

**VIỆN SINH THÁI VÀ TÀI NGUYÊN SINH VẬT  
ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN**

**TRẦN XUÂN THẠCH**

**SÀNG LỌC CÁC CHỈ THỊ PHÂN TỬ SNP LIÊN QUAN TỚI  
TÍNH TRẠNG TĂNG TRƯỞNG Ở TÔM SÚ (*PENAEUS  
MONODON*)**

**LUẬN VĂN THẠC SĨ SINH HỌC**

Hà Nội - 2015

**VIỆN SINH THÁI VÀ TÀI NGUYÊN SINH VẬT  
ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN**

**TRẦN XUÂN THẠCH**

**SÀNG LỌC CÁC CHỈ THỊ PHÂN TỬ SNP LIÊN QUAN TỚI  
TÍNH TRẠNG TĂNG TRƯỞNG Ở TÔM SÚ (*PENAEUS  
MONODON*)**

Chuyên ngành: Sinh học thực nghiệm

Mã số: 60420114

**LUẬN VĂN THẠC SĨ SINH HỌC**

**HƯỚNG DẪN KHOA HỌC: PGS.TS. ĐINH DUY KHÁNG**

Hà nội - 2015

## LỜI CẢM ƠN

Tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc tới PGS.TS Đinh Duy Kháng, Phòng Vi sinh vật học phân tử, Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam đã tận tình chỉ bảo, hướng dẫn tôi hoàn thành luận văn tốt nghiệp.

Tôi xin chân thành cảm ơn PGS.TS Đồng Văn Quyền – Trưởng phòng Vi sinh vật học phân tử, Viện Công nghệ sinh học và các anh chị cán bộ trong Phòng đã tạo mọi điều kiện thuận lợi để tôi được thực tập tại phòng, được học hỏi và nâng cao kiến thức chuyên môn.

Tôi cũng xin gửi lời cảm ơn tới TS. Nguyễn Cường – Trưởng phòng Tin sinh học, Viện Công nghệ sinh học và các anh chị em cán bộ trong phòng đã nhiệt tình giúp đỡ để tôi có thể hoàn thành những kết quả nghiên cứu cuối cùng.

Cuối cùng, tôi xin gửi lời cảm ơn tới gia đình, người thân và bạn bè đã luôn giúp đỡ, động viên và tạo điều kiện tốt nhất để tôi được học tập, nghiên cứu và hoàn thành luận văn tốt nghiệp của mình.

*Hà Nội, ngày 28 tháng 12 năm 2015*

Học viên

Trần Xuân Thạch

## MỤC LỤC

MỞ ĐẦU.....	1
CHƯƠNG I. TỔNG QUAN TÀI LIỆU.....	3
1.1 Sơ lược về tôm sú.....	3
1.2 Khái quát về tính trạng tăng trưởng.....	4
1.2.1 Di truyền tính trạng.....	4
1.2.2 Tính trạng tăng trưởng.....	5
1.2.3 Một số gene liên quan tới tính trạng tăng trưởng.....	6
1.2.4 Một số nghiên cứu về tính tăng trưởng.....	10
1.3 Hệ phiên mã.....	11
1.4 Chỉ thị phân tử SNP.....	12
1.4.1 Giới thiệu về SNP.....	12
1.4.2 Ứng dụng của chỉ thị SNP.....	14
1.4.3 Triển vọng của SNP.....	15
1.5 Tình hình nghiên cứu về chỉ thị SNP ở tôm.....	18
1.6 Công nghệ giải trình tự thế hệ mới.....	19
CHƯƠNG II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.....	22
2.1 Đối tượng và vật liệu nghiên cứu.....	22
2.1.1 Đối tượng nghiên cứu.....	22
2.1.2 Hóa chất và sinh phẩm.....	22
2.1.3 Trang thiết bị.....	22
2.2 Phương pháp nghiên cứu.....	23
2.2.1 Phương pháp tách chiết RNA tổng số.....	23
2.2.2 Phương pháp tinh chế mRNA.....	23
2.2.3 Tạo thư viện cDNA.....	25
2.2.4 Phương pháp Phân tích dữ liệu.....	27
CHƯƠNG III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN.....	30
3.1 Tinh chế mRNA từ RNA tổng số.....	30
3.2 Tạo thư viện cDNA.....	30
3.3 Phân tích dữ liệu và tìm các SNP liên quan đến tính trạng tăng trưởng.....	34
3.3.1 Đánh giá chất lượng và tiền xử lý dữ liệu.....	35

