

ĐẠI HỌC Y DƯỢC TP. HỒ CHÍ MINH  
KHOA KHOA HỌC CƠ BẢN  
**BỘ MÔN SINH HỌC**

# MỘT SỐ KỸ THUẬT ỨNG DỤNG TRONG NGHIÊN CỨU DI TRUYỀN NGƯỜI

**GV: Trần Anh Minh**  
*tranminh1703@gmail.com*

# MỤC TIÊU HỌC TẬP

- SV hiểu và phát biểu được về một số kỹ thuật nghiên cứu, phân tích di truyền người ở cấp độ tế bào và phân tử.

# NỘI DUNG

## **A. MỘT SỐ KỸ THUẬT NGHIÊN CỨU DI TRUYỀN TẾ BÀO**

1. Phân tích nhiễm sắc thể
2. Phân tích chất nhiễm sắc giới tính

## **B. MỘT SỐ KỸ THUẬT NGHIÊN CỨU DI TRUYỀN PHÂN TỬ**

1. Phản ứng chuỗi trùng hợp - Polymerase Chain Reaction (PCR)
2. Kỹ thuật điện di (Electrophoresis)
3. Cắt giới hạn bằng Enzyme
4. Tạo dòng gen mục tiêu (Gene cloning)
5. Lai phân tử (blotting)
6. Giải trình tự DNA (DNA sequencing)

# A. MỘT SỐ KỸ THUẬT NGHIÊN CỨU DI TRUYỀN TẾ BÀO

1. PHÂN TÍCH NHIỆM SẮC THỂ
2. PHÂN TÍCH CHẤT NHIỆM SẮC GIỚI TÍNH

# A. MỘT SỐ KỸ THUẬT NGHIÊN CỨU DI TRUYỀN TẾ BÀO

## 1. CÁC KỸ THUẬT DI TRUYỀN TẾ BÀO:

- Đóng vai trò quan trọng trong di truyền y học:
  - Chẩn đoán bệnh lý di truyền.
  - Nghiên cứu sự thoái hóa của các tổ chức mô  
→ nguyên nhân gây bệnh bên ngoài và bên trong.
  - Cung cấp thông tin xây dựng bản đồ gen người.
  - Phân tích cấu trúc hiển vi trong hệ gen người.

# A. MỘT SỐ KỸ THUẬT NGHIÊN CỨU DI TRUYỀN TẾ BÀO

## 1. CÁC KỸ THUẬT DI TRUYỀN TẾ BÀO:

- Một số kỹ thuật/phương pháp nghiên cứu di truyền tế bào thường gặp:
  - Phương pháp phân tích NST: *Nhuộm & phân tích bộ NST, FISH,...*
  - Phân tích chất nhiễm sắc giới tính: *Vật thể Barr, vật thể dài trống, vật thể Y.*

# 1. PHÂN TÍCH NHIỄM SẮC THỂ

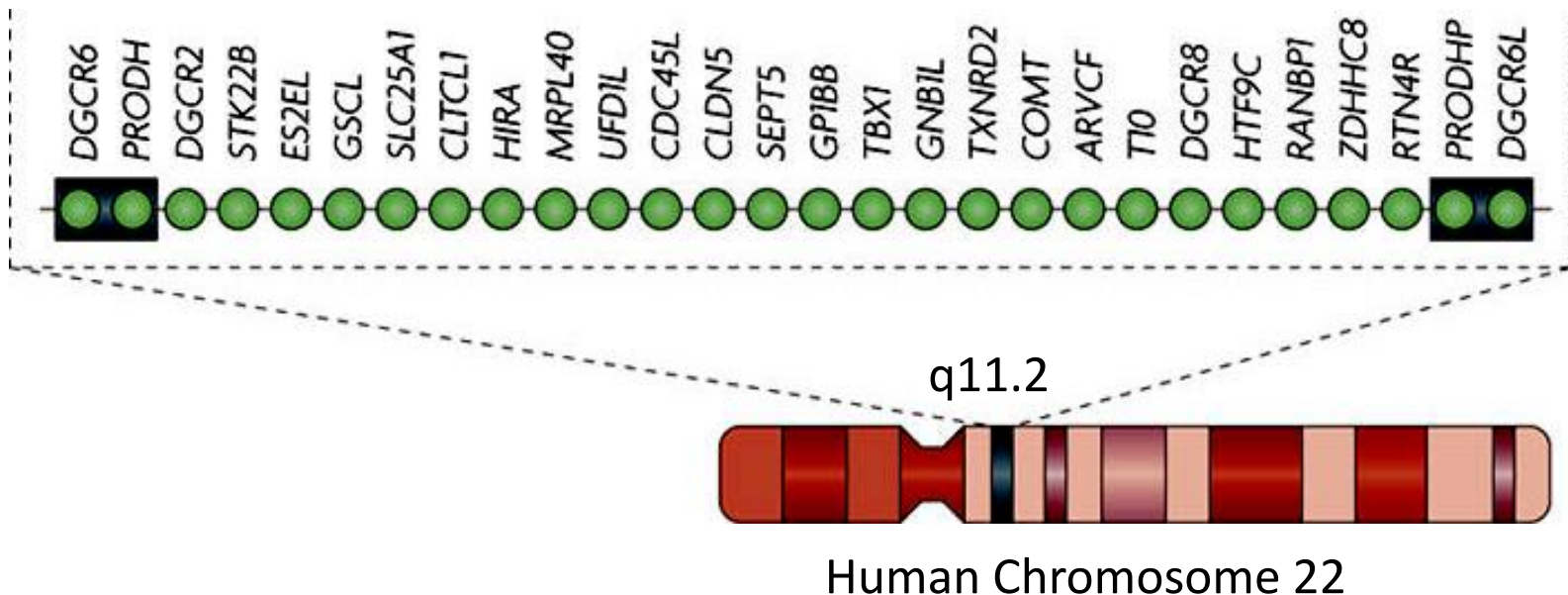
- Giúp phát hiện các bất thường về số lượng và cấu trúc NST người.
  - **Xét nghiệm NST** bằng cách nhuộm giemsa hoặc nhuộm band, quan sát dưới KHV quang học và **lập NST đồ** (karyotyping) → Rút ra kết luận.
  - **Xét nghiệm FISH** (*Fluorescence in situ hybridization* – lai tại chỗ phát huỳnh quang) → kiểm tra đột biến cấu trúc NST.



# 1. PHÂN TÍCH NHIỆM SẮC THỂ

## 1.1. XÉT NGHIỆM NST BẰNG NST ĐỒ

- Chỉ định xét nghiệm Karyotype: bệnh nhân nghi ngờ bị rối loạn di truyền, dị tật bẩm sinh, chậm phát triển tâm thần, vô sinh – hiếm muộn, sảy thai liên tiếp ...

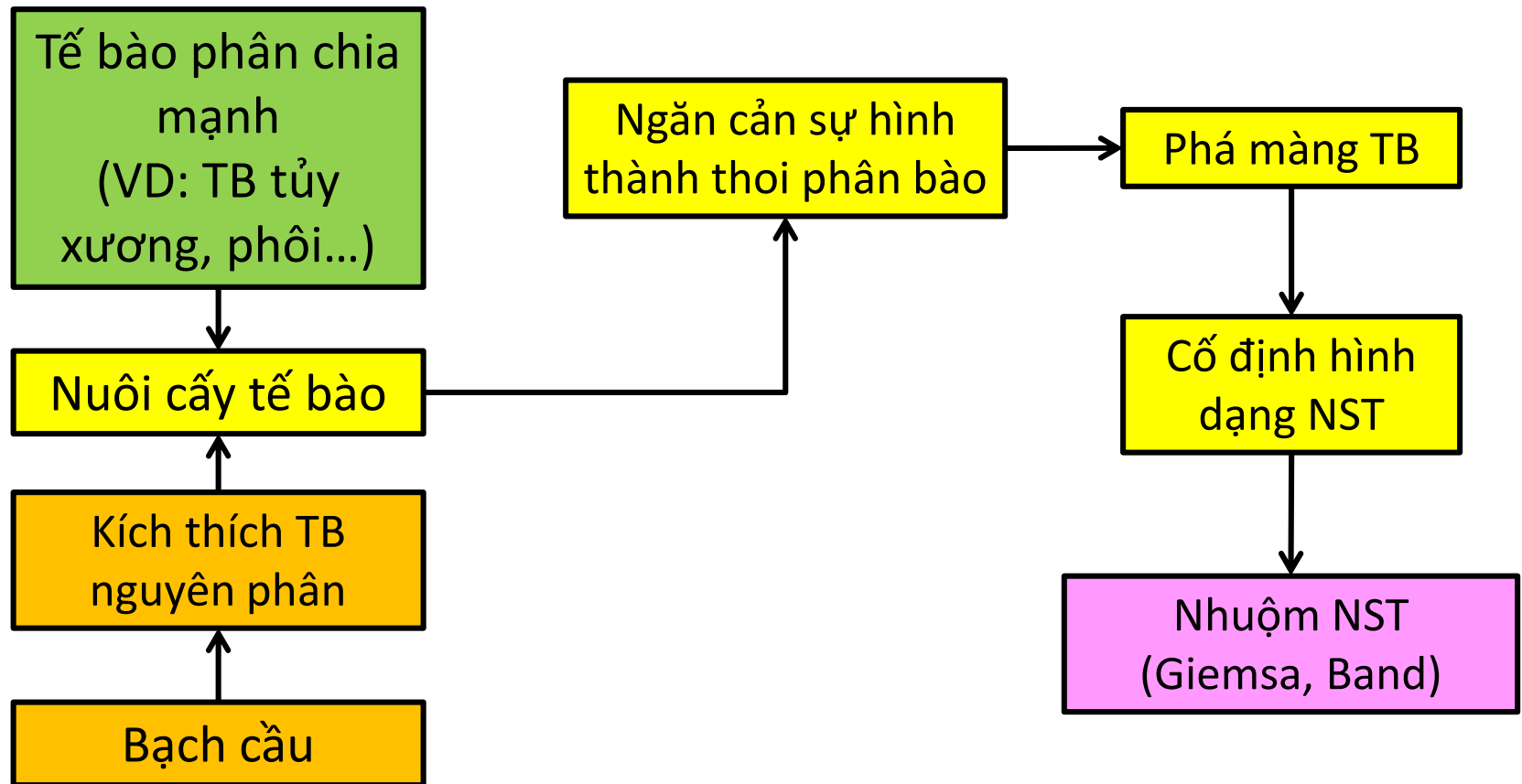


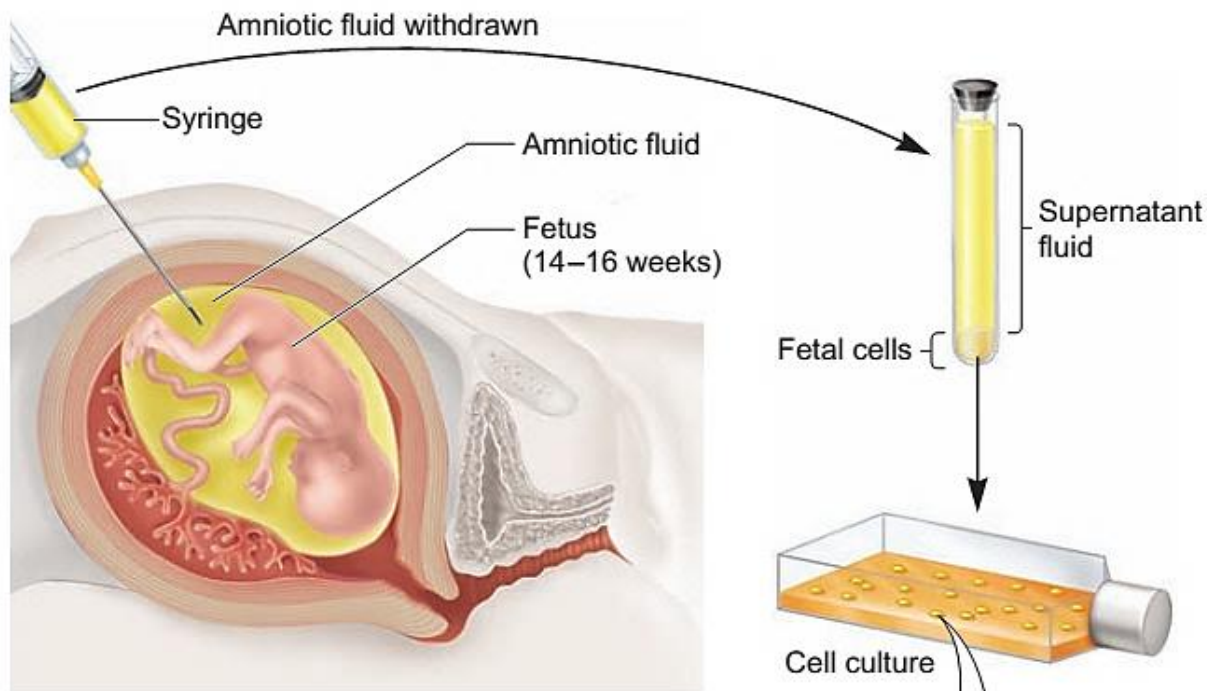


# 1. PHÂN TÍCH NHIỆM SẮC THỂ

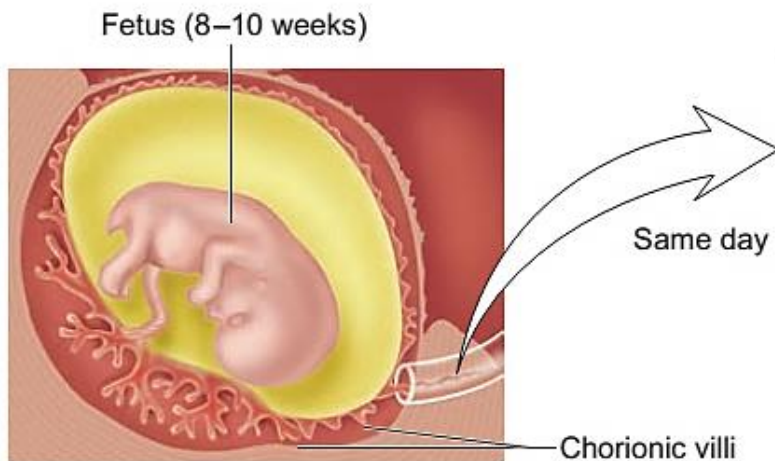
## 1.1. XÉT NGHIỆM NST BẰNG NST ĐỒ

- Nguyên tắc chung: Phân tích NST từ kỳ giữa nguyên phân





**Amniocentesis**



**Chorionic villus sampling**



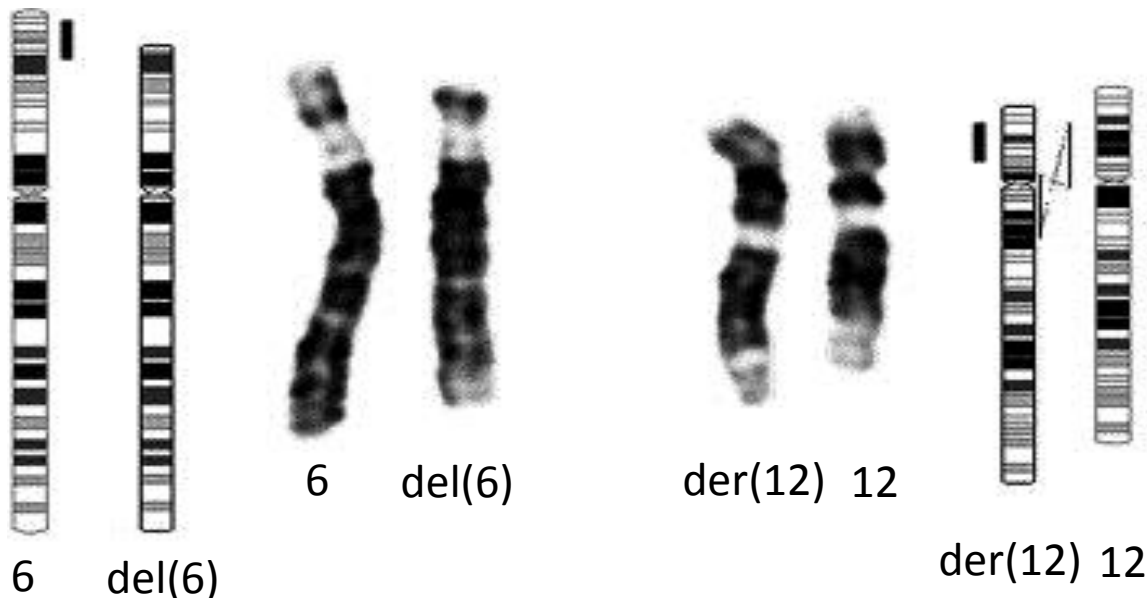
**Karyotyping**

Chẩn đoán trước sinh bệnh di truyền bằng lập NST đồ.

