



Plasmid

Bởi:

Nguyễn Lâm Dũng

PGS. TS. Phạm Thành Hồ

Plasmid

Trong phần nói về quá trình *giao nạp* (conjugation) hay *tiếp hợp* ở trên đã đề cập đến plasmid, là những ADN vòng tròn nhỏ hiện diện ở nhiều vi khuẩn. Plasmid là nhân tố di truyền sao chép độc lập với nhiễm sắc thể (Nhiễm sắc thể) của tế bào chủ. Không giống virut, plasmid *không có dạng ngoại bào* (extracellular form) và tồn tại trong tế bào đơn giản là ADN tự do và điển hình là dạng vòng tròn. Plasmid và ADN Nhiễm sắc thể của tế bào có vài điểm khác nhau cơ bản: plasmid chỉ mang những gen không thiết yếu (nhưng thường rất có ích), còn những gen thiết yếu nằm trên Nhiễm sắc thể.

Plasmid di chuyển giữa các tế bào trong quá trình giao nạp (conjugation), tức sự tiếp xúc giữa hai loại tế bào.

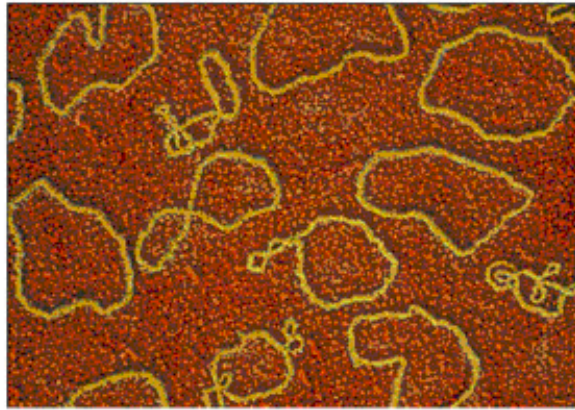
Các kiểu plasmid khác nhau được phân loại dựa vào các gen mà chúng mang. Một số plasmid, các nhân tố trao đổi chất (metabolic factors) mang các gen mã hóa cho các chức năng trao đổi chất khác thường (unusual metabolic functions) như phân hủy dầu mỏ do tràn dầu.

Đến nay đã biết hàng ngàn plasmid khác nhau. Trên thực tế, người ta đã phân lập hơn 300 plasmid khác nhau trong tự nhiên chỉ từ dòng *E. coli* duy nhất. Nhiều plasmid được sử dụng làm công cụ chuyển gen trong kỹ thuật di truyền.

Tính chất vật lý và sự sao chép plasmid

Hầu hết các plasmid đã biết đều có ADN mạch kép, mạch vòng. Tuy nhiên vẫn có nhiều plasmid mạch thẳng. Các plasmid tự nhiên có kích thước rất khác nhau, từ 1 kbp đến 1 megabp. Plasmid điển hình là một phân tử ADN vòng tròn, mạch kép nhỏ chưa đến 5 % kích thước Nhiễm sắc thể (hình 20.24). Phần lớn những plasmid ADN được phân lập từ tế bào có dạng siêu xoắn, dạng nhỏ gọn nhất có thể tồn tại trong tế bào.

Enzym liên quan đến việc sao chép plasmid trên thực tế là những enzym bình thường trong tế bào. Vì thế những gen của plasmid chủ yếu liên quan đến sự *kiểm soát* quá trình khởi sự sao chép và với sự phân bố những plasmid được sao chép vào các tế bào con.



Hình hiển vi điện tử các plasmid vòng tròn

Tương tự, những plasmid khác nhau hiện diện trong tế bào với số lượng khác nhau, gọi là *số bản sao* (copy number). Một số plasmid chỉ có 1-3 bản sao trong tế bào, trong khi những plasmid khác lại có đến 100 bản sao. Số lượng bản sao được kiểm soát bởi những *gen trên plasmid* và bởi sự *tương tác gen* giữa tế bào chủ và plasmid. Phần lớn các plasmid ở vi khuẩn Gram âm sao chép tương tự như Nhiễm sắc thể vi khuẩn. Việc này thực hiện từ điểm khởi sự sao chép (Ori) và sao chép theo hai hướng quanh vòng plasmid, tạo ra dạng trung gian *theta* (θ). Tuy nhiên một số plasmid không sao chép theo hai hướng. Do kích thích nhỏ của ADN plasmid, toàn bộ quá trình sao chép xảy ra rất nhanh, có lẽ bằng 1/10 tổng thời gian diễn ra chu kỳ phân bào.

