

SỰ CHUYỂN VẬT LIỆU DI TRUYỀN Ở VI KHUẨN

1. Khái niệm:

- Biến nạp: là sự chuyển DNA trần từ con cho sang con nhận
- Tải nạp: Virut mang VLDT từ con cho sang con nhận
- Tiếp hợp: sự chuyển VLDT thông qua sự tiếp xúc-cầu nối sinh chất
- Plasmid: là một DNA dạng vòng nằm ngoài vùng nhân
- Môi trường tối thiểu: chỉ có N, C, H₂O
- Ori: vị trí khởi đầu sao chép (không bao giờ nằm ở đầu mút của F, chỉ nằm gần
- F⁺ chỉ chuyển plasmid F cho F⁻ còn Hfr chuyển cả plasmid F và 1 phần VLDT
- Plasmid F có khả năng hình thành long gai giới tính
- Thí nghiệm chuyển VLDT đầu tiên: cấy vi khuẩn chuẩn S-R vào chuột (khuẩn *Diplococcus pneumoniae*) → hiện tượng biến nạp

2. Thí nghiệm về tái tổ hợp VLDT ở vi khuẩn:

- Người phát hiện: Lederberg và Tatum
- Để vi khuẩn phát triển trên môi trường tối thiểu cần 5 loại acid amin: Met, Bio, Thr, Leu, Thi
- $F^+ + F^- \rightarrow 2F^+$
- $F^- + Hfr \rightarrow Hfr + F^-$ (F⁻ nhận 1 số gen của Hfr → khác so với F⁻ ban đầu)

- Xây dựng bản đồ gene Ecoli dựa vào hiện tượng tiếp hợp gián đoạn

- Bản đồ gene của E. coli:
- + NST mạch vòng
- + Dài khoảng 4800Kb
- + Xác định đc khoảng 2000 locus
- + Time chuyển toàn bộ hệ gene từ thể cho sang thể nhận for 100m

3. Tải nạp:

-Do Zinder và Lederberg làm thí nghiệm trên *Salmonella typhimurium*(**ống hình U**):

+Hai chủng vi khuẩn A và B được nuôi trong ống hình U,có màng ngăn vi khuẩn

+A:Phe-,Trp-,Tyr-,Met+,His+

+ B:ngược lại

→Tạo ra tái tổ hợp,Tác nhân giúp cho sự hình thành thể tái tổ hợp được xác định là phage P22

4.Chu trình sinh tan

-Có những phage làm tan tế bào vi khuẩn khi chúng xâm nhập vào đây.Đây là phage sinh tan.VD: phage T2,T4

-Phage độc xâm nhập vi khuẩn,use nguyên liệu của tế bào vi khuẩn để tái bản DNA của chúng,tạo vỏ protein rồi phá vỡ tế bào vi khuẩn và giải phóng ra các phage con.Các phage tạo thành tiếp tục xâm nhiễm các tế bào vi khuẩn liên tiếp

ĐẠI PHÂN TỬ SINH HỌC

1.Tế bào prokaryote:Không có bào quan,không có màng nhân,size small,,VLDT mã hóa hoàn toàn,

2.Tế bào Eukaryote:có bào quan,size big,có màng nhân,VLDT:vùng mã hóa và vùng không mã hóa.

3.Các đại phân tử sinh học:

Đặc điểm chung:phân tử lượng lớn+hình thành từ các đơn phân,gồm: Polysaccharide-Lipid-Protien-Nucleic acid

a.Đường:

Chức năng:Màng tế bào Eukaryote có gắn đường đa + dự trữ năng lượng

b.Polysaccharide:

Gồm :glycogen,cellulose,tinh bột,agarose

c.Lipid:

-Dự trữ năng lượng,thành phần không thể thiếu của Hoocmon,Thành phần màng tế bào(lớp đôi phospholipid:màng ngoài ưa nước,màng trong kỵ nước) -Phân tử không phân cực