# 1. PHÂN TÍCH NHIỄM SẮC THỂ

## 1.1. XÉT NGHIỆM NST BẰNG NST ĐỒ

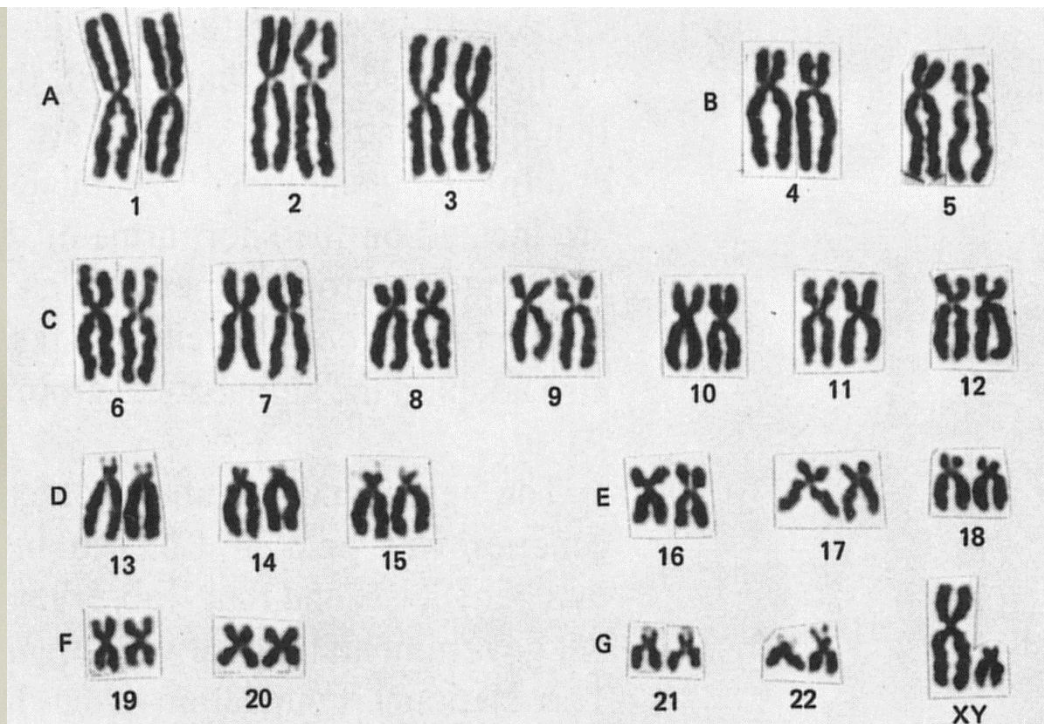
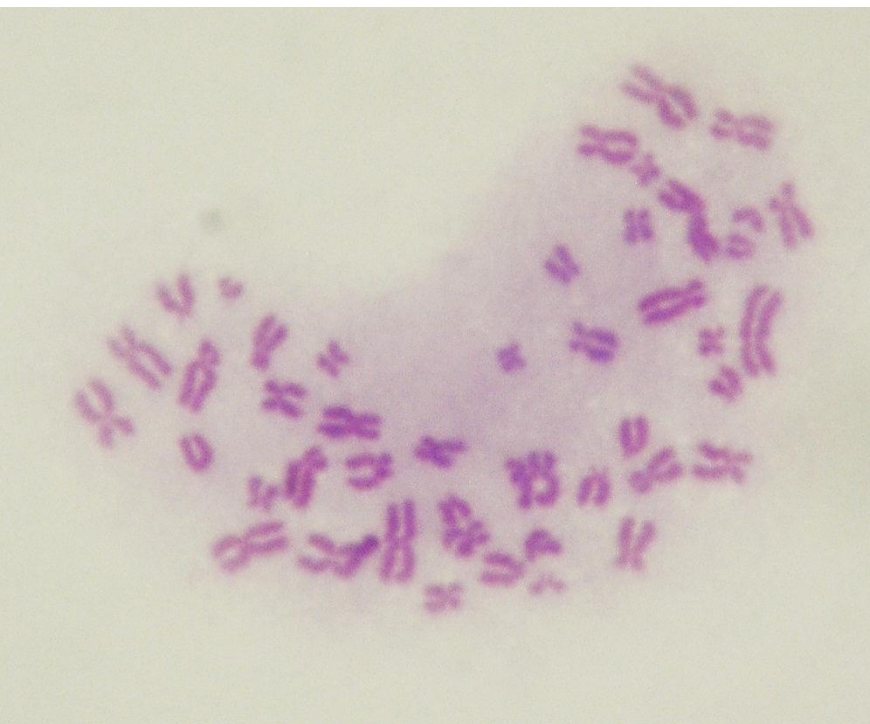
- Kỹ thuật nhuộm:
  - **Nhuộm Giemsa** → Phân tích số lượng NST.
  - **Nhuộm Band** → Phân tích số lượng, cấu trúc NST.  
Giúp phân loại NST chính xác hơn.



# 1. PHÂN TÍCH NHIỄM SẮC THỂ

## 1.1. XÉT NGHIỆM NST BẰNG NST ĐỒ

- Kỹ thuật nhuộm Giemsa:

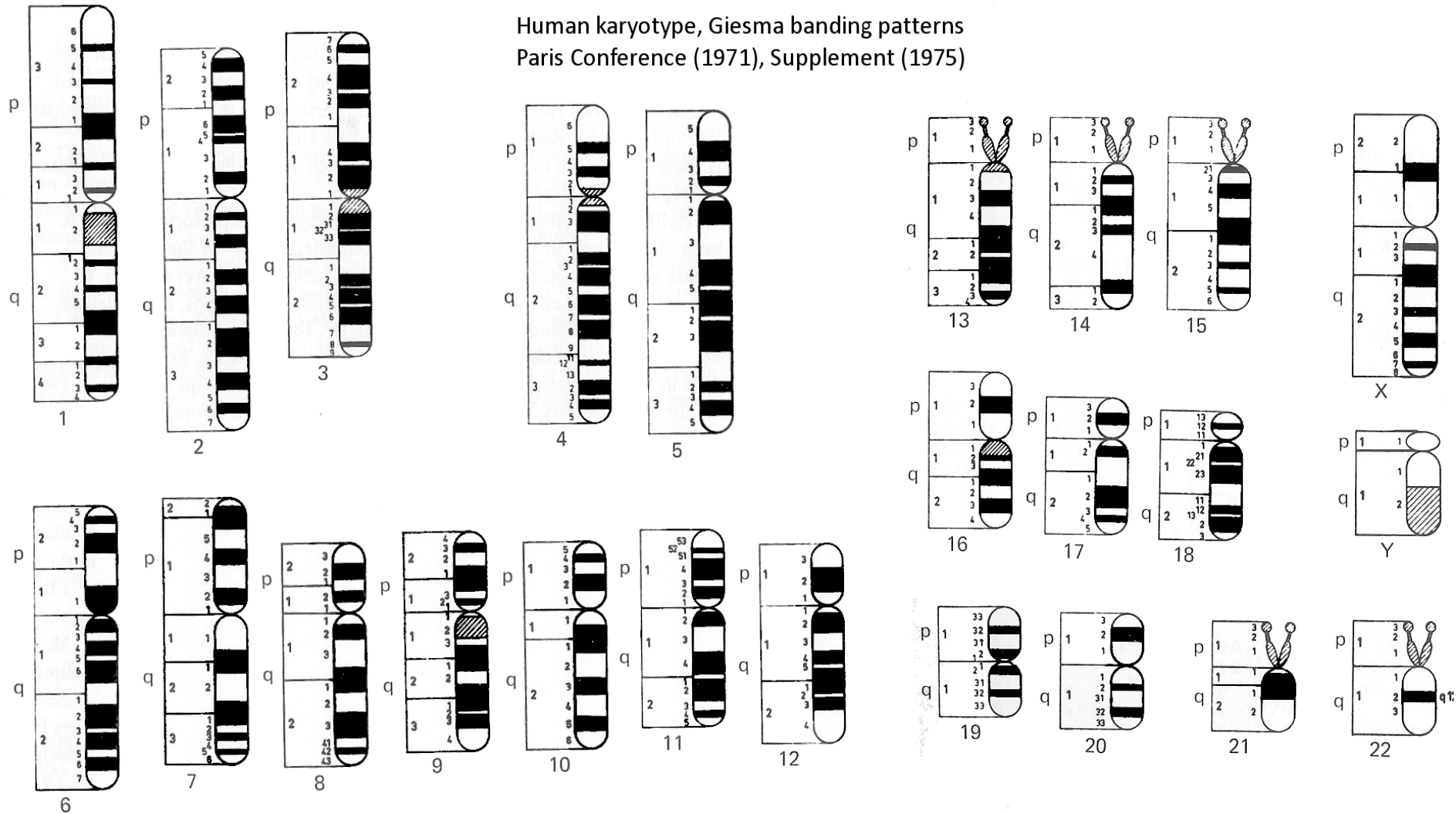


# 1. PHÂN TÍCH NHIỄM SẮC THỂ

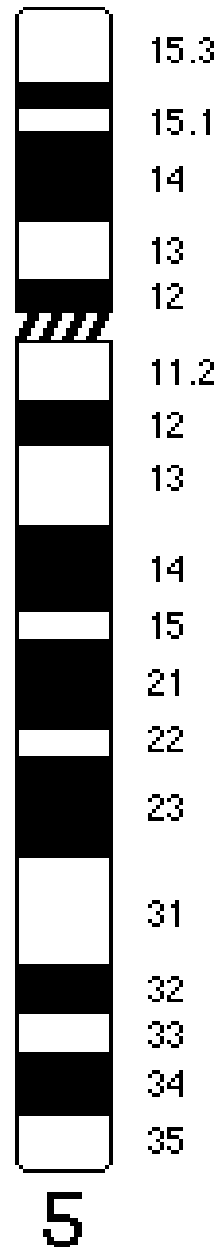
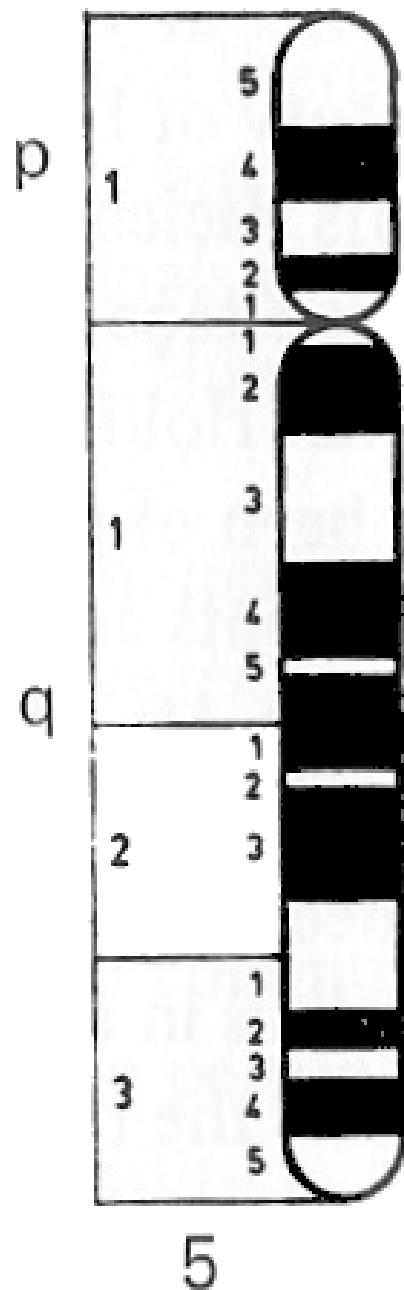
## 1.1. XÉT NGHIỆM NST BẰNG NST ĐỒ

- Kỹ thuật nhuộm Band:
  - **G-band**: Nhuộm band NST bằng thuốc nhuộm Giemsa sau khi xử lý NST bằng Trypsin. Nhuộm vùng giàu AT.
  - **Q-band**: Nhuộm huỳnh quang. Nhuộm vùng giàu AT.
  - **R-band**: Các band sáng tối ngược với G và Q-band. Nhuộm vùng giàu GC. Phân tích phần cuối NST.
  - **T-band**: Nhuộm vùng Telomere. Độ phân giải cao hơn R.
  - **C-band**: Nhuộm các vùng dị nhiễm sắc gần tâm động.
  - **Nhuộm NOR**: Nhuộm các vệ tinh và các cuống NST tâm đầu.

Human karyotype, Giesma banding patterns  
Paris Conference (1971), Supplement (1975)

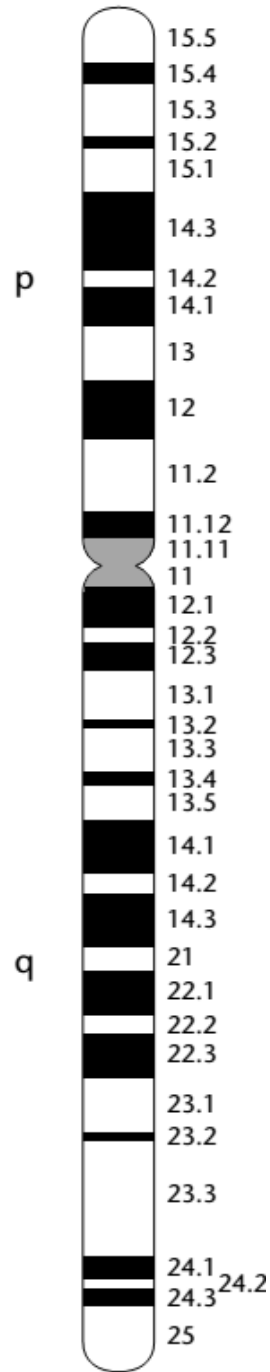
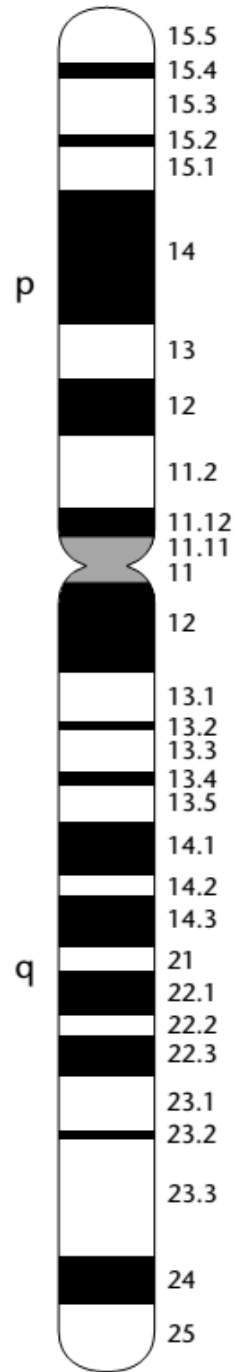
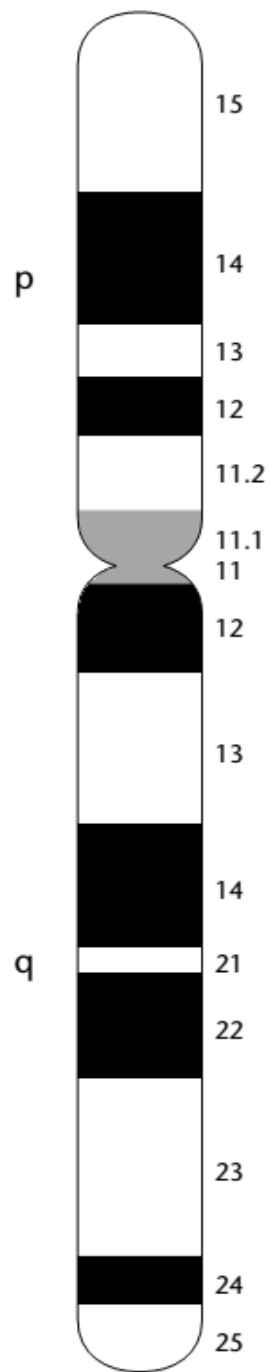


Sơ đồ nhuộm band G của NST người



p: Nhánh ngắn  
q: Nhánh dài





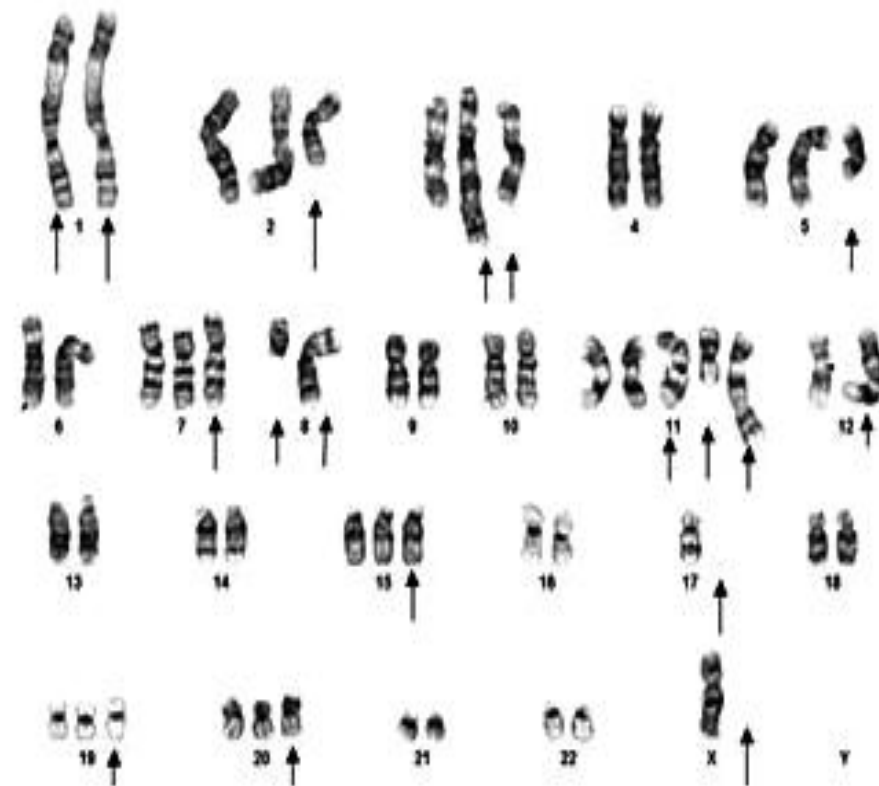
NST 11 được nhuộm band G ở các độ phân giải band khác nhau.

