

M 608  
15119

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO  
TRƯỜNG ĐẠI HỌC NÔNG LÂM THÁI NGUYÊN

TS. NGÔ XUÂN BÌNH (CHỦ BIÊN)  
ThS. BÙI QUỐC HOÀN - ThS. NGUYỄN THÚY HÀ

Giáo trình  
**CÔNG NGHỆ**  
**SINH HỌC**

*(Dùng cho sinh viên ngành Trồng trọt)*



NHÀ XUẤT BẢN NÔNG NGHIỆP



**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO**  
**TRƯỜNG ĐẠI HỌC NÔNG LÂM THÁI NGUYÊN**

---

**TS. NGÔ XUÂN BÌNH (Chủ biên)**  
**ThS. BÙI BẢO HOÀN - ThS. NGUYỄN THUY HÀ**

**GIÁO TRÌNH**  
**CÔNG NGHỆ SINH HỌC**

*(Dùng cho sinh viên chuyên ngành Trồng trọt)*



**NHÀ XUẤT BẢN NÔNG NGHIỆP**  
**HÀ NỘI - 2003**



## LỜI NÓI ĐẦU

*Con người thực tế đã sử dụng công nghệ sinh học từ hàng ngàn năm trong cuộc sống hàng ngày, nhưng con người cũng chỉ mới ý thức được cơ sở khoa học của công nghệ này cách đây không lâu so với thời gian tồn tại của nó. Đầu những năm 70, gần 20 mười năm sau phát minh của Watson - Crick về cấu trúc chuỗi xoắn kép của phân tử ADN, hàng loạt các phát minh và sự thành công nghiên cứu về sinh học phân tử làm bùng nổ cuộc cách mạng về công nghệ sinh học. Một ngành mới - ngành công nghệ sinh học hiện đại ra đời. Khác với cuộc cách mạng xanh những năm 70, cách mạng về công nghệ sinh học tác động đến nhiều lĩnh vực khác nhau của cuộc sống. Trong nông nghiệp, công nghệ sinh học đang mang lại nhiều phát triển mới về cải tạo giống vật nuôi cây trồng. Trong y tế và sức khỏe cộng đồng, hàng loạt các loại thuốc chữa bệnh mới có hiệu quả cao, an toàn ra đời. Các phương pháp về trị liệu gen, nuôi cấy nhân tạo và ghép cơ quan nội tạng đang đưa ước mơ sống lâu hơn 100 tuổi của con người thành hiện thực. Trong nhiều lĩnh vực sinh thái môi trường, công nghệ sinh học đã và đang đưa ra các giải pháp xử lý rác thải, chất độc hại bằng con đường sinh học có hiệu quả cao và an toàn. Các kỹ thuật của công nghệ sinh học đang trao cho con người một quyền lực mới - quyền lực cải tạo tự nhiên, cải tạo sinh vật.*

*Ngày 11/3/1994, Thủ tướng chính phủ ra quyết định số 18/CP về phương hướng và biện pháp phát triển công nghệ sinh học ở nước ta từ nay đến năm 2010. Chính phủ đã xác định vai trò rất quan trọng của công nghệ sinh học trong sự phát triển nền kinh tế quốc dân. Cho đến nay Việt Nam đã có khoảng 10 cơ sở nghiên cứu và đào tạo về công nghệ sinh học, có khoảng gần 30 trường Đại học và Cao đẳng có ngành liên quan đến công nghệ sinh học. Trong một tương lai không xa, ngành công nghệ sinh học của Việt Nam sẽ tiến kịp các nước tiên tiến trên thế giới.*

*Trong nội dung của giáo trình, tập thể tác giả đã cố gắng biên soạn, hệ thống lại những kiến thức cơ bản liên quan đến công nghệ sinh học trong lĩnh vực cây trồng. Giáo trình gồm 4 chương:*

*Chương 1: Khái niệm chung, nội dung nghiên cứu ứng dụng và những thành tựu của công nghệ sinh học.*

