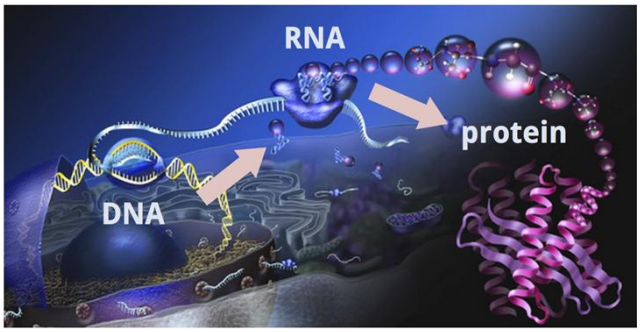
Chương 1
Giới thiệu về Sinh học phân tử

CSH Cold Spring Harbor Laboratory

Sinh học phân tử

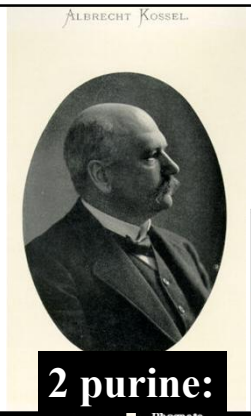


Sinh học phân tử (molecular biology) là môn khoa học nghiên cứu về cấu trúc và chức năng của các đại phân tử sinh học (acid nucleic, protein,…) cần thiết cho sự sống.

Gregor Mendel

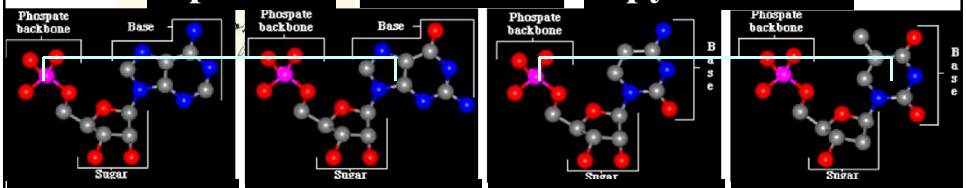
Friedrich Miescher

- 1866 Định luật phân ly độc lập trong di truyền tính trạng, Mendel. (Cha đẻ của di truyền học hiện đại).
- 1868 Friedrich Miescher khám phá ra DNA và gọi nó là nuclein. *"… chất này đến từ nhân của tế bào. Vì vậy, chúng tôi gọi nó là nuclein (chất nhân)."*

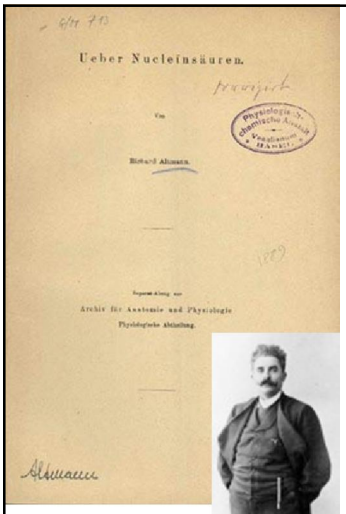


1893: Albrecht Kossel tìm ra nucleic acid gồm có 4 loại base.

2 purine: **2 pyrimidine:**



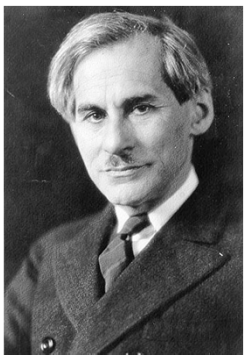
adenine (A) **guanine (G)** **cytosine (C)** **thymine (T)**


Ueber Nucleïnsäuren.

1889: Richard Altmann tìm ra nuclein là acid và gọi nó là *nucleic acid* (nucleïnsäure).

Ueber Nucleinsäuren. Archiv für Anatomie und Physiologie. Physiologische Abteilung. Leipzig, 1889, 524-536.

5



Phoebus Aaron (Theodore) **Levene (1869-1940)**

1909: Phoebus Levene khám phá rằng DNA được tạo bởi 3 thành phần cơ bản: đường, một acid, và một base.

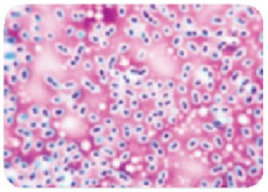
1929 Phoebus Aaron Levene xác định và đặt tên các ribonucleic acid và deoxyribonucleic acid, và một cấu trúc DNA "tetranucleotide", trong đó 4 base của DNA được sắp xếp theo thứ tự trong một bộ bốn.

6

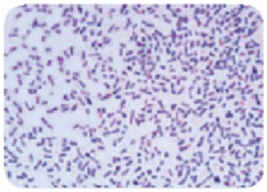
Thí nghiệm về sự biến nạp

❖ **1928** – Lần đầu tiên chứng minh sự biến nạp ở song cầu khuẩn *Streptococcus pneumoniae* (*Diplococcus pneumoniae*).

Frederick Griffith

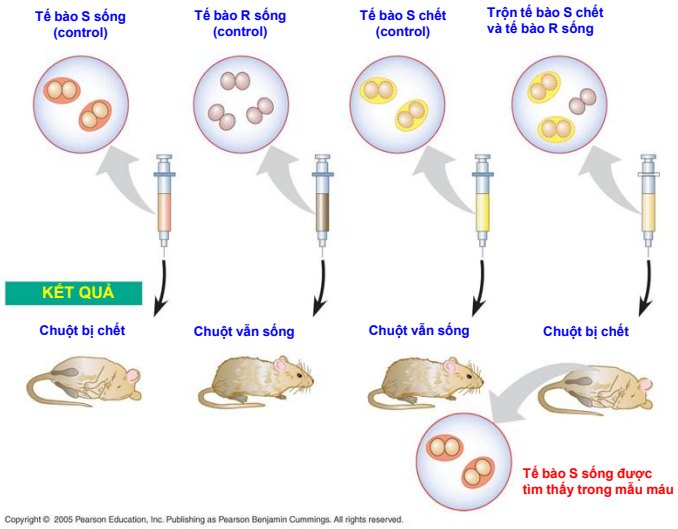


Smooth strain—*S. pneumoniae*



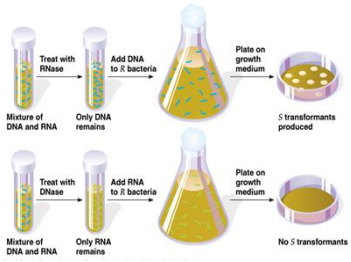
Rough strain—*S. pneumoniae*

Quà tặng từ cái chết



Copyright © 2005 Pearson Education, Inc. Publishing as Pearson Benjamin Cummings. All rights reserved.

