

16

Cơ sở phân tử của di truyền

CÁC KHÁI NIỆM THEN CHỐT

- 16.1 DNA là vật chất di truyền
- 16.2 Nhiều protein phối hợp với nhau trong sao chép và sửa chữa DNA
- 16.3 Mỗi nhiễm sắc thể gồm một phân tử DNA được đóng gói cùng với các phân tử protein

TỔNG QUAN

Bản chỉ dẫn vận hành sự sống

Vào năm 1953, James Watson và Francis Crick đã gây chấn động cộng đồng khoa học bằng việc công bố mô hình chuỗi xoắn kép về cấu trúc phân tử của acid deoxyribonucleic, được gọi tắt là DNA. **Hình 16.1** cho thấy Watson (trái) và Crick đang say sưa ngắm nhìn mô hình DNA được dựng bằng vỏ hộp và dây thép của họ. Trải qua hơn 50 năm, mô hình này xuất thân chỉ là một đề xuất mới đã dần trở thành biểu tượng của sinh học hiện đại. DNA, hợp chất di truyền, chính là phân tử đáng ngưỡng mộ nhất trong thời đại của chúng ta. Trong thực tế, các yếu tố di truyền của Mendel cũng như các gene nằm trên nhiễm sắc thể của Morgan đều chứa DNA. Trên quan điểm hoá học, có thể nói tài sản di truyền mà mỗi người chúng ta để lại cho thế hệ sau chính là các phân tử DNA có trên 46 nhiễm sắc thể mà chúng ta được thừa hưởng từ các thân sinh (bố, mẹ) và DNA có trong các ty thể được truyền lại theo dòng mẹ.

Trong tất cả các phân tử có trong tự nhiên, các acid nucleic là “độc nhất, vô nhị” về khả năng tự sao chép (tái bản) từ các đơn phân thành phần. Trong thực tế, đặc điểm con cái giống bố, mẹ là kết quả của quá trình sao chép chính xác DNA và sự di truyền của nó qua các thế hệ. Thông tin di truyền được mã hoá bằng ngôn ngữ hoá học của DNA và được tái bản ở mọi tế bào trong cơ thể của mỗi người chúng ta. Chính ngôn ngữ lập trình của DNA đã điều khiển quá trình phát triển các tính trạng về hoá sinh, giải phẫu, sinh lý và ở một mức độ nhất định là tập tính ở mỗi cơ thể sinh vật. Chương này đề cập việc bằng cách nào các nhà khoa học chứng minh được DNA là vật chất di truyền và bằng cách nào Watson và Crick phát hiện ra cấu trúc phân tử của nó. Đồng thời, chúng ta cũng sẽ thấy bằng cách nào DNA có thể sao chép (cơ sở phân tử của di truyền) và được sửa chữa. Cuối cùng, chúng ta



▲ Hình 16.1 Cấu trúc DNA được xác định như thế nào?

sẽ khảo sát xem DNA cùng với protein đã đóng gói như thế nào trong nhiễm sắc thể.

KHÁI NIỆM

16.1

DNA là vật chất di truyền

Ngày nay, ngay cả học sinh tiểu học cũng đã được nghe nói về DNA, trong khi các nhà khoa học thường xuyên thao tác với DNA trong phòng thí nghiệm nhằm làm thay đổi tính trạng di truyền của các tế bào và cơ thể. Tuy vậy, đến đầu thế kỷ XX, phân tử nào làm nhiệm vụ di truyền vẫn còn chưa rõ và lúc đó câu hỏi này là một trong những thách thức lớn nhất với các nhà sinh học.

Tìm kiếm vật chất di truyền: Tìm hiểu khoa học

Khi nhóm nghiên cứu của T. H. Morgan cho thấy các gene nằm dọc theo các nhiễm sắc thể (xem mô tả ở Chương 15), hai thành phần hoá học của nhiễm sắc thể - DNA và protein - được coi là hai hợp chất ứng viên cho vai trò vật chất di truyền. Cho đến những năm 1940, các bằng chứng ủng hộ protein dường như ưu thế hơn; đặc biệt, một số nhà hoá sinh đã xếp protein vào nhóm các đại phân tử vừa có tính đặc hiệu chức năng cao vừa có tính đa dạng vốn là những yêu cầu thiết yếu của vật chất di truyền. Ngoài ra, lúc đó hiểu biết về các acid nucleic còn hạn chế; dường như các thuộc tính vật lý và hoá học của chúng không tương đồng với sự đa dạng phong phú của các tính trạng di truyền biểu hiện đặc thù ở mỗi cơ thể sinh vật khác nhau. Quan điểm này sau đó đã được thay đổi dần từ kết quả của một số nghiên cứu ở vi sinh vật. Giống như các nghiên cứu của Mendel và Morgan, một trong những yếu tố quan trọng nhất để xác định được tính nhất quán của vật chất di truyền chính là việc lựa chọn được loài sinh vật thí nghiệm phù hợp. Vai trò di truyền của DNA được phát hiện đầu tiên ở vi khuẩn và virus; chúng có đặc điểm đơn giản hơn so với đậu Hà Lan, ruồi quả và người. Ở phần tiếp theo của chương này, chúng ta sẽ lần theo quá trình tìm hiểu khoa học để từ đó các nhà khoa học đã tìm ra và xác định được vai trò là vật chất di truyền của DNA.

Bằng chứng là DNA có thể biến đổi vi khuẩn

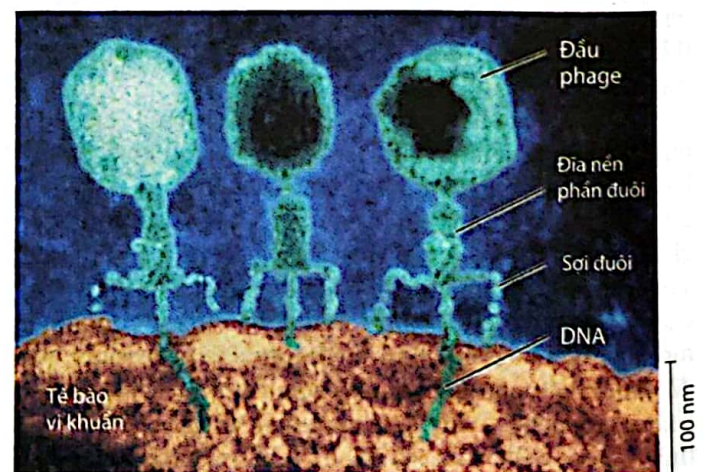
Chúng ta có thể theo dõi quá trình khám phá ra vai trò di truyền của DNA ngược trở về năm 1928. Vào năm đó, một y sĩ quân y người Anh tên là Frederick Griffith, trong nỗ lực tìm kiếm vaccin phòng bệnh viêm phổi, đã tiến hành nghiên cứu ở vi khuẩn *Streptococcus pneumoniae* là tác nhân gây bệnh viêm phổi ở các loài động vật có vú. Griffith có hai chủng vi khuẩn; một chủng độc (gây bệnh) và một chủng không độc (không gây bệnh). Griffith đã rất ngạc nhiên khi phát hiện ra rằng các tế bào của chủng độc đã bị diệt bởi nhiệt (đun nóng) khi được trộn với các tế bào sống của chủng không độc lại có thể sinh ra các tế bào con gây độc (Hình 16.2). Hơn nữa, tính trạng tập

nhầm này được di truyền cho tất cả các tế bào vi khuẩn thế hệ con xuất phát từ tế bào biến đổi ban đầu. Rõ ràng, một chất hoá học nào đó (lúc đó chưa rõ bản chất) của các tế bào gây độc đã chết gây nên sự biến đổi di truyền này. Griffith gọi hiện tượng này là **biến nạp** và được chúng ta ngày nay định nghĩa là quá trình một tế bào tiếp nhận DNA từ môi trường bên ngoài, dẫn đến sự thay đổi kiểu gene và kiểu hình.

Công bố của Griffith đã mở đường cho một nghiên cứu được triển khai trong suốt 14 năm sau đó bởi một nhà virus học người Mỹ tên là Oswald Avery nhằm mục đích xác định bản chất của chất biến nạp. Avery tập trung vào ba nhóm hợp chất có nhiều khả năng hơn cả là DNA, RNA (một loại acid nucleic khác) và protein. Avery tiến hành phá vỡ tế bào của chủng vi khuẩn gây độc đã chết bởi đun nóng, rồi tiến hành chiết xuất các thành phần từ dịch chiết tế bào. Ở mỗi phương thức thí nghiệm, Avery tiến hành xử lý làm bất hoạt từng nhóm chất. Sau đó, dịch chiết sau khi xử lý được trộn và kiểm tra khả năng biến nạp vào chủng vi khuẩn không độc còn sống. Kết quả thí nghiệm cho thấy chỉ khi DNA vẫn còn hoạt tính thì hiện tượng biến nạp mà Griffith mô tả mới diễn ra. Năm 1944, Avery và các đồng nghiệp của mình là Maclyn McCarty và Colin MacLeod đã công bố rằng: DNA chính là chất biến nạp. Phát hiện này của họ đã được chào đón bởi nhiều người quan tâm, nhưng cũng có không ít hoài nghi, một phần có thể bởi vì nhiều người đã quen với tư tưởng xem protein là vật chất di truyền phù hợp hơn. Hơn nữa, nhiều nhà khoa học không thuyết phục với quan điểm cho rằng các gene của vi khuẩn có thành phần cấu tạo và chức năng giống với các gene ở các loài sinh vật bậc cao (có cấu tạo cơ thể phức tạp hơn). Nhưng nguyên nhân chính của những hoài nghi này có lẽ là do những hiểu biết về DNA vào thời điểm đó còn rất hạn chế.

Bằng chứng cho thấy DNA virus có thể lập trình tế bào

Một bằng chứng khác củng cố cho việc xác định DNA là vật chất di truyền bắt nguồn từ các nghiên cứu ở các virus lây nhiễm vi khuẩn (Hình 16.3). Những virus này còn

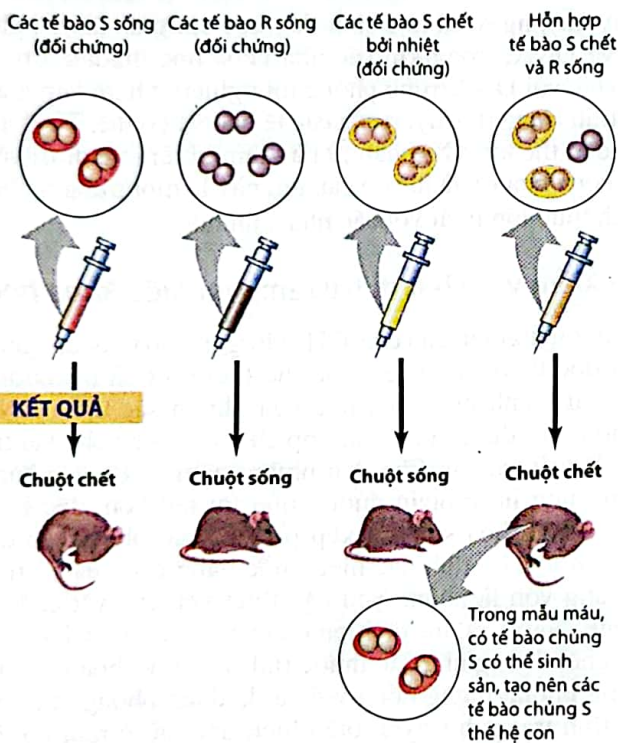


▲ Hình 16.3 Virus lây nhiễm tế bào vi khuẩn. Phage T2 và các phage có họ hàng gần gũi tấn công tế bào vi khuẩn chủ và bơm vật chất di truyền của chúng qua màng sinh chất; trong khi đó, phần đầu và đuôi của phage được giữ lại ở bên ngoài bề mặt tế bào vi khuẩn (TEM tô màu).

▼ Hình 16.2 Tìm hiểu

Tính trạng di truyền có thể truyền giữa các chủng vi khuẩn khác nhau hay không?

THÍ NGHIỆM Frederick Griffith đã nghiên cứu hai chủng vi khuẩn *Streptococcus pneumoniae*. Chủng vi khuẩn S (khuẩn lạc trơn) gây viêm phổi ở chuột; đây là chủng độc vì tế bào của chúng có lớp vỏ kháng được hệ thống bảo vệ ở động vật. Chủng vi khuẩn R (khuẩn lạc nhẵn) không có lớp vỏ và không độc (không gây bệnh). Để thử nghiệm quá trình phát sinh bệnh, Griffith đã tiêm hai chủng vi khuẩn vào chuột thí nghiệm như sơ đồ dưới đây:



KẾT LUẬN Griffith kết luận rằng vi khuẩn R sống đã được biến đổi thành vi khuẩn S gây bệnh bằng một chất di truyền không biết nào đó bắt nguồn từ các tế bào S đã chết; điều này dẫn đến hiện tượng tế bào R trở nên có lớp vỏ.

NGUỒN F. Griffith, The significance of pneumococcal types, *Journal of Hygiene* 27: 113 - 159 (1928).

ĐIỀU GÌ NẾU? Trên cơ sở nào thí nghiệm trên đây loại trừ khả năng các tế bào chủng R có thể chỉ cần đơn giản dùng lớp vỏ của các tế bào S đã chết để có thể chuyển thành dạng vi khuẩn độc (gây bệnh)?

được gọi là **bacteriophage** (nghĩa là “thực khuẩn thể”) hoặc được gọi tắt là **phage**. So với các tế bào, các virus có cấu tạo đơn giản hơn nhiều. Một virus thường chỉ gồm DNA (hoặc đôi khi là RNA) được bao bọc bởi một lớp vỏ protein. Để có thể sinh sản, virus phải lây nhiễm vào trong một tế bào rồi giành lấy bộ máy chuyển hoá của tế bào.

Các phage đã và đang được sử dụng rộng rãi làm công cụ nghiên cứu di truyền học phân tử. Năm 1952, Alfred Hershey và Martha Chase đã tiến hành thí nghiệm cho thấy DNA là vật chất di truyền của phage có tên là T2. Đây là một trong nhiều loại virus lây nhiễm *Escherichia coli* (*E. coli*), một loài vi khuẩn thường sống trong ruột động vật có vú. Thời kỳ đó, các nhà sinh học đã biết rõ

là: phage T2, giống với nhiều phage khác, có thành phần cấu tạo hầu như chỉ gồm DNA và protein. Họ cũng đồng thời biết rằng phage T2 có thể nhanh chóng chuyển tế bào *E. coli* thành một “nhà máy” sản xuất T2 dẫn đến sự giải phóng nhiều bản sao phage cùng sự phân rã tế bào. Bằng một cách nào đó, T2 có thể tái lập trình tế bào chủ của nó để sản sinh các virus. Nhưng, câu hỏi là: thành phần nào của virus - protein hay DNA - chịu trách nhiệm cho quá trình đó?

Hershey và Chase đã trả lời câu hỏi này bằng việc thiết kế một thí nghiệm cho thấy chỉ một trong hai thành phần của phage T2 xâm nhập được vào trong tế bào *E. coli* trong quá trình lây nhiễm (**Hình 16.4**). Trong thí nghiệm của mình, các nhà khoa học đã dùng đồng vị phóng xạ

▼ Hình 16.4 Tìm hiểu

Protein hay DNA là vật chất di truyền của phage T2?

THÍ NGHIỆM Alfred Hershey và Martha Chase đã sử dụng các đồng vị phóng xạ ^{35}S và ^{32}P nhằm xác định “số phận” của các protein và DNA có nguồn gốc phage T2 sau khi chúng lây nhiễm vào tế bào vi khuẩn. Họ muốn xác định phân tử nào trong các phân tử này đi vào tế bào và tái lập trình hoạt động của vi khuẩn giúp chúng có thể sản sinh ra nhiều virus thế hệ con.

① Phage đánh dấu phóng xạ được trộn với vi khuẩn. Phage lây nhiễm các tế bào vi khuẩn.

