



# Di truyền học vi sinh vật - phần mở đầu

Bởi:

PGS. TS. Phạm Thành Hồ

## Tính cách mạng của Di truyền học vi sinh vật

Nhân loại đang sống ở cuối thập niên đầu tiên của thế kỉ 21 – *thế kỉ Công nghệ sinh học*. Di truyền học đi sâu vào các vấn đề cơ bản của *sự tồn tại và lưu truyền sự sống* nên nó giữ một vị trí đặc biệt quan trọng, có người ví "*Di truyền học là trái tim của Sinh học*", vì không ít thì nhiều, nó liên quan và chi phối bất kì lĩnh vực nào của sinh học, từ các cơ chế phân tử của sự sống cho đến sự tiến hóa của toàn bộ thế giới sinh vật trên hành tinh của chúng ta.

Những phát minh lớn với số lượng tăng vọt của di truyền học đã có tác dụng *cách mạng hóa sinh học*, biến sinh học từ mô tả thành thực nghiệm chính xác. Hội nghị Di truyền học thế giới ở Toronto (Canada) năm 1988 đã nêu phương châm "*Di truyền học hóa Sinh học*".

Suốt thế kỉ XX, các nghiên cứu tập trung giải quyết vấn đề gen dẫn đến *Thời đại gen, Cách mạng di truyền*, mà đỉnh cao là việc hoàn tất *Bộ gen người* vào năm 2003 và mở ra *Thời đại sau Bộ gen* (Post-Genomics Era).

Các đối tượng vi sinh vật đã góp phần chủ yếu vào *các phát minh nền tảng* không những của di truyền học phân tử, mà của sinh học phân tử và sinh học hiện đại nói chung. Điềm qua lịch sử các phát minh của sinh học phân tử sẽ thấy rõ vai trò cách mạng hóa của các đối tượng này.

## Giả thiết một gen – một enzym

Vào năm 1941, G. Beadle và E. Tatum tiến hành thí nghiệm trên vi nấm *Neurospora crassa*. Công trình chứng minh mối liên hệ giữa gen và tính trạng thông qua việc kiểm soát các enzym – protein và qua đó *kiểm soát các phản ứng sinh hóa* trong tế bào. Giả thuyết này mở ra một trang mới về mối quan hệ chức năng giữa gen và enzym trong con đường trao đổi chất của cơ thể. Phát minh này có ý nghĩa quan trọng: đó là bước chuyển

tiếp từ di truyền học cổ điển sang di truyền phân tử. Chính vì vậy, hai ông đã được nhận giải thưởng Nobel vào năm 1958.

### **Các chứng minh trực tiếp rằng ADN là vật chất di truyền**

Ngay sau khi các định luật của Mendel được phát hiện lại vào năm 1900, di truyền học đã phát triển rất nhanh với thuyết di truyền NST và nhiều thành tựu khác như gây đột biến nhân tạo... Tuy nhiên cho đến 1940, vẫn chưa có một bước tiến triển nào trong hiểu biết *bản chất hoá học của vật liệu di truyền* và chưa hiểu được bằng cách nào *gen trên nhiễm sắc thể biểu hiện ra tính trạng*. Trong một thời gian dài, mặc dù có *nhiều số liệu gián tiếp cho thấy ADN là vật chất di truyền*, nhưng *protein* vẫn được coi là thành phần chủ yếu của vật liệu di truyền vì nó có cấu trúc phân tử khá phức tạp. Do vậy, các *chứng minh trực tiếp* trên các Vi sinh vật có ý nghĩa quyết định trong *xác nhận vai trò của ADN*.

a. *Biến nạp : truyền thông tin di truyền nhờ ADN.*

Năm 1928, Griffith phát hiện hiện tượng *biến nạp* (transformation) ở vi khuẩn *Diplococcus pneumoniae* (nay gọi là *Streptococcus pneumoniae*). Năm 1944, T.Avery, McLeod và McCarty đã xác định rõ *tác nhân gây biến nạp* là ADN. Hiện tượng biến nạp là bằng chứng trực tiếp đầu tiên xác nhận rằng *ADN mang thông tin di truyền*.

