

PGS.TS. Khuất Hữu Thanh

**CƠ SỞ DI TRUYỀN PHÂN TỬ
VÀ KỸ THUẬT GEN**

ĐẠI HỌC BÁCH KHOA HÀ NỘI

Lời nói đầu

Trong những năm gần đây sinh học hiện đại và các kỹ thuật nghiên cứu sinh học không ngừng phát triển, là cơ sở cho các ứng dụng trong nông nghiệp, y học và bảo vệ sức khoẻ con người. Di truyền phân tử và kỹ thuật gen là những chuyên ngành sâu cần thiết cho các nhà sinh học, nhất là các kỹ sư công nghệ sinh học. Công nghệ sinh học hiện đại mà nền tảng là di truyền phân tử và kỹ thuật gen ngày càng có nhiều ứng dụng trong thực tiễn sản xuất phục vụ đời sống của con người. Các thành tựu về giải mã bộ gen người, bộ gen cây lúa, bộ gen chuột, nhân bản động vật... đã mở ra một thời kỳ mới giúp con người hiểu biết, có thể chữa khỏi một số bệnh nan y, nâng cao sức khoẻ và đời sống con người.

Để đáp ứng nhu cầu học tập của sinh viên, chúng tôi biên soạn giáo trình *Cơ sở di truyền phân tử và kỹ thuật gen*, nhằm mục đích cung cấp kiến thức cơ bản trong lĩnh vực di truyền học, di truyền phân tử, các nguyên lý cơ bản của kỹ thuật gen và cơ sở khoa học của một số ứng dụng di truyền phân tử và kỹ thuật gen trong thực tiễn. Giáo trình được biên soạn trên cơ sở phân phối chương trình được bộ Giáo dục & Đào tạo phê duyệt trong chương trình giảng dạy khối Thực phẩm - Sinh học các Trường Đại học kỹ thuật (1997). Giáo trình được dùng làm tài liệu học tập hoặc tham khảo cho sinh viên, học viên cao học, nghiên cứu sinh... các ngành công nghệ sinh học, công nghệ thực phẩm thuộc Viện Công nghệ Sinh học và Công nghệ Thực phẩm Trường Đại học Bách

khoa Hà Nội, Viện Đại học mở Hà Nội và các Trường Đại học khác như Đại học Quốc Gia, Đại học Nông nghiệp...

Chúng tôi xin chân thành cảm ơn GS. TS. Nhà giáo Nhân dân Phan Cự Nhân, PGS. Lê Ngọc Tú đã sửa chữa và đóng góp những ý kiến quý báu. Xin chân thành cảm ơn các đồng nghiệp Phòng nghiên cứu Vi sinh và Kỹ thuật di truyền Trường Đại học Bách khoa Hà nội, đồng viên giúp đỡ, tạo điều kiện hoàn thành giáo trình. Trong quá trình biên soạn giáo trình, chúng tôi đã cố gắng cập nhật các kiến thức hiện đại, bám sát mục đích và tính đặc thù của môn học, tuy nhiên không thể tránh khỏi những thiếu sót. Chúng tôi mong muốn nhận được nhiều ý kiến đóng góp của bạn đọc và đồng nghiệp để giáo trình ngày càng hoàn chỉnh hơn.

Xin chân thành cảm ơn các ý kiến đóng góp của bạn đọc.

PGS.TS. Khuất Hữu Thanh

Mục lục

	Trang
Lời nói đầu	3
Mục lục	5
Chương 1: Vật chất di truyền	12
I. Lược sử nghiên cứu và thành tựu chủ yếu của Di truyền học và Kỹ thuật gen	12
II. Acid nucleic là vật chất mang thông tin di truyền	15
1. Thí nghiệm Griffith	15
2. Thí nghiệm Hershey - Chase	17
III. Cấu trúc của acid nucleic	18
1. Thành phần cấu tạo	18
2. Acid deoxyribonucleic (DNA)	20
3. Acid ribonucleic (RNA)	25
IV. Tính chất biến tính và hồi tính của DNA	27
V. Xu hướng tiến hoá phân tử của vật chất di truyền	29
IV. Vật chất di truyền của một số nhóm sinh vật	30
1. Vật chất di truyền của virus	30
2. Vật chất di truyền của sinh vật <i>prokaryote</i>	31
3. Vật chất di truyền của sinh vật <i>eukaryote</i>	32