DNA mang tín hiệu di truyền



Oswald T. Avery

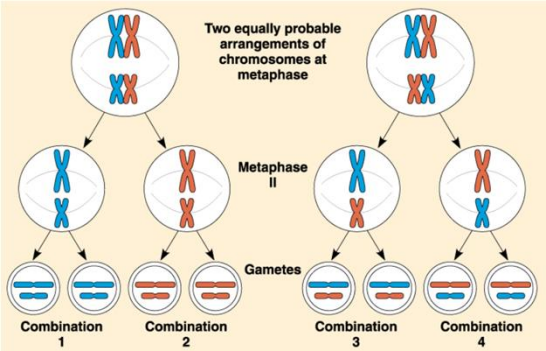
- Năm1944 nhóm Avery, McCarty, McLeod xác định rõ nguyên nhân gây biến nạp là gì?

Tế bào S + (protease, RNAase)→ Chuột chết

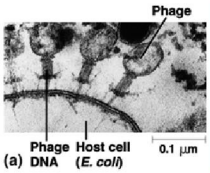
Tế bào S + (DNAase)→ Chuột sống

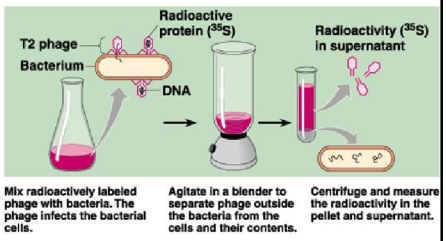
→ **DNA là nhân tố biến nạp**

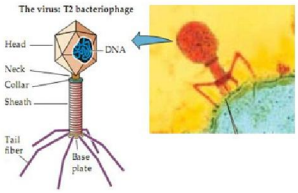
1949 Roger và Colette Vendrely, cùng với André Boivin, tìm ra rằng số lượng DNA trong tất cả các mô của cùng một động vật là như nhau, và số lương DNA trong nuclei của tinh trùng chỉ bằng một nữa trong tế bào sinh dưỡng, cho thấy DNA có thể là vật liệu di truyền.

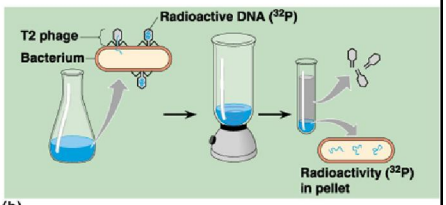


❖ 1952 – Alfred Hershey và Martha Chase kết luận vật liệu di truyền của phage T_2 là DNA.