# 1. PHÂN TÍCH NHIỄM SẮC THỂ

(a)



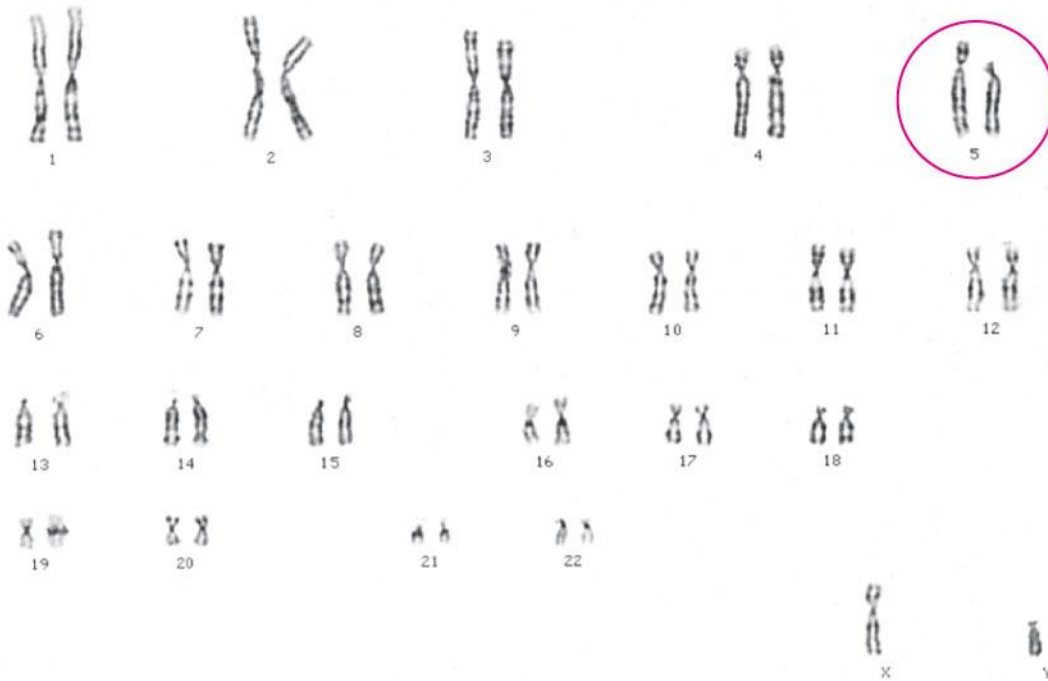
(b)



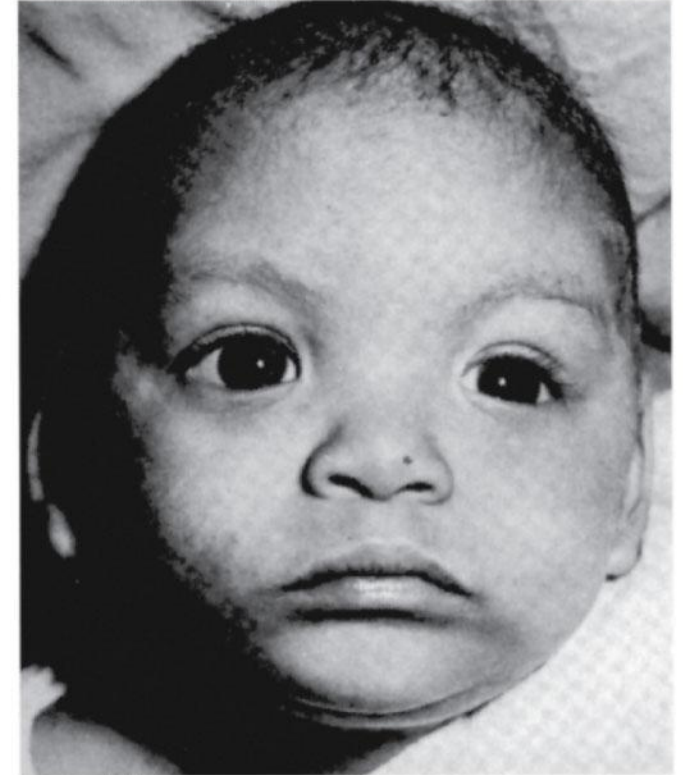
NST đồ của người bình thường (a) và người bị đa u tủy xương (b)

# 1. PHÂN TÍCH NHIỄM SẮC THỂ

a) Karyotype (G banding)



b) Individual with Cri-du-chat syndrome



NST đồ của bệnh nhân mắc hội chứng Cri-du-chat

# 1. PHÂN TÍCH NHIỄM SẮC THỂ

## 1.1. XÉT NGHIỆM NST BẰNG NST ĐỒ

- **Ưu điểm:**

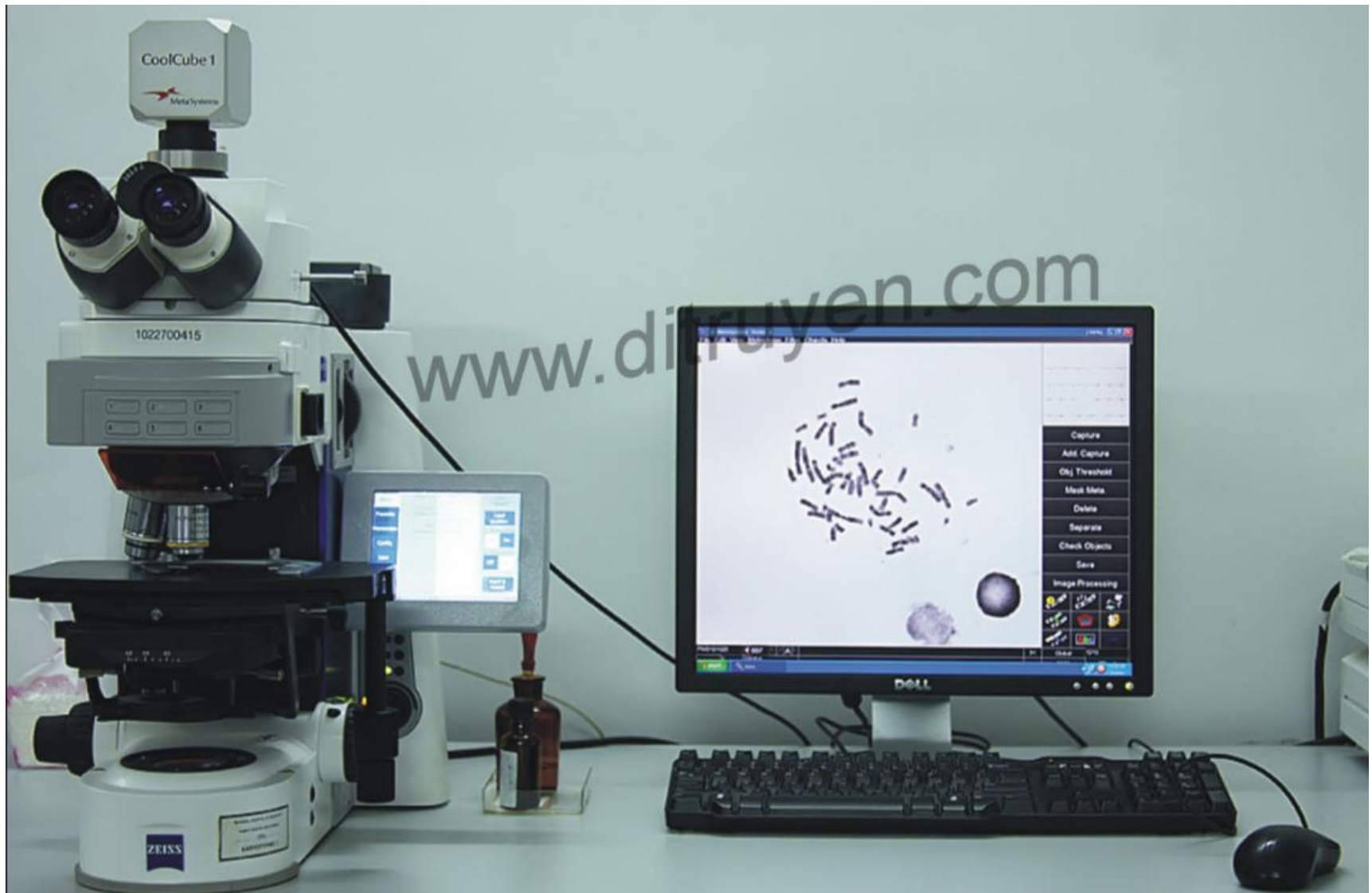
- Phát hiện được nhiều dạng bất thường NST.

- **Khuyết điểm:**

- Phải sử dụng tế bào đang phân chia, vào prometaphase hoặc metaphase.

- Chỉ phát hiện được bất thường khi band có kích thước  $\geq 5$  Mb.

- Cho kết quả chậm.



- Hệ thống Karyotyping

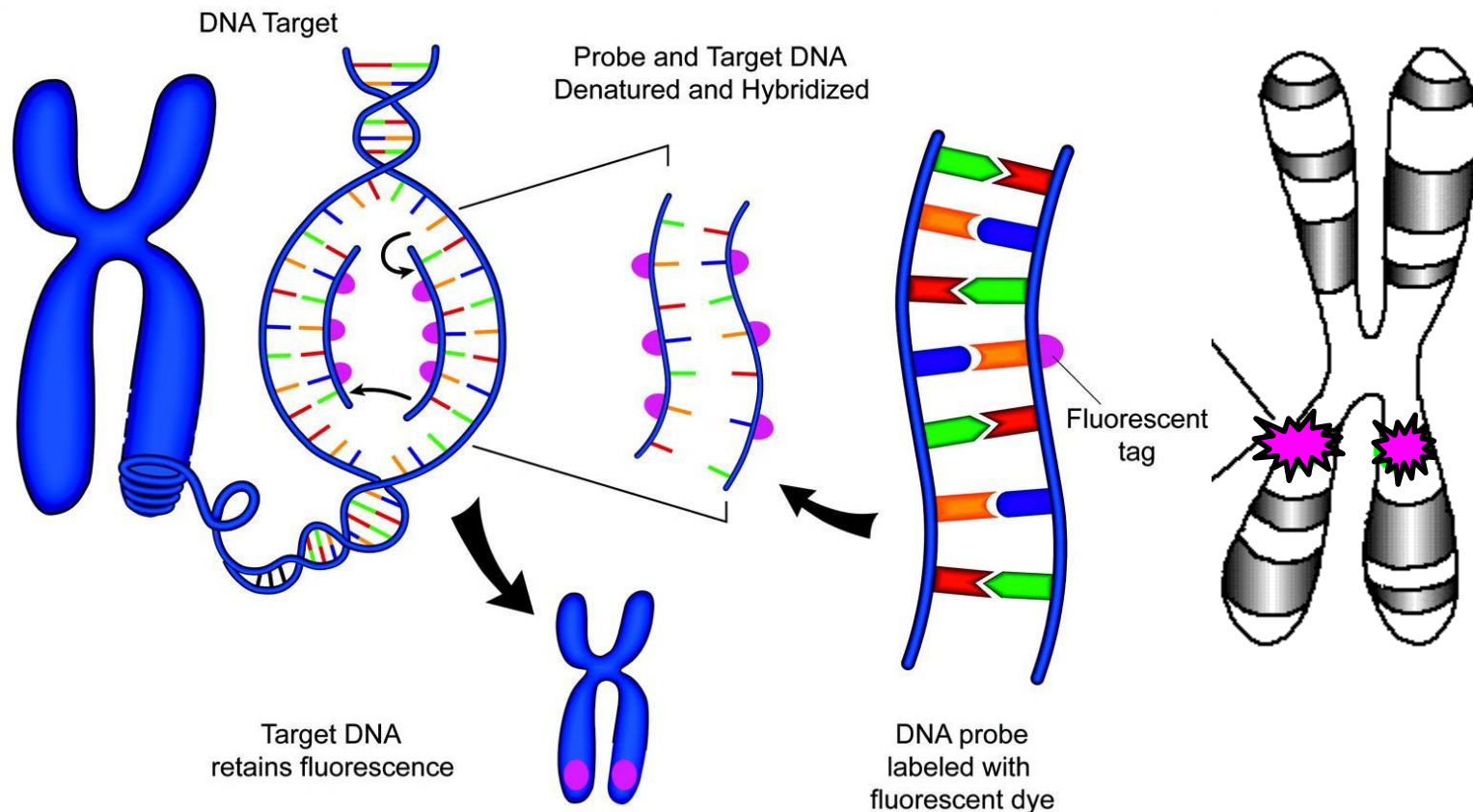
# 1. PHÂN TÍCH NHIỄM SẮC THỂ

## 1.2. LAI TẠI CHỖ PHÁT HUỖNH QUANG (FISH)

- Thường được sử dụng để phát hiện các trường hợp mất đoạn, lặp đoạn hoặc chuyển đoạn NST.
- Đòi hỏi tính đặc hiệu cao của các mẫu dò (probe) và định hướng trong chẩn đoán lâm sàng.

# 1. PHÂN TÍCH NHIỄM SẮC THỂ

## 1.2. LAI TẠI CHỖ PHÁT HUỖNH QUANG (FISH)





# 1. PHÂN TÍCH NHIỄM SẮC THỂ

## 1.2. LAI TẠI CHỖ PHÁT HUỖNH QUANG (FISH)

- Kết quả xét nghiệm FISH của bệnh nhân mắc hội chứng DiGeorge (mất đoạn trên vùng 22q11).



# 1. PHÂN TÍCH NHIỄM SẮC THỂ

## 1.2. LAI TẠI CHỖ PHÁT HUỖNH QUANG (FISH)

- **Ưu điểm:**

- Phát hiện được bất thường NST trên cả TB không phân chia.
- Interphase FISH không cần phải nuôi tế bào, độ nhạy > 50 kB
- Mồi đặc hiệu nên rất nhạy.

- **Khuyết điểm:**

- Phụ thuộc vào probe.
- Không quan sát được toàn bộ cấu trúc bộ NST.
- Một số trường hợp không phát hiện được các vi mất đoạn.

## 2. PHÂN TÍCH CHẤT NHIỄM SẮC GIỚI TÍNH

- Chất nhiễm sắc giới tính (sex chromatin) hiện diện trong nhân tế bào đặc trưng cho giới tính.
- Còn gọi là vật thể nhiễm sắc giới tính (sex chromatin body).
- Xuất hiện ở gian kỳ và biến mất khi TB phân chia.
- Bao gồm: **Vật thể Barr** (Barr body) và **vật thể dùi trống** (drumstick body).

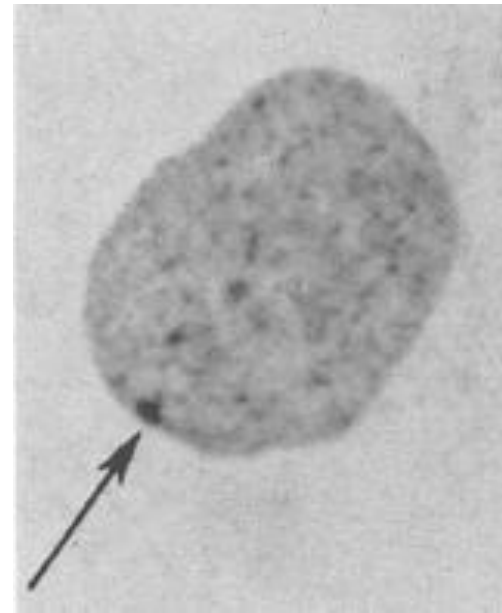
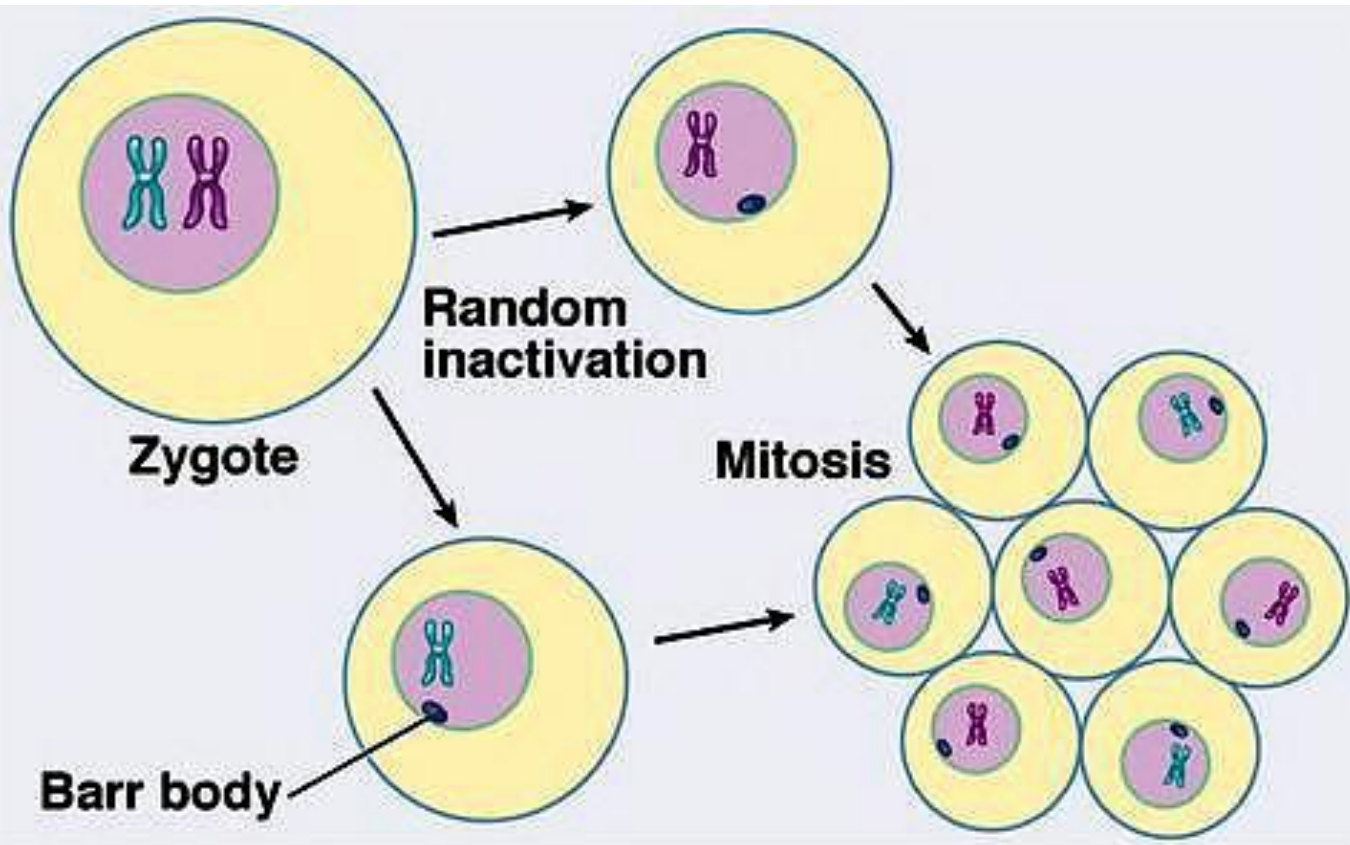
## 2. PHÂN TÍCH CHẤT NHIỄM SẮC GIỚI TÍNH

### 2.1. VẬT THỂ BARR

- Do Murray Barr và Bertram nghiên cứu lần đầu tiên (1949) trên TB thần kinh của mèo: Nhân TB thần kinh của mèo cái có một khối đậm màu còn mèo đực thì không.
- Vật thể Barr là 1 NST X bị bất hoạt và cô đặc lại trong nhân tế bào soma, dễ bắt màu, có thể thấy được ở giai đoạn gian kỳ dưới kính hiển vi quang học.