b. *Sự xâm nhập của ADN virut vào vi khuẩn.*

Năm 1952, A.Hershey và M.Chase đã tiến hành thí nghiệm với *bacteriophage T2* (virut của vi khuẩn hay gọi tắt là *phage*) xâm nhập vi khuẩn *E. coli*, chứng minh trực tiếp rằng ADN của phage T<sub>2</sub> đã xâm nhập vào tế bào vi khuẩn và sinh sản tạo ra thế hệ phage mới mang tính di truyền có khả năng tiếp tục lây nhiễm các vi khuẩn khác. Kết luận: *Vật chất di truyền của phage T2 là ADN*.

Năm 1952 đã diễn ra nhiều cuộc tranh luận sôi nổi về vai trò của *ADN: là vật chất di truyền*. Sau đó, năm 1953 mô hình Watson và Crick đã đặt dấu chấm kết cho giai đoạn nghi ngờ rằng ADN có là vật liệu di truyền hay không.

Các chứng minh trực tiếp nêu trên là *những tiền đề quan trọng* cho phát minh ra *mô hình cấu trúc chuỗi xoắn kép ADN của Watson và Crick*. Nó đã tạo nên bước phát triển mới cho sinh học dẫn đến sự hình thành sinh học phân tử hiện đại.

### **Chi tiết hóa “học thuyết trung tâm,, của sinh học phân tử: ADN → ARN → Protein**

a. *Sao chép ADN*

– Trong năm 1955, A. Kornberg và đồng sự đã phân lập *ADN polymeaz I* từ vi khuẩn *E. coli*. Sau khi cho enzym này vào ống nghiệm muối chứa ADN và 4 loại nucleotit triphotphat, hỗn hợp này có thể *tổng hợp mạch ADN mới*.

– Năm 1958, trên đối tượng *E. coli*, M. Meselson và F. Stahl đã chứng minh *ADN sao chép theo cơ chế “bán bảo tồn”*: mỗi mạch bố mẹ sẽ làm khuôn cho sự tổng hợp mạch ADN mới.

Cho đến nay, toàn bộ chi tiết về sao chép ADN đều được thực hiện trên *E. coli*.

### *b. Các quá trình phiên mã, dịch mã và điều hòa sinh tổng hợp protein*

Trên đối tượng *E. coli*:

– Năm 1961: S. Brenner, Fr. Jacob và M. Meselson đã *khám phá* ARN là phân tử mang thông tin di truyền của ADN từ nhân đến bộ máy sản xuất protein nằm trong tế bào chất. Điều này bác bỏ giả thuyết của Fr. Crick nêu ra năm 1958 cho rằng ARN của riboxom là phân tử trung gian mang thông tin di truyền từ nhân sang tế bào chất.

– 1961 – 1966: *Mã di truyền* được khám phá. (Giải Nobel)

– Ngoài 2 phát minh trên, toàn bộ các quá trình *phiên mã, dịch mã, cấu trúc của riboxom* đều thực hiện trước tiên trên *E. coli*.

– 1962: Phát hiện cơ chế *điều hòa sinh tổng hợp protein* ở Operon lactoz. (Giải Nobel)

– 1970: Phát hiện enzym *Reverse transcriptaz*. (Giải Nobel)

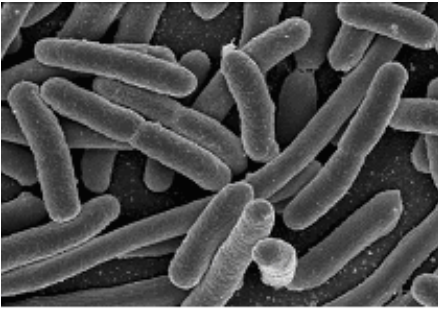
### **Những đóng góp cụ thể của các đối tượng làm mô hình chủ yếu**

Việc tìm hiểu những đóng góp cụ thể của các đối tượng làm mô hình chủ yếu sẽ giúp hiểu rõ một cách hệ thống và cụ thể hơn về vai trò “*cách mạng trong cách mạng*” của di truyền Vi sinh vật.