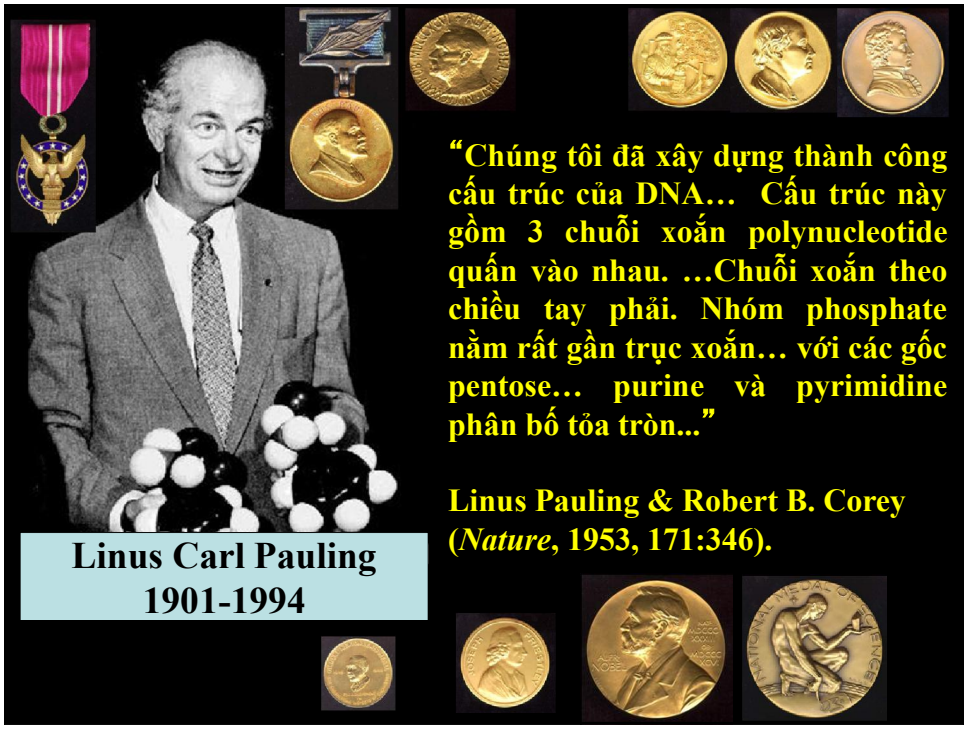


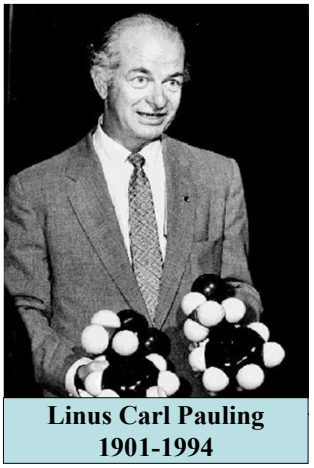


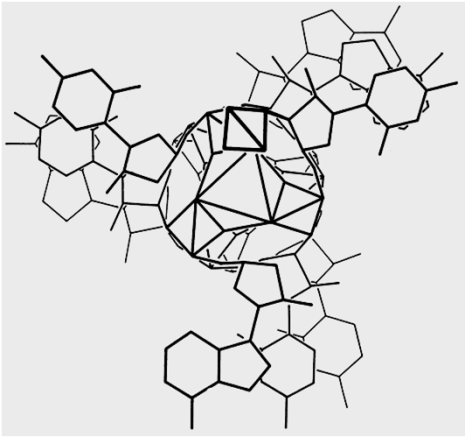
24/03/2016 2:53 SA 11 Nguyễn Hữu Trí

Cấu trúc thật sự của DNA?

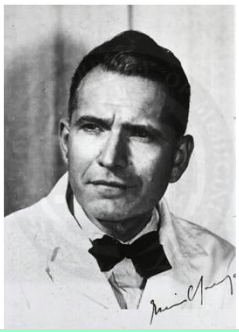
12







Pauling, L. and Corey, R. B. 1953. A proposed structure for the nucleic acids *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 39:84-97.



Erwin Chargaff

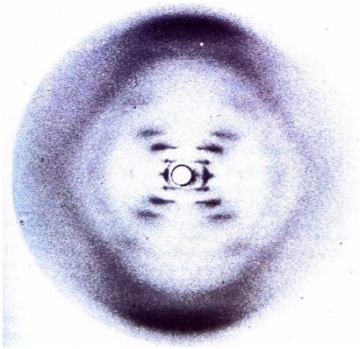
1950 Erwin Chargaff tìm ra rằng số lượng A bằng T và G bằng C ở DNA của rất nhiều loài.

(1) A% ≈ T%

(2) G% ≈ C%

Giá trị Chargaff ở người:
G = 19.9%, C = 18.8%, A = 30.9%, and T = 29.4%

15

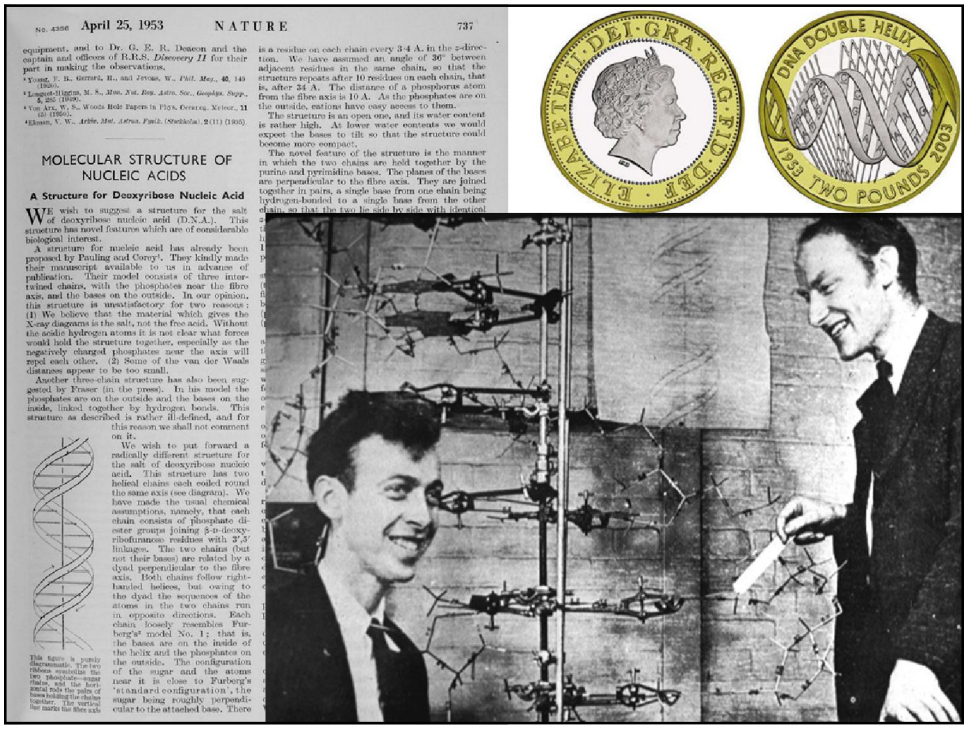


Nhiễu xạ tia X của DNA

Rosalind Franklin

1952 Maurice Wilkins và Rosalind Franklin sử dụng kỹ thuật phân tích tia X tìm ra sự lặp lại của cấu trúc DNA (sử dụng DNA được tinh sạch bởi Signer)

16



No. 4356 April 25, 1953 NATURE 737

equipment, and to Dr. G. E. R. Deacon and the captain and officers of R.R.S. *Discovery II* for their part in making the observations.

1 Young, F. B., Gerard, R., and Jevons, W., *Phil. Mag.*, **40**, 149 (1930).
2 Longuet-Higgins, M. S., *Mon. Not. Roy. Astro. Soc., Geophys. Suppl.*, **5**, 285 (1949).
3 Von Arx, W. S., Woods Hole Papers in Phys. Oceanog. Meteor., **11** (1950).
4 Ekman, V. W., *Arkiv. Mat. Astron. Fysik.* (Stockholm), **2** (11) (1905).

MOLECULAR STRUCTURE OF NUCLEIC ACIDS

A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid

We wish to suggest a structure for the salt of deoxyribose nucleic acid (D.N.A.). This structure has novel features which are of considerable biological interest.