Chương 2: Cấu trúc, hoạt động và biểu hiện của GEN	34	
I. Cấu trúc của gen	34	
1. Vùng điều khiển của gen	34	
2. Vùng mang mã di truyền	39	
3. Vùng kết thúc của gen	43	
II. Tái bản gen	43	
1. Tái bản DNA kiểu Okazaki	44	
2. Tái bản DNA kiểu vòng xoay	48	
3. Tái bản DNA sợi đơn và tái bản RNA ở virus	50	
4. Tái bản DNA ở <i>eukaryote</i>	51	
5. Cơ chế tự sửa chữa trong tái bản gen	53	
III. Phiên mã tổng hợp RNA	54	
1. Phiên mã tổng hợp mRNA ở <i>prokaryote</i>	54	
2. Phiên mã tổng hợp mRNA ở <i>eukaryote</i>	59	38
3. Phiên mã tổng hợp rRNA	65	41
4. Phiên mã tổng hợp tRNA	66	42
IV. Dịch mã	67	44
1. Mã di truyền	67	45
2. Quá trình dịch mã	70	48
V. Điều hoà hoạt động và biểu hiện gen	74	49
1. Điều hoà hoạt động và biểu hiện gen của virus	74	51
2. Điều hoà hoạt động và biểu hiện gen ở vi khuẩn	76	53
3. Điều hoà hoạt động và biểu hiện gen ở <i>eukaryote</i>	80	54
VI. Cấu trúc của bộ gen (genome)	83	55
1. DNA lặp lại	83	80
2. Các yếu tố di truyền vận động TGE và gen nhảy	84	83
		57
		61
		62
		63

3. Sự phân hoá các gen trong bộ gen của <i>eukaryote</i>	87	
Chương 3: Di truyền vi sinh vật	88	
A. Di truyền học Virus	88	
I. Đặc điểm cấu tạo bộ gen của virus	89	
II. Chu trình lây nhiễm của virus	93	
1. Chu trình lây nhiễm của virus tan	93	
2. Chu trình lây nhiễm của virus tiềm tan	95	
III. Tái tổ hợp di truyền của virus	97	
IV. Tái bản vật chất di truyền của virus và phage	98	
1. Tái bản vật chất di truyền của virus DNA	98	
2. Tái bản vật chất di truyền của virus RNA	101	
B. Di truyền học vi khuẩn	103	
I. Đặc điểm cấu tạo bộ gen vi khuẩn	103	
II. Biến nạp	104	
1. Thí nghiệm biến nạp ở vi khuẩn <i>S. pneumoniae</i>	104	
2. Cơ chế biến nạp	106	
III. Tải nạp	108	
1. Tải nạp chung	108	
2. Tải nạp đặc hiệu	109	
IV. Giao nạp	111	
1. Khái niệm giao nạp và đột biến khuyết dưỡng	111	
2. Cơ chế giao nạp	112	
3. Lập bản đồ gen ở vi khuẩn <i>E. coli</i> bằng giao nạp	115	
C. Di truyền học vi nấm	116	76
I. Chu trình sống của vi nấm	116	

1. Chu trình sống của nấm men	
2. Chu trình sống của <i>Neurospora crassa</i>	116
II. Phân tích di truyền bằng giảm phân	118
Chương IV: CÔNG NGHỆ DNA TÁI TỔ HỢP	120
I. Tách chiết acid nucleic	120
1. Tách chiết DNA	120
2. Tách chiết RNA	122
3. Phương pháp định tính, định lượng acid nucleic	123
II. Vector tách dòng (vector cloning)	124
1. Đặc điểm của vector tách dòng	124
2. Các loại vector tách dòng	125
III. Enzym giới hạn và một số enzym thường sử dụng trong kỹ thuật gen	134
1. Enzyme giới hạn	134
2. Một số enzym thường sử dụng trong kỹ thuật gen	139
IV. DNA tái tổ hợp và tách dòng gen	142
1. Tách dòng gen	148
2. Ngân hàng cDNA	150
3. Ngân hàng bộ gen	
Chương V: Một số Phương pháp cơ bản sử dụng trong kỹ thuật gen	153
I. Phương pháp nhân gen bằng PCR	153
1. Các bước tiến hành PCR	153

