

PGS. TS. NGUYỄN KIM ĐƯỜNG
PGS. TS. PHẠM VĂN CHƯƠNG
ThS. NGUYỄN TÀI TOÀN

GIÁO TRÌNH
DI TRUYỀN THỰC VẬT

NHÀ XUẤT BẢN ĐẠI HỌC VINH

LỜI NÓI ĐẦU

Trong nhiều năm qua, Giáo dục và Đào tạo đã được Đảng, Nhà nước rất quan tâm và đưa lên thành khâu then chốt của sự phát triển đất nước.

Giáo dục và Đào tạo đang đứng trước thách thức lớn trong việc nâng cao chất lượng và đáp ứng nhu cầu của xã hội.

Nói đến vấn đề nâng cao chất lượng đào tạo chúng ta không thể không nói đến điều kiện cơ sở vật chất phục cho công tác dạy và học. Trong đó, các tài liệu như bài giảng, giáo trình, tài liệu tham khảo là hệ thống thông tin giúp giúp người dạy có cơ sở kiến thức khoa học để hoàn thành chương trình và giúp người học có cơ sở để tiếp thu, tích lũy tốt hơn các kiến thức của ngành học.

Trong thời đại ngày nay, các thành tựu khoa học công nghệ đang tăng lên như vũ bão qua từng ngày, từng giờ. Con người đang đứng trước nhiều thách thức của những sự biến đổi khôn lường của tự nhiên như sự nóng lên của trái đất-biến đổi khí hậu toàn cầu.

Để con người chúng ta góp phần giảm thiểu các tác động xấu của tự nhiên, phát triển sản xuất, phát triển kinh tế xã hội, làm cho cuộc sống càng ngày càng tốt đẹp hơn-chúng ta cần hiểu biết về các quy luật của tự nhiên nhiều hơn.

Sinh giới là một phần không thể thiếu của thế giới tự nhiên. Trung tâm linh hồn của thế giới tự nhiên là vật chất di truyền của sinh vật. Hiểu được vật chất di truyền, nắm được các quy luật hoạt động, các quy luật di truyền của vật chất di truyền của sinh vật, chúng ta có thể điều khiển chúng phục vụ tốt hơn cho mục tiêu khai thác sinh giới một cách bền vững phục vụ cuộc sống của con người.

Môn học “*Di truyền học*” là một phần không thể thiếu trong chương trình đào tạo của nhiều ngành thuộc lĩnh vực “*Nông-Sinh-Y*”, đây là môn học cốt lõi trong chương trình đào tạo kỹ sư nông nghiệp.

Để góp phần cung cấp tài liệu giảng dạy, học tập về “*Di truyền học*” ở bậc đại học và sau đại học, trong nhiều năm qua chúng tôi đã xuất bản nhiều cuốn bài giảng, giáo trình, sách tham khảo, sách chuyên khảo, . . . Lần này chúng tôi giới thiệu với các đồng nghiệp, các em sinh viên và bạn đọc cuốn giáo trình “**DI TRUYỀN THỰC VẬT**”.

Cuốn sách có sự tham gia biên soạn của PGS. TS. Nguyễn Kim Đường: Bài mở đầu, chương I, chương II, chương IV và chương VI; PGS. TS. Phạm Văn Chương: Chương VII và chương VIII; Thạc sĩ Nguyễn Tài Toàn: Chương III và chương V.

Trong thời gian qua, di truyền học là một bộ môn đã đạt được rất nhiều thành tựu về lý thuyết và các ứng dụng của nó đã đem lại rất nhiều thành quả trong phát triển sản xuất, kinh tế-xã hội trên thế giới cũng như ở Việt Nam. Đây là một phần kiến thức khó và rất rộng trong lĩnh vực sinh học. Vì vậy, chắc chắn các thông tin trong cuốn giáo trình chưa thể bao quát hết và đáp ứng hết kỳ vọng của mọi đối tượng bạn đọc. Chúng tôi mong nhận được các góp ý của quý độc giả để lần tái bản sau cuốn giáo trình “**DI TRUYỀN THỰC VẬT**” sẽ tốt hơn.

CÁC TÁC GIẢ

BÀI MỞ ĐẦU

01. Đối tượng nghiên cứu của di truyền học

Trong thiên nhiên, các đặc điểm của các loài sinh vật được giữ gìn từ đời này qua đời khác. Do nhiều nguyên nhân mà có nhiều loài sinh vật đã biến mất khỏi hành tinh của chúng ta và cũng đã có nhiều loài mới xuất hiện. Ở nhiều loài sinh vật, các thế hệ sau ngoài việc giữ được hình ảnh đặc trưng của loài, chúng cũng đã xuất hiện nhiều đặc trưng mới. Điều gì, yếu tố nào, quá trình nào đã làm nên những hiện tượng kỳ diệu đó ở sinh vật? Qua quá trình nghiên cứu công phu và tỷ mỉ nhiều nhà khoa học đã phát hiện ra hiện tượng đó của sinh vật và gọi là sự *di truyền*, đời trước truyền đạt lại cho đời sau các đặc điểm của chúng. Trong suốt quá trình hình thành, hành tinh của chúng ta đã trải qua rất nhiều những biến đổi về vật chất, về khí hậu, . . ., để thích ứng được với những biến đổi của ngoại cảnh sống và để tồn tại - phát triển các loài sinh vật cũng đã phải biến đổi, nếu không chúng sẽ bị diệt vong.

Theo Boston (1906), *di truyền học* là khoa học nghiên cứu về *tính di truyền* và *tính biến dị* của sinh vật, tìm hiểu quy luật về sự tương đồng và sự khác nhau giữa các cá thể có quan hệ thân thuộc. Danh từ "*di truyền học*" đã được ông đặt cho bộ môn khoa học này. Như vậy, đến nay di truyền học là bộ môn khoa học đã trải qua hơn một thế kỷ hình thành và phát triển, nó đã đạt được nhiều thành tựu và nhiều tiến bộ vượt bậc. Từ chỗ các nhà nghiên cứu chỉ mới mừng tượng rằng, hiện tượng di truyền phải do một yếu tố nào đó trong cơ thể điều khiển, tới lúc đã có khái niệm nó là do yếu tố "*gen*"-song chưa biết được gen nằm ở đâu và có cấu tạo như thế nào, thì ngày nay chúng ta không những đã xác định được cấu tạo phân tử chính xác của gen mà còn biết từng gen nằm ở vị trí nào. Ví dụ, như phát hiện và xây dựng bản đồ của bộ gen người trong năm 1999÷2001.

Chúng ta có thể thấy những hiện tượng di truyền của sinh vật ngay trên các sinh vật sống quanh ta hay qua các thước phim ảnh mà các nhà khoa học-các nhà thám hiểm đã chụp hoặc quay được để chứng minh những sự giống nhau, khác nhau giữa các cá thể, giữa các thế hệ với nhau. Những thay đổi như vậy của các loài sinh vật nói chung và của các loài động vật nói riêng là do đâu? Đó là những thay đổi về bản chất của mỗi loài, mỗi giống, song cũng có thể chỉ là những thay đổi tạm thời trong một thời gian nhất định của mỗi cá thể hay của một loài, một giống, các nhà khoa học gọi hiện tượng này là "*tính biến dị*" của sinh vật.

Nghiên cứu về tính di truyền là tìm hiểu quy luật truyền đạt các đặc điểm, các tính trạng từ thế hệ trước cho thế hệ sau. Xác định được quy luật di truyền của các tính trạng chúng ta có thể tạo điều kiện để cho thế hệ sau thừa hưởng được những tính trạng tốt của các thế hệ trước.

Khi ngành di truyền học đã phát triển ở trình độ cao thì các nghiên cứu về di truyền càng đi sâu hơn vào bản chất của sự di truyền, đó là việc đi sâu vào nghiên cứu về các vật liệu chứa các vật chất tạo ra sự truyền đạt các đặc điểm của thế hệ trước cho thế hệ sau. Đó là những nghiên cứu

về *nhễm sắc thể*, về gen hay ở cấp độ tinh vi hơn là nghiên cứu về *ADN*, *ARN*, *protein* trong các tế bào của cơ thể sinh vật.

Nghiên cứu về những biến đổi-biến dị của các tính trạng ở sinh vật các nhà khoa học đã nhận thấy có 2 nhóm hiện tượng:

Nhóm thứ nhất bao gồm những thay đổi mà những đặc điểm bị thay đổi này tiếp tục xuất hiện hay di truyền cho thế hệ sau. Ví dụ: Sự thay đổi về hình dạng quả của các loài cây, thay đổi màu sắc của các loài hoa, . . . Những thay đổi như vậy người ta gọi là *biến dị di truyền*, chúng có được là do những sự thay đổi xảy ra bên trong vật chất của sự di truyền (*nhễm sắc thể*, *ADN*) tạo nên.

Nhóm thứ hai, gồm những thay đổi chỉ xuất hiện và tồn tại trong một thế hệ, thậm chí chỉ trong một thời kỳ, trong một giai đoạn của cuộc đời một cá thể. Ví dụ, năng suất của một loài nuôi trong một vụ; những thay đổi này không di truyền cho thế hệ sau, các nhà khoa học gọi là các *biến dị không di truyền* hay *thường biến*.

Ngày nay, các nhà nghiên cứu đã nhận ra rằng: Xen giữa hiện tượng di truyền và biến dị của các tính trạng là tác động của các yếu tố gọi là ngoại cảnh. Các yếu tố ngoại cảnh có thể là: Các yếu tố vật lý, hoá học, các yếu tố dinh dưỡng, thức ăn, nhiệt độ, độ mặn, . . .

Các mối quan hệ đó đã được tổng hợp và biểu thị trong công thức sau:

$$P = G + E$$

Trong đó:

- P là các đặc điểm, các tính trạng của cá thể, gọi là kiểu hình (Phenotype)
- G là các yếu tố di truyền của cá thể, gọi là kiểu di truyền hay kiểu gen (Genotype)
- E là các tác động của các yếu tố ngoại cảnh, gọi là yếu tố ngoại cảnh (Environment).

Những quan sát thông thường cũng cho phép ta nhận ra các đặc điểm đặc trưng cho nòi, loài, giống, . . ., được di truyền từ đời này qua đời khác, song chúng ta cũng có thể nhận ra những sự sai khác giữa các cá thể ở các thế hệ khác nhau. Điều này cho thấy tính di truyền cũng không hoàn toàn nghiêm ngặt, vì vậy con cái (thế hệ sau) không phải là một bản sao (copy) của cha mẹ (thế hệ trước), mà các đặc điểm của thế hệ trước được phân bố ở thế hệ sau theo một cách thức thay đổi. Tất cả các đặc điểm của thế hệ trước thường có thể được tái xuất hiện ở thế hệ sau nhờ các quá trình sinh sản, tùy thuộc vào mức độ tiến hoá của các loài mà hình thức sinh sản của chúng cũng khác nhau. Vì vậy mà mức độ giống nhau hay khác nhau giữa các thế hệ cũng rất khác nhau. Một số đặc điểm có thể xuất hiện ở phần đông các cá thể, một số khác chỉ thấy ở một số cá thể, một số đặc điểm có thể xuất hiện ở thế hệ này hoặc thế hệ khác, nhưng cũng có những đặc điểm không bao giờ thấy xuất hiện ở các thế hệ kế tiếp, đây là các đặc điểm đã được hình thành do tác động của các yếu tố ngoại cảnh.

Một số đặc điểm chỉ có ở một hoặc một vài cá thể, thế hệ trước của chúng không có, nhưng các đặc điểm này lại thường được di truyền lại cho đời sau- những đặc điểm này thường là các trường hợp bệnh lý.

Với những đặc điểm như trên, di truyền học có nhiệm vụ nghiên cứu:

- Bản chất của thông tin di truyền.
- Sự biểu hiện của thông tin di truyền.
- Sự truyền đạt các thông tin di truyền.
- Những thay đổi của thông tin di truyền.

Do vậy di truyền học cần phải được triển khai nghiên cứu ở nhiều cấp độ như:

- Mức độ phân tử: ADN, ARN, Protein.
- Mức độ tế bào: Cấu trúc tế bào, nhiễm sắc thể, các quá trình sinh sản của tế bào (phân bào nguyên nhiễm, giảm nhiễm, thụ tinh).
- Mức độ cá thể.
- Mức độ quần thể.

Các nghiên cứu về di truyền cũng có thể có tính chất lý thuyết cơ bản (theory), và ứng dụng (application) cho từng đối tượng sinh vật hay cây, con mà người ta có thể gọi là chọn giống và nhân giống cây trồng, vật nuôi, . . .

02. Các phương pháp nghiên cứu di truyền

Do việc nghiên cứu di truyền diễn ra ở nhiều góc độ hay cấp độ khác nhau mà các nhà khoa học đã đề ra các phương pháp nghiên cứu khác nhau:

1. Phương pháp hoá sinh: Phương pháp này đi sâu vào nghiên cứu các mặt sinh học, hoá học của cơ sở vật chất di truyền ở mức độ phân tử: ADN (Axit Deoxyribonucleic), ARN (Axit Ribonucleic), và các protein. Nghiên cứu mối liên hệ hay các quá trình hoá sinh xảy ra giữa chúng: $ADN \leftrightarrow ARN \leftrightarrow Protein$. Các nghiên cứu ở góc độ này sẽ giúp chúng ta hiểu rõ cấu trúc hoá học, bản chất sinh học của ADN, ARN và protein.

2. Phương pháp tế bào học: Đây là phương pháp đi sâu vào nghiên cứu cấu trúc của tế bào, thành phần của tế bào và các quá trình xảy ra bên trong các thành phần ấy, nhất là các nghiên cứu về cấu trúc, chức năng hoạt động của nhiễm sắc thể, quá trình phân chia tế bào, thụ tinh, sinh tổng hợp các protein.

3. Phương pháp nghiên cứu cá thể: Đây là phương pháp nghiên cứu nhằm xem xét các biểu hiện của các đặc điểm, tính trạng trong quá trình phát triển của cá thể, từ đó phát hiện ra quy luật di truyền của các tính trạng và sự biến đổi của các tính trạng. Qua đây chúng ta cũng biết được quy luật đóng mở của các gen trong các giai đoạn sinh trưởng-phát triển khác nhau của cá thể dưới ảnh hưởng của các điều kiện ngoại cảnh, nắm được các quy luật này ta có thể chủ động làm cho cá thể có sự phát triển theo ý muốn phục vụ tốt hơn cho lợi ích của con người.

4. Phương pháp phân tích di truyền: Đây là phương pháp nghiên cứu với việc tổ chức cho các cá thể kết hợp (giao phối) với nhau và theo dõi sự biểu hiện của các tính trạng, ghi chép lại, xử lý thống kê phân tích

các số liệu và kết quả thu được để rút ra các quy luật. Đây là phương pháp cơ bản để nghiên cứu các quy luật di truyền của các tính trạng. Chỉ có thể dựa vào phương pháp này mới biết được mức độ trội, lặn hay trung gian cũng như các hoạt động khác của các gen điều khiển sự hình thành và phát triển của các tính trạng. Phương pháp nghiên cứu này đã làm nảy sinh một bộ môn mới, đó là thông kê sinh vật học.

5. Phương pháp di truyền quần thể: Các cá thể sinh vật thường tồn tại trong những đám đông, có thể là nội bộ của một dòng, một giống, một loài, nhưng cũng có thể là các nhóm với số lượng cá thể rất khác nhau. Các quần thể có thể có những quy luật riêng của chúng, những quy luật này mới đặc trưng cho loài, nòi, giống, dòng, . . ., mà nếu chỉ nghiên cứu ở cấp độ cá thể thì không có được. Hơn nữa, các quy luật, tính chất của sinh vật không thể chỉ dựa vào nghiên cứu trên số ít, mà muốn rút ra bất kỳ quy luật nào cũng phải dựa vào đám đông hay còn gọi là quy luật số lượng (số lớn).

Về phương diện ứng dụng, di truyền học tập trung vào các vấn đề sau đây:

1. Ứng dụng những cơ sở lý luận của di truyền để chọn lựa những phương pháp lai tối ưu, phù hợp với từng đối tượng cụ thể. Vấn đề này thể hiện ở các góc độ như để tạo ra sự đa dạng di truyền của quần thể chọn lọc, tạo ra giống lai có ưu thế lai cao-sử dụng một đời lai F_1 .

2. Chọn những phương pháp chọn lọc hiệu quả nhất để thu sản phẩm: Tế bào, dòng, quần thể, . . ., theo kế hoạch đã vạch ra.

3. Điều khiển sự phát triển của tính trạng để thu hiệu quả tối đa hay tối thiểu của tính trạng. Điều này cần thực hiện trong những điều kiện môi trường sinh thái cụ thể.

4. Gây ra các đột biến thực nghiệm, chuyển nạp gen tạo các đột biến có định hướng trong bộ máy di truyền theo kế hoạch và để bảo vệ hoặc sửa chữa các hỏng hóc trong bộ máy di truyền.

03. Ý nghĩa của di truyền học đối với cây trồng

Di truyền học đề cập tới những đơn vị riêng biệt của thông tin di truyền, đó là các gen. Vì thế, điểm trọng yếu trong phương pháp luận của nó là tính cơ bản và tính tổng hợp, tính chính xác và cụ thể, đồng thời cũng trừu tượng và phức tạp. Di truyền học có ý nghĩa rất lớn với thực tiễn và đối với các bộ môn khoa học khác như y học, sinh học, sinh thái và bảo vệ tài nguyên môi trường. Di truyền học là phương pháp luận cơ bản của tiến hoá, đặc biệt nó là cơ sở của chọn giống cây trồng, vật nuôi, . . .

Các thành tựu của di truyền học được ứng dụng nhanh và nhiều hơn cả là trong lĩnh vực chọn và tạo giống. Dựa trên những lý luận di truyền cơ bản và di truyền chuyên khoa của từng đối tượng sinh vật, các nhà khoa học đã thiết kế-xây dựng các chương trình chọn tạo giống bao gồm các vấn đề: Tìm kiếm nguồn gen, tạo ra biến dị (lai hữu tính trong loài và khác loài, gây đột biến, đa bội và ứng dụng công nghệ sinh học) và chọn lọc, . . . nhằm cho ra các giống cây trồng, vật nuôi, vi sinh vật, . . . cải tiến để phục vụ cho mục tiêu đặt ra của con người.

Việc sử dụng gen thấp cây đã đem lại cuộc "cách mạng xanh" đối với nhiều loài cây ngũ cốc như lúa nước, lúa mì, lúa mạch, . . . Nhiều loài cây trồng đa bội có năng suất cao, giá trị thương phẩm tốt như củ cải đường, dâu tây, dưa hấu,... đã được đưa ra. Đặc biệt vấn đề lai tạo giống có ưu thế lai cao đã đem lại những bước tiến lớn mang tính cách mạng trong sản xuất nông nghiệp. Thị trường hạt giống lai (lúa lai Trung Quốc, ngô Bioseed, ngô Pacific,...) đã đem lại lợi nhuận lớn cho nhiều quốc gia.

Xét về cơ bản, phát triển một nền sản xuất nông nghiệp hiện đại, bền vững chính là phát triển một nền trồng trọt thích hợp. Vấn đề trọng yếu ở đây là tiến hành sinh học hoá các quá trình sản xuất thâm canh bằng con đường tạo ra các giống và giống lai có tiềm năng năng suất cao, chất lượng tốt. Đặc biệt, trong điều kiện các giống cây trồng mới ngày càng cho năng suất cao, song lại rất mẫn cảm với tác động của môi trường, sức chống chịu nói chung (hạn, nóng, lạnh, mặn, . . .) và chống chịu với bệnh tật nói riêng đang có xu hướng giảm sút thì vấn đề chọn tạo cho được các giống, dòng cây trồng có khả năng chống chịu cao, có sức chống bệnh, khả năng miễn dịch cao đang là mối quan tâm của các nhà di truyền-giống. Chú ý những loại cây có khả năng cải tạo và bảo vệ đất, thiết kế các hệ thống canh tác hiệu quả nhất nằm trong cấu phần chung của hệ sinh thái. Chỉ có ứng dụng các thành tựu thuộc các lĩnh vực khoa học như di truyền học, học thuyết tiến hoá tổng hợp, tiến hoá thực vật, sinh thái, sinh lý, vi sinh vật, thổ nhưỡng, khí tượng, hệ thực vật và một số khoa học cơ sở khác mới có thể hiểu biết về những khả năng thích ứng của cây trồng và những phương thức điều khiển chúng, trên cơ sở bảo vệ và sử dụng một cách kinh tế nguồn tài nguyên thiên nhiên, nhằm thu được một sự tăng trưởng ổn định về năng suất và bền vững.

Trong những năm gần đây, tổng sản lượng lương thực của nước ta đã đạt được những con số đáng khích lệ. Từ một nước thiếu lương thực đã trở thành một nước xuất khẩu gạo đứng hàng thứ nhất, nhì trên thế giới. Riêng năm 2012 lượng gạo xuất khẩu đã đạt trên 7 triệu tấn và tổng sản lượng lương thực đạt trên 42 triệu tấn, trong đó có 38 triệu tấn thóc.

Ngoài những nhân tố về quản lý Nhà nước, chế độ chính sách, các biện pháp kỹ thuật và đầu tư, yếu tố đất, nước, khí hậu thời tiết, thì giống mới có một vai trò đặc biệt quan trọng trong việc nâng cao năng suất và sản lượng cây trồng. Các giống mới là kết quả của việc áp dụng các nguyên lý di truyền vào công tác chọn lọc và lai tạo giữa các giống.

Đã từ lâu, việc áp dụng các nguyên lý của di truyền học vẫn được coi là vấn đề then chốt trong việc gây tạo và cải tiến các giống. Những đóng góp của di truyền học vào việc nâng cao năng suất và sản lượng cây trồng được xếp vào hàng thứ hai, sau những tiến bộ đạt được trong lĩnh vực phân bón, thủy lợi và nông hoá. Trong nửa sau của thế kỷ XX, việc tăng năng suất và sản lượng ở nhiều loại cây trồng quan trọng trên thế giới có sự đóng góp khoảng 50% nhờ việc đưa vào sản xuất những giống cây trồng mới.

Mặt khác, trong khoảng hai thập kỷ cuối của thế kỷ XX, các kiến thức và kỹ thuật cũng như công nghệ sinh học hiện đại, đặc biệt là trong lĩnh vực nuôi cấy mô-tế bào, sinh học phân tử đã phát triển rất nhanh chóng. Các kỹ thuật hiện đại này phát triển nhanh đến mức khiến cho các nhà chọn giống cảm thấy khó khăn trong việc lựa chọn chúng để áp dụng. Sự trợ giúp của một số biện pháp như vậy đối với các phương pháp chọn giống thực vật thông thường đã thúc đẩy quá trình tạo ra các giống cây trồng mới có nhiều đặc tính nông-sinh học quý.

Tìm hiểu các quy luật của cuộc đời của các cây trồng, giúp cho con người hiểu biết về các cây trồng để khai thác có hiệu quả các khả năng cung cấp các sản phẩm lương thực, rau, quả, hạt, . . . phục vụ cho cuộc sống của con người, vật nuôi. Năng suất và chất lượng của các sản phẩm là mục tiêu khai thác cây trồng của con người, hiểu được bản chất di truyền của các đặc điểm, tính trạng năng suất sẽ góp phần rất quan trọng vào việc làm tăng năng suất và chất lượng của các sản phẩm từ cây trồng. Hiểu được bản chất di truyền của các tính trạng chúng ta mới làm cho cây trồng phát huy hết tiềm năng di truyền, khai thác đúng thời điểm và mới đem lại hiệu quả kinh tế cao trong sản xuất.

Chúng ta cũng cần hiểu rõ tác động của các yếu tố ngoại cảnh, vì yếu tố di truyền luôn luôn chịu tác động của các yếu tố ngoại cảnh, nói cách khác là hai yếu tố này luôn có một sự tương tác với nhau, hiểu được mối quan hệ này thì ta có thể vận dụng để thu được lợi ích, ngược lại sẽ gặp phải những rủi ro như: Hạn chế tốc độ sinh trưởng và phát triển, gây ra các đột biến, tạo điều kiện cho các dịch bệnh phát sinh, phát triển, . . .

Hiểu được các quy luật di truyền chúng ta có thể vận dụng chúng để quản lý giống cây, bảo tồn các vốn gen quý, tổ chức lai tạo để cho ra các giống lai, tạo ra các giống mới có năng suất cao, hạn chế các tác hại của chúng như: Gây ra đồng huyết, suy hoá cận huyết, dẫn tới các hiện tượng thoái hoá, chết, bán gây chết ở cây trồng.

Như vậy, khoa học công nghệ được xem xét như sự tổng hợp của nhiều tri thức khoa học, trong đó di truyền học và học thuyết tiến hoá giữ vai trò trọng tâm và chỉ đạo, nhờ đó ta có thể:

Thứ nhất, định hướng đúng đắn những chiến lược tạo giống ngắn hạn cũng như dài hạn cho địa bàn sử dụng cụ thể, giúp cho việc tìm ra những giải pháp thực hiện hiệu quả nhất, ít tốn kém nhất để đạt được mục tiêu đề ra.

Thứ hai, điều khiển sự phát triển của vật liệu sinh học ở hệ thống canh tác cụ thể, nằm trong cấu phần có điều hoà chung của hệ sinh thái, nhằm đem lại việc khai thác và sử dụng hiệu quả nhất (bền vững) nguồn năng lượng, tài nguyên, môi trường và bảo vệ thiên nhiên, bảo vệ sự tiến hoá sinh học.

Chương 1

CƠ SỞ VẬT CHẤT CỦA DI TRUYỀN

Tế bào là đơn vị cơ sở của sự sống ở mọi loài sinh vật. Nhờ cuộc cách mạng về phương pháp nghiên cứu ở thập niên 60÷70 (thế kỷ XX) mà từ sự mô tả về hình thái nhiễm sắc thể, con người đã khám phá ra bản chất cấu trúc phân tử của sợi nhiễm sắc thể. Nó có ý nghĩa to lớn trong sự hoạt hoá và vận động của thông tin di truyền. Các cơ chế phân bào là cơ sở của quá trình di truyền. Các phương thức sinh sản khác nhau của sinh vật thể hiện tính đa dạng trong sự kế thừa vật chất di truyền giữa các thế hệ.

Người ta đã phát hiện ra trong tế bào có một loại axit, mà chủ yếu nó nằm trong nhân tế bào nên được gọi là axit nhân (axit nucleic). Axit nucleic gồm hai loại, đó là axit Deoxyribonucleic (ADN) và axit Ribonucleic (ARN). Hai loại axit này giữ vai trò vô cùng quan trọng đối với giới sinh vật. ADN chứa hầu hết các thông tin di truyền của tế bào và cơ thể. ADN cùng với các ARN điều khiển sự hình thành và phát triển của các tính trạng ở mọi cơ thể sinh vật.

I. CƠ SỞ VẬT CHẤT DI TRUYỀN Ở MỨC ĐỘ TẾ BÀO

Tế bào là cơ sở hạ tầng của mọi cơ thể sinh vật. Ở sinh vật bậc thấp mỗi cơ thể chỉ có một hoặc một số ít tế bào, ở sinh vật bậc cao cơ thể bao gồm hàng triệu triệu tế bào. Tuy vậy, về cơ bản các tế bào có sự giống nhau nhất định và chúng giữ các chức năng cơ bản giống nhau trong hoạt động sống của các cơ thể sinh vật.

1.1. Cấu tạo và chức năng di truyền của tế bào

Virus và thể thực khuẩn là những thể vô bào, chúng cấu tạo từ sợi axit nucleic cuộn lại nằm trong vỏ protein, không xảy ra trao đổi chất khi ở trạng thái tự do. Virus và thể thực khuẩn có khả năng phát triển và di truyền như một cơ thể sống chỉ khi chúng xâm nhập được vào tế bào ký chủ. Thể thực khuẩn ký sinh ở tế bào vi khuẩn.

Căn cứ vào đặc điểm cấu trúc của tế bào ở sinh vật, người ta chia chúng thành hai nhóm: Tế bào nhân sơ (Procarote) và tế bào nhân chuẩn (Eucariote).

1.1.1. Tế bào nhân sơ (Procarote)

Tế bào nhân sơ là các tế bào không có nhân hay tế bào tiền nhân. Tế bào Procarote ngoài việc không có nhân ra thì cũng không có nhiễm sắc thể, không có protein histon và chưa có các tế bào quan như ty thể, lạp thể và thể golgi.

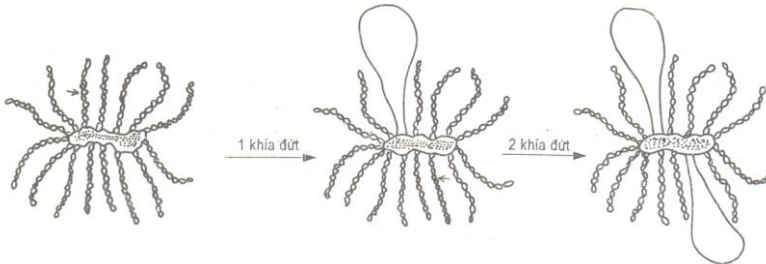
Sinh vật nhân sơ bao gồm vi khuẩn và tảo lam. Chúng là những sinh vật đơn bào, đó là các tế bào sơ khai, chưa được hình thành hoàn chỉnh và chưa có màng bao bọc.

Cấu trúc tế bào của vi khuẩn điển hình bao gồm một khối nguyên sinh trong đó có thể nhân-phân tử ADN cụm lại được bao bọc xung quanh bởi chất nhân (nucleoplasme), thể nhân không có màng riêng. Phân tử ADN có cấu trúc dạng vòng. Trong khối tế bào chất của vi khuẩn có chứa các riboxom, các ty thể ở dạng sơ khai gọi là mezoxom.

Trong tế bào tảo lam, tế bào chất phân hoá ra thành 2 vùng: Vùng phía trong có thể nhân, trong thể nhân là sợi ADN được bao quanh bởi các chất nhân. Vùng phía ngoài chứa thể sắc lạp, nó thực hiện chức năng quang hợp, cấu trúc của thể này giống như lục lạp. Tế bào chất của tảo lam cũng chứa các riboxom, các ty thể dạng sơ khai thực hiện chức năng cung cấp năng lượng.

Trong các loại vi khuẩn, cấu trúc thể nhân của trực trùng đường ruột (*Escherichia coli*) được nghiên cứu kỹ hơn cả. Bộ máy di truyền của nó là một sợi ADN dạng vòng, có độ dài tới 1 mm bao gồm 4×10^6 đôi bazơ, chứa khoảng 1500 gen. Trong thể nhân, sợi ADN được tổ chức dưới dạng các cấp co xoắn, xếp cuộn lại tạo nên vài chục dải bện gọi là các tiểu phân (các domen), chúng được kết giữ xung quanh khối protein và ARN (Hình 1.1). Sự kiến trúc theo kiểu tiểu phân xoắn của nhiễm sắc thể *E. coli* đảm bảo cho sự duỗi xoắn có thể xảy ra theo từng tiểu phân.

Bên cạnh thể thực khuẩn và virus, vi khuẩn là đối tượng rất thuận lợi cho việc nghiên cứu di truyền phân tử.

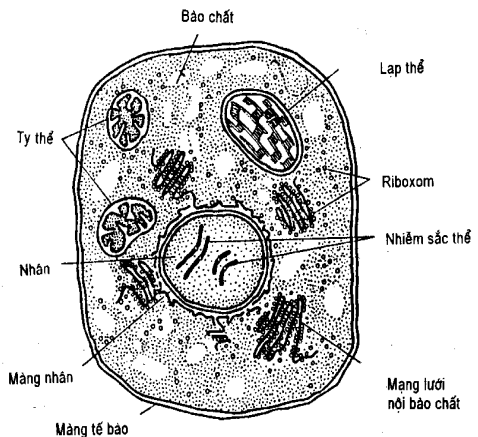


Hình 1.1. Sơ đồ cấu trúc sợi nhiễm sắc thể của *E.coli*. Bên cạnh siêu xoắn, sự cuộn xoắn lớn hình thành dưới dạng các tiểu phân (trong hình vẽ chỉ trình bày 15 tiểu phân). Sự mở xoắn do tạo khía đứt có thể xảy ra ở từng tiểu phân.

1.1.2. Tế bào nhân chuẩn (Eucariote)

Tế bào nhân chuẩn là các tế bào ở động vật, thực vật bậc cao, chúng có đầy đủ các bộ phận của một tế bào bình thường như màng, nhân, tế bào chất và các nội bào quan.

Cấu tạo của tế bào ở động vật, thực vật bậc cao (Hình 1.12) về cơ bản là giống nhau, chỉ có một sự khác nhau đó là tế bào thực vật có thành cứng bằng cellulose. Tế bào chất chứa nhiều riboxom nằm trong mạng lưới nội chất phức tạp. Trong tế bào chất chứa nhiều bào quan khác nhau như: Ty



Hình 1.2. Cấu trúc và các thành phần của tế bào nhân chuẩn

thể và lạp thể, chúng là những bào quan có chứa ADN cấu trúc dạng vòng (giống như ở vi khuẩn)-có khả năng tự tái bản. Ty thể là cơ quan cung cấp năng lượng của tế bào. Lạp thể chỉ có ở tế bào thực vật, trong đó lục lạp là cơ quan quang hợp của tế bào. Nhóm bào quan thứ hai không có khả năng tự tái bản, bao gồm lysosom, thể golgi, không bào, . . .

1.2. Nhân tế bào và vai trò của nhân tế bào trong di truyền

Nhân tế bào thường nằm ở khu vực trung tâm của tế bào, nó giữ vai trò quan trọng là điều hoà mọi hoạt động sống của tế bào như cảm ứng, trao đổi chất, sinh trưởng, phát triển và sinh sản.

Trong giai đoạn gian kỳ, nhân của tế bào có dạng tròn hay elip, chiếm khoảng 10÷20% thể tích của tế bào. Nhân có 3 thành phần chính:

- *Màng nhân* thuộc dạng màng sinh học kép, có các lỗ thông với tế bào chất, có tính chất bán thấm. Tiền màng nhân thường tích nhiều điện tích dương (trái với điện tích âm có nhiều ở màng tế bào).

- *Dịch nhân* là một chất dịch dạng keo, có độ nhớt thấp hơn so với độ nhớt của bào chất. Dịch nhân là nơi diễn ra nhiều hoạt động chức năng của axit nucleic.

Trong dịch nhân có nhiều axit amin, protein enzym, muối khoáng, . . . Dịch nhân là nơi chứa nhiễm sắc thể, tiểu hạch.

Chất nhiễm sắc (chromatin) là thành phần chủ yếu của nhân, đây là vật chất di truyền của tế bào. Chất nhiễm sắc bắt màu mạnh khi nhuộm màu bằng các thuốc nhuộm kiềm tính. Dưới kính hiển vi ở giai đoạn gian kỳ thường quan sát thấy khối cấu trúc chung (dạng hình hạt hay hình sợi) của chất nhiễm sắc. Đó là các sợi nhiễm sắc thể ở trạng thái duỗi xoắn.

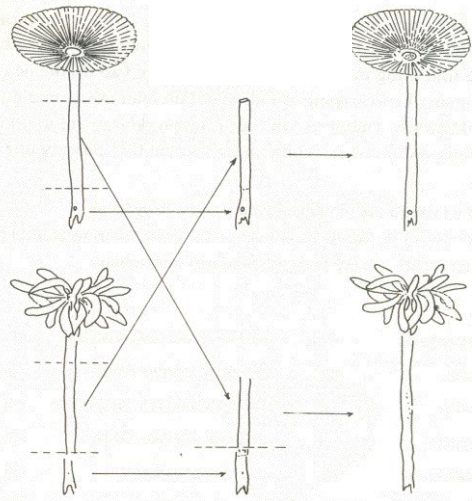
• *Tiểu hạch*: Trong giai đoạn gián kỳ, tiểu hạch là thành phần bắt màu, hiện rõ hơn các thành phần khác. Bình thường trong nhân có một tiểu hạch, hiếm khi có nhiều hơn. Khi tế bào phân chia thì tiểu hạch biến mất vào cuối tiền kỳ và được khôi phục trở lại ở mạt kỳ.

Ở tiểu hạch có đoạn nhiễm sắc thể đi qua, đoạn ấy gọi là vùng tổ chức tiểu hạch. Đoạn này hầu như luôn ở trạng thái chức năng, ở đây chứa nhiều bản gen ARN ribosom. Tiểu hạch là trung tâm quan trọng sản xuất ra các ARN ribosom cho tế bào.

Qua những phân tích về hiển vi và hoá sinh tế bào cho thấy, tiểu hạch được cấu tạo từ các thành phần sau: Các phức hợp ribonucleoprotein dạng hạt, ribonucleoprotein dạng sợi, các protein không định hình có cấu trúc bậc bốn, sợi chromatin (đoạn nhiễm sắc thể đi qua tiểu hạch). Cấu trúc này thể hiện chức năng của tiểu hạch-là nơi tạo nhiều ARN cho tế bào.

Để chứng minh cho vai trò của nhân đối với tế bào sống, năm 1948 Tener đã tiến hành thí nghiệm trên Amip, ông đã dùng chỉ thắt Amip làm hai phần, một phần có chứa nhân và một phần không chứa nhân. Kết quả là phần có nhân tiếp tục sống, phát triển và sinh sản ra Amip mới, phần không có nhân chỉ tồn tại được một thời gian rồi chết. Điều này chứng tỏ rằng nhân cần thiết cho sự sống, trao đổi chất, sinh trưởng, phát triển và sinh sản của Amip.

Hemeling đã làm thí nghiệm trên hai loài tảo biển là *Axetabularia mediterranea*, chúng là loài tảo có chiều cao khoảng 5cm, có rễ, thân, lá giả và có tán hình đĩa. Đây là loại thực vật mà toàn bộ cơ thể là một tế bào duy nhất (đơn bào). Ông đã cắt ngang thân tảo làm hai phần, phần gốc có chứa nhân và phần ngọn không chứa nhân, sau đó đưa cả hai phần ngâm vào nước biển. Kết quả là phần gốc của tảo tiếp tục sinh trưởng, phát triển và tái tạo lá mới và sinh sản; phần ngọn không có nhân chỉ sống được một thời gian, không có khả năng tái tạo gốc rễ mới và chết đi. Nếu cắt thân tảo bằng 2 lát cắt-chia tảo làm ba phần, thì phần thân ở giữa có khả năng tái tạo lá hình đĩa chỉ một lần và sau đó cũng bị chết.



Hình 1.3. Thí nghiệm chứng minh tương quan giữa nhân và tế bào chất, tán lá của *Acetabularia* ghép được phục hồi do ảnh hưởng của nhân.

Ở một loài tảo khác (*Acetabularia granulata*) có tán xẻ thùy, người ta đã làm thí nghiệm lấy một đoạn thân của loài tảo này ghép lên thân của một loài tảo khác (*A. mediterranea*) thì tảo ghép sẽ hình thành tán mới hình đĩa mặc dù có chứa đoạn thân ghép của tảo *A. granulata* và ngược lại nếu đem đoạn thân của tảo *A. mediterranea* ghép lên gốc của *A. granulata* thì tán của cây tảo ghép sẽ có hình xẻ thùy.

Trên cơ sở các thí nghiệm này tác giả đã giải thích rằng, nhân ở gốc của tảo đó sinh ra một chất nào đó cần thiết cho việc hình thành tán hình đĩa hay xẻ thùy. Chất này phân tán theo thân về phía trên và kích thích sự sinh trưởng của lá.

Như vậy trong nhân chứa thông tin đặc biệt xác định hình dạng của tán hình đĩa hay xẻ thùy tương ứng và ảnh hưởng mạnh lên đoạn thân ghép.

1.3. Nhiễm sắc thể và vai trò của nhiễm sắc thể trong di truyền

Nhiễm sắc thể là thành phần rất quan trọng nằm trong nhân tế bào. Ở các loài động thực vật khác nhau thì số lượng nhiễm sắc thể trong nhân tế bào có khác nhau (Bảng 1.1)

Bảng 1.1. Số lượng nhiễm sắc thể trong tế bào của một số loài sinh vật

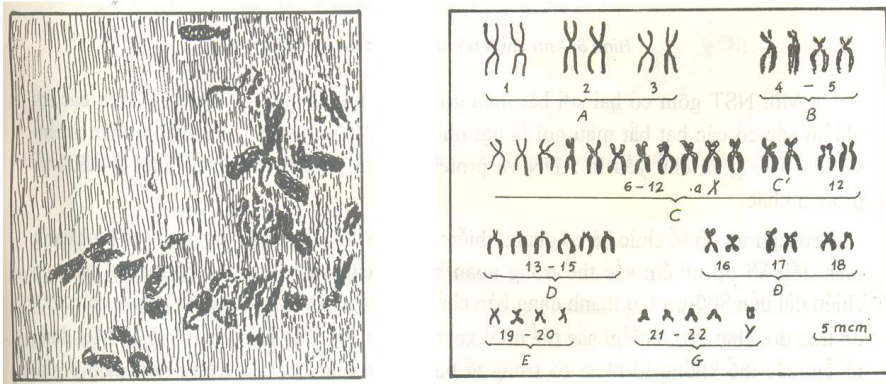
| Loài | 2n | Loài | 2n |
|---|----|-------------------------------------|----|
| Lúa (<i>Oryza sativa</i>) | 24 | Ngô (<i>Zea mays</i>) | 20 |
| Đậu Hà Lan (<i>Pisum sativum</i>) | 14 | Đậu ngựa (<i>Visia faba</i>) | 12 |
| Cà chua (<i>Lycopersicon esculentum</i>) | 24 | Hành (<i>Allium cepa</i>) | 16 |
| Đậu tương (<i>Glycine max</i> (L.) Merr) | 40 | Lúa mạch (<i>Hordeum vulgare</i>) | 14 |
| Ruồi dấm (<i>Drosophila melanogaster</i>) | 8 | Người (<i>Homo spien</i>) | 46 |

Số lượng nhiễm sắc thể trong tế bào của mỗi giống, loài là tương đối ổn định trong quá trình sinh trưởng và phát triển, ổn định và đặc

trung cho giống, loài từ thể hệ này qua thể hệ khác. Vì vậy mỗi khi có sự thay đổi về số lượng nhiễm sắc thể trong nhân tế bào là đó có một biến dị xuất hiện và do đó dẫn đến những thay đổi về đặc tính sinh lý, sinh hoá, hình thái của cơ thể và có thể làm xuất hiện những dị tật. Ví dụ, ở người bị bệnh Down cặp nhiễm sắc thể thứ 21 thay vì có 2 chiếc đã có 3 chiếc.

Trong nhân tế bào các nhiễm sắc thể thường được sắp xếp ở những vị trí nhất định và sự sắp xếp này cũng đặc trưng cho giống, loài. Người ta có thể làm tiêu bản tế bào và dùng máy chụp ảnh trên kính hiển vi để chụp lại hình ảnh về sự phân bố của các nhiễm sắc thể trong nhân tế bào ta sẽ được một bức ảnh về bộ nhiễm sắc thể trong nhân tế bào của một loài được gọi là kiểu nhân (*Karyotype*, Hình 1.4).

Người ta cũng có thể vẽ lại các cặp nhiễm sắc thể với sự sắp xếp theo trật tự của chiều dài từ cao đến thấp và đánh số các cặp thứ tự theo trật tự này. Bức tranh như vậy được ta gọi là nhân đồ (*Kariogram*, Hình 1.4).



Hình 1.4. Ảnh chụp bộ nhiễm sắc thể ở người.
Trái-kiểu nhân (*Karyotype*), phải-nhân đồ (*Kariogram*)

Số lượng nhiễm sắc thể trong nhân tế bào không có ý nghĩa trong việc giải thích các nấc thang tiến hóa của các loài, mà phải dựa vào bản chất cấu tạo của nhiễm sắc thể hay nói cách khác là dựa vào cấu tạo thành phần của các gen trên nhiễm sắc thể. Tất cả các nhiễm sắc thể trong nhân tế bào của một loài lập thành một bộ nhiễm sắc thể của loài đó.

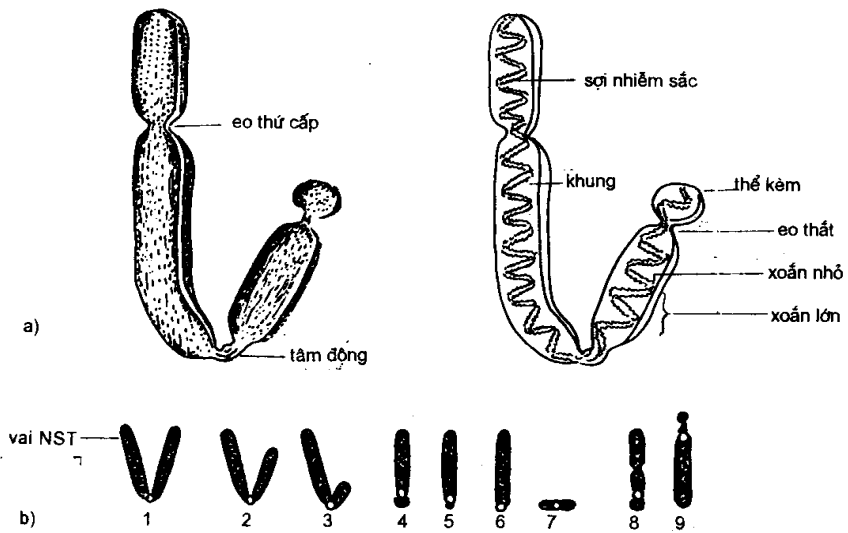
Bộ nhiễm sắc thể trong tế bào thường (*soma*) sắp xếp với nhau thành từng cặp gọi là lưỡng bội và ký hiệu là $2n$. Trong tế bào sinh dục chín (giao tử đực và giao tử cái) số lượng nhiễm sắc thể chỉ còn lại bằng $1/2$ so với tế bào *soma* và gọi là đơn bội (n).

Trong bộ nhiễm sắc thể của động vật gồm có 2 loại: Các nhiễm sắc thể thường và các nhiễm sắc thể giới tính hay cũng gọi là nhiễm sắc thể sinh dục. Các nhiễm sắc thể thường (*autosome*) được ký hiệu là A và trong các tế bào bình thường chúng thường có số lượng là $2n - 2$ chiếc. Các nhiễm sắc thể giới tính trong các tế bào *soma* thường có 2 chiếc và thường được ký hiệu là X, Y và vì vậy bộ nhiễm sắc thể sinh dục trong tế bào thường có thể là XX hoặc XY. Trong các tế bào sinh dục chín số

lượng nhiễm sắc thể giới tính cũng chỉ còn lại 1/2 so với tế bào soma, có nghĩa là chỉ còn lại một chiếc hoặc X hoặc Y. Cơ thể có cặp nhiễm sắc thể giới tính là XX thì được gọi là cơ thể đồng giao tử và cơ thể có cặp nhiễm sắc thể giới tính là XY thì gọi là cơ thể dị giao tử.

1.3.1. Hình thái và cấu tạo của nhiễm sắc thể

Ở trung kỳ của quá trình phân bào nguyên nhiễm do các nhiễm sắc thể có mức co xoắn lớn nhất nên có thể quan sát được rõ nhất về cấu trúc và hình dạng. Các hình ảnh sau đây sẽ cho thấy hai đặc điểm này của nhiễm sắc thể (Hình 1.5).



Hình 1.5. Cấu trúc và hình dạng của nhiễm sắc thể

a) Sơ đồ chung, b) Các dạng hình của NST: 1,7-dạng cân; 2-dạng lệch; 3, 4, 5-tâm động rất lệch; 6-dạng gậy; 8-NST có eo thứ cấp; 9-NST có thể kèm

Trên chiều dài của nhiễm sắc thể có một eo gọi là eo sơ cấp, chia nhiễm sắc thể thành 2 vai khác nhau. Eo sơ cấp có chứa tâm động của nhiễm sắc thể. Tùy thuộc vào vị trí của tâm động mà nhiễm sắc thể có hình dạng khác nhau, nhiễm sắc thể có tâm ở giữa gọi là nhiễm sắc thể cân tâm (V cân), tâm lệch (V lệch), tâm ở cận mút (phụ trợ), tâm ở mút (hình gậy). Một số nhiễm sắc thể có eo thứ cấp chứa tổ chức hạch nhân và phần cuối gọi là thể kèm. Trong nhân tế bào của một loài các cặp nhiễm sắc thể khác nhau thì có hình thái và kích thước khác nhau. Ví dụ, các nhiễm sắc thể ở người thì cặp nhiễm sắc thể số 1 có độ dài 10 μm và cặp số 22 chỉ dài 2,6 μm .

Trong nhiễm sắc thể thì tâm động là một vùng quan trọng, nó có ý nghĩa lớn trong phân bào, là nơi đính vào các sợi tơ vô sắc để nhiễm sắc thể tách ra và chạy về hai cực của tế bào. Tâm động có kiến trúc đặc biệt, là một khối ADN-protein bền vững. ADN ở tâm động của nhiễm sắc thể nằm men có độ dài khoảng 220÷250 đôi bazơ. Nhiều nghiên cứu cho

thấy, ở sinh vật nhân chuẩn bậc cao, vùng tâm động có nhiều ADN thuộc dạng kiến trúc trùng lặp bội số cao.

Trong mỗi nhiễm sắc thể có 2 sợi bắt màu và được gọi là sợi nhiễm sắc (chromatid). Trên các sợi nhiễm sắc có các hạt bắt màu và được gọi là hạt nhiễm sắc (chromomer). Thành phần chủ yếu của nhiễm sắc thể là ADN và protein histon, ngoài ra trong nhiễm sắc thể còn có một ít ARN và các protein khác.

Trong nhiễm sắc thể có nhiều loại protein không Histon. Chúng bám vào phân tử ADN và có nhiều chức năng khác nhau như: Các protein cấu trúc để tổ chức ADN trong nhân, các protein enzym để xúc tác cho các phản ứng như tổng hợp ADN, các protein điều chỉnh hoạt động của ADN và các loại ARN, như:

- Polymeraza 1: Liên kết với hạt nhân, có trọng lượng phân tử từ 500.000÷ 700.000, đòi hỏi sự có mặt của ion Mg^{++} hoặc Mn^{++} để hoạt động và làm nhiệm vụ xúc tác cho quá trình tổng hợp mARN.

- Polymeraza ARN II: Có ở trong chất nhân, có trọng lượng phân tử 700.000, đòi hỏi sự có mặt của ion Mn^{++} để hoạt động và làm nhiệm vụ xúc tác cho quá trình tổng hợp mARN.

- Polymeraza ARN III: Có ở trong chất nhân, làm nhiệm vụ xúc tác cho quá trình tổng hợp tARN và rARN 5S.

Trong nhiễm sắc thể cũng tìm thấy một số thành phần khác như các ion Ca^{++} , Mg^{++} , photphat và lipit.

Sự khác nhau của các thành phần nói trên trong các nhiễm sắc thể đó cấu tạo nên hai vùng nhiễm sắc thể: Nhiễm sắc thể hoạt động (nhiễm sắc thể thực) và nhiễm sắc thể không hoạt động (dị nhiễm sắc thể). Ngày nay người ta chú ý nhiều đến sự sắp đặt của phân tử Histon theo chiều dài của ADN và vai trò của chúng trong cấu trúc của nhiễm sắc thể. ADN và các protein liên kết chặt chẽ với nhau tạo nên sợi cromatin có tổ chức cao với các đơn vị tổ chức là nucleosom.

Khi nhuộm màu ta sẽ thấy nhiễm sắc thể có những vùng bắt màu đậm và có những vùng bắt màu nhạt. Vùng bắt màu đậm gọi là dị nhiễm sắc (heterochromatin) và vùng bắt màu nhạt gọi là nhiễm sắc thực (euchromatin). Người ta cho rằng, vùng nhiễm sắc thực là do nhiễm sắc thể duỗi xoắn và có chứa các gen đang hoạt động, còn vùng dị nhiễm sắc là do nhiễm sắc thể ở trạng thái xoắn mạnh, có độ lặp lại của các nucleotid cao và chứa ít gen hoạt động.

Nucleosom là đơn vị của sợi cromatin. Hạt nucleosom là một phức hợp của ADN với Histon, có dạng hình đĩa, có đường kính khoảng 110^0A . Mỗi nucleosom chứa 8 phân tử bao gồm 4 loại: H_2A , H_2B , H_3 và H_4 . Mỗi loại gồm 2 phân tử xếp thành 2 lớp. Các phân tử Histon tạo thành lõi của nucleosom. Mỗi phân tử Histon chứa khoảng 102-135 a.a.

Trong tế bào của một số tổ chức và cơ quan, nhiễm sắc thể có kích thước tăng vọt và hình dạng biến đổi. Ví dụ, nhiễm sắc thể trong noãn bào sơ cấp của động vật có xương sống có kích thước đến 800 μm và tạo thành dạng bàn chải đèn. Người ta cho rằng, các tế bào có cường độ trao đổi chất cao, nhiễm sắc thể duỗi xoắn cực đại và tổng hợp nhiều ARN.

Một dạng nhiễm sắc thể không lồ khác có trong tuyến nước bọt của ấu trùng ruồi giấm (Hình 1.6) ở giai đoạn muộn do ADN đó được tổng hợp nhưng lại không phân ly đã tạo nên nhiễm sắc thể không lồ có thể đạt tới 1.000-2.000 sợi.

Nhiễm sắc thể không lồ bao gồm cặp nhiễm sắc thể tương đồng tiếp hợp với nhau, vì thế rất thuận lợi cho việc phát hiện các đột biến về cấu trúc nhiễm sắc thể.

Ở noãn bào của nhiều loài động vật (ví dụ. lưỡng thể, cá, bò sát, chim), người ta đã quan sát thấy một dạng nhiễm sắc thể có cấu trúc đặc biệt-dạng chổi đèn. Tại các vùng xác định, các sợi nhiễm sắc thể duỗi xoắn mạnh, vươn thành các vùng lớn xung quanh trục của nhiễm sắc thể.

Hiện tượng này liên quan đến hoạt tính trao đổi chất ở một giai đoạn phát triển cá thể, như liên quan đến sự tăng cường tổng hợp một lượng rất lớn các ARN ribosom cung cấp cho nhu cầu của tế bào.

Nhiễm sắc thể là một cấu trúc có sự biến đổi về hình dạng trong chu kỳ tế bào, kiến tạo từ sợi ADN và các phân tử protein, . . . Như vậy, nó là một cấu trúc phức tạp ở góc độ hoá học cũng như vật lý. Việc nghiên cứu cấu trúc tinh vi của nó đã gặp không ít khó khăn. Rất nhiều nhà khoa học cũng chỉ dừng lại ở sự mô tả cấu trúc hình thái của nhiễm sắc thể, còn cấu trúc tinh vi của nó mới ở mức độ giả thiết. Nhờ có cuộc cách mạng về phương pháp nghiên cứu di truyền phân tử mà vấn đề cấu trúc trên phân tử của sợi nhiễm sắc đã được làm sáng tỏ.

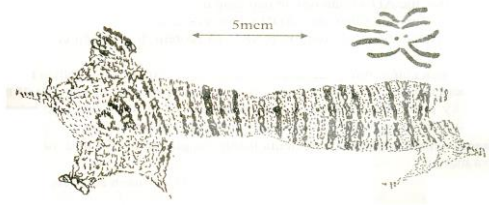
Ở tế bào của các sinh vật nhân chuẩn, một sợi nhiễm sắc thể chứa một sợi ADN rất dài, VD. một sợi nhiễm sắc thể lớn ở ruồi giấm chứa phân tử ADN dài tới $6,5 \times 10^7$ cặp bazơ, có chiều dài tương đương khoảng 18mm. Bộ nhiễm sắc thể đơn bội ($n = 23$) của người chứa khoảng 3×10^9 đôi bazơ, có độ dài tổng cộng khoảng 1 m. Mỗi nhiễm sắc thể bình quân dài khoảng 4cm. Ở trung kỳ nhiễm sắc thể dài khoảng $4 \mu\text{m}$, như vậy phân tử ADN cuộn gấp ngắn lại khoảng 10^4 lần.

Phân tử ADN kiến trúc với các thành phần khác tạo nên sợi nhiễm sắc. Các phân tích cho thấy, ngoài ADN sợi nhiễm sắc còn chứa các protein, chủ yếu là các protein histon, các ARN (gọi là các ARN nhân).

Phân tích thành phần sợi nhiễm sắc của tế bào chóp rễ đậu đã thu được kết quả về tương quan của các nhóm chất như sau: AND: 36%, ARN: 12% và các protein là 46÷48%.

1.3.2. Cấu trúc cơ bản của sợi nhiễm sắc

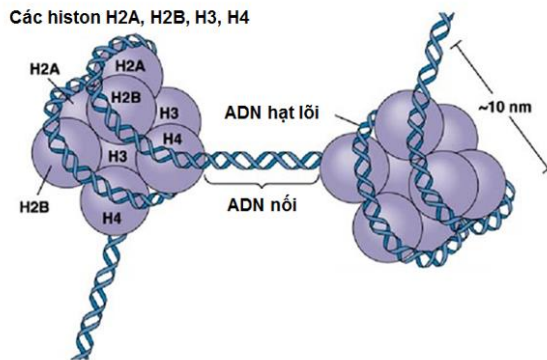
Thành phần cơ bản của sợi nhiễm sắc là: Phân tử ADN kiến trúc với các protein histon. Các phân tích cho thấy, sau khi tách lọc, sợi nhiễm sắc thể có cấu trúc như chuỗi hạt đều đặn (Hình 1.7). Các hạt này chính xác là



Hình 1.6. Nhiễm sắc thể không lồ trong tuyến nước bọt ruồi giấm cái và so sánh nhiễm sắc thể không lồ với nhiễm sắc thể thường (phía trên)

các phân tử histon cụm lại, ADN cuộn vào các hạt. Các hạt này có tên là nucleosome, cấu tạo từ 8 phân tử histon: Ở tâm gồm 2 phân tử H₃ và 2 phân tử H₄ tạo thành một tứ thể, ở bên gồm 2 phân tử H₂A và 2 phân tử H₂B cả tập hợp hình thành là một thể tâm, có đường kính khoảng 10 nm.

Các hạt nucleosome tạo nên các khuôn để phân tử ADN cuộn vào theo 1,75 vòng ở mỗi hạt, ứng với độ dài khoảng 146 cặp bazơ. Đoạn ADN nối giữa 2 hạt có độ dài rất biến động, khoảng 20-100 cặp bazơ (cũng có khi dài hơn). Giữa 2 hạt được ổn định bởi một phân tử H₁. Các phân tử Histon H₁ giữ vai trò đặc biệt trong việc giữ ổn định cấu trúc của chuỗi hạt. Khi có tác động của các yếu tố vật lý, hoá học, sự đứt sợi ADN thường xảy ra ở khoảng cách giữa 2 hạt. Kích thước của hạt nucleosome (có cuộn sợi ADN) có thể biến động ở các loài khác nhau và ở các mô khác nhau của cơ thể đa bào.



Hình 1.7. Sơ đồ cấu tạo bộ tám của hạt nucleosome. Phân tử ADN cuộn 1,75 vòng xung quanh hạt. Histon H₁ nằm ở đoạn ADN nối ổn định giữa các hạt.

Như vậy, chuỗi hạt được hình thành do sự cuộn của sợi ADN vào các hạt nucleosome gọi là cấu trúc cơ bản của nhiễm sắc thể (hay cấu trúc bậc I của sợi nhiễm sắc thể). Kết quả của cấu trúc này đã làm cho sợi ADN ngắn đi 7 lần.

1.4. Chu kỳ tế bào

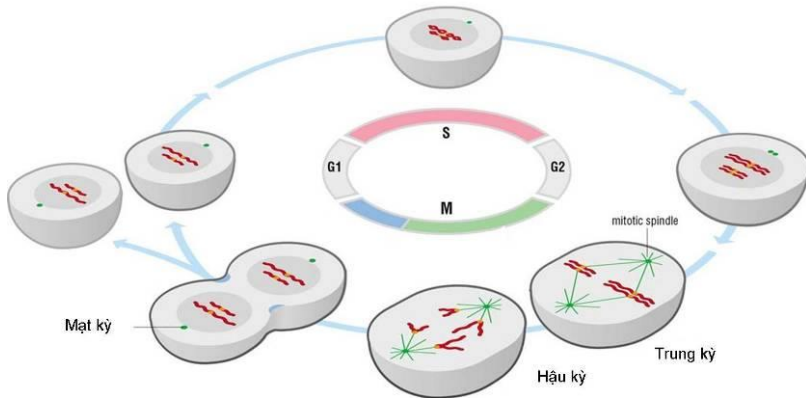
Chu kỳ tế bào là một vòng khép kín của tế bào từ một lần phân chia nguyên nhiễm này đến một lần phân chia nguyên nhiễm liền kề sau đó.

Chu kỳ tế bào gồm hai khoảng thời gian chính, đó là một kỳ phân bào nguyên nhiễm (M-Mitose) và một kỳ nghỉ (gian kỳ-Interphase).

Gian kỳ là một kỳ nghỉ của tế bào sau quá trình phân chia nguyên nhiễm. Gian kỳ là giai đoạn dài nhất-chiếm tới 90% thời gian của một chu kỳ tế bào. Nhân hoạt động tích cực lớn nhất, diễn ra các quá trình sinh tổng hợp ADN, protein-histon, ARN và mọi cơ sở vật chất để tế bào chuẩn bị bước vào phân bào nguyên nhiễm. Trong nhân tế bào nhiễm sắc thể duỗi xoắn và ở trạng thái mảnh nhất, nhân có hình mạng lưới gồm các sợi mảnh bất màu nhạt. Tế bào có thể có một hoặc vài hạch nhân. Nói là kỳ nghỉ nhưng thực chất trong giai đoạn này tế bào lại hoạt động rất mạnh, vì

tế bào vừa phải hoàn thiện lại mình sau khi trải qua một quá trình chia đôi và lại còn phải chuẩn bị cơ sở vật chất cho đợt phân chia mới. Trong gian kỳ người ta thường xem như chúng có 3 giai đoạn nhỏ.

Trong chu kỳ tế bào có hai ngưỡng mà tế bào mẫn cảm với nhiều tác động khác nhau: (1) Ngưỡng chuyển từ G₁-S. Nhiều tác động kích thích ngưỡng này như tác động của các hormon sinh trưởng, điều kiện dinh dưỡng,... Ngưỡng này có thể bị ức chế bằng tác động của nhiệt độ thấp (2-6⁰C), các chất ức chế tổng hợp ADN, . . .). Ngưỡng chuyển từ G₂-M, (ngưỡng này khá mẫn cảm với tác động kích thích của dạng phytohormon như xitokinin. Nó có thể bị ức chế ở nhiệt độ thấp (6÷10⁰C). Đối với một số loại cây trồng, nhiệt độ ức chế của ngưỡng này cao hơn một chút so với nhiệt độ ức chế ở ngưỡng 1.



Hình 1.8. Chu kỳ tế bào

Thời gian để thực hiện các giai đoạn của một chu kỳ tế bào và các thời kỳ của quá trình phân chia ở các loài động thực vật là rất khác nhau, trong đó giai đoạn phân chia chỉ chiếm 1/7÷1/10 tổng thời gian của một chu kỳ tế bào. Chúng ta hãy xem số liệu trên bảng sau:

| Đối tượng | Thời gian (giờ) |
|--|-----------------|
| Ngô (<i>Zea mays</i>) | 12÷29 |
| Đậu Hà Lan (<i>Pisum sativum</i>) | 13÷20 |
| Lúa mạch đen (<i>Secale cereale</i>) | 10÷20 |

1.5. Phân bào nguyên nhiễm (gián phân - Mitose)

Phân bào nguyên nhiễm là quá trình phân chia của tế bào để tăng số lượng các tế bào soma của cơ thể trong quá trình sinh trưởng và phát triển. Trong chu kỳ tế bào, giai đoạn phân bào diễn ra khá nhanh, vì vậy nó chỉ chiếm khoảng 10% thời gian của toàn bộ chu kỳ tế bào. Một quá trình phân bào nguyên nhiễm có thể được chia làm 4 giai đoạn: Kỳ đầu (tiền kỳ), kỳ giữa (trung kỳ), kỳ sau (hậu kỳ) và kỳ cuối (mạt kỳ).

- Kỳ đầu: Thường được chia làm 3 thời kỳ là đầu tiên kỳ, giữa tiên kỳ và cuối tiên kỳ.

+ Đầu tiên kỳ: Nhân có cấu trúc mạng lưới và bắt màu nhạt-trong tự như ở cuối giai đoạn gian kỳ.

+ Giữa tiên kỳ: Các nhiễm sắc thể bắt đầu xoắn lại và tạo thành cấu trúc hình sợi ngày càng rõ hơn.

+ Cuối tiên kỳ: Nhiễm sắc thể xoắn lại mạnh hơn-chặt hơn và co ngắn lại nên nhìn rõ hơn. Màng nhân và hạch nhân biến mất. Trung thể chia đôi và đi về hai cực của tế bào.

- Kỳ giữa: Thoi vô sắc hình thành, nhiễm sắc thể ở dạng kép (do đã được nhân đôi ở gian kỳ) co ngắn lại tới đa, tập trung 2 bên mặt phẳng xích đạo của tế bào và dính tâm điểm vào thoi vô sắc. Đây là thời điểm thuận lợi nhất cho các nghiên cứu về hình thái, số lượng nhiễm sắc thể và kiểu nhân của tế bào.

- Kỳ sau: Hai nhiễm sắc tử của mỗi nhiễm sắc thể rời nhau ra, do phần tâm của nhiễm sắc thể tách ra làm đôi và di chuyển về 2 cực đối lập. Hiện tượng tách đôi phần tâm được thực hiện là nhờ đoạn ADN của phần tâm nhân đôi và rời nhau ra. Đây là đoạn ADN nhân đôi sau cùng của nhiễm sắc thể trong chu kỳ tế bào.

Ở kỳ này sự kéo dài và trượt lên nhau của các sợi vi thể của 2 nửa thoi vô sắc đẩy 2 cực tế bào tách nhau xa dần ra. Đồng thời các sợi vi thể của tâm động kéo dài các cromatid (lúc này trở thành các nhiễm sắc thể) về các cực của tế bào.

Cuối kỳ này các nhiễm sắc thể đó tiến về 2 cực của tế bào, nhưng khoảng giữa 2 nhóm nhiễm sắc thể vẫn còn các sợi thoi vô sắc.

- Kỳ cuối: Các nhiễm sắc thể đó được phân bố về 2 cực của tế bào, lúc đầu chúng tập hợp thành hình quạt, bắt màu đậm, trở thành khối cầu để tái lập nhân tế bào.

Tế bào hình thành 2 nhân con và kết thúc việc phân chia nhân, các nhiễm sắc thể lại bắt đầu duỗi ra, vỏ nhân bắt đầu tái lập nhờ các mảnh bám theo các nhiễm sắc thể và nhờ lưới nội sinh chất lắp ghép lại.



Hình 1.9. Sơ đồ phân bào nguyên nhiễm

1-2 tiên kỳ, 3- trước trung kỳ, 4-trung kỳ, 5,6,7- hậu kỳ, 8- cuối kỳ, 9-hai tế bào con.

5,6,7- hậu kỳ, 8- cuối kỳ, 9-hai tế bào con.

Về cơ bản tế bào chất phân chia thành 2 phần bằng nhau. Ở tế bào động vật có sự hình thành eo thắt ở giữa khi phân đôi tế bào. Ở tế bào thực vật vách ngăn hình thành từ phía trong ra phân tách thành 2 tế bào con.

Kết quả 2 tế bào con có số lượng nhiễm sắc thể $2n$ như tế bào mẹ ban đầu được hình thành, kết thúc một lần phân chia của tế bào và chuyển sang giai đoạn gian kỳ của một chu kỳ tế bào mới.

Khoảng thời gian cần thiết để thực hiện quá trình phân bào nguyên nhiễm không giống nhau ở các loại tế bào, giao động từ 30' đến 5 giờ. Trong một đợt phân chia thì giai đoạn tiền kỳ chiếm khoảng thời gian lâu nhất, sau đó là mạt kỳ, ngắn nhất là hậu kỳ rồi đến trung kỳ. Nhiệt độ thích hợp cho quá trình phân bào nguyên nhiễm là $20\div 30^{\circ}\text{C}$. Nhiệt độ quá thấp hoặc quá cao đều ảnh hưởng đến quá trình phân bào nguyên nhiễm.

Như vậy, trong quá trình phân bào nguyên nhiễm các nhiễm sắc thể thay đổi cấu trúc, hình thái theo chu kỳ co xoắn-duỗi xoắn. Sự tách đôi nhiễm sắc thể kép ở tâm động đảm bảo cho sự phân chia chính xác vật liệu di truyền về 2 tế bào con, số lượng nhiễm sắc thể không đổi ở các thế hệ tế bào. Ý nghĩa của phân bào nguyên nhiễm thể hiện ở những điểm sau:

- Mọi tế bào của cơ thể đa bào được hình thành do phân chia nguyên nhiễm đều giống nhau về lượng vật chất di truyền trong nhân tế bào.

- Quá trình tái bản ADN cũng như quá trình tái cấu trúc trên phân tử của sợi nhiễm sắc thể diễn ra trong chu kỳ tế bào là cơ hội cho việc thực hiện của các cơ chế điều hoà, qua đó các gen, nhóm gen mới được hoạt hoá - hình thành nên các nhóm tế bào phân hoá theo chức năng ở cơ thể đa bào (sự phân dị tế bào trong quá trình phát triển cá thể).

Như vậy, trong quá trình phát triển của cơ thể đa bào, phân chia nguyên nhiễm vừa bảo đảm cho sự tăng về lượng tế bào, đồng thời tạo ra hiệu quả biến đổi về chất theo cơ chế hoạt hoá nhóm gen mới.

1.5.1. Cơ chế hoạt động của bộ máy phân bào

Cơ chế của những sợi thoi vô sắc trong việc làm di chuyển các nhiễm sắc thể trong hậu kỳ hãy còn nhiều tranh luận. Hiện nay có một số giả thuyết được nêu ra:

- Giả thuyết có tính chất cơ học hoàn toàn, trong đó tế bào chất là động lực chủ yếu. Chúng chui vào giữa các nhiễm sắc thể, hút nước làm trương phồng và do đó làm cho nhiễm sắc thể kép tách ra, đẩy các nhiễm sắc thể về 2 cực. Lúc này các sợi thoi vô sắc chỉ đóng vai trò như những đường ray định hướng cho nhiễm sắc thể trượt trên chúng để đi về 2 cực.

- Giả thuyết hoá học của sự co rút: Người ta thấy trong sợi thoi vô sắc có thành phần protein giống myozin của cơ, sự co rút và ngăn lại của các sợi thoi vô sắc với sự tham gia của phân tử ATP, . . . chính là động lực tách và di chuyển các nhiễm sắc thể về 2 cực.

- Giả thuyết cân bằng động: Theo giả thuyết này thì có một sự cân bằng động giữa một lượng lớn các chất đơn phân và các chất trùng phân định hướng, mà các chất trùng phân này hình thành nên các thoi hay các ống nhỏ. Trong khi trùng hợp, một vài phân tử nước tham gia cấu trúc để làm tách, cho nên có hiện tượng với sự có mặt của 45% nước nặng (D_2O)

gây ra sự tăng thể tích của thoi lên 10 lần trong vòng 1÷2 phút và tăng tới 2 lần. Sự cân bằng động này cũng rất nhạy cảm với những thay đổi của nhiệt độ-khi làm lạnh xuống 2⁰C trong 5' thì sẽ gây ra gãy các sợi thoi trong phân bào amip, nhưng khi nhiệt độ tăng lên thì chúng lại được hình thành trở lại, tất nhiên là không được nguyên vẹn. Các dung môi không tan trong nước cũng gây ảnh hưởng, chúng tỏ tầm quan trọng của tác dụng tương hỗ kỵ nước của các nhóm không cực trong các protein đơn.

- Cũng có quan điểm cho rằng: Do tích điện cùng dấu của 2 nhiễm sắc thể nên tự chúng đẩy nhau và đi về 2 cực của tế bào.

1.5.2. Cơ chế phân chia tế bào chất

Phân chia tế bào chất là một quá trình riêng rẽ xảy ra sau hay đồng thời với phân chia nhân. Có sự khác nhau giữa tế bào động vật và các tế bào thực vật trong cơ chế phân chia tế bào chất.

Các tế bào thực vật trong khi phân chia vùng bào tương không hình thành nếp nhăn như ở tế bào động vật.

Sau đây là một số giả thuyết về cơ chế của sự phân chia tế bào chất:

- Người ta cho rằng: Trong sự phân chia tế bào chất có sự tham gia của bộ máy phân bào (sao và thoi), vì thấy có sự phối hợp hoàn hảo của sự di chuyển của các nhiễm sắc thể và vị trí của nếp lõm. Đặc biệt khi nghiên cứu sự phân chia của tế bào đa cực thì thấy trong đó nếp lõm được hình thành trong mỗi đôi của tâm tế bào.

- Người ta còn cho rằng: Có tác dụng tương hỗ giữa thoi tơ, thể sao và màng tế bào. Song khi tách bộ máy hay ức chế nó bằng cosixin, sự phân chia tế bào vẫn diễn ra, do đó những giả thiết khác được hình thành.

- Giả thiết cơ vỏ tế bào, trong đó có sự tham gia của thành phần protein co (có bản chất như actomyozin ở cơ) với ATP và ATPaza. Người ta đã chứng minh được rằng những sợi nhân tạo được kết cấu bởi protein co của vỏ này có thể co rút ngắn lại hoặc kéo dài ra trong phản ứng chuyển dịch điện tử bao gồm cả nhóm-SH.

- Giả thuyết khuyếch đại hoặc lớn lên của màng tế bào tương kéo theo tế bào chất cũng là một khả năng có thể làm tế bào chất phân chia. Nhưng người ta vẫn không thể loại trừ cơ chế chuyển động điện tích theo kiểu amip.

Trên đây là những giả thiết về sự phân chia tế bào chất ở tế bào động vật, còn ở tế bào thực vật: Sự di chuyển của màng lưới nội nguyên sinh, sự hợp nhất các túi nang ở xích đạo là yếu tố chủ yếu của sự phân chia tế bào chất.

1.5.3. Cơ chế điều hoà sinh sản của tế bào

Hiện nay cơ chế điều hoà sinh sản của tế bào (đặc biệt là phân bào nguyên nhiễm) còn đang được tiếp tục nghiên cứu, song cũng đã có một số giả thuyết về các yếu tố ảnh hưởng - tham gia vào quá trình này:

Tỷ lệ nhân và tế bào chất: Quá trình trao đổi chất nhân và tế bào chất là quá trình cần thiết cho sự phát triển bình thường của tế bào. Do đó mà có một lúc nào đó thể tích nhân tăng nhanh (bậc 3) hơn diện tích màng tế bào (bậc 2) điều này kích thích sự phân chia tế bào xảy ra để bề mặt của nó được tăng lên mà thể tích không tăng.

Sự tham gia của Hormon: Có thể có sự tham gia của một số hormon nào đó vào quá trình phân chia tế bào, đặc biệt tế bào trứng đang phân chia cũng như một số mô của cơ thể đó trưởng thành. Cần chú ý một số hiện tượng, các hormon gây ra sự phân bào không phải ở mọi tế bào của cơ thể mà chỉ đối với một số tế bào ở các mô liên quan và mô sản sinh ra nó. Ví dụ, hormon buồng trứng kích thích sinh sản tế bào trứng, tuyến sữa và màng nhầy tử cung. Hormon hạ khô não tăng cường sự phân chia của các tế bào tuyến giáp.

Các cation hoá trị 2 như: Mg^{++} , Zn^{++} tham gia trong điều hoà sinh sản của tế bào. Có thể chúng tham gia trong quá trình tổng hợp ADN. Nồng độ của chúng được kiểm tra qua màng tế bào.

Vai trò của enzym thủy phân protein làm tách rời một số thành phần màng tế bào và kích thích phân bào. Các yếu tố của huyết thanh, mà thành phần cơ bản là protein từ tripeptit đều kích thích sự phân bào.

Các yếu tố khi tế bào chết hay bị tổn thương tiết ra để kích thích sự phân bào-người ta gọi là hormon bị thương. Theo thuyết sinh học hiện đại của Saint Georgi thì hormon bị thương là enzym glycoxaza, enzym này bình thường chứa trong prolyzom không khuếch tán. Khi tế bào bị hủy hoại thì enzym này được giải phóng sẽ thủy phân các dicarbonyl - một chất trung gian trong quá trình vận chuyển điện tử từ protein đến oxy và đẩy tế bào trở lại trạng thái tăng sinh sản.

Yếu tố ức chế sinh sản của tế bào chalon (do các quần thể tế bào sinh ra) có thể tham gia vào quá trình phân chia tế bào. Khi số lượng tế bào trong quần thể bị giảm thì việc sản xuất ra chất ức chế nói trên cũng bị giảm theo và như vậy theo cơ chế ức chế ngược cho phép các tế bào còn lại trong quần thể hoạt động phân chia. Tuy nhiên, đến một lúc nào đó số tế bào trong quần thể đạt mức ban đầu và việc sản xuất ra chất ức chế bắt đầu tăng lên thì lại kìm hãm sự phân bào.

Ngoài ra người ta còn nói đến các yếu tố khác như pH, protein lạ, thành phần ức chế tiếp xúc, điều kiện dinh dưỡng, đặc biệt là phytohemagglutinin.

1.5.4. Kiểm tra di truyền của chu kỳ phân bào

Sự kiểm tra của chu kỳ phân bào là vấn đề liên quan đến sự hoạt động của các gen kiểm soát sự diễn ra của các giai đoạn kế tiếp nhau như: Tái bản ADN, quá trình co xoắn, duỗi xoắn và vận động của nhiễm sắc thể, sự phân tách tế bào (cytokinese), . . . Đột biến ở những gen này có thể làm cho tế bào dừng lại ở một giai đoạn nào đó, tức là chu kỳ phân bào bị gián đoạn.

Xung quanh vấn đề tế bào sinh trưởng và phân chia có khá nhiều câu hỏi đặt ra như: Khi nào tế bào bắt đầu tái bản ADN để nhiễm sắc thể có thể nhân đôi? Khi nào bắt đầu quá trình co xoắn của nhiễm sắc thể để tiến hành sự phân chia? Rõ ràng tế bào cần có cơ chế điều khiển trình tự xảy ra của các quá trình trong chu kỳ của mình.

Những nghiên cứu ở các thể đột biến theo các gen kiểm tra chu kỳ phân bào trên nấm men *Saccharomyces cerevisiae*, *Schizosac charomyces pombe*, trên phôi non của cóc *Xenopus laevis*, . . . đã cho thấy có 2 vị trí mà

ở đó tế bào bắt đầu một pha tiếp theo trong chu kỳ của mình. Vị trí thứ nhất gọi là start-ở cuối pha G_1 , ở đây tế bào chuẩn bị bước vào tổng hợp ADN (bắt đầu pha S). Vị trí thứ 2 là bắt đầu sự co xoắn nhiễm sắc thể (khởi đầu pha M).

Yếu tố khởi động nguyên phân (MPF-Mitosis Promoting Factor) lần đầu tiên được phát hiện ở cóc *Xenopus*, khi MPF được tiêm vào noãn bào, nó sẽ kích thích noãn bào bước vào pha M.

Các nghiên cứu đã cho thấy, hiệu quả khởi động vị trí 1 và vị trí 2 là do tương tác của 2 dạng protein gây nên:

1. Dạng protein kinase đặc trưng ký hiệu là pp-34 (pp-photoprotein, 34-phân tử lượng của nó là 34.000). Ở nấm men đã xác định được gen kiểm tra protein này: Ở *S. pombe* là ede-cyclin, ở *D. cerevisiae* là gen ede-28. pp-34 có hiệu quả tác động ở cả 2 vị trí 1 và 2.

2. Protein thứ 2 có tên là cyclin. Protein này có 2 loại, khi nó được tạo ra ở pha G_1 thì gọi là G-cyclin, khi được tạo ra ở G_2 thì gọi là M-cyclin. Quá trình điều khiển chu kỳ tế bào diễn ra như sau:

Khi pp-34 tương tác với G_1 -cyclin tạo phức hợp có khả năng khởi động vị trí 1, ADN được hoạt hoá để tái bản và tế bào hướng tới pha M. Sau khi khởi động vị trí này, G_1 -cyclin tách khỏi phức hợp và phân giải ở pha S. Tiếp theo, pp-34 tương tác với M-cyclin tạo phức hợp có khả năng khởi động vị trí 2, sợi nhiễm sắc bắt đầu được co xoắn (tế bào bước vào pha M). Sau khi khởi động vị trí 2, M-cyclin tách khỏi phức hợp và phân giải ở pha M. Chu kỳ phân bào tiếp tục diễn ra.

Các protein cyclin và protein kinase pp-34 là những thành phần chỉ đạo điều khiển chu kỳ tế bào. Những protein tương tự cũng được phát hiện ở nhiều đối tượng sinh vật bậc cao khác như người, ếch, nhím biển, sao biển.

Ngoài hai bước khởi động nêu trên, trong chu kỳ tế bào còn diễn ra nhiều quá trình chi tiết khác, chúng cũng được kiểm tra bởi nhiều ede. Ở nấm men đã xác định tới khoảng 50 gen ede, đột biến ở những gen này gây ra biểu hiện đặc trưng trong chu kỳ tế bào.

1.5.5. Các nhân tố chống phân bào

Các nhân tố chống phân bào có thể là các chất hoá học, các chất phóng xạ, chúng sẽ làm ức chế hoặc làm thay đổi quá trình phân chia tế bào.

Có nhiều chất cản trở quá trình tổng hợp ADN hoặc tác động lên thời phân bào, hoặc tác động lên nhiễm sắc thể hoặc ức chế phân chia bào tương.

Các chất tác động lên ADN: Một số chất cản trở quá trình tổng hợp ADN ở gian kỳ làm cho tế bào ngừng lại không tiến sang phân chia được.

Các chất kháng sinh: Actinomycin D, daunomycin, nogalomycin gắn lên ADN và ức chế tổng hợp nucleotit. Các kháng sinh chiết xuất từ streptomycin đều kìm hãm pha G_2 .

Các chất chống chuyển hoá: Các chất chống chuyển hoá có cấu trúc không gian rất giống các chất chuyển hoá trong các quá trình sinh tổng hợp của các tế bào. Các chất chống chuyển hoá cạnh tranh chiếm lấy những vị trí

của các chất chuyển hoá và do đó tế bào tổng hợp nên các phần tử không hoạt động hoặc không hoàn chỉnh.

Các chất tương tự base purin hoặc pyrimidin như các chất 6-mercaptapurin, 5-bromodexyuridin, fluoro-deoxyuridin,... có tác dụng ức chế sự tổng hợp ADN.

Các chất alkyl: Các hoá chất này có một hoặc nhiều chuỗi alkyl có thể kết hợp với các nucleoprotein và làm biến tính chúng. Các chất alkyl hoá gồm các chất mù tạt có nitơ (leukeran, clorambucol, cyclophosphorit, các chất etylenamin, các este của axit sulfonic, các epoxit, . . .). Các chất này rất độc đối với tế bào, thường kim hãm tế bào ở pha G_2 và đôi khi tạo ra đa bội thể.

Các phẩm nhuộm: Các phẩm nhuộm có thể gắn vào ADN, xen kẽ vào base, VD. các bromua etidium, profavin ức chế sự nhân đôi của ADN.

Các tác nhân gây tác hại lên thoi: Các chất như colcemit, podophycin, vincrestin, sulfat vinblastin, ức chế sự hình thành thoi vô sắc. Các tế bào đang phân chia bị kim hãm ở kỳ giữa dẫn đến sự hình thành các nhân tứ bội (4n), bào tương không phân chia và tế bào thoái hoá.

Các tác nhân làm tổn thương nhiễm sắc thể: Trypaforin làm cho các nhiễm sắc thể không phân ly và khó di chuyển về các cực của tế bào, một số nhiễm sắc thể di chuyển chậm bị rớt lại trong bào tương. Yperit, các phóng xạ ion hoá làm đứt gãy nhiễm sắc thể, các mảnh gãy không mang phân tâm được phân phối ngẫu nhiên vào các tế bào con. Một số mảnh có thể gắn vào các nhiễm sắc thể khác hoặc không nằm trong nhân của tế bào con và tạo thành nhân nhỏ.

Các chất ức chế sự phân chia của bào tương: Các chất lithium, cystesmin ức chế sự phân cắt bào tương và gây ra sự hình thành các tế bào nhiều nhân.

1.5.6. Một số yếu tố ảnh hưởng đến phân bào nguyên nhiễm

- Giai đoạn non thì tần số phân bào sẽ cao hơn giai đoạn già.
- Các cơ quan khác nhau thì có tần số phân bào khác nhau. Ví dụ. tế bào gan và tủy xương có tần số phân bào cao hơn tế bào ở các cơ quan khác. Tế bào ở đỉnh sinh trưởng của thực vật có tần số phân bào cao hơn.
- Các yếu tố vật lý: Tia phóng xạ, nhiệt độ, ánh sáng có ảnh hưởng đến tần số phân bào.
- Các chất hoá học có thể gây đột biến đều ảnh hưởng đến tốc độ phân bào.

1.6. Phân bào giảm nhiễm (Meiose)

Phân chia giảm nhiễm chỉ xảy ra ở cơ quan sinh sản của sinh vật có quá trình sinh sản hữu tính. Nó là cách phân chia của các tế bào sinh dục để tạo thành các loại giao tử có số lượng nhiễm sắc thể chỉ còn bằng một nửa so với tế bào mẹ ban đầu và tế bào thường (soma) của cơ thể. Dựa vào giai đoạn của vòng đời cá thể mà ở đó diễn ra giảm nhiễm, thế giới sinh vật đã phân chia ra 3 dạng giảm nhiễm sau:

1. *Giảm nhiễm hợp tử*: Đây là dạng đặc trưng cho sinh vật nhân chuẩn bậc thấp như tảo, nấm, nguyên sinh động vật. Những sinh vật này

cơ thể sống thuộc trạng thái đơn bội, sinh sản vô tính xen kẽ với chu kỳ hữu tính. Khi 2 tế bào đơn bội phối hợp với nhau tạo thành tế bào hợp tử ($2n$), hợp tử này tiến hành phân chia giảm nhiễm tạo sản phẩm đơn bội gọi là bào tử, chúng có thể được nhân lên (ví dụ, ở nấm tạo nang gồm 8 bào tử), các bào tử phát triển thành cơ thể đơn bội.

2. *Giảm nhiễm bào tử* (hay giảm nhiễm trung gian): Dạng giảm nhiễm này diễn ra trong quá trình hình thành bào tử ở đa số các loài thực vật. Giảm nhiễm là một phần của quá trình hình thành bào tử. Sản phẩm của giảm nhiễm là các bào tử, chúng phải trải qua một giai đoạn phát triển nữa mới hình thành các giao tử có khả năng thụ tinh để hình thành thể hệ lưỡng bội mới. Trong vòng đời của cơ thể thực vật, sự phát triển các bào tử để hình thành giao tử gọi là giai đoạn giao tử thể.

3. *Giảm nhiễm giao tử* (hay giảm nhiễm giới hạn): Dạng giảm nhiễm này đặc trưng cho giới động vật, một số nguyên sinh động vật và tảo nâu (*Fucus*). Ở đây giảm nhiễm xảy ra trong quá trình hình thành giao tử. Kết quả của giảm nhiễm là hình thành các giao tử đực, cái có khả năng thụ tinh để tái tạo thể hệ lưỡng bội mới.

1.6.1. Diễn biến của quá trình phân chia giảm nhiễm

Trước khi tế bào bước vào phân chia giảm nhiễm, các nhiễm sắc thể tiến hành nhân đôi ở pha S. Tuy nhiên, sự tái bản ADN ở giảm nhiễm thường bị đình trệ (kéo dài), nhiều đoạn hoàn toàn tái bản ở đầu tiên kỳ I. Quá trình giảm nhiễm bao gồm hai lần phân chia liên tiếp, các thời kỳ của lần phân chia thứ nhất gọi là giảm nhiễm I, kết thúc lần phân chia này đã hình thành 2 tế bào con có số lượng nhiễm sắc thể giảm đi một nửa và các thời kỳ của lần phân chia thứ 2 gọi là giảm nhiễm II, lần phân chia này giống như phân bào nguyên nhiễm. Kết quả từ một tế bào mẹ ($2n$) cho ra 4 tế bào con (n nhiễm sắc thể). Tương tự như ở quá trình phân bào nguyên nhiễm, trong phân bào giảm nhiễm tế bào cũng có một thời kỳ gọi là kỳ xen kẽ giữa 2 lần phân chia để tế bào chuẩn bị bước sang lần phân chia thứ 2. Tuy nhiên, giữa 2 lần phân chia không xảy ra tái bản ADN. Mỗi lần phân chia đều trải qua 4 thời kỳ là tiền kỳ, trung kỳ, hậu kỳ và mạt kỳ. Sự phức tạp của quá trình phân bào giảm nhiễm diễn ra ở tiền kỳ I. Quá trình phân bào giảm nhiễm được trình bày trên Hình 1.10.

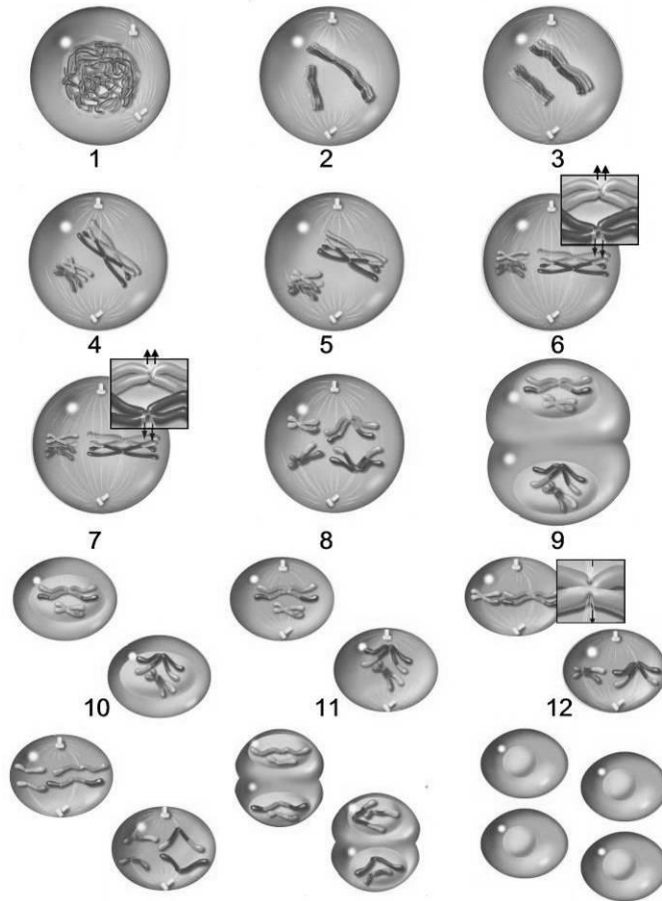
1.6.1.1. Lần phân chia thứ nhất- Giảm nhiễm I

Lần phân chia thứ nhất này có 4 kỳ: Kỳ đầu, kỳ giữa, kỳ sau và kỳ cuối.

Kỳ đầu I:

Kỳ đầu của lần phân chia thứ nhất này được chia làm 5 thời kỳ nhỏ:

Leptoten (giai đoạn sợi mảnh): Các nhiễm sắc thể trong nhân tế bào vẫn còn ở dạng sợi mảnh và dài, nhưng cũng đã có thể quan sát được dưới kính hiển vi quang học, nhân có dạng lưới. Dưới kính hiển vi điện tử có thể thấy nhiễm sắc thể ở dạng sợi kép do chúng đã được nhân đôi ($2n$ kép) ở gian kỳ.



Hình 1.10. Các giai đoạn và thời kỳ của phân bào giảm nhiễm
 1-Leptoten; 2-Zygoten; 3-Pachiten; 4-Diploten; 5-Diakinese; 6-Trung kỳ I; 7-Hậu kỳ I; 8-Mạt kỳ I; 9-Tiền kỳ II; 10-Trung kỳ II; 11-Hậu kỳ II; 12-Mạt kỳ II, hình thành 4 tế bào con

Zygoten (giai đoạn tiếp hợp): Từng cặp nhiễm sắc thể tương đồng bắt đầu ghép lại với nhau. Trong mỗi cặp một nhiễm sắc thể có nguồn gốc từ cha, một chiếc có nguồn gốc từ mẹ. Mỗi cặp nhiễm sắc thể tương đồng ghép lại với nhau theo chiều dọc. Trong các cơ thể dị giao tử, cặp nhiễm sắc thể giới tính XY chỉ tiếp hợp với nhau ở đầu mút.

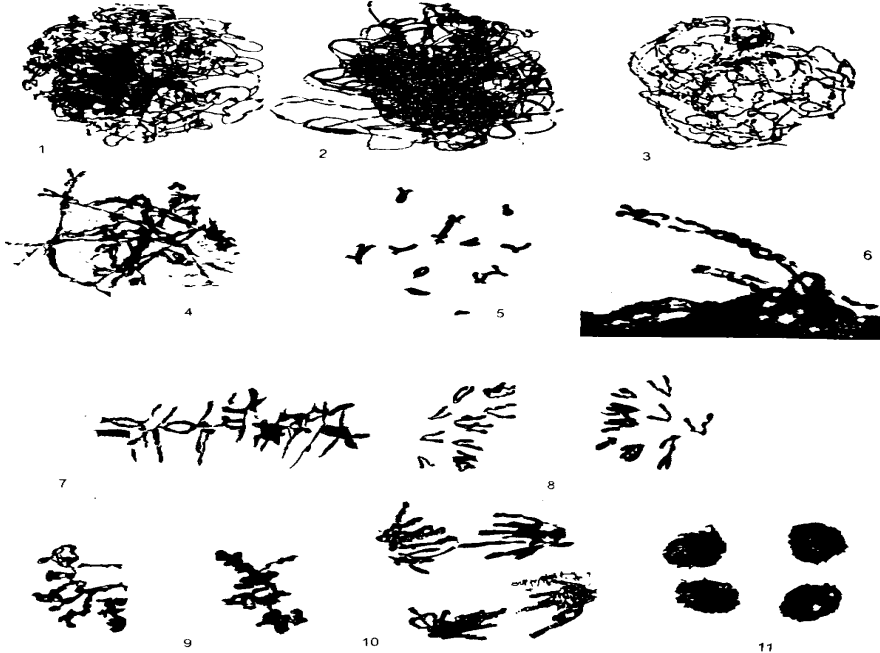
Pachyten (giai đoạn co ngắn): Các nhiễm sắc thể đã ghép đôi co ngắn và dày hơn. Cặp nhiễm sắc thể tương đồng đang ghép đôi được gọi là lưỡng trị, mỗi nhiễm sắc thể gồm 2 cromatid. Các cromatid có nguồn gốc từ cha bắt chéo (crossingover) với cromatid có nguồn gốc từ mẹ để trao đổi các đoạn của cromatid cho nhau.

Diploten (giai đoạn tách đôi): Hai nhiễm sắc thể tương đồng tách nhau dần trên phần lớn chiều dài, trừ những điểm đang xảy ra vắt chéo. Các cromatid có thể trao đổi với nhau từng đoạn một.

Diakinesis: Các nhiễm sắc thể dày lên, hai nhiễm sắc thể tương đồng tách nhau ra nhưng các đầu vẫn còn dính với nhau. Màng nhân và hạch nhân lúc này biến mất.

Kỳ giữa I:

Các nhiễm sắc thể kép tập trung ở mặt phẳng xích đạo, mỗi nhiễm sắc thể kép gồm 2 cromatid vẫn dính với nhau. Hai nhiễm sắc thể tương đồng nằm 2 bên mặt phẳng xích đạo tạo nên hình ảnh đặc biệt.



Hình 1.11. Các giai đoạn phân chia giảm nhiễm ở tế bào mẹ hạt phấn của cây Huệ Tây (*Lillium longiflorum*)

1- Leptoten, 2-Zygoten (diễn tả các nhiễm sắc thể tương đồng bắt đầu tiếp hợp), 3- Pachiten, 4- Diploten (các nhiễm sắc thể tương đồng tách ra, nhưng chúng vẫn còn dính với nhau ở một số điểm), 5- Diakines, 6- Phóng đại 1 đoạn nhiễm sắc thể ở Zygoten, các nhiễm sắc thể tương đồng tiếp hợp tương ứng theo các vùng, 7- Trung kỳ I, 8- Hậu kỳ I, 9- Trung kỳ II, 10- hậu kỳ II, 11- Hậu kỳ II, các vách ngăn thành, kết quả hình thành thể tứ bào tử.

Kỳ sau I:

Tâm động chia đôi, từng cặp nhiễm sắc thể tương đồng tách nhau rời nhau và đi về 2 cực của tế bào.

Kỳ cuối I:

Các nhiễm sắc thể kép đã đi về các cực của tế bào, do đó tại mỗi cực có n nhiễm sắc thể kép, màng nhân tái lập, sau đó bào tương phân chia.

Kỳ xen kẽ:

Thời kỳ này không gọi là gian kỳ vì không có sự nhân đôi của ADN và các nhiễm sắc thể vẫn giữ hình dạng y nguyên như ở kỳ cuối I.

Quá trình phân bào giảm nhiễm lần thứ nhất là quá trình đã làm cho các tế bào từ số lượng lưỡng bội ($2n$) nhiễm sắc thể cho ra các tế bào con chỉ còn là đơn bội (n) nhiễm sắc thể, vì vậy người ta cho rằng đây mới thực chất là giai đoạn phân bào giảm nhiễm.

1.6.1.2. Lần phân chia thứ II - Giảm nhiễm II

Kỳ đầu II:

Như kỳ đầu của giảm phân, màng nhân và hạch nhân biến mất, nhiễm sắc thể tản mát vào trong tế bào chất. Đôi khi không có kỳ cuối I, tế bào bước ngay sang giai đoạn này.

Kỳ giữa II:

Các nhiễm sắc thể kép tập trung ở mặt phẳng xích đạo. Thoi vô sắc mới hình thành có trục vuông góc với trục của thoi vô sắc trong lần giảm nhiễm I, các nhiễm sắc thể dính tâm vào thoi vô sắc. Các cromatit của từng cặp nhiễm sắc thể tách nhau ra nhưng phần tâm chưa tách. Khi phần tâm tách ra làm đôi thì kết thúc kỳ giữa II.

Kỳ sau II:

Các cromatit lúc này đã tách hẳn nhau, trở thành một nhiễm sắc thể đơn và di chuyển về cực của tế bào.

Kỳ cuối II:

Các nhiễm sắc thể đơn đã đi hẳn về các cực của tế bào, màng nhân tái lập, bào tương phân chia, các tế bào con hình thành. Những tế bào này được gọi là tinh tử hay tế bào trứng, chúng chỉ còn nhiễm sắc thể đơn.

Phân bào giảm nhiễm lần thứ 2 giống với phân chia nguyên nhiễm, vì trước lúc phân chia tế bào có đơn bội (n) nhiễm sắc thể và kết thúc phân chia tế bào cũng có đơn bội (n) nhiễm sắc thể, vì vậy phân bào giảm nhiễm II được gọi là phân chia đều.

Như vậy, sau 2 lần phân chia từ một tế bào nguyên thủy $2n$ nhiễm sắc thể đó tạo ra 4 tế bào, mỗi tế bào chỉ còn n nhiễm sắc thể.

1.6.2. Bộ tiếp xúc (Synaptinomal complex-sc)

Sự tiếp xúc của đôi nhiễm sắc thể tương đồng là quá trình bắt buộc và quan trọng nhất của giảm phân. Cho tới nay cơ chế của sự tiếp hợp (cũng như trao đổi chéo) vẫn chưa hoàn toàn được làm sáng tỏ.

Ở nhiều sinh vật, việc nghiên cứu bộ tiếp hợp đôi nhiễm sắc thể tương đồng đã phát hiện thấy các thành phần cấu trúc tham gia vào quá trình này, gọi là bộ tiếp hợp (synaptinomal complex-sc).

Ở cuối giai đoạn leptoten (sợi mảnh), trên mỗi nhiễm sắc thể tương đồng quan sát thấy các thành phần cấu trúc vươn ra từ vùng giữa 2 sợi sắc tỵ gọi là thành phần bên. Khi nhiễm sắc thể tương đồng tiếp sát nhau, các thành phần bên dồn về một phía. Tại vùng tiếp hợp, các thành phần bên tổ hợp thành phần ở giữa (trung tâm) tạo thành một khối cấu trúc của bộ tiếp xúc. Cấu trúc này gồm 3 thành phần: (1) phần trung tâm có kích thước khoảng 1200 \AA^0 , (2) phần bên, mỗi phần bên liên kết với một nhiễm sắc thể trong đôi tương đồng, có đường kính khoảng 600 \AA^0 , (3) các sợi vươn ra từ phần bên, đó là cặp sợi có đường kính khoảng 100 \AA^0 , vươn dài khoảng 5000 \AA^0 .

Các phân tích cho thấy, các thành phần bên dạng sợi vươn ra cấu tạo từ sợi ARNm (sợi này được tạo ra trên khuôn mẫu của ADN) và phân tử protein (hình thành dưới sự kiểm tra của chính ARNm này). Các sợi ARNm và protein vươn dài ra cả hai phía. Khi nhiễm sắc thể tương đồng gặp các sợi này, nó sẽ nhận biết đoạn tương ứng và quá trình tiếp hợp xảy ra rất chính xác giữa đôi nhiễm sắc thể tương đồng ở giai đoạn zygoten và pachiten. Khi chuyển từ pachiten sang diploten, phần lớn các thành phần của bộ tiếp xúc biến mất, chỉ còn đoạn ngắn của thành phần bên sót lại ở vị trí hình chéo (chiasma) và hoàn toàn mất hẳn ở giai đoạn diakines.

Sự hình thành bộ tiếp xúc và hoạt hoá sự ghép đôi nhiễm sắc thể có liên quan đến một số biến đổi bổ sung trong tế bào như: (1) xuất hiện dạng lypoprotein mới; (2) xuất hiện protein xúc tác việc tháo xoắn chuỗi ADN kép để tạo mạch đơn ADN; (3) liên quan tới sự tổng hợp bổ sung đoạn ADN thuộc dạng Z ở pha zygoten (Z-ADN).

Như vậy, bộ tiếp xúc chỉ quan sát ở quá trình tiếp hợp của đôi nhiễm sắc thể tương đồng (cuối giai đoạn leptoten, zygoten và pachiten). Vị trí của hình chéo có liên quan tới bộ tiếp xúc. Ở dòng đột biến không có bộ tiếp xúc sự tiếp hợp của đôi nhiễm sắc thể tương đồng diễn ra không bình thường và không quan sát được sự hình thành các hình chéo. Rõ ràng, ở những loài sinh vật có bộ tiếp xúc thì nó có vai trò trong sự liên kết, quyết định sự tiếp hợp của đôi nhiễm sắc thể tương đồng và liên quan đến sự trao đổi chéo.

Cần lưu ý rằng, ở nhiều loài sinh vật nhân chuẩn không quan sát thấy bộ tiếp hợp, nhưng sự tiếp hợp của đôi nhiễm sắc thể tương đồng vẫn diễn ra, khi chúng tách nhau ở nhiễm sắc thể xoma (tế bào nhân) của sinh vật nhân chuẩn.

Ý nghĩa của sự tiếp hợp của cặp nhiễm sắc thể đồng nguồn

Tiếp hợp là một hoạt động quan trọng nhất và có tính chất bắt buộc của giảm phân, thiếu nó thì có nghĩa là giảm phân đó xảy ra không bình thường.

Sự tiếp hợp hình thành nên các cặp lưỡng trị đảm bảo cho sự phân chia đồng đều vật chất di truyền về 2 cực của tế bào. Những rối loạn ở quá trình này gây ra sự phân chia bất bình thường của các nhiễm sắc thể về các tế bào con, dẫn tới các nhiễm sắc thể bị bất dục.

Sự tiếp hợp liên quan tới sự trao đổi chéo giữa các gen tương ứng trên đôi nhiễm sắc thể tương đồng, tạo nên những kiểu tổ hợp gen mới.

Ở con lai xa, tế bào chứa 2 bộ nhiễm sắc thể của 2 loài khác nhau, các nhiễm sắc thể không có đôi tương đồng nên quá trình tiếp hợp nói chung không xảy ra, sự phân chia các nhiễm sắc thể bị rối loạn, các giao tử bất dục. Như vậy tiếp hợp là ngưỡng ngăn cản tạp giao khác loài, duy trì sự ổn định của loài.

Các gen hay đoạn nhiễm sắc thể ngoại lai nạp vào nhiễm sắc thể, thông qua giảm phân chúng có thể bị loại bỏ, không truyền lại cho thế hệ sau. Sự kiểm soát của ngưỡng giảm phân đã quyết định số phận của cấu

trúc di truyền nạp vào genom loài nhận, khi không có sự đồng thích ứng chúng sẽ bị loại.

Sự phân tách ngẫu nhiên của các cặp nhiễm sắc thể lưỡng trị về 2 cực của tế bào tạo nên những kiểu tổ hợp khác nhau về các nhiễm sắc thể có nguồn gốc từ bố, mẹ (số lượng tổ hợp là 2^n , n là số nhiễm sắc thể đơn bội). Từ đó tạo nên đa dạng về các kiểu giao tử và đa dạng về các kiểu gen ở đời phân ly. Đây là cơ sở tế bào của sự phân ly tính trạng.

1.6.3. Ý nghĩa của phân bào giảm nhiễm

Phân bào giảm nhiễm có ý nghĩa rất lớn đối với sinh vật, không những ở sự kế thừa vật chất di truyền cho thế hệ sau, mà còn ở sự điều khiển quá trình tái tổ hợp di truyền (đa dạng ở quần thể phân ly).

- Các giai đoạn giảm phân, trật tự của chúng cũng như hoạt động của đôi nhiễm sắc thể tương đồng đều có sự kiểm soát di truyền. Ở ruồi giấm quá trình giảm phân diễn ra khác nhau ở giới đực và giới cái. Ruồi đực sự tiếp hợp của đôi nhiễm sắc thể tương đồng kém chặt chẽ, không quan sát thấy sự hình thành bộ tiếp xúc và các hình chéo, sự trao đổi chéo bị hạn chế. Trong khi đó quá trình này diễn ra bình thường ở ruồi cái.

- Ở nhiều loài thực vật như ngô, lúa mì, cà chua, đậu Hà Lan,... đã phát hiện thấy nhiều đột biến liên quan tới quá trình giảm phân. Ví dụ, ở ngô đã tìm thấy dạng đột biến ngăn cản các tế bào mẹ hạt phấn bước vào phân bào giảm nhiễm, nhiều loại đột biến gây rối loạn sự tiếp hợp của các cặp nhiễm sắc thể tương đồng ở tiền kỳ I, các đột biến phá hủy sự phân ly bình thường của một số nhiễm sắc thể ở hậu kỳ II, . . .v.v.

Kết quả của phân bào giảm nhiễm là tạo thành 4 tế bào, mỗi tế bào đều khác nhau và mỗi nhiễm sắc thể của bố hoặc mẹ chỉ được về một tế bào. Do có sự bắt cặp và trao đổi chéo giữa các cromatit của các nhiễm sắc thể mà các nhiễm sắc thể mới hình thành không bao gồm hoàn toàn nguyên vẹn vật liệu di truyền của bố hoặc mẹ mà có những đoạn đã thay đổi.

Như vậy phân bào giảm nhiễm là cơ chế phân phối lại những đơn vị di truyền (gen), cho phép tái tổ hợp không phụ thuộc vào tình trạng ngẫu nhiên của chúng. Sự trao đổi chéo gây ra bởi những gen của các nhiễm sắc thể khác nhau có thể được mang tới đồng thời và có thể được tái tổ hợp. Nếu quá trình này không xảy ra, sự tiến hoá của các loài sẽ bị đình chỉ, bởi các nhiễm sắc thể không thay đổi, các cơ thể không có các hình ảnh đặc trưng của chúng.

Việc nghiên cứu phân bào giảm nhiễm là điều kiện trước tiên để hiểu cơ chế nhiễm sắc thể đối với sự di truyền.