A structure for nucleic acid has already been proposed by Pauling and Corey[1]. They kindly made their manuscript available to us in advance of publication. Their model consists of three intertwined chains, with the phosphates near the fibre axis, and the bases on the outside. In our opinion, this structure is unsatisfactory for two reasons: (1) We believe that the material which gives the X-ray diagrams is the salt, not the free acid. Without the acidic hydrogen atoms it is not clear what forces would hold the structure together, especially as the negatively charged phosphates near the axis will repel each other. (2) Some of the van der Waals distances appear to be too small.

Another three-chain structure has also been suggested by Fraser (in the press). In his model the phosphates are on the outside and the bases on the inside, linked together by hydrogen bonds. This structure as described is rather ill-defined, and for this reason we shall not comment on it.

We wish to put forward a radically different structure for the salt of deoxyribose nucleic acid. This structure has two helical chains each coiled round the same axis (see diagram). We have made the usual chemical assumptions, namely, that each chain consists of phosphate diester groups joining β-D-deoxyribofuranose residues with 3′,5′ linkages. The two chains (but not their bases) are related by a dyad perpendicular to the fibre axis. Both chains follow right-handed helices, but owing to the dyad the sequences of the atoms in the two chains run in opposite directions. Each chain loosely resembles Furberg's[2] model No. 1; that is, the bases are on the inside of the helix and the phosphates on the outside. The configuration of the sugar and the atoms near it is close to Furberg's 'standard configuration', the sugar being roughly perpendicular to the attached base. There is a residue on each chain every 3·4 A. in the z-direction. We have assumed an angle of 36° between adjacent residues in the same chain, so that the structure repeats after 10 residues on each chain, that is, after 34 A. The distance of a phosphorus atom from the fibre axis is 10 A. As the phosphates are on the outside, cations have easy access to them.

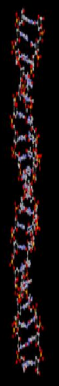
The structure is an open one, and its water content is rather high. At lower water contents we would expect the bases to tilt so that the structure could become more compact.

The novel feature of the structure is the manner in which the two chains are held together by the purine and pyrimidine bases. The planes of the bases are perpendicular to the fibre axis. They are joined together in pairs, a single base from one chain being hydrogen-bonded to a single base from the other chain, so that the two lie side by side with identical

This figure is purely diagrammatic. The two ribbons symbolize the two phosphate-sugar chains, and the horizontal rods the pairs of bases holding the chains together. The vertical line marks the fibre axis

1953 James D. Watson và Francis H. C. Crick công bố cấu trúc chuỗi xoắn kép của DNA.

→ Sinh học phân tử ra đời.



James Watson và Francis Crick

Nguyễn Hữu Trí

DNA là biểu tượng

Department of Biology
University of South Alabama

Steve Jackson Laboratory

CSH Cold Spring Harbor Laboratory

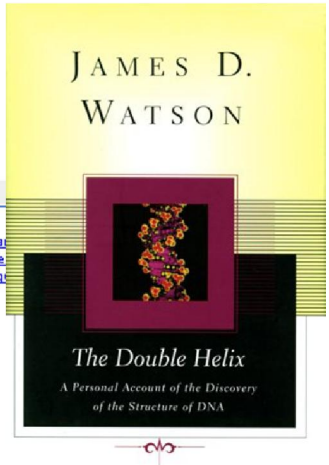
19

DNA là biểu tượng

Google™

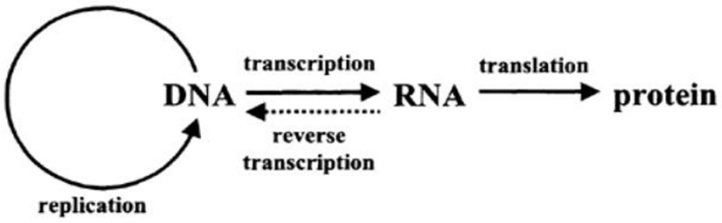
Web | Images | Groups | Directory

Google Search | I'm Feeling Lucky



20

Học thuyết trung tâm (F.Crick,1956)



Một gen được biểu hiện qua hai bước

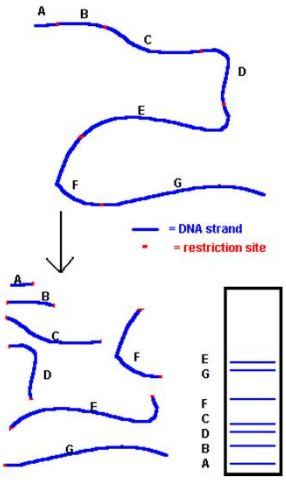
1) **Phiên mã (Transcription): tổng hợp RNA**
2) **Dịch mã (Translation): Tổng hợp Protein**

❖**1970** Howard Temin và David Baltimore độc lập phân lập được enzyme cắt giới hạn

→ Cột mốc lịch sử trong kỹ thuật di truyền

David Baltimore

Howard Temin



❖**1984** Kỹ thuật PCR được Kary Mullis đề xuất.

→ Nền tảng của kỹ thuật di truyền

Kary Mullis

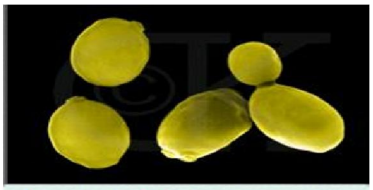
❖**1986** Leroy Hood: Phát triển máy giải trình tự tự động

Leroy Hood

❖**1990** Chương trình bộ gen người (HGP) bắt đầu.

Human Genome Project

❖**1996** Bộ gen của nấm men (*Saccharomyces cerevisiae*) được giải trình tự.