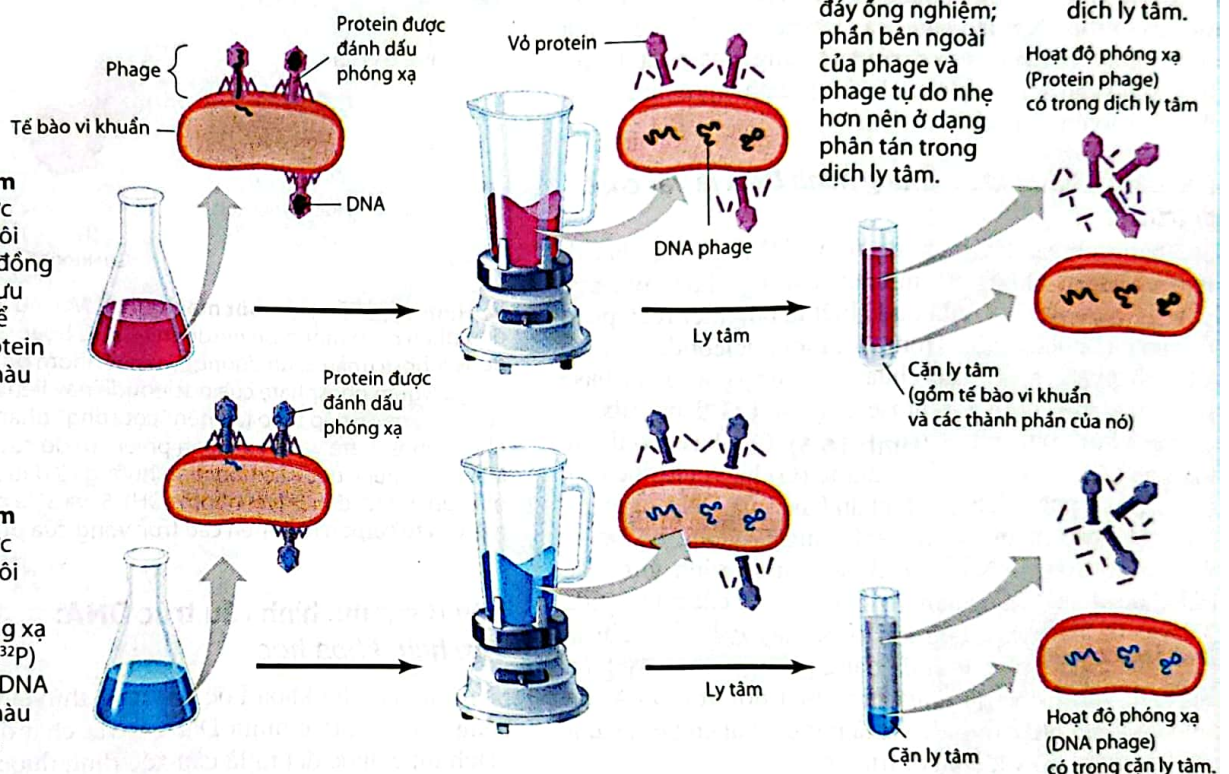
② Khuấy mạnh hỗn hợp bằng máy xay để làm tung phần phage bên ngoài tế bào ra khỏi tế bào.

③ Ly tâm để các tế bào vi khuẩn dính kết với nhau thành cặn ly tâm ở đáy ống nghiệm; phần bên ngoài của phage và phage tự do nhẹ hơn nên ở dạng phân tán trong dịch ly tâm.

④ Đo hoạt độ phóng xạ trong phần cặn ly tâm và dịch ly tâm.

Lô thí nghiệm 1: Phage được nuôi trong môi trường chứa đồng vị phóng xạ lưu huỳnh (^{35}S) để đánh dấu protein của phage (màu hồng).

Lô thí nghiệm 2: Phage được nuôi trong môi trường chứa đồng vị phóng xạ phosphorus (^{32}P) để đánh dấu DNA của phage (màu xanh dương).



KẾT QUẢ Khi protein được đánh dấu (lô thí nghiệm 1), hoạt tính phóng xạ được giữ bên ngoài tế bào; nhưng khi DNA được đánh dấu phóng xạ (lô thí nghiệm 2), hoạt tính phóng xạ được tìm thấy bên trong tế bào. Các tế bào vi khuẩn mang DNA của phage đánh dấu phóng xạ giải phóng ra các virus thế hệ con mang đồng vị phóng xạ ^{32}P .

KẾT LUẬN DNA của phage đã đi vào tế bào vi khuẩn, nhưng protein của phage thì không. Hershey và Chase kết luận rằng: DNA, chứ không phải protein, có chức năng là vật chất di truyền ở phage T2.

NGUỒN A.D. Hershey and M. Chase, Independent functions of viral protein and nucleic acid in growth of bacteriophage, *Journal of General Physiology* 36: 39 - 56 (1952)

ĐIỀU GÌ NẾU? Kết quả thí nghiệm sẽ khác biệt như thế nào nếu như protein là vật chất mang thông tin di truyền?

của lưu huỳnh (S) để đánh dấu protein trong một thí nghiệm, và sử dụng đồng vị phóng xạ của phosphorus (P) để đánh dấu DNA trong thí nghiệm thứ hai. Bởi vì protein chứa lưu huỳnh trong thành phần cấu tạo của nó, trong khi DNA thì không, nên các nguyên tử S phóng xạ chỉ kết hợp vào các phân tử protein của phage. Tương tự như vậy, các nguyên tử P phóng xạ chỉ đánh dấu DNA, mà không đánh dấu protein, bởi vì hầu hết các nguyên tử phospho của phage đều ở trong phân tử DNA của nó. Trong thí nghiệm này, các nhà khoa học đã cho các tế bào *E. coli* không đánh dấu phóng xạ lây nhiễm độc lập với phage T2 thu được từ hai thí nghiệm đánh dấu phóng xạ protein và DNA. Các nhà khoa học sau đó đã kiểm tra xem loại phân tử nào - DNA hay protein - đã đi vào các tế bào vi khuẩn ngay sau quá trình lây nhiễm, qua đó nó có khả năng tái lập trình hoạt động của các tế bào.

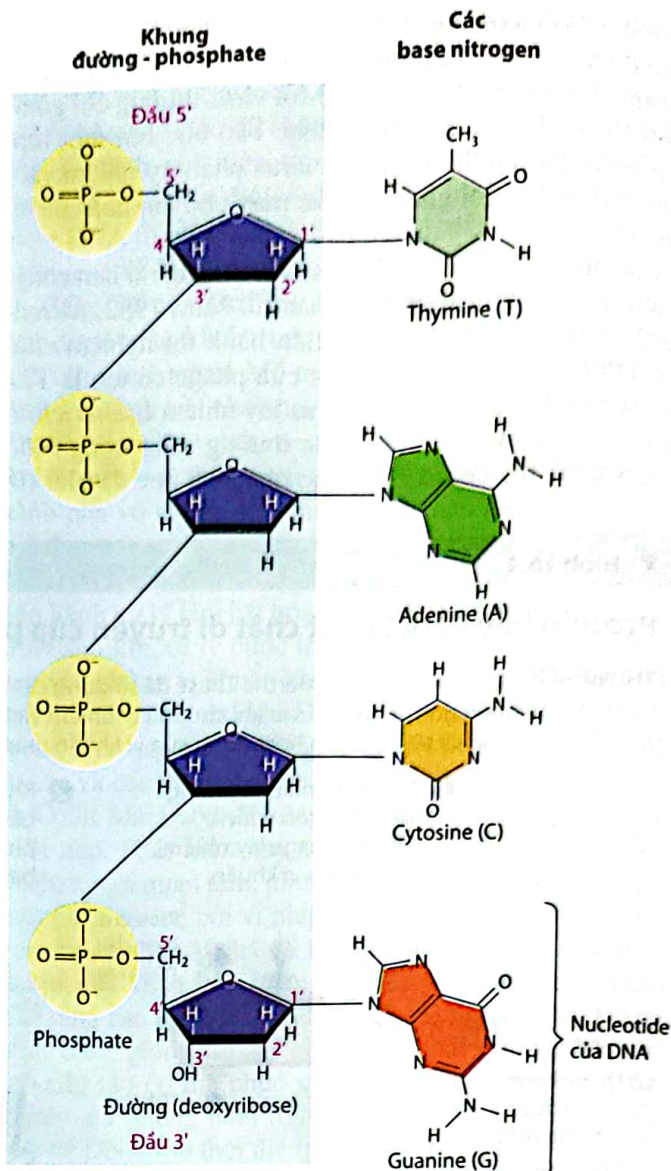
Hershey và Chase đã phát hiện ra rằng chính DNA của phage đã đi vào tế bào vi khuẩn, trong khi protein của phage thì không. Hơn nữa, khi các tế bào vi khuẩn này được cấy chuyển trở lại môi trường nuôi cấy, sự lây nhiễm vẫn tiếp tục diễn ra, và các tế bào *E. coli* giải phóng ra các phage mang một phần các nguyên tử P phóng xạ. Điều này cho thấy thêm rằng DNA trong tế bào giữ một vai trò liên tục trong quá trình lây nhiễm.

Hershey và Chase kết luận rằng DNA được phage tiêm vào vi khuẩn phải là phân tử mang thông tin di truyền, từ đó tế bào vi khuẩn mới có thể tạo nên các DNA và protein mới của virus. Nghiên cứu của Hershey và Chase có tính bước ngoặt, bởi vì nó cung cấp một bằng chứng rất thuyết phục rằng các acid nucleic, chứ không phải protein, là vật chất di truyền, ít nhất là ở virus.

Các bằng chứng khác chứng minh DNA là vật chất di truyền

Các bằng chứng khác chứng minh DNA là vật chất di truyền đến từ phòng thí nghiệm của nhà hoá sinh học Erwin Chargaff. DNA đã được biết là polymer (cao phân tử) của các nucleotide. Trong đó, mỗi nucleotide gồm có 3 thành phần: một base chứa nitrogen (gọi tắt là base nitrogen), một đường pentose được gọi là deoxyribose, và một nhóm phosphate (Hình 16.5). Các base có thể là adenine (A), thymine (T), guanine (G) hay cytosine (C). Chargaff đã phân tích thành phần base của DNA từ nhiều sinh vật khác nhau. Năm 1950, ông đã công bố thành phần base trong DNA biến động khi so sánh giữa các loài khác nhau. Chẳng hạn, ở người 30,3% các nucleotide DNA chứa base A, trong khi tỷ lệ này ở *E. coli* chỉ là 26%. Bằng chứng về tính đa dạng phân tử như vậy giữa các loài, vốn trước đó chưa từng biết đối với DNA, đã củng cố thêm nhận định DNA là nhóm chất có tiềm năng hơn trong vai trò vật chất di truyền.

Chargaff cũng đặc biệt nhấn mạnh một quy luật kỳ lạ về tỷ lệ giữa các base nitrogen ở mỗi loài. Trong thành phần DNA của tất cả các loài được nghiên cứu, số lượng adenine luôn xấp xỉ thymine, còn số lượng guanine luôn xấp xỉ cytosine. Chẳng hạn, trong DNA của người tỷ lệ của bốn loại base nitrogen được xác định là: A = T = 30,3%; G = 19,5% và C = 19,9%. Sự cân bằng về số lượng base A với T cũng như giữa G với C còn được gọi là **luật Chargaff**. Cơ sở phân tử của luật Chargaff trong thực tế tồn tại như một "bí ẩn" cho đến khi Watson và Crick phát hiện ra cấu trúc chuỗi xoắn kép.



▲ Hình 16.5 Cấu trúc một mạch DNA. Mỗi nucleotide đơn phân chứa một base nitrogen (T, A, C hoặc G), đường deoxyribose (màu xanh dương) và một nhóm phosphate (màu vàng). Nhóm phosphate của nucleotide này liên kết với đường của nucleotide tiếp theo tạo nên "cột sống" phân tử gồm các nhóm phosphate và đường luân phiên, từ đó các base nhô ra. Mạch polynucleotide có tính định hướng từ đầu 5' (với nhóm phosphate) tới đầu 3' (với nhóm -OH). 5' và 3' là các số chỉ các nguyên tử carbon nằm trên cấu trúc vòng của phần đường.

Xây dựng mô hình cấu trúc DNA: Tìm hiểu khoa học

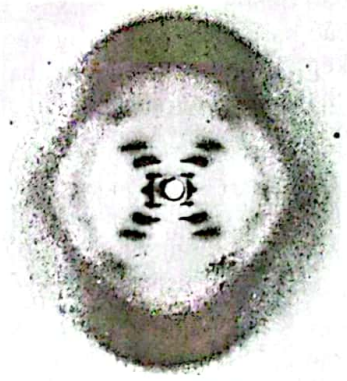
Sau khi các nhà khoa học đã được thuyết phục bởi các bằng chứng chứng minh DNA là vật chất di truyền, một thách thức được đặt ra là cần xác định được cấu trúc của DNA để từ đó có thể giải thích được vai trò di truyền của nó. Vào đầu những năm 1950, sự sắp xếp của các liên kết cộng hoá trị trên một phân tử polyme acid nucleic đã được biết rõ (xem Hình 16.5); do vậy, các nhà nghiên cứu tập trung vào việc làm sáng tỏ cấu trúc không gian ba chiều của DNA. Trong các nhà khoa học như vậy có Linus Pauling từ Viện Công nghệ California và Maurice Wilkins cùng Rosalind Franklin từ Đại học King ở London. Tuy vậy, những người đầu tiên đưa ra câu trả lời đúng lại là hai nhà khoa học ít được biết đến vào thời kỳ đó - James Watson (người Mỹ) và Francis Crick (người Anh).

Sự hợp tác ngăn ngừi nhưng rất nổi tiếng của họ đã giúp làm sáng tỏ cấu trúc bí ẩn của DNA ngay sau khi Watson có chuyển thăm Đại học Cambridge là nơi mà Crick đang nghiên cứu các cấu trúc protein bằng một kỹ thuật gọi là chụp ảnh tinh thể bằng nhiễu xạ tia X (xem Hình 5.25). Khi thăm phòng thí nghiệm của Maurice Wilkins, Watson nhìn thấy hình ảnh nhiễu xạ tia X của DNA do một đồng nghiệp quá cố của Wilkins là Rosalind Franklin chụp được (Hình 16.6a). Các bức ảnh được tạo ra bằng kỹ thuật nhiễu xạ tinh thể bằng tia X cho thấy chúng không phải các hình ảnh của các phân tử thực sự. Các điểm chấm và vết nhòe như trên Hình 16.6b được tạo ra là do tia X bị nhiễu xạ (khúc xạ) khi chúng đi qua các sợi DNA tinh sạch xếp thẳng hàng. Các nhà khoa học về tinh thể học thường dùng các công thức toán học để chuyển tải các thông tin từ các hình ảnh như vậy thành hình dạng ba chiều của các phân tử; riêng Watson thì đã quen thuộc với những hình ảnh được tạo ra bởi các phân tử dạng chuỗi xoắn. Khi nghiên cứu kỹ ảnh nhiễu xạ tia X của DNA do Franklin chụp, Watson không chỉ tìm ra DNA có dạng chuỗi xoắn mà ông còn ước lượng được chiều rộng của chuỗi xoắn và khoảng cách giữa hai base nitrogen liên kế dọc trục chuỗi xoắn. Chính chiều rộng của chuỗi xoắn đã chỉ ra nó được tạo nên từ hai mạch, không giống với công bố ngay trước đó của Linus Pauling về một mô hình phân tử gồm 3 mạch. Sự phát hiện ra hai mạch giải thích cho việc thuật ngữ thường được dùng hiện nay để mô tả DNA là **chuỗi xoắn kép** (Hình 16.7).

Watson và Crick bắt đầu xây dựng các mô hình của chuỗi xoắn kép sao cho phù hợp với các số liệu đo được



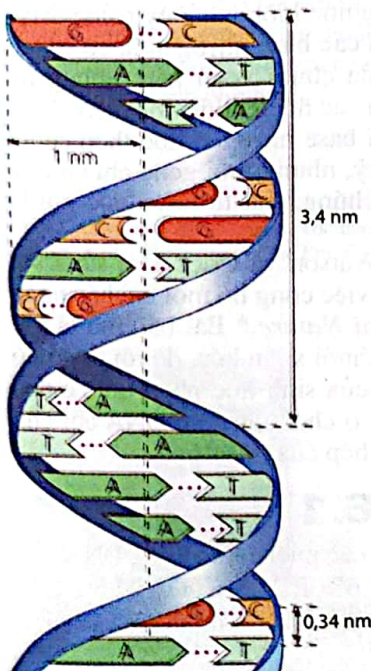
(a) Rosalind Franklin



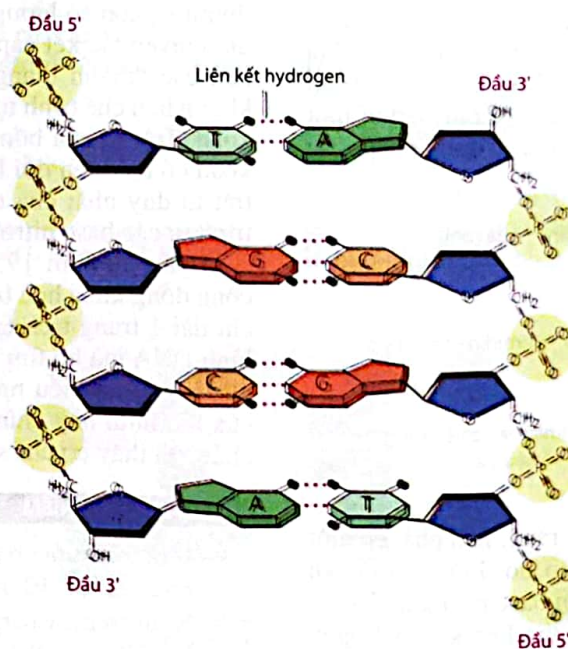
(b) Ảnh nhiễu xạ tia X của DNA do Franklin chụp

▲ **Hình 16.6** Rosalind Franklin và ảnh nhiễu xạ tia X của DNA. Franklin, một nhà khoa học rất nghiêm túc về tinh thể học tia X, đã thực hiện một thí nghiệm quan trọng, từ đó chụp được bức ảnh giúp Watson và Crick luận ra cấu trúc xoắn kép của DNA. Franklin qua đời năm 1958 do bệnh ung thư khi cô mới 38 tuổi. Đồng nghiệp của cô là Maurice Wilkins được nhận đồng giải thưởng Nobel năm 1962 cùng với Watson và Crick.