4. Các bậc cấu trúc của Polypeptide (thành phần của protein)

- Không phải protein nào cũng có cấu trúc bậc 2 và 4, nhưng phải luôn có 1 và 3
- Bậc 1: chuỗi amino acid liên kết với nhau bằng lk peptide
- Bậc 2: Xoắn anpha và sheet (phiên) beta
- Bậc 3: gồm các cấu trúc bậc 2, lk với nhau dạng không gian 3 chiều
- Bậc 4: nhiều cấu trúc bậc 3 lk

a. Cấu trúc tổ nhận

- Tổ nhận được hình thành từ cấu trúc xoắn anpha (giúp linh động và mềm dẻo) và sheet beta (giúp bền chắc)

b. Protein được cấu tạo từ các Modun

- Ví dụ về protein Gal 4 với 2 vùng: (1) Vùng liên kết với DNA. (2) vùng hoạt hóa → khi thay vùng liên kết với DNA của Gal 4 bằng vùng tương ứng của LexA thì protein mới tạo ra sẽ hoạt hóa promoter LexA
- Khai tạo protein lai: các mô đun vẫn giữ chức năng của nó → hoạt hóa Gal4 và nhận biết LexA

5. Một số base nitơ bất thường có trong RNA → tại sao?

6. Phân tử DNA:

- Có đặc tính đôi-song song (mạch kép - các base nitơ liên kết với nhau theo nguyên tắc bổ sung)
- Gồm 3 thành phần: base nitơ - Đường ribo - Nhóm phosphate (đầu 5') → nhóm OH ở đầu 3'

7. RNA

- mRNA: biggest (500-10 000 bases, chiếm 2%)
- tRNA: smallest, chiếm 16% → mang amino acid tới ribosome tổng hợp protein
- rRNA: chiếm 82%

→ Phân tử RNA kém bền hơn DNA là do nhóm OH ở vị trí 2' (linh động, dễ tham gia liên kết hóa học với các phân tử khác → liên kết phosphodiester dễ bị phá vỡ)

8. Các liên kết hóa học yếu

-All các đại phân tử sinh học được hình thành từ liên kết cộng hóa trị

+Acid amin hình thành liên kết peptide

+Nucleic :phosphodiester

+Đường đa:liên kết cộng hóa trị

-Đặc điểm liên kết yếu:

+Lực liên kết yếu

+Không phụ thuộc vào hóa trị

+Có tính linh động

→Vai trò:

-Xác định hình dạng các đại phân tử sinh học(hình thành cấu trúc)

-Tạo thành các tập hợp đại phân tử sinh học.Ví dụ:thành phần màng:protein màng,lớp đôi phospholipid liên kết bằng liên kết hóa học yếu

-Hình thành tương tác giữa các đại phân tử sinh học: Protein-protein,Protein-DNA....

-So sánh các lực liên kết: Cộng hóa trị > Kị nước > Ion > hydrogen > Wan der waals

9. Nhiễm sắc chất,nhiễm sắc thể

-NSC :là chất nhuộm màu,co xoắn cực đại thành NST.gồm Đồng NSC và Dị NSC

+Đồng NSC:là NSC ở dạng không nén chặt→ vùng NSC hoạt động

+Dị NSC:NSC xoắn nhiều→ NST bất hoạt,nằm ở vùng tâm động or đầu NST

-Hiện tượng Lyon hóa:làm bất hoạt 1 NST

-Bộ gen của Eukaryote thường là NST(DNA liên kết với protein histon

-NST của Prokaryote:DNA liên kết với protein **lai** Histon

-Sự khác nhau giữa gen E.coli và gen người là:gen người có vùng không mã hóa(95%)

-NST của E.coli dài 1mm,ở người là 2m!