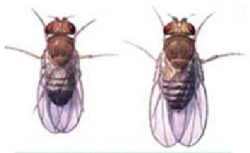


❖**1997** *Escherichia coli* được giải trình tự

❖ **1998** Hoàn thành việc giải trình tự bộ gen giun tròn *Caenorhabditis elegans*

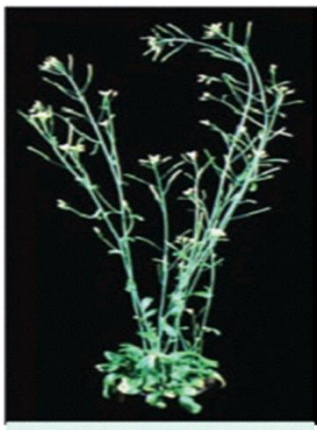
C. elegans
97 Mb, 19,000 genes

❖ **2000** Hoàn thành việc giải trình tự bộ gen ruồi giấm *Drosophila melanogaster*



Drosophila melanogaster
180 Mb, 13,600 genes

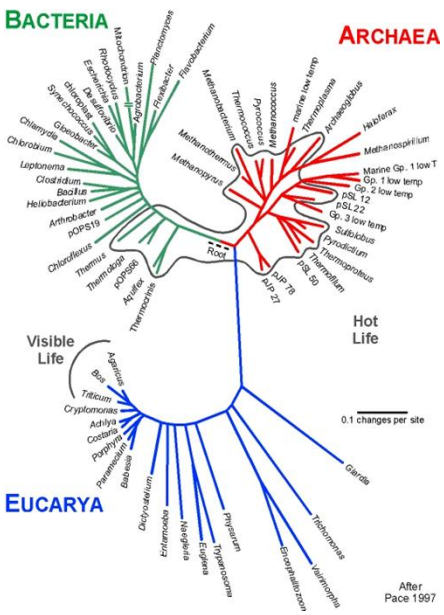
❖2000, bộ gen thực vật đầu tiên, *Arabidopsis thaliana* được giải trình tự



Arabidopsis thaliana
125 Mb, ~ 25,000 genes

❖ 14/4/2003 hoàn tất bản giải kí tự chuỗi bộ gen người (*Homo sapiens*). Tốn 2,7 tỉ USD

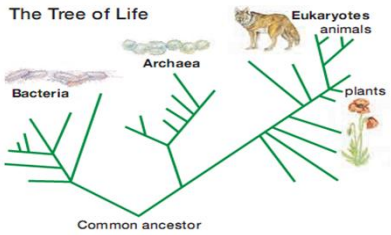
Phân loại sinh giới



Ba giới sinh vật

Thế giới sinh vật gồm ba giới (dựa vào trình tự nucleotide của rRNA):

- ✓ **Vi khuẩn (Bacteria)**
- ✓ **Vi khuẩn cổ (Archaea)**
- ✓ **Sinh vật nhân thật (Eukarya)**



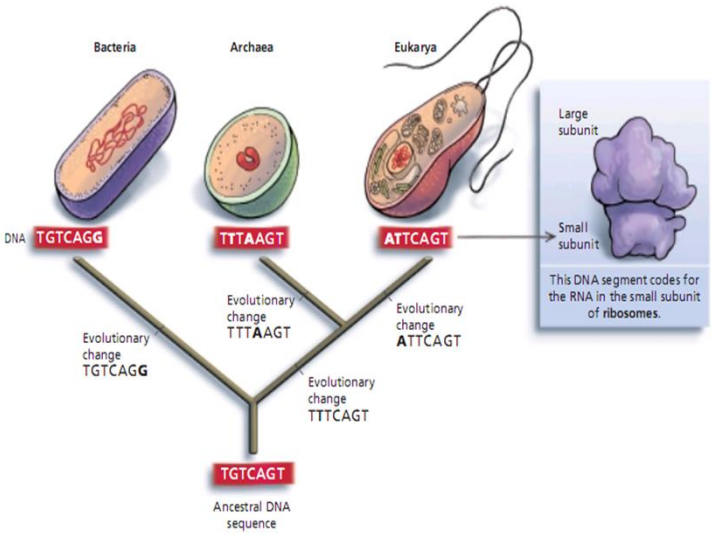
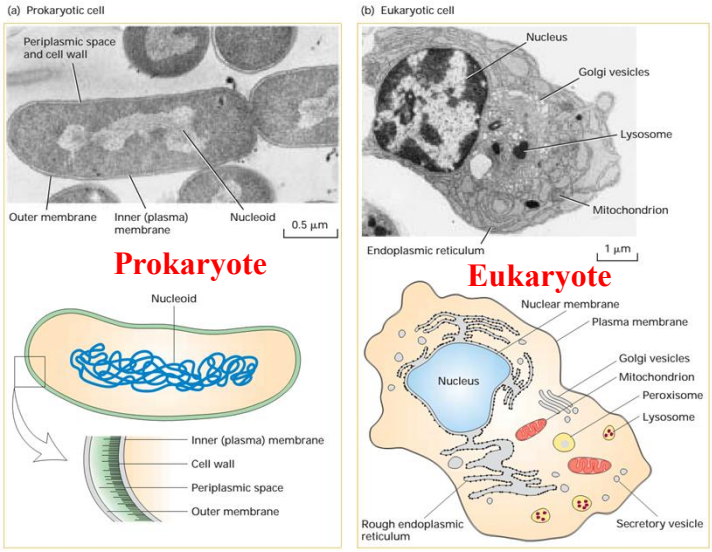


Figure 3.5 Determining the relationships among organisms. Comparisons of the DNA sequences that code for ribosomal RNA in various organisms has helped scientists construct the tree of life.