1.7. Quá trình sinh sản hữu tính

1.7.1. Sự hình thành giao tử đực và giao tử cái ở thực vật có hoa

Ở thực vật bậc cao, giảm nhiễm xảy ra trong quá trình hình thành bào tử (giảm nhiễm bào tử). Các bào tử qua các giai đoạn phát

triển tiếp theo để hình thành nên các giao tử (tinh tử và bào trứng) tham gia thụ tinh.

1.7.1.1. Sự hình thành giao tử đực

Trong bao phấn, các tế bào mẹ hạt phấn bước vào phân chia giảm nhiễm, sau 2 lần phân chia hình thành 4 tế bào tử, chúng sẽ phát triển thành các hạt phấn. Ở một số cây lâu năm, các tiểu bào tử tồn tại lâu trong túi bào tử cho tới khi kết thúc việc hình thành giao tử (hạt phấn). Hạt phấn ở trường hợp này có cấu trúc giữ nguyên khối tứ bào tử gọi là hạt phấn phức tạp.

Quá trình hình thành các giao tử đực (tinh tử) diễn ra như sau:

Sau giảm phân một thời gian (ở họ hoà thảo khoảng 7-8 ngày) các tiểu bào tử bước vào phân chia nguyên nhiễm lần I. Phân chia này có đặc điểm là phân chia đều (mỗi tế bào con đều có n nhiễm sắc thể), song bào chất phân chia không đều. Kết quả của lần phân chia này hình thành một tế bào lớn gọi là tế bào phát triển, một tế bào nhỏ gọi là tế bào phát sinh. Tế bào lớn chứa nhiều chất dinh dưỡng đảm bảo năng lượng cho hạt phấn nảy mầm. Ở phần lớn loài thực vật, nhân của tế bào phát sinh tiếp tục phân chia nguyên nhiễm lần II tạo 2 nhân gọi là tinh tử. Như vậy hạt phấn chín ở đây có 2 tinh tử và nhân của tế bào phát sinh, gọi là hạt phấn ba nhân (Hình 1.12).

Ở một số loài thực vật khác, hạt phấn chín ở trạng thái hai nhân (nhân của tế bào phát triển và tế bào phát sinh). Khi hạt phấn rơi vào trên đầu vòi nhụy cái và nảy mầm, nhân của tế bào phát sinh rơi vào ống phấn, ở đó xảy ra phân chia nguyên nhiễm tạo thành 2 tinh tử theo túi phấn đi vào ống phôi.

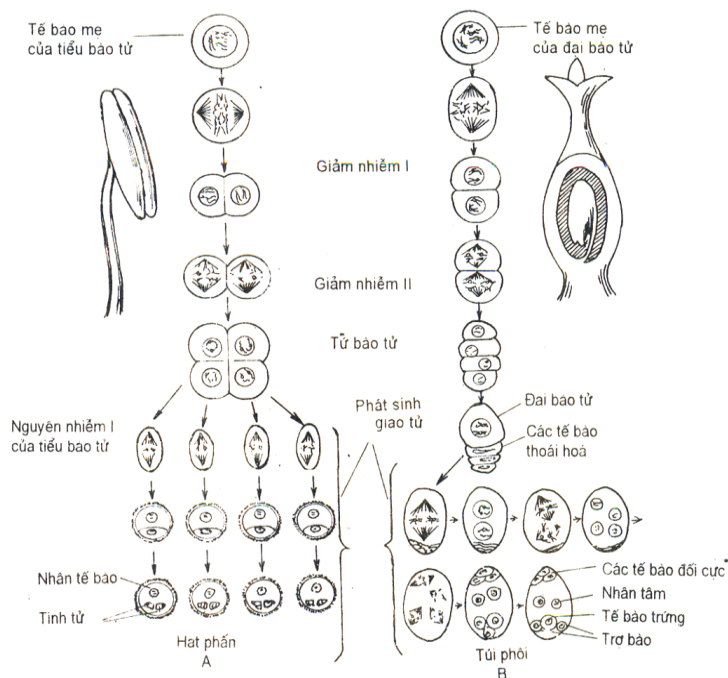
1.7.1.2. Sự hình thành giao tử cái

Ở thực vật có hoa, giao tử cái được hình thành trong noãn (ở bầu nhụy cái). Ở tâm có một hoặc vài nguyên bào tử, từ tế bào này phát triển thành tế bào mẹ của đại bào tử ($2n$).

Sau 2 lần phân chia giảm nhiễm, từ một tế bào mẹ hình thành 4 tế bào con xếp theo dãy (Hình 1.12). Ngay sau đó 3 tế bào bị thoái hoá, còn 1 tế bào - gọi là đại bào tử, nó sẽ phát triển thành tế bào mẹ túi phôi.

Tế bào này tiến hành phân chia nguyên nhiễm ba lần liên tục tạo thành 8 tế bào, chúng sẽ phân hoá tạo thành cấu trúc túi phôi 8 tế bào:

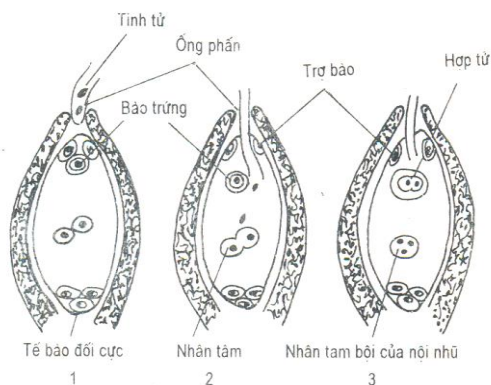
Hai tế bào đi vào giữa dung hợp tạo thành tế bào nhân tâm (có 2 bộ n). Ba tế bào dồn về phía lỗ noãn tạo thành một tế bào trứng (giao tử cái) và 2 trợ bào ở hai bên. Ba tế bào dồn về phía đối diện gọi là các tế bào đối cực. Như vậy, ngoài tế bào nhân tâm ($2n$) trong 6 tế bào còn lại (n) chỉ có 1 tế bào là giao tử cái. Các tế bào này có tổ chức khác nhau: Tế bào trứng kết hợp với một tinh tử tạo thành hợp tử phát triển thành phôi. Tế bào nhân tâm kết hợp với tinh tử thứ hai và phát triển thành khối tế bào nội nhũ. Các tế bào đối cực sẽ bị thoái hoá. Trợ bào chưa rõ chức năng, giả thiết rằng chúng có thể tạo tín hiệu cho ống phấn vươn tới lỗ noãn của túi phôi, ở vùng này chứa enzym xitase phân giải đầu cứng của ống phấn để giải phóng tinh tử vào túi phôi.



Hình 1.12. Sự hình thành hạt phấn (a), và túi phôi (b) ở thực vật có hoa

1.7.2. Thụ phấn

Thụ phấn là quá trình hạt phấn rơi trên đầu của vòi nhụy cái và nảy mầm cho ống phấn vươn tới túi phôi. Hạt phấn rơi trên đầu nhụy cái theo nhiều phương thức: Tự thụ phấn, giao phấn chéo nhờ gió hay nhờ côn trùng, . . .



Hình 1.13. Sơ đồ thụ phấn kép ở thực vật

1- Ống phấn đi vào túi phôi; 2- Ống phấn giải phóng tinh tử;

3- Túi phôi sau khi thụ tinh

Sự nảy mầm của hạt phấn và phát triển ống phấn ở vòi nhụy phụ thuộc vào độ hữu thụ của hạt phấn (tích lũy dinh dưỡng), bên cạnh đó còn chịu tác động của các yếu tố môi trường, đặc biệt là yếu tố nhiệt độ (ví dụ, ở lúa khi nhiệt độ xuống dưới 15°C là hạt phấn không nảy mầm

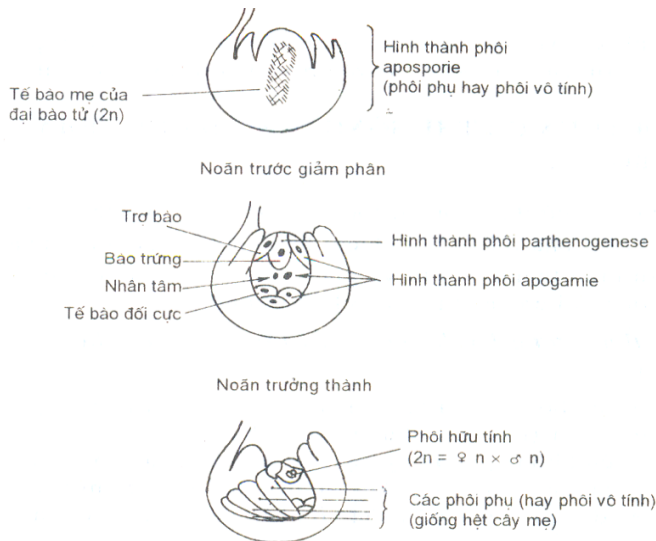
được). Ngoài ra sự phát triển của ống phấn để đưa tinh trùng vào túi phôi còn chịu sự kiểm tra di truyền, như hiện tượng tự bất hợp tử.

Khi phấn chín rơi trên đầu vòi nhụy cái, có thể nhiều hạt phấn nảy mầm, cho nhiều ống phấn. Ở đây xảy ra sự cạnh tranh của các ống phấn. Nhìn chung, khi một ống phấn đưa 2 tinh tử vào túi phôi, thì ở đó xuất hiện phản ứng ngăn cản các ống phấn khác (cũng có thể xảy ra trường hợp nhiều tinh tử cùng rơi vào túi phôi, song chỉ có 2 trong số chúng tham gia vào việc thụ tinh, số còn lại sẽ bị thoái hoá).

1.7.3. Sinh sản vô phôi (apomixie)

Ngoài sinh sản hữu tính, ở sinh vật còn tồn tại nhiều kiểu sinh sản khác. Sinh sản vô phôi là trường hợp phôi phát triển từ các tế bào sinh sản không xảy ra thụ tinh (không có sự phối hợp giữa nhân của tinh tử với nhân của bào trứng).

Dựa vào nguồn gốc tế bào (nhân) từ đó phôi được hình thành, người ta đã phân sinh sản vô phôi ra các dạng sau:



Hình 1.14. Sơ đồ diễn tả các trường hợp hình thành vô phôi

1.7.3.1. Sinh sản không bào tử (aposporie)

Đây là trường hợp phôi phát triển từ tế bào mẹ đại bào tử ở trạng thái $2n$. Ở noãn, tế bào này không bước vào phân chia giảm nhiễm mà phát triển theo phân chia nguyên nhiễm, tạo thành phôi, cây thu được ($2n$) giống hệt cây mẹ. Trong noãn có thể diễn ra 2 hướng phát triển đồng thời: (1) Tế bào mẹ bước vào phân chia giảm nhiễm, hình thành bào trứng và phát triển thành phôi hữu tính (sau thụ tinh) như bình thường; (2) tế bào mẹ khác phân chia theo lối nguyên nhiễm phát triển thành phôi không bào tử, kết quả thu được hạt đa phôi. Hiện tượng này quan sát thấy ở nhiều loài thực vật. Ví dụ, ở loài cam quýt, bên cạnh phôi hữu tính có thể hình thành theo con đường không bào tử, còn được gọi là phôi phụ hay phôi vô tính. Các phôi này có ý nghĩa lớn, vì chúng duy trì được đặc tính di truyền giống hệt cây mẹ.

1.7.3.2. Sinh sản mẫu sinh (parthenogenese)

Đây là trường hợp phôi phát triển từ tế bào trứng nhưng không có sự kết hợp giữa nhân của bào trứng với nhân của tinh tử. Phôi có nguồn gốc di truyền từ mẹ, có thể là đơn bội (n), hoặc lưỡng bội (2n). Ta có thể quan sát thấy một số dạng sau trong trường hợp này:

- Bào trứng phát triển thành phôi mà không có sự thụ phấn, không có sự tác động của ống phấn và tinh tử (trinh sinh).

- Có thụ phấn, song nhân của tinh tử bị hủy (do xử lý phóng xạ, hoá học, . . .) hoặc tinh tử phát triển không hoàn chỉnh, bị thoái hoá không có khả năng thụ tinh. Ở đây thụ phấn có tác dụng kích thích để bào trứng có thể phát triển thành phôi mà không có thụ tinh. Trường hợp này gọi là thụ tinh giả.

- Nhân của tinh tử phối hợp với nhân của bào trứng, hợp tử được hình thành. Tuy nhiên, ở lần phân chia đầu tiên của hợp tử bộ nhiễm sắc thể của giao tử (bố) bị đào thải, chỉ còn bộ nhiễm sắc thể của bào trứng (mẹ). Ví dụ, khi lai lúa mạch trắng (*Hordeum vulgare*) với lúa mạch dại (*H. bulbosum*), sau khi hình thành hợp tử, bộ nhiễm sắc thể của lúa mạch dại bị đào thải.

1.7.3.3. Sinh sản không giao tử (apogamie)

Đó là những trường hợp phôi có thể phát triển từ các tế bào khác không phải tế bào trứng (giao tử cái) như trợ bào, các tế bào đối cực, nhân tâm (Hình 1.14). Từ chúng có thể hình thành phôi đơn bội (n) hoặc tự lưỡng bội hoá (2n).

1.7.3.4. Sinh sản phụ sinh (androgenese)

Phụ sinh là trường hợp phôi mang hệ thống di truyền của bố phát triển thành cơ thể mới. Phụ sinh có thể diễn ra theo 2 con đường sau:

- Tinh tử đi vào bào trứng, song nhân của bào trứng bị thoái hoá (hoặc bị xử lý nhân tạo). Bộ nhiễm sắc thể của tinh tử tồn tại ở bào trứng, bào trứng mang hệ thống di truyền của bố (giao tử đực) phát triển thành phôi.

- Nuôi cấy tiểu bào tử ở môi trường nhân tạo để thu cây đơn bội hay cây đơn bội lưỡng bội hoá - dòng đồng hợp.

Vô phôi thường xảy ra xen kẽ với sinh sản hữu tính. Bên cạnh phôi được hình thành theo con đường hữu tính bình thường, khi tế bào khác ở trong noãn (trước giảm nhiễm) hoặc ở túi phôi có khả năng phát triển thành phôi theo con đường vô phôi, thì có thể thu được hạt sinh đôi, ví dụ: Ở cam quýt.

Cần lưu ý thêm rằng, ở nhiều loài thực vật, khi tự thụ phấn, thụ tinh không xảy ra, các phôi không hình thành, tuy nhiên sự đậu quả vẫn xảy ra, dẫn tới hình thành quả không đạt. Hiện tượng này gọi là parthenocarpie. Hiện tượng này có ý nghĩa lớn đối với cây ăn quả, nhằm thu các quả không hạt.

1.7.3.5. Ý nghĩa của sinh sản vô phôi

Ở thực vật, ngoài sinh sản hữu tính và nhân vô tính, còn tồn tại dạng sinh sản vô phôi như ta đã thấy ở trên, vấn đề này cần được hiểu rõ

để nắm được sự kế thừa vật chất di truyền từ thế hệ trước sang thế hệ sau. Các dạng sinh sản vô phối có nhiều ý nghĩa quan trọng trong di truyền và chọn giống.

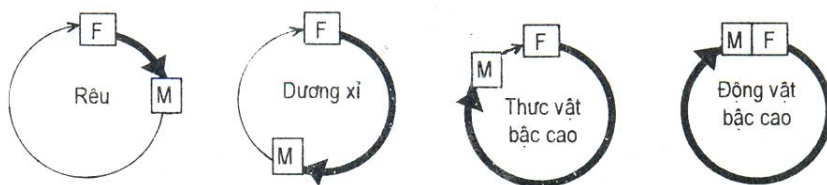
Thông qua phối aposporie (không bào tử) ta thu được thế hệ giống hệt cây mẹ ban đầu: Hệ thống di truyền không phân ly. Ưu thế hơn hẳn của dạng sinh sản này so với nhân vô tính là ở chỗ nó khắc phục được những nhược điểm mà nhân vô tính thường gây ra, đó là sự suy thoái do đã tích lũy nhiều bệnh vius, mycoplasma nguy hiểm và những suy thoái về chức năng di truyền khác.

Những dạng sinh sản vô phối parthenogenese apogamie, androgenese là những công cụ của việc tạo ra các cây đơn bội, các cây đơn bội lưỡng bội hoá (dòng dòng hợp tử). Những dạng cây này có nhiều ứng dụng quan trọng trong di truyền và chọn giống.

Dạng sinh sản vô phối như phụ sinh còn có ý nghĩa trong việc nghiên cứu mối quan hệ di truyền nhân và di truyền bào chất trong sự thể hiện của tính trạng.

1.8. Vòng đời của cơ thể sống, ý nghĩa của pha đơn bội và pha lưỡng bội

Trong vòng đời của một cơ thể sống tồn tại hai trạng thái: Đơn bội và lưỡng bội. Ở sinh vật bậc cao, pha lưỡng bội chiếm hầu hết thời gian của chu kỳ sống, pha đơn bội chỉ chiếm một giai đoạn ngắn là “sự hình thành bào tử và giao tử xảy ra trong cơ thể lưỡng bội”. Ở sinh vật bậc thấp pha đơn bội chiếm hầu hết thời gian của vòng đời.



Hình 1.15. Vòng đời ở một số nhóm sinh vật. M-phân chia giảm nhiễm; F-thụ tinh; đường đậm-pha lưỡng bội, đường nhạt-pha đơn bội

- Trạng thái lưỡng bội là bước tiến lớn trong tiến hoá, vì nó thể hiện những ưu thế sau đây:

1. Các gen trên bộ nhiễm sắc thể đơn bội tạo nên sự đa dạng di truyền ở quần thể sinh vật thông qua các đột biến gen (tạo nên những trạng thái biểu hiện khác nhau của gen). Tuy nhiên, các đột biến không gây nguy hại cho cơ thể, hoặc có lợi xảy ra ở các thế hệ với tần số thấp. Vì thế, nếu chỉ trông chờ vào các đột biến thì mức độ đa dạng di truyền đáp ứng với các điều kiện sống của quần thể sinh vật sẽ bị hạn chế.

Sự phối hợp 2 bộ đơn bội thành trạng thái lưỡng bội đó cung cấp khả năng tạo ra các biến dị tái tổ hợp, đem lại sự đa dạng rất lớn của các

tổ hợp gen. Tiềm năng biến dị di truyền vô tận này có ý nghĩa rất lớn trong tiến hoá của sinh vật.

2. Bộ thông tin di truyền tồn tại ở trạng thái đôi (lưỡng bội) đó đem lại nhiều lợi ích cho cơ thể sinh vật, thể hiện ở những mối tương tác giữa các gen. Các gen lặn có hại có thể được các gen trội (bình thường) che khuất, không gây hại cho cơ thể. Nhiều mối tương tác khác nhau: Cùng locus, khác locus có thể tạo nên những hiệu quả có giá trị cao về sự biểu hiện của tính trạng di truyền, làm tăng sức sống và khả năng thích ứng của cơ thể.

- *Sự kế thừa vật chất di truyền giữa các vòng đời cá thể của các nhóm sinh vật:*

1. *Đối với vi khuẩn:* Đời sống của chúng tồn tại ở trạng thái đơn bội (tế bào có một nhiễm sắc thể dạng vòng), có chu kỳ sống nhanh và tốc độ nhân (phân chia) rất lớn. Với khả năng đó, nguồn gốc của các biến dị là đột biến gen cũng có thể tạo nên mức đa dạng di truyền nào đó đáp ứng sự tác động của ngoại cảnh. Tuy nhiên, bên cạnh sự nhân lên theo lối vô tính, ở vi khuẩn xen kẽ (có một tần số nhỏ nào đó) chu kỳ sinh sản hữu tính: Khi 2 tế bào của 2 nòi vi khuẩn tiếp hợp với nhau, thông tin di truyền từ tế bào nòi cho được chuyển sang cho nòi nhận. Trạng thái lưỡng bội được hình thành, giữa 2 nhiễm sắc thể xảy ra sự trao đổi vật chất di truyền, tạo nên các dạng biến dị tổ hợp. Sau đó tế bào phân chia, trở về trạng thái đơn bội và nhân lên vô tính.

Như vậy, ngoài đột biến, tiềm năng biến dị di truyền của vi khuẩn được tăng lên nhờ biến dị tái tổ hợp - kết quả của xen kẽ quá trình sinh sản hữu tính (tồn tại pha lưỡng bội rất ngắn).

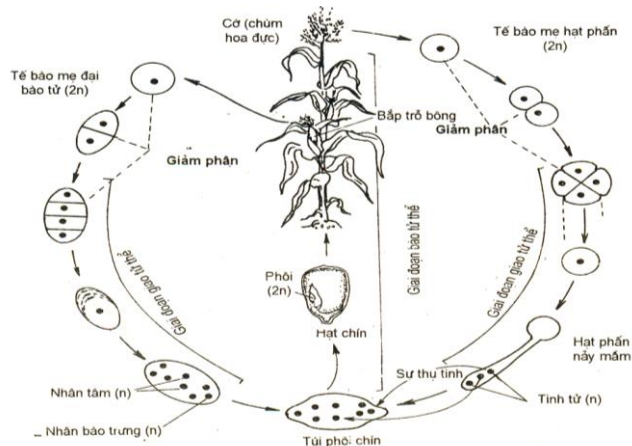
2. *Ở nhiều sinh vật đơn bào khác như tảo, nấm,...* ngoài chu kỳ vô tính để phát triển cơ thể ở trạng thái đơn bội, trong đời sống của chúng có xen kẽ chu kỳ sinh sản hữu tính, khi 2 tế bào của 2 nòi khác nhau gặp nhau hợp nhân cho 2 bộ $2n$ nhiễm sắc thể. Tế bào ở pha lưỡng bội (hợp tử) có thời gian tồn tại rất khác nhau ở các nhóm sinh vật đơn bào khác nhau. Có thể tế bào hợp tử phân chia giảm nhiễm ngay, hoặc sau một số chu kỳ nhân vô tính tạo nên nhiều tế bào $2n$ rồi mới tiến hành phân chia giảm nhiễm. Sau giảm nhiễm, chúng hình thành các bào tử đơn bội và phát triển thành cơ thể mới đơn bội. Như vậy, bên cạnh đột biến, sự xen kẽ pha lưỡng bội (sinh sản hữu tính) đó làm tăng tính biến dị di truyền.

3. *Ở rêu:* Bản thân chúng tồn tại pha đơn bội, trong vòng sống pha lưỡng bội được kéo dài hơn (hình 1.15). Thể lưỡng bội ở rêu là túi bào tử, giảm nhiễm xảy ra trong túi bào tử dẫn tới hình thành các bào tử đơn bội. Các bào tử này phát tán, mọc lên cây rêu.

4. *Ở dương xỉ:* Cây phát triển ở trạng thái lưỡng bội. Xảy ra phân chia giảm nhiễm, hình thành bào tử ở các túi bào tử. Pha lưỡng bội của cây sinh ra các bào tử gọi là giai đoạn bào tử thể. Các bào tử phát tán và hình thành những nguyên tản đơn bội lưỡng tính, ở đó hình thành cả tinh trùng và bào trứng. Quá trình phát triển của bào tử để hình thành các tinh trùng và bào trứng (các giao tử) gọi là giai đoạn giao tử thể. Sau thụ tinh,

hợp tử hình thành và phát triển thành cây. Ở đây pha đơn bội là giai đoạn giao tử thể. Đối với dương xỉ, pha này ngắn hơn so với pha lưỡng bội.

5. *Ở thực vật bậc cao*: Pha đơn bội được rút ngắn nhiều hơn so với dương xỉ. Các bào tử hình thành sau giảm nhiễm, chúng qua giai đoạn phát triển (giai đoạn giao tử thể) để hình thành nên tinh trùng và bào trứng. Quá trình này xảy ra ở hoa, trên cơ thể lưỡng bội (giai đoạn bào tử thể). Giai đoạn giao tử thể chiếm một quãng thời gian ngắn trong vòng đời của cá thể. Ví dụ, ở họ hoa thảo (Gramineae) thời gian từ sau giảm nhiễm tới khi hạt phấn chín (hình thành tinh trùng) kéo dài 18 ngày. Sau khi thụ tinh hợp tử được hình thành và phát triển thành cơ thể lưỡng bội. Hình 1.16 trình bày một ví dụ về vòng đời của cây ngô (*Zea mays*).



Hình 1.16. Vòng đời của cây ngô (*Zea mays*)

Như vậy pha lưỡng bội có nhiều ưu thế trong đời sống của sinh vật. Ở những nhóm sinh vật có mức tiến hoá cao, pha đơn bội càng được rút ngắn.

II. CƠ SỞ PHÂN TỬ CỦA SỰ DI TRUYỀN

Như ở các phần trên chúng ta đã biết, phần quan trọng nhất của tế bào là nhân và thành phần quan trọng nhất trong nhân tế bào là các nhiễm sắc thể-chúng được gọi là cơ sở vật chất di truyền ở mức độ tế bào. Khi nghiên cứu về nhiễm sắc thể các nhà nghiên cứu đã phải sử dụng phương pháp nhuộm màu để phân biệt các thành phần trong tế bào và trong nhân. Người ta nhận thấy rằng khi sử dụng các chất nhuộm màu kiềm tính thì các nhiễm sắc thể sẽ bắt màu mạnh. Đi sâu vào nghiên cứu nhiễm sắc thể người ta nhận ra: Thành phần bắt màu ấy là một chất có cấu trúc đặc biệt, sau này người ta đặt tên cho nó là ADN-cơ sở vật chất di truyền ở mức độ phân tử. Vậy vật chất đặc biệt này là gì và như thế nào?

1.2.1. ADN-vật chất di truyền

Axit Deoxyribonucleic (ADN) đã được phát hiện trong nhân tế bào của bạch cầu người từ năm 1869, nhưng lúc ấy người ta chưa biết rõ

chức năng của nó. Hợp chất này được chiết xuất ra từ nhân của nhiều loại tế bào sống, nên có tên gọi là axit nhân (axit nucleic). Năm 1910, bằng các phân tích hoá học người ta đã phân lập được 2 nhóm axit nucleic: ADN) và Axit Ribonucleic (ARN).

Năm 1924, nghiên cứu hoá tế bào với việc sử dụng thuốc nhuộm, đã nhận thấy cả 2 nhóm này (ADN và protein) đều có mặt trong nhiễm sắc thể. Nhiều bằng chứng gián tiếp khác đã gợi ra mối quan hệ giữa ADN và vật chất di truyền. Ví dụ: Hầu hết tế bào soma của một loài đều chứa đựng một lượng ADN không đổi, trong khi đó số loại cũng như số lượng các protein có sự khác biệt lớn ở những dạng tế bào khác nhau. Ở một loài nhân của tế bào giao tử chứa lượng ADN bằng một nửa so với lượng ADN trong nhân của tế bào soma. Tuy nhiên, những dẫn chứng gián tiếp trên vẫn chưa khẳng định được ADN là vật chất di truyền. Dưới đây sẽ trình bày hai thực nghiệm trực tiếp chứng minh vật chất di truyền là ADN.

1.2.1.1. Cấu trúc của ADN

a. Thành phần hoá học của ADN

ADN là thành phần chủ yếu của nhiễm sắc thể. Người ta cho rằng mỗi nhiễm sắc thể chứa một phân tử ADN dài, xoắn và gấp khúc nhiều lần. Nếu phân tử ADN trong nhiễm sắc thể của người kéo thẳng ra thì chiều dài của nó có thể dài tới 5 cm. ADN của trực khuẩn *E. Coli* kéo thẳng ra thì có thể có chiều dài 1 mm. Theo lý thuyết bộ gen đơn bội ở người gồm 2÷3 triệu gen, tuy nhiên chỉ có khoảng 30.000 gen hoạt động để tổng hợp protein và ARN.

Trong nhiễm sắc thể còn nhiều loại protein, trong đó Histon chiếm nhiều nhất. Lượng Histon tương đương lượng ADN trong tế bào. Histon là phân tử protein tương đối nhỏ, chứa các axit amin điện tích dương (lyzin, arginin) giúp cho Histon liên kết chặt chẽ với ADN. Vì vậy, có thể nghĩ rằng Histon có vai trò quan trọng trong nhiều hoạt động của gen. Có tới 5 loại Histon: H₁, H_{2A}, H_{2B}, H₃ và H₄, chúng có chức năng khác nhau trong nhiễm sắc thể.

ADN quấn xung quanh lõi Histon gần 2 vòng, đoạn này gồm 146 đôi base. Hai nucleosom kế cận nhau thì nối với nhau bằng một sợi ADN gồm 60 đôi base. Dây nối ADN và hạt nucleosome tạo thành một đơn vị nucleosom chứa khoảng 200 đôi base. Các nucleosom liên kết với nhau tạo thành từng dãy, sự liên kết của các nucleosom lại với nhau là nhờ phân tử Histon H₁. Phân tử Histon H₁ có một miền trung tâm hình cầu và 2 nhánh 2 bên. Phần hình cầu liên kết với một vị trí trên một hạt nucleosom, nhánh của nó che phủ sợi ADN, bằng cách đó các phân tử Histon H₁ đó liên kết chặt chẽ các nucleosom thành từng dãy đều đặn. Ở những đoạn không có Histon H₁ bám vào thì các nucleosom tách rời nhau và lỏng lẻo, có thể đó là các đoạn gen hoạt hoá.

Histon là các protein có phân tử ngắn, chứa từ 100÷200 a.a. Trong thành phần a. a của các histon có khoảng 20÷30% là lizin và arginin (các a.a kiềm tính) làm cho các histon chứa nhiều điện tích dương hấp dẫn các điện tích âm trên khung đường - photphat của phân tử ADN. Histon H₁ rất

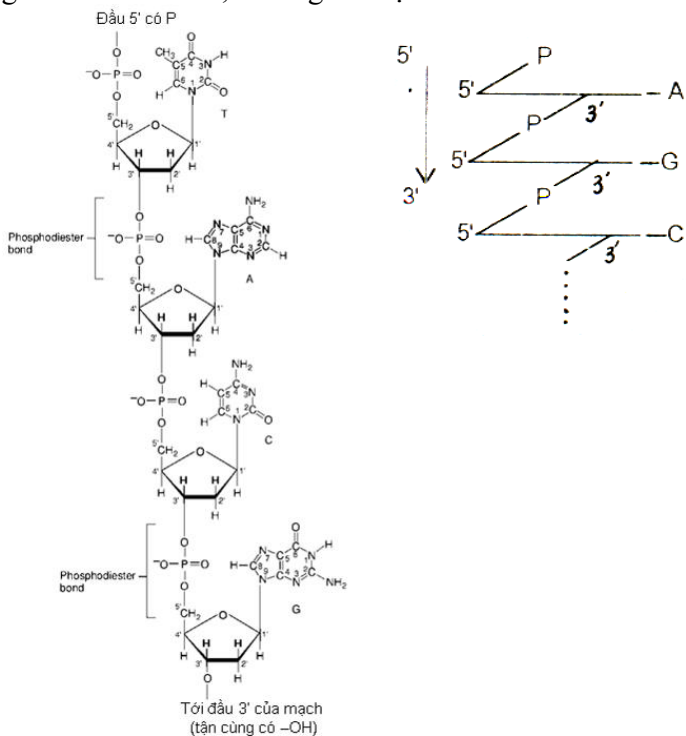
giàu lizin có phân tử lượng lớn hơn cả (21 Kdalton). H₂A, H₂B có mức giàu lizin kém H₁, H₃ và H₄ giàu arginin, bốn loại này có phân tử lượng từ 10-15 Kdalton. Tương quan phân tử của 5 loại histon H₁: H₂A: H₂b: H₄ tương ứng với tỷ lệ 1:2:2:2. Ngoài ra sợi nhiễm sắc thể còn chứa một số loại protein phi Histon (có thể chúng tham gia vào quá trình hoạt động của gen), một số ion kim loại như: Mg⁺⁺, Ca⁺⁺, Na⁺, . . .

Nhiều dãy nucleosome xếp cạnh nhau, song song với nhau và xoắn quanh nhau tạo thành sợi cromatin với đường kính 300⁰A.

Sợi cromatin uốn thành nhiều vòng móc dọc theo chiều dài của nó, ở cổ các vòng móc có gắn các phân tử protein để duy trì vòng đó, Mỗi nhiễm sắc thể ở người có khoảng 2.600 vòng móc. Sợi cromatin với các vòng móc còn phải xoắn hoặc gấp khúc nhiều lần nữa để có thể nằm gọn trong thể tích giới hạn của tế bào.

b. Cấu tạo và tổng hợp của ADN

ADN (Axit Deoxyribonucleic) là một hợp chất cao phân tử, một hợp chất trùng phân sinh học có cấu trúc đường thẳng rất phức tạp. Khối lượng phân tử gam của nó rất lớn, khoảng 10 triệu và có thể lên tới 50÷100 triệu.



Hình 1.17. Các nucleotit liên kết với nhau qua nhóm photphat. Các liên kết đường-photphat theo chiều 5' tới 3' của mạch, tạo đầu hở 5'-P và 3'-OH.

Đại phân tử ADN có cấu trúc xoắn kép gồm 2 mạch đơn các nucleotit xoắn lại với nhau theo một trục chung. Mỗi mạch đơn như vậy gọi là một polynucleotit.

Thành phần hoá học của mỗi nucleotit trong ADN gồm có: Một gốc nitric dị vòng, một phân tử đường pentoza gọi là Deoxyriboza, và

một phân tử axit photphoric. Nhờ phân tử axit photphoric mà các nucleotit của phân tử ADN nối lại được với nhau và tạo thành mạch polynucleotit.

Những gốc nitoric dị vòng phổ biến và có ở trong đại đa số các phân tử ADN là những dẫn xuất của purin: Adenin (A), Guanin (G) và pyrimidin: Timin (T), Cytosin (C). Theo kết quả nghiên cứu thành phần hoá học của ADN ở các sinh vật khác nhau, các nhà khoa học đã đi đến kết luận là mỗi loài được đặc trưng bởi sự phân phối khác nhau các gốc purin và pyrimidin, trên cơ sở thực nghiệm Sargap đã rút ra quy luật chung về tỷ lệ phân tử gam giữa các gốc nitoric trong phân tử ADN như sau:

Phân tử gam của gốc Timin bằng phân tử gam của gốc Adenin (T = A), phân tử gam của gốc Guanin bằng phân tử gam của gốc Xitozin (G = C).

$$|A| + |G| = |T| + |C|$$

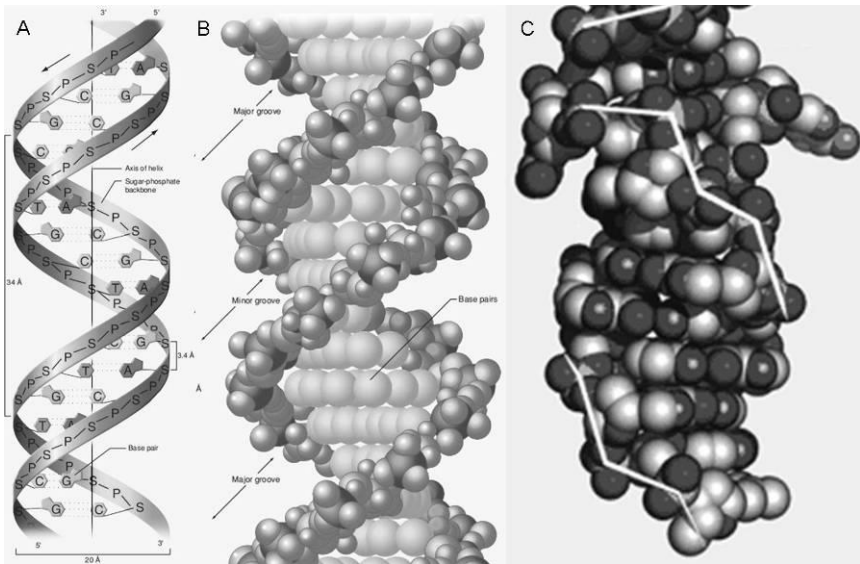
Và nồng độ của Adenin và Tymim cũng như Guanin và Cytosin là bằng nhau:

$$|A| = |T| ; |G| = |C|$$

Trong thành phần bazơ của ADN, tỷ lệ phần trăm của G + C thay đổi giữa các loài khác nhau, nhưng ổn định ở các tế bào trong một cơ thể của loài. Tỷ lệ (A + T)/(G + C) được xem như là một chỉ số đặc trưng của loài. VD. Chỉ số này ở người là 1,52; ở cừu là 1,36; ở châu chấu là 1,41; ở lúa mì là 1,19; ở Fago T₄ là 1,87; ở *E. Coli* là 1,00 và ở nấm men là 1,79. Ở vi sinh vật thì tổng số phân tử gam của (A + T) chỉ bằng hoặc lớn hơn (G + C) một ít như ở Fago T₄.

Năm 1953, hai nhà bác học là James Watson và Francis Cric đã khám phá ra cấu trúc phân tử của ADN bằng tia Ronghen và đã đưa ra mô hình của chúng. Theo mô hình này thì phân tử ADN là một chuỗi xoắn kép gồm 2 mạch đơn vặn xoắn xung quanh một trục chung và tạo thành những vòng xoắn kép. Trong các vòng xoắn đó các gốc nitoric của mạch đơn bên này sẽ được liên kết với nucleotit của mạch đơn bên kia và ngược lại bằng cầu nối hydro. Sự liên kết của các gốc nitoric của 2 mạch đơn bao giờ cũng theo quy tắc A - T, G - C, cứ như vậy khi ta biết trình tự của các gốc nitoric của mạch này thì sẽ biết được trình tự của các gốc nitoric của mạch kia và ngược lại. Khoảng cách giữa 2 mặt phẳng của 2 cặp gốc dọc theo trục của phân tử ADN là không đổi và bằng 3,4⁰A. Một vòng xoắn kép gồm 10 cặp gốc nitoric và sẽ có độ dài là 34⁰A.

Một thời gian dài người ta cho rằng, ADN chỉ có thể là dạng xoắn phải (B- ADN theo Watson và Cric). Nhưng năm 1979, A. Rich và các cộng sự đã phát hiện ra trong nhiễm sắc thể còn tồn tại ADN có cấu trúc xoắn trái (Z-ADN). Dạng Z-ADN thường gặp ở những vùng giàu cặp G - C (X). Nhiều nghiên cứu cho thấy, dạng Z-ADN có thể gặp ở vùng uốn siêu xoắn của sợi nhiễm sắc, có thể phát hiện thấy ở một số vùng phình (puff) trên nhiễm sắc thể khổng lồ của ruồi giấm. Z-ADN có chức năng đáng kể đối với một số quá trình như: Quá trình tái tổ hợp gen và điều hoà hoạt động của gen.



Hình 1.18. Cấu trúc không gian của phân tử ADN

a) Sơ đồ cấu trúc của chuỗi xoắn kép; b) Chuỗi xoắn phải dạng B-ADN, các vòng xoắn đều diễn ra đều đặn do các liên kết đường-phosphat khung của phân tử. c) Chuỗi xoắn trái dạng Z-ADN, các liên kết khung đường-phosphat tạo nên các đường ziczac.

Một đặc tính vô cùng quan trọng của phân tử ADN là khả năng tự nhân đôi hay còn gọi là tự tái bản. Quá trình này xảy ra trong giai đoạn S của gian kỳ trong chu kỳ tế bào, và đây là bước chuẩn bị quan trọng cho sự nhân đôi số lượng nhiễm sắc thể để tế bào thực hiện quá trình phân chia. Bằng các phương pháp di truyền, hoá sinh và tế bào học người ta đã chứng minh được rằng: Trong lúc nhiễm sắc thể nhân đôi thì hàm lượng ADN trong chúng cũng tăng lên gấp đôi.

Khi xảy ra tái bản, hai chuỗi xoắn của ADN mở xoắn, tách rời nhau theo từng phần do các cầu nối hydro bị bẻ gãy. Mỗi chuỗi hoạt động như một cái khuôn để tổng hợp phân tử ADN mới

Mới bằng cách tiếp nhận các nucleotit mới thích hợp tương ứng và lắp ghép các nucleotit theo nguyên tắc bổ sung A - T, G - X. Hai chuỗi cũ tách rời nhau đến đâu thì sự lắp ghép tiến hành tới đó. Đồng thời với việc lắp ghép các nucleotit giữa 2 mạch của phân tử ADN thì các nucleotit trên mạch mới cũng được ghép lại với nhau bằng liên kết ester qua cầu nối hydro của phân



Hình 1.19. Sơ đồ tái bản ADN theo cơ chế bán bảo toàn

từ axit photphoric và hình thành mạch polypeptit mới. Sau khi tái bản xong nếu 2 mạch cũ xoắn trở lại với nhau để khôi phục phân tử ADN cũ và 2 mạch mới cũng xoắn với nhau để tạo thành phân tử ADN mới thì gọi là tái bản bảo toàn, cứ như vậy tế bào hình thành 2 phân tử ADN giống hệt nhau-một cũ và một mới (Hình 1.19).

Mathew Meselson và Frankin Stahl (1957) đã chứng minh sự tái bản bảo toàn bằng thí nghiệm ở vi khuẩn *E. Coli*. Trong thí nghiệm này đã sử dụng đồng vị phóng xạ Nitơ nặng ^{15}N nhằm phân tích đặc điểm của ADN gốc và ADN mới.

ADN phân lập từ vi khuẩn nuôi cấy trong môi trường chứa ^{15}N có tỷ trọng lớn hơn ADN phân lập từ vi khuẩn ở môi trường nuôi cấy bình thường (^{14}N). Các phân tử ADN chứa ^{15}N và ^{14}N có thể phân tách bằng ly tâm cân bằng gradient tỷ trọng (chứa CsCl). Kết quả về sự phân bố nitơ nặng ^{15}N ở ADN đã phản ánh chính xác sự tái bản bảo toàn của cấu trúc ADN theo Watson và Cric.

Nhiều thí nghiệm tiếp theo tiến hành trên virus, vi khuẩn và sinh vật bậc cao đều cho thấy rằng, ADN tái bản theo kiểu bán bảo toàn.

Quá trình tái bản xảy ra rất nhanh và chính xác. Tốc độ bổ sung các nucleotit ở vi khuẩn là 500 nucleotit/ giây, ở động vật có vú là 50 nucleotit/giây. Sự tái bản xảy ra đồng thời ở trên cả 2 mạch cũ của phân tử ADN. Các đoạn ngắn của chuỗi polynucleotit mới được tổng hợp sẽ được nối lại với nhau nhờ hoạt động của men ADN-ligaza.

Một đơn vị tái bản hoàn chỉnh thì gọi là một replicon. Mỗi một replicon có một điểm khởi đầu thường là tại trung tâm, quá trình mở xoắn và tổng hợp kéo dài theo hai hướng ra hai đầu. Replicon khi đang tái bản hình thành các chạc tái bản là nơi ADN mở xoắn. Trên mỗi nhiễm sắc thể, sự tái bản ADN xảy ra ở các miền khác nhau không cùng trong một thời điểm, có miền tái bản sớm ở thời gian đầu của pha S trong chu kỳ tế bào.

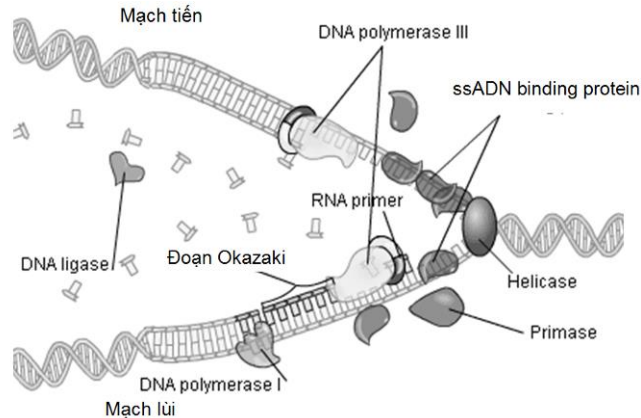
Quá trình trùng hợp các nucleotit mới để bổ sung vào hai chuỗi ADN mở xoắn cần có ADN-polymeraza xúc tác. Các enzym chỉ hoạt động khi hai chuỗi ADN đó mở xoắn và duỗi thẳng thành 2 chuỗi đơn. Sự tháo xoắn của chuỗi xoắn kép trong ADN nhờ một loại protein mở xoắn gọi là protein bám ADN chuỗi đơn. Các protein này bám thành hàng dọc trên chuỗi đơn ADN làm cho ADN tháo xoắn và duỗi thẳng ra.

Tại chạc tái bản khi đang tổng hợp luôn có mặt một enzym gọi là ADN helicaza, nó cũng tham gia mở xoắn và tách 2 sợi ADN ra.

Trên chuỗi chậm ADN tổng hợp từng đoạn ngắn ngắt quãng, người ta thấy trước khi tổng hợp một đoạn ADN mới khoảng 10 ribonucleotit, có sự xúc tác của enzym primaza. Ngay sau đó, ADN polymeraza có thể kiểm tra lại chuỗi ADN khi mới tổng hợp xong.

Sự nhân đôi-tái sinh của ADN là một quá trình hết sức chính xác, có lẽ chỉ có thể xảy ra sai sót với tỷ lệ $1/10^9$ cặp bazơ. Đây là một giới hạn cho phép để duy trì sự ổn định trong genom của tế bào. Một trong những lý do đem lại độ chính xác cao này là nhờ enzym polymeraza có thể kiểm tra lại chuỗi ADN khi mới tổng hợp xong. Những nucleotit bị

lắp ghép sai sẽ được enzym này tách ra và thay thế nucleotit thích hợp vào theo nguyên tắc bổ sung trước khi ADN polymeraza dịch chuyển tới nucleotit tiếp theo trên mạch khuôn.



Hình 1.20. Sơ đồ diễn tả hệ thống enzym tham gia vào quá trình tái bản ở tế bào vi khuẩn ssADN binding protein-protein liên kết với mạch

Có một câu hỏi đặt ra là, ở chạc tái bản quá trình lắp ráp theo khuôn của 2 mạch gốc diễn ra như thế nào? Vấn đề này đã được Okazaki làm sáng tỏ, gọi là sự tái bản không liên tục ở một trong hai mạch của chạc tái bản (còn gọi là tái bản nửa gián đoạn).

Như đã biết, hai mạch của chuỗi ADN chạy đối nghịch song song, vì thế ở một đầu trong 2 mạch có nhóm 3'-OH đầu kia là 5'-P. Trên mỗi một sợi của chạc tái bản sự tăng trưởng (tổng hợp) đều chạy theo chiều 5'-3', mà không chạy cùng một chiều dọc theo 2 sợi gốc. Sơ đồ Hình 1.17 cho thấy, khi primer mở đầu cho lắp ráp theo khuôn của sợi gốc có đầu hở 3', thì sự tăng trưởng chạy liên tục (từ ngoài vào) theo chiều chuyển động của chạc tái bản, mạch có sự lắp ghép liên tục này (mạch liên tục) có thể gọi là mạch tiến. Ngược lại, ở mạch đối diện sự lắp ráp xảy ra trên từng đoạn nhỏ, vì đầu 3'-OH mà primer mở ra luôn luôn ở phía ngược chiều với hướng chuyển động của chạc tái bản, tức là sự lắp ráp đi theo hướng lùi-mạch lùi. Theo chuyển động của chạc tái bản, đoạn khuôn mới luôn được mở ra. Sự bắt đầu tổng hợp ở mỗi đoạn mới đều phải khởi động bằng một primer mới. Khi một đoạn kết thúc lắp ráp, primer tách ra và để hở chỗ trống, việc tổng hợp lấp chỗ trống này do ADN-polymeraza I đảm nhận. Các đoạn được nối lại nhờ enzym ligase. Những đoạn mạch này có tên gọi là các đoạn Okazaki.

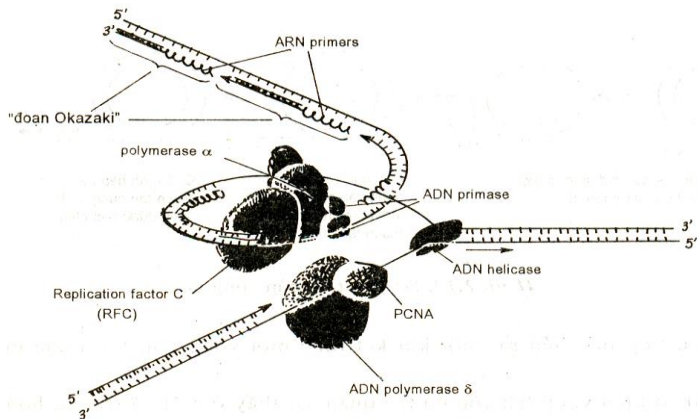
Tái bản ADN được tiến hành trong sự tham gia của một tập hợp các protein liên kết với ADN, các protein ấy gọi là replixom. Nhờ hệ thống này mà tái bản ADN ở tế bào vi khuẩn *E. Coli* diễn ra với tốc độ cực lớn. Độ dài của ADN vòng ở vi khuẩn *E. Coli* là 4.10^6 cặp nucleotit được tái bản trong 20 phút ở nhiệt độ 37°C . Sự tái bản xảy ra từ một điểm, tốc độ tái bản đạt tới $(4.000.000/20) = 2.10^5$ đôi nucleotit trong 1 phút (hay 3.000 đôi nucleotit trong 1 giây).

c. Tái bản ADN ở tế bào nhân chuẩn

Quá trình chung của sự tái bản ở tế bào nhân chuẩn có bức tranh tương tự như ở vi khuẩn. Tuy nhiên, cơ chế tái bản ADN ở tế bào nhân chuẩn xảy ra phức tạp hơn và sự hiểu biết của chúng ta cũng còn hạn chế hơn nhiều. Hình 1.21. là sơ đồ tái bản ADN ở tế bào nhân chuẩn.

ADN nhiễm sắc thể của tế bào nhân chuẩn là sợi rất dài, sự khởi đầu tái bản xảy ra nhiều điểm và thường diễn ra theo hai chiều, điều đó đã làm giảm khá lớn thời gian tái bản của một phân tử ADN. Những đoạn xảy ra tái bản trên ADN nhiễm sắc thể tế bào nhân chuẩn gọi là các đơn vị tái bản. Mỗi đơn vị có độ dài khoảng 40.000 đôi nucleotit. So với vi khuẩn, tốc độ tái bản ADN ở tế bào nhân chuẩn chậm hơn nhiều (khoảng 100÷300 đôi nucleotit/giây). Các nhiễm sắc thể có thể tái bản không đồng thời, sự tái bản ở tế bào nhân chuẩn (diễn ra ở pha S của chu kỳ tế bào) hoàn tất sau 1÷2 phút.

Enzym topozomeraza tham gia vào sự cắt ADN ở một sợi và nhanh chóng khôi phục khía đứt, đảm bảo cho sự tháo xoắn của ADN. Nhìn chung hệ thống các protein tham gia vào sự tái bản ở tế bào nhân chuẩn đa dạng và phức tạp hơn so với tế bào nhân sơ. ADN-helicase tham gia vào tháo xoắn của chuỗi kép để tạo mạch đơn. Nhiều protein khác gọi là các yếu tố tái bản, như RFA, RFC, . . . liên hợp với ADN để đảm bảo cho sự tái bản của nó, tuy nhiên vai trò của chúng còn cần được tiếp tục làm sáng tỏ thêm. Bên cạnh đó, đã phát hiện ra một yếu tố kháng nguyên gây hoạt hoá nhân tế bào (ký hiệu là PCNA), nó xuất hiện như một yếu tố đồng hành với ADN-polymeraza δ , sự có mặt của những phân tử này đó làm tăng tốc độ tái bản.



Hình 1.21. Sơ đồ diễn tả sự tái bản ADN ở tế bào nhân chuẩn PCNA-kháng nguyên gây hoạt hoá nhân tế bào (theo B.W. Stillman, 1988)

Đã phân lập ra được bốn loại ADN-polymeraza ký hiệu là α , β , δ và γ ở tế bào nhân chuẩn. Các dạng α , β , δ có mặt trong nhân tế bào, còn dạng γ đã được phát hiện thấy ở các bào quan (ty thể, lạp thể, có thể ở các bào quan còn có các ADN-polymeraza khác nữa). Ở chạc tái bản ADN

của tế bào nhân chuẩn, những cơ chế xảy ra trên mạch tiền (liên tục) và mạch lùi (gián đoạn), về mặt nguyên lý cơ bản tương tự như ở vi khuẩn, ADN-polymeraza δ tham gia vào sự kéo dài quá trình lắp ráp. Sự khởi đầu cho mỗi đoạn tái bản do ADN-primase đảm nhận (gắn ARN mồi để cung cấp đầu 3'-OH). ADN-polymeraza δ cũng không có hoạt tính khởi đầu, nó xúc tác cho quá trình kéo dài lắp ráp (ở mạch lùi). Vai trò của ADN-polymeraza δ còn chưa rõ.

Tính chất tái bản không liên tục ở tế bào nhân sơ và tế bào nhân chuẩn cho thấy, sự tăng tốc độ tái bản phụ thuộc nhiều vào khả năng làm việc của hệ thống tái bản trên mạch gián đoạn (mạch lùi), vì nó luôn bị chậm trễ so với mạch liên tục (mạch tiền). Hơn nữa, những yếu tố tác động vào nhiễm sắc thể đang tái bản (giai đoạn S của chu kỳ tế bào) sẽ có những cơ hội gây chấn hỏng ADN trên mạch gián đoạn nhiều hơn.

1.2.1.2. Trật tự của các nucleotit trên ADN nhiễm sắc thể

Ở tế bào nhân sơ sự khác nhau về thành phần bazơ trung tính ở các vùng ADN của genom là nhỏ. Sự phân bố thành phần các loại gốc bazơ trên ADN phần lớn mang tính ngẫu nhiên. Tuy nhiên, ở sinh vật nhân chuẩn đã phát hiện thấy những vùng ADN nhiễm sắc thể có thành phần bazơ sai khác rất lớn so với giá trị trung bình chung. Ví dụ, những đoạn có thành phần một số gốc bazơ nào đó chiếm tỷ lệ lớn. Qua phân tích đó rút ra rằng, có những đoạn ADN có kiến trúc lặp lại rất nhiều lần một trình tự nucleotit nào đó. Như vậy, ở ADN nhiễm sắc thể đã phân lập ra hai nhóm khác nhau về kiến trúc các trật tự nucleotit: (1) Dạng kiến trúc các trật tự không lặp lại-ADN kiến trúc đơn bản (ADN đơn bản); (2) dạng kiến trúc các trật tự lặp lại với những bội số khác nhau-ADN kiến trúc trùng lặp (các đoạn trùng lặp).

Các dạng kiến trúc đơn bản và trùng lặp được phân lập thông qua tốc độ của sự phục hồi mạch kép ADN sau sự biến tính (tách ra mạch đơn) của chúng.

Cấu trúc chuỗi xoắn kép ADN được duy trì nhờ lực của những cầu nối hydro giữa các cặp bazơ bổ sung. Tuy nhiên, khi xử lý dung dịch ADN ở nhiệt độ cao (tới 100°C), các liên kết hydro bị đứt gãy, chuỗi xoắn kép được tách ra thành 2 mạch đơn. Khi hạ nhiệt độ xuống, các mạch đơn tương đồng có thể kết lại và khôi phục cấu trúc xoắn kép (chuỗi xoắn kép được phục hồi). Tốc độ phục hồi nhanh hay chậm phụ thuộc vào sự khởi đầu của quá trình kết cặp. Khi trên mạch có càng nhiều đoạn tương đồng nhau thì sự kết cặp xảy ra càng nhanh. Như thế sự có mặt của những phần ADN có trật tự các gốc bazơ trùng lặp nhanh hơn nhiều so với tốc độ phục hồi của phần ADN đơn bản. Tốc độ phục hồi còn cho phép xác định được số lượng các cặp bazơ trong trật tự lặp lại và số lượng các bản lặp lại trong ADN của genom nghiên cứu.

Như vậy, theo đặc điểm về cấu trúc trật tự bazơ người ta đã phân lập ADN nhiễm sắc thể tế bào nhân chuẩn ra các nhóm cơ bản như sau: (1) ADN có trật tự đơn bản (phần này có tốc độ phục hồi chậm nhất), đây là phần ADN chính của genom. (2) ADN có các trật tự lặp lại với bội số trung bình (số bản sao khoảng 20÷50) và bội số cao (số bản sao khoảng 250÷6000

hoặc có thể tới 10^5 bản genom). (3) ADN có các trật tự bazơ lặp lại với bội số rất cao, có thể tới 10^6 bản trong genom, . . ., dạng này còn có tên là ADN kèm hay ADN phụ trợ. Tỷ lệ về các ADN vừa nêu trên rất khác nhau ở các loài sinh vật nhân chuẩn.

- *ADN có trật tự đơn bản*: Trừ một số ít ngoại lệ, genom của virus, vi khuẩn chỉ chứa đựng ADN trật tự đơn bản. Tỷ lệ dạng này ở các sinh vật nhân chuẩn khác nhau và có biến động rất lớn (Bảng 1.2). Đây là thành phần cơ bản của genom. Hầu hết các gen của genom được mã hoá bởi ADN trật tự đơn bản (trừ một số gen như histon, ARN riboxom, . . . có nhiều bản lặp lại).

- *ADN có trật tự lặp lại trung bình và cao*: Những kiểu lặp lại này khác nhau rất lớn về số lượng các bản sao và sự phân bố của chúng ở genom. Tỷ lệ của chúng rất khác nhau ở các loài khác nhau (Bảng 1.2). Một phần các đoạn lặp trung bình tham gia vào mã hoá một số gen như histon và ARN riboxom. Đa số chúng thể hiện trợ, không tham gia vào việc mã hoá các gen, thường ở khoảng cách giữa các gen. Ở một số đối tượng như ruồi giấm, chuột, . . . người ta đã quan sát thấy rất nhiều đoạn lặp kích thước ngắn (khoảng vài chục đôi bazơ), chúng phát tán ở khắp nhiễm sắc thể. Nhiều đoạn lặp dạng này có thể tham gia vào thành phần các yếu tố nhảy (các đoạn ADN có thể di động từ vùng này tới vùng khác ở một nhiễm sắc thể hay giữa các nhiễm sắc thể).

Bảng 1.2. Tỷ lệ các dạng trật tự đơn bản và trùng lặp ở genom của một số loài sinh vật nhân chuẩn (theo F. Ayala và J. Kiger, 1980)

| Loài | Tỷ lệ các dạng trật tự bazơ | | | |
|------------|-----------------------------|----------------------|----------------------|--------------------------|
| | Đơn bản | Trùng lặp bội số vừa | Trùng lặp bội số cao | Trùng lặp bội số rất cao |
| Ôc sên | 0,38 | > 0,123 | > 0,15 | 0,18 |
| Bò | 0,55 | - | 0,38 | 0,05 |
| Nhím biển | 0,38 | 0,25 | 0,27 | 0,10 |
| Ếch | 0,54 | 0,06 | 0,31 | 0,10 |
| Drosophila | 0,75 | - | 0,15 | 0,10 |

- *ADN có các trật tự lặp lại rất cao*: Kiểu này bao gồm những đoạn trật tự ngắn xếp thành từng cụm lặp lại với bội số cao. VD. ở genom của *D. viridis* thành phần lặp lại là 6 cặp bazơ sau:

[5' - ACAACT - 3']ⁿ

[5' - ATAACT - 3']ⁿ

[5' - CAAATT - 3']ⁿ

Bằng kỹ thuật đánh dấu, các trật tự lặp lại bội số rất cao (ADN kèm) thường quan sát thấy ở nhiều vùng chất dị nhiễm sắc (heterocromatin) và ở vùng tâm động của nhiễm sắc thể. Chất dị nhiễm sắc thường tập trung nhiều ở vùng gần tâm động, ở vùng đầu mút và nằm rải rác trên nhiễm sắc thể. ADN kèm có chức năng đối với một số quá trình như: Tham gia vào quá trình tiếp hợp của đôi nhiễm sắc thể tương đồng (ADN kèm được tìm thấy trong thành phần của bộ máy tiếp xúc), tham gia vào quá trình trao đổi chéo của nhiễm sắc thể, quá trình tái cấu trúc nhiễm sắc thể và quá trình hoạt hoá gen. Ngoài ra có nhiều ý kiến cho rằng, có thể

ADN kèm còn có chức năng bảo vệ các gen quan trọng, bảo toàn khối liên kết gen, . . .

Mặc dù chưa khám phá hết chức năng của các đoạn ADN kiến trúc vùng lặp, song chúng đã đóng góp thêm nhiều hiểu biết về vấn đề tổ chức genom của sinh vật. Qua đây ta thấy, ở genom của sinh vật nhân chuẩn tồn tại một lượng ADN "dư thừa" rất lớn, tiềm năng di truyền lớn của genom còn chứa nhiều bí ẩn.

1.2.2 Những đòi hỏi tất yếu của thông tin di truyền mà ADN đáp ứng được

ADN phù hợp với chức năng là vật chất di truyền, vì nó đáp ứng được những đòi hỏi sau đây:

- Vật chất di truyền phải tàng trữ tất cả thông tin cần thiết để điều khiển những cấu trúc đặc trưng và hoạt động trao đổi chất của tế bào (các tính trạng của cơ thể).

Trong phân tử ADN 4 loại bazơ có thể sắp xếp theo bất kỳ trình tự nào để tạo nên những đoạn phân tử khác nhau. Những chức năng riêng biệt của cơ thể sống liên quan tới sự đa dạng của protein. Mỗi protein được kiểm tra bởi một đoạn ADN (gen) có trình tự đặc trưng về các bộ ba. Ở cơ thể sinh vật số đoạn khác nhau ở ADN vô cùng lớn, thoả mãn cho sự tàng trữ mọi thông tin để điều khiển những cấu trúc đặc trưng và các quá trình hoạt động trao đổi chất vô cùng đa dạng của sinh vật.

- Vật chất di truyền phải được tái bản một cách chính xác để truyền đạt thông tin cho các thế hệ tế bào sau. Nguyên lý bổ sung gốc (A-T, G-X) theo suốt chiều dài của 2 mạch polynucleotit trong chuỗi ADN xoắn kép nói lên khả năng tự nhân đôi chính xác của nó. Chuỗi xoắn kép ban đầu mở xoắn cho 2 mạch đơn, mỗi mạch đơn được sao chép theo nguyên tắc bổ sung gốc, kết quả hình thành 2 chuỗi xoắn kép mới giống hệt chuỗi ban đầu.

- Vật chất di truyền phải có khả năng xảy ra và ghi nhận những biến đổi, thông tin di truyền khi đó biến đổi phải được ổn định và di truyền được. Nhiều tác động xảy ra có thể thay đổi thành phần bazơ ở vị trí nào đó trên chuỗi ADN. Từ đó làm cho mã di truyền bị thay đổi, dẫn tới thay đổi chức năng của gen. Những trạng thái khác nhau của một gen là nguyên nhân của tính đa dạng di truyền ở sinh vật.

1.2.3. Sinh tổng hợp ARN

ARN (Axit Ribonucleic) cũng là một axit nhân, tuy nhiên nó không chỉ có trong nhân của tế bào mà còn có cả trong tế bào chất. ARN chỉ có một mạch đơn các ribonucleotit với thành phần tương tự như ADN, song có những điểm khác biệt, đó là: Phân tử đường ở đây không phải là pentoza mà là riboza, các gốc nitoric dị vòng thuộc nhóm purin là Adenin (A) và Uraxin (U), còn nhóm pyrimidin thì vẫn là Guanin (G) và Xytosin (X).

Cơ chế trình bày sau đây xảy ra ở trường hợp ARN virus, tức là loại ARN di chuyển. Phân tử ARN của virus được dùng làm khuôn mẫu

để tổng hợp nên phân tử ARN mới cũng trên nguyên tắc bổ sung các đôi bazơ nhờ sự xúc tác của enzym ARN polymeraza phụ thuộc ARN (còn gọi là ARN replicaza, ARN synthetaza) cùng với các cation hoá trị 2.

Có 3 loại ARN được tổng hợp là ARN thông tin (mARN), ARN vận chuyển (tARN) và ARN ribosom (rARN). Một phần của một mạch đơn của phân tử ADN đóng vai trò bản khuôn cho việc tổng hợp phân tử ARN thông qua nguyên tắc bổ sung giữa các bazơ của các ribonucleotit với các bazơ trên mạch khuôn của ADN dưới sự xúc tác của enzym ARN polymeraza.

ADN được dùng làm khuôn, sau khi chuỗi xoắn kép của ADN tách rời nhau, chỉ một trong hai chuỗi được dùng làm khuôn để tổng hợp nên chuỗi ARN theo nguyên tắc bổ sung lên khuôn của ADN, tuy nhiên tương ứng với các nucleotit Adenin trên ADN thì trên ARN phải là Uraxin. Các nucleotit cứ thế liên kết lại với nhau và hình thành chuỗi ARN. Quá trình tổng hợp này nhờ vào sự xúc tác của enzym ARN polymeraza phụ thuộc ARN (còn gọi là transcriptaza). Để khởi đầu sự phiên mã, enzym này cần sự có mặt của các cation hoá trị 2. Enzym này khởi đầu sự phiên mã sau khi bám vào một dãy nucleotit đặc hiệu trên ADN gọi là đoạn khởi động (promotor).

Ở nhóm nhân sơ có nhiều loại ARN polymeraza nằm ở các vị trí khác nhau trong nhân tế bào để xúc tác cho sự tổng hợp các loại ARN khác nhau. Ở *E. Coli*, tín hiệu kết thúc lại là một dãy Adenin trên ADN, tại đó ARN polymeraza tổng hợp một dãy U trên khuôn và ARN nhanh chóng gấp khúc lại thành kẹp tóc, do đó làm ngừng quá trình phiên mã.

Theo những gì mà chúng ta đã biết ở trên thì ARN chỉ có trách nhiệm truyền thông tin di truyền đến các "nhà máy sản xuất ra protein" (ribosom).

Ngày nay các nhà khoa học đã có các quan niệm mới hơn, đó là có một số ARN nhất định còn trực tiếp kiểm soát chức năng của tế bào, đưa vào hoạt động, chấm dứt hoạt động của những tế bào nhất định và qua đó tác động đến sự sống của toàn bộ tế bào.

Họ cũng cho rằng, ARN như những chiếc cầu dao, chính nhờ chiếc cầu dao này mà hệ thống miễn dịch của tế bào được hình thành và có thể bảo vệ được tế bào trước những sự phát triển đột biến (Ví dụ như ung thư) hoặc sự tấn công của vi khuẩn.

Ngoài ra, ARN chịu trách nhiệm về một quá trình gọi là di truyền ngoại sinh. Một số tính trạng, Ví dụ như màu mắt, tuy không được mã hoá trực tiếp trong gen, nhưng được di truyền lại ít nhất cho một thế hệ. Trong quá trình ngoại sinh đó thì ARN đóng vai trò then chốt. Các nhà khoa học hy vọng rằng sẽ có thể sử dụng được chúng. Ví dụ, để biến các tế bào gốc thành những tế bào mẹ theo ý muốn.

1.2.4. Sinh tổng hợp ADN nhờ phiên mã ngược

Quá trình truyền thông tin di truyền từ ADN sang ARN là quá trình phiên mã thuận. Trong thực nghiệm và tự nhiên có quá trình ngược lại, đó là quá trình ADN được tổng hợp trên khuôn mẫu của ARN nhờ enzym ADN polymeraza phụ thuộc ARN (còn gọi là transcriptaza reverse).

Enzym này đã được phân lập từ ARN virus, các tế bào ung thư, các tế bào bị nhiễm virus. Các enzym này trùng hợp các deoxyribonucleotit trên khuôn ARN hình thành một phân tử ARN lai ARN-ADN. Chuỗi ADN sẽ tách rời khỏi khuôn ARN nhờ enzym ribonucleoaza H. Các chuỗi ADN đơn sẽ xoắn lại với nhau để hình thành phân tử ADN chuỗi kép. Quá trình này được biểu diễn như sau:



Nhờ phát hiện mới này mà khi ta dùng phương pháp hoá sinh tìm ra cấu trúc phân tử của protein thì ta có thể xác định được cấu trúc của ARN tương ứng và thông qua ARN ta có thể vận dụng quy tắc phiên mã ngược để tổng hợp nên phân tử ADN. Đây là điểm khởi đầu của công nghệ gen nhân tạo.

1.2.5. Mật mã di truyền

Trên cơ sở những phát minh về ADN và trên cơ sở các nghiên cứu tỷ mỉ về đặc tính của protein phụ thuộc vào thành phần của các a.a, người ta đã nêu lên giả thuyết về mật mã di truyền, chủ yếu dựa vào mối liên hệ ADN → ARN → Protein.

Như ta đã biết, các protein đặc thù đều được cấu tạo từ các a.a, còn các axit nucleic-ADN và ARN lại bao gồm những nucleotit-những thành phần cơ bản có tính chất hoá học hoàn toàn khác nhau. Vậy mối liên hệ giữa các axit nucleic trên ADN và a.a trên protein là như thế nào?

Trình tự sắp xếp liên tục của các nucleotit trên ADN và ARN quy định trình tự phân bố liên tục của các a.a trong phân tử protein tương ứng. Nhưng trong các phân tử protein chỉ bao gồm những a.a khác nhau của hơn 20 loại a.a đã được phát hiện (có thông tin cho biết: Đến nay người ta đã phát hiện ra hơn 30 loại a.a), trong khi đó axit nucleotit chỉ bao gồm 4 gốc nitoric: Trong ADN là A, T, G và C và trong ARN là A, U, G và C.

Vấn đề đặt ra là bằng cách nào để chuỗi gồm 4 gốc nitoric trong các axit nucleic lại quy định chuỗi các a.a trong phân tử protein. Xác định được mối liên hệ này sẽ giúp ta giải quyết được bí ẩn về thông tin di truyền từ ADN đến protein.

Đã có nhiều giả thuyết cho rằng: Đối với mỗi a.a thì có một tổ hợp riêng của các nucleotit tương ứng điều khiển. Nhưng có bao nhiêu nucleotit trong một tổ hợp và có bao nhiêu tổ hợp để đủ điều khiển hơn 20 loại a.a? Cuối cùng người ta cũng đã xác định được rằng: Mỗi a.a trong phân tử protit được điều khiển bởi một bộ ba các nucleotit trên mARN và gọi chúng là *bộ ba các nucleotit-mật mã di truyền*. Nếu như vậy, với các tổ hợp chập 3 phần tử, thì với 4 nucleotit (4 phần tử) chúng ta sẽ tạo thành 64 tổ hợp hay 64 bộ ba mã hoá đủ điều khiển sự tập hợp của hơn 20 a.a trong các phân tử protein. Đến đây thì vấn đề lại là những nucleotit nào sẽ nằm trong từng bộ ba của 64 tổ hợp ấy?

Toàn bộ các vấn đề trên chỉ được giải quyết sau khi Ochoa tìm ra chất men polynucleotit-phosphoraza. Nhờ chất men này người ta có thể liên kết các nucleotit lại với nhau tạo nên ARN. Sử dụng chất men trên,

Nirenberg và Mathaei (1961) đã tổng hợp được ARN nhân tạo chỉ gồm các gốc Uraxin (poly U). Các tác giả đã chứng minh rằng: Nếu trong lúc tổng hợp protein sử dụng một đoạn ngắn ARN chỉ gồm các nucleotit của gốc Uraxin thay thế cho mRNA trong tế bào thì protein được tạo thành chỉ gồm một loại a.a có tên là Phenilalanin. Dem phân tích protein thu được, các tác giả thấy rằng: Cứ một a.a phenilalanin đã được tổng hợp ứng với một bộ ba gốc Uraxin (UUU). ARN nhân tạo được tổng hợp chỉ gồm các gốc Uraxin được gọi là poly-U và về sau các nhà khoa học đã dùng nó làm chìa khoá để tìm ra các gốc trong từng bộ ba tham gia tương ứng với hơn 20 loại a.a trong các protein. Thí nghiệm đã được tiến hành bằng cách thêm vào trong poly-U một số gốc A, G, X. Nếu thêm A vào poly-U thì ta sẽ có bộ ba mới với tỷ lệ 2U+A và thí nghiệm đã thu được a.a có tên gọi là Isolexin. Nếu tỷ lệ thay đổi là U+2A thì thu được a.a là Asparagin. Cuối cùng người ta đã xác định được sự phối hợp của các bộ ba các gốc nitric tương ứng với các loại a.a khác nhau.

Các bộ ba như trên ADN và mRNA được gọi là bộ ba mã hoá (hay còn gọi là codon). Chúng ta thấy ở một số a.a được một số bộ ba giống nhau tham gia điều khiển, lý do cơ bản của các trường hợp này là trật tự của các nucleotit trong bộ ba, Ví dụ, để điều khiển Isoloxin ta có bộ ba 2U+A nhưng nó là UUA, AUU hay UAU thì chưa biết chính xác.

Các bộ ba mã hóa tương ứng với các a.a được trình bày trên Bảng 1.3.

Bảng 1.3. Các axit amin và một số bộ ba mã hoá tương ứng

| Axit amin | Bộ ba mã hoá | Axit amin | Bộ ba mã hoá |
|--------------|-------------------|-----------|-------------------|
| Phenilalanin | UUU | Glutamic | UAG |
| Isoloxin | 2U + A | Methionin | U + A + G |
| Tyroxin | 2U + A | Histidin | U + A + X |
| Leuxin | 2U + A, 2U + G | Treonin | U + A + X, U + 2X |
| Xystin | 2U + G | Glixin | U + 2G |
| Valin | U + 2G, U + G + A | Trytophan | U + 2G |
| Serin | U + 2A | Alanin | U + G + X |
| Lyzin | U + 2A | Arginin | U + G + X |
| Asparagin | U + 2A, U + A + X | Glutamin | U + G + X |
| Asparatic | U + A + G | Prolin | U + 2X |

Khi phân tích hoạt tính sinh học của 64 bộ ba đối với các a.a, các nhà nghiên cứu thấy rằng:

- Trong 64 bộ ba, có 61 bộ ba là có nghĩa đối với việc tổng hợp các phân tử protein, còn 3 bộ ba UAG, UAA và UGA thì chưa xác định được chúng phụ trách a.a nào. Người ta gọi chúng là những bộ ba vô nghĩa (hay còn gọi là bộ ba "câm"), song thực chất thì chúng có một vai trò rất quan trọng, đó là giúp cho quá trình tổng hợp các mạch peptit được kết thúc và vì vậy được gọi là mã kết thúc hay mã chấm dứt, chúng tương tự như những dấu chấm khi ta cần kết thúc câu văn.

- Vấn đề thứ hai là, có tới 61 bộ ba có nghĩa, nhưng chỉ có hơn 20 a.a, nên chắc chắn sẽ có những a.a được nhiều hơn một bộ ba điều khiển và như vậy thì cũng có thể có a.a có tới 2, 3 hay nhiều hơn nữa những bộ ba mã hoá.

- Trong một bộ ba thì nucleotit đứng đầu là quan trọng nhất. Các bộ ba cùng tham gia điều khiển một a.a thì 2 nucleotit đầu thường là không thay đổi-chúng là phần cơ bản, ổn định và bền vững, nucleotit thứ 3 thường là cơ động. Những bộ ba có đặc tính này thường mã hoá cho các a.a như: Glixin, valin, treonin, alanin và prolin.

- Các a.a có tính chất gần giống nhau thì tập hợp với nhau thành từng nhóm trong qui trình mã hoá. Ví dụ như các bộ ba có gốc U ở vị trí thứ 2 thường mã hoá cho nhóm các a.a kỵ nước. Tính chất mã hoá như vậy của các a.a được hình thành trong quá trình tiến hoá của sinh vật.

Người ta thường sử dụng cách sau để xác định các bộ ba mã hoá:

Bảng 1.4. Cách xác lập các bộ ba mã hoá

| Nu. thứ 1 | Nucleotit thứ 2 | | | | Nu. thứ 3 |
|-----------|-----------------|--------------|---------------------|----------------|-----------|
| | U | X | A | G | |
| U | UUU Phenil | UXU Serin | AUU Treolin | UGU Xystein | U |
| | UUX Phenil | UXX Serin | UAX Treolin | UGX Xysterin | X |
| | UUA Leixin | UXA Serin | UAA vô nghĩa | UGA vô nghĩa | A |
| | UUG Leixin | UXG Serin | UAG vô nghĩa | UGG Triptophan | G |
| X | XUU Leixin | XXU Prolin | XAU Histidin | XGU Arginin | U |
| | XUX Leixin | XXX Prolin | XAX Histidin | XGX Arginin | X |
| | XUA Leixin | XXA Prolin | XAA Glutamin | XGA Arginin | A |
| | XUG Leixin | XXG Prolin | XAG NH ₂ | XGG Arginin | G |
| A | AUU Isolexin | AXU Threonin | AAU Asparagin | AGU Serin | U |
| | AUX Isolexin | AXX Threonin | AAX Asparagin | AGX Serin | X |
| | AUA Isolexin | AXA Threonin | AAA Aspara | XGA Arginin | A |
| | AUG Methionin | AXG Threonin | AAG Lizin | XGG Arginin | G |
| G | GUU Valin | GXU Alanin | GAU Asparagin | GUG Glixin | U |
| | GUX Valin | GXX Alanin | GAX Asparagin | GGX Glixin | X |
| | GUA Valin | GXA Alanin | GAA Glutamin | GGA Glixin | A |
| | GUG Valin | GXG Alanin | GAG NH ₂ | GGG Glixin | G |

Qua nhiều nghiên cứu người ta đã rút ra một số tính chất quan trọng của mã di truyền như sau:

- Trên mạch polynucleotit mã di truyền chạy liên tiếp nhau, một gốc bazơ đó tham gia vào mã này thì không tham gia vào mã cạnh đó, tức là các mã di truyền không có tính chồng chéo. Tuy nhiên, việc đọc mã không có nghĩa như là ngắt câu bằng các dấu phẩy cố định, mà cứ hết 3 gốc bazơ của mã này tiếp đến 3 gốc bazơ của mã khác. Điều này nói lên rằng, khi điểm khởi đầu của việc đọc mã bị sai lệch đi bởi sự thêm vào hay bớt đi một hoặc một số gốc bazơ thì khung mã có thể bị lệch đi so với khung mã khởi thủy. Do vậy, việc đọc mã theo các bộ ba luôn luôn là liên tục.

- Trừ một số bộ ba không mã hoá a.a (bộ ba "câm") thì tổng số các bộ ba còn lại vẫn vượt hơn nhiều so với số lượng các dạng a.a cần mã hoá đã được biết. Như vậy mã di truyền có tính chất dư thừa. Các bộ ba cùng mã hoá cho một a.a nào đó được gọi là các bộ ba đồng nghĩa. Các

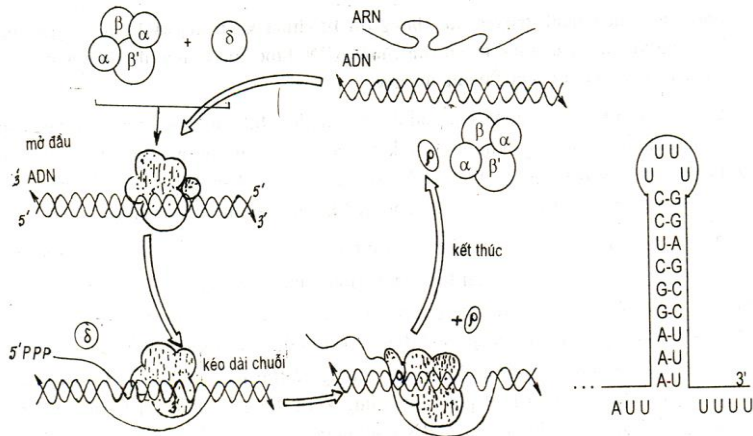
a.a như loxin, serin, arginin có tới 6 bộ ba mã hóa. Các bộ ba đồng nghĩa chỉ khác nhau ở bazơ thứ 3. Ví dụ, GGU, GGX, GGA, GGG đều mã hoá cho glixin. Trừ triptophan và methionin, còn các a.a khác có ít nhất 2 bộ ba cùng mã hoá. Cần nhấn mạnh rằng, mã di truyền có tính chất vạn năng, có nghĩa là mã đúng ở mọi sinh vật.

- Mã di truyền thường có 2 gốc thứ nhất và thứ hai ổn định, còn gốc thứ ba có thể thay đổi, tức là gốc thứ 3 không quan trọng trong việc quyết định ý nghĩa của mã. Như vậy, mã di truyền có tính chất biến động, linh hoạt. Điều này liên quan đến sự kết cặp giữa bộ ba mã hoá (codon) với bộ ba đối mã (anticodon) trên tARN. Các tARN chứa các anticodon khác nhau, số lượng các tARN có thể ít hơn số lượng các codon. Như vậy, một anticodon của một tARN có thể kết cặp với các codon khác nhau.

1.2.6. Quá trình sao mã di truyền

Sao mã là quá trình truyền đạt thông tin di truyền từ chuỗi xoắn kép của ADN tới mạch đơn mARN. Trong đó, một trong hai mạch của phân tử ADN được làm khuôn mẫu để tổng hợp mARN gọi là mạch có ý nghĩa hay mạch gốc.

Quá trình sao mã bao gồm 4 giai đoạn: Sự nhận biết đoạn khởi đầu, mở đầu sự hình thành chuỗi, sự kéo dài chuỗi và sự kết thúc. Quá trình sao mã được kiểm tra bởi enzym ARN-polymeraza. Khác với ADN polymerase, ARN-polymerase có khả năng bắt đầu sự tổng hợp một chuỗi polynucleotit mà không cần một đoạn môi.



Hình 1.22. Sơ đồ quá trình sao mã

α , β , β' , δ , ρ là các tiểu phần của ARN-polymeraza.

Phía phải là cấu trúc uốn palindrom ở vùng kết thúc sao mã trên ADN.

ARN-polymeraza ở vi khuẩn *E. Coli* được nghiên cứu kỹ, đó là một enzym rất lớn, có cấu trúc 4 tiểu phần: Hai tiểu phần giống nhau ký hiệu là α và hai tiểu phần khác là β , β' . Cấu trúc cơ bản của enzym này (2α , β , β') có phân tử lượng 480.000 Dalton. Để cho ARN-polymerase nhận biết được đoạn khởi đầu, nó cần được tác động với một yếu tố gọi là delta (δ). Đoạn khởi đầu thường có trật tự bazơ giàu AT, gọi là các trật tự TAAT, đoạn này là một phần của vùng khởi động (promotor) trong cấu

trúc operon. ARN-polymerase gắn vào đoạn khởi đầu, từ vùng nhận biết này nó được định hướng tới đúng chỗ bắt đầu tổng hợp ARN.

Nguyên liệu để tổng hợp mạch ARN là các nucleotit dưới dạng triphotphat (ATP, GTP, UTP, XTP). Ở 2 điểm bắt đầu quá trình lắp ráp nucleotit triphotphat thứ nhất được đặt vào, tiếp theo ARN-polymerase chuyển động theo mạch khuôn ADN, nhờ đó mà diễn ra quá trình kéo dài sự lắp ráp để tạo chuỗi ARN. Ở đây, hướng tăng trưởng của mạch luôn đi theo chiều 5'→3'. Ở vi khuẩn, tốc độ tăng trưởng mạch ARN ở 37°C là 40÷45 nucleotit/giây (tốc độ này nhỏ hơn nhiều so với tốc độ tái bản ADN).

Khi ARN-polymerase chạy tới vùng kết thúc, nó được tác động bởi một yếu tố gọi là yếu tố rô (ρ) và sự kết thúc sao mã xảy ra: Cả ARN mới được tổng hợp và ARN-polymerase đều được tách ra. Sơ đồ quá trình sao mã được trình bày trên Hình 1.22. Nhiều trường hợp vùng kết thúc sao mã trên ADN có cấu trúc đặc biệt, bao gồm các trật tự đối nghịch nhau qua một số bazơ, tạo nên cấu trúc uốn palindrome.

Ở tế bào vi khuẩn có một dạng ARN-polymerase có khả năng xúc tác cho việc tổng hợp cả 3 loại ARN: mARN, tARN và rARN.

Trên đoạn khuôn ADN sự sao mã có thể xảy ra đồng thời ở nhiều ARN-polymerase. Khi lần sao thứ nhất chưa kết thúc, ARN-polymerase chạy được chừng 50-60 nucleotit, có thể lần sao mã thứ hai đã bắt đầu, rồi tiếp theo. Như vậy, trên đoạn ADN có thể đồng thời sao chép được nhiều phân tử ARN trong một đơn vị thời gian (hiện tượng này thường xảy ra đối với rARN)

Ở tế bào nhân chuẩn có 3 loại ARN-polymerase I, II, III. ARN-polymerase I chịu trách nhiệm tổng hợp các rARN, ARN-polymerase III chịu trách nhiệm tổng hợp các tARN và rARN có phân tử lượng nhỏ (5S). ARN-polymerase II chịu trách nhiệm tổng hợp tất cả các mARN.

Ở sinh vật nhân sơ, sau khi sao mã ra từ mạch ADN gốc, các mARN được sử dụng trực tiếp để tổng hợp các mạch polypeptit. Ở sinh vật nhân chuẩn xảy ra quá trình thành thực hoá mARN mới sao để hình thành mARN thành thực rồi mới tham gia vào quá trình dịch mã.

Ở sinh vật nhân sơ, các gen cấu trúc (xistron) đứng cạnh nhau trong một OPERON được sao mã cùng nhau, tạo nên một mARN mang thông tin của nhiều mạch polypeptit (mARN đa xistron), giữa các đoạn được phân tách bởi một trật tự nê-m (không mã hoá các a.a) gồm khoảng vài chục bazơ. Bên cạnh đó, ở 2 đầu của mARN còn chứa các đoạn không tham gia vào quá trình dịch mã. Ở đầu 5' của mARN có đoạn không tham gia vào quá trình dịch mã, gọi là đoạn dẫn đường, nhờ đó mà mARN mới tới được roboxom và bắt đầu việc dịch mã. Việc dịch mã được bắt đầu từ đầu 5' của phân tử mARN theo hướng 5'→3' để tạo mạch polypeptit.

Ở sinh vật nhân sơ, mARN nhanh chóng bước vào quá trình dịch mã và cũng nhanh chóng bị phân hủy. Trong khi đó các mARN ở các sinh vật nhân chuẩn có thời gian sống kéo dài hơn nhiều.

1.2.7. Quá trình giải mã (dịch mã) di truyền

Quá trình giải mã di truyền (gọi tắt là giải mã-còn được gọi là dịch mã) là quá trình truyền đạt các thông tin di truyền từ mRNA sang chuỗi polypeptit để sau đó hình thành các phân tử protein (hay còn gọi là quá trình sinh tổng hợp protein). Quá trình này xảy ra trong bào tương qua nhiều khâu rất phức tạp và có sự tham gia của nhiều yếu tố như: Ribosom, tARN, aminoaxyl-tARN-synthetase, hoạt hoá a.a và một loạt các yếu tố protein khác đảm bảo cho sự vận hành của bộ máy dịch mã xảy ra tại ribosom.

Ribosom là thành phần cơ bản của quá trình dịch mã, là nơi xảy ra việc tổng hợp mạch polypeptit. Ribosom có cấu trúc từ hai tiểu phần: Tiểu phần lớn và tiểu phần nhỏ. Ở vi khuẩn tiểu phần lớn có hằng số lắng đọng là 50S và tiểu phần nhỏ là 30S. Mỗi tiểu phần đều có cấu tạo từ những phân tử rARN (chúng được sao mã từ các gen rARN), và những phân tử protein. Độ lớn và thành phần cấu trúc của ribosom có biến động lớn ở các đối tượng khác nhau. Bên cạnh các protein ổn định nằm trong cấu trúc của 2 tiểu phần, ở các ribosom còn chứa nhiều yếu tố protein khác tham gia vào quá trình tổng hợp mạch polypeptit.

Quá trình giải mã thực hiện qua các giai đoạn và ở ribosom như sau:

1.2.7.1. Axit amin được hoạt hoá và liên kết với tARN

Các tARN được sao ra từ các gen tARN. Các sinh vật nhân sơ và nhân chuẩn có tARN tương tự nhau, đó là những phân tử ARN ngắn, chứa khoảng 80 bazơ. Sau khi được tổng hợp tARN, ở một số vị trí xác định của nó có xảy ra biến đổi một số gốc (ví dụ, hydrouroxin, pseudouridin (φ) được hình thành sau biến đổi này). tARN uốn lại tạo kiến trúc không gian có dạng hình củ 3 lá nhờ các liên kết hydro. Đầu hở 3' của tARN liên kết với a.a, ở mỗi đỉnh uốn có chứa bộ ba đối mã để bổ sung với bộ ba mã hoá trên mRNA, từ đó quyết định lắp một a.a cụ thể vào mạch polypeptit.

Các a.a trong bào tương trước tiên được hoạt hoá bởi ATP, sau đó nhờ xúc tác của enzym đặc hiệu aminoaxyl-tARN synthetase mà nó được gắn vào với tARN thành phức hợp aminoaxyl-tARN (a.a-tARN). Nhóm carboxyl của a.a liên kết với đường ribozơ tận cùng của t-tARN tại nhóm 3'-OH (liên kết aminoaxyl). Phản ứng này có tính chất đặc hiệu cao cho cả a.a và tARN. Toàn bộ quá trình mà ở đó các a.a được gắn với tARN của mình gọi là quá trình hoạt hoá a.a.

Mỗi một a.a có một tARN đặc hiệu của nó để tiếp nhận và vận chuyển vào ribosom cho mRNA. Tuy nhiên, mỗi một a.a cũng có thể được tiếp nhận bởi 2 hoặc nhiều hơn 2 loại tARN. Các loại tARN khác nhau về bộ ba đối mã (anticodon) cũng có khả năng tiếp nhận một a.a thì được gọi là các tARN đồng tiếp nhận. Ví dụ, Phenilalanin có 2 tARN đồng tiếp nhận với mã AAA hoặc GAA, serin có tới 6 tARN đồng tiếp nhận với các mã khác nhau là UXU, UXX, UXA, UXG, AGU, AGX. Kiểu nhiều mã cùng quy định một a.a là sự thoái biến của mã. Thoái biến của mã là một lợi ích quan trọng cho mọi sinh vật, giúp cho chúng chống lại đột biến. Nếu một bộ mã nào đó bị đột biến không mã hoá được một a.a nào đó thì đã có một bộ ba khác có khả năng thay thế để mã hoá a.a đó. Hoặc nếu một bazơ bị

biến đổi, bộ ba mới vẫn có thể mã hoá được a.a đó hoặc a.a khác và như vậy chuỗi polypeptit vẫn có thể được tổng hợp.

1.2.7.2. Dịch mã ở riboxom, tổng hợp mạch polypeptit

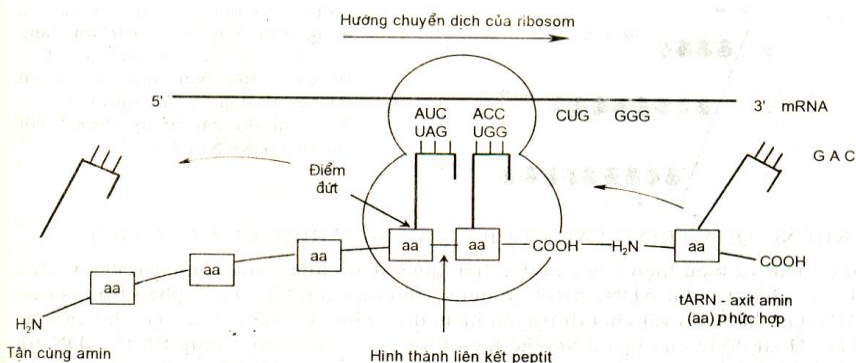
Quá trình này có thể chia làm 3 giai đoạn: (1) khởi đầu-hình thành liên kết peptit đầu tiên; (2) kéo dài chuỗi polypeptit; (3) kết thúc tổng hợp mạch polypeptit. Trong đó giai đoạn I xảy ra phức tạp nhất.

Giai đoạn I:

Giai đoạn này gồm các sự kiện: Gắn mRNA vào riboxom, xác định codon khởi đầu, gắn tARN mang a.a đầu tiên, tARN-a.a để hình thành liên kết peptit đầu tiên (codon khởi đầu ứng với a.a forminmethionin ở sinh vật nhân sơ và methionin ở sinh vật nhân chuẩn).

Khởi đầu quá trình tổng hợp chuỗi polypeptit cần có mặt một số yếu tố đặc biệt gọi là yếu tố khởi đầu (IF). Thoạt đầu đơn vị nhỏ của riboxom liên kết với mRNA nhờ sự xúc tác của các yếu tố khởi đầu này. Phân tử tARN khởi đầu nhận biết mã AUG mang Methionin hoặc forminmethionin đến riboxom. Tiếp đó đến yếu tố khởi đầu tách ra để đơn vị lớn của riboxom liên kết với đơn vị nhỏ. Các tARN tiếp theo mang các a.a đến riboxom. Mã khởi đầu cho chuỗi polypeptit thường là AUG (Methionin) hoặc GUG (Valin) hoặc GUA (valin).

Các a.a được tARN vận chuyển trong phức hợp a.a-tARN đến riboxom, tại đây nhiều riboxom đã được liên kết lại với nhau thành một phức hợp polyribosom nhờ phân tử mRNA. Ở sinh vật nhân chuẩn đã phát hiện thấy một trật tự bazơ đặc biệt ở phía đầu 5' của mRNA được gắn vào riboxom, gọi là điểm gắn với riboxom. Trật tự này đứng trước codon khởi đầu (AUG) khoảng vài bazơ. Ở sinh vật nhân chuẩn, sau khi đầu 5' đi vào riboxom, mRNA tiếp tục dịch qua riboxom tới codon khởi đầu. Bắt đầu từ đây quá trình tạo liên kết đầu tiên xảy ra như sau:



Hình 1.23. Sơ đồ tổng quát về quá trình tổng hợp một mạch peptit ở riboxom

- Hạt nhỏ (30S) được liên kết với mã khởi động của mRNA nhờ sự tham gia của yếu tố F₁ (F-ký hiệu các dạng protein tham gia vào quá trình dịch mã).

- tARN mang a.a thứ nhất đi vào hạt 30S và bổ sung anticodon với codon khởi động nhờ sự tham gia của yếu tố F_2 và năng lượng của 1GTP. Tập hợp này được giữ ổn định bởi yếu tố F_1 .

- Axit amin 1 ở tARN-1 gắn vào bề mặt của hạt lớn, nhờ năng lượng của 1GTP mARN được chuyển dịch một bộ ba, yếu tố F_2 bị đẩy ra. Ở codon thứ hai được bổ sung ngay tARN-2 mang a.a 2.

- Axit amin nằm trên bề mặt của hạt lớn, cạnh a.a 1, giữa chúng hình thành liên kết peptit đầu tiên (ở đây có sự tham gia của enzym peptidyltransferase).

Nhờ yếu tố G và năng lượng của 1 GTP xảy ra sự chuyển dịch một bộ ba nữa trên mARN, đồng thời tARN-1 bị đẩy ra khỏi riboxom. Như vậy, ở riboxom có tARN thứ hai gắn với 2 a.a, một codon hở trên mARN, tARN mang a.a tiếp theo để bổ sung vào.

Giai đoạn II-kéo dài sự lắp ghép, ở đó các a.a được gắn với nhau qua liên kết peptit. Mỗi bước chuyển dịch, ở riboxom luôn hở ra codon mới và anticodon của tARN mang a.a mới bổ sung vào, qua đó trình tự các a.a của mạch polypeptit ứng với trình tự các condon trên mARN.

Giai đoạn III:

Giai đoạn này xảy ra khi xuất hiện codon kết thúc trên mARN, tARN không được gắn vào hệ thống nên ngừng làm việc, mạch polypeptit tách khỏi riboxom, mARN và 2 tiểu phần của riboxom cũng được tách ra.

Quá trình tổng hợp chuỗi polypeptit xảy ra trên riboxom và mARN cho đến khi gặp một mã kết thúc trên mARN thì quá trình này dừng lại, chuỗi polypeptit hoàn thành, được giải phóng khỏi riboxom và mARN. Hoạt động này cần có sự tham gia của một protein đặc hiệu gọi là yếu tố giải phóng (RF) hay còn gọi là yếu tố kết thúc (KF). Các yếu tố này có chức năng nhận diện và bám vào mã kết thúc trên mARN, giải phóng chuỗi polypeptit mới được tổng hợp khỏi mARN bằng cách thủy phân liên tiếp các liên kết peptidyl-tARN. Sau khi chuỗi polypeptit được giải phóng riboxom tách rời thành 2 đơn vị.

Trình tự sắp xếp của các a.a trên chuỗi polypeptit được mARN quy định qua trung gian là tARN. Điều này thực hiện được nhờ sự tương tác giữa các đơn vị mật mã (codon) của mARN với đơn vị đối mã (anticodon) trên tARN. Sự tương tác này cũng theo nguyên tắc bổ sung các bazơ. Hướng dịch mã trên phân tử mARN luôn theo chiều 5'-3', vì vậy bazơ thứ nhất của đơn vị mã phải ghép với bazơ thứ 3 của đơn vị đối mã.

Sau khi chuỗi polypeptit được giải phóng khỏi riboxom, nhóm N-formil của Met hoặc gốc của Methionin mở đầu bằng cách tách ra dưới tác dụng của enzym. Chuỗi polypeptit cuộn xoắn lại (và đối với những protein như Oligomeric thì các chuỗi polypeptit kết hợp lại với nhau) tạo nên cấu trúc bậc II, bậc III và bậc IV của phân tử protein hoàn chỉnh.

Như vậy, trên một phân tử mARN có thể xảy ra tổng hợp đồng thời nhiều mạch polypeptit ở nhiều riboxom. Sau khi có khoảng 25 a.a được liên kết vào chuỗi polypeptit, riboxom 1 đã cách xa codon khởi đầu, codon

này lại liên kết với riboxom 2. Sự chuyển dịch của hai riboxom xảy ra song song, sau đó codon khởi đầu lại có thể liên kết với riboxom 3, . . . Như vậy, trên một mARN có nhiều riboxom cùng làm việc, tạo nên một hệ thống dịch mã polyriboxom hay polyxom. Ở những riboxom này tạo thành những mạch polypeptit giống nhau, từ đó thu được nhiều mạch polypeptit trong một đơn vị thời gian.

Ở sinh vật nhân sơ ADN không phân tách bởi màng ngăn với tế bào chất (nơi chứa các riboxom), đã quan sát thấy trường hợp các riboxom gắn vào mARN khi nó chưa kết thúc sao mã để tách khỏi ADN, từ đó hình thành nên hệ thống sao mã và dịch mã xảy ra đồng thời. Trên một khuôn mẫu ADN có nhiều ARN- polymerase cùng làm việc, ở các mARN đang được sao mã đó có nhiều riboxom gắn vào để tiến hành dịch mã.

Sau đây là bảng tổng hợp vai trò của các thành phần tham gia tổng hợp protein:

| Thành phần | Nguồn nguyên liệu |
|---|--|
| Axit amin | Nguồn nguyên liệu cho sinh tổng hợp protein |
| Riboxom (tARN + protein) | Nơi xảy ra quá trình kết hợp các a.a dựa trên khuôn mẫu của mARN |
| mARN | Bản sao cấu trúc của ADN ứng với một hoặc nhiều chuỗi polypeptit, là khuôn mẫu cho sự kết hợp của các a.a lại với nhau. |
| tARN | Vận chuyển các a.a đến vị trí tương ứng của mARN và đọc mã theo nguyên tắc đối mã. |
| ATP, GTP | Cung cấp năng lượng |
| Enzym | - ARN polymerase (I, II, III) xúc tác sao mã các loại ARN tương ứng. - Aminoaxyl-tARN-syntheraza = hoạt hoá gắn a.a vào tARN tương ứng. - Peptidyl-transfaraza = gắn các a.a lại với nhau để tạo thành chuỗi polypeptit. |
| Các yếu tố mở đầu, kéo dài và kết thúc. | Cần thiết cho giai đoạn mở đầu, kéo dài và kết thúc của quá trình sinh tổng hợp protein. |
| Ion Mg^{++} và K^+ | Cần cho hoạt động của enzym và cho sự duy trì cấu trúc của riboxom. |

1.2.7.3. Một số đặc điểm của quá trình sinh tổng hợp protein

- Nhiều riboxom có thể cùng bám vào một sợi mARN tạo nên polyriboxom (hay polyxom), trong đó mỗi riboxom (monoxom của polyxom) có thể tạo ra một chuỗi polypeptit đầy đủ, như thể khuôn mARN được áp dụng một cách có hiệu quả hơn. Vì vậy nhiều chuỗi polypeptit cũng được tạo thành gần như đồng thời dựa trên khuôn mẫu của mARN đó.

- Tổng hợp protein ở riboxom 80S của tế bào nhân chuẩn về căn bản cũng giống như sự tổng hợp protein ở riboxom 70S của vi khuẩn. Ở các tế bào nhân sơ các riboxom ở dạng tự do hoặc kết hợp với lưới nội

chất (bám ở bề mặt ngoài). Người ta cho rằng các riboxom tự do được dùng để tổng hợp các protein dùng trong tế bào (Ví dụ như tổng hợp hemoglobin hồng cầu lưới), còn các riboxom mặt ngoài của lưới nội bào được dùng để tổng hợp các protein bài xuất ra ngoài tế bào (Ví dụ, các tế bào ngoại tiết của tuyến tiết ra trisinogen, chimotripsinogen đổ vào tá tràng và tế bào gan tổng hợp các protein của huyết tương).

- Ty thể của tế bào có nhân chuẩn và lục lạp (cloroplast) của tế bào thực vật cũng chứa một lượng ít nhưng đủ các yếu tố để tham gia tổng hợp protein: ADN, mARN, tARN, riboxom, . . . vì vậy chúng có thể tổng hợp được một số protein của chúng.

- Một số thuốc kháng sinh và một số chất khác có tác dụng ức chế sinh tổng hợp protein, do đó có tác dụng ngăn cản sự phát triển của vi khuẩn. Ví dụ, tetraxiclin có tác dụng phong bế (ngăn cản) việc gắn aminoacyl-tARN vào vị trí A của riboxom; chloramphenicol ức chế sự vận chuyển peptidyl (tạo liên kết peptit) ở riboxom 70S của tế bào nhân sơ, nhưng không ức chế sự tổng hợp protein của riboxom 80S ở tế bào nhân chuẩn; streptomycin gắn vào R 30S của tế bào nhân sơ làm thay đổi cấu dạng của riboxom và do đó ức chế tổng hợp protein; chloroquin ức chế sao mã của ARN-polymerase.

- Sự tổng hợp protein có thể sai sót vì có sự thay thế lẫn nhau giữa các a.a có cấu trúc gần giống nhau (tỷ lệ sai sót khoảng 1/3.000 gốc) và có thể ở mức độ thấp hơn nhiều-giữa các a.a khác nhau. Người ta nhận thấy sinh vật càng già thì sai sót càng nhiều và đây là một trong những nguyên nhân của sự lão hoá.

1.2.8. Điều hoà sinh tổng hợp protein

Các tế bào soma trong cùng một cơ thể đều chứa một bộ gen thống nhất như nhau, nhưng tại sao mỗi loại tế bào ở những cơ quan, bộ phận, tổ chức khác nhau lại tổng hợp ra một loại protein khác nhau?

Sở dĩ có những hiện tượng trên là do sự đóng mở hoạt động của các gen ở các giai đoạn, thời điểm khác nhau trong quá trình inh trưởng, phát triển và thậm chí là quá trình thành thực hoá của mARN sơ cấp khác nhau. Chính sự đóng mở của các gen đã tạo nên một sự điều hoà của cơ thể mà một trong những sự điều hoà đó là điều hoà sinh tổng hợp các protein trong cơ thể sống.

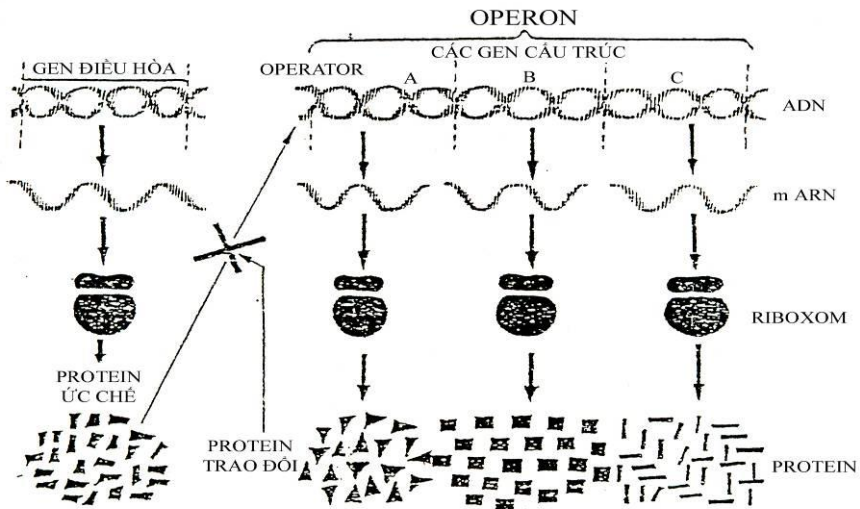
Tế bào có khả năng kích thích hoặc kìm hãm sự tổng hợp một hoặc nhiều enzym kiểm soát một dây chuyền chuyển hoá, kích thích hay kìm hãm khi cần thiết gọi là sự điều chỉnh.

F. Jacob và J. Monod (Pháp, 1960) dựa vào hiện tượng kích thích, kìm hãm sự tổng hợp enzym để xây dựng mô hình của cơ chế điều hoà sinh tổng hợp các protein ở các sinh vật nhân sơ (Hình 1.24).

Gen cấu trúc (S-structure): Trên mạch ADN có các gen gọi là các gen cấu trúc với chức năng làm khuôn mẫu cho việc tổng hợp nên các mARN để mARN lại làm khuôn mẫu cho việc tổng hợp nên các chuỗi polypeptit và hình thành một phân tử protein hoặc một enzym. Mỗi một

enzym sẽ tham gia kiểm soát một khâu trong dây chuyền chuyển hoá để tạo ra sản phẩm cần thiết cho cơ thể.

Gen vận hành hay khởi động (O-operator gene, Pr-promotor gene): Gen khởi động là một đoạn ADN chứa khoảng 100 nucleotit, cùng nằm trên mạch ADN với gen cấu trúc nhưng về phía bên trái. Gen "Pr" nằm cạnh gen "O", nó điều chỉnh việc bắt đầu sao mã và mức độ tổng hợp mARN. Gen này được nhận dạng bởi enzym polymerase và được enzym này mở xoắn để bắt đầu quá trình sao mã của các gen cấu trúc. Chúng có khả năng kết hợp với các chất kim hãm (các protit ức chế). Khi gen này không liên kết với các chất kim hãm thì nó hoạt động và đưa các men ARN-polymerase vào hệ thống gen cấu trúc để kích thích-khởi động cho gen cấu trúc hoạt động phiên mã cho ra các mARN để tổng hợp nên các protein đặc thù. Trái lại khi các gen khởi động kết hợp với chất kim hãm thì nó bị "khóa", vì vậy nó không thể đưa các men ARN polymerase vào hệ thống gen cấu trúc để kích thích-khởi động cho gen cấu trúc hoạt động phiên mã, gen cấu trúc không hoạt động, quá trình sinh tổng hợp protein không xảy ra.



Hình 1.24. Sơ đồ mô tả cơ chế điều hòa sinh tổng hợp protein trong tế bào theo Jacob và Monod (1960)

Gen điều hoà (R - regulator gene): Gen điều hoà có thể nằm trên cùng mạch ADN có chứa gen cấu trúc và gen khởi động, nhưng cũng có thể nằm trên mạch ADN khác. Nhiệm vụ của gen điều hoà là điều khiển sản xuất ra chất ức chế (chất kim hãm) bản chất là một protein. Chất kim hãm có thể tự động liên kết với gen kích thích-khởi động (nếu ở giai đoạn kim hãm) để không cho gen khởi động hoạt động và bị kéo ra khỏi gen khởi động (nếu ở giai đoạn kích thích) để cho gen khởi động làm việc.

Các gen "S, O và Pr" kết hợp lại với nhau tạo thành một phức hợp gọi là "OPERON". Operon hoạt động như một xí nghiệp sản xuất. Trong đó các gen "S" là trực tiếp làm nhiệm vụ sản xuất, "O" làm nhiệm vụ chỉ

huy sản xuất và "Pr" thành viên ban đầu giữ nhịp điệu sản xuất. Operon có hoạt động được hay không là do gen điều hoà kiểm soát thông qua hoạt động của "R".