## 2. PHÂN TÍCH CHẤT NHIỄM SẮC GIỚI TÍNH

### 2.1. VẬT THỂ BARR



## 2. PHÂN TÍCH CHẤT NHIỄM SẮC GIỚI TÍNH

### 2.1. VẬT THỂ BARR

– Có sự liên quan giữa số NST X với số VT Barr:

$$\text{Số vật thể Barr} = \text{Số NST X} - 1$$

- **VD:**

- Nữ bình thường 46,XX và nam 47,XXY có 1 VT Barr.

- Nữ 45,XO và nam bình thường 46,XY không có VT Barr.

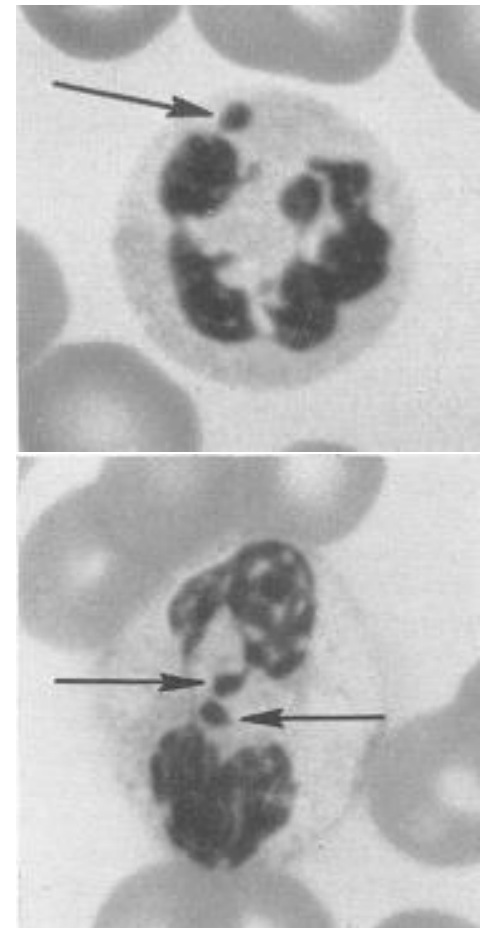
- Nữ 47,XXX có 2 VT Barr.

- **Ứng dụng lâm sàng:** Xác định sơ bộ số NST X.

## 2. PHÂN TÍCH CHẤT NHIỄM SẮC GIỚI TÍNH

### 2.2. VẬT THỂ DÙI TRỐNG

- Do Davidson và Smith (1954) phát hiện và mô tả trên bạch cầu đa nhân.
- Là khối nhân nhỏ, đường kính khoảng 1,5  $\mu\text{m}$ , gắn với nhân tế bào bằng một chân gắn rất mảnh.
- Có thể xuất hiện ở cả neutrophil, eosinophil và basophil, nhưng trên thực tế chỉ có neutrophil được xem xét.





## 2. PHÂN TÍCH CHẤT NHIỄM SẮC GIỚI TÍNH

### 2.2. VẬT THỂ DÙI TRỐNG

- VT dùi trống có nguồn gốc từ 1 NST X bị bất hoạt  
→ Là cấu trúc tương tự vật thể Barr.
- Tuy nhiên, có nhiều trường hợp chưa giải thích được, VD:
  - *Bệnh nhân Klinefelter có tỷ lệ dùi trống thấp hơn người nữ bình thường, trong khi tỷ lệ vật thể Barr là tương đương.*
  - *Người có 3 NST X có TB mang 2 VT Barr chiếm tỷ lệ cao, nhưng tỷ lệ bạch cầu mang 2 dùi trống là rất hiếm.*
- Hầu như không được ứng dụng trong thực tế.

## **2. PHÂN TÍCH CHẤT NHIỄM SẮC GIỚI TÍNH**

### **2.3. CHỈ ĐỊNH XÉT NGHIỆM CHẤT NS GIỚI TÍNH**

- Người bị dị dạng cơ quan sinh dục ngoài.
- Nam nữ chậm phát triển giới tính.
- Các trường hợp vô sinh.
- Xác định giới tính của bào thai.

## **B. MỘT SỐ KỸ THUẬT NGHIÊN CỨU DI TRUYỀN PHÂN TỬ**

## B. MỘT SỐ KỸ THUẬT NGHIÊN CỨU DI TRUYỀN PHÂN TỬ

- Ích lợi của di truyền phân tử:
  - Cung cấp cơ sở lý luận để giải thích nguyên nhân phát sinh bệnh (di truyền).
  - Cung cấp các công cụ, kỹ thuật chẩn đoán bệnh.
  - Cung cấp các phương pháp chữa bệnh mới (VD: Liệu pháp gen, protein tái tổ hợp...).
  - Hỗ trợ các nghiên cứu tế bào, quần thể, tiến hóa...và các lĩnh vực KHTN – XH khác.

## B. MỘT SỐ KỸ THUẬT NGHIÊN CỨU DI TRUYỀN PHÂN TỬ

- Những kỹ thuật cơ bản được sử dụng nhiều trong các nghiên cứu về di truyền phân tử:
  1. Phản ứng chuỗi trùng hợp - Polymerase Chain Reaction (PCR)
  2. Kỹ thuật điện di (Electrophoresis)
  3. Cắt giới hạn bằng Enzyme
  4. Tạo dòng gen mục tiêu (Gene cloning)
  5. Lai phân tử (blotting)
  6. Giải trình tự DNA (DNA sequencing)

## **B. MỘT SỐ KỸ THUẬT NGHIÊN CỨU DI TRUYỀN PHÂN TỬ**

### **1. PHẢN ỨNG CHUỖI TRÙNG HỢP – PCR**

- Do Kary Mullis phát minh năm 1985.
- Tăng số lượng gen mục tiêu, phục vụ cho nghiên cứu.
- Yếu tố quan trọng: Kích thước đoạn gen mục tiêu, mồi đặc hiệu (primer), nhiệt độ phản ứng, enzyme polymerase, số chu kỳ phản ứng.
- 3 bước chính/chu kỳ: Tách mạch, gắn mồi, kéo dài mạch.

**Denaturierung (95°C):**

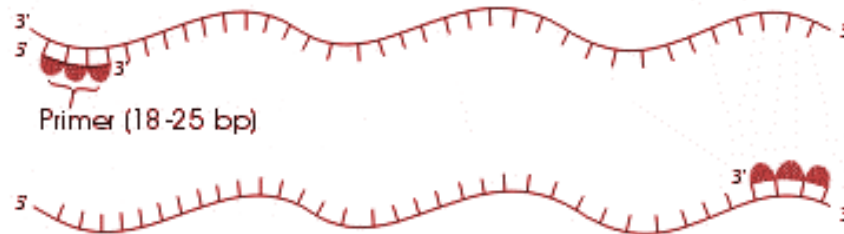
**PCR**



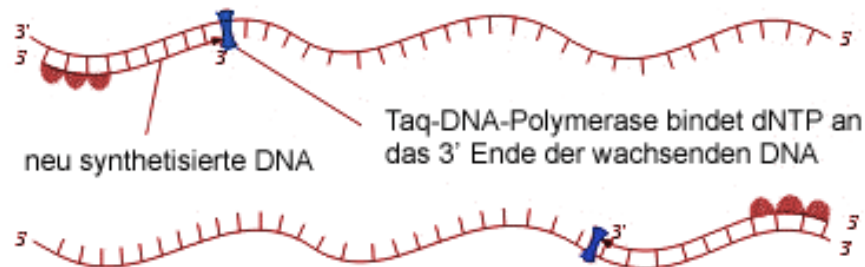
Trennung der doppelsträngigen DNA  
in 2 Einzelstränge



