

CHƯƠNG 5

DI TRUYỀN HỌC VI SINH VẬT

NỘI DUNG CHÍNH

1

Di truyền vi sinh vật

2

Biến dị vi sinh vật

3

Ứng dụng của di truyền vi sinh vật

DI TRUYỀN VI SINH VẬT

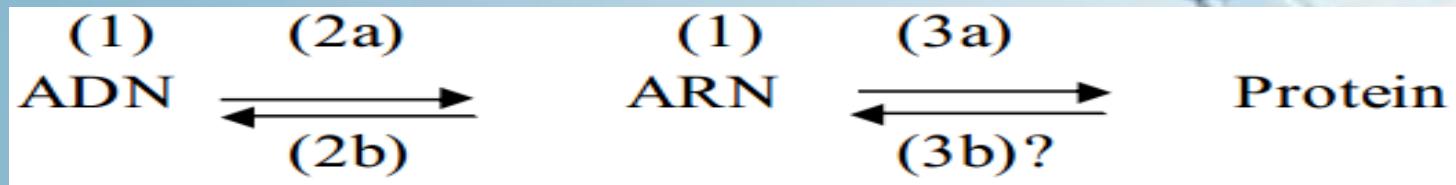
- *Di truyền*: là đặc tính chung của mọi sinh vật, giữ lại và truyền cho con cháu những đặc điểm về cấu tạo và phát triển của tổ tiên.
- *Biến dị*: là đặc tính chung của mọi sinh vật, có thể mang những sự khác biệt về nhiều chi tiết so với bố mẹ của chúng và với các cá thể khác

Di truyền
là gì?

Biến dị là
gi gì?

DI TRUYỀN VI SINH VẬT

- Là sự duy trì các đặc điểm qua nhiều thế hệ
- Cơ sở vật chất của di truyền là acid nucleic (DNA hoặc RNA).



DI TRUYỀN VI SINH VẬT

* Sự di truyền của vi sinh vật bao gồm các quá trình sau:

- Sao chép
- Phiên mã
- Phiên mã ngược
- Dịch mã
- Dịch mã ngược (chưa rõ)



BIẾN DỊ VI SINH VẬT

* *Có hai loại biến dị ở vi sinh vật:*

- Biến dị không di truyền (biến dị phenotip/thường biến).
- Biến dị di truyền (biến dị genotip)

BIẾN DỊ PHENOTIP

- Phenotip là toàn bộ các tính chất sinh lý và hình thái của mỗi cá thể

* *Đặc điểm biến dị phenotip:*

- Là biến đổi về phenotip (kiểu hình) của vi sinh vật
- Không biến đổi trong bộ máy di truyền
- Xuất hiện dưới tác dụng của nhân tố ngoại cảnh
- Xuất hiện khi vsv sinh trưởng và sinh sản trong các môi trường khác nhau
- Biến đổi chậm, mất đi khi nhân tố gây ra ngừng tác động

BIẾN DỊ GENOTIP

* *Đặc điểm biến dị genotip:*

- Genotip là tập hợp của tất cả các gen có trong tế bào
- Di truyền
- Bền vững
- Xảy ra đột ngột, ngẫu nhiên, không theo một hướng xác định

BIÊN DỊ GENOTIP

ĐỘT BIẾN

* *Khái niệm:* đột biến là sự biến đổi sai lệch một cách ngẫu nhiên hay cảm ứng phân tử acid nucleic của nhân, đã dẫn đến biến đổi genotip của tế bào vi sinh vật.

BIEN DỊ GENOTIP

ĐỘT BIẾN

* *Các loại đột biến:*

- *Đột biến tự phát (đột biến ngẫu nhiên):* là đột biến tự nó phát sinh, thường xảy ra với tần số thấp.
- *Đột biến cảm ứng (đột biến gây tạo):* là đột biến xuất hiện do các tác nhân gây đột biến.

BIÊN DỊ GENOTIP

ĐỘT BIÊN

* *Người ta chia tác nhân đột biến thành 2 loại:*

- + Tác nhân hóa học: các acid vô cơ, phenol, formaldehyde, pH môi trường, các chất đồng đẳng của purin, pyrimidin...
- + Tác nhân vật lý: các tia cực tím hay các tia bức xạ ion hóa (tia X, γ , α , β ...), nhiệt độ...

SỰ TRAO ĐỔI DI TRUYỀN Ở VI KHUẨN

* Đặc điểm di truyền ở vi khuẩn:

- + Hợp tử không phải là sản phẩm kết hợp của tế bào
- + Sự truyền thông tin một chiều từ tế bào thress cho sang tế bào nhận.
- + Sự tạo thành hợp tử một phần (merozygote): Tế bào thress cho (donor) chuyển một đoạn của bộ gen sang tế bào thress nhận (recipient), nên chỉ lưỡng bội một phần, còn các phần khác đơn bội.
- + Tế bào nhận và đoạn DNA của tế bào cho ghép đôi và trao đổi đoạn tạo ra thể tái tổ hợp
- + Phân chia tạo các NST tái tổ hợp

SỰ TRAO ĐỔI DI TRUYỀN Ở VI KHUẨN

TÁI TỐ HỢP
VẬT CHẤT
DI TRUYỀN
Ở VI
KHUẨN

TIẾP HỢP

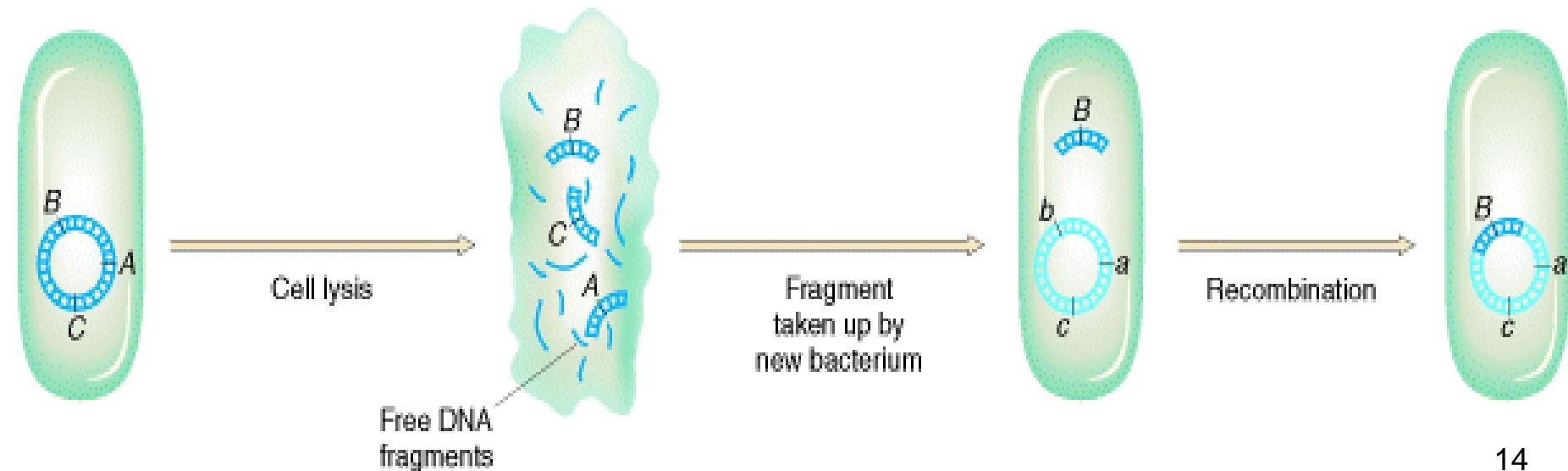
TẢI NẠP

BIẾN NẠP

SỰ TRAO ĐỔI DI TRUYỀN Ở VI KHUAN BIẾN NẠP (TRANSFORMATION)

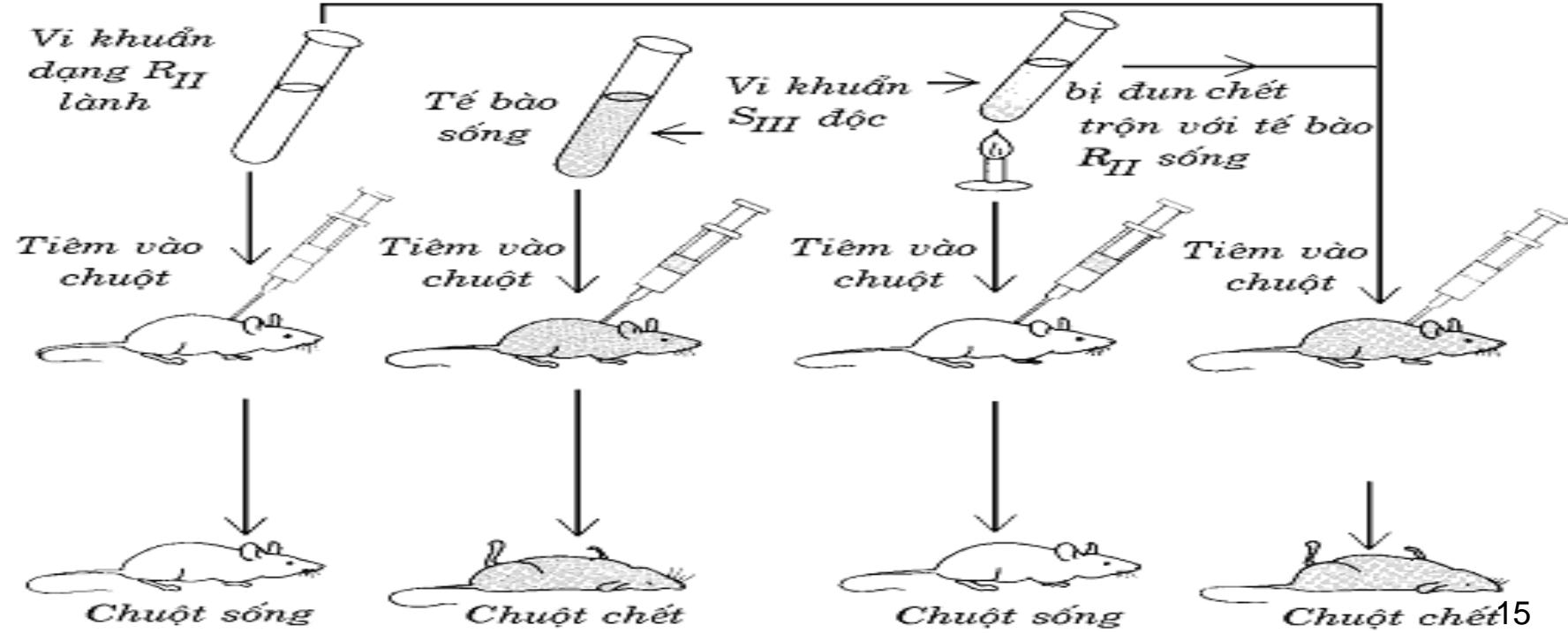
- * Khái niệm: Là quá trình truyền DNA được tách chiết hay DNA trực tiếp từ tế bào cho sang tế bào nhận.