QUÁ TRÌNH SAO CHÉP

1.Sao chép bán bảo tồn: Thí nghiệm của Meselson và Stahl: $N^{15} \rightarrow N^{14} \rightarrow N^{14}$

2.Trình tự khởi đầu sao chép DNA(Ori C)

-Các đơn phân DnaA gắn lên trình tự lặp lại “ 9 cặp base”

-Các DnaA tiếp tục gắn lên trình tự lặp lại “ 13 cặp base”

-Mạch NDA tách rời ở vùng”trình tự 13 cặp base”

-Phức hợp DnaB/DnaC đến liên kết với các DnaA → hình thành chẽ ba sao chép

-DnaB :tách mạch

3.Sự tách mạch

-DNA pro tồn tại ở dạng vòng,helicase giải xoắn ở đầu chẽ ba → tạo áp lực xoắn ở đầu chẽ ba sao chép→ Topoimerase giúp giải áp lực xoắn ở 2 đầu chẽ ba

-Topoimearase I : Tháo xoắn dạng DNA siêu xoắn→ gắn vào DNA → cắt 1 mạch DNA →DNA tháo xoắn chỗ đứt gãy

- Topoimearase II :cắt 2 mạch DNA

→ -Gyrase(DnaB):là tên gọi của Helicase ở E.coli

-SSB protein:ôn định mạch đơn đã tách rời(duy trì trạng thái chẽ ba)

3.Chẽ bao sao chép(ở E.coli)

-Hai phân tử DNA pol III tổng hợp mạch tới và mạch chậm theo cùng chiều(3’ -5’)

-Chiều tổng hợp mạch tới và mạch chậm ngược chiều nhau

-Hai phân tử DNA pol III di chuyển cùng chiều với chiều giải xoắn của DNA

4.Đặc tính hoạt động của DNA pol

-DNA pol tổng hợp mạch mới từ primer bắt cặp sẵn trên mạch khuôn

-Chiều tổng hợp 5'-3'

-Enzyme gắn các nucleotide tự do vào nucleotide cuối trên mạch thông qua phản ứng giữa nhóm phosphate với nhóm 3' tạo thành liên kết phosphodiester

-DNA pol I và III có hoạt tính exonuclease 3'-5' và 5'-3'

-DNA pol II chỉ có hoạt tính exonuclease 3'-5'

5.Các tiểu phần của DNA pol III (xem trong slide)

6.Sao chép ở EUK-replicon

-DNA euk gồm nhiều replicon, Pro chỉ có 1 replicon

-Sao chép phức tạp và chậm hơn so với pro

-Cơ chế kiểm soát sao chép lặp lại ở 1 ori

7.Các protein cần cho quá trình sao chép

-**DnaA**:nhân diện,gắn vào oriC,cảm ứng tách mạch,cảm ứng gắn DnaB,DnaC

-**DnaB**: có vai trò như helicase ở E.coli

-**DnaC**:giúp gắn DnaB vào khuôn

-**DnaG**:primase

-**SSB**:gắn,ổn định DNA mạch đơn

-**DNA gyrase**:giải xoắn DNA

-**DNA pol III**: kéo dài primer,tạo mạch DNA mới,có hoạt tính 3'-5' để loại bỏ nucleotide sai

-**DNA pol I**:thủy phân mồi Rna và thay bằng DNA

-**DNA ligase**: nối các đoạn okazaki

TÍNH BIẾN ĐỘNG CỦA DNA

1.Giả thuyết của Mclintock về màu hạt bắp: Do gene nhảy Ds

2.Cấu trúc của gene nhảy-IS

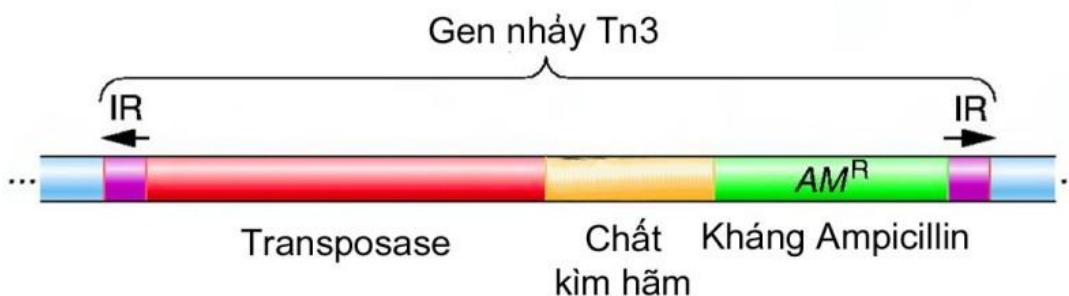
- Vùng trình tự lặp lại đảo ngược IR:vị trí quyết định nhảy
- Trình tự mã hóa transposase:trình tự mã hóa cho enzyme có chức năng nhận diện –cắt-di chuyển-dán trình tự chuyên biệt
- Sự hình thành các vi khuẩn đa kháng thuốc có thể do sự chuyển vị gene
- Sự chuyển vị gene có thể làm thay đổi trình tự DNA và làm thay đổi VLDT:làm bất hoạt và mất chức năng gene mục tiêu