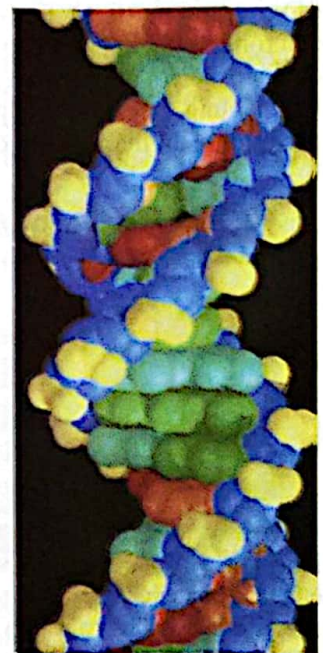
qua các hình ảnh nhiễu xạ tia X, từ đó tìm ra cấu trúc hoá học của DNA. Đồng thời sau khi đọc một bản báo cáo thường niên chưa được công bố về nghiên cứu của Franklin, hai nhà khoa học biết rằng Franklin đã từng kết luận rằng khung đường - phosphate nằm bên ngoài chuỗi xoắn kép. Sự sắp xếp này rất thuyết phục vì nó sẽ đẩy các base nitrogen có tính kỵ nước tương đối vào trong và rời xa khỏi các phân tử nước trong phần dung dịch



(a) Cấu trúc cơ bản của DNA



(b) Cấu trúc hoá học một đoạn ngắn của DNA



(c) Mô hình lấp kín không gian

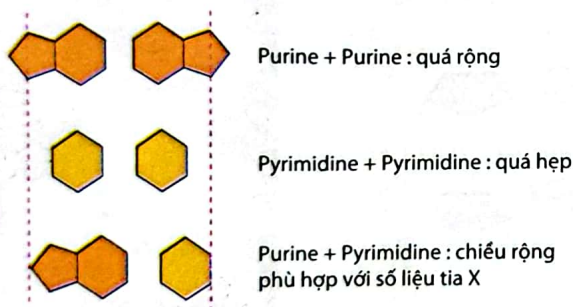
▲ **Hình 16.7** Chuỗi xoắn kép. (a) Dải "ruy băng" trong hình vẽ biểu diễn khung đường - phosphate của hai mạch đơn DNA. Chuỗi xoắn này theo "chiều phải", nghĩa là vận về phía phải theo hướng đi lên. Hai mạch chuỗi xoắn được giữ lại với nhau qua các liên kết hydrogen (đường nét chấm màu đỏ) hình thành giữa các base nitrogen kết thành từng cặp bên

trong chuỗi xoắn. (b) Để thấy cấu trúc hoá học rõ hơn, hai mạch DNA được vẽ thẳng hàng như một đoạn ngắn của chuỗi xoắn. Liên kết cộng hoá trị mạnh nối các tiểu đơn vị (nucleotide) trên một mạch với nhau, trong khi các liên kết hydrogen yếu hơn giữ hai mạch đơn với nhau. Điều đáng lưu ý là hai mạch đơn này là đối song song, nghĩa là chạy song

song nhưng theo 2 chiều ngược nhau. (c) Sự xếp chồng lên nhau của các cặp base nitrogen một cách chặt chẽ được thấy rõ trong mô hình được vẽ bởi máy tính này. Lực hấp dẫn Van de Waals giữa từng cặp base xếp chồng lên nhau chính là yếu tố chính giúp giữ toàn bộ phân tử với nhau (xem Chương 2).

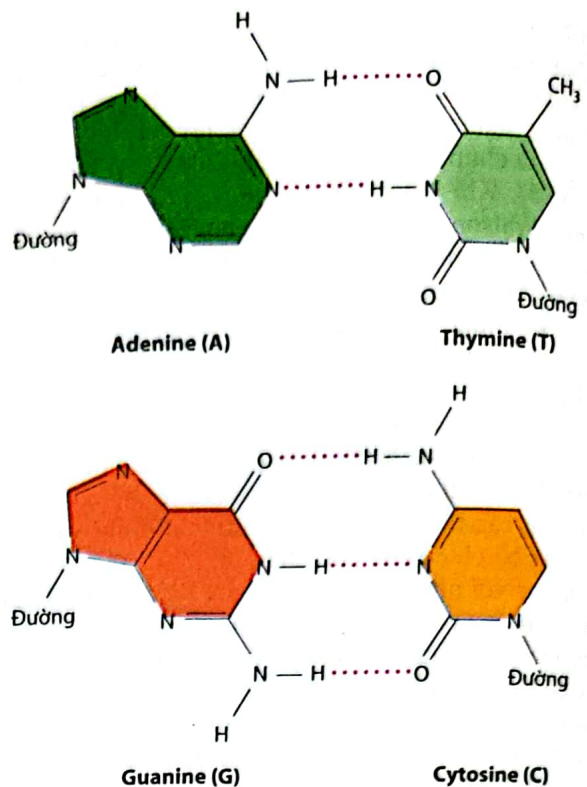
bao quanh. Watson đã xây dựng được một mô hình với các base nitrogen hướng vào phía trong của chuỗi xoắn kép. Trong mô hình này, hai khung đường - phosphate chạy đối song song với nhau, nghĩa là các tiểu đơn vị của chúng chạy song song nhưng ngược chiều nhau (xem Hình 16.7). Chúng ta có thể tưởng tượng sự sắp xếp tổng thể giống như một chiếc thang dây với các thanh thang vững chắc. Hai dây của thang ở hai bên tương ứng với hai khung đường - phosphate, còn mỗi thanh thang tương ứng với một cặp base nitrogen. Lúc này, chúng ta có thể tưởng tượng một đầu của thang dây được cố định, còn đầu kia được vận xoắn, tạo nên cấu trúc xoắn lò xo đều đặn. Các số liệu của Franklin chỉ ra rằng chiều dài mỗi vòng xoắn tròn vận dọc trục chuỗi xoắn dài 3,4 nm. Với khoảng cách giữa hai lớp cặp base kế tiếp xếp chồng lên nhau là 0,34 nm, sẽ có 10 lớp cặp base nitrogen (tương ứng với 10 thanh thang) trong mỗi vòng của chuỗi xoắn.

Các base nitrogen trong chuỗi xoắn kép kết cặp với nhau theo tổ hợp đặc hiệu: adenine (A) với thymine (T), còn guanine (G) với cytosine (C). Thí nghiệm theo mô hình “thử và sai”, Watson và Crick đã phát hiện được đặc điểm quan trọng này của DNA. Đầu tiên, Watson tưởng tượng các base kết cặp theo từng loại, nghĩa là A với A, C với C. Nhưng mô hình này không phù hợp với các số liệu tia X vốn cho biết đường kính dọc chuỗi xoắn là đồng nhất. Vì sao sự sắp xếp này không phù hợp với kiểu kết cặp theo từng loại? Adenine và guanine là các purine; các base của chúng có cấu trúc hai vòng hữu cơ. Ngược lại, cytosine và thymine thuộc một họ các base khác gọi là pyrimidine vốn chỉ có cấu trúc một vòng. Do vậy, các purine (A và G) sẽ có chiều rộng gấp khoảng 2 lần so với các pyrimidine (C và T). Một cặp purine - purine sẽ là quá rộng, trong khi một cặp pyrimidine - pyrimidine sẽ là quá hẹp, so với đường kính khoảng 2 nm của chuỗi xoắn kép. Nhưng, nếu sự kết cặp luôn là một purine với một pyrimidine thì đường kính chuỗi xoắn sẽ đồng nhất.



Watson và Crick từ đó suy luận rằng: hẳn phải có một kiểu kết cặp đặc hiệu bổ sung nào đó được tạo ra bởi cấu trúc của các base nitrogen. Mỗi base nitrogen đều có các gốc hoá học ở mặt bên có thể tạo liên kết hydrogen với các “đối tác” của chúng: Adenine có thể tạo hai liên kết hydrogen với thymine và chỉ với thymine; trong khi guanine có thể tạo ba liên kết hydrogen với cytosine và chỉ với cytosine. Nói cách khác, A kết cặp với T, còn G kết cặp với C (Hình 16.8).

Mô hình của Watson và Crick đồng thời giải thích được cho nguyên tắc Chargaff. Bất cứ khi nào một mạch của phân tử DNA sợi kép có A, thì mạch đối diện sẽ là T; và G có mặt trên một mạch sẽ luôn luôn kết cặp với C trên mạch bổ sung tương ứng. Do vậy, trên DNA của



▲ **Hình 16.8 Sự kết cặp các base nitrogen trong DNA.** Các cặp base nitrogen trong một chuỗi xoắn kép DNA được giữ lại với nhau bởi các liên kết hydrogen (trên hình ở đây được vẽ bằng đường nét chấm màu đỏ).

tất cả các sinh vật (chỉ trừ các virus có vật chất di truyền không phải DNA sợi kép), số lượng adenine luôn bằng thymine, còn số lượng guanine luôn bằng cytosine. Mặc dù nguyên tắc kết cặp của các base nitrogen là cơ sở tạo nên các “thanh thang” của chuỗi xoắn kép, nhưng nó không hạn chế trình tự của các nucleotide dọc theo chuỗi xoắn. Trật tự của bốn loại base nitrogen dọc theo chuỗi xoắn có thể biến đổi bất kỳ, nhưng mỗi gene chỉ có một trật tự duy nhất của các chúng; trật tự này được gọi là trình tự các base nitrogen.

Tháng tư năm 1953, Watson và Crick làm sùng sốt cộng đồng khoa học bằng việc công bố một bài báo ngắn chỉ dài 1 trang trên tạp chí *Nature*.^{*} Bài báo mô tả mô hình DNA mà họ tìm ra: chuỗi xoắn kép, để rồi từ đó nó dần trở thành biểu tượng của sinh học phân tử. Về đẹp của mô hình này chính là ở chỗ: cấu trúc DNA chỉ cho chúng ta thấy cơ chế sao chép của nó.

KIỂM TRA KHÁI NIỆM 16.1

1. Một loài ruồi có tỷ lệ các nucleotide trong DNA như sau: 27,3% A, 27,6% T, 22,5% G và 22,5% C. Nguyên tắc Chargaff được chứng minh bởi các số liệu trên như thế nào?
2. Mô hình của Watson và Crick giúp giải thích nguyên tắc Chargaff như thế nào?
3. **ĐIỀU GÌ NẾU?** Nếu biến nạp không xảy ra trong thí nghiệm của Griffith, thì kết quả thí nghiệm sẽ có thể khác biệt như thế nào? Giải thích.

• Câu trả lời có trong Phụ lục A.

^{*} J.D. Watson and F.H.C. Crick, Molecular structure of nucleic acids: a structure for deoxyribose nucleic acids, *Nature* 171: 737-738 (1953).

Nhiều protein phối hợp với nhau trong sao chép và sửa chữa DNA

Mối quan hệ giữa cấu trúc và chức năng bộc lộ rõ nét ở chuỗi xoắn kép. Chính suy nghĩ cho rằng có sự kết cặp đặc hiệu giữa các base nitrogen trong phân tử DNA đã làm nổi lên ý tưởng đưa Watson và Crick đến với mô hình cấu trúc chính xác của chuỗi xoắn kép. Cùng lúc đó, họ tìm thấy ý nghĩa về mặt chức năng của nguyên tắc kết cặp các base. Họ đã kết thúc bài báo của mình bằng một câu phát biểu dí dỏm như sau: “Điều ám ảnh chúng tôi là nguyên tắc kết cặp đặc hiệu mà chúng tôi coi như định đề đã ngay lập tức chỉ ra một cơ chế sao chép vật chất di truyền có thể tồn tại”. Trong phần này, chúng ta sẽ đề cập nguyên lý cơ bản của sự sao chép DNA cũng như một số đặc điểm chi tiết quan trọng của quá trình đó.

Nguyên lý cơ bản: kết cặp base với mạch làm khuôn

Trong một bài báo thứ hai, Watson và Crick phát biểu giả thiết của họ về cơ chế sao chép DNA như sau:

Lúc này, trong thực tế mô hình về acid deoxyribonucleic của chúng tôi chính là một cặp các mạch làm khuôn, mà mỗi mạch bổ sung với mạch còn lại. Chúng tôi tưởng tượng ra rằng: trước khi sự sao chép diễn ra, các liên kết hydrogen bị đứt gãy, sau đó hai mạch dẫn xoắn và tách khỏi nhau. Mỗi mạch sau đó được dùng làm khuôn để hình thành nên một mạch mới đi kèm với nó; nhờ vậy, cuối cùng chúng ta sẽ nhận được hai cặp chuỗi xuất phát từ một cặp chuỗi ban đầu. Ngoài ra, trình tự của các cặp chuỗi base được sao chép một cách chính xác.*

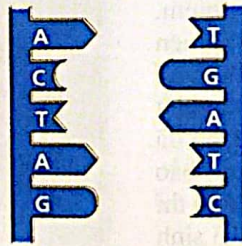
* F.H.C.Crick and J.D. Watson, The complementary structure of deoxyribonucleic acid, *Proceedings of the Royal Society of London A* 223: 80 (1954).

Hình 16.9 mô tả ý tưởng cơ bản của Watson và Crick. Để dễ tưởng tượng, trên hình chỉ minh họa một đoạn chuỗi xoắn kép ngắn ở dạng duỗi thẳng. Điều đáng lưu ý là nếu chúng ta chỉ biết trình tự của một trong hai mạch DNA được vẽ trên Hình 16.9a, thì chúng ta có thể xác định được trình tự base nitrogen của mạch còn lại trên cơ sở áp dụng nguyên tắc kết cặp bổ sung của các base. Nói cách khác, hai mạch DNA bổ sung cho nhau; mỗi mạch mang thông tin cần thiết để tái thiết mạch còn lại. Khi một tế bào sao chép một phân tử DNA, mỗi mạch của phân tử DNA đó được dùng làm khuôn để sắp xếp các nucleotide vào mạch mới bổ sung với nó. Các nucleotide xếp hàng dọc theo mạch làm khuôn tuân thủ nguyên tắc kết cặp của các base đồng thời liên kết với nhau để hình thành nên một mạch mới. Nếu đã có một phân tử DNA sợi kép vào đầu quá trình sao chép, thì sẽ nhanh chóng thu được một bản sao chính xác của phân tử “mẹ”. Cơ chế sao chép giống như việc dùng phim âm bản để tạo nên ảnh dương bản; sau đó ảnh dương bản lại được dùng để tạo nên một phim âm bản mới rồi quá trình được lặp đi lặp lại.

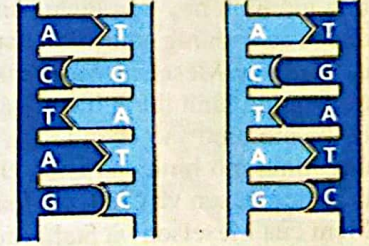
Mô hình sao chép DNA như vậy đã không được kiểm chứng trong nhiều năm kể từ khi cấu trúc của DNA được công bố. Thí nghiệm nhằm chứng minh cho mô hình này về nguyên tắc thì dễ tưởng tượng, nhưng về thực nghiệm thì khó thực hiện. Mô hình của Watson và Crick dự đoán rằng khi chuỗi xoắn kép sao chép, mỗi phân tử con sẽ mang một mạch cũ có nguồn gốc từ phân tử mẹ còn một mạch được tổng hợp mới. Mô hình **bán bảo toàn** này như vậy không giống với **mô hình bảo toàn** vốn cho rằng sau quá trình sao chép bằng một cách nào đó các mạch của chuỗi xoắn kép kết cặp trở lại với nhau (tức là phân tử DNA mẹ được bảo toàn nguyên vẹn). Mô hình này đồng thời cũng khác với **mô hình phân tán** là mô hình cho rằng cả bốn mạch DNA sau quá trình sao chép là sự tổ hợp lại của các phân đoạn DNA cũ xen lẫn các phân đoạn DNA mới tổng hợp (**Hình 16.10** ở trang sau). Mặc dù cơ chế để DNA có thể sao chép theo kiểu bảo toàn hoặc phân tán là khó giải thích, nhưng trong thực tế không thể loại bỏ



(a) Phân tử DNA mẹ có hai mạch DNA bổ sung với nhau. Mỗi loại base kết cặp đặc hiệu với một loại base tương ứng của nó qua các liên kết hydrogen; trong đó A liên kết với T, và G liên kết với C.