Hai dạng tế bào



Prokaryote vs Eukaryote

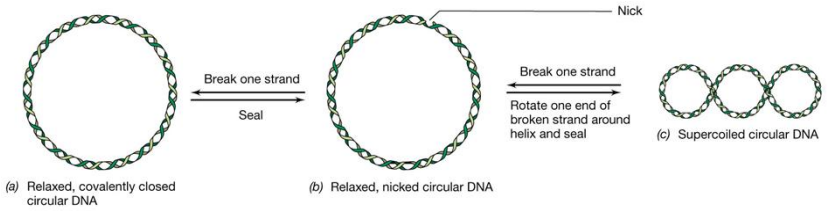
Table 1.1. Differences Between Prokaryotic and Eukaryotic Cells

	Prokaryotes	Eukaryotes
Size	Usually 1–2 μm	Usually 5–100 μm
Nucleus	Absent	Present, bounded by nuclear envelope
DNA	Usually a single circular molecule (=chromosome)	Multiple molecules (=chromosomes), linear, associated with protein.[a]
Cell division	Simple fission	Mitosis or meiosis
Internal membranes	Rare	Complex (nuclear envelope, Golgi apparatus, endoplasmic reticulum, etc.—Fig. 1.2)
Ribosomes	70S[b]	80S (70S in mitochondria and chloroplasts)
Cytoskeleton	Absent	Microtubules, microfilaments, intermediate filaments
Motility	Rotary motor (drives bacterial flagellum)	Dynein (drives cilia and eukaryote flagellum); kinesin, myosin
First appeared	3.5×10^9 years ago	1.5×10^9 years ago

[a] The tiny chromosomes of mitochondria and chloroplasts are exceptions; like prokaryotic chromosomes they are often circular.
[b] The S value, or Svedberg unit, is a sedimentation rate. It is a measure of how fast a molecule moves in a gravitational field, and therefore in an ultracentrifuge.

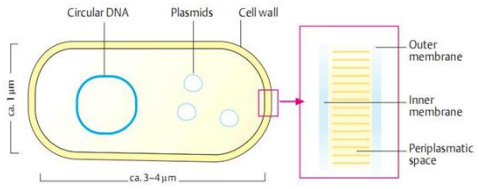
Cấu trúc NST của Prokaryote

- Xoắn kép: khe nhỏ, khe lớn; DNA-binding protein gắn vào khe lớn
- Cấu trúc bậc hai: thân–vòng (stem-loop) hay kẹp tóc (hair spin) nơi nhận diện của protein điều hòa
- Cấu trúc siêu xoắn và cấu trúc vòng mở: topoisomerase II và I



Tế bào Prokaryote

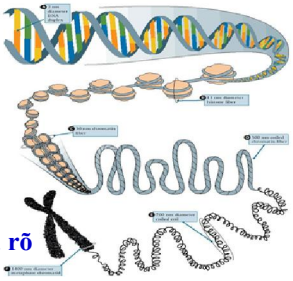
- Tế bào không nhân, bộ gen DNA mạch vòng
- Tế bào chất đơn giản chứa ribosome 70S, không có các bào quan khác
- Vách tế bào cấu tạo bằng peptidoglycan hoặc pseudopeptidoglycan, quyết định tính Gram của tế bào.
- Tốc độ sinh tổng hợp DNA, RNA, protein, sinh trưởng và phân chia nhanh
- Có thể nhân năng lượng từ ánh sáng, hợp chất vô cơ, hữu cơ
- Sinh sản chủ yếu bằng cách phân đôi, một số có khả năng tạo bào tử
- Là dạng chiếm đa số trong sinh quyển, nhưngchưa được khám phá nhiều

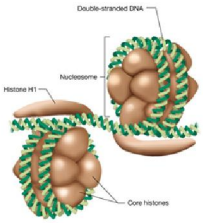


A. Scheme of a prokaryotic cell

Cấu trúc NST của Eukaryote

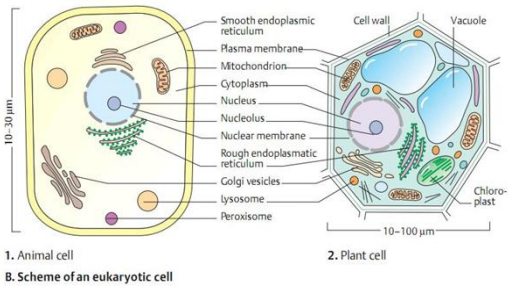
- Kích thước lớn
- Nucleosome, chromatin, nhiễm sắc thể
- Telomere ở hai đầu và centromere ở giữa
- Ba nhóm DNA:
  - ✓ DNA một bản sao: mã hóa protein
  - ✓ DNA lặp lại trung bình: mã hóa histone, immunoglobin, rRNA, tRNA
  - ✓ DNA vệ tinh: 20% tổng DNA, chức năng chưa rõ





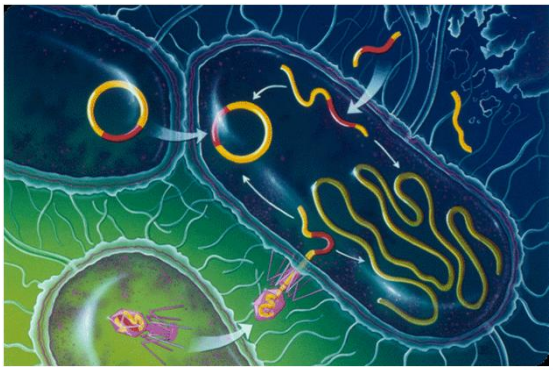
Tế bào Eukaryote

- Tế bào to và phức tạp
- Bộ gen mạch thẳng nhiều phân tử (NST) nằm trong nhân
- Tế bào chất phức tạp chứa ribosome 80S, mạng lưới nội chất, ty thể, hệ Golgi, lysosome, lạp thể…
- Vách tế bào chứa lipoprotein, cellulose hoặc chitin
- Tốc độ sinh trưởng, phân chia chậm
- Đa số sinh sản hữu tính có giao tử khác giới