3.Transposon đơn và phức hợp

(a) Gen nhảy phức tạp



(b) Gen nhảy đơn giản



4.Các loại đột biến

- Đột biến điểm:thêm,bớt hay thay thế 1 base
- +Transition: pyrimidine(T,C) →pyrimidine or purine(A,G) →purine
- +Transversions: pyrimidine →purine or purine → pyrimidine
- Thêm bớt những trình tự DNA or tái sắp xếp NST

5,Bệnh thiếu máu hồng cầu hình liềm

- Thay cặp T-A thành A-T dẫn đến thay thế axit amin Glutamic thành Valin

6.Đột biến do tác nhân môi trường

a.Đột biến do thủy phân:

-Nước có thể gây đột biến do:

+Deamin hóa biến C to U hay 5-methyl C to T

+Depurin hóa làm mất base của nucleotide

b.Tác nhân hóa học

-Các chất gây đột biến như tác nhân alkyl hóa,nitrous acid có thể biến đổi cấu trúc DNA thông qua quá trình ethyl/methyl hóa hay deamin hóa

-Sự bắt cặp bất thường của các dạng base hiếm keto và enol

-Các tác nhân gắn chèn vào DNA(ethidium,acridine)

c.Nhân tố vật lý

-Tia bức xạ ion hóa(tia X,grama) tạo các gốc tự do.Gốc tự do biến G → oxoG(có thể bắt cặp cả C lẫn A).Tia bức xạ ion hóa cũng có thể làm gãy mạch đôi

-Tia bức xạ không ion hóa(UV):có thể tạo liên kết hóa học mới như dimer pyrimidine(UV gây ra đột biến DNA bằng cách tạo liên kết cộng hóa trị giữa hai pyrimidine tạo thành dạng dimer → Vi khuẩn sửa sai bằng cách dùng enzyme photolyase cắt liên kết cộng hóa trị của pyrimidine nhờ xúc tác của ánh sáng trắng

d.Nhân tố di truyền

-Virut là nhân tố 4 thuộc nhân tố ngoại lai

7.Các loại đột biến điểm

-Đột biến vùng mã hóa(đột biến hoang dại-thay thế base-thay đổi chuyển dịch khung độ(thêm or bớt 1 nu)):đột biến trong vùng mã hóa →ảnh hưởng trực tiếp tới protein

-Đột biến trên vùng không mã hóa có thể làm:

+Giảm hiệu suất sản xuất protein

+Không sản xuất protein

+Hiệu suất sản xuất protein tăng nhanh đột biến(ít xảy ra)

8.Các dạng đột biến trên DNA

- Đột biến do sai sót trong sao chép
- Đức mạch do cơ học
- Thủy phân liên kết N-glycoside làm mất base purine
- Methyl hóa trên base dẫn tới bắt cặp sai
- Mất nhóm mine dẫn đến bắt cặp sai
- Chuyển dạng enol-keto dẫn đến bắt cặp sai
- Tạo dimer thymine trên cùng một mạch do tia UV

9.Các phương án sửa sai đối với đôi đột biến điểm

- Khả năng xảy ra trong 1 mạch:cắt vùng sai đi,lấy mạch con làm mạch khuôn

10.Sửa sai trong sao chép:

- Hoạt tính 3'-5' exonuclease của DNA pol III và I

11.Sửa sai sao khi sao chép

- Nhân diện mạch DNA không được methyl hóa và sửa sai

12.Cơ chế sao chép bằng loại bỏ nucleotide

- T-G → loại bỏ T → C-G
- + DNA glycosylase cắt bỏ T
- +APEI endonuclease cắt các liên kết
- +AP lyase loại luôn phần nucleotide còn lại
- +DNA pol beta and DNA ligase gắn C -G

