

ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
TRƯỜNG ĐẠI HỌC KHOA HỌC

ĐINH ANH TUẤN

NGHIÊN CỨU ĐẶC ĐIỂM HÌNH THÁI VÀ TRÌNH TỰ GEN
rpoC1 CỦA CÂY DỪA CẠN [*Catharanthus roseus* (L.) G. Don]

LUẬN VĂN THẠC SĨ CÔNG NGHỆ SINH HỌC

Thái Nguyên, năm 2016

ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
TRƯỜNG ĐẠI HỌC KHOA HỌC

ĐINH ANH TUẤN

NGHIÊN CỨU ĐẶC ĐIỂM HÌNH THÁI VÀ TRÌNH TỰ GEN
rpoC1 CỦA CÂY DỪA CẠN [*Catharanthus roseus* (L.) G. Don]

Chuyên ngành: Công nghệ sinh học

Mã số: 60.42.02.01

LUẬN VĂN THẠC SĨ CÔNG NGHỆ SINH HỌC

Người hướng dẫn khoa học: GS.TS. Chu Hoàng Mậu

Thái Nguyên, năm 2016

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan đây là công trình nghiên cứu của tôi thực hiện dưới sự hướng dẫn của GS.TS. Chu Hoàng Mậu. Mọi trích dẫn trong luận văn đều ghi rõ nguồn gốc. Các số liệu, kết quả nghiên cứu trong luận văn là trung thực và chưa từng ai công bố trong một công trình nào khác.

Thái Nguyên, tháng 04 năm 2016

Tác giả luận văn

Đình Anh Tuấn

LỜI CẢM ƠN

Tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc nhất tới GS.TS. Chu Hoàng Mậu đã tận tình hướng dẫn, chỉ bảo và tạo mọi điều kiện giúp đỡ tôi hoàn thành công trình nghiên cứu này.

Tôi xin chân thành cảm ơn các thầy, cô, cán bộ Phòng thí nghiệm Công nghệ gen và phòng thí nghiệm Thiết bị chung, Khoa Sinh học, Trường Đại học Sư Phạm, Đại học Thái Nguyên đã tạo điều kiện giúp đỡ tôi tiến hành các thí nghiệm của đề tài.

Tôi xin cảm ơn sự động viên, khích lệ của gia đình và bạn bè trong suốt thời gian học tập và thực hiện đề tài luận văn.

Tác giả

Đình Anh Tuấn

MỤC LỤC

	<i>Trang</i>
MỞ ĐẦU.....	1
1. Đặt vấn đề.....	1
2. Mục tiêu nghiên cứu.....	3
3. Nội dung nghiên cứu.....	3
Chương 1: TỔNG QUAN TÀI LIỆU	4
1.1. CÂY DỪA CẠN	4
1.1.1. Hệ thống phân loại cây Dừa cạn	4
1.1.2. Giá trị sử dụng của cây dừa cạn	6
1.2. MÃ VẠCH DNA (DNA BARCODING).....	10
1.2.1. Đặc điểm của mã vạch DNA (DNA barcoding).....	10
1.2.2. Ứng dụng mã vạch DNA trong nhận biết cây dược liệu	12
1.3. GEN LỤC LẠP	15
Chương 2: VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP	17
2.1. VẬT LIỆU, HÓA CHẤT VÀ THIẾT BỊ	17
2.1.1. Vật liệu nghiên cứu	17
2.1.2. Hóa chất, thiết bị và máy móc.....	17
2.2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.....	17
2.2.1. Phương pháp thu mẫu	17
2.2.2. Các phương pháp sinh học phân tử.....	18

2.2.2.1. Phương pháp tách chiết DNA tổng số.....	18
2.2.2.2. Phương pháp nhân gen <i>rpoC1</i> bằng kỹ thuật PCR.....	19
2.2.2.3. Phương pháp tinh sạch sản phẩm PCR (phương pháp thổi gel).....	20
2.2.2.4. Phương pháp xác định trình tự nucleotide của đoạn gen <i>rpoC1</i>	21
2.2.2.5. Phương pháp xử lý số liệu	21
2.3. THỜI GIAN VÀ ĐỊA ĐIỂM NGHIÊN CỨU	22
Chương 3: KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN	23
3.1. ĐẶC ĐIỂM THỰC VẬT HỌC CỦA CÁC GIỐNG DỪA CẠN THU TẠI HÀ GIANG VÀ THÁI NGUYÊN	23
3.1.1. Đặc điểm hình thái rễ, thân, hoa, quả và hạt của cây dứa cạn	23
3.1.2. Đặc điểm khác biệt về hình thái giữa ba giống dứa cạn	26
3.2. PHÂN LẬP GEN <i>rpoC1</i> TỪ CÁC MẪU DỪA CẠN	28
3.2.1. Tách DNA tổng số từ các mẫu dứa cạn	28
3.2.2. Khuếch đại đoạn gen <i>rpoC1</i> bằng PCR	28
3.2.3. Kết quả xác định trình tự đoạn gen <i>rpoC1</i> phân lập từ các mẫu dứa cạn	29
3.3. PHÂN TÍCH SỰ ĐA DẠNG CỦA CÁC MẪU DỪA CẠN DỰA TRÊN TRÌNH TỰ NUCLEOTIDE VÀ TRÌNH TỰ AMINO ACID SUY DIỄN CỦA ĐOẠN GEN <i>rpoC1</i>	34
KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ.....	37
1. Kết luận	37
2. Đề nghị	37
CÔNG TRÌNH CÔNG BỐ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN VĂN	38
TÀI LIỆU THAM KHẢO.....	39