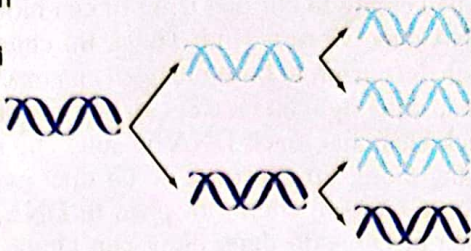
(b) Bước đầu tiên trong sao chép là hai mạch đơn DNA tách nhau ra. Mỗi mạch của phân tử DNA mẹ lúc này được dùng làm khuôn để xác định trình tự các nucleotide dọc theo mạch DNA mới, bổ sung với nó.



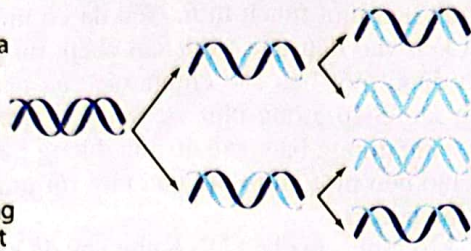
(c) Theo nguyên tắc bổ sung, các nucleotide “xếp hàng” dọc mạch mới và liên kết với nhau tạo nên khung đường - phosphate. Mỗi phân tử “con” sẽ có một mạch cũ của phân tử DNA mẹ (xanh sẫm) và một mạch DNA mới (xanh nhạt).

▲ **Hình 16.9 Mô hình sao chép DNA: Khái niệm cơ bản.** Trong mô hình giản lược này, một phân đoạn DNA sợi kép ngắn được dẫn xoắn thành dạng cấu trúc giống như một chiếc “thang dây”. Trong đó “dây thang” ở hai bên là khung đường - phosphate trên hai mạch DNA; còn mỗi “thanh thang” là một cặp base nitrogen trên hai mạch liên kết hydrogen với nhau theo nguyên tắc bổ sung (nguyên tắc Chargaff). Các hình đơn giản biểu diễn bốn loại base. Trong đó, màu xanh sẫm biểu diễn các mạch DNA có nguồn gốc từ phân tử DNA mẹ; còn màu xanh nhạt biểu diễn các mạch DNA được tổng hợp mới.

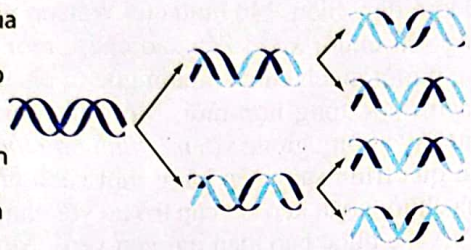
(a) **Mô hình bảo toàn.** Hai mạch làm khuôn kết hợp trở lại với nhau sau quá trình sao chép; vì vậy, sợi xoắn kép "mẹ" được khôi phục lại như ban đầu.



(b) **Mô hình bán bảo toàn.** Hai mạch của sợi xoắn kép "mẹ" tách nhau ra; mỗi mạch được dùng làm khuôn để tổng hợp nên một sợi kép mới.



(c) **Mô hình phân tán.** Mỗi mạch của hai phân tử DNA sợi kép "con" đều là hỗn hợp của các phân đoạn cũ xen lẫn các phân đoạn mới tổng hợp.



▲ **Hình 16.10 Ba mô hình sao chép DNA.** Mỗi đoạn xoắn kép ngắn trên hình biểu diễn một phân tử DNA trong tế bào. Bắt đầu từ tế bào "mẹ" ban đầu, chúng ta theo dõi quá trình sao chép hình thành nên hai thế hệ tế bào "con" tương ứng với hai lần sao chép DNA. Màu xanh nhạt biểu diễn các đoạn DNA được tổng hợp mới.

những mô hình này nếu thiếu bằng chứng thực nghiệm. Phải đến cuối những năm 1950, sau khoảng 2 năm nghiên cứu, Matthew Meselson và Franklin Stahl mới thiết kế được một mô hình thí nghiệm "sáng tạo" giúp phân biệt được ba mô hình sao chép DNA. Thí nghiệm của họ đã chứng minh mô hình sao chép DNA theo kiểu bán bảo toàn được Watson và Crick dự đoán là đúng. Mô hình thí nghiệm của Meselson và Stahl sau đó được các nhà sinh học coi như một ví dụ điển hình về thiết kế thí nghiệm hợp lý (**Hình 16.11**).

Mặc dù về nguyên tắc, cơ chế sao chép DNA là đơn giản, nhưng trong thực tế quá trình này diễn ra liên quan đến nhiều sự kiện phức tạp nhưng hài hoà được đề cập dưới đây.

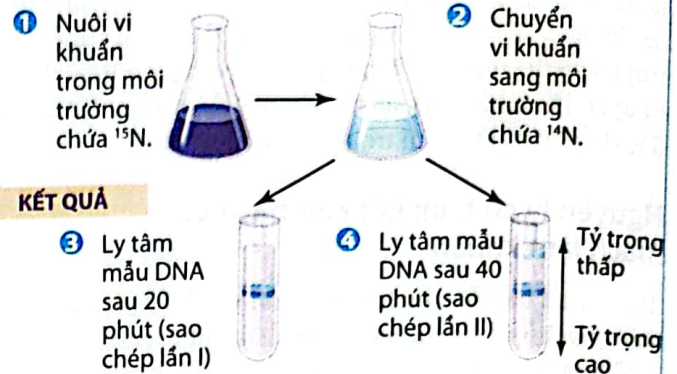
Sao chép DNA: Xem xét chi tiết hơn

Vi khuẩn *E. coli* có một nhiễm sắc thể duy nhất chứa khoảng 4,6 triệu cặp nucleotide. Trong điều kiện môi trường thuận lợi, mỗi tế bào *E. coli* có thể sao chép toàn bộ phân tử DNA này và phân chia thành hai tế bào con

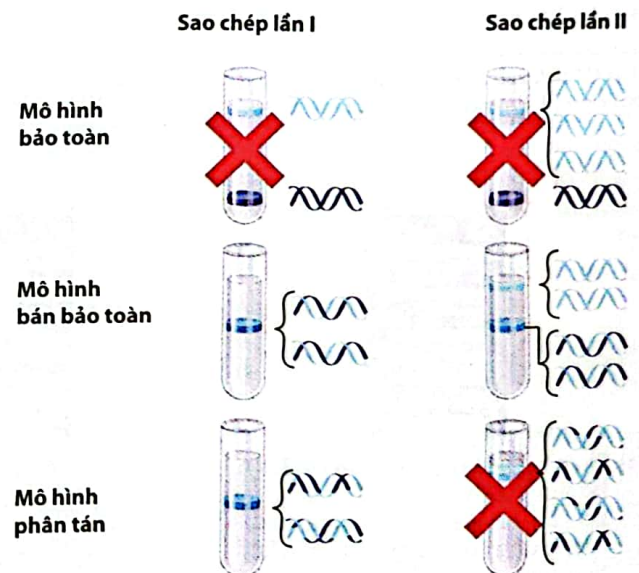
▼ Hình 16.11 Tìm hiểu

DNA sao chép theo kiểu bảo toàn, bán bảo toàn hay phân tán?

THÍ NGHIỆM Tại Viện Công nghệ California, Matthew Meselson và Franklin Stahl đã nuôi cấy tế bào *E. coli* qua một số thế hệ trong môi trường chứa các nucleotide tiền chất được đánh dấu bằng đồng vị phóng xạ nặng ^{15}N . Các nhà khoa học sau đó chuyển vi khuẩn sang môi trường chỉ chứa đồng vị nhẹ ^{14}N . Sau 20 phút và 40 phút, các mẫu vi khuẩn nuôi cấy được hút ra tương ứng với hai lần sao chép DNA. Meselson và Stahl có thể phân biệt được các phân tử DNA có tỷ trọng khác nhau bằng phương pháp ly tâm sản phẩm DNA được chiết rút từ vi khuẩn.



KẾT LUẬN Meselson và Stahl đã so sánh kết quả thực nghiệm của họ với kết quả dự đoán tương ứng với các mô hình lý thuyết (Hình 16.10) được minh họa dưới đây. Lần sao chép đầu tiên (lần I) tạo ra một băng DNA lai " ^{15}N - ^{14}N " duy nhất. Kết quả này đã loại bỏ mô hình sao chép kiểu bảo toàn. Lần sao chép thứ hai (lần II) tạo ra một băng DNA nhẹ và một băng DNA lai. Kết quả này đã loại bỏ mô hình sao chép theo kiểu phân tán. Trên cơ sở đó, các nhà khoa học đã kết luận rằng DNA sao chép theo kiểu bán bảo toàn.



NGUỒN M. Meselson and F.W. Stahl, The replication of DNA in *Escherichia coli*, *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 44: 671 - 682 (1958).

ĐIỀU GÌ NẾU? Nếu Meselson và Stahl bắt đầu nuôi vi khuẩn trong môi trường chứa ^{14}N rồi sau đó mới chuyển vi khuẩn sang môi trường chứa ^{15}N , kết quả sẽ như thế nào?

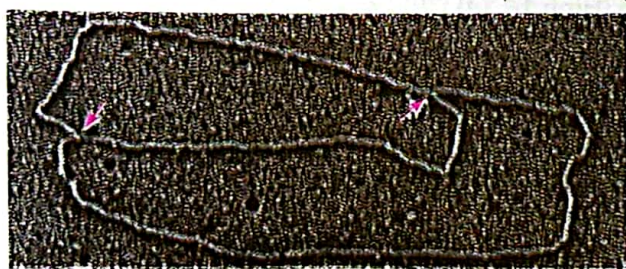
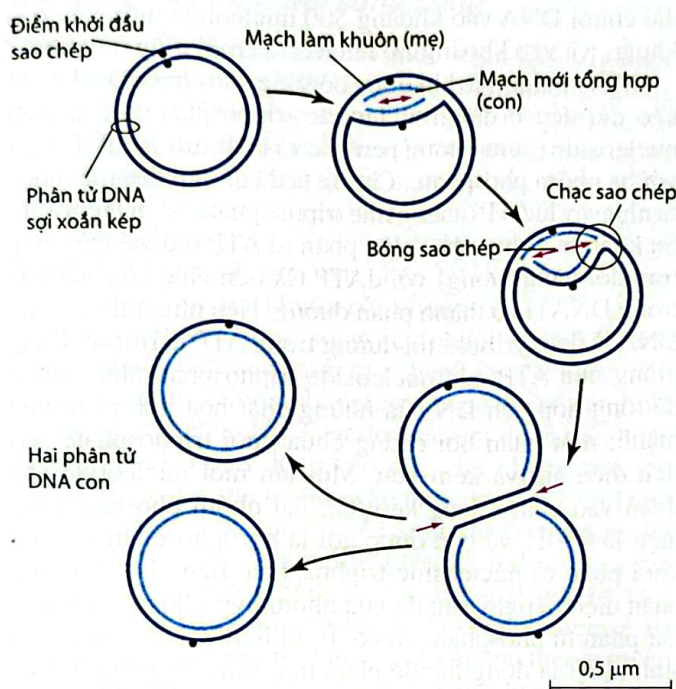
có vật chất di truyền giống hệt nhau trong vòng chưa đến 1 giờ. Mỗi tế bào trong cơ thể bạn có 46 nhiễm sắc thể trong nhân tế bào; trong đó, mỗi nhiễm sắc thể là một phân tử DNA xoắn kép dài, mạch thẳng. Tính tổng cộng, hệ gene nhân ở người chứa khoảng 6 tỷ cặp base, tức là lớn hơn hệ gene của tế bào vi khuẩn. Nếu chúng ta in toàn bộ trình tự hệ gene người dưới dạng các ký tự A, T, G và C ở kích cỡ như trình bày ở đây, thì thông tin di truyền trong 6 tỷ cặp nucleotide trong một tế bào lưỡng bội sẽ tương ứng với khoảng 1.200 cuốn sách có kích thước như cuốn sách này. Vậy mà, mỗi tế bào chỉ cần vài giờ để có thể sao chép toàn bộ lượng thông tin đó với mức độ sai sót rất thấp (tần số sai sót chỉ vào khoảng 10^{-10} , nghĩa là cứ 10 tỷ nucleotide mới có một nucleotide sao chép sai). Nói cách khác, sự sao chép DNA là một quá trình diễn ra với tốc độ cực kỳ nhanh và chính xác.

Có hàng chục enzyme và protein tham gia vào quá trình sao chép DNA. Những hiểu biết đến nay về “bộ

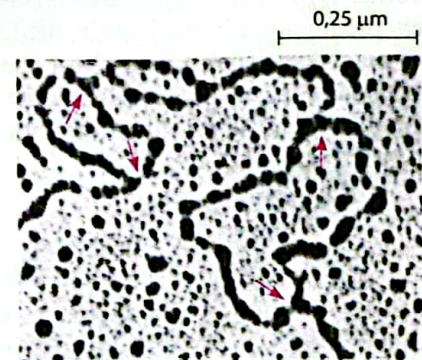
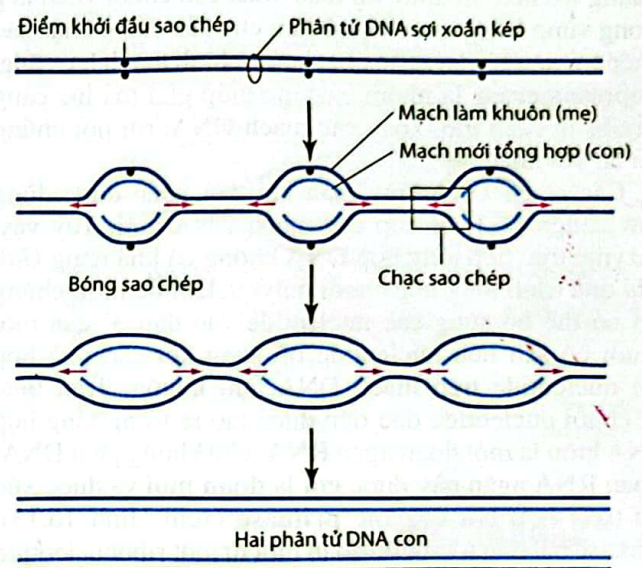
máy sao chép” ở vi khuẩn (chẳng hạn như *E. coli*) là đầy đủ hơn so với ở sinh vật nhân thực (eukaryote). Nếu không có chú giải gì thêm, các bước được mô tả ở đây là quá trình xảy ra ở *E. coli*. Mặc dù vậy, các nghiên cứu cho đến nay nhìn chung cho thấy phần lớn các nguyên tắc sao chép DNA cơ bản là giống nhau ở sinh vật nhân sơ (prokaryote) và sinh vật nhân thực (eukaryote).

Sự khởi đầu sao chép

Quá trình sao chép DNA luôn bắt đầu tại những vị trí đặc thù trên phân tử DNA được gọi là **điểm khởi đầu sao chép**. Đó là những đoạn DNA ngắn có trình tự nucleotide xác định. Giống ở nhiều vi khuẩn nói chung, nhiễm sắc thể của *E. coli* có dạng vòng và chỉ có một điểm khởi đầu sao chép. Các protein khởi đầu sao chép nhận ra vị trí này và gắn vào DNA; chúng tách hai mạch DNA ra khỏi nhau và tạo nên “bóng sao chép”. Từ điểm khởi đầu sao chép, quá trình sao chép DNA tiến về cả hai phía (**Hình 16.12a**) cho đến khi toàn bộ phân tử DNA được sao chép



(a) Nhiễm sắc thể dạng vòng ở *E. coli* và nhiều vi khuẩn khác chỉ có một điểm khởi đầu sao chép. Tại điểm khởi đầu sao chép, hai mạch đơn DNA tách khỏi nhau hình thành nên bóng sao chép gồm hai chạc sao chép. Quá trình sao chép tiến về cả hai phía cho đến khi các chạc sao chép ở hai đầu “gặp nhau”; kết quả tạo nên hai phân tử DNA con. Hình ảnh chụp bằng kính hiển vi điện tử truyền qua (TEM) ở trên cho thấy nhiễm sắc thể vi khuẩn chỉ có một bóng sao chép.



(b) Nhiễm sắc thể ở sinh vật nhân thực là những phân tử DNA dạng mạch thẳng, kích thước lớn. Quá trình sao chép DNA bắt đầu khi bóng sao chép hình thành tại nhiều điểm dọc phân tử DNA. Bóng sao chép mở rộng khi hai chạc sao chép của nó tiến dần về hai phía. Cuối cùng, các bóng sao chép “dung hợp” với nhau và sự tổng hợp các mạch DNA “con” kết thúc. Hình ảnh chụp bằng TEM ở trên cho thấy đoạn nhiễm sắc thể trên của tế bào nuôi cấy từ chuột Hamster có ba bóng sao chép.

▲ **Hình 16.12 Các điểm khởi đầu sao chép ở *E. coli* và ở sinh vật nhân thực.**
Mũi tên màu đỏ chỉ sự dịch chuyển của chạc sao chép, nghĩa là chiều sao chép DNA diễn ra ở mỗi bóng sao chép.