Trên đây là một trong số những phương thức hay cơ chế điều hoà sinh tổng hợp protein trong tế bào và cũng là trong cơ thể sống của vi khuẩn. Có thể trong cơ thể còn nhiều cơ chế điều hoà sinh tổng hợp protein khác nữa.

Ở sinh vật nhân chuẩn, giữa các gen thường được phân tách bởi một đoạn lớn ADN không tham gia mã hoá. Ở vùng này đã phát hiện ra những trật tự ADN đóng vai trò điều hoà sự sao mã của gen.

Cần phân biệt các vùng (gen) khởi động (Promotor) của 3 loại ARN-polymeraza:

- Cách không xa điểm tạo mã (phía trước gen cấu trúc) của gen, đã phát hiện ra trật tự ADN có chức năng khởi động, là nơi gắn vào các ARN-polymerase II để tiến hành sao mã cho ra mARN. Trong vùng khởi động thường quan sát thấy những trật tự có thành phần bazơ như TATAAAATA và kiểu GGGCGG. Khi vùng khởi động bị bất hoạt hoá (do đột biến) thì sự sao mã sẽ bị đình trệ.

- Vùng khởi động của ARN-polymerase I nằm ở phía trước gen rARN, nhưng chưa hoàn toàn xác định được rõ vị trí, hơn nữa các trật tự ADN ở vùng khởi động này ít mang tính chất đặc trưng và biến động mạnh ở các loài.

1.2.8.1. Vùng tăng cường sao mã

M. L. Birnstiel và cs. (1980) trong thí nghiệm nghiên cứu các gen histon ở tế bào trứng ếch đã phát hiện ra rằng, cắt bỏ một đoạn ADN nằm cách đầu 5' của gen khoảng 185 đôi bazơ đã gây ra sự giảm đột ngột mức độ sao mã (xuống 100 lần). Rõ ràng đoạn ADN có vai trò đảm bảo cho sự tăng cường sao mã. Sau phát hiện này, nhiều nghiên cứu đã xác định được nhiều đoạn ADN khác, chúng nằm ở những vị trí khác nhau của gen, có chức năng tiếp nhận thông tin làm tăng quá trình sao mã. Chúng được gọi là vùng tăng cường sao mã (enhancer). Vùng tăng cường sao mã có những đặc điểm sau:

- Vùng tăng cường là yếu tố tác động theo hướng đồng, chúng chỉ có hoạt tính khi nằm trong khối thống nhất chứa gen mà chúng điều khiển.

- Vùng tăng cường không có tính hướng, vị trí của chúng có thể thay đổi mà không ảnh hưởng tới chức năng hoạt động của chúng. Vị trí của vùng tăng cường thay đổi rất rộng, có thể ở phía trước gen (đầu 5'), ở gần hay cách rất xa gen, hoặc ở sau gen (đầu 3') hay ở trong gen (nằm ở đoạn xistron). Tuy nhiên, vùng tăng cường nằm ở phía trước là phổ biến nhất.

- Vùng tăng cường không mang tính đặc trưng cho từng gen mà chúng điều khiển, tức là chúng có ý nghĩa hầu như cho mọi gen.

- Vùng tăng cường có tính chất đặc trưng rất yếu ở góc độ phân loại. VD. tăng cường của các gen histon ở nhím biển vẫn có hoạt tính ở

trứng ếch. Vùng tăng cường của gen choáng nhiệt của ruồi vẫn hoạt động ở tế bào của động vật có vú,...

- Ở một số trường hợp, vùng tăng cường có tính chất đặc trưng cho từng mô cụ thể của sinh vật đa bào bậc cao. Ví dụ, vùng tăng cường của gen kiểm tra chuỗi nặng immunoglobulin chỉ có hoạt tính ở những tế bào lympho.

- Một gen cụ thể mang một số vùng tăng cường, ví dụ: Ở các gen ovalbumin, albumin, . . . có 2 vùng tăng cường, một ở cách không xa điểm tạo mã-nó có tính chất đặc trưng cho từng mô, còn vùng tăng cường thứ 2 nằm cách điểm tạo mã rất xa (khoảng 3÷7 ngàn đôi bazơ).

Vùng tăng cường là đoạn ADN ngắn, ranh giới của nó vẫn chưa hoàn toàn sáng tỏ. Ở nhiều trường hợp đã xác định được trật tự ở cấu trúc tâm trục chính. Ví dụ, tâm trục chính vùng tăng cường của gen choáng nhiệt của ruồi giấm có trật tự:

G -- GAA -- TTC -- G

Vùng tăng cường có thể chứa một hoặc vài tâm trục cho hoạt tính tăng sao mã rất nhanh.

1.2.8.2. Vùng gây giảm sao mã (silencer)

Bên cạnh các vùng tăng cường sao mã (enhancer) như trên ta đã thấy, người ta cũng đã phát hiện ra những đoạn ADN (nằm ở thành phần ADN không mã hoá) có tác động ngược lại-tức là có chức năng làm giảm sao mã. Chúng có tên là vùng gây giảm sao mã (silencer). Tuy nhiên, ảnh hưởng hạn chế sao mã của nó có thể bị loại trừ khi có tác động kích thích, như tác động của phức hợp protein tiếp nhận- hormon lên ADN. Khi tách bỏ vùng gây giảm mã thì sự sao mã ở mức độ nào đó vẫn xảy ra mà không cần tác động kích thích. Các vùng gây giảm sao mã (silencer) cũng có một số đặc điểm tương tự như vùng tăng cường sao mã (enhancer).

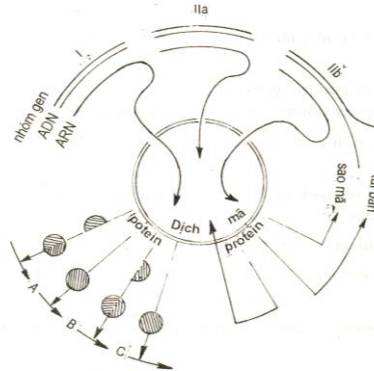
Tóm lại, ở sinh vật nhân chuẩn những thành phần tham gia vào điều hoà hoạt động của gen ở operon của sinh vật nhân sơ. Ở sinh vật nhân sơ các gen cấu trúc được ghép liền nhau thành một tập hợp đa xistron và cùng chịu sự kiểm soát của một bộ phận điều hoà (operator, promotor), bộ phận này chiếm một lượng ADN nhỏ hơn nhiều so với lượng ADN mã hoá (các gen cấu trúc). Ngược lại, ở sinh vật nhân chuẩn lượng ADN mã hoá (các exon) chiếm tỷ lệ nhỏ hơn nhiều so với lượng ADN không mã hoá (các intron và khoảng cách giữa các gen). Ở một số bộ phận, ADN nằm rải rác nhiều yếu tố tham gia vào việc điều hoà sao mã như promotor, enhancer, silencer, . . . (không loại trừ khả năng chưa sáng tỏ hết chức năng của phần ADN không mã hoá). Cấu trúc exon-intron của gen ở sinh vật nhân chuẩn còn cung cấp khả năng linh hoạt trong việc cấu tạo các sản phẩm và điều hoà biểu hiện của gen nhờ quá trình tách ghép ở mARN sơ cấp.

Vấn đề điều hoà sinh tổng hợp protein hay gián tiếp là điều hoà sao mã là một vấn đề phức tạp, mới mẻ và tinh vi, trong chùng mực của

chương trình này chúng ta không thể tìm hiểu hết được, nếu cần thiết chúng ta phải đi sâu hơn nữa thì mới có một sự hiểu biết thấu đáo hơn.

1.2.9. Các quá trình sao chép và biểu hiện của gen

Sự tái bản và biểu hiện của gen đều liên quan đến các quá trình sao chép, tổng hợp các đại phân tử ADN, ARN, protein.



Hình 1.25. Sơ đồ tổng quát về sự thực hiện thông tin di truyền ở tế bào

Theo sơ đồ trên Hình 1.25 các gen thuộc nhóm I kiểm soát cấu trúc của tất cả các protein tham gia vào các quá trình hoạt động trao đổi chất, xây dựng tế bào. Các gen thuộc nhóm II chịu trách nhiệm về tất cả các quá trình sao chép, chúng được chia ra thành 2 phân nhóm IIa và IIb. Các gen thuộc phân nhóm IIa làm khuôn mẫu để sao ra các ARN riboxom, ARN vận chuyển (và các ARN khác trong tế bào), chúng trực tiếp phục vụ cho quá trình dịch mã. Các gen thuộc nhóm IIb kiểm soát cấu trúc của tất cả các protein tham gia vào các quá trình sao chép như: Tái bản ADN (trong đó có tái bản sửa chữa ADN), sao mã, dịch mã-tổng hợp protein ở riboxom. Như vậy, các gen thuộc nhóm II cần có các tiếp cận đặc thù trong sự nghiên cứu biểu hiện của chúng. Hoạt động của 2 nhóm I và II có quan hệ mật thiết với nhau.

Tóm lại, sự tái bản, sự biểu hiện của thông tin di truyền của tế bào đều liên quan đến các quá trình sao chép và tất cả chúng đều chịu sự kiểm soát của chính bộ máy di truyền.

Chương 2

CẤU TẠO VÀ HOẠT ĐỘNG CỦA GEN

Nghiên cứu về cấu tạo của gen là một vấn đề rất phức tạp, tuy nhiên các nhà nghiên cứu đã thu được nhiều thành tựu, thành công lớn nhất là đã lập được bản đồ gen của người, cây lúa, cây ngô, cây khoai tây, . . . Nghiên cứu cấu tạo của gen đã khó, nghiên cứu để hiểu rõ hoạt động của các gen lại càng khó khăn phức tạp hơn nhiều, vì chúng ta chỉ có thể biết được các hoạt động của nó thông qua những sản phẩm của các quá trình sinh hoá. Các hoạt động của gen là khâu quan trọng để chúng ta tìm hiểu quá trình sinh trưởng, phát triển của sinh vật.

2.1. Cấu tạo của gen

Một trong những nhiệm vụ quan trọng của di truyền học là làm sáng tỏ cấu tạo của gen và cơ chế hoạt động của chúng.

2.1.1. Các quan niệm về gen

Trong giai đoạn đầu của sự phát triển của di truyền học, G. Mendel chưa hiểu biết gì về gen, nhưng ông cũng đã cho rằng có các yếu tố di truyền nằm trong tế bào điều khiển sự hình thành tính trạng.

Giai đoạn thứ hai, G. Morgan (năm 1911) và các nhà di truyền học khác đã xem gen là một đoạn nhiễm sắc thể, là một đơn vị di truyền không thể phân chia.

Giai đoạn thứ ba, G. Muller, N. Kcorcov và một số nhà nghiên cứu khác đã đưa ra giả thuyết: Gen là một phân tử protein-enzym đặc biệt có khả năng sinh sản bằng cách tự tái bản. Giả thiết này đã được ủng hộ một thời và đã được các nhà di truyền công nhận. Một sự kiện tương như là chắc chắn cho giả thiết đó là sự tổng hợp protein trong tế bào sống được xác định bởi protein-enzym. Song về sau những nghiên cứu về cấu trúc của protein đã xác nhận rằng protein không có khả năng tự tái bản mà chỉ có ADN mới có khả năng tái bản một cách chính xác để truyền đạt thông tin cho các thế hệ tế bào sau. Nguyên lý bổ sung gốc (A-T, G-X) theo suốt chiều dài của 2 mạch polynucleotit trong chuỗi ADN xoắn kép nói lên khả năng tự nhân đôi chính xác của nó. Vì vậy, ADN kiểm tra chặt chẽ sự hình thành các phân tử protein-enzym tương ứng và như vậy nó ảnh hưởng đến trao đổi chất và hình thành các tính trạng hình thái trong quá trình phát triển của cơ thể.

Nghiên cứu của Beadle và Tatum (1941) trên đối tượng là nấm *Neurospora crassa* đã đưa ra giả thuyết: Một gen-một enzym, nội dung giả thuyết gồm những điểm như sau:

1. Vai trò của gen trong quá trình phát triển cá thể là kiểm soát những phản ứng nhất định của quá trình trao đổi chất bên trong tế bào.

2. Mỗi gen chỉ gây ra phản ứng sinh hoá học rất xác định (tỷ lệ 1 gen-1 phản ứng).

3. Trong trường hợp gen bị biến đổi sẽ mất khả năng quy định sự hình thành protein-enzym, tức là tế bào mất khả năng thực hiện phản ứng

hoá sinh do gen quy định. Nếu phản ứng đó là quan trọng thì có thể sẽ gây chết cơ thể.

Giả thiết này về sau gặp phải khó khăn khi nghiên cứu di truyền trên nấm và vi khuẩn, vì người ta nhận thấy bên cạnh các gen bình thường quy định sự hình thành các protein-enzym tham gia tích cực vào trao đổi chất, còn tìm thấy các gen không quy định tạo thành các protein-enzym (các gen trợ-các gen không tham gia mã hoá) để tạo ra các phản ứng sinh hoá khác nhau của trao đổi chất trong tế bào. Các gen này điều khiển đóng mở hoạt động tích cực của các gen bình thường và được gọi là các gen điều chỉnh.

Những vướng mắc trên sau này đã được giải quyết khi các nhà di truyền học đi sâu vào nghiên cứu cấu trúc tinh vi của gen.

2.1.2. Cấu trúc tinh vi của gen

Năm 1952 khi phân tích một số đột biến tử lượng ở nấm *Aspergillus nidulans*, Pontecorvo đã đưa ra giả thuyết là trong giới hạn của một gen có nhiều đoạn (site) đột biến và sự biến đổi của các đoạn này của gen đã dẫn đến xuất hiện đột biến.

Khi nghiên cứu đột biến của gen Scute trên nhện sắc thể sinh dục đực của ruồi giấm, người ta đã thấy gen này ảnh hưởng đến sự phát triển của lông cứng ở ruồi giấm. Các nhà nghiên cứu đã xác định được một loạt 12 dạng khác nhau của tính trạng này, tạo thành một dãy nhiều alen khác nhau ở trạng thái đồng hợp tạp giao với nhau, những cá thể dị hợp sinh ra trên thân có những phần có lông cứng và những phần không có lông cứng, các lông đó đã bị thoái hoá ở những cá thể đồng hợp.

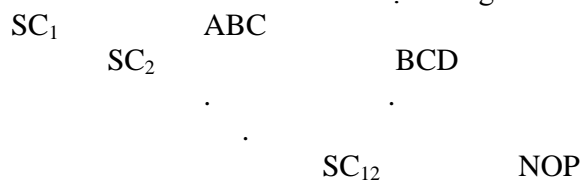
Ví dụ:

$$\frac{SC_1}{SC_1} \times \frac{SC_2}{SC_2}$$

$$\downarrow$$

$$\frac{SC_1}{SC_2}$$

Như vậy giữa các alen cũng có hiện tượng trội, nếu giả sử SC_1 gây thoái hoá lông cứng ABC và SC_2 gây thoái hoá lông cứng BCD thì những cá thể dị hợp SC_1SC_2 sẽ không có lông cứng BC mà có lông cứng AD. Trường hợp này nói lên đặc tính của phần mà ở đó chứa các alen đột biến khác nhau. Các dạng đột biến khác nhau của gen Scute, nếu chúng lần lượt tổ hợp với nhau đều có biểu hiện theo quy luật chung. Quy luật này khi biểu diễn bằng đồ thị, chúng sẽ có tính chất bậc thang:



Tính chất phức tạp của gen được mô tả như trên được gọi là Bazigen. Về sau tính chất này của gen còn được nghiên cứu nhiều qua sự tiếp hợp, chuyển hoá chất di truyền trên vi khuẩn. Trên cơ sở đó người ta cho rằng: Sự trao đổi vật chất di truyền không chỉ xảy ra giữa các gen với nhau mà còn xảy ra giữa các phần nhỏ trong gen.

Năm 1953, sau khi Watson và Cric đưa ra mô hình không gian của phân tử ADN, Benzer (Mỹ) nghiên cứu ở thực khuẩn T₄ trên đoạn rII có chứa 2 gen xistron gọi là A và B. Tác giả đã dùng tia X để gây đột biến nhân tạo và đã thiết lập được bản đồ cho 2.400 thể đột biến sắp xếp trong 308 site, trong đó có 200 site ở xistron A và 108 xistron B. Ông đã kiểm tra khoảng cách giữa các site và đã xác định được khoảng cách nhỏ nhất giữa chúng bằng 2 đôi nucleotit. Do đó Benzer đề nghị không nên quan niệm gen là một đơn vị di truyền nhỏ nhất và thay vào đó bằng 3 khái niệm:

- Xistron là một đơn vị chức năng của nhiễm sắc thể tương ứng với đoạn phân tử ADN kiểm soát sự hình thành protein-enzym rất xác định, kích thước là 600 nucleotit.

- Recon là đơn vị tái tổ hợp nhỏ nhất (nó có thể trao đổi cho nhau trong phân bào giảm nhiễm, nhưng không thể phân chia khi tái tổ hợp di truyền, kích thước không quá 2 nucleotit).

- Muton là đơn vị đột biến điểm, là đoạn nhỏ nhất của phân tử ADN mà những biến đổi của nó có thể dẫn đến làm xuất hiện đột biến và kích thước có thể chỉ tương ứng với 1 đôi nucleotit.

Năm 1956, Dubinin nghiên cứu về vai trò của gen tổng hợp protit đã xác định rằng: Gen kiểm tra sự tổng hợp một loại protein có khoảng 600 nucleotit.

Levin (1959) phát hiện thấy gen mã hoá cho sự tổng hợp enzym photphataza ở *E. Coli* có khoảng 200 nucleotit. Rõ ràng, với khoảng cách giữa 2 nucleotit là 3,4⁰Å, thì chiều dài của gen này là 0,68 µK.

2.1.3. Cấu trúc của gen ở sinh vật nhân chuẩn

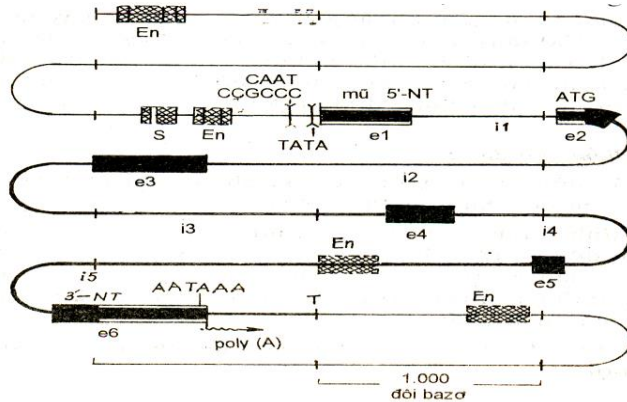
Những hiểu biết về cấu trúc tinh vi và biểu hiện của gen dừng lại ở sinh vật nhân sơ. Sau cuộc cách mạng về các phương pháp nghiên cứu trong di truyền phân tử từ thập niên 70 (thế kỷ XX), nhiều vấn đề về cấu trúc và hoạt động của gen ở sinh vật nhân chuẩn ngày càng được làm sáng tỏ.

2.1.3.1. Cấu trúc exon và intron của gen

Cấu trúc không liên tục của gen lần đầu tiên được phát hiện từ những nghiên cứu về bộ máy di truyền của dạng virus chứa ADN có thể là Adenovirus-2 (ADN của chúng dài khoảng 36.000 đôi bazơ). Khi nghiên cứu chi tiết về sản phẩm sao mã của chuỗi ADN muộn (sao mã của đoạn này xảy ra ở giai đoạn cuối của sự lây nhiễm virus) nhóm tác giả ở phòng thí nghiệm của Cold Spring Harbor (1977) đã phát hiện thấy rằng, độ dài của mạch mARN tham gia vào dịch mã ngắn hơn nhiều so với mạch mARN sao ra theo khuôn của chuỗi ADN muộn (L-ADN). Phương pháp lai phân tử cho phép ghép mARN dịch mã với L-ADN đơn. Kết quả cho thấy mARN tạo thể lai (bổ sung gốc) không tương ứng trên

toàn mạch L-ADN, mà chỉ xảy ra ở 4 giai đoạn: Một đoạn đầu kéo dài hơn (đoạn dẫn đường) và 3 đoạn ngắn tiếp theo. Những đoạn dư ra của L-ADN tạo nên những giải uốn.

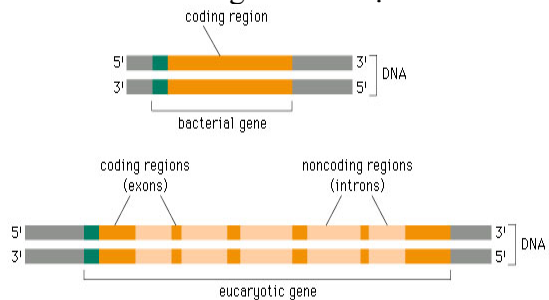
Kết quả trên cho thấy, để hình thành mRNA tham gia vào dịch mã, chỉ có thể bằng con đường cắt bỏ các đoạn mRNA sao từ gen.



Hình 2.1. Sơ đồ cấu trúc một gen ở sinh vật nhân chuẩn. Gen cấu tạo từ 6 exon (e) và 5 intron (i), có các enhancer (En) và silencer (S), những vạch ngang thẫm bên trong ô là chỉ những tâm trục. Những khả năng định vị khác nhau của những yếu tố điều hoà: Trước gen (gần, xa), sau gen và trong gen (ở vùng intron). T-vùng kết thúc.

Như vậy, cấu trúc của gen phân tích thành các đoạn gồm: Những đoạn không mã hoá (cắt bỏ) và những đoạn mã hoá (giữ lại ở mRNA để dịch mã). Nói cách khác, cấu trúc của gen bao gồm những đoạn trơ không mã hoá-được gọi là các *intron*, chúng xen kẽ với những đoạn mã hoá-được gọi là *exon*. Cấu trúc này còn gọi là cấu trúc không liên tục hay cấu trúc khảm gen. Nó đã trở thành cơ sở để nghiên cứu cấu trúc của gen ở sinh vật nhân chuẩn.

Ở sinh vật nhân chuẩn, những kết quả đầu tiên thu được là sự xác định cấu trúc của gen γ -globin ở chuột và gen ovalbumin ở gà. Các nghiên cứu đều khẳng định rằng, độ dài của mRNA dịch mã ngắn hơn nhiều so với bản mRNA sao ra từ gen đó (gọi là mRNA sơ cấp). Gen γ -globin ở động vật có vú có độ dài khoảng 1.500 đôi bazơ, cấu tạo từ 3 exon và 2 intron. Độ dài của exon là khoảng 600 đôi bazơ. Phần intron chiếm tỷ lệ lớn, chúng được cắt bỏ ở quá trình thành thực hoá mRNA sơ cấp. Gen ovalbumin ở gà cấu tạo từ 8 exon và 7 intron.



Hình 2.2. Các gen exon và intron trên ADN của sinh vật nhân sơ và nhân chuẩn

Gen γ -globin ở động vật có vú có độ dài khoảng 1.500 đôi bazơ, cấu tạo từ 3 exon và 2 intron. Độ dài của exon là khoảng 600 đôi bazơ. Phần intron chiếm tỷ lệ lớn, chúng được cắt bỏ ở quá trình thành thực hoá mRNA sơ cấp. Gen ovalbumin ở gà cấu tạo từ 8 exon và 7 intron.

Nhiều nghiên cứu cho thấy, số lượng các exon và intron ở gen của sinh vật nhân chuẩn rất khác nhau. Một gen lớn như gen kolagen ở gà có cấu trúc phức tạp, dài tới 40.000 đôi bazơ, bao gồm một số lượng kỷ lục: 50 exon và 50 intron. Cấu trúc exon và intron là kiểu cấu trúc phổ biến của các gen ở sinh vật nhân chuẩn. Tuy nhiên, người ta cũng đã quan sát thấy một số trường hợp ngoại lệ, đó là các gen histon và gen interferon.

2.1.3.2. Những đặc điểm cơ bản của cấu trúc exon-intron

- Ở các gen khác nhau số lượng intron dao động rất lớn, có thể từ một tới vài chục (kỷ lục tới 50 như ở gen kolagen ở gà).

- Độ dài của các intron và exon rất khác nhau. Có exon gồm 45÷54 đôi bazơ. Đôi khi có intron chỉ bao gồm vài chục đôi bazơ, song trong nhiều trường hợp như các gen ở ruồi dấm có intron dài tới vài chục ngàn đôi bazơ. Như vậy độ dài của các intron có biên độ rất lớn.

- Các gen gần giống nhau (cùng nguồn gốc) của một loài có các intron ổn định về vị trí, các gen cùng loại ở các loài khác nhau cũng có tính chất tương tự.

- Ở đa số các gen, độ dài của intron chiếm tỷ lệ lớn hơn nhiều so với độ dài của các exon. Các đột biến xảy ra ở trong từng vùng intron là thường xuyên hơn, về cơ bản các đột biến này không hoặc rất ít ảnh hưởng tới chức năng của gen intron như những "cái bẫy" đột biến.

- Vùng giáp nối giữa exon và intron được đặc trưng bằng các trật tự nucleotit gọi là đoạn giáp nối, ở đoạn giáp nối thường phát hiện thấy các trật tự



Đoạn này có vai trò quan trọng trong sự cắt bỏ các intron và nối với các exon lại, vì thế nó có tên gọi là trật tự cắt ghép (trật tự splicing). Đột biến xảy ra ở vùng giáp nối có thể dẫn tới sự không cắt được các intron hay cắt sai, do đó không thu được mRNA thành thực thể sao mã.

Nhiều nghiên cứu về γ -globin cho thấy, đột biến xảy ra ở vùng giáp ranh nối giữa intron và exon có thể gây hậu quả nghiêm trọng—đó là bệnh gây thiếu hụt nghiêm trọng γ -globin. Các phân tích chi tiết tiếp theo đã phát hiện thấy một số sự thay thế thành phần nucleotit ở vùng giáp nối giữa exon và intron, dẫn tới sự tách ghép của gen bị mất hoạt tính. Nếu như sự tách ghép xảy ra ở vùng nào đó bên trong intron (có trật tự bazơ tương tự như trật tự tách ghép), thì khi đó mRNA bị sai lệch so với bình thường, không đảm bảo cho sự dịch mồi để tổng hợp γ -globin có hoạt tính.

2.1.4. Sự thành thực của mRNA sơ cấp

Ở tế bào nhân chuẩn có 3 loại ARN-polymerase, ký hiệu là I, II, III. Chúng chịu trách nhiệm sao chép các dạng ARN khác nhau.

ARN-polymeraza II chịu trách nhiệm tổng hợp tất cả các mRNA (sao mã từ các gen có cấu trúc không liên tục như đã trình bày ở trên). Các ARN sơ cấp do ARN-polymeraza II sao ra phải trải qua nhiều quá trình

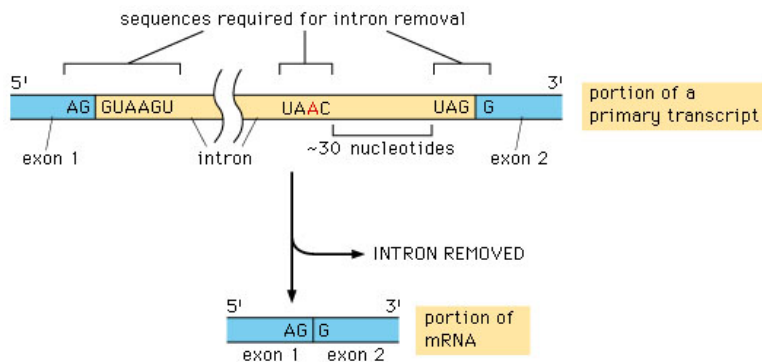
biến đổi trong cấu trúc của nó mới có thể trở thành ARN thành thực để tiến hành dịch mã ở riboxom. Đó là những quá trình như sau:

1. Ở đầu 5' của gen có trật tự ADN đặc biệt gọi là điểm tạo mũ (capping). Sự sao mã bắt đầu từ điểm này, mở ra từ đầu 5' của mARN. Ở đầu 5' của ARN xảy ra phản ứng tạo mũ, đó là 2 phản ứng methyl hoá ở vị trí 7 của Guanozin và vị trí 2' của đường ribose. Nhờ có phản ứng tạo mũ ở đầu 5', mARN mới có thể đi tới và nhận biết các riboxom, sự khởi đầu dịch mã được xảy ra.

2. Ở cuối gen (đầu 3') có trật tự ADN gọi là điểm polydenozin hoá (gọi tắt là poly-A hoá). Khi ARN-polymeraza II trượt qua điểm poly-A hoá, nó vẫn tiếp tục chuyển dịch và mARN được kéo dài thêm tới hàng trăm bazơ. Tuy nhiên, ngay sau đó đoạn sau điểm poly-A được cắt bỏ. Ở đầu 3' của mARN sơ cấp xảy ra phản ứng poly-A hoá để nối chuỗi poly-A (có thể kéo dài tới 200 gốc A) vào mARN, nhờ một protein liên kết với chuỗi poly-A. Chuỗi poly-A có vai trò trong việc đẩy mARN qua lỗ màng nhân để ra tế bào chất. Trừ một số trường hợp ngoại lệ, như mARN của histon không chứa chuỗi poly-A.

3. Khi mARN sơ cấp có tín hiệu đi ra tế bào chất, ở nó xảy ra quá trình cắt bỏ các intron và ghép nối các đoạn exon lại với nhau, quá trình này gọi là sự tách ghép (splicing). Cơ chế của nó diễn ra như sau:

- Ở 2 đầu của mỗi intron (gần sát điểm giáp nối) đều có 2 nucleotit ổn định (5') GU . . . AC (3') gọi là các trật tự chuẩn. Một số ARN nhỏ ở nhân (snARN) có chứa 2 nucleotit bổ sung với các trình tự chuẩn ở intron. Các ARN nhỏ này phối hợp với enzym tách ghép tạo thành phức hợp có hoạt tính xúc tác cho sự tách ghép gọi là ribonucleotit (snARN) hay ribonuclease-P-snARN.



Hình 2.3. Sự cắt bỏ các intron và ghép nối các exon trong quá trình thành thực hóa

- Đoạn intron uốn lại hình vòng tròn sự tương tác của nó với snARN theo các trật tự bổ sung. Thông qua cấu trúc hình uốn vòng này mà enzym tách ghép thực hiện việc cắt bỏ intron và nối các exon lại với nhau.

Ngoài ra, các nhóm sinh vật (ngay cả ở sinh vật bậc cao), quá trình tách ghép ở mARN sơ cấp có thể xảy ra do sự xúc tác của chính phân tử mARN mà không có sự tham gia của các protein-enzym khác. Quá trình

này gọi là tự tách ghép (self-splicing). Phân tử ARN có hoạt tính xúc tác gọi là ribozym.

Như vậy, mARN thu được ở bào chất đó qua một loạt biến đổi. Toàn bộ những quá trình vừa nêu ở trên xảy ra đối với mARN sơ cấp có tên gọi là quá trình thành thực hoá mARN sơ cấp. Kết quả tạo thành mARN thành thực hay mARN dịch mã để tổng hợp protein ở riboxom.

Nhiều nghiên cứu đã phát hiện ra rằng mARN được sao ra trong nhân tế bào được cuộn vào các hạt infortatin. Hạt này có hằng số lắng đọng 30S, cấu trúc từ khoảng vài chục phân tử ribonucleoprotein dạng hạt (phân tử dạng hạt này có tên gọi là infortatin). Phân tử mARN có cấu trúc cuộn vào chuỗi hạt có thể tồn tại trong nhân tế bào trong những khoảng thời gian khác nhau (có thể rất lâu). Khi còn ở trạng thái mARN sơ cấp xảy ra quá trình thành thực hoá và chuyển ra tế bào chất, nó sẽ được tháo ra khỏi các hạt infortimer. Các hạt này có thể tiếp tục đi vào chu kỳ tiếp theo đối với mARN sơ cấp.

Sự tách ghép nảy sinh, ý nghĩa của cấu trúc exon và intron của gen

Ở một gen, quá trình tách ghép mARN sơ cấp có thể xảy ra theo nhiều cách, kết quả hình thành nhiều dạng mARN thành thực khác nhau, gọi là sự tách ghép nảy sinh.

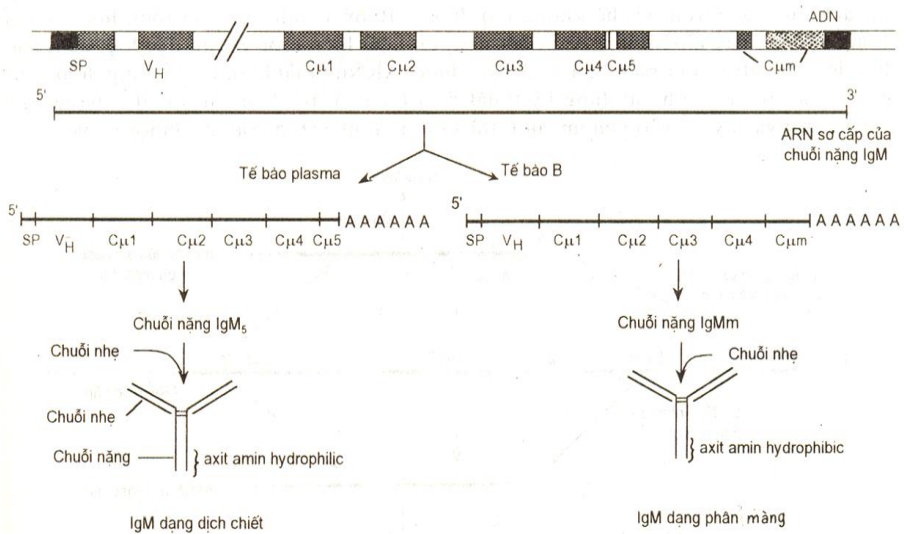
Ở virus sv40 (một loại virus gây bệnh ở khỉ), đoạn ADN hoạt động sớm của nó sao mã cho mARN sơ cấp, mARN sơ cấp này xảy ra 2 kiểu tách ghép: Kiểu (1) tạo mARN thành thực kiểm tra tổng hợp protein T-antigen lớn (T), kiểu (2) protein T-antigen nhỏ (t). T antigen: Antigen virus gây khối u. Ở Adenovirus-2 cũng đã phát hiện ra nhiều kiểu tách ghép nảy sinh khác. Như vậy, từ một mARN sơ cấp (sao mã từ một đoạn ADN), thông qua nhiều kiểu tách ghép, đã hình thành nên nhiều dạng mARN thành thực khác nhau. Qua đây cho thấy, virus sử dụng tiết kiệm ADN.

Đối với sinh vật nhân chuẩn, ở đa số các gen thường chỉ xảy ra một kiểu tách ghép. Sự tách ghép xảy ra không nhiều. Tuy nhiên, sự kiện này có ý nghĩa lớn trong sự đa dạng các sản phẩm và điều hoà sự biểu hiện của gen. Dưới đây là một số dẫn chứng minh hoạ:

1. Immunnoglobulin (IgM) là một protein lớn, cấu tạo từ 4 chuỗi polypeptit, gồm 2 chuỗi nặng và 2 chuỗi nhẹ. Ở giai đoạn phát triển của tế bào B (một dạng tế bào của hệ thống miễn dịch). IgM tồn tại ở dạng phân màng. Ở giai đoạn phát triển sau, khi tế bào B phân hoá thành tế bào plasma, IgM tồn tại như dạng dịch chiết trong tế bào. Gen kiểm tra chuỗi nặng của IgM tạo từ exon: SP (peptit dẫn đường) V_H , $C_{\mu 1}$, $C_{\mu 2}$, $C_{\mu 3}$, $C_{\mu 4}$ và C_{μ} ?. Sản phẩm sao mã của gen là mARN sơ cấp được tách ghép theo 2 kiểu khác nhau ở tế bào B và tế bào plasma. Ở tế bào B, mARN thành thực không chứa exon $C_{\mu 5}$, ở tế bào plasma không chứa tế bào C_{μ} . Từ đó, chuỗi nặng IgM ở 2 dạng tế bào này khác nhau theo thành phần a.a ở đoạn cuối của chuỗi (Hình 2.4).

Như vậy, các tế bào ở các giai đoạn phát triển khác nhau có chứa sản phẩm sai khác do một gen kiểm tra phù hợp với chức năng hoạt động của

nó. Sự sai khác của sản phẩm này không do đột biến gen gây nên, mà do quá trình tách ghép biến đổi ở mRNA sơ cấp tạo ra.



Hình 2.4. Sơ đồ về sự tách ghép nảy sinh ở mRNA chuỗi nặng của immunoglobulin (IgM), dẫn tới hình thành IgM phân màng và IgM chiết. Chuỗi nặng IgM ở tế bào B có chứa các a.a hydrophobic (do exon $C_{\mu m}$ mã hoá). Chuỗi nặng IgM ở tế bào plasma chứa các a.a hydrophilic (do exon $C_{\mu 5}$ mã hoá).

2. Gen α -amilase ở chuột cống chứa 4 exon, gồm 2 exon dẫn đường (L, S) và tiếp theo là 2 exon 2 và 3 mã hoá protein α -amilase. Đã phát hiện ra sự tách ghép mRNA sơ cấp xảy ra khác nhau ở tế bào gan và tế bào tuyến nước bọt. Ở gan 2 exon 2 và 3 được nối với exon dẫn đường L, còn ở tế bào tuyến nước bọt exon 2 và 3 được nối với exon dẫn đường S (Hình 2.5). Cách thay đổi tách ghép dẫn tới tốc độ dịch mã khác nhau của các mRNA thành thực ở 2 dạng tế bào. Điều này nói lên ý nghĩa của sự tách ghép nảy sinh trong điều hoà hoạt động gen ở mức dịch mã.

3. Một ví dụ rõ nét về ý nghĩa điều hoà hoạt động gen của sự tách ghép nảy sinh có thể tìm thấy ở trường hợp xảy ra đối với gen kiểm soát enzym transposase ở yếu tố di truyền di động P trong genôm của ruồi giấm, enzym này kiểm tra sự nhảy của yếu tố P. Các kết quả phân tích cho thấy gen kiểm tra enzym này có 4 exon và 3 intron. Ở các tế bào thân bình thường chỉ tách được 2 intron, vì thế không tạo được mRNA thực thụ, việc tổng hợp enzym không xảy ra. Tuy nhiên ở tế bào phôi non, do xuất hiện một yếu tố đặc hiệu bảo đảm cho việc cắt intron thứ 3, kết quả thu được mRNA thành thực để tổng hợp nên enzym transposase. Khi sử dụng kỹ thuật di truyền cắt bỏ đoạn intron thứ 3 của gen transposase và cấy nó vào genôm của ruồi giấm, thì sự tổng hợp enzym xảy ra ở mọi tế bào.

Có thể xuất hiện câu hỏi: Vì sao cấu trúc exon-intron mang tính chất phổ biến ở các gen của sinh vật nhân chuẩn? (cấu trúc này không phát hiện thấy ở vi khuẩn và sinh vật nhân sơ). Bên cạnh ý nghĩa về tạo nên sự đa

dạng sản phẩm và điều hoà sự biểu hiện của gen thông qua sự tách ghép ở mARN sơ cấp như vừa trình bày ở trên, nhiều dẫn chứng khác có thể gợi ý một giả thiết rằng: Tính chất cấu trúc không liên tục, nhiều thành phần của gen có ý nghĩa trong tiến hoá hình thành những gen mới. Nhiều gen phức tạp có thể xuất hiện và đa dạng của các protein ở sinh vật bậc cao. Các protein lớn thường cấu tạo từ nhiều tiểu phần (các domen). Tính chất nhiều tiểu phần của protein có thể liên quan với cấu trúc nhiều exon ở gen.

2.2. Tổ chức các gen ở genom

2.2.1. Các gen đơn bản và các gia đình gen

Như đã trình bày ở chương trước, ở sinh vật bậc cao một gen trong hệ thống operon gồm các thành phần: (1) Thành phần sao mã cho ra mARN sơ cấp, bao gồm các exon, intron, vùng kết thúc sao mã. (2) Các vùng tham gia vào quá trình điều hoà như promotor, enhancer, silencer, . . . Trong cấu trúc này, thành phần sao mã của gen có thể dễ dàng xác định được ranh giới (nó có thể được tính từ điểm khởi đầu sao mã tới điểm poly-A).

Thế nhưng khi xem xét toàn bộ khu vực của một gen (một gen "trọn vẹn"), bao gồm thành phần sao mã và tất cả những vùng điều hoà, thì việc xác định giới hạn của nó là khó khăn hơn nhiều.

Ở sợi nhiễm sắc thể của sinh vật nhân chuẩn bậc cao, ngay cả một gen "trọn vẹn" như nêu trên cũng không tổ chức nối tiếp ngay với một gen tiếp theo, mà nằm trong trật tự ADN không mang một chức năng rõ nét nào. Các gen trong genom có bức tranh tồn tại như những điểm nổi, xung quanh là những trật tự ADN không, hoặc chưa rõ chức năng. Nếu như gen chỉ tồn tại theo một bản ở bộ đơn bội nhiễm sắc thể, thì nó thuộc về nhóm gọi là các gen đơn bản.

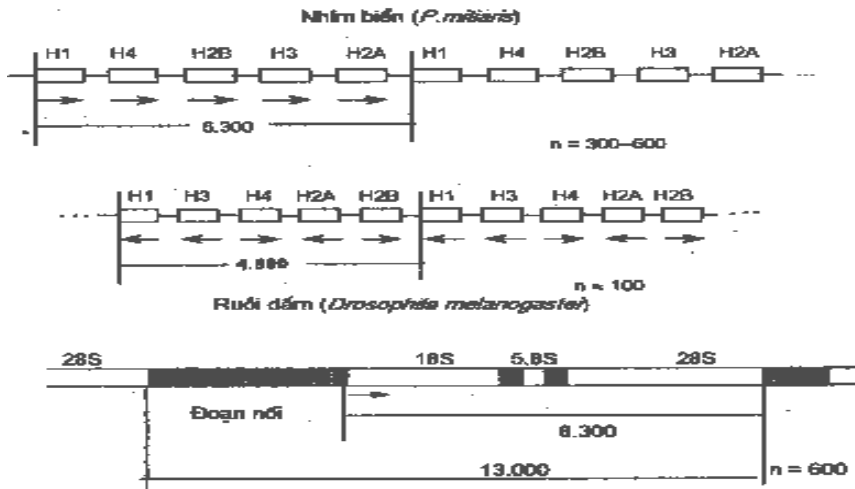
Tuy nhiên, ở sinh vật nhân chuẩn bậc cao, hiện tượng phổ biến hơn là các gen tồn tại không theo một bản mà theo nhiều bản, tạo nên gia đình gen. Gia đình gen là tập hợp bao gồm những gen giống nhau, thực hiện các chức năng tương tự, tức là mã hoá những protein nguồn gốc giống nhau.

Người ta đó phân biệt ra một số kiểu tổ chức gia đình gen sau đây:

1. *Kiểu thứ nhất*: Các gen lặp lại liên tục kế tiếp nhau. Đây là trường hợp các gen có cấu trúc giống, mã hoá một sản phẩm giống nhau được lặp lại nhiều lần. Nhóm này bao gồm các gen ARN riboxom, 5S ARN, các gen histon và một số gen khác.

Ví dụ, các gen histon, ở một đoạn nhiễm sắc thể nào đó có số bản gen lặp lại tới hàng chục lần, có khi tới hàng trăm lần. Đơn vị lặp lại là một cụm gồm 5 bản ứng với 5 dạng histon H₁, H₂A, H₂B, H₃, H₄ (Hình 2.6). Giữa các cụm là tiếp nối, ở đó chứa các yếu tố điều hoà. Đơn vị lặp của gen tARN gồm phần sao mã và đoạn nối.

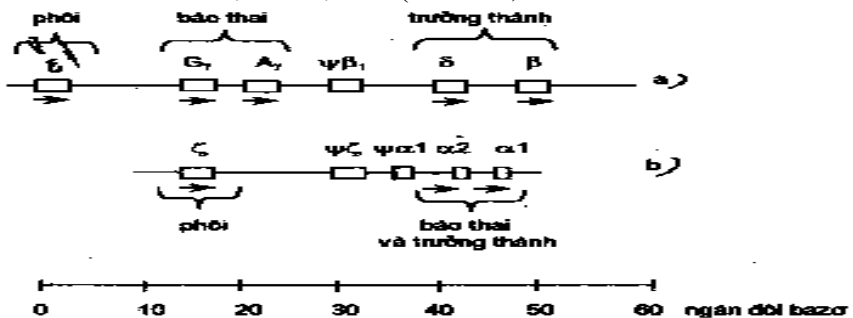
Một gen rARN sao ra cho một rARN tiền thân (sơ cấp), sau đó được cắt thành 3 loại phân tử: rARN, 18S, 5.8S, rARN 28S; chúng tham gia vào thành phần cấu trúc của riboxom. Các bản gen rARN tập trung nhiều ở một số vùng của nhiễm sắc thể trong genom, thường có nhiều ở vùng tổ chức tiểu hạch, ở locus bobbed (bb) nằm ở nhiễm sắc thể X và Y của ruồi giấm có thể tập trung tới 130 bản gen rARN.



Hình 2.5. Sơ đồ về kiểu lặp liên tục những bản gen giống nhau.

a) Các gen histon ở nhóm biển và ruồi, b) Gen tARN ở cóc *Xenopus laevis*
n: Số bản lặp ở genom. Các mũi tên chỉ hướng sao mã.

2. **Kiểu gia đình gen thứ 2**, trong đó các thành viên gen nằm gần nhau theo một khối ở một khu vực nào đó của genom, nhưng không tạo nên các đơn vị lặp lại đồng nhất như kiểu một. Đây là một kiểu tổ chức gia đình gen rất phổ biến. Ở Hình 2.6 dẫn ra một số ví dụ. Các gen γ -globin ở người gồm 7 thành viên, chúng tập trung tại một khu vực chiếm khoảng 80.000 đôi bazơ của nhiễm sắc thể thứ 11. Các thành viên gia đình gen này có khác nhau đôi chút và được ký hiệu là ω , γ^A , γ^B , δ và β -là 5 bản gen hoạt động ở những giai đoạn phát triển khác nhau. Hai bản gen ϵ , β bị bất hoạt hoá (do đột biến), chúng được gọi là các gen giả. Gia đình gen γ -globin nằm trên nhiễm sắc thể thứ 16, chiếm một khu vực rộng khoảng 37.000 đôi bazơ. Gia đình gen γ -globin gồm có 3 thành viên hoạt động ở các giai đoạn phát triển cá thể khác nhau và 2 thành viên bị bất hoạt hoá (Hình 2.6).



Hình 2.6. Sơ đồ về tổ chức gia đình a) β -globin b) γ - globin gen ở người. Các mũi tên chỉ hướng sao mã

Trong quá trình tiến hoá, các thành viên của gia đình gen có thể được xuất hiện do sự nhân bản gen từ một bản ban đầu. Tiếp theo chúng được tiếp nhận những trật tự ADN điều hoà khác nhau, đảm bảo hướng cho chúng hoạt động ở những giai đoạn phát triển khác nhau của cá thể.

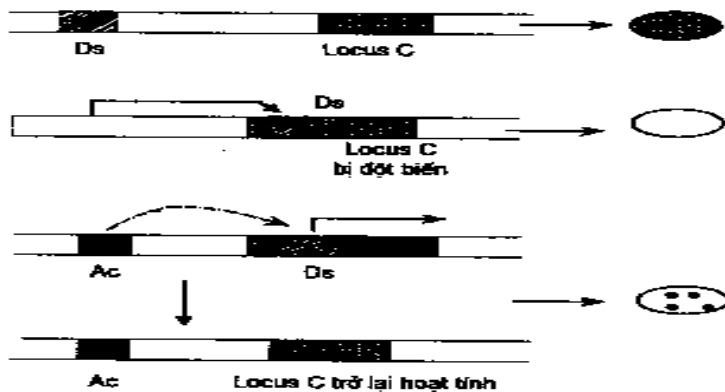
3. Kiểu gen gia đình thứ 3 có đặc điểm là các thành viên gia đình gen không tạo thành khối nằm liền nhau mà nằm phân tán, rải rác trong genom. Cơ chế xuất hiện loại lặp lại này có thể là: Ngay sau khi có sự nhân bản gen đó xảy ra quá trình chuyển đoạn, các gen được chuyển tới những chỗ mới. Ví dụ điển hình về kiểu gia đình gen này là các thành viên gen actin ở ruồi, chúng nằm rải rác trong khắp genom. Ở một số trường hợp, chúng có thể tồn tại theo kiểu cụm gia đình nhỏ gồm 2 thành viên gen, song đôi này nằm rải rác ở nhiều khu vực của genom.

Bên cạnh những gia đình gen nêu trên, còn tồn tại một kiểu gia đình gen rất lớn gọi là *siêu gia đình gen*. Trong trường hợp này, nhiều gia đình gen tạo thành một tập đoàn lớn tới hàng ngàn bản gen, chiếm một khu vực rất lớn của genom bao gồm tới hàng triệu đôi nucleotit. Ví dụ: Một siêu gia đình các gen immunoglobulin, bao gồm các gia đình sau: (1) Các gen immunoglobulin, (2) các gen kiểm tra sự dung hợp mô, (3) các gen kiểm tra các protein tiếp nhận ở tế bào kiểu 1 và các gen khác.

Qua những phân tích ở những phần trên cho ta thấy rằng, đặc điểm cấu trúc của gen cũng như kiểu tổ chức của các gen trong genom nói lên tính phức tạp, tính tổ chức tinh vi và thống nhất trong sự điều hành hoạt động của các gen ở góc độ định tính cũng như định lượng, diễn ra trong quá trình phát triển cơ thể sinh vật bậc cao.

2.2.2. Các yếu tố di truyền di động trong genom

Trong genom đã phát hiện ra sự chuyển dịch của những đơn vị vật chất di truyền từ vùng này qua vùng khác trên một nhiễm sắc thể hay giữa các nhiễm sắc thể. Hiện tượng này được gọi là sự chuyển vị (transposition), các yếu tố di truyền tham gia vào sự chuyển vị gọi là các yếu tố di truyền di động hay gọi là các yếu tố nhảy (các gen nhảy).



Hình 2.7. Sơ đồ diễn tả sự tác động của các yếu tố Ds và Ac tới sự hoạt động của locus C.

2.2.2.1. Sự phát hiện ra yếu tố di truyền di động

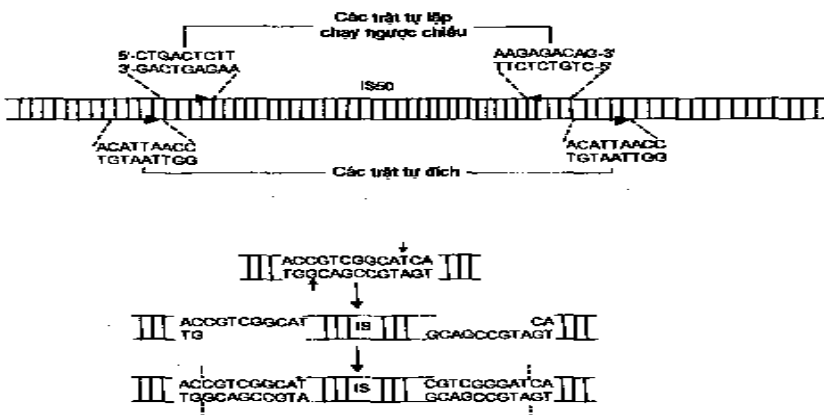
Lần đầu tiên, các yếu tố di truyền di động đã được B. Mc Clintock (1947) phát hiện ra khi nghiên cứu những biến động di truyền ảnh hưởng tới sự đứt nhiễm sắc thể ở ngô. Bà đã phát hiện ra một yếu tố di động-

locus Ds (yếu tố phân tán), ở đó dễ xảy ra sự đứt điểm nhiễm sắc thể. Tuy nhiên, hoạt tính di động của yếu tố Ds chỉ xuất hiện khi trong genom có mặt yếu tố di động thứ 2 có tên gọi là yếu tố hoạt động (ký hiệu là Ac).

Ở trong thí nghiệm bà B. Mc. Clintock đã sử dụng gen chỉ thị tăng aloron (của nội nhũ hạt) có màu do locus C nằm trên nhiễm sắc thể số IX kiểm tra (alen C-nội nhũ không màu). Khi yếu tố Ds nằm cạnh locus C, thì nó bị bất hoạt hoá ($C \rightarrow C^1$), không kiểm tra sự thể hiện màu-hạt không màu (C^1). Nếu trong kiểu gen có mặt yếu tố Ac, thì yếu tố Ds được chuyển dịch. Kết quả locus đột biến C^1 được khôi phục chức năng kiểm tra tăng aloron có màu (C). Vì thế ở dạng hạt không màu có kiểu gen $C^1/c/c$ (tế bào mô nội nhũ có kiểu nhân tam bội) xuất hiện dạng hạt có các vệt màu, do hình thành khối tế bào có kiểu $C/c/c$. Qua nhiều năm, bản chất phân tử của yếu tố di truyền di động chưa được làm sáng tỏ. Vào những năm đầu thập kỷ 80, nhờ những thành tựu trong lĩnh vực kỹ thuật di truyền đã tách và xác định được cấu trúc của yếu tố di truyền di động Ac, Ds và một số yếu tố di truyền di động khác ở ngô. Bên cạnh đó, đã xác định được nhiều yếu tố di truyền di động ở những đối tượng sinh vật khác.

2.2.2.2. Các yếu tố di truyền di động ở vi khuẩn

Người ta đã phát hiện ra những dạng đột biến đặc biệt (ví dụ, gen lac bị bất hoạt hoá ở cả gen cấu trúc của operon và một số gen khác) ở vi khuẩn. Những đột biến này có đặc điểm chung là ở cạnh chúng có đoạn ADN xen vào. Những đoạn ADN này được gọi là các đoạn xen-IS (insertion sequences).



Hình 2.8. Cấu trúc của đoạn xen (IS) và sự xen của nó

- a) Sơ đồ cấu trúc của IS50. Mũi tên chỉ 2 đoạn lặp ở 2 đầu mút chạy ngược chiều nhau. b) Sự xen kẽ của đoạn IS. Ở điểm đứt, sự đứt xảy ra trên 2 sợi của ADN theo kiểu zigzag. Sau khi xen kẽ, sự tổng hợp lấp chỗ trống xảy ra tạo nên 2 đoạn lặp.

Những đoạn xen có kích thước rất khác nhau, cấu trúc của chúng có những đặc điểm như sau:

- Ở hai đầu mút có trật tự bazơ giống hệt nhau, nhưng xếp ngược chiều nhau (Hình 2.8), có độ dài khoảng 9-40 đôi bazơ.
- Hầu hết các

đoạn IS chứa gen kiểm tra enzym transposase, enzym này kiểm tra sự di động của chúng.

- Ở trong đoạn IS có thể chứa những điểm khởi đầu và kết thúc dịch mã và chứa đoạn ADN gây tín hiệu kết thúc sao mã.

- Ở điểm xen kẽ của đoạn IS trên nhiễm sắc thể (điểm đích), ở 2 phía của nó đã phát hiện thấy 2 trật tự lặp lại có độ lớn 4÷9 đôi bazơ. Có như vậy là vì trong quá trình xen kẽ ở điểm đích xảy ra sự đứt theo kiểu ziczac trên 2 sợi của chuỗi xoắn kép ADN. Sau khi đoạn IS xen kẽ vào, xảy ra sự tổng hợp lấp chỗ trống, kết quả thu được 2 trật tự lặp lại ở 2 phía của đoạn lặp lại.

Ở vi khuẩn đã phát hiện ra nhiều yếu tố di động phức hợp, có cấu tạo từ 2 đoạn IS ở 2 đầu, đoạn ở giữa có kích thước khác nhau, mang một hay một số gen. Đó là các gen kháng các chất kháng sinh hay một số chất ức chế khác và kháng một số kim loại nặng, . . . Các yếu tố di động có vai trò quan trọng trong sự chống chịu (kháng thuốc) của vi khuẩn. Sự chuyển vị trí của các yếu tố di động diễn ra theo cơ chế tái tổ hợp. Đoạn di động được uốn vòng lại, cấu trúc ở 2 đầu nút tiếp hợp nhau, sau đó chúng được tách ra.

2.2.2.3. Các yếu tố di truyền di động ở sinh vật nhân chuẩn

Ở sinh vật nhân chuẩn đã phát hiện ra nhiều yếu tố di truyền di động ở những đối tượng nghiên cứu điển hình như nấm men, ruồi giấm, ngô, . . .

Ở ngô đã xác định được cấu trúc của các yếu tố di động Ac. Ds và một số yếu tố khác. Yếu tố Ds có kích thước 4563 đôi bazơ, chứa 2 gen chịu trách nhiệm về sự chuyển của nó. Yếu tố Ds-a và AC b hình thành do 2 kiểu mất đoạn từ Ac.

Yếu tố di động Ty-1 ở nấm men có độ dài 5.900 đôi bazơ, ở 2 đầu có 2 đoạn lặp ký hiệu là (φ) dài 3.400 đôi bazơ, chạy cùng chiều. Yếu tố Ty-1 chứa 2 gen: TyA mã hoá một protein cấu trúc. TyH mã hoá enzym tham gia vào sự sao chép ngược (ADN Ty-1 \rightarrow ARN Ty-1 \rightarrow ADN Ty-1) để tạo đoạn Ty-1 di động. Ngoài sao chép ngược, yếu tố Ty-1 còn di động theo cơ chế tái tổ hợp.

Yếu tố P ở ruồi giấm (2.907 đôi bazơ) chứa gen transposase kiểm tra sự di động của nó. Ngoài ra, ở ruồi đã nghiên cứu một số yếu tố di động khác như: Yếu tố copia (có độ dài 5.000 đôi bazơ), MDG-1 (6.500 đôi bazơ), MDG-3 (5.000 đôi bazơ).

• Sự chuyển vị của các yếu tố di động ở sinh vật nhân chuẩn xảy ra theo cơ chế sau:

- Yếu tố di động (transposon) được tách ra khỏi ADN cho để chuyển đến chỗ mới (ADN nhận) theo cơ chế tái tổ hợp tương đồng giữa hai trật tự ở hai đầu của nó.

- Theo cơ chế sao chép ngược: ADN của yếu tố di động sao ra thành ARN, từ đó nhờ enzym sao chép ngược tạo bản ADN của nó và chuyển tới chỗ mới. Cơ chế này giống như hoạt động của Retrovirus (một virus chứa ARN, trong lây nhiễm nó được sao chép ngược tạo thành ADN). Các yếu

tổ di động hoạt động theo cơ chế này (ví dụ, yếu tố Ty-1, P, copia, . . .) được gọi là Retrotransposon.

- Các yếu tố di động được tái bản (sự chuyển vị trí sao chép), tiếp theo là sự di động của chúng.

2.2.2.4. Yếu tố P và hiện tượng suy thoái di truyền ở con lai (hybridid dysgenesis)

Trong tự nhiên, người ta đã quan sát thấy rằng, số lượng yếu tố P ở genom ruồi giấm có biến động rất lớn giữa các dòng ruồi khác nhau. Ở một số dòng số lượng này đạt tới 50, trong khi đó các dòng khác chứa rất ít. Cho tới nay chưa rõ nguyên nhân gây ra sự sai khác này.

Ở những dòng ruồi chứa yếu tố P, có diễn ra những cơ chế điều hoà sự vận động của chúng, sự điều hoà này phụ thuộc vào đặc điểm của dạng bào chất (có tính chất di truyền theo mẹ) gọi là bào chất P. Dạng bào chất ức chế vận động của các yếu tố P ở nhân tế bào, ở những dòng ruồi khác đã phát hiện ra dạng bào chất không có hoạt tính ức chế sự vận động của yếu tố P, gọi là bào chất M.

Khi lai dạng bố có bào chất kiểu P với mẹ có bào chất kiểu M, thu được con có nhân mang nhiều yếu tố P và bào chất dạng mẹ M không ức chế sự vận động của yếu tố P. Ở con lai này xảy ra nhiều biến cố di truyền như: Tần số đột biến tăng mạnh, tăng tần số đứt các nhiễm sắc thể và tần số các kiểu biến loạn về cấu trúc nhiễm sắc thể, nhiều sự biến đổi trong phân ly tính trạng, giảm độ hữu thụ, cá biệt có thể gây ra sự phát triển trứng không bình thường làm cho con lai bất dục. Hiện tượng này được gọi là hiện tượng suy thoái di truyền (*hybridid dysgenesis*). Như vậy, sự tăng cường quá trình vận động của yếu tố P đó gây ra nhiều rối loạn nguy hại cho bộ máy di truyền. Cần nhấn mạnh rằng, sự vận động của yếu tố P chỉ xảy ra ở những tế bào phôi. Ở những tế bào thân (soma) bình thường, sự vận động này rất hiếm khi xảy ra.

2.2.3.5. Ý nghĩa của các yếu tố di truyền di động

Các yếu tố di truyền di động có nhiều ý nghĩa đối với cơ thể sinh vật và ý nghĩa ứng dụng trong nghiên cứu di truyền.

- Khi yếu tố di động xen vào gen nào đó sẽ làm cho gen bị bất hoạt (bị đột biến), khi nó rời đi (tần số thấp) gen sẽ được khôi phục lại chức năng hoạt động bình thường. Như vậy, một số yếu tố đột biến thuận nghịch xảy ra dưới sự kiểm soát của yếu tố di động.

- Các yếu tố di động có thể gây ra sự đứt các nhiễm sắc thể. Ví dụ điển hình ở đây là hoạt động của yếu tố Ds (ở ngô) và yếu tố P (ở ruồi). Sự đứt nhiễm sắc thể có thể kéo theo hậu quả về sự sắp xếp lại các đoạn nhiễm sắc thể (có thể dẫn tới việc tạo ra một số cải biến về cấu trúc của nhiễm sắc thể).

Trong nhiều trường hợp, các yếu tố di động có thể là vật thể trung gian của sự tái tổ hợp ADN, có vai trò trong sự lắp ghép các gen ở nhiễm sắc thể. Tức là chúng có ý nghĩa ứng dụng trong chuyển nạp gen. Từ những sự kiện trên có thể gợi ý rằng, các yếu tố di động có thể có vai trò

quan trọng trong sự tiến hoá về cấu trúc nhiễm sắc thể (liên quan tới sự sắp xếp các gen, các nhóm-khối gen trên nhiễm sắc thể).

- Sự vận động của các yếu tố di động có thể được kích thích. Từ đó gây nên sự tăng tần số đột biến tự nhiên của gen. Ở đây gen bị đột biến là do có yếu tố di động xen vào, nếu nó được đánh dấu (bằng phương pháp đồng vị phóng xạ), ta có thể phát hiện được vị trí của gen nghiên cứu trên nhiễm sắc thể. Phương pháp phát hiện này gọi là gen đột biến được "đeo thẻ" nhờ yếu tố di động.

- Có thể xảy ra trường hợp là, khi yếu tố di động chuyển đến vị trí nào đó của nhiễm sắc thể, nó sẽ gây ra hiệu quả kích thích hoạt động của các gen cạnh vùng đó. Có thể do yếu tố di động cung cấp thêm một số thành phần điều hoà, giúp cho gen tăng cường sao mã.

Thông thường, sự vận động của các yếu tố di động xảy ra với tần số rất thấp. Sự tăng tần số vận động của chúng có thể liên quan tới giá trị thích ứng của cơ thể. Ở vi khuẩn, khi có tác động của các chất kháng sinh, sự hoạt động của các yếu tố di động được tăng lên rõ rệt. Người ta đã quan sát thấy ở ngô trong điều kiện bất lợi (stress), hoạt động của các yếu tố di động tăng lên. Một dòng ruồi đặc biệt được tạo ra sau một quá trình chọn lọc lâu dài (500 thế hệ) theo hướng giảm sức sống của cơ thể, giảm độ hữu dục (đực), đã quan sát thấy ở dòng ruồi này sự vận động của các yếu tố di động MDG tăng lên mạnh.

Người ta đã biết rằng, các yếu tố di động có thể tự tái bản để lan truyền trong genom của tế bào. Ở góc độ nào đó, có thể coi các yếu tố di động như yếu tố "ký sinh" ở genom, sử dụng bộ máy tái bản của tế bào chủ.

Có thể xuất hiện câu hỏi: Các yếu tố di động phát sinh từ đâu? Vấn đề này có một số ý kiến hoàn toàn mang tính chất giả thiết. Có ý kiến cho rằng các yếu tố di động có thể xuất hiện từ sự biến đổi hệ gen mã hoá enzym tham gia vào sự phát hiện và sửa chữa những chỗ hỏng trên ADN. Một ý kiến khác, sự hoạt động của nhiều yếu tố di động giống như retrovirus (các retrotransposon) xét ở góc độ nguồn gốc phát sinh thì retrovirus và retrotransposon có thể có quan hệ với nhau. Ngoài ra, các yếu tố di động có thể là sản phẩm của các đột biến cấu trúc nhiễm sắc thể (như các trường hợp mất đoạn).

Những gì đã trình bày về các yếu tố di truyền di động đã cung cấp cho ta những hiểu biết về tính chất không ổn định của genom, bổ sung cho vấn đề điều hoà sự biểu hiện của gen và những ứng dụng của chúng trong kỹ thuật di truyền.

2.3. Hoạt động của gen

Weismann là người đầu tiên đã nghiên cứu và đưa ra giả thiết có tính chất suy đoán về sự phân chia di truyền không đồng đều của các tế bào như là cơ sở của sự phát triển của cơ thể đa bào và nó đã không phù hợp với kết quả khách quan khi kiểm tra thực nghiệm.

Luận điểm chủ đạo của luận thuyết Weismann cho các tế bào soma chuyên hoá là không đầy đủ giá trị về mặt di truyền và không có khả năng

phát triển thành một cơ thể trọn vẹn. Gần đây người ta đã phát hiện được các tế bào soma chuyên hoá có đầy đủ giá trị về mặt di truyền và trong những điều kiện thích hợp nó có thể phát triển thành một cơ thể để bắt đầu một chu trình phát triển mới-các kết quả trong công nghệ nhân bản (cloning) đã chứng minh điều này.

Ngày nay trong di truyền học thực nghiệm người ta đã nhất trí luận điểm như sau: Trong quá trình phát triển của cá thể tất cả các tế bào còn giữ được toàn bộ thông tin di truyền và chúng bị chuyên hoá là do những nguyên nhân này hay nguyên nhân khác làm cho chúng chỉ có khả năng thực hiện một phần nhỏ các chức năng di truyền nào đó. Những nguyên nhân này xác định một cách có quy luật việc thực hiện một bộ phận nào đó của thông tin di truyền và làm mất hoạt tính của bộ phận khác, nhờ đó trong quá trình phát triển của cá thể đã hình thành nên các tế bào và mô chuyên hoá. Giải quyết được các vấn đề đó là những khoảng trống giữa di truyền học và sinh học phát triển, điều này nhờ thành tựu của di truyền học phân tử. Đó là quá trình nghiên cứu sự phát triển của cá thể ở động vật bậc thấp, động vật bậc cao và thực vật về hoạt động của gen trong quá trình phát triển cá thể.

2.3.1. Hiện tượng khuếch đại gen

Trong tế bào, cơ chế tạo nhiều bản ARN từ một hay một số ít gen trong một đơn vị thời gian trở nên kém hiệu quả hơn so với các gen lặp bản. Những sản phẩm mà tế bào (cơ thể) cần sử dụng nhiều có liên quan đến tổ chức gia đình lặp nhiều bản gen. Có thể lấy một ví dụ: Các gen rARN sao ra các rARN để tạo các riboxom cho tế bào, các gen histon đảm bảo tổng hợp nên số lượng lớn các protein histon cho kiến trúc sợi nhiễm sắc thể.

Tuy nhiên, ở nhiều trường hợp số lượng bản gen được tăng vọt lên so với số lượng bản gen đó có trong genom, đó là hiện tượng khuếch đại gen. Hiện tượng này thường xảy ra trong một giai đoạn ngắn, ở đó các tế bào của mô nào đó đòi hỏi một số lượng rất lớn sản phẩm cho hoạt động của mình.

Một ví dụ kinh điển về hiện tượng khuếch đại gen đã được biết đến, đó là sự khuếch đại các gen ARN riboxom ở tế bào noãn của cóc (*Xenopus laevis*). Số lượng bản gen rARN có trong genom của nó là khoảng 600 bản, sau khi được khuếch đại đã tăng lên 2×10^6 bản, với số lượng rất lớn bản gen này đã giúp cho noãn bào có thể tạo được khoảng 10^{12} riboxom cần cho sự tổng hợp protein xảy ra trong thời gian phát triển sớm của phôi.

Trong quá trình khuếch đại, các bản gen rARN được tách ra khỏi nhiễm sắc thể và tạo thành những vùng nhỏ. Các vùng này tái bản theo cơ chế vòng lăn tạo nên số lượng lớn các bản gen ARN riboxom.

Khuếch đại gen tARN trong quá trình phát sinh trứng còn quan sát thấy ở nhiều loại côn trùng, lưỡng thể, cá, . . . Ở thực vật khuếch đại

gen rARN quan sát thấy ở các tế bào noãn, xảy ra trong quá trình phát triển đại bào tử.

Ở ruồi giấm ngoài gen tARN, người ta cũng đã quan sát thấy sự khuếch đại các gen kiểm tra các protein màng đệm có trong thành phần của vỏ tế bào trứng, xảy ra ở các tế bào buồng trứng, ngay trước khi thành thực.

Ở những tế bào nuôi cấy in vitro, đã phát hiện ra một số trường hợp khuếch đại gen tham gia vào sự đề kháng lại tác nhân bất lợi khi đưa vào môi trường nuôi cấy. Ví dụ như gen kiểm tra enzym glutamin synthetase ở tế bào nuôi cấy cỏ linh lăng, khi trong môi trường có tác động của thuốc trừ cỏ, . . .

Như vậy, khuếch đại gen là hiện tượng phổ biến ở sinh vật. Nó là một trong những cơ chế thích ứng, trả lời theo cơ chế tự động ở những giai đoạn phát triển cá thể nào đó hoặc có thể xảy ra do tác động của yếu tố môi trường.

2.3.2. Quy luật hoạt động theo thời gian của gen

Sự phát sinh cơ thể của trực khuẩn T₄: Sau khi ADN của trực khuẩn thể xâm nhập vào tế bào vi khuẩn vật chủ, ngay lập tức ADN của nó bắt đầu làm cho vi khuẩn đó tổng hợp nên ARN đặc hiệu cho nó, các ARN này lại làm khuôn mẫu để tổng hợp nên protein-enzym sớm của trực khuẩn thể. Trong vòng 5÷6 phút đầu tiên, các enzym này phá hủy ADN của vi khuẩn và làm sai lệch trao đổi chất của tế bào bị nhiễm, đồng thời tạo nên các chất sinh trưởng đặc hiệu cần thiết cho sự tổng hợp ADN muộn của T₄. Khoảng 6 phút sau khi bị nhiễm, khi số lượng các chất sinh trưởng đó đủ lớn, ADN của phage bắt đầu tổng hợp nên mARN trung gian và bắt đầu kiểm soát sự tổng hợp protein-enzym cần thiết cho sự sinh sản của ADN phage và vỏ protein của phage. Giai đoạn kết thúc là sau khi đó tạo nên phân tử phage mới, mọi hoạt động của ADN phage và phân tử protein vỏ của các phân tử ban đầu ngừng lại và phage chuyển về trạng thái tiềm sinh hoàn toàn.

Như vậy, các giai đoạn khác nhau của sự phát sinh trực khuẩn T₄ có các đoạn mARN khác nhau được tạo nên, các mARN xác định sự tạo nên các protein-enzym khác nhau. Nói cách khác là ở các giai đoạn khác nhau của sự phát sinh cá thể của phage có tính chất hoàn toàn khác nhau.

Khi nghiên cứu hoạt động của gen ở cơ thể động vật đa bào người ta cũng đã thấy rằng các gen hoạt động theo thời gian.

Ví dụ, keratin ở phôi gà con bắt đầu xuất hiện vào ngày thứ 13 và được tổng hợp rất mạnh vào ngày thứ 15. Nếu dùng actinomycin ức chế sự tổng hợp keratin ở giai đoạn sau ngày thứ 13 thì không có hiệu quả, nếu dùng vào ngày thứ 12 thì keratin sẽ không được tổng hợp.

Một ví dụ khác, tế bào hồng cầu có thể tổng hợp rất nhiều loại hemoglobin trong tế bào lưới (chiếm 90% Hb), nhưng giai đoạn hồng cầu lưới lại không tổng hợp mARN, mà mARN lại được tổng hợp ở giai đoạn hồng cầu đơn sắc.

Kết quả phân tích di truyền, sinh hoá cho thấy:

Huyết sắc tố của phôi Hb E khác với huyết sắc tố của người trưởng thành Hb A ở chỗ, huyết sắc tố phôi chứa chuỗi γ polypeptit, còn Hb A chuỗi γ được thay thế bởi chuỗi β polypeptit (146 a.a). Riêng chuỗi α polypeptit (141 a.a) có trong Hb E, Hb F và Hb A. Trẻ sơ sinh chứa 70% Hb F và 30% Hb A. Như vậy ở giai đoạn đầu trong quá trình phát triển gen điều khiển chuỗi γ hoạt động và cuối cùng các gen điều khiển chuỗi β hoạt động, gen điều khiển chuỗi α hoạt động trong suốt cuộc đời của cá thể.

Ở giai đoạn phôi thai của gia súc, protein γ -globulin có trong huyết thanh không được tổng hợp vì nó sử dụng kháng thể của cơ thể mẹ. Yếu tố miễn dịch γ -globulin chỉ xuất hiện trong máu động vật non sau khi sinh và đặc biệt là sau khi bú sữa đầu của mẹ. Điều này chứng tỏ gen điều khiển tổng hợp γ -globulin ở giai đoạn phôi thai chưa hoạt động và chỉ hoạt động để tổng hợp γ -globulin sau khi sinh ra.

Những thành tựu của di truyền học thực nghiệm cũng đã chứng minh rằng, trong quá trình phát triển của cơ thể động vật bậc cao, các gen cũng tuân theo hoạt động theo thời gian.

2.3.3. Quy luật hoạt động đa hiệu-gen điều chỉnh

Phát sinh cá thể ở vi khuẩn và sinh vật nhân sơ. Ở vi khuẩn có kiểu trao đổi chất đơn giản, có mối liên hệ thẳng và trực tiếp với môi trường và phản ứng với môi trường bằng cách ngưng tổng hợp protein-enzym đó và chuyển sang tổng hợp protein-enzym khác.

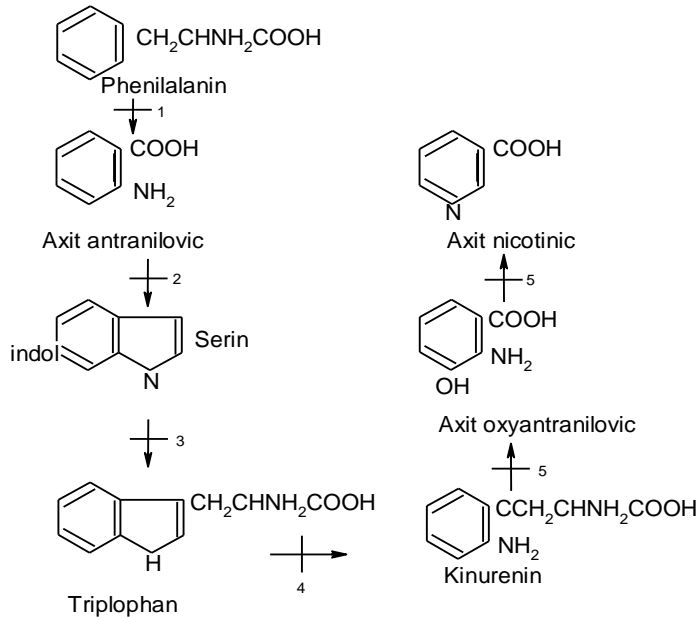
Người ta thấy rằng, ở vi khuẩn cùng tồn tại hai loại gen. Một loại chịu cảm ứng điều khiển tổng hợp enzym cảm ứng khi có yêu cầu. Một loại khác luôn luôn điều khiển tổng hợp các enzym thể chất ở trong tế bào vi khuẩn không phụ thuộc vào việc có hay không có chất mà chúng biến đổi.

Ở vi khuẩn số lượng gen điều chỉnh không nhiều, thường ít hơn gen cấu trúc.

Beadle và Tatum (1941) đã nghiên cứu và thấy rằng, ở *Neurospora* nếu có một đột biến làm rối loạn sự tổng hợp một protein-enzym đặc thù nào đó thì phải có một chỗ hỏng nào đó trên gen kiểm tra sự tổng hợp nên protein - enzym đó. Ví dụ: Tổng hợp triptophan và hình thành axit nicotinic từ phenilalanin ở *Neurospora*. Quá trình sinh hoá này được trình bày trên sơ đồ Hình 2.9.

Bằng phương pháp phân tích các quá trình sinh hoá trên các môi trường tối thiểu, trong đó có chứa các hợp chất hoá học cần thiết cho tế bào bình thường, còn các tế bào bị đột biến thì không thể phát triển được. Beadle và Tatum đã xác định được rằng: Nếu gen ở vị trí thứ 3 bị đột biến thì toàn bộ quá trình bị ngừng tại phản ứng tạo thành Serin, bởi vì đột biến đó làm thay đổi gen điều khiển tổng hợp protein-enzym làm xúc tác cho phản ứng biến đổi Serin thành chất khác trong giai đoạn tiếp theo. Tương tự, nếu gen ở vị trí thứ 4 bị đột biến thì quá trình tổng hợp axit nicotinic bị ngừng lại ở phản ứng tạo thành Triptophan. Quá trình sinh

hoá chỉ có thể xảy ra tiếp tục nếu như người ta thêm vào môi trường chất Kinurevin hoặc axit Oxy antranilovic.



Hình 2.9. Sơ đồ tổng hợp Tryptophan và sự tạo nên axit nicotinic ở *Neurospora*. 1÷6 là các vị trí chứa các gen khác nhau điều khiển phản ứng sinh hoá

Theo ý kiến của nhiều nhà nghiên cứu thì mối quan hệ giữa gen - men và tính trạng hay sản phẩm như trong chu trình sinh hoá trên người ta gọi là *Một gen - một men-một tính trạng*.

Theo Monod-Jacob thì các gen cấu trúc ở vi khuẩn thường phân bố gần nhau tạo thành operon, bên cạnh là các gen chỉ huy (operator) và gen điều chỉnh (regulator).

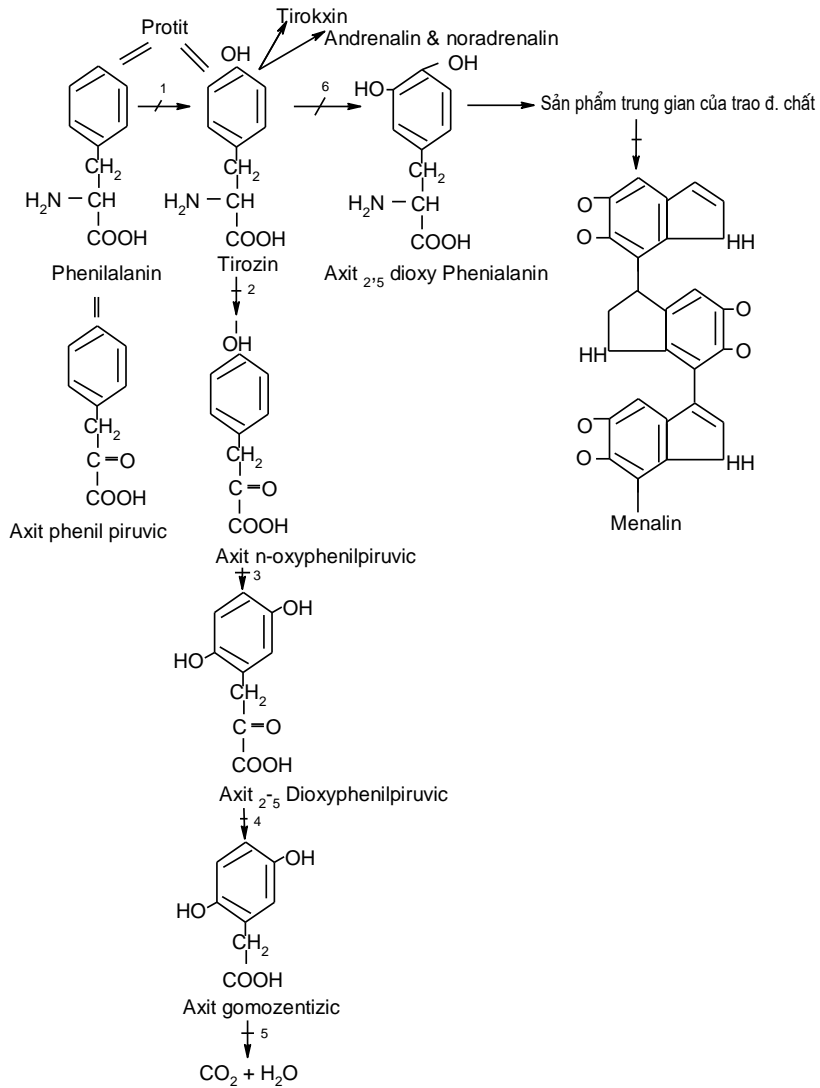
Cũng là một chu trình chuyển hoá từ sản phẩm ban đầu là Phenilalanin, song ở động vật bậc cao (sinh vật nhân chuẩn) phức tạp hơn nhiều, cụ thể là chu trình chuyển hoá Phenilalanin để cho ra sản phẩm cuối cùng là melanin, CO_2 và H_2O .

Một số a.a quan trọng ở người đó là Phenilalanin và Tiroxin, những a.a này cơ thể thường được cung cấp qua thức ăn, ngoài ra Tiroxin cơ thể còn tự tổng hợp được từ Phenilalanin (Hình 2.10).

Trong các quá trình sinh hoá trong cơ thể thì Tiroxin là chất cần thiết đầu tiên cơ thể cần để tổng hợp protein, hormon (Tiroxin, Noradrenalin), melanin, . . . hoặc phân giải thành CO_2 và H_2O . Quá trình chuyển hoá Phenilalanin thành melanin, CO_2 và H_2O xảy ra dưới sự điều khiển của một loạt các gen và các phản ứng sinh hoá. Trong đó mỗi phản ứng sinh hoá xảy ra có một men đặc thù xúc tác.

Qua nghiên cứu và phân tích người ta đã phát hiện ra rằng, trong quá trình sinh hoá này nếu gen số 1 bị hỏng (đột biến) thì quá trình chuyển hoá sẽ bị ngưng trệ ở đây, Phenilalanin không tiếp tục được phân giải (chuyển

hoá), con người vẫn tiếp tục nhận thêm Phenilalanin từ thức ăn dẫn đến hiện tượng dư thừa Phenilalanin. Một người bị dư thừa Phenilalanin sẽ làm cho cơ thể mắc chứng đần độn, cái mà ta thường gọi là Down.



Hình 2.10. Sơ đồ chuyển hoá Phenilalanin ở người

Nếu gen số 6 bị hỏng (đột biến) thì quá trình chuyển hoá sẽ bị ngưng trệ ở đây, vì men Tirozinaza đã bị biến đổi không còn tác dụng chuyển hoá Tiroxin để tạo thành sản phẩm cuối cùng là Melanin, do đó cơ thể sẽ không còn khả năng tạo sắc tố và con người sẽ bị bệnh bạch tạng.

Trong trường hợp gen số 5 bị hỏng (đột biến) thì quá trình chuyển hoá sẽ bị ngưng trệ ở đây và axit gomogentizic không thể được phân giải thành CO₂ và H₂O để thải ra theo nước tiểu. Axit gomogentizic sẽ bị ngưng đọng lại trong cơ thể và được thải ra ngoài theo nước giải, lúc đó nó

sẽ kết hợp với oxy trong khí và phản ứng oxy hoá xảy ra tạo cho nước tiểu có màu đen. Người có triệu chứng này gọi là bị bệnh ancapton niệu.

Nếu chúng ta nghiên cứu và chẩn đoán được các trường hợp bị "bệnh" như trên, chúng ta có thể có những biện pháp để giúp đỡ họ. Ví dụ, nếu bị bệnh thừa Phenilalanin do gen số 1 bị đột biến thì ta có thể cung cấp cho những bệnh nhân loại này các thức ăn không có Phenilalanin. Ngày nay với công nghệ gen hoặc với công nghệ nuôi cấy tế bào, . . . chúng ta có thể dùng liệu pháp gen để chữa trị, thay thế những gen bị "hỏng", như vậy có thể giúp các bệnh nhân điều trị bệnh.

Rõ ràng mối quan hệ giữa gen-men-tính trạng (sản phẩm) ở động vật bậc cao đó phức tạp hơn ở sinh vật bậc thấp rất nhiều. Để có được một sản phẩm cần phải trải qua một loạt các giai đoạn chuyển hoá, mà mỗi giai đoạn ấy phải do một gen điều khiển thông qua một men (protein-enzym) xúc tác và các giai đoạn này phải xảy ra một cách liên tục, không thể gián đoạn ở bất kỳ điểm nào-khâu nào. Vì vậy người ta gọi mối quan hệ ở đây là "*hiệu gen-hiệu men-1 tính trạng*".

Như vậy, gen thể hiện như một đơn vị cơ sở của bộ máy di truyền, chiếm một vị trí (locus) trên nhiễm sắc thể và thông qua quá trình sao chép nó được xác định là một đơn vị chức năng sinh học. gen là một đoạn ADN mã hóa cho một sản phẩm riêng biệt như ARN sử dụng trực tiếp hay ARN dùng để tổng hợp nên mạch polypeptit hoặc protein phức tạp.

2.4. Cơ sở di truyền của quá trình phát triển cá thể

Trong khi nghiên cứu các giai đoạn đầu của tế bào trứng của động vật, các nhà tế bào học đã xác định được: Trước khi tế bào trứng bắt đầu phân chia lần thứ nhất trong chúng đã xảy ra sự phân chia bào tương và hình thành các lớp riêng biệt. Các lớp này về sau đó định hướng cho trục phân chia lần thứ nhất và sự phát triển của tế bào ở lớp nội bì, ngoại bì và trung bì. Tính chất đặc biệt này của tế bào trứng chỉ được hình thành dưới ảnh hưởng của môi trường của cơ thể mẹ và chủ yếu thuộc vào tế bào trứng và rất ít phụ thuộc vào tinh trùng.

Trong khi sinh trưởng và chín, trong bào tương của tế bào trứng xảy ra sự tích lũy một lượng lớn mARN. Trước khi trứng chưa có sự phân chia để phát triển phôi thì mARN này chưa hoạt động, do có sự kết hợp với những protein đặc thù tạo thành phức chất gọi là informoxom. Sau khi trứng bắt đầu có sự phát triển phôi thì lập tức phức chất này được giải phóng để mARN đi làm khuôn mẫu cho việc tổng hợp protein mới để nuôi phôi (sau khi phát triển phôi độ 10 phút) cho đến khi kết thúc giai đoạn phôi nang-phôi vị. Như vậy giai đoạn đầu (giai đoạn phát triển phôi) của sự phát triển cá thể, nó đã chịu sự kiểm tra của các yếu tố có sẵn trong tế bào chất của hợp tử do nhân của tế bào trứng tạo ra.

Trong các giai đoạn sinh trưởng và phát triển khác nhau của cơ thể động vật, một loạt tính trạng-đặc điểm mới xuất hiện và cũng có hàng loạt các tính trạng-đặc điểm mất đi, đồng thời cũng có những tính trạng-đặc điểm xuất hiện rồi tạm ngưng, rồi xuất hiện theo những chu kỳ nhất

định. Ví dụ: Khả năng sinh sản ở cả con đực và con cái, đến một thời điểm nhất định nào đó thì chúng mới xuất hiện khả năng này (con đực có tinh trùng, con cái có trứng chín); con cái đến mùa sinh sản thì mới có trứng chín, sau khi đẻ mới có khả năng cho sữa, . . .

Bộ gen của một sinh vật bao gồm hàng nghìn gen, nhưng không phải bất cứ gen nào cũng cần được hoạt động tại mọi thời điểm. Một gen chỉ có thể được biểu hiện khi nó được phiên mã thành mRNA (và dịch mã thành protein); thực tế tồn tại nhiều cách thức trong tế bào để điều khiển sự biểu hiện của gen, đảm bảo cho protein nào được sản xuất chỉ khi tế bào cần. Các nhân tố phiên mã là những protein điều hòa được gắn vào điểm khởi đầu của gen, có vai trò hoạt hóa hay ức chế sự phiên mã của gen đó. Ví dụ, trong bộ gen của vi khuẩn *E. coli* có một dãy nhiều gen cần thiết cho việc tổng hợp axit amin tryptophan. Tuy nhiên, khi tryptophan đã sẵn có trong tế bào, những gen tổng hợp tryptophan sẽ không được duy trì hoạt động. Sự có mặt của tryptophan trực tiếp ảnh hưởng đến hoạt động của những gen này-những phân tử tryptophan liên kết với chất ức chế tryptophan (*trp repressor*-một nhân tố phiên mã), thay đổi cấu trúc của phân tử này giúp nó gắn được vào gen. *Tryptophan repressor* ngăn chặn quá trình phiên mã và sự biểu hiện của các gen tổng hợp tryptophan, do đó tạo nên sự điều hòa liên hệ ngược âm tính của quá trình tổng hợp loại axit amin này.

Như vậy, cũng là một kiểu gen (bộ gen) không thay đổi, song ở thời điểm nào cần tổng hợp chất nào và không cần tổng hợp chất nào, các gen sẽ được điều khiển đóng mở một cách nhịp nhàng.

Những khác biệt trong biểu hiện gen đặc biệt rõ ràng ở các sinh vật đa bào, khi các tế bào cùng có chung bộ gen nhưng lại có cấu trúc và hoạt động rất khác nhau, dựa trên sự biểu hiện của các tập hợp gen khác nhau. Tất cả tế bào trong một cơ thể đa bào đều có nguồn gốc từ một tế bào duy nhất, được biệt hóa thành các dạng tế bào khác nhau khi phản ứng lại các tín hiệu ngoại và gian bào, và dần dần kiến lập các phương thức biểu hiện gen khác nhau để thực hiện các hoạt động khác nhau. Bởi không có một gen riêng lẻ nào chịu trách nhiệm cho sự phát triển các cấu trúc bên trong sinh vật đa bào, nên những phương thức biểu hiện trên đều phát sinh từ những tương tác phức tạp giữa nhiều tế bào.

Tất cả những điều trên đã được các nhà nghiên cứu cho rằng: Hệ thống các gen của một cơ thể thì luôn luôn có sẵn ngay từ sau khi nhân của tế bào trứng (đơn bội - n) kết hợp với nhân của tinh trùng (đơn bội - n) và khôi phục bộ lưỡng bội (2n), thế nhưng không phải gen nào cũng đi vào hoạt động ngay mà chúng sẽ được đóng mở để hoạt động điều khiển sự hình thành và phát triển các tính trạng-đặc điểm của cơ thể theo một "chương trình" đã được lập sẵn, bảo đảm cho cơ thể sinh trưởng phát triển hài hòa, nhịp nhàng.

Chương 3

CÁC QUY LUẬT DI TRUYỀN CỦA CÁC TÍNH TRẠNG

Để điều khiển sự hình thành và phát triển của các tính trạng của cá thể, ADN đã phiên mã cho ra mRNA và mRNA được dịch mã trong tế bào chất với sự tham gia của tARN, rARN, ribosom, ATP, các enzym, . . . Để di truyền các đặc điểm, tính trạng cho thế hệ sau thì các vật chất di truyền phải hoạt động tuân theo những quy luật nào?

Để tìm hiểu các quy luật di truyền của các tính trạng các nhà nghiên cứu đã sử dụng *phương pháp phân tích* và truyền học cũng đã nhận thấy rằng sự di truyền của các tính trạng là rất đa dạng, mỗi loại tính trạng đều có những quy luật riêng của chúng. Người đã mở đầu cho các phát hiện về các quy luật của các tính trạng là G. J. Mendel (1822÷1884).

Thế nào là phương pháp phân tích di truyền và Mendel đã sử dụng nó như thế nào trong các nghiên cứu của mình?

Như trong phần mở đầu chúng ta đã biết, phân tích di truyền là một trong các phương pháp được sử dụng để nghiên cứu sự di truyền của các tính trạng ở sinh vật trong đó người ta tổ chức cho các cá thể khác nhau lai với nhau để phát hiện ra các quy luật di truyền của các gen - các tính trạng.

Mendel đã sử dụng các dạng bố mẹ khởi đầu là những cây thuần chủng được chọn lọc qua nhiều đời tự thụ phấn, các tính trạng nghiên cứu đã hoàn toàn ổn định. Vật liệu khởi đầu mà Mendel đã chọn là cây đậu Hà Lan, một loại cây có mức độ tự thụ phấn rất cao, tin cậy và các trạng thái khác nhau một cách rõ ràng, đối lập-tương phản, thuận lợi cho việc phân tích di truyền. Khi tiến hành lai và theo dõi chúng qua các thế hệ, ông chỉ tập trung vào các cặp tính trạng tương phản mà ông quan tâm và bỏ qua các tính trạng khác.

Mendel đã sử dụng toán học thống kê để tính toán các kết quả thu được theo từng cặp tính trạng tương phản qua các thế hệ.

Ông đã phân tích các hiện tượng di truyền của các tính trạng ở các con lai theo từng cây qua các thế hệ tự phối. Đồng thời ông cũng đã tiến hành cho con lai trở lại với bố mẹ khởi đầu (lai phân tích) để xác định đặc điểm của con lai.

Qua các thí nghiệm, Mendel đã xử lý thống kê các kết quả thu được và đã rút ra được các quy luật di truyền cơ bản về sự truyền đạt của các tính trạng qua các thế hệ, đó là sự di truyền của các nhân tố tách biệt (không phải theo tính chất hoà hợp như trong học thuyết pangen của Darwin). Điều đó đã chứng tỏ các tính trạng được kiểm soát bởi các nhân tố di truyền.

Mặc dù Mendel chưa có được những minh chứng về tính kế thừa của vật chất di truyền qua các thế hệ, nhưng Mendel đã tiên đoán về các quy luật này. Đó là giả thuyết của ông về nhân tố di truyền tồn tại theo (1) ở giao tử và (2) ở cơ thể, từ đó đã đưa ra các sơ đồ diễn giải các quá trình di truyền. Về sau các nhà nghiên cứu đã phát hiện ra cặp nhiễm sắc thể tương đồng, ADN và cơ sở kế thừa vật chất di truyền qua các thế hệ.

Những đóng góp to lớn của Mendel là ở chỗ đã thiết lập được các quy luật cơ bản về sự di truyền của các tính trạng, đặt nền móng cho sự phát triển của di truyền hiện đại và khởi đầu cho việc xác lập phương pháp nghiên cứu phân tích di truyền cũng như việc sử dụng toán học để xử lý và phân tích các kết quả nghiên cứu.

Các tính trạng của sinh vật nói chung được di truyền từ thế hệ này qua thế hệ khác, tuy nhiên mỗi loại tính trạng có những quy luật di truyền đặc thù. Nhìn chung phần lớn chúng đều tuân theo các quy luật di truyền Mendel. Morgan phát hiện ra sự di truyền của các tính trạng có sự liên kết với nhau trên các nhiễm sắc thể. Khi xét đến sự di truyền của các tính trạng số lượng thì chúng lại có những quy luật riêng nữa.

3.1. CÁC QUY LUẬT DI TRUYỀN MENDEL

G. J. Mendel (1822÷1884) đã bỏ ra gần 8 năm để triển khai các nghiên cứu của mình. Sau khi thu được kết quả đối với các tính trạng như: Màu sắc hoa, dạng của quả, vị trí mọc của hoa, thân cây cao hay thấp, hạt trơn hay hạt nhăn, . . . ông đã công bố các kết quả nghiên cứu thu được vào 1865 và năm 1866 công trình của ông đã được đăng tải trên báo, song chúng đã bị lãng quên, mãi cho đến năm 1900, sau khi ba nhà khoa học khác nhau là De Vries (Hà Lan), Tschermak (Áo) và Correns (Đức), không có liên hệ nào với nhau, cùng đồng thời triển khai nghiên cứu tương tự như Mendel, đã phát hiện ra các quy luật giống nhau về sự di truyền của các tính trạng và giống với những gì mà Mendel đã phát hiện, từ đó công trình của Mendel mới được công nhận. Những tính trạng như Mendel đã nghiên cứu, sau này người ta đã xếp chúng vào nhóm các tính trạng chất lượng.

3.1.1. Lai một cặp tính trạng

3.1.1.1. Quy luật về sự đồng nhất của thế hệ F_1 (Định luật I Mendel)

Mendel đã chọn những giống đậu Hà Lan có sự khác nhau từng cặp tính trạng, về sau chúng ta gọi đó là cặp tính trạng tương phản. Ví dụ: hạt trơn-hạt nhăn, hạt màu vàng-hạt màu xanh, hoa màu đỏ-hoa màu trắng, ... và đã thu được các kết quả sau:

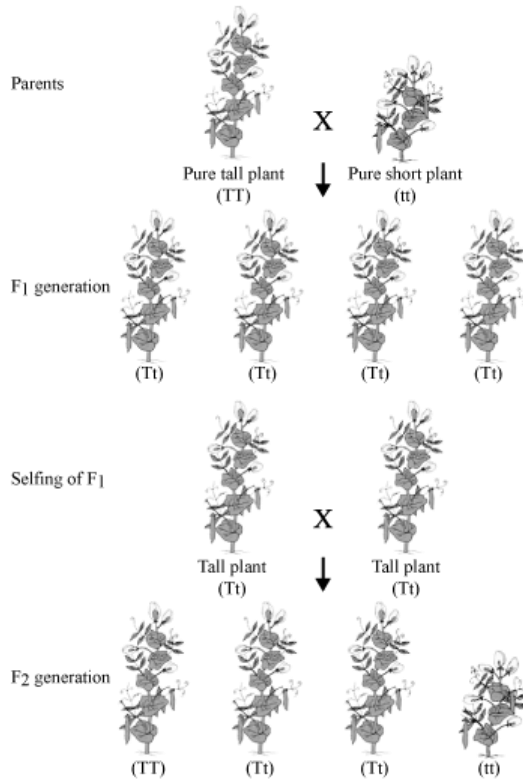
| | | | | |
|-------|-----------|--------------|---|--------------|
| | Kiểu hình | Đậu hạt vàng | | Đậu hạt xanh |
| P | Kiểu gen | AA | x | aa |
| | Giao tử | A | ↓ | a |
| F_1 | Kiểu hình | Đậu hạt vàng | | |
| | Kiểu gen | Aa | | |

Các dạng tính trạng của bố mẹ được xuất hiện ở ngay thế hệ lai thứ nhất (F_1) được gọi là dạng trội, còn dạng không xuất hiện ở thế hệ lai F_1 gọi là lặn. Định luật I của Mendel nói rằng:

Khi cho lai giữa các cá thể thuần chủng có các tính trạng tương phản từng đôi một thì ở thế hệ lai F_1 chỉ thu được một kiểu hình theo bố hoặc theo mẹ, kiểu hình được thể hiện là trội.

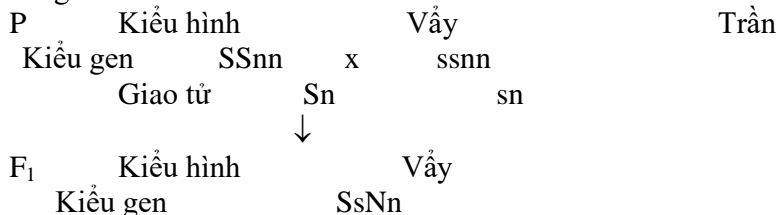
Như vậy, ở đây chúng ta thấy có 2 vấn đề: Các cá thể F_1 chỉ có kiểu hình trội được xuất hiện và 100% các cá thể F_1 chỉ có 01 kiểu gen và 01 kiểu hình như nhau. Vì vậy định luật I của Mendel được gọi là "quy luật về tính trội hay là sự đồng nhất của thế hệ F_1 ".

Mặc dù các phát hiện của Mendel là trên đối tượng cây đậu Hà Lan (thực vật), song khi nghiên cứu trên các đối tượng khác như trâu bò, lợn, gà, cá, vi sinh vật, . . . thì đều thu được các kết quả phù hợp. Ví dụ, người ta đã xác định được 4 kiểu vảy ở cá chép nuôi.



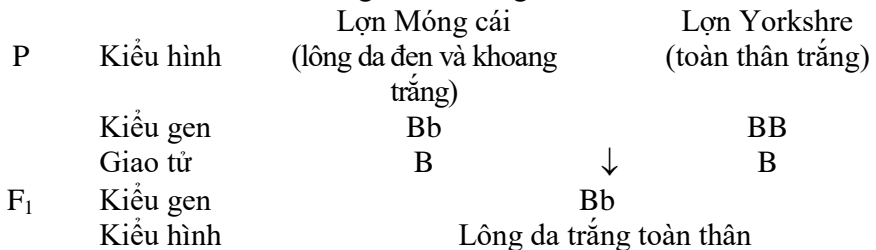
Hình 3.1. Sơ đồ thí nghiệm của Mendel: Lai đậu Hà Lan cây cao (TT) và cây thấp (tt)

Các kiểu vảy này do 2 cặp gen điều khiển di truyền độc lập, không phụ thuộc vào giới tính.



Như vậy, ở tính trạng này của cá chép nuôi đã thu được thế hệ lai F_1 một loại kiểu gen và một loại kiểu hình là có vảy.

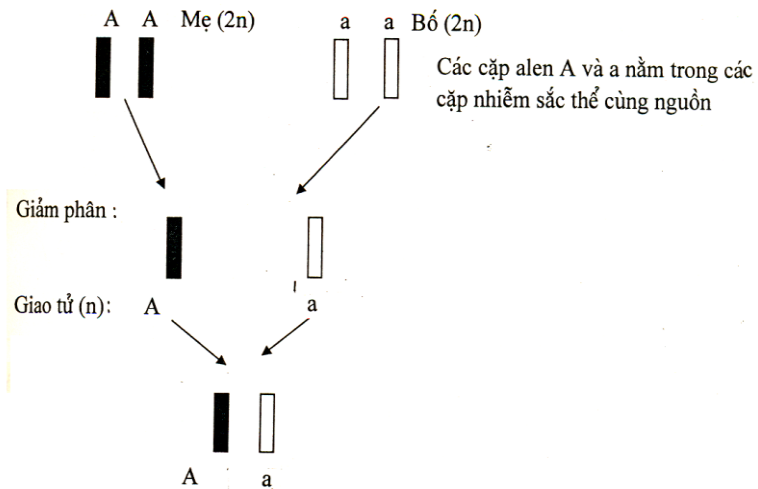
Ví dụ, khi tiến hành cho lai giữa lợn Móng Cái với lợn Yorkshire ta sẽ có:



Quy luật này đã được áp dụng rộng rãi trong phép lai kinh tế để có một thế hệ con lai số lượng nhiều, đồng nhất khi nuôi thương phẩm (hay trồng đại trà), đó là lai kinh tế (lai công nghiệp).

3.1.1.2. Giải thích cơ chế trội ở góc độ phân tử

Trường hợp trội xảy ra khi gen kiểm tra sự tổng hợp nên sản phẩm protein, còn alen đột biến của nó tạo nên lượng ít protein, hoặc protein có hoạt tính kém hơn, hoặc gen bị bất hoạt không tạo ra sản phẩm.



Hình 3.2. Cơ sở tế bào học của lai một cặp tính trạng (Định luật I Mendel)

Từ đó những cá thể dị hợp thể, lượng sản phẩm protein có hoạt tính bình thường có thể bị giảm hơn (một nửa) so với những cá thể đồng hợp trội (theo kiểu đại). Nếu số lượng sản phẩm đó là đủ để cho tế bào hoặc cơ thể thể hiện kiểu bình thường giống như kiểu đồng hợp thể trội ($Aa = AA$). Trong trường hợp mức giảm này có ảnh hưởng đáng kể, có thể gây ra biểu hiện kiểu hình trung gian (giữa đồng hợp trội và đồng hợp lặn ($AA > Aa > aa$)).

Tuy nhiên, không loại trừ khả năng có thể xảy ra sự hình thành lượng sản phẩm protein ở kiểu dị hợp thể lại tạo hiệu quả hoạt động hoá sinh của tế bào tốt hơn so với lượng của kiểu đồng hợp thể trội. Trường hợp này có thể tạo nên hiệu quả siêu trội ($Aa > AA$).

Có thể xảy ra trường hợp, alen đột biến thể hiện trội so với alen kiểu đại. Hiện tượng này có thể giải thích như sau: Protein enzyme do alen đột biến kiểm tra lại có áp lực lớn hơn đối với cơ chất mà nó tác động (tức là giành lấy cơ chất về phía của mình), mặc dù hiệu quả xúc tác của enzyme này kém hơn so với enzyme của kiểu đại. Từ đó, kiểu hình đột biến sẽ được thể hiện ở trạng thái đồng hợp thể và dị hợp thể. Ở góc độ này người ta nói, alen đột biến thể hiện trội, mặc dù mức độ thể hiện kiểu hình của nó có thể bị kém hơn so với kiểu đại. Có thể lấy một ví dụ về hiện tượng này là dạng đột biến trội stubble (sb) ở ruồi giấm đã gây nên sự hình thành các sợi lông ngắn trên thân.

Quy luật I của Mendel về tính trội hay sự đồng nhất của kiểu gen và kiểu hình ở thế hệ lai F₁ hoàn toàn phù hợp đối với các đối tượng sinh vật khác, bậc thấp cũng như bậc cao, thực vật cũng như động vật.

Tuy nhiên, chúng ta hãy xem xét ví dụ sau đây:

| | | | | |
|----------------|-----------|--------------|---|---------------|
| P | Kiểu hình | Hoa màu đỏ | | Hoa màu trắng |
| | Kiểu gen | DD | x | dd |
| | Giao tử | D | ↓ | D |
| F ₁ | Kiểu hình | Hoa màu hồng | | |
| | Kiểu gen | Dd | | |

Một ví dụ nữa ở cá kiếm Siamese (*Siamese fighting fish*) có gen V xác định số tế bào chứa sắc tố và chúng có các kiểu hình sau:

| | | | |
|----------------|-----------|----------------------------|-------------|
| | Kiểu gen | | |
| | VV | màu xanh thép (stell blue) | |
| | Vv | màu xanh thẫm (blue) | |
| | vv | màu xanh lá cây (green) | |
| P | Kiểu hình | xanh thép | xanh lá cây |
| | Kiểu gen | VV | vv |
| | Giao tử | V | v |
| F ₁ | Kiểu hình | xanh thẫm | |
| | Kiểu gen | Vv | |

Chúng ta nhận thấy rằng, trong cả 2 trường hợp trên đây thế hệ F₁ chỉ có một kiểu gen và một kiểu hình, có nghĩa là thế hệ lai thứ nhất vẫn bảo đảm được sự đồng nhất, song có một điều khác so với các ví dụ trên là kiểu hình của F₁ không giống bất kỳ kiểu nào ở thế hệ xuất phát. Phải chăng tính trạng ở thế hệ xuất phát không có bên nào là trội? Vấn đề ở đây là các gen tạo màu sắc trong trường hợp này vẫn là trội nhưng là trội không hoàn toàn và do vậy đã tạo nên một kiểu hình trung gian ở thế hệ lai thứ nhất.

3.1.1.2. Quy luật phân ly tính trạng (Định luật II Mendel)

Sau khi thu được thế hệ lai F₁, Mendel đã cho các cá thể F₁ tự giao với nhau để tạo ra thế hệ lai thứ 2 (F₂) và đã thu được các kết quả sau:

| | | | | |
|----------------|-----------|--------------|---|--------------|
| | Kiểu hình | Đậu hạt vàng | | Đậu hạt vàng |
| F ₁ | Kiểu gen | Aa | x | Aa |
| | Giao tử | A và a | | A và a |

Ta đưa các giao tử đã có vào giàn khung Punnet và thu được kết quả:

| | | | | | |
|---|-------|-------|----------|----------|----------|
| | Đực ↓ | Cái → | | A | a |
| A | | | AA | Aa | Aa |
| | | | Hạt vàng | Hạt vàng | Hạt vàng |
| A | | | Aa | aa | aa |
| | | | Hạt vàng | Hạt xanh | Hạt xanh |

Như vậy chúng ta có:

| | | | |
|-----------|--------------|--------------|--------------|
| Kiểu hình | Đậu hạt vàng | Đậu hạt vàng | Đậu hạt xanh |
| Kiểu gen | 1AA | 2Aa | 1aa |

Kết quả là ở thế hệ F_2 xuất hiện 2 kiểu hình giống như ở thế hệ xuất phát với tỷ lệ: 3 màu vàng: 1 màu xanh và ta thu được 3 kiểu gen: 1 đồng hợp trội: 2 dị hợp thể: 1 đồng hợp lặn. Có nghĩa là ở thế hệ lai thứ 2 đã có sự phân ly của các kiểu hình và kiểu gen. Năm 1900, De Vries đã đề nghị gọi hiện tượng này là "*quy luật phân ly tính trạng*" hay "*sự phân tính*".

