ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
TRƯỜNG ĐẠI HỌC SƯ PHẠM

NGUYỄN NGỌC GIANG

NGHIÊN CỨU BIỂU HIỆN PEPTIT KHÁNG NGUYÊN TỪ PROTEIN VỎ CỦA VIRUT VIÊM NÃO NHẬT BẢN LÀM TIỀN ĐỀ ĐỂ SẢN XUẤT VĂCXIN DÙNG QUA ĐƯỜNG MIỆNG

Chuyên ngành: Di truyền học
Mã số: 60.42.70

LUẬN VĂN THẠC SĨ SINH HỌC

Người hướng dẫn khoa học: TS. Lê Quỳnh Liên

THÁI NGUYÊN – 2009

Số hóa bởi Trung tâm Học liệu – Đại học Thái Nguyên *http://www.Lrc-tnu.edu.vn*

ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
TRƯỜNG ĐẠI HỌC SƯ PHẠM

NGUYỄN NGỌC GIANG

NGHIÊN CỨU BIỂU HIỆN PEPTIT KHÁNG NGUYÊN TỪ PROTEIN VỎ CỦA VIRUT VIÊM NÃO NHẬT BẢN LÀM TIỀN ĐỀ ĐỂ SẢN XUẤT VĂCXIN DÙNG QUA ĐƯỜNG MIỆNG

LUẬN VĂN THẠC SĨ SINH HỌC

THÁI NGUYÊN – 2009

Số hóa bởi Trung tâm Học liệu – Đại học Thái Nguyên *http://www.Lrc-tnu.edu.vn*

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan các kết quả trong thí nghiệm này đều được tôi làm thực tế và chưa có công trình nào công bố trên các bài báo, tạp chí, hay các phương tiện thông tin đại chúng.

Tác giả

Nguyễn Ngọc Giang

LỜI CẢM ƠN

Tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc tới TS. Lê Quỳnh Liên đã tận tình hướng dẫn, động viên, giúp đỡ tôi trong suốt quá trình học tập và nghiên cứu.

Trong quá trình thực hiện và hoàn thành đề tài tôi đã nhận được sự giúp đỡ và những kinh nghiệm quý báu từ GS.TS. Lê Trần Bình, TS. Chu Hoàng Hà, TS. Lê Văn Sơn, TS. Nguyễn Hữu Cường cùng tập thể cán bộ phòng Công nghệ Tế bào Thực vật, Viện Công nghệ Sinh học. Từ đáy lòng, tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc với sự gúp đỡ đó để tôi có thể hoàn thành luận văn.

Tôi cũng xin bày tỏ lòng biết ơn tới các thầy cô trong bộ môn Sinh, Trường Đại học Sư phạm, Đại học Thái Nguyên đã dạy dỗ, giúp đỡ tôi trong suốt quãng thời gian học tập tại trường.

Nhân dịp này, tôi cũng xin bày tỏ lòng biết ơn tới gia đình, bạn bè và những người thân bên cạnh đã động viên khích lệ và tạo điều kiện cho tôi hoàn thành luận văn này.

Thái Nguyên, ngày 1 tháng 10 năm 2009

Học viên

Nguyễn Ngọc Giang

DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT

Amp: Ampicillin

AS: Acetosyringone

A. Tumefaciens: *Agrobacterium Tumefaciens*

Bp : cặp baze

Carbe: Carbenicillin

CNSH: Công nghệ sinh học

CNTBTV: Công nghệ tế bào Thực vật

Da: Dalton

Đoạn 27aa: Đoạn gen mã hoá cho đoạn peptít 27 axit amin của virut viêm não Nhật Bản

Đoạn 27aa_LTB: Đoạn gen nối giữa đoạn 27aa và gen LTB

DNA: Deoxyribonucleic acid

E.coli: *Escheria Coli*

EDTA: Ethylen dimine tetra- acetic acid

HEPES: N-2-huydroxyethylpiperazine-N'-ethanesulfonic acid

IPTG: Isopropylthio-beta-D-glactoside

Kana: Kanamycin

Kb: kilobaze

LB: Luria Bertani

LTB: Labile enterotoxin B

OD: Mật độ quang học

PBS: Phosphate buffer saline

PCR: Polymerase chain reaction

Rifa: Rifampicin

SDS: Sodium dodecyl sulphat

SDS- PAGE: SDS-Polyacrylamide gel electrophoresis

Spec: Spectinomycin

TE: Tris-EDTA

VNNB: viêm não Nhật Bản

X-gal: 5-bromo-4 chloro- 3 indolyl-beta-D-glactoside

MỤC LỤC

LỜI CAM ĐOAN

LỜI CẢM ƠN

DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT

DANH MỤC CÁC BẢNG

DANH MỤC CÁC HÌNH

MỞ ĐẦU ..... Error! Bookmark not defined.

Chương 1 TỔNG QUAN TÀI LIỆU ..... Error! Bookmark not defined.