HÃY VẼ Trên ảnh TEM ở hình (b), hãy vẽ thêm mũi tên ở bóng sao chép thứ ba.

xong. Không giống ở vi khuẩn, nhiễm sắc thể ở sinh vật nhân thực có thể có hàng trăm, thậm chí hàng nghìn điểm khởi đầu sao chép. Kết quả là nhiều bóng sao chép được hình thành; cuối cùng chúng “dung hợp” với nhau tạo nên những bản sao hoàn chỉnh của các phân tử DNA có kích thước rất lớn (Hình 16.12b). Bằng cách này, tốc độ sao chép DNA ở sinh vật nhân thực tăng lên. Cũng giống ở vi khuẩn, quá trình sao chép DNA ở sinh vật nhân thực tiến về cả hai phía của bóng sao chép.

Ở hai đầu của bóng sao chép có **chạc sao chép**. Đó là vùng có dạng chữ Y là nơi hai mạch đơn DNA của chuỗi xoắn kép tách nhau ra. Có một số protein tham gia vào hoạt động tháo xoắn này (Hình 16.13). **Helicase** là nhóm các enzyme có vai trò dẫn xoắn và tách hai mạch đơn ra khỏi nhau. Mỗi mạch đơn sau đó được sử dụng làm khuôn (mạch “mẹ”) để tổng hợp nên mạch DNA mới. Sau khi các mạch làm khuôn tách nhau ra, các **protein liên kết mạch đơn**, gọi tắt là **SSB** (single-strand binding protein), sẽ dính kết vào mạch DNA làm khuôn và giúp chúng trở nên ổn định. Sự tháo xoắn của chuỗi xoắn kép trong vùng bóng sao chép sẽ làm cho các đầu ở chạc sao chép trở nên bị vặn xoắn chặt hơn và hình thành lực căng. **Topoisomerase** là nhóm enzyme giúp giải toả lực căng này bằng cách mở, xoay các mạch DNA, rồi nối chúng trở lại với nhau.

Các mạch DNA “mẹ” sau khi dẫn xoắn được dùng làm khuôn để tổng hợp các mạch DNA mới. Tuy vậy, enzyme trực tiếp tổng hợp DNA không có khả năng *khởi đầu* quá trình tổng hợp chuỗi polynucleotide mới; chúng chỉ có thể bổ sung các nucleotide vào đầu 3' của một chuỗi có sẵn nếu nucleotide bổ sung kết cặp phù hợp với nucleotide trên mạch DNA làm khuôn. Trên thực tế, chuỗi nucleotide đầu tiên được tạo ra trong tổng hợp DNA luôn là một đoạn ngắn RNA, chứ không phải DNA. Đoạn RNA ngắn này được gọi là **đoạn môi** và được xúc tác tổng hợp bởi enzyme **primase** (xem Hình 16.13). Primase bắt đầu tổng hợp đoạn môi từ một ribonucleotide (hay nucleotide RNA) duy nhất; sau đó, mỗi lần phản ứng nó gắn thêm một ribonucleotide theo nguyên tắc bổ sung với mạch DNA làm khuôn. Một đoạn môi hoàn chỉnh, gồm khoảng 5 - 10 nucleotide, lúc này sẽ bắt cặp với mạch khuôn. Mạch DNA được tổng hợp mới sẽ bắt đầu từ đầu 3' của đoạn môi RNA.

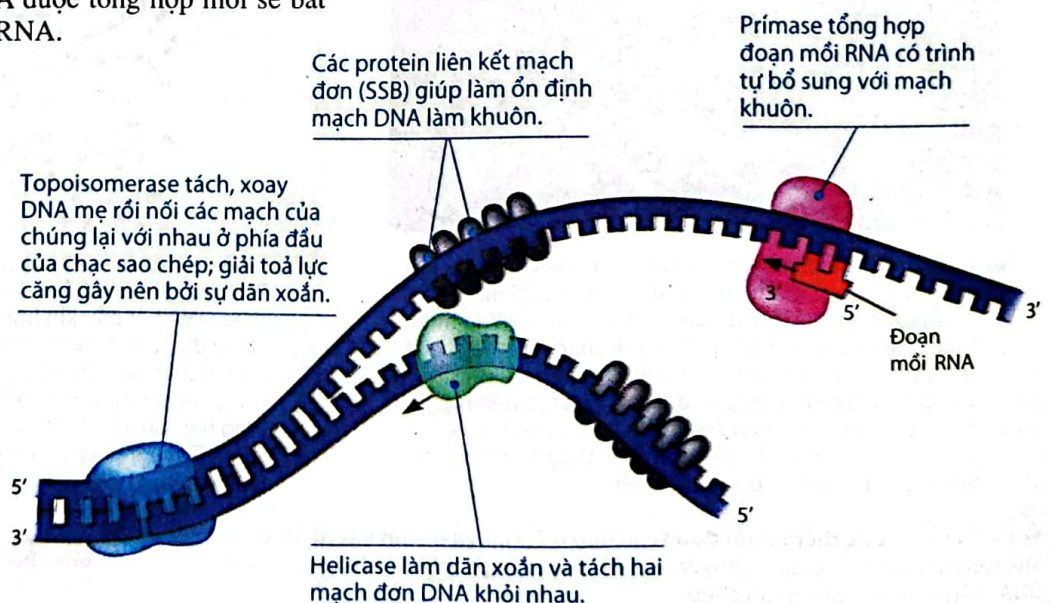
Tổng hợp mạch DNA mới

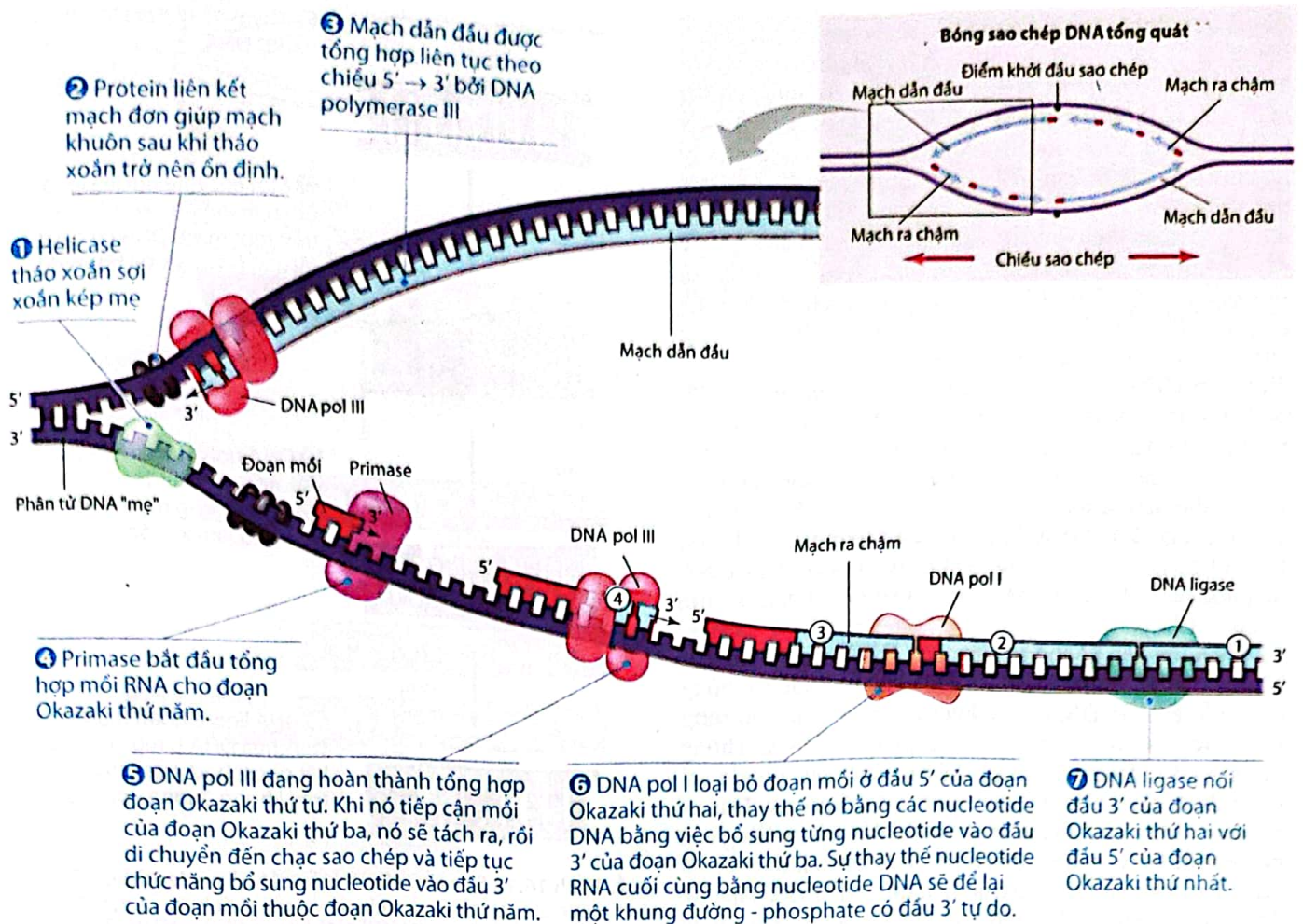
Các enzyme có tên gọi là **DNA polymerase** chính là các enzyme trực tiếp xúc tác tổng hợp mạch DNA mới bằng việc bổ sung các nucleotide vào một chuỗi sẵn có. Ở *E. coli*, có một số loại DNA polymerase khác nhau; tuy vậy, hai loại có vai trò chính trong sao chép DNA là DNA polymerase III và DNA polymerase I. Đặc điểm này ở sinh vật nhân thực là phức tạp hơn. Đến nay, đã có ít nhất 11 loại DNA polymerase khác nhau đã được xác định; tuy vậy, nguyên lý hoạt động chung của chúng về cơ bản là giống nhau.

Phần lớn các enzyme DNA polymerase đều cần một đoạn môi và một mạch DNA làm khuôn. Trên cơ sở trình tự của mạch làm khuôn, chúng bổ sung các nucleotide mới dọc theo mạch được tổng hợp mới theo nguyên tắc bổ sung. Ở *E. coli*, DNA polymerase III (viết tắt là DNA pol III) bổ sung các nucleotide DNA vào đoạn môi rồi tiếp tục kéo dài chuỗi DNA theo nguyên tắc bổ sung với mạch làm khuôn cho đến khi kết thúc chuỗi. Tốc độ kéo dài chuỗi DNA vào khoảng 500 nucleotide mỗi giây ở vi khuẩn, và vào khoảng 50 nucleotide mỗi giây ở người.

Mỗi nucleotide khi được bổ sung vào chuỗi DNA đang kéo dài đều ở dạng nucleotide triphosphate; đó là một nucleoside (gồm đường pentose và base nitrogen) liên kết với ba nhóm phosphate. Chúng ta đã đề cập đến một phân tử như vậy là ATP (adenosine triphosphate; xem Hình 8.8). Sự khác biệt duy nhất giữa phân tử ATP (có vai trò trong trao đổi năng lượng) với dATP (là tiền chất của adenine trong DNA) là ở thành phần đường. Nếu như đường trong DNA là deoxyribose thì đường trong ATP là ribose. Cũng giống như ATP, các nucleoside triphosphate được dùng để tổng hợp nên DNA là những chất hoá học phản ứng mạnh; một phần bởi chúng chứa đuôi triphosphate vốn tích điện âm và kém bền. Mỗi lần một nucleotide gắn thêm vào chuỗi đang kéo dài, hai nhóm phosphate (ký hiệu là $P-P_i$ và còn được gọi là pyrophosphate) sẽ đứt khỏi phân tử nucleoside triphosphate tiền chất. Sự thủy phân diễn ra ngay sau đó của nhóm pyrophosphate thành hai phân tử phosphate vô cơ P_i đi liền với các phản ứng sinh nhiệt là động lực để phản ứng trùng hợp DNA diễn ra (Hình 16.14).

► **Hình 16.13 Một số protein liên quan đến khởi đầu sao chép DNA.** Các loại protein giống nhau hoạt động ở cả hai chạc sao chép của cùng một bóng sao chép. Để giản lược, ở đây chỉ minh hoạ một chạc sao chép.





▲ Hình 16.17 Tóm tắt quá trình sao chép DNA ở vi khuẩn. Sơ đồ này minh họa một chạc sao chép; nhưng như minh họa trên sơ đồ tổng quát (phía trên bên phải), quá trình sao chép thường diễn ra đồng thời ở cả hai chạc của mỗi "bóng" sao chép. Tại mỗi chạc sao chép, chúng ta dễ dàng nhận thấy, một mạch DNA mới được tổng hợp liên tục và được gọi là mạch dẫn đầu; trong khi mạch còn lại được tổng hợp thành từng đoạn ngắn và được gọi là mạch ra chậm.

nhưng trong thực tế các lỗi kết cặp nucleotide ban đầu vào mạch DNA đang mở rộng bởi hoạt động của enzyme DNA polymerase thường cao hơn khoảng 100.000 lần - tức là, khoảng một nucleotide sai trong 100.000 nucleotide của mạch làm khuôn. Trong quá trình sao chép, các enzyme DNA polymerase đọc sửa từng nucleotide dựa trên trình tự mạch làm khuôn ngay khi chúng bổ sung thêm nucleotide mới vào chuỗi đang kéo dài. Nếu tìm ra nucleotide kết cặp sai, enzyme polymerase sẽ cắt bỏ nucleotide này rồi tổng hợp lại bằng nucleotide kết cặp đúng. (Hoạt động này giống như khi chúng ta dùng phím "BackSpace" trên bàn phím máy tính để xóa một ký tự sai, rồi nhập lại một ký tự đúng).

Tuy vậy, đôi khi các nucleotide kết cặp sai có thể thoát khỏi hoạt động đọc sửa của các DNA polymerase. Trong cơ chế sửa chữa kết cặp sai, các enzyme sẽ tiến hành loại bỏ và thay thế các nucleotide sai do các lỗi của quá trình sao chép. Các nhà khoa học đã để ý đến tầm quan trọng của những enzyme này khi tìm thấy một sai hỏng di truyền ở một trong những gene mã hóa các enzyme như vậy liên quan trực tiếp đến sự phát sinh một dạng ung thư ruột kết. Rõ ràng là, sai hỏng di truyền này đã cho phép

Bảng 16.1 Các protein sao chép DNA ở vi khuẩn và chức năng của chúng

Protein	Chức năng
Helicase	Tháo xoắn chuỗi xoắn kép tại vị trí chạc sao chép
Protein liên kết mạch đơn	Liên kết và làm ổn định các mạch đơn DNA cho đến khi các mạch này được dùng làm khuôn cho quá trình sao chép
Topoisomerase	Làm giảm lực xoắn căng phía trước chạc sao chép bằng cách tách tạm thời các mạch DNA, cho quay giảm xoắn, rồi nối lại
Primase	Tổng hợp đoạn mỗi RNA tại đầu 5' của mạch dẫn đầu và tại mỗi đoạn Okazaki của mạch ra chậm
DNA pol III	Sử dụng mạch DNA "mẹ" làm khuôn, tổng hợp mạch DNA mới bằng việc bổ sung các nucleotide vào đầu 3' của mạch DNA sẵn có hoặc đoạn mỗi RNA qua liên kết cộng hoá trị
DNA pol I	Loại bỏ các nucleotide RNA thuộc đoạn mỗi bắt đầu từ đầu 5', rồi thay thế chúng bằng các nucleotide DNA
DNA ligase	Nối đầu 3' của đoạn DNA đã thay thế đoạn mỗi với phần còn lại của mạch dẫn đầu, hoặc nối các đoạn Okazaki của mạch ra chậm

các lỗi dẫn đến phát sinh ung thư có thể tích lũy trên phân tử DNA với tốc độ nhanh hơn so với bình thường.