Hầu hết plasmid của vi khuẩn Gr^+ sao chép theo cơ chế vòng xoay tương tự như phage $\phi x174$. Cơ chế này sẽ tạo ra mạch đơn trung gian, và do đó những plasmid này thỉnh thoảng được xem như *plasmid ADN mạch đơn*. Phần lớn ADN mạch thẳng sao chép dùng cơ chế liên quan đến một protein gắn với đầu 5' của mỗi mạch mà được dùng trong tổng hợp mỗi ADN.

Tính không tương hợp (Incompatibility) và chỉnh sửa (curing)

Một số vi khuẩn có thể chứa vài dạng plasmid khác nhau. Ví dụ, *Borrelia burgdorferi* (nhân tố gây bệnh Lyme) chứa 17 plasmid mạch thẳng và vòng. Khả năng hai plasmid khác nhau, mà mỗi một sao chép trong cùng một tế bào, được kiểm soát bởi gen của các plasmid tham gia điều hòa sao chép ADN. Khi một plasmid được chuyển vào trong tế bào đã có sẵn một plasmid khác, thường thì plasmid thứ hai có thể không tồn tại được và mất đi trong quá trình sao chép tế bào sau đó. Nếu điều này xảy ra, hai plasmid trên được gọi là *không tương hợp* (incompatible). Một số nhóm không tương hợp (Incompatibility - *Inc*) đã được ghi nhận. Các plasmid thuộc cùng một nhóm không tương hợp sẽ loại trừ nhau khi sao chép trong cùng tế bào nhưng có thể cùng tồn tại với plasmid của nhóm khác. Plasmid cùng nhóm không tương hợp có *chung cơ chế điều hòa sao chép*, do đó chúng có họ hàng với nhau. Vì vậy, dù tế bào vi khuẩn có thể chứa nhiều loại plasmid khác nhau, thì mỗi loại vẫn khác biệt nhau về mặt di truyền.

Plasmid

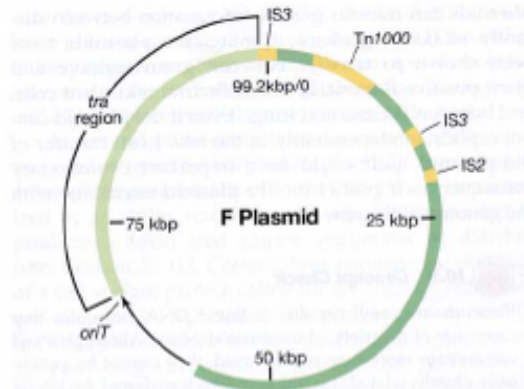
Một số plasmid, gọi là *epixom*, có thể chèn vào nhiễm sắc thể, và sự sao chép của chúng chịu sự kiểm soát của Nhiễm sắc thể. Trường hợp này rất giống với virus mà bộ gen của chúng có thể chèn vào bộ gen của tế bào chủ.

Plasmid thỉnh thoảng có thể *bị loại bỏ* khỏi tế bào chủ bằng nhiều xử lý khác nhau. Việc loại bỏ này, gọi là *chỉnh sửa* (curing), là kết quả của ức chế sao chép plasmid mà không có sự ức chế song song đối với Nhiễm sắc thể của tế bào chủ. Trong phân bào, plasmid bị loại bỏ mất. Sự chỉnh sửa có thể xảy ra tự phát, nhưng có thể tăng nhanh đáng kể bằng nhiều cách xử lý khác nhau.

Sự chuyển plasmid từ tế bào này sang tế bào khác

Cơ chế chính của việc chuyển plasmid từ tế bào này sang tế bào khác là *giao nạp*, mà chức năng thực hiện được mã hóa bởi chính một số plasmid. *Giao nạp* là một quá trình sao chép ADN và plasmid của tế bào cho và truyền bản sao của Nhiễm sắc thể cùng bản sao plasmid sang tế bào nhận.

Hình 20.25 cho thấy bản đồ gen của plasmid F, một plasmid đã được nghiên cứu rất kỹ của *Escherichia coli*. Khoảng 25 gen trên F plasmid, bao gồm các gen sao chép ADN, các yếu tố thực hiện chức năng của một epixom và cuối cùng là một vòng cung ADN lớn, gọi là vùng tra, chứa những gen giúp nó tự di chuyển từ tế bào này sang tế bào khác.



Sơ đồ gen của plasmid F của *E. coli*.

