

ĐẠI HỌC QUỐC GIA HÀ NỘI

VÕ THỊ THƯƠNG LAN

Sinh học phân tử



NHÀ XUẤT BẢN ĐẠI HỌC QUỐC GIA HÀ NỘI

MỤC LỤC

Mục lục

Chương 1: CẤU TRÚC GENOME	11
1.1. Các thành phần của genome	14
1.2. Tính phức tạp của genome, giá trị C	18
1.3. Thay đổi trật tự các đoạn ADN trong genome. Transposons	22
1.4. Tương tác của T-ADN với genome thực vật	36
1.5. Sắp xếp và khuyếch đại các gen trong genome	42
1.5.1. Chuyển đổi dạng giao phối của nấm <i>Saccharomyces cerevisia</i>	44
1.5.2. Chuyển đổi gen ở <i>Trypanosome</i>	50
1.5.3. Tăng số lượng các gen mã cho ARNr và một số gen khác ở tế bào eukaryot	54
Chương 2: CẤU TRÚC VÀ HOẠT ĐỘNG CỦA GEN	57
2.1. Cấu trúc gen	57
2.2. Kiểm soát sự bắt đầu tổng hợp phân tử ARNm prokaryot	61
2.2.1. Kiểm soát phiên mã trên lac operon theo cơ chế tiêu cực	61
2.2.2. Kiểm tra phiên mã trên ara operon theo cơ chế tích cực	65
	5

2.2.3. <i>Hoạt động của operon tryptophan</i>	68
2.2.4. <i>Ức chế quá trình dịch hoá liên quan đến điều khiển tích cực</i>	70
2.2.5. <i>Điều khiển gen thông qua các promoter khác nhau</i>	73
2.3. <i>Kiểm soát dừng phản ứng tổng hợp ARNm</i>	74
2.4. <i>Xâm nhập của Bacteriophage λ vào tế bào <i>E.coli</i></i>	79
2.5. <i>Tổng hợp ARNm eukaryot</i>	82
2.6. <i>Kiểm soát sau phiên mã</i>	91
2.6.1. <i>Sinh tổng hợp các protein ribosome được kiểm soát thông qua quá trình dịch mã trên ARNm</i>	92
2.6.2. <i>ARRN anti-sense</i>	93
2.6.3. <i>Phản ứng đọc sửa ARNm - "RNA editing"</i>	95
2.6.4. <i>Protein bám vào đầu 5' của phân tử ARNm kìm hãm quá trình dịch mã Phản ứng "dịch mã tiêu cực"</i>	97
2.6.5. <i>Độ dài của đuôi polyA ảnh hưởng tới độ bền vững của phân tử ARNm</i>	98
2.6.6. <i>Độ bền vững của ARNm</i>	100
Chương 3: CÁC CƠ CHẾ SỬA CHỮA VÀ TỔNG HỢP ADN	102
3.1. <i>Cắt bỏ đoạn ADN bị sai hỏng</i>	106
3.1.1. <i>Sửa chữa ADN loại bỏ base hỏng (BER)</i>	107
3.1.2. <i>Sửa chữa ADN loại bỏ nucleotide hỏng (NER)</i>	108
3.2. <i>Sửa chữa ADN ghép đôi lệch (mismatch repair)</i>	111
3.3. <i>Sửa chữa ADN theo cơ chế "Error-Prone"</i>	113