Các nucleotide kết cặp sai hoặc biến đổi cũng có thể xuất hiện sau quá trình sao chép. Trong thực tế, để duy trì chính xác thông tin di truyền, các tế bào cần thường

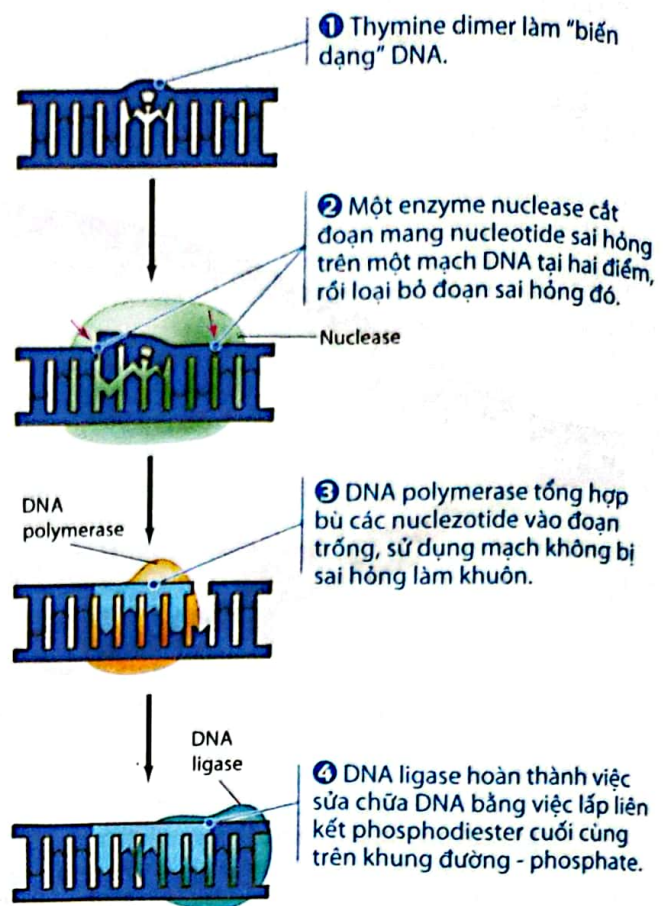
xuyên sửa chữa các sai hỏng khác nhau xảy ra với DNA. Các phân tử DNA dường như luôn ở trạng thái bộc lộ với nhiều nhân tố vật lý và hoá học nguy hại (sẽ được chúng ta đề cập kỹ hơn ở Chương 17). Các hợp chất phản ứng mạnh (có mặt trong môi trường sống hoặc xuất hiện tự nhiên trong các tế bào), các tia phóng xạ, ánh sáng cực tím và một số phân tử nhất định trong khói thuốc lá có thể gây nên sự biến đổi của các nucleotide và ảnh hưởng đến thông tin di truyền được mã hoá trên các phân tử DNA. Ngoài ra, bản thân các base trong DNA cũng có thể biến đổi tự phát trong điều kiện sinh lý bình thường của tế bào. Tuy nhiên, thường thì những biến đổi này sẽ được sửa chữa trước khi chúng có thể trở thành các đột biến di truyền ổn định qua các thế hệ. Mọi tế bào đều liên tục theo dõi và sửa chữa vật chất di truyền của chúng. Do hoạt động sửa chữa DNA có tầm quan trọng sống còn đối với cơ thể, nên không có gì là ngạc nhiên khi có nhiều enzyme sửa chữa DNA đã xuất hiện trong quá trình tiến hoá. Ở *E. coli*, có khoảng 100 enzyme sửa chữa DNA đã được biết đến; trong khi đó, con số này ở người đã là khoảng 130.

Phần lớn các hệ thống sửa chữa DNA của tế bào, bất kể đối với các sai hỏng do lỗi sao chép hay các sai hỏng khác về cấu trúc DNA, đều dựa trên nguyên tắc bổ sung giữa các base trên hai mạch của phân tử DNA. Thông thường, một đoạn trên mạch DNA mang nucleotide sai hỏng được cắt bỏ bởi một enzyme cắt DNA - **nuclease** - rồi đoạn trống hình thành sẽ được lấp đầy trở lại bằng các nucleotide kết cặp đúng dựa trên mạch DNA không bị sai hỏng làm khuôn. Các enzyme liên quan đến việc lấp đầy đoạn trống gồm DNA polymerase và DNA ligase. Một hệ thống sửa chữa DNA như vậy được gọi là **sửa chữa bằng cắt bỏ nucleotide (Hình 16.18)**.

Một chức năng quan trọng của các enzyme sửa chữa DNA trong tế bào da của chúng ta là sửa chữa các sai hỏng di truyền gây ra do tia cực tím đến từ ánh sáng mặt trời. Một loại sai hỏng như vậy được minh hoạ trên Hình 16.18; trong đó, các base thymine liên kết với nhau trên mạch DNA hình thành liên kết cộng hoá trị với nhau. Các **thymine dimer (nhị phân timin)** như vậy làm biến dạng cấu trúc DNA bình thường và ảnh hưởng đến quá trình sao chép. Tầm quan trọng của sửa chữa DNA đối với những sai hỏng này được nhận thấy qua bệnh khô bì sắc tố; đây là bệnh gây ra bởi sai hỏng di truyền liên quan đến gene mã hoá enzyme sửa chữa DNA theo cơ chế cắt bỏ nucleotide. Những cá thể rối loạn về enzyme này thường rất mẫn cảm với ánh sáng mặt trời; các đột biến trong tế bào da của họ do tia cực tím gây ra vốn không được sửa chữa, tích lũy qua thời gian và có nguy cơ gây nên bệnh ung thư da.

Sao chép đầu mút của phân tử DNA

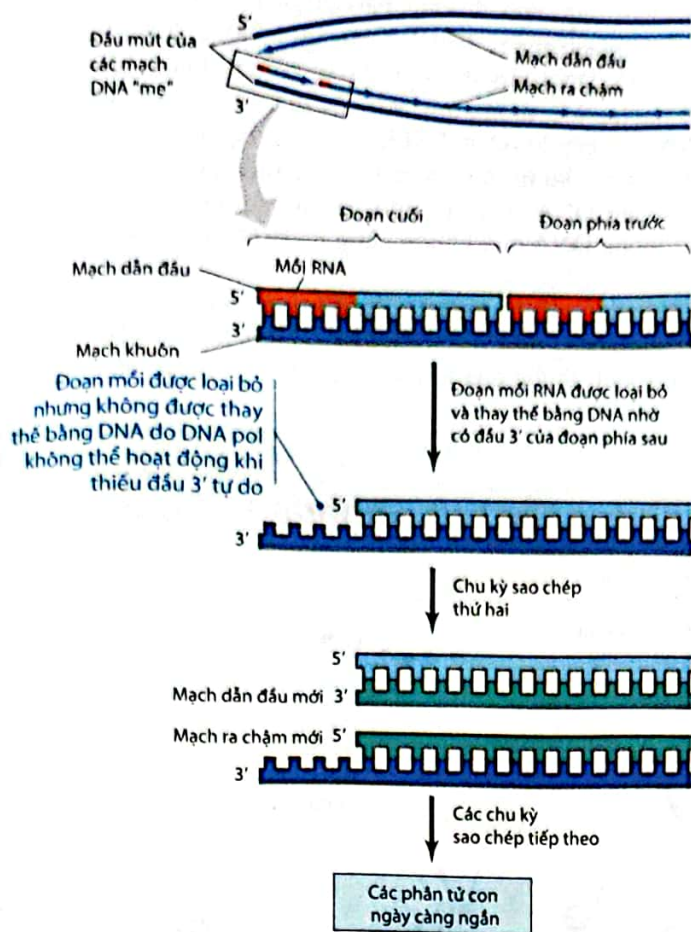
Mặc dù khả năng sao chép của các enzyme DNA polymerase là “ấn tượng”, nhưng trong tế bào luôn có một tỷ lệ nhỏ trình tự DNA mà các DNA polymerase không thể sao chép và sửa chữa được. Đối với các phân tử DNA mạch thẳng, chẳng hạn như ở nhiễm sắc thể sinh vật nhân thực, các DNA polymerase chỉ có thể bổ sung các nucleotide vào đầu 3' của một chuỗi polynucleotide đang kéo dài; điều này dẫn đến vấn đề là: bộ máy sao chép không có cách nào để có thể sao chép hoàn chỉnh phần đầu 5' của các mạch DNA con. Ngay cả một đoạn



▲ **Hình 16.18 Sửa chữa DNA kiểu cắt bỏ nucleotide.** Một nhóm các enzyme và protein có vai trò phát hiện và sửa chữa DNA sai hỏng. Hình trên cho thấy DNA mang một thymine dimer, đây là một kiểu sai hỏng DNA thường bị gây ra do chiếu xạ UV. Một enzyme nuclease cắt bỏ vùng DNA sai hỏng, rồi một enzyme DNA polymerase (DNA pol I ở vi khuẩn) sẽ thay thế đoạn bị cắt bằng các nucleotide phù hợp trên cơ sở dùng mạch DNA không bị sai hỏng làm khuôn. Enzyme DNA ligase sẽ hoàn thành quá trình sửa chữa bằng cách lấp “khe hở” (liên kết phosphodiester) cuối cùng trên khung đường - phosphate.

Okazaki có thể bắt đầu bằng một đoạn mRNA liên kết với đầu tận cùng của mạch DNA làm khuôn cũng không thể thay thế bằng DNA bởi không có sẵn đầu 3' ở phía trước để phản ứng bổ sung các nucleotide có thể diễn ra (**Hình 16.19**). Kết quả là sau mỗi lần sao chép, phân tử DNA sợi kép ngày càng ngắn lại và có các đầu không bằng nhau (còn gọi là đầu “so le”).

Hiện tượng phân tử DNA có xu hướng ngắn lại sau mỗi lần sao chép thường không xảy ra ở các sinh vật nhân sơ, bởi vì các phân tử DNA của chúng có dạng vòng (tức là không có các đầu mút). Vậy, cơ chế nào đã bảo vệ các gene của sinh vật nhân thực không mất đi sau các chu kỳ sao chép DNA nối tiếp nhau? Đó là do các phân tử DNA nhiễm sắc thể ở sinh vật nhân thực có các trình tự nucleotide đặc biệt tại các đầu tận cùng của chúng và được gọi là **đầu mút nhiễm sắc thể (Hình 16.20)**. Vùng đầu mút nhiễm sắc thể không chứa các gene; thay vào đó, nó thường chứa các trình tự nucleotide ngắn lặp lại nhiều lần. Tại các đầu mút nhiễm sắc thể ở người, một trình tự ngắn gồm 6 nucleotide là TTAGGG thường lặp lại từ 100 đến 1.000 lần. Trình tự DNA tại đầu mút bảo vệ các gene của cơ thể. Ngoài ra, các protein đặc hiệu liên kết với DNA tại đầu mút có vai trò ngăn cản các đầu “so le” của

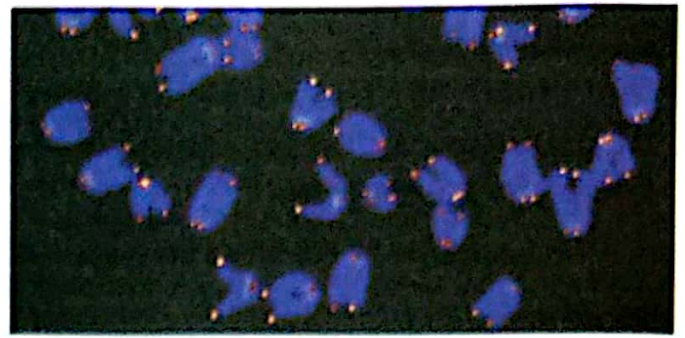


▲ **Hình 16.19 Đầu mút các phân tử DNA mạch thẳng ngắn lại sau mỗi chu kỳ sao chép.** Hình trên chỉ minh họa một đầu của một mạch phân tử DNA sợi kép qua hai chu kỳ sao chép. Sau chu kỳ thứ nhất, mạch ra chậm mới ngắn hơn so với mạch làm khuôn. Sau chu kỳ thứ hai, cả hai mạch dẫn đầu và mạch ra chậm đều ngắn hơn so với mạch DNA "mẹ" ban đầu. Mặc dù không được vẽ ở đây, nhưng hiện tượng ngắn dần cũng xảy ra với đầu mút thứ hai còn lại của phân tử DNA.

phân tử DNA con không hoạt hoá các hệ thống theo dõi các sai hỏng DNA của tế bào. (Các đầu "so le" của phân tử DNA, nếu hình thành do sự đứt gãy sợi xoắn kép, thường là tín hiệu thúc đẩy sự dừng lại của chu kỳ tế bào hoặc dẫn đến con đường chết theo chương trình của tế bào).

Cấu trúc đầu mút nhiễm sắc thể không thể giúp phân tử DNA mạch thẳng tránh khỏi việc ngắn lại sau mỗi chu kỳ sao chép, mà chúng chỉ làm chậm sự "ăn mòn" các gene gần đầu tận cùng của các phân tử DNA. Như minh họa trên Hình 16.19, đầu mút nhiễm sắc thể ngắn lại sau mỗi chu kỳ sao chép. Kết quả là, DNA có xu hướng ngày càng ngắn hơn trong các tế bào soma đang phân chia ở người già hoặc trong các tế bào nuôi cấy đã trải qua nhiều lần phân bào. Người ta cho rằng sự ngắn dần của đầu mút các nhiễm sắc thể bằng cách nào đó có liên quan trực tiếp với quá trình già hoá ở những mô nhất định, thậm chí với sự già hoá của toàn bộ cơ thể.

Nhưng điều gì xảy ra với các tế bào mà hệ gene của chúng vốn cần được duy trì nguyên vẹn qua nhiều thế hệ sinh sản? Nếu các nhiễm sắc thể ở các tế bào mầm sinh dục (các tế bào sinh giao tử) trở nên ngắn hơn sau mỗi chu kỳ tế bào, thì những gene thiết yếu cuối cùng sẽ mất đi trong các tế bào giao tử mà chúng sinh ra. Tuy vậy,



▲ **Hình 16.20 Đầu mút nhiễm sắc thể.** Các sinh vật nhân thực có các trình tự lặp lại, không mã hoá ở phần tận cùng của các phân tử DNA mạch thẳng và được gọi là đầu mút. Hình trên là nhiễm sắc thể ở chuột có phần đầu mút nhuộm màu vàng.

trong thực tế, điều này không xảy ra. Có một enzyme được gọi là **telomerase**, đã xúc tác việc kéo dài đầu mút trong các tế bào mầm sinh dục ở sinh vật nhân thực qua đó, bù đắp các nucleotide bị mất sau mỗi chu kỳ sao chép và phục hồi lại chiều dài ban đầu của các phân tử DNA. Enzyme telomerase không hoạt động ở hầu hết các tế bào soma ở người, nhưng hoạt tính của nó trong các tế bào mầm sinh dục giúp đầu mút các nhiễm sắc thể ở hợp tử thường đạt được độ dài tối đa.

Việc đầu mút nhiễm sắc thể ở các tế bào soma thường ngắn đi sau mỗi lần phân bào cũng có thể giúp bảo vệ cơ thể khỏi sự phát sinh ung thư, bởi vì qua cơ chế này số lần phân bào của các tế bào soma bị hạn chế. Các tế bào của các khối u lớn thường có các đầu mút nhiễm sắc thể ngắn bất thường, có thể do chúng đã trải qua nhiều lần phân bào. Nếu đầu mút nhiễm sắc thể tiếp tục ngắn đi thì các tế bào khối u có thể chết tự phát. Nhưng điều ngạc nhiên là các nhà khoa học đã tìm thấy enzyme telomerase hoạt động mạnh ở nhiều tế bào ung thư; điều này cho thấy khả năng của enzyme này trong việc giúp duy trì sự ổn định đầu mút nhiễm sắc thể ở các tế bào ung thư. Nhiều tế bào ung thư dường như có khả năng phân bào không hạn chế, chẳng hạn như các dòng tế bào "bất tử" khi được đưa vào nuôi cấy *in vitro* (xem Chương 12). Nếu enzyme telomerase là một nhân tố quan trọng trong phát sinh nhiều bệnh ung thư khác nhau, thì enzyme này có thể là một "mục tiêu" hiệu quả trong chẩn đoán và điều trị các bệnh ung thư tương ứng.

Cho tới lúc này, chúng ta đã đề cập về cấu trúc và sự sao chép DNA sợi kép. Trong phần tiếp theo, chúng ta sẽ xem DNA được đóng gói như thế nào trong các nhiễm sắc thể, cấu trúc của tế bào vốn được coi có vai trò mang thông tin di truyền.

KIỂM TRA KHÁI NIỆM

16.2

1. Nguyên tắc kết cặp bổ sung của các base nitrogen có vai trò thế nào trong sao chép DNA?
2. Nêu hai chức năng chính của DNA pol III trong sao chép DNA?
3. **ĐIỀU GÌ NẾU?** Nếu DNA pol I bị mất chức năng, thì sự sao chép **mạch dẫn đầu** sẽ bị ảnh hưởng như thế nào? Trong "Bóng sao chép tổng quát" ở Hình 16.17, xác định vị trí hoạt động của DNA pol I trên mạch dẫn đầu.

Câu trả lời có trong Phụ lục A.