Transformation



SỰ TRAO ĐỔI DI TRUYỀN Ở VI KHUẨN BIẾN NẠP (TRANSFORMATION)

- Khám phá hiện tượng biến nạp: Fredrich Griffith (1928) với vi khuẩn gây viêm phổi *Diplococcus pneumoniae*



SỰ TRAO ĐỔI DI TRUYỀN Ở VI KHUAN BIẾN NẠP (TRANSFORMATION)

* Kết luận thí nghiệm *Grifith*:

- Có một chất nào đó trong dung dịch huyền phù của vi khuẩn có vỏ nhầy đã chết chuyển sang tế bào vi khuẩn không có vỏ nhầy đang sống và làm cho nó có khả năng tạo nên vỏ nhầy.
- Vật chất đó gọi là nhân tố biến nạp.

SỰ TRAO ĐỔI DI TRUYỀN Ở VI KHUẨN BIẾN NẠP (TRANSFORMATION)

* *Bản chất của nhân tố biến nạp:*

- Là DNA
- Khi đun nóng dịch nuôi cấy tế bào vi khuẩn dạng S, các tế bào này bị phá huỷ và giải phóng ra môi trường những phân tử DNA.
- Những phân tử này khi tiếp xúc với các tế bào sống dạng R đã trực tiếp thẩm vào nó và truyền cho nó khả năng tạo vỏ nhầy.

SỰ TRAO ĐỔI DI TRUYỀN Ở VI KHUAN BIẾN NẠP (TRANSFORMATION)

* Đối tượng nghiên cứu:

- *Streptococcus pneumoniae*
- *Bacillus subtilis*
- *Haemophilus parainfluenzae*
- *Diplococcus*
- *Agrobacterium*
- *Rhizobium*
- *Xanthomonas*.



SỰ TRAO ĐỔI DI TRUYỀN Ở VI KHUAN BIẾN NẠP (TRANSFORMATION)

* *Điều kiện thực hiện biến nạp:*

- Sự thay đổi thành tế bào của vi khuẩn nhận dưới tác động của các nhân tố nuôi cấy như pH, nhiệt độ, sự khuấy, lắc...
- Những đoạn DNA có phân tử lượng từ 10^5 – 10^7 mới được truyền đi trong biến nạp
- Mỗi đoạn DNA biến nạp tương ứng với khoảng 1/200 – 1/500 hệ gen của tế bào cho.

SỰ TRAO ĐỔI DI TRUYỀN Ở VI KHUAN BIẾN NẠP (TRANSFORMATION)

* *Điều kiện thực hiện biến nạp:*

- Thành phần môi trường cũng ảnh hưởng đến tần số biến nạp
- Nhiệt độ thích hợp cho sự biến nạp là 29 – 32°C.
- Các tế bào nhận có thể nhận bất kỳ đoạn DNA biến nạp nào nhưng nó sẽ trở thành bão hòa khi nồng độ DNA đạt đến khoảng 10 đoạn.

SỰ TRAO ĐỔI DI TRUYỀN Ở VI KHUẨN BIÉN NẠP (TRANSFORMATION)

- Đoạn từ tế bào cho xâm nhập vào tế bào nhận được gọi là đoạn ngoại lai (exogenote).
- DNA nguyên vẹn của tế bào nhận được gọi là đoạn nội tại (endogenote).
- Tế bào vi khuẩn nhận đoạn ngoại lai sẽ lưỡng bội ở một phần bộ gen được gọi là hợp tử từng phần (merozygote).
- Quá trình trao đổi thông tin di truyền bằng chuyển chỉ một phần vật liệu di truyền từ tế bào này sang tế bào khác được gọi là sự giao nạp từng phần (meromixis).

SỰ TRAO ĐỔI DI TRUYỀN Ở VI KHUẨN BIẾN NẠP (TRANSFORMATION)

CÁC GIAI ĐOẠN
BIẾN NẠP

XÂM NHẬP DNA

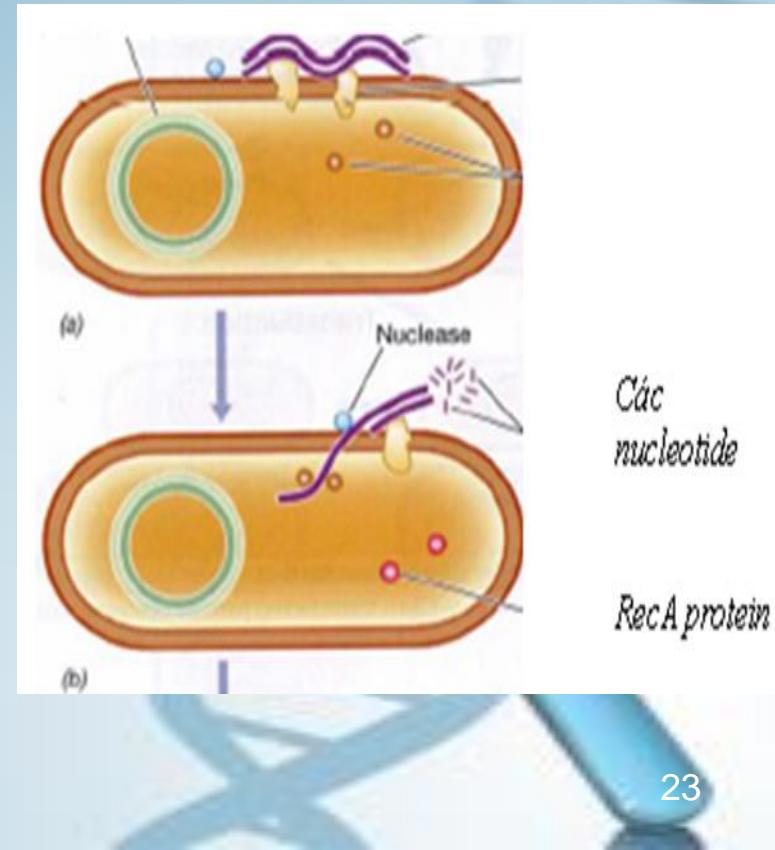
BẮT CẶP

SAO CHÉP

SỰ TRAO ĐỔI DI TRUYỀN Ở VI KHUẨN BIẾN NẠP (TRANSFORMATION)

* Xâm Nhập DNA:

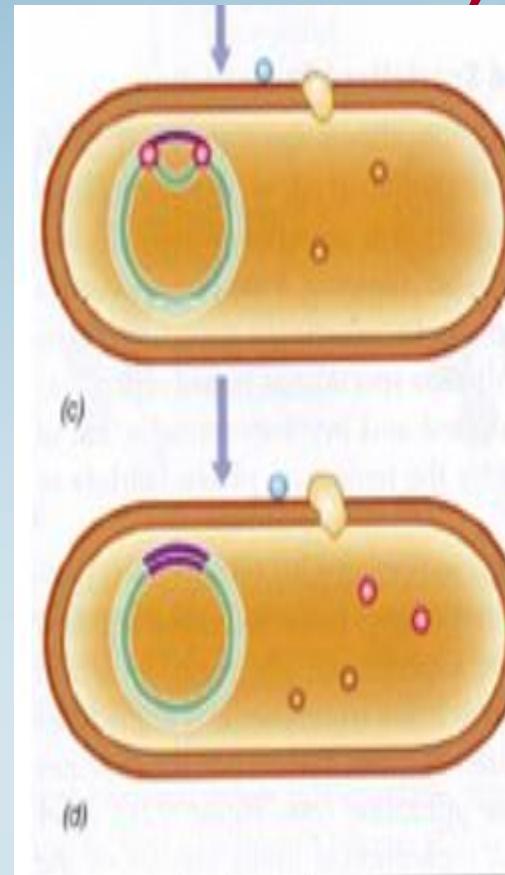
- DNA gắn với điểm nhận của màng tế bào
- Là thuận nghịch: gắn vào rồi nhả ra.
- Sợi DNA mạch kép chui qua màng tế bào thì một mạch sẽ bị nuclease của tế bào cắt, còn lại một mạch nguyên.