*Chương 2: Công nghệ tế bào thực vật. Trình bày những nội dung cơ bản nhất của công nghệ tế bào thực vật như: Kiến thức sinh học tế bào, tính toàn năng di truyền của tế bào sinh vật, điều kiện cơ bản trong nuôi cấy mô, tế bào thực vật và các ứng dụng chủ yếu.*

*Chương 3: Các phương pháp ứng dụng trong phân tích genome. Nội dung trình bày về kiến thức cơ sở sinh học phân tử của các kỹ thuật di truyền, một số phương pháp cơ bản sử dụng trong phân tích genome như: tách chiết ADN, xác định trình tự nucleotide, phương pháp RFLP, PCR và các phương pháp dựa theo nguyên tắc của PCR, phương pháp isoenzyme. v.v...*

*Chương 4: Các kỹ thuật cải biến di truyền ở thực vật. Nội dung trình bày về các kiến thức cơ sở của kỹ thuật cải biến di truyền ở thực vật, các phương pháp cải biến di truyền, đánh giá kết quả chuyển gen, thành tựu và những vấn đề nảy sinh đối với thực vật chuyển gen (GMO).*

*Giáo trình được phân công biên soạn như sau:*

*TS. Ngô Xuân Bình (chủ biên): Chương 1,3,4.*

*ThS. Bùi Bảo Hoàn, ThS. Nguyễn Thuý Hà, TS. Ngô Xuân Bình: Chương 2.*

*Giáo trình biên soạn lần đầu, chắc chắn không tránh khỏi thiếu sót, rất mong được sự đóng góp ý kiến của bạn đọc, đồng nghiệp để bổ sung cho tài liệu ngày càng hoàn thiện.*

**Tập thể tác giả**

# MỤC LỤC

	Trang
<b>LỜI NÓI ĐẦU</b>	<b>3</b>
<b>MỤC LỤC</b>	<b>5</b>
<b>Chương 1: KHÁI NIỆM CHUNG, NỘI DUNG NGHIÊN CỨU ỨNG DỤNG VÀ NHỮNG THÀNH TỰU CỦA CÔNG NGHỆ SINH HỌC</b>	<b>9</b>
1.1. Khái niệm chung về công nghệ sinh học	9
1.2. Nội dung nghiên cứu và ứng dụng của công nghệ sinh học	11
1.2.1. Công nghệ vi sinh vật	11
1.2.2. Công nghệ enzyme	11
1.2.3. Công nghệ tế bào	12
1.2.4. Kỹ thuật gen di truyền	12
1.3. Những thành tựu của công nghệ sinh học nửa cuối thế kỷ 20	13
1.4. Phương hướng phát triển công nghệ sinh học của Việt Nam	16
1.4.1. Công nghệ sinh học phục vụ phát triển sản xuất nông - lâm - ngư nghiệp	17
1.4.2. Công nghệ sinh học phục vụ bảo vệ sức khỏe con người	17
1.4.3. Công nghệ sinh học phục vụ bảo vệ môi trường sống và tài nguyên sinh vật	17
1.4.4. Công nghệ sinh học phục vụ các ngành công nghiệp khác	18
1.4.5. Xây dựng tiềm lực khoa học - công nghệ thuộc lĩnh vực công nghệ sinh học	18
1.4.6. Xây dựng ngành công nghệ sinh học	18
1.5. Giải thích một số thuật ngữ khoa học thường sử dụng trong công nghệ sinh học thực vật	19
<b>Chương 2: CÔNG NGHỆ TẾ BÀO THỰC VẬT</b>	<b>22</b>
2.1. Vài nét về lịch sử phát triển của công nghệ tế bào thực vật	22
2.2. Một số kiến thức cơ bản về tế bào sinh vật	23
2.2.1. Cấu trúc và chức năng của tế bào	23
2.2.2. Sự sinh trưởng của tế bào	24
2.2.3. Hệ gen (genome) trong tế bào sinh vật	25
2.2.4. Tính toàn năng di truyền của tế bào sinh vật.	28
2.3. Những điều kiện cơ bản trong nuôi cấy tế bào thực vật	31
2.3.1. Bảo đảm điều kiện vô trùng	31
2.3.2. Chuẩn bị môi trường nuôi cấy	35