DANH MỤC BẢNG

	<i>Trang</i>
Bảng 2.1. Thành phần phản ứng PCR nhân gen <i>rpoC1</i>	19
Bảng 3.1. Các vị trí sai khác giữa các trình tự nucleotide của đoạn gen <i>rpoC1</i>	32
Bảng 3. 2. Các vị trí sai khác giữa các trình tự amino acid suy diễn của gen <i>rpoC1</i>	33
Bảng 3.3. Hệ số tương đồng và hệ số sai khác về trình tự các nucleotide của gen <i>rpoC1</i> phân lập từ các mẫu dưa cạn	34
Bảng 3.4. Hệ số tương đồng và hệ số sai khác về trình tự amino acid suy diễn của gen <i>rpoC1</i> phân lập từ các mẫu dưa cạn	36

DANH MỤC HÌNH

	<i>Trang</i>
Hình 1.1. Hoa của ba giống <i>Catharanthus</i>	5
Hình 3.1. Cây dừa cạn hoa trắng nhụy đỏ Hà Giang	23
Hình 3.2. Các bộ phận của cây dừa cạn	24
Hình 3.3. Đặc điểm khác nhau về hình thái giữa ba giống dừa cạn.....	27
Hình 3.4. Kết quả điện di kiểm tra sản phẩm DNA tổng số	28
Hình 3.5. Kết quả điện di kiểm tra sản phẩm nhân gen <i>rpoC1</i>	29
Hình 3.6. Trình tự nucleotide của đoạn gen <i>rpoC1</i> phân lập từ các mẫu dừa cạn TIM_HG, TV_HG, TIM_TN, TRANG_TN và hai trình tự mang mã số KC561139, JN115007 trên Ngân hàng Gen	30
Hình 3.7. Trình tự amino acid suy diễn của đoạn gen <i>rpoC1</i> phân lập từ các mẫu dừa cạn TIM_HG, TV_HG, TIM_TN, TRANG_TN và hai trình tự mang mã số KC561139, JN115007 trên Ngân hàng Gen.....	33
Hình 3.8. Sơ đồ hình cây so sánh mức độ tương đồng đoạn gen <i>rpoC1</i> của 6 mẫu dừa cạn.....	35
Hình 3.9. Sơ đồ hình cây so sánh mức độ tương đồng dựa trên trình tự amino acid suy diễn của 6 mẫu dừa cạn.....	36

DANH MỤC CÁC TỪ VÀ CHỮ VIẾT TẮT

DNA	Deoxyribonucleic acid
PCR	Polymerase chain reaction
rpoC1	RNA polymerase beta' chain
CTAB	Cetyl trimethylammonium Bromide
TIM_HG	Giống dừa cạn hoa hồng tím thu tại Hà Giang
TV_HG	Giống dừa cạn hoa trắng vàng thu tại Hà Giang
TIM_TN	Giống dừa cạn hoa hồng tím thu tại Thái Nguyên
TRANG_TN	Giống dừa cạn hoa trắng đỏ thu tại Thái Nguyên

MỞ ĐẦU

1. Đặt vấn đề

Việt Nam là quốc gia nằm ở vùng nhiệt đới, có nhiều điều kiện cho thực vật phát triển và tạo ra sự phong phú, đa dạng của nhiều loài thực vật và nhiều hệ sinh thái khác nhau. Theo thống kê tại Việt Nam hiện có gần 12000 loài thực vật bậc cao có mạch thuộc hơn 2256 chi, 305 họ; 69 loài thực vật hạt trần; 12000 loài thực vật hạt kín; 2200 loài nấm; 2176 loài tảo; 481 loài rêu; 368 loài vi khuẩn lam; 691 loài dương xỉ và 100 loài khác [8].

Lịch sử phát triển môn phân loại học và các công trình nghiên cứu về phân loại thực vật từ trước còn chưa được đầy đủ. Trong lịch sử nghiên cứu thực vật ở nước ta đã có nhiều công trình thống kê, phân loại nhiều loài cây, có thể kể đến một số tác giả như: Tuệ Tĩnh đã mô tả tới 579 loài cây làm thuốc trong cuốn Nam dược thần hiệu, Lê Quý Đôn với bộ Vân đài loại ngữ đã phân chia thực vật thành nhiều loại: cây cho hoa, cho quả, ngũ cốc, rau, cây loại mộc, loại thảo. Lý Thời Trân cho xuất bản cuốn Bản thảo cương mục trong đó có đề cập tới trên 1000 vị thuốc thảo mộc...[1].

Trong thời kỳ Pháp thuộc, do tài nguyên thực vật ở nước ta rất phong phú đã gây được sự chú ý của nhiều nhà nghiên cứu phương Tây. Công trình lớn nhất là bộ Thực vật chí tổng quát Đông Dương do Lecomte và một số nhà thực vật học người Pháp đã biên soạn, phân loại, mô tả và thống kê các cây từ Dương xỉ tới thực vật Hạt kín của toàn Đông Dương. Công trình nghiên cứu các cây thuốc ở Campuchia, Lào và Việt Nam của Pételot... Phần lớn các nghiên cứu đều tập trung vào thực vật bậc cao, đặc biệt đối với cây thuốc [1], [17].