#### *a. Vi khuẩn Escherichia coli (E. coli)*

– Các đóng góp chủ yếu: Đối tượng chủ yếu được dùng cho các nghiên cứu:

- Sao chép, phiên mã, dịch mã và tái tổ hợp.
- Đột biến.
- Điều hòa biểu hiện gen (Gen regulation).
- Kỹ thuật ADN tái tổ hợp (recombinant ADN technology).

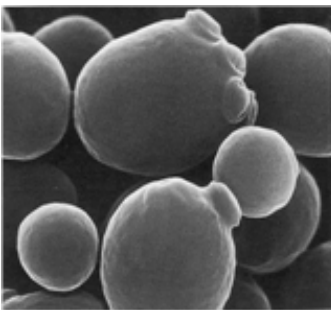


– Đóng góp cho nghiên cứu các lĩnh vực khác: Trao đổi chất của tế bào (Cell metabolism), gen ức chế vô nghĩa (Nonsense suppressors), sự tuyến tính (Colinearity) giữa gen và polypeptit, các Operon, sự kháng thuốc dựa vào plasmid (Plasmid-bazod drug resistance) và sự vận chuyển tích cực (Active transport).

*b. Nấm men Saccharomyces cerevisiae (S. cerevisiae)*

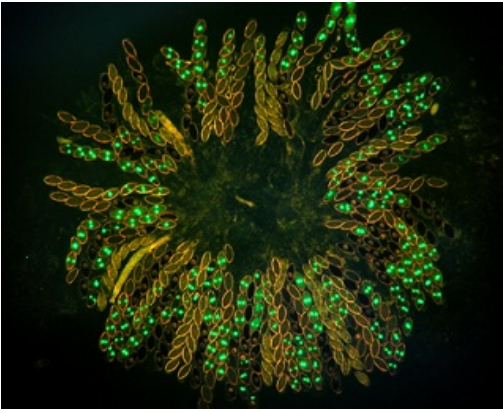
– Vai trò chủ yếu cho các nghiên cứu:

- Chu trình tế bào (Cell cycle): Sự xác định các gen kiểm soát phân bào nhờ các đột biến nhạy cảm nhiệt (temperature-sensitive mutants (*cdc* mutants)) dẫn đến mô hình rất tốt cho nghiên cứu sự phân bào.
- Tương tác gen (Gen interaction): nghiên cứu sự ức chế gen (suppression). Hệ thống plasmid lai kép (two-hybrid plasmid system) giúp tìm các tương tác giữa các protein ở nấm men đã dẫn đến các bản đồ tương tác phức tạp, mà là khởi đầu cho sinh học các hệ thống (systems biology).
- Di truyền học ty thể: nhờ các đột biến “petite” mất khả năng hô hấp mà phát hiện các gen của ty thể. Nhờ chúng và các đột biến khác của ty thể mà phân tích chi tiết cấu trúc và chức năng bộ gen ty thể.



- Di truyền học kiểu bắt cặp (Genetics of mating typ): Các alen *MAT* ở nấm men là các gen kiểu bắt cặp đầu tiên được xác định các đặc tính ở mức phân tử.

– Những đóng góp khác: Di truyền của khóa đóng mở (switching) giữa sự tăng trưởng kiểu nấm men (yeast-like) và sợi (filamentous); di truyền học sự thoái hóa (senescence).



c. Nấm sợi *Neurospora crassa*:

– Các đóng góp chủ yếu:

- Di truyền sinh hóa và trao đổi chất.
- Di truyền học của giảm phân.
- Di truyền ty thể.