Mỗi nhiễm sắc thể gồm một phân tử DNA được đóng gói cùng với các phân tử protein

Thành phần chính trong hệ gene ở hầu hết vi khuẩn là một phân tử DNA sợi kép, mạch vòng liên kết với một lượng nhỏ protein. Mặc dù chúng ta thường coi cấu trúc này là *nhiễm sắc thể vi khuẩn*, nhưng thực tế cấu trúc này rất khác so với một nhiễm sắc thể điển hình ở sinh

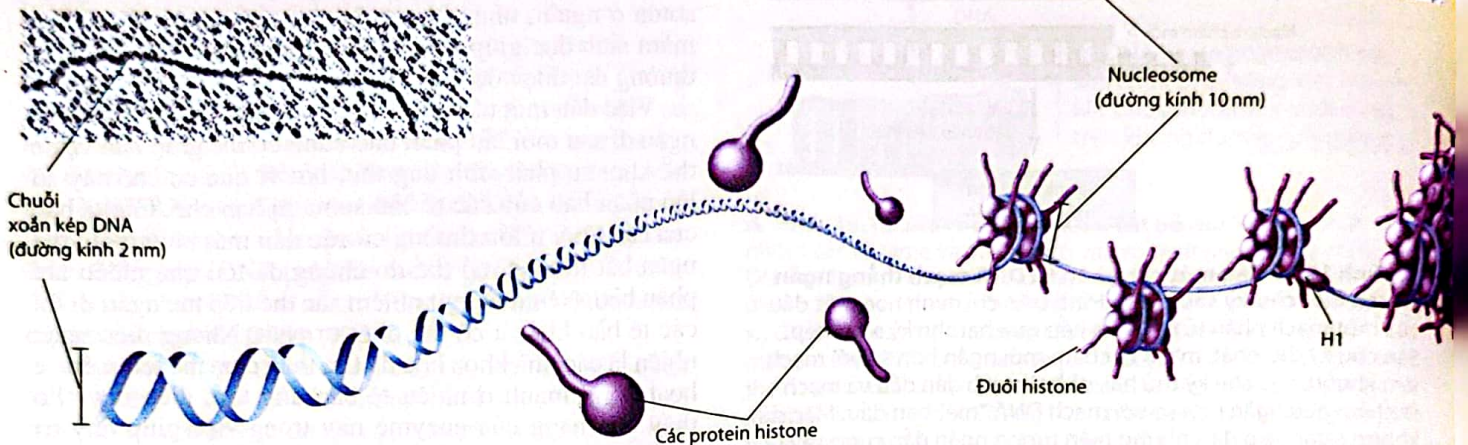
vật nhân thực vốn thường bao gồm một phân tử DNA sợi kép mạch thẳng liên kết với một lượng lớn protein. Ở *E. coli*, DNA nhiễm sắc thể bao gồm khoảng 4,6 triệu cặp nucleotide, tương ứng với khoảng 4400 gene. Lượng DNA này gấp khoảng 100 lần so với một hệ gene virus điển hình, nhưng chỉ bằng khoảng một phần nghìn so với lượng DNA có trong một tế bào soma ở người. Dù vậy, lượng DNA ở vi khuẩn cũng đã là rất lớn so với kích thước của tế bào.

Nếu duỗi thẳng, phân tử DNA trong một tế bào *E. coli* có thể đo bằng đơn vị milimet và dài hơn khoảng 500 lần so với kích thước của tế bào. Tuy vậy, trong tế bào nhờ

▼ Hình 16.21

Khảo sát Đóng gói chất nhiễm sắc trong nhiễm sắc thể sinh vật nhân thực

Chuỗi sơ đồ và ảnh hiển vi điện tử truyền qua dưới đây mô tả mô hình biểu diễn các cấp độ gấp xoắn và siêu xoắn của nhiễm sắc thể. Các hình minh họa được phóng đại từ cấp độ cấu trúc của một phân tử DNA đơn lẻ tới nhiễm sắc thể ở kỳ giữa nguyên phân là lúc nhiễm sắc thể co xoắn cực đại và có thể quan sát được dưới kính hiển vi quang học thông thường.



1 Chuỗi xoắn kép DNA

Ở đây minh họa mô hình dài ruy băng DNA; trong đó, mỗi dải ruy băng biểu diễn một khung đường - phosphate. Từ Hình 16.7, chúng ta nhớ rằng gốc phosphate phân bố dọc khung phân tử này và làm cho phần ngoài phân tử DNA có đặc tính tích điện âm suốt dọc chiều dài phân tử. Ảnh TEM ở trên cho thấy một phân tử DNA trần (không liên kết protein); đường kính của riêng chuỗi xoắn kép này là 2 nm.

2 Các histone

Các protein histone có vai trò đóng gói DNA vào chất nhiễm sắc ở cấp độ đầu tiên. Tuy mỗi phân tử histone chỉ có kích thước nhỏ (khoảng 100 amino acid), nhưng tổng khối lượng các histone trong chất nhiễm sắc gần tương đương với lượng DNA. Các amino acid tích điện dương (lysine hoặc arginine) chiếm hơn 1/5 tổng số các amino acid có trong histone.

Bốn loại histone phổ biến nhất trong chất nhiễm sắc là H2A, H2B, H3 và H4. Các histone này rất giống nhau ở mọi sinh vật nhân thực. Ví dụ, histone H4 ở bò chỉ khác histone H4 ở cây đậu đúng 2 amino acid, còn lại là giống hệt nhau. Sự bảo thủ của protein histone trong suốt quá trình tiến hóa cho thấy vai trò quan trọng sống còn của protein này trong tổ chức DNA của các tế bào sống.

Bốn loại histone chính có vai trò quyết định cấp độ đóng gói tiếp theo của DNA. (Một loại histone thứ năm là H1 liên quan đến một bước đóng gói tiếp theo của chất nhiễm sắc).

3 Nucleosome, hay "chuỗi hạt" (sợi 10-nm)

Trên ảnh hiển vi điện tử, sợi nhiễm sắc ở cấp tổ chức này, nếu không gấp xoắn, có đường kính 10 nm (sợi 10 nm). Sợi nhiễm sắc có dạng giống như một chuỗi hạt với các "hạt" xếp cách nhau tương đối đều đặn. Mỗi "hạt" là một nucleosome; đây chính là đơn vị cơ bản trong đóng gói DNA; "sợi" nối giữa các "hạt" được gọi là các đoạn DNA nối.

Một nucleosome luôn gồm DNA cuộn quanh lõi protein 1,65 vòng; lõi protein được cấu tạo từ 8 phân tử của 4 loại histone chính (mỗi loại đóng góp 2 phân tử). Đầu amino (đầu N) tận cùng của mỗi histone (đuôi histone) thường thò ra ngoài nucleosome.

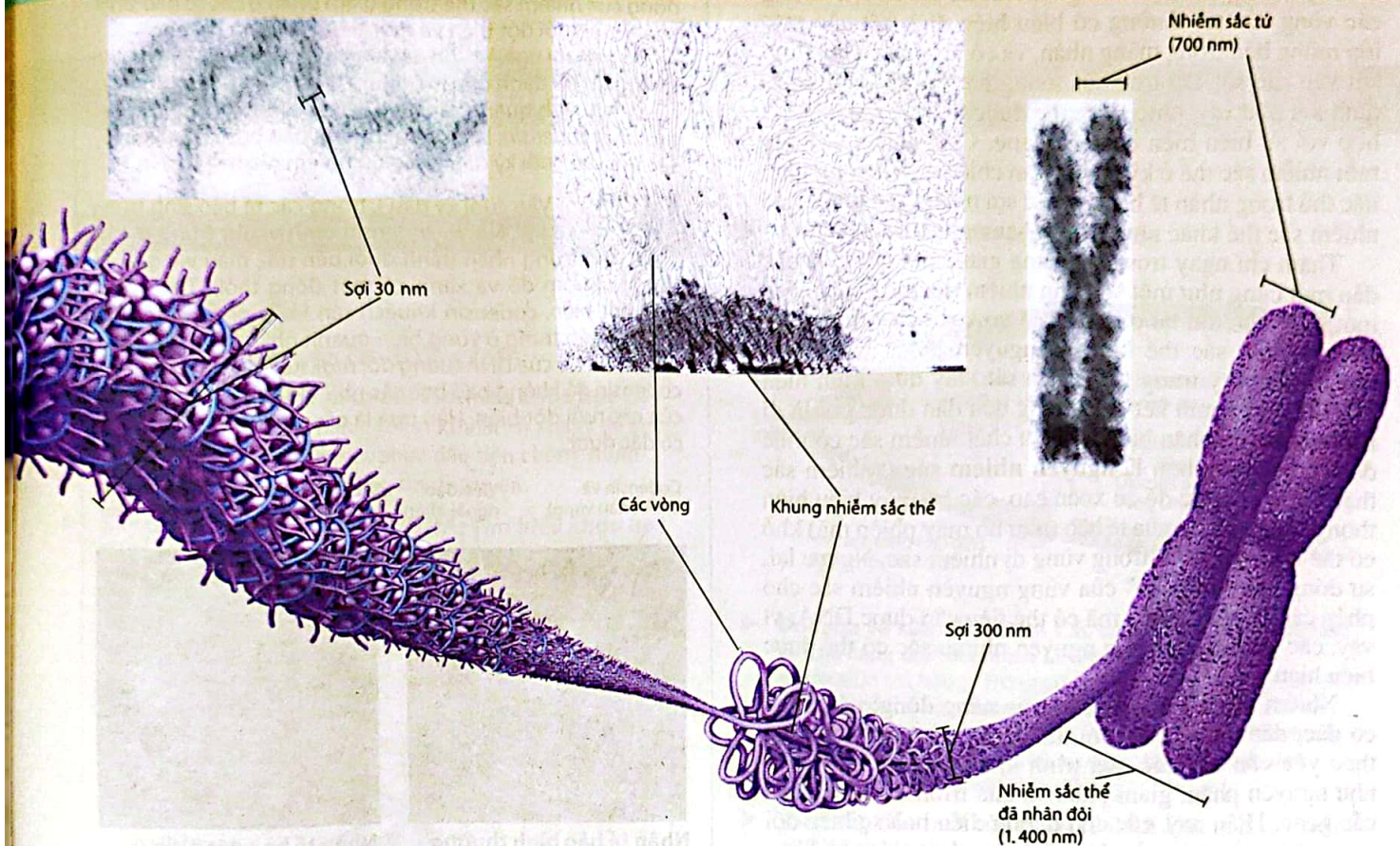
Trong chu kỳ tế bào, khi DNA sao chép, các histone rời khỏi DNA trong thời gian ngắn. Nhìn chung, hiện tượng tương tự xảy ra khi gene được phiên mã vì bộ máy của tế bào phải tiếp cận được DNA. Chương 18 sẽ đề cập những phát hiện gần đây về vai trò của nucleosome và đuôi histone trong điều hòa biểu hiện gene ở sinh vật nhân thực.

tương tác với một số loại protein nhất định, nhiễm sắc thể thường ở dạng gấp xoắn thậm chí “siêu xoắn” để có thể đóng gói chặt và chỉ chiếm một khoảng không gian hạn chế trong tế bào. Không giống nhân ở tế bào sinh vật nhân thực, vùng chứa DNA mật độ cao ở vi khuẩn không có lớp màng bao bọc và được gọi là **vùng nhân** (xem Hình 6.6).

Mỗi nhiễm sắc thể ở sinh vật nhân thực đều chứa một chuỗi xoắn kép DNA mạch thẳng duy nhất; ở người, kích thước trung bình vào khoảng $1,5 \times 10^8$ cặp nucleotide. Lượng DNA như vậy là lớn hơn nhiều so với chiều dài nhiễm sắc thể khi co xoắn cực đại. Nếu duỗi thẳng, mỗi

phân tử DNA ở hệ gene nhân người có chiều dài trung bình trên 4 cm, tức là dài hơn hàng nghìn lần so với đường kính của nhân tế bào - đó là chưa kể đến 45 nhiễm sắc thể khác còn lại đồng thời có mặt trong nhân tế bào!

Trong tế bào, DNA của sinh vật nhân thực kết hợp chính xác với một lượng lớn protein. Phức hợp DNA với protein được gọi là **chất nhiễm sắc**, có thể gói gọn vào trong nhân tế bào nhờ hệ thống đóng gói DNA ở nhiều cấp độ khác nhau. Hiểu biết hiện nay của chúng ta về các cấp độ đóng gói DNA được minh họa trên **Hình 16.21**. Hãy quan sát kỹ hình này trước khi đọc các phần tiếp theo.



4 Sợi 30-nm

Cấp độ đóng gói DNA tiếp theo là do tương tác giữa các đuôi histone của một nucleosome với phần DNA nối và với các nucleosome liên kế ở hai bên. Ở cấp độ đóng gói này, có sự tham gia của một histone thứ năm là H1. Các mối tương tác này làm sợi nhiễm sắc 10 nm tiếp tục cuộn gấp và tạo nên sợi có chiều dày khoảng 30 nm (**sợi 30 nm**). Mặc dù sợi 30 nm rất phổ biến trong kỳ trung gian của chu kỳ tế bào, nhưng còn nhiều quan điểm khác nhau về sự sắp xếp các nucleosome ở bậc cấu trúc này.

5 Các vùng vòng (sợi 300-nm)

Các sợi 30 nm tiếp tục cuộn vòng hình thành nên dạng cấu trúc giống “thông lọng”, gọi là **vùng vòng**, dính vào khung nhiễm sắc thể được cấu tạo nên từ các protein. Cấu trúc này gọi là **sợi 300 nm**. Khung nhiễm sắc thể thường có thành phần giàu về một loại topoisomerase, đồng thời có mặt histone H1.

6 Nhiễm sắc thể kỳ giữa

Trong một nhiễm sắc thể đang nguyên phân, các vùng vòng tiếp tục cuộn gấp bằng cách nào đó cho đến nay chưa biết đầy đủ để tạo nên một dạng nhiễm sắc thể co xoắn cực đại như được minh họa bằng ảnh hiển vi điện tử ở trên. Chiều rộng của nhiễm sắc tử khoảng 700 nm. Các gene nhất định luôn được tìm thấy ở vị trí đặc thù của chúng trên nhiễm sắc thể kỳ giữa; điều này cho thấy: các cấp độ đóng gói cao hơn của nhiễm sắc thể cũng có tính đặc hiệu và chính xác rất cao.

Trong chu kỳ tế bào, chất nhiễm sắc phải trải qua những thay đổi về cấp độ đóng gói của nó (xem Hình 12.6). Khi nhuộm nhiễm sắc thể ở kỳ trung gian và quan sát dưới kính hiển vi, chất nhiễm sắc thường được thấy ở dạng khuếch tán tương đối đều khắp nhân tế bào; lúc này, nhiễm sắc thể ở dạng giãn xoắn. Khi tế bào chuẩn bị nguyên phân, chất nhiễm sắc cuộn xoắn (cô đặc), cuối cùng ở kỳ giữa hình thành nên một số lượng đặc trưng các nhiễm sắc thể cô kích thước ngắn và dày, có thể phân biệt được bằng kính hiển vi quang học.

Mặc dù các nhiễm sắc thể ở kỳ trung gian thường có mức độ cô đặc thấp hơn nhiều so với nhiễm sắc thể trong nguyên phân, nhưng nó cũng có các cấp độ đóng gói ở bậc cao. Một số chất nhiễm sắc bao gồm các vùng có cấu trúc sợi 10nm, bên cạnh những vùng khác đóng gói thành sợi 30nm; những vùng này có thể tiếp tục đóng gói thành các vòng. Mặc dù một nhiễm sắc thể ở kỳ trung gian thường không có một khung nhiễm sắc thể rõ rệt, nhưng các vòng của nó thường có biểu hiện dính kết vào một lớp mỏng bên trong màng nhân, và có lẽ cũng có thể dính kết vào các sợi cấu trúc nên mạng lưới nhân. Bằng cách dính kết như vậy, nhiễm sắc thể được tổ chức ở dạng phù hợp với sự biểu hiện của các gene. Chất nhiễm sắc của mỗi nhiễm sắc thể ở kỳ trung gian chiếm một không gian đặc thù trong nhân tế bào, và các sợi nhiễm sắc thuộc các nhiễm sắc thể khác nhau không vướng mắc vào nhau.

Thậm chí ngay trong kỳ trung gian, tâm động và các đầu mút cũng như một số vùng nhiễm sắc thể khác trong một số tế bào tồn tại ở trạng thái co xoắn cao giống như trong nhiễm sắc thể kỳ giữa nguyên phân. Kiểu chất nhiễm sắc ở kỳ trung gian quan sát thấy dưới kính hiển vi ở dạng các cụm kết đặc không đều đặn được gọi là **dị nhiễm sắc**, để phân biệt với kiểu chất nhiễm sắc có mức độ kết đặc thấp hơn là **nguyên nhiễm sắc** ("nhiễm sắc thật"). Do có mức độ co xoắn cao, các bộ máy biểu hiện thông tin di truyền của tế bào (như bộ máy phiên mã) khó có thể tiếp cận DNA trong vùng dị nhiễm sắc. Ngược lại, sự đóng gói "lỏng lẻo" của vùng nguyên nhiễm sắc cho phép các bộ máy phiên mã có thể tiếp cận được DNA; vì vậy, các gene trong vùng nguyên nhiễm sắc có thể được biểu hiện.