2. Các nhân tố ảnh hưởng đến phản ứng PCR	157	
II. Phương pháp giải trình tự gen	158	
1. Giải trình tự gen theo phương pháp hoá học	158	
2. Giải trình tự gen theo phương pháp dideoxy	161	
3. Giải trình tự gen bằng máy giải trình tự gen tự động	164	
III. Các phương pháp lai phân tử	166	
1. Phương pháp Southern blot	166	
2. Phương pháp Northern blot	167	
3. Lai tại chỗ	167	
IV. Một số kỹ thuật ứng dụng PCR trong phân loại phân tử		112
và xác định tính đa dạng di truyền của sinh vật	170	
1. Kỹ thuật RAPD	170	112
2. Kỹ thuật RFLP	171	113
3. Kỹ thuật AFLP	174	114
4. Kỹ thuật SSR	175	116
V. Nguyên lý kỹ thuật chuyển gen và ứng dụng	176	117
1. Chuyển gen trực tiếp	177	119
2. Chuyển gen gián tiếp	180	
		124
		124
Chương VI: Di truyền nhiễm sắc thể	187	125
I. Nhiễm sắc thể	187	125
1. Cấu trúc nhiễm sắc thể	187	126
2. Cơ chế ổn định của bộ nhiễm sắc thể	189	127
II. Quy luật di truyền Mendel	192	128
1. Một số thuật ngữ	192	128
2. Các quy luật di truyền Mendel	192	129
3. Tính đa hiệu của gen	193	130
		131
		133
		134

III. Sự di truyền tương tác gen	193
1. Quy luật di truyền tương tác bổ trợ	194
2. Quy luật di truyền tương tác át chế	195
3. Quy luật di truyền tương tác cộng gộp	196
IV. Sự di truyền liên kết gen	197
1. Liên kết gen hoàn toàn	197
2. Hoán vị gen	198
3. Bản đồ di truyền nhiễm sắc thể	200
Chương VII: Di truyền ngoài nhiễm Sắc thể	202
I. Di truyền ti thể	202
II. Di truyền Lạp thể	204
III. Đặc điểm di truyền ngoài nhiễm sắc thể	205
Chương VIII: đột biến	208
I. Khái niệm biến dị và đột biến	208
II. Nhân tố đột biến và cơ chế gây đột biến	209
1. Tia bức xạ không gây ion hoá	210
2. Tia bức xạ ion hoá	211
3. Nhiệt độ là nhân tố gây đột biến	215
4. Tác nhân hoá học gây đột biến	216
III. Cơ chế phân tử đột biến	221
IV. Quá trình tự sửa chữa đột biến	224
V. Đột biến nhân tạo và tạo giống mới bằng gây đột biến	224
1. Phương pháp gây đột biến nhân tạo ở cây trồng	225
2. Đột biến nhân tạo ở động vật	227

141
142
143
147
148
149

150
151
151
152

152

Chương IX: Các Phương pháp chọn giống	228
I. Khái niệm về chọn giống	228
II. Các phương pháp chọn lọc	228
1. Chọn lọc hàng loạt	228
2. Chọn lọc cá thể	229
3. Chọn lọc hỗn hợp	230
4. Ưu thế lai và chọn lọc	230
5. Đa bội thể và chọn lọc	231
6. Kỹ thuật gen và chọn lọc	232
Chương X: Kỹ thuật gen và ứng dụng	235
I. Kỹ thuật gen ứng dụng trong sản xuất nông nghiệp	235
II. Kỹ thuật gen trong sản xuất vaccin	239
III. Kỹ thuật gen trong sản xuất các chất có hoạt tính sinh học	241
1. Sản xuất Insulin	241
2. Sản xuất Interferon	243
3. Sản xuất kích tố hormon sinh trưởng người	244
4. Tổng hợp Somatostatin	245
VI. Liệu pháp gen	246
1. Liệu pháp gen chữa các bệnh di truyền	247
2. Liệu pháp gen trong điều trị bệnh AIDS	249
IV. Kỹ thuật gen ứng dụng trong chuẩn đoán các bệnh di truyền	250
Tài liệu tham khảo chính	251