Cũng trên đối tượng cây đậu Hà Lan một số tác giả khác đã tiến hành nghiên cứu tương tự như Mendel và đã thu được các kết quả tương tự, Bảng 3.1. sẽ cho chúng ta thấy các kết quả đó.

Bảng 3.1. Một số kết quả nghiên cứu trên đậu Hà Lan của một số tác giả khác

| Tác giả và năm công bố | Hạt vàng (A) | | Hạt xanh (a) | | Tổng số hạt |
|------------------------|--------------|-------|--------------|-------|-------------|
| | Số hạt | % | Số hạt | % | |
| Correns, 1900 | 1394 | 75,47 | 433 | 24,53 | 1847 |
| Techemark, 1900 | 3580 | 75,06 | 1190 | 24,95 | 4770 |
| Hec, 1904 | 1310 | 74,64 | 445 | 25,36 | 1755 |
| Becson, 1905 | 11920 | 75,30 | 3904 | 24,70 | 15806 |
| Decbisia, 1909 | 109060 | 75,09 | 36186 | 24,91 | 145246 |

Các kết quả trên Bảng 3.1. cho thấy, khi nghiên cứu ở số lượng cá thể nhiều ta vẫn thu được một sự phân ly của các tính trạng, tuy nhiên tỷ lệ phân ly của 2 kiểu hình đã không còn chính xác là 3 : 1 nữa mà chỉ dao động xung quanh con số này.

Tất cả các kết quả trên cho thấy, các nhân tố di truyền vẫn tồn tại một cách độc lập, không bị mất đi, có thể có khi bị che khuất nên biểu hiện ra kiểu hình có lúc bị đứt quãng.

Các kết quả trên đã giúp Mendel phát hiện ra quy luật II về sự di truyền của các tính trạng.

Khi cho lai các cá thể thuần chủng có các tính trạng tương phản từng đôi một thu được các cá thể F_1 và tiếp tục cho chúng tự giao với nhau thì ở thế hệ F_2 chúng ta sẽ thu được những sự phân ly về kiểu gen và kiểu hình theo những tỷ lệ nhất định.

Trong trường hợp lai một cặp tính trạng thì tỷ lệ kiểu hình là 3: 1 và tỷ lệ phân ly kiểu gen là 1 : 2 : 1. Tuy nhiên, ngay trong các kết quả của Mendel, khi xem xét một cách chi tiết chúng ta thấy, rất khó để có tỷ lệ chính xác, cho dù số lượng nghiên cứu là khá lớn. Các số liệu trên Bảng 3.2 sẽ nói lên điều đó.

Khi thu được kết quả như trên, Mendel chỉ mới hồ nghi nhận thấy sự chi phối hiện tượng trội lặn hay sự phân ly là do một nhân tố di truyền nào đó, song nhân tố đó ở đâu, ra sao thì ông cũng chưa định nghĩa được. Chính vì vậy mà các kết quả nghiên cứu của ông đã bị nghi ngờ và phản bác. Mãi đến năm 1900 khi một số nhà nghiên cứu khác đã tình cờ cùng phát hiện ra các quy luật tương tự, do vậy 16 năm sau khi ông mất các thành công của ông mới được công nhận. Các kết quả nghiên cứu trên đậu Hà Lan của các tác giả khác sau đây sẽ chứng minh thêm cho quy luật di truyền II của Mendel.

Bảng 3.2. Một số kết quả nghiên cứu của Mendel trên một số cặp tính trạng của đậu Hà Lan

| Tính trạng | Trội | Lặn | Thế hệ lai F ₂ | | | |
|--------------------------------------|------------|-------------|---------------------------|--------------|-------------|--------------|
| | | | Tổng | Trội | Lặn | Tỷ lệ |
| Hình dạng của hạt | trơn | nhăn | 7324 | 5171 | 1850 | 2,96 : 1,04 |
| Màu sắc tử diệp | vàng | xanh | 8023 | 6022 | 2001 | 3,01 : 0,99 |
| Màu vỏ hạt, có liên quan đến màu hoa | xám đỏ tía | trắng trắng | 929 | 705 | 224 | 3,15 : 0,85 |
| Hình dạng quả | phồng | tóp | 1181 | 882 | 200 | 2,95 : 1,05 |
| Màu vỏ quả khi chưa chín | xanh | vàng | 580 | 428 | 452 | 2,82 : 1,18 |
| Vị trí mọc hoa | nách lá | ngọn | 858 | 651 | 207 | 3,14 : 0,86 |
| Chiều cao cây | cao | thấp | 1064 | 787 | 277 | 2,84 : 1,16 |
| Tổng số | | | 19959 | 14949 | 5010 | 3 : 1 |

Vào giữa thế kỷ XX, khi cấu trúc tế bào được khám phá, đặc biệt là thành phần nhiễm sắc thể trong tế bào và các quá trình phân chia nguyên nhiễm, giảm nhiễm, phát sinh giao tử, thụ tinh để khôi phục bộ lưỡng bội nhiễm sắc thể của tế bào được phát hiện, từ đó hiện tượng truyền đạt thông tin di truyền càng được giải thích một cách đúng đắn hơn trên cơ sở nhiễm sắc thể (cơ sở tế bào của các quy luật di truyền).

Người ta đã xác định được 4 kiểu vảy ở cá chép nuôi. Các kiểu vảy này do 2 cặp gen điều khiển di truyền độc lập, không phụ thuộc vào giới tính.

P Kiểu hình Vảy Trần

Kiểu gen SSnn x ssnn

Giao tử Sn ↓ sn

F₁ Kiểu hình Vảy

Kiểu gen SsNn

↓

F₂ Kiểu hình 3 có vảy : 1 không vảy

Kiểu gen 1 SSnn : 2SsNn : 1 ssnn

Một ví dụ nữa ở đại gia súc có sừng:

P Kiểu hình bò không sừng bò có sừng

Kiểu gen PP pp

Giao tử P ↓ p

F₁ Kiểu hình Không sừng

Kiểu gen Pp

↓

F₂ Kiểu hình 3 bò không sừng : 1 bò có sừng

Kiểu gen 1 PP : 2Pp : 1 pp

Như vậy, quy luật về sự phân tính (sự phân ly của kiểu hình và kiểu gen) của các tính trạng ở thế hệ F₂ cũng không chỉ đúng với đối tượng nghiên cứu của Mendel là thực vật (đậu Hà Lan) mà đúng cả với động vật bậc cao như cá, bò. Điều này chứng tỏ sự di truyền của các tính trạng chất lượng hoàn toàn đúng với mọi đối tượng sinh vật.

3.1.1.3. Các điều kiện để bảo đảm quy luật phân ly được nghiệm đúng:

Ngoài những điều kiện mà Mendel đã đưa ra trong định luật như: Các cá thể thuần chủng có các tính trạng tương phản từng đôi một, thì còn cần thêm các điều kiện sau:

- Trong giảm phân và hình thành giao tử, các giao tử mang alen trội và alen lặn phải có tần số tương đương nhau.

- Trong thụ tinh để hình thành hợp tử, các giao tử phải có sức sống, khả năng hữu thụ như nhau và kết hợp hết với nhau.

- Các kiểu gen kiểu hình của hợp tử cũng như cá thể phải có sức sống như nhau cho đến khi kiểm tra.

- Các tính trạng phải được bộc lộ ra hết và không bị chi phối bởi các điều kiện ngoại cảnh.

- Số lượng cá thể nghiên cứu phải đủ nhiều và càng nhiều càng chính xác.

3.1.2. Lai phân tích

Khi cho các cá thể F_1 tự giao với nhau chúng ta thu được ở thế hệ F_2 ba kiểu gen, song chỉ có 2 kiểu hình. Sở dĩ như vậy là vì 2 kiểu gen đồng hợp trội và dị hợp chỉ cho ra một kiểu hình trội. Trong thực tế các quần thể sinh vật cũng luôn tồn tại hiện tượng tương tự. Vì vậy nếu chỉ dựa vào kiểu hình thì ta không phân biệt được những cá thể đồng hợp trội và dị hợp thể. Các gen tham gia điều khiển các tính trạng cũng có các gen tốt và các gen xấu, các gen tốt là các gen trội-tích cực sẽ làm tăng năng suất, tăng các khả năng sống, khả năng sinh trưởng,... của các sinh vật; các gen xấu sẽ gây nên các hậu quả ngược lại, thậm chí còn gây nên bệnh tật, dị tật và gây chết, . . . Các gen xấu nếu là các gen lặn thì sẽ được ẩn nấp tiềm tàng trong các kiểu gen dị hợp thể với kiểu hình trội và nếu ta tiếp tục cho những cá thể như vậy kết hợp với nhau trong sinh sản thì sẽ tạo ra các kiểu gen đồng hợp lặn như vậy sẽ làm xuất hiện các cá thể dị tật, chết non, bệnh lý, . . . Làm thế nào để phân biệt được 2 kiểu gen này để tìm cách loại bỏ các gen xấu tiềm tàng trong kiểu gen dị hợp thể? Chúng ta hãy xem ví dụ dưới đây:

Ví dụ, khi cho lai 2 cây có màu sắc tử điệp vàng và xanh ta sẽ có:

| | | | |
|-----------|--------------------------|-------|--------------------------|
| Kiểu hình | Sắc tử điệp vàng | x | Sắc tử điệp xanh |
| Kiểu gen | Aa | | aa |
| Giao tử | A, a | ↓ | a |
| Con lai | Sắc tử điệp vàng (Aa) | 1 : 1 | Sắc tử điệp xanh (aa) |

Khi tổ chức cho các cá thể có kiểu hình trội lai với các cá thể có kiểu hình lặn, chúng ta sẽ thu được kết quả cho phép ta phân biệt được các kiểu gen của chúng. Nếu kiểu hình ở phép lai này chỉ có một thì các cá thể đem lai có kiểu gen đồng hợp trội và nếu kết quả kiểu hình phân ly theo tỷ lệ 1:1 thì kiểu gen đem lai là dị hợp thể.

Phép lai giữa các thể có kiểu gen dị hợp thể với cá thể có kiểu gen đồng hợp lặn được gọi là phép "lai phân tích". Phép lai phân tích được sử dụng để kiểm tra - phát hiện ra các gen lặn trong các tổ hợp gen dị

hợp thể-kiểu hình trội, từ đó ta có thể chọn lọc loại thải những cá thể có kiểu gen này ra khỏi quần thể khi các gen lặn đó là các gen không tốt.

Trong quy trình tạo các siêu trội để sản xuất cá đơn tính (rô phi đơn tính, để chọn được những cá siêu trội thực từ những cá đực thu được (XY và YY) ta phải tiến hành lai phân tích. Sơ đồ lai như sau:

Cá cái (XY-YY) x Cá đực XY

↓

Nếu cá cái là XY thì sẽ thu được tỷ lệ phân ly 1 XX : 2 XY : 1 YY

Nếu cá cái là YY thì sẽ thu được tỷ lệ phân ly là 1XY : 1 YY.

Trên cơ sở như vậy ta sẽ tách được cá cái XY và cá cái YY.

3.1.3. Hồi giao hay lai trở lại (backcross)

Khi ta cho lai đậu quả đầy với đậu quả tóp, ta thu được ở thế hệ F₁ đậu quả đầy và ta muốn củng cố và tăng cường tính trạng này ta sẽ phải cho con lai F₁ lai trở lại với đậu quả đầy, như vậy ta sẽ có:

| | | | | |
|--|----------------|----------------------------|---|-------------------|
| | P | Đậu quả đầy DD | x | Đậu quả tóp dd |
| | | | ↓ | |
| | F ₁ | Đậu quả đầy (Dd) | | |
| | Lai trở lại | Đậu quả đầy Dd | x | Đậu quả đầy DD |
| | | | ↓ | |
| | F _B | 4 Đậu quả đầy 2DD + 2Dd | | |

Phép lai cho con lai kết hợp trở lại với bố hoặc mẹ đồng hợp trội người ta gọi là phép lai "hồi giao hay lai trở lại". Mục đích của phép lai này nhằm để củng cố tính trạng mong muốn ở con lai, hoặc là tăng tỷ lệ gen của một giống (giống tốt hơn, giống ngoại, . . .) trong con lai hay giống lai. Phép lai trở lại có thể được thực hiện một lần giống gốc, song cũng có thể với cả 2 giống gốc hay nhiều giống gốc trong phép lai nhiều giống. Lai trở lại là một phương pháp lai được sử dụng nhiều trong công tác giống cây trồng và vật nuôi, ví dụ như trong các phép lai cải tiến, cải tạo, lai luân chuyển hay phục tráng giống, . . .

3.1.4. Lai hai cặp tính trạng

3.1.4.1. Sự phân ly độc lập của các tính trạng (Định luật III Mendel)

Mendel ngoài việc cho lai và quan sát một tính trạng với các kiểu hình tương phản thì còn tiến hành cho lai các cá thể đồng thời có 2 cặp kiểu hình tương phản với nhau.

| | | | | | | |
|--|----------------|----------------------------------|--|------------------------------------|---|------------------------------------|
| | P | Kiểu hình Kiểu gen Giao tử | | Đậu hạt trơn, vàng AA BB A B | x | Đậu hạt nhăn, xanh aa bb a b |
| | | | | | ↓ | |
| | F ₁ | Đậu hạt trơn, vàng Aa Bb | | | | |

Ông lại lai tiếp tục cho đậu F₁ lai với nhau để cho ra đời F₂ như sau:

F_1 Kiểu hình Đậu hạt tron, Đậu hạt nhăn, xanh
 Kiểu gen vàng Aa Bb
 Giao tử A a Bb x
 A B, Ab, aB, ab ↓ AB, Ab, aB, ab

| | | F_2 | | | |
|---------|--|---------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| Giao tử | | AB | Ab | aB | ab |
| AB | | AA BB tron, vàng | AABb tron, vàng | AaBb tron, vàng | AaBb tron, vàng |
| Ab | | AA Bb tron, vàng | AAbb tron, xanh | AaBb tron, vàng | Aabb tron, xanh |
| aB | | Aa Bb tron, vàng | AaBb tron, vàng | aaBB nhăn, vàng | aaBb nhăn, vàng |
| ab | | Aa Bb tron, vàng | Aabb tron, xanh | aaBb nhăn, vàng | aabb nhăn, xanh |

Từ các kết quả trên khung Punnet có thể rút ra các tỷ số:

Kiểu hình: 9 tron, vàng: 3 tron, xanh: 3 nhăn, vàng: 1 nhăn, xanh

Kiểu gen:

1AABB : 2AABb : 2AaBB : 4AaBb : 1AAbb : 2Abb : 1aaBB : 2aaBb : 1aabb

[9 A - B -] [3 A - bb] [3aa B -] [1aabb]

Kiểu hình: tron, vàng tron, xanh nhăn, vàng nhăn, xanh

Tỷ lệ phân ly của các kiểu gen hình 9 : 3 : 3 : 1 là một kiểu phân ly mới chăng? Chúng ta hãy xem xét các kiểu hình theo từng cặp tính trạng tương phản riêng biệt:

Dạng hạt:

Hạt tron 9 + 3 = 12

Hạt nhăn 3 + 1 = 4

Hạt tron : hạt nhăn = 12 : 4 = 3 : 1.

Màu hạt:

Hạt vàng 9 + 3 = 12

Hạt xanh 3 + 1 = 4

Hạt vàng : hạt xanh = 12 : 4 = 3 : 1.

Trong thí nghiệm Mendel cũng đã thu được các kết quả:

315 hạt tron vàng, 101 hạt nhăn vàng, 108 hạt tron xanh, 32 hạt nhăn xanh

Dạng hạt:

Hạt tron 315 + 108 = 423

Hạt nhăn 101 + 32 = 133

Hạt tron : hạt nhăn = 423 : 133 = 3,18 : 0,82

Màu hạt:

Hạt vàng 315 + 101 = 416

Hạt xanh 108 + 32 = 140

Hạt vàng : hạt xanh = 416 : 140 = 2,97 : 1,03

Tỷ lệ phân ly thực tế không hoàn toàn đúng như lý thuyết song vẫn đạt được tỷ lệ gần với 3 : 1 của phép lai đơn tính theo định luật II của Mendel.

Khi cho lai đậu hạt tron-vàng cả 2 tính trạng này đều ở trạng thái đồng hợp trội (AABB) với đậu hạt nhăn-xanh và cả 2 tính trạng này đều ở trạng thái đồng hợp lặn (aabb). Như vậy 2 cặp tính trạng này đều tương phản với nhau rõ rệt như trong ví dụ trên.

Các kết quả phân tích đồng thời 2 cặp tính trạng thì tỷ lệ phân ly kiểu hình là 9 : 3 : 3 : 1, song nếu ta tách ra từng cặp tính trạng riêng biệt để xem xét thì thấy chúng vẫn chỉ có sự phân ly theo tỷ lệ 3 : 1 như trong trường hợp lai đơn tính. Điều đó cho thấy các tính trạng này hoạt động độc lập với nhau,

không phụ thuộc vào nhau, mặc dù ta cho chúng đi với nhau trong phép lai. Do đó Mendel đã có thêm định luật III về quy luật di truyền của các tính trạng.

Khi cho lai các cá thể thuần chủng khác nhau 2 hay nhiều cặp tính trạng tương phản thì sự di truyền qua các thế hệ và cơ chế truyền đạt các tính trạng di truyền qua các thế hệ, nó được gắn liền với quá trình vận động của các cặp nhiễm sắc thể tương đồng trong giảm phân và hình thành hợp tử khi thụ tinh. Với việc gắn các gen và vị trí của chúng trên nhiễm sắc thể (locus) ta có thể sử dụng chúng để chứng minh cho định luật III của Mendel như sau:

Khi cho bố mẹ thuần chủng theo hai cặp tính trạng tương phản hoàn toàn lai với nhau, mỗi tính trạng di truyền độc lập với nhau, các alen của từng cặp gen phân ly độc lập, tổ hợp tự do và ngẫu nhiên với nhau.

Trong thí nghiệm Mendel cũng đã thu được các kết quả như những gì mà ông đưa ra trong định luật.

Như vậy khi ta xem xét đồng thời 2 cặp tính trạng thì tỷ lệ phân ly kiểu hình là 9 : 3 : 3 : 1, song nếu ta tách ra từng cặp tính trạng riêng biệt để xem xét thì thấy chúng vẫn chỉ có sự phân ly theo tỷ lệ 3 : 1 như trong trường hợp lai đơn tính. Điều đó cho thấy các tính trạng này hoạt động độc lập với nhau, không phụ thuộc vào nhau, mặc dù ta cho chúng đi với nhau trong phép lai. Đó là nội dung của định luật III về quy luật di truyền của các tính trạng.

Khi cho lai các cá thể thuần chủng khác nhau 2 hay nhiều cặp tính trạng tương phản thì sự di truyền qua các thế hệ và cơ chế truyền đạt các tính trạng di truyền qua các thế hệ, nó được gắn liền với quá trình vận động của các đôi nhiễm sắc thể tương đồng trong giảm phân và hình thành hợp tử khi thụ tinh. Với việc gắn các gen và vị trí của chúng trên nhiễm sắc thể (locus) ta có thể sử dụng chúng (cơ sở tế bào như sơ đồ trên Hình 3.4.) để chứng minh cho định luật III của Mendel như sau: Điều kiện để định luật III của Mendel đúng là các điều kiện như đã trình bày ở phần trên (định luật II) và đặc biệt là điều kiện các gen điều khiển các tính trạng này phải nằm trên các nhiễm sắc thể khác nhau thì khi phát sinh giao tử chúng mới không đi cùng hay hoạt động độc lập với nhau.

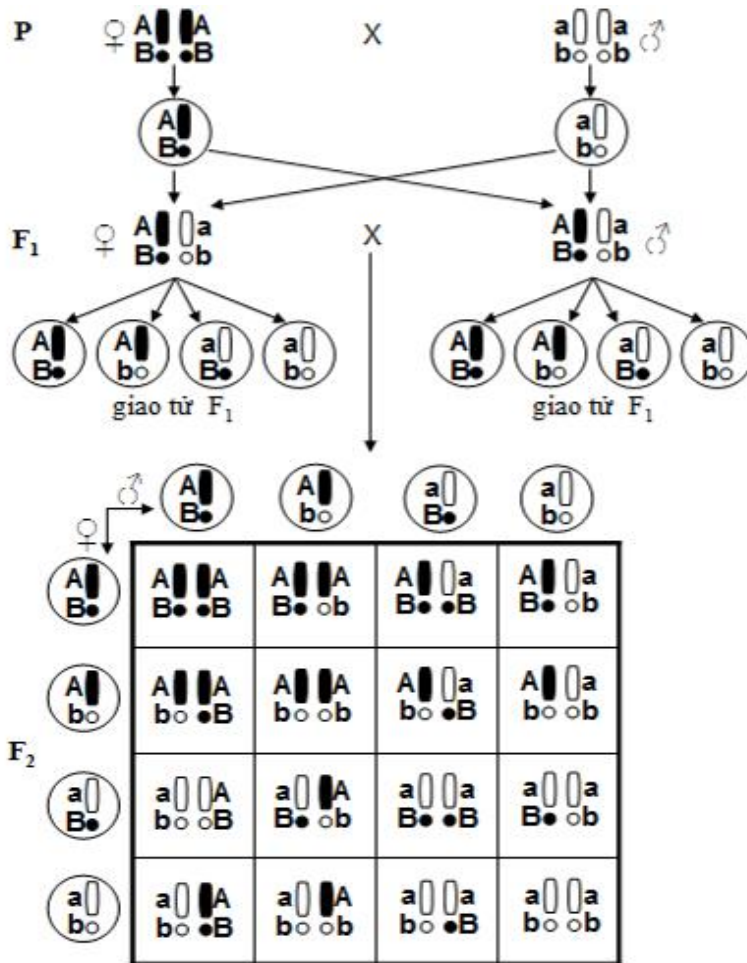
Hầu hết các sinh vật có sự phân biệt về giới tính, sinh sản hữu tính các tính trạng chất lượng có sự di truyền đúng như Mendel đã phát hiện trên đậu Hà Lan.

3.1.4.2. Ý nghĩa của định luật III Mendel

Sự phân ly độc lập và tổ hợp tự do ngẫu nhiên của các cặp tính trạng (mà gốc rễ của nó là sự phân ly độc lập và tổ hợp tự do của các alen) đã làm xuất hiện các biến dị tổ hợp. Đây là một trong những nguyên nhân làm cho sinh vật ngày càng đa dạng và phong phú .

Bất kỳ sinh vật sinh sản hữu tính nào cũng có biến dị tổ hợp, sinh vật nào có số gen (alen) càng lớn thì lượng biến dị tổ hợp càng lớn. Ví dụ, ở đại gia súc như bò, trong hệ thống nhóm máu B có tới hàng trăm kháng nguyên (alen), khi chúng tự do tổ hợp với nhau đã tạo ra vô số kiểu gen khác nhau, nhờ vậy hệ thống nhóm máu ở đại gia súc có sự đa dạng gần như không có các trường hợp trùng (giống) nhau 100%, trừ các trường hợp sinh đôi cùng trứng.

Tính đa dạng của sinh vật có lợi cho tiến hóa, nhờ có nhiều gen đã tạo ra nhiều kiểu gen khác nhau và chính nó đã làm cho sinh vật thích nghi tốt hơn với ngoại cảnh.



Hình 3.4. Cơ sở tế bào học của sự phân ly trong trường hợp lai hai cặp tính trạng (Định luật III Mendel)

Sự đa dạng của sinh vật có ý nghĩa thực tiễn rất lớn, nó đã giúp cho con người chọn tạo ra được những kiểu gen tốt, có lợi và cũng nhờ đó mà nhiều giống mới có năng suất cao, chất lượng tốt đã được tạo ra.

3.1.5. Công thức tổng quát cho phép lai nhiều tính trạng

Từ các kết quả trong các phép lai ở trên chúng ta thấy: Khi lai một cặp tính trạng ở F_2 thu được sự phân ly theo kiểu hình 3:1 và khi lai hai cặp tính trạng sự phân ly theo kiểu hình là 9:3:3:1. So sánh hai kết quả này chúng ta thấy:

$$(3 : 1)^2 = 9 : 3 : 3 : 1$$

Suy luận tương tự chúng ta có: $(3 : 1)^3 = 27 : 9 : 9 : 9 : 3 : 3 : 3 : 1$

Trên cơ sở như vậy, chúng ta có thể rút ra công thức tổng quát cho các chỉ tiêu nghiên cứu trên với số mũ n là số cặp tính trạng tương phản trong tổ hợp lai. Các công thức tổng quát như sau:

| Số cặp gen dị hợp | Số loại giao tử | Số loại kiểu hình | Tỷ lệ phân ly kiểu hình | Số loại kiểu gen | Tỷ lệ phân ly kiểu gen |
|-------------------|-----------------|-------------------|-------------------------|------------------|------------------------|
| 1 | 2^1 | 2^1 | $(3 + 1)^1$ | 3^1 | $(1+2+1)^1$ |
| 2 | 2^2 | 2^2 | $(3 + 1)^2$ | 3^2 | $(1+2+1)^2$ |
| 3 | 2^3 | 2^3 | $(3 + 1)^3$ | 3^3 | $(1+2+1)^3$ |
| ⋮ | ⋮ | ⋮ | ⋮ | ⋮ | ⋮ |
| 1 | 2^n | 2^n | . | . | $(1+2+1)^n$ |

Trên đây là các kết quả về quy luật di truyền của các tính trạng do các gen hoạt động độc lập với nhau tạo nên. Vậy thì khi xem xét các tính trạng khác của sinh vật: Tính trạng số lượng, tính trạng liên kết, . . ., các tính trạng được điều khiển bởi các gen có hoạt động không độc lập với nhau mà có sự tương tác với nhau trong các quá trình điều khiển các tính trạng thì sẽ có quy luật di truyền như thế nào?

3.2. QUY LUẬT DI TRUYỀN CỦA CÁC GEN CÓ HOẠT ĐỘNG TƯƠNG TÁC KHÔNG CÙNG LOCUS

Ở các phần trên chúng ta vừa thấy các quy luật di truyền của các tính trạng chất lượng trong trường hợp chúng được kiểm tra-điều khiển bởi một gen (đơn gen) tại một locus và những gen này chỉ có trạng thái hoạt động. Kiểu hình do các kiểu gen như vậy tạo nên là kết quả tác động thẳng của sản phẩm gen.

Tuy nhiên, trong nhiều trường hợp khi các gen cùng đứng với nhau trong kiểu gen thì chúng không còn hoạt động một cách "độc lập hoàn toàn" với nhau nữa, chúng sẽ tương tác lẫn nhau qua ảnh hưởng lẫn nhau, vì vậy sẽ dẫn tới những kết quả khác nhau về kiểu hình của tính trạng, đó là kết quả hoạt động của nhiều gen. Trong những trường hợp như vậy, các quy luật di truyền do Mendel phát hiện ra sẽ bị sai lệch không còn hoàn toàn đúng nữa.

Tiếp theo chúng ta sẽ đề cập đến các hoạt động tương tác giữa các gen không cùng locus với nhau (chúng phân ly độc lập) theo phương thức bổ trợ, bổ sung trùng hợp, ức chế, . . .

3.2.1. Tương tác bổ sung của các gen

Hoạt động tương tác bổ sung là một trong những trường hợp các gen cùng tham gia điều khiển một tính trạng khi đứng riêng lẻ thì hoạt động độc lập, nhưng khi đứng cạnh nhau thì hoạt động phối hợp bổ sung cho nhau và kết quả là tạo ra những trạng thái (kiểu hình) mới của tính trạng. Khi các gen trội ở trạng thái riêng rẽ có hiệu quả biểu hiện kiểu hình khác nhau, dẫn tới nhiều kiểu phân ly ở F_2 . Chúng ta hãy xem xét các trường hợp dưới đây:

1. Hai gen trội ở trạng thái riêng rẽ có hiệu quả biểu hiện kiểu hình khác nhau, khi chúng cũng có mặt trong kiểu gen, chúng hoạt động tương tác bổ sung cho nhau, từ đó sẽ cho ra một kiểu hình mới. Trong trường hợp này tỷ lệ phân ly kiểu hình vẫn là 9:3:3:1, song các kiểu hình cụ thể thì khác so với những gì ta đã thấy trong định luật III của Mendel.

Ở ớt, màu sắc quả được xác định bởi 2 gen hoạt động tương tác bổ sung là R và T, khi tiến hành lai 2 loại ớt với kiểu gen và kiểu hình ta sẽ thu được:

| | | | |
|----------------|--------------------|--------------------|-----------------|
| P | RRtt | x | rrTT |
| | Quả màu da cam | ↓ | Quả màu vàng |
| F ₁ | RrTt Quả màu đỏ | | |
| F ₂ | 9 R - T - Đỏ | 3 R - tt Da cam | 3 rrT - Vàng |
| | | | 3 rrtt Nhạt |

2. Hai gen trội đứng riêng rẽ có kiểu hình giống nhau, khi chúng cũng có mặt trong một kiểu gen thì hoạt động tương tác bổ sung cho nhau và kết quả là cho ra một kiểu hình mới khác với kiểu hình chung khi chúng đứng riêng rẽ, tỷ lệ phân ly kiểu hình vẫn là 9:3:3:1, song các kiểu hình cụ thể thì khác so với những gì ta đã thấy trong định luật III của Mendel.

Ví dụ, khi nghiên cứu đặc điểm di truyền của tính trạng hình dạng của quả bí đỏ, người ta đã tiến hành lai giữa 2 dòng có quả hình cầu-nguồn gốc khác nhau, đã phát hiện ra các gen điều khiển tính trạng này hoạt động tương tác bổ sung. Ta có:

| | | | |
|----------------|---------------------------|--------------------------|-------------------------|
| P | AA bb | x | aaBB |
| | Quả hình cầu | ↓ | Quả hình cầu |
| F ₁ | AaBb Quả hình đĩa | | |
| F ₂ | 9 A - B - quả hình đĩa | 3 A - bb quả hình cầu | 3 aaB - quả hình dài |
| | | | 1 aabb |

3. Hai gen trội khi ở trạng thái riêng rẽ không biểu hiện kiểu hình (có thể chúng tạo ra các sản phẩm trung gian), khi chúng được tập hợp vào trong một kiểu gen thì đó phối hợp với nhau và tạo ra một kiểu hình, kết quả thế hệ F₂ đó cho một tỷ lệ phân ly về kiểu hình 9 : 7. Nhiều tính trạng di truyền theo kiểu tương tác như thế này.

Ví dụ, ở cỏ 3 lá đã phát hiện ra dạng không chứa chất xianit và dạng chứa chất xianit (chất này có thể gây hại cho người và gia súc). Các nghiên cứu đã cho thấy, xianit được tổng hợp trong tế bào khi có mặt hai sản phẩm: Cơ chất linamarin (một loại glicozit) và enzym linamarase. Chúng được kiểm tra bởi 2 gen trội tương ứng là H và L. Khi 2 gen trội này cùng có mặt trong kiểu gen thì chất xianit được tạo thành. Thực hiện phép lai ta có:

| | | | |
|----------------|------------------------|----------|-------------------------|
| P | HH ll | x | hh LL |
| | Không xianit | ↓ | Không xianit |
| F ₁ | HhLl Có xianit | | |
| F ₂ | 9 H - L - Có xianit | 3 H - ll | 3 hhL - Không xianit |
| | | | 1 hlll |

Hiện tượng tương gen bổ sung như trên còn gặp trên nhiều tính trạng khác ở các loài sinh vật khác nhau. Ví dụ, ở đậu thơm trong thí nghiệm kinh điển của Bateson đã cho thấy, khi lai 2 loại đậu thơm có hoa trắng, thế hệ F₁ đã cho kiểu hình hoa đỏ và thế hệ F₂ cho tỷ lệ phân ly kiểu hình là 9 hoa đỏ : 7 hoa trắng. Trong trường hợp này để hình thành sắc tố đỏ cần có sự phối hợp của 2 sản phẩm (2 dạng sản phẩm này có mặt ở kiểu hình của 2 bố mẹ đưa vào phép lai này).

3.2.2. Hoạt động át chế (ức chế, lấn át)

Trong các trường hợp bình thường ta đã nghiên cứu, hoạt động trội-lặn của các gen cũng đã có một dạng hoạt động át chế hay ức chế của các gen, khi một gen trội đứng cạnh một gen lặn thì gen trội đó át chế hoàn toàn gen lặn, vì vậy kiểu hình ở thế hệ sau chỉ có trạng thái trội được biểu hiện ra bên ngoài. Khi các gen cùng tham gia điều khiển một tính trạng cùng nằm trên một nhiễm sắc thể thì không chỉ các alen trội mới át chế hoạt động của các alen lặn cùng locus mà còn có thể át chế hoạt động của alen trội khác nằm trên locus khác của nhiễm sắc thể và các alen lặn cũng có thể hoạt động át chế.

3.2.2.1. Hoạt động át chế trội

• Ở cây lanh, khi lai 2 dòng có cánh hoa dạng phẳng (bình thường), thế hệ F₁ cho cánh hoa bình thường, thế hệ F₂ đã thu được sự phân ly kiểu hình theo tỷ lệ 13 bình thường và 3 dạng gợn sóng. Ở đây gen trội B kiểm tra dạng cánh hoa gợn sóng thể hiện ra ngoài khi gen ức chế ở trạng thái lặn. Thực hiện phép lai ta sẽ có:

| | | | |
|----------------|---|--------|------------------------|
| P | IIBB Cánh hoa phẳng | x ↓ | iibb Cánh hoa phẳng |
| F ₁ | IiBb Cánh hoa phẳng | | |
| F ₂ | 9 cánh hoa phẳng I -B - 3 cánh hoa phẳng I -bb 1 cánh hoa phẳng ii bb | : | 3 cánh gợn sóng iiB- |
| Σ | 13 cánh hoa phẳng | : | 3 cánh gợn sóng |

• Trường hợp alen lặn của gen bị ức chế cũng cho thế hệ F₂ có tỷ lệ phân ly là 12 : 3 : 1.

Ví dụ, khi cho lai chó có màu lông trắng với chó có màu lông nâu, thế hệ F₁ chó có màu lông trắng hoàn toàn, thế hệ F₂ có sự phân ly theo tỷ lệ 12 lông trắng : 3 lông đen : 1 lông nâu. Như vậy, cặp gen bị ức chế B- cho lông màu đen trội so với b lông màu nâu, cặp gen này thể hiện khi gen ức chế ở trạng thái lặn:

| | | | |
|----------------|---------------------|--------|--|
| P | IIBB Lông trắng | x ↓ | iibb Lông nâu |
| F ₁ | IiBb Lông trắng | | |
| F ₂ | 9 -B- Lông trắng | : | 3 I-bb : 3 iiB- : 1 iibb lông đen lông nâu Lông nâu |

• Trường hợp một gen trội có hiệu quả biểu hiện kiểu hình, biểu hiện này có tác động ức chế (che khuất) biểu hiện kiểu hình của cặp gen thứ 2. Gen thứ 2 chỉ có thể thể hiện kiểu hình khi gen kia (gen ức chế) ở trạng thái lặn. Trong trường hợp này thể hiện F₂ cho tỷ lệ phân ly kiểu hình là 12 : 3 : 1.

Ví dụ, ở ngô gen R quy định tính trạng hạt có màu đỏ có tác dụng át chế gen Y quy định hạt màu vàng, các alen lặn quy định tính trạng không màu của hạt. Khi cho lai ngô có kiểu hình hạt đỏ với ngô có kiểu hình hạt không màu, thế hệ F₁ có kiểu hình hạt màu đỏ, thế hệ F₂ có sự phân ly kiểu hình theo tỷ lệ 12 đỏ : 3 vàng : 1 không màu.

| | | | | |
|----------------|--------------------|--------------|----------|---------------|
| P | RRYY Hạt màu đỏ | x | rryy | Hạt không màu |
| | | ↓ | | |
| F ₁ | | RrYy | | Hạt màu đỏ |
| F ₂ | 9 R-Y- : | 3 R- yy : | 3 rrY- : | 1 rryy |
| | Hạt màu đỏ | hạt màu vàng | | không màu |

3.2.2.2. Hoạt động át chế lặn

Ở chuột, khi nghiên cứu đặc điểm di truyền của tính trạng màu sắc lông người ta đã phát hiện rằng, nếu cho lai chuột đen với chuột trắng (bạch tạng), thế hệ F₁ cho chuột có lông màu xám, thế hệ F₂ sẽ có sự phân ly kiểu hình theo tỷ lệ 9 lông xám : 3 lông đen : 4 lông trắng. Kết quả này phản ánh hiện tượng cặp gen kiểm tra sự hình thành màu lông xám (B) và đen (b) chịu sự chi phối của cặp thứ 2 (cặp gen nền tảng) A- bảo đảm cho việc hình thành sắc tố và aa ức chế sự hình thành sắc tố. Hiện tượng đó được thể hiện trong phép lai sau:

| | | | | |
|----------------|----------------------|----------|------------|----------------|
| P | AABB Lông màu đen | x | aabb | Lông màu trắng |
| | | ↓ | | |
| F ₁ | | AaBb | | Lông màu xám |
| F ₂ | 9 A-B- : | 3A-bb : | 3aaB- : | 1aabb |
| | Lông xám | lông đen | lông trắng | |

3.3. HOẠT ĐỘNG ĐA HIỆU CỦA CÁC GEN

Trong các nghiên cứu của nhiều tác giả thường quan niệm một gen chỉ có tác động đến tính trạng, song trong cơ chế sống khi nhiều gen cùng nằm với nhau trên một nhiễm sắc thể thì đã xuất hiện hiện tượng một gen có tác động đến sự hình thành và phát triển của một số (nhiều) tính trạng. Hoạt động như vậy của gen được gọi là hoạt động đa hiệu (pleiotropic), nhiều nghiên cứu ở sinh vật đã thu nhận được hiện tượng này. Hoạt động này của các gen có thể là một gen tác động chủ yếu lên một tính trạng và đồng thời tác động lên một số tính trạng khác.

Ngay trong quá trình triển khai các thí nghiệm, Mendel đã nhận xét rằng, màu sắc hoa đỏ tím, vỏ hạt màu xám, các vết đỏ ở rìa lá đều phụ thuộc vào một nhân tố di truyền. Ở cây sung (*Auilegia vulgaris*) đã quan

sát thấy một gen có hiệu ứng đa hiệu tạo nên: Hoa màu đỏ, vỏ hạt trong suốt, nội nhũ màu sẫm, khối lượng hạt lớn. Ở khoai tây, gen tạo màu sắc củ đỏ cũng kéo theo biến đổi màu sắc ở hoa, . . . Trong hiệu ứng đa hiệu của gen, biểu hiện chính (tính trạng chủ chốt) dễ quan sát, các biểu hiện phụ thường khó phân biệt.

Hiệu ứng đa hiệu của gen có thể tạo nên những biểu hiện có lợi, đồng thời đôi khi cũng có thể gây ra những biểu hiện có hại. Điều này cần được lưu ý trong chọn giống.

Ở gà, đột biến lông xoắn do gen trội F quy định. Gà đồng hợp thể FF có lông xoắn và dễ bị rụng, mà khi lông rụng thì sẽ ảnh hưởng tới sự điều hoà thân nhiệt và vì vậy sẽ ảnh hưởng đến sức sống của chúng.

Ở các cây hoà thảo người ta đã quan sát thấy các đột biến erectoit có hiệu quả đa hiệu: Cây có đốt ngắn (thân ngắn), lá ngắn, lông và hạt ngắn.

Tóm lại, từ những phân tích ở các phần trên cho phép chúng ta có nhận xét sau:

1. *Biểu hiện của tính trạng như là kết quả của tác động thẳng, trực tiếp của một gen, tạo nên khuynh hướng tính trạng cơ bản - do một gen kiểm tra, chúng được di truyền cho thế hệ sau theo các quy luật Mendel. Những trạng thái biểu hiện khác nhau và ổn định của tính trạng cơ bản được kiểm tra bởi các trạng thái alen khác nhau của một gen (của một locus), những alen này có thể có quan hệ trội- lặn hoặc hoạt động độc lập.*

2. *Sản phẩm của gen, bên cạnh tác động theo một chuỗi, có thể đi vào những chuỗi tác động khác nhau, dẫn tới sự biểu hiện tính trạng ở những không gian và thời gian (giai đoạn) khác nhau của sự phát triển cơ thể. Kết quả này là hiệu ứng đa hiệu của gen, trong đó có thể tìm thấy biểu hiện chủ chốt và những biểu hiện phụ khó phân biệt hơn.*

3. *Thể hiện của tính trạng quan sát có thể là kết quả ảnh hưởng qua lại của nhiều gen theo các hoạt động tương tác gen: Bổ sung, ức chế, cộng gộp, . . . Như thế, tính trạng có thể được kiểm soát bởi 2 hay nhiều gen khác nhau, ở mỗi hiệu ứng tương tác tính trạng có đặc điểm phân ly xác định. Ở đây, các trạng thái thể hiện của một tính trạng có thể là gián đoạn -phân biệt nhau rõ ràng, mang tính chất lượng (tạo thành dãy biến động không liên tục).*

3.4. QUY LUẬT DI TRUYỀN CỦA CÁC GEN ĐA ALEN

3.4.1. Một số tính trạng do gen đa alen điều khiển

Trong các phần trên chúng ta đã thấy các gen tham gia điều khiển các tính trạng có hai mức độ hay trạng thái hoạt động khác nhau. Trội và lặn, trong đó mức độ trội hoạt động mạnh hơn mức độ lặn. Trong thực tế các gen điều khiển các tính trạng có thể có nhiều mức độ hoạt động hơn thế, các trạng thái thể hiện khác nhau của một gen trên 1 locus (các alen) được hình thành do đột biến gen. Các trạng thái khác nhau của một gen trên 1 locus là nguyên nhân tạo nên sự đa dạng di truyền ở quần thể sinh vật. Dưới đây là các ví dụ về một số dãy alen:

Gen điều khiển màu sắc lông, da, sừng, móng,... ở động vật có thể có các trạng thái như sau:

| | | | | | |
|-----|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------|
| A | a ^g | a ^v | a ⁵ | a ¹ | a |
| Đen | Xám | Vàng | Nâu | Trắng | Bạch tạng |

Điều này có nghĩa là gen điều khiển màu sắc ở đây có 5 mức độ hoạt động và có nghĩa là gen này có 5 alen, vì vậy gen này là một gen đa alen,

- Ở ruồi dấm có dãy đa alen kiểm tra màu mắt. Một kiểu hoang dại (W) có màu đỏ, đột biến của gen này tạo ra nhiều trạng thái thể hiện khác nhau của màu mắt:

| Ký hiệu | Kiểu hình | Ký hiệu | Kiểu hình |
|-----------------|--------------------|-----------------|------------------|
| W | màu đỏ (hoang dại) | W ^h | màu mật ong |
| w | màu trắng | w ^a | màu mơ |
| w ⁱ | màu ngà xương | w ^{ch} | màu lựu |
| w ^p | màu sáng kim | w ^c | màu cosin |
| w ^l | màu nhạt | w ^{bl} | màu máu |
| w ^{by} | màu sẫm | w ^{co} | màu đỏ hồng tươi |

Hoạt động của các thành viên trong dãy alen diễn ra phức tạp, có thể chúng có tương quan trội-lặn, alen lặn hoạt động yếu hơn cho sản phẩm ít hơn hoặc bị bất hoạt hoá. Các alen thành viên cũng có thể hoạt động độc lập trong việc tạo ra các sản phẩm khác nhau, có tác động khác nhau tới sự biểu hiện của kiểu hình.

- Tính trạng màu lông ở thỏ do gen C điều khiển, trạng thái đồng hợp trội CC tạo cho thỏ có bộ lông màu đen, đồng hợp c^hc^h là các thỏ có màu lông Himalai, đồng hợp các tạo cho thỏ bộ lông trắng và c^ac^a cho ra thỏ bạch tạng. Như vậy gen điều khiển màu lông ở thỏ có 4 alen (4 mức độ hoạt động) là C, c^h, c và c^a. Một nguyên tắc cơ bản của các alen trong dãy là các alen đứng trước đều trội so với alen đứng sau và khi tổ hợp lại với nhau trong phép lai thì chúng đều tuân theo các quy luật di truyền của Mendel.

- Nhóm máu ở động vật nói chung và ở người nói riêng là một trong những tính trạng do gen đa alen điều khiển.

Lansdener đã khám phá ra ở người có 4 nhóm máu A, B, O và AB hoặc nhóm máu M, N tạo ra các kiểu MM, MN và MN. Đại diện cho các nhóm máu là yếu tố kháng nguyên chứa trong hồng cầu và chống lại các yếu tố kháng nguyên là các yếu tố kháng thể chứa trong huyết tương của các cơ thể. Nếu một kháng nguyên gặp một kháng thể tương ứng thì phản ứng kháng nguyên - kháng thể sẽ xảy ra, hậu quả của phản ứng này là gây nên sự ngưng kết hồng cầu (làm đông vón máu) hoặc tan vỡ hồng cầu (tán máu). Phản ứng này nếu xảy ra trên địa kiểm tra máu thì nó có dấu hiệu cho ta biết có kháng nguyên (hay nhóm máu) tương ứng, còn nếu xảy ra trong cơ thể sống thì sẽ gây nguy hiểm và có thể dẫn tới tử vong.

Sở dĩ có các phản ứng như vậy là vì: Cơ thể động vật bao giờ cũng có phản ứng bảo vệ, mỗi khi có một vật lạ (vi trùng, vi khuẩn, protein lạ, . . .) từ ngoài cơ thể xâm nhập vào thì chúng liền xảy ra phản ứng gọi là phản ứng miễn dịch để tạo ra kháng thể chống lại các vật lạ-để tiêu diệt các vật lạ. Kháng nguyên chứa trong hồng cầu cũng là một loại prtein, nếu trong cơ

thể trong có kháng nguyên đó và nếu ta lại đưa kháng nguyên đó vào cơ thể (thông qua máu được tiếp) thì kháng nguyên được đưa vào trở thành một protein lạ (vật lạ), cơ thể sẽ xảy ra phản ứng miễn dịch tạo ra kháng thể tương ứng để tiêu diệt vật lạ này, trong trường hợp này là làm đông vón hoặc tán máu dẫn tới nguy hiểm cho người được tiếp máu.

Bảng sau đây sẽ trình bày các kết quả của phản ứng kháng nguyên-kháng thể

| Người cho → Người nhận ↓ | Nhóm máu A | Nhóm máu B | Nhóm máu AB | Nhóm máu O |
|-----------------------------|---------------|---------------|----------------|---------------|
| Nhóm máu A | - | + | + | - |
| Nhóm máu B | + | - | + | - |
| Nhóm máu AB | + | + | - | - |
| Nhóm máu O | + | + | + | - |

Ghi chú: - Không xảy ra phản ứng ngưng kết (tiếp máu được)

+ Xảy ra phản ứng ngưng kết (không được tiếp máu)

Một người có nhóm máu A thì trong hồng cầu sẽ có kháng nguyên A và trong huyết tương sẽ có kháng thể β , người có nhóm máu B thì trong hồng cầu có kháng nguyên B và trong huyết thanh sẽ có kháng thể α , người có nhóm máu AB thì trong hồng cầu có kháng nguyên A và kháng nguyên B, trong huyết thanh không có kháng thể nào, người có nhóm máu O thì trong hồng cầu huyết thanh không có kháng nguyên nào, trong huyết thanh có cả kháng thể β và kháng thể α .

Về mặt di truyền học, nhóm máu A, B, O và AB được điều khiển bởi một dãy đa alen. Nhóm máu A do cặp alen $I^A I^A$ điều khiển, nhóm máu B do một cặp alen $I^B I^B$ điều khiển. Mức độ hoạt động của các alen này là $I^A = I^B > i$. Do vậy ta có kiểu gen, kiểu hình của các nhóm máu như sau:

| | |
|------------------|-------------|
| Kiểu gen | Kiểu hình |
| $I^A I^A, I^A i$ | Nhóm máu A |
| $I^B I^B, I^B i$ | Nhóm máu B |
| $I^A I^B$ | Nhóm máu AB |
| ii | Nhóm máu O |

Nhờ sự đa dạng này mà trên thế giới có vô cùng ít các trường hợp các cá thể có hệ thống nhóm máu giống nhau, trừ trường hợp sinh đôi cùng trứng. Đặc điểm này của các gen đa alen nhóm máu là một căn cứ quan trọng cho nhiều ngành khoa học về xác định nguồn gốc, xác định bố mẹ, tìm kiếm thủ phạm trong khoa học hình sự.

Khi xem xét hệ thống Nhóm máu AB ($I^A I^B$), chúng ta thấy hai Nhóm máu này cũng tồn tại trong một cơ thể, nhiều alen điều khiển các nhóm máu khác cũng có đặc điểm tương tự. Tính chất cùng tồn tại như vậy của các gen (alen) trong di truyền gọi là *đồng trội*, không gen nào trội hơn hay lấn át gen nào. Như vậy rõ ràng ngoài các phương thức hoạt động của các gen trong việc điều khiển các tính chất như ta đã thấy ở các phần trước (trội - lặn, trùng hợp, ức chế, bổ sung, trội không hoàn toàn) thì nay ta biết thêm một hình thức hoạt động nữa của các gen đó là hoạt động *đồng trội*.

- Ở cỏ ba lá đã phát hiện ra dãy alen V kiểm tra tính trạng tạo nên kiểu hình trên lá, dãy alen của gen này gồm 7 thành viên: v, V¹, V^h, V^l, V^{ba}, V^b, V^y. Các dạng hình chiện khác nhau được tạo ra do những phối hợp khác nhau của 2 alen trong dãy.

- Trong phân tích hoá sinh người ta cũng phát hiện ra các dạng protein khác nhau do các alen khác nhau của một locus gen tạo ra các isoenzym. Những phân tử protein này có thể chỉ sai khác nhau bởi sự thay thế một số a.a, một số biến đổi về cấu trúc không gian hoặc sai khác ở các vùng trung tâm chức năng của protein, . . . Từ đó có thể làm thay đổi hoạt tính chức năng của chúng.

Những locus có các trạng thái alen khác nhau như vậy được gọi là locus đa hình (polymorphism). Chúng được phát hiện khi nghiên cứu ở nhiều cá thể của một hay nhiều quần thể khác nhau. Trong quần thể của một loài sinh vật, sự tồn tại của nhiều locus có các trạng thái alen khác nhau đó tạo nên nền tảng của tiềm năng biến dị tổ hợp vô cùng lớn. Giả sử có n locus phân ly độc lập, mỗi locus có k trạng thái alen, đa dạng di truyền của trường hợp này như sau:

| | | | | | |
|--------|---|---|---|-------|---|
| a | b | c | d | . . . | locus |
| | | | | | . . . n |
| a | b | c | d | | |
| 1 | 1 | 1 | 1 | | |
| a | b | c | d | | - Số kiểu giao tử có thể hình thành là k ⁿ |
| 2 | 2 | 2 | 2 | | |
| a | b | c | d | | |
| 3 | 3 | 3 | 3 | | |
| . | . | . | . | | - Số tổ hợp kiểu gen lưỡng bội có thể tạo thành là (k ⁿ) ² |
| . | . | . | . | | |
| a | b | c | d | | |
| n | n | n | n | | |
| k alen | | | | | |

- *Alen gây chết*

Nhiều alen lặn xuất hiện do đột biến có hiệu quả gây chết khi ở trạng thái đồng hợp tử, ví dụ: đột biến bạch tạng ở thực vật gây mất khả năng tổng hợp chlorophyl, dẫn tới gây chết cây, . . . Bên cạnh đó, người ta đã quan sát thấy một số alen trội, khi ở trạng thái dị hợp thể thì tạo tính trạng bình thường, song khi ở trạng thái đồng hợp thể lại gây chết tương tự như trường hợp đồng thể lặn.

Ví dụ, ở chuột vàng khi lai 2 dạng chuột vàng với nhau, đời con có sự phân ly kiểu hình 2 vàng : 1 đen. Alen A^y khi ở trạng thái dị hợp cho ra màu lông vàng, còn kiểu đồng hợp A^yA^y có hiệu quả gây chết ở giai đoạn phôi, alen a quy định màu lông đen. Chúng ta có sơ đồ:



| | | | |
|--------------------------------|------|-------------------|------------|
| | Vàng | ↓ | Vàng |
| 1A ^y A ^y | : | 2A ^y a | : |
| Chết | | Vàng | 1aa Đen |

3.4.2. Gen đa alen gây tự bất hợp ở thực vật

Ở nhiều loại thực vật người ta đã quan sát thấy hiện tượng hạt phấn không thể thụ phấn cho nhụy cái của chính cây đó (có cùng kiểu gen), người ta gọi đó là hiện tượng tự bất hợp. Hiện tượng tự bất hợp được xem như là phản ứng xảy ra giữa hạt phấn và vòi nhụy cái khi thụ tinh, phản ứng này sẽ ngăn cản sự vươn dài của ống phấn để đưa tinh trùng vào tới túi phôi.

Các nghiên cứu đã xác định bản chất di truyền của hiện tượng tự bất hợp-nó được kiểm tra bởi một dãy đa alen tự bất hợp S (Sterile). Người ta đã phân biệt tương tự bất hợp ra làm 2 trường hợp.

3.4.2.1. Tự bất hợp giao tử

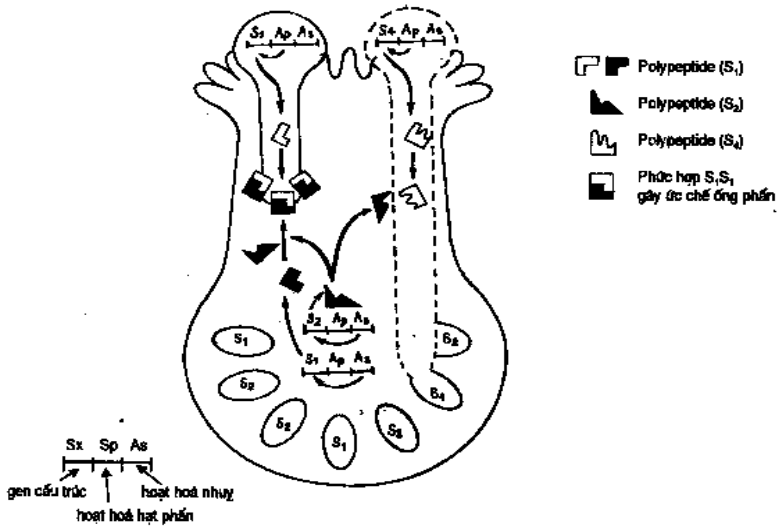
Các thành viên trong dãy alen S có tác động độc lập. Bản chất di truyền (kiểu gen) của chính giao tử đực, cái kiểm tra phản ứng tự bất hợp. Khi hạt phấn và noãn có alen S giống nhau, phản ứng tự bất hợp sẽ xảy ra. Khi các alen này ở hạt phấn và noãn khác nhau, thì sẽ không xảy ra phản ứng tự bất hợp. Nhìn chung, tự bất hợp giao tử thể thường gặp ở các loài có hạt phấn chín thuộc dạng 2 nhân (Nicotiana, Trifolium, Petunia, Prunus, Phsalis, . . .). Locus S có thể một số lượng lớn alen: ở thuốc lá có khoảng 16 alen, ở cỏ 3 lá khoảng 41 alen và có thể còn lớn hơn nữa.

Mỗi locus S chứa ít nhất hai thành phần chức năng: Gen cấu trúc mã hoá protein đặc trưng cho alen S, S₁, S₂, S₃, . . . S_n). Đoạn ADN hoạt hoá gen cấu trúc A₁ giành cho hạt phấn và A_S giành cho nhụy (Hình 3.5). Khi lai sản phẩm protein ở ống phấn và noãn tương hợp (do có các alen S giống nhau kiểm tra) chúng sẽ phối hợp với nhau tạo thành sản phẩm có hoạt tính ức chế sự phát triển của ống phấn. Ngược lại, khi 2 sản phẩm khác nhau thì sẽ không xảy ra phản ứng ức chế ngăn cản ống phấn.

Dưới đây sẽ trình bày sự hình thành hợp tử cho một số trường hợp giao phối:

- Tự thụ:

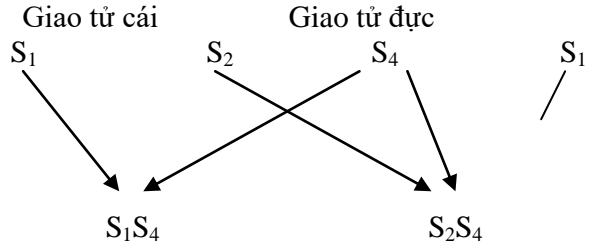
Cái S₁S₂ x đực S₁S₂. Các alen ở giao tử đực và cái đều giống nhau, vì vậy sẽ xảy ra phản ứng bất hợp hoàn toàn, hợp tử sẽ không hình thành.



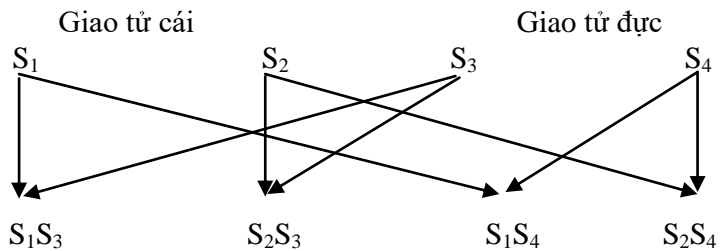
Hình 3.5. Sơ đồ diễn tả sự hoạt động của hệ thống tự bất hợp giao tử thể

• Giao phần chéo:

- Cái S_1S_2 x đực S_1S_4 . Trường hợp này phản ứng bất hợp xảy ra theo sự ngăn cản ống phấn mang alen S_1 , Ống phấn mang alen S_4 không bị ngăn cản, nó đưa được tinh trùng vào túi phôi để thụ tinh, ta có sơ đồ sau:



- Cái S_1S_2 x đực S_3S_4 , Trường hợp này các alen S ở giao tử đực và giao tử cái hoàn thành khác nhau. Phản ứng tự bất hợp không xảy ra.



3.4.2.1. Tự bất hợp bào tử thể

Ở trường hợp này, các thành viên trong dãy alen S có quan hệ trội lặn (trội lặn từng cặp hay tuần tự). Tự bất hợp tử thể là trường hợp xảy ra theo phản ứng giữa hạt phấn và mô ($2n$) của vòi nhụy cái. Khi trong kiểu gen của mô vòi nhụy cái chỉ cần có một trong hai alen S thể hiện trội so

với alen S ở hạt phấn thì hạt phấn đó sẽ không phát triển được trong ống phấn. Tự bất hợp bào tử thể thường gặp ở các loài cải. Ví dụ, ở bắp cải đã phát hiện tới khoảng 30 alen S. Ở đây cần lưu ý, tính trội của alen S là sự thể hiện tương đối, ngay cả đối với alen sự thể hiện trội của nó nhiều khi không giống nhau ở nhụy cái và ở hạt phấn.

Hiện tượng bất hợp bào tử có thể biểu hiện theo các kiểu tác động khác, đó là phản ứng giữa hạt phấn và lớp tế bào đầu tiên của nhụy cái xảy ra ngay khi hạt phấn rơi trên vòi nhụy cái. Sự tương hợp được diễn ra khi trên bề mặt của đầu nhụy cái có tiết ra hợp chất cho phép phấn nảy mầm ở nhụy cái và vươn dài ống phấn.

- Các giải pháp nhằm khắc phục tính bất hợp lý và ý nghĩa:

Để khắc phục hiện tượng bất hợp, người ta có thể áp dụng nhiều giải pháp khác nhau:

- Thụ phấn vào giai đoạn hoa còn non, thụ phấn muộn, tác động của nhiệt độ cao và một số hoá chất như CO₂, xử lý bằng một số chất hormon sinh trưởng như AIA, ANA, . . .

- Chuyển cây sang dạng tứ bội, tiến hành làm gần sinh lý bằng cách ghép cây thuận nghịch, thụ phấn bằng hỗn hợp hạt phấn, cắt bỏ mô đầu vòi nhụy cái rồi mới thụ phấn.

Hiện tượng bất hợp ở thực vật có ý nghĩa lớn trong tiến hoá. Nó là một trong các cơ chế di truyền kiểm tra sự thụ phấn chéo ở thực vật. Trong một quần thể, khi hiện tượng tự bất hợp xảy ra hoàn thành thì quần thể sẽ bao gồm toàn bộ các cá thể dị hợp thể. Những hiểu biết của chúng ta về bản chất và các biện pháp khắc phục hiện tượng tự bất hợp có ý nghĩa rất quan trọng trong công tác chọn tạo giống và đặc biệt là trong việc sản xuất hạt giống của các cây trồng có hiện tượng này.

3.5. QUY LUẬT DI TRUYỀN CỦA CÁC TÍNH TRẠNG SỐ LƯỢNG

Sau bước đột phá quan trọng của Mendel trong việc phát hiện ra ba quy luật di truyền ở các tính trạng chất lượng, nhiều nhà nghiên cứu đã theo ông và cũng đã phát hiện ra nhiều hiện tượng di truyền của nhiều loại tính trạng khác ở sinh vật. Năm 1908, Nilsson Ele đã phát hiện ra nguyên lý di truyền của các gen đồng vị. Hiện tượng di truyền này biểu hiện ở sự phát triển của tính trạng do hoạt động của nhiều gen tác động cùng chiều, nhóm các tính trạng như vậy về sau được gọi là các tính trạng số lượng, ví dụ như kích thước của cơ thể, mức độ biểu hiện của màu sắc, năng suất của cây trồng và vật nuôi,....

Các tác giả đã đi sâu nghiên cứu sự di truyền của các tính trạng số lượng có Lan (1911), East (1910, 1916), Ratmusen (1933), Maze (1941),. . . Trong những năm gần đây, Maze đã có nhiều công hiến lớn về lý thuyết di truyền đa gen. Ông đã sử dụng rộng rãi các phương pháp thống kê để phân tích các kết quả nghiên cứu trong lĩnh vực tính trạng số lượng. Qua nghiên cứu các tác giả đã phát hiện ra các đặc điểm di truyền của tính trạng số lượng.

3.5.1. Khái niệm về tính trạng số lượng

Nói chung các tính trạng số lượng là các tính trạng thuộc về khả năng sản xuất của cây trồng, vật nuôi và chúng là những tính trạng có ý nghĩa kinh tế quan trọng, do đó được các nhà nghiên cứu rất quan tâm. Tính trạng số lượng là những tính trạng có thể *cân, đong, đo, đếm* được, ví dụ: Các chiều đo của cơ thể, khối lượng, tỷ lệ mỡ trong thân thịt, số trứng đẻ ra, . . ., của các loài vật nuôi, giống cây trồng.

Tính trạng số lượng và tính trạng chất lượng có nhiều tính chất khác nhau, tuy nhiên những sự khác nhau này giữa chúng cũng không có ranh giới một cách tuyệt đối. Những sự khác nhau cơ bản của 2 nhóm tính trạng này như sau:

Tính trạng chất lượng

1. Do một gen (biểu hiện dưới dạng gen cơ bản) hay một số ít gen kiểm tra
2. Di truyền có tính chất gián đoạn
3. Ổn định, ít biến động dưới tác động của các yếu tố ngoại cảnh
4. Có thể phân biệt các kiểu hình bằng quan sát bình thường
5. Trong chọn giống, tiến hành chọn lọc các tổ hợp gen mới, thu nhận các gen mới (introgression)

.....

Tính trạng số lượng

1. Do hai hay nhiều gen kiểm tra, có các kiểu tương tác để quy định độ lớn của tính trạng
2. Di truyền có tính chất liên tục
3. Kém ổn định, biến động mạnh dưới tác động của các yếu tố ngoại cảnh
4. Để xác định cần sử dụng các phương pháp cân, đong, đo, đếm,...
5. Trong chọn giống, tiến hành chọn lọc các tăng tiến (chọn giống transgression).

.....

Tính trạng số lượng là các tính trạng chịu sự điều khiển của hệ thống *nhiều gen-đa gen (polygen)*.

Tính trạng số lượng *chịu tác động lớn của các điều kiện ngoại cảnh* hay nói cách khác là chúng thường có *hệ số di truyền thấp*. Vì vậy trong điều kiện ngoại cảnh thuận lợi thì tiềm năng di truyền của tính trạng được phát huy cao độ, ngược lại trong điều kiện không thuận lợi thì tiềm năng di truyền của tính trạng sẽ bị hạn chế. Đây là đặc điểm gây cho tính trạng số lượng có *biến dị không di truyền rất lớn*. Tuy nhiên những biến dị do các yếu tố di truyền gây nên đối với các tính trạng số lượng, phần lớn chỉ là những biến dị thường hay là những biến dị không di truyền.

Sự di truyền của các tính trạng số lượng có thể cũng *tuân theo các quy luật cơ bản của Mendel*, tuy nhiên chúng chịu sự chi phối của các quy luật riêng nhiều hơn: *Di truyền trung gian, phân ly tăng tiến, cộng gộp tích lũy, đặc biệt là chịu tác động lớn của các điều kiện ngoại cảnh*.

Phân phối các giá trị của các tính trạng số lượng có thể theo 2 cách: *Phân phối liên tục (khi xem xét tính trạng với các giá trị trung bình) hoặc phân phối không liên tục (khi xem xét tính trạng ở mức độ cá thể)* trên trục số.

Để nghiên cứu các đặc điểm di truyền và biến dị của các tính trạng số lượng, chúng ta phải sử dụng *phương pháp thống kê sinh vật học*.

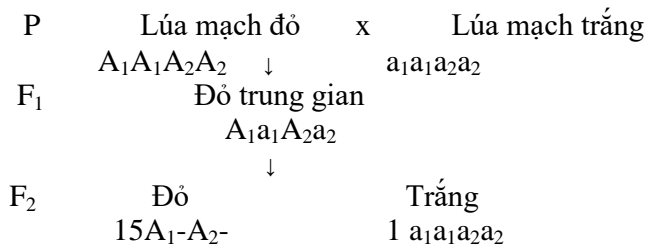
3.5.2. Các đặc trưng di truyền của các tính trạng số lượng

3.5.2.1. Sự di truyền đa gen

Năm 1908, trong khi tiến hành nghiên cứu về lúa mạch, Nilson Ele đã phát hiện những hiện tượng khác thường trong phân ly của các kiểu hình và từ đó ông phát hiện ra tính trạng màu sắc của hạt lúa mạch được điều khiển bởi nhiều gen.

Nilson Ele đã cho tạp giao lúa mạch đỏ và lúa mạch trắng, ông đã thu được các cá thể ở thế hệ F₁ có màu sắc trung gian giữa bố và mẹ. Nhưng ở thế hệ F₂ đã xảy ra sự phân ly rất khác nhau giữa các giống khác nhau, một số giống đã xuất hiện tỷ lệ phân ly 15 đỏ: 1 trắng và một số giống lại đã xuất hiện sự phân ly 63 đỏ: 1 trắng.

Theo Nilson thì sở dĩ có sự phân ly như vậy là do tác động giống nhau của một số gen khác nhau lên một tính trạng, trong đó có hai hay nhiều hơn các gen trội (*gen hoạt động tích cực*) ở những cặp gen khác nhau. Sự biểu hiện kiểu hình của tính trạng phụ thuộc vào số lượng các *gen hoạt động tích cực* có trong kiểu gen của cơ thể. Theo nghiên cứu của Nilson, số *gen hoạt động tích cực* trong kiểu gen càng nhiều thì màu sắc của hạt lúa mạch càng đậm, chỉ có kiểu gen bao gồm toàn bộ các *gen hoạt động không tích cực* thì hạt lúa mạch mới có màu trắng.



Trong 15 tổ hợp gen cho ra kiểu hình màu đỏ, thì độ đậm nhạt của màu đỏ ở hạt lúa mạch phụ thuộc vào số lượng các gen trội có trong kiểu gen.

Nếu triển khai chi tiết các kiểu gen của 16 tổ hợp kiểu hình ta sẽ thấy chúng cụ thể như sau:

- | | |
|----------------------------------|------------------------------|
| 1 tổ hợp chứa 4 gen trội | $A_1A_1A_2A_2$ |
| 4 tổ hợp chứa 3 gen trội | $A_1A_1A_2a_2, A_1a_1A_2A_2$ |
| 6 tổ hợp chứa 2 gen trội | $A_1a_1A_2a_2$ |
| 4 tổ hợp chứa 1 gen trội | $A_1a_1a_2a_2, a_1a_1A_2a_2$ |
| 1 tổ hợp không chứa gen trội nào | $a_1a_1a_2a_2$ |

Nhìn vào đây số lượng của các kiểu gen ta thấy chúng tuân theo nhị thức Newton $(a+b)^n$, trong đó a là gen tích cực và b là gen không tích cực và n là số alen tham gia điều khiển tính trạng.

Trong trường hợp tính trạng được điều khiển bởi 2 đôi gen, chúng ta sẽ có:

$$(a+b)^4 = a^4 + 4a^3b + 6a^2b^2 + 4ab^3 + b^4$$

Như vậy, trong 4 loại kiểu hình màu đỏ tương ứng với 4 nhóm kiểu gen thì kiểu gen $A_1A_1A_2A_2$ cho màu đỏ đậm nhất kế tiếp đến nhóm kiểu gen $A_1A_1A_2a_2, A_1a_1A_2A_2$, nhóm kiểu gen $A_1a_1A_2a_2$ cho mức độ đỏ trung gian, nhóm kiểu gen $A_1a_1a_2a_2, a_1a_1A_2a_2$ cho màu đỏ nhạt và kiểu gen $a_1a_1a_2a_2$ sẽ cho hạt lúa mạch màu trắng.

Trong một trường hợp khác, Nilson lại thu tỷ lệ phân ly là 63 kiểu hình hạt lúa mạch đỏ và 1 kiểu hình hạt lúa mạch trắng. Rõ ràng trường hợp này không thể chỉ do 2 đôi gen điều khiển. Sử dụng nhị thức Newton để phân tích Nilson đã nhận ra rằng, trường hợp này phải do 3 đôi gen điều khiển, có nghĩa là số alen *hoạt động tích cực* phải là 6. Áp dụng nhị thức Newton ta có:

$$(a+b)^6 = a^6 + 6 a^5b + 15 a^4b^2 + 20 a^3b^3 + 15 a^2b^4 + 6 ab^5 + b^6$$

Sự phân ly về mức độ đậm nhạt của màu đỏ ở hạt lúa mạch lúa này đã có tới 6 mức chứ không còn là 4 mức như trường hợp 2 đôi gen tham gia điều khiển tính trạng như ở trên nữa.

Trên cơ sở của các kết quả nghiên cứu thu được Nilson đã nhận xét, tính trạng màu sắc của hạt lúa mạch là do 1 hệ thống *nhiều gen-đa gen (polygen)* điều khiển. Đây là một trong những đặc trưng của các tính trạng số lượng, các tính trạng được điều khiển bởi *đa gen*.

Sở dĩ như vậy là vì mỗi alen gen hoạt động tích cực đều có những đóng góp như nhau vào sự tạo nên kiểu hình của tính trạng, hoạt động đóng góp của các alen vào kiểu hình của tính trạng được gọi là mức độ hay khả năng *cộng gộp tích lũy* (d):

$$d = \frac{\text{Giá trị kiểu hình cao} - \text{Giá trị kiểu hình thấp}}{\text{Số gen trội tham gia điều khiển tính trạng}}$$

Ví dụ: Một giống bí đỏ A có khối lượng quả chín là 3.000 g/quả cho lai với giống bí đỏ B có khối lượng quả chín là 2.000 g/quả, giả sử tính trạng này được điều khiển bởi 5 đôi gen. Khả năng cộng gộp tích lũy của mỗi gen trội trong tính trạng này là bao nhiêu?

$$d = \frac{3.000 - 2.000}{5 \times 2} = 100 \text{ g/gen}$$

Như vậy, nếu trong kiểu gen có thêm 1 gen trội giá trị kiểu hình sẽ tăng thêm 100g, dãy biến thiên của các giá trị kiểu hình tương ứng với các kiểu gen khác nhau của quần thể từ thế hệ F_2 trở đi sẽ có từ giá trị kiểu hình của bố (hoặc mẹ) thấp nhất đến giá trị kiểu hình của mẹ (hoặc bố) cao nhất (từ 2.000 g/quả đến 3.000 g/quả).

3.5.2.2. Quy luật di truyền trung gian

Khi cho tạp giao giữa các cá thể của 2 giống khác nhau, đặc biệt là giữa 2 giống có sự khác nhau về các tính trạng số lượng như: Khối lượng hay năng suất, khả năng sinh trưởng, khả năng sinh sản,... thì ta sẽ thu được các con lai ở các thế hệ lai (F_1, F_2, \dots) có giá trị của tính trạng trung gian giữa giá trị tính trạng của giống bố và giống mẹ. Tuy nhiên, sự trung gian ở đây chỉ có tính chất tương đối chứ không phải là trung bình cộng. Có nghĩa là giá trị tính trạng của các con lai sẽ dao động xung quanh giá trị trung bình của hai giống.

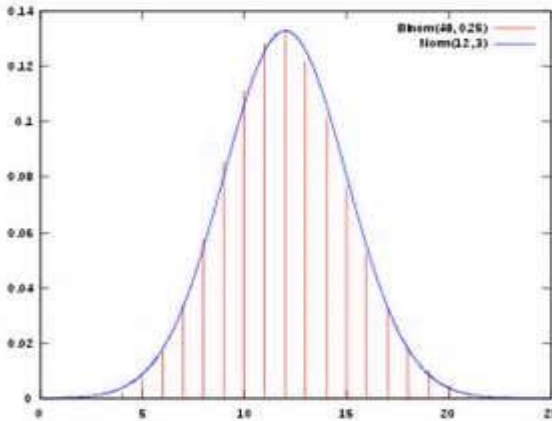
Ví dụ: Ta cho 2 giống bí đỏ ở ví dụ trên lai với nhau, ta sẽ thu được bí đỏ lai các thế hệ lai với khối lượng trưởng thành là:

$$P_F \approx \frac{3.000 + 2.000}{2} \approx 2.500 \text{ g/quả}$$

Có nghĩa là khối lượng chín của bí đồ lai F_1, F_2, \dots đều sẽ là vào khoảng 2.500 g/quả, khối lượng cụ thể của từng quả bí F_1 có thể dao động xung quanh giá trị 2.500 g/quả (2.515, 2.510, 2.520, 2.490, 2.475, 2.489, ...), từ đời F_2 trở đi thì khối lượng của các quả bí sẽ có biên độ dao động từ 2.000 g/quả đến 3.000 g/quả (2.000, 2.100, 2.150, 2.210, ..., 2.900, 2.960, 3.000). Với những sự biến động của các giá trị khối lượng của các cá thể như vậy, khi xử lý thống kê ta sẽ thấy giữa chúng có các độ lệch tiêu chuẩn (σ) của các giá trị trung bình rất khác nhau. Có thể dựa vào đặc điểm này để ta phân biệt các kết quả nghiên cứu thuộc về thế hệ lai nào.

Sự phân bố của các giá trị quan trắc được ở các tính trạng thuộc tính trạng số lượng thường tuân theo luật phân bố chuẩn-phân bố hình chuông, đặc biệt khi các quan trắc là của các quần thể từ thế hệ thứ 2 (F_2) trở đi. Nếu ta biểu diễn các giá trị và tần suất của các quan trắc bằng đồ thị thì chúng luôn luôn có dạng như trên Hình 3.8.

Tuy nhiên, một số tính trạng quan trọng khác lại có sự phân bố khác với phân bố chuẩn. Đó là trường hợp phân bố mà một số lượng lớn lại tập trung ở mức



Hình 3.8. Mô hình đồ thị phân phối chuẩn

dù phân phối của các giá trị kiểu hình không phải là phân phối chuẩn, nhưng chúng vẫn được chi phối bởi hệ thống đa gen.

3.5.2.2. Phân ly tăng tiến

Đối với các tính trạng số lượng, khi cho tạp giao giữa 2 giống, 2 dòng,... có sự khác nhau nhất định về một hoặc một số tính trạng nào đó thì thế hệ sau các con lai F_1 bao giờ cũng có giá trị tính trạng ở mức trung gian giữa giống bố và giống mẹ. Tuy nhiên, khi cho các cá thể F_1 tự phối (tự giao) thì con lai thế hệ F_2 sẽ xuất hiện những cá thể có giá trị kiểu hình vượt ra ngoài giới hạn về giá trị kiểu hình của bố và mẹ. Hiện tượng như vậy của các con lai được gọi là *phân ly tăng tiến*.

Ví dụ, có 2 giống cam trồng trong điều kiện bình thường, khi chín giống A có khối lượng quả là 200 g/quả và giống B có khối lượng quả là 300 g/quả. Cho hai giống cam này lai với nhau để thu cây lai F_1 , sau đó cho các cây lai F_1 tự giao với nhau để thu cây F_2 . Chúng ta có sơ đồ lai như sau:

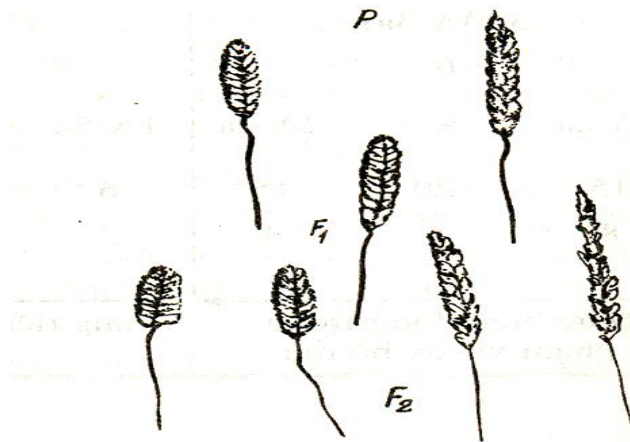
P Giống A x Giống B

| | | | |
|-------------------------|----------------|---|-----------|
| Kiểu gen | AAbb | ↓ | aaBB |
| Giá trị KH | 200 g/quả | | 300 g/quả |
| F ₁ Kiểu gen | AaBb | | |
| Giá trị kiểu hình | ≈ 250 g/quả | | |
| | ↓ | | |
| | F ₂ | | |

| | | | | | | | |
|----------|--------------------|------|---------|------------|------|------|------|
| Kiểu gen | AABB | AABb | AaBB | AaBb | Aabb | aaBb | aabb |
| | kiểu hình > bố, mẹ | | ≈ 250 g | KH < bố mẹ | | | |

Sở dĩ có hiện tượng các giá trị kiểu hình của các con lai từ thế hệ F₂ trở đi vượt ra ngoài giới hạn giá trị kiểu hình của bố và mẹ là vì: Giá trị kiểu hình ngoài phần chung (μ) thì phần còn lại là do đóng góp của các gen hoạt động tích cực, mà ta đã thấy ở giống bố cũng như mẹ mỗi bên chỉ có 2 alen hoạt động tích cực, trong khi đó ở thế hệ F₂ trở đi thì trong các kiểu gen của chúng đã có các nhóm cá thể có nhiều hơn hoặc ít hơn 2 alen hoạt động tích cực trong kiểu gen. Những kiểu như vậy sẽ có giá trị kiểu hình của tính trạng vượt lên trên giá trị kiểu hình cao nhất hoặc xuống thấp hơn giá trị kiểu hình thấp nhất của thế hệ xuất phát.

Trong thực tế khi cho lai các giống lúa mì với nhau người ta đã thu được kiểu phân ly tăng tiến ở quần thể F₂ về hình dạng bông. Các hình ảnh dưới đây sẽ cho chúng ta thấy điều đó.



Hình 3.9. Phân ly tăng tiến xảy ra khi lai hai giống lúa mì khác nhau về dạng bông. Ở cây F₂ thu được cây có biểu hiện mạnh hơn bố mẹ về độ xếp sít của hạt và độ rộng của bông (trái) và chiều dài bông (phải)

3.5.3. Các tính trạng tổng hợp

Có rất nhiều tính trạng số lượng như khả năng sản xuất của vật nuôi, cây trồng, ví dụ: Năng suất của cây trồng (lúa, ngô, lạc, đậu), . . . Chúng là những sự kết hợp của nhiều tính trạng thành phần.

Ví dụ: Khả năng sản xuất của cây trồng là một tính trạng tổng hợp, nó liên quan đến nhiều tính trạng thành phần khác như:

+ Số quả/cây,
 + Số cây/m²

+ Số quả chắc/cây,
 + Khối lượng/quả,

3.5.4. Biến thiên-Sự sai khác của tính trạng số lượng

Biến thiên giá trị của các tính trạng số lượng là chìa khoá đem lại tiến bộ di truyền. Nếu tất cả vật nuôi hay cây trồng trong một giống có sự giống nhau hoàn toàn về kiểu gen (dòng thuần) dẫn tới giống nhau hoàn toàn về kiểu hình thì chúng ta sẽ không thể phân biệt được những cá thể tốt hơn hay kém hơn để có thể áp dụng chọn lọc các cá thể tốt hơn làm bố mẹ để cho ra các thế hệ sau tốt hơn. Sự biến thiên của các tính trạng số lượng được gây ra bởi các nguyên nhân sau đây:

- Sự khác nhau về dòng, giống,
- Sự khác nhau về tổ hợp lai giữa các dòng, giống,
- Sự khác nhau về kiểu gen của các cá thể trong cùng giống, dòng hay tổ hợp lai.

Sự khác nhau ở đây có nghĩa là những sự sai khác trước hết về kiểu gen, nguồn gốc của tiềm năng di truyền-tiềm năng của dòng-giống, không phải sự khác nhau về yếu tố ngoại cảnh. Tuy nhiên, như chúng ta đã biết, kiểu hình của sinh vật bao giờ cũng được tạo nên bởi sự tương tác giữa kiểu gen và ngoại cảnh (P = G + E). Do vậy, để có thể so sánh giữa các dòng/giống, giữa các cá thể, chúng phải được tiến hành nuôi/trồng trong điều kiện ngoại cảnh giống nhau. Tốt hơn hết là mọi nhóm sinh vật nghiên cứu phải được sống trong cùng hoàn cảnh: Cùng địa điểm, cùng thời gian, cùng điều kiện thổ nhưỡng, chăm sóc, quản lý, khai thác, . . .

Để chứng minh cho vai trò của sự biến thiên hay sự sai khác giữa các cá thể và mối liên quan của nó với chọn lọc, chúng ta hãy xem xét số liệu trên Bảng 3.1 về khối lượng và mức ăn vào của chuột ở 21 ngày tuổi.

Bảng 3.1. Khối lượng cai sữa khả năng ăn vào của chuột lúc 21 ngày tuổi

| | | | | | | | | |
|-----------------------|----|----|----|----|----|----|----|----|
| Chuột số | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Lượng ăn vào (g/ngày) | 22 | 21 | 30 | 28 | 26 | 20 | 25 | 22 |
| Khối lượng (g) | 56 | 65 | 51 | 77 | 61 | 72 | 80 | 44 |
| Chuột số | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 |
| Lượng ăn vào (g/ngày) | 21 | 29 | 25 | 29 | 26 | 23 | 29 | 21 |
| Khối lượng (g) | 79 | 67 | 57 | 61 | 72 | 51 | 87 | 59 |

Khi nhìn vào bảng số liệu trên, chúng ta phát hiện ra sự sai khác của 2 tính trạng: Lượng ăn vào thấp nhất là 20 g/ngày và cao nhất là 30 g/ngày; khối lượng cao nhất và thấp nhất tương ứng là 87 và 44 g/con. Như vậy khoảng biến thiên về khối lượng có vẻ cao hơn lượng ăn vào (43 g so với 10 g). Tuy nhiên, khi phân tích tỷ mỉ thì lại là không phải như vậy, do vậy khoảng biến thiên không phải là thông số tốt nhất để so sánh sự biến thiên của các tính trạng với nhau, vì vậy chúng ta phải sử dụng tham số thống kê khác.

Tham số thống kê được lựa chọn ở đây là phương sai (σ^2) và độ lệch chuẩn (σ). Phương sai có ký hiệu là V (variance) hoặc σ^2 và độ lệch chuẩn ($\sigma = SD$, standard deviation) là những tham số thống kê giúp ta so sánh tốt hơn sự biến thiên/biến động của các số liệu. Công thức tính phương sai như sau:

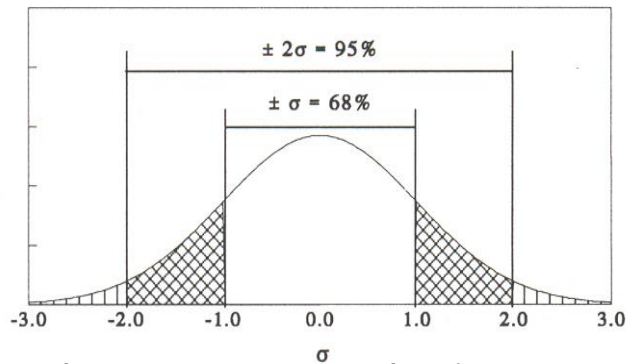
$$\sigma^2 = \frac{(x_1 - \bar{X})^2 + (x_2 - \bar{X})^2 + \dots + (x_n - \bar{X})^2}{n-1} = \frac{\sum (x_i - \bar{X})^2}{n-1}$$

Trong đó:

- x_i là giá trị kiểu hình thu được từ cá thể thứ i trong tổng n cá thể của quần thể.

Trung bình lượng ăn vào của 16 cá thể trong bảng 6.1 là 24,8 và phương sai là 11,8. Trung bình khối lượng của chuột là 69,4, phương sai là 146,41 và SD là 12,1. Nhìn vào các chỉ số thống kê vừa tính toán được như vậy, chúng ta cũng chưa thật sự đánh giá được một cách chính xác tình trạng nào trong 2 tình trạng có sự biến thiên cao hơn hay thấp hơn tình trạng kia, vì các giá trị ở đây đang có đơn vị đo là bình phương (g^2). Để chuyển đơn vị của số đo của sự biến thiên của tình trạng về cùng đơn vị của số đo của tình trạng chúng ta lấy căn bậc hai ($\sqrt{\quad}$) của phương sai và tham số này gọi là độ lệch tiêu chuẩn (σ).

Đặc trưng về di truyền trung gian và sự phân bố theo hình chuông hay phân bố chuẩn của các giá trị kiểu hình của tính trạng số lượng được thể hiện theo đường cong Gauss (Hình 3.10).



Hình 3.10. Phân bố Gauss (còn gọi là phân bố chuẩn) trong đó 68% số cá thể có giá trị trong khoảng $\pm\sigma$ và 95% trong khoảng $\pm 2\sigma$, 99% trong khoảng $\pm 3\sigma$.

Công thức mô tả đường cong Gauss hay phân phối chuẩn như sau:

$$p(x) = \frac{1}{\sqrt{2\pi\sigma^2}} e^{-\frac{(x-\mu)^2}{2\sigma^2}}$$

Trong đó:

- μ là trung bình của sự phân bố của quần thể.
- σ độ lệch chuẩn của phân phối.
- $p(x)$ là xác suất của một quan trắc x .

Nói chặt chẽ hơn, vùng dưới đường cong từ $(x - \lambda)$ đến $(x + \lambda)$, trong đó λ là một số rất nhỏ.

Qua phân bố trên chúng ta thấy, phần lớn các giá trị về khối lượng của chuột nằm xung quanh giá trị trung bình, một số có giá trị cao hơn hẳn và một số có giá trị thấp hơn hẳn. Đường cong Gauss thể hiện sự phân bố chuẩn và cho phép xác định xác suất của một giá trị nhất định nào đó. Ví dụ 50% số cá thể có giá trị cao hơn giá trị trung bình và 50% số cá thể có giá trị thấp hơn giá trị trung bình (trung bình ở đây tương đương với trung vị). Độ lệch chuẩn cũng có thể xác định từ đường cong Gauss, vì độ lệch chuẩn thể hiện giá trị của tính trạng, nó trực tiếp cho thấy sự biến thiên của tính trạng cao hay thấp.

Hơn thế nữa, nhiều khi các tính trạng có đơn vị đo khác nhau, phương sai hay độ lệch chuẩn cũng không thuận tiện cho việc so sánh. Vì vậy, để giúp chúng ta tiến hành so sánh trong trường hợp các tính trạng có sự khác nhau về đơn vị đo, người ta đã đưa ra tham số thống kê khác, đó là hệ số biến sai (biến dị) $Cv\%$. Hệ số này là tỷ lệ giữa độ lệch tiêu chuẩn và trung bình quần thể $(SD/\mu)*100$. Với ví dụ trên $Cv\%$ của lượng ăn vào của chuột là $(3,40/24,8)*100 = 13,7\%$ và của khối lượng là $(12,07/64,9)*100 = 18,6\%$. Như vậy, biến thiên của lượng ăn vào thấp hơn biến thiên của khối lượng chuột ở 21 ngày tuổi.

3.5.5. Mô hình cơ bản của các tính trạng đa gen

Như chúng ta đã biết, các tính trạng số lượng luôn được điều khiển bởi hệ thống đa gen, vì vậy có thể gọi chúng là các tính trạng đa gen. Để xây dựng mô hình của tính trạng, trước hết chúng ta cần thu thập các giá trị kiểu hình của một số lượng lớn cá thể. Các số liệu thu được cần được trình bày bằng các giá trị kiểu hình sẽ cho ta sự biến thiên của các giá trị của tính trạng và quy luật phân bố của các giá trị của kiểu hình. Bước tiếp theo là phân bố sự sai khác đó vào các phần do kiểu gen quy định và phần do các yếu tố ngoại cảnh quy định, sau đó nếu có thể sẽ phân chia chúng thành các phần nhỏ hơn nữa.

Mô hình di truyền cơ bản của các tính trạng số lượng có thể được biểu diễn theo dạng phương trình sau đây:

$$P = \mu + G + E + GxE$$

Trong đó:

- P là giá trị kiểu hình (phenotype value),
- μ là giá trị trung bình của kiểu hình của quần thể,
- E là giá trị ảnh hưởng của yếu tố ngoại cảnh,
- G là giá trị kiểu gen,
- GxE là tương tác giữa kiểu gen và ngoại cảnh.

Một số thành tố của mô hình có thể được phân tích chi tiết hơn như sau:

$$G = A + D + I = BV + GCV$$

Trong đó:

- A là giá trị di truyền cộng gộp/tích lũy hay còn gọi là giá trị giống,
- D là giá trị do hoạt động trội của gen,

- I là giá trị do hoạt động tương tác của gen.

Giá trị trội và tương tác còn gọi là giá trị kết hợp của các gen (GCV), trong trường hợp đó A (giá trị của giống) có thể viết BV (breeding value).

Ảnh hưởng của ngoại cảnh có thể phân ra thành các thành phần như sau:

$$E = E_p + E_t$$

Trong đó:

- E_p là ảnh hưởng do các yếu tố ngoại cảnh cố định hay không thay đổi gây ra.

- E_t là ảnh hưởng do các yếu tố ngoại cảnh không cố định hay đổi gây ra.

Việc xuất hiện μ trong mô hình này có ý nhấn mạnh rằng cho dù trong điều kiện như thế nào thì kiểu gen cũng tạo cho quần thể một giá trị nhất định, tiếp đến mới là đóng góp của các hoạt động khác của các gen và ảnh hưởng của ngoại cảnh. Do vậy, ảnh hưởng của ngoại cảnh cũng như các thành phần cụ thể trong mô hình di truyền của các tính trạng đa gen là những đóng góp tương đối chứ không phải là tuyệt đối so với quần thể xem xét. Do vậy tất cả các giá trị này đều được biểu diễn dưới dạng sai lệch so với trung bình quần thể. Điều này cũng có nghĩa là giá trị trung bình của tính trạng của quần thể gồm 2 phần: Phần hoàn toàn do bản chất di truyền (khả năng) của kiểu gen và phần biến động dưới tác động của các yếu tố không di truyền.

Nếu chúng ta xem xét chúng dưới góc độ quần thể và sự biến thiên (phương sai) của tính trạng thì mô hình sẽ là:

$$V_P = V_G + V_E + V_{G \times E}$$

Với các thành phần:

$$V_G = V_A + V_D + V_I$$

$$V_E = V_{E_t} + V_{E_p}$$

Do vậy chúng ta có:

$$V_P = V_A + V_D + V_I + V_{E_t} + V_{E_p} + V_{G \times E}$$

Ví dụ sau đây có thể minh họa rõ hơn các thành phần trong mô hình di truyền của các tính trạng đa gen.

Xét một locut có 2 alen Bb, trong đó B là trội hoàn toàn so với b. B làm tăng khối lượng trưởng thành của cơ thể lên thêm 10g và b làm giảm khối lượng trưởng thành đi 10g.

| Kiểu gen | G | BV | GCV |
|----------|-----|-----|-----|
| BB | +20 | +20 | 0 |
| Bb | +10 | 0 | +10 |
| bb | -20 | -20 | 0 |

3.5.6. Hệ số di truyền của các tính trạng

Trong các biến dị chung của tính trạng - kiểu hình của mỗi cá thể hay quần thể thì phần đóng góp của kiểu gen (phương sai kiểu gen) tuy rất biến động, song nó rất quan trọng, vì nó nói lên khả năng ảnh hưởng của tính trạng ở đời trước đối với thế hệ sau. Phần đóng góp này càng lớn thì hiệu

quả chọn lọc đối với tính trạng của quần thể càng cao. Để diễn tả mức độ của ảnh hưởng này người ta đã đưa ra một thông số gọi là hệ số di truyền.

Hệ số di truyền là một trong những tham số quan trọng nhất của các tính trạng số lượng. Do kiểu di truyền chỉ có thể được dự tính thông qua kiểu hình, hồi quy của kiểu di truyền theo kiểu hình đã được Lush (1949) định nghĩa là "*hệ số di truyền theo nghĩa rộng*", nên ta có:

$$H^2 = b_{GP} = \frac{\sigma_{GP}}{\sigma_P^2} = \frac{\sigma_{G,G+E}}{\sigma_P^2} \approx \frac{\sigma_{GG}^2}{\sigma_P^2} = \frac{\sigma_{G2}^2}{\sigma_G^2 + \sigma_E^2}$$

Hệ số di truyền (H^2) biến đổi từ 0 → 1 (hay từ 0 → 100%).

Để đánh giá hệ số di truyền, ta cần tách thành phần phương sai ngoại cảnh ra khỏi phương sai kiểu hình để xác định phương sai kiểu gen. Để làm việc này, chúng ta có thể áp dụng một số phương pháp sau:

1. Dựa vào bảng phân tích phương sai trong thí nghiệm bố trí các kiểu gen theo khối ngẫu nhiên có n lần nhắc lại, ta sẽ tính ra được V_G và V_E .

2. Đánh giá V_G và V_E dựa vào kết quả của phương sai V_{P1} , P_{P2} , V_{F1} , V_{F2} thu được ở thí nghiệm bố trí các bố mẹ và các con lai F_1 , F_2 .

3. Bên cạnh đó, ta có thể dựa vào hệ số hồi quy (b) giữa bố mẹ và đời con theo tính trạng nghiên cứu, ta có:

$$H^2 = 2b$$

Ở các quần thể và quần thể cây giao phấn chéo, cấu trúc quần thể có thể biến động do phân ly và tổ hợp của các gen. Ở các quần thể này phương sai kiểu gen bao gồm các thành phần hiệu ứng cộng và hiệu ứng trội, . . . và chúng có thể bị biến đổi ở các thế hệ. Ví dụ, trong quá trình tự thụ phân (và giao phối cận huyết) xảy ra sự đồng hợp thể hoá các kiểu gen có thể dẫn tới hình thành các dòng thuần, khi ấy thành phần hiệu ứng trội của các gen gần như bị mất đi, cuối cùng nó không còn đóng góp cho sự thể hiện ở kiểu hình của tính trạng. Như vậy, ở đây chỉ còn vai trò của phương sai do hiệu ứng cộng, vì thế ở các trường hợp này phương sai di truyền được phân xét theo phương sai hiệu ứng cộng là phù hợp hơn trong việc đánh giá hệ số di truyền. Do đó, hệ số di truyền được đánh giá trên cơ sở đóng góp của phần phương sai di truyền theo hiệu ứng cộng của các gen trong toàn bộ biến dị chung của kiểu hình ở quần thể gọi là "*hệ số di truyền theo nghĩa hẹp*" được ký hiệu là h^2 và được định nghĩa như là hồi quy của giá trị phương sai di truyền cộng gộp theo phương sai kiểu hình.

$$h^2 = b_{AP} = \frac{\sigma_{AP}^2}{\sigma_P^2} = \frac{\sigma_{A,A+D+I+E+J}^2}{\sigma_P^2} \approx \frac{\sigma_{AA}^2}{\sigma_P^2} = \frac{V_A}{V_P}$$

Bản chất của hệ số di truyền chính là tỷ lệ giữa 2 phương sai có liên quan tới một tính trạng nhất định của quần thể nhất định, trong một thời gian nhất định. Do vậy sự thay đổi của tất cả các phương sai thành phần đều ảnh hưởng tới giá trị của hệ số di truyền. Vì vậy đối với cùng một tính trạng, các ước tính về hệ số di truyền có thể khác nhau đối với các quần thể khác nhau hoặc cùng quần thể nhưng ở các thời điểm khác nhau. Phương sai di truyền sẽ giảm do tác dụng của chọn lọc, phương sai kiểu hình thay đổi do ngoại

cảnh thay đổi, . . . ngoài ra các phương pháp ước tính thường gây ra sai số trong đôi lớn đối với cả 2 loại phương sai này.

Từ phương trình $V_{F2} = 1/2A + 1/4D + E$, ta có:

$$h^2 = \frac{1/2A}{V_{F2}} \quad \text{mà } 1/2A = V_{F2} - (V_{B1} - V_{B2})$$

Hệ số di truyền dao động trong khoảng từ 0 đến 1, có một số trường hợp các nhà nghiên cứu đã tính được hệ số di truyền âm (-). Hệ số di truyền được chia ra các nhóm như sau: $h^2 \leq 0,2$ là thấp, $0,2 > h^2 \leq 0,5$ là trung bình, $0,5 > h^2 \leq 1,0$ là cao. Các tính trạng số lượng thường có hệ số di truyền ở mức thấp nhất và trung bình.

Cần lưu ý rằng, hệ số di truyền (và các thành phần phương sai) là các thông số mang tính chất quần thể. Việc đánh giá chúng ở tính trạng số lượng nào đó phụ thuộc vào quần thể cụ thể, ở đó người nghiên cứu lấy các số liệu. Khi các quần thể ở các điều kiện ngoại cảnh khác nhau thì kết quả tính toán hệ số di truyền cũng khác nhau.

Hệ số di truyền cũng như các thông số mang tính chất quần thể khác, đều có chỗ mạnh, chỗ yếu. Trong ứng dụng cần biết khai thác đúng mức, tránh lạm dụng.

Bảng 3.2. Hệ số di truyền theo nghĩa hẹp (h^2) của một số tính trạng số lượng của cây trồng (theo Phedin M.A, 1980)

| Loài | Tính trạng | h^2 |
|---------|--|-----------|
| Lúa mì | Năng suất cá thể | 0,58÷0,97 |
| | Khối lượng 1.000 hạt | 0,62÷0,98 |
| Ngô | Năng suất cá thể | 0,35 |
| | Chiều cao cây | 0,70 |
| | Chiều dài bắp | 0,17 |
| Cà chua | Năng suất cá thể | 0,27÷0,54 |
| | Khối lượng trung bình/quả (độ lớn của quả) | 0,06÷0,59 |
| | Số lượng quả/cây | 0,63 |
| | Hàm lượng chất khô của quả | 0,34÷0,85 |
| | Độ pH của quả | 0,24÷0,79 |
| | Độ chín sớm của quả | 0,29÷0,56 |
| | Chiều cao cây ở trước 55 ngày | 0,0÷0,40 |

Qua các số liệu trên Bảng 3.2. chúng ta có thể thấy rằng, cùng một tính trạng nhưng ở các loại cây trồng khác nhau thì có h^2 khác nhau, VD. năng suất cá thể: 0,58÷0,97 ở lúa mì, ở ngô lại là 0,35 và ở cà chua là 0,27÷0,54.

Hệ số di truyền là một trong các công cụ giúp cho quá trình chọn lọc. Mối liên quan giữa hệ số di truyền và chọn lọc được biểu diễn như sau:

$$R = S h^2$$

Trong đó:

- h^2 là hệ số di truyền
- S là ly sai chọn lọc
- R là đáp ứng chọn lọc (hiệu quả chọn lọc)

Người ta có thể sử dụng hệ số di truyền để dự đoán kết quả thu được của tính trạng ở đời con như sau:

$$X_F = X_P + R = X_P + Sh^2$$

Ví dụ, giá trị trung bình của tính trạng ở quần thể bố mẹ (ban đầu) là $X_P = 10,0$; trong quần thể này đã chọn nhóm cá thể có độ lớn của tính trạng là $X = 12,5$. Giả sử hệ số di truyền của tính trạng $h^2 = 0,6$, ta sẽ có:

$$S = 12,5 - 10 = 2,5$$

$$R = 0,6 \times 2,5 = 1,5$$

Giá trị trung bình của tính trạng ở đời con do chọn lọc với $X_i = 12,5$ dự đoán sẽ là:

$$X_F = X_P + R = 10 + 1,5 = 11,5.$$

Như vậy, chỉ qua một thế hệ chọn lọc mà giá trị của tính trạng đã được nâng lên 11,5 so với thế hệ bố mẹ 10,0 ; có nghĩa là qua một thế hệ chọn lọc tính trạng ở quần thể đã đạt tiến bộ di truyền là 1.5 đơn vị.

Chương 4

DI TRUYỀN QUA TẾ BÀO CHẤT VÀ DI TRUYỀN LIÊN KẾT

4.1. QUY LUẬT DI TRUYỀN CỦA CÁC YẾU TỐ NGOÀI NHÂN

Kể từ khi xác định được ADN và nhiễm sắc thể trong nhân tế bào, chúng ta đã thấy khá rõ vai trò của ADN và nhiễm sắc thể trong việc di truyền các đặc điểm của loài, nòi, giống, . . . qua các thế hệ. Thế nhưng mọi hoạt động sống của cơ thể sinh vật như sinh tổng hợp protein, trao đổi chất, các quá trình sinh hoá khác, . . . lại diễn ra trong tế bào chất của tế bào. Hơn thế nữa người ta cũng đã phát hiện ra một số dạng ADN có trong một số nội bào quan trong tế bào chất của tế bào, đó là các nhân tố di truyền nằm ngoài nhân và gọi là hệ thống plasmagen. Ty thể và lục thể là những bào quan có chứa vật chất di truyền, do vậy chúng có bộ máy sinh tổng hợp protein riêng. Có người đã ví von, nếu xem vai trò của ADN và nhiễm sắc thể (hay nhân tế bào) như là chính phủ Trung ương điều hành các hoạt động chính của đất nước thì những gì mà các thành phần ADN trong tế bào chất thực hiện cũng giống như vai trò của chính quyền địa phương trong một đất nước.

4.1.1. Những đặc điểm cơ bản của di truyền tế bào chất

Nhân và tế bào chất của tế bào là một thể thống nhất của tế bào sống. Vật chất di truyền cơ bản nằm trong nhân tế bào (>99%), tuy nhiên các thành phần trong tế bào chất cũng có chứa một ít vật liệu di truyền. Vì vậy cần rút ra những đặc điểm cơ bản của vật liệu di truyền trong tế bào chất để phân biệt tính di truyền ngoài nhân (trong tế bào chất) với tính di truyền trong nhân.

- Về cơ bản, hợp tử thu nhận tế bào chất từ mẹ (tế bào trứng), vì thế phương pháp lai thuận nghịch cho phép ghi nhận ảnh hưởng di truyền của tế bào chất. Khi tiến hành lai thuận nghịch (dạng mẹ A, bố B-lai thuận, dạng mẹ B với bố A-lai nghịch), những sai khác về kết quả của sự biểu hiện tính trạng ở các con lai cho phép nhận xét đánh giá ảnh hưởng của dạng mẹ tới sự biểu hiện của tính trạng.

- Những tính trạng do các gen ở ty thể, lục thể (và các thể cộng sinh ở tế bào chất-vi khuẩn, virus) kiểm tra, về cơ bản được di truyền theo hệ mẹ. Chúng sẽ được phân biệt với các tính trạng do các nhân tố di truyền trong nhân kiểm soát nhờ phép lai thuận nghịch.

- Sự di truyền của các yếu tố di truyền trong tế bào chất không có các quy luật rõ ràng như do các yếu tố di truyền trong nhân kiểm soát. Vì trong quá trình phân bào không có sự phân chia đồng đều về thành phần của các bào quan ở tế bào chất cho các giao tử như trường hợp phân chia nhiễm sắc thể trong nhân tế bào.

- Trên cơ sở đa bào có thể xảy ra trường hợp hình thành thể khảm theo biểu hiện của tính trạng do các gen trong tế bào chất kiểm tra. Điều đó xảy ra là do sự phân bố ngẫu nhiên các thành phần mang gen ở tế bào chất

cho các tế bào con trong quá trình phân bào, từ đó dẫn tới hiện tượng lá bị khảm (Hình 4.1).

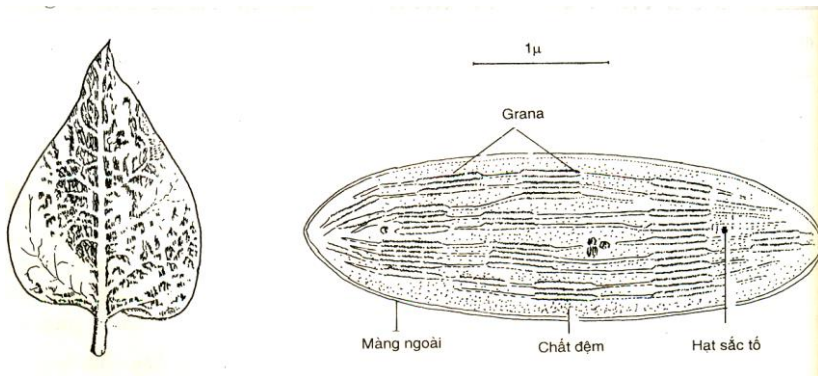
- Số lượng bào quan mang vật chất di truyền ở bào chất thường là rất lớn và biến động. Khi xảy ra đột biến ở những bào quan bình thường cùng loại, các đột biến ở tế bào chất có thể bị mất đi một cách nhanh chóng.

- Nhiều bằng chứng đã cho thấy, các yếu tố di truyền ở tế bào chất có mối quan hệ mật thiết với các yếu tố di truyền trong nhân tế bào. Sử dụng phương pháp thay thế nhân thực nghiệm có thể làm sáng tỏ sự ảnh hưởng tương đối của nhân và bào chất trong sự biểu hiện của kiểu hình của tính trạng.

4.1.2. Sự di truyền của lạp thể

Nhiều dạng thực vật có dạng lá sọc, ở chúng trên lá xanh có sự xen kẽ bởi các vệt sọc trắng hoặc vàng. Đó là các vùng mô không chứa hoặc chứa rất ít các lạp thể, hay các lạp thể bị hỏng không có chlorophyll.

Correns (1908) và nhiều tác giả khác đã nghiên cứu sự di truyền của các đốm đặc biệt trên lá cây hoa phấn *Mirabilis jalapa* và cây hoa mõm chó *Antirrium majus*. Trên nền lá của cây *Mirabilis jalapa* có những chấm xanh nhạt hay chấm trắng, thậm chí là có những cành có lá hoàn toàn xanh và có những cành lá hoàn thành mất sắc tố (màu trắng). Màu trắng (lá bạch tạng) của lá là do lục lạp bị đột biến nên mất khả năng tạo thành diệp lục tố và vì vậy mà không thể có màu xanh khi tiếp xúc với ánh sáng.