Các hiện tượng di truyền ở vi khuẩn

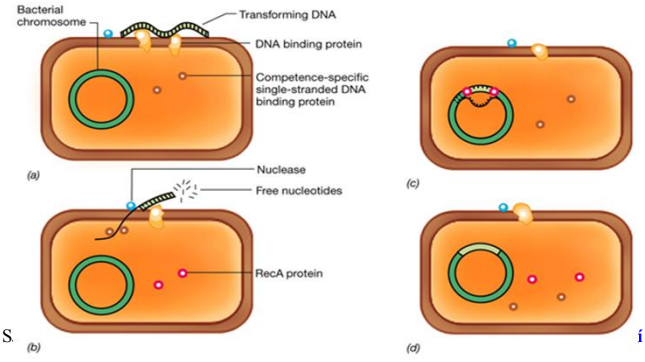
- Biến nạp (transformation)
- Tải nạp (transduction)
- Giao nạp, tiếp hợp (conjugation)
- Chuyển vị gen (transposition)



Biến nạp (transformation)

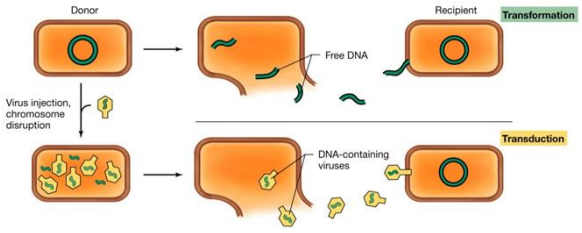
Biến nạp là quá trình tế bào tiếp nhận DNA trần từ vào tế bào chủ

1. DNA gắn lên DNA-binding protein trên vách tế bào
2. Nuclease thủy phân một mạch DNA, cho phép mạch đơn còn lại đi vào trong tế bào
3. Mạch DNA được mang và bảo vệ bởi một số protein chuyên biệt
4. Mạch DNA tái tổ hợp vào bộ gen bởi RecA protein
5. Tế bào có kiểu gen mới được tạo thành khi tế bào phân chia

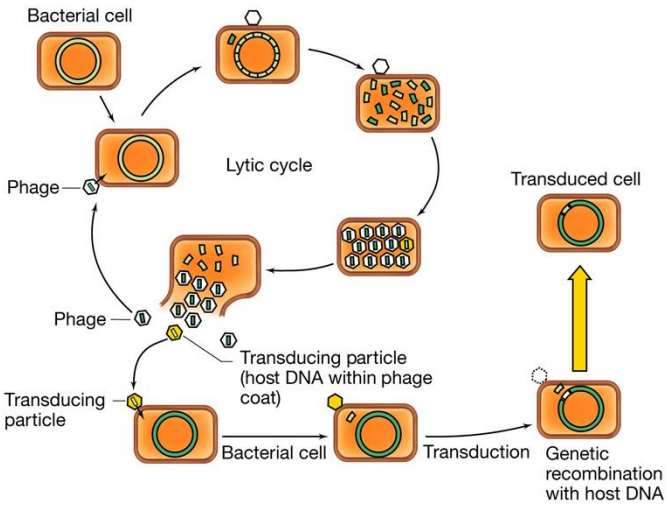


Tải nạp (transduction)

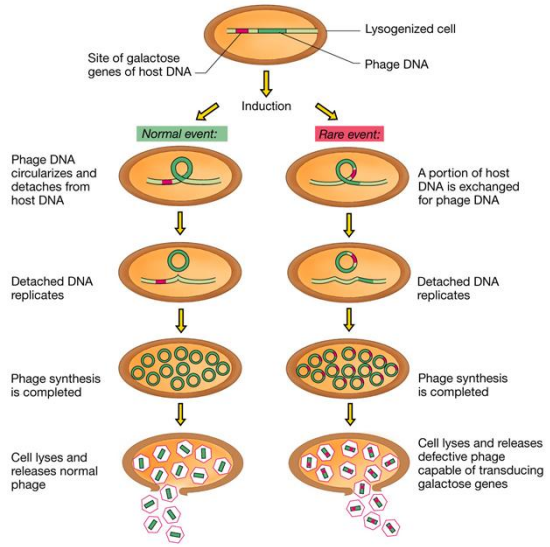
- DNA của tế bào cho được chuyển qua tế bào nhận bởi virut
- Tải nạp chuyên biệt (specialized transduction): tải nạp trên một số gen nhất định của vi khuẩn cho (virut mang theo gen của vi khuẩn khi bị cắt một cách không chính xác ra khỏi bộ gen tế bào chủ)
- Tải nạp chung (generalized transduction): tải nạp một gen bất kỳ từ vi khuẩn cho sang tế bo nhận (DNA của tế bo bị phn đoạn và lắp ngẫu nhiên vào vỏ virut mới)
- Biến đổi bởi phage (phage conversion): sự thay đổi kiểu hình ở vi khuẩn do sự thể hiện của gen virut tiềm tan



Tải nạp (transduction)



Tải nạp (transduction)