Con số bên trong cho biết kích thước của plasmid (chính xác là 99.159 bp). Vùng màu xanh sẫm ở dưới chứa những gen chịu trách nhiệm chính để sao chép và tách plasmid F trong tế bào phát triển bình thường. Vàng xanh sáng, vùng tra, chứa những gen chịu trách nhiệm chuyển gen. Chuỗi *ori T* là điểm khởi đầu của quá trình chuyển plasmid trong tiếp hợp. Mũi tên cho biết hướng chuyển. (vùng tra sẽ được chuyển qua cuối cùng). Những vùng màu vàng là những yếu tố có thể hoán đổi vị trí, nơi mà có thể xảy ra sự hợp nhất vào những yếu tố tương đồng trên nhiễm sắc thể vi khuẩn và dẫn đến sự hình thành dòng Hfr.

(Theo Brock Microbiology 11, 2006)

Plasmid điều khiển sự truyền gen của chính nó bởi sự tiếp xúc của hai tế bào gọi là *có khả năng giao nạp*. Không phải tất cả plasmid đều có khả năng tiếp hợp. Khả năng truyền trong tiếp hợp được kiểm soát bởi những gen trong plasmid gọi là vùng *tra*. Vùng *tra* chứa những gen mã hóa protein thực hiện chức năng bắt cặp. Sự hiện diện của vùng *tra* ở plasmid có thể dẫn đến kết quả quan trọng khác nếu plasmid chèn vào nhiễm sắc thể. Trong trường hợp này, plasmid có thể huy động sự chuyển ADN nhiễm sắc thể từ tế bào này sang tế bào khác.

Một vài plasmid tiếp hợp từ *Pseudomonas* có biên độ tế bào chủ lớn. Điều này có nghĩa là chúng có thể được truyền sang rất nhiều vi khuẩn Gr⁺ khác. Những plasmid như thế có thể chuyển thông tin di truyền giữa những sinh vật ở gần nhau. Những plasmid tiếp hợp có thể chuyển giữa vi khuẩn Gr⁻ và Gr⁺, giữa vi khuẩn và tế bào thực vật và giữa vi khuẩn và nấm. Thậm chí nếu plasmid không thể sao chép độc lập trong vật chủ mới, sự chuyển plasmid tự nó có thể có ý nghĩa tiến hóa quan trọng nếu gen từ plasmid nối lại với bộ gen của vật chủ mới.

Vài loại plasmid khác và ý nghĩa sinh học của chúng

Mặc dù plasmid không mang những gen thiết yếu đối với vật chủ, nhưng nó có thể ảnh hưởng đáng kể đến kiểu hình của tế bào. Chẳng hạn, khả năng của *Rhizobium* tương tác với thực vật và hình thành nốt sần ở rễ cố định đạm là nhờ những plasmid thực hiện. Những plasmid khác mang lại đặc điểm biến dưỡng đặc biệt ở tế bào, như sự phân hủy chất gây ô nhiễm độc hại. Thực ra, plasmid dường như là một bộ máy chính để tạo ra những tính chất riêng biệt của vi khuẩn, và trong nhiều trường hợp, còn “xuất khẩu” (export) những đặc tính này bởi sự chuyển gen theo chiều ngang. Hạn chế duy nhất đối với những kiểu gen này có trong plasmid là chúng không can thiệp vào sự sao chép của chính mình hoặc vào sự tồn tại của vật chủ.