Hình 4.1. Lá bị khảm ở cây *Mirabilis jalapa*

Khi sinh sản hữu tính, hoa xuất hiện từ các cành lá có màu xanh sẽ cho ra hạt mà sau đó đem gieo sẽ mọc ra cây có lá xanh, hoa xuất hiện từ cành có lá màu trắng sẽ cho ra hạt mà sau đó nếu đem gieo sẽ mọc ra cây có lá trắng và những cây có lá màu trắng này sẽ nhanh chóng bị chết vì không quang hợp được nên không có dinh dưỡng nuôi cây. Hoa xuất hiện từ các cành có lá đốm sẽ cho ra các hạt mà sau đó nếu đem gieo sẽ mọc ra cây có lá đốm (xanh trắng xen kẽ).

Khi cây có hoa ta tiến hành thụ phấn nhân tạo (tiến hành lai thuận nghịch), trường hợp hoa của dạng bạch tạng làm mẹ được thụ phấn bởi hoa của dạng bình thường thì thế hệ F_1 xuất hiện toàn bộ dạng bạch tạng

(sau một thời gian thì chúng bị chết, vì chúng không có khả năng quang hợp). Khi tiến hành lai ngược lại, hoa của dạng xanh làm mẹ được thụ phấn bởi phấn của dạng bạch tạng, thu được toàn bộ cây F_1 thuộc dạng xanh bình thường. Như vậy màu sắc của lá đời sau ở đây đã được quy định bởi dòng mẹ.

Trường hợp hoa của dạng sọc làm mẹ được thụ phấn bằng hạt phấn của dạng xanh, các cây F_1 hình thành 3 dạng khác nhau: Xanh, sọc, bạch tạng. Khi tiến hành lai ngược lại, đã thu được toàn bộ cây F_1 thuộc dạng xanh.

Những kết quả trình bày ở trên là ví dụ điển hình về sự di truyền theo hệ mẹ, ở đó chúng ta đã quan sát thấy sự sai khác trong phần rõ rệt giữa các kết quả của lai thuận nghịch.

Ở thực vật bậc cao, trong tế bào của lá chứa hàng chục lục thể, chúng có dạng hình quả trứng hoặc hình đĩa, sinh sản bằng cách phân chia. Trong bóng tối lục thể không có màu, khó phân biệt với bạch lục và một vài lục thể khác. Khi ở ngoài ánh sáng lục thể có màu xanh và được gọi là lục thể.

Lục thể bị đột biến mất khả năng tạo thành lục tố, sự mất khả năng này được duy trì ổn định trong các thế hệ sau đã có sự phân chia nhiều lần của các lục thể đã bị đột biến. Do vậy, dù đột biến chỉ xảy ra ở một lục thể cũng làm xuất hiện nhiều tế bào chứa hỗn hợp các lục thể bình thường và lục thể bị đột biến với các tổ hợp rất khác nhau "xanh" và "trắng" do sự phân chia độc lập của lục thể theo phương thức phân bào nguyên nhiễm. Trong các quá trình phân chia tế bào các lục thể được phân bố vào các tế bào con một cách thụ động nên tỷ lệ xanh và trắng trong các tế bào vào các tế bào con thường xuyên thay đổi. Kết quả cho ra những tế bào chỉ gồm lục thể trắng hoặc chỉ có lục thể xanh, làm xuất hiện những vùng hoàn toàn trắng, hoàn toàn xanh hoặc đốm trắng xanh lẫn lộn.

4.1.2.1. ADN lục thể

Lục thể có nhiều dạng khác nhau (lục lục, sắc lục, bột lục). Trong cơ thể của một số loài, genom của các lục thể giống nhau. Vì thế các nghiên cứu về genom của lục thể được tập trung vào cấu trúc của ADN ở lục lục-dạng quan trọng nhất của nhóm lục thể.

ADN của lục thể có dạng vòng gần giống với ADN của vi khuẩn. Ở thực vật bậc cao cp-ADN có kích thước từ 120÷160 Kb. Ở tảo phạm vi biến động của cp-ADN rộng hơn: từ 85÷292 Kb (1 Kb = 1.000 đôi nucleotit). Đặc biệt ở các loài tảo thuộc chi *Acetabularia* có các cp-ADN rất lớn, khoảng 20.000Kb (song chưa rõ ADN này có cấu trúc dạng thẳng hay dạng vòng).

Các phân tích về cp-ADN cho thấy, lục lục thường chứa nhiều bản sao cp-ADN. Trong mỗi lục lục ở thực vật bậc cao thường có khoảng 30÷60 bản sao cp-ADN. Ở tảo, số bản sao trong mỗi lục lục tăng hơn bào lông roi *Euglena gracilis* chứa khoảng 15 lục lục, mỗi lục lục có khoảng 40 bản sao cp-ADN (1 bản cp-ADN dài 126 Kb), tổng số ở mỗi cơ thể có tới 6.000 bản.

Nhóm gen liên kết ở các lục lạp của cơ thể về cơ bản là giống nhau, các gen ở cp-ADN có thể xếp vào 2 nhóm chính.

1. Những gen mã hoá các thành phần của bộ máy sinh tổng hợp protein lục lạp: Các tiểu phần của ARN-polymerase, các ARN-ribosom (các ribosom của lục lạp có cấu tạo tương tự như các ribosom ở sinh vật nhân sơ), bộ tARN. Như vậy, lục lạp có khả năng tự tổng hợp được các protein riêng cho mình.

2. Những gen quy định nhiều thành phần của bộ máy quang hợp: Các hệ quang hợp I và H, các chuỗi vận chuyển điện tử cp-ADN còn kiểm tra một số quá trình tạo màng của lục lạp. Ngoài ra ở lục lạp còn có một số gen chống chịu,....

Genom của lục lạp ở thực vật bậc cao thường có kích thước bằng 1/30 đến 1/20 genom của lục lạp ở sinh vật nhân sơ (tảo lam). Như vậy, lục lạp ở thực vật bậc cao bị mất đi nhiều thông tin di truyền so với tổ tiên của chúng và trở nên phụ thuộc lớn vào các gen ở trong nhân của tế bào về nhiều thành phần quan trọng. Nhiều sản phẩm do các gen trong nhân kiểm tra đi vào trong lục lạp nhờ peptit transit. Một số sản phẩm cấu tạo từ các tiểu phần, chúng được kiểm tra bởi gen ở trong nhân và trong lục lạp, Ví dụ: Enzym, RDP carboxilase, được cấu tạo bởi 2 tiểu phần, một tiểu phần do gen trong nhân kiểm tra, tiểu phần còn lại do gen ở trong lục lạp kiểm tra.

cp-ADN mã hoá cho nhiều hợp phần quan trọng của các hệ quang hợp I, H và các chuỗi vận chuyển điện tử. Vì thế những hiểu biết về cấu trúc, chức năng của cp-ADN là rất quan trọng, mặc dù cp-ADN khó tách ra để nghiên cứu hơn so với ADN ty thể.

cp-ADN của *Marchantia polymorpha* và *Nicotiana tabacum* được nghiên cứu khá kỹ, chúng có chiều dài tương ứng 121.024 và 155.884 đôi nucleotit với số lượng gen tương ứng là 136 (ở *M. polymorpha*) và 150 (ở *N. tabacum*). Theo các gen đơn bản tổ chức trong genom lục lạp của 2 loài thực vật này, đã quan sát thấy sự giống nhau đáng kể, mặc dù chúng rất xa nhau về mức độ tiến hoá. Những sai khác chủ yếu giữa chúng tìm thấy ở các vùng chứa các gen trung lạp rARN.

Nhiều nghiên cứu sử dụng các enzym giới hạn cắt cp-ADN với mục đích phân tích sự đa dạng di truyền của lục lạp. Kết quả cho thấy, các lục lạp ở các cá thể của một loài là đồng nhất về di truyền. Ví dụ, ở cây *Panicum maximum* cp-ADN ở thịt lá và ở bao phấn là giống nhau, các lục lạp chỉ khác nhau về hình dạng. Như vậy, trong quá trình phân chia, các lục lạp thể có xu thế ổn định về tổ chức các gen trên cp-ADN, hạn chế xảy ra tái tổ hợp.

Các kết quả nghiên cứu cũng đã chứng minh rằng, ở lục lạp thể đột biến là do những biến đổi trong cấu trúc ADN của lục lạp thể. ADN lục lạp thể cũng giống với ADN trong nhân về thành phần cấu tạo, nhưng độc lập với ADN trong nhân về khả năng phân ly và khả năng tái sinh.

4.1.2.2. Tảo lục đơn bào *Chlamydomonas*

Đây là đối tượng rất thuận lợi cho việc nghiên cứu các quy luật di truyền ở lục lạp thể. Ở tảo *Chlamydomonas reinhardtii* trong tế bào chỉ chứa

một lục lạp. Các tế bào của tảo này thường được nhân lên theo sinh sản vô tính (phân chia nguyên nhiễm). Tuy nhiên, sinh sản hữu tính vẫn xảy ra bằng cách phối hợp hai tế bào phân biệt nhau theo yếu tố "giới tính", yếu tố này do gen mt ở nhiễm sắc thể kiểm tra. Dạng mt⁺ phối hợp với dạng mt sẽ hình thành hợp tử. Sau giai đoạn chín, hợp tử tiến hành phân chia giảm nhiễm, kết quả hình thành các tế bào đơn bội theo bộ bốn hay bộ tám tế bào, đó là các bào tử nang, chúng sẽ phát triển thành bào tử đơn bào.

Sager (1975) đã phát hiện ra một số gen không có chất kháng sinh và một số gen đột biến ở ADN lục lạp của *Chlamydomonas*. Để tiến hành các phân tích di truyền của lục lạp, người ta đã tiến hành phân lập các dòng *Chlamydomonas* có các yếu tố di truyền kiểm tra sự phối hợp trong sinh sản hữu tính (mt⁺, mt).

Khi xảy ra kiểu giao phối mt⁺ là mẹ kháng streptomycin (sr), thì tất cả đời con thể hiện tính kháng. Trường hợp ngược lại mt⁺ là mẹ mẫn cảm với streptomycin (ss), thu được đời con mẫn cảm. Như vậy, đã xảy ra sự di truyền theo hệ mẹ, tính kháng streptomycin do gen ở lục lạp kiểm tra. Sở dĩ thu được kết quả như vậy là do chỉ dạng mt⁺ được giữ lại. Tuy nhiên vẫn xảy ra trường hợp ngoại lệ khoảng 1% hợp tử thu được cả 2 dạng lục lạp của 2 bố mẹ. Bào chất chứa cả 2 dạng ADN lục lạp này gọi là bào chất dị hợp. Tần số thu được dị hợp có thể lên tới 50% khi sử dụng tia cực tím chiếu vào các tế bào mang gen mt⁺ vào thời điểm ngay trước khi xảy ra sự phối hợp giữa các tế bào mt⁺. Bào chất dị hợp sử dụng trong các phân tích di truyền đối với các gen lạp thể.

Bên cạnh đó, đã phát hiện gen đột biến ac₂-kìm hãm quá trình quang hợp, dạng đột biến này phát triển ở môi trường nuôi cấy có bổ sung axetat (gen ac₁-bình thường). Người ta đã sử dụng 2 cặp gen ngoài nhiễm sắc thể trong lai phân tích nhằm phát hiện ra các cá thể tái tổ hợp. Cho giao phối hai bố mẹ ac₁ss x ac₂sr, ở đời con đã sử dụng các chỉ thị (marker/indicator) để nhằm phân biệt kiểu phân ly của các gen lục lạp với kiểu phân ly của các gen trên nhiễm sắc thể. Kết quả theo dõi cho thấy, hai cặp gen ac₁/ac₂ và sr/ss đã phân ly, dẫn tới xuất hiện cả 2 dạng bố mẹ ac₁ss, ac₁rs và dạng tái tổ hợp ac₁cr, ac₂ss. Kết quả của nhiều phân tích khác cho phép Sager (1975) thiết lập được bản đồ về nhóm gen liên kết dạng vòng của lục lạp *Chlamydomonas reinhardtii*.

4.1.3. Sự di truyền của ty thể

Ty thể trung tâm cung cấp năng lượng cho các hoạt động sống của tế bào thông qua các quá trình photphoril hoá-oxy hoá, vận chuyển điện tử, quá trình oxy hoá axit citric và các axit béo. Phân tử ADN trong ty thể có dạng vòng (các ADN ty thể ký hiệu là mt.ADN), có thành phần cấu tạo giống ADN trong nhân nhưng độc lập với ADN trong nhân khi phân chia và tái sinh. So với các ADN lạp thể thì các mt.ADN dễ dàng tách ra hơn để nghiên cứu những đặc điểm về cấu trúc. Ở các sinh vật khác nhau, các mt.ADN có kích thước biến động rất lớn, từ 16 Kb ở động vật cho tới mấy trăm Kb ở thực vật bậc cao (VD. ở ngô mt.ADN có độ lớn 570 Kb).

Trong mỗi ty thể thường chứa nhiều bản sao mt.ADN. Ví dụ, dòng tế bào nuôi cấy Hela ở người, mỗi tế bào có khoảng 800 ty thể, trong mỗi ty thể có thể chứa tới 10 bản sao mt.ADN.

Số lượng ty thể rất khác nhau ở các tế bào của cơ thể, đặc biệt số lượng ty thể tăng mạnh ở các tế bào trứng (để đảm bảo năng lượng cho quá trình phát triển của hợp tử) và tế bào hạt phấn (để đảm bảo cho sự nảy mầm và phát triển của ống phấn). Ví dụ, tế bào trứng của động vật có vú có số lượng ty thể rất lớn, mt.ADN chiếm tới 1/3 tổng lượng ADN của tế bào.

Nấm men bánh mì *Saccharomyces cerevisiae* là đối tượng được nghiên cứu rất kỹ về ADN ty thể. Cấu trúc của mt.ADN ở động vật bậc cao thường ít biến động, trong khi đó cấu trúc của mt.ADN ở thực vật bậc cao và ở sinh vật bậc thấp nhân chuẩn rất đa dạng. Ở người, chuột, động có sừng (trâu, bò) mt.ADN có độ dài tương ứng là 16.569, 16275 và 16.336 đôi nucleotit, chúng là các vòng rất nhỏ. Điều đáng lưu ý là tổ chức các gen của 3 loại mt.ADN nêu trên, về cơ bản là giống nhau, mỗi mt.ADN chứa 2 gen rARN, 22 gen tARN và khoảng 13 gen mã hoá các protein.

Nấm men bánh mì *Saccharomyces cerevisiae* có mt.ADN dài khoảng 84 Kb, gần 5 lần mt.ADN ở động vật có vú. Tuy nhiên, sự tổ chức các gen trên mt.ADN của nấm men thể hiện tương tự như mt.ADN ở động vật có vú. Độ dài của mt.ADN nấm men tăng hơn có thể là do sự có mặt của nhiều đoạn intron lớn. Ví dụ, đoạn ADN chứa 2 gen mã hoá cho cytochrom b và tiểu phần 1 của cytochrom ozydase có độ dài gần bằng mt.ADN nguyên vẹn của động vật có vú, ở vùng này chứa một đoạn intron rất dài. Hơn thế nữa, ở mt.ADN nấm men tổ chức các tARN được phân tách bởi nhiều đoạn giữa các gen, trong đó 16 gen tARN tổ chức thành một cụm, 10 gen khác phân tán khắp genom. Ngoài ra, số lượng gen mã hoá các protein ở mt.ADN nấm men có thể lớn hơn so với mt.ADN động vật có vú, tuy nhiên vấn đề này cũng còn chưa được xác định rõ.

ADN ty thể có thể tái bản độc lập, các ty thể tái bản độc lập với chu kỳ phân bào, ADN ty thể mã hoá cho một số nhóm gen sau: Các thành phần của bộ máy sinh tổng hợp protein của ty thể có các riboxom đặc trưng, các t.ARN, các enzym aminoxil-t. ARN-synthetase. Những gen mã hoá cho một số sản phẩm khác, như một số cấu trúc mang trong ty thể (một phần nhỏ) tham gia vào chuỗi hô hấp và một số gen khác.

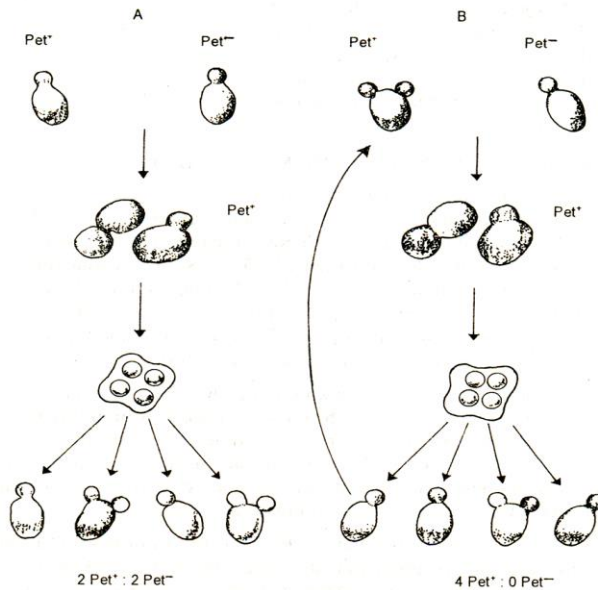
ARN polymerase ty thể thực hiện sao mã (Ví dụ, ở mt.ADN của động vật có vú kích thước nhỏ) theo phương thức từ một điểm khởi đầu ARN được sao mã thành một đơn vị liên tục, sau đó nó được enzym endpnuclease phân cắt để hình thành nên các phân tử tARN, rARN và các mARN (mã hoá các protein). Như vậy, mt.ADN nguyên vẹn ở đây tương đương như một operon ở vi khuẩn.

Cấu trúc riboxom của ty thể khác với riboxom ở tế bào chất, tuy nhiên ở các sinh vật khác nhau cấu trúc của riboxom ty thể biến động mạnh: Tiểu phần lớn của riboxom có hằng số lắng đọng 40S-60S (ở vi khuẩn và lạp thể 50S, ở tế bào nhân chuẩn là 60S), tiểu phần nhỏ có hằng số lắng đọng 30S-55S (vi khuẩn và lạp thể 30S, tế bào chất của tế bào nhân chuẩn 40S).

Ty thể là một bào quan thực hiện chức năng quan trọng và phức tạp, ở đó chứa một lượng lớn các protein. mt.ADN chỉ mã hoá cho một lượng nhỏ protein (Ví dụ, 13 loại đối với mt.ADN động vật có vú). Vì thế, số lượng lớn các protein ty thể do các gen ở trong nhân kiểm tra. Các protein nhập vào ty thể để thực hiện các chức năng của mình nhờ peptit-tranzit. Một số protein có cấu trúc từ các tiểu phần do các gen ở trong nhân và ở ty thể kiểm tra. Ví dụ, enzym malatdhydrogenase cấu tạo từ 2 tiểu phần, trong đó một tiểu phần do gen ở trong nhân kiểm tra và tiểu phần kia do gen trong ty thể kiểm tra. Cytochrom oxydase cũng có bức tranh tương tự.

4.1.4. Đột biến khuẩn lạc nhỏ ở nấm men bánh mì

Nấm men bánh mì *Saccharomyces cerevisiae* là cơ thể đơn bào, song chúng sống thành cụm tế bào gọi là khuẩn lạc. Các tế bào nấm men thuộc trạng thái đơn bội, chúng được nhân lên theo phương thức "mọc chồi" từ các tế bào mẹ tạo nên dòng vô tính. Tuy nhiên, trong đời sống của nấm men còn xảy ra sinh sản hữu tính bằng cách phối hợp 2 dạng tế bào khác nhau. 2 tế bào đơn bội dung hợp thu được tế bào lưỡng bội, tế bào này có thể tiếp tục được nhân lên qua nguyên phân (giai đoạn nấm men sống ở pha lưỡng bội) khi tế bào lưỡng bội tiến hành phân chia giảm nhiễm, kết quả sẽ thu được các tứ tế bào. Các bào tử đơn bội phát triển thành các dòng đơn tính.



Hình 4.2. Phân tích bộ bốn về khả năng hô hấp ở các thể lai giữa các thể bào đơn bội kiểu (Pet+) với đột biến Pet có nguồn gốc ở nhân (A) và với kiểu đột biến Pet nguồn gốc tế bào chất (B)

Nghiên cứu của Ephrussi đã cho thấy ở các quần thể *S. cerevisiae* sản sinh ra 1% khuẩn lạc loài hình bộ, dạng này ở môi trường nuôi cấy có đường glucose tạo ra khuẩn lạc có kích thước rất nhỏ. Đột biến khuẩn lạc

nhỏ này ký hiệu Pet (pet^+ là kiểu hoang dại, khuẩn lạc phát triển kích thước lớn bình thường). Phân tích cho thấy, dạng đột biến khuẩn lạc nhỏ bị thiếu hụt enzym hô hấp cytochrom oxydase, điều đó đã được chứng minh do sự thay đổi trong ty thể. Cũng có những cá thể lai lưỡng bội giữa loại đơn bội bình thường với các đại diện của khuẩn lạc bé nhỏ. Về mặt enzym hô hấp đã thấy các cá thể lưỡng bội này bình thường và khi hình thành bào tử đời con đơn bội cũng bình thường, nhưng khi quan sát dưới kính hiển vi điện tử người ta thấy ở loại đơn bội bên cạnh những ty thể bình thường còn có những ty thể hư hại đặc biệt. Do sự cố về chức năng hô hấp nên tế bào thiếu hụt nghiêm trọng về năng lượng, chúng sinh sản rất kém và có kích thước nhỏ dẫn tới hình thành khuẩn lạc nhỏ. Tác nhân gây đột biến nhân tạo cũng làm xuất hiện các khuẩn lạc bé của nấm men, loại này được di truyền lại cho đời sau qua sinh sản vô tính.

Cho giao phối các tế bào đơn bội $\text{Pet}^+ \times \text{Pet}^-$, có thể thu được kiểu dại, hô hấp bình thường. Các kết quả phân tích di truyền bộ bốn cho thấy, các đột biến Pet^- có đặc điểm di truyền khác nhau (Hình 4.2). Một số thể lai cho phân ly bình thường ($2 \text{Pet}^+ : 2 \text{Pet}^-$), trường hợp thứ 2 cho phân ly $4 \text{Pet}^+ : 0 \text{Pet}^-$. Rõ ràng trường hợp 1-đột biến khuẩn lạc nhỏ xảy ra ở nhiễm sắc thể trong nhân tế bào, trường hợp 2-xảy ra ở bào chất, có khả năng liên quan tới ty thể.

Đột biến khuẩn lạc nhỏ có nguồn gốc tế bào chất được phân lập không khó khăn, đột biến này xuất hiện tự nhiên với tần suất khoảng 1%. Một số tác động như nhiệt độ cao, aciphilavin, etidi bromit có thể làm tăng sự xuất hiện của các đột biến này. Trong quá trình cấy chuyển nhiều lần dạng khuẩn lạc nhỏ Pet^- có nguồn gốc bào chất không quan sát thấy đột biến ngược xảy ra (không thu được dạng bình thường). Trong khi đó, dạng Pet^- có nguồn gốc nhân đã thu được dạng đột biến ngược.

Các phân tích về ty thể dạng Pet^- nguồn gốc bào chất cho thấy, ở mt.ADN có xảy ra mất đoạn với các độ dài khác nhau làm cho ty thể mất khả năng thực hiện chức năng năng lượng của tế bào. Trong tế bào của dạng nấm men khuẩn lạc nhỏ có mt.ADN bị hỏng, nhưng mt.ADN vẫn tiếp tục được tái bản ty thể không bình thường. Điều này chứng tỏ rằng các protein cần cho sự tái bản mt.ADN, về cơ bản không ghi mã trong mt.ADN.

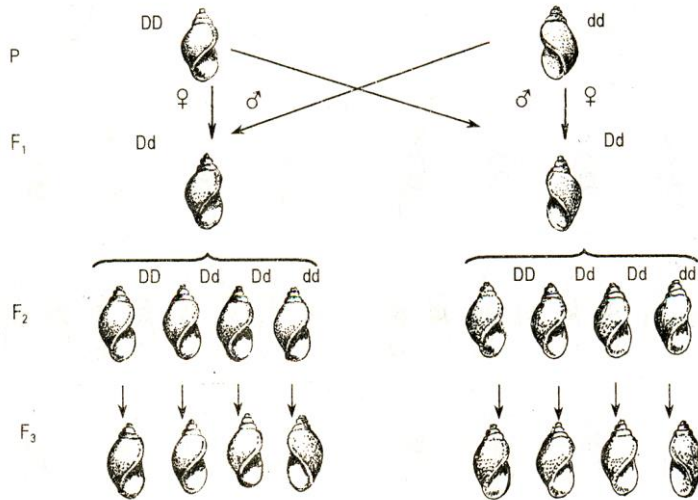
Tế bào nấm men là đối tượng thuận lợi cho nghiên cứu di truyền ty thể. Ở mt.ADN đã phát hiện ra nhiều gen chỉ thị khác, đó là gen kháng chất nguyên sinh như: Cloramphenicol, erytromycin, (các kháng sinh này ức chế tổng hợp protein ở vi khuẩn), gen kháng oligomycin (chất gây ức chế sự hô hấp).

Trong một số trường hợp, các ty thể có nguồn gốc khác nhau (được thu thập vào bào chất của hợp tử) có thể dung hợp với nhau. Hệ quả là 2 mạch mt.ADN của 2 dạng ty thể có thể xảy ra trao đổi vật chất di truyền cho nhau, dẫn tới sự đa dạng về tổ hợp các gen ở ty thể.

Điều cần lưu ý là sự trao đổi vật chất di truyền ở mt.ADN có thể xảy ra không đều nhau, tính chất này gọi là tính hướng cực của sự tái tổ hợp di truyền.

4.1.5. Hiện tượng tiền định tế bào chất

Ốc *Linea pregra* có vỏ xoắn phải do gen trội D điều khiển, xoắn trái do gen lặn d điều khiển. Khi tiến hành tạp giao 2 dòng ốc có hướng xoắn khác nhau như sau:



Hình 4.3. Sự di truyền của tính trạng xoắn phải và xoắn trái ở ốc

Sơ đồ lai của phép lai này như sau:

| | | | | | | |
|----------------|---------------------------|---|--------------|---------------------------|---|---------|
| P | mẹ xoắn phải | x | bố xoắn trái | mẹ xoắn | x | bố xoắn |
| | DD | ↓ | dd | trái | ↓ | phải |
| | | | | dd | | DD |
| F | 100% xoắn phải | | | 100% xoắn phải | | |
| | Dd | | | Dd | | |
| F ₁ | 100% xoắn phải | | | 100% xoắn phải | | |
| F ₂ | DD: 2Dd : dd | | | DD: 2Dd : dd | | |
| | ↓ | | | ↓ | | |
| F ₃ | 3 xoắn phải : 1 xoắn trái | | | 3 xoắn phải : 1 xoắn trái | | |

Trong phép lai này có 2 trường hợp đặc biệt:

- Khi cho lai ốc cái xoắn trái với ốc đực xoắn phải thì thế hệ F₁ đó thu được 100% ốc xoắn trái, không tuân theo kiểu gen Dd.

- Cả 2 kiểu lai thế hệ F₂ đều thu được 100% ốc xoắn phải, không tuân theo kiểu gen dd.

- Đến thế hệ F₃ thì sự phân ly kiểu hình và kiểu gen mới phù hợp với quy luật di truyền Mendel (1 : 2 : 1 và 3 : 1)

Người ta đã giải thích rằng, trường hợp kiểu gen Dd ở F₁ cho kiểu hình xoắn trái và kiểu gen dd ở F₂ cho xoắn phải là vì chúng đã chịu tác

động của các yếu tố trong tế bào chất của dòng mẹ. Con mẹ là dd thì trứng là d, vì vậy con con dự là Dd vẫn bị ảnh hưởng bởi "vai trò" của d trong tế bào trứng nên cũng chỉ có kiểu hình là xoắn trái. Trong trường hợp F₁ có kiểu gen Dd sinh ra 100% ốc F₂ xoắn phải là do ảnh hưởng của yếu tố "D" của con mẹ đó có sẵn trong tế bào chất của tế bào trứng, nên kiểu gen dd vẫn xoắn phải.

4.1.6. Ảnh hưởng của dòng mẹ

Các đặc tính và hoạt động của tế bào chất do các gen trực tiếp kiểm soát, ảnh hưởng của gen đối với tế bào chất thường là khá bền vững, do vậy muốn có một tác động mới của gen để hình thành một đặc tính hay hoạt động mới cần phải có thời gian. Với những điều kiện như vậy, trong khi để tạo được một thay đổi do ảnh hưởng mới của gen thì phải làm thay đổi đặc tính tế bào chất phải trải qua vài thế hệ tế bào và sẽ xuất hiện cảnh tượng mới đặc biệt về sự di truyền của tế bào chất đối với đặc tính đảo ngược tạm thời của tế bào chất. Đờn con (giao tử và hợp tử) luôn được nhận toàn bộ tế bào chất của tế bào từ mẹ nên tất nhiên chúng sẽ có nhiều đặc điểm giống mẹ, như vậy được gọi là ảnh hưởng theo dòng mẹ.

Hiện tượng khá phổ biến là "mẫu khuynh" (matroclimic) trong một số trường hợp tạp giao cho thế hệ F₁ các đặc điểm giống mẹ. Mẫu khuynh đôi khi biểu hiện khá rõ ở tạp giao cá cùng loài và khác loài. Cơ sở của mẫu khuynh có thể nhận biết qua 3 hiện tượng:

- ◆ Sự có mặt trong tế bào chất các cấu trúc có chứa ADN (trước hết là ở ty thể) điều khiển sự tổng hợp một số protein đặc biệt. Sự di truyền của các gen ngoài nhân như vậy diễn ra theo đường mẹ, qua tế bào chất của trứng và có thể di truyền vững chắc theo mẹ.

- ◆ Sự tích lũy trong tế bào chất và noãn hoàng của trứng chín một lượng lớn các sản phẩm từ hoạt động của nhiễm sắc thể của mẹ (mARN, protein). Điều này dẫn đến ưu thế phát triển của các đặc điểm của mẹ ở con trong các giai đoạn đầu (phôi). Cần nói thêm rằng, nhiều gen từ bố ở cá chỉ bắt đầu hoạt động tổng hợp protein từ giai đoạn phôi nang, thậm chí muộn hơn. Ảnh hưởng của mẹ được phát hiện khi tạp giao giữa cá chép nhà với cá chép đại Amua, các chép Ropsa với cá chép Ucrain, cá chép với cá diếc.

- ◆ Thụ tinh giữa tinh trùng bình thường với tế bào trứng không giảm phân (lưỡng bội) và thu các phôi tam bội với 2/3 bộ nhiễm sắc thể là của mẹ và 1/3 là của bố. Các thể tam bội với ưu thế các tính trạng của mẹ cũng được lập lại khi tạp giao xa giữa một số loài cá.

Trong đa số các trường hợp di truyền "theo mẹ" ở cá thực chất là do tác động từ kiểu gen của mẹ. *Hiện tượng di truyền của một số tính trạng giống mẹ thường chỉ giới hạn ở thế hệ con đờn thứ nhất và mất đi ở các thế hệ sau đó.* Các hiện tượng di truyền ngoài nhân và ảnh hưởng của dòng mẹ đã và sẽ được phát hiện ở cả động và thực vật.

4.2. DI TRUYỀN LIÊN KẾT VÀ BẢN ĐỒ GEN

Với những gì mà chúng ta đã thấy trong các phần trên, đặc biệt là trong 3 định luật của Mendel, thì các gen thường hoạt động ở trạng thái đơn lẻ, một gen điều khiển một tính trạng-nằm trên một nhiễm sắc thể và phân lón là độc lập với nhau-tạo nên sự phân ly độc lập.

Năm 1903, Walter Salton đã phát hiện lại các quy luật di truyền Mendel và nhận thấy rằng: Theo định luật II của Mendel, sự phân ly của các alen ở bất kỳ gen nào cũng độc lập với các alen khác của gen khác, sở dĩ có điều này là do Mendel đã quan niệm mỗi gen điều khiển một tính trạng và nằm trên các nhiễm sắc thể riêng biệt. Thế nhưng trong cơ thể sinh vật có số gen tham gia điều khiển các tính trạng nhiều hơn số lượng nhiễm sắc thể mà cơ thể có ở trong tế bào rất nhiều. Vì vậy, để có thể chứa hết số lượng gen mà một tế bào hoặc cơ thể có thể mỗi nhiễm sắc thể phải chứa chứa nhiều gen. Ví dụ: Ruồi giấm có tới 600 gen nhưng chỉ có 4 cặp nhiễm sắc thể, người có tới 2÷3 triệu gen nhưng chỉ có 23 cặp nhiễm sắc thể,....

Do đó, trên một nhiễm sắc thể phải có nhiều gen, trong quá trình phát sinh giao tử các gen đó có thể đi cùng với nhau và đi về cơ thể mới để cung tham gia vào việc điều khiển sự hình thành và phát triển của các tính trạng ở thế hệ sau. Việc các gen cùng nằm trên một nhiễm sắc thể trong tế bào gọi là sự liên kết gen và các gen trên cùng nhiễm sắc thể tham gia điều khiển các tính trạng từ thế hệ này qua thế hệ khác gọi là di truyền liên kết.

Sự liên kết của các gen trên nhiễm sắc thể đã được Betson và Punnet khám phá ra vào năm 1908 khi cho hai thứ đậu Hà Lan hoa tím cánh ngắn và hoa đỏ cánh dài lai với nhau. Các ông đã thu được tỷ lệ phân ly kiểu hình ở thế hệ F_2 của 2 tính trạng này hoàn toàn khác với tỷ lệ 9 : 3 : 3 : 1 như Mendel đã thu được trước đó.

Hiện tượng liên kết của các gen nhiễm sắc thể và sự di truyền liên kết của các tính trạng cũng đã được T. Morgan (1911) phát hiện và giải thích tỷ mỉ sự liên kết của các tính trạng còn được gọi là các quy luật di truyền Morgan.

Tính trạng được Morgan đưa vào phép lai là dạng đột biến mắt trắng ở ruồi giấm (trương phản với màu mắt bình thường của nó-màu mắt đỏ) đã góp phần cho việc xác định bản chất vật chất của gen-gen nằm trên nhiễm sắc thể. Học thuyết di truyền nhiễm sắc thể của Morgan đã đưa di truyền kinh điển lên một bước phát triển mới. Hiện tượng di truyền liên kết và trao đổi chéo đã được chứng minh bằng phép lai phân tích di truyền. Nhiều nhà nghiên cứu đã cố gắng diễn tả cơ sở tế bào học của hiện tượng trao đổi chéo. Tuy nhiên, cơ chế của nó vẫn còn nhiều bí ẩn, nhất là ở sinh vật bậc cao. Biến dị tổ hợp phần lớn trông chờ vào hiện tượng trao đổi chéo, tái tổ hợp di truyền giữ vai trò trọng yếu trong di truyền học, điều khiển được quá trình này có ý nghĩa rất lớn trong chọn giống.

4.2.1. Liên kết hoàn toàn

Quy luật phân ly độc lập của các tính trạng xảy ra khi các gen nằm trên các cặp nhiễm sắc thể tương đồng khác nhau. Sự phân ly tính trạng liên quan tới sự vận động của các cặp nhiễm sắc thể tương đồng. Sự di truyền độc lập của các gen được đánh giá qua kết quả của phép lai phân tích hoặc kết quả ở quần thể phân ly F_2 .

Khi cho tạp giao những cá thể khác biệt nhau ở 2 cặp tính trạng nào đó, trong thế hệ F_2 chỉ nhận được tỷ lệ phân ly 3 : 1 về kiểu hình và 1 : 2 : 1 về kiểu gen và tiến hành lai phân tích cũng chỉ nhận được tỷ lệ phân ly kiểu hình là 1 : 1, các kết quả này tương tự như khi ta cho lai một cặp tính trạng. Chỉ có thể giải thích kết quả này là do các gen điều khiển các tính trạng cùng nằm trên một nhiễm sắc thể đã đi cùng với nhau trong quá trình phát sinh giao tử và cùng đi về thế hệ sau.

Ví dụ: Khi ta tiến hành phép lai sau:

| | | | |
|---------|------------------------|---|------------------------|
| P | AABB | x | aabb |
| Giao tử | AB | ↓ | ab |
| F_1 | AaBb | x | AaBb |
| Giao tử | AB, ab | ↓ | AB, ab |
| F_2 | AABB AaBb AaBb | | aabb |
| | [Một loại kiểu hình] | | [Một loại kiểu hình] |

Như vậy kiểu hình phân ly là: 3 : 1

Đáng lẽ theo định luật III của Mendel thì mỗi cá thể F_1 phải cho ra 4 loại giao tử, song trong trường hợp này các gen A, B và a, b cùng nằm trên nhiễm sắc thể với nhau và đi cùng nhau trong phát sinh giao tử nên các cá thể F_1 ở đây chỉ cho ra có 2 loại giao tử và kết quả là thế hệ F_2 cũng chỉ cho ra 2 loại kiểu hình với tỷ lệ 3 : 1 và tỷ lệ phân ly kiểu gen là 1 : 2 : 1, giống như ở định luật II của Mendel trong trường hợp lai một cặp tính trạng.

Hiện tượng các gen cùng nằm trên một nhiễm sắc thể luôn đi cùng nhau (không tách rời) trong quá trình giao tử và cùng điều khiển các tính trạng gọi là các gen liên kết hoàn toàn.

Ví dụ: Khi cho lai ruồi giấm theo sơ đồ sau Morgan đã thu kết quả:

| | | | |
|-------|---|---|---|
| P | Thân xám, cánh cụt | x | Thân đen, cánh dài |
| | $\frac{b^+ \text{ vg}}{b^+ \text{ vg}}$ | ↓ | $\frac{b \text{ vg}^+}{b \text{ vg}^+}$ |
| F_1 | | | Thân xám, cánh dài |
| | | | $\frac{b^+ \text{ vg}}{b \text{ vg}^+}$ |

Tiếp tục cho lai phân tích: Đực $\frac{b^+ \text{ vg}}{b \text{ vg}}$ x cái $\frac{b \text{ vg}}{b \text{ vg}}$

Ta chỉ thu được hai loại kiểu gen và hai loại kiểu hình:

| | |
|---------------------------------------|---------------------------------------|
| Thân xám, cánh cụt | Thân đen, cánh dài |
| $\frac{b^+ \text{ vg}}{b \text{ vg}}$ | $\frac{b \text{ vg}}{b \text{ vg}^+}$ |

Kết quả này chứng tỏ ruồi dấm đực F_1 chỉ ra cho ra hai loại giao tử b^+vg và bvg^+ , do đó khi kết hợp với giao tử bvg của ruồi giấm cái đồng hợp lặn đã chỉ cho ra 2 loại ruồi dấm thân xám cánh cụt và thân đen cánh dài. Kết quả này nói lên rằng các gen b^+vg cũng như bvg^+ đã liên kết hoàn toàn với nhau.

4.2.2. Liên kết không hoàn toàn

Cũng phép lai trên ruồi giấm như trên, song ở đây Morgan lại cho ruồi giấm cái F_1 lai phân tích:

$$\text{Cái} \quad \frac{b^+ \quad vg}{b \quad vg^+} \quad \times \quad \text{Đực} \quad \frac{b \quad vg}{b \quad vg}$$

Lần này thì lại thu được 4 kiểu gen và 4 kiểu hình với các tỷ lệ rất khác nhau như sau:

145 xám, cánh cụt : 33 xám, cánh dài : 28 đen, cánh cụt : 150 đen, cánh dài
40,73% 9,27% 7,87% 42,13%

Trong đó, kiểu hình giống thể hệ xuất phát chiếm 82,9% (145 + 150 = 295 cá thể) và 17,1% (33 + 28 = 61 cá thể) là các dạng mới, các dạng biến dị tổ hợp.

Có được kết quả này là do các cá thể ruồi dấm cái F_1 trong quá trình phát sinh giao tử đã cho ra 4 loại giao tử: b^+vg (40,73%), bvg^+ (42,13%), b^+vg^+ (9,27%) và bvg (7,8%). Trong đó 2 loại giao tử b^+vg và bvg^+ giống với giao tử của thể hệ xuất phát được gọi là các giao tử thuần (luôn chiếm tỷ lệ >50%), các giao tử b^+vg^+ và bvg được gọi là giao tử lai hay là giao tử tái tổ hợp (luôn có tỷ lệ <50%).

Các giao tử lai do đâu mà có? Chúng là kết quả của sự vắt chéo của nhiễm sắc thể trao đổi các đoạn đồng nguồn cho nhau và sở dĩ các nhiễm sắc thể vắt chéo được là vì các gen trong đoạn đó liên kết không chặt chẽ với nhau hay còn gọi là liên kết không hoàn toàn.



Tại sao cũng cặp gen đó mà ở con đực thì liên kết hoàn toàn, con cái thì lại liên kết không hoàn toàn?

Điều này được giải thích là do các gen ở các trạng thái hoạt động khác nhau. Chúng có thể ở trạng thái hút nhau hoặc đẩy nhau, như vậy có nghĩa là các gen của cặp b^+vg và bvg^+ ở ruồi giấm F_1 đực đang ở pha hút (trạng thái liên kết chặt chẽ) nên chúng liên kết hoàn toàn với nhau, ngược lại ở ruồi giấm F_1 cái chúng lại ở pha đẩy (trạng thái đẩy) nên liên kết không hoàn toàn với nhau.

Trên một nhiễm sắc thể có thể chứa nhiều gen, các gen cùng nằm trên một nhiễm sắc thể sẽ tập hợp nhau lại thành một nhóm gen liên kết, vì vậy

trong một cơ thể hay loài, giống thì sẽ có số nhóm gen liên kết bằng số đơn bội nhiễm sắc thể.

Trên một nhiễm sắc thể có thể chứa nhiều gen, sự liên kết giữa các gen với nhau mạnh hay yếu phụ thuộc vào lực liên kết giữa chúng và phụ thuộc vào khoảng cách giữa các gen. Có nghĩa là các gen ở càng xa nhau thì lực liên kết giữa chúng càng yếu và các gen ở càng gần thì lực liên kết càng mạnh. Các gen liên kết càng chặt chẽ (càng gần) với nhau thì khả năng xảy ra vắt chéo càng cao.

Khi có nhiều gen cũng nằm trên một nhiễm sắc thể thì chúng có thể đồng thời xảy ra vắt chéo để trao đổi các đoạn đồng nguồn với nhau. Người ta đã xác định được rằng: Vắt chéo đơn là mạnh nhất, tiếp đó là vắt chéo đôi, tiếp đến là vắt chéo 3 và vắt chéo xảy ra đồng thời tại càng nhiều điểm thì tần số vắt chéo càng giảm. Điều này cũng đồng nghĩa với hiện tượng các giao tử thuần có tỷ lệ cao nhất, tiếp đó đến các giao tử lai do vắt chéo đơn tạo ra, sau đó nữa là các giao tử lai do vắt chéo đôi tại ra và giao tử lai do vắt chéo xảy ra đồng thời tại càng nhiều điểm thì chiếm tỷ lệ càng thấp.

Năm 1908÷1911, Morgan đó tập trung nghiên cứu nhiều về nhiễm sắc thể và ông đã phát hiện ra vai trò di truyền của nhiễm sắc thể, ông đã phát hiện ra rằng, các gen sắp xếp thẳng hàng trên nhiễm sắc thể.

4.2.3. Khoảng cách giữa các gen và bản đồ các gen trên nhiễm sắc thể

Sau này, Alfred H. Sturtevan, một học trò xuất sắc của Morgan đã dựa trên nguyên lý phân bố thẳng hàng của các gen trên nhiễm sắc thể để vẽ bản đồ gen. Trên cơ sở tỷ lệ của các loại cá thể do các giao tử lai tạo có thể xác định khoảng cách giữa các gen, Sturtevan đề nghị lấy tần số vắt chéo giữa các gen để đại diện cho khoảng cách giữa các gen và 1% tần số vắt chéo tương đương là một đơn vị bản đồ gen. Để tưởng nhớ và ghi công của người thầy vĩ đại (Morgan) của mình, Sturtevan đã đặt tên cho một đơn vị bản đồ gen trên nhiễm sắc thể là một centi Morgan (cM).

W. E. Castle đã qua đời, song công trình nghiên cứu của ông hơn nửa thế kỷ qua đã đóng góp vô cùng to lớn cho ngành di truyền học động vật. Trong một lần thí nghiệm ông đã cho lai giữa giống thỏ có 3 tính trạng trội với giống thỏ có 3 tính trạng lặn tương phản đã phát hiện sự liên kết gen của 3 gen này, các tính trạng ở thỏ đem lai như sau:

| | | |
|-----------------------------|------------|----------------|
| Thỏ có màu đều C | màu đen B | mỡ màu trắng Y |
| Thỏ Himalaia c ^h | màu hung b | mỡ màu vàng y |

Sau khi thu được thỏ F₁ ông đó cho lai phân tích và thu được kết quả:

| Kiểu hình | Giao tử của F ₁ | Số cá thể thu được |
|--------------------------|----------------------------|--------------------|
| Himalaia, đen, mỡ trắng | c ^h BY | 276 |
| Himalaia, đen, mỡ vàng | c ^h By | 7 |
| Himalaia, hung, mỡ trắng | c ^h bY | 125 |
| Himalaia, hung mỡ vàng | c ^h by | 46 |
| Màu đều, đen, mỡ trắng | CBY | 55 |
| Màu đều, đen mỡ vàng | CBy | 108 |

| | | |
|------------------------|-----|-----|
| Màu đều, hung mỡ trắng | CbY | 16 |
| Màu đều, hung mỡ vàng | Cby | 275 |
| Tổng cộng | | 908 |

Giả sử 3 gen này cùng nằm trên một nhiễm sắc thể và cùng một nhóm liên kết gen. Việc xác định vị trí tương đối hay vị trí của các gen trong nhóm liên kết là khá phức tạp, vì vậy Castle đã giả sử chúng được sắp xếp như trong phép lai đã đưa ra là CBY, có thể giả thiết này là chưa đúng, song chúng ta chấp nhận để tiếp tục tính toán và vẽ bản đồ của chúng.

Theo giả thiết của Castle và kết quả lai phân tích, ta có thể sơ bộ xếp và vẽ bản đồ của 3 gen này như sau:

c^h Y B

C y b

Như chúng ta đã biết, trong số các cá thể thu được của phép lai phân tích thì nhóm nhiều nhất là thuộc các giao tử thuần, kể đến là giao tử vắt chéo đơn, sau đó là giao tử vắt chéo đôi, . . . Từ đó ta tính được tần số vắt chéo đơn và đôi tại các vị trí như sau:

- Vắt chéo đơn tại vị trí giữa gen c^h và Y là:

$$\frac{55 + 46}{908} \times 100 = 11,2\%$$

- Vắt chéo đơn tại vị trí giữa gen Y và B là:

$$\frac{125 + 178}{908} \times 100 = 25,66\%$$

- Vắt chéo đôi tại các vị trí giữa các gen c^h và Y, Y và B là:

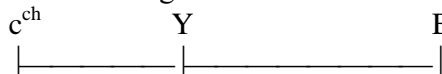
$$\frac{7 + 16}{908} \times 100 = 2,53\%$$

Trong quá trình vắt chéo đồng thời tại nhiều điểm thì luôn xảy ra hiện tượng giao thoa và do vậy xảy ra sự cản pha lẫn nhau làm giảm khả năng vắt chéo giữa các điểm. Vì thế, khi tính khoảng cách giữa các gen bao giờ cũng phải lấy giá trị vắt chéo đơn cộng thêm giá trị vắt chéo đôi, cụ thể trong trường hợp này ta có:

- Khoảng cách giữa c^h - Y = 11,2% + 2,5% = 13,65% \approx 13,65 cM

- Khoảng cách giữa Y - B = 25,66% + 2,53% = 28,19% \approx 28,19 cM

Từ đó ta có thể vẽ bản đồ gen của c^h - Y - B như sau :



$$\rightarrow 13,65 \leftarrow \rightarrow \quad 28,19 \quad \leftarrow$$

Vì sự giao thoa và cản pha trong quá trình vắt chéo nên các trường hợp vắt chéo đôi thực tế bao giờ cũng thấp hơn lý thuyết, trong trường hợp này là:

- Tần số vắt chéo đôi lý thuyết: $(0,136 \times 0,282) \times 100 = 3,83\%$

- Độ cân pha là: $3,83\% - 2,53\% = 1,30\%$
- Hệ số đồng liên tục: $(2,53 : 3,83) \times 100 = 66\%$

Có nghĩa là vắt chéo đôi thực tế xảy ra giữa các gen c^h và Y, Y và B chỉ bằng 66% khả năng của chúng.

4.2.4. Xác định tần số trao đổi chéo

Tần số trao đổi chéo giữa các gen trên cặp nhiễm sắc thể tương đồng phản ánh mức độ liên kết của chúng trong nhóm gen liên kết. Trong thực nghiệm người ta đã sử dụng một số phương pháp để xác định tần số trao đổi chéo ở cơ thể lưỡng bội như phương pháp lai phân tích, phương pháp dựa vào kết quả phân ly ở thế hệ F_2 . Ta cần nhớ rằng, trong phân tích di truyền nói chung, để nghiên cứu gen nào đó thì cần phát hiện được trạng thái tương phản của nó (Ví dụ, dạng bình thường-trội, dạng đột biến-lặn), từ đó ta có thể tạo được thể dị hợp để lai phân tích.

4.2.4.1. Xác định tần số trao đổi chéo dựa vào kết quả lai phân tích

Đây là phương pháp chủ yếu và phổ biến hơn cả. Trong lai phân tích kiểu dị hợp thể theo 2 gen liên kết, trường hợp có xảy ra trao đổi chéo, kết quả của nó như sau:

| Kiểu hình ở F_b | AB | Ab | aB | ab | Tổng số |
|-------------------|-------|-------|-------|-------|---------|
| Số lượng cá thể | a_1 | a_2 | a_3 | a_4 | n |

Trong trường hợp dị hợp thể (Ab/aB) F_b ở trạng thái hút, ta sẽ có AB và ab là 2 kiểu giao tử thuận, Ab và aB là 2 kiểu giao tử lai; Tần số trao đổi chéo (rf) ở là:

$$rf = [(a_1 + a_4)/n] \times 100$$

Sai số chuẩn của rf được tính theo ước lượng tỷ số:

$$Std = \sqrt{[rf(100 - rf)]/n}$$

4.2.4.2. Xác định tần số trao đổi chéo dựa vào kết quả phân ly ở thế hệ F_2

Chúng ta có thể trực tiếp dựa vào kết quả phân ly của các kiểu hình ở thế hệ F_2 để xác định tần số trao đổi chéo của các gen trên cặp nhiễm sắc thể tương đồng mà không cần tiến hành lai phân tích. Trong trường hợp này người ta có thể sử dụng một số phương pháp: Phương pháp gần đúng tối đa (maximum likelihood) (Haldance, 1919), phương pháp nhân (Fisher, Balmukand, 1928) và phương pháp khai căn (Kuspia Bhamhani, 1984).

4.2.5. Một số giải thiết giải thích cơ chế trao đổi chéo

Trao đổi chéo liên quan tới sự trao đổi đoạn giữa 2 nhiễm sắc thể tương đồng được hình thành ở giai đoạn 4 sợi của tiền kỳ I phân bào giảm nhiễm. Tuy nhiên, cơ chế cũng như các thời kỳ diễn ra trao đổi chéo của nhiễm sắc thể ở sinh vật bậc cao là một vấn đề còn cần được làm sáng tỏ.

Sự tiếp hợp của đôi nhiễm sắc thể tương đồng là sự kiện quan trọng nhất xảy ra ở tiền kỳ I của phân bào giảm nhiễm. Những cơ chế liên quan đến tiếp hợp cũng có thể liên quan đến quá trình trao đổi chéo. Một số sự kiện trong giảm phân có thể liên quan đến quá trình trao đổi chéo như:

- Sự tổng hợp ADN trước giảm phân và quá trình tái tổ chức hình thái nhiễm sắc thể. Trong trường hợp này đã quan sát thấy sự tổng hợp ADN ở pha S bị kéo dài, nên khi tế bào bước vào tiền kỳ I chứa kết thúc. Những đoạn ADN tổng hợp muộn có thể liên quan tới sự trao đổi chéo.

- Trong nhiều trường hợp bộ tiếp xúc tham gia vào quá trình tiếp hợp của cặp nhiễm sắc thể tương đồng, nó có vai trò trong sự ghép đôi phân tử ADN, khi ấy ở vùng trung tâm của bộ tiếp xúc có thể xảy ra sự trao đổi đoạn của vật chất di truyền.

Về cơ chế và thời gian diễn ra quá trình trao đổi chéo đã hình thành hai nhóm giả thiết sau:

1. Trao đổi chép đã xảy ra ở tiền kỳ I của giảm phân-trong giai đoạn sợi thô khi 2 nhiễm sắc thể tương đồng tiếp hợp với nhau và kết thúc vào cuối giai đoạn sợi thô khi 2 nhiễm sắc thể tương đồng đẩy nhau ra. Về giả thiết này có thể dẫn ra đây một số bằng chứng như:

- Giai đoạn sợi thô là giai đoạn cuối cùng mà nếu tác động vào đó sẽ làm thay đổi tần số tái tổ hợp.

- Sự hình thành của bộ tiếp xúc quan sát thấy ở đầu tiền kỳ I, nó được duy trì tới cuối giai đoạn sợi thô và phân hủy ở giai đoạn sợi đôi. Ở nhiều sinh vật đã quan sát thấy mối tương quan giữa sự hình thành bộ tiếp xúc với sự trao đổi chéo của các gen. Ví dụ, ở ruồi giấm bộ tiếp xúc được hình thành ở ruồi cái, ở chúng quá trình trao đổi chéo xảy ra bình thường, ngược lại bộ tiếp xúc không quan sát thấy ở ruồi đực và trao đổi chéo bị ức chế.

Trên nhiễm sắc thể, điểm có tàn dư của bộ tiếp xúc tương tự với vị trí có chiasma. Ở thực vật đã tìm thấy nhiều đột biến gây hiện tượng không hình thành chiasma. Ở chúng cũng bị mất khả năng hình thành bộ tiếp xúc và trao đổi chéo bị ức chế.

- Sự tái bản ADN trước giảm phân bị đình trệ (kéo dài), nó kết thúc vào giai đoạn hợp sợi (zygoten) và giai đoạn sợi thô (pachiten). Ở những vùng chưa hoàn thành tái bản, ADN được tổng hợp ở các giai đoạn zygoten-pachiten để thiết lập các đoạn trống.

- Trong giai đoạn pachiten đã phát hiện thấy một protein đặc trưng gọi là R-protein (không có ở tế bào soma), protein này có tác dụng tăng khả năng phục hồi sợi ADN đơn, tăng khả năng tổng hợp ADN để lấp chỗ trống (tổng hợp ADN ở pachiten). Sự phục hồi (sửa chữa) ADN ở giai đoạn pachiten là sự phục hồi có hiệu quả mạnh nhất.

Sự tổng hợp ADN để hoàn thiện những đoạn chưa kết thúc nhân đôi nhiễm sắc thể xảy ra ở giai đoạn zygoten-pachiten có thể dẫn tới trao đổi vật chất di truyền giữa cặp nhiễm sắc thể tương đồng (quá trình này có thể diễn ra theo cơ chế sao chép chọn lọc).

2. Trao đổi chéo có thể xảy ra ở giai đoạn trước tiền kỳ I (trước giảm phân). Có thể xảy ra ở giai đoạn gian kỳ (tĩnh kỳ). Ở đây có thể dẫn ra nhiều bằng chứng, như tác động vào giai đoạn S của gian kỳ và các giai đoạn trước đó đã gây nên sự biến đổi lớn về tần số trao đổi chéo. Ví dụ, tác động của nhiệt độ cao vào giai đoạn sinh trưởng của ruồi giấm làm tăng mạnh tần số trao đổi chéo.

Như vậy, kết quả của sự trao đổi đoạn ADN ở giai đoạn sợi thô (pachiten) có thể được ấn định từ những giai đoạn trước đó. Sự trao đổi chéo xảy ra như một chương trình, ghi nhận từ những giai đoạn trước giảm phân, còn bản thân tiền kỳ I của giảm phân được xem như là giai đoạn cuối và hoàn thiện trao đổi chéo.

4.2.6. Một số yếu tố ảnh hưởng đến tần số trao đổi chéo

1. Ở nhiều sinh vật, yếu tố giới tính có ảnh hưởng tới tần số trao đổi chéo. Ở ruồi giấm, khi lai phân tích dạng dị hợp thể F_1 là ruồi đực, tần số trao đổi chéo bị ức chế, không thu được kiểu giao tử tái tổ hợp. Hiện tượng tương tự được quan sát thấy ở tầm cái và một số loài côn trùng khác (ở các cơ thể là dị giao tử giới tính).

Sự sai khác kể về tần số trao đổi chéo ở giao tử đực và cái được quan sát thấy ở nhiều đối tượng. Người ta đã đưa ra chỉ số $U = rf\text{ cái}/rf\text{ đực}$. $U > 1$ phát hiện thấy ở các động vật như chuột, ngựa, dê, . . . , $U < 1$ quan sát thấy ở gà. Nghiên cứu về trao đổi chéo ở đôi nhiễm sắc thể giới tính ở cá đã phát hiện thấy những trường hợp sau, cá đực XY trở thành cá cái nhờ tác động của hormon, tần số trao đổi chéo của những con này tăng hơn 5 lần so với những con đực bình thường.

Sự sai khác về tần số trao đổi trong giảm phân của tế bào mẹ hạt phấn và tế bào mẹ đại bào tử ở thực vật chưa được nghiên cứu kỹ. Một số kết quả cho thấy rằng, sự sai khác này là không lớn. Ở hành nghiên cứu theo chỉ số chiasma cho thấy, trao đổi chéo tế bào mẹ của đại bào tử thấp hơn so với tế bào mẹ hạt phấn.

2. Ảnh hưởng của kiểu nhân tới tần số trao đổi chéo: Đặc điểm cấu trúc của bản thân nhiễm sắc thể có liên quan tới quá trình trao đổi chéo. Ở những vùng xung quanh tâm động, những vùng dị nhiễm sắc của nhiễm sắc thể trao đổi chéo thường xảy ra ít hơn. Càng xa tâm động, trao đổi chéo càng có xu thế tăng lên, tuy nhiên ở vùng đầu mút của nhiễm sắc thể thường ít xảy ra trao đổi chéo.

Ở vùng dị nhiễm sắc trao đổi chéo thường biến động khá mạnh dưới tác động của các yếu tố ngoại cảnh.

Các đột biến về cấu trúc nhiễm sắc thể như các đảo đoạn làm giảm rất mạnh tần số trao đổi chéo, các chuyển đoạn và một số mất đoạn cũng gây giảm tần số trao đổi chéo. Nhìn chung, sự giảm tần số trao đổi chéo do các đột biến về cấu trúc nhiễm sắc thể có thể liên quan tới những khó khăn trong sự tiếp hợp của cặp nhiễm sắc thể tương đồng và sự giảm sức sống của những kiểu tái tổ hợp.

Một số dạng đột biến về số lượng nhiễm sắc thể như cá thể một, thể không gây giảm tần số trao đổi chéo. Ở một số loài như ngô, dế, sự có mặt của một nhiễm sắc thể phụ B có thể làm tăng tần số trao đổi chéo.

Các yếu tố di truyền di động trong genom có ảnh hưởng tới quá trình trao đổi chéo. Các nghiên cứu ở ruồi, ngô cho thấy, hoạt động của các yếu tố di truyền di động làm tăng tần số trao đổi chéo ở vùng lân cận.

3. Những đột biến liên quan tới quá trình giảm phân có ảnh hưởng tới tần số trao đổi chéo: Chúng có đặc điểm chung là làm giảm tần số

này. Về cơ bản, do quá trình tiếp hợp của cặp nhiễm sắc thể đồng nguồn ở chúng bị ảnh hưởng. Ở nhiều loài thực vật như ngô, cà chua, lúa mạch,... đã phát hiện thấy các gen làm mất khả năng tiếp xúc của cặp nhiễm sắc thể tương đồng. Ở ngô đã tìm thấy dạng đột biến elongate ngăn cản sự phân chia giảm nhiễm II. Các trường hợp này tần số trao đổi chéo bị giảm mạnh.

4. Tuổi sinh lý ảnh hưởng tới tần số trao đổi chéo: Ở ruồi dấm các lúa đẻ đầu có tần số trao đổi chéo cao hơn các lúa đẻ sau. Ở chuột đã phát hiện ra tương quan nghịch giữa tuổi ruồi đực và tần số trao đổi chéo.

Ở cà chua, tần số trao đổi chéo ở chùm hoa đầu cao hơn so với các chùm hoa tiếp theo. Các nghiên cứu đã cho thấy, chùm hoa thứ nhất có tần số trao đổi chéo gấp 3 lần so với những chùm hoa tiếp theo.

5. Các yếu tố ngoại cảnh ảnh hưởng tới tần số trao đổi chéo: Trong trường hợp khan hiếm thức ăn, Ví dụ: Ở ruồi dấm-sự nhện đói của các cá thể F_1 đã gây tăng tần số trao đổi chéo. Các cây trồng F_1 trong điều kiện khó khăn, nghèo dinh dưỡng đã cho tần số trao đổi chéo cao hơn.

Yếu tố nhiệt độ đã ảnh hưởng đáng kể tới sự thay đổi tần số trao đổi chéo. Ví dụ, ở ruồi giấm, nhiệt độ bất thuận thấp ($9\div 13^{\circ}\text{C}$) và cao ($30\div 33^{\circ}\text{C}$) làm tăng tần số trao đổi chéo. Nhiệt độ có thể làm tăng tần số trao đổi chéo ở những vùng riêng rẽ trên nhiễm sắc thể.

Các tác nhân vật lý, hoá học khác nhau (và liều lượng của chúng) có tác động làm thay đổi tần số trao đổi chéo như: Các tia γ , ronghen, . . . các chất hoá học gây đột biến, các chất kháng sinh, cafein, các chất ức chế tổng hợp ADN, . . . Các chất ức chế (vật lý, hoá học) có ảnh hưởng khá đa dạng tới quá trình trao đổi chéo. Nhìn chung, chúng có tác dụng tăng cường quá trình trao đổi chéo.

4.2.7. Các khối đồng thích ứng của các gen

Đó là khối liên kết các gen chặt chẽ (liên kết hoàn toàn), luôn được di truyền như một khối thống nhất, trọn vẹn. Những khối này có thể liên quan tới một nhiễm sắc thể trọn vẹn, một đoạn nhiễm sắc thể nào đó, mà ở đây rất hiếm hoặc không xảy ra trao đổi chéo. Các gen trong khối này tương tác với nhau theo nhiều phương thức, tạo nên một giá trị thích ứng tốt nào đó tới môi trường sống. Các khối đồng thích ứng của các gen thường quan sát thấy phổ biến hơn ở những loài hoang dại, bán hoang dại. Các giống địa phương có độ thích ứng cao. Các khối đồng thích ứng có thể được hình thành ở cơ thể lai F_1 do kết quả của sự phối hợp tốt.

Sự ức chế trao đổi chéo trong khối có thể do một trong những nguyên nhân sau: Tồn tại các đảo đoạn hay chuyển đoạn, vùng không hình thành các chiasma, do các gen trong nhóm rất sát nhau, . . .

Ở sinh vật tồn tại nhiều khối đồng thích ứng của các gen khác nhau. Ví dụ, khối gen liên quan tới chức năng sinh sản, khối gen liên quan tới hiện tượng khác biệt về cấu trúc của vòi nhụy của cái và vị trí của nhụy đực. Khối này bao gồm 7 locus kiểm tra các tính trạng sau:

Độ dài của vòi nhụy, vị trí của bao phấn, tính không dung hợp giữa phần và vòi nhụy, kích thước của hạt phấn, . . . Khi xảy ra tái tổ hợp có thể hình thành các cây tự phù hợp.

4.2.8. Các cá thể F_1 như là tiềm năng biến dị

Mức độ dị hợp thể của gen ở con lai F_1 có liên quan tới mức độ đa dạng về các kiểu gen ở quần thể phân ly F_2 . Các biến dị tái tổ hợp ở quần thể phân ly thu được do hai cơ chế là: *Sự phân ly của các gen độc lập và trao đổi chéo đối với các gen liên kết, trong đó phần lớn trông chờ vào cơ chế trao đổi chéo*. Không hiếm xảy ra trường hợp là F_1 mặc dù có nhiều gen ở trạng thái bị hợp thể, song phần lớn chúng được liên kết chặt, dẫn tới quần thể F_2 có phổ phân ly hẹp và tần số các kiểu tái tổ hợp thấp. Trường hợp này thường gặp khi lai giữa các loài, loài phụ lân cận đã gây nhiều khó khăn cho việc chọn lọc các kiểu phân ly.

Mục tiêu của chọn giống là tạo ra quần thể chọn lọc đa dạng có phổ rộng về các kiểu biến dị tái tổ hợp và tần số của chúng tăng, để có cơ hội chọn lọc được những kiểu hiếm, có giá trị cho việc tạo giống.

Các cơ chế di truyền cơ bản gây nên sự hạn chế việc xuất hiện các biến dị di truyền ở quần thể phân ly từ kiểu dị hợp thể có thể thuộc 3 nhóm sau đây:

1. Các hạn chế liên quan tới những ảnh hưởng làm giảm tần số trao đổi chéo của các gen trên các nhiễm sắc thể ở kiểu nhân.

2. Sự gặp gỡ của các giao tử không mang tính chất ngẫu nhiên mà có tính chất chọn lọc, một số kiểu giao tử có thể có sức cạnh tranh kém, từ đó dẫn tới sự hạn chế xuất hiện một số kiểu tổ hợp nào đó.

3. Tác động của chọn lọc (đào thải) lên các giai đoạn khác nhau của vòng đời cá thể như: Hợp tử, phôi, cây con, . . . dẫn tới sự mất đi một số kiểu tái tổ hợp mà chúng có thể mang ý nghĩa cao cho vật liệu tạo giống.

Nhiệm vụ của di truyền phục vụ cho chọn giống thể hiện ở chỗ cần có biện pháp khắc phục những hạn chế nêu trên, đưa ra những can thiệp nhằm tăng cường quá trình hiện thực hoá những biến dị di truyền tiềm năng của F_1 , để thu quần thể phân ly có tần số và phổ các biến dị di truyền lớn, đáp ứng cho việc chọn lọc.

4.3. DI TRUYỀN XÁC ĐỊNH VÀ LIÊN KẾT GIỚI TÍNH

Sự phân biệt giới tính đực và cái là một trong những nấc thang tiến hoá quan trọng của sinh vật, sinh vật càng tiến hoá thì sự phân biệt giới tính càng rõ rệt. Sự phân biệt đực, cái được đặc trưng bởi nhiều đặc điểm, tính trạng khác nhau. Các tính trạng giới tính cũng giống như các tính trạng khác, chúng đều được các gen nằm trong và ngoài nhân điều khiển, đồng thời chúng cũng chịu ảnh hưởng của các yếu tố môi trường. Các tính trạng giới tính cũng được hình thành và phát triển trong suốt cuộc đời của cá thể. Sự di truyền của các tính trạng ở con đực và con cái có những sự khác nhau nhất định: Một số tính trạng của giới tính chỉ có ở tế bào sinh đực, không có ở tế bào thường.

Giới tính là một tập hợp của tất cả các đặc điểm và tính trạng của một cơ thể. Những đặc điểm và tính trạng của giới tính đều nhằm một mục đích là bảo đảm cho sự tái sinh thế hệ của sinh vật và đều được di truyền từ thế hệ này qua thế hệ khác.

4.3.1. Lương hình về giới tính

Những sự khác nhau về các đặc điểm giới tính giữa cá thể đực và cá thể được gọi là lương hình giới tính, chúng thường được chia làm hai nhóm:

Các đặc điểm sơ cấp: Bao gồm các đặc điểm về cấu tạo, hình thái của cơ quan sinh sản, các bộ phận tham gia vào quá trình phát sinh giao tử, quá trình kết hợp các giao tử với nhau để hình thành hợp tử và phát triển thành cơ thể mới.

Các đặc điểm thứ cấp: Bao gồm các đặc điểm, tính trạng không tham gia trực tiếp vào quá trình sinh sản, ví dụ: Hình dáng, màu sắc của các bộ phận, cơ quan, . . . Tuy các đặc điểm thứ cấp không có ảnh hưởng đến sự bảo tồn, phát triển nòi giống, song ở chừng mực nhất định nào đó chúng cũng phản ánh tình trạng sinh sản của cơ thể, hỗ trợ cho các hoạt động sinh sản và do vậy ảnh hưởng đến hoạt động của giới tính.

Sự phân biệt giới tính đã làm tăng tính tiến hoá, sự đa dạng, phong phú của sinh vật. Nhờ có sự khác nhau của cơ thể đực và cơ thể cái, sự khác nhau của giao tử đực và giao tử cái đã tạo làm cho các biến dị tổ hợp ngày càng tăng, do đó sinh vật đã ngày càng tỏ ra thích ứng tốt hơn với môi trường sống.

4.3.2. Sự phân ly giới tính ở động vật

Ở tuyệt đại đa số loài động vật sinh sản hữu tính đều có sự phân ly giới tính thường theo tỷ lệ 1 : 1 (50% đực và 50% cái), nhưng nó còn tùy theo từng loài, từng giai đoạn phát triển của các cá thể trong quần thể mà tỷ lệ này có sự thay đổi.

Để giải thích vì sao có tỷ lệ 1 : 1, các nhà nghiên cứu đã đi sâu tìm hiểu cơ sở vật chất của sự di truyền xác định và phân ly giới tính, kết luận cuối cùng của họ là do có sự khác nhau về nhiễm sắc thể giới tính.

Trong bộ nhiễm sắc thể của các cá thể thường có 1 chiếc hay một cặp nhiễm sắc thể đặc biệt được gọi là nhiễm sắc thể giới tính, chúng có cấu trúc khác với các nhiễm sắc thể thường và thường chỉ có chức năng điều khiển sự hình thành, phát triển của 'các đặc điểm-tính trạng thuộc về giới tính. Ví dụ, trong bộ nhiễm sắc thể của con rệp (*Protonor*) đực chỉ có 13 chiếc nhiễm sắc thể, trong đó có 1 chiếc là nhiễm sắc thể giới tính; ở con rệp cái có 14 chiếc nhiễm sắc thể, trong đó có 1 cặp là nhiễm sắc thể giới tính. Loài bọ (*Lygarus*) cả con đực và con cái đều có bộ nhiễm sắc thể gồm 14 chiếc, trong đó có 1 cặp nhiễm sắc thể là nhiễm sắc thể sinh dục.

Ngoài khả năng điều khiển sự hình thành giới tính theo các dạng nhiễm sắc thể giới tính như trên, động vật còn hình thành giới tính theo con đường đơn tính sinh như ở mối, ong và một số loài khác. Ở ong (ong chúa và ong thợ) giống cái được sinh ra từ trứng đã được thụ tinh nên trong tế bào soma của chúng có bộ nhiễm sắc thể lưỡng bội ($2n = 32$), giống đực chỉ có

đơn bội nhiễm sắc thể ($n = 16$) vì chúng đã được sinh ra từ trứng không được thụ tinh, tức là sinh ra theo con đường đơn tính sinh.

Ở thực vật, sự phân biệt giới tính thể hiện ở những cây đơn tính biệt chu (dicocious). Ở một số cây biệt chu đã phân lập rõ cặp nhiễm sắc thể giới tính. Ví dụ, *Melandrium album* $2n = 22$, trong đó đực XY, cái XX; *Rumex angiocarpus* $2n = 14$, trong đó đực XY, cái XX; *Canabis sativa* $2n = 20$, trong đó đực XY và cái XX; . . . Nhiều cây biệt chu khác chưa rõ cặp nhiễm sắc thể giới tính và sự xác định chúng là phức tạp hơn.

Đến nay người ta đã phát hiện ra hầu hết các loại nhiễm sắc thể sinh dục của các loài động vật.

Bảng 4.1. Nhiễm sắc thể sinh dục ở một số loài động vật

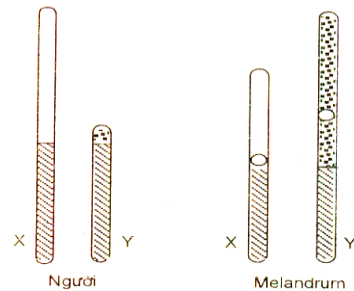
| Loài động vật | Giống dị giao tử | Giao tử | | Hợp tử | |
|-----------------|------------------|------------|--------|--------|-----|
| | | Tinh trùng | Trứng | Đực | Cái |
| Người, ruồi dấm | Đực | X và Y | X và X | XY | XX |
| Bọ protonor | Đực | X và 0 | X và 0 | X0 | XX |
| Chim, bướm | Cái | X và X | X và Y | XX | XY |

Thông thường thì những cây hai lá mầm là lưỡng tính nhiều hơn đơn tính (có thể nói đa số là lưỡng tính) còn ở cây một lá mầm thì ngược lại. Thực vật cũng có nhiễm sắc thể giới tính quy định giới tính, nhưng có rất nhiều loài giới tính không do nhiễm sắc thể giới tính quy định mà do một số gen trên nhiễm sắc thể thường quy định. cây đu đủ là một ví dụ điển hình cho hiện tượng đó.

Các vật chất di truyền khó phát hiện nằm trên nhiễm sắc thể thường, trong các cấu trúc đặc biệt của nhân hoặc tế bào chất và cũng có thể là sản phẩm của các mối quan hệ tương tác giữa các nhiễm sắc thể hoặc các gen.

Nhiễm sắc thể Y thường nhỏ hơn nhiễm sắc thể X. Lượng thông tin di truyền của cá thể đồng giao tử (XX) vì thế nhiều hơn cá thể dị giao tử (XY hoặc X0).

Các nhiễm sắc thể sinh dục thường có những đặc điểm riêng về cấu tạo, cũng như đặc tính di truyền so với nhiễm sắc thể thường. Trong thời gian hình thành tế bào sinh dục nhiễm sắc thể X và Y thường ở trạng thái xoắn mạnh và ở một số loài chúng ít kết hợp để tạo cặp với nhau, vì thế các nhiễm sắc thể sinh dục trong quá trình phân chia ít tạo thành tứ tử. Vì vậy, người ta gọi nhiễm sắc thể sinh dục là dị nhiễm sắc.



Hình 4.1. Sơ đồ cấu trúc của nhiễm sắc thể giới tính ở người và cây *Melandrium album*. Phần trắng là các gen có trên NST X, không có trên Y; phần chấm đen-các gen có trên NST Y, không có trên X; phần gạch chéo là các gen có cả trên NST X và Y

Trong quá trình phân bào giảm nhiễm để phát sinh giao tử, có khá nhiều trường hợp xảy ra sự phân ly không đều của các nhiễm sắc thể sinh dục về các giao tử, dẫn đến việc tạo nên các giao tử không bình thường (có 2 nhiễm sắc thể X, có cả bộ nhiễm sắc thể XY hoặc không có chiếc nhiễm sắc thể sinh dục nào). Hậu quả là khi các giao tử không bình thường kết hợp với nhau sẽ tạo thành các cơ thể không bình thường.

Ngoài sự phân ly giới tính được điều khiển bởi các gen trên nhiễm sắc thể sinh dục, nó còn phụ thuộc một số điều kiện khác, chúng ta hãy xem xét một số thuyết dưới đây.

4.3.3. Sự di truyền của các tính trạng liên kết với giới tính

Như chúng ta đã biết, ở sinh vật đã có sự phân biệt về giới tính và sinh sản hữu tính thì trong bộ nhiễm sắc thể của chúng bao giờ cũng có một nhiễm sắc thể sinh dục bao giờ cũng chứa ít gen hơn, đặc biệt là các gen tham gia điều khiển các tính trạng thường. Nhiễm sắc thể sinh dục chủ yếu chứa các gen tham gia điều khiển các tính trạng thuộc về giới tính, tuy nhiên chúng cũng chứa một số ít các gen tham gia điều khiển các tính trạng khác. Các gen tham gia điều khiển các tính trạng khác nhưng nằm trên nhiễm sắc thể sinh dục thì được gọi là các gen liên kết với giới tính. Ngoài việc hoạt động theo các quy luật di truyền bình thường thì các gen này cũng có những quy luật riêng của chúng, trong phần này ta sẽ xem xét các quy luật riêng đó.

Nhiễm sắc thể giới tính là nhiễm sắc thể đặc biệt, chúng nhỏ hơn và chứa ít cơ sở vật chất di truyền hơn các nhiễm sắc thể thường, đặc biệt là nhiễm sắc thể Y. Tuy nhiên, người ta cũng đã phát hiện được khá nhiều gen điều khiển các tính trạng không phải giới tính nằm trên các nhiễm sắc thể X và Y.

Hai nhiễm sắc thể X và Y là hai nhiễm sắc thể không tương đồng, một số gen bên X không có bên Y, ngược lại một số gen bên Y lại không có alen tương ứng ở bên X. Số gen còn lại có cả bên X và bên Y. Như vậy, ở đôi nhiễm sắc thể XY có 3 vùng nhiễm sắc thể. Vùng tương đồng cho cả hai, vùng đặc trưng cho X, vùng đặc trưng cho Y.

Nhìn chung, nhiễm sắc thể Y thường chứa nhiều chất dị nhiễm sắc, vì thế những gen đặc trưng của nhiễm sắc thể X được phát hiện nhiều hơn so với nhiễm sắc thể Y.

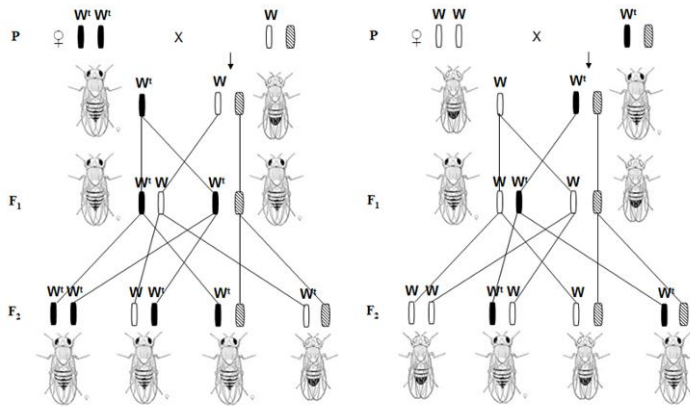
4.3.3.1. Gen có ở bên X không có alen tương đồng bên Y

Trường hợp này có thể lấy một số ví dụ điển hình về sự di truyền của gen kiểm tra màu mắt ở ruồi dấm. Năm 1909 Morgan đã tiến hành:

- Cho lai ruồi đục mắt trắng (quy định bởi gen a) với ruồi cái mắt đỏ (quy định bởi gen A), thế hệ F_1 thu được toàn ruồi mắt đỏ, thế hệ F_2 thu được tỷ lệ phân ly kiểu hình là 3 mắt đỏ : 1 mắt trắng, trong đó ruồi cái 100% mắt đỏ và ruồi đực 50% mắt đỏ, 50% mắt trắng.

- Cho lai ruồi mắt trắng với ruồi đực mắt đỏ, thế hệ F_1 đã không thu được kiểu hình đồng nhất như ở định luật I của Mendel mà có sự phân ly 100% ruồi cái mắt đỏ và 100% ruồi đực mắt trắng. Như vậy trong trường hợp này ruồi cái F_1 (con gái) có mắt giống bố và ruồi đực F_1 (con

trai) có mắt giống mẹ. Thế hệ F₂ sự phân ly kiểu hình cũng không phải là 3 : 1 mà chỉ là 1 : 1 ở từng nhóm giới tính.



Hình 4.2. Di truyền của tính trạng liên kết giới tính ở ruồi dấm

Giải thích hiện tượng này tác giả đã giả thiết: Các gen điều khiển tính trạng màu mắt của ruồi giấm chỉ có trên nhiễm sắc thể giới tính X mà không có trên nhiễm sắc thể Y, vì vậy:

| | | | |
|----------------|----------------------|---|------------------|
| | P Ruồi cái mắt trắng | x | Ruồi đực mắt đỏ |
| | X^aX^a | ↓ | X^AY |
| F ₁ | X^AX^a | ↓ | X^aY |
| | 100% mắt đỏ | ↓ | 100% mắt trắng |
| F ₂ | X^AX^a mắt đỏ | | X^AY mắt đỏ |
| | X^aX^a mắt trắng | | X^aY mắt trắng |

Trong trường hợp các gen điều khiển các tính trạng liên kết với giới tính mà giống đực là dị giao tử thì con cái có cặp nhiễm sắc thể giới tính là XX nên luôn có thể truyền cho con đực một nhiễm sắc thể chứa gen, còn con đực chỉ có một nhiễm sắc thể X nên chỉ có thể truyền cho con gái nhiễm sắc thể X chứa gen và truyền cho con đực nhiễm sắc thể Y không chứa gen. Vì vậy, các gen điều khiển các tính trạng liên kết với nhiễm sắc thể X đã có quy luật di truyền đối với các tính trạng này là *di truyền chéo, bố cho con gái rồi cho cháu trai và mẹ cho con trai rồi cho cháu gái*.

4.3.3.2. Trường hợp gen nằm trên Y không có tương đồng trên X

Trong trường hợp này tính trạng nghiên cứu chỉ di truyền theo dòng đực (khi các con đực là dị giao tử XY) và theo dòng cái (khi con cái là giao tử XY). Nói cách khác nhiễm sắc thể Y có mặt ở đâu thì tính trạng biểu hiện ở đó.

Chúng ta hãy xem ví dụ sau:

| | | | |
|---------------------|-----------------|---|------------|
| | Cá cái xám | x | Cá đực đốm |
| | XX | ↓ | XY^{Ma} |
| Giao tử đực ↓ cái → | X | | X |
| | Y ^{Ma} | | XX |
| | | | Cái xám |
| | | | $X Y^{Ma}$ |
| | | | Đực đốm |

Trong trường hợp gen liên kết nhiễm sắc thể giới tính Y, vì chỉ có con đực mới có tương ứng với nhiễm sắc thể Y chứa gen liên kết và cũng chỉ có

các con đực con mới nhận tinh trùng với nhiễm sắc thể Y chứa gen này. Vì vậy 100% các đực con đều có kiểu hình giống bố. Như vậy trong trường hợp gen điều khiển tính trạng liên kết trên nhiễm sắc thể sinh dục Y thì sẽ có *bố di truyền trực tiếp cho con đực (traí)*, không di truyền cho con cái (gái).

4.3.3.3. Gen nằm trên phần tương đồng của nhiễm sắc thể X và Y

Trong trường hợp này gen có mặt trên 2 nhiễm sắc thể X và Y. Chúng ta hãy xem xét trường hợp sự di truyền của tính trạng tai có lông ở người do gen lặn (a) điều khiển, gen trội tạo nên trạng thái không có lông (hay bình thường). Ở đây quan sát thấy hiện tượng di truyền liên kết giới tính từng phần, ông truyền cho 1/2 cháu trai, bà truyền cho 1/2 cháu gái.

Di truyền của các tính trạng liên kết giới tính có ý nghĩa quan trọng trong việc chọn lọc các cá thể đực cái. Đặc biệt khi gen liên kết giới tính chỉ thị cho sự phân biệt đực cái ở những giai đoạn sớm của đời sống (gà sọc, trứng tằm) thông qua những quy luật của các tính trạng liên kết với giới tính, từ đó ta có thể chọn lọc được các cá thể đực cái theo mục tiêu đề ra của chúng ta.

| | | | | | | | |
|----------------|-----------------------------|---|-------------------------------------|----------------|--------------------------------|---|---|
| P | Cái X^aX^a có lông | x | đực X^AY^A b. thường | P | cái X^AX^A có lông | x | đực X^aY^a bình thường |
| | | ↓ | đực X^AY^A b. thường | | | ↓ | đực X^aY^a bình thường |
| F ₁ | cái X^AX^a bình thường | ↓ | đực X^AY^A b. thường | F ₁ | cái X^AX^a bình thường | ↓ | đực X^AY^a bình thường |
| (con) | | | | F ₂ | X^AX^A X^AX^a b. thường | | X^AY^a , X^aY^a b. thg, có lông |
| F ₂ | X^aX^a có lông | | X^AX^a , X^AX^A b. thường | F ₂ | X^AX^A X^AX^a b. thường | | X^AY^a , X^aY^a b. thg, có lông |
| (cháu) | X^aX^a b. thường | | | | | | |

VD: Các tính trạng: Màu lông vằn ở gà Plymouth, màu sắc chân gà Australop, màu đen của trứng tằm là các tính trạng liên kết của giới tính.

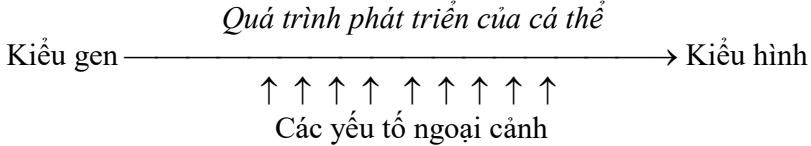
Ở gà Plymouth gen B trội nằm trên nhiễm sắc thể X tạo cho gà mái có gặp nhiễm sắc thể giới tính X^BY lông vằn (đen trắng), lông đen do gen b lặn điều khiển tạo cho gà trống có nhiễm sắc thể X^bX^b lông đen. Nếu cho giao 2 nhóm gà như vậy với nhau ta sẽ có:

| | | | |
|----------------|--|---|--|
| P | Gà mái vằn X^BY | x | Gà trống đen X^bX^b |
| | | ↓ | |
| F ₁ | 100% X^bY lông đen | | 100% X^BX^b lông vằn |
| F ₂ | 50% X^BY lông vằn 50% X^bY lông đen | | 50% X^BX^b lông vằn 50% X^bX^b lông đen |

Trên cơ sở các nhóm gà với các màu lông khác nhau và độ rộng của băng sọc (vằn) người ta đã ứng dụng vào việc chọn gà con trống mái ngay từ một ngày tuổi. Trứng của tằm cũng được phân biệt giới tính ngay, dựa vào màu sắc của quả trứng, các trứng sẫm màu sẽ nở ra tằm đực và trứng sáng màu sẽ nở ra tằm cái. Tằm đực cho sản lượng kén cao hơn tằm cái từ 20÷40%.

Chương 5 BIẾN DỊ VÀ ĐỘT BIẾN

Biến dị của sinh vật là một trong ba yếu tố trong sự tiến hoá của sinh vật và thường là những quá trình phức tạp. Biến dị là cơ sở để chọn lọc những sinh vật có khả năng thích ứng với điều kiện sống. Người ta cho rằng, biến dị là một quá trình phản ánh mối liên hệ giữa sinh vật và ngoại cảnh. Trên quan điểm di truyền thì biến dị là kết quả phản ứng của kiểu gen đối với điều kiện ngoại cảnh bên ngoài trong quá trình phát triển cá thể. Mối liên hệ giữa cơ thể với ngoại cảnh được thể hiện qua sơ đồ sau:



5.1. Khái niệm và phân loại của biến dị

Biến dị là những biến đổi mà cơ thể sinh vật thu được dưới tác động của các yếu tố ngoại cảnh và do quá trình tái tổ hợp di truyền. Darwin là người đầu tiên đã phân chia biến dị ra làm 2 nhóm: (1) Biến dị không di truyền-thường biến (biến dị không xác định) và (2) biến dị di truyền-đột biến (biến dị xác định).

Những biến dị không di truyền ngày nay gọi là thường biến, chúng là những biến đổi của các đặc điểm, tính trạng của sinh vật được phát sinh trong quá trình phát triển của cơ thể dưới ảnh hưởng của các yếu tố ngoại cảnh bên ngoài, không di truyền lại cho thế hệ sau trong sinh sản hữu tính.

Biến dị di truyền là tất cả những biến đổi của các đặc điểm, tính trạng của sinh vật, không bị mất đi trong quá trình sinh sản hữu tính và được di truyền từ đời này qua đời khác.

Như vật là các đặc điểm, tính trạng của sinh vật có thể bị biến đổi. các đặc điểm, tính trạng cũ mất đi, các đặc điểm, tính trạng mới có thể xuất hiện. Các biến đổi cho dù ở mức độ nào, dù có được di truyền hay không được di truyền chúng đều là nguyên nhân tạo ra sự đa dạng, phong phú của sinh vật.

Tính đa dạng phong phú của sinh vật được hình thành như thế nào trong khi tính di truyền lại làm cho sinh vật giống nhau (*bảo thủ*) từ thế hệ này qua thế hệ khác. Những nguyên nhân nào đã làm cho các sinh vật xảy ra các biến dị, cơ chế để tạo ra các dạng biến dị như thế nào, làm thế nào để có thể tạo ra các biến dị có lợi và ngăn ngừa các biến dị có hại, con người đã sử dụng các dạng biến dị phục vụ cho kinh tế, xã hội như thế nào? Đây là những nội dung nghiên cứu của di truyền học về các biến dị của sinh vật.

5.1.1. Phân loại các biến dị

Biến dị nói chung là những biến đổi rất đa dạng ở sinh vật, chúng được phân ra theo các nhóm sau đây:

1. *Biến dị không di truyền*: Đó là những biến dị liên quan đến kiểu hình, không liên quan đến vật chất di truyền. Những biến đổi này còn được gọi là thường biến.

2. *Biến dị di truyền*: Đó là những biến đổi có liên quan đến vật chất di truyền của cơ thể. Trong đó có thể phân ra 2 nhóm: (a) *biến dị đột biến*-là những biến đổi có tính chất hoá học của vật liệu di truyền. (b) *biến dị tái tổ hợp*-là những tổ hợp sắp xếp gen mới mà đời con thu được khác với bố mẹ do sự phân ly độc lập và sự trao đổi chéo của các gen.

3. Có thể phân lập một dạng biến dị thứ ba, gọi là *biến dị phát triển cá thể*-đó là những thể hiện về mức phản ứng của tính trạng di truyền diễn ra trong vòng đời của cá thể và những biến đổi về chương trình thực hiện thông tin di truyền trong quá trình phát triển cá thể. Các biến dị ở nhóm này có thể là thường biến hoặc đột biến.

5.1.2. Thường biến và mức phản ứng

5.1.2.1. Khái niệm về thường biến

Thường biến là những biến đổi về kiểu hình của các kiểu gen giống nhau trong những điều kiện tác động ngoại cảnh khác nhau:

| | | |
|----------|-------------------------------------|-----------------|
| | [Ngoại cảnh 1 —————> Kiểu hình 1] | |
| | [Ngoại cảnh 2 —————> Kiểu hình 2] | |
| Kiểu gen | [Ngoại cảnh 3 —————> Kiểu hình 2] | Các thường biến |
| | [..... —————>] | |
| | [Ngoại cảnh n —————> Kiểu hình n] | |

Thường biến là hiện tượng phổ biến ở các đối tượng sinh vật. Trong quá phát triển của cơ thể sinh vật, người ta đã thấy xuất hiện những biến đổi của các đặc điểm sinh lý, hình thái và những đặc điểm tính trạng khác. Những biến đổi này thuộc loại *biến đổi kiểu hình không di truyền*. Ta hãy xem xét lại công thức về mối liên hệ giữa kiểu hình-kiểu gen và ngoại cảnh ở chương trước:

$$P = G + E$$

$$\sigma_P^2 = \sigma_G^2 + \sigma_E^2 \text{ hoặc } V_P = V_G + V_E$$

Trong đó:

V_P là biến đổi của kiểu hình

V_G là biến đổi do yếu tố truyền hay kiểu gen

V_E là biến đổi do yếu tố ngoại cảnh

Như vậy những biến đổi của kiểu hình là do những biến đổi của kiểu di truyền dưới tác động của những thay đổi của các yếu tố ngoại cảnh. Trong trường hợp biến dị không di truyền thì kiểu gen không thay đổi vì vậy mà không có V_G , mà chỉ có V_P và V_E . Điều này có nghĩa là những biến đổi của kiểu hình ở đây chỉ phụ thuộc vào thay đổi của yếu tố ngoại cảnh, $V_P \sim V_E$.

Ta có thể xem xét một số ví dụ sau đây: Tập đoàn tảo *Chlorella* có kiểu gen nhất định khi một tập đoàn này sống trong điều kiện môi trường đủ ánh sáng thì chúng sẽ có màu xanh, đưa chúng vào sống trong điều

kiện bóng tối chúng sẽ có màu vàng và sau đó lại đem chúng ra sáng trong điều kiện đủ ánh sáng thì chúng lại có màu xanh. Rõ ràng kiểu gen của tảo *Chlorella* không thay đổi, song do điều kiện ngoại cảnh thay đổi đã làm cho kiểu hình của chúng thay đổi.

Dạng biến đổi kiểu hình như vậy còn có thể thấy ở nhiều loài động thực vật khác nữa. Ví dụ, nhiều loài côn trùng (sâu bọ) khi sống trên các cây, để cho kẻ thù không nhìn thấy, chúng đã thay đổi màu sắc của lông da của chúng giống như màu của vỏ, lá cây nơi mà chúng đang sinh sống.

Nếu những biến đổi xuất hiện ở sinh vật, trên kiểu hình, chỉ trong những thời điểm hoặc khoảng thời gian nhất định hoặc trong một đời của một cá thể một nhóm cá thể như trên thì được gọi là *biến đổi kiểu hình*.

Biến đổi kiểu hình thường xảy ra đối với các giống cây trồng và vật nuôi nhập nội hoặc di chuyển vùng sinh thái. Trong quá trình thích nghi, nhiều giống, cá thể giảm khả năng sản xuất, đặc biệt là khả năng sinh sản: Chậm sinh, vô sinh, . . .

Qua những ví dụ trên chúng ta thấy, các tính trạng số lượng rất dễ bị biến đổi, vì chúng phụ thuộc rất nhiều vào những thay đổi của các điều kiện môi trường (khí hậu, chăm sóc nuôi dưỡng, phân bón, . . .), nếu biết vận dụng để không chế và cải thiện thì sẽ tạo ra các biến dị có lợi, còn ngược lại thì sẽ làm giảm khả năng sản có (*tiềm năng di truyền*) của sinh vật.

5.1.2.2. Mức phản ứng

Thường biến là kết quả biểu hiện kiểu hình do sai khác về điều kiện của ngoại cảnh gây nên, không phải do sai khác về kiểu gen, vì thế không thể sử dụng thường biến để làm vật liệu để chọn lọc. Trong những điều kiện ngoại cảnh khác nhau mỗi một kiểu gen chỉ có một giới hạn xác định về sự thể hiện kiểu hình của tính trạng. *Giới hạn này gọi là mức phản ứng của kiểu gen*.

Nói cách khác, *mức phản ứng cho biết khả năng của một kiểu gen đáp ứng lại sự tác động của ngoại cảnh bằng thường biến của nó khác với thường biến của kiểu gen khác*.

Bản thân thường biến là những sự khác biệt không di truyền, song mức phản ứng của các kiểu gen là đặc trưng di truyền. Vì thế chúng ta có thể chọn được kiểu gen có mức phản ứng rộng hoặc hẹp về thể hiện thường biến. Qua đó có thể xác định được sự thể hiện kiểu hình tối ưu của kiểu gen.

Các đặc điểm cơ bản của thường biến:

Trong các điều kiện ngoại cảnh khác nhau thường biến xảy ra đối với những tính trạng nào đó, thể hiện ở góc độ định tính cũng như định lượng, thường biến có các đặc điểm sau:

1. Thường biến phụ thuộc vào đặc điểm của các yếu tố tác động tạo ra nó. Thường là những biến đổi định hướng (biến dị xác định), tức là dựa vào kiểu ngoại cảnh tác động có thể đoán trước được sự biểu hiện của biến dị thường biến.

2. Mức độ thể hiện của các thường biến tỷ lệ thuận với cường độ và trường độ của tác động tạo nên chúng. Tính chất này tương ứng với khái

niệm biến dị tương quan (lần đầu tiên do Lamarck đưa ra). Tuy nhiên mối quan hệ này chỉ xem xét trong giới hạn mức phản ứng của kiểu gen.

3. Thường biến có tính chất thuận nghịch. Khi dừng tác động của ngoại cảnh mới (trở về ngoại cảnh cũ), thì tính trạng lại quay trở lại trạng thái ban đầu.

4. Thường biến có tính chất thích ứng-đây là đặc điểm rất quan trọng của thường biến. Khi ngoại cảnh thay đổi, các cơ thể sinh vật xảy ra các thường biến, làm cho nó thích ứng với điều kiện ngoại cảnh thay đổi này. VD. trong điều kiện hạn hán cây có bản lá nhỏ hơn, dày hơn và lông tăng hơn so với trong điều kiện thuận lợi. Cây rau dứa sống ở điều kiện nước thì rễ phụ được hình thành phao giúp cho cây nổi lên trên mặt nước dễ dàng hơn, khi sống trong điều kiện cạn thì rễ của chúng không tạo phao kiểu này nữa,....

Cần nhấn mạnh rằng, các thường biến xảy ra phổ cập mang tính thích ứng là những thường biến được gây nên bởi các biến đổi có tính chất thông thường của điều kiện sống, các biến đổi này lặp đi lặp lại nhiều lần trong quá trình sống, quá trình tiến hóa của sinh vật. Nếu cơ thể sinh vật rơi vào tình thế không bình thường, bất lợi mà tổ tiên của chúng chưa trải qua thì nhìn chung các thường biến xuất hiện không mang tính chất thích nghi.

Sự chuyển dịch mức phản ứng (khác với mức thông thường) của cơ thể chỉ có thể xảy ra khi trong tiến hóa, chọn lọc tự nhiên đã để lại kiểu gen biến đổi, bảo đảm cho sự sống sót của của cơ thể để vượt qua điều kiện thái cực bất lợi. Khi điều kiện này xảy ra, nó sẽ là bất thường đối với kiểu gen khác và là bình thường đối với kiểu gen đã trải qua, ở nó sẽ xuất hiện thường biến thích nghi.

5.2. Biến dị di truyền

Biến dị di truyền là những sự thay đổi trong bộ máy di truyền của sinh vật mà những thay đổi đó được di truyền lại cho đời sau.

Loại biến dị di truyền phổ biến là biến dị tổ hợp, chúng được tạo ra do hoán vị gen, đặc biệt là hiện tượng trao đổi chéo xảy ra trong quá trình phân bào giảm nhiễm để hình thành các giao tử đực và giao tử cái.

Loại biến dị di truyền thứ 2 là do đột biến, đây cũng là những biến đổi trong vật chất di truyền của sinh vật và chúng có thể được di truyền cho thế hệ sau.

Danh từ *đột biến* lần đầu tiên đã được Hugo Dvries nêu lên trong tác phẩm cổ điển của ông là "*Thuyết đột biến*". Quan điểm cơ bản về quá trình đột biến của ông đến ngày nay vẫn còn giá trị. Quan điểm đó bao gồm:

1. Đột biến sinh ra một cách đột ngột, không trải qua một bước quá độ nào.
2. Các dạng đột biến sinh ra hoàn toàn bền vững tức là luôn ổn định.
3. Đột biến có khả năng tái sinh một cách chính xác qua hàng loạt thế hệ, vì đột biến là những biến đổi về chất.

4. Đột biến xảy ra theo các hướng khác nhau, có thể có lợi và cũng có thể có hại. Trong 4 quan điểm về đột biến của Hugo Dvries chúng ta thấy cơ bản là đúng, tuy nhiên ở điểm thứ hai đã có một sai lầm có tính nguyên

tắc và không đúng với thuyết chọn lọc tự nhiên. Sai lầm đó là: *Đột biến có thể sinh ra tức thì những loài mới, những loài mới này có thể thích nghi ngay với điều kiện sống, không cần có sự tham gia của quá trình chọn lọc tự nhiên.*

Thực chất, các dạng đột biến sinh ra có thể thích nghi được với điều kiện sống và tiếp tục sống để có thể tiếp tục biến đổi để thích nghi hơn với môi trường sống, nhưng chúng cũng có thể không thích nghi và bị tiêu diệt. Nói chung đột biến là nguồn nguyên liệu của các biến dị di truyền, cơ sở vật chất của chọn lọc tự nhiên và nhân tạo.

Điểm thứ ba cũng cần xem xét ở hai góc độ: Trong một cơ thể thì các đột biến được tái sinh qua hàng loạt thế hệ tế bào ở cơ quan hay tổ chức xảy ra đột biến; Tuy nhiên đối với các thế hệ của sinh vật thì việc các đột biến có được tái sinh (di truyền) qua các thế hệ hay không còn phụ thuộc vào việc tế bào bị đột biến có phải là tế bào sinh sản (tế bào sinh dục nguyên thủy hoặc các giao tử) trong các cơ quan sinh sản hay không. Nếu tế bào bị đột biến không là tế bào sinh sản, không nằm trong cơ quan sinh sản thì chúng chỉ tồn tại trong một thế hệ, còn nếu tế bào bị đột biến là các tế bào sinh sản nằm trong các cơ quan sinh sản thì chúng sẽ tái sinh (di truyền) qua hàng loạt thế hệ.

Thuyết đột biến của Hugo Dvries được phát triển một cách đúng đắn và hoàn thiện chỉ sau khi người ta khám phá ra tính đúng đắn của các quy luật di truyền của Mendel và sự ra đời của học thuyết về di truyền nhiễm sắc thể của Morgan (1911).

Ngày nay theo quan điểm của các nhà di truyền học, ở mức độ phân tử thì đột biến là những biến đổi về số lượng và chất lượng của cơ sở vật chất di truyền, tức là sự biến đổi về cấu trúc của phân tử ADN (gen) và những biến đổi trong cấu trúc cũng như số lượng nhiễm sắc thể. Các biến đổi bên trong bộ lộ ra bên ngoài bằng những thay đổi của các đặc điểm sinh lý, hình thái.

Đột biến có thể xảy ra đối với bất kỳ lớp, ngành, loài, giống và các cá thể động, thực vật, vi sinh vật, đơn bào cũng như đa bào nào. Đột biến có thể xảy ra ở bất kỳ giai đoạn nào trong cuộc đời của cá thể như: Trong giai đoạn tế bào sinh dục nguyên thủy, tế bào sinh dục chín (giao tử), hợp tử, phôi thai, cơ thể lúc còn non cho đến lúc già cỗi. Tất nhiên, đối với mỗi loại sinh vật đều có thể có những giai đoạn nhạy cảm hay kém nhạy cảm với các yếu tố gây đột biến, do đó sẽ có giai đoạn có tần số đột biến cao hơn giai đoạn khác và ngược lại.

Xuất phát từ những quan niệm trên người ta có thể phân các đột biến thành 2 loại: Đột biến gen và đột biến nhiễm sắc thể.

5.2.1 Đột biến gen

5.2.1.1. Những nguyên nhân và cơ chế gây nên đột biến gen

Đột biến gen hay còn gọi là đột biến điểm, là những biến đổi hoá học trong cấu trúc của phân tử ADN (tại các muton của gen) dẫn tới biến đổi hoạt động chức năng của nó. Đây là những thay đổi rất nhỏ ở mức

phân tử nên mắt thường không thể phân biệt được. Chúng là những biến đổi rất phức tạp như: Thay đổi trình tự sắp xếp, thay đổi thành phần (thêm hoặc bớt) các cặp bazơ trong đoạn ADN tương ứng của gen.

- Chuyển đổi cặp bazơ: $AT \leftrightarrow GC$; $TA \leftrightarrow CG$

- Đảo ngược cặp bazơ: $AT \leftrightarrow TA$; $GC \leftrightarrow CG$

Kết quả của đột biến gen là làm thay đổi cấu trúc của đoạn phân tử ADN dẫn tới thay đổi thành phần của mRNA (khuôn mẫu của việc tổng hợp nên phân tử protein đặc thù), thay đổi thành phần của các bộ ba mã hoá, cuối cùng là làm thay đổi thành phần của các axit amin của phân tử protein được tổng hợp trên khuôn mẫu của gen hay các gen đã bị đột biến. Các mối quan hệ trên được biểu diễn như sau:

ADN \leftarrow $\xrightarrow{\hspace{10em}}$ ARN \leftarrow $\xrightarrow{\hspace{10em}}$ protein \approx tính trạng

Kết quả cuối cùng của các đột biến là làm thay đổi đặc điểm/tính trạng. Nói theo cách khác, những sự thay đổi của các đặc điểm/tính trạng trên cơ sở sinh vật là tấm gương, là thước đo phản ánh đột biến.

5.2.1.2. Hiệu quả gây tăng và kháng sự phát sinh đột biến của gen

Như đã biết, quá trình tái bản ADN cũng như sự chỉnh đốn về thành phần bazơ qua tái bản được thực hiện với sự tham gia của một hệ thống phức tạp các enzym.

Cần lưu ý rằng, ngoài hoạt tính xúc tác sự trùng hợp (lắp ráp) các nucleotit, phần lớn các ADN polymerase còn có hoạt tính như exonuclease - làm đứt liên kết photphodiaster để cắt bỏ nucleotit nào đó. Ví dụ, các ADN-polymerase I và III của *E. Coli* có hoạt tính cắt khi tác động vào đầu 3' - gọi là hoạt tính 3'-5' exonuclease.

Hoạt tính này liên quan tới cơ chế sửa chữa sai sót trong quá trình lắp ráp các nucleotit. Đôi khi ADN-polymerase ghép một gốc nucleotit sai, không kết cặp đúng với bazơ bổ sung (có thể đó là đồng đẳng bazơ, . . .) vào đầu của mạch đang tăng trưởng. Sự có mặt của nucleotit sai làm cho hoạt tính 3'-5'-exonuclease của ADN-polymerase thể hiện: Xảy ra quá trình đọc, sửa bằng cách cắt bỏ nucleotit sai. Sau khi có sự kết cặp đúng, quá trình lắp ráp được tiếp tục diễn ra.

Những trạng thái khác nhau (đột biến) của ADN-polymerase có thể làm cho nó có hoạt tính 3'-5'-exonuclease bị yếu đi hoặc tăng lên hơn so với khởi thủy.

Trường hợp yếu đi sẽ làm cho sự phát sinh đột biến của các gen khác nhau tăng lên-ta nói kiểu gen có hoạt tính gây tăng sự đột biến (mutator). Trường hợp ngược lại hoạt tính 3'-5'-exonuclease của ADN-polymerase tăng lên sẽ làm giảm khả năng phát sinh đột biến-ta nói kiểu gen có hoạt tính gây giảm hoặc kháng sự phát sinh đột biến (antimutator).

Ví dụ, ở trực khuẩn T_4 người ta đã phát hiện ra 2 trạng thái đột biến đối lập của locus gen 43 (kiểm tra ADN-polymerase): Trạng thái thứ nhất làm tăng sự xuất hiện các đột biến ở các gen khác nhau, VD. gen r_{II} ($r_{II} \rightarrow r^4$, tăng gấp 2000 lần so với bình thường). Trạng thái thứ 2 có hoạt tính giảm sự xuất hiện đột biến so với kiểu dại khi có tác động của 2-aminopurin.

Ở vi khuẩn *E. coli*, các alen của locus *dnA* (kiểm tra ADN-polymerase III) gây hiệu ứng tăng sự xuất hiện đột biến. Ở người, đã phát hiện ra dạng ADN-polymerase đột biến trong tế bào người bị mắc bệnh máu trắng.

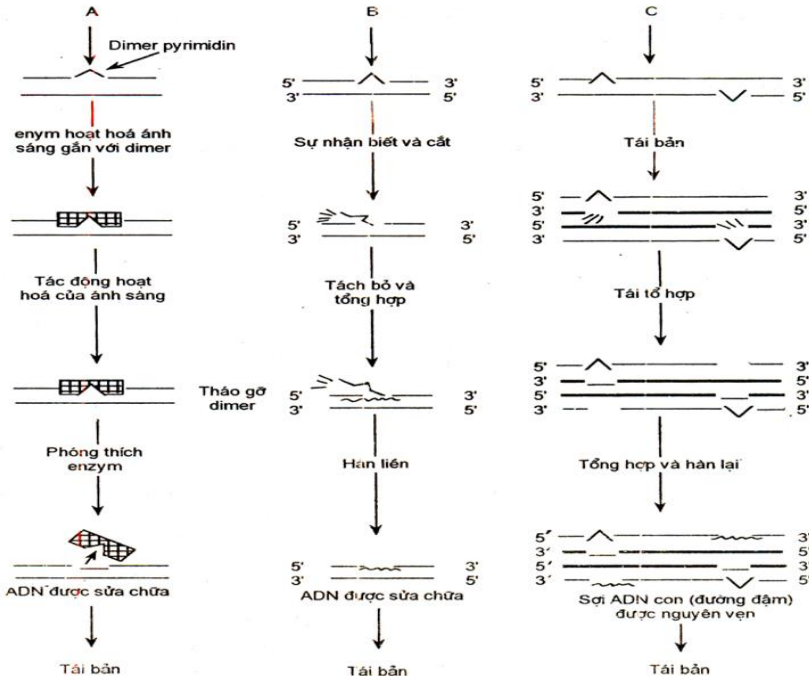
Ngoài ra hoạt tính của các gen kiểm tra ADN-lygase, các protein thuộc hệ thống tái bản ADN cũng có ảnh hưởng tới hiệu quả tăng hoặc giảm sự phát sinh đột biến.