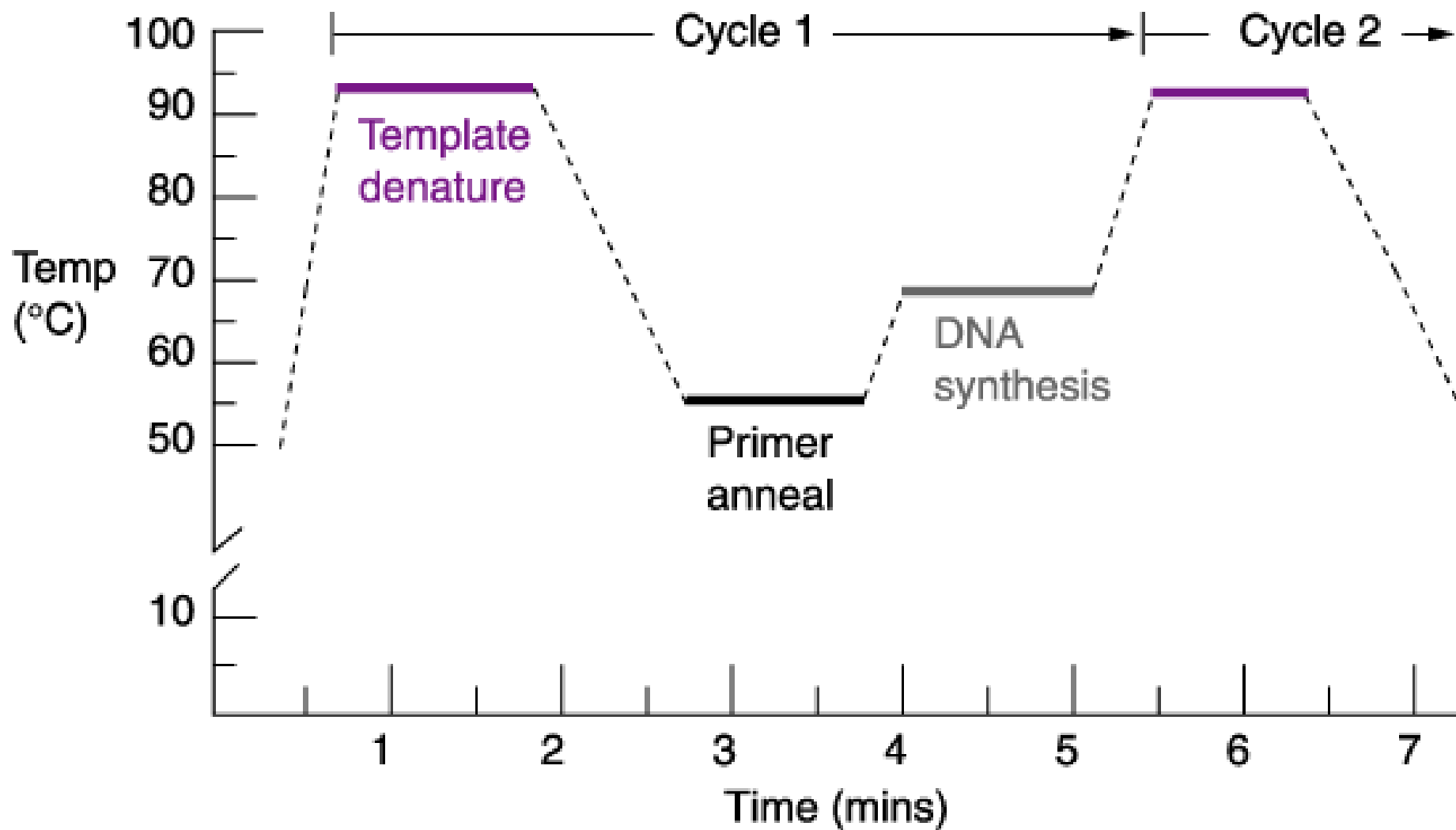
**Hybridisierung (54-63°C):**



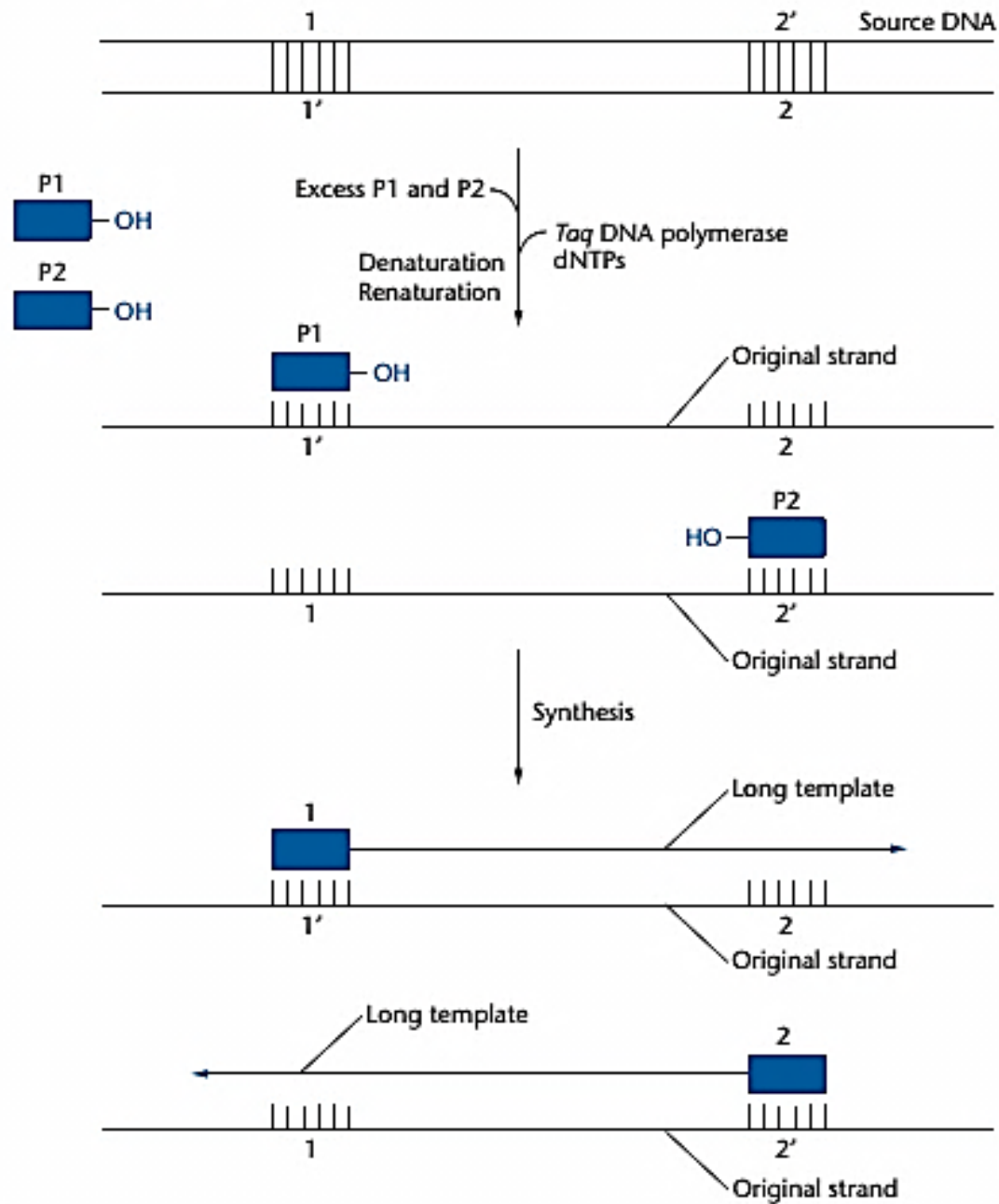
**Polymerisierung (72°C):**



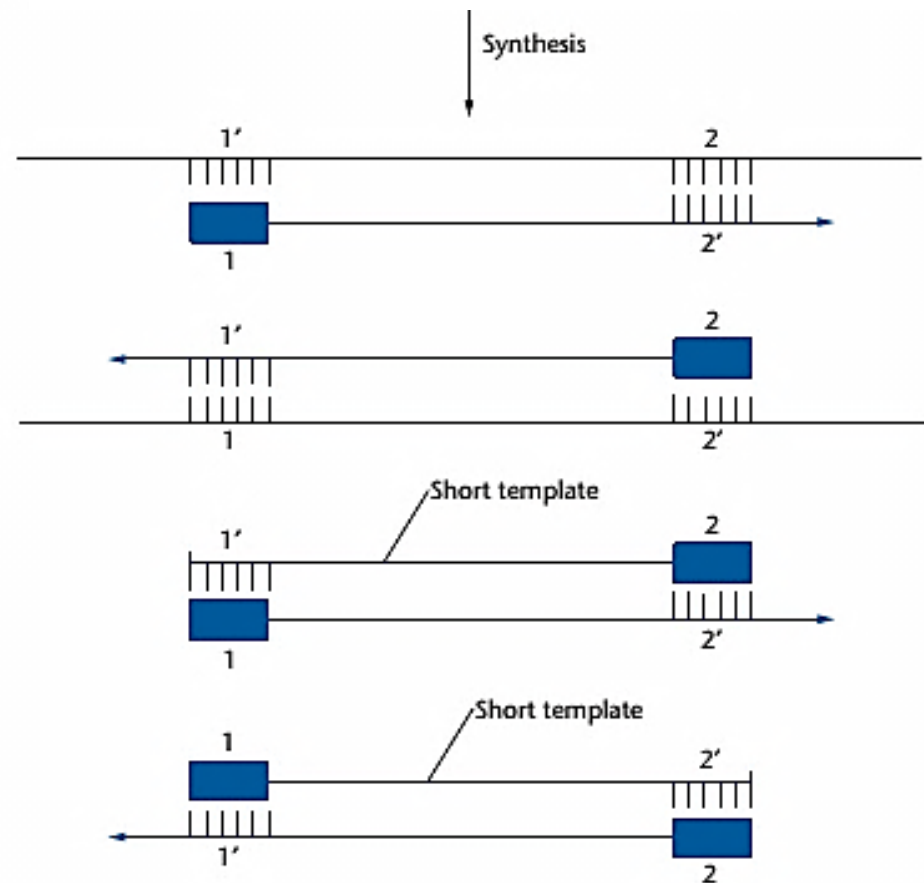
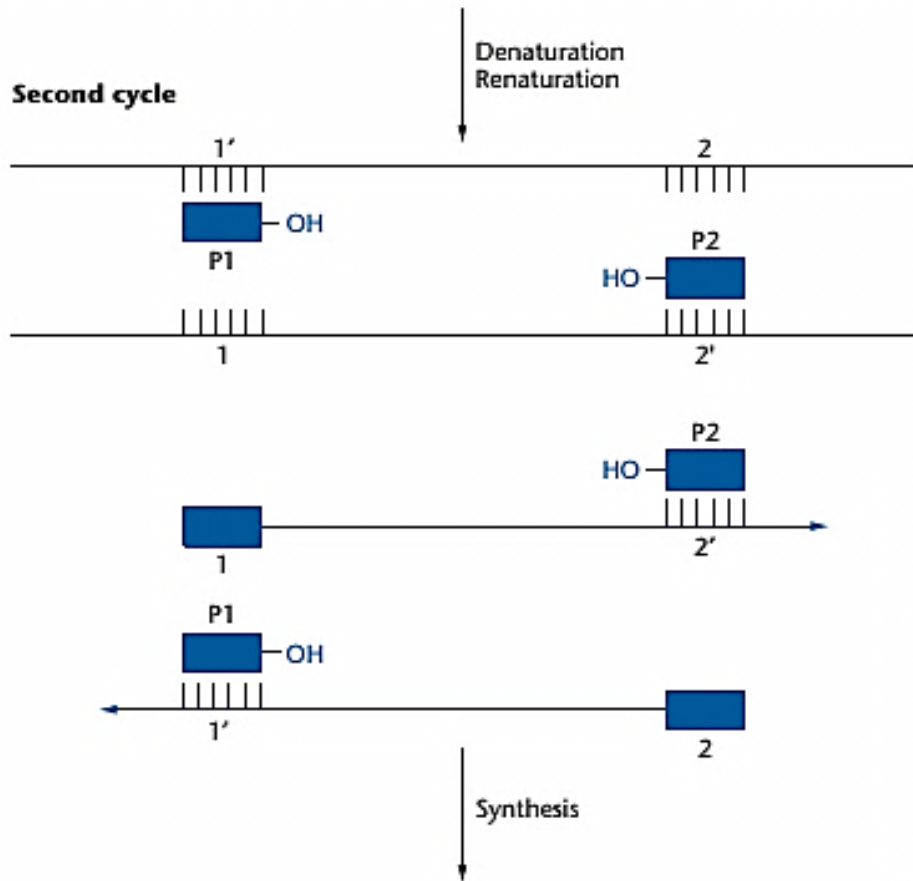




## First cycle

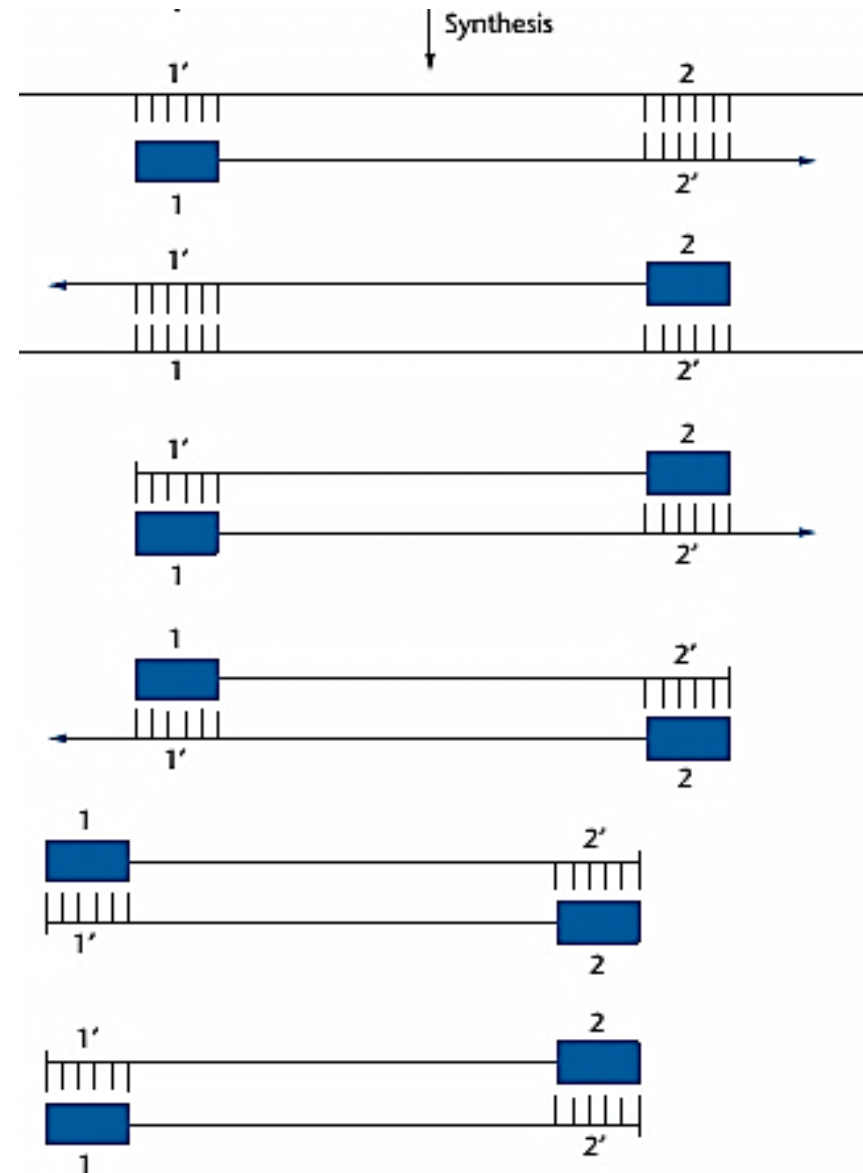
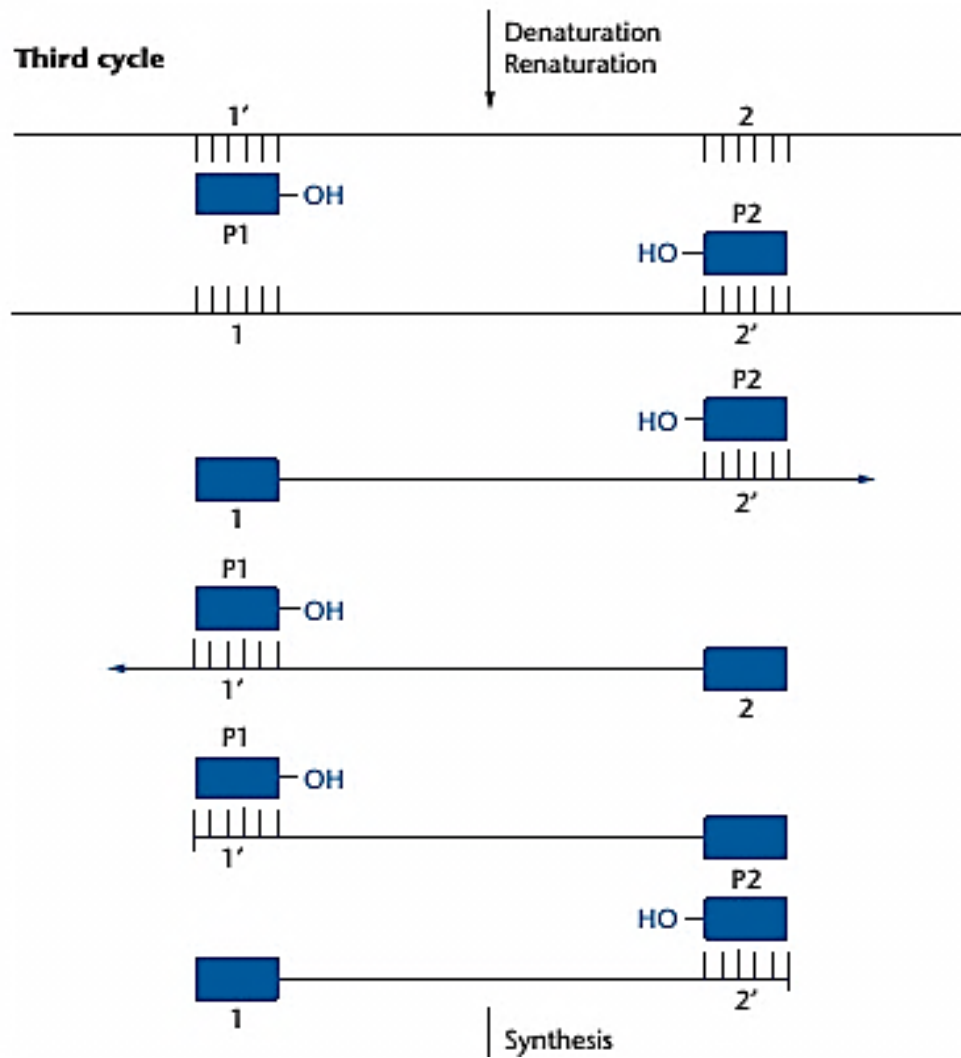


Chu kỳ 1



**Chu kỳ 2**

### Third cycle



Chu kỳ 3 ...





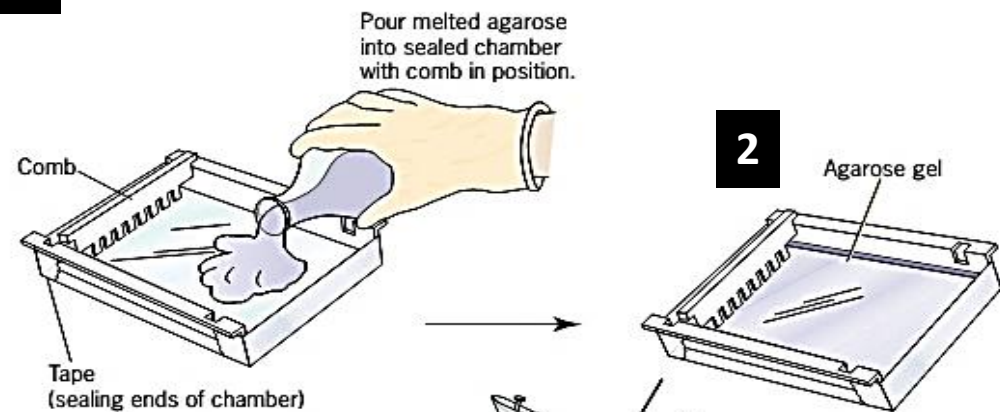
**Thiết bị PCR**

## **B. MỘT SỐ KỸ THUẬT NGHIÊN CỨU DI TRUYỀN PHÂN TỬ**

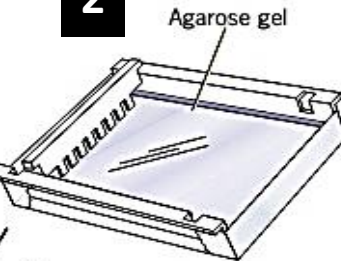
### **2. KỸ THUẬT ĐIỆN DI - ELECTROPHORESIS**

- Là phương pháp để phân tách và phân tích đại phân tử (các đoạn DNA, RNA, protein) dựa trên kích thước và điện tích.
- Ứng dụng trong lai phân tử, giải trình tự DNA, tách DNA mục tiêu, phân tích đa hình chiều dài DNA (RFLP)...
- Độ phân giải thấp: Điện di gel agarose.
- Độ phân giải cao: Điện di gel polyacrilamide, điện di mao quản (capillary electrophoresis).

**1** Prepare a semisolid agarose gel with wells for DNA samples.

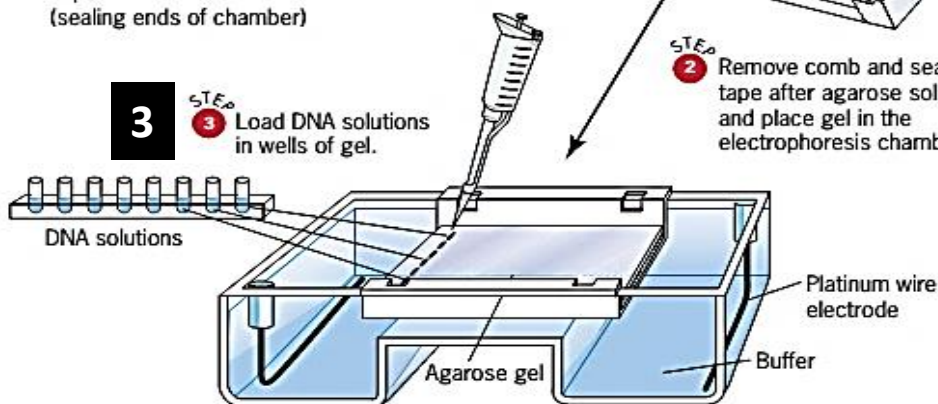


**2**



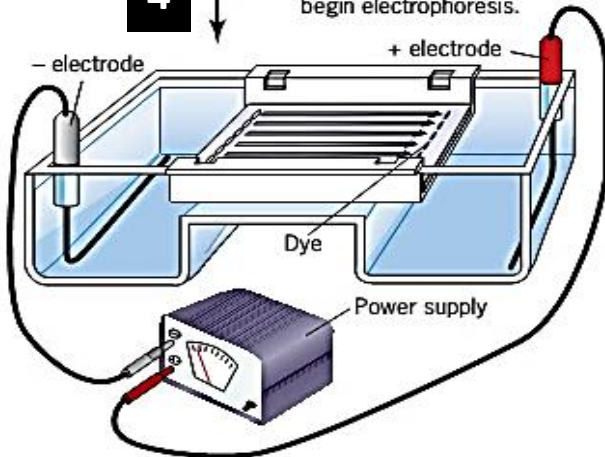
**3**

**STEP 3** Load DNA solutions in wells of gel.



**4**

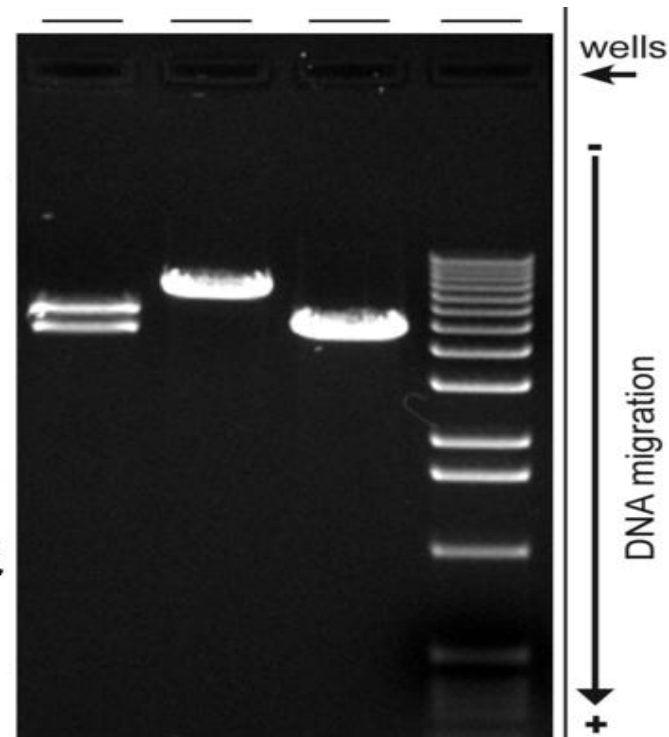
**STEP 4** Attach power supply and begin electrophoresis.