SỰ TRAO ĐỔI DI TRUYỀN Ở VI KHUAN BIẾN NẠP (TRANSFORMATION)

* Bắt cặp:

- DNA của thể nhận biến tính tách rời 2 mạch
- DNA thể nhận bắt cặp DNA thể cho
- Một mạch DNA tế bào nhận bị đứt ra
- Trong quá trình bắt cặp, có những đoạn không tương đồng thì sẽ hình thành nên những vòng lồi, những đoạn đó gọi là Heteroduplex



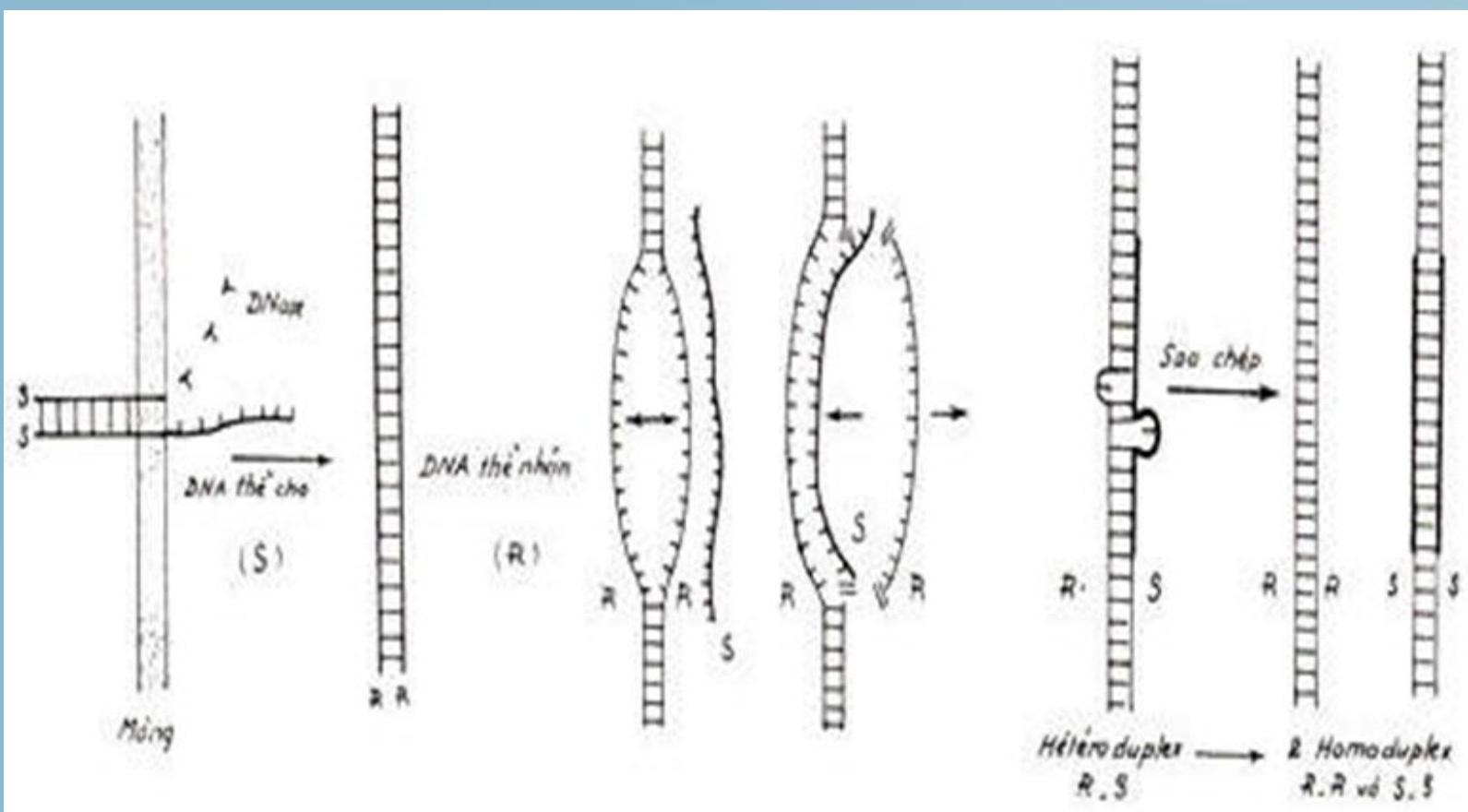
Bắt cặp và tái tổ hợp

Tế bào đã biến nạp

SỰ TRAO ĐỔI DI TRUYỀN Ở VI KHUẨN BIẾN NẠP (TRANSFORMATION)

* Sao chép:

- Sau khi bắt cặp sẽ tạo phân tử DNA có đoạn lai R-S
- DNA lai tiến hành sao chép để tạo ra hai sợi kép:
 - + Một sợi kép R-R
 - + Một sợi kép khác có mang đoạn DNA thê nhận S-S.



SỰ TRAO ĐỔI DI TRUYỀN Ở VI KHUAN BIẾN NẠP (TRANSFORMATION)

* Úng dụng:

- Là phương tiện phân tích di truyền
- Xác định bản đồ di truyền của một nòi vi khuẩn
- Mở đường cho di truyền hóa học
- Nghiên cứu cấu trúc gen

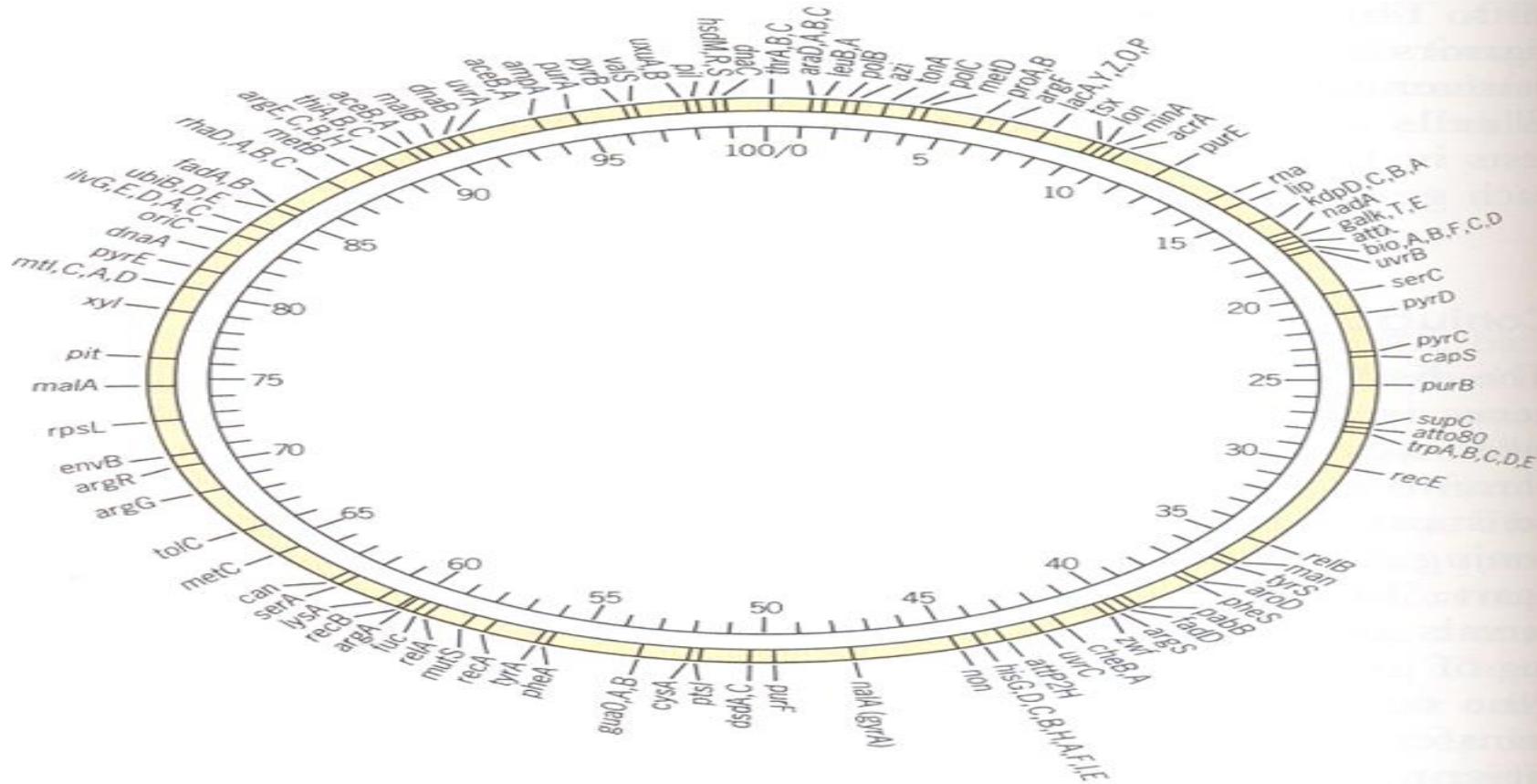
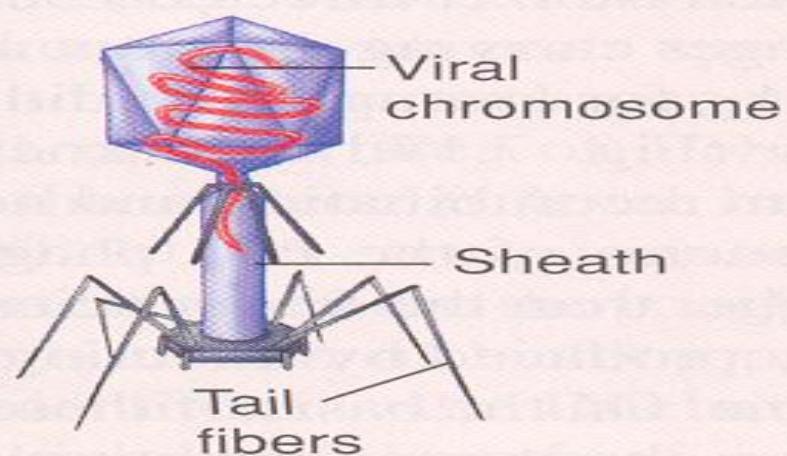
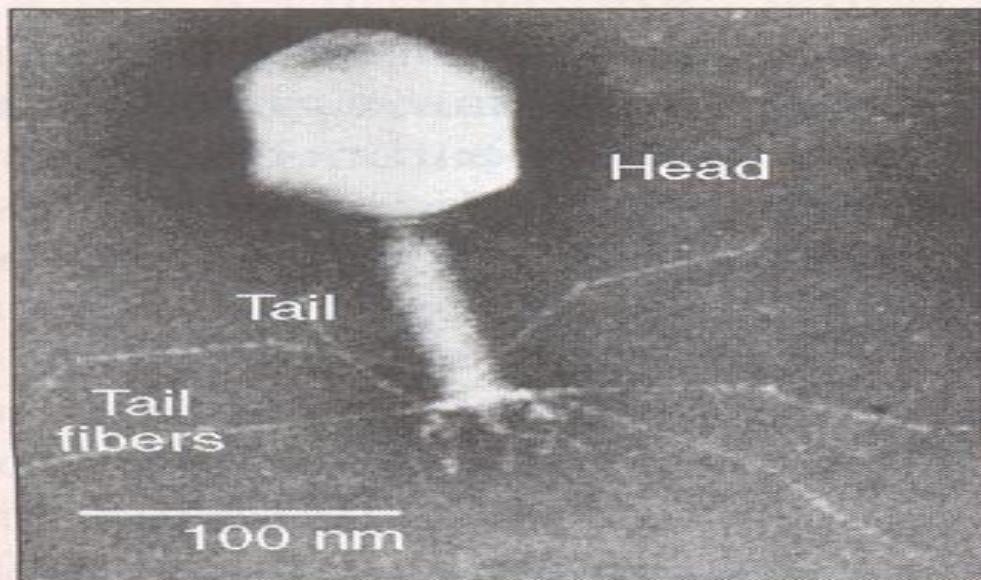