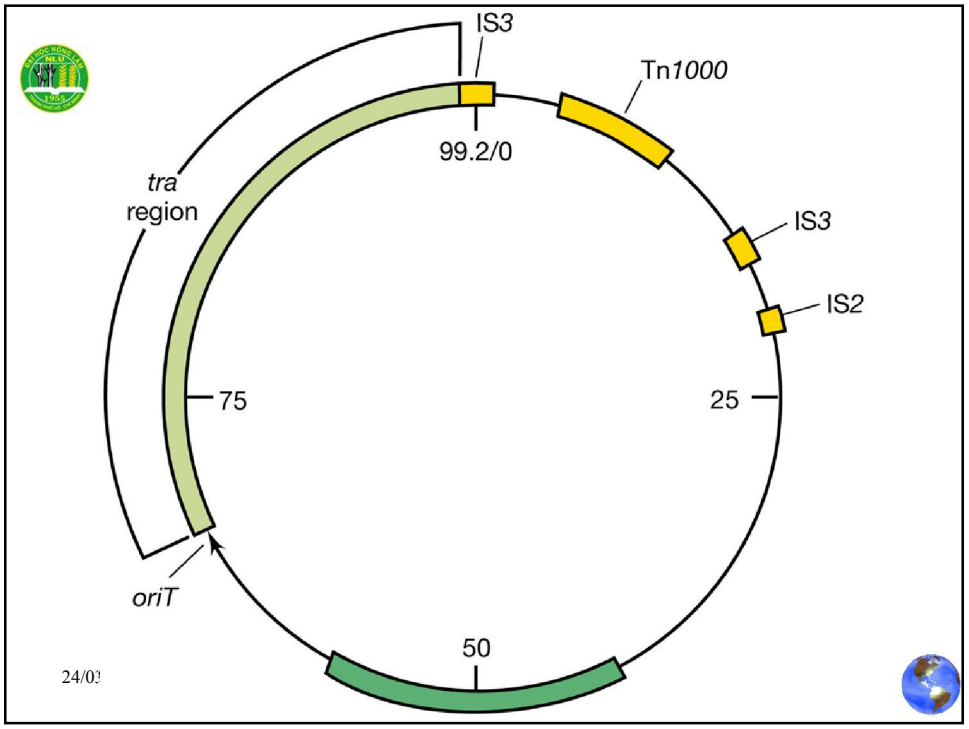
Plasmid

- **Phân tử DNA vòng, kích thước nhỏ có thể tự sao chép độc lập trong tế bào chủ**
- **Cấu trúc của plasmid:**
  - **+ Mang gen ORI (origin of replication, *Ori*) kiểm soát tần số sao chép và số lượng bản sao của plasmid trong tế bào**
  - **+ Gen điều khiển sự chuyển DNA trong giao nạp (một số)**
  - **+ Các gen khác: kháng kháng sinh, tạo ra độc tố, khả năng biến dưỡng những cơ chất không bình thường như thuốc trừ sâu, dung môi công nghiệp**

Plasmid R: plasmid kháng thuốc

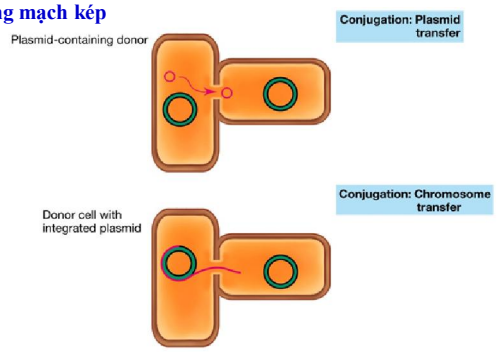
- **+ Mang một số transposon mỗi loại cho tính kháng đối với một loại kháng sinh nhất định**
- **+ Kháng đồng thời đến 5 loại kháng sinh khác nhau**
- **+ Phát tán tính kháng thuốc nhanh trong quần thể thông qua quá trình giao nạp**

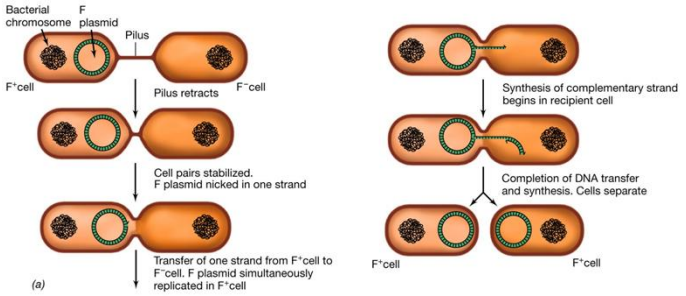
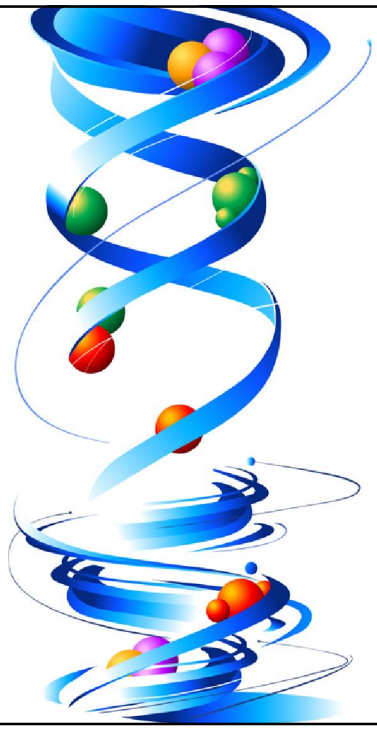
- **Tế bào có thể chứa đồng thời một số plasmid khác nhau nếu chúng tương thích (ORI khác nhau)**



Sự giao nạp (conjugation)

- Chuyển DNA thông qua giao nạp ở vi khuẩn
- Plasmid xúc tiến sự giao nạp:
  - Tổng hợp khuẩn mao pili giúp hai tế bào tiếp xúc
  - Tạo cầu giao nạp (conjugative bridge) truyền DNA
  - Plasmid sao chép bằng cơ chế sao chép cuộn vòng (rolling circle replication) và chuyển một bản sao cho tế bào nhận
  - Tế bào nhận sao chép để có plasmid vòng mạch kép



Sự giao nạp (conjugation)

- Yếu tố F ở *E. coli* thực hiện việc cho gen trên nhiễm sắc thể tế bào cho sang tế bào nhận (chủng Hfr):
  1. Sự hiện diện đồng thời của trình tự sát nhập (insertion sequence) ở yếu tố F và nhiễm sắc thể của tế bào
  2. F chứa trình tự khởi đầu chuyển (origin of transfer)
  3. Trình tự này giúp F mang theo các gen của nhiễm sắc thể nằm ngay dưới hạ lưu của trình tự chuyển từ tế bào cho sang tế bào nhận
  4. Sự cắt không chính xác khi sao chép và chuyển yếu tố F làm tăng tần số giao nạp chuyên biệt của nhiễm sắc thể sang tế bào nhận