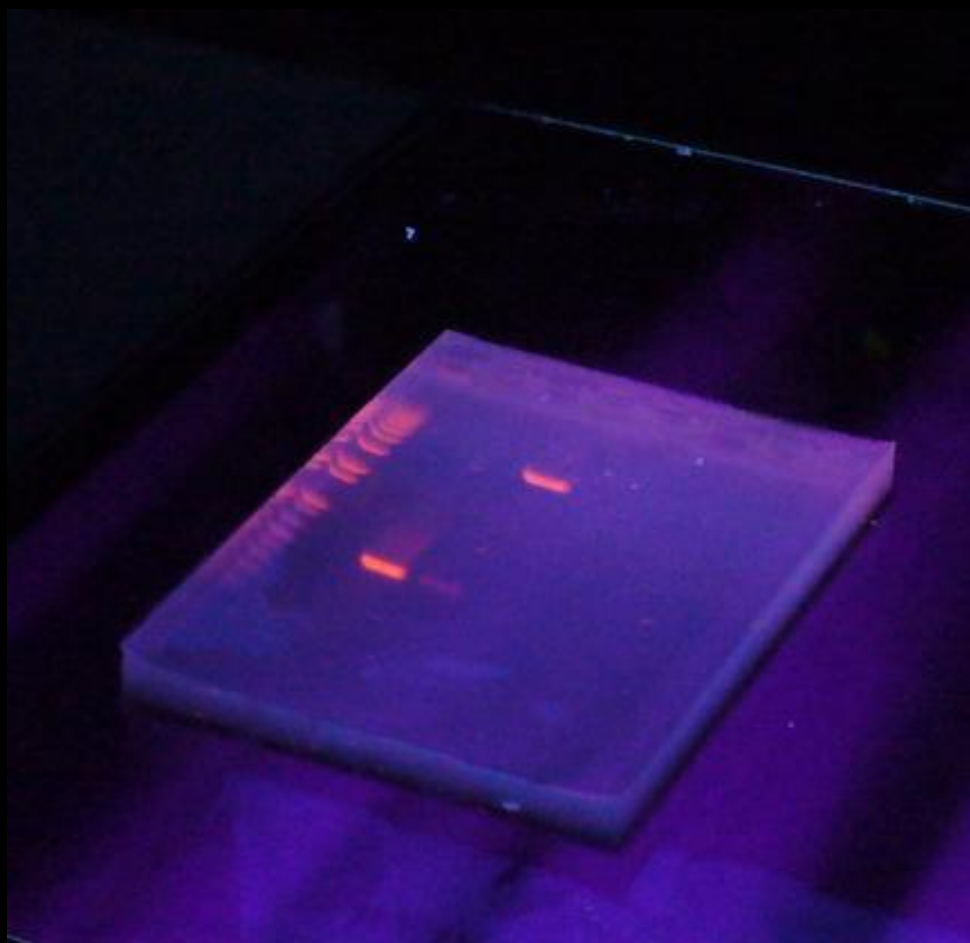
**5**

**STEP 5** Remove gel from chamber, stain with ethidium bromide, and photograph under UV illumination.

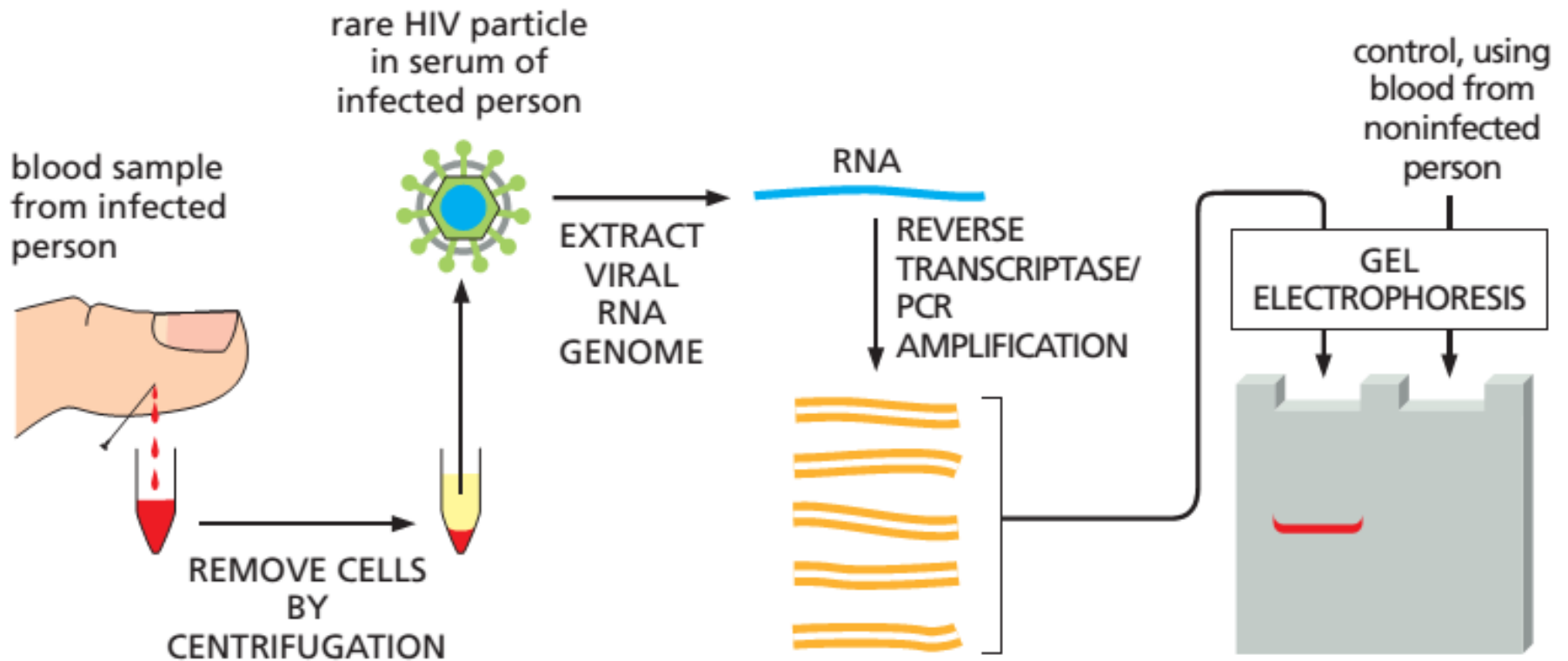
Các bước của KT điện di DNA:  
**1, 2-** Chuẩn bị gel.  
**3 –** Nạp mẫu vào giếng trên gel.  
**4 -** Gắn nguồn điện 1 chiều.  
**5 -** Nhuộm DNA, quan sát dưới đèn UV và chụp hình.











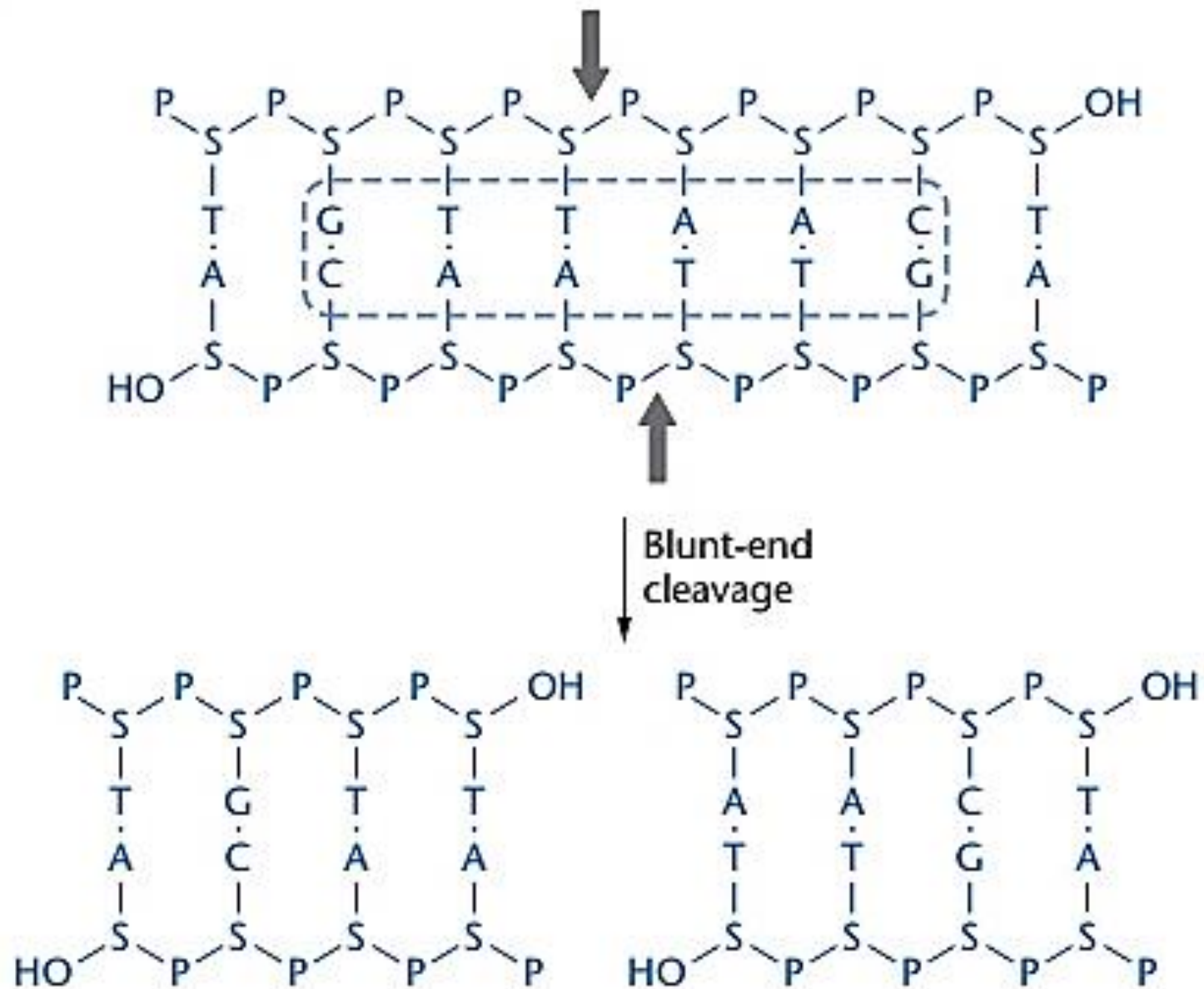
Ứng dụng PCR và điện di để xét nghiệm virus HIV

## B. MỘT SỐ KỸ THUẬT NGHIÊN CỨU DI TRUYỀN PHÂN TỬ

### 3. CẮT DNA BẰNG ENZYME CẮT GIỚI HẠN

- Là phương pháp để cắt gen hoặc một đoạn DNA bằng enzyme.
- Enzyme thu nhận từ vi khuẩn, nấm và virus.
- Ứng dụng:
  - Thu gen mục tiêu.
  - Cắt gen, vector và nối vào để tạo vector tái tổ hợp mang gen.
  - Nghiên cứu đa hình chiều dài (RFLP).



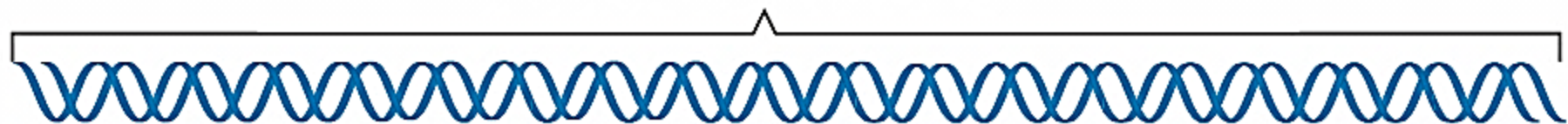


**Enzyme cắt DNA có đầu “bằng”**

Enzyme	Source	Recognition Sequence <sup>a</sup> and Cleavage Sites <sup>b</sup>		Type of Ends Produced	
<i>EcoRI</i>	<i>Escherichia coli</i> strain RY13	$\begin{array}{c} \downarrow \\ 5'\text{-GAA TTC-}3' \\ 3'\text{-CTT AAG-}5' \\ \uparrow \end{array}$	$\xrightarrow[\text{digest}]{\text{Restriction}}$	$\begin{array}{c} 5'\text{-G} \\ 3'\text{-CTTAA-}5' \end{array} + \begin{array}{c} 5'\text{-AATTC-}3' \\ \text{G-}5' \end{array}$	5' Overhangs
<i>HincII</i>	<i>Haemophilus influenzae</i> strain R <sub>c</sub>	$\begin{array}{c} \downarrow \\ 5'\text{-GTPy} \cdot \text{PuAC-}3' \\ 3'\text{-CAPu} \cdot \text{PyTG-}5' \\ \uparrow \end{array}$	$\longrightarrow$	$\begin{array}{c} 5'\text{-GTPy-}3' \\ 3'\text{-CAPu-}5' \end{array} + \begin{array}{c} 5'\text{-PuAC-}3' \\ 3'\text{-PyTG-}5' \end{array}$	Blunt
<i>HindIII</i>	<i>Haemophilus influenzae</i> strain R <sub>d</sub>	$\begin{array}{c} \downarrow \\ 5'\text{-AAG CTT-}3' \\ 3'\text{-TTC GAA-}5' \\ \uparrow \end{array}$	$\longrightarrow$	$\begin{array}{c} 5'\text{-A} \\ 3'\text{-TTCCGA-}5' \end{array} + \begin{array}{c} 5'\text{-AGCTT-}3' \\ \text{A-}5' \end{array}$	5' Overhangs
<i>HpaII</i>	<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	$\begin{array}{c} \downarrow \\ 5'\text{-CC GG-}3' \\ 3'\text{-GG CC-}5' \\ \uparrow \end{array}$	$\longrightarrow$	$\begin{array}{c} 5'\text{-C} \\ 3'\text{-GGC-}5' \end{array} + \begin{array}{c} 5'\text{-CGG-}3' \\ \text{C-}5' \end{array}$	5' Overhangs
<i>AluI</i>	<i>Arthrobacter luteus</i>	$\begin{array}{c} \downarrow \\ 5'\text{-AG CT-}3' \\ 3'\text{-TC GA-}5' \\ \uparrow \end{array}$	$\longrightarrow$	$\begin{array}{c} 5'\text{-AG-}3' \\ 3'\text{-TC-}5' \end{array} + \begin{array}{c} 5'\text{-CT-}3' \\ 3'\text{-GA-}5' \end{array}$	Blunt
<i>PstI</i>	<i>Providencia stuartii</i>	$\begin{array}{c} \downarrow \\ 5'\text{-CTG CAG-}3' \\ 3'\text{-GAC GTC-}5' \\ \uparrow \end{array}$	$\longrightarrow$	$\begin{array}{c} 5'\text{-CTGCA-}3' \\ 3'\text{-G} \end{array} + \begin{array}{c} \text{G-}3' \\ 3'\text{-ACGTC-}5' \end{array}$	3' Overhangs
<i>Clal</i>	<i>Caryophanon latum</i>	$\begin{array}{c} \downarrow \\ 5'\text{-ATC GAT-}3' \\ 3'\text{-TAG CTA-}5' \\ \uparrow \end{array}$	$\longrightarrow$	$\begin{array}{c} 5'\text{-AT} \\ 3'\text{-TAGC-}5' \end{array} + \begin{array}{c} 5'\text{-CGAT-}3' \\ \text{TA-}5' \end{array}$	5' Overhangs
<i>SacI</i>	<i>Streptomyces achromogenes</i>	$\begin{array}{c} \downarrow \\ 5'\text{-GAG CTC-}3' \\ 3'\text{-CTC GAG-}5' \\ \uparrow \end{array}$	$\longrightarrow$	$\begin{array}{c} 5'\text{-GAGCT-}3' \\ 3'\text{-C} \end{array} + \begin{array}{c} \text{C-}3' \\ 3'\text{-TCGAG-}5' \end{array}$	3' Overhangs
<i>NotI</i>	<i>Nocardia otitidis</i>	$\begin{array}{c} \downarrow \\ 5'\text{-GCGG CCGC-}3' \\ 3'\text{-CGCC GGCG-}5' \\ \uparrow \end{array}$	$\longrightarrow$	$\begin{array}{c} 5'\text{-GC} \\ 3'\text{-CGCCGG-}5' \end{array} + \begin{array}{c} 5'\text{-GGCCGC-}3' \\ \text{CG-}5' \end{array}$	5' Overhangs

**Not cut**

6000 nucleotide pairs

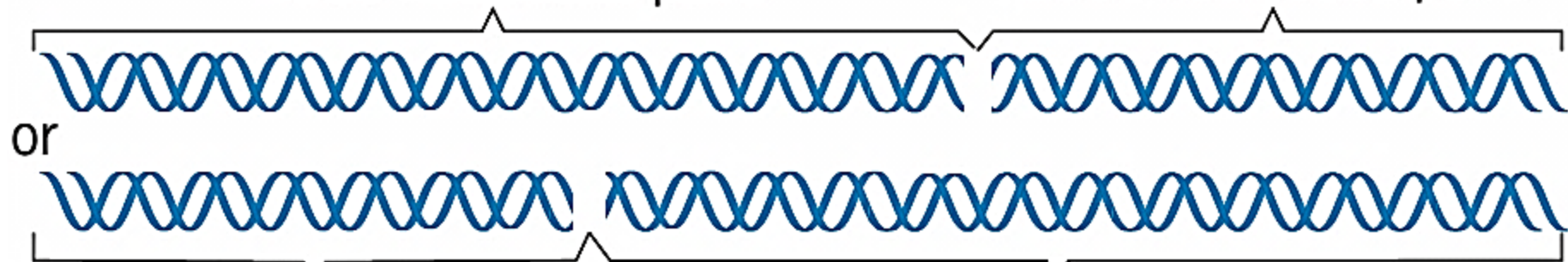


(a)