3.4. Tổng hợp các enzym sửa chữa ADN	114
3.5. Tái bản ADN	115
3.5.1. <i>Đảm bảo tổng hợp ADN chính xác bởi cơ chế "đọc sửa" (Proofreading)</i>	119
3.5.2. <i>Oligo môi trong quá trình tổng hợp ADN</i>	122
3.5.3. <i>Các protein tham gia quá trình tổng hợp ADN</i>	124
3.5.3.1. <i>ADN helicase</i>	124
3.5.3.2. <i>SSB protein (Single Strand Binding Protein)</i>	125
3.5.3.3. <i>Protein có cấu trúc vòng giữ ADN polymerase chuyển động trên sợi ADN</i>	125
3.5.3.4. <i>Vai trò của ADN topoisomerase trong tái bản ADN</i>	126
Chương 4: TÁI TỔ HỢP DI TRUYỀN	127
4.1. Tái tổ hợp chung	128
4.2. Trao đổi gen và tổng hợp ADN có giới hạn	132
4.3. Tái tổ hợp ADN xảy ra ở vị trí đặc hiệu	133
Chương 5: ADN TÁI TỔ HỢP	139
5.1. Phân cắt và xác định trình tự nucleotide	141
5.1.1. <i>Phân cắt ADN. Enzym giới hạn (Restriction enzym)</i>	141
5.1.2. <i>Phân ly các đoạn ADN</i>	144
5.2. Đưa các đoạn ADN vào vector	144
5.3. Xây dựng ngân hàng các cDNA (cDNA library)	146

2.2.3. Hoạt động của operon tryptophan	68
2.2.4. Ức chế quá trình dị hoá liên quan đến điều khiển tích cực	70
2.2.5. Điều khiển gen thông qua các promoter khác nhau	73
2.3. Kiểm soát dừng phản ứng tổng hợp ARNm	74
2.4. Xâm nhập của Bacteriophage λ vào tế bào <i>E.coli</i>	79
2.5. Tổng hợp ARNm eukaryot	82
2.6. Kiểm soát sau phiên mã	91
2.6.1. Sinh tổng hợp các protein ribosome được kiểm soát thông qua quá trình dịch mã trên ARNm	92
2.6.2. ARRN anti-sense	93
2.6.3. Phản ứng đọc sửa ARNm - "RNA editing"	95
2.6.4. Protein bám vào đầu 5' của phân tử ARNm kìm hãm quá trình dịch mã Phản ứng "dịch mã tiêu cực "	97
2.6.5. Độ dài của đuôi polyA ảnh hưởng tới độ bền vững của phân tử ARNm	98
2.6.6. Độ bền vững của ARNm	100
Chương 3: CÁC CƠ CHẾ SỬA CHỮA VÀ TỔNG HỢP ADN	102
3.1. Cắt bỏ đoạn ADN bị sai hỏng	106
3.1.1. Sửa chữa ADN loại bỏ base hỏng (BER)	107
3.1.2. Sửa chữa ADN loại bỏ nucleotide hỏng (NER)	108
3.2. Sửa chữa ADN ghép đôi lệch (<i>mismatch repair</i>)	111
3.3. Sửa chữa ADN theo cơ chế "Error-Prone"	113

3.4. Tổng hợp các enzym sửa chữa ADN	114
3.5. Tái bản ADN	115
3.5.1. <i>Đảm bảo tổng hợp ADN chính xác bởi cơ chế "đọc sửa" (Proofreading)</i>	119
3.5.2. <i>Oligo môi trong quá trình tổng hợp ADN</i>	122
3.5.3. <i>Các protein tham gia quá trình tổng hợp ADN</i>	124
3.5.3.1. <i>ADN helicase</i>	124
3.5.3.2. <i>SSB protein (Single Strand Binding Protein)</i>	125
3.5.3.3. <i>Protein có cấu trúc vòng giữ ADN polymerase chuyển động trên sợi ADN</i>	125
3.5.3.4. <i>Vai trò của ADN topoisomerase trong tái bản ADN</i>	126
Chương 4: TÁI TỔ HỢP DI TRUYỀN	127
4.1. Tái tổ hợp chung	128
4.2. Trao đổi gen và tổng hợp ADN có giới hạn	132
4.3. Tái tổ hợp ADN xảy ra ở vị trí đặc hiệu	133
Chương 5: ADN TÁI TỔ HỢP	139
5.1. Phân cắt và xác định trình tự nucleotide	141
5.1.1. <i>Phân cắt ADN. Enzym giới hạn (Restriction enzym)</i>	141
5.1.2. <i>Phân ly các đoạn ADN</i>	144
5.2. Đưa các đoạn ADN vào vector	144
5.3. Xây dựng ngân hàng các cDNA (cDNA library)	146