– Các đóng góp khác: sự đa dạng các loài nấm

và thích nghi (adaptation), di truyền tế bào (cytogenetics), các gen kiểu bất cặp, các gen dung hợp thể dị nhân (heterokaryon-compatibility gens).

### **Kỹ thuật di truyền và sự mở đầu cách mạng Công nghệ sinh học**

*a. Enzym giới hạn* (restriction endonucleaz): Năm 1962, W.Arber lần đầu tiên chứng minh rằng có những enzym đặc biệt hạn chế (restriction) sinh sản của phage trong tế bào *E. coli*. Năm 1968: Enzym cắt giới hạn đầu tiên được khám phá: *EcoR I*. Đến năm 1970, Hamilton Smith và cộng sự đã tách được một loại enzym cắt giới hạn mới từ vi khuẩn *Haemophilus influenzae*, gọi là *Hind II*.



*Hamilton Smith, Nobel 1978 cùng D.Nathans và W.Arber*



*Stanley Cohen, Nobel 1986 cùng Rita Levi-Montalcini*

Enzym này là công cụ đầu tiên trong kỹ thuật di truyền. (Giải Nobel)

*b. Kỹ thuật ADN tái tổ hợp:* Năm 1972, nhóm của Paul Berg tạo nên *phân tử ADN tái tổ hợp in vitro đầu tiên* từ ba nguồn khác nhau: nguyên bộ gen virus SV 40 gây ung thư ở khỉ, một phần bộ gen của phage và các gen của operon lactoz của *E. coli*. Năm 1973, nhóm Cohen, Helenski, Boyer đã lần đầu tiên thu nhận được các *sản phẩm có hoạt tính từ ADN tái tổ hợp ở E. coli* (Giải Nobel)

*c. Sản xuất protein tái tổ hợp:* Năm 1977 được xem là năm mở màn cho *kỷ nguyên của công nghệ sinh học* khi lần đầu tiên *hormon tăng trưởng ở người xomatostatin* được sản xuất thành công bằng con đường tái tổ hợp gen vào vi khuẩn *E. coli*. Năm 1978, đã sản xuất *insulin người lần đầu tiên* nhờ công nghệ gen.

*d. Genomeics:* Sự xác định chính xác trình tự (*sequencing*) từng nucleotit của ADN hay gọi ngắn là *giải trình tự chuỗi* (*sequencing*) thành công ở các vi sinh vật và bộ gen người đã tạo nên *khoa học về bộ gen* gọi là *genomeics* (*genome - bộ gen*) hay *bộ gen học*. *Genomeics* giúp xác định nhanh chóng trình tự nucleotit của ADN bộ gen và các chức năng của chúng.



*Vi khuẩn Haemophilus influenza*

Những sinh vật đầu tiên được hoàn tất giải trình tự chuỗi đầu tiên cũng là các Vi sinh vật.

– 1995: Hai vi khuẩn, cũng là hai *sinh vật có cấu tạo tế bào đầu tiên* được hoàn tất giải trình tự chuỗi (sequencing) bộ gen là *Haemophilus influenza* và *Mycoplasma genitalium*.

– Tháng 5/1996, nấm men *Saccharomyces cerevisiae*, sinh vật Nhân thực Eukaryota đầu tiên được giải trình tự chuỗi hoàn tất.

– Tháng 9/1997: đăng tải trình tự bộ gen hoàn chỉnh của *E. coli*.

Toàn bộ việc giải trình tự chuỗi ADN ở tất cả các sinh vật, kể cả bộ gen người đều sử dụng các công cụ từ các đối tượng Vi sinh vật như enzym cắt giới hạn, vector plasmid tạo dòng, NST nhân tạo của nấm men (YAC) và vi khuẩn (BAC).