Nhiễm sắc thể là một cấu trúc năng động; nó có thể cô đặc, giãn xoắn, biến đổi, thậm chí thay đổi cấu hình theo yêu cầu của các quá trình khác nhau trong tế bào như nguyên phân, giảm phân và quá trình biểu hiện của các gene. Hiện nay, các con đường điều hoà sự biến đổi của chất nhiễm sắc vẫn đang tiếp tục được các nhà khoa học tập trung nghiên cứu. Tuy vậy, một vấn đề đã trở nên rõ ràng là các histone không chỉ đơn thuần là các "lõi cuộn chỉ" để DNA có thể quấn quanh trong cấu trúc chất nhiễm sắc. Thay vào đó, sự biến đổi hoá học của các protein histone có vai trò trực tiếp làm thay đổi mức độ tổ chức của chất nhiễm sắc và tham gia điều hoà sự biểu hiện của các gene. Terry Orr-Weaver, nhà khoa học được phỏng vấn ở phần đầu của khối kiến thức Di truyền học này (các trang 246 - 247), cùng các cộng sự của mình đã nghiên cứu về cơ chế phân tử liên quan đến động học nhiễm sắc thể trong nguyên phân và giảm phân. Với các nghiên cứu ở *Drosophila*, các nhà khoa học đã chỉ ra rằng sự phosphoryl hoá một số amino acid đặc thù trong vùng đuôi histone có vai trò quyết định động thái của nhiễm sắc thể trong kỳ đầu của giảm phân I (**Hình 16.22**). Sự phosphoryl hoá và các biến đổi hoá học khác của các

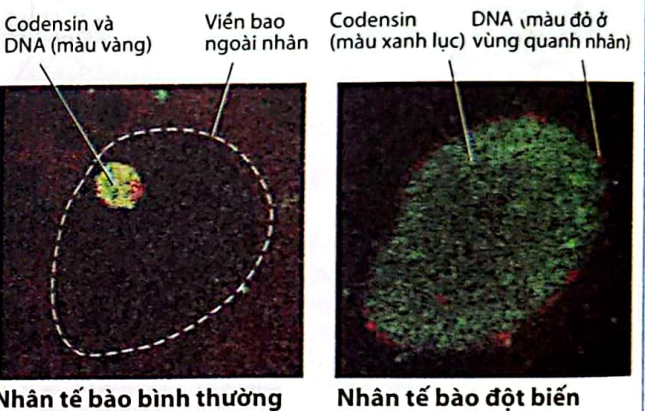
▼ Hình 16.22 Tìm hiểu

Sự phosphoryl hoá histone có vai trò gì trong hoạt động của nhiễm sắc thể ở giảm phân?

THÍ NGHIỆM Terry Orr-Weaver và các cộng sự tại Viện Công nghệ Massachusetts đã tiến hành gây đột biến thực nghiệm ở ruồi quả nhằm tìm ra các thể đột biến bất thụ với suy nghĩ cho rằng những thể đột biến đó có thể liên quan đến các gene mã hoá cho các protein giữ vai trò quan trọng trong giảm phân. Từ đó, họ đã tìm ra một đột biến ở gene *nhk-1* gây bất thụ ở ruồi cái. Họ biết rằng sản phẩm của gene này là histone kinase-1 (NHK-1), một enzyme có vai trò phosphoryl hoá một amino acid đặc thù ở vùng đuôi của histone H2A. Họ đã giả thiết rằng nguyên nhân gây nên tính bất thụ là do enzyme này không hoạt động chức năng đúng, dẫn đến động thái bất thường của nhiễm sắc thể, làm giảm phân bị rối loạn.

Để kiểm tra giả thiết, họ đã quan sát và so sánh sự vận động của nhiễm sắc thể trong giảm phân ở các tế bào sinh trứng của ruồi đột biến và ruồi kiểu dại (bình thường). Trong một thí nghiệm, họ đã dùng một thuốc nhuộm huỳnh quang để đánh dấu nơi định vị của DNA và một thuốc nhuộm huỳnh quang xanh lục để xác định nơi định vị của protein *condensin*, là protein thường bao bọc các nhiễm sắc thể vào cuối kỳ đầu I và giúp nhiễm sắc thể cô đặc.

KẾT QUẢ Vào cuối kỳ đầu I, trong các tế bào sinh trứng ở ruồi kiểu dại, DNA và *condensin* định vị tập trung ở một vùng nhỏ trong nhân (hình dưới bên trái; màu vàng là do thuốc nhuộm đỏ và xanh có mặt đồng thời). Tuy vậy, ở ruồi đột biến, *condensin* khuếch tán khắp nhân; trong khi DNA chỉ tập trung ở vùng biên quanh nhân (hình dưới bên phải; màu đỏ của DNA tương đối mờ). Kết quả này cho thấy: *condensin* đã không bao bọc các nhiễm sắc thể trong tế bào của các ruồi đột biến. Hậu quả là các nhiễm sắc thể không cô đặc được.



KẾT LUẬN Do quá trình giảm phân không thể diễn ra bình thường khi enzyme histone kinase NHK-1 không biểu hiện đúng chức năng của nó, nên các nhà khoa học đã kết luận rằng sự phosphoryl hoá đặc thù ở đuôi N của histone H2A là thiết yếu để hoạt động của các nhiễm sắc thể trong giảm phân có thể diễn ra chính xác.

NGUỒN I. Ivanovska, T. Khandan, T. Ito and T.L.Orr-Weaver, A histone code in meiosis: the histone kinase, NHK-1, is required for proper chromosomal architecture in *Drosophila* oocytes, *Genes and Development* 19: 2571 - 2582 (2005).

ĐIỀU GÌ NẾU? Giả sử một nhà nghiên cứu tìm ra ở ruồi quả một thể đột biến mất amino acid vốn bình thường được phosphoryl hoá bởi histone kinase NHK-1. Đột biến này sẽ ảnh hưởng thế nào đến hoạt động của nhiễm sắc thể trong giảm phân ở các tế bào sinh trứng?

histone có nhiều tác động đến sự hoạt động của các gene, sẽ được đề cập ở Chương 18.

Ở chương này, chúng ta đã tìm hiểu các phân tử DNA được tổ chức như thế nào trong các nhiễm sắc thể và bằng cách nào sự sao chép DNA có thể cung cấp các bản sao của gene mà bố, mẹ có thể chuyển cho con cái. Tuy vậy, trong quá trình di truyền, việc các gene được sao chép và chuyển giữa các thế hệ là cần thiết nhưng chưa đủ; điều quan trọng hơn là các thông tin di truyền đó phải được các tế bào sử dụng. Nói cách khác, các gene còn phải "được biểu hiện". Trong chương tiếp theo, chúng ta sẽ xem các tế bào có thể dịch mã thông tin di truyền được mã hoá trong các phân tử DNA như thế nào.

KIỂM TRA KHÁI NIỆM 16.3

1. Hãy mô tả cấu trúc của nucleosome, đơn vị đóng gói DNA cơ bản ở tế bào sinh vật nhân thực.
2. Hai thuộc tính giúp phân biệt dị nhiễm sắc và nguyên nhiễm sắc là gì?
3. **ĐIỀU GÌ NẾU?** Mặc dù các protein giúp nhiễm sắc thể ở *E. coli* xoắn lại không phải là histone, nhưng theo bạn thuộc tính nào giống với histone mà các protein này cần phải có, xét về khả năng liên kết DNA?

Câu trả lời có trong Phụ lục A.

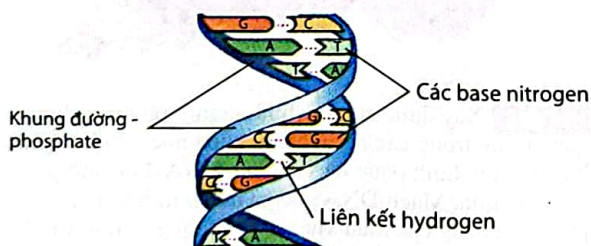
Ôn tập chương 16

TÓM TẮT CÁC KHÁI NIỆM THEN CHỐT

KHÁI NIỆM 16.1

DNA là vật chất di truyền (tr. 305 – 310)

- **Tìm kiếm vật chất di truyền: *Tim hiểu khoa học*** Các thí nghiệm được tiến hành với vi khuẩn và phage đã cung cấp các bằng chứng thuyết phục đầu tiên chứng minh DNA là vật chất mang thông tin di truyền.
- **Xây dựng mô hình cấu trúc DNA: *Tim hiểu khoa học*** Watson và Crick đã tìm ra DNA có cấu trúc xoắn kép. Hai chuỗi đường - phosphate đối song song cuốn quanh phía ngoài phân tử; các base nitrogen hướng vào phía trong, ở đó qua các liên kết hydrogen chúng kết cặp đặc hiệu với nhau, giữa A với T và giữa G với C.

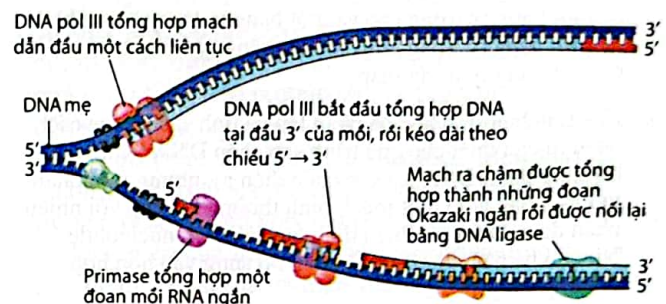


KHÁI NIỆM 16.2

Nhiều protein phối hợp với nhau trong sao chép và sửa chữa DNA (tr. 311 – 319)

- **Nguyên lý cơ bản: *Kết cặp base với mạch khuôn*** Thí nghiệm Meselson - Stahl cho thấy DNA sao chép theo cơ chế bán bảo toàn: phân tử mẹ dẫn xoắn và mỗi mạch của nó sau đó được dùng làm khuôn để tổng hợp nên các mạch mới trên cơ sở nguyên tắc kết cặp bổ sung giữa các base nitrogen.

► Sao chép DNA: *Quan sát chi tiết hơn*



- **Đọc sửa và sửa chữa DNA** Các enzyme DNA polymerase có khả năng đọc sửa mạch DNA mới, thay thế các nucleotide sai hỏng. Trong cơ chế sửa chữa kết cặp sai, các enzyme có thể sửa chữa các lỗi đã tồn tại sẵn. Cơ chế sửa chữa bằng cắt bỏ nucleotide là một quá trình cơ bản trong đó các enzyme có thể cắt bỏ và thay thế một đoạn dài DNA mang các nucleotide sai hỏng.
- **Sao chép đầu mút của phân tử DNA** Đầu mút của phân tử DNA thuộc nhiễm sắc thể sinh vật nhân thực thường ngắn lại sau mỗi chu kỳ sao chép. Sự có mặt của đầu mút, trình tự lặp lại ở các đầu tận cùng của các phân tử DNA mạch thẳng, là cách bảo vệ các gene ở gần đầu mút khỏi sự ăn mòn. Enzyme telomerase xúc tác phản ứng kéo dài đầu mút nhiễm sắc thể ở các tế bào sinh dục mầm.

KHÁI NIỆM 16.3

Mỗi nhiễm sắc thể gồm một phân tử DNA được đóng gói cùng với các phân tử protein (tr. 320 – 323)

- **Nhiễm sắc thể vi khuẩn** thường là một phân tử DNA mạch vòng liên kết với một số protein. Chất nhiễm sắc ở sinh vật nhân thực, cấu thành nên nhiễm sắc thể, gồm DNA, các histone và các protein khác. Các histone liên kết với nhau và với DNA để hình thành nên nucleosome, là đơn vị đóng gói DNA cơ bản nhất. Các đuôi histone chọc ra ngoài phần lõi nucleosome. Sự gập xoắn tiếp theo dẫn đến sự có

đặc cực đại của chất nhiễm sắc ở kỳ giữa. Trong các tế bào ở kỳ trung gian, phần lớn chất nhiễm sắc ở trạng thái cô đặc thấp hơn (nguyên nhiễm sắc), nhưng một số vùng vẫn ở trạng thái cô đặc cao (đi nhiễm sắc). Sự biến đổi của các histone ảnh hưởng đến sự cô đặc của chất nhiễm sắc.

KIỂM TRA KIẾN THỨC CỦA BẠN

TỰ KIỂM TRA

- Trong nghiên cứu của mình tiến hành ở chuột và vi khuẩn gây bệnh lao phổi, Griffith phát hiện ra rằng
 - vỏ protein từ các tế bào gây bệnh có khả năng chuyển các tế bào không gây bệnh thành các tế bào gây bệnh.
 - các tế bào gây bệnh sau khi đun vẫn có khả năng gây bệnh lao phổi.
 - một số chất từ các tế bào gây bệnh được truyền sang các tế bào không gây bệnh và làm chúng trở thành dạng gây bệnh.
 - vỏ polysaccharide của vi khuẩn gây bệnh lao phổi.
 - các bacteriophage tiêm DNA vào vi khuẩn.
- Các tế bào *E. coli* được nuôi trong môi trường ^{15}N , rồi chuyển sang môi trường ^{14}N và cho sinh trưởng qua hai thế hệ (hai chu kỳ sao chép DNA). Sau đó, DNA được tách chiết từ những tế bào này rồi đem ly tâm. Hãy dự đoán sự phân bố tỷ trọng của DNA trong thí nghiệm này.
 - một băng tỷ trọng cao và một băng tỷ trọng thấp
 - một băng tỷ trọng trung bình
 - một băng tỷ trọng cao và một băng tỷ trọng trung bình
 - một băng tỷ trọng thấp và một băng tỷ trọng trung bình
 - một băng tỷ trọng thấp
- Một nhà hoá sinh học đã phân lập và tinh sạch được các phân tử cần thiết cho quá trình sao chép DNA. Khi cô ta bổ sung thêm DNA, sự sao chép diễn ra, nhưng mỗi phân tử DNA bao gồm một mạch bình thường kết cặp với nhiều phân đoạn DNA có chiều dài gồm vài trăm nucleotide. Nhiều khả năng là cô ta đã quên bổ sung vào hỗn hợp thành phần gì?
 - DNA polymerase
 - DNA ligase
 - Các nucleotide
 - Các đoạn Okazaki
 - Primase
- Cơ sở nào dẫn đến hiện tượng mạch dẫn đầu và mạch ra chậm được tổng hợp khác nhau trong quá trình sao chép DNA?
 - Điểm khởi đầu sao chép chỉ có ở phía đầu 5'.
 - Enzyme helicase và các protein liên kết mạch đơn chỉ hoạt động ở đầu 5'.
 - DNA polymerase chỉ có thể nối các nucleotide mới vào phía đầu 3' của mạch đang kéo dài.
 - DNA ligase chỉ hoạt động theo chiều $3' \rightarrow 5'$.
 - Vào mỗi thời điểm, polymerase chỉ hoạt động trên một mạch.
- Khi phân tích thành phần các base khác nhau trong một mẫu DNA, kết quả nào là phù hợp với nguyên tắc bổ sung?
 - $A = G$
 - $A + G = C + T$
 - $A + T = G + T$
 - $A = C$
 - $G = T$

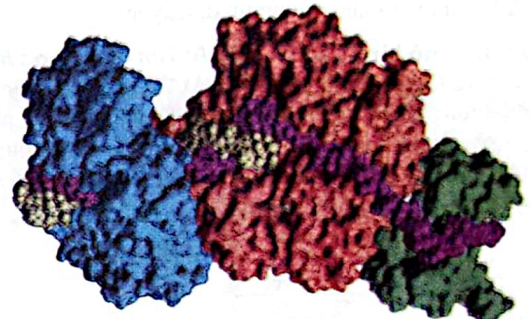
- Sự kéo dài mạch dẫn đầu trong quá trình sao chép DNA
 - ngay càng rời xa chạc sao chép.
 - diễn ra theo chiều $3' \rightarrow 5'$.
 - tạo thành các đoạn Okazaki.
 - phụ thuộc vào hoạt động của DNA polymerase.
 - không cần mạch làm khuôn.
- Khi tự phát mất nhóm amin, adenine chuyển hoá thành hypoxanthine, là một base hiếm thường kết cặp với thymine trong phân tử DNA. Sự phối hợp của những phân tử nào có thể sửa chữa được sai hỏng này?
 - nuclease, DNA polymerase, DNA ligase
 - telomerase, primase, DNA polymerase
 - telomerase, helicase, protein liên kết mạch đơn
 - DNA ligase, các protein chạc sao chép, adenylyl cyclase
 - nuclease, telomerase, primase
- Ở mỗi nucleosome, DNA được quấn quanh bởi
 - các polymerase.
 - các ribosome.
 - các histone.
 - một phức hợp thymine.
 - DNA vi vệ tinh.

Câu trả lời có trong Phụ lục A.

LIÊN HỆ VỚI TIẾN HOÁ

- Một số vi khuẩn có thể đáp ứng được với các tác nhân stress từ môi trường bằng việc tăng tần số đột biến trong quá trình phân bào. Hiện tượng này xảy ra như thế nào? Đây có phải là ưu thế tiến hoá về khả năng này? Giải thích.

TÌM HIỂU KHOA HỌC



- HÃY VẼ** Xây dựng các mô hình là một phương pháp quan trọng trong các nghiên cứu khoa học. Hình trên minh họa một mô hình phức hệ sao chép DNA được mô phỏng bởi máy tính. Mạch DNA gốc và mạch mới tổng hợp được phân biệt bằng các màu khác nhau; tương tự như vậy là ba loại protein: DNA pol III, protein cặp trượt và protein liên kết mạch đơn. Trên cơ sở kiến thức đã học được từ chương này, bạn hãy bổ sung các thông tin để làm rõ mô hình trên bằng việc chú thích vào hình tên các mạch DNA và mỗi loại protein, đồng thời vẽ thêm mũi tên chỉ rõ chiều mà quá trình sao chép đang diễn ra.