**EcoRI cut**

4000 nucleotide pairs

2000 nucleotide pairs

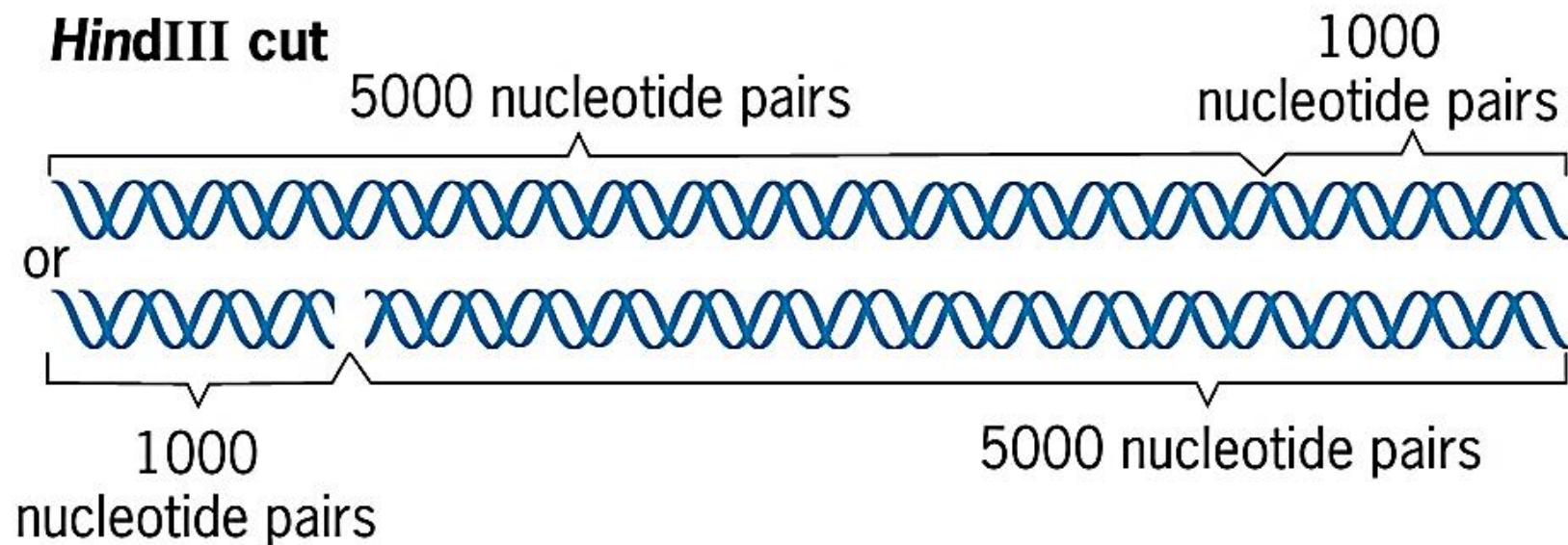


2000 nucleotide pairs

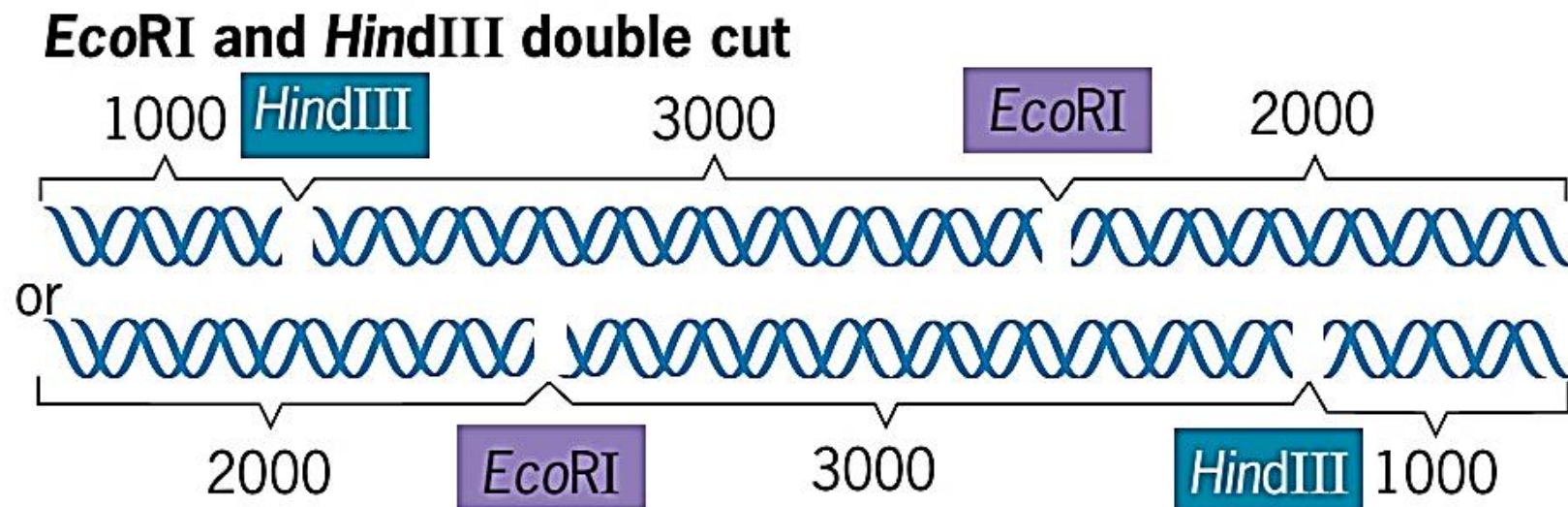
4000 nucleotide pairs

(b)

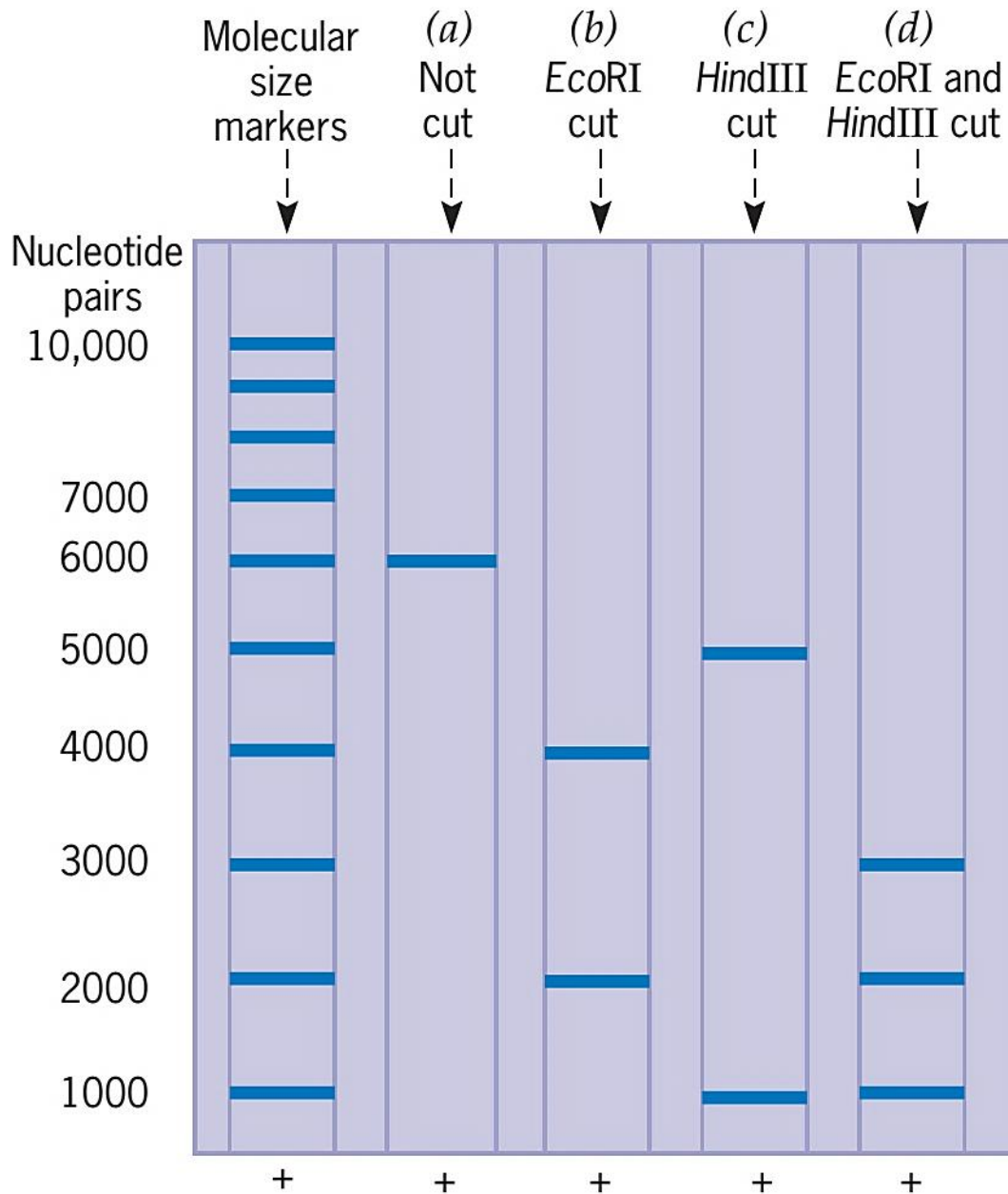




(c)



(d)



Kết quả điện di các đoạn của cùng 1 pt DNA cắt bằng các enzyme khác nhau.

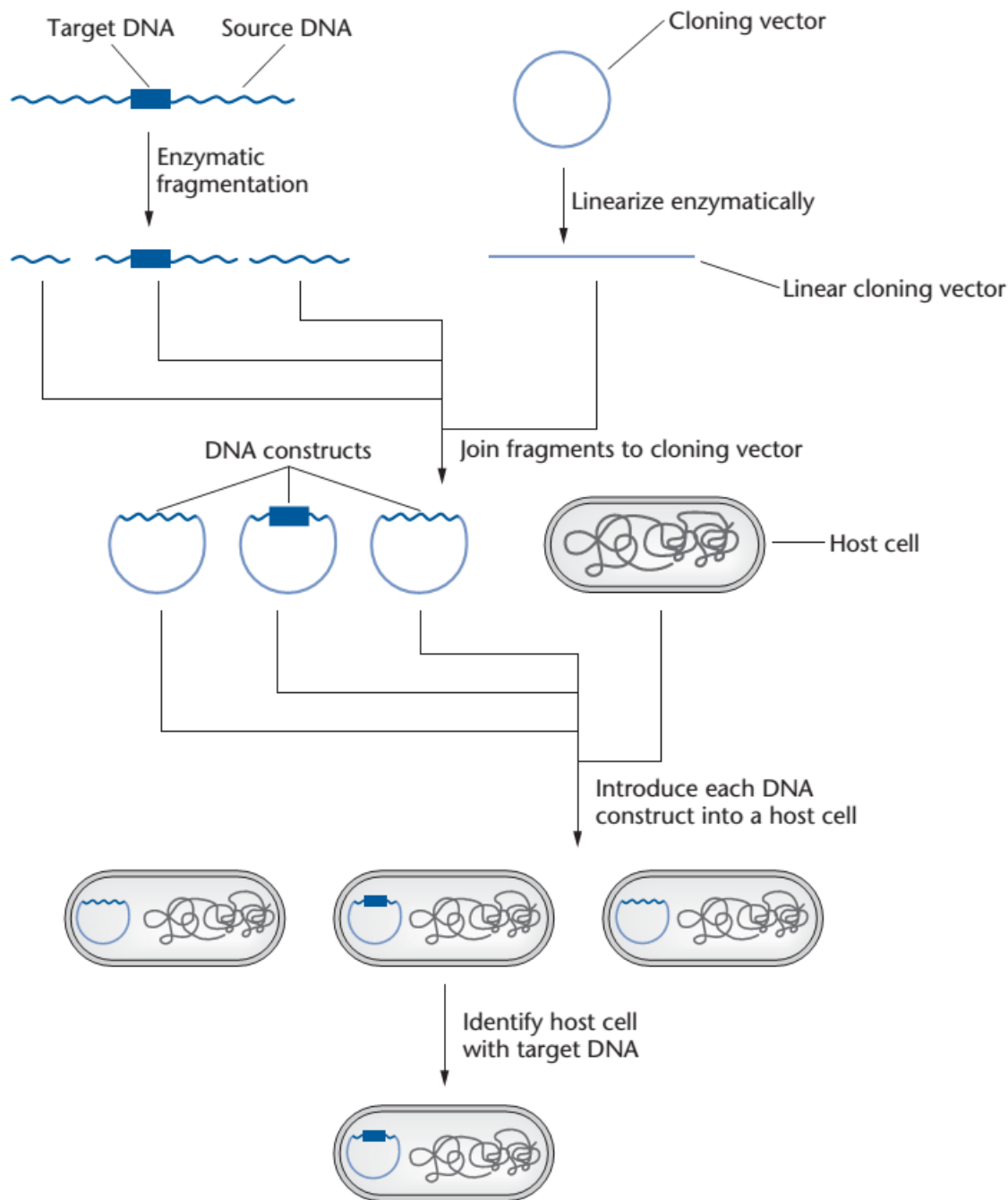
(e)



## B. MỘT SỐ KỸ THUẬT NGHIÊN CỨU DI TRUYỀN PHÂN TỬ

### 4. TẠO DÒNG GEN MỤC TIÊU (GENE CLONING)

- Là kỹ thuật chuyển gen mục tiêu vào vector và chuyển vào tế bào chủ nhằm mục đích tạo nguồn gen.
  - Nghiên cứu chức năng của gen.
  - Giải trình tự đoạn DNA mục tiêu.
  - Tạo protein tái tổ hợp.
  - Biểu hiện protein mục tiêu → vaccine.

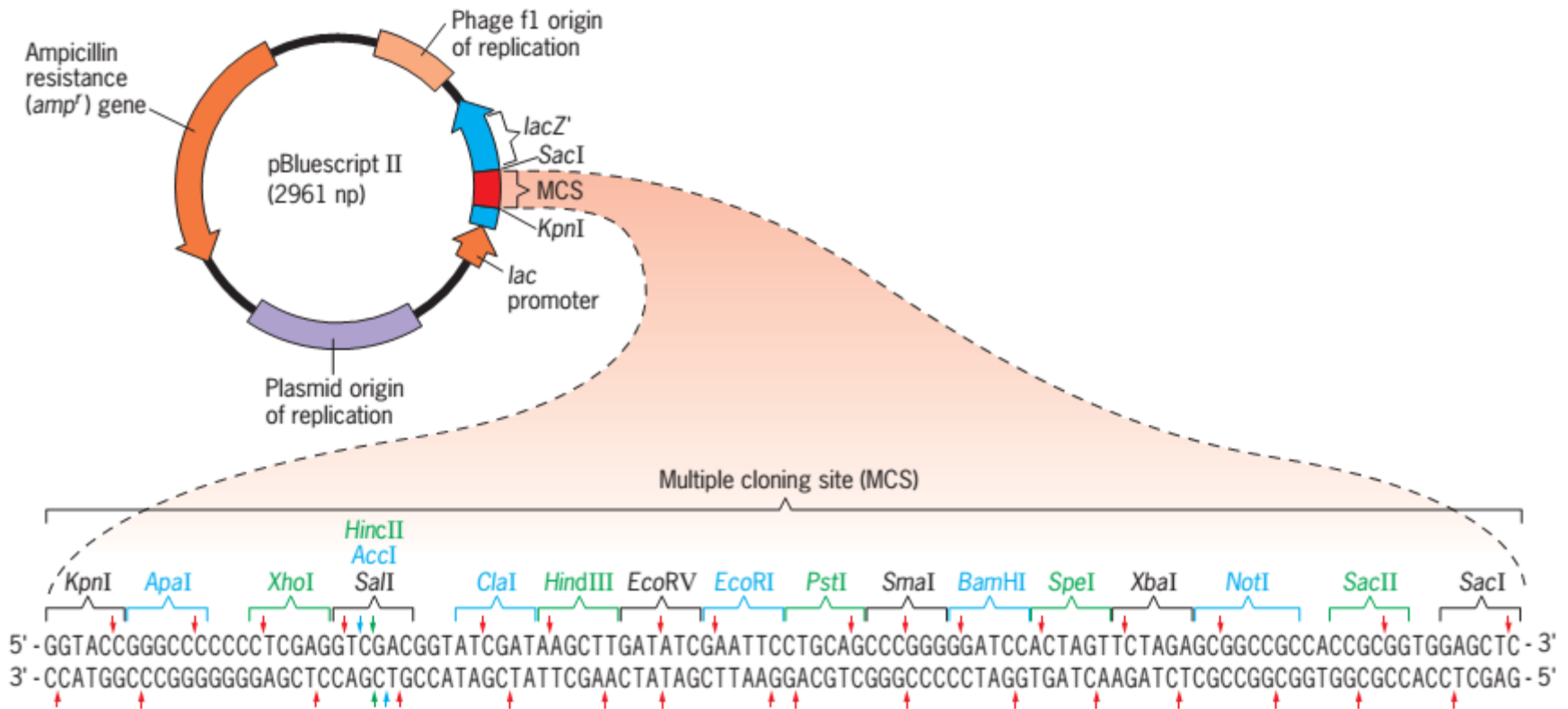


1- Cắt DNA mục tiêu và vector.

2- Gắn DNA mục tiêu vào vector và chuẩn bị tế bào khả nạp.

3- Biến nạp vào TB chủ.

# Cấu trúc cơ bản của một vector



- **MCS – Multiple cloning site** – Vùng có nhiều vị trí nhận biến của R-Enzyme
- **Promoter** để tạo bản sao trong TB chủ hoặc biểu hiện gen.
- Gen kháng kháng sinh dùng để chọn lọc TB biến nạp

# Các hệ thống vector và tế bào chủ

Vector system	Host system	Insert capacity (kb)
Plasmid	<i>E. coli</i>	0.1–10
Bacteriophage $\lambda$	$\lambda$ / <i>E. coli</i>	10–20
Cosmid	<i>E. coli</i>	35–45
Bacteriophage P1	<i>E. coli</i>	80–100
Bacterial artificial chromosome (BAC)	<i>E. coli</i>	50–300
P1-derived artificial chromosome (PAC)	<i>E. coli</i>	100–300
Yeast artificial chromosome (YAC)	Yeast	200–2000
Human artificial chromosome (HAC)	Cultured human cells	>2000

- Tùy vào mục đích tạo dòng gen hoặc biểu hiện gen mà sử dụng các loại vector khác nhau.
- Tùy thuộc vào kích thước gen mục tiêu mà chọn vector và vật chủ thích hợp.

