



# Lập bản đồ di truyền nhiễm sắc thể của vi khuẩn

Bởi:

Nguyễn Lâm Dũng

PGS. TS. Phạm Thành Hồ

## Giao nạp ngắt quãng (Interrupted conjugation)

Khi trộn dịch tế bào Hfr với  $F^-$ , sự tiếp hợp có thể bị ngắt quãng vào thời điểm tùy ý bằng rung lắc mạnh. Mẫu được pha loãng nhanh và cấy lên môi trường chọn lọc. Ngoài ra, dòng Hfr phải có gen đánh dấu hay khuyết dưỡng để chúng không mọc được trên môi trường chọn lọc và chỉ có các dạng tái tổ hợp mọc lên. Sự truyền ADN của Hfr sang  $F^-$  có tính phân cực, các gen ở đầu sang trước và lần lượt các gen khác theo sau. Nhờ ngắt quãng có thể xác định được thời gian mà một gen được truyền sang  $F^-$  và khoảng cách giữa chúng.

Ví dụ, dòng Hfr có mang các gen nguyên dưỡng (prototrophic) đánh dấu  $a^+$ ,  $b^+$ ,  $c^+$  được trộn với dòng  $F^-$  mang các alen khuyết dưỡng  $a, b, c$ . Sự tiếp hợp được ngắt quãng với khoảng cách 5 phút và pha loãng cấy lên môi trường chọn lọc (ví dụ, môi trường tối thiểu). Kết quả như sau:

Thời gian (phút)	Các thể tái tổ hợp
5	$a b^+ c$
10	$a b^+ c^+$
15	$a^+ b^+ c^+$

Trình tự gen ở dòng Hfr là  $b^+ - c^+ - a^+$ ; b cách đầu mút truyền sang ít hơn 5 phút; c ít hơn 10 phút; a ít hơn 15 phút. Ở đây đơn vị thời gian là phút.

## **Giao nạp không ngắt quãng (Uninterrupted conjugation)**

Nếu không rung mạnh để ngắt quãng nhân tạo, cấu tế bào chất giữa hai gen càng gần ori (ở đầu của ADN thể cho), xác suất được chuyển sang tế bào nhận càng lớn. Tần số của các gen xuất hiện ở dạng tái tổ hợp trong thể nhận, được phát hiện trên môi trường chọn lọc, tỉ lệ nghịch với khoảng cách so với gen đánh dấu ở đầu. Các gen có nhiều dạng tái tổ hợp xuất hiện thì càng nằm gần phía đầu được chuyển sang tế bào nhận.

Khoảng cách giữa các gen có thể tính bằng 3 loại đơn vị: đơn vị thời gian, đơn vị tái tổ hợp và đơn vị cặp bazơ.

Ví dụ: Nếu một phút giao nạp tương đương 20 đơn vị tái tổ hợp ở E.coli, và nguyên nhiễm sắc thể( ADN) được chuyển sang trong 100 phút, thì tổng chiều dài là 2000 đơn vị tái tổ hợp. Nếu ADN có  $10^7$  cặp nucleotit, thì 1 đơn vị tái tổ hợp bằng  $10^7/2000 = 5000$  bp.