Figure 17.14 A map of the *E. coli* genome, showing selected genes.

SỰ TRAO ĐỔI DI TRUYỀN Ở VI KHUAN TẢI NẠP (TRANSDUCTION)

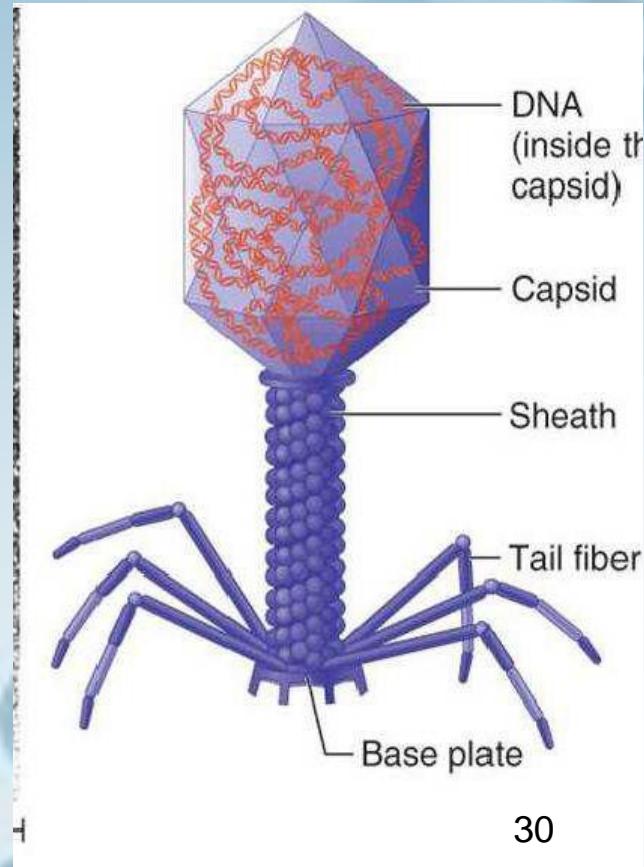
- * Khái niệm: là hiện tượng truyền những đoạn thông tin di truyền từ tế bào cho sang tế bào nhận qua khâu trung gian là thực khuẩn thể



SỰ TRAO ĐỔI DI TRUYỀN Ở VI KHUẨN TẢI NẠP (TRANSDUCTION)

* Thể thực khuẩn:

- Là một loại virus tấn công vi khuẩn *E. coli*
- Gồm lớp vỏ protein và lõi acid nucleic
- Lớp vỏ protein có vùng đầu chứa vật liệu di truyền, vùng đuôi dài gồm 1 lõi rỗng, 1 bao và 6 sợi tận cùng

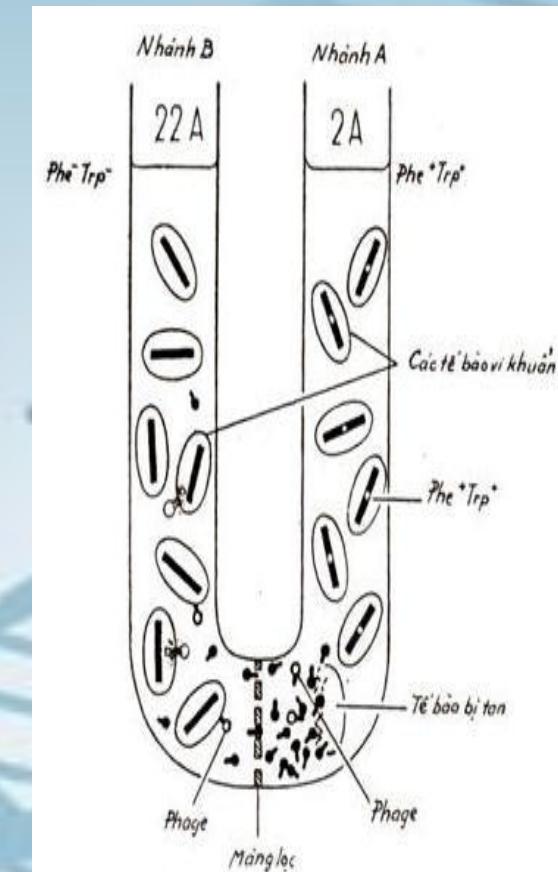


SỰ TRAO ĐỔI DI TRUYỀN Ở VI KHUẨN

TẢI NẠP (TRANSDUCTION)

* Thí nghiệm tải nạp:

- Joshua Lederberg và Norton Zinder (1951)
- Vi khuẩn thương hàn: *Salmonella typhimurium*
- Hai chủng vi khuẩn (2A và 22A) được nuôi trong ống hình chữ U, có màng lọc vi khuẩn
- 22A: *phe⁻trp⁻tyr⁻ met⁺his⁺* × 2A: *phe⁺trp⁺tyr⁺ met⁻his⁻*
- Tạo ra thể tái tổ hợp *phe⁺trp⁺tyr⁺met⁺his⁺*
- Tác nhân giúp cho sự hình thành thể tái tổ hợp được xác định là phage PLT - 22