## **B. MỘT SỐ KỸ THUẬT NGHIÊN CỨU DI TRUYỀN PHÂN TỬ**

### **5. LAI PHÂN TỬ (BLOTTING)**

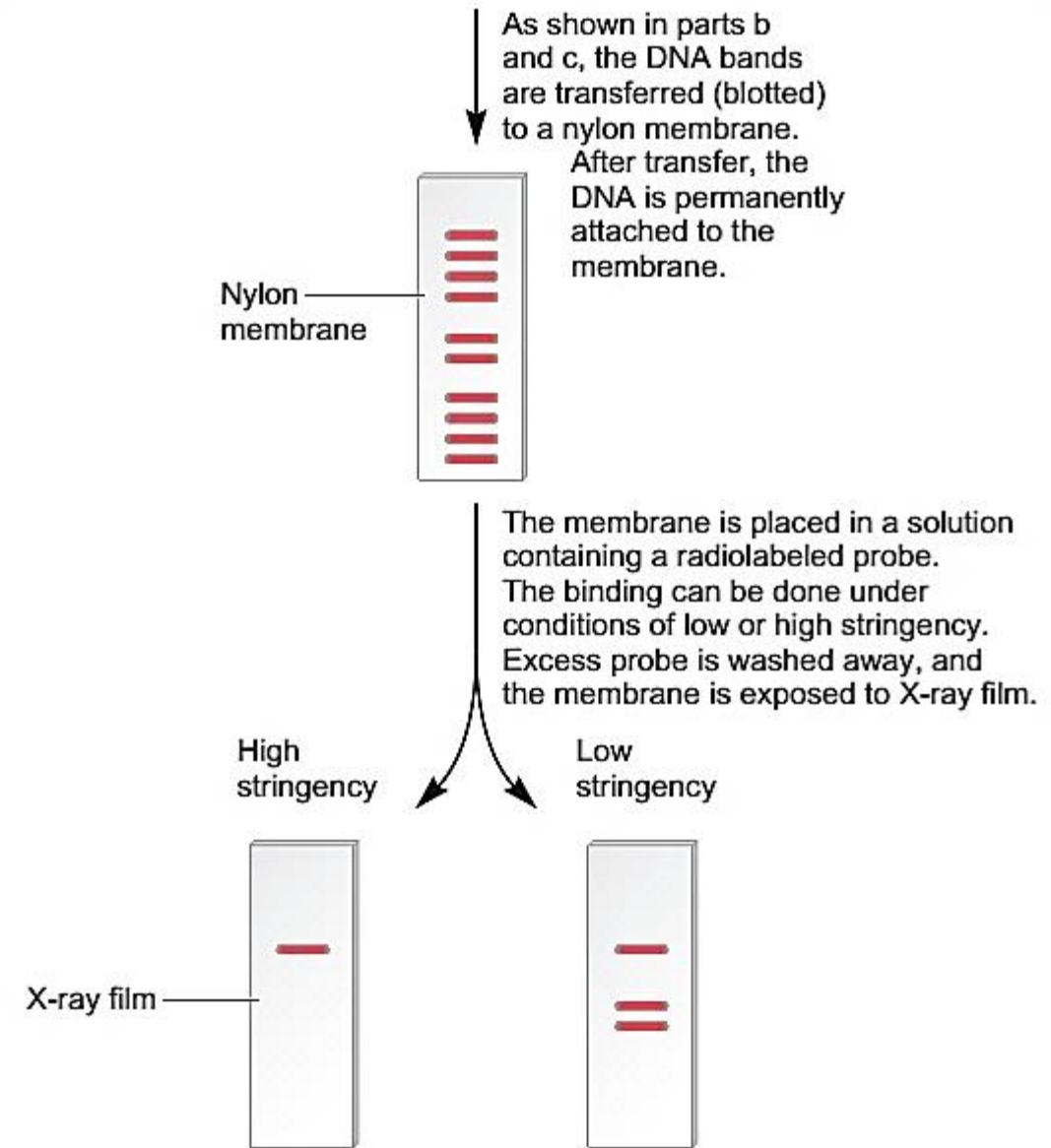
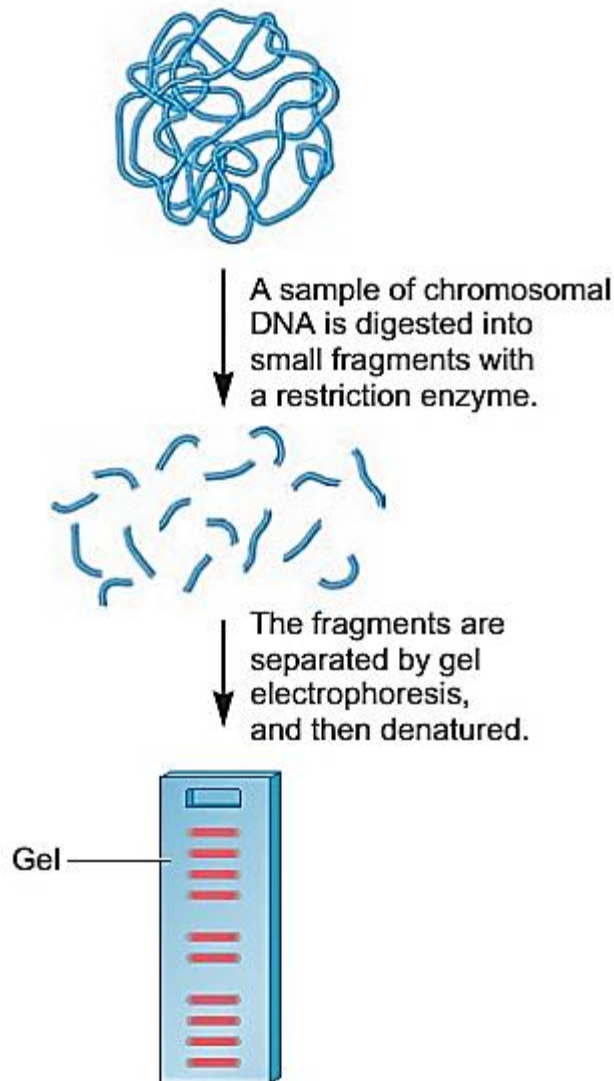
- Là kỹ thuật chuyển các đoạn DNA, RNA hoặc protein lên màng lai và dùng các mẫu dò (probe) để xác định có sự hiện diện của phân tử mục tiêu hay không.
- Ứng dụng trong phát hiện gen, protein bệnh; sự biểu hiện gen ở thời điểm, vị trí hoặc điều kiện nhất định nào đó...

## B. MỘT SỐ KỸ THUẬT NGHIÊN CỨU DI TRUYỀN PHÂN TỬ

### 5. LAI PHÂN TỬ (BLOTTING)

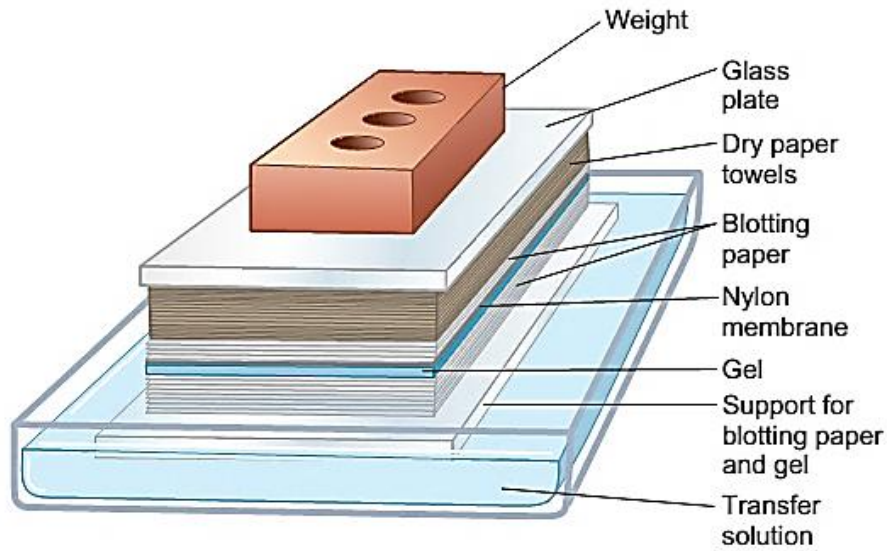
- Có nhiều kỹ thuật lai phân tử, nhưng cơ bản nhất là các kỹ thuật sau:
  - Southern blot – Lai DNA.
  - Northern blot – Lai RNA.
  - Western blot – Lai protein.
  - ELISA – phát hiện kháng nguyên, kháng thể.
  - FISH.

# Southern blot



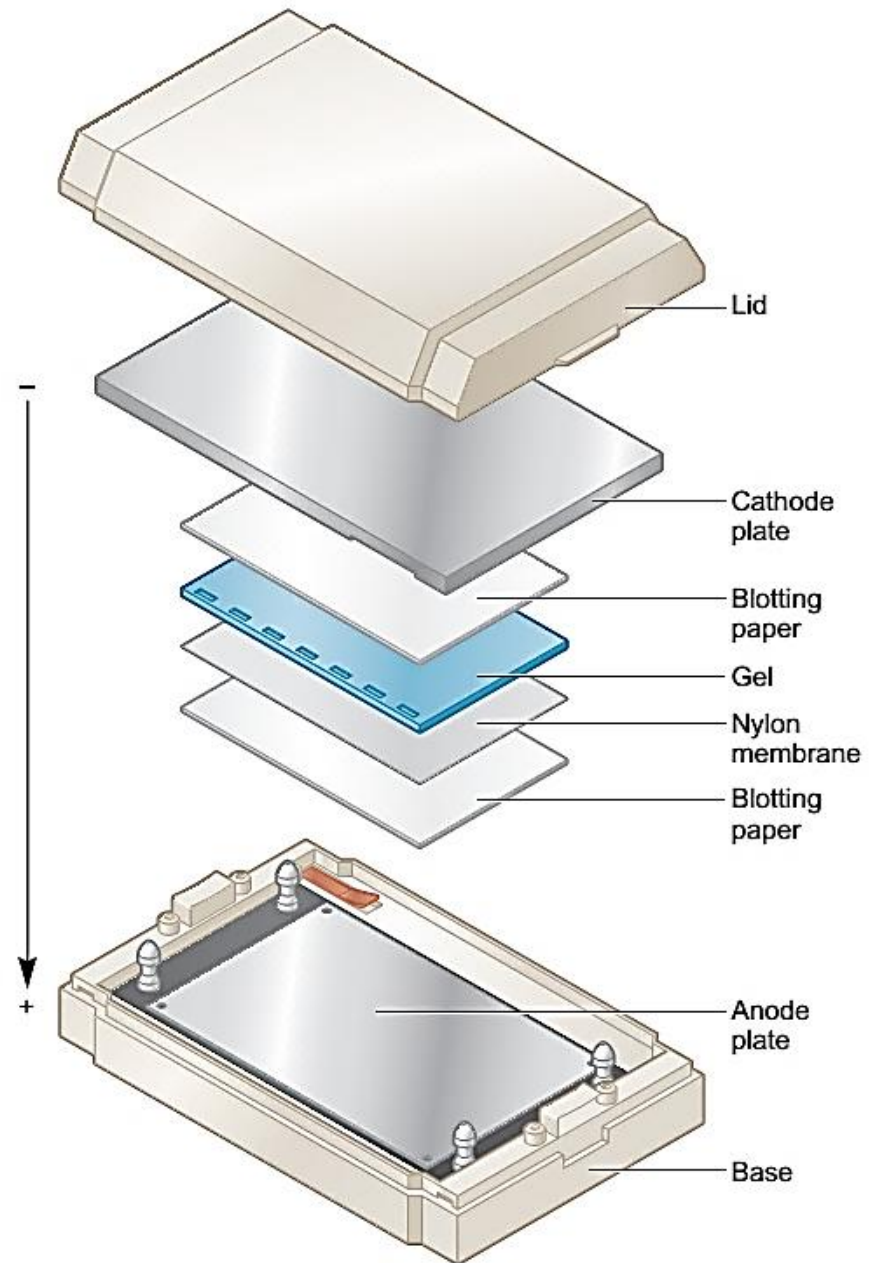
(a) The steps in Southern blotting

# Southern blot



(b) Transfer step (traditional method)

- Ứng dụng phát hiện gen mục tiêu (bệnh)
- Kết hợp với RFLP, VNTR, STRs, SNPs... trong xác định huyết thống, pháp y, xác định hài cốt...



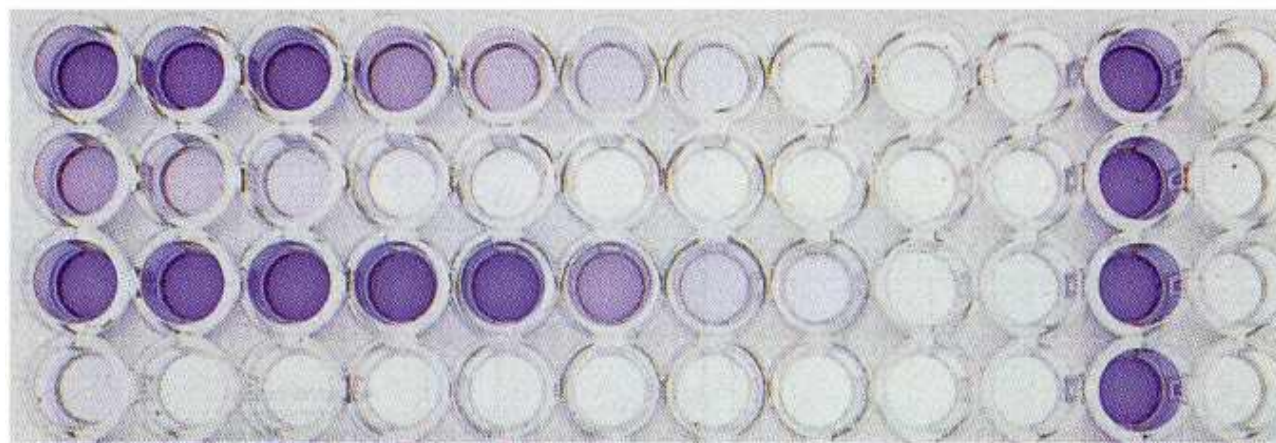
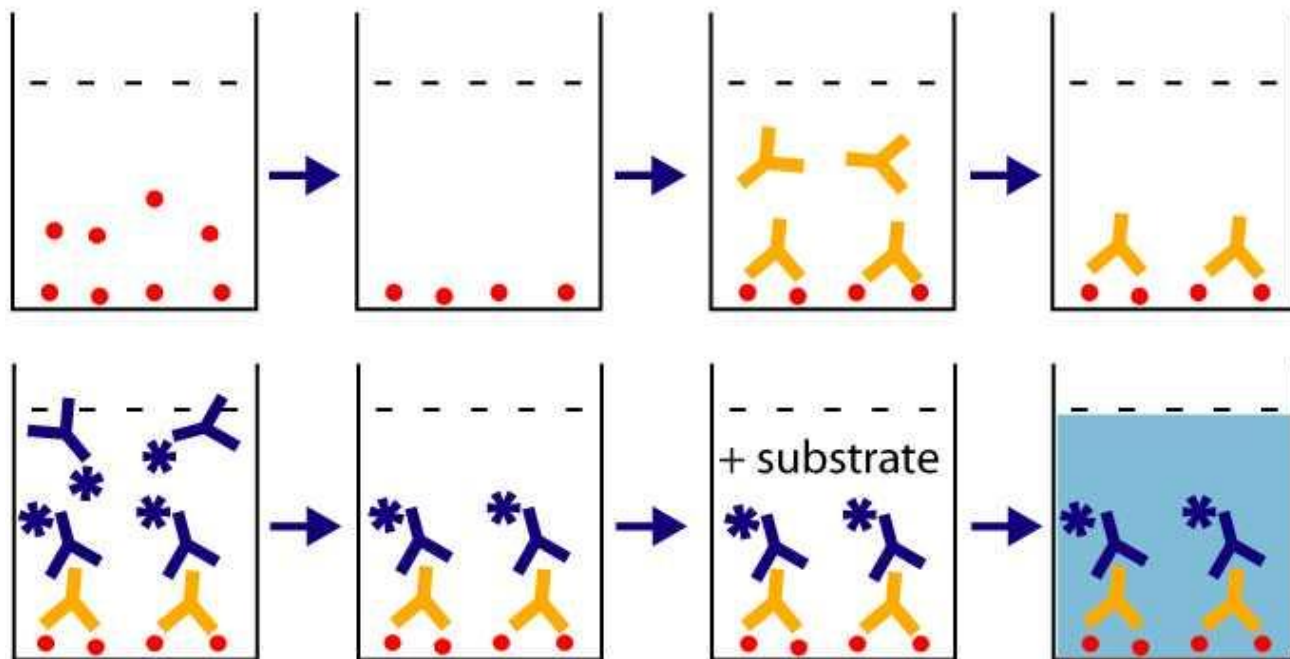
(c) The transfer step via electrophoresis



# ELISA - Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay



- Ứng dụng phát hiện kháng nguyên bệnh hoặc kháng thể do cơ thể sinh ra do tiếp xúc với kháng nguyên.

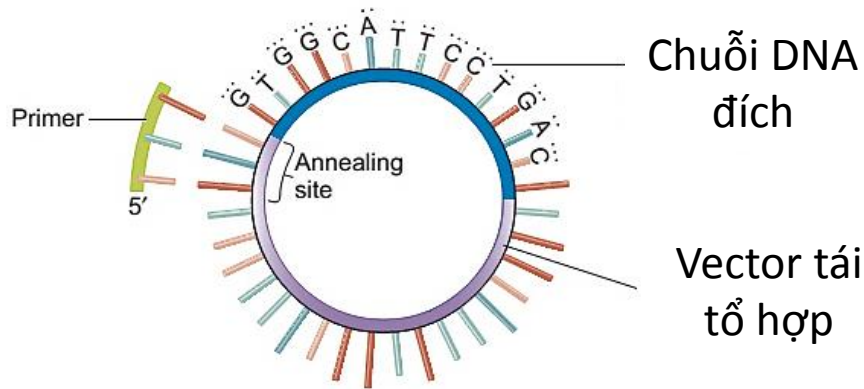


## B. MỘT SỐ KỸ THUẬT NGHIÊN CỨU DI TRUYỀN PHÂN TỬ

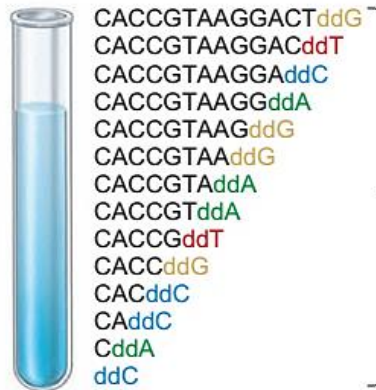
### 6. GIẢI TRÌNH TỰ DNA

- 2 phương pháp giải trình tự:
  1. Phương pháp enzyme hay phương pháp dideoxynucleotide (Sanger - 1977)
  2. Phương pháp hóa học (Maxam & Gilbert - 1977)
- Hiện nay: Giải trình tự tự động, dựa theo phương pháp của Sanger.

# Giải trình tự tự động

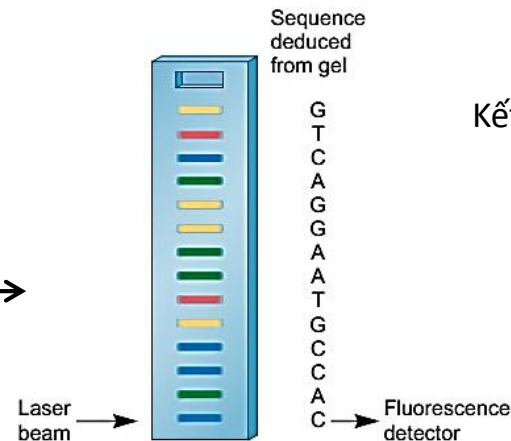


- Nhiều bản sao của vector tái tổ hợp, primer, dNTP, dideoxynucleotides đánh dấu huỳnh quang được trộn lẫn.
- Bổ sung DNA polymerase → PCR.



- Các dideoxynucleotides gắn vào mạch kéo dài làm ngừng phản ứng trùng hợp.

Phân tách các đoạn bằng điện di trên gel



Kết quả phân tích của máy tính

