

Những phương pháp thường được áp dụng trong SHPT

Từ những năm giữa thê kỷ 19, các nhà nghiên cứu sinh học phân tử đã tìm cách tách các phân tử DNA, RNA cũng như protein và khuyếch đại (nhân dòng) những phân tử này.

PCR (polymerase chain reaction)

Trong các tài liệu tiếng Việt có nhiều cách dịch khác nhau như phản ứng khuyếch đại gene, phản ứng chuỗi trùng hợp v.v. Về bản chất, phản ứng này được thực hiện nhằm mục đích tạo nhiều bản sao từ một phân tử DNA khi có mặt của DNA-polymersase với quá trình biến nhiệt theo chu kỳ.

Trong cơ thể sinh vật, các phân tử DNA được nhân lên (quá trình tự sao) với sự có mặt của DNA-polymerase, các thành phần tạo chuỗi DNA (các bazơ nitơ). Để quá trình tự sao này diễn ra nhân tạo, ngoài DNA-polymerase và các bazơ nitơ, cần cung cấp các

oligopeptide xác đinh điểm khởi đầu và điểm kết thúc của đoạn DNA cần tạo dòng (các primer, ta quen gọi là các đoạn mỗi), dung dịch đệm (buffer) và đặc biệt là chu trình nhiệt (thermocycle). Sự biến đổi về nhiệt độ theo chu trình sẽ làm cho DNA biến tính (làm hai mạch DNA phân ly), bắt cặp của các bazo nito của primer với các bazo nito bố sung trên mạch DNA và kéo dài mạch mới... Trình tự của primer và chu trình nhiệt được xác đinh phù hợp cho mỗi đoạn DNA cần nhân dòng. Xem chi tiết về kỹ thuật PCR căn bản của Cao Xuân Hiếu và bài viết trên wiki tiếng Việt [1].

Dựa trên nguyên tắc của PCR căn bản sử dụng các thermocycler (chúng ta hay gọi là các máy PCR) thông thường, các phương pháp PCR định lượng (quantitative PCR với các máy như Prism sequence detector, iCycler, Light Cycler) giúp xác định biểu hiện gene (gene expession ở mức RNA)...

Điện di trên gel

Là kỹ thuật dùng để tách các phân tử protein hay các đoạn DNA, RNA dựa trên sự khác nhau về khối lượng và điện tích của chúng. Vì mỗi phân tử protein hay nucleic acid đều mang điện tích nhất định nên nếu đặt chúng trong một điện trường chúng sẽ di chuyển. Các

phân tử có kích thước lớn sẽ di chuyển chậm, các phân tử có kích thước nhỏ sẽ di chuyển nhanh hơn. Quá trình điện di có thể được thực hiện trên giấy điện di hay gel (điện di trên gel, thường là agarose gel). Nhờ có chất nhuộm thích hợp mà có thể biết được vị trí của các phân tử trên giấy hoặc trên gel. Nếu có mẫu chuẩn với các phân tử đã biết trước kích thước ta có thể kiểm tra được kích thước của nucleic acid đã được tách trên gel. [2]

Southern blotting

Trong kỹ thuật này, các đoạn DNA đã tách trên gel được "thấm" lên nitrocellulo filter để "lai" với các mẫu nucleic acid đã được đánh dấu.

Từ kết quả "lai" có thể **xác định và phân lập được doạn DNA mong muốn.**

Northern blotting

Tương tự như Southern Blotting, kỹ thuật cho phép lai các đoạn RNA đã được tách trên gel với các mẫu đã được đánh dấu trong môi trường thích hợp để xác định các RNA mong muốn.

Western blotting

Sau khi các **protein** đã được tách trên gel, chúng được xác định bằng các kháng thể đã được biết trước.

Immunohistochemistry

Immunohistochemistry (<u>hóa miễn</u> dịch tổ chức) để xác

định **protein** với sự có mặt của kháng thể.

Microarray

DNA microarray (gene chip, genome chip, DNA chip): Nguyên tắc chung của các phương pháp này cũng vẫn dựa trên phép "lai" DNA-DNA hay DNA-RNA giữa các mẫu DNA đã được đánh dấu gắn trên bề mặt cứng qua các liên kết hoá học. Phương pháp này cho kết quả định tính (sự biểu hiện của gene) hay định lượng (mức độ biểu hiện) và có thể thực hiện một lần với hàng ngàn gene. Đây là phương pháp tương đối mới, giá thành cao và thường được dùng cho các phòng thí nghiệm hay các dự án "có tiền".

Tuy nhiên, kết quả cả nó có khi tạo thành một "ma trận" mà để giải nó lại tiếp tục phải sử dụng các phương pháp khác cùng nhiều thời gian và tất nhiên là cả tiền bạc!

Tóm lại, tất cả các phương pháp này đều nhằm xác định các thành phần (các giai đoạn) truyền thông tin di truyền hay gọi nôm na là "các yếu tố" trong học thuyết trung tâm. Thật là không có gì mới?...