1.1 Bệnh viêm não Nhật Bản ..... Error! Bookmark not defined.

1.1.1 Nguồn gốc bệnh viêm não Nhật BảnError! Bookmark not defined.

1.1.2 Nguồn lây truyền bệnh ..... Error! Bookmark not defined.

1.1.3 Đặc điểm biểu hiện của bệnh: ..... Error! Bookmark not defined.

1.2 Virut viêm não Nhật Bản (virut VNNB) Error! Bookmark not defined.

1.2.1. Đặc điểm hình thái và tính chất lý hoá của virut VNNBError! Bookmark not

1.2.2. Sự nhân bản của virut ..... Error! Bookmark not defined.

1.2.3. Cấu trúc của virut VNNB ..... Error! Bookmark not defined.

1.2.4. Khả năng gây đáp ứng miễn dịch của đoạn peptit kháng nguyên 27 axit amin của virut VNNB .. Error! Bookmark not defined.

1.3 Các loại văcxin phòng bệnh VNNB..... Error! Bookmark not defined.

1.3.1 Văcxin bất hoạt sản xuất từ não chuộtError! Bookmark not defined.

1.3.2 Văcxin VNNB bất hoạt sản xuất từ tế bàoError! Bookmark not defined.

1.3.3 Văcxin sống giảm độc lực ..... Error! Bookmark not defined.

1.3.4 Nghiên cứu phát triển văcxin mớiError! Bookmark not defined.

Chương 2 VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU Error! Bookmark not defined.

2.1 Vật liệu ..... Error! Bookmark not defined.

2.1.1. Vật liệu thực vật ..... Error! Bookmark not defined.

2.1.2. Vật liệu sinh học phân tử ..... Error! Bookmark not defined.

2.1.2.1. Mồi..... Error! Bookmark not defined.

2.1.2.2. Plasmid..... Error! Bookmark not defined.

2.1.2.3 Các chủng vi sinh vật và các nguyên liệu dùng trong thí nghiệm..... Error! Bookmark not defined.

2.1.2.4 Các loại máy móc..... Error! Bookmark not defined.

2.1.3 Hoá chất ..... Error! Bookmark not defined.

2.1.4 Các môi trường nuôi cấy và các dung dịchError! Bookmark not defined.

2.2 Phương pháp nghiên cứu ..... Error! Bookmark not defined.

2.2.1. Nhân đoạn 27 aa và LTB bằng PCRError! Bookmark not defined.

2.2.2 Phương pháp PCR từ khuẩn lạc (colony PCR)Error! Bookmark not defined.

2.2.3 Thiết kế vector pET21_27aa_LTB biểu hiện đoạn peptit kháng nguyên trong *E.coli* ..... Error! Bookmark not defined.

2.2.4. Biểu hiện đoạn peptit kháng nguyên trong *E.coli*Error! Bookmark not defined

2.2.5. Thiết kế vector pCB_27aa_LTB biểu hiện đoạn peptit kháng nguyên trong tế bào thực vật ..... Error! Bookmark not defined.

2.2.6. Biểu hiện đoạn peptit kháng nguyên trong tế bào thực vậtError! Bookmark n

2.2.7. Kiểm tra biểu hiện của protein tái tổ hợpError! Bookmark not defined.

Chương 3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN ..... Error! Bookmark not defined.

3.1 Nhân đoạn gen 27 aa..... Error! Bookmark not defined.

3.2 Nhân gen LTB và nối với gen 27 aa ..... Error! Bookmark not defined.

3.3 Thiết kế vector biểu hiện gen 27 aa_LTB trong *E.coli*Error! Bookmark not defined.

3.4 Biểu hiện protein tái tổ hợp trong *E.coli* BL21Error! Bookmark not defined.

3.4.1 Biến nạp vector tái tổ hợp vào chủng vi khuẩn *E.coli* BL21Error! Bookmark n

3.4.2 Biểu hiện gen 27aa_LTB trong *E.coli* BL21Error! Bookmark not defined.

3.5. Biểu hiện tạm thời gen 27aa_LTB trong thực vật Error! Bookmark not defined.

3.5.1 Thiết kế vector biểu hiện gen 27aa_LTB trong thực vậtError! Bookmark not d

3.5.2 Lai đoạn 27aa_LTB_cmyc_KDEL với vector chuyển gen pCB301 ..... Error! Bookmark not defined.

3.5.3 Biến nạp vào *A. tumefaciens*..... Error! Bookmark not defined.

3.5.4 Biểu hiện tạm thời gen 27aa_LTB trong cây thuốc láError! Bookmark not defi

KẾT LUẬN ..... Error! Bookmark not defined.

KIẾN NGHỊ ..... Error! Bookmark not defined.

TÀI LIỆU THAM KHẢO ..... Error! Bookmark not defined.

PHỤ LỤC

DANH MỤC CÁC BẢNG

Tên bảng		Trang
Bảng 1	Mồi nhân gen 27 aa và gen LTB	17
Bảng 2	Các loại plasmid dùng trong thí nghiệm	18
Bảng 3	Máy móc dùng trong thí nghiệm	19
Bảng 4	Hóa chất dùng trong thí nghiệm	19