2.3.3. Chọn và xử lý vật liệu cấy	43
2.4. Một số ứng dụng chủ yếu trong nuôi cấy tế bào thực vật	43
2.4.1. Nhân giống vô tính in vitro	43
2.4.2 Nuôi cấy mô phân sinh hoặc đỉnh sinh trưởng để tạo cây sạch bệnh	51
2.4.3. Kỹ thuật nuôi cấy mô trong bảo quản nguồn gene in vitro	54
2.4.4. Công nghệ phôi vô tính (Somatic embryo Technology)	57
2.4.5. Công nghệ hạt nhân tạo (synthetic seed)	59
<b>Chương 3: CÁC PHƯƠNG PHÁP ỨNG DỤNG TRONG PHÂN TÍCH</b>	
<b>GENOME</b>	<b>62</b>
3.1. Khái niệm về ADN tái tổ hợp	62
3.2. Cấu trúc, chức năng và đặc tính của ADN	63
3.2.1. Thành phần của ADN	63
3.2.2. Cấu trúc của ADN	63
3.2.3. Đặc tính của ADN	66
3.3. Quá trình tổng hợp ADN trong tế bào sinh vật (DNA replication)	69
3.3.1. Cơ chế sao chép bán bảo tồn (semi-conservation)	69
3.3.2. Nguyên tắc đảm bảo quá trình sao chép ADN thành công	69
3.3.3. Quá trình sao chép ADN trong tế bào sinh vật	71
3.3.4. ADN thoả mãn các yêu cầu đối với vật chất di truyền	72
3.4. Phương pháp tách chiết ADN	73
3.4.1. Phương pháp tách chiết ADN	73
3.4.2. Điện di ADN	75
3.4.3. Thu nhận ADN sau điện di	80
3.5. Các phương pháp xác định trình tự nucleotide của gen	81
3.5.1. Phương pháp Maxam - Gilbert	81
3.5.2. Phương pháp dideoxy của Sanger	82
3.6. Phương pháp RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism: sự đa hình chiều dài các đoạn cắt hạn chế)	84
3.6.1. Các enzyme hạn chế (restriction enzyme - RE)	84
3.6.2. Nguyên lý của phương pháp RFLP	89
3.6.3. Quy trình của RFLP	89
3.6.4. Một số ứng dụng của RFLP	91
3.7. Các phương pháp lai phân tử (Molecular hybridization)	93
3.7.1. Khái niệm về lai phân tử	93
3.7.2. Nguyên tắc của lai phân tử	94
3.7.3. Các kiểu lai phân tử	94
3.7.4. Phương pháp Southern blot (lai ADN)	94
3.8. Phản ứng PCR (polymerase chain reaction)	97
3.8.1. Khái niệm về phản ứng PCR	97