Ở vi khuẩn cũng như ở sinh vật bậc cao, những biến đổi ở một số gen chịu trách nhiệm về quá trình sửa chữa ADN cũng có thể gây hiệu quả tăng hoặc giảm sự phát sinh đột biến, tương tự như biến đổi ở những gen chịu trách nhiệm về hệ thống tái bản. Ví dụ, ở vi khuẩn đột biến xảy ra ở gen kiểm tra việc loại trừ các vết đứt trên một sợi ADN sau khi xử lý tia cực tím đã làm tăng sự xuất hiện các đột biến chuyển đổi cặp: Kiểu AT→GC tăng khoảng 350÷400 lần; kiểu GC→AT tăng 150÷200 lần.

5.2.1.3. Sửa chữa ADN

Các tác nhân vật lý, hoá học gây đột biến tác động vào tế bào gây ra những biến đổi khác nhau ở ADN. Những biến đổi này có thể phân ra làm 2 nhóm:

1. Những biến đổi liên quan đến từng bazơ riêng rẽ, thường gây nên những sai lệch (nhầm lẫn) về sự kết cặp trong quá trình tái bản ADN. Từ đó dẫn tới những biến đổi ở phân tử ADN như: Chuyển đổi cặp, đảo cặp, thêm hoặc mất cặp bazơ.



Hình 5.1. Sơ đồ diễn tả các cơ chế sửa chữa ADN

a) Quang hoạt hoá; b) Sửa chữa bằng cắt bỏ; c) Sửa chữa sau tái bản.

Như đã phân tích ở trên, những cơ chế làm giảm sự phát sinh ADN-polymerase và hệ thống tái bản có thể hạn chế sự lắp ráp nhầm lẫn trong quá trình sao chép ADN (quá trình đọc-sửa).

2. Tác động của các tác nhân đột biến có thể gây nên những tổn hại trên ADN, làm biến dạng cấu trúc của ADN ở những vùng nào đó. Ví dụ, tạo ra những kết dính giữa các gốc đứng cạnh nhau các dimer pyrimidin, . . ., những kết dính giữa 2 sợi, phân tách 2 sợi, vết đứt ở một sợi, hoặc đứt ở cả 2 sợi, . . .

Ngay sau khi xảy ra những tổn hại nêu trên, đa số chúng trở thành những đối tượng để cho những hệ thống sửa chữa ADN làm việc, nhằm khôi phục trạng thái khởi thủy, hạn chế phát sinh các đột biến thực tế. Người ta đã phát hiện ra ba cơ chế về sửa chữa ADN như sau: Quang hoạt hoá, sửa chữa bằng cắt bỏ, sửa chữa sau tái bản (2 dạng sau gọi là sửa chữa trong bóng tối).

5.2.1.4. Quang hoạt hoá

Quang hoạt hoá là quá trình phục hồi các dimer pyrimidin do tia cực tím gây nên, dưới tác động của ánh sáng. Quá trình này lần đầu tiên được phát hiện ở vi khuẩn. Sau khi xử lý tia cực tím, lô nuôi cấy trong điều kiện ánh sáng có tần số đột biến giảm hơn hẳn so với lô nuôi cấy trong điều kiện bóng tối.

Dưới tác động của ánh sáng, tế bào tạo ra enzym deoxyribo-pyrimidin photoligase (gọi tắt là photoligase), ở ánh sáng bước sóng 320-370nm enzym này có tác dụng đơn phân hoá các dimer pyrimidin (Ví dụ, tháo dỡ kết dính ở dimer thymin: - T = T - \rightarrow - T - T. Enzym hoạt hóa ánh sáng có đối tượng sửa chữa đặc trưng là các dimer pyrimidin do tia cực tím gây ra. Enzym này đã phát hiện thấy ở nhiều với sinh vật, động vật và thực vật bậc cao, tức là nó phổ cập ở các đối tượng sinh vật khác nhau.

5.2.1.5. Sửa chữa bằng cắt bỏ

Dạng sửa chữa này liên quan với sự cắt bỏ những tổn hại ở ADN được gây ra bởi nhiều tác nhân gây đột biến khác nhau, quá trình sửa chữa bằng cắt bỏ bao gồm nhiều giai đoạn, có sự tham gia của nhiều enzym, các phản ứng của chúng không đòi hỏi sự có mặt của ánh sáng nên gọi là sửa chữa trong bóng tối.

Ngay sau khi xảy ra sự tổn hại ở ADN, xuất hiện một enzym UF-endonuclease để nhận biết chỗ tổn hại (các dimer pyrimidin hay các dạng chần hồng khác) tạo một điểm cắt ở liên kết photphodiester ngay cạnh dimer ở phía 5'.

- Enzym exonuclease cắt bỏ đoạn hồng bao gồm dimer và một số nucleotic khác theo chiều 5'-3' (ở vi khuẩn, đoạn cắt bỏ có kích thước khoảng 5 bazơ).

Tổng hợp ADN mới (để lấp chỗ trống theo chiều 5'-3', lấy mạch nguyên làm khuôn. Ở vi khuẩn tham gia vào tổng hợp này là ADN-polymerase I mã hoá bởi gen poly A.

Khe hở giữa mạch cũ và đoạn tổng hợp mới được gắn liền nhờ sự tham gia của enzym ligase

Kiểu sửa chữa bằng cắt bỏ xảy ra phổ biến ở sinh vật nhân sơ và sinh vật nhân chuẩn. Khác với quang hoạt hoá, đối tượng sửa chữa ở đây có thể là các dimer pyrimidin hoặc là các chỗ hỏng khác do bức xạ tia cực tím, hoặc bức xạ ion hoá, . . . gây nên. Ở sinh vật nhân chuẩn, sự tổng hợp lấp chỗ trống (sau cắt bỏ chỗ hỏng) còn được gọi là tổng hợp ADN ngoài pha S của chu kỳ tế bào. Ở động vật có vú, sau khi cắt bỏ một dimer mở ra một chỗ trống rộng khoảng 20 nucleotit cần được tổng hợp.

5.2.1.6. Sửa chữa bằng tái bản

Dạng sửa chữa này lần đầu tiên phát hiện thấy ở đột biến với khuẩn *E. coli* không có khả năng cắt bỏ các dimer do tia cực tím gây ra.

Ở ADN mang dimer vẫn xảy ra tái bản (tốc độ tái bản của nó chậm hơn so với bình thường). Khi tái bản ở sợi mới bị hở một đoạn trống đối diện với vị trí dimer trên sợi cũ. Tuy nhiên, chỗ trống này lập tức được lấp bằng một đoạn tương ứng chuyển từ một sợi của ADN theo cơ chế tái tổ hợp. Do tái tổ hợp mà đoạn trống ở một sợi được đối diện với một mạch nguyên vẹn, nó thực hiện chức năng khuôn cho sự tổng hợp đoạn trống.

Rõ ràng, sự tổng hợp sửa chữa ADN xảy ra nhờ tái tổ hợp là cơ chế tránh dùng sợi có mang chẵn hỏng (dimer) làm khuôn mẫu. Vì thế dạng sửa chữa này còn có tên gọi là sửa chữa nhờ tái tổ hợp.

Bên cạnh đó, đã quan sát thấy một kiểu sửa chữa sau tái bản xảy ra chậm. Sau tái bản một thời gian khoảng một số giờ, việc sửa chữa này được tiến hành với sự tham gia của một hệ thống nhiều enzym, chúng chỉ được tạo ra ở tế bào bị tác động bởi yếu tố gây đột biến. Ở đây đoạn trống đối diện với chỗ mang chẵn hỏng (dimer) được tổng hợp. Kiểu sửa chữa này được gọi là "*sửa chữa cấp cứu*" (SOS). Do sự tổng hợp của "*sửa chữa cấp cứu*" phải dựa trên mạch khuôn mang chẵn hỏng (dimer), nên sự lắp ráp các nucleotit hay bị sai lệch (nhầm lẫn). Đoạn ADN sửa chữa thường có tần số sai lệch cao về thành phần bazơ, vì thế dạng sửa chữa sau tái bản xảy ra chậm này còn có tên gọi là sửa chữa có hướng sai.

Ở *E. coli* đã phát hiện thấy khoảng 20 gen tham gia vào hệ thống sửa chữa SOS. Các gen này bị ức chế bởi *lexA* protein; Chất này bao vây (lấp đầy) các promoter của các gen trong hệ thống SOS. Khi tế bào bị tác động bởi yếu tố đột biến, trường hợp có nhiều yếu tố chẵn hỏng cấp cứu, *lexA* bị kích thích, thay đổi cấu trúc không gian và mất hoạt tính kìm hãm các gen SOS. Các enzym được hình thành để tham gia vào việc sửa chữa cấp cứu.

Như vậy, ngoài trường hợp có sai sót trong sửa chữa, ADN dẫn tới phát sinh đột biến, nhìn chung các quá trình sửa chữa ADN đảm bảo cho sự ổn định về cấu trúc của nó, ngăn chặn, hạn chế sự hình thành những thể đột biến thực sự.

Cần lưu ý rằng, không phải tất cả các dạng tổn thương của ADN đều nằm trong tầm sửa chữa của tế bào. Ngoài ra hiệu quả sửa chữa còn phụ thuộc vào hoạt tính của hệ thống phức tạp của các enzym tham gia vào quá trình này. Những biến cố ở hệ thống enzym kiểm tra các gen này đều ảnh hưởng nghiêm trọng với sự sửa chữa ADN.

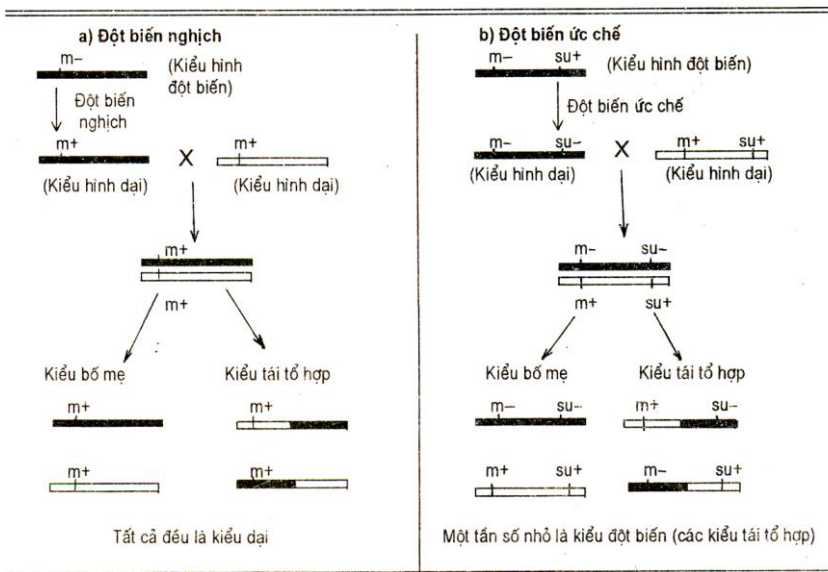
5.2.1.7. Đột biến nghịch biến và đột biến ức chế

Kiểu bình thường (kiểu dại) bị đột biến thành dạng đột biến, quá trình xảy ra như vậy gọi là đột biến thuận. Quá trình ngược lại (ít gặp): Dạng đột biến khôi phục lại trạng thái ban đầu gọi là *sự hồi biến*. Xét về bản chất, sự hồi biến được xảy ra theo 2 trạng thái sau:

1. Những biến đổi về thành phần bazơ trong cấu trúc của gen để nó được khôi phục lại cấu trúc khởi thủy, thực hiện được chức năng của gen khởi thủy.

2. Đột biến xảy ra ở một điểm khác bên trong gen hay ở một gen khác (đột biến ức chế) làm khôi phục lại hoạt tính protein của gen, tức là làm cho gen có chức năng hoạt động thể hiện ra kiểu hình như trạng thái khởi thủy. Trường hợp này xảy ra phổ biến hơn.

Đột biến nghịch và đột biến ức chế có thể phân biệt thông qua phân tích di truyền như sơ đồ trên Hình 5.2.



Hình 5.2. Đột biến nghịch và đột biến ức chế: a) đột biến nghịch $m^- \rightarrow m^+$ với kiểu dại cho thế hệ sau đều là kiểu dại; b) Đột biến ức chế $m^- su^+ \rightarrow m^+ su^-$, khi lai với kiểu dại ở thế hệ sau xuất hiện một tần số nhỏ kiểu đột biến.

a. Đột biến xảy ra ở một điểm khác trong gen: Ví dụ, gen *tryA* ở với khuẩn *E. coli* đột biến ở một điểm làm thay đổi một a.a. thứ 210 (clyxin \rightarrow glutamic) từ đó dẫn tới sự biến đổi kiểu xoắn đúng trong cấu trúc phân tử protein, làm cho nó bị bất hoạt hoá. Cũng ở gen đó, đột biến điểm thứ 2 xảy ra ở vị trí a.a 174: Tyrozin \rightarrow Xystein. Do có đột biến điểm thứ 2 này mà sự uốn xoắn không gian của protein được biến đổi và làm cho kiểu xoắn sai lệch trên lại trở thành dạng có hoạt tính như protein khởi thủy.

b. Đột biến xảy ra ở gen khác: Ở một gen nào đó có đột biến xảy ra làm thay đổi ý nghĩa của một hoặc một số bộ ba. Do bộ ba đột biến trở thành vô nghĩa, ví dụ: UAX mã hoá cho Tyrozin trở thành UAG, vì thế nó không còn hợp với bộ ba đối mã trên tARN Tyrozin nữa. Hậu quả là sự dịch mã bị dừng lại (bỏ dỡ), mạch polypeptit bị kết thúc sớm, do đó không thu được chuỗi hoàn thiện để có hoạt tính như bình thường.

Khi đột biến xảy ra ở một gen khác là gen tạo ra tARN Tryptophan làm cho nó có bộ ba đối mã hợp với bộ ba bị biến đổi (UAG) trên mARN và nó vẫn vận chuyển được Tryptophan. Như vậy sự dịch mã vẫn được diễn ra và chuỗi polypeptit hoàn chỉnh vẫn được tạo ra. Nhưng trong chuỗi đó đã có sự thay thế một a.a, nhưng không gây ảnh hưởng đến hoạt tính chung của protein, tức là nó vẫn có hoạt tính như khởi thủy.

Đột biến xảy ra ở một gen nào đó dẫn đến hậu quả khắc phục được đột biến của gen khác (hay ức chế sự biểu hiện đột biến của gen khác), khôi phục lại hoạt tính khởi thủy, dạng đột biến như thế gọi là đột biến ức chế.

Cần lưu ý rằng, ở trường hợp nêu trên có thể có nhiều phân tử tARN có bộ ba đối mã tương hợp với mã biến đổi (UAG). Tuy nhiên chỉ có tARN nào cung cấp được a.a thay thế mà không ảnh hưởng tới chức năng hoạt động của protein, thì nó mới là đột biến ức chế. Theo như trình bày ở trên thì đột biến gen tARN Tryptophan tạo ra tARN ức chế.

Trường hợp những đột biến tạo ra mã bị biến đổi nghĩa thành a.a khác làm cho protein mất hoạt tính, ví dụ: Như biến đổi từ Valin (a.a không tích điện) thành Aspartic (a.a tích điện âm) thì đột biến này có thể được hồi phục nhờ các phân tử ARN ức chế có thể thay thế Valin vào chỗ Aspartic, sự thay thế này làm cho protein trở lại hoạt tính ban đầu.

Ví dụ, sự thay đổi thành phần trong phân tử hemoglobin (Hb) ở người đã tạo ra 4 loại HB khác nhau: HbA là loại bình thường, HbS là loại của hồng cầu liềm, HbC và HbG là của các hồng cầu bị bệnh lý. Dưới đây là một đoạn cấu trúc của phân tử hemoglobin chứa các thay đổi a.a:

| Loại Hb | Thành phần các a.a trọng đoạn protein |
|---------|---|
| HbA | -val-gis-lei-treo-pro-glu-glu-leu- |
| HbS | -val-gis-lei-treo-pro- <i>val</i> -glu-leu- |
| HbC | -val-gis-lei-treo-pro- <i>lix</i> -glu-leu- |
| HbG | -val-gis-lei-treo-pro-glu- <i>gli</i> -leu- |

Qua thành phần các a.a của đoạn phân tử protein của Hb ta có thể thấy:

- Trên HbS a.a valin đó thế chỗ của glutamin trên Hb A.
- Trên HbC a.a lixin đó thế chỗ của glutamin trên Hb A.
- Trên HbG a.a glixin đó thế chỗ của glutamin (thứ 2) trên Hb A.

Theo sự hiểu biết về tính chất hoạt động của các gen bị đột biến, người ta thường chia đột biến thành hai nhóm: Đột biến hình thái và đột biến sinh lý. Tuy nhiên chúng có một điểm chung là bất kỳ một loại đột biến gen nào thì đều liên quan đến một loạt quá trình sinh hóa và từ đây chúng mới biểu hiện sự thay đổi ra bên ngoài.

Những đột biến gen chỉ làm ảnh hưởng đến phần trung tính của các phân tử protein thì thường gây ra những biến đổi về chức năng của sinh vật.

Đột biến hình thái: Là những đột biến gen làm thay đổi chức năng của các phân tử protein liên quan đến sự thay đổi các hoạt động sinh lý và làm thay đổi hình thái của sinh vật, đặc trưng là sự thay đổi đặc điểm sinh trưởng và sự hình thành các bộ phận, cơ quan của cơ thể. Ví dụ, đột biến gây ngắn chân ở hàng loạt các động vật (cừu, bò, gà, người, . . .) hay đột biến gây trụi lông ở chim, gia cầm.

Đột biến gen không chỉ làm thay đổi hình thái của các cơ quan, mà còn có thể làm thay đổi vị trí phát sinh của chúng như râu của bướm thay vì mọc ở đầu lại mọc ở chân.

Đột biến sinh hóa: Là những đột biến gen gây ra ức chế hoặc thay đổi các quá trình tổng hợp các chất hóa học cần thiết trong cơ thể. Ví dụ, một số loài sinh vật có đột biến sinh hóa đó làm mất khả năng tổng hợp một số chất cần thiết cho sự phát triển của chúng và biến chúng từ sinh vật tự dưỡng thành sinh vật dị dưỡng.

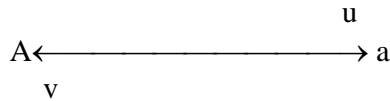
Các đột biến gen xảy ra thường có thể làm tăng hoặc giảm khả năng sống của sinh vật. Mức độ tăng hoặc giảm khả năng sống của sinh vật phụ thuộc vào mức độ hoạt động của gen mới hình thành: Có thể gây chết hoàn toàn, bán gây chết hay chỉ tạo nên các dị tật-dị hình.

Tần số đột biến gen cũng là vấn đề được nhiều người quan tâm. Nó là một trong những nét đặc trưng cho từng loài sinh vật. Các loài khác nhau có tần số đột biến khác nhau. Tần số đột biến thay đổi theo từng nhóm, loài, từng cá thể, từng nhiễm sắc thể, từng gen cụ thể. Sở dĩ có sự thay đổi như vậy là vì tần số đột biến phụ thuộc vào nhiều yếu tố, không chỉ phụ thuộc vào tác nhân gây đột biến mà còn phụ thuộc vào mức độ bền vững của gen, mức độ thích nghi của cơ thể với ngoại cảnh.

Các nhà nghiên cứu đã thu được nhiều số liệu thực nghiệm về tần số đột biến của các gen ở ngô, ruồi giấm, người, . . . Ví dụ, ở ruồi giấm có tới 5.000 gen trong cơ thể và tần số đột biến trung bình của chúng là 10^{-5} ; do vậy mà mỗi thế hệ ruồi giấm có với 5% số cá thể có đột biến gen trong kiểu gen của chúng, cũng có nghĩa là mỗi thế hệ ruồi giấm có với 1÷5% tinh trùng hoặc tế bào trứng chín mang gen đột biến. Ở người tần số đột biến gen trung bình là $10^{-3}÷10^{-5}$ đối với mỗi thế hệ, tổng số gen trong cơ thể người khoảng 2,5 triệu gen, như vậy mỗi người trung bình có thể có $0,00025÷0,0025$ đột biến gen trong một thế hệ. Tần số đột biến nói chung là rất nhỏ chỉ khoảng $10^{-3}-10^{-6}$ song do số lượng sinh vật quá lớn và số lượng gen trong mỗi cơ thể cũng khá lớn, nên số đột biến mà ta có thể quan sát được là khá lớn.

Cũng cần hiểu thêm rằng, những tính toán cụ thể như trên chưa phải là đã chính xác, vì thực tế không tách bạch được từng biến đổi riêng rẽ của từng gen ra khỏi những biến đổi phức tạp, tinh vi trong các nhiễm sắc thể và hơn thế nữa một đặc điểm/tính trạng ở sinh vật còn có thể được điều khiển bởi nhiều gen. Rất khó để xác định được các đột biến đồng

thời xảy ra trên các nhiễm sắc thể khác nhau trong tế bào. Các gen đột biến có thể có các trạng thái xác định, ví dụ:

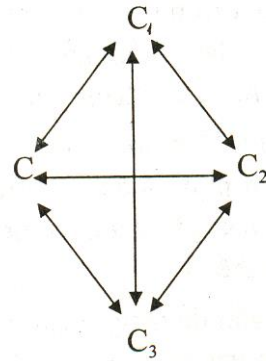


Gen A đột biến thành gen a với cường độ u, ngược lại gen a đột biến trở lại A với cường độ v. Nếu đột biến đồng thời xảy ra theo 2 chiều và cùng cường độ ($u = v$) thì khó có thể xác định được tần số u, v và có thể không phát hiện ra đột biến.

Trong nhiều trường hợp, đột biến không chỉ có 2 trạng thái mà có thể có rất nhiều trạng thái, ví dụ:

Từ gen C đột biến thành C_1, C_2, C_3, \dots ; từ gen C_1 đột biến thành C, C_2, C_3, \dots ; từ C_2 đột biến thành C, C_1, C_3, \dots ; và từ C_3 đột biến thành C, C_1, C_2, \dots hoặc nhiều trạng thái khác nữa.

Trong thực tế một gen có thể đột biến thành nhiều trạng thái khác nhau đồng thời hoặc không đồng thời, do đó có thể tác động theo nhiều hướng để tạo ra nhiều dạng đột biến, điều này dẫn tới hiện tượng trong cùng một locus gen của cặp nhiễm sắc thể đồng nguồn không phải chỉ có 1, 2 hay 3, 4 trạng thái hoạt động của gen mà có khi có tới hàng chục, thậm chí hàng trăm mức độ hoạt động (alen) khác nhau của một gen. Có thể nói đây là nguồn gốc của các dãy đa alen của các gen và đa hình sinh hoá của các loại protein.



5.2.1.8. Phân lập các thể đột biến

Tùy thuộc vào đặc điểm biến đổi ở cấu trúc của gen mà có thể xảy ra những đổi khác nhau về chức năng hoạt động của nó. So với trạng thái bình thường (khởi thủy) những trạng thái biểu hiện khác của gen đột biến có thể là:

- Gen đột biến thể hiện, bị bất hoạt do không tạo ra sản phẩm, hoặc sản phẩm không hoàn chỉnh, biến dạng bị mất hoạt tính.

- Gen đột biến thể hiện lặn, mức độ hoạt động của chúng bị giảm hơn (ở các mức độ khác nhau) so với khởi thủy.

- Gen đột biến có mức độ hoạt động mạnh hơn trạng thái ban đầu (có thể đây là đột biến nghịch).

- Gen đột biến thể hiện ở trạng thái khác so với trạng thái khởi thủy, tức là kiểm tra tổng hợp sản phẩm protein có cấu trúc sai khác. Những trạng thái khác nhau của gen có thể có mối quan hệ trội-lặn, đồng trội hoặc độc lập, . . .

Nhiều khi đột biến chỉ động chạm tới một a.a có thể gây biến đổi rất lớn về hoạt tính của protein. Ví dụ, protein hemoglobin (trong ví dụ trên) gồm 4 chuỗi polypeptit, ở một chuỗi β có một a.a ở vị trí thứ 6 là

Glutamic biến đổi thành Valin, đã biến dạng Hb thường (HbA) thành dạng HbS gây ra hồng cầu lưỡi liềm.

Các đột biến ngẫu nhiên và đột biến gây tạo (nhân tạo, bằng xử lý tác nhân gây đột biến) chỉ xảy ra với tần số thấp ở quần thể tế bào và quần thể cơ thể, cần có những phương pháp thích hợp để phát hiện và tách các thể đột biến. Với việc sử dụng các phương pháp này phụ thuộc vào đối tượng sinh vật và dạng đột biến.

Ví dụ: Ở sinh vật người ta thường sử dụng phương pháp đánh dấu (marker), ứng dụng các môi trường chọn lọc, . . . Ở sinh vật lưỡng bội các đột biến lặn chỉ được thể hiện khi chúng ở trạng thái đồng hợp thể. Để phát hiện ra chúng, người ta đã sử dụng nhiều phương pháp khác nhau. Ví dụ, sử dụng một dòng phân tích đã biết alen lặn ở một nhiễm sắc thể nào đó, đem dòng này lai với cá thể đã xử lý đột biến, sau đó xem xét các thế hệ sau. Nếu dòng xử lý xảy ra đột biến lặn tương ứng, sẽ xuất hiện các cá thể có kiểu hình lặn quan sát được.

Ở thực vật giao phấn chéo, sau khi xử lý đột biến cần tổ chức tự phối bắt buộc để phát hiện các gen đột biến ở trạng thái đồng hợp thể lặn.

Ở thực vật tự thụ phấn với việc nghiên cứu các đột biến thuận lợi hơn nhiều. Sau khi xử lý đột biến, nếu các cá thể có độ hữu thụ đảm bảo thì ở các thế hệ tự thụ có thể phát hiện được các đột biến lặn.

Tùy thuộc vào trạng thái thể hiện của đột biến, ví dụ: Như các đột biến về hình thái (các đột biến trông thấy), các đột biến hoá sinh, sinh lý, . . . mà người ta sử dụng những phương pháp phù hợp để phát hiện chúng. Thể đột biến ổn định được xác định qua các thế hệ sinh sản hữu tính, hoặc qua các đời nhân vô tính.

Trong nuôi cấy in-vitro, để xác định một biến dị dòng soma là đột biến (tức là liên quan đến biến đổi kiểu gen), ta có thể áp dụng sơ đồ: Cây tái sinh đột biến → mô nuôi → khối tế bào → cây tái sinh. Nếu ở cây tái sinh này thể hiện dạng đột biến như ở cây lấy mô nuôi ta kết luận đó là dạng đột biến. Phương pháp này cho phép xác định nhanh và chính xác thể đột biến, nhất là ở những trường hợp những đối tượng nghiên cứu có chu kỳ sống dài, thể đột biến bất dục, . . .

5.3. Đột biến nhiễm sắc thể

Đột biến nhiễm sắc thể là những biến đổi xảy ra ở mức độ nhiễm sắc thể, chúng có thể là: Những biến đổi bên trong của nhiễm sắc thể, biến đổi về cấu trúc giữa các nhiễm sắc thể, biến đổi về số lượng nhiễm sắc thể.

Đột biến nhiễm sắc thể cũng giống như đột biến gen, chúng có thể xảy ra trong điều kiện tự nhiên dưới tác động của các yếu tố môi trường bên ngoài hoặc nhân tạo dưới sự điều khiển của bàn tay con người. Đột biến nhiễm sắc thể khác với đột biến gen là có thể quan sát, phát hiện được dưới kính hiển vi điện tử.

Thế giới thực vật có tính chịu đựng đối với những biến đổi về nhiễm sắc thể, đặc biệt là những biến đổi về số lượng nhiễm sắc thể cao hơn nhiều so với giới động vật. Những biến đổi về số lượng nhiễm sắc thể có nhiều ý nghĩa trong phân tích di truyền và lai tạo giống cây trồng.

5.3.1. Biến đổi cấu trúc bên trong của nhiễm sắc thể

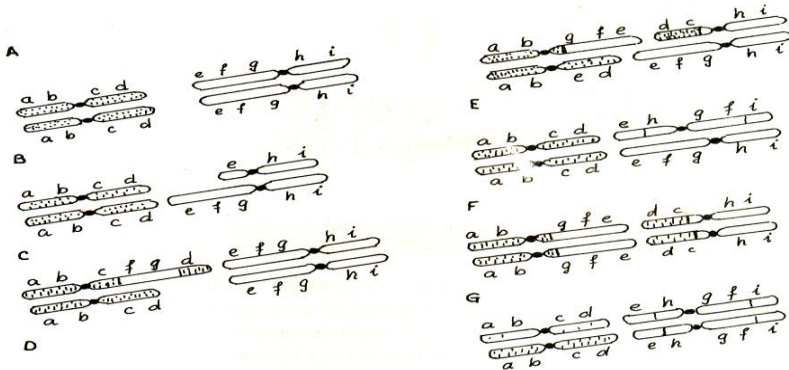
Những biến đổi có thể quan sát được dưới kính hiển vi liên quan tới các đoạn trên nhiễm sắc thể hoặc các đoạn giữa các nhiễm sắc thể gọi là đột biến cấu trúc nhiễm sắc thể.

Biến đổi cấu trúc bên trong của các nhiễm sắc thể có thể xảy ra là: Đột biến khuyết đoạn, đột biến trùng hay lặp đoạn, đột biến đảo đoạn.

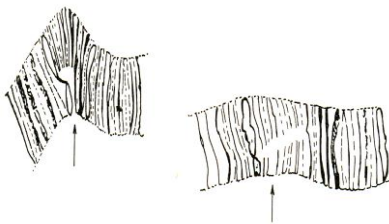
Nghiên cứu những biến đổi trên nhiễm sắc thể bằng quan sát tế bào kết hợp với phân tích di truyền có ý nghĩa lớn về cơ bản, tiến hoá và chọn giống.

5.3.1.1. Đột biến khuyết đoạn nhiễm sắc thể

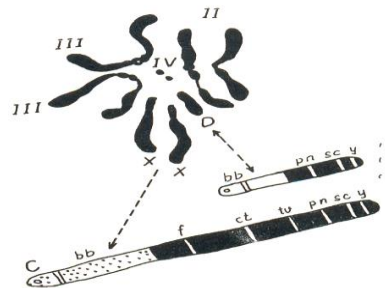
Tác động của các yếu tố vật lý, hoá học lên nhiễm sắc thể có thể gây ra sự đứt gãy làm rơi rụng hoặc tiêu biến từng đoạn của nhiễm sắc thể mang thông tin di truyền gây nên sự thay đổi của tính trạng tương ứng gọi là *đột biến khuyết (mất) đoạn nhiễm sắc thể*. Sự khuyết đoạn có thể xảy ra ở bất kỳ vị trí nào trên nhiễm sắc thể: Có thể một đầu, hai đầu và cũng có thể ở đoạn giữa của nhiễm sắc thể.



Hình 5.3. A - NST thường, B - NST khuyết đoạn, C - NST tăng đoạn, D - NST chuyển đoạn dị hợp, E - NST đảo đoạn dị hợp, F - NST chuyển đoạn đồng hợp, G - NST đảo đoạn đồng hợp



Hình 5.4. Phần khuyết đoạn ở nhiễm sắc thể tuyến nước bọt của ruồi giấm



Hình 5.5. Đột biến trùng đoạn NST ở ruồi giấm. D: đoạn tăng có chứa tâm điểm, do đó nó giống như một NST đặc biệt; C: tăng đoạn ở NST X

Các mất đoạn có thể ảnh hưởng tới sự phát triển của tế bào và sức sống của cơ thể, nhất là khi đoạn mất chứa các gen trọng yếu. Những cá thể có đột biến khuyết đoạn nhiễm sắc thể lớn thường bị chết, vì sự cân bằng gen trong cơ thể bị phá hủy. Những cá thể có đột biến khuyết đoạn nhiễm sắc thể nhỏ có thể được sống sót nếu nhiễm sắc thể đồng nguồn còn lại vẫn ở trạng thái nguyên vẹn. Những trường hợp như vậy các gen tương ứng với gen bị mất phải ở trạng thái trội. Ví dụ, tính trạng ngắn chân ở ruồi giấm. Những cá thể chứa các đột biến khuyết đoạn nhỏ vẫn sống là phát triển ở trạng thái dị hợp, ví dụ: Tính trạng mắt trắng, thân vàng là một số tính trạng khác ở ruồi giấm.

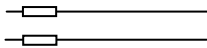
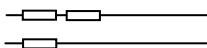



Khi ở một nhiễm sắc thể tương đồng đoạn bị mất mang các alen trội, thì các alen lặn trên nhiễm sắc thể kia được thể hiện. Hiện tượng này được ứng dụng để xác định vị trí của gen trên nhiễm sắc thể thông qua các phân tích di truyền và phân tích tế bào.

5.3.1.2. Đột biến tăng đoạn hay trùng đoạn nhiễm sắc thể

Sẽ tăng thêm từng đoạn nhỏ của nhiễm sắc thể mang thông tin di truyền gọi là đột biến tăng đoạn, có thể là một lần hoặc một số lần, nếu đoạn nhiễm sắc thể tăng thêm này mà trùng lặp với một đoạn trong nhiễm sắc thể gốc thì gọi là đột biến trùng đoạn nhiễm sắc thể.

- Bình thường: $\dots a b c d e f g h i \dots$
- Lặp lại liên tiếp nhau $\dots a b c d e c d e f g h i \dots$
- Lặp lại liên tiếp và đảo $\dots a b c d e e- f g h i \dots$
- Đoạn lặp lại bị dịch chỗ $\dots a b c d e f g c d e h i \dots$

Trong điều kiện bình thường thì mỗi gen trên nhiễm sắc thể có thể được xem như là một liều lượng gen, khi nhân đôi, nhân ba một đoạn nhiễm sắc thể mang gen lên thì liều lượng gen đó cũng được tăng lên 2÷3 lần. Đột biến tăng đoạn hay trùng đoạn nhiễm sắc thể đã được phát hiện ở tảo *Neurospora*, chuột, ngô và nhiều nhất là ở ruồi giấm. Một trong những trường hợp thú vị và điển hình là đột biến trùng đoạn gây nên sự biến đổi kiểu hình của mắt ở ruồi giấm đã được nhà di truyền học của Liên Xô Rapopor khám phá.

| | Nhiễm sắc thể | Kiểu gen | Số lượng mắt kép |
|---|--|--------------|------------------|
| 1 |  kiểu đại (bt) | $B^* // B^*$ | ≈ 800 |
| 2 |  tăng 1 B | $B // B^*$ | ≈ 350 |
| 3 |  tăng 2 B ở 2 NST | $B // B$ | ≈ 70 |
| 4 |  tăng 1 B ở 2 NST | $BB // B^*$ | ≈ 50 |
| 5 |  tăng 4 B | $BB // BB$ | ≈ 25 |

Hình 5.6. Số bản gen lặp (B) và độ lớn dạng mắt thời ở ruồi giấm. Ở các trường hợp 3, 4 đều có số bản gen tăng lên 2 bản. Nhưng trường hợp 2 bản lặp nằm trên cùng một nhiễm sắc thể gây hiệu quả thể hiện kiểu hình khác hẳn trường hợp 2 bản gen lặp nằm trên 2 nhiễm sắc thể tương đồng.

Hiện tượng này gọi là hiệu quả vị trí.

Trong nghiên cứu của mình, Rapopor đã làm tăng đoạn nhiễm sắc thể có chứa gen *Bar* lên 8 lần trong một nhiễm sắc thể. Đột biến tăng đoạn nhiễm sắc thể này đã làm cho ruồi giấm có mắt hình bầu dục (bình thường) trở thành hình que (kiểu đột biến), vì gen này đã gây ra hiện tượng giảm mắt đơn và do đó dẫn đến hiện tượng teo mắt.

Đột biến trùng đoạn của nhiễm sắc thể được phương pháp phân tích di truyền khám phá đã hoàn toàn trùng hợp với các kết quả phân tích tế bào học. Khi kiểm tra tế bào qua kính hiển vi, đặc biệt trong giai đoạn nhiễm sắc thể đồng nguồn tiếp hợp với nhau để tạo cặp thì rất dễ phát hiện ra các đoạn nhiễm sắc thể bị trùng lặp

5.3.1.3. Đột biến đảo đoạn nhiễm sắc thể

Do một số nguyên nhân nào đó mà đoạn nhiễm sắc thể chứa một số gen bị đứt ra và quay một góc 180^0 rồi gắn trở lại được với nhiễm sắc thể cũ thì tạo ra dạng đột biến gọi là đột biến đảo đoạn.

Giả sử có một đoạn nhiễm sắc thể ở trong nhiễm sắc thể xảy ra 2 điểm đứt, có nghĩa là đoạn đứt phải nằm bên trong nhiễm sắc thể, không phải là ở 2 đầu mút của nhiễm sắc thể. Các trường hợp đoạn bị đứt ở đầu mút của nhiễm sắc thể thì không có khả năng gắn trở lại, vì vậy sẽ tạo nên đột biến mất đoạn.

Đột biến đảo đoạn bên trong của nhiễm sắc thể có thể có 2 trường hợp: Đoạn nhiễm sắc thể bị đứt và bị đảo có chứa tâm, đoạn nhiễm sắc thể bị đứt và bị đảo không chứa tâm. Khi đoạn nhiễm sắc thể bị đứt và bị đảo có chứa tâm, mà tâm không nằm vào chính giữa của đoạn bị đứt thì rất dễ phát hiện qua quan sát nhiễm sắc thể dưới kính hiển vi; khi mà đoạn đứt có chứa tâm và tâm nằm vào chính giữa của đoạn bị đứt thì người ta cũng có thể phát hiện ra khi quan sát nhiễm sắc thể dưới kính hiển vi, tuy nhiên trường hợp này khó khăn hơn nhiều và vì vậy yêu cầu người kiểm tra phải có trình độ tay nghề cao hơn. Trong trường hợp đoạn nhiễm sắc thể bị đứt và bị đảo không chứa tâm thì chúng ta gần như không thể phát hiện ra sự thay đổi này khi quan sát chúng dưới kính hiển vi.

Đột biến đảo đoạn bên trong của nhiễm sắc thể thường liên quan đến các gen gây chết ở dạng đồng hợp. Do đó các đột biến đảo đoạn nhiễm sắc thể ở trạng thái đồng hợp thường không tồn tại, nên ta chỉ có thể phát hiện được các dạng ở trạng thái dị hợp.

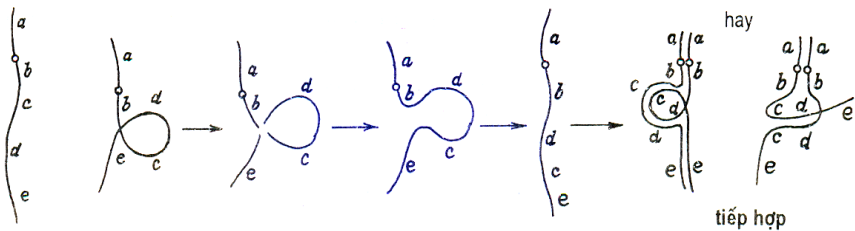
Qua nhiều nghiên cứu, hầu hết các nhà khoa học đều nhận thấy rằng: Đột biến đảo đoạn tạo nên trạng thái đồng hợp trên cặp nhiễm sắc thể đồng nguồn thì hiện tượng bất chéo giữa các nhiễm sắc thể vẫn có thể xảy ra bình thường, nếu tạo nên dị hợp thì bất chéo bị ngăn cản từng phần hoặc hoàn toàn, vì vậy ít tổ hợp mới (biến dị tổ hợp) được phát hiện.

Viện sĩ Liên Xô Dubinin đã thu thập được một số lượng lớn đột biến đảo đoạn ở ruồi giấm trong các điều kiện khác nhau và cũng đã tạo ra các dạng như vậy trong thực nghiệm, đặc biệt là dưới ảnh hưởng của các tia bức xạ. Ngoài ra, người ta còn phát hiện ra nhiều trường hợp đột biến đảo đoạn ở trên các đối tượng động, thực vật khác. Các nhà di truyền học cho ra rằng: Đột biến đảo đoạn có ý nghĩa to lớn đối với sự phân hoá của các loài. Hàng loạt các nhà nghiên cứu đã xác định những đặc điểm riêng

biệt của loài, ví dụ: Ruồi giấm *D. pseudobscura* có thể khác nhau do đột biến đảo đoạn tạo nên. Những loài gần nhau của ruồi giấm có số lượng nhiễm sắc thể giống nhau, có thể có trật tự sắp xếp của các gen trên các nhiễm sắc thể khác nhau, H. Xocolop khi so sánh nhiễm sắc thể khổng lồ ở 2 loài ruồi giấm (*D. virilis* và *D. iltosralis*) và con lai giữa chúng bằng phương pháp tế bào học đã thấy: 2 loài ruồi giấm này khác nhau bởi đột biến đảo đoạn và một số nhiễm sắc thể khổng lồ có khả năng tiếp nhận khác.

Nhìn chung, các đảo đoạn thường xuất hiện theo cơ chế đứt-nối lại: Sợi nhiễm sắc thể vòng lại, sự đứt xảy ra ở điểm nút, khi nối lại làm đảo trật tự. Đoạn đảo có thể có những độ lớn khác nhau.

Trong giảm phân, sự tiếp hợp giữa nhiễm sắc thể bình thường với nhiễm sắc thể đảo đoạn diễn ra rất khó khăn, vùng đảo tạo thành vòng uôn, cả tập hợp này hình thành nút lồi lớn (Hình 5.7).



Hình 5.7. Hình thành đảo đoạn và tiếp hợp trong giảm phân

5.3.1.4. Đột biến cấu trúc giữa các nhiễm sắc thể

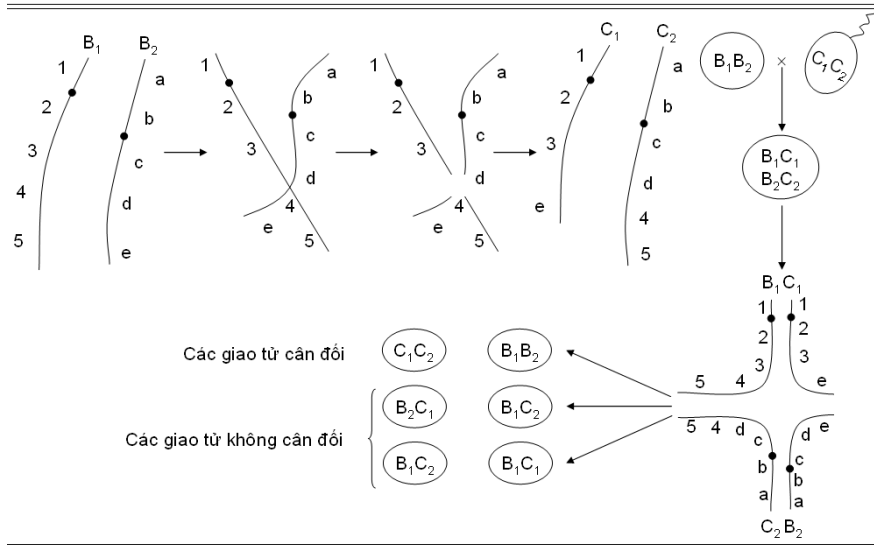
Đột biến cấu trúc giữa các nhiễm sắc thể là kết quả của hiện tượng trao đổi các đoạn với nhau giữa các nhiễm sắc thể. Loại đột biến như vậy thường được gọi là đột biến chuyển đoạn hay là đột biến cấu trúc giữa các nhiễm sắc thể.

Trường hợp hai nhiễm sắc thể không tương đồng trao đổi đoạn cho nhau gọi là chuyển đoạn. Chuyển đoạn có thể xảy ra theo 2 kiểu: (1) cân xứng - hai đoạn của hai nhiễm sắc thể không tương đồng trao đổi cho nhau (Hình 5.9); (2) không cân xứng - chỉ có một đoạn của nhiễm sắc thể này chuyển sang cho nhiễm sắc thể kia (chỉ theo một chiều) và không có chuyển trở lại.

Chuyển đoạn diễn ra theo cơ chế đứt rồi chuyển nối. Trường hợp 2 nhiễm sắc thể không tương đồng có đoạn giao chéo nhau tạo điểm tiếp xúc, khi tại điểm đó xuất hiện vết đứt, sự nối tiếp lại tiếp theo có thể do khả năng chuyển đổi giữa 2 đoạn, kết quả hình thành 2 nhiễm sắc thể có chuyển đoạn cân xứng (Hình 5.8). Chuyển đoạn một chiều xảy ra khi ở một nhiễm sắc thể có một đoạn đứt, đoạn này chuyển nối vào nhiễm sắc thể khác.

Chuyển đoạn cũng có thể phát sinh theo cơ chế xen-đoạn chuyển xen vào nhiễm sắc thể nhận (nằm ở trong nó). Cơ chế này xảy ra rất hiếm hoi.

Ở cơ thể lưỡng bội dị hợp theo 2 đôi nhiễm sắc thể, mỗi đôi có một nhiễm sắc thể mang đoạn chuyển (theo kiểu cân xứng) và một nhiễm sắc thể bình thường. Sự tiếp hợp của chúng trong giảm diễn ra rất phức tạp cả 4 nhiễm sắc thể tạo thành một khối có hình chữ thập (Hình 5.8). Với kiểu tiếp hợp này thì khi các nhiễm sắc thể đẩy nhau-sự phân bố (ở góc độ không gian) ngẫu nhiên của có thể dẫn tới 3 kiểu phân tách, kết quả tạo thành các kiểu gen tử cân đối và không cân đối. Các giao tử cân đối có độ hữu thụ đảm bảo, các giao tử không cân đối thường có mức độ hữu thụ kém hay bất dục.



Hình 5.8. Trao đổi đoạn cân xứng (hai chiều) giữa 2 NST, từ 2 NST bình thường (B₁, B₂) trở thành 2 NST (C₁, C₂). Khi kết hợp cả 4 NST tạo thành một phức hợp hình chữ thập. Các khả năng phân tách NST khác nhau của nó hình thành nên những kiểu giao tử khác nhau: Cân đối chỉ có các NST bình thường hoặc chỉ có NST chuyển đoạn: không cân đối vừa có NST bình thường và NST chuyển đoạn. (1) Khi 4 NST đẩy nhau tạo thành hình số 8; (2) (3) khi 4 NST đẩy nhau tạo thành vòng tròn.

Dribelling (1915) là người đầu tiên phát hiện ra hiện tượng trao đổi đoạn không đồng nguồn giữa các nhiễm sắc thể với nhau khi ông tiến hành tạp giao các loại đậu (*Sliobolium deerigiaum*) khác nhau với nhau. Ông đã thu được 50% số hạt phấn bất dục và chỉ 50% số hạt phấn là hữu thụ. Đến năm 1925 Dribelling lại phát hiện hiện tượng tương tự ở *Datura* và ông đã giải thích rằng: Những trường hợp trên xuất hiện là do sự cấu trúc lại của các nhiễm sắc thể không đồng nguồn.

Năm 1926, Tie và Stier phát hiện ra hiện tượng này ở ruồi giấm, do có sự trao đổi đoạn giữa nhiễm sắc thể X và Y. Sau này các đột biến chuyển đoạn cũng đã được tìm thấy ở ngô.

Giả sử ở trạng thái bình thường các nhiễm sắc thể có các gen:

$$\frac{ABCD}{ABCD}$$
$$\frac{OMNK}{OMNK}$$

Khi hai nhiễm sắc thể không đồng nguồn của 2 cặp nhiễm sắc thể trên đồng thời xảy ra đứt đoạn và chúng trao đổi các đoạn đứt với nhau tạo ra các cặp nhiễm sắc thể mới như sau:

$$\frac{ABCD}{ABCK}$$
$$\frac{OMNK}{OMND}$$

Kết quả trao đổi đoạn đã làm thay đổi thành phần nhóm gen liên kết gen trên các nhiễm sắc, vì thế sự cân bằng trong hệ thống gen của cơ thể bị thay đổi.

Bằng phương pháp phân tích di truyền người ta đã phát hiện ra các đột biến chuyển đoạn ở ruồi giấm như sau.

Lấy ruồi giấm có 2 cặp gen lặn, một cặp xác định thân xám-cánh dài trong nhóm liên kết trên nhiễm sắc thể thứ II, một cặp khác xác định thân đen-cánh cụt trong nhóm liên kết thứ III. Chọn các ruồi cái đồng hợp theo các gen này rồi cho tạp giao với ruồi đực bình thường để cho ra thế hệ lai F₁. Trong các ruồi F₁ chọn ra các ruồi đực dị hợp thể theo các gen nói trên và cho chúng lai với ruồi cái đồng hợp lặn (lai phân tích). Thu được kết quả:

- Khi thế hệ xuất phát không có hiện tượng chuyển đoạn giữa các nhiễm sắc thể thứ II và thứ III với nhau, thì sự phân ly ở con lai phân tích là 1:1:1:1.

- Khi một trong các tinh trùng của ruồi đực bình thường xảy ra sự chuyển đoạn của các nhiễm sắc thể với nhau, tỷ lệ phân ly bị thay đổi ngay và vì vậy ta nhận được tỷ lệ 1:1.

Sở dĩ xảy ra như vậy là vì những hợp tử thiếu hay thừa các cặp nhiễm sắc thể (do chuyển đoạn gây ra) dẫn đến thiếu hoặc thừa vật chất di truyền đã phá hủy cân bằng gen nên đã không có khả năng sống.

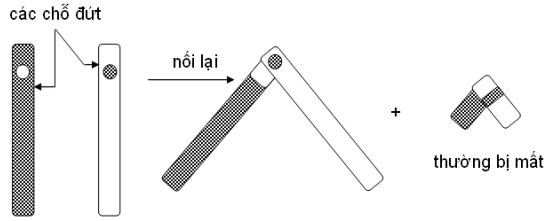
Hiện tượng chuyển đoạn (trao đổi đoạn) giữa các nhiễm sắc thể không đồng nguồn có vai trò rất to lớn trong tiến hoá của các loài động, thực vật bậc cao, vì đột biến chuyển đoạn là một trong những nguyên nhân để tạo ra loài mới thích hợp hơn với điều kiện sống thay đổi.

Sự chuyển đoạn dẫn tới sự thay đổi nhóm gen liên kết, tạo ra các kiểu liên kết mới. Đa số các chuyển đoạn có hại cho cơ thể, ảnh hưởng tới độ hữu thụ. Tuy nhiên, cũng có nhiều kiểu chuyển đoạn có lợi cho cơ thể, vì đã tạo ra kiểu liên kết gen mới có nhiều ưu điểm được chọn lọc.

Khi vết đứt xuất hiện ở vùng tâm động và sự chuyển đoạn chỉ xảy ra một chiều, thì có thể tạo nên dạng nhiễm sắc thể có một vai, tâm động ở điểm nút, gọi là *nhiễm sắc thể tâm nút*. Sau nhân đôi, có thể xảy ra trường hợp 2 sợi sắc ty không phân tách về hai cực của tế bào mà lại dính vào nhau, kết quả hình thành nhiễm sắc thể có 2 vai cân bằng nhau và tương đồng nhau, gọi là *nhiễm sắc thể đều (isochorsome)*.

Chuyển đoạn Robertson: Đây là một kiểu chuyển đoạn đặc biệt hình thành một nhiễm sắc thể lớn, tâm động ở giữa do nối lại của 2 nhiễm sắc thể có tâm động ở đầu nút (Hình 5.9).

Nhiễm sắc thể A bị đứt ở phía dưới tâm động, tạo vai dài không tâm động. Nhiễm sắc thể B bị đứt ở phía vai ngắn trên tâm động. Sau sự chuyển đoạn thuận nghịch, hình thành nhiễm sắc thể lớn có tâm động ở giữa và nhiễm sắc thể con. Nhiễm sắc thể con, ít có ý nghĩa nên thường bị mất đi. Như vậy chuyển đoạn Robertson gây nên sự giảm số lượng nhiễm sắc thể, sự biến đổi này có ý nghĩa lớn trong tiến hoá.



Hình 5.9. Chuyển đoạn Robertson. Hình thành nhiễm sắc thể có tâm động ở giữa do sự nối lại của 2 NST có tâm động ở 2 đầu mút.

Vượn người có 48 nhiễm sắc thể ($n = 24$), người có 46 nhiễm sắc thể ($n = 23$). Các quan sát cho thấy, nhiễm sắc thể thứ hai của người gồm 2 đoạn giống hai nhiễm sắc thể khác của vượn người. Có thể đặt giả thiết rằng, từ một tổ tiên chung, một chuyển đoạn kiểu Robertson đã tạo nên bộ nhiễm sắc thể của người có 46 nhiễm sắc thể do sự nối lại của 2 nhiễm sắc thể từ bộ 48 nhiễm sắc thể như ở vượn người.

Các chuyển đoạn có ý nghĩa lớn trong tiến hoá hình thành loài mới, như là các chuyển đoạn lớn. Nhiều nghiên cứu đã phát hiện ra rằng, ở một số loài như ruồi, ọt,... khác nhau bởi một số chuyển đoạn.

Như vậy, nghiên cứu chuyển đoạn nhiễm sắc thể không những có ý nghĩa lý thuyết mà còn có ý nghĩa thực tiễn to lớn. Trong thực nghiệm, chuyển đoạn thường được áp dụng để chuyển gen mong muốn từ nhiễm sắc thể này sang nhiễm sắc thể khác.

Trong lai xa đã kết hợp xử lý phóng xạ để chuyển gen mong muốn từ nhiễm sắc thể của loài đại sang nhiễm sắc thể của loài trồng. Ví dụ, chuyển gen chống bệnh rỉ sắt, gen kháng mốc hồng vào kiều mạch, gen kháng bệnh xoắn lùn vào lúa,... và các gen giá trị khác.

5.3.2. Đột biến làm thay đổi số lượng nhiễm sắc thể

Số lượng nhiễm sắc thể trong tế bào của mỗi loài là một thành phần có tính chất ổn định. Ở sinh vật nhân chuẩn có pha lưỡng bội, genom của loài là vật chất di truyền có ở bộ nhiễm sắc thể đơn bội của loài đó (ở bộ nhiễm sắc thể của loài chứa toàn bộ các gen ở nhân tế bào của loài đó). Ở trạng thái lưỡng bội cơ thể có cặp nhiễm sắc thể tương đồng, có đôi alen cùng locus, số genom là 2. Ở cơ thể tứ bội ($4n$) số genom là 4, có tới 4 nhiễm sắc thể tương đồng, 4 alen cùng locus.

Hiện nay trên trái đất có tới 1/3 số loài sinh vật có các dạng đa bội thể như thế. Đa bội thể cũng là một trong những nguồn biến dị trong quá trình tiến hoá của sinh vật và đã được sử dụng nhiều trong công tác giống.

5.3.2.1. Cơ chế hình thành đa bội thể đồng nguồn và phương pháp gây tạo

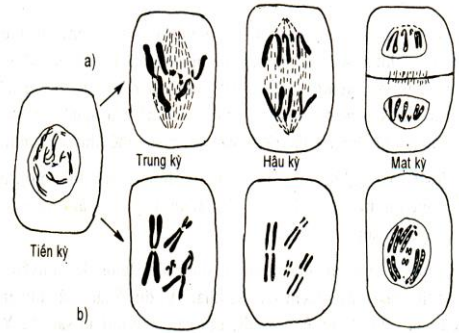
Đa bội thể đồng nguồn (tự đa bội) là trường hợp genom của một loài nào đó được tăng bội số lớn hơn $2n$: $4n$, $6n$, $8n$, ... các dạng đa bội chẵn và $3n$, $5n$, ... các dạng đa bội lẻ.

a. Cơ chế hình thành

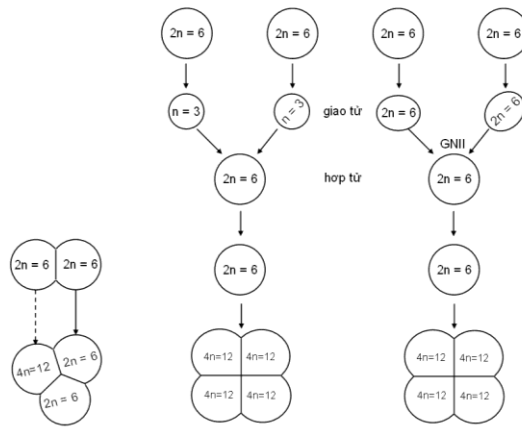
Phân chia tế bào nguyên nhiễm, giảm nhiễm là cơ chế phân chia chính xác về số lượng nhiễm sắc thể, đảm bảo cho loài được ổn định về bộ nhiễm sắc thể qua các thế hệ. Tuy nhiên trong một số trường hợp, sự phân chia bình thường của tế bào bị phá hủy dẫn tới hình thành các tế bào đa bội thể.

Sự nhân đôi của nhiễm sắc thể xảy ra trước phân bào (ở pha S), thế nhưng các sợi thoi vô sắc bị phá hủy dưới tác động của các yếu tố (ví dụ. chất colchixin): Làm cho các sợi nhiễm sắc thể không chạy về 2 cực của tế bào.

Kết quả lượng chất di truyền đã nhân đôi tồn tại ở một tế bào, hình thành nên tế bào được đa bội hoá: Từ $2n \rightarrow 4n$ (tứ bội). Có thể xảy ra trường hợp là các sợi nhiễm sắc thể được vận động về 2 cực của tế bào, song ở giữa tế bào không hình thành vách ngăn để phân đôi thành 2 tế bào con, tế bào trở thành đa bội. Cơ chế hoá genom có thể diễn ra ở nhiều dạng tế bào khác nhau: Trong quá trình phân chia nguyên nhiễm và phân chia giảm nhiễm (Hình 5.10).



Hình 5.10. Sơ đồ diễn tả phân chia nguyên nhiễm xảy ra bình thường (a) và không bình thường do tác động phá hủy sợi thoi vô sắc (của colchixin) tạo thành tế bào đa bội (b)



Hình 5.11. Sơ đồ đa bội hóa theo nguyên phân ở tế bào soma (1), ở tế bào hợp tử (2). Đa bội thể xảy ra trong quá trình giảm phân (3), hai giao tử không giảm số lượng NST phối hợp với nhau tạo thành thể tứ bội.

Cần lưu ý rằng, trong giảm phân sự đa bội hoá diễn ra ở lần phân chia I khi các nhiễm sắc thể ở đôi tương đồng không tách về 2 cực của tế bào mà vẫn tồn tại cùng nhau. Xét về lượng vật chất di truyền thì tế bào được tăng lên gấp đôi ($4n$), song ở đây không hình thành sự đa dạng về các tổ hợp nhiễm sắc thể bố mẹ. Lần phân chia thứ II diễn ra bình thường như nguyên nhiễm, kết quả hình thành các giao tử có $2n$ nhiễm sắc thể giống như tế bào mẹ trước giảm phân.

Trái lại, khi lần giảm phân I diễn ra bình thường, sự đa bội hoá diễn ra ở lần phân chia II, kết quả thu được các giao tử có $2n$ nhiễm sắc thể và chúng có sự đa dạng theo các tổ hợp nhiễm sắc thể bố mẹ. Sau khi thụ tinh (tự phối), thế hệ sau $4n$ được hình thành và có mức biến dị tái tổ hợp lớn hơn nhiều so với trường hợp trên.

b. Phương pháp gây tạo

Tế bào đa bội có thể hình thành dưới tác động của nhiều yếu tố vật lý, hoá học khác nhau.

Người ta đã phát hiện thấy một chất trong nhóm các hợp chất tự nhiên alkaloid là colchixin có tác dụng đặc hiệu gây phá hủy sợi tơ vô sắc làm cho các nhiễm sắc thể không vận động được để chia về 2 cực của tế bào. Colchixin được sử dụng rộng rãi trong các thực nghiệm, nó được xem như là một tác nhân cơ bản để tạo nên các dạng tự đa bội.

Các dạng đa bội thể lẻ có thể được hình thành do kết quả lai giữa dạng đa bội thể với các dạng đa bội chẵn hoặc do lai các dạng đa bội chẵn với nhau. Ví dụ, thể tam bội ($3n$) hình thành do lai dạng lưỡng bội với dạng tứ bội ($2n \times 4n \rightarrow 3n$).

5.3.2.2. Đặc điểm giảm phân và sự phân ly tính trạng đồng nguyên đa bội thể

a. Đặc điểm giảm phân

Bản chất di truyền cơ bản của các dạng đa bội thể được biểu hiện ở sự phân li của các nhiễm sắc thể trong quá trình phân chia giảm nhiễm. Do có mặt một số lượng lớn các nhiễm sắc thể tương đồng, nên sự tiếp hợp giữa chúng gặp nhiều khó khăn, giả sử một dạng tứ bội $4n = 28$, như vậy có 4 bộ 7 nhiễm sắc thể tương đồng tiếp hợp với nhau tạo thành 4 bộ 7. Thực tế không hoàn toàn diễn ra như vậy, mà bên cạnh sự tiếp hợp theo bộ 7 còn tiếp hợp theo cặp đôi (4 nhiễm sắc thể tương đồng tạo thành 2 cặp lưỡng trị). Ngoài ra còn có thể xuất hiện sự tiếp hợp theo bộ ba, một nhiễm sắc thể đứng một mình gọi là đơn trị.

Số lượng các bộ 4 luôn thấp hơn số lượng tối đa có thể. Các dạng đa bội cùng nguồn khác nhau có tỷ lệ về các bộ 4 rất khác nhau, có nhiều dạng đa bội hầu như chỉ tiếp hợp theo cặp hai. Sự tiếp hợp theo các bộ chẵn và sự phân chia đều về số lượng $4n$ nhiễm sắc thể để thu được sản phẩm giảm phân có $2n$ là sự kiện có tính chất giả định (lý thuyết). Do tính chất phức tạp và đa dạng trong sự tiếp hợp nên đã xuất hiện một tỷ lệ không nhỏ sự phân chia không đồng đều của các nhiễm sắc thể, kết quả hình thành những giao tử có số lượng nhiễm sắc thể thừa hoặc thiếu so với

bình thường. Các giao tử dạng này thường bị bất dục, vì thể dạng đa bội có độ hữu thụ thấp hơn so với lưỡng bội. Nhiều nghiên cứu đã cho thấy mức độ giảm hữu thụ ở tiểu bào tử thường cao hơn so với đại bào tử. *Những sản phẩm bình thường của giảm phân (2n) tạo nên các giao tử hữu thụ để tái tạo thế hệ sau có bộ nhiễm sắc thể chẵn (4n)*. Như vậy qua giảm phân, dạng đa bội (4n) có thế hệ sau luôn luôn được duy trì dạng mang bộ nhiễm sắc thể với bội số chẵn (4n) loại bỏ những dạng có sự thừa, thiếu, lẻ về bộ nhiễm sắc thể, do những giao tử không bình thường này thường bị bất dục.

Những dạng đa bội thể lẻ (Ví dụ, tam bội-3n) không có sự cân bằng trong bộ nhiễm sắc thể, nên giảm phân ở chúng bị rối loạn, chúng hầu như bị bất dục hoàn toàn. Một số dạng tam bội trong tự nhiên có thể được duy trì qua sinh sản sinh dưỡng (nhân giống vô tính), ví dụ: Chuối tam bội, . . .

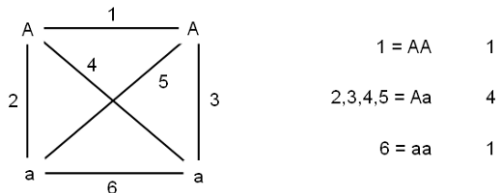
b. Đặc điểm phân ly

Đặc điểm phân ly tính trạng của dạng đa bội cùng nguồn khác với dạng lưỡng bội ở chỗ số lượng nhiễm sắc thể tương đồng của chúng lớn hơn 2.

Tính chất đặc biệt của đồng nguyên đa bội thể trong phân bào giảm nhiễm khác với cơ thể lưỡng bội về số lượng nhiễm sắc thể trong tế bào sinh dục và sự tổ hợp của chúng. Nếu trong tế bào lưỡng bội (2n) tạo thành các cặp nhiễm sắc thể đồng nguồn chứa cặp gen dị hợp thể (Aa) với 3 kiểu gen AA, Aa và aa thì trong phân bào giảm nhiễm sẽ tạo thành hai loại giao tử (A và a). Cơ thể tứ bội (4n) có bộ gen AAaa và có các kiểu gen AAAA-trị 4, AAAa-trị 3, AAaa-trị 2, Aaaa-trị 1 và aaaa-trị 0 (tên gọi dựa vào số lượng alen trội có trong kiểu gen). Sự phức tạp về sự phân ly kiểu gen của dạng tứ bội thể hiện ở chỗ, chúng có nhiều kiểu gen dị hợp thể. Trường hợp các alen có quan hệ trội-lặn, dạng tứ bội cũng chỉ có sự phân ly thành 2 kiểu hình (số lượng các kiểu hình không khác dạng lưỡng bội).

Khi xác định sự hình thành các kiểu giao tử của dạng tứ bội, ta cần quán triệt một số vấn đề sau: (1) Sự phân ly tính trạng gắn liền với sự vận động bình thường của các nhiễm sắc thể tương đồng trong giảm phân (cho sản phẩm giảm phân 2n). (2) Giữa locus gen nghiên cứu và tâm động có hay không có sự liên kết chặt. Trường hợp gen nghiên cứu liên kết chặt với tâm động, thì các tổ hợp giao tử hình thành chính là các tổ hợp ngẫu nhiên của các nhiễm sắc thể tương đồng.

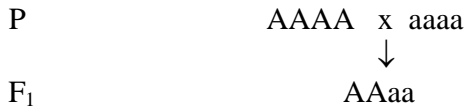
Ví dụ, kiểu tứ bội cùng nguồn AAAA, sự tổ hợp ngẫu nhiên của 4 nhiễm sắc thể tương đồng của chúng cho các kiểu giao tử với tỷ lệ (lý thuyết) sau:



Sự hình thành giao tử từ các kiểu gen của dạng tứ bội cùng nguồn được trình bày trên bảng sau đây:

| Dạng tứ bội | Kiểu gen | Tỷ lệ các dạng giao tử |
|-------------|----------|------------------------|
| Trị bốn | AAAA | AA |
| Trị ba | AA Aa | 1AA:1Aa |
| Trị hai | AA aa | 1AA: 4Aa:1aa |
| Trị một | Aa aa | 1Aa : 1aa |
| Trị không | aa aa | aa |

Nêu ta có:



Cơ thể đồng nguyên đa bội thể ở trạng thái dị hợp AAaa (F_1) như trên, khi phát sinh giao tử cho ra 3 loại giao tử 1AA:4Aa:1aa. Nếu ta cho 2 cá thể (F_1) như vậy kết hợp với nhau thì thế hệ con (F_2) phân ly kiểu hình với tỷ số 35:1 của cơ thể tứ bội, hoàn toàn khác với tỷ lệ 3:1 ở cơ thể lưỡng bội. Ta hãy xem xét kết quả trên bảng sau:

Giao tử đực ↓

| Giao tử cái ↓ | 1AA | 4Aa | 1aa |
|---------------|--------|--------|-------|
| 1AA | 1AAAA | 4AAaAa | 1Aaaa |
| 4Aa | 4AAaAa | 16AAaa | 4Aaaa |
| 1aa | 1Aaaa | 4Aaaa | 1aaaa |

Phân ly kiểu gen: 1 AAAA: 8 AAAa: 18AAaa:1aaaa

Phân ly kiểu hình: 35 trội: 1 lặn

Tỷ lệ các kiểu gen đồng hợp: 2/36

Trong sự phân ly kiểu gen ở các cá thể đồng nguyên tứ bội, tỷ lệ tổ hợp gen đồng thời lặn giảm rất nhiều so với ở cơ thể lưỡng bội. Ta có thể thấy mức độ giảm tỷ lệ qua bảng dưới đây:

| Loại cá thể | Lưỡng bội | Tứ bội |
|--------------|-----------|---------|
| 1 tính trạng | 3:1 | 35:1 |
| 2 tính trạng | 15:1 | 1296:1 |
| 3 tính trạng | 63:1 | 44655:1 |

Từ kết quả trên cho thấy, các cá thể đồng nguyên đa bội thể có khả năng làm giảm quá trình chuyển dị hợp thể sang đồng hợp thể. Vì thế đồng nguyên đa bội thể là nguồn bảo tồn tính dị hợp tốt hơn dạng lưỡng bội và nhờ vậy mà có khả năng duy trì ưu thế lai tốt hơn.

Sự phân ly không đều của các nhiễm sắc thể về các giao tử như trường hợp 3:1 hay 4:0 (Aaa : a; AAAA : O) sẽ cho ra các giao tử có khả năng sống thấp. Nếu các giao tử như vậy tồn tại và kết hợp được với nhau tạo thành hợp tử thì các loại hợp tử như vậy cũng không có khả năng sống. Sự rối loạn trong quá trình phân ly nhiễm sắc thể trong quá trình phát sinh giao tử là một trong những nguyên nhân làm cho cơ thể đồng nguyên đa bội thể có khả năng sinh sản kém, sự giảm thấp này có thể khắc phục được nhờ quá trình chọn giống.

Người ta đã phát hiện ra các dạng đồng nguyên đa bội thể ở động vật như ở giun đất, lưỡng thê, còn ở động vật bậc cao thì rất hiếm. Một số

nhà nghiên cứu cho rằng: *Mesocricetus auratus* có $2n = 44$ là kết quả tạp giao *Cricetus cricetus* có $2n = 22$ với *Cricetus griceus* cũng có $2n = 22$.

Nhờ có colchixin người ta đã khám phá ra hiện tượng đa bội thể ở thỏ và lợn. Axtaurop và các nhà nghiên cứu Nhật Bản đã dùng phương pháp ly tâm, phương pháp tác động nhiệt độ cao, thấp và hoá chất colchixin vào tế bào trứng tằm đã thụ tinh và đã thu được trứng tằm tứ bội.

Từ những phân tích ở trên, cho phép chúng ta rút ra một số điểm ứng dụng sau đây chỉ đạo cho quá trình làm việc với quần thể loài đa bội:

- *Quần thể bội có sự đa dạng rất lớn về kiểu gen, trong đó phần lớn là các kiểu gen dị hợp thể.*

Bên cạnh việc loại bỏ những kiểu bất bình thường qua ngưỡng giảm phân (sự bất dục của những kiểu giao tử không bình thường), sự xuất hiện những kiểu hình lặn (kém) quần thể cây đa bội là rất hiếm. Sự thể hiện tính trạng là kết quả đa dạng về những tương tác của các gen trong kiểu gen đa bội.

- *Tính đa dạng và dị hợp cao về kiểu gen dẫn tới khả năng tạo nên những kiểu gen có hiệu ứng ưu thế lai giá trị cho chọn lọc, những kiểu này hoàn toàn duy trì được qua sinh sản sinh dưỡng.*

- *Sinh sản hữu tính xen kẽ với những chu kỳ nhân vô tính là ưu thế thích ứng cơ bản và tuyệt vời của quần thể đa bội.*

5.3.3. Dị nguyên đa bội thể-đa bội thể khác nguồn

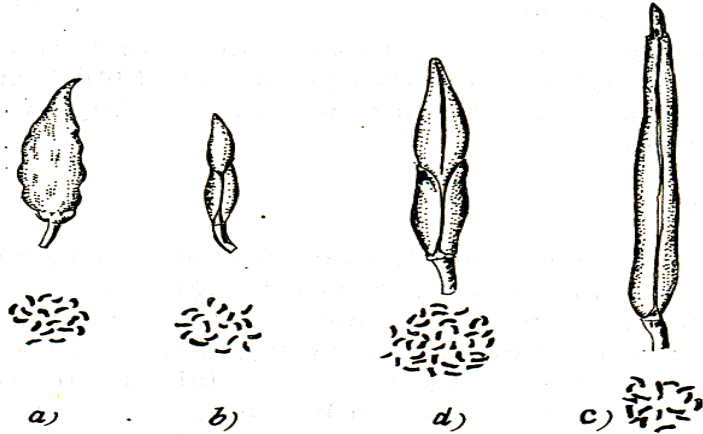
Có thể dị nguyên đa bội thể là kết quả của sự kết hợp giữa các giao tử của 2 loài khác nhau. Dị nguyên đa bội thể thường không có khả năng sinh sản, do chúng không có nhiễm sắc thể đồng nguồn để tạo cặp ở tiền kỳ I của giảm nhiễm. Đây là nguyên nhân chính làm mất khả năng phân bào giảm nhiễm để tạo thành các giao tử bình thường ở các con lai.

Theo các nhà nghiên cứu, muốn cho các dị nguyên đa bội thể khôi phục được khả năng sinh sản, chúng phải có số lượng nhiễm sắc thể bằng tổng số nhiễm sắc thể lưỡng bội của cả 2 loài. Ví dụ, khi một loài có $2n = 14$, một loài khác cũng có $2n = 14$ kết hợp với nhau, nếu tế bào của con lai giữa chúng cũng chỉ có số lượng nhiễm sắc thể là $2n = 14$ thì con lai sẽ không có khả năng sinh sản. Để con lai này có khả năng sinh sản thì bộ nhiễm sắc thể trong tế bào của nó là $4n = 28$, trong đó mỗi loài đóng góp 14 nhiễm sắc thể, có như vậy mới tạo thành được 14 cặp nhiễm sắc thể đồng nguồn để có sự phân ly bình thường của các nhiễm sắc thể trong quá trình sinh giao tử.

Trong tế bào, hai bộ nhiễm sắc thể có nguồn gốc khác nhau (của 2 loài) được bội hoá lên gọi là đa bội khác nguồn hay còn gọi là dị nguyên đa bội-song lưỡng bội.

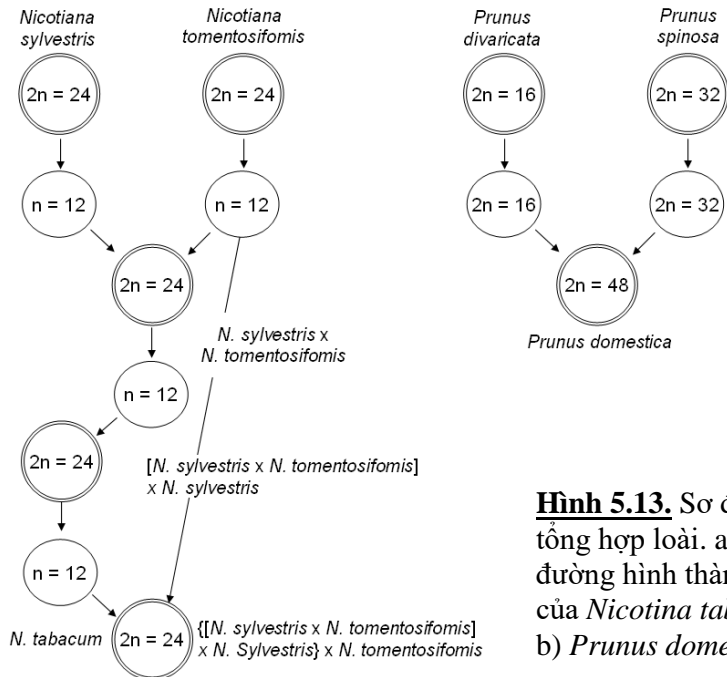
Người đầu tiên nghiên cứu về dị nguyên đa bội thể là Carphatrenco, ông đã cho lai *Raphmus sativus* với *Brassia oleracea* (Hình 5.12). Cây lai có bộ nhiễm sắc thể $2n = 18$, trong đó có 9 nhiễm sắc thể của bắp cải và 9 nhiễm sắc thể của củ cải. Các cây lai hoàn toàn bất dục, vì trong phân bào giảm nhiễm các nhiễm sắc thể của bắp cải và các nhiễm sắc thể của rau cải không thể tiếp hợp được với nhau làm cho sự phân ly nhiễm sắc thể về các

cực để tạo thành giao tử xảy ra một cách tùy tiện. Kết quả là đã tạo ra nhiều loại giao tử với số lượng nhiễm sắc thể không xác định ($0 \div 18$ chiếc). Trong các giao tử như vậy chỉ có loại ($9R + 9B$) là có khả năng hữu thụ, giao tử này nếu gặp được giao tử tương tự thì mới kết hợp được và có khả năng cho ra thế hệ con, cơ thể như vậy là dị nguyên đa bội thể, có khả năng sinh sản.



Hình 5.12. Dạng quá vị bộ nhiễm sắc thể của:

- a) Củ cải (*R. sativus*), b) Bắp cải (*B. oleracea*), c) Thể song đơn bội, d) Thể song lưỡng bội



Hình 5.13. Sơ đồ tái tổng hợp loài. a) Con đường hình thành loài của *Nicotina tabacum*, b) *Prunus domestica*

Đa bội thể khác nguồn có ý nghĩa lớn trong tiến hoá hình thành loài mới ở thực vật. Qua phân tích bộ nhiễm sắc thể của các loài lân cận ta có thể rút ra được mối quan hệ giữa chúng ở góc độ tiến hoá-con đường hình thành

loài bằng lai xa kết hợp đa bội hoá (Hình 5.13), việc làm như vậy gọi là tái tổ hợp loài.

Nghiên cứu bản chất của dị nguyên đa bội thể có ý nghĩa tốt trong công tác tạo giống mới, đặc biệt là mở ra khả năng khắc phục hiện tượng vô sinh của các cơ thể dị nguyên đa bội thể do lai xa tạo nên. Ngày nay người ta đã lai tạo ra các dạng dị nguyên đa bội thể 2 loài, 3 loài trở lên. Ví dụ, giống lúa mì trắng là tập hợp một dãy trắng dị nguyên đa bội thể phức tạp, hay giống lúa mì mềm là kết quả của việc lai tạo giữa 3 giống lúa mì khác nhau với nhau.

5.3.4. Đa bội thể lệch, phân tích các đa bội lệch

Đa bội lệch hay còn gọi là phi chính đa bội thể, là kết quả của sự thay đổi một lượng nhiễm sắc thể đơn lẻ trong tế bào như việc tăng hoặc giảm một lượng 1, 2, 3, ... nhiễm sắc thể. Tựa thuộc vào dạng thay đổi mà ta có các tên gọi khác nhau, ví dụ: $2n + 1$ (trixomia), $2n - 1$ (monoxomia), ...

Ngoài các thể lệch bội đơn (thay đổi số nhiễm sắc thể ở một đôi), còn tồn tại các thể lệch bội kép, đó là các trường hợp ở 2 đôi nhiễm sắc thể nào đó đều có thay đổi số lượng, ví dụ: Thể một kép: $2n-1-1$, thể ba kép: $2n+1+1$, ...

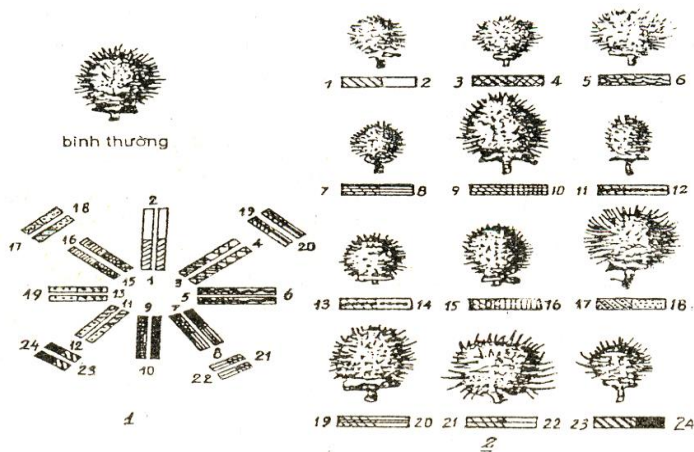
Bảng sau đây trình bày một số dạng đa bội lệch:

| Dạng | Công thức | Bộ NST ($2n = 12, n = 6$) | | | | | |
|-----------|-----------|-----------------------------|---|---|---|---|---|
| Thể một | $2n - 1$ | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| | | 1 | 2 | | 4 | 5 | 6 |
| Thể ba | $2n + 1$ | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| | | | | 3 | | | |
| Thể không | $2n - 2$ | 1 | 2 | | 4 | 5 | 6 |
| | | 1 | 2 | | 4 | 5 | 6 |
| Thể bốn | $2n + 2$ | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| | | | | 3 | | | |
| | | | | 3 | | | |

Các thể lệch bội có thể xuất hiện ở những trường hợp sau: (1) Trong phân bào nguyên nhiễm hay giảm nhiễm, vì lý do nào đó mà một hay vài nhiễm sắc thể bị rơi không chạy về được cực tế bào. (2) Ở phân bào giảm nhiễm, khi hai nhiễm sắc thể tương đồng tiếp hợp với nhau mà không phân chia, cả 2 đều được dồn về một tế bào, do đó hình thành nên các giao tử thừa và giao tử thiếu một nhiễm sắc thể nào đó. Các dạng giao tử có: Thừa, thiếu, bình thường về số lượng nhiễm sắc thể phối hợp với nhau tạo nên nhiều thể lệch bội khác nhau. Ví dụ, $n \times n-1 \rightarrow 2n-1$, $n \times n+1 \rightarrow 2n + 1$, $n-1 \times n-1 \rightarrow 2n-2$, $n+1 \times n+1 \rightarrow 2n+2$.

Ở con lai xa thường có rối loạn trong phân chia các nhiễm sắc thể (do sự tiếp hợp không bình thường ở một số đôi nhiễm sắc thể nào đó) dẫn tới việc hình thành các giao tử có biến động về số lượng nhiễm sắc thể ở một số đôi trong kiểu nhân, dễ làm xuất hiện các dạng lệch bội phức tạp.

Người đầu tiên phát hiện ra phi chính đa bội thể là Bridges khi nghiên cứu về sự di truyền của các tính trạng liên kết với giới tính ở ruồi giấm. Trong nghiên cứu tác giả thấy: Khi tế bào trứng có bộ nhiễm sắc thể sinh dục XX hoặc 0 (-) được thụ tinh với một tinh trùng mang nhiễm sắc thể sinh dục X hoặc Y, chúng sẽ tạo thành các cá thể có bộ nhiễm sắc thể sinh dục XXX, XXY, XO (X-), 0Y (-Y), cùng với tổ hợp bình thường của các nhiễm sắc thể thường. Các kết quả nghiên cứu này về sau đã được các nhà nghiên cứu tế bào học xác nhận. Người ta thấy trong các tế bào soma của con cái có bộ nhiễm sắc thể sinh dục XXY là thừa một nhiễm sắc thể Y. Trong tế bào soma của con đực có bộ nhiễm sắc thể sinh dục XO là thiếu nhiễm sắc thể Y.



Hình 5.14. Dạng quả bình thường (1) và dạng quả của 12 ba (2) (theo đôi nhiễm sắc thể) ở cà độc dược (*Datura stramonium*)

Sau này các thể lệch bội đã được phát hiện ở nhiều loài sinh vật. VD. ở thực vật có cà độc dược, lúa mì, ngô, bông, cà chua, thuốc lá, . . . , ở động vật bậc cao có chuột, mèo, động vật có sừng, người, . . .

Nhìn chung, các thể lệch bội đều dẫn tới các biến dị, dị hình, sức sống của cơ thể bị giảm. Điều đó nói lên sự mất cân bằng trong bộ nhiễm sắc thể, nhất là sự thiếu hụt những gen quan trọng. Ví dụ, các thể ba ở cà độc dược ảnh hưởng tới sự thay đổi hình thái của quả (Hình 5.14). Các nghiên cứu cho thấy các thể lệch bội có thể ảnh hưởng chung tới sự tiếp hợp của các cặp nhiễm sắc thể tương đồng. Ví dụ, ở lúa mì đã phát hiện thấy thể không ở đôi thứ 5 gây ra hiện tượng không tiếp hợp hoàn toàn các cặp nhiễm sắc thể trong giảm phân.

Việc xuất hiện các tế bào có sự tăng hoặc giảm một số lẻ nhiễm sắc thể đã được giải thích là do bị rối loạn trong quá trình phân chia của tế bào. Sự rối loạn có thể xảy ra ở tế bào soma hoặc tế bào sinh dục. Sự phân ly không đồng đều của các nhiễm sắc thể không đồng nguồn thường xảy ra trong quá trình phân bào giảm nhiễm. Kết quả của sự phân ly không chính xác này làm cho 2 nhiễm sắc thể đồng nguồn cùng đi về một cực và tế bào kia không có nhiễm sắc thể đồng nguồn của cặp đó. Trong quá trình hình thành giao tử, các nhiễm sắc

thể thiếu, thừa ở tế bào trứng thường không ảnh hưởng lớn đến khả năng thụ tinh của chúng, trong khi đó những hạt phấn thừa 1 nhiễm sắc thể (n+1), thiếu 1 nhiễm sắc thể (n-1) thường có sức cạnh tranh kém hơn (ống phân phát triển kém hơn) so với những hạt phấn bình thường (n). Vì vậy, thể hệ sau nhận được những nhiễm sắc thể thừa, thiếu phần lớn là từ mẹ (tế bào trứng). Ví dụ, ở lúa mì, dạng thể một (2n-1) tạo các kiểu giao tử n và n-1, trong quá trình tự thụ phấn giao tử n-1 do hạt phấn đóng góp có tần số khoảng 4%, ngược lại do tế bào trứng đóng góp với tần số khoảng 75% (xem bảng sau).

| Cái ↓ Đực → | n (96%) | n-1 (4%) |
|-------------|-------------------------|--------------------------|
| n (25%) | 2n (24%) Bình thường | 2n - 1 (1%) Thể một |
| n-1 (75%) | 2n - 1 (72%) Thể một | 2n - 2 (3%) Thể không |

Trong một số trường hợp khác, sự sai lệch trong phân ly của các nhiễm sắc thể có thể dẫn tới thiếu hoặc thừa nhiều hơn 1 nhiễm sắc thể trong giao tử, những giao tử như vậy khi kết hợp với nhau hoặc kết hợp với các giao tử bình thường của giới khác sẽ tạo nên các cá thể có bộ nhiễm sắc thể $2n+2$ (tetrasoma), $2n+3$ (pentaxomia), . . .

Sự thiếu hoặc thừa một số lẻ nhiễm sắc thể sẽ gây ra nhưng sự biến đổi về kiểu hình. Tế bào thiếu hoặc thừa một số nhiễm sắc thể nhất định sẽ làm mất cân bằng gen trong kiểu di truyền và dẫn đến thay đổi tương quan giữa các chất được tổng hợp cần cho sự sống của cơ thể. Kết quả sẽ làm giảm khả năng sống, làm rối loạn quá trình phát triển bình thường của cơ thể sinh vật.

Phi chính đa bội thể mà ta thường gặp chỉ là những loại thiếu hoặc thừa một hoặc một số ít các nhiễm sắc thể, vì những trường hợp thay đổi một số lượng lớn các nhiễm sắc thể sẽ dẫn tới những sự phá hủy đặc biệt nghiêm trọng đối với cơ thể. Những trường hợp như vậy hoặc không tồn tại hoặc vô sinh. Ví dụ, ruồi giấm nếu mất hoặc thêm vào một nhiễm sắc thể sinh dục sẽ dẫn đến làm mất khả năng sinh sản.

Theo nhiều tác giả cơ chế của sự xuất hiện tam bội thể là do tế bào trứng đơn bội được thụ tinh với tinh trùng lưỡng bội nhiễm sắc thể sinh dục. Cũng có thể tế bào trứng được thụ tinh bởi 2 tinh trùng cùng một lúc. Sự xuất hiện của tứ bội thể là do sự phân chia lần thứ nhất của phân bào giảm nhiễm bị rối loạn, tức là các cặp nhiễm sắc thể sinh dục cùng đi về một tế bào trứng hoặc tinh trùng.

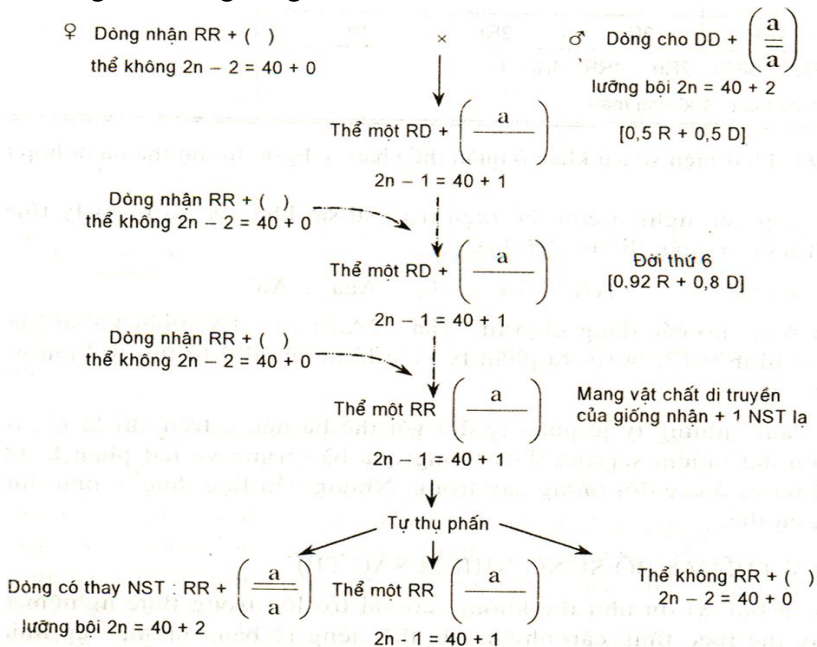
Các thể lệch bội có ý nghĩa quan trọng trong phân tích di truyền, xác định nhóm gen liên kết, trong các thực nghiệm chuyển, thay thế các nhiễm sắc thể, . . . Để triển khai những vấn đề nêu trên ở một đối tượng cây trồng nào đó, ví dụ: Lúa mì $2n = 42$, đã tạo ra được 21 thể không, 21 thể một, 21 thể ba cho lần lượt cho 21 cặp nhiễm sắc thể. Tương tự ở cà độc dược $2n = 24$, đã tạo ra được 12 thể không, 12 thể một, 12 thể ba, . . .

5.3.5. Sự thay thế và bổ sung nhiễm sắc thể

Các thể lệch bội, ví dụ: Thể không có vai trò lớn trong thực nghiệm tạo các dòng được thay thế theo từng cặp nhiễm sắc thể riêng rẽ bằng những cặp nhiễm sắc thể của dạng cho. Vấn đề này có ý nghĩa ứng dụng lớn trong chọn giống, nhằm làm sáng tỏ vai trò của từng nhiễm sắc thể trong việc xác định sự thể hiện của những tính trạng nông học quan trọng như năng suất, khả năng chống chịu sâu bệnh và những đặc điểm giá trị khác nhằm bổ sung những tính trạng giá trị cho giống cây trồng.

Ở lúa mì ($2n = 42$), giống *chanes Spring*, lần đầu tiên đã tạo ra được bộ sưu tập bao gồm 21 dòng thể không, mỗi dòng bị mất một cặp nhiễm sắc thể. Người ta đã sử dụng các dòng này trong những thực nghiệm về thay thế nhiễm sắc thể. Ví dụ, sử dụng dòng thể không ($2n - 2 = 40$) bị khuyết cặp nhiễm sắc thể thứ 6 để tạo ra dòng lưỡng bội bình thường có chứa 40 nhiễm sắc thể cũ (của thể không) cộng với một đôi mới là đôi thứ 6 từ dòng cho chuyên tới ($2n - 2 = 40$). Như vậy vai trò của đôi nhiễm sắc thể này sẽ được thể hiện ở dòng có thay thế nhiễm sắc thể. Cứ làm như vậy ta sẽ xác định được vai trò của cả 21 cặp nhiễm sắc thể ở 21 dòng có thay thế nhiễm sắc thể.

Sơ đồ của thực nghiệm thay thế nhiễm sắc thể được trình bày ở Hình 5.15. Quy trình thực nghiệm được tiến hành theo phương thức lai bảo hoà nhiều đời bằng dòng thể không. Ở các thế hệ đều phải thực hiện các phân tích chi tiết về tế bào học theo từng cá thể để chọn ra dạng cần thiết. Ở các thế hệ, dòng thể một luôn được lai với dòng thể không, đến thế hệ lớn hơn 6 ($7 \div 12$) thu được dòng thể một mang vật chất di truyền của dòng thể không cộng với một nhiễm sắc thể lạ.



Hình 5.15. Sơ đồ thực nghiệm về thay thế nhiễm sắc thể

Cho dòng thể một này tự thụ phấn ta sẽ được dòng có thay thế nhiễm sắc thể. Nó sẽ được khẳng định qua phân tích tế bào.

Bên cạnh việc thay thế nhiễm sắc thể, các thể lệch bội còn có ý nghĩa lớn trong các thực nghiệm bổ sung nhiễm sắc thể vào dạng nhân. Những nhiễm sắc thể bổ sung này thường được chuyển từ các loài, loài phụ lân cận. Thay thế, bổ sung, chuyển đoạn nhiễm sắc thể, . . . là những thực nghiệm rất công phu thuộc dạng công nghệ di truyền tế bào ở sinh vật bậc cao.

5.4. Định luật về dãy biến dị đồng nguồn

Vavilop (1887-1942) trên cơ sở nghiên cứu về tính biến dị di truyền ở các nhóm thực vật khác nhau trong hệ thống phân loại đã phát hiện ra các biến dị song song ở các loài, giống, họ thực vật và ông đã phát biểu một định luật gọi là “dãy biến dị đồng nguồn” trong biến dị di truyền như sau:

1. Các loài (chi), họ gần nhau về di truyền (theo nguồn gốc phát sinh) được đặc trưng bởi các dãy biến dị di truyền theo một nguyên tắc chung là, nếu biết các dạng biến dị ở phạm vi một loài nào đó thì có thể dự đoán được sự tồn tại các dạng song song ở các loài, họ khác. Các loài càng gần nhau (về chủng loại phát sinh) thì càng có sự giống nhau hơn trong dãy biến dị di truyền của chúng.

2. Cả một họ thực vật trọn vẹn, nhìn chung được đặc trưng bởi chu kỳ xác định về các biến dị thấu suốt các loài, các chi trong họ đó.

Chúng ta có thể diễn tả quy luật này theo sơ đồ sau:

| | |
|-----------------------|---------------------------------------|
| $G_1(a, b, c, \dots)$ | $G_{1a_1}, G_{1a_2}, G_{1a_3}, \dots$ |
| $G_2(a, b, c, \dots)$ | $G_{2a_1}, G_{2a_2}, G_{2a_3}, \dots$ |
| $G_3(a, b, c, \dots)$ | $G_{3a_1}, G_{3a_2}, G_{3a_3}, \dots$ |
| ⋮ | ⋮ |
| ⋮ | ⋮ |
| $G_n(a, b, c, \dots)$ | $G_{na_1}, G_{na_2}, G_{na_3}, \dots$ |

Quan niệm này về sau được các nhà sinh vật học làm sáng tỏ hơn vào thế kỷ XX khi mà các nhà chọn giống đã tích lũy được nhiều số liệu về biến dị trên cây trồng, vật nuôi và được làm sáng tỏ nhờ di truyền học phân tử.

Các dãy biến dị tương đồng không chỉ có ở thực vật, động vật bậc cao mà có cả ở nguyên sinh động vật và vi sinh vật.

Quy luật về dãy biến dị đồng nguồn là cơ sở cho việc gây tạo các đột biến nhân tạo và đã được ứng dụng nhiều trong gây đột biến tạo giống mới ở cây trồng.

5.5. Đột biến tự nhiên và đột biến nhân tạo

5.5.1. Đột biến tự nhiên

Đột biến tự nhiên xuất hiện do tác động của các yếu tố vật lý, hoá học, . . . tồn tại trong môi trường sống và do những biến loạn về trao đổi chất trong tế bào.

Nhìn chung, ở các đối tượng sinh vật đột biến tự nhiên xuất hiện với tần số thấp. Ví dụ, ở ngô tần số đột biến tự nhiên của một số gen như: Nội nhũ màu nâu (pr) là $1,1 \times 10^{-5}$, nội nhũ dạng đường (su) là $2,4 \times 10^{-6}$, nội nhũ nhăn (sh) là $1,2 \times 10^{-6}$.

Trong quá trình tiến hoá, ảnh hưởng của các yếu tố trong môi trường sống đã ấn định mức đột biến tự nhiên của các gen là khá đặc trưng đối với quần thể của một loài sinh vật sống trong môi trường đó. Mức độ đột biến tự nhiên của các gen cũng là một khía cạnh biểu hiện tính thích nghi của loài.

Các yếu tố cơ bản ở môi trường làm tăng tần số đột biến tự nhiên ở sinh vật là:

- Tăng nền phóng xạ tự nhiên: Nền phóng xạ tự nhiên tạo nên từ các tia vũ trụ, từ các nguyên tố phóng xạ trong lòng đất, Nguồn phóng xạ này ước khoảng $0,12 \div 0,23$ rad (đơn vị đo phóng xạ) trong một năm. Những hoạt động của con người như: Sử dụng vũ khí hạt nhân, sử dụng năng lượng hạt nhân trong kinh tế-xã hội, các chất thải nông nghiệp có phóng xạ, . . . đã làm tăng nhanh nền phóng xạ tự nhiên. Theo tính toán của các nhà khoa học, trong những năm gần đây, cứ khoảng 20 năm nền phóng xạ tự nhiên tăng lên gấp đôi.

- Tăng sự có mặt trong môi trường sống những hoá chất có khả năng gây đột biến do hoạt động của con người. Ví dụ, như các chất thải công nghiệp, giao thông, thuốc trừ sâu, hóa chất nông nghiệp, chiến tranh hoá học, . . .

Những yếu tố bất thường nêu trên (không phải vốn có của tự nhiên) đã ảnh hưởng trực tiếp tới an ninh di truyền của con người và các sinh vật khác. Có rất nhiều dẫn chứng, trong đó bốn dẫn chứng không thể không kể đến là bom nguyên tử ném xuống Nhật Bản (Hiroshima và Nagasaki năm 1945 trong thế chiến thứ II), vụ rò rỉ tại nhà máy điện nguyên tử Chernobin (Liên Xô cũ, năm 1987), lượng thuốc diệt muỗi cực lớn đã phun xuống xuống toàn cầu, chất độc màu da cam mà Mỹ đã rải xuống Việt Nam trong chiến tranh.

Một số yếu tố khác có thể ảnh hưởng với tần số đột biến, như sự thay đổi đột ngột của nhiệt độ. Ví dụ, nhiều dòng ruồi khi nuôi ở điều kiện 37°C thì tần số đột biến tăng gấp 2 lần so với khi nuôi ở nhiệt độ 17°C . Hạt giống đã bảo quản lâu khi gieo thì sẽ có tần số đột biến tăng hơn so với mới được đưa vào bảo quản.

5.5.2. Đột biến nhân tạo

5.5.2.1. Đột biến phóng xạ

Các tia phóng xạ như tia α , β có năng lượng chiếu xạ không cao, khả năng thâm nhập kém, chúng thường không được dùng trong các thực nghiệm gây đột biến nhân tạo.

Tia γ (phát ra từ nguyên tố đồng vị phóng xạ), tia X hay còn gọi là tia Ronghen (phát ra từ ống Ronghen) là những chất có bản chất điện từ, có khả năng tác động thẳng và tác động gián tiếp, có độ thâm nhập cao.

Hai dạng tia này được sử dụng như là những nguồn chiếu xạ cơ bản trong thực nghiệm.

Những hạt không tích điện như neutron: Hạt neutron có năng lượng công phá rất lớn, dạng phóng xạ này ít được sử dụng vì lý do an toàn kỹ thuật.

Tia cực tím có bước sóng nhỏ hơn 400 nm (phân tử ADN mẫn cảm nhất đối với tia có bước sóng 260 nm) tia này kích thích đám mây điện tử, có thể tạo ra các phân tử có khả năng hoá hợp với phân tử khác (ví dụ, tạo các dimer Thymin) từ đó gây đột biến. Tia cực tím thường gây đột biến ở vi sinh vật.

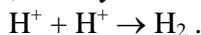
5.5.2.2. Cơ chế tác động của tia phóng xạ

Thâm nhập vào đối tượng bị chiếu, các tia phóng xạ (tia β và Ronghen) tác động đồng thời theo 2 cơ chế: Tác thẳng (trực tiếp) và ion hoá các phân tử khi chúng đi qua.

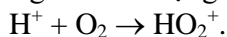
a. Tác động thẳng (thuyết bia): Theo cơ chế này, năng lượng chiếu xạ bắn phá trực tiếp vào các cấu trúc của tế bào, gây ra những tổn thương riêng biệt. Các sợi nhiễm sắc thể (nằm ở trong nhân tế bào) cũng là đối tượng (bia) nhận sự bắn phá phóng xạ. Tùy thuộc vào vị trí cuộn xếp của các sợi nhiễm sắc mà đích sẽ rơi vào những điểm khác nhau theo chiều dài của sợi, gây nên những tổn thương riêng rẽ ở ADN. Những vị trí nào của sợi nhiễm sắc thể mà thể hiện như bia đỡ để trúng đích sẽ bị thương. Theo cơ chế tác động thẳng, những tổn thương trên ADN tỷ lệ với liều lượng chiếu xạ.

b. Tác động gián tiếp (thuyết ion hoá): Đặc điểm của phóng xạ gây lon hoá là khi thâm nhập vào đối tượng bị chiếu, năng lượng va chạm đã tạo ra các gốc tự do có khả năng hoá hợp cao, các gốc này có khả năng tồn tại tương đối ngắn. Các gốc tự do là yếu tố gián tiếp có tác dụng gây đột biến ở ADN.

Ví dụ, phân tử nước trong tế bào bị phân ly phóng xạ theo sơ đồ $H_2O \rightarrow H^+ + OH^-$, các gốc tự do này có thể hoá hợp theo các phản ứng:



Nếu trong môi trường chiếu xạ có nhiều oxy, thì còn có thể xảy ra một số phản ứng dẫn tới lượng H_2O_2 tăng hơn như sau:



Các phân tử H_2O_2 là chất gây độc hại cho tế bào, vì khi phân giải chúng tạo ra oxy nguyên tử có khả năng gây đột biến. Từ đây chúng ta thấy, khi đối tượng chiếu xạ ở trong môi trường có nhiều oxy, tần số đột biến sẽ tăng hơn. Hiện tượng này gọi là *hiệu ứng oxy*.

Để diễn tả năng lượng chiếu xạ người ta đã đưa ra đơn vị liều lượng là Ronghen (r). Một Ronghen là một liều lượng phóng xạ gây nên sự hình thành khoảng 2 triệu đôi điện tử ($2,1 \times 10^6$), khi đi qua 1 cm^3 không khí ở 0°C và áp suất chuẩn. Bên cạnh đó người ta còn sử dụng đơn vị rad-chỉ năng lượng hấp thụ, 1 rad tương đương 1,07 r.

Trong xử lý phóng xạ thang liều lượng chia ra làm 3 mức cơ bản sau:

(1) *Nhẹ* thường chỉ gây hiệu quả kích thích; (2) *tối ưu*-khoảng liều lượng mà ở đó vừa thu được phổ và tần số đột biến lớn, đồng thời tế bào có sức sống đảm bảo; (3) *gây chết*-liều lượng này hầu như làm cho các tế bào mất sức sống.

Trong một cơ thể đa bào các đối tượng tế bào chiếu xạ có mức độ mẫn cảm với phóng xạ khác nhau, ví dụ: Các tế bào sinh sản, các hợp tử, phôi non, . . . mẫn cảm hơn nhiều so với các mô soma khác. Phóng xạ có thể gây đột biến khi xử lý vào tất cả các giai đoạn của vòng đời tế bào. Tuy nhiên, tác động của phóng xạ vào giai đoạn S và G₂ cho tần số đột biến cao hơn so với tác động vào giai đoạn G₁ (vì những tổn thương ADN ở giai đoạn G₁ có cơ hội sửa chữa cao hơn).

Bên cạnh việc gây ra các đột biến gen, phóng xạ còn gây ra nhiều các đột biến lớn ở cấu trúc nhiễm sắc thể như: Mất đoạn, đảo đoạn, chuyển đoạn. Phóng xạ còn gây ra nhiều đột biến bán gây chết, gây chết.

Trong thực nghiệm có thể quan sát thấy mối quan hệ tuyến tính giữa tần số đột biến (xác định theo các đột biến gen hoặc theo các đứt gãy nhiễm sắc thể) và liều lượng, tương ứng theo phương trình $y = k + \alpha d$. Trong đó y là tần số đột biến quan sát được; k là tần số đột biến tự nhiên; d là liều lượng phóng xạ (r) và a là hệ số diễn tả mức độ mẫn cảm với phóng xạ của đối tượng bị chiếu xạ.

Bên cạnh việc gây tạo các đột biến gen, phóng xạ thường sử dụng để tạo các mất đoạn, chuyển đoạn nhiễm sắc thể.

5.5.2.3. Đột biến hoá học

Người ta đã phân lập ra các nhóm hoá chất chính gây đột biến như sau:

♦. *Nhóm hợp chất alkin hoá*: Những chất này khi tan trong dung dịch hình thành nên các gốc tự do gọi là các alkin (như methyl, ethyl, . . .) có khả năng hoá hợp rất cao. Hiệu quả gây đột biến của chúng là ở chỗ, khi thấm vào tế bào, các gốc alkin thâm nhập vào sợi nhiễm sắc thể, gây ra quá trình alkin hoá ADN chủ yếu ở pha S của chu kỳ tế bào, từ đó gây ra các đột biến.

Nhóm hợp chất alkin thường cho hiệu quả đột biến cao, chúng được sử dụng khá rộng rãi cho nhiều đối tượng cây trồng. Ví dụ, các chất đột biến thường như: Ethylenimin (EN), ethylmethalsulfonat (EMS), dimethylsulfonat (DMS), . . . Các chất siêu đột biến như: N-nitroso N-methylthiore (NMU), N-nitroso-N-dimethylthiore (NDMU), . . .

♦. *Nhóm hợp chất oxy hoá khử*: Các chất này có khả năng oxy hoá khử amin trong gốc bazơ của ADN, từ đó gây nên sự biến đổi về thành phần bazơ trong ADN và gây ra đột biến. Nhóm này bao gồm các chất như: HNO₂, H₂O₂, axit vô cơ chứa nitơ, các aldehyd, một số muối kim loại nặng, . . .

♦. *Các chất đồng đẳng bazơ*: Ví dụ, như 5-bromuraxin, 2-aminopurin, cafein, . . . Ngoài việc tác dụng làm thay thế các gốc bazơ, các chất thuộc nhóm này còn có khả năng kìm hãm sự tổng hợp ADN.

♦ *Các thuốc nhuộm kiềm tính* (ví dụ, acridin, . . .).

Cơ chế tác động gây đột biến của 3 nhóm chất này đã trình bày ở phần những nguyên nhân và cơ chế gây nên các đột biến gen.

Trong các thực nghiệm gây đột biến ở thực vật bậc cao người ta thường sử dụng rộng rãi các chất alkin. Các chất siêu đột biến có nồng độ sử dụng thấp hơn các chất đột biến thường. Thang nồng độ cũng được phân ra các mức: Nhẹ, tối ưu, gây chết (ví dụ, ở nhiều loại cây trồng, để xử lý hạt người ta thường sử dụng nồng độ 0,2÷0,5% đối với các chất đột biến thường và 0,01÷0.03% đối với các chất siêu đột biến).

Sau xử lý, các chất gây đột biến có thể tồn đọng ở nhiều bộ phận của tế bào, chúng có thể tác động vào các pha S của một số chu kỳ tế bào, hiện tượng này gọi là *hiệu quả tác động trường diễn của hoá chất gây đột biến*.