13.Sửa sai bằng cơ chế loại bỏ oligonucleotide

Xảy ra khi hình thành thymidine dimer

14. Sửa sai bằng photolyase

-Sửa sai bằng cách dùng enzyme photolyase cắt liên kết cộng hóa trị của pyrimidine nhờ xúc tác của ánh sáng trắng

15. Đột biến đổi khung đọc

-Tế bào không có cơ chế sửa sai

Ôn tập trắc nghiệm

- 1) **Vai trò nào không thuộc vai trò của các liên kết hoá học yếu**
 - a) Hình thành tương tác protein.
 - b) Hình thành cấu trúc protein.
 - c) Hình thành tương tác DNA – protein.
 - d) **Hình thành liên kết peptide**
- 2) **Sắp xếp các liên kết hoá học theo thứ tự từ mạnh đến yếu: 1. liên kết van-der-waals, 2. liên kết cộng hóa trị, 3. Liên kết ion, 4. Liên kết hydro**
 - a) 2>3>1>4.
 - b) 3>2>1>4.
 - c) **2>3>4>1**
 - d) 2>3>1>4.
- 3) **Kết quả của quá trình giao nạp (tiếp hợp) giữa chủng Hfr và F⁻**
 - a) F⁺/F⁻
 - b) **Hfr/F⁻**
 - c) Hfr/Hfr
 - d) Hfr/F⁺
- 4) **Chuyển vật liệu di truyền nào sau đây có đặc điểm là sự truyền DNA từ tế bào cho sang tế bào nhận qua cầu liên bào**
 - a) Tải nạp.
 - b) Biến nạp.
 - c) **Tiếp hợp**
 - d) Cả ba đúng
- 5) **Nếu vùng promoter của 1 gen cấu trúc bị đột biến thì có thể xảy ra hậu quả nào**
 - a) Thay đổi trình tự amino acid trên chuỗi polypeptide do gen đó mã hoá.
 - b) Thay đổi chiều dài chuỗi polypeptide do gen đó mã hoá.

- c) Thay đổi số lượng protein được tạo ra do gen đómã hoá
 - d) Không gây ảnh hưởng gì.
- 6) Enzyme có vai trò giảm áp lực xoắn khi sao chép DNA dạng vòng ở prokaryote
- a) Gyrase.
 - b) SSB.
 - c) **Topoisomerase I và II**
 - d) DNA polymerase.
- 7) Câu nào sau đây sai khi nói về DNA polymerase ở E.Coli
- a) Tất cả các loại DNA polymerase hoạt động đều cần mồi.
 - b) **Chiều tổng hợp DNA polymerase là 5'-3' ở mạch tối và 3'-5' ở mạch chậm**
 - c) Cả DNA polymerase I và III đều có hoạt tính 3'-5' exonuclease.
 - d) Tiểu phần τ giúp 2 phân tử DNA polymerase III gắn lại với nhau.
- 8) Câu nào đúng về đặc điểm của đột biến điểm “ transition” → thay thế
- a) Thêm 1 nucleotide.
 - b) Mất 1 nucleotide.
 - c) **Thay thế 1 pyrimidine = pyrimidine or purine = purine**
 - d) Thay thế 1 pyrimidine = purine or purine = pyrimidine.
- 9) Thành phần nào có mặt tại chĩa 3 sao chép
- a) Primase, DNA polymerase, DNA polymerase I.
 - b) DNaB, DNA polymerase.
 - c) **SSB, DNA polymerase.**
 - d) DnaG, DNaC, DNA polymerase
- a)
- a) Quá trình dừng phiên mã phụ thuộc rho cần năng lượng
 - b) Quá trình dừng phiên mã phụ thuộc rho và không phụ thuộc rho
 - a) nhiều đoạn exon (vùng mã hoá)

ĐỀ 2

Câu 1. Câu nào sau đây sai khi nói về chuyển VLDT ở vi khuẩn:

- a. Tiếp hợp là cơ chế chuyển VLDT hiệu quả nhất
- b. DNA trần có thể được chuyển vào tế bào vi khuẩn khả nạp
- c. Sự chuyển VLDT có thể xảy ra thông qua virut
- d. **Trong quá trình tiếp hợp, có thể hoặc không có xảy ra TTH.**

Câu 2. Câu nào sau đây sai khi nói về chuyển vị gene:

- a. Sự hình thành các vi khuẩn đa kháng thuốc có thể do sự chuyển vị gene.
- b. Sự chuyển vị gen làm thay đổi trình tự DNA mà không làm gia tăng VLDT**
- c. Một IS gồm 2 IR ở hai đầu và trình tự mã hóa transposase.
- d. Sự chuyển vị của retrotransposon bắt buộc phải có hoạt động của enzym reverse transcriptase.

Câu 3. Câu nào sau đây không đúng ở vi khuẩn E.coli, chủng Hfr:

- a. Khi Hfr tiếp hợp với F- thì F- sẽ thành F+**
- b. Khi Hfr tiếp hợp với chủng F- thì hiện tượng tái tổ hợp luôn xảy ra.
- c. Được hình thành khi chủng F+ chuyển plasmid mang nhân tố F vào chủng F-.
- d. Được hình thành khi chủng plasmid F gắn chèn vào MST vi khuẩn.

Câu 4. Câu nào không đúng về quá trình sao chép DNA

- a. Sự sao chép ở pro xảy ra trên nhiều replicon**
- b. Mỗi được tổng hợp trong suốt quá trình sao chép.
- c. Sao chép bán bảo tồn.
- d. Sao chép bán liên tục.

Câu 5. Câu nào sau đây sai khi nói về hậu quả xảy ra do đột biến điểm xảy ra trong vùng gene cấu trúc:

- a. Có thể làm lệch khung.
- b. Luôn làm change trình tự aminoacid của chuỗi polypeptide mà gene mã hóa.
- c. Làm change trình tự nucleotide của gene
- d. Có thể làm change chiều dài chuỗi polypeptide mà gene mã hóa.

Câu 6. Quá trình tái tổ hợp tương đồng:

- a. Tạo ra hai phân tử DNA
- b. Là quá trình trao đổi trình tự DNA tại những vị trí chuyên biệt
- c. Tạo ra hai phân tử DNA TTH or hai phân tử DNA dị hợp tại vùng gene trao đổi chéo
- d. Tạo ra hai phân tử DNA tái tổ hợp và hai phân tử DNA dị hợp tại vùng gene trao đổi chéo

Câu 7. Hệ thống sửa sai sau sao chép ở vi khuẩn dựa trên

- a. Nhận diện mạch DNA không được methyl hóa và sửa sai**
- b. Hoạt tính 3'-5' exonuclease của DNA pol I.
- c. Hoạt tính 5'-3' exonuclease của DNA pol I.
- d. Nhận diện mạch được methyl hóa và loại bỏ các base được methyl hóa.

Câu 8. Tính ổn định của DNA là nhờ cơ chế:

- a. Sao chép và tái tổ hợp.
- b. Cơ chế sửa sai và điều hòa biểu hiện của gene.