3.8.2. Nguyên tắc của phản ứng PCR	97
3.8.3. Thành phần của phản ứng PCR	98
3.8.4. Chu kỳ phản ứng PCR	98
3.8.5. Phản ứng PCR được tối ưu hoá nhờ taq polymerase	100
3.8.6 Các yếu tố ảnh hưởng đến phản ứng PCR	101
3.8.7. Tóm tắt qui trình chuẩn của phản ứng PCR	104
3.8.8. Ưu điểm của PCR	105
3.8.9. Hạn chế của PCR	106
3.8.10. Ứng dụng của phản ứng PCR	107
3.9. Một số phương pháp phân tích di truyền phân tử dựa trên nguyên tắc của phản ứng PCR	108
3.9.1. Nhóm phương pháp PCR sử dụng môi đặc hiệu	109
3.9.2. Nhóm phương pháp APT (Arbitrary Primer Technology: Công nghệ primer tùy ý)	114
3.10. Phương pháp AFLP	119
3.10.1. Khái niệm về AFLP	119
3.10.2. Nguyên tắc của AFLP	119
3.10.3. Yếu tố ảnh hưởng đến kết quả của AFLP	121
3.10.4. Qui trình của AFLP	121
3.10.5. Ứng dụng của AFLP	123
3.11. Phương pháp phân tích isoenzyme (isozyme)	123
3.11.1. Khái niệm về isoenzyme	123
3.11.2. Nguyên lý của phương pháp phân tích isoenzyme	124
3.11.3. Qui trình của phương pháp isoenzyme	125
3.11.4. Ưu điểm của phương pháp isoenzyme	126
3.11.5. Nhược điểm	126
3.11.6. Ứng dụng của phương pháp isoenzyme	126
<b>Chương 4. KỸ THUẬT CẢI BIẾN DI TRUYỀN Ở THỰC VẬT</b>	<b>129</b>
4.1. Các vector chuyển gen	129
4.1.1. Khái niệm về vector chuyển gen	129
4.1.2. Các yêu cầu cơ bản đối với vector chuyển gen	129
4.1.3. Ứng dụng của vector chuyển gen	130
4.1.4. Các loại vector chuyển gen	130
4.1.5. Phương pháp tạo vector tái tổ hợp	134
4.2. Thư viện bộ gen và sự tạo dòng	136
4.2.1. Thư viện bộ gen (genome library)	136
4.2.2. Sự tạo dòng	136
4.3. Các phương pháp chuyển gen ở thực vật.	137

4.3.1. Nguyên tắc chuyển gen ở thực vật.	137
4.3.2. Phương pháp chuyển gen bằng Ti-plasmid	138
4.3.3. Kỹ thuật chuyển gen trực tiếp bằng điện trường	143
4.3.4. Chuyển gen bằng phương pháp bắn gen	145
4.3.5. Kỹ thuật sử dụng tế bào trần (protoplast) trong chuyển gen	147
4.4. Kỹ thuật dung hợp tế bào trần	149
4.4.1. Khái niệm	149
4.4.2. Nguyên tắc	149
4.4.3. Quy trình kỹ thuật	149
4.5. Đánh giá kết quả chuyển gen	151
4.5.1. Mục đích	151
4.5.2. Yêu cầu của hệ thống gen nhận biết (reporter)	151
4.5.3. Nguyên tắc đánh giá	151
4.5.4. Đánh giá kết quả chuyển gen bằng gen chọn lọc (phương pháp đánh giá hoạt tính của gen bằng môi trường chọn lọc)	152
4.5.5. Xác định kết quả chuyển gen bằng các gen chỉ thị (phương pháp xác định hoạt tính của gen qua chuyển màu)	153
4.5.6. Đánh giá kết quả chuyển gen bằng gây mất hoạt tính của gen nhận biết do xen đoạn	154
4.5.7. Đánh giá bằng phương pháp PCR đặc hiệu	155
4.5.8. Đánh giá kết quả chuyển gen bằng lai phân tử	155
4.6. Một số kết quả đạt được trong lĩnh vực chuyển gen ở thực vật	155
4.6.1. Khái niệm về sinh vật được chuyển gen GMO (Genetic Modified Organism, một số tài liệu ghi là: Genetic Modification Organism hoặc Genetic Modified Object)	155
4.6.2. Một số kết quả đạt được trong chuyển gen ở thực vật	156
4.7. Những tác động có lợi và vấn đề đặt ra với cây trồng GMO	159
4.7.1. Những tác động được xem xét theo chiều hướng có lợi của cây trồng GMO	159
4.7.2. Những vấn đề đặt ra với cây trồng GMO	160
<b>TÀI LIỆU THAM KHẢO</b>	162