn adapters tương thích đầu cắt RE
3. PCR
4. Southern blot

11/4/2021

<https://www.youtube.com/watch?v=YJNZQm7b7-s>
TS. Nguyen Ngoc Phuong Thao

129



CHƯƠNG 5 PCR và CÁC ỨNG DỤNG TRONG KỸ THUẬT DI TRUYỀN

TS. Nguyễn Ngọc Phương Thảo

Email: Thao.nnp@vlu.edu.vn

130