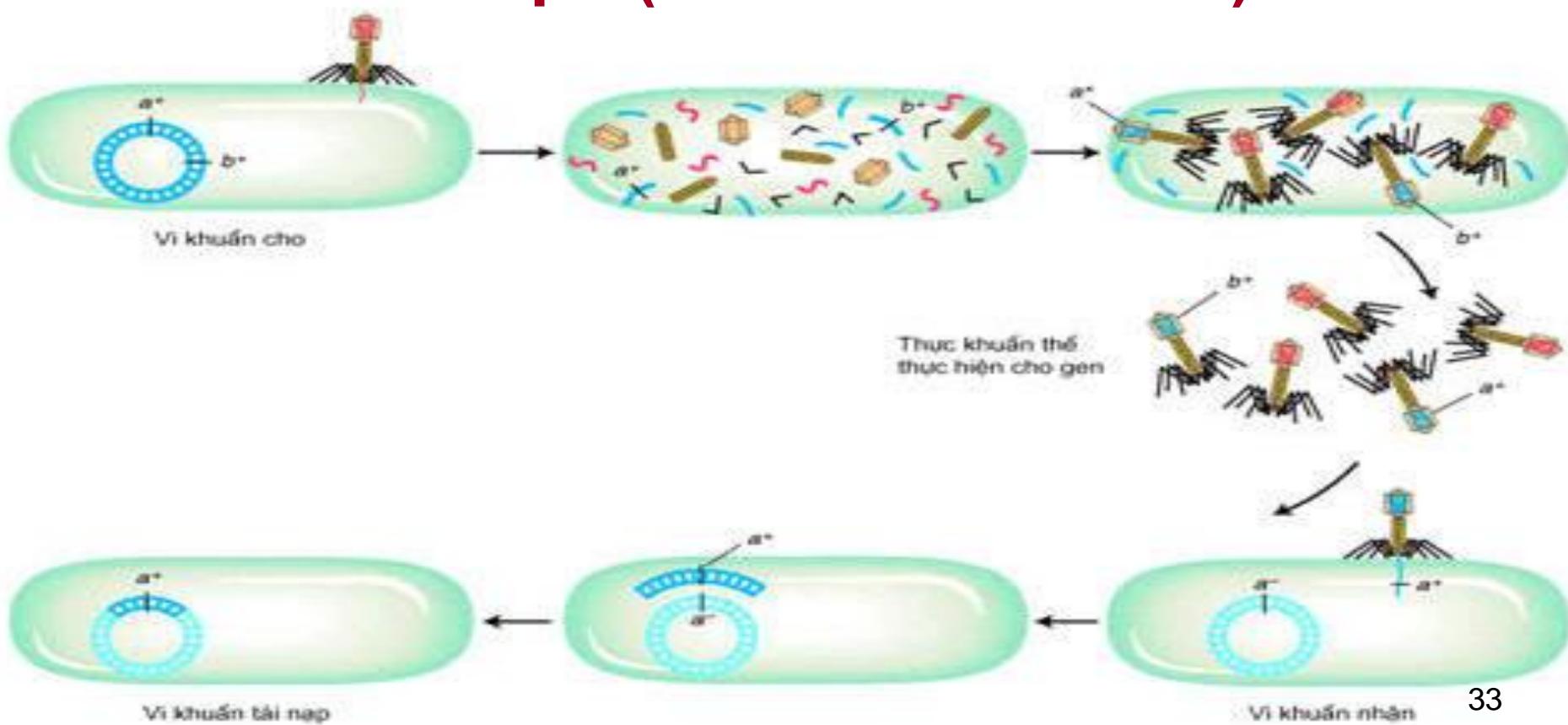
SỰ TRAO ĐỔI DI TRUYỀN Ở VI KHUẨN

TẢI NẠP (TRANSDUCTION)

* Cơ chế tải nạp:

- Các phage bám trên bề mặt vi khuẩn
- Phage bơm DNA vào tế bào vi khuẩn
- $\frac{1}{2}$ giờ phage làm tan các tế bào vi khuẩn, giải phóng các phage mới
- DNA phage xâm nhập vi khuẩn
- Cắt DNA vi khuẩn thành nhiều đoạn
- DNA phage sao chép nhiều DNA con và tạo vỏ phage
- Lắp ruột DNA vào
- Phá tế bào vi khuẩn ra ngoài và xâm nhiễm tế bào vi khuẩn khác
- Phage mang gen vi khuẩn 2A xâm nhiễm vi khuẩn 22A, quá trình tái tổ hợp xảy ra làm gen vi khuẩn 2A gắn vào bộ gen vi khuẩn 22A⁸²

SỰ TRAO ĐỔI DI TRUYỀN Ở VI KHUẨN TẢI NẠP (TRANSDUCTION)



SỰ TRAO ĐỔI DI TRUYỀN Ở VI KHUAN TẢI NẠP (TRANSDUCTION)

* Các kiểu tải nạp:

- Tải nạp chung
- Tải nạp chuyên biệt (tải nạp đặc hiệu)
- Tải nạp ngừng trệ

SỰ TRAO ĐỔI DI TRUYỀN Ở VI KHUAN TẢI NẠP (TRANSDUCTION)

* **Khái niệm:** Tải nạp chung là sự tải nạp trong đó bất kỳ gen nào của thế cho cũng có thể được truyền sang thế nhận bởi phage.

- Chỉ một tỷ lệ nhỏ các phage thế hệ con (khoảng 1/10000) mang gen của thế cho.

VD: Phage T1 xâm nhiễm *E. coli* là một phage tải nạp chung.

SỰ TRAO ĐỔI DI TRUYỀN Ở VI KHUẨN

TẢI NẠP (TRANSDUCTION)

* Cơ chế tải nạp chung:

- Phage T1 tạo ra enzyme nuclease cắt DNA vi khuẩn thể cho thành các đoạn có kích thước tương đương với DNA phage.
- Hình thành hạt tải nạp (phage mang gen của thể cho) chứa các đoạn cắt ngẫu nhiên từ NST vi khuẩn.
- Hạt tải nạp xâm nhiễm tế bào vi khuẩn *E. coli* khác, chúng có thể trao đổi chéo tại các đoạn tương đồng với NST vi khuẩn nhận.
- Sử dụng môi trường chọn lọc, người ta có thể phát hiện các thể tái tổ hợp này.

SỰ TRAO ĐỔI DI TRUYỀN Ở VI KHUAN TẢI NẠP (TRANSDUCTION)

* Tải nạp chung có đặc điểm:

- + Bất kỳ gen nào của vi khuẩn cũng đều được tải nạp
- + Tải nạp do gói nhầm DNA của tế bào chủ khi phage trưởng thành
- + Các thể tái tổ hợp đơn bội được tạo ra

SỰ TRAO ĐỔI DI TRUYỀN Ở VI KHUAN TẢI NẠP (TRANSDUCTION)

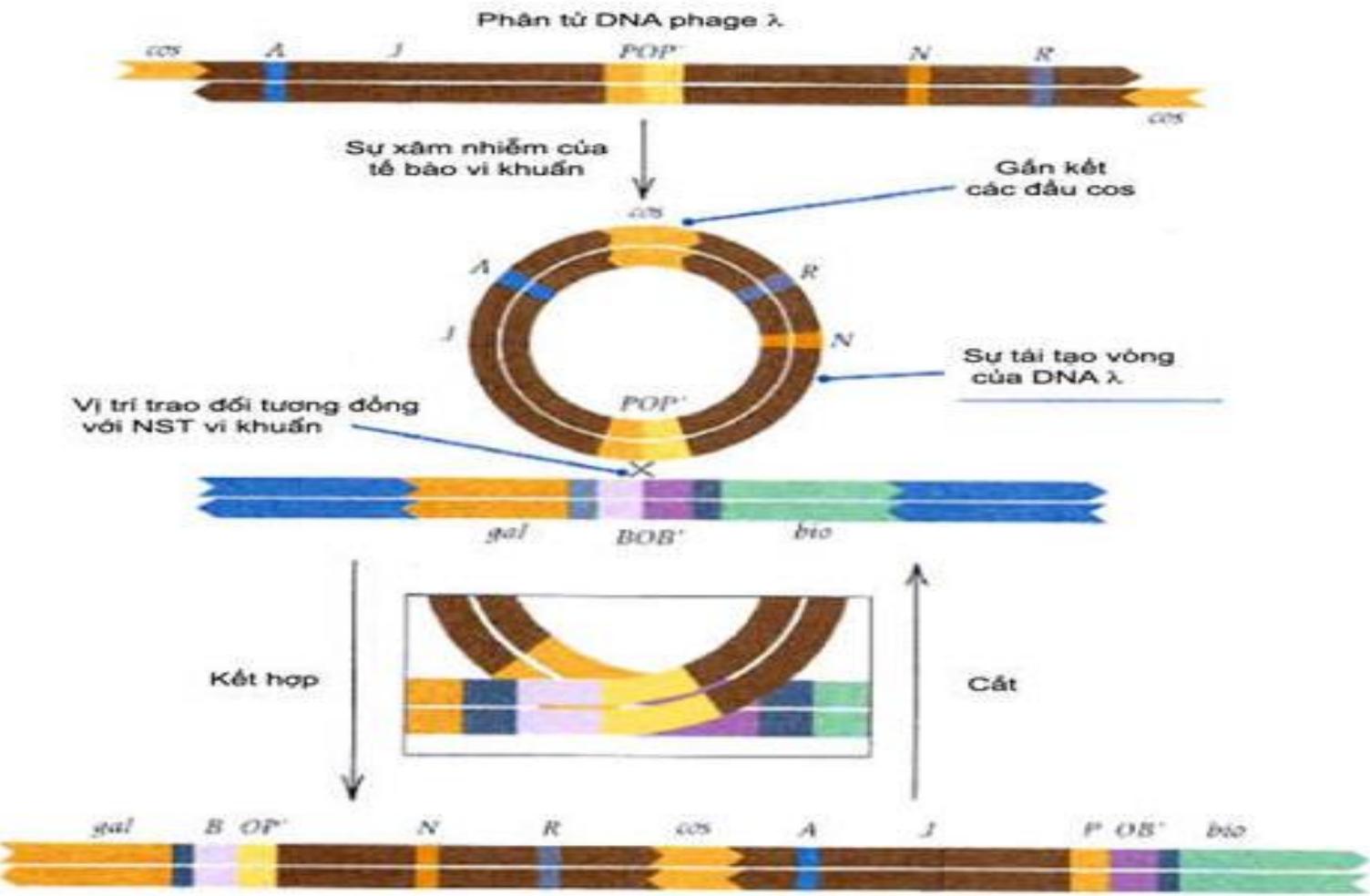
* Tải nạp đặc hiệu:

- Là hiện tượng tải nạp trong đó phage chỉ có thể truyền một số gen nhất định từ vi khuẩn cho sang vi khuẩn nhận.
- Tải nạp đặc hiệu xảy ra do phage tiêm tan vi khuẩn chủ, DNA của nó xen vào NST vi khuẩn chủ tại vị trí nhất định.

