

chủng DH5 α . Tách plasmit theo bộ Kit của hãng Pioneer. Trình tự nucleotit của gien CP được xác định trên máy đọc trình tự nucleotit tự động ABI PRISM@ 3100 Advant Genetic Analyzer của hãng Ampplied Biosystem. Kết quả đọc trình tự gien được xử lý bằng phần mềm DNAsstar và BioEdit.

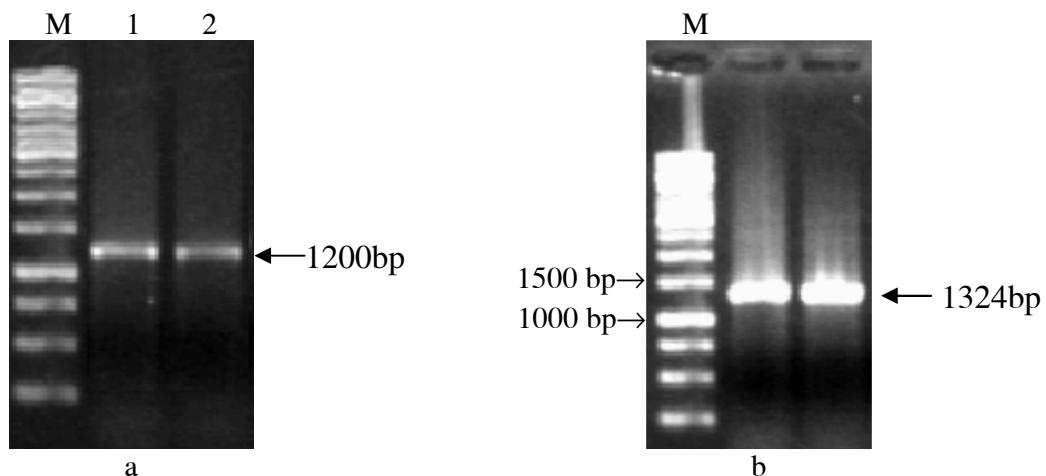
II. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Kết quả nhân gien CP

Để phân lập gien CP, chúng tôi đã thu thập

mẫu lá khoai tây bị nhiễm virút từ huyện Phú Bình, tỉnh Thái Nguyên. Sau đó, chúng tôi tiến hành tách ARN tổng số từ mẫu lá nhiễm bệnh và tổng hợp cADN từ ARN tổng số.

Để phát hiện sự có mặt của gien CP ở hai mẫu khoai tây bị nhiễm bệnh, chúng tôi sử dụng cặp mồi đặc hiệu được cung cấp bởi Phòng Công nghệ tế bào thực vật-Viện Công nghệ sinh học để nhân gien CP. Đoạn gien CP được nhân lên bằng phương pháp PCR, kết quả nhân gien, clony-PCR được kiểm tra bằng cách điện di trên gel agarosa 1% và được thể hiện trên hình 1.

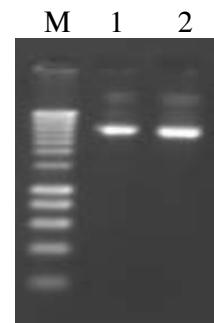


Hình 1. Kết quả PCR nhân gien CP và clony-PCR
Ghi chú: M. Chỉ thị phân tử 1kb; 1. ThaiNguyen1; 2. ThaiNguyen2.

Hình 1a cho thấy, đoạn gien được nhân lên có kích thước khoảng 1200 bp. Để xác định trình tự gien CP, chúng tôi tiến hành gắn sản phẩm PCR đã tinh sạch vào vectơ tách dòng, biến nạp vào vi khuẩn *E.coli* và chọn dòng gien.

Quá trình tách dòng được thực hiện bằng cách gắn sản phẩm PCR đã tinh sạch vào vectơ tách dòng pBT, biến nạp vào tế bào khả biến chủng *E. coli* DH5 α và được cấy trại trên đĩa petri có môi trường LB đặc bổ sung ampicillin 100 mg/ml, X-gal 40 mg/ml và IPTG 100 μ M. Ủ các đĩa petri đã cấy trại ở 37°C trong 16 giờ, kết quả thu được cả khuẩn lạc xanh và trắng. Chọn khuẩn lạc trắng nuôi trong môi trường LB lỏng có bổ sung ampicillin 100 mg/ml qua đêm. Lấy khuẩn của mỗi mẫu chạy phản ứng clony PCR với cặp mồi pUC18 để xác định khuẩn lạc có plasmit mang gien mong muốn. Vì cặp mồi

pUC18 là cặp mồi được thiết kế chung cho các vectơ tạo dòng nên khi kiểm tra sản phẩm PCR vừa dòng hoá thì kích thước của các đoạn gien vừa nhân lên sẽ nhiều hơn khoảng 124 nucleotit so với nhân bằng cặp mồi đặc hiệu.



Hình 2. Kết quả điện di tách plasmít mang gien CP

Sản phẩm clony PCR từ những khuẩn lạc

CLONING AND SEQUENCING OF THE GENES ENCODING COAT PROTEIN (CP) IN *POTATO VIRUS Y* FROM THAI NGUYEN PROVINCE

NGUYEN THI TAM, CHU HOANG MAU, NGUYEN VU THANH THANH

SUMMARY

Potato (*Solanum tuberosum L.*) is the most widely distributed crop in tropical and subtropical zones of the world. Among diseases potato viruses play major role in reducing the yield. PVX (*Potato virus X*), PVY (*Potato virus Y*), PLRV (*Potato leaf roll virus*), PVA (*Potato virus A*), PVM (*Potato virus M*), PVS (*Potato virus S*) are major viral diseases occurring in Vietnam.

PVY (*Potato virus Y*) is the type member of the genus *Potyvirus* of the family *Potyviridae*. The virus has a long filamentous particle containing one single-stranded, positive sense RNA genome of approximately 9.7 kb. PVY is an important pathogen infecting potato, tobacco, tomato and other solanaceous plant species. Different potato PVY isolates occur that can be categorized in 5 groups: PVY^O, PVY^N, PVY^{NTN}, PVY^NWi and PVY^C.

In this paper we report cloning and sequencing of coat protein (CP) gene of PVY from Thai Nguyen potato. The CP gene of this isolate was found to be 801 nucleotides long, coding for 267 amino acids. Comparison amino acid of CP protein in potato from Thai Nguyen with ten sequences on NCBI showed that amino acid was 92.1-98.9% homology.

Ngày nhận bài: 21-7-2007