5.4. Xây dựng ngân hàng ADN genome (genomic DNA library)	148
5.5. Các phương pháp lai	152
5.5.1. <i>Phương pháp Southern blots</i>	152
5.5.2. <i>Phương pháp Northern blots</i>	154
5.5.3. <i>Kỹ thuật lai in-situ</i>	155
5.6. Xác định trình tự nucleotide	156
5.6.1. <i>Phương pháp hoá học Maxam-Gilbert</i>	156
5.6.2. <i>Phương pháp enzym Sanger</i>	157
5.6.3. <i>Xác định trình tự nucleotide trên máy tự động</i>	159
5.6.4. <i>Phương pháp "DNA footprint" cho phép xác định vị trí protein liên kết với phân tử ADN</i>	162
5.7. Hợp nhất tế bào - Kỹ thuật quan trọng trong di truyền tế bào soma	163
5.8. Phản ứng dây chuyền tổng hợp ADN (Polymerase Chain Reaction - PCR)	165
Chương 6: VẬN CHUYỂN PROTEIN TRONG TẾ BÀO	171
6.1. Các thành phần cơ bản tham gia tổng hợp protein	173
6.1.1. <i>Phân tử ARNt (RNA transfers)</i>	175
6.1.2. <i>Ribosome</i>	179
6.1.3. <i>Tính chính xác của quá trình tổng hợp protein</i>	182
6.2. Các con đường vận chuyển	184
6.3. Vận chuyển qua siêu lỗ trên màng nhân	187
6.4. Vận chuyển protein vào ty thể và lục lạp	189

6.5. Màng lưới nội chất ER (E ndoplasmic R eticulum) và tổng hợp protein	191
6.6. Vận chuyển từ mạng lưới nội chất đến Golgi và Lysosome	196
6.7. Vận chuyển theo con đường thực ẩm bào (endocytosis)	198
6.8. Vận chuyển từ Golgi ra bề mặt tế bào (exocytosis)	200
6.9. Một số phương pháp nghiên cứu protein	201
6.9.1. Điện di trên gel polyacrylamide SDS-PAGE	201
6.9.2. Phân tích protein bằng phản ứng kháng nguyên - kháng thể	202
6.9.3. Nghiên cứu cấu trúc bậc I của protein (trình tự acid amin)	202
Tài liệu tham khảo	204

Chương 1

CẤU TRÚC GENOME

Genome (hệ gen) chứa toàn bộ thông tin di truyền và các chương trình cần thiết cho tế bào hoạt động. Đối với sinh vật nhân thực, 99% hệ gen nằm trong nhân tế bào và phần còn lại nằm trong một số bào quan như lục lạp, ty thể. Đa số genome vi khuẩn và phần chứa trong các bào quan thường có kích thước nhỏ và ở dạng vòng khép kín. Ngược lại, phần genome trong nhân thường rất lớn và phân bố trên các nhiễm sắc thể dạng thẳng. Cấu trúc của hệ gen trong nhân đã và đang thu hút trí tuệ của nhiều nhà sinh học do thông tin di truyền không chỉ nằm trong trình tự nucleotide (genetic information) mà phụ thuộc rất nhiều vào cấu hình không gian của nhiễm sắc thể (di truyền ngoại sinh - epigenetic information).

Genome không phải đơn thuần là tập hợp của các gen. Cấu trúc của hệ gen rất phức tạp và có độ trật tự cao. Ở sinh vật eukariot, thành phần ADN chứa các gen chỉ chiếm một tỷ lệ rất nhỏ so với toàn bộ genome. Cấu trúc của gen cũng như chức năng của chúng cũng khác nhau giữa sinh vật prokariot và eukariot, giữa sinh vật nhân thực bậc thấp và nhân thực bậc cao. Hệ gen của vi khuẩn và sinh vật eukariot bậc thấp thường không lớn và các gen phân bố sát nhau. Hầu hết các gen này chỉ có một bản sao trong genome và rất ít bị gián đoạn bởi các đoạn ADN không chứa mã di truyền (intron). Ngược lại, các gen