## **Lập bản đồ bằng tái tổ hợp**

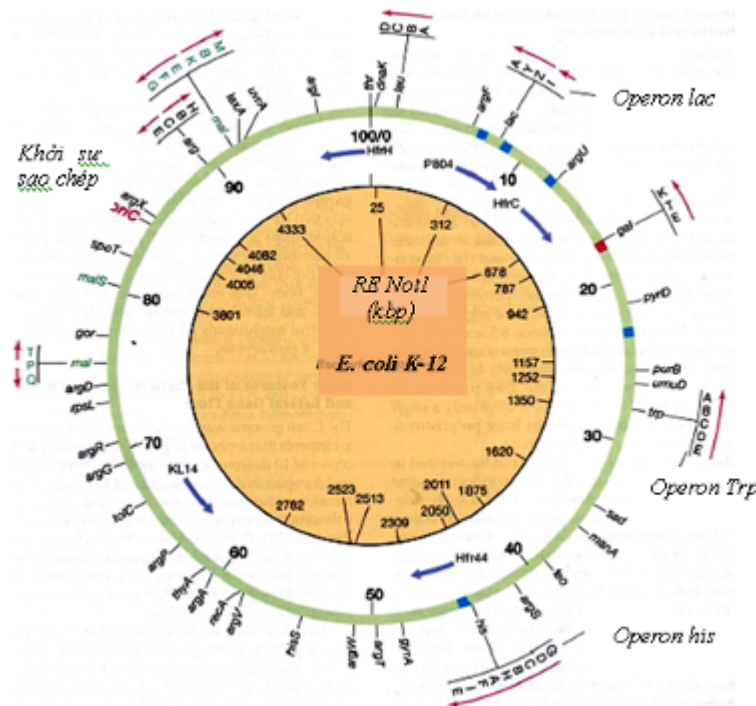
Đặc điểm của tái tổ hợp ở vi khuẩn là chỉ một phần bộ gen được chuyển sang tế bào nhận. Một hay nhiều gen có thể được gắn vào nhiễm sắc thể tế bào nhận nhờ giao nạp và phụ thuộc độ dài đoạn truyền sang. Exogenote phải được gắn vào nhiễm sắc thể nhận thì mới được sao chép và chia về các tế bào trong dòng. Chỉ một đoạn ngắn ADN thường được gắn nhờ biến nạp và tái nạp. Như vậy, nếu hai gen cùng biến nạp (cotransformation) thì hai locus phải liên kết chặt. Tương tự như vậy, hai gen cùng được tái nạp vào phage sẽ ở gần nhau. Mức độ liên kết giữa các gen có chức năng khác nhau (intercistronic) hay giữa các đột biến bên trong gen chức năng (intracistronic) có thể đánh giá từ các kết quả lai chuyên biệt.

Ở hệ thống *hợp tử một phần* (merozygote), exogenote muốn gắn vào endogenote phải xảy ra 2 trao đổi chéo ở hai đầu vì nếu chỉ có 1 trao đổi chéo thì cả hai sản phẩm nhận được đều mất cân bằng.

Trong các hệ thống này, tổng cá thể tham gia tái tổ hợp không biết được, nên tần số tái tổ hợp không thể tính như ở ruồi giấm (trên tổng số cá thể). Do đó, tần số tái tổ hợp được trình bày tương đối theo một số tiêu chuẩn chung cho tất cả các tổ hợp lai. Ví dụ, số lượng các cá thể tái tổ hợp nguyên dưỡng được tạo ra khi lai hai dòng đột biến có so sánh với kết quả khi lai dạng hoang dại với mỗi loại đột biến. Tuy nhiên có nhiều sai lệch và cần chỉnh lí.

Xác định trình tự gen ở vi sinh vật thường phức tạp vì có thể xảy ra hiện tượng nhiễu âm cục bộ (localized negative interference). Phương pháp xác định trình tự gen thường dùng là lai 3 điểm hoán đổi (three - factor reciprocal crosses).

## Bản đồ di truyền của Escherichia coli



Bản đồ di truyền *E. coli* dòng K12 (theo Brock Microbiology 11, 2006)

*OriC* - điểm khởi sự sao chép; *RE* – restriction endonuclease *NotI*. (xem thêm giải thích phía trên)

Sau đây là bản đồ di truyền liên kết gen vòng tròn của nhiễm sắc thể ở *E. coli* dòng K12 (hình 20.23). Bộ gen của *E. coli* đã được giải ký tự chuỗi (sequencing) năm 1997, nó gồm 4.639.221 bp (cặp bazơ) với khoảng 4288 ORF (khung đọc mở). Vòng ngoài cùng ghi ký hiệu một số gen, mà mặt trong các số từ 0 đến 100 chỉ vị trí tính theo số phút gen được chuyển qua. Các số ở vòng trong cùng chỉ số kilo cặp bazơ (kbp) tại các điểm nhận biết (recognition sites) của enzym cắt hạn chế (*RE* – restriction endonuclease) có tên *NotI*. Các mũi tên chỉ điểm khởi sự của các dòng Hfr.