SỰ TRAO ĐỔI DI TRUYỀN Ở VI KHUẨN TẢI NẠP (TRANSDUCTION)

* Tải nạp đặc hiệu có các đặc điểm:

- + Những gen được chuyển nằm sát chỗ phage gắn vào
- + Chỉ prophage kiểu λ thực hiện
- + Do kết quả sự cắt sai của prophage khi tách khỏi NST của tế bào chủ



SỰ TRAO ĐỔI DI TRUYỀN Ở VI KHUẨN TẢI NẠP (TRANSDUCTION)

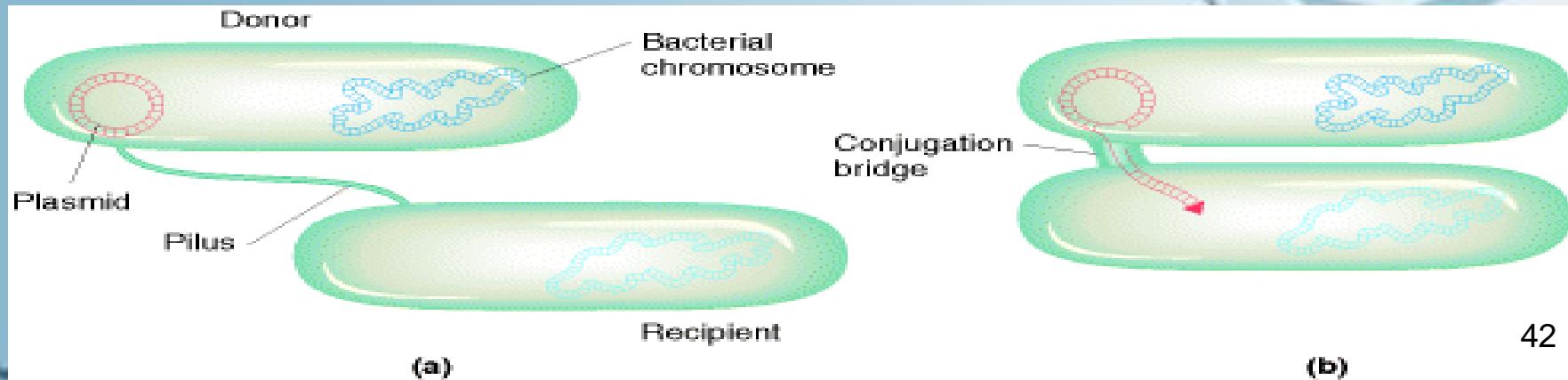
* Ứng dụng của tải nạp:

- Phân tích bản chất phức tạp của những vùng DNA
- Phát hiện được những hiện tượng như tái tổ hợp xảy ra giữa hai thể dị dưỡng không giống nhau

SỰ TRAO ĐỔI DI TRUYỀN Ở VI KHUẨN TIẾP HỢP (CONJUGATION)

* Khái niệm:

Là hiện tượng tiếp xúc trực tiếp giữa hai tế bào vi khuẩn và kèm theo việc truyền vật chất di truyền từ tế bào thè cho sang tế bào thè nhận qua cầu tế bào chất



SỰ TRAO ĐỔI DI TRUYỀN Ở VI KHUAN TIẾP HỢP (CONJUGATION)

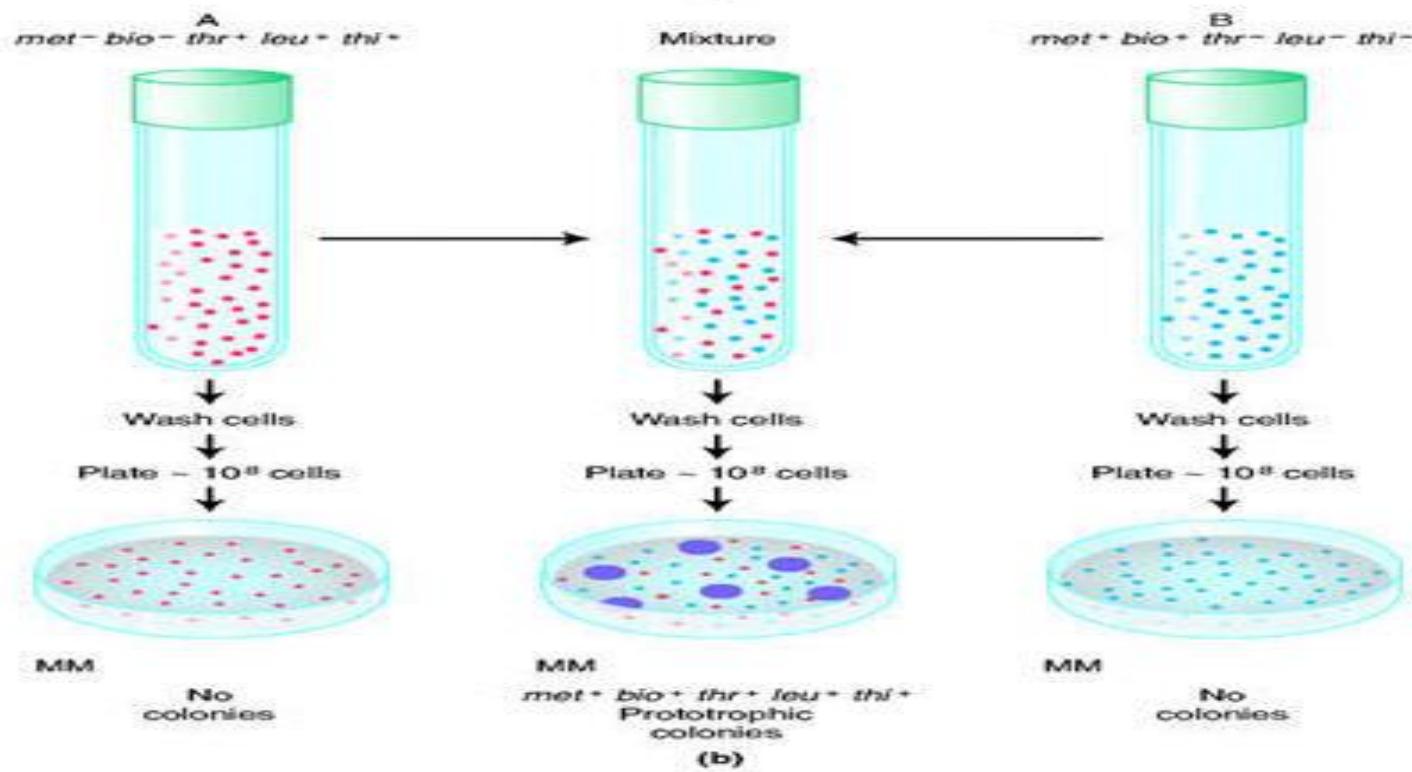
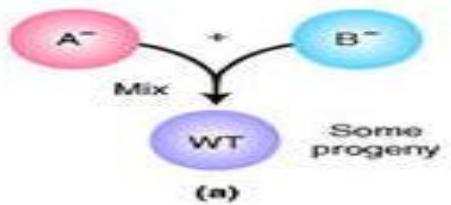
* Thí nghiệm J. Lederberg và E. Tatum 1946:

+ Dòng A: có kiểu gen met⁻bio⁻thr⁺leu⁺thi⁺ (có khả năng tổng hợp threonin, leucine, thiamin không có khả năng tổng hợp methionin và biotin)

+ Dòng B: có kiểu gen met⁺bio⁺thr⁻leu⁻thi⁻ (có khả năng tổng hợp methionin, biotin nhưng không có khả năng tổng hợp threonin, leucine, thiamin)

* Kết quả:

- Vi khuẩn tạo khuẩn lạc được trên môi trường tối thiểu (chỉ có khoáng và carbon)



SỰ TRAO ĐỔI DI TRUYỀN Ở VI KHUAN TIẾP HỢP (CONJUGATION)

- Hai dòng vi khuẩn trên đã trao đổi thông tin di truyền với nhau để tạo thành các tế bào tái tổ hợp
- Việc tiếp xúc trực tiếp giữa hai tế bào là điều kiện thiết yếu để trao đổi vật liệu di truyền.
- Chứng minh có hiện tượng lai phân tử

SỰ TRAO ĐỔI DI TRUYỀN Ở VI KHUAN TIẾP HỢP (CONJUGATION)

