

Kỹ thuật giải trình tự Sanger



Nguyên lý kỹ thuật

Chain termination (kết thúc chuỗi)

- Enzyme DNA polymerase xúc tác gắn các nucleotide vào đoạn ADN đơn đang tổng hợp ở vị trí 3' có nhóm –OH tự do, khi gặp nucleotide không có 3'-OH thì phản ứng tổng hợp dừng lại.
- Sử dụng các dideoxynucleotide (ddNTP) không có nhóm 3'-OH ở phân tử đường -> làm ngưng tổng hợp chuỗi ADN đơn ngẫu nhiên.
- Mỗi ddNTP được nhuộm màu huỳnh quang khác nhau.

- Sanger có tên khác là kết thúc chuỗi: quá trình nhân bản DNA lên tạo chuỗi DNA mới sẽ bị dừng lại-->quá trình dừng lại chỗ nào thì đoạn mới sẽ ngắn hay dài đi tùy vào cái kích thước của vật mình đưa vào để ngăn quá trình sao mã
- Do chuỗi muốn tiếp tục gắn phải cần đầu 3'OH-->cắt cái này đi thì sẽ ko còn tín hiệu cho nu tiếp theo gắn vào-->sử dụng ddNTP thay cho deoxy nucleotide
- ddNTP sau khi được DNA polymerase gắn vào-->mất tín hiệu OH-->ko gắn nu kế tiếp được-->chuỗi kết thúc tại đó
- Đọc dòng cuối slide: mỗi nu A T G C có mỗi màu khác nhau