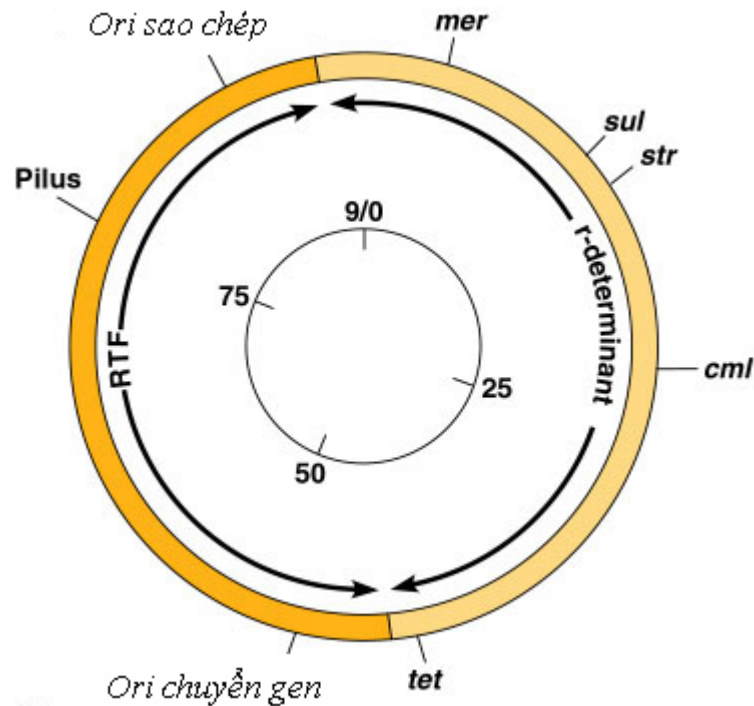
a) Plasmid đề kháng

Trong số những nhóm plasmid phổ biến nhất và được nghiên cứu kỹ nhất là các *plasmid R*, có khả năng kháng kháng sinh và nhiều chất ức chế sinh trưởng khác. Plasmid R lần đầu tiên được phát hiện tại Nhật ở dòng vi khuẩn ruột; đó là những vi khuẩn có tính đề kháng đối với nhiều loại kháng sinh (đa kháng) và kể từ đó, chúng được phát hiện trên khắp thế giới. Bản chất gây nhiễm của plasmid tiếp hợp R cho phép chúng lan rộng nhanh chóng trong quần thể tế bào gây ra một vấn nạn lớn trong y học lâm sàng là sự xuất hiện nhanh các vi khuẩn đề kháng thuốc.

Một plasmid R có thể mang nhiều gen đề kháng. Chẳng hạn, plasmid R100 có 94,3 kbp (hình 20.25), mang những gen mã hóa cho sự kháng sulfonamid, streptomycin và spectinomycin, fusidic axit, chloramphenicol, tetracyclin và có thể một số gen kháng thủy ngân (mercury). Plasmid R100 có thể được chuyển giữa các vi khuẩn đường ruột thuộc chi (Genra) *Escherichia*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Salmonella* và *Shigella*, có thể chuyển vào

Plasmid

vi khuẩn Gram âm *Pseudomonas*. Những plasmid R khác có gen kháng kháng sinh cũng được ghi nhận.



Plasmid R100: RTF là vùng các gen tra chuyển gen ; r-determinant là vùng các gen đề kháng (mer - thủy ngân, sul - sulfamid, str - streptomycin, cml - chloramphenicol, tet – tetracyclin).
(Theo Brock Microbiology 11, 2006)

b) Plasmid mã hóa chất độc và những độc tính khác

Ở một số vi khuẩn gây bệnh, một số tính chất này được mang trên plasmid. Thí dụ, dòng *E. coli* gây bệnh đường ruột có tính chất này bởi khả năng sinh sản thành tập đoàn trong ruột non và sản xuất một chất độc gây các triệu chứng của bệnh tiêu chảy. Sự hình thành tập đoàn đòi hỏi sự hiện diện của một protein bề mặt tế bào gọi là *yếu tố kháng nguyên* tạo quần thể (yếu tố kháng nguyên hình thành tập đoàn), được mã hóa bởi một plasmid. Protein này giúp tế bào có khả năng gắn với tế bào biểu mô của ruột. Ít nhất hai chất độc ở *E. coli* gây bệnh đường ruột được mã hóa bởi một plasmid: *hemolysin* làm tan tế bào hồng cầu và *enterotoxin* gây tiết quá nhiều nước và muối vào ruột và do vậy là chất độc gây tiêu chảy.

c) Bacteriocin

Nhiều vi khuẩn sản xuất *protein ức chế* hoặc *giết chết* tế bào các loài họ hàng gần, thậm chí ngay cả những dòng khác nhau của cùng một loài. Những tác nhân này, được gọi là *bacteriocin* để phân biệt với chất kháng sinh, có phổ tác động hẹp hơn kháng sinh. Các gen mã hóa bacteriocin và những protein chế biến (processing) và vận chuyển chúng (tạo tính miễn dịch cho sinh vật sản sinh ra nó) thường nằm trên plasmid hay

Plasmid

transposon. Bacteriocin được đặt tên theo loài tạo ra nó như ở *E. coli* có *colicin*, mã hóa bởi *Colplasmid*; *Bacillus subtilis* tạo ra *subtilisin*,...

Plasmid Col của *E. coli* mã hóa nhiều colicin khác nhau. *Colicin* được giải phóng từ một tế bào gắn với những thụ thể (receptors) đặc hiệu trên màng tế bào dễ cảm nhiễm (susceptible). Colicin giết tế bào bằng cách ngăn cản chức năng quan trọng nào đó của tế bào.

Bacteriocin hoặc tác nhân tương tự bacteriocin của vi khuẩn Gram dương thì hơi khác colicin những cũng thường được mã hóa bởi plasmid, một số thậm chí còn có giá trị thương mại. Chẳng hạn, vi khuẩn lactic tạo ra bacteriocin Nisin A ức chế mạnh sự tăng trưởng của một loạt vi khuẩn Gr^+ và được dùng làm chất bảo quản trong công nghệ thực phẩm.