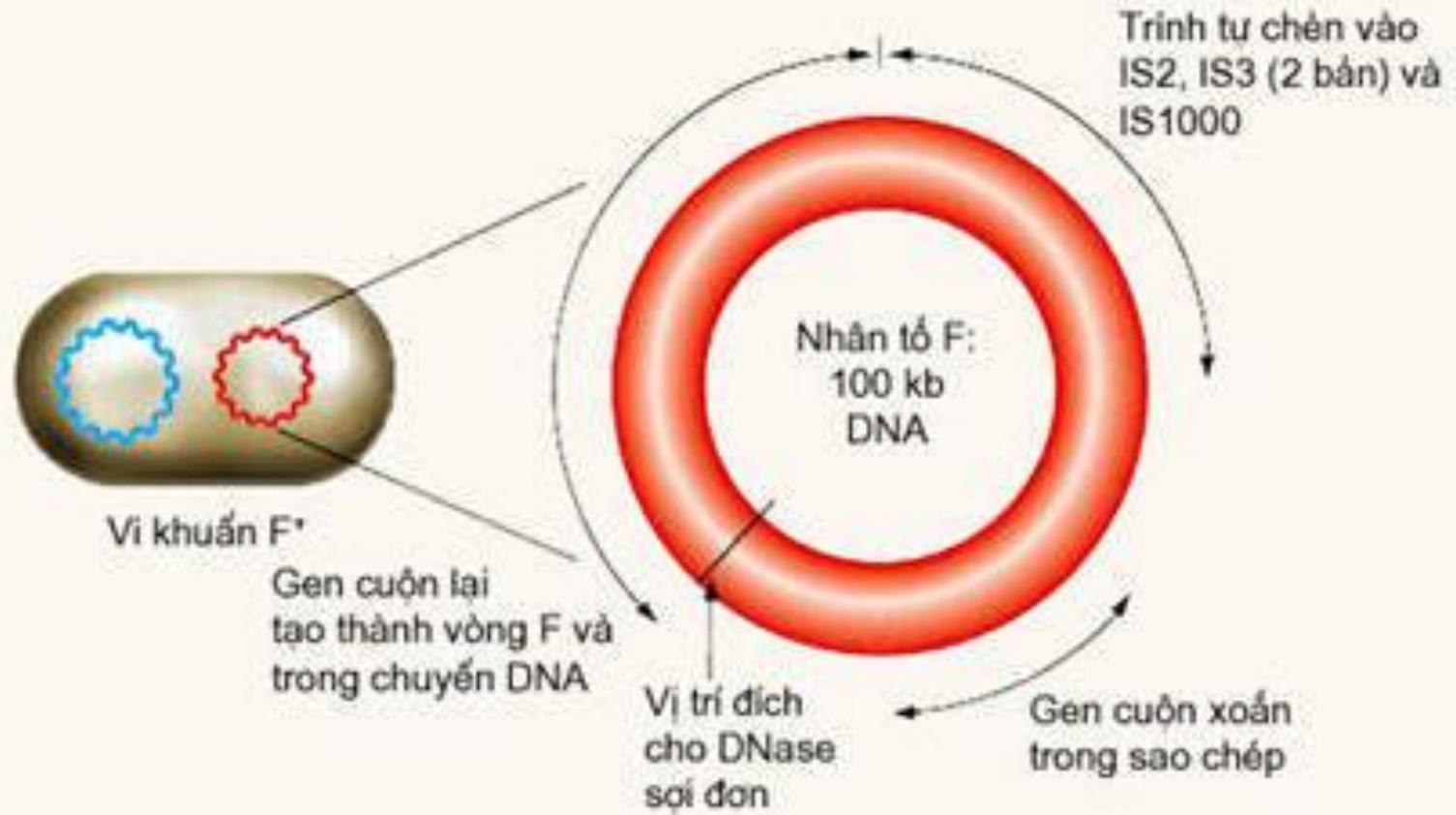
* Sự phân hóa giới tính ở vi khuẩn:

- 1953, Hayes đã phát hiện ra ở vi khuẩn có các dạng khác nhau tương tự giống đực và cái ở sinh vật bậc cao.
- + Các dạng đó được kí hiệu là tế bào F⁺ và tế bào F⁻.
- + F⁺ tương tự giống đực ở sinh vật bậc cao, nó truyền sang F⁻.
- + Tần số lai F⁺ với F⁻ khoảng 10^{-6} .

SỰ TRAO ĐỔI DI TRUYỀN Ở VI KHUAN

TIẾP HỢP (CONJUGATION)

- Khi F⁺ tiếp xúc với F⁻ một thời gian, F⁻ biến thành F⁺ do nó nhận được một phần tử di truyền là episome.
- Episome F⁺ là phần tử di truyền ngoài NST, có thể tồn tại hoặc ở dạng DNA vòng tròn tự sao chép hoặc gắn vào phân tử DNA của tế bào chủ.
- Episome F⁺ được gọi là nhân tố giới tính.
- Dạng Hfr (high frequency of recombination): có tần số lai với F⁻ cao hơn F⁺ có thể đến 10^4 lần.



SỰ TRAO ĐỔI DI TRUYỀN Ở VI KHUAN

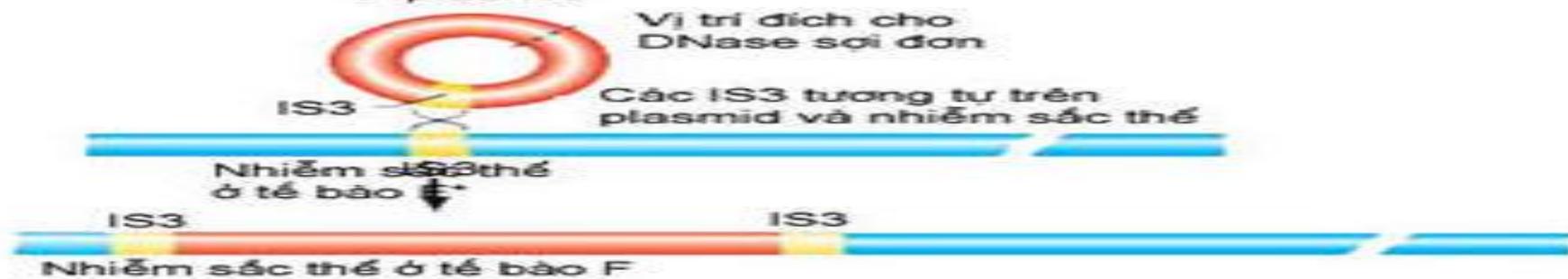
TIẾP HỢP (CONJUGATION)

* **Plasmid:** là phân tử DNA vòng tròn nhỏ có khả năng sao chép độc lập với tế bào chủ và không có khả năng gắn vào NST tế bào chủ.

- Plasmid có thể mang một số gen khác nhau.
- Plasmid được dùng cho cả 2 nghĩa là episome và plasmid.
- Plasmid có thể tồn tại độc lập hoặc gắn vào bộ gen vi khuẩn.
- Bản chất di truyền của các dòng F⁻, F⁺ và Hfr được xác định do các plasmid như sau:
 - + F⁻ không chứa plasmid
 - + F⁺ chứa plasmid ở dạng độc lập
 - + Hfr có plasmid gắn vào bộ gen

(a) Sư tạo thành Nhiễm sắc thể Hfr

F plasmid



(b) Các dạng Hfr khác nhau được hình thành

F⁺ nhân
nhiễm sắc thể



F plasmid
chèn vào



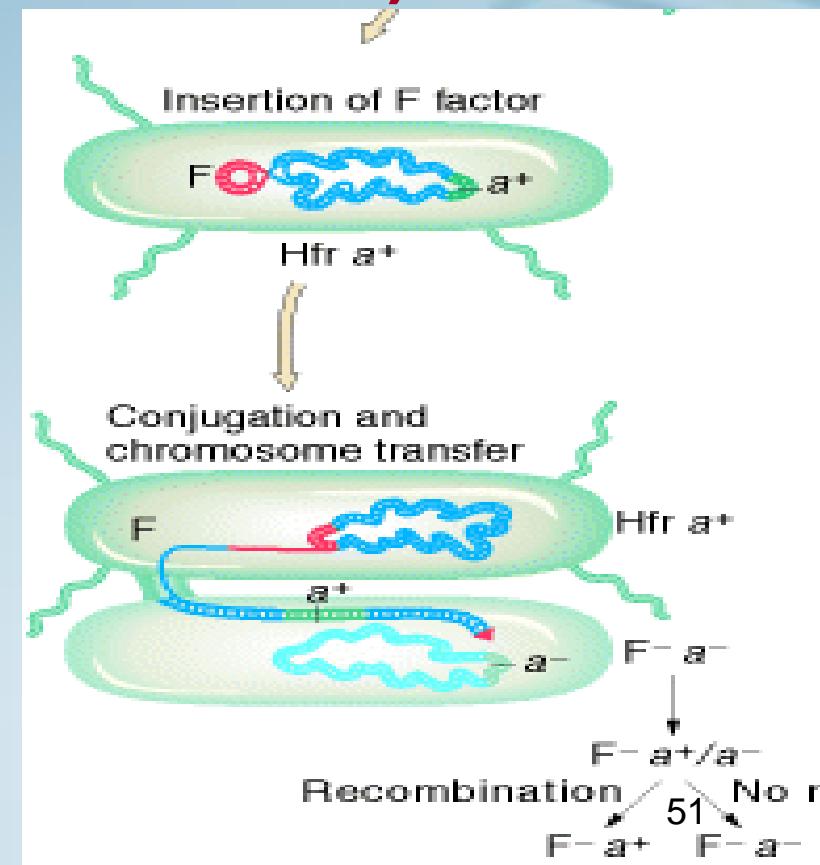
Hình thành
tế bào Hfr



SỰ TRAO ĐỔI DI TRUYỀN Ở VI KHUẨN TIẾP HỢP (CONJUGATION)