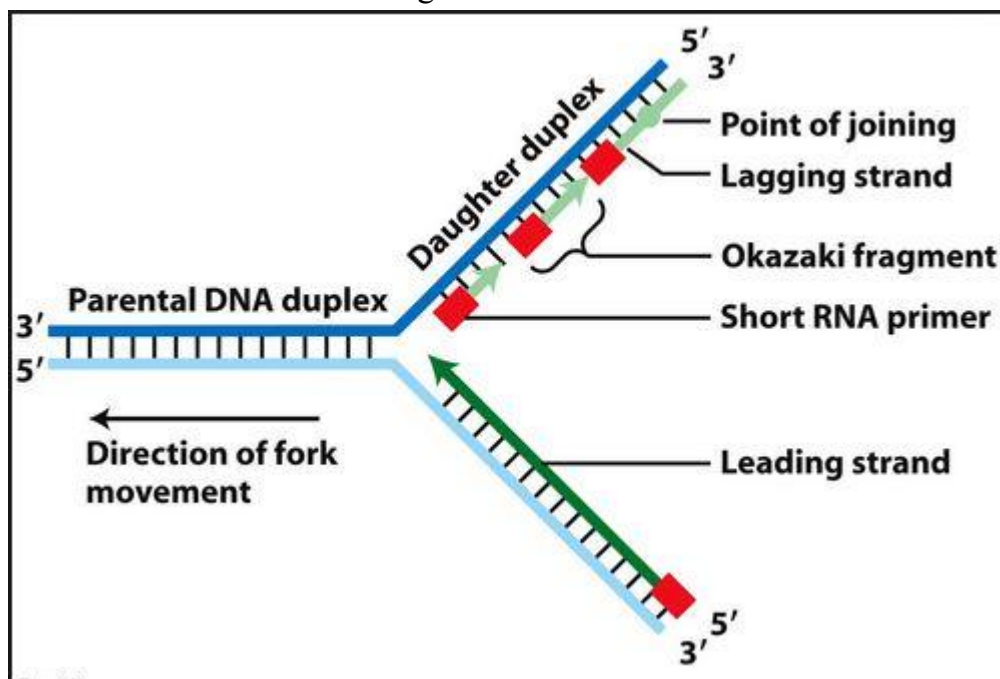
c.Sao chép-phiên mã-dịch mã.

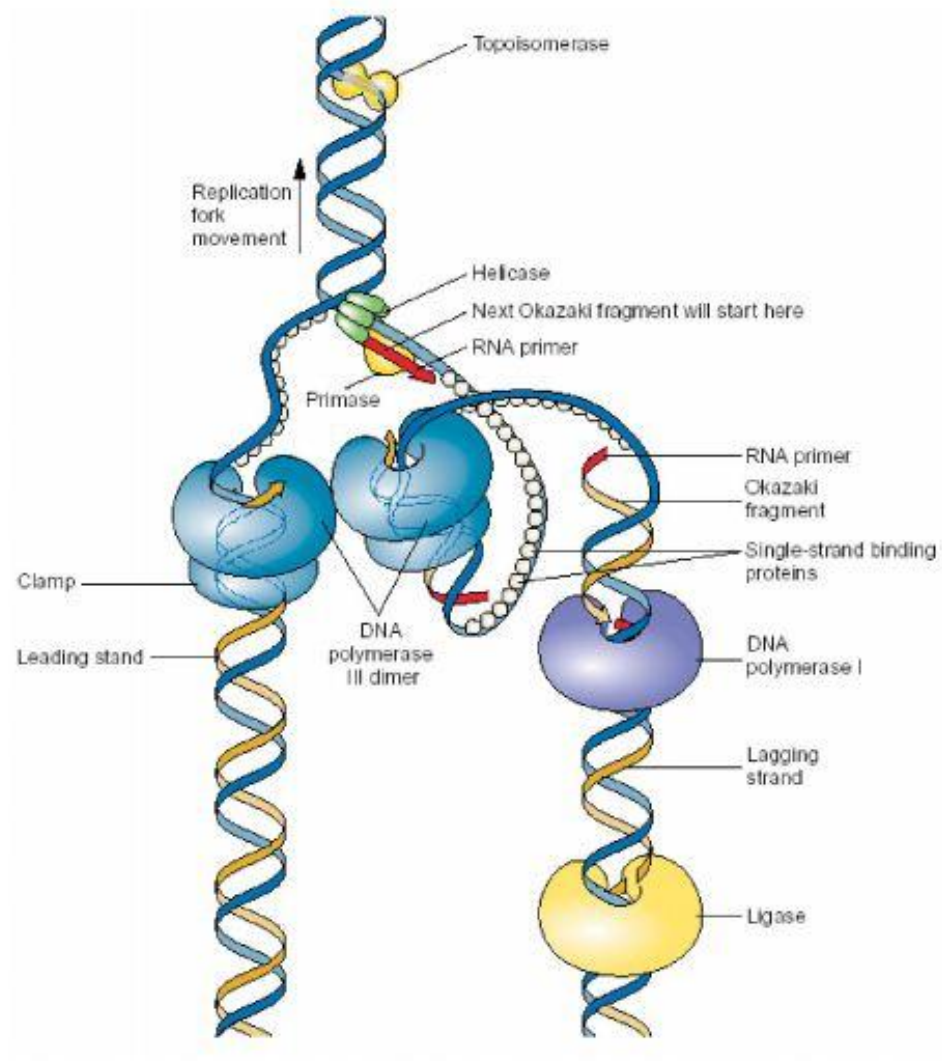
d.Sao chép bán bảo tồn và cơ chế sửa sai