Các hoá gây đột biến khác nhau có thể gây ra các đột biến rất đa dạng. So với phóng xạ, các hoá chất thường gây ra nhiều đột biến gen với tần số cao hơn và phổ rộng hơn, còn các đột biến lớn về cấu trúc nhiễm sắc thể lại thu được ít hơn. Các chất hoá học thường có tác dụng nhẹ hơn, ít gây mất sức sống của tế bào hơn so với xử lý phóng xạ.

Chương 6

DI TRUYỀN HỌC QUẦN THỂ

Nghiên cứu tính di truyền và biến dị của sinh vật không thể chỉ giới hạn với các nghiên cứu ở mức độ phân tử, tế bào và cá thể, bởi lẽ nhiều quy luật của tự nhiên chỉ có thể khám phá khi có được một đám đông trong nghiên cứu (số mẫu hay số cá thể nghiên cứu lớn). Các nghiên cứu thực nghiệm trên đám đông các cá thể được gọi là quần thể. Những nghiên cứu về các quy luật di truyền trong quần thể sinh vật được gọi là di truyền học quần thể. Di truyền học quần thể đã sớm trở thành một bộ môn trong di truyền học mà ở đó người ta đi sâu vào nghiên cứu cấu trúc di truyền của quần thể để nắm vững và giúp cho việc dự đoán những biến đổi di truyền dẫn đến những biến đổi kiểu hình. Đến nay các nhà phân loại học đã nghiên cứu và phân loại được hàng triệu loài của một số ngành sinh vật mà quá trình tiến hóa đã tạo nên chúng. Các loài sinh vật đã tồn tại và phát triển trong tự nhiên tuân theo các quy luật của tự nhiên.

Năm 1907, Johanson đã đưa ra danh từ quần thể (population). Theo ông, quần thể là một tập hợp thực vật, động vật của cùng một loài, cùng sống trong một vùng địa lý nhất định, sinh sản độc lập với các quần thể khác cùng loài. Các cá thể trong cùng quần thể có thể tự do ghép đôi giao phối với nhau trong sinh sản. Trong tự nhiên, các quần thể khác nhau của cùng một loài, nhìn bề ngoài tưởng rằng chúng giống nhau-đồng nhất với nhau, nhưng khi đi sâu vào nghiên cứu chúng ta sẽ phát hiện ra những sự khác nhau giữa chúng. Trong quần thể cũng có những yếu tố ổn định, cũng có những yếu tố thay đổi-biến động. Trong điều kiện tự nhiên cũng như trong điều kiện nhân tạo, các quần thể luôn có xu hướng tách ra để tạo nên các quần thể mới phù hợp với điều kiện ngoại cảnh của chúng. Ví dụ, Các đàn ong một khi số lượng cá thể đã đông đến một mức độ nào đó thì chúng sẽ sinh ra ong chúa mới để tách đàn mới. Tuy nhiên, trong tự nhiên cũng có những giới hạn nhất định về điều kiện địa lý, khí hậu, không gian hạn chế hoặc bắt buộc quần thể không thể tách nhau ra hay di chuyển đi nơi khác. Tùy thuộc vào những giới hạn mà mức độ ảnh hưởng của chúng đến cấu trúc di truyền của quần thể có thể khác nhau.

6.1. Một số khái niệm về quần thể và quần thể Mendel

Khái niệm quần thể được sử dụng với những ý nghĩa khác nhau trong các lĩnh vực khác nhau của sinh vật học. Ví dụ, các nhà sinh thái học thường đề cập đến quần thể các sinh vật nổi và đưa ra khái niệm quần thể bao gồm nhiều loài khác nhau. Các nhà ngư loại học lại sử dụng khái niệm quần thể để nói về các loài thủy sản của một thủy vực xác định. Các nhà nhân chủng học coi toàn bộ loài người trên trái đất là một quần thể. Tuy nhiên, cũng có thể nói về quần thể người trong một vùng địa lý xác định, hay dân cư của một nước hay một vùng.

Trên quan điểm di truyền học thì quần thể là một tập hợp các cá thể của một loài, sống trong một phạm vi địa lý xác định, không có sự đồng

nhất về kiểu hình và kiểu gen, có thể tự do ghép đôi với nhau trong sinh sản. Giới hạn về loài ở đây có ý nghĩa rất lớn, vì về mặt di truyền học thì sự di truyền các đặc điểm giữa các thế hệ cho nhau là yếu tố tiên quyết, nó chỉ có thể thực hiện được qua sinh sản và chỉ có các cá thể cùng loài mới có thể ghép đôi trong sinh sản để tạo nên các thế hệ sau.

Trong giới sinh vật tồn tại hai phương thức sinh sản, đó là sinh sản vô tính và sinh sản hữu tính. Sinh sản vô tính thuộc về nhóm sinh vật chưa có sự phân biệt về giới tính, chưa có sự thụ tinh và không có sự ghép đôi giao phối, vì vậy chúng tạo ra các thế hệ sau giống hệt các thế hệ trước. Nhóm sinh vật này và kiểu sinh sản này sẽ chưa được đề cập trong phần di truyền học quần thể này.

Sinh sản hữu tính thuộc về nhóm sinh vật đã có sự phân biệt rõ ràng về giới tính, nhóm sinh vật đã có lưỡng hình sinh dục, các cá thể của cùng một loài có thể tự do ghép đôi với nhau trong sinh sản, quần thể như vậy được gọi là quần thể sinh sản tự do (panmixia) hay quần thể ngẫu phối. Trong quần thể sinh sản tự do mọi cá thể ở mọi thế hệ đều có xác suất ghép đôi với các cá thể khác giới khác như nhau, không có bất kỳ một sự phân biệt hay một sự can thiệp nào của con người.

Các quy luật di truyền quan trọng nhất của sinh vật đã được G. Mendel phát hiện trong giai đoạn 1856-1864. Các phát hiện của Mendel đó ảnh hưởng có tính quyết định đến các quá trình nghiên cứu về sự di truyền của sinh vật. Vì vậy, khi nói đến di truyền quần thể không thể không đề cập đến quần thể theo kiểu Mendel. Khái niệm quần thể Mendel (trước hết là một quần thể ngẫu phối) được sử dụng để chỉ tập hợp một nhóm các thể của một loài, mà trong đó mỗi cá thể có tiềm năng giao phối với các cá thể khác giới khác, vì vậy mà chúng có khả năng tham gia vào quá trình sinh sản và tạo ra thế hệ sau của quần thể. Tiềm năng sinh sản (fitness) của một cá thể hay của một kiểu gen là tiêu chuẩn chủ yếu để xác định cá thể này hay cá thể kia có là thành viên của quần thể Mendel hay không. Mức độ thành công trong sinh sản của một cá thể hay một kiểu gen khác nhau trong quần thể có ảnh hưởng rất lớn đến sự thay đổi hay không thay đổi cấu trúc di truyền của một quần thể.

Như vậy, trong chương di truyền học quần thể này, chúng ta chỉ đề cập đến các quần thể sinh vật sinh sản hữu tính, có sự phân biệt giới tính rõ ràng và sinh sản bằng hình thức giao phối chéo.

6.2. Vốn gen của quần thể

Khi đề cập đến các cá thể sinh sản hữu tính, giao phối chéo thì vấn đề người ta quan tâm là cái gì mang vật liệu di truyền từ thế hệ trước cho thế hệ sau. Nói cách khác cái gì sẽ chứa các vật liệu di truyền của thế hệ trước vào cấu trúc di truyền ở thế hệ sau của quần thể. Cái đó chính là vốn gen của cá thể, vốn gen của các cá thể hay vốn gen của quần thể.

Đối với sinh vật sinh sản hữu tính các giao tử là đại diện duy nhất cho cá thể hay quần thể trong việc mang vật liệu di truyền của thế hệ này bàn giao cho thế hệ khác, đó là *vốn gen* của chúng. Vậy nên, *vốn gen* là

tổng số các giao tử tham gia vào các quá trình sinh sản của quần thể. Các giao tử đực và giao tử cái trong sinh sản hữu tính giao phối chéo chúng có thể kết hợp một cách ngẫu nhiên với nhau để cho ra thế hệ sau. Như vậy tần số của một gen ở thế hệ sau phụ thuộc vào tần số của gen đó trong các giao tử ở thế hệ trước theo các quy luật di truyền mà Mendel đã phát hiện.

6.3. Một số đặc trưng của quần thể sinh sản tự do

Trong cơ sở di truyền-di truyền đại cương chúng ta đã biết, đặc trưng quan trọng nhất của của các gen là quy luật hoạt động của chúng. Với các tính trạng chất lượng, các gen hoạt động theo quy luật trội-lặn; với các tính trạng số lượng, các gen hoạt động theo quy luật cộng gộp-tích lũy. Để nghiên cứu cấu trúc di truyền của các quần thể, đặc trưng quan trọng nhất của chúng là tần số alen (gen) và tần số của các kiểu gen.

Một alen (gen) có thể có tần số khác nhau trong các quần thể khác nhau, còn giữa các thế hệ khác nhau của một quần thể thì tần số của các gen sẽ như thế nào? Quy luật về mối quan hệ tần số của một gen giữa các thế hệ và mối quan hệ giữa gen và kiểu gen đã được nhiều nhà nghiên cứu quan tâm và đã phát hiện ra những quy luật rất giá trị.

Năm 1908, hai nhà nghiên cứu là Hardy-một nhà toán học người Đức và Weinberg-một bác sĩ người Anh đã độc lập nghiên cứu trên các đối tượng khác nhau và đã đều đi đến một nhận xét chung là: *“Trong một quần thể lớn, sinh sản tự do, không có áp lực của chọn lọc, di cư và đột biến thì tần số gen và tần số kiểu gen không thay đổi từ thế hệ này qua thế hệ khác, tần số của các gen có thể tính được trên cơ sở tần số của các kiểu gen”*. Về sau nhận xét này được đặt tên là *định luật Hardy-Weinberg* hay còn gọi là định luật về sự cân bằng di truyền của quần thể. Một quần thể bất kỳ nào đạt các điều kiện của định luật Hardy-Weinberg thì có nghĩa là nó đang ở trạng thái cân bằng di truyền hay trạng thái cân bằng Hardy-Weinberg.

Để đơn giản trong việc xem xét cấu trúc di truyền của một quần thể, trước hết chúng ta xem xét quần thể ở một locus gen với 2 alen và có 3 kiểu gen, với số lượng cá thể là N , trong điều kiện đó quần thể sẽ có các chỉ số đặc trưng như sau:

◆. Tần số gen (alen):

- *Tần số gen (alen) tuyệt đối*: Là số lượng của một alen (gen) có trong quần thể, ký hiệu P cho gen trội và Q cho gen lặn. Một cá thể hay kiểu gen sẽ có 2 alen, kiểu gen đồng hợp trội sẽ cho 2 alen trội, kiểu gen đồng hợp lặn cho 2 alen lặn, kiểu gen dị hợp thể sẽ cho 1 alen trội và 1 alen lặn. Tổng số alen có thể có trong quần thể là $2N$. Như vậy $P + Q = 2N$.

- *Tần số gen (alen) tương đối*: Là tỷ lệ của một alen có trong quần thể so với tổng số alen có thể có trong quần thể đó. Ký hiệu p cho alen trội, là tỷ lệ các alen trội số với tổng số alen có trong quần thể ($2N$) và q cho alen lặn, là tỷ lệ các alen lặn số với tổng số alen có trong quần thể ($2N$).

Như vậy:

$$p = \frac{Q}{2N}$$

$$q = \frac{P}{2N}$$

Như vậy $p + q = 1$

♦ Tần số kiểu gen:

- *Tần số tuyệt đối của kiểu gen*: Là số lượng cá thể của một kiểu gen nào đó có trong quần thể. Ký hiệu là D cho kiểu gen đồng hợp trội; Là số cá thể đồng hợp trội có trong quần thể, R cho kiểu gen đồng hợp lặn: Là số cá thể đồng hợp lặn có trong quần thể và H cho kiểu gen dị hợp thể: Là số cá thể đồng hợp dị hợp thể có trong quần thể; Như vậy $D + H + R = N$

- *Tần số tương đối của kiểu gen*: Là tỷ lệ của số cá thể chứa một kiểu gen nào đó so với tổng số cá thể của quần thể. Ký hiệu là d cho kiểu gen đồng hợp trội: Là tỷ lệ của số cá thể đồng hợp trội so với tổng số cá thể có trong quần thể (N), r cho kiểu gen đồng hợp lặn: Là tỷ lệ của số cá thể đồng dị hợp thể so với tổng số cá thể có trong quần thể (N) và h cho kiểu gen dị hợp thể: Là tỷ lệ của số cá thể đồng hợp lặn so với tổng số cá thể có trong quần thể (N).

$$d = \frac{D}{N}$$

$$h = \frac{H}{N}$$

$$r = \frac{R}{N}$$

Như vậy $d + h + r = 1$

Trên cơ sở tần số tuyệt đối của kiểu gen và gen ta có:

$$P = 2D + H$$

$$Q = 2R + H$$

Trên cơ sở tần số tương đối của gen và kiểu gen ta có:

$$p = d + 0,5h$$

$$q = r + 0,5h$$

Ví dụ, giả sử ta có một quần thể, tại một locus gen có 2 alen A và a, quần thể có 3 kiểu gen với số lượng như sau: AA = 70 cá thể, Aa = 100 cá thể và aa = 30 cá thể. Hãy xác định cấu trúc di truyền của quần thể thông qua tần số gen (alen) và tần số kiểu gen.

▪ *Tần số kiểu gen*:

- Tần số tuyệt đối của các kiểu gen:

$$D = 70, H = 100 \quad \text{và} \quad R = 30$$

- Tần số tương đối của các kiểu gen:

$$d = 70/200 = 0,35$$

$$h = 100/200 = 0,5$$

$$r = 30/200 = 0,15$$

▪ *Tần số gen*:

- Tần số tuyệt đối của các gen (alen):

$$P = 2 \times 70 + 100 = 240$$

$$Q = 2 \times 30 + 100 = 160$$

- Tần số tương đối của các gen (alen):

$$p = 240/400 = 0,35 + 0,5 (0,5) = 0,60$$

$$q = 160/400 = 0,15 + 0,5 (0,5) = 0,40$$

Trên cơ sở các thông số vừa tính được ta thấy:

$$p + q = 1 \dots\dots\dots (1.1)$$

$$d + h + r = 1$$

Ta có thể thấy:

$$d = p \times p = p^2$$

$$h = 2(p \times q) = 2pq$$

$$r = q \times q = q^2$$

mà $d + h + r = 1$, có nghĩa là $p^2 + 2pq + q^2 = 1 \dots\dots\dots (1.2)$

Do vậy, một quần thể khi đạt trạng thái cân bằng di truyền (cân bằng Hardy-Weinberg) thì có:

$$p + q = 1 \text{ và } p^2 + 2pq + q^2 = 1$$

Đây là điều kiện để giúp chúng ta xác định/kiểm tra quần thể có ở trạng thái cân bằng di truyền hay không.

Tương tự như khi chúng ta nghiên cứu các quy luật của tự nhiên, ví dụ như các quy luật di truyền của Mendel, để cho định luật Hardy-Weinberg đúng thì cần có một số điều kiện như sau:

- Sự phân ly của các gen (nhiễm sắc thể) vào các giao tử trong phân bào giảm nhiễm phải bình thường,
- Số lượng các giao tử đực, giao tử cái sinh ra phải bằng nhau và có sức sống, khả năng hữu thụ như nhau,
- Các giao tử đực và giao tử cái phải kết hợp hết với nhau,
- Sức sống của các hợp tử, các cá thể (kiểu gen) phải như nhau.

Để chứng minh định luật H-W chúng ta cần thực hiện các bước như sau:

| Các bước | Rút ra từ | Các điều kiện |
|----------|---|--|
| 1. 1a. | Tần số gen ở bố mẹ | - Các nhiễm sắc thể phân ly bình thường trong quá trình phát sinh giao tử, - Bố mẹ có khả năng sinh sản như nhau, |
| | 1b. | Tần số gen của các giao tử - Các giao tử hữu thụ như nhau, - Quần thể lớn. |
| 2. | Tần số gen ở các giao tử tạo thành hợp tử | - Quần thể phải sinh sản tự do. |
| 3. | Tần số gen của hợp tử | - Tần số gen ở nhóm bố và nhóm mẹ phải như nhau. |
| 4. | Tần số gen ở đời con Tần số kiểu gen ở đời con | - Khả năng sống của các con phải như nhau. |

Cụ thể của các bước trên được thực hiện như sau:

1. Tần số gen của bố mẹ đến tần số gen của hợp tử

Giả sử chúng ta xem xét một quần thể bố mẹ tại một locut gen có 2 alen A và a, với 3 kiểu gen AA, Aa và aa, ở thế hệ xuất phát quần thể có các tần số sau:

| | Gen | | Kiểu gen | | |
|--------|-----|-----|----------|----|----|
| | A | a | AA | Aa | aa |
| Tần số | p | q | D | H | R |

Trong quá trình phát sinh giao tử, các loại kiểu gen của bố mẹ đó phát sinh ra các loại giao tử: AA cho ra giao tử A, aa cho ra giao tử a và Aa cho ra giao tử A và a. Như vậy, tổng cộng các cá thể bố mẹ cho ra 2 loại giao tử là A và a.

Giả sử khả năng sinh sản của mọi cá thể bố mẹ trong quần thể là như nhau, khi đó tần số của giao tử A là:

$$p = [2(AA) + 1/2(Aa)] / 2N = (D + 1/2H) / 2N$$

Tần số của giao tử a là:

$$q = [2(aa) + 1/2(Aa)] / 2N = (R + 1/2H) / 2N$$

Từ đó chúng ta có thể thấy, tần số gen của toàn bộ các giao tử được sinh ra sẽ đúng bằng (giống) tần số của các gen ở quần thể bố mẹ. Do vậy, tần số gen trong các hợp tử cũng sẽ không thay đổi, nếu các giao tử có khả năng hữu thụ như nhau, kết hợp hết với nhau và các hợp tử tạo ra thuộc quần thể lớn.

2. Từ tần số gen của các giao tử đến tần số gen của hợp tử

Ghép đôi giao phối (sinh sản tự do) giữa các giao tử cũng tương tự như phối hợp ngẫu nhiên (ngẫu phối) giữa các giao tử, tần số kiểu gen của các hợp tử là tích của các tần số gen của các giao tử tạo nên hợp tử.

Giả sử tất cả các tinh trùng chứa alen A hoặc chứa alen a kết hợp hết với các trứng chứa alen A hoặc alen a để tạo nên các hợp tử, khi đó tần số kiểu gen của hợp tử sẽ là:

| | Kiểu gen của các hợp tử | | |
|--------|-------------------------|----------------------|---------------------|
| | AA | 2Aa | aa |
| Tần số | $p \cdot p = p^2$ | $2(p \cdot q) = 2pq$ | $(q \cdot q) = q^2$ |

Như vậy tần số của các kiểu gen là:

$$AA = p^2 \quad Aa = 2pq \quad \text{và} \quad aa = q^2$$

3. Từ các hợp tử đến quần thể trưởng thành

Các tần số của các hợp tử như trên là các tần số theo quần thể Hardy-Weinberg. Tuy nhiên, đó chưa phải là bước cuối cùng, vì các tần số đó sẽ không có thực nếu khả năng sống của các hợp tử và của các cá thể cho đến lúc trưởng thành để có khả năng sinh ra thế hệ kế tiếp là không như nhau. Bất kỳ một sự khác nhau nào về sức sống hay sự tồn tại của bất kỳ một kiểu hợp tử nào cũng sẽ làm cho tần số gen và kiểu gen ở thế hệ sau thay đổi-không còn giống như thế hệ trước.

4. Từ tần số kiểu gen đến tần số gen của thế hệ sau

Giả sử các kiểu gen trong thế hệ sau đều có khả năng tồn tại như nhau cho đến khi trưởng thành để lại trở thành bố mẹ (có khả năng sinh sản ra thế hệ kế tiếp). Theo phương trình điều kiện (1.1) của định luật Hardy-Weinberg thì tần số của:

Alen A sẽ là: $p^2 + 1/2(2pq) = p(p + q) = p$ tương tự như ở thế hệ xuất phát (bố mẹ).

Alen a sẽ là: $q^2 + 1/2(2pq) = q(p + q) = q$ tương tự như ở thể hệ xuất phát (bố mẹ).

Kết quả này cho thấy tần số gen cũng không thay đổi từ thế trước sang thế hệ sau.

Còn hai vấn đề nữa của định luật Hardy-Weinberg về tần số kiểu gen:

- *Vấn đề thứ nhất*: Vì tần số gen như nhau ở thế hệ trước và thế hệ sau, nên mối quan hệ giữa tần số gen và tần số kiểu gen áp dụng cho mọi thế hệ là như trong bảng sau:

| Các giao tử của mẹ và tần số của chúng | | | |
|--|-------|-----------------------------|-----------------------------|
| | | A (p) | a (q) |
| Các giao tử của bố và tần số của chúng | A (p) | AA (p x p) = p ² | Aa (p x q) = pq |
| | a (q) | Aa (p x q) = pq | aa (q x q) = q ² |

- *Vấn đề thứ hai*: Tần số của các kiểu gen ở các thế hệ sau chỉ phụ thuộc vào tần số gen (vốn gen) của thế hệ trước, không phụ thuộc vào tần số của các kiểu gen. Điều này giống như chúng ta đã chứng minh ở bước 1 trên đây, tần số của các giao tử bằng tần số gen (vốn gen) của bố mẹ, không phụ thuộc vào tần số kiểu gen của bố mẹ.

Chúng ta có thể kiểm định định luật Hardy-Weinberg về khía cạnh tần số kiểu gen như sau:

Giả sử tại một locut gen của các cá thể trong một quần thể có 2 alen và quần thể đó sẽ có 3 kiểu gen, tần số của chúng như sau:

| | Gen (alen) | | Kiểu gen | | |
|--------|------------|---|----------|----|----|
| | A | a | AA | Aa | aa |
| Tần số | p | q | D | H | R |

Khi các cá thể (kiểu gen) trong quần thể ghép đôi giao phối ngẫu nhiên sẽ có 9 khả năng kết hợp xảy ra như sau:

| | | Nhóm mẹ ↓ | | |
|-----------|------|----------------|----------------|----------------|
| | | AA | Aa | aa |
| | | D | H | R |
| Nhóm bố → | AA D | D ² | DH | DR |
| | Aa H | DH | H ² | HR |
| | aa R | DR | HR | R ² |

Ta có thể chuyển 9 khả năng kết hợp trên sang dạng sau đây:

| Kiểu ghép đôi của bố mẹ | Tổng tần số ở con | Kiểu gen và tần số ở con | | |
|-------------------------|-------------------|--------------------------|--------------------|-----------------------|
| | | AA | Aa | aa |
| AA x AA | D ² | D ² | - | - |
| AA x Aa | 2DH | DH | DH | - |
| AA x aa | 2DR | - | 2DR | - |
| Aa x Aa | H ² | 1/2H ² | 1/2H ² | 1/2H ² |
| Aa x aa | 2HR | - | HR | HR |
| aa x aa | R ² | - | - | R ² |
| Tổng | | (D+1/2 H) ² | 2(D+1/2H) (R+1/2H) | (R+1/2H) ² |
| | | p ² | 2pq | q ² |

Như vậy, kết quả xem xét về khía cạnh kiểu gen đó cho thấy, tần số kiểu gen của thế hệ sau (con) không thay đổi và bằng tần số kiểu gen ở thế hệ trước (bố mẹ).

Chúng ta có thể kiểm tra một quần thể ở trạng thái cân bằng di truyền hay không ở trạng thái cân bằng di truyền bằng một số phương pháp khác nhau. Để đơn giản chúng ta hãy xem xét quần thể với một locus gen, 2 alen và 3 kiểu gen. Trong thực tế người ta sẽ xác định được các kiểu gen và tần số của chúng trong quần thể-tần số thực tế. Dựa trên cơ sở định luật Hardy-Weinberg (lý thuyết) chúng ta có thể tính được tần số của các gen (alen) và tần số kiểu gen của quần thể-tần số lý thuyết. Dựa trên cơ sở hai loại tần số thực tế và lý thuyết đã thu được, chúng ta sử dụng các phương pháp kiểm định về sự phù hợp giữa thực tế và lý thuyết (theo kiểm định giả thuyết H_0 và H_1). Nếu có sự phù hợp giữa thực tế và lý thuyết, có nghĩa là thực tế đúng như lý thuyết và ngược lại nếu không có sự phù hợp giữa thực tế và lý thuyết, có nghĩa là thực tế không đúng như lý thuyết.

Phương pháp kiểm định thường sử dụng là phương pháp χ^2 (khi bình phương).

Ví dụ, trong một lần kiểm tra nhóm máu MN ở người Ireland người ta đã thu được các kết quả sau:

| MM | MN | NN | N | M | Tổng |
|-------|-------|-------|--------|--------|------|
| 233 | 385 | 129 | 899 | 1997 | 747 |
| 0,312 | 0,515 | 0,173 | 0,5696 | 0,4304 | 1,00 |

Từ các số liệu thực tế trên, dựa vào định luật Hardy-Weinberg ta có thể tính các tần số kiểu gen lý thuyết của quần thể như sau:

$$MM = (0,5696)^2 \times 747 = 242,36$$

$$NN = (0,4304)^2 \times 747 = 138,38$$

$$MN = 2 (0,5696) (0,4304) = 366,26$$

Thực hiện phép kiểm định χ^2 chúng ta sẽ có kết quả:

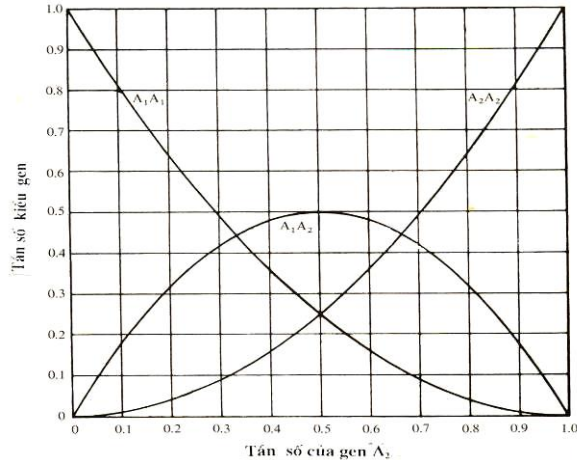
| | Kiểu gen | | |
|------------------------------|----------|--------|--------|
| | MM | MN | NN |
| Tần số thực tế | 233 | 385 | 129 |
| Tần số lý thuyết | 242,36 | 366,26 | 138,38 |
| Tổng giá trị $\chi^2 = 1,96$ | | | |

Với định luật Hardy-Weinberg chúng ta thấy có 3 giá trị χ^2 thành phần, vì vậy khi tra cứu giá trị χ^2 trong bảng chúng ta lấy giá trị với $\alpha = 0,05$ và số bậc tự do $n - 1 = 2$, chúng ta sẽ có giá trị $\chi^2 = 5,99$. Như vậy giá trị χ^2 thực tế (1,96) nhỏ hơn giá trị χ^2 lý thuyết (5,99), có nghĩa là thực tế và lý thuyết phù hợp với nhau-quần thể người Ireland đó có các nhóm máu ở trạng thái cân bằng di truyền/cân bằng Hardy-Weinberg.

Một phương pháp thứ hai cũng được dùng để kiểm tra trạng thái cân bằng di truyền của quần thể, đó là dựa vào tần số tương đối của các kiểu gen, nếu quần thể có $dr = h^2$ thì quần thể đó ở trạng thái cân bằng di truyền và ngược lại.

Động thái về mối liên hệ giữa các tần số gen, tần số kiểu gen trong một quần thể khi xem xét tại một locus với 2 alen và 3 kiểu gen được thể hiện trên sơ đồ Hình 6.1.

Với động thái của các kiểu gen trong một quần thể khi xem xét tại một locus gen với 2 alen A_1 và A_2 , chúng ta thấy:



Hình 6.1. Mối quan hệ giữa tần số kiểu gen và tần số gen đối với 2 alen tại một locus trong quần thể Hardy-Weinberg

- Khi quần thể đạt ở vị trí đỉnh của trục tung bên trái thì tần số của A_1 là $p = 1$, thì tần số của A_2 là $q = 0$. Lúc đó, A_1 được cố định, A_2 bị loại bỏ, quần thể chỉ còn toàn là các cá thể có kiểu gen A_1A_1 , nói cách khác quần thể đã trở thành một dòng thuần (A_1A_1).

- Khi quần thể đạt ở vị trí đỉnh của trục tung bên phải thì tần số của A_2 là $q = 1$, thì tần số của A_1 là $p = 0$. Lúc đó, A_2 được cố định, A_1 bị loại bỏ, quần thể chỉ còn toàn là các cá thể có kiểu gen A_2A_2 , nói cách khác quần thể đã trở thành một dòng thuần (A_2A_2).

Khi quần thể nằm ở vùng trung tâm, khoảng giữa của 3 điểm giao nhau giữa A_1A_1 với A_1A_2 , A_2A_2 với sự có mặt đầy đủ cả 3 kiểu gen A_1A_2 , A_1A_1 với A_2A_2 thì quần thể sẽ nhanh chóng lập lại trạng thái cân bằng Hardy-Weinberg-cân bằng di truyền.

6.4. Quy luật ổn định hóa

Khi một quần thể không ở trạng thái cân bằng di truyền, trong điều kiện sinh sản tự do, trạng thái cân bằng di truyền có thể được thiết lập ngay sau một thế hệ, nếu quần thể có đủ các kiểu gen cần có. Tần số kiểu gen của quần thể thay đổi, còn tần số gen được giữ nguyên. Ví dụ, một quần thể có cấu trúc: 0,1 (AA) + 0,4 (Aa) + 0,5 (aa), không ở trạng thái cân bằng di truyền.

Tần số tương đối của alen A là:

$$p = d + 1/2h = 0,1 + 1/2(0,4) = 0,3$$

Tần số tương đối của alen a là:

$$q = r + 1/2h = 0,5 + 1/2(0,4) = 0,7 \text{ hoặc } q = 1 - p = 1 - 0,3 = 0,7$$

Trong điều kiện sinh sản tự do, với quần thể bố mẹ như vậy sẽ cho ra quần thể con (thế hệ sau) có cấu trúc di truyền:

| | | | |
|---------|------|-----------|-----------|
| Đực↓ | Cái→ | A (0,3) | a (0,7) |
| A (0,3) | | AA (0,09) | Aa (0,21) |
| a (0,7) | | Aa (0,21) | aa (0,49) |

Với các tần số gen của các kiểu gen trong quần thể con/thế hệ sau như vậy chúng ta có $dr = h^2$, $(0,09) (0,49) = (0,21)^2$, quần thể đạt trạng thái cân bằng di truyền. Như vậy có nghĩa là quần thể chỉ mất có một thế hệ để ổn định trở lại và đạt trạng thái cân bằng di truyền.

6.5. Tính tần số gen và kiểu gen trong quần thể

Trên cơ sở định luật Hardy-Weinberg và trên cơ sở sự di truyền của các gen nằm trên các nhiễm sắc thể, các quy luật di truyền Mendel, chúng ta có thể tính được tần số gen và kiểu gen trong quần thể ở một số trường hợp sau:

6.5.1. Khi các gen điều khiển tính trạng nằm trên nhiễm sắc thể thường

Ví dụ, một người nuôi cá đã phát hiện đàn cá nuôi trong ao một số cá màu vàng và màu polomino, tính trạng màu sắc của cá được điều khiển bởi gen G và gen G', qua kiểm tra đã thu được:

| Kiểu hình | Kiểu gen | Số lượng |
|-------------------|----------|----------|
| Màu bình thường | GG | 360 |
| Màu vàng (golden) | G'G' | 160 |
| Màu polomino | GG' | 480 |
| | Tổng số | 1.000 |

Tính tần số của gen G và G' trong quần thể cá.

Tần số của alen G là:

$$f(G) = [2(360) + 480]/2(1.000) = 0,60$$

Tần số của alen G' là:

$$f(G') = [2(160) + 480]/2(1.000) = 0,40$$

$$\text{hoặc } = 1 - f(G) = 1 - 0,60 = 0,40$$

6.5.2. Khi các gen điều khiển tính trạng nằm trên nhiễm sắc thể thường và hoạt động trội hoàn toàn

Ví dụ, màu da của cá chép được điều khiển bởi gen B và b, một người nuôi cá muốn biết tần số của gen điều khiển màu da của cá chép trong ao đã tiến hành kiểm tra và thu được kết quả sau:

| Kiểu hình | Kiểu gen | Số lượng |
|-----------------|----------|----------|
| Màu bình thường | BB và Bb | 910 |
| Màu xanh | bb | 90 |
| | Tổng số | 1.000 |

Hãy tính tần số gen và tần số kiểu gen của quần thể cá trên.

Tần số của gen b là:

$$f(b) = \sqrt{(90)/1.000} = \sqrt{0,09} = 0,3$$

Tần số của gen B là:

$$f(B) = 1 - 0,3 = 0,7$$

Tần số của kiểu gen BB là:

$$f(BB) = (0,7)^2 = 0,49$$

Tần số của kiểu gen bb là:

$$f(bb) = (0,3)^2 = 0,09$$

Tần số của kiểu gen Bb là:

$$f(Bb) = 2 (0,7) (0,09) = 0,42$$

$$\text{hoặc} = 1 - (0,49 + 0,09) = 0,42$$

6.5.3. Khi các gen điều khiển tính trạng nằm trên nhiễm sắc thể thường và các gen hoạt động độc lập

Ví dụ, ở cá Không Tước, tính trạng màu của da của cá được điều khiển bởi gen G và g, tính trạng kiểu vây được điều khiển bởi gen Cu và cu. Một người nuôi cá đã phát hiện cá trong ao có các nhóm như sau:

| Kiểu hình | Kiểu gen | Số lượng |
|-----------------------|--------------------------------|----------|
| Xám, vây bình thường | GGCuCu, GgCuCu, GgCucu, GGCucu | 8316 |
| Xám, vây cánh cung | GGcucu, Ggcucu | 84 |
| Vàng, vây bình thường | ggCuCu, ggCucu | 1584 |
| Vàng, vây cánh cung | ggcucu | 16 |
| Tổng số | | 10.000 |

Hãy tính tần số gen G, g, Cu và cu của quần thể cá trên.

Trong trường hợp này màu sắc và hình dạng vây của cá Không Tước được điều khiển bởi 2 gen nằm trên hai locus gen và hoạt động độc lập với nhau, do vậy ta có thể tính lần lượt cho từng gen.

1. Tính tần số gen cho locus G:

$$f(g) = \sqrt{f(gg)} = \sqrt{(1584 + 16)/10.000} = 0,40$$

$$f(G) = 1 - f(g) = 1 - 0,40 = 0,60$$

2. Tính tần số gen cho locus Cu:

$$f(cu) = \sqrt{f(cucu)} = \sqrt{(84 + 16)/10.000} = 0,10$$

$$f(Cu) = 1 - f(cu) = 1 - 0,10 = 0,90$$

6.5.4. Khi các gen điều khiển tính trạng nằm trên nhiễm sắc thể thường và các gen hoạt động tương tác át chế

Ở cá chép các gen điều khiển tính trạng vây do 2 gen trên 2 locus khác nhau điều khiển, hai gen này hoạt động tương tác át chế. Một người nuôi cá chép đã kiểm tra tính trạng vây cá trong ao và đã thu được kết quả sau:

| Kiểu hình | Kiểu gen | Số lượng |
|-----------|------------|----------|
| Có vây | SSnn, Ssnn | 1370 |
| Trần | ssnn | 250 |
| Vạch | SSNn, SsNn | 310 |
| Đốm | ssNn | 70 |
| Tổng số | | 2.000 |

Hãy tính tần số của gen S, s, N và n trong quần thể cá trên.

Trong trường hợp này dạng vây của cá chép được điều khiển bởi 2 gen nằm trên hai locus gen và hoạt động tương tác với nhau, do vậy ta có thể tính lần lượt cho từng gen.

1. Tính tần số gen cho locus S:

$$f(s) = \sqrt{f(ss)} = \sqrt{(250 + 70)/2.000} = 0,40$$

$$f(S) = 1 - f(s) = 1 - 0,40 = 0,60$$

2. Tính tần số gen cho locus N:

$$f(n) = \sqrt{f(nn)} = \sqrt{(1370 + 250)/2.000} = 0,90$$

$$f(N) = 1 - f(n) = 1 - 0,90 = 0,10$$

6.5.5. Khi các gen điều khiển tính trạng liên kết trên nhiễm sắc thể giới tính

8.5.5.1. Khi các gen liên kết trên nhiễm sắc thể Y

Các gen liên kết trên nhiễm sắc thể Y có quy luật di truyền thẳng, bố cho con trai (khi giống đực là dị giao tử) và mẹ cho con gái (khi giống cái là dị giao tử). Ở cá Khổng Tước, tính trạng màu da đốm do gen Ma liên kết trên nhiễm sắc thể Y điều khiển.

Một người nuôi cá đã phát hiện cá Khổng Tước trong ao có các nhóm sau:

| Kiểu hình | Kiểu gen | Số lượng |
|------------|------------------|----------|
| Cá cái xám | XX | 1650 |
| Cá đực đốm | XY ^{Ma} | 340 |
| Cá đực xám | XY | 510 |

Hãy tính tần số của gen Ma trên nhiễm sắc thể Y của quần thể cá trên.

$$f(Y^{Ma}) = (\text{Số cá đực đốm}) / (\text{Tổng số cá đực})$$

$$f(Y^{Ma}) = (340) / (340 + 510) = 0,40$$

6.5.5.2. Khi các gen liên kết trên nhiễm sắc thể X

Các gen liên kết trên nhiễm sắc thể X có quy luật di truyền chéo, bố cho con gái và mẹ cho con trai.

Để tính toán tần số alen trong trường hợp gen liên kết trên nhiễm sắc thể X ở con đực, chúng ta phải tiến hành 3 bước riêng biệt: (1) Tính tần số alen ở nhóm đực, (2) tính tần số alen ở nhóm cái, (3) tính tần số alen chung trên cơ sở tần số alen đã tính ở hai nhóm đực và cái.

Trong trường hợp gen liên kết trên nhiễm sắc thể X ở con đực chúng ta thường thu được hai kiểu gen và hai kiểu hình như sau:

| Kiểu gen | Kiểu hình |
|--------------------------|---|
| X ^{alen trội} Y | Kiểu hình của alen trội liên kết trên X ở con đực |
| X ^{alen lặn} Y | Kiểu hình của alen lặn liên kết trên X ở con đực |

Do vậy chúng ta sẽ có:

$$f(\text{alen lặn liên kết trên X ở con đực}) = \frac{\text{Số đực có alen lặn liên kết trên X}}{\text{Tổng số đực}}$$

$$f(\text{alen trội liên kết trên X ở con đực}) = \frac{\text{Số đực có alen trội liên kết trên X}}{\text{Tổng số đực}}$$

Khi gen liên kết trên nhiễm sắc thể X nhưng ở con cái thì tương tự như gen trên nhiễm sắc thể thường, song trong trường hợp này tạo nên 3 kiểu gen, 2 kiểu hình như sau:

| Kiểu gen | Kiểu hình |
|---|---|
| X ^{alen trội} X ^{alen trội} | Kiểu hình của alen trội liên kết trên X ở con cái |
| X ^{alen trội} X ^{alen lặn} | Kiểu hình của alen trội liên kết trên X ở con cái |
| X ^{alen lặn} X ^{alen lặn} | Kiểu hình của alen lặn liên kết trên X ở con cái |

Do vậy chúng ta sẽ có:

$$f(\text{alen trội liên kết trên X ở con cái}) = \sqrt{\frac{\text{Số cái có kiểu hình của alen lk trên X}}{\text{Tổng số cái}}}$$

$$f(\text{alen trội liên kết trên X ở con cái}) = 1 - f(\text{alen lặn liên kết trên X ở con cái})$$

$$f(\text{chung}) = \frac{2(\text{số cái}) [f(c)] + (\text{số đực}) [f(\text{đ})]}{2(\text{số cái}) + (\text{số đực})}$$

Ví dụ, một người nuôi cá đã phát hiện cá Không Tước thân xám và cá Không Tước thân đen (nigrocaudatus) trong ao. Alen trội *Nill* liên kết trên nhiễm sắc thể X tạo nên màu thân đen và alen lặn tạo nên thân xám. Ông đã thu được các số liệu sau:

| Kiểu hình | Kiểu gen | Số lượng |
|-----------------|-------------------------------|----------|
| Cá đực thân đen | $X^{Nill}Y$ | 200 |
| Cá đực thân xám | XY | 300 |
| Cá cái thân đen | $X^{Nill}X, X^{Nill}X^{Nill}$ | 546 |
| Cá cái thân xám | XX | 54 |
| Tổng | | 1.100 |

Hãy tính tần số của X^{Nill} và X trong quần thể cá trên.

1. Tính tần số alen ở cá đực:

$$f(X^{Nill} \text{ ở đực}) = 200/500 = 0,40$$

$$f(X \text{ ở đực}) = 300/500 = 0,60$$

2. Tính tần số alen ở cái

$$f(X \text{ ở cái}) = \sqrt{\frac{\text{cái xám}}{\text{tổng số cái}}}$$

$$= \sqrt{54/600} = 0,30$$

$$f(X^{Nill} \text{ ở cái}) = 1 - 0,30 = 0,70$$

3. Tính tần số chung của X^{Nill} và X trong quần thể:

$$f(X^{Nill} \text{ chung}) = \frac{2(600)(0,70) + (500)(0,40)}{2(600) + 500} = 0,6118$$

$$f(X \text{ chung}) = \frac{2(600)(0,30) + (500)(0,60)}{2(600) + 500} = 0,3882$$

$$\text{hoặc} = 1 - 0,6118 = 0,3882$$

4. Tổng hợp kết quả đó tính cho X^{Nill} và X trong quần thể:

| | Ở đực | Ở cái | Tổng thể |
|-----------|-------|-------|----------|
| | 0,40 | 0,70 | 0,6188 |
| | 0,60 | 0,30 | 0,3882 |
| Tổng cộng | 1,00 | 1,00 | 1,00 |

6.6. Các yếu tố làm thay đổi tần số gen trong quần thể

6.6.1. Sự thay đổi của tần số gen do yếu tố đột biến

Giả sử xem xét một quần thể tại một locut có gen A với tần số ban đầu là p_0 và đột biến sang a với cường độ đột biến u; a có tần số gen ban đầu là q_0 và đột biến quay trở lại A với cường độ đột biến là v. Từ đó ta có:

$$\begin{array}{ccc}
 & u & \\
 A & \xrightarrow{\hspace{2cm}} & a \\
 p_0 & v & q_0
 \end{array}$$

Do vậy, gen A chuyển sang gen a một lượng là up_0 và gen a chuyển trở lại cho A một lượng là vq_0 . Từ đó chúng ta có mức độ thay đổi tần số gen trong quần thể sau một thế hệ xảy ra đột biến hai chiều là như sau:

$$\Delta q = up_0 - vq_0$$

Rõ ràng mức độ thay đổi tần số gen trong quần thể sau một thế hệ xảy ra đột biến thuận nghịch phụ thuộc vào các tần số gen ban đầu (p_0, q_0) và các cường độ đột biến (u, v).

♦. *Trường hợp đột biến thuận nghịch cân bằng:*

Nếu xảy ra trường hợp đột biến hai chiều nhưng cường độ đột biến của chúng bằng nhau ($u = v$), như vậy chúng ta sẽ có

$$pu = qv$$

hoặc

$$\frac{p}{q} = \frac{v}{u}$$

và lúc đó chúng ta sẽ có:

$$q = \frac{u}{u + v}$$

6.6.2. Sự thay đổi của tần số gen của quần thể do yếu tố di cư

Di cư là hiện tượng thường xuyên xảy ra đối với sinh vật. Di cư bao gồm hai quá trình: Chuyển cư (tân cư) và nhập cư. Song trong mục này chúng ta chỉ xem xét đến hiện tượng nhập cư. Hiện tượng chuyển cư tương tự như chọn lọc, vì vậy sẽ được xem xét chung trong phần chọn lọc.

Nhập cư là khi có một quần thể gốc ban đầu và có thêm một nhóm các cá thể cùng loài, cùng giống hay cùng dòng nhập thêm vào trong quần thể đó.

Giả sử có một quần thể gốc ban đầu lớn và có tần số gen ban đầu là q_0 , mỗi thế hệ quần thể này được nhập thêm một lượng m và nhóm nhập cư này có tần số gen là q_m . Như vậy sau khi có sự nhập cư, lượng cá thể của quần thể gốc trong quần thể mới chỉ còn bằng $1-m$, tần số gen của quần thể sau khi có sự nhập cư là q_1 và sẽ bằng:

$$\begin{aligned} q_1 &= mq_m + (1 - m)q_0 \\ &= m(q_m - q_0) + q_0 \end{aligned}$$

Mức thay đổi tần số gen trong quần thể sau một thế hệ xảy ra nhập cư sẽ là:

$$\begin{aligned} \Delta q &= q_1 - q_0 \\ &= m[(q_m - q_0) + q_0] - q_0 \end{aligned}$$

$$\Delta q = m(q_m - q_0)$$

Mức độ thay đổi tần số gen (Δq) trong một quần thể qua một thế hệ xảy ra sự nhập cư phụ thuộc vào: Độ lớn của nhóm cá thể nhập cư (m), tần số gen của nhóm nhập cư (q_m) và tần số gen của quần thể gốc (q_0).

Do vậy, mức độ thay đổi của tần số gen (Δq) của quần thể do nhập cư có thể âm (-) và có thể dương (+), phụ thuộc vào q_m và q_0 . Nếu $q_m > q_0$ thì Δq sẽ dương (+), tần số q tăng lên và ngược lại $q_m < q_0$ thì Δq sẽ âm (-), tần số q giảm.

6.6.3. Sự thay đổi của tần số gen của quần thể do yếu tố chọn lọc

Chọn lọc thường xuyên xảy ra với mọi quần thể sinh vật, ở mọi lúc, mọi nơi. Trong chọn lọc có: Chọn lọc tự nhiên và chọn lọc nhân tạo. Chọn lọc tự nhiên là sự chọn lọc dưới ảnh hưởng của các điều kiện tự nhiên bao quanh con vật. Chọn lọc nhân tạo là sự chọn lọc với sự can thiệp của con người. Tuy nhiên, trong quá trình chọn lọc nhân tạo sinh vật vẫn luôn chịu ảnh hưởng của chọn lọc tự nhiên. Khi xảy ra chọn lọc nhân tạo, tần số gen của quần thể sinh vật bị thay đổi qua 3 giai đoạn:

- Giai đoạn đầu là do con người tác động vào thể hệ bố mẹ, chọn giữ lại những cá thể theo mục tiêu của chọn lọc trong quần thể để làm bố mẹ,
- Giai đoạn thứ 2 do các yếu tố tự nhiên tác động vào sức sinh sản của nhóm được chọn lọc để làm bố mẹ,
- Giai đoạn thứ 3 là do các yếu tố tự nhiên tác động vào sức sống của thế hệ sau.

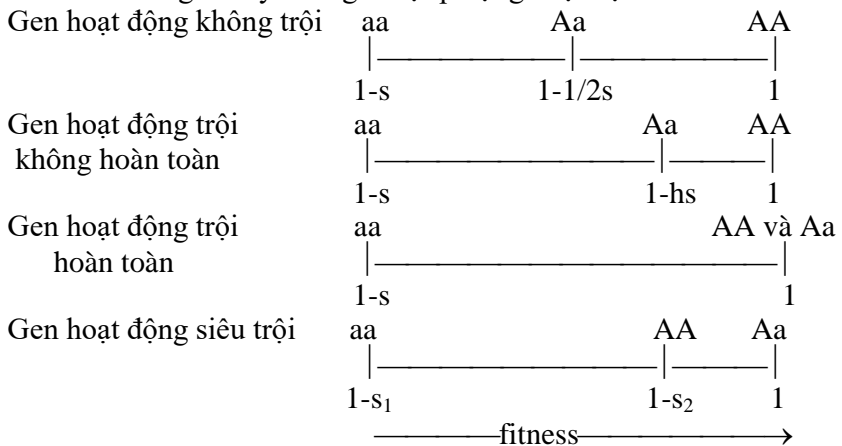
Phần này chủ yếu chỉ đề cập đến chọn lọc nhân tạo, với tác động của con người vào thể hệ bố mẹ-giai đoạn đầu của chọn lọc nhân tạo. Căn cứ vào mục tiêu của chọn lọc, loại tính trạng và tình hình của quần thể mà người ta có thể chọn lọc để giữ lại một gen hay một kiểu gen của quần thể, cũng có thể chọn lọc để loại bỏ một gen hay một kiểu gen ra khỏi quần thể. Trong phần này chủ yếu ta xem xét chọn lọc để loại bỏ một gen hay một kiểu gen ra khỏi quần thể.

Khi áp dụng chọn lọc a sẽ gặp một số khái niệm và thông số sau:

Cường độ chọn lọc: Là tỷ lệ của gen hoặc kiểu gen bị chọn lọc loại thải ra khỏi quần thể, ký hiệu là s , s có giá trị từ $0 \div 100\%$ hoặc từ $0 \div 1$.

Fitness: Khả năng sinh sản của thế hệ bị áp dụng chọn lọc hay là khả năng cho ra thế hệ sau của thế hệ bị áp dụng chọn lọc, đôi khi còn được gọi là *giá trị thích ứng* (*daptive value*) hay *giá trị chọn lọc* (*selection value*). Khi một gen hay một kiểu gen bị áp dụng chọn lọc loại thải ra khỏi quần thể với cường độ s sẽ dẫn tới làm giảm khả năng sinh sản hay khả năng phân phối của chúng cho thế hệ sau, do vậy $fitness = 1 - s$.

Xu hướng chọn lọc thường phụ thuộc vào mức độ hoạt động của các gen, mức độ hoạt động của các gen sẽ ảnh hưởng tới mức độ chọn lọc và hiệu quả của chọn lọc. Mọi quan hệ giữa mức độ hoạt động của các gen, fitness của các gen hay kiểu gen bị áp dụng chọn lọc như sau:



Khi áp dụng chọn lọc loại thải một gen hay một kiểu gen ra khỏi quần thể thì tần số của gen trong quần thể thay đổi như thế nào?

Để tìm hiểu tác động này của chọn lọc ta hãy xem xét ví dụ sau: Giả sử gen điều khiển tính trạng hoạt động trội hoàn toàn, áp dụng chọn lọc nhằm loại thải kiểu gen đồng hợp lặn ra khỏi quần thể với cường độ chọn lọc s . Hãy tính mức thay đổi tần số gen lặn sau một thế hệ áp dụng chọn lọc.

Theo định luật Hardy-Weinberg và các khái niệm ở trên chúng ta có các số liệu trong bảng sau đây:

| | Kiểu gen | | | Tổng |
|-------------------|----------|-------|------------|----------|
| | AA | Aa | aa | |
| Tần số ban đầu | p^2 | $2pq$ | q^2 | 1 |
| Cường độ chọn lọc | 0 | 0 | s | |
| Fitness | 1 | 1 | $1-s$ | |
| Tần số giao tử | p^2 | $2pq$ | $(1-s)q^2$ | $1-sq^2$ |

Áp dụng công thức (1.1) ta có tần số của gen a ở thế hệ con là:

$$q_1 = \frac{q(1-s) + pq}{1 - sq^2} = \frac{q - sq^2}{1 - sq^2}$$

Mức thay đổi tần số gen a sau một thế hệ áp dụng chọn lọc là:

$$\Delta q = q_1 - q$$

Thay thế giá trị q_1 vào công thức Δq chúng ta sẽ có:

$$\Delta q = \frac{sq^2(1-q)}{1-sq^2}$$

Như vậy, mức độ thay đổi tần số của gen bị áp dụng chọn lọc loại thải các cá thể đồng hợp lặn ra khỏi quần thể sau một thế hệ phụ thuộc vào: Tần số gen ban đầu (q), cường độ chọn lọc (s).

Áp dụng phương pháp tính toán tương tự cho các trường hợp gen hoạt động khác nhau như lược đồ trên, chúng ta sẽ thu được các mức độ thay đổi của tần số các gen sau một thế hệ áp dụng chọn lọc loại thải chúng ra khỏi quần thể đã được trình bày trên Bảng 6.1.

Bảng 6.1. Tóm tắt mức độ thay đổi tần số gen trong quần thể với các mức độ hoạt động khác nhau của các gen và phương thức chọn lọc khác nhau với các gen và kiểu gen

| TT | Tần số gen sau một thế hệ chọn lọc | | Δq |
|----|--------------------------------------|------------------------------------|--|
| | A (p) | a (q) | |
| 1a | $p/(1-sq)^2$ | $(q-sq^2)/(1-sq^2)$ | $q^2(1-q)/(1-sq^2)$ |
| 1b | $p^2+pq(1-0,5s)/(1-sq)$ | $pq(1-0,5s)+q^2(1-s)/(1-sq)$ | $0,5pq(1-q)/(1-sq)$ |
| 2 | $(p-spq)/(1-2spq)$ | $(q-spq)/(1-spq)$ | $spq(2q-1)/1-2spq$ |
| 3a | $(p-sp^2)/(1-sp^2)$ | $q/(1-sp^2)$ | $sp^2q/(1-sp^2)$ |
| 3b | $(p^2+2pq-2spq)/(1-sp^2-2spq)$ | $(q-spq)/(1-sp^2-2spq)$ | $pq(sp-s+sq)/1-sp^2-2spq$ |
| 4 | $(p-s_1pq)/(1-2s_1pq-s_2q^2)$ | $(p-s_1pq-s_2q^2)/1-2s_1pq-s_2q^2$ | $[s_1pq(q-p)-s_2pq^2]/(1-2s_1pq-s_2q^2)$ |
| 5 | $(p-s_1p^2)/(1-2s_1p^2-s_2q^2)$ | $(q-s_1p^2)/(1-s_1p^2-s_2q^2)$ | $pq(s_1p-s_1q^2)(1-s_1p^2-s_2q^2)$ |
| 6 | $(p-s_1p^2-s_2pq)/(1-s_1p^2-2s_2pq)$ | $(q-s_2pq)/(1-s_1p^2-2s_2pq)$ | $[(s_1p^2q+s_2pq(q-p))/(1-s_1p^2-2s_2pq)]$ |

Ghi chú:

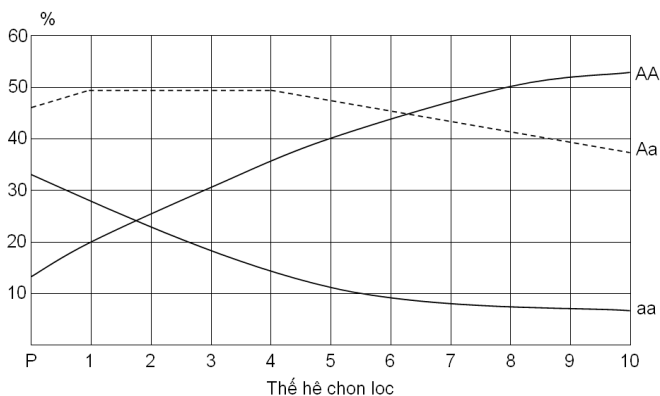
0. Không chọn lọc

1a. Gen hoạt động trội hoàn toàn, chọn lọc loại thải aa

- b. Gen hoạt động trội hoàn toàn, chọn lọc loại thải a
2. Gen hoạt động không trội, chọn lọc loại thải aa
- 3a. Gen hoạt động không trội, chọn lọc loại thải AA
- 3b. Gen hoạt động trội hoàn toàn, chọn lọc loại thải A
4. Gen hoạt động không trội, chọn lọc loại thải aa và Aa
5. Gen hoạt động siêu trội, chọn lọc loại thải aa và AA

Với các tần số kiểu gen khác nhau, áp dụng chọn lọc loại thải các kiểu gen khác nhau trong quần thể với cường độ khác nhau, sau một số thế hệ áp dụng chọn lọc, sự thay đổi tần số của các kiểu gen trong quần thể rất khác nhau, chúng ta sẽ xem xét các vấn đề này qua ba ví dụ.

Ví dụ 1. Một quần thể có cấu trúc ban đầu là AA là 16%, Aa là 48% và aa là 36%, mỗi thế hệ áp dụng chọn lọc loại thải 33% các cá thể có đặc điểm không mong muốn (kiểu hình lặn) ra khỏi quần thể, mức độ biến động của các kiểu gen qua các thế hệ áp dụng chọn lọc như sau:

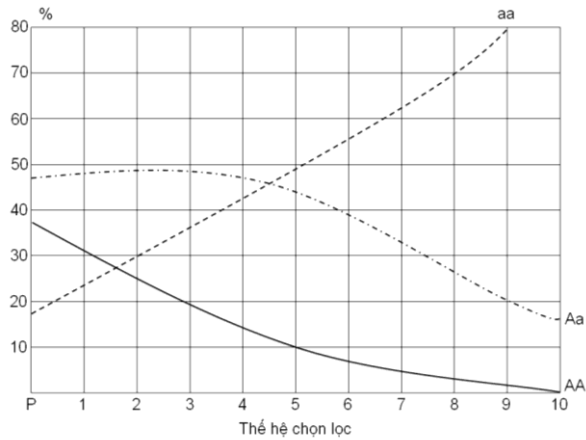


Hình 6.2. Sự biến động của các kiểu gen trong quần thể khi liên tục chọn lọc loại thải aa ra khỏi quần thể với $s = 0,33$

Sau 10 thế hệ áp dụng chọn lọc loại thải kiểu gen aa ra khỏi quần thể với cường độ chọn lọc $s = 0,33$, kiểu gen đồng hợp trội AA đó tăng từ 16% lên 54,5%, kiểu gen đồng hợp lặn aa đã giảm từ 36% xuống còn 6,8% (chậm hơn mức tăng của kiểu gen đồng hợp trội), còn kiểu gen dị hợp thể Aa trong vài thế hệ đầu tăng từ 48% lên 50% nhưng sau đó bắt đầu giảm và giảm xuống còn 38,7%.

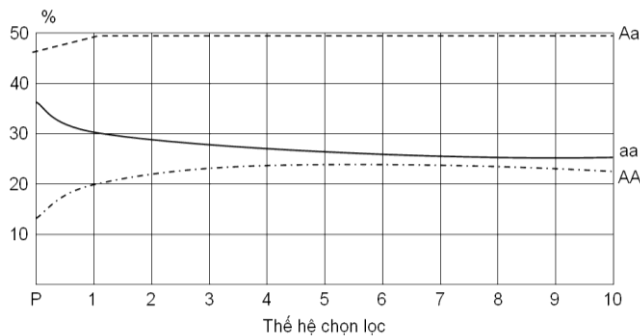
Ví dụ 2. Một quần thể có cấu trúc ban đầu là AA là 36%, Aa là 48% và aa là 16%, mỗi thế hệ áp dụng chọn lọc loại thải 33% các cá thể có kiểu hình trội ra khỏi quần thể, mức độ biến động của các kiểu gen qua các thế hệ áp dụng chọn lọc như sau:

Sau 10 thế hệ áp dụng chọn lọc loại thải các cá thể có kiểu hình trội (các kiểu gen AA và Aa) ra khỏi quần thể với cường độ chọn lọc $s = 0.33$, kiểu gen đồng hợp trội AA đó giảm từ 36% còn 0,7%, kiểu gen đồng hợp lặn đã tăng từ 16% lên 90,1%, còn kiểu gen dị hợp thể Aa trong vài thế hệ đầu tăng từ 48% lên 50% nhưng sau đó bắt đầu giảm và giảm xuống còn 19,2%.



Hình 6.3. Sự biến động của các kiểu gen trong quần thể khi liên tục chọn lọc loại thải AA và Aa ra khỏi quần thể với $s = 0,33$

Ví dụ 3. Một quần thể có cấu trúc ban đầu là AA là 16%, Aa là 48% và aa là 36%, mỗi thế hệ áp dụng chọn lọc loại thải 33% các cá thể có kiểu gen đồng hợp thể (cả AA và aa) ra khỏi quần thể, mức độ biến động của các kiểu gen qua các thế hệ áp dụng chọn lọc như sau:



Hình 6.4. Sự biến động của các kiểu gen trong quần thể khi liên tục chọn lọc loại thải AA và aa ra khỏi quần thể với $s = 0,33$

Sau 10 thế hệ áp dụng chọn lọc loại thải kiểu gen AA và aa ra khỏi quần thể với cường độ chọn lọc $s = 0,33$, kiểu gen đồng hợp trội AA đã tăng từ 16% lên 24%, kiểu gen đồng hợp lặn đó giảm từ 36% xuống còn 26%, còn kiểu gen dị hợp thể Aa trong vài thế hệ đầu tăng từ 48% lên 50% rồi giữ nguyên ở mức này liên tục qua các thế hệ.

Qua ba ví dụ trên cho thấy, tùy theo việc áp dụng chọn lọc các kiểu gen khác nhau mà tần số các kiểu gen có sự thay đổi (tăng, giảm) với tốc độ khác nhau, nhưng có một sự thống nhất-đó là kiểu gen dị hợp thể Aa trong vài thế hệ đầu cho dù áp dụng chọn lọc như thế nào thì nó vẫn tăng lên đến 50% và sau đó hoặc giữ nguyên (ví dụ 3) hoặc giảm xuống (ví dụ 1 và 2). Điều này hoàn toàn phù hợp với thực tế.

Qua nghiên cứu nhiều tác giả đã cho thấy rằng: Hiệu quả chọn lọc phụ thuộc vào cường độ chọn lọc (s) và các tần số gen ban đầu trong quần thể. Hiệu quả chọn lọc đạt cao nhất khi tần số của gen bị áp dụng chọn lọc ở mức 0,5 trong quần thể, nếu tần số gen tăng từ 0 lên 0,5 thì hiệu quả chọn lọc sẽ tăng và nếu tần số gen tăng từ 0,5 lên 1 thì hiệu quả chọn lọc sẽ giảm.

Áp dụng các cường độ chọn lọc khác nhau thì mức độ thay đổi của tần số gen qua các thế hệ cũng hoàn toàn khác nhau. Ví dụ, trong quần thể động vật có một gen lặn làm giảm sức sống, áp dụng chọn lọc loại thải gen này ra khỏi quần thể với các cường độ chọn lọc khác nhau, chúng ta sẽ có tần số của các cá thể mang gen lặn đó qua các thế hệ áp dụng chọn lọc như trong bảng sau:

| Số thế hệ↓ | $s \rightarrow$ | Tần số của các cá thể mang gen lặn | | | |
|------------|-----------------|------------------------------------|------|------|------|
| | | 1 | 0,5 | 0,1 | 0,01 |
| 1 | | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1,00 |
| 10 | | 0,25 | 0,46 | 0,84 | 0,98 |
| 20 | | 0,11 | 0,26 | 0,71 | 0,97 |

Việc chọn lọc loại thải một gen lặn (xấu) ra khỏi quần thể là một việc làm đòi hỏi thời gian, công sức và cả tiền bạc. Vì vậy song song với thời gian là chọn lọc ở cường độ nào, số liệu ở bảng trên cho thấy nếu áp dụng chọn lọc với mức cao nhất $s = 1$ (100%) các gen lặn ra khỏi quần thể thì sau 10 thế hệ chọn lọc liên tục mới loại thải được 75% và sau 20 thế hệ cũng chỉ mới loại thải được 89%; nếu áp dụng chọn lọc với $s = 0,5$ thì sau 10 thế hệ mới loại thải được 54% và sau 20 thế hệ mới loại thải được 74%. Tốc độ loại thải gen bị áp dụng chọn lọc càng về sau càng chậm, vì tần số của nó càng về sau càng thấp.

6.6.3.1. Các điều kiện để chấm dứt tác động của chọn lọc

Theo lý thuyết, tác động của chọn lọc sẽ chấm dứt trong một số trường hợp sau: Trường hợp đơn giản nhất là khi $s = 0$. Khi đó quần thể sẽ ổn định ở các tần số p_0 và q_0 đạt được trước khi chấm dứt chọn lọc. Chọn lọc cũng sẽ chấm dứt khi p hoặc q bằng 1 (quần thể trở thành dòng thuần), mặc dù quần thể rất khó để đạt được trạng thái này. Các khả năng này có thể xảy ra trong các trường hợp 1a, 1b, 3a và 3b (Bảng 6.1) ở phần trên. Chọn lọc chống lại dị hợp thể Aa sẽ cân bằng khi khi $p = q = 0,5$, tuy nhiên sự cân bằng này sẽ không bền vững.

Trong trường hợp 4 (Bảng 6.1) chọn lọc chống lại Aa với cường độ chọn lọc s_1 và aa với cường độ chọn lọc s_2 , chúng ta sẽ có:

$$\Delta q = \frac{s_1 p q (q - p) - s_2 p q^2}{1 - 2s_1 p q - s_2 q^2}$$

Quần thể sẽ đạt trạng thái cân bằng nếu $\Delta q = 0$, điều này chỉ có thể xảy ra khi tử số của phương trình $s_1 p q (q - p) - s_2 p q^2 = 0$.

Từ đó chúng ta có: $s_1 p q (q - p) = s_2 p q^2$

$$\frac{s_1}{s_2} = \frac{q}{q - p}$$

chính xác hơn là:

$$\frac{s_1}{s_2} = \frac{-q}{p_0}$$

Tương tự đối với trường hợp 6 (bảng 9.1), chúng ta sẽ có biểu thức:

$$\frac{s_1}{s_2} = \frac{p_0 - q_0}{p_0}$$

Đặc biệt lý thú là trường hợp thứ 5 (bảng 9.1), chọn lọc giữ dị hợp thể (Aa) lại và loại bỏ cả 2 đồng hợp thể (AA và aa). Chúng ta có:

$$\Delta q = \frac{pq(s_1p - s_2q)}{1 - 2s_1p^2 - s_2q^2}$$

Để cho $\Delta q = 0$ thì tử số của biểu thức này phải bằng không. Vì p và q luôn luôn là những đại lượng xác định, nên để tử số bằng 0 thì $s_1p - s_2q = 0$ hay $s_1p = s_2q$.

Từ đó chúng ta có:

$$\frac{q}{p} = \frac{s_1}{s_2}$$

hay

$$\frac{q}{1-q} = \frac{s_1}{s_2}$$

chính xác hơn là:

$$\frac{q_n}{1 - q_n} = \frac{s_1}{s_2}$$

Từ biểu thức trên chúng ta có mối liên hệ giữa q_n và các cường độ chọn lọc s_1, s_2 như sau:

$$q_n s_2 = s_1 - q_n s_1 \text{ hay } q_n s_2 = s_1,$$

và

$$q_n = \frac{s_1}{s_1 + s_2}$$

Biểu thức này biểu diễn trạng thái ổn định của quần thể. Với các tương quan như vậy, các đại lượng q_n, s_1, s_2 là các đại lượng ổn định.

Phân tích biểu thức $p_0 s_1 = q_0 s_2$ chúng ta dễ dàng nhận thấy, nếu q vượt quá giá trị để cân bằng thì p sẽ giảm so với giá trị cân có ($p_0 s_1 < q_0 s_2$) và Δq sẽ có giá trị âm. Điều đó có nghĩa là, dù chọn lọc giữ các cá thể có kiểu gen Aa thì q trong quần thể vẫn tăng và p vẫn giảm. Do vậy, để duy trì trạng thái cân bằng, chọn lọc sẽ thiết lập lại tần số cũ theo phương trình trên. Điều đó rất đúng với trường hợp một gen tồn tại ở nhiều (hơn 2) trạng thái alen trong quần thể, nếu các cá thể dị hợp theo một cặp alen nào đó có ưu thế chọn lọc hơn các kiểu gen đồng hợp thể. Theo công thức trên giá trị q_n của trạng thái cân bằng, phân tích đến cùng, phụ thuộc vào cường độ chọn lọc của cả 2 kiểu gen đồng hợp thể.

6.6.3.2. Mối quan hệ giữa chọn lọc và đột biến

Chúng ta có thể thấy rằng, chọn lọc và đột biến là hai quá trình có một sự liên quan mật thiết với nhau. Thông thường chọn lọc bao giờ cũng muốn loại bỏ các gen xấu ra khỏi quần thể, thế nhưng đột biến lại thường có xu hướng tạo ra các gen xấu. Nếu trong quần thể xảy ra hai quá trình như vậy

thì đột biến và chọn lọc sẽ chống lại nhau, đột biến sẽ làm giảm hiệu quả của chọn lọc. Biết đâu đấy, có những thời điểm nào đó mà cứ chọn lọc loại thải được bao nhiêu thì đột biến sẽ lại sinh ra bấy nhiêu. Có nghĩa là sẽ có lúc nào đó đột biến và chọn lọc trong quần thể cân bằng nhau.

Giả sử có thời điểm xảy ra sự cân bằng giữa chọn lọc và đột biến, lúc đó các tần số gen trong quần thể sẽ ra sao? Xem xét một quần thể với gen A hoạt động trội hoàn toàn-tần số ban đầu là p , tần số gen a ban đầu trong quần thể là q , áp dụng chọn lọc loại thải gen a ra khỏi quần thể với cường độ s , quần thể đồng thời xảy ra đột biến từ A sang a với cường độ là u và ngược lại từ a về A với cường độ là v . Trong những điều kiện này ta sẽ có:

Mức độ thay đổi tần số gen qua đột biến là:

$$\Delta q = up - vq = u(1 - q) - p$$

Trước hết hãy xác định tương quan giữa u và v để tần số gen ban đầu không bị biến đổi, có nghĩa là $\Delta q = 0$.

Vì $\Delta q = up - vq$ và $p = 1 - q$

Nên chúng ta có: $u(1 - q) - vq = 0$ hay $u(1 - q) = vq$

Với tương quan như vậy giữa cường độ của đột biến thuận nghịch thì q (và p) không thay đổi, quần thể ở trạng thái cân bằng. Đây là trường hợp chỉ xảy ra đột biến, chưa có tác động của chọn lọc.

Khi áp dụng chọn lọc chống lại aa với trường hợp gen hoạt động trội hoàn toàn (trường hợp 1a, Bảng 8.1), ta có mức độ thay đổi tần số gen:

$$\Delta q = \frac{sq^2(1 - q)}{1 - sq^2}$$

Nếu xảy ra sự cân bằng giữa chọn lọc và đột biến trong quần thể, ta sẽ có:

$$\frac{sq^2(1 - q)}{1 - sq^2} = u(1 - q) - vq$$

Giả sử do chọn lọc mà q còn lại rất thấp, nên đột biến trở lại (A ← a) cũng có cường độ (v) rất thấp, do vậy vq là rất nhỏ-xem như không đáng kể (= 0), có thể giản ước nó ở trong phương trình.

Lý giải tương tự ta sẽ có sq^2 ở mẫu số cũng sẽ rất nhỏ, do vậy cũng có thể giản ước. Do vậy ta sẽ có:

$$\begin{aligned} u(1 - q) &= sq^2(1 - q) \\ u &= sq^2 \end{aligned}$$

Từ đó ta có:

$$q = \sqrt{\frac{u}{s}}$$

Trong trường hợp gen hoạt động trội không hoàn toàn, áp dụng tương tự như trên ta sẽ có:

$$q = \frac{2u}{s}$$

Bây giờ giả sử áp dụng chọn lọc chống lại gen trội hoàn toàn, tần số của nó là $p = 1 - q$, cường độ đột biến tạo nên nó là v . Trường hợp này sẽ dẫn tới $1 - q \approx 1$, do đó $u(1 - q)$ cũng sẽ có thể giản ước được. Vì vậy ta có:

$$vq = sq^2(1-q) \rightarrow (1-q) = v/s$$

hoặc là

$$H = \frac{2v}{s}$$

Tổng kết lại chúng ta có thể thấy, tốc độ đột biến thường rất thấp (10^{-5} - 10^{-10}) nên nó chỉ gây ra sự thay đổi tần số gen ở mức rất nhỏ-không đáng kể. *Chỉ có chọn lọc mới là nhân tố chính làm thay đổi tần số gen của quần thể.*

6.7. Ứng dụng định luật Hardy-Weinberg

Trong một quần thể có thể có nhiều kiểu gen và nhiều kiểu hình, nhưng khi chỉ xem xét quần thể ở một tính trạng nào đó do một gen nằm trên một locus điều khiển thì sẽ có 3 kiểu gen (AA, Aa và aa) và 2 kiểu hình: Kiểu hình do AA và Aa tạo nên và kiểu hình do aa tạo nên. Nếu alen a gây nên một khuyết tật hoặc dị hình (một bệnh lý nào đó), nó chỉ bộc lộ ra ngoài khi nó có kiểu gen là aa (nếu alen lặn là alen xấu), trong trường hợp này kiểu gen dị hợp thể Aa chỉ tiềm tàng gen xấu-gen dị tật, dị hình và kiểu gen AA và Aa có thể làm xuất hiện dị tật (nếu alen A trội là gen xấu). Các alen a hay A tiềm ẩn trong kiểu gen dị hợp thể Aa, nếu không được phát hiện để loại bỏ thì nó sẽ tiếp tục tồn tại trong quần thể và làm cho sự xuất hiện dị tật có nguy cơ tăng lên. Dựa vào đâu để phát hiện và loại bỏ các gen xấu đó?

Kiểu hình của kiểu gen đồng hợp lặn (aa) luôn bị phát hiện một cách dễ dàng. Như chúng ta đều đã biết, tương ứng với kiểu hình của kiểu gen này là tần số Q hay q^2 , từ đây ta có thể dễ dàng tính được q. Trên cơ sở đó chúng ta có thể tính toán được tần số của các kiểu gen khác có trong quần thể và đưa ra các giải pháp cần thiết cho việc chọn lọc loại bỏ các gen xấu.

Ví dụ, bệnh Phenil niệu (PKU) là một bệnh của chuyển hóa phenil ở người do một gen lặn gây ra. Kiểu gen đồng hợp có thể xác định được chỉ ít ngày sau khi sinh và có thể chọn lọc để có biện pháp giúp đỡ.

Kiểm tra 55.715 trẻ sơ sinh ở Birmingham (Anh) trong 3 năm đã xác định được 5 trường hợp bị bệnh phenil niệu (Rain et al., 1972).

Như vậy, trẻ bị phenil niệu là trẻ có kiểu gen đồng hợp lặn của gen gây bệnh. Tần số đồng hợp thể lặn ở đây là 90×10^{-6} hoặc $1/11.000.000$, tần số này tương ứng với giá trị q^2 trong luật Hardy-Weinberg.

Từ đó ta có tần số của gen gây bệnh là:

$$q = \sqrt{(90 \times 10^{-6})} = 9,5 \times 10^{-3} = 0,0095$$

Tần số dị hợp thể trong toàn bộ 55.715 trẻ là $2pq = 2q(1-q)$, và bằng khoảng 0,019. Có nghĩa là khoảng 2% hoặc 1 trong 50 trẻ sơ sinh ở Birmingham tiềm ẩn gen gây bệnh phenil niệu. Tỷ lệ này ở trẻ đã làm sững sốt nhiều người về tính phổ biến của các cá thể dị hợp thể tiềm ẩn gen lặn gây bệnh hiếm hoi này.

Thông thường người ta phải tìm cách chọn lọc loại thải các gen xấu, gen lặn tiềm ẩn trong các kiểu gen dị hợp thể ra khỏi quần thể, tuy nhiên do nó ở dạng tiềm ẩn nên không thể chọn lọc loại thải hết 100%

được, mà chỉ có thể chọn lọc loại thải được đến một mức độ nhất định có thể và cho phép. Vậy thì, chọn lọc để còn một tần số gen nhất định nào đó cần bao nhiêu thời gian (bao nhiêu thế hệ)?

Theo phương pháp tính tần số gen sau 1 thế hệ áp dụng chọn lọc loại thải các cá thể đồng hợp lặn ra khỏi quần thể với cường độ s , ta có:

$$q_1 = \frac{q - sq^2}{1 - sq^2}$$

Nếu cường độ chọn lọc loại thải các cá thể đồng hợp lặn ra khỏi quần thể là 100% ($s = 1$), thì:

$$q_1 = \frac{q}{1 - q}$$

Áp dụng tương tự chúng ta sẽ có:

$$q_2 = \frac{q_1}{1 - q_1} = \frac{q}{1 - 2q}$$

Suy ra chúng ta sẽ có tần số gen q sau t thế hệ chọn lọc loại thải 100% kiểu gen aa ra khỏi quần thể là:

$$q_t = \frac{q}{1 - tq}$$

Từ công thức này ta có thể rút ra:

$$t = \frac{q - q_t}{qq_t}$$

$$t = \frac{1}{q_t} - \frac{1}{q}$$

t là số thế hệ cần thiết để áp dụng chọn lọc 100% các cá thể đồng hợp lặn ra khỏi quần thể để đạt được một tần số q mong muốn.

Nghiên cứu di truyền quần thể là một phương pháp nghiên cứu rất quan trọng và rất phổ biến trong các nghiên cứu sinh học ngày nay, vì bất kỳ một nghiên cứu nào cũng đòi hỏi số lượng nghiên cứu phải lớn, càng lớn càng tốt.

6.8. Chọn lọc trong quần thể và dòng thuần

Johanson là người đầu tiên có nghiên cứu các tính chất của quần thể, ông đã chọn khối lượng của hạt đậu để làm đối tượng nghiên cứu. Các hạt đậu trong nghiên cứu của ông có khối lượng $15 \div 75$ cg. Ông đã chia các hạt đậu ra thành các nhóm có khối lượng theo các khoảng cách đều nhau, đầu tiên là khoảng cách 10 cg và sau đó là khoảng cách 5 cg. Các số liệu thu được qua nghiên cứu như sau:

| Khối lượng hạt đậu ở thế hệ xuất phát (cg) | Số hạt thu được | Khối lượng hạt đậu ở thế hệ sau | |
|--|-----------------|---------------------------------|----------|
| | | $M \pm m$ | σ |
| $15 \div 25$ | 180 | $43,78 \pm 0,56$ | 7,47 |
| $25 \div 35$ | 835 | $44,17 \pm 0,31$ | 9,03 |
| $35 \div 45$ | 2238 | $46,17 \pm 0,19$ | 8,93 |
| $45 \div 55$ | 1138 | $48,94 \pm 0,28$ | 9,34 |

| | | | |
|-----------|------|--------------|-------|
| 55÷65 | 609 | 51,87 ± 0,42 | 10,24 |
| 65÷75 | 494 | 56,03 ± 0,45 | 10,02 |
| Tổng cộng | 5494 | 47,92 ± 0,13 | 9,87 |

Ở thế hệ xuất phát Johanson đã lấy 2 nhóm hạt đậu có khối lượng 15÷25 cg và 65÷75 cg đem gieo riêng. Khi thu hoạch ông đã thu được thế hệ con các hạt đậu có khối lượng 15÷65 cg từ nhóm 15÷25 cg và thu được thế hệ con các hạt đậu có khối lượng 35÷75 cg từ nhóm 65÷75 cg. Sau khi thu hoạch các hạt đậu của thế con thứ nhất, ông đó chia các hạt đậu theo nhóm khối lượng với khoảng cách 5 cg và lấy hai nhóm thấp nhất 15÷20 cg và cao nhất 70÷75 cg đem gieo trồng riêng. Ở thế hệ thứ hai ông đã lại thu được các hạt đậu với sự phân ly về khối lượng trải rộng hơn nhiều so với khoảng đó có (15÷20 và 70÷75 cg). Ở các thế hệ tiếp theo, ông lại tiếp tục chia các hạt đậu theo khối lượng khoảng cách 5 cg, rồi lại lấy 2 nhóm 15÷20 và 70÷75 đem gieo riêng, ông đã lặp đi lặp lại thí nghiệm như vậy nhiều lần. Cuối cùng ông đã thu được khối lượng của các hạt đậu ở thế hệ sau của nhóm 15÷20 cg cũng chỉ nằm trong giới hạn 15÷20 cg và của nhóm 70÷75 cg cũng chỉ nằm trong giới hạn 70÷75 cg, không còn hiện tượng khối lượng hạt đậu ở thế hệ sau phân ly vượt ra ngoài khoảng giới hạn khối lượng của nhóm bố mẹ chúng.

Từ các kết quả nghiên cứu thu được như vậy, Johanson đã đưa ra nhận xét: Hiệu quả chọn lọc chỉ có ở quần thể, không có ở dòng thuần. Trong nghiên cứu này, Johanson xem các hạt đậu có khối lượng 15÷75 cg là một quần thể, các hạt đậu sau khi chọn lọc, gieo trồng và cuối cùng thu được ổn định trong khoảng 15÷20 và 70÷75 cg là những dòng thuần.

Mở rộng vấn đề chúng ta có thể thấy, khi xem xét quần thể ở một locut với 2 alen, chúng sẽ cho ra 3 kiểu gen (ví dụ, AA, Aa và aa). Với 3 kiểu gen này, kiểu gen AA là đồng hợp thể và là dòng thuần vì chúng ghép đôi giao phối với nhau thì bất kỳ thế hệ sau nào cũng thu được các kiểu gen và kiểu hình đồng nhất là AA; kiểu gen aa cũng có hiện tượng tương tự khi tự phối với nhau. Do vậy không thể có một sự phân biệt về kiểu gen cũng như kiểu hình của các cá thể đồng hợp thể để áp dụng chọn lọc. Còn các cá thể có kiểu gen Aa tự phối với nhau thì trong mọi thế hệ cũng sẽ làm xuất hiện 3 kiểu gen AA, Aa và aa, không bao giờ có sự đồng nhất về kiểu gen và kiểu hình, do vậy có thể dựa vào kiểu gen hoặc kiểu hình để áp dụng chọn lọc.

6.9. Quần thể dưới tác động tổng hợp của các tác nhân làm biến đổi tần số gen

Vì quần thể chịu tác động đồng thời của mọi tác nhân đó nói ở trên, nên chúng ta hãy tìm hiểu một cách đại cương nhất tác động tổng hợp của các nhân tố đó.

Giả sử quần thể bị phân thành một loạt quần thể nhỏ có kích thước hiệu quả N_e . Trong mỗi quần thể nhỏ có m cá thể nhập cư ngẫu nhiên từ

quần thể khác vào. Tần số trung bình của alen A và a tương ứng là p và q . Tốc độ đột biến thuận nghịch tương ứng là u và v . Trạng thái cân bằng giữa mức độ phân tán của quần thể nhỏ với đột biến và di nhập cư được thiết lập khi phương sai của tần số alen giữa các quần thể nhỏ đạt giá trị:

$$\sigma^2 = \frac{p q}{1 + 4N_e(u + v + Im)}$$

Mặt khác chúng ta đó biết $\sigma^2 = Fpq$, nên:

$$F = \frac{1}{1 + 4N_e(u + v + m)}$$

Như vậy, chúng ta đó có thể biết được tác động của các yếu tố thường xuyên tác động lên quần thể: Chọn lọc, di cư, đột biến làm thay đổi tần số gen của quần thể và mối quan hệ giữa chúng với nhau.

Chương 7 GIAO PHỐI CẬN THÂN VÀ ƯU THẾ LAI

7.1. Giao phối cận thân

Trong tự nhiên với cuộc sống hoang dã của động và thực vật, mọi cá thể đều có khả năng (xác suất) gặp nhau và kết hợp với nhau trong sinh sản. Điều này dẫn đến hiện tượng các cá thể có quan hệ rất gần gũi với nhau như: Ông bà-cháu chắt, bố mẹ-con cái, anh chị em ruột thịt, anh chị em họ hàng, . . . có thể ghép đôi giao phối với nhau. Hiện tượng các cá thể có quan hệ thân thuộc ghép đôi với nhau trong sinh sản gọi là “*giao phối cận thân hay giao phối cận huyết*”.

Trong hệ thống giao phối cận huyết, các cá thể bị cận huyết sẽ có tổ tiên chung. Từ đó chúng sẽ nhận được các gen (alen) cùng locus giống nhau, tạo nên các trạng thái đồng hợp thể về kiểu gen. Mỗi hệ thống giao phối cận huyết sẽ có ít nhất là một tổ tiên chung và có thể có nhiều tổ tiên chung.

Ở các đối tượng thủy sản trong tự nhiên, các loài, các giống cùng sống trong một lưu vực, chúng tự do ghép đôi giao phối với nhau nên rất dễ xảy ra giao phối cận thân hay cận huyết. Thậm chí, đối với các loài, các giống thủy sản nuôi, do chúng thường được quản lý con giống gần như khép kín trong những khu vực nhất định trong một thời gian dài, thiếu sự giao lưu trao đổi con giống cũng đã xảy ra hiện tượng đồng huyết.

Khi xảy ra hiện tượng giao phối cận huyết, một hậu quả sẽ xảy ra - đó là suy hóa cận huyết. Nguyên nhân của hiện tượng này là do sự tập trung các gen xấu vào trạng thái đồng hợp, vì vậy các tác động xấu của các gen có dịp được bộc lộ ra kiểu hình. Suy hóa cận huyết làm xuất hiện các dị tật-dị hình bẩm sinh, suy giảm khả năng sản xuất, khả năng chống đỡ bệnh tật, . . .

Tính đồng hợp sẽ tăng nhanh khi các cá thể càng thân thuộc ghép đôi giao phối với nhau, đặc biệt là hệ thống sinh sản tự thụ phấn, tự phối. Chúng ta hãy xem xét các số liệu trên bảng sau:

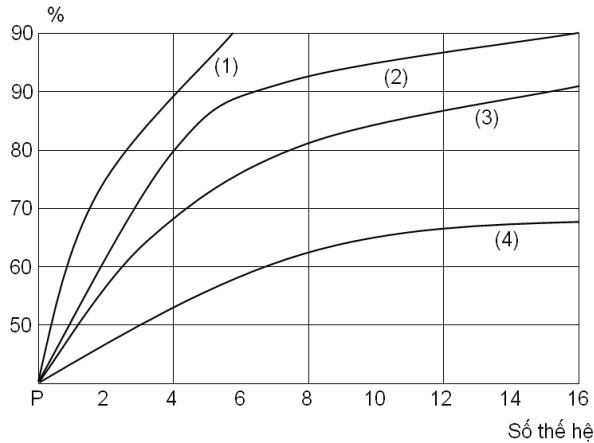
Bảng 7.1. Sự thay đổi của tỷ lệ đồng hợp và dị hợp trong giao phối cận huyết

| Thế hệ | Số lượng của các kiểu gen | | | Tỷ lệ dị hợp (%) | Tỷ lệ đồng hợp (%) |
|----------------|---------------------------|----|----|------------------|--------------------|
| | AA | Aa | aa | | |
| F ₁ | - | | - | 100 | 0 |
| F ₂ | 1 | 2 | 1 | 50 | 50 |
| F ₃ | 6 | 4 | 6 | 25 | 75 |
| . | . | . | . | . | . |
| . | . | . | . | . | . |
| F _n | | | | ≈0 | ≈100 |

Trong hệ thống tự giao như trên chúng ta có thể thấy, qua mỗi thế hệ tỷ lệ dị hợp thể giảm đi 50% và tỷ lệ đồng hợp thể tăng lên đúng bằng mức giảm của dị hợp thể.

Nếu cho giao phối giữa anh chị em ruột với nhau thì sau 10 thế hệ trong quần thể có tới 91,3% tổng các trạng thái kiểu gen tại các locus ở trạng

thái đồng hợp thể. Nếu cho giao phối giữa các anh chị em với nhau thì sau 18 thế hệ mới có thể đạt mức này. S. Wright cho rằng, Giao phối giữa anh chị em cùng bố khác mẹ hay cùng mẹ khác bố với nhau thì sau 10 thế hệ tỷ lệ dị hợp thể chỉ còn 15%, trong khi đó nếu giao phối giữa anh chị em ruột với nhau thì tỷ lệ này còn là 5%. Ở thực vật, tự thụ phấn thì chỉ cần 6 thế hệ đã có thể đạt 100% là đồng hợp thể. Rõ ràng, mức tăng của đồng hợp thể hay giảm dị hợp thể phụ thuộc vào hệ thống ghép đôi giao phối trong sinh sản. S. Wright đã tổng hợp mối quan hệ đó như sau:



Hình 7.1. Sự thay đổi tỷ lệ đồng hợp thể và dị hợp thể theo S. Wright

Ghi chú:

- 1 là nhóm tự phối.
- 2 là nhóm giao phối giữa anh chị em ruột.
- 3 là nhóm giao phối giữa anh chị em cùng bố khác mẹ hay cùng mẹ khác bố.
- 4 là nhóm giao phối giữa các anh chị em họ.

Theo S. Wright thì mức độ cận huyết (đồng huyết) được tính theo công thức:

$$F_X = \sum [(1/2)^{n_1 + n_2 - 1} (1 + FA)]$$

Trong đó:

- F_X là hệ số đồng huyết của cá thể,
- n_1 là số thế hệ tính từ cá thể bị đồng huyết đến tổ tiên chung,
- n_2 là số thế hệ tính từ cá thể bị đồng huyết đến tổ tiên chung,
- F_A là hệ số đồng huyết của tổ tiên chung.

Một cá thể bị đồng huyết có thể do nhiều tổ tiên chung gây ra, vì vậy F_X là tổng của các mức đồng huyết do tất cả các tổ tiên chung gây ra cho nó.

Vậy hệ số đồng huyết (F_X) là gì?

Hệ số đồng huyết là khả năng (xác suất) để cá thể bị đồng huyết nhận được 2 alen giống nhau tại một locus từ tổ tiên chung, tạo nên kiểu gen đồng hợp thể.

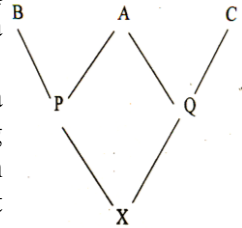
Theo S. Wright thì hệ số đồng huyết là một tiêu chuẩn về mức độ quan hệ huyết thống giữa các bố mẹ của một cá thể. Quan hệ huyết thống

này quy định (nếu có) bởi mức độ cách xa của chúng trong hệ phả so với con đực đầu dòng.

Ví dụ, chúng ta có hệ phả bên:

Đây là một hệ phả thể hiện sự giao phối giữa anh chị em cùng bố khác mẹ với nhau. Hệ số đồng huyết của cá thể X (F_X) là cái chúng ta cần tính.

Theo hệ phả chúng ta thấy: Bố và mẹ của X là P và Q, hai cá thể này có một tổ tiên chung là A và chúng không có một tổ tiên chung nào khác nữa. Vậy các alen mà X nhận được trong kiểu gen của mình phải có một phần nhận được từ tổ tiên chung (A) qua bố và mẹ (P, Q), các alen nhận được từ B và C chúng ta không quan tâm.



Giả sử chúng ta quan tâm đến 1 locus trên 1 nhiễm sắc thể nào đó của A, tại locus này có kiểu gen RR, Rr và rr, có nghĩa là A sẽ cho ra 2 loại giao tử là R và r, nói cách khác là xác suất để P cũng như Q nhận được R hoặc r từ A là 1/2.

Cũng tại locus đó, P và Q cũng có thể có các kiểu gen RR, Rr và rr. Chúng cũng cho ra hai loại giao tử R và r trong quá trình phát sinh giao tử. Do đó X nhận được giao tử R hoặc r từ P với xác suất là 1/2, tương tự X cũng sẽ nhận được giao tử R hoặc r từ Q là 1/2.

Cuối cùng xác suất để X nhận được giao tử chứa R hoặc r từ A qua P là: $1/2 \times 1/2$, tương tự xác suất để X nhận được giao tử chứa R hoặc r từ A qua Q là: $1/2 \times 1/2$. Do đó xác suất để tại locus R, X có kiểu gen RR hoặc rr là:

$$F_X = (1/2)^2 + (1/2)^2 = 1 + F_A$$

Nhưng F_A bằng 0 (không) vì A không bị đồng huyết.

Do vậy chúng ta có:

$$F_X = (1/2)^{2+2-1} = (1/2)^3 = 1/8 \text{ hay } 12,5\%$$

Như vậy cá thể X trong hệ phả có hệ số đồng huyết bằng 12,5% (0,125), đang ở mức thấp. Tuy là có sự giao phối giữa anh chị em cùng bố khác mẹ hay cùng mẹ khác bố, song do X chỉ có một tổ tiên chung nên xác suất để các alen giống nhau tại các locus gặp nhau là chưa cao.

7.1.1. Một số kiểu giao phối cận huyết

♦. *Tự phối* (tự thụ phân): Là sự phối hợp giữa hai cá thể đực và giao tử cái của một cá thể. Ở đây có thể coi sự gặp gỡ của các alen theo nguồn gốc dưới mức quan hệ di truyền cao nhất-từ một cá thể sau mỗi thế hệ tự phối đã làm cho dị hợp giảm đi một nửa và đồng hợp tăng lên cũng bằng mức giảm của dị hợp. Do đó hệ số F_x trong trường hợp tự phối $F_x < 1/2$.

♦. *Giao phối cận thân có hệ thống*

Giao phối cận thân có hệ thống là trường hợp xảy ra ở nhiều đời liên tục, khi đó hệ số cận thân sẽ liên tục biến đổi. Với sự tăng liên tục các đời giao phối cận thân, mức đồng hợp của quần thể càng tăng (mức dị hợp thể càng giảm) tốc độ tăng đồng hợp nhanh hay chậm phụ thuộc vào mức độ gán gũ của các cá thể tham gia. Ví dụ, tự phối (tự thụ phân) tăng nhanh hơn nhóm anh chị em ruột, anh chị em ruột với nhau tăng nhanh hơn anh chị em một nửa (anh chị em cùng bố khác mẹ hay ngược lại), . . .

Bảng 7.2. Các công thức tính cho một số kiểu giao phối cận huyết liên tục

| Kiểu giao phối | Công thức tính (*) |
|--------------------------------------|---------------------------------|
| - Tự phối | $F_t=1/2(1+F_{t-1})$ |
| - Bố mẹ x con (lai trở lại liên tục) | $F_t= 1/4(1+2F_{t-1}+F_{t-2})$ |
| - Anh chị em ruột với nhau | $F_t= 1/4(1+2F_{t-1}+2F_{t-2})$ |
| - Anh chị em một nửa với nhau | $F_t= 1/8(1+2F_{t-1}+F_{t-2})$ |

(*) t- số thế hệ.

Để thiết lập các công thức tính cho các kiểu giao phối cận thân liên tục có hệ thống, người ta đã xuất phát từ các công thức tính trong phương pháp phân tích các tổ tiên chung. Ở đây người ta đã đưa ra khái niệm hệ số tương ứng (f). Hệ số (f) chỉ khả năng đời con nhận hai alen, một từ bố, một từ mẹ là giống nhau. Giá trị tính ra của f là tương ứng với giá trị cận huyết (F_x).

Bảng 7.2 dẫn ra một số kiểu giao phối cận thân liên tục và kết quả của việc biến đổi hệ số đồng huyết qua các thế hệ.

Qua các hệ số F_x ở Bảng 7.3 ta thấy, giao phối cận thân liên tục qua các thế hệ dẫn tới tăng liên tục lượng đồng hợp thể. Tốc độ tăng nhanh hay chậm phụ thuộc vào mức độ thân thuộc của các cá thể tham gia trong giao phối; Tự phối tăng nhanh nhất, kế đến là bố mẹ với con cái anh chị em ruột với nhau và tiếp đến là anh chị em một nửa.

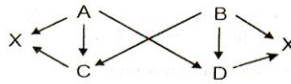
Bảng 7.3. Các hệ số cận thân qua các thế hệ của một số kiểu giao phối liên tục

| Thế hệ (t) | Các giá trị F_x | | |
|---------------|-------------------|-----------------|--------------------|
| | Tự phối | Anh chị em ruột | Anh chị em một nửa |
| 0 | 0 | 0 | 0 |
| 1 | 0,50 | 0,125 | 0,125 |
| 2 | 0,750 | 0,375 | 0,219 |
| 3 | 0,875 | 0,500 | 0,305 |
| 4 | 0,938 | 0,594 | 0,381 |
| 5 | 0,969 | 0,672 | 0,449 |
| 6 | 0,992 | 0,734 | 0,509 |
| 7 | 0,994 | 0,785 | 0,563 |
| 8 | 0,996 | 0,826 | 0,611 |
| 9 | 0,998 | 0,859 | 0,654 |
| 10 | 0,999 | 0,886 | 0,691 |
| 11 | | 0,908 | 0,725 |
| 12 | | 0,926 | 0,755 |
| 13 | | 0,940 | 0,782 |
| 14 | | 0,951 | 0,806 |
| 15 | | 0,961 | 0,827 |
| 16 | | 0,968 | 0,846 |
| 17 | | 0,974 | 0,863 |
| 18 | | 0,979 | 0,878 |
| 19 | | 0,983 | 0,691 |
| 20 | | 0,986 | 0,909 |

Ghi chú: Bố mẹ x con và anh chị em ruột với nhau có các giá trị như nhau nên chung một cột (anh chị em ruột).

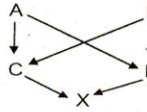
Các trường hợp giao phối cận huyết khác có $F_X < 1/2$ cụ thể như sau:

- *Bố con, mẹ con* (giao ngược 1 đời)



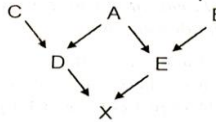
$$F_X = \left(\frac{1}{2}\right)^{1+0+1} = \left(\frac{1}{2}\right)^2 = \frac{1}{4}$$

- *Anh chị em ruột* (FS — full sibs)



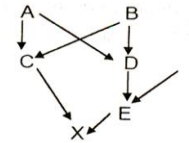
$$F_X = \left(\frac{1}{2}\right)^{1+1+1} + \left(\frac{1}{2}\right)^{1+1+1} = \frac{1}{8} + \frac{1}{8} = \frac{1}{4}$$

- *Nửa anh em* (HF- half sibs)



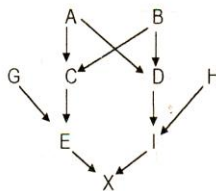
$$F_X = \left(\frac{1}{2}\right)^{1+1+1} = \frac{1}{8}$$

- *Cô cháu, chú cháu*



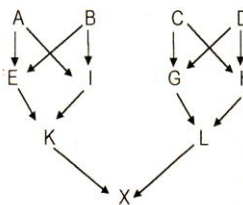
$$F_X = 2 \left[\left(\frac{1}{2}\right)^{2+1+1} \right] = \frac{1}{16} + \frac{1}{16} = \frac{1}{8}$$

- *Anh chị em con cô con cậu*



$$F_X = 2 \left[\left(\frac{1}{2}\right)^{2+2+1} \right] = \frac{1}{32} + \frac{1}{32} = \frac{1}{16}$$

- *Con cô con cậu kép*



$$F_X = \sum_1^4 \left[\left(\frac{1}{2}\right)^{2+2+1} \right] = \frac{1}{32} + \frac{1}{32} + \frac{1}{32} + \frac{1}{32} = \frac{1}{8}$$

Giao phối cận thân liên tục có ý nghĩa ứng dụng lớn trong chọn giống và trong đồng hợp tử. Tùy thuộc vào trường hợp cụ thể thực tiễn mà ta có thể sử dụng kiểu giao phối cận thân liên tục nào. Trong tạo giống nhiều khi tự phối kéo theo sự suy giảm quá mạnh sức sống, khả năng thích ứng của vật liệu (ở thế hệ tự phối 5-6 chẳng hạn). Khi ấy ta có thể sử dụng anh chị em ruột hoặc anh chị em cùng bố khác mẹ hoặc cùng mẹ khác bố để có thể vừa thu được đồng hợp tử (ở mức độ nào đó), vừa bảo toàn ở mức cho phép sức sống và sự thích ứng của các vật liệu dùng vào quá trình tạo giống.

7.1.2. Suy hoá cận huyết

Khi giao phối cận thân hay đồng huyết thường sinh ra hiện tượng suy thoái cận huyết. Suy hoá cận huyết là hiện tượng thế hệ con sinh ra bị giảm khả năng sản xuất, giảm khả năng chống đỡ bệnh tật và cũng có thể xuất hiện các dị tật bẩm sinh hoặc gây chết, bán gây chết. Nguyên nhân của chúng là do sự tập hợp của các gen xấu trong đồng hợp thể.

Trong thực tiễn sản xuất nông nghiệp, cũng như trong thực nghiệm hiện tượng thường thấy là, ở các dòng giao phối cận huyết xảy ra sự suy giảm mức thể hiện của một loạt tính trạng suy yếu sức sống và tính thích ứng của cơ thể hiện tượng như thế là suy hoá cận huyết.

Thế hệ giao phối cận thân giao phối (anh chị em) làm giảm sinh trưởng 10÷20%, sức sống giảm và tỷ lệ dị hình tăng rõ rệt (Wolfarth, Moav, 1971). ngay trong giao phối cận vừa phải cũng kéo theo suy thoái cận huyết (Kirpichnikov, 1969). Trong thế hệ con không ít trường hợp xuất hiện những sai lệch thể hiện ở chỗ giảm tốc độ sinh trưởng và sức sống (Tomilenko và c.s., 1979). Nói chung từ năm 1950 hậu quả của suy thoái cận huyết đã được nhiều nhà nghiên cứu quan tâm.

Sau suy thoái do giao phối cận huyết rất đa dạng thể hiện mạnh nhất là những đặc điểm liên quan đến khả năng thích ứng chung của cơ thể (các khả năng chống chịu, tính hữu thụ). Cũng có nhiều tính trạng phản ứng, cản trở đối với cận huyết.

Những nguyên nhân di truyền của suy hoá cận huyết:

- Giao phối cận huyết làm cho các gen lặn có hại (các gen đột biến bán gây chết,...) được tăng cơ hội gặp nhau để trở thành đồng hợp thể gây suy giảm khả năng sống của cơ thể.

- Đối với các tính trạng đa gen ưu thế làm tăng sự thể hiện của tính trạng thường thuộc về các gen trội. Ngược lại, các gen lặn có tác động về phía làm giảm mức thể hiện thể hiện của tính trạng một các tổng quát, giảm sức sống và sự thích ứng của cơ thể. Như vậy, suy hoá cận huyết là hệ quả của sự chuyển dịch giá trị trung bình quần thể về phía các alen lặn.

Ta có thể tính toán được mức độ suy hoá cận huyết khi tính trạng hay một cá thể bị đồng huyết.

Giá trị của tính trạng khi không bị đồng huyết là:

$$M_0 = a(p-q) + 2dpq$$

Giá trị của nhiều tính trạng khi không bị đồng huyết :

$$M_0 = \sum a(p - q) + 2\sum(dpq)$$

Trong đó :

- a là giá trị của kiểu gen AA
- d là giá trị của kiểu gen A_a
- p là tần số gen của A
- q là tần số gen của a.

Trong một quần thể bị đồng huyết với mức độ đồng huyết là F thì tần số dị hợp thể sẽ giảm đi một lượng là 2pqF và tần số của các cá thể đồng hợp cũng sẽ tăng lên một lượng đúng như vậy (2pqF), nhưng vì

đồng hợp thể có 2 dạng nên mỗi nhóm chỉ tăng một lượng pqF . Do đó có thể tính mức độ suy hoá cận huyết như sau:

| Kiểu gen | Tần suất | Giá trị kinh tế | Giá trị tính trạng |
|----------|---------------|-----------------|--------------------|
| AA | $p^2 + pqF$ | +a | $+a(p^2 + pqF)$ |
| aa | $2pqF - 2pqF$ | d | $d(2pq - 2pqF)$ |
| aa | $p^2 + pqF$ | - a | $-a(p^2 + pqF)$ |

Từ đó ta có giá trị của tính trạng ở cá thể đồng huyết găm là:

$$\begin{aligned} M_F &= a(p^2 + pqF) + 2d(pq - pqF) - a(p^2 + pqF) \\ &= a(p - q) + 2dpq - 2dpqF \\ &= M_0 - 2dpqF \end{aligned}$$

Như vậy đồng huyết thì sẽ làm cho tính trạng bị giảm đi một lượng là $2dpqF$, đó chính là mức độ suy hoá cận huyết, như vậy mức độ suy hoá cận huyết sẽ phụ thuộc vào:

- Mức độ đồng huyết (F),
- Tần số các gen trong quần thể (p, q),
- Giá trị kinh tế của dị hợp thể (d),

Trong trường hợp cá thể có nhiều tính trạng bị suy hoá cận huyết thì mức độ suy hoá cận huyết của cá thể sẽ là:

$$\begin{aligned} M_F &= \sum a(p - q) + 2\sum dpq - 2\sum dpqF \\ M_F &= \sum M_0 - 2\sum dpqF \end{aligned}$$

Giá trị suy hoá cận huyết cũng có thể tính theo công thức của Kincaid (1983) như sau:

$$X = \frac{X_1 - X_2}{X_1} \times 100$$

Trong đó :

X_1 là giá trị tính trạng ở thế hệ bố mẹ,

X_2 là giá trị tính trạng ở thế hệ con bị cận huyết

Cần chú ý rằng, ở nhiều loài giao phối cận huyết không kèm theo sự suy hoá cận huyết đáng kể (cá cảnh, bò câu, . . .). Trong các thí nghiệm ở dâu tằm cho thấy việc chọn lọc các gen bổ sung có thể làm giảm nhanh suy hoá cận huyết (Strunikov, 1974). Quá trình này cũng diễn ra trong giao phối cận thân lâu dài của cá thể. Cũng có thể hiện tượng ít biểu hiện suy hoá cận huyết ở cá cảnh có liên quan đến mức sinh sản không cao lắm của chúng và trong tự nhiên tổ tiên của loài này xuất hiện nhiều quần thể bé nhỏ cách ly nhau. Trong các quần thể ấy không tránh khỏi giao phối cận huyết và chọn lọc tự nhiên luôn dập tắt suy hoá cận huyết.

Nhìn chung suy hoá cận huyết là có hại, song nó cũng có ý nghĩa nhất định trong công tác chọn giống. Cái lợi là ở chỗ trước hết nó làm ổn định tính trạng đã chọn lọc nhờ vào tính đồng hợp cao và tăng cường độ biểu hiện một số tính trạng ở trong đó. Ứng dụng quan trọng nhất của giao phối cận huyết là trong công tác nhân giống thuần chủng và nhân giống theo dòng. Để bảo tồn vốn gen nói chung chúng ta cũng cần sử dụng đến giao phối cận thân, tuy nhiên để giảm bớt hậu quả của suy hoá cận huyết thì chúng ta cần

áp dụng chọn lọc khắc khe qua các thế hệ giao phối, loại thải ngay các cá thể xuất hiện (có biểu hiện của suy hoá cận huyết).

7.2. Ưu thế lai

7.2.1. Một số khái niệm về ưu thế lai

Như trên ta thấy, nói chung khi sinh vật giao phối cận huyết với nhau thì xảy ra đồng huyết và hậu quả của nó làm giảm khả năng (suy hoá cận huyết). Trong quá trình sản xuất đã xuất hiện hiện tượng ngược với suy hoá cận huyết, đó là hiện tượng làm tăng các khả năng của sinh vật-hiệu quả của việc cho các cá thể khác nhau về huyết thống giao phối (lai) với nhau. Về sau người ta gọi đó là ưu thế lai.

Ưu thế lai là hiện tượng sinh học tổng hợp biểu hiện ở sự phát triển mạnh mẽ, nhanh chóng của các cá thể do lai tạo giữa các con không cùng nguồn gốc huyết thống. Cũng có thể xem ưu thế lai là hiện tượng đời con hơn hẳn trung bình của đời trước.

Ưu thế lai theo nghĩa toàn bộ tức là sự phát triển toàn khối của cơ thể sinh vật, sự gia tăng cường độ trao đổi chất, sự tăng lên của sản lượng của các tính trạng sản xuất, . . .v.v.

Mặt khác có thể hiểu ưu thế lai theo từng mặt, theo từng tính trạng một. Có khi chỉ một vài tính trạng phát triển, còn các tính trạng khác vẫn giữ nguyên như giống gốc, thậm chí có tính trạng bị giảm.

Hiện tượng ưu thế lai đã được quan tâm nghiên cứu từ hơn 200 năm nay. Danh từ ưu thế lai (Heterosis) đã được Shull đề nghị dùng từ 1914 để thay thế cho từ sức sống của con lai (Vigor Hybridid). Khi so sánh thuốc lá lai với giống gốc, Kaolreuter (1966) là người đầu tiên nhận thấy sự phát triển và khả năng chống bệnh của cây lai hơn hẳn giống gốc. Năm 1769 ông cũng thấy hiện tượng tương tự ở cây ăn quả. Hiện tượng ưu thế lai đã được vận dụng rộng rãi trong thực tế, một trong những đối tượng đã ứng dụng ưu thế lai đạt nhiều thành tựu là ngô.