3.3.2	Lắp ráp <i>de-novo</i> hệ phiên mã .....	40
3.3.3	Phát hiện marker SNP trong ngân hàng unigene .....	41
3.3.4	Chú giải chức năng unigene trong hệ phiên mã.....	42
3.3.5	Phát hiện những unigene liên quan tới tính trạng tăng trưởng.....	45
3.3.6	Sàng lọc SNP liên quan đến tính trạng tăng trưởng tôm sú.....	46
CHƯƠNG IV. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ.....		47
4.1	Kết luận:.....	47
4.2	Kiến nghị: .....	47
TÀI LIỆU THAM KHẢO.....		48
PHỤ LỤC .....		52
Phụ lục 1: Thống kê Unigene và các gene liên quan tới tăng trưởng.....		52
Phụ lục 2. Tên unigene, vị trí và SNP liên quan tới tính trạng tăng trưởng ....		60

## DANH MỤC HÌNH

Hình 1.1 Sơ đồ vòng đời tôm sú <i>Penaeus monodon</i> .....	4
Hình 1.2 Mô hình SNP.....	12
Hình 2.1 Tôm sú thu từ vùng biển Nghệ An.....	22
Hình 3.1 Kiểm tra chất lượng thư viện cDNA của mô cơ.....	31
Hình 3.2 Kiểm tra chất lượng thư viện cDNA của mô tim.....	32
Hình 3.3 Kiểm tra chất lượng thư viện cDNA của mô gan tụy.....	33
Hình 3.4 Kiểm tra chất lượng thư viện cDNA của mô gốc mắt.....	34
Hình 3.5 Kết quả đánh giá chất lượng dữ liệu thô và dữ liệu tinh sạch.....	39
Hình 3.6 Thống kê phân bố độ dài unigene.....	41
Hình 3.7 Phân bố tần số allele trong toàn bộ SNP.....	42
Hình 3.8 Tỷ lệ biến đổi transition và transversion.....	42
Hình 3.9 Kết quả 10 loài tương đồng nhất trên cơ sở dữ liệu Nr.....	43
Hình 3.10 Sự phân bố chất lượng unigene tôm sú.....	44
Hình 3.11 Biểu đồ phân bố tỷ lệ tương đồng.....	44

## DANH MỤC BẢNG

Bảng 3.1 Nồng độ mRNA của 4 mô.....	30
Bảng 3.2 Mô tả bộ dữ liệu sau khi giải trình tự.....	35
Bảng 3.3 Thống kê số lượng độ dài trình tự của 4 mô.....	36
Bảng 3.4 Thống kê chất lượng lắp ráp.....	40
Bảng 3.5 Số lượng gene và hormone phát hiện.....	45



## KÍ TỰ VIẾT TẮT

---

SNP	Đột biến đa hình đơn nucleotide
E-value	độ tin cậy
QTL	Quantitative trait locus
NGS	Công nghệ giải trình tự thế hệ mới
Nr-NCBI	non-redundant (ngân hàng dữ liệu Nr_NCBI)

---

## MỞ ĐẦU

Tôm sú là loài thủy sản mang lại giá trị kinh tế lớn, hiện nay đang được nhiều nước chú trọng phát triển như: Thái Lan, Việt Nam, Hàn Quốc, Đài Loan, Malaysia, Indonesia, Ấn Độ... Nghề nuôi tôm sú có ưu thế lớn, vì đây là nguồn tài nguyên bản địa có thể nuôi và khai thác lâu dài, mang lại lợi nhuận cao, xóa đói giảm nghèo và phát triển kinh tế xã hội của mỗi nước. Tuy nhiên, việc sử dụng nguồn giống còn thụ động, tự nhiên, khiến chất lượng tôm sú sản xuất không đảm bảo, có dấu hiệu suy giảm sinh trưởng, mang mầm bệnh và tiềm ẩn nhiều rủi ro cho người nuôi tôm.

Thông tin về cấu trúc phân tử hệ gen của tôm sú đang là vấn đề quan trọng và được quan tâm lớn đối với công tác chọn giống tôm. Nghiên cứu hệ gen sẽ cung cấp thông tin chính xác cho việc xác định tính trạng quan trọng như: tính tăng trưởng, tính kháng bệnh, tính chống chịu... để từ đó có thể sàng lọc ra con giống sạch bệnh, năng suất cao, thân thiện với môi trường.

Hiện nay, những hiểu biết cơ bản về sinh học tôm, đặc biệt quan tâm đến sự điều khiển sinh trưởng, sinh sản và hệ thống miễn dịch còn rất hạn chế do thiếu thông tin về hệ gen của chúng. Một trong các hướng đi quan trọng của nghiên cứu hệ gen tôm sú là xác định các biến dị ảnh hưởng tới chức năng sinh lý của tôm.

Với mục đích trên, chúng tôi tiến hành nghiên cứu “**Sàng lọc các chỉ thị phân tử SNP liên quan tới tính trạng tăng trưởng ở tôm sú (*Penaeus monodon*)**”, mục tiêu sàng lọc các chỉ thị phân tử SNP và tìm vị trí SNP trên những gen liên quan tới tính trạng tăng trưởng, nhằm cung cấp thông tin tìm được phục vụ cho công tác nghiên cứu các gen chức năng, công tác chọn tạo giống và bảo tồn giống tôm bản địa.

---