### **Sự hấp dẫn đối với các nhà vật lý và hóa học**

Di truyền học hiện đại đã hình thành những phương pháp phân tích di truyền (methodes of genetic analysis) cho phép phát hiện các quá trình sinh học của tính di truyền và biến dị đến cấp độ phân tử và nguyên tử, tức những *phạm trù nghiên cứu chủ yếu của vật lý và hóa học*. Các vi sinh vật như vi nấm, vi khuẩn và phage đã đóng vai trò quyết định trong vấn đề này. Dĩ nhiên, sự nhận thức các quá trình di truyền ở cấp độ phân tử chỉ trở thành hiện thực sau phát minh chuỗi xoắn kép ADN. Nhiều người cho rằng vai trò hàng đầu trong sự hình thành di truyền học phân tử là việc sử dụng rộng rãi các phương pháp vật lý và hóa học. Vật lý và hóa học đã và đang đóng vai trò quyết định trong các nghiên cứu những cơ chế phức tạp và mối quan hệ của bộ gen với các quá trình sinh tổng hợp trong tế bào. Tuy nhiên ý nghĩa căn bản của các quan niệm di truyền phân tử là sự tăng *vọt năng lực phân giải di truyền* (genetic resolving power) nhờ việc sử dụng *các vi sinh vật*. Vì thế có thể nói rằng sự phát triển các quan niệm di truyền phân tử trở thành hiện thực nhờ di truyền học vi sinh vật.

Đánh giá vai trò của các nhà vật lý học trong sự phát triển của *di truyền học phân tử*, có thể phân họ thành 2 nhóm. Một nhóm tham gia trực tiếp vào các thí nghiệm di truyền vi khuẩn và bacteriophage (Delbruck, Benzer, Fris, Levental,...) và họ đã thực hiện những công trình rất thú vị, tuy nhiên *họ không tạo ra phương pháp nào mới trong phân tích di truyền* (genetic analysis). Sự tham gia của họ vào di truyền học rất có lợi nhờ nguồn sáng tạo của tư duy vật lý. Nhóm các nhà vật lý khác tham gia vào di truyền học bằng các “suy diễn trí tuệ” và ít có đóng góp cho di truyền học phân tử.

Trên thực tế, mầm mống của di truyền học phân tử đã chứa đựng ngay trong học thuyết về gen của Mendel, trong các nguyên lý di truyền nhiễm sắc thể của Morgan.

Trong những năm 1940, một giai đoạn mới của di truyền học bắt đầu. Vào thời điểm này có một nhóm các nhà khoa học quan tâm đến *bản chất của gen*. Phần lớn họ là các nhà vật lý học, họ khác các nhà di truyền học cổ điển cả về tư duy lẫn định hướng. Đa số

các “tân binh,, này rất ít biết về những thành tựu di truyền học trong vài thập niên trước đó, thậm chí cả sinh học nói chung. Sự quan tâm của họ đến sinh học chỉ giới hạn chủ yếu vào vấn đề *thông tin di truyền có cơ sở vật lý như thế nào?*

Việc các nhà vật lý học tham gia giải quyết các vấn đề sinh học thì không phải điều lạ, vì ngay Mendel xuất thân cũng là một nhà vật lý học. Tuy nhiên sự cuốn hút các nhà vật lý học đến với di truyền học vào những năm 1940 còn có nguyên nhân đặc biệt. Đứng vào thời điểm này, khi mà giới khoa học ngừng phổ biến ‘*sinh lực luận*’, thì nhà vật lý học nổi tiếng Niels Bohr, được giải Nobel về *thuyết cơ lượng tử* (Quantic Mechanics), nêu ra quan điểm rằng *một số quá trình sinh học có thể không giải thích trọn vẹn bằng các khái niệm vật lý cổ điển*. Sau khi xây dựng *thuyết cơ lượng tử*, Bohr phát triển các khái niệm tổng quát hơn. Năm 1932, tại hội nghị quốc tế về quang học, Bohr đã phát biểu rằng: “Sự công nhận tầm quan trọng rất lớn của các nguyên tử căn bản trong các chức năng của các sinh vật tự nó không đủ để giải thích một cách toàn diện các hiện tượng sinh học. Vấn đề là ở chỗ làm thế nào khi phân tích các hiện tượng tự nhiên không bỏ sót một số đặc điểm rất quan trọng để hiểu về sự sống trên cơ sở thí nghiệm vật lý”.