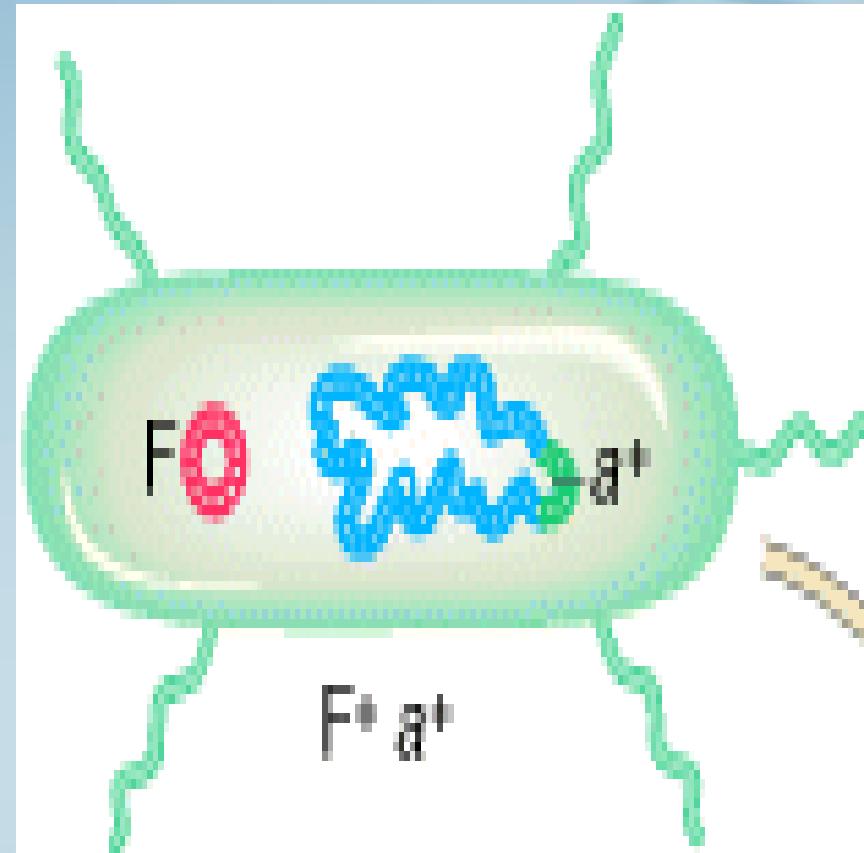
* Tế bào Hfr: Là các tế bào vi khuẩn mang nhân tố F đã được lồng ghép vào NST của vi khuẩn

- Khi tiếp hợp với tế bào nhận, có khả năng truyền đi một số gen của NST tế bào vi khuẩn qua ống tiếp hợp
- Có tần số tái tổ hợp cao.



SỰ TRAO ĐỔI DI TRUYỀN Ở VI KHUAN TIẾP HỢP (CONJUGATION)

- Plasmid F (nhân tố F – nhân tố giới tính): plasmid chứa gen truyền, gen quy định giới tính
- Tế bào cho: F^+ (mang nhân tố F)
- Tế bào nhận: F^- (không mang nhân tố F)



SỰ TRAO ĐỔI DI TRUYỀN Ở VI KHUAN

TIẾP HỢP (CONJUGATION)

* Sự tiếp hợp giữa F⁺ và F⁻:

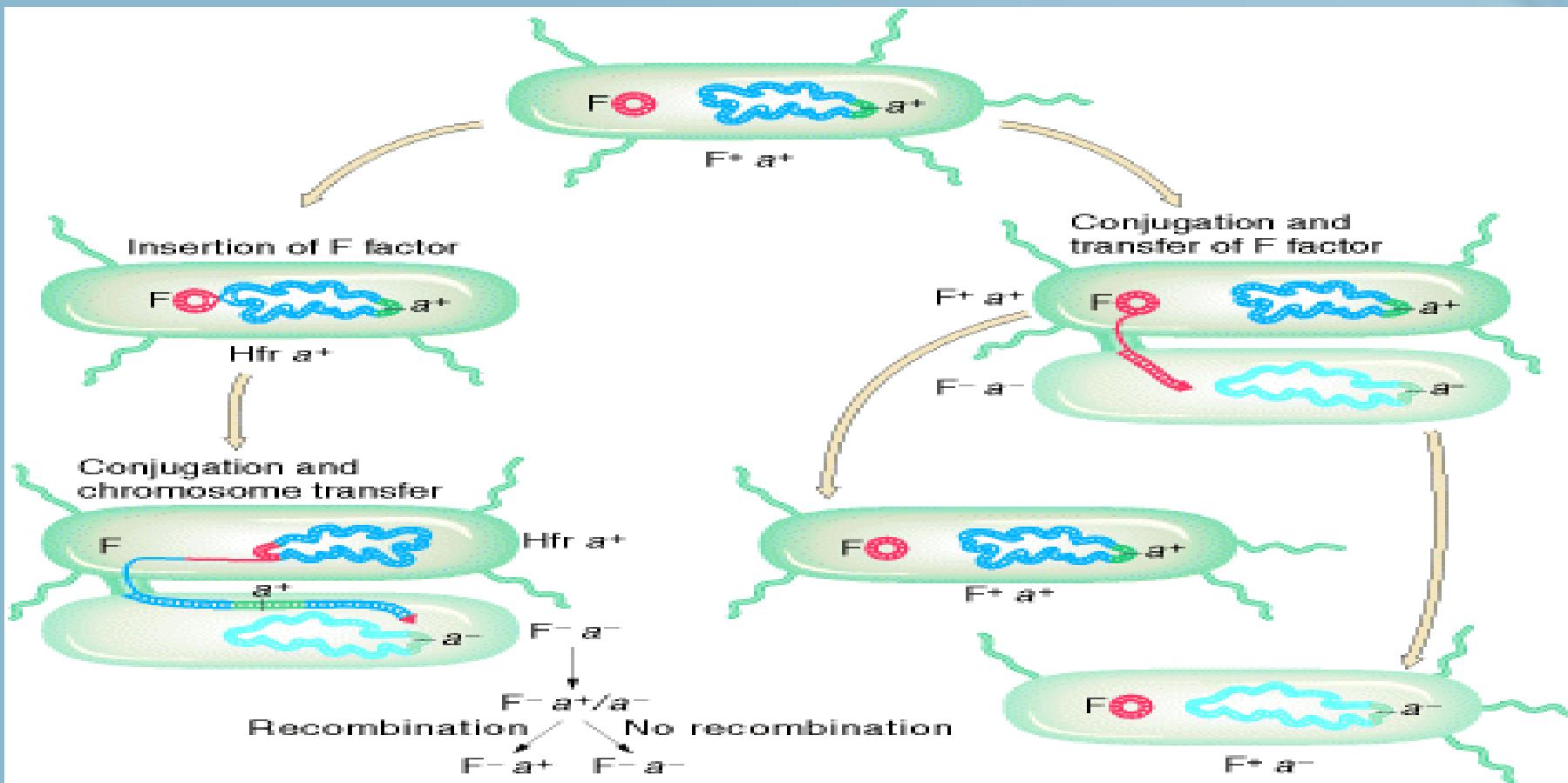
- Hai tế bào vi khuẩn tiến sát vào nhau
 - Hình thành cầu tiếp hợp
 - Nhân tố F từ tế bào F⁺ đứt ở một mạch, mạch đứt đó được truyền sang tế bào F⁻. Quá trình tổng hợp sợi bổ sung của F được thực hiện ở cả hai tế bào
- * Kết quả: hình thành hai tế bào F⁺

SỰ TRAO ĐỔI DI TRUYỀN Ở VI KHUAN

TIẾP HỢP (CONJUGATION)

* Tiếp hợp Hfr và F⁻:

- Hai tế bào hình thành ống giao nạp (pilus).
- Nhân tố F từ thể cho được tách do mở DNA mạch vòng ở vị trí bất kỳ.
- Hai sợi đơn của phân tử DNA kép được tách nhau ra, một đầu chui qua ống tiếp hợp, kéo theo một số gen của NST, được truyền sang tế bào nhận
- Sợi bô trợ còn lại được tổng hợp bên tế bào nhận.
- Nếu các gen nằm trong phân tử DNA được truyền sang có những đoạn tương đồng với NST tế bào nhận thì có thể xảy ra hiện tượng trao đổi chéo, tái tổ hợp
- Nếu toàn bộ một sợi đơn của NST vi khuẩn cho và phần còn lại của nhân tố F được truyền sang tế bào nhận, tế bào nhận F⁻ sẽ trở thành tế bào F⁺



Tóm tắt các sự kiện diễn ra trong quá trình tiếp hợp ở *E. coli*

SỰ TRAO ĐỔI DI TRUYỀN Ở VI KHUẨN TIẾP HỢP (CONJUGATION)

* Các vi khuẩn có hiện tượng tiếp hợp:

- *E.coli*
- *Shigella*
- *Salmonella*
- *Pseudomonas aeruginosa.*



ỨNG DỤNG DI TRUYỀN VI SINH VẬT

* Để chọn giống vi sinh vật, người ta thường dùng hai phương pháp chính:

- Phương pháp chọn lọc không dùng tác nhân gây đột biến:
 - + *Phương pháp chọn lọc tự nhiên*
 - + *Phương pháp chọn lọc nhân tạo*
 - + *Sử dụng cơ chế lai*
- Phương pháp chọn lọc dùng tác nhân gây đột biến:
 - + Tác nhân hóa học
 - + Tác nhân sinh học
 - + Tác nhân lý học

ỨNG DỤNG DI TRUYỀN VI SINH VẬT

* Kỹ thuật di truyền bao gồm:

- Phân lọc, cắt, nối, ghép gen.
- Chuyển ghép gen tạo plasmid lai.
- Ứng dụng các quá trình vận chuyển vật chất di truyền (biến nạp, tải nạp, tiếp hợp) để chuyển plasmid lai vào tế bào chủ (vi khuẩn hay nấm men).
- Tạo điều kiện thuận lợi cho vi sinh vật mang gen ghép sinh trưởng phát triển, sinh tổng hợp các sản phẩm mong muốn.