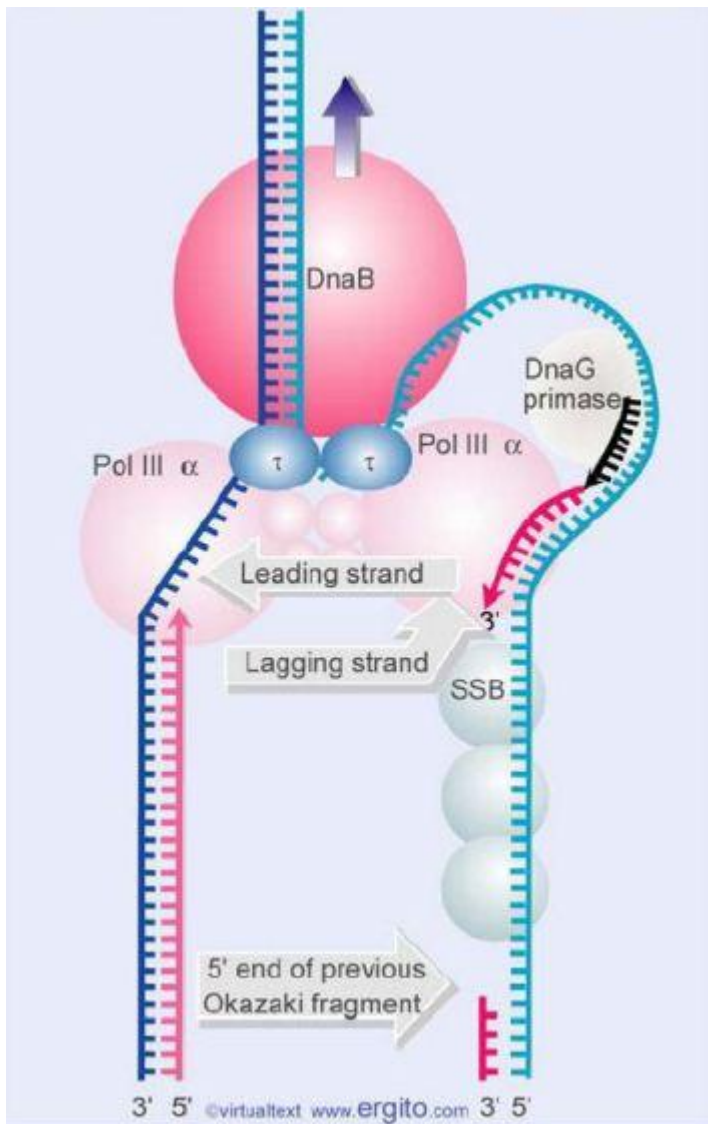
Câu 9.Vai trò của Rec A

- Gắn lên mạch DNA đang có phân tử RecB gắn lên,tạo thuận lợi cho việc nhận biết trình tự tương đồng ở mạch còn lại và hình thành nên phân tử lai
- Tháo xoắn và cắt đứt 1 trog 2 mạch,và dò tìm trình tự tương đồng ở mạch còn lại
- Gắn lên vùng trình tự mạch DNA bị đứt,tạo thuận lợi cho việc nhận biết trình tự tương đồng ở mạch còn lại và hình thành nên phân tử lai**
- Dò tìm vị trí(X) để cắt đứt mạch,tạo thuận lợi cho việc nhận biết trình tự tương đồng ở mạch còn lại và hình thành nên phân tử lai

Câu 10.Xem kĩ các hình trong slide







Chế ba sao chép ở E.coli