Năm 1935, Max Delbrück, học trò của Bohr, trong bài báo “*Về bản chất các đột biến gen và cấu trúc gen*” đã giải thích rằng, chính *Di truyền học* là lĩnh vực sinh học, mà trong đó những giải thích từ các quan điểm vật lý và hóa học dường như “không đủ” theo quan niệm mà Bohr nêu ra. Ông chỉ ra rằng “nếu như trong vật lý các số đo, về căn bản, dẫn đến đo không gian và thời gian, còn khái niệm căn bản của di truyền học - sự khác nhau trong tính trạng - chẳng lẽ có thể biểu thị trong những đơn vị tuyệt đối”. Theo Delbrück, *di truyền học có tính độc lập và gen là phân tử có tính ổn định cao trong một thời gian dài không phụ thuộc tác động của môi trường*.

Năm 1945, ngay sau thế chiến thứ II, quyển sách nhỏ “*Thế nào là sự sống ?*” (*What is the life ?*) đã được xuất bản. Tác giả của cuốn sách là E. Schrödinger, một trong những nhà vật lý học nổi tiếng xây dựng *thuyết cơ học lượng tử*. Quyển sách đã thu hút được sự chú ý của công chúng, đặc biệt là các nhà vật lý học, vì trong đó Schrödinger cổ vũ cho nghiên cứu sinh học tìm các quy luật vật lý mới.

Bắt đầu quyển sách, Schrödinger cho rằng “việc vật lý và hóa học hiện đại chưa có khả năng giải thích các quá trình sống không có nghĩa là không thể giải thích nhờ các khoa học này”. Ông cho rằng chính tính di truyền là chủ đề cần được giải thích. Điều làm cho Schrödinger ngạc nhiên là làm thế nào các gen nhỏ bé có thể kháng lại những dao động của môi trường diễn ra liên tục mà như hình dạng môi của dòng họ Gabsburg được truyền qua nhiều thế kỷ. Ông cho rằng *những sắc thể* là một *thể á chu kỳ* (aperiodic crystal), trên đó có sự sắp xếp các *mã di truyền* (genetic code) theo một thứ tự chính xác. Schrödinger cho rằng trong chất sống có “những quy luật vật lý chưa biết đến”.

Các quan điểm của Bohr và Schrödinger đã cổ vũ nhiều nhà vật lý học chuyển sang nghiên cứu di truyền học với *hoài bão lãng mạn là tìm ra các quy luật vật lý mới trong*



*bản chất cấu trúc gen*. Đến năm 1965, kỷ niệm 100 năm công trình của Mendel, bản chất của gen đã được sáng tỏ, nhưng không tìm ra quy luật vật lý mới, ngoài chuyện đứt và nối các liên kết hydro.

Tuy nhiên, có thể nói di truyền học được tiếp thêm một nguồn sinh lực mới đó là các nhà vật lý, hóa học với *các công cụ và tư duy chính xác* thực hiện thí nghiệm trên những đối tượng Vi sinh vật có nhiều ưu thế. Họ bắt đầu các nghiên cứu từ những *sinh vật đơn giản nhất* đó là các *phage, vi khuẩn* - là các sinh vật nhân sơ. M. Delbruck, một nhà vật lý học đã chuyển hoàn toàn sang nghiên cứu sinh học, đã phát biểu rằng lĩnh vực *nghiên cứu virut của vi khuẩn là sân chơi tuyệt vời*, nơi mà nhiều câu hỏi sâu xa có thể nảy sinh. Thêm vào đó hóa học trên đà phát triển của mình đã cung cấp *nhiều phương pháp tinh vi mới* để xác định đánh giá các kết quả thí nghiệm.