Người ta đã cho thụ phấn qua nhiều thế hệ để tạo ra các dòng ngô cần thiết. Các cây ngô về mặt kiểu hình, sản lượng, khối lượng chất xanh, sức sống của dòng cận huyết đều không bằng của các cây của các dòng không cận huyết. Nhưng khi cho phối hợp các dòng cận huyết với nhau, các cây lai được chọn lọc không những hơn hẳn cây gốc mà còn hơn hẳn những cây thuộc những dòng không cận huyết. Sau đó người ta đã sử dụng cây lai 2 dòng để tạo cây lai 4 dòng. Những cây lai 4 dòng không những không thua các cây lai 2 dòng mà còn hơn hẳn loại đó. Tất nhiên vấn đề phải tìm cách để phối hợp dòng nào với dòng nào để tạo ra cây lai tốt nhất (vì không phải khi nào phối hợp ngẫu nhiên cũng cho kết quả như vậy). Trong hai thập kỷ đầu của thế kỷ XX, nhiều người đã nghiên cứu về ngô lai (Senmen, Shull, Johnes, . . .) và họ đã rút ra một số kết luận của thực tiễn: *Ở ngô tự thụ phấn, đời sau có sức sống kém, năng suất giảm. Cho lai chéo dòng và chọn lọc tốt đời F_1 năng suất sẽ tăng lên gấp đôi, gấp 3 lần so với giống gốc. Đem tự giao F_1 , từ F_2 trở đi năng suất sẽ giảm dần rồi có*

thể bị mất hẳn. Ngô lai thuộc tổ hợp 4 dòng (A x B) x (C x D) năng suất không kém gì ngô lai F₁, về mặt sử dụng thì hơn hẳn.

Darwin (1868) cũng đã nêu lên cơ sở khoa học của hiện tượng ưu thế lai là do tính chất đồng hoá và dị hoá của tế bào bố mẹ (gốc), các tế bào gốc càng khác nhau thì sức sống đời con lai càng cao. Ông đã xác định ngay từ đầu rằng: Lai đã tạo ra hiệu quả tổng hợp lớn.

Theo Falconer (1960): ưu thế lai là sự khác biệt giữa tính trạng của con lai và bố mẹ chúng, chính xác hơn là con lai thường có tính trạng vượt lên trên giá trị trung bình của tính trạng bố mẹ:

$$M_{\text{con}} > \frac{M_{\text{bố}} + M_{\text{mẹ}}}{2}$$

Trong trường hợp này bố mẹ càng khác nhau (xa nhau về huyết thống) bao nhiêu thì thế lai càng cao bấy nhiêu.

Để định lượng mức độ thể hiện ưu thế lai của tính trạng, người ta đã phân tách ưu thế lai ra các trường hợp sau:

1. Ưu thế lai thực: Thế hệ lai thứ nhất (F₁) vượt hơn (về chiều dương hoặc chiều âm) dạng bố mẹ tốt nhất theo tính trạng nghiên cứu.
2. Ưu thế lai trung bình: Thế hệ lai thứ nhất (F₁) vượt hơn giá trị trung bình của bố mẹ (như ý kiến của Falconer, 1960).
3. Ưu thế lai chuẩn: thế hệ lai thứ nhất (F₁) vượt hơn giá trị của giống chuẩn (giống đối chứng) nào đó được dùng để so sánh.

7.2.2. Một số giả thuyết giải thích hiện tượng ưu thế lai

Bản chất của ưu thế lai là gì? Cho đến nay các nhà khoa học đang tiếp tục giải quyết vấn đề này, tuy nhiên các nhà nghiên cứu đã tập trung vào một số luận điểm chính, đó là những hiệu quả đối với sự tương tác giữa các gen ở nhân cũng như tương tác nhân-tế bào chất. Như vậy, nguyên nhân di truyền của hiệu ứng ưu thế lai cần được xem xét ở những hiệu quả tương tác sau:

1. Tương tác giữa các gen cùng locus.
2. Tương tác giữa các gen khác locus
3. Tương tác giữa nhân và tế bào chất.

Chúng ta sẽ lần lượt đi vào xem xét từng trường hợp của sự tương tác nói trên trong việc tạo nên ưu thế lai.

1. *Giả thuyết liên quan tới tương tác giữa các gen cùng locus hiệu quả trội và siêu trội*

Thông qua phép lai, con lai F₁ sẽ thu được một mức độ dị hợp thể nào đó của các gen. Các gen trội được tích lũy và thể hiện lẫn át các gen lặn thường gây hiệu quả xấu, dẫn tới con lai F₁ có ưu thế hơn bố mẹ mang các alen lặn ở trạng thái đồng hợp, tức là con lai F₁ đã khắc phục những khuyết điểm của các dòng bố, mẹ (các dòng tự phối):

$$\begin{array}{ccc} \text{AAbbCCdd} & \times & \text{aaBBccDD} \\ & & \downarrow \\ \text{F}_1 & & \text{AaBbCcDd} \end{array}$$

Các alen lặn a, b, c, d có hại hoặc có hiệu quả yếu về mức độ biểu hiện kiểu hình của tính trạng, bố mẹ có 2 gen lặn ở trạng thái đồng hợp thể. Ở con lai F₁ các gen lặn được "lấp đầy", 4 gen trội phát huy tác dụng, nó có ưu thế hơn hẳn các bố mẹ.

Những tính trạng như sức sống, khả năng sinh sản nói chung là các tính trạng số lượng (các tính trạng được điều khiển bởi đa gen), trong kiểu gen của một cá thể hay một tính trạng rất khó để tập hợp được một tổ hợp (kiểu gen) đồng hợp trội. Do đó thế hệ con được tạo ra do sự phối hợp giữa hai cá thể, hai giống hay hai dòng, thậm chí là hai loài, . . . có thể tập hợp được một tổ hợp các gen trội, trong đó một phần từ bố và một phần từ mẹ, cơ thể mới có thể là một tập hợp các cặp alen ở trạng thái dị hợp thể:

Đời bố mẹ: $AAbbccDDee \times aaBBccddEE$
Số locus chứa gen trội $\quad\quad\quad 2 \quad\quad\quad 2$

↓

Đời con: $AaBbCcDdEe$
Số locus chứa gen trội $\quad\quad\quad 4$

Trong trường hợp này, ở đời bố mẹ mỗi bên chỉ có 2 locus có gen trội, cá thể mới (con) có tới 4 locus đều ở trạng thái dị hợp thể, vì vậy hoạt động của các gen ở đây sẽ mạnh hơn trong kiểu gen của bố, mẹ. Bridges (1957) nhận xét: Khi giao phối giữa các dòng khác nhau của gà trống và gà mái Leghorn sao cho tỷ lệ dị hợp của con lai đạt 0, 50, 75 và 100%, ông đã thu được tỷ lệ ấp nở tương ứng là 46, 62, 71 và 78%.

H.P. Dubinin (1948) viết: Khi nhiễm sắc thể chuyển từ trạng thái dị hợp sang đồng hợp bao giờ cũng xuất hiện hiện tượng giảm sức sống, vì vậy quan niệm dạng *dị hợp thể là cơ sở của ưu thế lai* (heterosis) thì chính nó đã bao hàm sức mạnh con lai (vigor hybridis).

Hiệu quả hoạt động của alen trên các locus gen ở trạng thái dị hợp tương tác đặc biệt nên thường dẫn tới hiệu quả hoạt động mạnh hơn so với hoạt động của alen ở trạng thái đồng hợp thể-đó là hiệu quả siêu trội. Sở dĩ có được như vậy là nhờ có sự tương tác giữa các alen trội và lặn tạo nên hoạt động siêu trội của các alen trong tổ hợp dị hợp thể, nhờ vậy các tổ hợp dị hợp có giá trị tính trạng vượt bất kỳ kiểu gen nào khác.

AA < Aa > aa

Ví dụ: $AABBCC \times aabbcc$

Bố Mẹ

↓

Con $AaBbCc$

Khi hoạt động siêu trội thì :

| | | |
|-------------|--------|--------|
| aabbcc | AABBCC | AaBbCc |
| | | |
| ----- ----- | | |
| Mẹ | Bố | Con |

Giá trị tính trạng do AaBbCc tạo nên sự vượt lên trên giá trị của tính trạng của aabbcc và AABBCC.

Cơ sở về hiệu quả trội, siêu trội được kiểm chứng ở sự đối lập giữa sức mạnh (tru thể) của con lai và mức thể hiện tính trạng yếu ở các dòng

chi phối, do các dòng tự phối xuất hiện nhiều gen lặn gây hậu quả xấu. Đối với các tính trạng số lượng do nhiều gen kiểm tra, mức thể hiện của tính trạng tăng khi các yếu tố trội tăng, mức dị hợp thể tăng, điều đó hoàn toàn phù hợp với cấu trúc di truyền của F_1 . Cần lưu ý rằng, trong thực tế ở các quần thể phân ly F_2 hầu như không tìm được dòng có độ lớn của tính trạng đạt mức F_1 . Điều đó là vì, sự thể hiện sức mạnh của tính trạng ở các con lai là kết quả tham gia của số lượng lớn các gen. Giả sử một tính trạng do n nguyên tố độc lập kiểm tra, ở quần thể phân ly F_2 dạng đồng hợp thể trội xuất hiện với tần suất $(1/4)^n$. Theo ước tính của W.R. Singleton, tính trạng năng suất ở ngô do khoảng 30 gen kiểm tra, phải có diện tích trồng ngô khoảng 2000 lần diện tích trái đất mới có thể tìm được một kiểu đồng hợp tử trội.

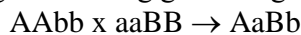
Ở góc độ hoá sinh, biểu hiện siêu trội có thể giải thích theo giả thuyết về liều lượng và tạo sản phẩm mới của con lai. Theo giả thuyết về liều lượng enzym ta có dạng Aa-cho mức liều lượng tối ưu, dạng aa-thiếu hụt, dạng AA-dư thừa, từ đó dẫn tới con lai F_1 (Aa) có ưu thế hơn các dòng bố, mẹ (AA, aa).

Có thể dẫn ra đây một trong nhiều ví dụ về sản phẩm mới ở con lai. Ở ngô locus E kiểm tra enzym esterase. Người ta đã nghiên cứu hai trạng thái enzym là F và S. Kết quả phân tích điện di cho thấy, từ cây đồng hợp tử $E^F E^F$ thu được esterase dạng F, từ cây $E^S E^S$ thu được esterase dạng S. Cây lai $E^F E^S$ thu được 3 băng trên băng điện dị ứng với hai dạng F, S và dạng mới (dạng lai F/S) nằm giữa F và S. Có thể dạng sản phẩm mới (lai) xuất hiện như một cấu trúc hoàn chỉnh và hiệu quả hơn trong sự đóng góp cho sự thể hiện của tính trạng.

2. Giả thuyết liên quan tới tương tác giữa các gen khác locus

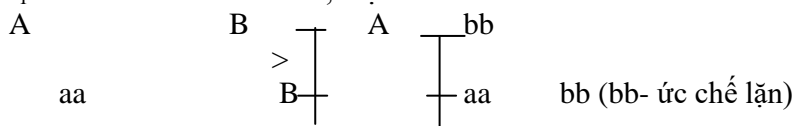
Nhóm giả thuyết này bao gồm những dạng tương tác giữa các gen khác locus gây nên hiệu quả ưu thế về tính trạng của con lai F_1 so với bố, mẹ.

- Hiệu quả tương tác bổ sung giữa các gen theo mô hình:



Các nhân tố di truyền riêng rẽ (các alen trội) ở hai bố mẹ có thể không, hoặc cho hiệu quả yếu hơn về sự thể hiện ra kiểu hình của tính trạng, sự cùng tồn tại của chúng ở F_1 tạo nên hiệu quả tương tác bổ sung giữa các gen, kết quả thu được sự thể hiện của tính trạng ưu thế hơn so với bố mẹ.

- Trong tương tác locus hoạt động của các gen này có thể bị phụ thuộc vào gen kia. Trong trường hợp một gen ở trạng thái lặn có thể gây ức chế sự thể hiện ra kiểu hình của tính trạng của các gen khác. Gen lặn này tồn tại ở bố, mẹ, song ở con lai F_1 được "lấp đầy" bởi gen trội, do đó hiệu quả ức chế không còn tác dụng, kết quả là sự thể hiện của tính trạng ở con lai F_1 có ưu thế hơn so với bố, mẹ.



Biểu hiện kiểu hình của tính trạng có thể do hiệu ứng tác động của gen chính (gen chủ) phối hợp tác động với một gen phụ (gen biến điệu,

gen điều chỉnh) ở các gen F₁ có thể thu được các tổ hợp đối với tổ hợp đối mới giữa các gen chủ với các gen điều chỉnh có hiệu quả cao hơn trong sự thể hiện của tính trạng so với bố, mẹ.

- Phân tích tổng hợp các kiểu tương tác của các alen cùng locus và các locus, đã cho phép rút ra hai kiểu tác động theo chiều thuận và theo chiều nghịch của các alen. Các tác động đó đã hình thành khái niệm về mối cân bằng di truyền, tính chất cân bằng nói lên một kiến trúc di truyền nào đó thể hiện tính thích ứng tốt với điều kiện ngoại cảnh. Ngược lại, một kiến trúc kém (không) cân bằng khi các tổ hợp alen của kiểu gen kém ổn định, kém cân đối trong quá trình phát triển của các tính trạng dẫn tới kiểu gen kém thích ứng.

Khái niệm cân bằng di truyền ở đây bao hàm:

- Cân bằng bên trong liên quan tới một trật tự các gen nào đó sắp xếp dọc theo nhiễm sắc thể, có thể dẫn tới một sự sắp xếp các gen có mức cân bằng tốt-cân bằng bên trong tốt.

- Ở một locus, các alen khác nhau của hai nhiễm sắc thể tương đồng có thể thiết lập nên mức cân bằng tốt về quan hệ giữa các alen-cân bằng quan hệ tốt.

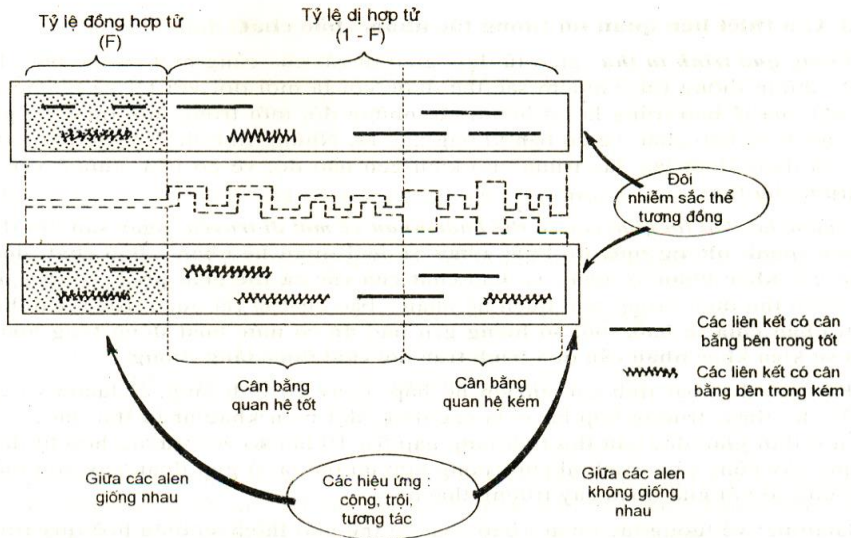
Sơ đồ cải tiến cân bằng bên trong diễn tả các gen a, b, c, d, với hai chỉ số 1 và 2. Giả sử cân bằng tốt được thiết lập khi ở mỗi locus 2 alen tương đồng có các chỉ số khác nhau (1, 2). Cân bằng bên trong tốt được thiết lập khi các gen (các chữ cái) có cùng chỉ số nằm trên các nhiễm sắc thể.

Cải tiến theo cân bằng bên trong

| ← | | → | |
|-------------------------------|----------------|-------------------------|--|
| Những kiểu gen không cân bằng | | Những kiểu gen cân bằng | |
| $a_1b_2c_1d_2$ | $a_1b_1c_1d_2$ | $a_1b_1c_1d_2$ | |
| $a_1b_2c_1d_2$ | $a_1b_2c_1d_2$ | $a_1b_2c_1d_1$ | |
| $a_1b_2c_1d_2$ | $a_1b_1c_1d_2$ | $a_1b_2c_1d_1$ | |
| $a_1b_2c_1d_1$ | $a_1b_2c_2d_2$ | $a_2b_2c_2d_2$ | |
| | | Kiểu gen lý tưởng | |

Xuất phát từ khái niệm di truyền: Cân bằng bên trong do chất lượng sự sắp xếp của các gen cùng một nhóm liên kết tạo nên, cân bằng quan hệ được thiết lập bởi tương tác giữa hai nhóm liên kết tương đồng, ta có thể diễn tả quan hệ này qua sơ đồ tổng quát giá trị kiểu gen kiến tạo cơ thể lưỡng bội nào đó (Hình 7.2). Ở mỗi nhiễm sắc thể trong một đơn bội của các dòng có các chất lượng khác nhau về các cân bằng bên trong (có những đoạn tốt, đoạn kém) khi phối hợp các dòng khác nhau tạo nên đôi nhiễm sắc thể tương đồng có những locus tương ứng là đồng hợp hay dị hợp thể. *Tùy theo tổ hợp các gen trên đôi nhiễm sắc thể tương đồng mà xuất hiện nhiều hay ít những locus có cân bằng quan hệ tốt và cân bằng bên trong tốt. Những mức cân bằng này được ghi nhận ở những*

hiệu quả thể hiện của kiểu gen (như cộng, trội, siêu trội, tương tác), từ đó quyết định những kiểu hình khác nhau.



Hình 7.2. Mô hình tổng quát về giá trị kiểu gen (theo Y. Demartly. 1978)

Trong thực tế khi xây dựng đánh giá tập đoàn các dòng, các giống (thuần), các dòng tự phối anh chị em ruột, anh chị em (1/2) để sử dụng vào các quá trình lai, là ta đã xây dựng một sự đa dạng tiềm năng theo hướng chất lượng về cân bằng bên trong. Những tổ hợp lai do chúng tạo nên chất lượng khác nhau về cấu trúc di truyền theo cân bằng bên trong và cân bằng quan hệ. Các mức cân bằng thu được tốt là cơ sở đảm bảo cho chọn lọc được chiếm ưu thế lai cao, thích ứng với các yếu tố môi trường.

3. Giả thuyết tương tác nhân-tế bào chất

Trong quá trình tự thụ phấn giao tử đực, giao tử cái của cùng một cá thể, các thông tin trên nhiễm sắc thể được coi là mới đối với tất cả những gì có ở tế bào chất của tế bào trứng là rất hiếm, tức những đổi mới trong mối quan hệ giữa các gen ở nhân và bào chất, về cơ bản không xảy ra. Các tương tác bên trong đã được thiết lập đặc trưng cho kiểu gen nào đó về cơ bản chúng vẫn tồn tại trong thụ tinh.

Ngược lại, khi lai giữa các cá thể khác nhau về mặt di truyền, ngay sau khi thụ tinh đã hình thành những mức độ khác nhau về mối quan hệ nhân-tế bào chất, do các nguồn gốc khác nhau về nhân và tế bào chất của các cá thể tham gia trong giao phối. Những đổi mới khác nhau thu được trong mối quan hệ nhân-tế bào chất là rất quan trọng. Có thể mở ra khả năng một số lần phân chia tế bào, một số lượng gen nào đó có mức hoạt động tăng cao hơn, từ đó nhiều sự kiện khác nhau của quá trình trao đổi chất cũng được tăng lên.

Kết quả do hoạt tính các enzym hô hấp ở cỏ linh lăng, H. Jacob và cs. (1976) cho thấy, trường hợp giữa các dòng đột biến khác nhau thu được hoạt tính enzym ở thời gian đầu sau khi thụ phấn tăng 5-10 lần so với trường hợp

tự thụ phấn. Kết quả này cũng giải thích nhiều trường hợp ưu thế lai ở giai đoạn non biểu hiện mạnh hơn so với giai đoạn trưởng thành.

Giả thuyết về tương tác nhân-tê bào chất có thể giải thích sự điều hoà quá trình phát triển được tăng tốc ngay sau khi thụ phấn ở trường hợp con lai. Ở đây có thể nói, thông tin di truyền được "trẻ hoá" từ ngay sau khi thụ tinh, trái với trường hợp tự thụ phấn, tự phối ở đó thiếu các tính thể "mới mẻ" của thông tin di truyền.

Hoạt tính của ty thể là một thông số đánh giá sự biểu hiện sức sống của con lai. Ở ngô, nghiên cứu hoạt tính hô hấp của ty thể ở cây non sau 4÷5 ngày tuổi, Sarkisan (1968) cho thấy, hoạt tính ở cây lai tăng hơn hẳn so với các dòng bố mẹ.

7.2.3. Tính toán và dự đoán ưu thế lai

Ta có thể tính toán ưu thế lai, về mặt lý thuyết thì ưu thế lai được tính toán theo phương pháp sau:

Xét ưu thế lai khi cho 2 quần thể (2 giống hay 2 dòng) lai với nhau, để đơn giản ta chỉ xét tại một locus gen với một cặp 2 alen.

| | | |
|----------------------|------|------|
| Alen | A | a |
| Tần số ở quần thể bố | p | q |
| Tần số ở quần thể mẹ | p' | q' |

Sự khác nhau về tần số gen giữa quần thể bố (P_1) và quần thể mẹ (P_2):

$$y = p - p' = q' - q \qquad p' = p - y \qquad q' = q - y$$

Ta có sơ đồ lai như sau:

| | | |
|----------------|------------|------------|
| Bố→ | A | a |
| Mẹ↓ | p | q |
| A $p' = p - y$ | $p(p - y)$ | $q(p - y)$ |
| a $q' = q + y$ | $q(q - p)$ | $q(q + y)$ |

Với các giá trị kinh tế của các kiểu gen như đã biết :

$$AA = +a \quad aa = -a \quad \text{và} \quad Aa = d$$

Giá trị của tính trạng ở quần thể bố, mẹ và con lai F_1 sẽ là :

$$M_{P_1} = a(p - q) + 2dpq$$

$$M_{P_2} = a(p - qy) + 2d(q - y)(q + y)$$

$$= a(p - q - y) + 2d[pq + y(p - q - y(p - y) - y^2)]$$

$$M_{P_1} + M_{P_2}$$

$$M_p = \frac{M_{P_1} + M_{P_2}}{2} = a(p - q - y) + d(2pq + y(p - y) - y^2)$$

$$M_{F_1} = a(p^2 - py - q^2 - qy) + 2dpq + dy(p - q)$$

Từ đó ta sẽ có ưu thế lai : $H_{F_1} = M_{F_1} - M_p$

$$H_{F_1} = a(p^2 - py - q^2 - qy) + 2dpq + dy(p - q) - a(p - q - y) + d(2pq + y(p - y) - y^2)$$

$$\mathbf{H_{F_1} = dy^2}$$

Trong đó :

- M_{P_1} là giá trị tính trạng ở quần thể bố,
- M_{P_2} là giá trị tính trạng ở quần thể mẹ,
- M_p là giá trị trung bình của tính trạng ở quần thể bố và mẹ,
- M_{F_1} là giá trị tính trạng ở quần thể con lai F_1 ,
- H_{F_1} là ưu thế lai của tính trạng của con lai F_1 ,

Quan các kết quả ở trên ta thấy ưu thế lai phụ thuộc vào 2 yếu tố:

- ▶ Mức độ hoạt động (giá trị kinh tế) của kiểu gen dị hợp ($Aa = d$),
- ▶ Sự khác nhau về tần số gen giữa quần thể bố và quần thể mẹ (y).

Trong trường hợp ta cần xem xét đồng thời nhiều tính trạng thì có thể cộng ưu thế lai của các tính trạng đó lại:

$$H_{F1} = \sum dy^2$$

Cần lưu ý các tính trạng có phương thức hoạt động ngược chiều nhau.

Như ở phần "giao phối cận thân" chúng ta đã biết, kể từ thế F_2 trở đi cứ qua mỗi thế hệ tự giao hay tự phối thì dị hợp thể giảm đi 50%, đó cũng là nguyên nhân để ưu thế lai đạt cao nhất ở thế hệ F_1 và thế hệ F_2 trở đi cứ mỗi thế hệ tiếp theo sẽ giảm đi một nửa (1/2):

$$H_{F2} = 1/2 H_{F1} = 1/2 dy^2$$

$$H_{F3} = 1/2 H_{F2} = 1/4 H_{F1} = 1/4 dy^2$$

Trong một quần thể có thể có nhiều dòng và giả sử ta chọn 2 dòng để lai, lúc đó ta sẽ có:

$$y^2 = 2\sigma^2q$$

Sự sai khác tần số gen của một cặp alen giữa hai dòng sẽ bằng 2 lần phương sai của tần số gen đó và được xác định bằng công thức :

$$\sigma^2q = pqF \quad y^2 = 2pqF$$

Ta đã biết mức độ suy hoá cận huyết của tính trạng khi bị đồng huyết là $dpqF$, vì vậy ưu thế lai $H_{F1} = dy^2 = 2dpqF$ nhưng ngược chiều.

Trong thực tế khi người ta muốn tính ưu thế lai cho một trường hợp nào đó thì có thể tổ chức lai thuận nghịch, tức là cho 2 giống hoặc 2 dòng định kiểm tra kết hợp với nhau 2 lần, đực của giống (dòng) I lai với cái giống (dòng) II, và cái của giống (dòng) I lai với đực giống (dòng) II. Tiến hành nuôi theo dõi kiểm tra thu thập số liệu. Khi đã có số liệu của các nhóm bố, mẹ và con lai thuận nghịch thì có thể tính ưu thế lai theo công thức:

$$H_F = \frac{\text{TB của } F_1 \text{ lai thuận nghịch} - \text{TB của bố mẹ}}{\text{TB của bố mẹ}} \times 100 (\%)$$

Nếu khi tổ chức lai tạo và muốn đánh giá ưu thế lai thì phải có đủ số liệu của 4 nhóm: Bố, mẹ, con lai thuận và con lai nghịch. Nếu không có đủ số liệu của 4 nhóm trên, ví dụ chỉ có một nhóm F_1 , do không lai thuận nghịch thì không thể tính ưu thế lai. Lúc đó chúng ta chỉ có thể nhận xét là con lai F_1 hơn hay kém so với giống bố hoặc mẹ, trung bình 2 giống bố mẹ.

Khi nói đến ưu thế lai nếu chỉ đơn thuần nghĩ đến sự tăng thêm, tăng cường của các tính trạng, khả năng thì sẽ là phiến diện. Bởi lẽ trong thực tế sản xuất, nhìn từ nhiều góc độ khác nhau, có tính trạng tăng (+) là tốt, song cũng có nhiều tính trạng giảm (-) mới tốt, như vậy có nghĩa là ưu thế bao gồm cả hai chiều tăng và giảm.

Trong nhiều trường hợp, nhất là các tính trạng năng suất do đa gen điều khiển, khi lai thì mức độ ưu thế lai nằm giữa 2 giống gốc, có khi thiên về giống này, có khi thiên về giống kia, đó là ưu thế lai trung gian.

Giải thích tính trung gian về di truyền người ta cho là do các gen tham gia đã có sự tương tác chứ không phải đơn thuần bổ sung cho nhau hoặc cộng gộp, các gen này không thay đổi (tính chất cộng gộp tích lũy của tính trạng số lượng), các gen tham gia điều khiển tính trạng đã nhân hoặc chia độ lệch từ kiểu gen gốc với một lượng không đổi nào đó. Trung bình của các con lai F_1 vì vậy sẽ gần với trung bình hình học, là căn bậc 2 của tích giữa các trung bình của cha mẹ gốc (F. Lasley, 1963).

Như vậy sự biểu hiện không còn là:

$$M_F = \frac{a_1 + a_2 + a_3 + \dots + a_n}{n}$$

Mà sẽ là :

$$M_F = \sqrt[n]{a_1.a_2.a_3....a_n}$$

Mức độ biểu thị của ưu thế lai cao hay thấp còn phụ thuộc vào tính trạng, giống, loài đem lai.

Gần đây người ta cho rằng, các tính trạng dễ bị suy hoá cận huyết thì cũng dễ có ưu thế lai. Các tính trạng không biểu hiện suy hoá cận huyết cũng như không biểu hiện ưu thế lai là các tính trạng có hệ số di truyền cao ($h^2 \geq 0,5$), đồng thời là kết quả của các gen cộng gộp.

Qua các công thức và những sự phân tích như trên, chúng ta có thể rút ra một số nhận xét về ưu thế lai như sau:

1. Khi một tính trạng được điều khiển bởi đa gen thì có thể xảy ra các trường hợp như sau:

▶ Các gen hoạt động cùng theo một hướng thì các tính trạng được tăng cường, dẫn tới có ưu thế lai cao hơn Σdy^2 ,

▶ Nếu các nhóm gen điều khiển tính trạng đều trội, song không cùng một hướng, thậm chí hoạt động ngược chiều nhau, ưu thế lai sẽ bị giảm,

▶ Ưu thế lai phụ thuộc vào chiều hướng hoạt động của các gen tham gia điều khiển tính trạng, mà hướng hoạt động của các gen trong cơ thể thì rất đa dạng, vì vậy ưu thế lai cũng có thể là âm.

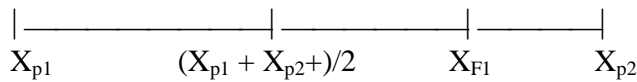
2. Mức độ đạt được của ưu thế lai là riêng biệt cho từng tính trạng. Sự khác biệt của 2 alen trong cùng một locus không như nhau giữa các cá thể trong cùng một giống, một dòng, . . . do vậy giá trị ưu thế lai khác nhau theo từng cặp alen, theo dòng, theo giống, . . .

3. Trong trường hợp lai khác dòng, nếu các dòng được sử dụng là cận huyết cao độ-có thể đạt tới mức đồng hợp thể, thì sự khác biệt về tần số gen giữa chúng là $0 \div 1$. Trong trường hợp như vậy $H_{F1} = \Sigma dy^2$ chỉ còn là $H_{F1} = \Sigma d$ (vì $y = 1$), tức là ưu thế lai bằng tổng giá trị kinh tế của các tính trạng của các cá thể ở dạng dị hợp thể tại các locus gen tham gia điều khiển tính trạng.

7.2.4. Dự đoán ưu thế lai

Để ước lượng mức độ thể hiện con lai F_1 nói chung, người ta đã sử dụng thông số gọi là độ trội (hp), thông số này diễn tả mức độ vượt lên của

tính trạng ở F_1 so với giá trị trung bình của bố và mẹ. Độ trội được trình bày theo sơ đồ sau:



Độ trội (hp) được xác định theo công thức sau :

$$hp = \frac{d}{a} = \frac{X_{F1} - [(X_{P1} + X_{P2})/2]}{1/2 (X_{P1} - X_{P2})}$$

Trong đó:

- X_{P1} , X_{P2} , X_{F1} là các giá trị trung bình của tính trạng ở các quần thể bố mẹ và con lai F_1
- d là mức độ vượt trội lên trên giá trị trung bình của bố mẹ ở con lai F_1
- a là giá trị của bố hoặc mẹ so với giá trị trung bình của chúng.

Theo công thức ở trên, độ trội có thể là một giá trị bất kỳ $-\alpha \div +\alpha$. Ta có thể phân biệt một số trường hợp sau:

- | | |
|---------------------|--------------------------------------|
| $-\alpha < hp < -1$ | - Siêu trội âm (ưu thế lai) |
| $-1 < hp < -0,5$ | - Trội âm |
| $-0,5 < hp < +0,5$ | - Di truyền trung gian |
| $+0,5 < hp < +1$ | - Trội dương |
| $+1 < hp < +\alpha$ | - Siêu trội dương (ưu thế lai dương) |

Ưu thế lai dương, nhìn chung được xem xét như tính ưu việt của con lai F_1 so với bố mẹ. Trong sản xuất, tính ưu việt của con lai F_1 phải đáp ứng được những đòi hỏi đặt ra của các điều kiện sinh thái, canh tác xác định, khi thấy ưu việt của con lai F_1 cần so sánh với một đối tượng chuẩn mực phù hợp. Chọn giống ưu thế lai là xác định tổ hợp lai của các bố mẹ nào đó. Càng có được nhiều tri thức về sự giải thích bản chất của ưu thế lai, càng có được nhiều và chính xác thông tin về tiềm năng di truyền của các tính trạng quan trọng của bố mẹ và khả năng thể hiện chúng ở F_1 , thì càng có được sự dự đoán tin cậy về ưu thế lai.

Cho tới nay, trong tạo giống ưu thế lai, những thực nghiệm phổ biến thường được áp dụng là xác định được khả năng kết hợp của bố, mẹ bằng một phương pháp truyền thống như lai *dialen*, lai *đỉnh*. Các thực nghiệm này đòi hỏi nhiều công sức.

Kiểu gen F_1 được hình thành do sự kết hợp giữa giao tử đực và giao tử cái của bố mẹ, đánh giá khả năng liên kết của các dòng bố mẹ chính là xác định hiệu quả tác động của các gen thu được ở F_1 trong sự biểu hiện của tính trạng.

Một dòng lai nào đó khi lai với nhiều dòng cho ra các nhóm F_1 có giá trị trung bình về độ lớn của tính trạng cao, ta nói (một cách so sánh) dòng ấy có khả năng kết hợp chung cao. Nếu trong các F_1 có kiểu nào đó có sự biểu hiện của tính trạng vượt hơn hẳn giá trị trung bình trên, ta nói tổ hợp lai có khả năng kết hợp riêng cao.

Theo Turbin (1969), về cơ bản khả năng kết hợp chung được kiểm tra bởi các hiệu ứng cộng tính của gen, còn khả năng kết hợp riêng liên quan tới hiệu ứng trội, tương tác giữa các gen locus và kết quả tương tác môi trường.

Giả sử ta có n dòng, giống tham gia vào các dialen, trường hợp lai theo cả 2 chiều thuận nghịch, số tổ hợp lai sẽ là $n(n-1)$, trường hợp lai theo một chiều ta sẽ có $[n(n-2)]/2$ tổ hợp lai. Trong thực hành có các mô hình bố trí thí nghiệm khác nhau, từ đó cần sử dụng mô hình xử lý tương ứng (trên vi tính) để xác định các khả năng kết hợp. Bên cạnh đó, phương pháp lai dialen còn cho phép xác định hệ số di truyền của tính trạng số lượng, có được những thông tin về ước lượng hiệu quả tác động cộng, trội của các gen kiểm tra tính trạng số lượng nghiên cứu.

Trong phương pháp lai đỉnh, có khả năng kết hợp của các dòng, giống nghiên cứu được xác định bằng cách tổ chức lai chúng với một số giống, dòng đã biết trước gọi là các giống, dòng thử.

Ngoài ra, để dự đoán sự thể hiện của tính trạng ở con lai F_1 có thể sử dụng mô hình phân tích tương quan giữa các tính trạng ở các bố mẹ tham gia vào tổ hợp lai. Sử dụng các phương pháp đánh dấu phân tử để dự đoán sự thể hiện của tính trạng ở con lai F_1 .

Ngày nay tạo giống ưu thế lai và sản xuất hạt lai F_1 được ứng dụng rộng rãi trên nhiều đối tượng cây trồng, vật nuôi. Tạo giống ưu thế lai là một trong những thành tựu rực rỡ nhất của di truyền ứng dụng, nó đã đem lại kết quả lớn cho sản xuất.

Ưu thế lai là một vấn đề thú vị, đang được nhiều người quan tâm và đang được ứng dụng nhiều trong thực tiễn sản xuất. Tất nhiên không phải cứ lai là có ưu thế lai. Thực tế đã chỉ ra cho chúng ta thấy: Cũng giống đó, công thức lai đó có nơi thì thu được ưu thế lai cao, có nơi thì thất bại. Muốn có được thành công trong công việc ứng dụng ưu thế lai đòi hỏi chúng ta phải vận dụng đúng đắn các nguyên lý của di truyền và mối tương tác của chúng với điều kiện ngoại cảnh.

7.2.5. Vấn đề duy trì ưu thế lai

Đối với các giống lai (F_1), khi nhân ra đời sau thông qua sinh sản hữu tính ta sẽ thu được thế hệ F_2 là quần thể phân ly. Khi đó giá trị trung bình của tính trạng của quần thể sẽ là một đại lượng giảm hơn so với đại lượng này ở F_1 (mức độ giảm có thể khác nhau giữa các tổ hợp lai). Đại lượng này sẽ tiếp tục giảm ở các thế hệ lai tiếp theo. Vì thế, nhìn chung trong sản xuất chỉ sử dụng giống lai ở một đời F_1 và cần có các công nghệ sản xuất ra khối lượng lớn hạt giống F_1 cho sản xuất (có tính đến hiệu quả kinh tế cao) đối với từng đối tượng cụ thể.

7.2.6. Phương pháp lai kinh tế

Lai kinh tế là hình thức lai đơn giản nhất, được sử dụng rộng rãi nhất cho hầu hết các cây trồng và vật nuôi để tận dụng ưu thế lai của con lai. Lai kinh tế là cho tạp giao giữa hai cá thể khác giống hoặc các cá thể của hai dòng lai phân hoá về mặt di truyền, cũng như giữa hai dòng cận huyết trong cùng một giống. Các con lai F_1 sinh ra chỉ tồn tại đại trà hay thương phẩm lấy sản phẩm thương mại (tiêu dùng), . . . không sử dụng làm giống.

Hiện nay trên thế giới, phương pháp lai này đang được dùng phổ biến, ví dụ: ở nhiều nước 80% sản phẩm tiêu dùng là sản phẩm của các cây, con lai kinh tế.

Lai kinh tế còn được gọi là "lai công nghiệp", vì phép lai này cũng cho ra sản phẩm hàng loạt như sản xuất công nghiệp.

Tùy theo mục đích mà người ta chia lai kinh tế thành:

+ *Lai kinh tế đơn giản*: Là cho lai giữa các cá thể của hai giống, hai dòng.

+ *Lai kinh tế phức tạp*: Bao gồm việc tổ chức cho lai giữa ba giống (dòng) trở lên. Lai ba, bốn giống với nhau, con lai sử dụng để sản xuất thương phẩm là có ý nghĩa thực tiễn.

Mục đích của lai kinh tế:

Lai kinh tế nhằm làm tăng mức độ dị hợp thể ở con lai và qua đó lợi dụng ưu thế lai. Mức độ tăng dị hợp thể phụ thuộc vào mức độ đồng hợp thể về các gen khác nhau thì mức độ dị hợp thể mong đợi ở con lai càng cao. Khi cho giao phối giữa các dòng cận huyết thì mức độ dị hợp thể của con lai sẽ có thể lớn hơn so với cho lai giữa hai dòng khác giống. Trong thực tiễn, ở một số trường hợp người ta không thu được ưu thế lai như mong đợi. Do vậy, cần thiết phải kiểm tra khả năng tổ hợp giữa các giống và các dòng, trên cơ sở đó có thể phát hiện được tổ hợp lai thích hợp nhất cho ưu thế lai cao.

Một số khó khăn đặt ra khi cần kiểm tra, đó là khi có số lượng giống và dòng quá nhiều thì tổ hợp lai cần kiểm tra sẽ tăng lên rất lớn, đặc biệt trong lai kinh tế phức tạp.

Để có thể giảm chi phí trong việc kiểm tra khả năng phối hợp, nhất là trong trường hợp lai phức tạp, cần phải:

- Căn cứ vào mục tiêu lai giống và đặc điểm của của các giống tham gia.

- Dựa vào các thành tựu trong lĩnh vực di truyền, đặc biệt là di truyền học, sinh lý và sinh hoá để phát hiện khả năng xuất hiện ưu thế lai ở những tổ hợp lai dự kiến.

- Lợi dụng các kết quả lai kinh tế đơn giản để giảm số tổ hợp kiểm tra.

Trong những năm gần đây, tổng sản lượng của nuôi trồng thủy sản của nước ta đã đạt được những con số đáng khích lệ. Lượng hàng hóa thủy sản xuất khẩu ngày càng tăng, thu ngoại tệ năm sau cao hơn năm trước.

Ngoài những nhân tố về quản lý Nhà nước, chế độ chính sách, các biện pháp kỹ thuật và đầu tư, . . ., thì giống có một vai trò đặc biệt quan trọng trong việc nâng cao năng suất và sản lượng nuôi trồng. Các giống mới là kết quả của việc áp dụng các nguyên lý di truyền vào công tác chọn lọc và lai tạo giữa các giống nhằm tạo ra và tận dụng khai thác ưu thế lai của các con lai. Tổ chức lai tạo, tạo ra được ưu thế lai, làm thế nào để duy trì được ưu thế lai và đặc biệt làm thế nào để tiềm năng ưu thế lai

ở con lai được phát huy là vấn đề đòi hỏi phải có được một sự hiểu biết đầy đủ về ưu thế lai.

7.2.7. Lai tế bào soma

7.2.7.1. Tế bào trần và dung hợp tế bào trần

Tế bào trần thực vật là tế bào đã được hủy bỏ vỏ cứng (thành tế bào) bằng thủy phân enzym. Công nghệ nuôi cấy tế bào trần bao gồm các công đoạn sau:

- Vật liệu vô trùng là các mô, lá hoặc tế bào callus, tách rời,... được đưa vào ủ ở môi trường có hỗn hợp các enzym để phân hủy thành cứng giải phóng tế bào trần. Ví dụ, ở cà chua ủ mô lá trong môi trường có hỗn hợp 2% pectinonol và 1,5% cellulozysime, hoặc hỗn hợp 0,3% driselase, 0,2% cellulysine và 0,3% macerozyme, . . . sau đó các tế bào trần được thanh lọc.

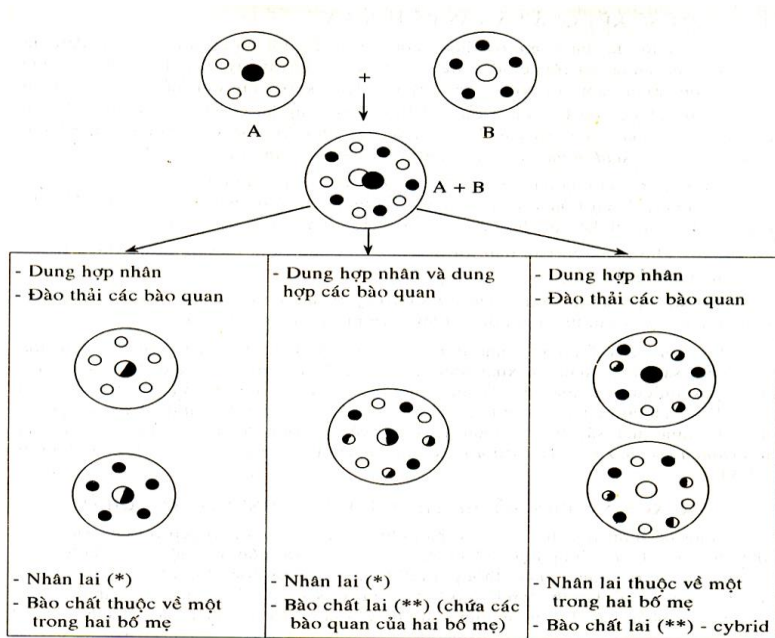
- Các tế bào trần được đưa vào môi trường nuôi cấy để tạo các khối tế bào,

- Thu cây tái sinh từ nuôi cấy tế bào trần.

Kỹ thuật tế bào trần được áp dụng trong công tác nghiên cứu sau:

- Các thực nghiệm chuyển gen.

- Các thực nghiệm lai soma bằng cách dung hợp hai tế bào trần của hai loài khác nhau.



Hình 7.3. Sơ đồ diễn tả những khả năng xảy ra đối với nhân và các bào quan trong dung hợp tế bào trần

Lai tế bào soma giữa hai loài khác nhau có ý nghĩa lớn, nhất là khi sử dụng lai hữu tính gặp khó khăn, không thu được con lai xa (do các cơ thể cách ly giữa các loài), hơn nữa sử dụng lai soma có thể cho phép phối hợp hai bộ genom của 2 loài khác xa nhau.

1. *Sử dụng hoá chất Polyethylenglycol (PEG)*: Trong môi trường PEG tạo lực hút các tế bào trần, khi hai tế bào gặp nhau chúng có thể dung hợp với nhau.

2. *Sử dụng xung điện*: Dung dịch bao gồm các tế bào trần được đưa vào điện trường, chúng xếp thành các dãy. Khi có xung điện trong một thời gian rất ngắn, vùng tiếp xúc ở 2 màng của 2 tế bào trần bị vỡ và chúng dung hợp lại với nhau.

Sự dung hợp hai tế bào của 2 loài A và B trong môi trường xảy ra ngẫu nhiên dẫn tới các khả năng dung hợp sau (dùng dấu + để chỉ sự dung hợp-lai soma, phân biệt với trường hợp dấu x trong lai hữu tính):

$A + B \rightarrow AB$ - tế bào nhân, tức là tế bào soma.

$A + A \rightarrow AA, B + B \rightarrow BB$ - tế bào đồng nhân (không phải thể lai soma).

Ở tế bào dị nhân, sự hợp nhất 2 nhân không xảy ra ngay sau khi dung hợp, mà có thể xảy ra sau một số ngày. Hai bộ nhân của 2 loài cũng có thể được hợp nhất vào 2 chu kỳ phân bào nguyên nhiễm đầu tiên. Sự vận động của 2 bộ nhiễm sắc thể có thể xảy ra song song, sau pha trung kỳ 2 bộ nhiễm sắc thể có thể hợp nhất ở pha hậu kỳ.

Bên cạnh đó, còn xảy ra những khả năng biến đổi thành phần di truyền ở tế bào chất (ty thể, lạp thể). Hình 7.3 diễn tả những khả năng xảy ra đối với nhân và các bào quan trong quá trình dung hợp tế bào trần.

7.2.7.2. *Chọn lọc thể lai soma:*

Để xác định sản phẩm của sự dung hợp và tế bào lai soma (tế bào dị nhân) người ta có sử dụng nhiều phương pháp lai khác nhau liên quan tới sự đánh giá các thể hiện chỉ thị ở thể lai (thể hiện tính trạng ở thể lai khác với tính trạng ở 2 bố mẹ riêng rẽ).

Dung hợp 2 dạng thuốc lá bạch tạng, thu được thể lai màu xanh (tương tác bổ sung giữa các gen khác locus). Sự thể hiện trội không hoàn toàn như xanh + bạch tạng \rightarrow xanh sáng (xanh nhạt) đã được áp dụng trong chọn lọc thể soma khi dung hợp *Nicotiana tabacum* + *N. knightiana* : *Danus carota* + *D. cappillifolius*, . . .

Trong môi trường nuôi cấy có thể sử dụng hiệu quả phát triển sinh lý ở khối tế bào soma để chọn lọc. Ví dụ, bố mẹ khối callus phát triển chậm (kém), trong khi đó khối callus lai phát triển mạnh. Hoặc thể lai cho khả năng tái sinh cây lớn hơn ở bố mẹ. Dung hợp *Nicotiana sylvestris* + *N. knihtiana*, callus của 2 bố mẹ có khả năng sống tạo chồi kém, trong khi đó callus của thể lai có khả năng tạo chồi cao hơn. Có thể sử dụng môi trường nuôi cấy khác nhau để chọn lọc, Ví dụ, *Nicotiana glanca* + *N. langsdorffii*, callus của bố mẹ phát triển ở môi trường có phytohormon, callus của thể lai có thể phát triển trong môi trường không có phytohormon.

Sử dụng gen chỉ thị kết hợp với môi trường chọn lọc thể lai: Ví dụ, *Pelunia hybrida* mang đột biến bạch tạng + *P. Parodu* (xanh), tiến hành chọn lọc callus xanh trong cùng môi trường nuôi cấy, callus của thể lai có khả năng cao về tái sinh cây, callus của *P. parodu* không có khả năng tái sinh cây.

Sử dụng các đột biến chống chịu với tác động của một số chất để chọn lọc thể lai. Ví dụ, sử dụng gen kháng 5 - methyl tryptophan (5 MT) ở *N. tabacum* khi dung hợp với *N. glutinosa*, gen kháng streptomycin ở *L. peruvianum* var. *dentatum* 3767 khi dung hợp với *L. esculentum*,....

• Các phân tích khác nhau được triển khai ở quần thể cây tái sinh nhằm phân lập thể soma và nghiên cứu sự đa dạng di truyền của chúng.

- Các quan sát hình thái, các thử nghiệm chống chịu, . . .

- Phân tích bộ nhiễm sắc thể nhằm phát hiện ra các kiểu nhân lai cân xứng gồm hai bộ nhiễm sắc thể trọn vẹn của hai loài: 2A + 2B (dung hợp hai bộ lưỡng bội), A + B (dung hợp hai bộ lưỡng bội), phát hiện các kiểu đảo thái (loại trừ) nhiễm sắc thể của hai loài không cân xứng, ...

- Phân tích đa hình protein.

- Phân tích đa hình các đoạn cắt ADN của nhân và các cơ quan tử (phương pháp RFP) và các phương pháp phân tử đánh dấu.

7.2.7.3. Một số kết quả đạt được và vấn đề đặt ra

Ngoài thuốc lá, lai soma đó thành công ở nhiều đối tượng khác như ở *Petunia*, khoai tây, cà chua, cà rốt, cà độc dược,.... Ví dụ, ở khoai tây đã dung hợp được *Solanum* (nhạy cảm với virus làm cong lá) với dạng khoai tây dại *S. brevidens* (kháng virus) đó thu được con lai soma kháng virus làm cong lá. Ở cà chua đó dung hợp tế bào trần cà chua trồng và các loài hoang dại như *Lycopersicon esculentum* + *L. peruvianum*, *L. esculentum* + *L. pennellii*, *L. peruvianum* + *L. pennellii*, . . .

Người ta đã thu được kết quả lai soma giữa các loài khá xa nhau: Cà chua + khoai tây (con lai soma có tên Pomato), cà chua + *Petunia*, *Arabidopsis* + *Brassica*,.... Cho tới nay, thu được nhiều kết quả hơn về lai soma là ở họ cà và hoa thập tự.

Những khó khăn cơ bản dẫn tới hạn chế việc mở rộng ứng dụng kỹ thuật tế bào trần, lai soma đó là:

- Những khó khăn trong việc tái sinh cây từ nuôi cấy tế bào trần ở nhiều đối tượng quan trọng như lúa, ngô, đậu tương,....

- Ở nhân của thể lai soma xảy ra các biến cố - các kiểu gen đảo thái, loại trừ nhiễm sắc thể đã dẫn tới xuất hiện các dạng đa nhiễm (các dạng bội lệch) khác nhau, gây nhiều hậu quả xấu. Chúng thường bị bất dục hoàn toàn hay bất dục một phần. Khi nghiên cứu về số lượng nhiễm sắc thể ở các cây tái sinh có nguồn gốc tế bào lai soma quan sát thấy sự biến động lớn về nhiễm sắc thể, Ví dụ, trường hợp *Daucus carota* + *D. capillifolius* số nhiễm sắc thể ở các cây tái sinh biến động từ 34÷54.

7.2.7.4. Lai soma-biến đổi hệ thống di truyền tế bào chất

Trong lai hữu tính, về cơ bản hệ gen ở bào chất di truyền qua tế bào trứng, trong dung hợp tế bào trần, tế bào lai bao gồm hai bộ nhân của 2 loài và tập hợp các bào quan mang thông tin di truyền của cả 2 tế bào đó. Vấn đề đặt ra bộ gen của các ty thể, lục lạp tập hợp ở tế bào lai ra sao? Thực nghiệm cho thấy, sau nhiều lần phân bào, thành phần về ty thể, lục lạp không còn như thành phần ban đầu ở tế bào lai. Ở đây xảy ra những quá trình tránh thoát (loại bỏ) khác nhau, dẫn tới các dòng tế bào về sau có

thể là quá trình tự xảy ra, hoặc do tác động của môi trường nuôi cấy (có thể dẫn tới sự loại bỏ có chọn lọc về bào quan).

Như vậy trong trường hợp tế bào trần, thể lai có nhiều khả năng phối hợp khác nhau về thành phần di truyền tế bào chất của hai bố mẹ. Trong đó, thể lai có chỉ chứa hoặc lap thể của bố mẹ này, hoặc ty thể của bố mẹ kia. Sử dụng phương pháp phân tích RFLP cho phép không những xác định nguồn gốc của các ty thể, lap thể ở dạng lai, mà còn có thể phát hiện ra những ty thể, lap thể mang ADN tái tổ hợp (ty thể, thể lai).

Như đã biết, trong lai hữu tính có thể sử dụng phương pháp lai bão hoà để thu dạng lai có bào chất của dạng một + nhân của dạng hai. Trong dung hợp tế bào trần ta có thể thu được nhiều khả năng phối hợp nhân + thành phần các bào quan, từ đó thu được nhiều kiểu cải biến di truyền mà trong lai hữu tính không cho phép.

Ở thuốc lá, bào chất của thể lai soma thường chứa 2 dạng lục lạp của hai dạng bố mẹ. Song trong nhiều trường hợp có thể thu được tế bào soma chỉ chứa một dạng lục lạp, Ví dụ, *N. nesophila* + *N. tabacum* thể lai chỉ chứa lục lạp kiểu *N. nesophila*.

Trong lai soma có thể xảy ra hiện tượng không dung hợp nhân, dẫn tới một kết quả là trong 2 bộ nhiễm sắc thể của tế bào lai soma bị loại. Từ đó thu được thể lai soma có thành phần di truyền ở tế bào chất là lai giữa 2 loài, còn nhân chỉ phụ thuộc một loài. Thể lai đó gọi là lai bào chất (cybridid), thể lai này có nhiều ý nghĩa trong chọn giống.

Khi tiến hành lai soma giữa các loài cải thuộc *Brassica* và *Raphanus*, người ta đã thu được kiểu phối hợp nhân với các thành phần bào quan như sau: Nhân thuộc dạng *Brassica napus*, bào chất chứa lục lạp có tính kháng atrazin nguồn gốc từ *Brassica campestris*, ty thể là dạng gây bất dục có nguồn gốc *Raphanus sativa*.

Như vậy, phương pháp lai tế bào cho phép chuyển nạp thành phần bào quan, bên cạnh đó có thể xuất hiện những bào quan tái tổ hợp. Ngoài ý nghĩa thực hành, thể lai bào chất (cybridid) còn có ý nghĩa lớn trong nghiên cứu mối quan hệ giữa nhân và tế bào chất trong sự thể hiện di truyền của tính trạng.

7.2.8. Tạo cây đơn bội

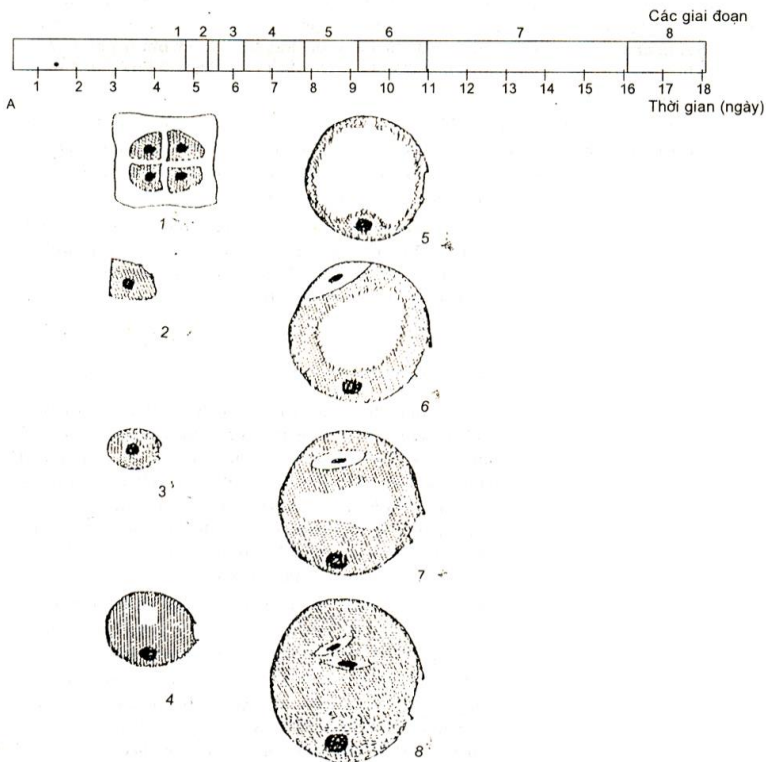
Trong bao phấn, sự phát triển của hạt phấn xảy ra khi hình thành tiểu bào tử (sau giảm phân) tới khi hạt phấn chín. Qua trình này bao gồm nhiều giai đoạn khác nhau. Mốc quan trọng trong quá trình phát triển hạt phấn là giai đoạn xảy ra sự phân chia giảm nhiễm lần thứ nhất. Ở một số loài thuộc dòng họ hoà thảo thời gian từ khi hình thành tiểu bào tử tới khi hạt phấn chín kéo dài khoảng 17-18 ngày, trong đó giai đoạn trước phân bào giảm nhiễm I (hạt phấn có nhân) kéo dài 7-8 ngày. Giai đoạn tối ưu của hạt phấn đưa vào nuôi cấy là giai đoạn trước xảy ra phân chia nguyên nhiễm I.

Tiểu bào tử (trước khi phân chia giảm nhiễm I) có các tiềm năng phát triển sau:

1. Trong trường hợp bình thường, giảm nhiễm I xảy ra theo cơ chế phân chia đều, tế bào chất phân chia không đều, dẫn tới việc hình thành tế bào lớn (tế bào phát triển) và tế bào nhỏ (tế bào phát sinh), tiếp theo xảy ra sự phân chia nhân tế bào phát sinh tạo thành 2 tinh trùng.

2. Trong trường hợp nuôi cấy in vitro, giảm nhiễm I xảy ra với sự phân chia đồng đều về tế bào chất, từ đó phát triển thành khối tế bào dạng phôi hoặc khối tế bào callus.

Như vậy, trong môi trường nuôi cấy nhân tạo, tín hiệu đầu tiên quyết định hướng phát triển của tiểu bào tử khác với trường hợp bình thường là sự phân chia đều về tế bào chất của giảm nhiễm I, nó trở thành tế bào có tiềm năng phát triển phôi, tức là mang tính toàn năng như tế bào soma bất kỳ.



Hình: 10.4. Các giai đoạn (gđ) phát triển của hạt phấn ở cây hòa thảo
 1. gđ bào tử; 2. gđ phóng các tiểu bào tử; 3. gđ trước hình thành không bào, đã hình thành vỏ ngoài hạt phấn; 4. gđ bắt đầu có không bào; 5. gđ không bào giữa; 6. gđ không bào muộn; 7. gđ. hạt phấn chuẩn bị chín; 8. gđ hạt phấn chín. Trạng thái nhân: 1→3: G₁; 4: S và G₂; 5. phân bào giảm nhiễm I; 6. đã hoàn thành giảm nhiễm I, hạt phấn 2 nhân; 7-8. hoàn thành giảm nhiễm II ở tế bào phát sinh, tạo 2 tinh tử.

Nuôi cấy tiểu bào tử bao gồm các công đoạn sau:

- Xác định giai đoạn phát triển của tiểu bào tử để đưa vào nuôi cấy,

- Đưa vào môi trường tạo khối tế bào dạng phôi, hoặc khối tế bào callus,
- Tái sinh cây và nuôi dưỡng,
- Đưa ra bầu đất.

Ở đa số đối tượng cây trồng, nuôi cấy tiểu bào tử thường được triển khai dạng cả bao phần được đưa vào môi trường nuôi cấy, trường hợp này được gọi là nuôi cấy bao phần. Sau một thời gian nuôi cấy thành bao phần nứt ra, các khối tế bào callus hoặc các khối tổ chức dạng phôi soma phát triển từ tiểu bào tử có thể được bật ra ngoài bao phần. Tuy nhiên, trong nuôi cấy bao phần, các tế bào thành bao phần (2 nhiễm sắc thể) có thể phát triển thành callus, vì thế ta cần tách riêng các khối tế bào có nguồn gốc từ các tiểu bào, vì từ chúng có thể thu được cây đơn bội.

Ở một số đối tượng như thuốc lá, cà độc dược, . . . các tiểu bào có thể được tách ra khỏi bao phần để đưa vào môi trường nuôi cấy. Trường hợp này được gọi là nuôi cấy tiểu bào tử phân lập.

Trong môi trường cấy tiểu bào tử, kết quả thu được sự phụ thuộc nhiều vào các kỹ thuật, môi trường nuôi cấy. Bên cạnh đó tần số thu các cây tái sinh còn phụ thuộc lớn vào kiểu gen. Ví dụ, ở lúa, các giống ngô có nguồn gốc Japonica thường cho tần số cây tái sinh cao hơn nhiều so với tần số này ở các giống có nguồn gốc India.

7.2.9. Một số đặc điểm của cây thu được từ nuôi cấy tiểu bào tử

Trong nuôi cấy bao phần thường có các biện pháp nhằm tách các cây thu được tế bào $2n$ của thành phần bao phần. Cây tái sinh có nguồn gốc từ tiểu bào tử (n nhiễm sắc thể) hoặc tồn tại ở các trạng thái đơn bội, hoặc có thể xảy ra quá trình tự nhân đôi bộ nhiễm sắc thể dẫn tới sự hình thành cây đơn bội, lưỡng bội hoá. Bên cạnh đó còn thu được một tần số nào đó các cây đa bội hay lệch bội.

Kỹ thuật nuôi cấy tiểu bào tử thành công chủ yếu ở các loài thuộc một số chi của họ cà, ở ngũ cốc-lúa, lúa mì và ở một số đối tượng khác nhau như măng tây, cải.

Ở quần thể cây tái sinh thu được qua nuôi cấy tiểu bào tử thường có tần số cây bạch tạng cao. Nguyên nhân của hiện tượng nêu này, nhiều ý kiến cho rằng quá trình nuôi cấy tiểu bào tử đó làm nghèo đi nhiều thành phần di truyền ở tế bào chất như ty thể, lạp thể. Tác động của nuôi cấy có thể gây nên một số đột biến ở nhân và các bào quan khác.

Nuôi cấy tiểu bào tử có một số ứng dụng sau:

1. Tạo các đột biến và chọn lọc ở mức đơn bội,
2. Chuyển nạp gen ở mức độ đơn bội,
3. Các cây đơn bội lưỡng bội hoá - tạo dòng đồng hợp tử, chúng có nhiều ứng dụng di truyền và chọn giống cây trồng.

Bên cạnh phương pháp nuôi cấy bào tử, trong thực nghiệm đó sử dụng nhiều phương pháp tạo cây đơn bội khác như: Lợi dụng các kiểu sinh sản mẫu sinh, sinh sản không giao tử, đặc biệt đã ứng dụng hiện tượng không dung hợp sau hợp tử - đào thải bộ nhiễm sắc thể của bố hoặc mẹ ở phân chia nguyên nhiễm của hợp tử. Ví dụ điển hình về hiện

trạng này có thể tìm thấy ở tổ hợp lai giữa lúa mạch trồng và lúa mạch dại: *Hordeum vulgare* ($2n = 14$) x *H. bulbosum* ($2n = 14$), sau khi hình thành hợp tử, bộ nhiễm sắc thể của thể loài dại *H. bulbosum* bị đào thải. Sử dụng loài dại này trong tạo cây đơn bội còn gọi là phương pháp *Bolbosum*. Khi lai mạch trồng *H. vulgare* với một loài mạch dại khác *H. leporum*, *H. secalinum*, *H. arzanicum*, *H. jiborum*, *H. lechleri* cũng xảy ra hiện tượng tương tự. Các nghiên cứu cho thấy, yếu tố gây hiện tượng đào thải nhiễm sắc thể nằm ở hai vai của nhiễm sắc thể số 2 và ở vai của nhiễm sắc thể số 3.

7.2.10. Nuôi cấy phôi

Xúc tiến việc nuôi cấy trong môi trường nhân tạo còn là con đường để thu nhận các cây, kỹ thuật này còn được áp dụng ở những trường hợp sau:

1. Các phôi kém phát triển, không có sức sống thu được trong lai xa giữa loài,
2. Bảo toàn tính đa dạng (các kiểu tái tổ hợp) ở quần thể phân ly,
3. Hạt không nảy mầm ở điều kiện thông thường, hạt có thời gian ngủ nghỉ lâu,
4. Nuôi cấy phôi non trong thực nghiệm tạo cây tái sinh và tác dụng chọn lọc in vitro.

7.2.10.1. Nuôi cấy phôi trong lai xa

Trong lai xa giữa các loài, nhất là giữa các chi, nhiều biến cố có thể xảy ra đối với quá trình phát triển phôi và nội nhũ như: Xuất hiện các không bào trong bào chất, bào chất nghèo các cơ quan tử. Mất cân đối trong phát triển của phôi và nội nhũ, nhiều trường hợp nội nhũ phát triển chậm và không hoàn chỉnh, hoặc phôi bị đình trệ ở một giai đoạn nào đó không phát triển tiếp, . . . Nội nhũ kém hoàn chỉnh cũng là một trong những nguyên nhân làm cho phôi của con lai xa kém sức sống (do chức năng dinh dưỡng không đảm bảo). Sức sống và nảy mầm của phôi nằm trong mối quan hệ phôi-nội nhũ.

Nuôi cấy phôi trong lai xa trong môi trường nhân tạo có tác dụng khắc phục những thiếu hụt mà nội nhũ không đủ đảm nhận, hoàn thiện phát triển phôi để thu nhận cây lai xa.

Nhiều kết quả thực nghiệm đó thu được cây lai xa có sức sống nhờ nuôi cấy phôi, nếu để ở điều kiện bình thường (in vivo) phôi sẽ mất sức sống. Có thể dẫn ra đây một số ví dụ:

- Lai khác loài ở cà chua: *L. esculentum* x *L. peruvianum*
- Lai khác loài ở Phascolus: *P. vulgaris* x *P. acutifolius*, *P. vulgaris* x *P. retensis*, *P. mungo* x *P. calaratus*, . . .
- Lai khác loài ở lúa mạch: *Hordeum vulgare* x *H. bulbosum*, *H. jabatum* x *H. spontanerum*, . . .
- Lai các loài lưỡng bội và tứ bội ở cỏ ba lá: *Trifolium repens* x *T. ambigum*, *T. ambigum* x *T. hybridum*, ở cỏ Medicago: *Medicago truncatula* x *M. orbicularis*, . . .

- Lai giữa các chi thuộc họ hòa thảo: *Hordeum*, *Triticum*, *Agropyrum*, *Sesale*. Ví dụ, *Hordeum vulgare* Linn. x *Agropyrom rapeus* Linn., *Hordeum vulgare* Linn. x *Triticum aestivum*, . . .

Nhiều trường hợp lai xa được tách ra đem nuôi cấy ở giai đoạn mà sự phát triển không bình thường của phôi chưa xảy ra đã thu được các cây lai. Ví dụ, *Gossypium arboreum* Linn. ($2n = 26$) x *G. hirsutum* Linn. ($4n = 52$), *Carica papaya* x *C. cauliflora*, *Alium cepa* x *A. fistulosum*, *Solanum melongena* x *S. khasianum*, . . . Lai xa và nuôi cấy phôi cũng đã thu được nhiều kết quả ở cà phê.

Ngành hoa phong lan thương mại thu được lợi nhuận cao, ở vườn thực vật quốc gia Singapore nuôi cấy phôi phong lan phát triển rất mạnh, đó thu được 1.431 dạng lai và 142 loài tự thụ phấn ở phong lan.

7.2.10.2. Nuôi cấy phôi và một số ứng dụng khác

Khắc phục hiện tượng hạt tự mất sức sống, đó là trường ở điều kiện thông thường hạt không nảy mầm được, Ví dụ, hạt chuối *Musa balbisiana* Colla không nảy mầm ở điều kiện tự nhiên, khi đưa vào môi trường nhân tạo hạt đã nảy mầm.

Khắc phục hiện tượng hạt ngủ nghỉ lâu, việc này có ý nghĩa lớn cho việc gieo trồng liên tiếp, rút ngắn thời gian giữa các thế hệ. Ví dụ, ở *Magnolia saulangeana*, Iris, hoa hồng, . . . có thể rút ngắn thời gian 2-4 tháng.

Hạt của nhiều loài có tính chất photoplastic (hoạt hóa mầm dưới tác dụng của ánh sáng). Hạt rau *Laetura sativa* khi giữ lâu trong bóng tối sẽ bị mất sức nảy mầm. Tuy nhiên, khi hạt được bóc trần ra thì chúng vẫn nảy mầm được trong bóng tối. Người ta cho rằng, dưới tác động của ánh sáng tế bào hình thành một enzym, nó có tác dụng phân hủy nội nhũ và vỏ ngoài làm vỡ độ bền cơ học và do vậy phôi có thể nảy mầm được. Hiện tượng này đã quan sát được ở nhiều loài khác nhau.

Trong nghiên cứu sự đa dạng di truyền của quần thể (ví dụ, các kiểu tái tổ hợp của quần thể phân ly) có thể xảy ra hiện tượng: Ở điều kiện gieo trồng thông thường phôi của một số kiểu gen nào đó bị đào thải (do sức sống yếu), nuôi cấy phôi có thể khắc phục được sự đào thải này, bảo toàn sự đa dạng của các kiểu gen phục vụ cho các mục tiêu chọn lọc.

Ứng dụng nuôi cấy phôi trong các thực nghiệm chọn phôi ở môi trường nuôi cấy có bổ sung tác nhân chọn lọc (mặn, các toxin của nấm bệnh, . . .).

7.2.10.3. Nuôi cấy phôi non

Trong nhiều trường hợp, phôi non được sử dụng như một trong các dạng mô được đưa vào nuôi cấy in vitro, nhằm tạo các callus (hay khối tế bào có thể phôi) và thu cây tái sinh. Quá trình này nằm trong thực nghiệm tác động chọn lọc ở in vitro, thu các biến dị dòng tế bào, . . . Ví dụ, ở lúa mì người ta đã sử dụng mô nuôi là các phôi non (immatura embryos, . . .) ở in vitro và thu cây tái sinh.

Chương 8

ỨNG DỤNG KỸ THUẬT DI TRUYỀN TRONG CÂY TRỒNG

Những thành tựu mang tính cách mạng trong di truyền phân tử diễn ra từ những năm thuộc thập kỷ thứ 70 của thế kỷ XX đã mở khả năng ứng dụng to lớn của nó trong đời sống kinh tế xã hội, trong chọn lọc các giống sinh vật mới. Những phương pháp về kỹ thuật ADN tập trung vào hai ứng dụng cơ bản:

1. Chọn lọc và chuẩn đoán kiểu gen bằng các phương pháp chỉ thị (marker) phân tử.

2. Chuyển nạp gen đặc trưng tách dòng, nhân bản dòng và nhân bản gen, chuyển nạp gen và tế bào nhận để biến đổi định hướng kiểu gen theo kế hoạch để phục vụ cho lợi ích của con người, vấn đề sử chữa các bệnh di truyền.

Các phương pháp của kỹ thuật di truyền kế tục và bổ sung cho các phương pháp nghiên cứu di truyền và chọn giống như đã được trình bày trong các phần trước, chúng đã giúp cho khoa học đi sâu vào tìm hiểu bản chất sự sống và mở rộng khả năng cải tạo sinh giới.

8.1. Các enzym giới hạn và các đoạn cắt ADN

8.1.1. Các enzym giới hạn và tính chất của chúng

Vào những năm cuối 50, S. Luria trong thí nghiệm lây nhiễm Phage T₂ vào vi khuẩn *E. Coli* nòi B/4 đã quan sát thấy thế hệ sau của Phage còn khả năng sinh sản trong tế bào vật chủ. Như thế có nghĩa là tế bào vật chủ có tính chất hạn chế sự sinh sản của Phage ở tế bào bị nhiễm nhiều nghiên cứu đã chứng tỏ rằng, trong tế bào vi khuẩn có những enzym đặc biệt, chúng có khả năng nhận biết ADN "lạ" của Phage xâm nhập vào và phân hủy chúng làm hạn chế sự sinh sản của Phage. Từ đó chúng được gọi là *enzym hạn chế* (restriction enzyme).

Các enzym hạn chế ADN lạ xâm nhập vào tế bào vi khuẩn mà không cắt ADN của chính mình. Xảy ra điều đó là vì bên cạnh enzym giới hạn, ở vi khuẩn còn tồn tại một enzym đặc biệt gọi là enzym sửa đổi. Enzym này có tác động bổ sung một nhóm phân tử như nhóm methyl vào gốc bazơ của ADN tế bào chủ làm cho nó khác với ADN lạ (bị sửa đổi), vì thế nó không bị cắt bởi enzym giới hạn, hiện tượng tác động cặp đôi của hai thế hệ enzym này gọi là *hiện tượng giới hạn-sửa đổi*.

Năm 1970 người ta đã xác định được hoạt động của enzym giới hạn. Các enzym này nhận biết một trật tự nucleotit đặc thù trong phân tử ADN và cắt ADN tại vị trí đó. Sự cắt này xảy ra tại liên kết photphodiester, giống như các enzym endonuclease (cắt ở trong ADN), vì thế các enzym giới hạn còn được gọi là restriction endonuclease.

Ở vi khuẩn đã chiết xuất được nhiều enzym khác nhau. Cho tới nay, ở các sinh vật nhân sơ nói chung đã chiết tách được hơn 100 loại enzym giới hạn. Các enzym giới hạn này không tìm thấy ở sinh vật nhân chuẩn.

Theo phương thức cắt ADN, các enzym giới hạn được chia thành hai nhóm sau: Nhóm 1 bao gồm các enzym có khả năng nhận biết một đoạn trình tự đặc hiệu các cặp nucleotit (điểm nhận biết) và sau đó cắt ADN ở vị trí không đặc hiệu cách xa điểm nhận biết. Nhóm 2 bao gồm các enzym có đặc điểm là cắt ADN tại điểm nhận biết đặc hiệu. Các enzym giới hạn thuộc nhóm hai được chiết tách từ vi sinh vật có ý nghĩa ứng dụng trong kỹ thuật di truyền.

Mỗi một enzym giới hạn đặc hiệu với một đoạn trật tự cụ thể-trật tự cắt, vì thế số điểm cắt thêm một đoạn phân tử ADN đem xử lý phụ thuộc vào trật tự cắt có trên phân tử ADN đó. Trật tự cắt có ý nghĩa đúng với phân tử ADN chiết từ các sinh vật khác nhau. Bảng 8.1 dẫn một số ví dụ về các enzym giới hạn và trật tự cắt của chúng. Trật tự cắt thường có độ dài khoảng 4÷6 đôi nucleotit, riêng hai enzym NotI và SfiI nhận biết các đoạn cắt dài 8 đôi nucleotit.

Bảng 8.1. Một số enzym giới hạn và trật tự cắt của chúng

| Enzym | Vi khuẩn từ đó enzym được chiết ra | Số điểm cắt trên ADN của | | |
|---------|-------------------------------------|--------------------------|-----|-------|
| | | Phage | Ad2 | SV 40 |
| Bam III | <i>Bacillus amyloliquefacicus H</i> | 5 | 3 | 1 |
| Bgl III | <i>Bacillus globigi</i> | 5 | 12 | 0 |
| EcoRI | <i>R. coli RY 13</i> | 5 | 5 | 1 |
| HaeIII | <i>Haemophilus</i> | 50 | 50 | 18 |
| HbaI | <i>Haemophilus influenzae Rd</i> | 6 | 11 | 6 |
| PstI | <i>Providencia stuartii</i> | 18 | 25 | 3 |
| SmaI | <i>Serratia marcescens</i> | 3 | 12 | 12 |

Sự cắt của các enzym giới hạn ở ADN xảy ra theo hai cách:

1. Cắt theo hình zigzag tạo đầu đứt lệch gọi là đầu dính (cohesive ends), vì các gốc bổ sung dễ bắt cặp với nhau để gắn lại. Nếu hai ADN khác nhau được cắt bởi một enzym tạo các đầu dính giống nhau, chúng dễ dàng nối lại với nhau tạo ADN tái tổ hợp.

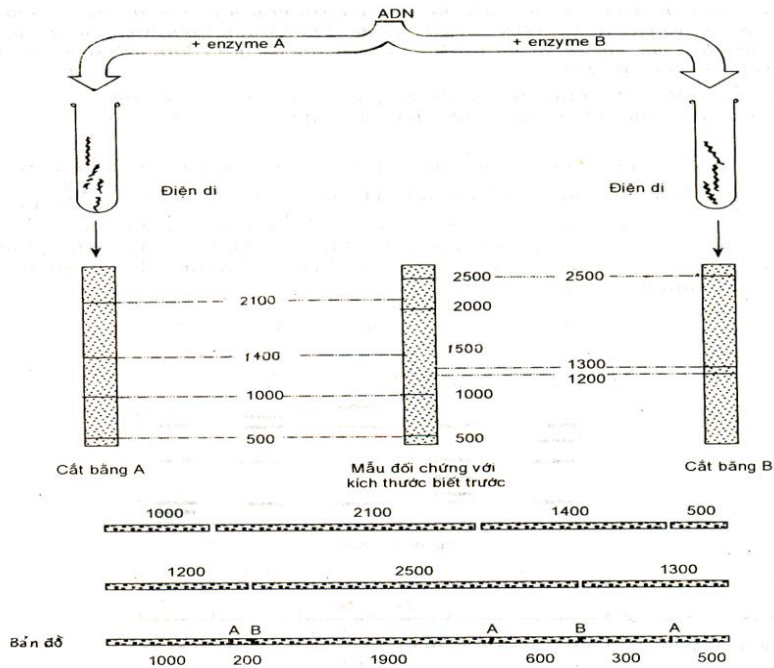
2. Cắt thẳng tạo các đầu đứt tù:

Các đoạn ADN cắt có đầu tù cần bổ sung thêm đoạn nối khi gắn nó với đoạn ADN khác.

8.1.2. Phương pháp RFLP

Mỗi đoạn ADN của sinh vật có những điểm nhận biết đặc hiệu đối với một loại enzym dưới hạn phân bố theo chiều dài của sợi phân tử. Tính chất này được sử dụng để lập bản đồ các điểm cắt cho một phân tử ADN nào đó.

Mẫu ADN được xử lý bởi hai loại enzym giới hạn enzym A cắt ADN này thành 4 đoạn ở các điểm đặc hiệu, enzym B cắt nó thành 3 đoạn ở những điểm đặc hiệu khác. Trong trường hợp các đoạn cắt được phân tách bằng chạy điện đi trên gen agarose hoặc polyacrilamid, nhờ so sánh với băng mẫu ADN với các đoạn có kích thước biết trước, người ta có thể xác định độ dài của các điểm cắt do enzym A và B (Hình 8.1). Thông qua việc sắp xếp các đoạn cắt người ta đã rút ra các trình tự của điểm cắt đối với hai enzym được mô tả trên bản đồ.



Hình 8.1. Sơ đồ về lập bản đồ giới hạn của mẫu ADN đối với 2 enzym A và B

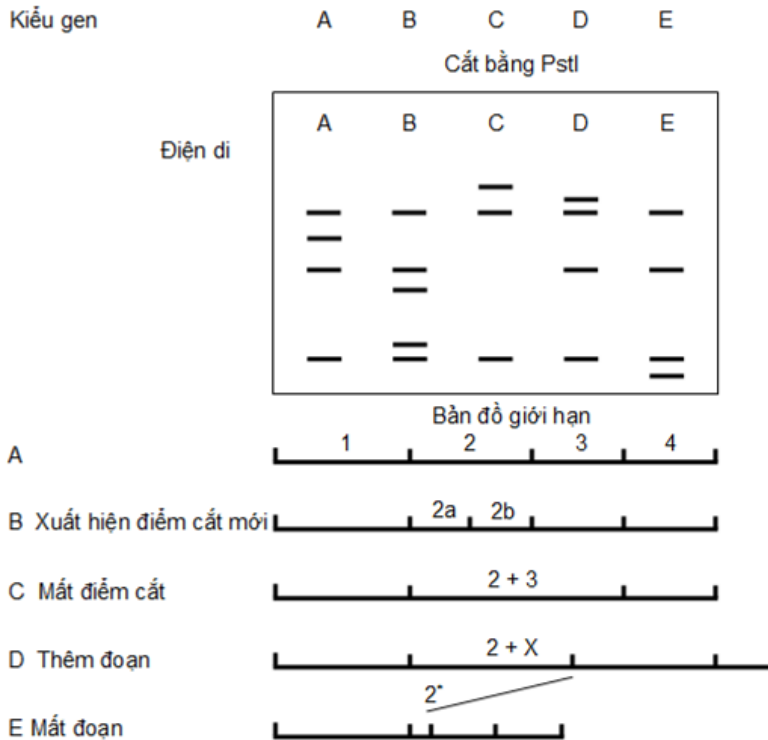
Như vậy, khi xử lý một mẫu ADN bởi một enzym giới hạn, sẽ xuất hiện một sự đa dạng nào đó về các điểm ADN với các độ dài khác nhau biểu hiện bằng các băng đặc trưng trên băng điện di, gọi là sự đa hình về các đoạn cắt giới hạn (Restriction Fragment Length Polymorphism-RFLP). Phương pháp RELP có nhiều ứng dụng quan trọng trong việc phân biệt sự sai khác của kiểu gen ở mức ADN theo tính chất khác nhau về sự đa hình của các đoạn cắt giới hạn.

Giả sử ta có mẫu ADN genom tách ra từ 5 kiểu gen khác nhau (A, B, C, D, E), chúng được xử lý bởi enzym giới hạn P_{st}I (nó có trật tự cắt là CTGCAG; GACGTC). Sau khi chạy điện di đã thu được sự đa dạng về các băng của mỗi kiểu gen và bản đồ các điểm cắt của mẫu ADN đối với 5 kiểu gen đó (Hình 8.2). Rõ ràng phương pháp RFLP cho phép phân biệt được bốn kiểu gen B, C, D, E có những đặc điểm sai khác với kiểu gen A (đối chứng), đó là:

- Kiểu gen B và C khác kiểu gen A do có những đột biến điểm làm thay đổi về trật tự về bazơ: Ở kiểu gen B xuất hiện một điểm cắt mới ở đoạn 2 (tạo hai đoạn 2a và 2b), còn kiểu gen B bị mất một điểm cắt mà hai đoạn 2 và 3 liền làm một.

- Kiểu gen D khác với kiểu gen đối chứng A ở chỗ, nó có một đoạn ADN thêm (xen) vào, làm cho đoạn 2 có kích thước lớn hơn. Ngược lại, kiểu gen E bị đột biến mất đoạn làm cho đoạn 2 có kích thước ngắn đi.

Thông qua việc phân tích những sai khác về sự đa hình của đoạn cắt đối với các mẫu ADN (ADN từ nhiễm sắc thể nào đó, ADN của lập thể hay tử thể, . . .) của các kiểu gen, ta có thể phán xét về mối quan hệ họ hàng và nguồn gốc phát sinh của chúng.



Hình 8.2. Mô hình RELP đối với mẫu ADN genom của các kiểu gen A, B, C, D, E

Tính chất đặc thù về các đoạn cắt (thể hiện trên bản đồ giới hạn) có thể liên kết một tính trạng nào đó có ý nghĩa về mặt nông học, như khả năng kháng bệnh hại, chống chịu với yếu tố bất lợi của ngoại cảnh, hay những tính trạng số lượng nào đó. Việc đánh giá những tính trạng này thông qua đoạn cắt đặc thù RFLP là một trong những phương pháp chọn lọc theo chỉ thị (marker) phân tử. Phương pháp chọn lọc này có hiệu quả ứng dụng trong chọn giống.

8.1.3. Phản ứng chuỗi trùng hợp

Phản ứng chuỗi trùng hợp (Polymerase Chain Reaction-PCR) còn gọi là kỹ thuật nhân đoạn ADN đặc hiệu được Kary Mullis phát hiện vào thập niên 80 (thế kỷ XX) có ý nghĩa rất lớn, như một cuộc cách mạng trong di truyền phân tử. Genom của sinh vật bậc cao chứa một số lượng gen rất lớn (Ví dụ, genom của động vật bậc cao chứa khoảng 100.000 gen), việc tách và nghiên cứu một đơn vị gen cụ thể từ số lượng khổng lồ đó gặp rất nhiều khó khăn và tốn kém. Phản ứng chuỗi trùng hợp đã giúp

chúng ta có thể tạo ra một số lượng lớn các bản sao của đoạn ADN cần chọn từ genom mà không cần tách và nhân dòng.

8.1.3.1. *Taq polymerase và sự tiến hành của phản ứng chuỗi trùng hợp*

Phản ứng chuỗi trùng hợp là quá trình nhân (khuyếch đại) một đoạn ADN đặc hiệu dưới sự xúc tác của enzym ADN-polymerase chịu nhiệt cao (*Taq polymerase*), diễn ra theo chu kỳ nhiệt lặp lại liên tục.

a. *Taq polymerase và các thành phần khác của phản ứng chuỗi trùng hợp*

Trong tổng hợp ADN nhân tạo, người ta đã sử dụng nhiệt độ cao để tách đôi chuỗi kép. Trước đây, các ADN-polymerase bình thường (chiết từ *E. coli*) đã được sử dụng, nhưng hiệu quả thấp. Enzym này được chiết xuất từ vi khuẩn chịu nhiệt độ cao sống ở suối nước nóng (75°C) là *Thermophilus aquaticus*, được gọi là *Taq polymerase*, có hoạt động tối ưu ở 72°C , song nó có thể bền vững tới 94°C .

Ngoài *Taq polymerase*, các thành phần khác của PCR bao gồm:

- ADN khuôn, tức đoạn ADN cần nhân.
- Các đoạn đơn oligonucleotit làm mồi (primer) có độ dài khoảng 6÷30 nucleotit.

- Các loại nucleotit triphosphat (cốc dNTP).

- Dung dịch đệm thích hợp và MgCl_2

b. *Sự tiến hành của phản ứng chuỗi trùng hợp*

Phản ứng được thực hiện trong ống nghiệm (có các thành phần như nêu ở trên), được gắn vào hệ thống nung nóng có điều chỉnh về chu kỳ nâng và hạ nhiệt theo chương trình định sẵn gọi là termocycler (chu kỳ nhiệt).

Chu kỳ của phản ứng chuỗi trùng hợp có thể khái quát như sau:

Sợi ADN kép ban đầu tách ra thành
hai mạch đơn (94°C , 5 phút)

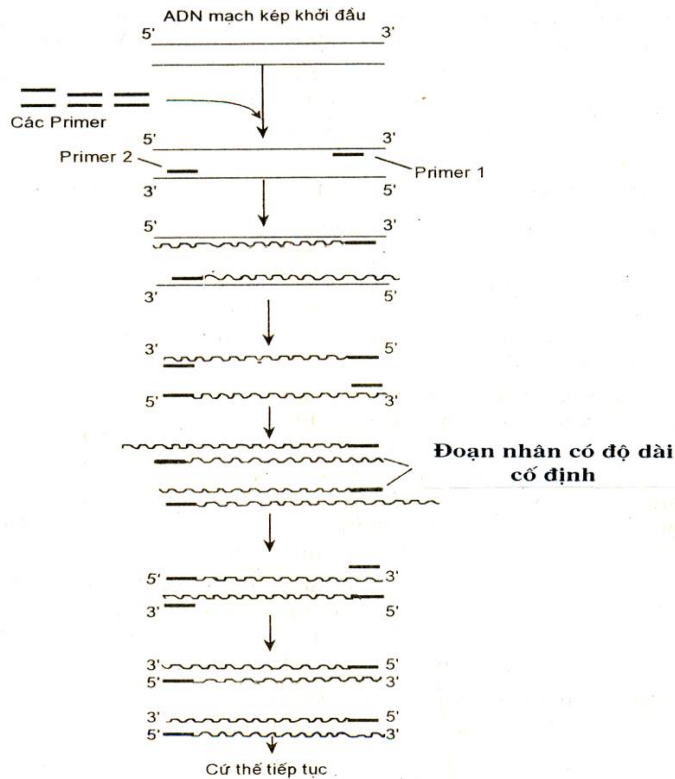
Đoạn ADN kép phân tách
thành hai mạch đơn
(94°C , 30 giây)

Các đoạn mồi gắn vào đầu của đoạn nhân
(65°C , 30 giây)

Enzym ADN polymerase chịu nhiệt
xúc tác tổng hợp 2 sợi ADN mới
(65°C ÷ 70°C , 5 phút)

Nguyên lý của phản ứng trùng hợp đặc trưng được trình bày trên Hình 8.3. Phân tử ADN mạch kép cần nhân tách thành 2 mạch đơn khi nung nóng với nhiệt độ gần sôi (94°C). Sau đó nhiệt độ hạ xuống 50 ÷ 65°C để các đoạn mồi gắn vào hai vị trí trên ADN. Nhiệt độ duy trì 65 ÷ 70°C từ hai đoạn mồi P_1 và P_2 *Taq polymerase* xúc tác tổng hợp các mạch ADN mới theo mạch khuôn, kéo dài tới điểm có đoạn mồi đối diện, tới đây kết

thúc một chu kỳ. Tiếp theo hỗn hợp của phản ứng lại được nung lên 94°C hai sợi ADN mới tổng hợp được tách thành mạch đơn và chu kỳ thứ 2 diễn ra. Kết quả của chu kỳ thứ 3 tạo thành các đoạn ADN kép có độ dài cố định (tính từ 2 điểm mà ở đó đoạn 2 đoạn mới P_1 và P_2 gắn vào). Từ chu kỳ này trở đi luôn thu được các đoạn ADN có độ dài cố định. Phản ứng có thể diễn ra tới 30÷60 chu kỳ. Số lượng ADN nhân (khuyết đại) có thể tính theo công thức 2^{n-2} , trong đó n là số chu kỳ nhân.



c. Một số đặc điểm của phản ứng chuỗi trùng hợp

Cũng như các ADN-Polymerase khác, Taq polymerase cũng đòi hỏi sự mở đầu lắp ráp bằng một đoạn mồi. Tuy nhiên, Taq polymerase có tính chuyên môn hoá và nhạy cảm cao, mọi công đoạn của quá trình ADN diễn ra ở nhiệt độ cao nên đã loại trừ được những sai sót về kết cặp của đoạn mồi.

Trong kỹ thuật PCR, một đoạn ADN đích trước được nhân lên. Đoạn đích được nhân này do hai đoạn mồi P_1 và P_2 quyết định (theo sơ đồ Hình 8.3), đoạn nhân nằm giữa hai vị trí mà 2 đoạn mồi P_1 và P_2 gắn vào.

Việc lựa chọn thiết kế các đoạn mồi (Taq polymerase) có các trật tự nucleotit nào đó có vai trò rất quan trọng trong việc nhân đoạn đích. Vì thế cần biết trước trật tự nucleotit (hay ít nhất một phần của đoạn nhân).

Khác với các ADN-polymerase khác, Taq polymerase không có khả năng sửa chữa những kết cặp sai trong quá trình kéo dài chuỗi (tính

chất đọc-sửa của ADN polymerase). Người ta đã tính rằng, sự nhầm lẫn xảy ra ở đây có tần suất xuất hiện $1/(2 \times 10^4)$ nucleotit lắp ráp. Tuy nhiên những sai sót này không nghiêm trọng, vì ở phản ứng chuỗi nhiều chu kỳ nhân xảy ra trên một đoạn ADN giống nhau nên số ADN có một nucleotit sai lệch là không lớn.

Phản ứng chuỗi trùng hợp có độ nhạy cao, nguồn ADN ban đầu để nhân có thể chỉ là một đoạn phân tử ADN. Do độ nhạy cao nên kết quả nhân đoạn ADN sẽ bị nhiễu khi trong nguồn nhân ban đầu có lẫn, cho dù chỉ là một đoạn ADN khác loại.

Mẫu ADN đưa vào nhân theo PCR không đòi hỏi tinh sạch cao. Vì vậy, những mẫu đưa vào chạy phản ứng này có thể là vết máu, mẫu khảo cổ, ADN hoá thạch, vi khuẩn đã bị hấp khử trùng, Đây là một trong các ưu thế làm cho PCR có sự ứng dụng rộng rãi.

8.1.3.2. Ý nghĩa ứng dụng của PCR

Do những ưu việt nêu trên của PCR nên ngay từ khi đời nó đã có ứng dụng rộng rãi trong nhiều lĩnh vực khoa học khác nhau và trong đời sống xã hội.

Kỹ thuật PCR-nhân đoạn nhiễm sắc thể đặc trưng của gen genom sinh vật giúp cho việc xác định trình tự các nucleotit của đoạn nhân. Từ đó đã được sử dụng để xác định cấu trúc của gen và các thành phần của nó, vì vậy được ứng dụng trong việc phát hiện và xác định các đột biến gen.

Kỹ thuật PCR có hiệu quả ứng dụng cao trong việc chẩn đoán sự lây nhiễm của các bệnh virus, vi khuẩn, nấm vào cơ thể. Bên cạnh đó nó còn giúp cho việc chẩn đoán bệnh ung thư, xác định sớm các bệnh di truyền (ở giai đoạn phôi non), xác định sớm giới tính đực, cái.

Kỹ thuật PCR còn có ý nghĩa trong lĩnh vực hình sự, giúp cho việc phát hiện tội phạm từ các vết, mẫu sinh phẩm của để lại trên hiện trường. Kỹ thuật này có cho phép xác định nhanh chóng huyết thống cha-con, ông-cháu,....

Kỹ thuật PCR là một trong các phương pháp chỉ thị phân tử có hiệu quả ứng dụng cao trong chọn giống: Chọn lọc các kiểu gen, xác định con lai F_1 , Đặc biệt, trong thực hành sự kết hợp với phương pháp RFLP và các phương pháp PCR đem lại hiệu quả ứng dụng cao trong sự phân lập và chọn lọc tính trạng.

8.1.4. Phương pháp nhân các đoạn ADN đa hình ngẫu nhiên (Random Amplified polymorphic ADN-PCR)

Như đã trình bày ở trên, phương pháp PCR có một hạn chế, đó là nó đòi hỏi biết trước trình tự các nucleotit (hay ít nhất một phần) của đoạn ADN cần nhân, để thiết kế 2 đoạn mồi. Vì thế, mức đa dạng của đoạn nhân khó được mở rộng, đặc biệt khi nghiên cứu sự sai khác theo các gen chưa được xem xét về cấu trúc nucleotit của chúng.

Năm 1991, Gustavo Cactano-Anolles và cộng sự phát hiện ra hiện tượng nhân các đoạn ADN bằng PCR chỉ cần một đoạn mồi bất kỳ. Từ đó ra đời kỹ thuật nhân của các đoạn ADN đa hình ngẫu nhiên (Random Amplified Polymorphic ADN-RAPD). RAPD là phản ứng chuỗi trùng hợp

nhân các đoạn ADN riêng biệt, ngẫu nhiên nằm rải rác ở genom với việc sử dụng một đoạn mồi. Ở đây những đoạn nhân riêng biệt không cần biết trước trình tự các nucleotit.

Ở kỹ thuật RAPD, đoạn mồi sử dụng thường có độ dài 7÷10 nucleotit là hiệu quả nhất. Ở nhiệt độ cao (94 °C), ADN tách làm 2 mạch đơn. Khi nhiệt độ hạ thấp hơn (chu kỳ nhiệt), các đoạn mồi tìm đến điểm có trình tự tương hợp tạo 2 đầu trên 2 sợi khuôn, từ đó đoạn ADN ở giữa được nhân lên (nguyên lý giống như sơ đồ Hình 8.3.) Tốc độ khởi đầu cũng như sự kéo dài của quá trình nhân phụ thuộc vào hiệu quả kết cặp của đoạn mồi vào vị trí tương hợp của mạch ADN khuôn.

Trên ADN của genom có nhiều điểm tương hợp với đoạn mồi, vì thế có nhiều đoạn ADN riêng biệt được nhân lên. Các đoạn ADN này được tách trên phổ điện di. Khác với kỹ thuật PCR, ở kỹ thuật RAPD-ADN ban đầu được sử dụng với liều lượng lớn.

Trong thực hành kỹ thuật RAPD, khi sử dụng giải pháp điện di nhằm tăng kết quả thu nhận các vệt băng ADN rõ nét để tiến hành các phân tích theo chỉ thị (marker) phân tử, khi ấy người ta còn gọi là kỹ thuật in dấu các đoạn ADN nhân (ADN Amplification Fringerpringting-DAF).

Cũng như các phương pháp RFLP, PCR, phương pháp RAPD có nhiều ứng dụng trong phân tích kiểu gen, chọn lọc cá thể theo chỉ thị phân tử. Phương pháp RAPD cũng có ứng dụng rất hiệu quả trong phân tích genom nhằm xác định cấu trúc của gen ở sinh vật bậc cao.

Phương pháp RAPD cho phép thu được sự đa hình lớn về các đoạn ADN, nên nó có hiệu quả cao trong việc phân biệt các kiểu gen, chọn lọc tính trạng. So với RFLP thì phương pháp RAPD có độ nhạy cao hơn, dễ áp dụng hơn.

8.2. Thu nhận các gen

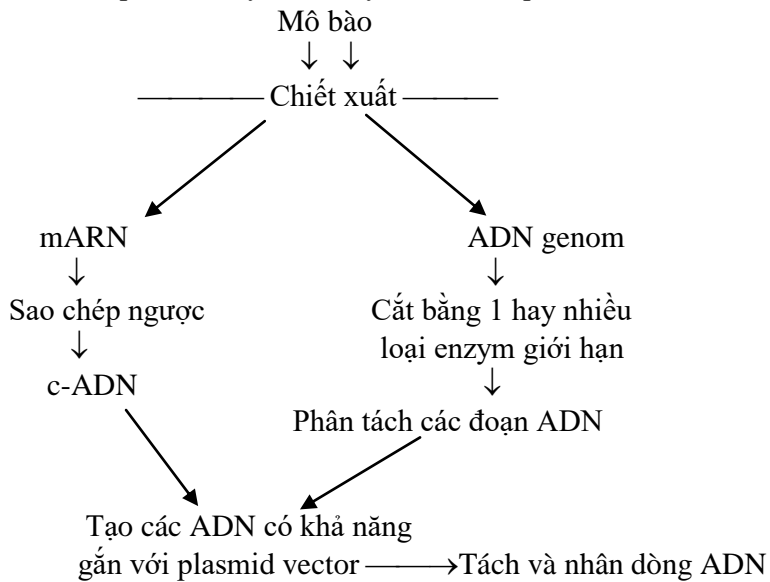
Để thực hiện những kỹ thuật ADN tái tổ hợp, trước hết cần có những phương pháp thu nhận gen, đó là tách những các đoạn ADN từ genom, thu ADN (gen) từ mARN thông qua sao chép ngược. Bên cạnh đó, những gen ngắn, đơn giản có thể thu nhận bằng phương pháp tổng hợp hoá học.

Hai phương pháp đầu có sơ đồ khái quát như trên Hình 8.1.

8.2.1. Tách các đoạn ADN từ genom

Đây là phương pháp được sử dụng rộng rãi trong kỹ thuật ADN. Ở genom của sinh vật bậc cao ADN có khối lượng lớn (ví dụ ở động vật có vú, ADN genom chứa khoảng 3.10^9 đôi nucleotit). Mỗi phân tử ADN của genom được cắt ra làm nhiều mảnh nhờ các enzym giới hạn. Một phân tử ADN điển hình chứa khoảng 3.10^6 đôi nucleotit được cắt ra từ hàng trăm tới hàng nghìn mảnh nhỏ. Toàn bộ ADN ở nhân của động vật có vú có thể cắt ra thành hàng triệu mảnh. Hai phương pháp thu nhận gen được trình bày trên sơ đồ Hình 8.4.

Những đoạn cắt của ADN được phân tách và phát hiện bằng phương pháp điện di trên gen gels. Những đoạn ADN mạch đơn có đánh dấu phóng xạ. Những đoạn ADN có thể được phân lập bằng cách sử dụng kỹ thuật tạo khối lai phân tử. Kỹ thuật này được khái quát như trên Hình 8.4.



Hình 8.4. Sơ đồ của 2 phương pháp thu nhận gen

Sử dụng màng lọc nitroxenlulose, ở đó được nạp đoạn ADN mạch đơn có đánh dấu phóng xạ, các đoạn này phân bố ở màng lọc những vệt băng. Những mẫu ADN thử (probe) này là các đoạn ADN đã được biết trước về kích thước và cấu trúc của chúng.

Các đoạn ADN trên gen gels được tách được đơn bằng kiểm, sau đó chúng được thấm trượt sang màng lọc khi cho gels và màng lọc áp sát nhau. Ở màng lọc, các ADN ảo tương đồng với các đoạn thử, chúng sẽ tạo khối lai phân tử. Sau đó, màng lọc được rửa sạch. Như vậy, nhờ tạo khối lai phân tử người ta đã tách được những đoạn ADN cụ thể trong hỗn hợp nhiều đoạn cắt. Phương pháp thấm (trượt) sang màng lọc nitroxenlulose, ở đó được nạp mạch đơn ADN thử (mạch đơn) lần đầu tiên do Southern E.M. đề xuất vào năm 1975 và được đặt tên là *Southern blots* (thấm tích Nam). Cũng theo nguyên lý này, các màng được nạp các đoạn thử là ARN, các nhà nghiên cứu đã đặt tên cho lối "chơi chữ" là *Nothern blots* (thấm tích Bắc) khi màng có nạp protein- *Western blots* (thấm tích Tây).

Các đoạn ADN phân cắt được tách dòng-được nạp vào các plasmid để nhân lên. Tập hợp các đoạn ADN (đã được tách dòng) ở gen genom của một loài sinh vật gọi là ngân hàng ADN genom hay thư viện ADN genom (GENBANK) của loài đó.

8.2.2. Thu nhận gen từ mRNA của gen tương ứng

Phương pháp thu nhận ADN từ mạch đơn ADN được thực hiện nhờ sử dụng enzym sao chép ngược. Enzym này có tên gọi đầy đủ là ARN-dependent ADN-polymerase hay reverse transcriptase-gọi ngắn gọn là reverse (sao chép ngược). Lần đầu tiên enzym này được phát hiện khi nghiên cứu sự sao chép của ADN của retrovirus.

Về chiết tách mRNA của gen riêng biệt không phức tạp bằng sự phân tách các đoạn ADN từ genom. Nhờ enzym sao chép ngược, một gen bất kỳ được tổng hợp khi có mRNA của gen đó. Ở sinh vật bậc cao, mRNA được tách ra từ hỗn hợp các loại ARN nhờ cấu trúc chuỗi poly-A có ở đầu 3' của nó. Người ta nạp các đoạn poly-dT vào cột cellulose hay agarose. Khi đi qua, mRNA được giữ lại nhờ liên kết của chuỗi poly-A với poly-dT. Sau khi rửa các đoạn mRNA được tách ra.

Quá trình sao chép ngược bao gồm hai giai đoạn (Hình 8.4). đoạn môi sử dụng ở đây là đoạn oligo-dT, nó kết cặp với poly-A, từ đó xảy ra sự tổng hợp mạch ADN đơn bổ sung theo sợi mRNA khuôn (complementary ADN đơn-c-ADN đơn) dưới xúc tác của enzym sao chép ngược. Tiếp theo mạch được tách ra và tiếp tục tổng hợp thành c-ADN mạch kép (c-ADN) nhờ enzym ADN-polymerase.

Các c-ADN thu được nhân dòng bằng cách gắn chúng vào vector (plasmid). Tập hợp các c-ADN thu được từ tất cả các loại mRNA ở các tế bào chuyên hoá của một loài sinh vật gọi là ngân hàng c-ADN hay thư viện c-ADN của loài đó.

Cần lưu ý rằng, ở sinh vật nhân chuẩn, các gen có cấu trúc không liên tục, có các vùng exon, intron xen kẽ nhau. Ở mRNA thành thực, các đoạn intron bị cắt bỏ, chỉ còn các đoạn exon nối lại với nhau, vì thế c-ADN ở đây là các gen không có intron.

Các đoạn ở ngân hàng ADN genom là các đoạn ngẫu nhiên của tất cả ADN genom của một loài sinh vật, chúng không phụ thuộc vào loại tế bào dùng để lấy ADN. Ngược lại, ở các tế bào thuộc các mô chuyên hoá khác nhau của cơ thể bậc cao có các loại mRNA khác nhau (do hoạt động của các gen không giống nhau ở các mô chuyên hoá). Vì thế, ngân hàng c-ADN thu được sẽ phụ thuộc vào tế bào sử dụng. Do tính chuyên hoá này, nên việc xác định gen mong muốn từ ngân hàng gen dựa vào các c-ADN sẽ dễ dàng hơn nhiều. Bằng con đường này, người ta đã thu nhận được rất nhiều gen giá trị ở người, động vật bậc cao, như các gen globin, ovalbumin, fibroin, protein, thủy tinh thể mắt bò, interferon, . . .

Hiện nay, số lượng mẫu trong ngân hàng ADN genom và ngân hàng c-ADN thu được ngày càng tăng.

8.2.3. Tổng hợp gen bằng phương pháp hoá học

Bên cạnh hai phương pháp thu nhận gen cơ bản nêu trên, người ta đã có thể tổng hợp gen bằng phương pháp hoá học. Gen tổng hợp nhân tạo đầu tiên là gen mRNA alamin do nhóm nghiên cứu của Khorana thu được năm 1969. Gen này gồm 77 cặp bazơ và không có vùng điều hòa.

Để tổng hợp nhân tạo gen, cần phải biết trình tự các nucleotit của nó, từ đó người ta thiết kế hệ thống tổng hợp ADN trong ống nghiệm. Một gen ngắn có thể thu nhận được bằng tổng hợp hoá học. Ví dụ, người ta đã tổng hợp được gen mã hoá cho hormon sinh trưởng somatostatin ở động vật có vú (peptit của hormon này chỉ có 14 a.a). Gen này hoạt động ở tế bào *E. coli* khi gắn vào plasmid có bổ sung cho nó đoạn khởi động (promotor). Kết quả đã sản sinh ra được hormon tăng trưởng. Một gen kiểm tra các hormon khác cũng đã được tổng hợp nhân tạo

8.3. Tạo các vector chuyển gen

8.3.1. Những đòi hỏi của vector chuyển gen

Một gen muốn chuyển vào tế bào nhận chủ định, cần đưa nó vào một đơn vị định hướng (vector) nhằm:

1. Bổ sung cho gen những thành phần điều hoà (và các vùng chức năng khác), giúp cho gen bảo toàn tính năng của nó (hoạt tính sao mã và dịch mã),

2. Nhân lên thành nhiều bản,

3. Có thể nạp một cách hiệu quả vào nhiễm sắc thể của tế bào nhận.

Vector chuyển gen là phân tử ADN có khả năng tự tái bản tồn tại độc lập trong tế bào và mang được gen cần chuyển. Với các mục đích nêu trên, các vector chuyển gen cần thoả mãn các yêu cầu sau:

- Có trật tự khởi đầu sao chép (trật tự ori) để tiến hành quá trình tái bản.

- Có trật tự nhận biết đặc hiệu cho các enzym giới hạn thực hiện sự cắt tạo các đầu hở để thực hiện sự gắn gen cần chuyển (gen lạ) vào vector. Các trật tự này thường nằm cách xa điểm khởi đầu sao chép (ori).

- Có vùng khởi động (promotor) bổ sung cho gen lạ để đảm bảo hoạt tính sao mã của nó. Khi cần thiết, vector còn có thể bổ sung các thành phần khác cho gen lạ, ví dụ: Bổ sung trật tự của điểm gắn với riboxom để dịch mã (điểm rbs), . . .

- Vector phải chứa gen chỉ thị để dễ dàng phát hiện và chọn lọc chúng khi có gen lạ gắn vào.

- Vector có gen lạ (ADN tái tổ hợp) được tồn tại ổn định trong tế bào chủ ở trạng thái độc lập hoặc khi gắn vào nhiễm sắc thể tế bào nhận.

8.3.1.1. Một số loại vector

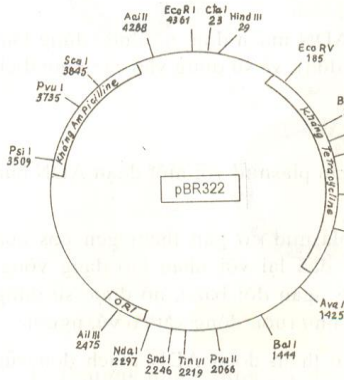
a. Các plasmid

Plasmid-nhân tố di truyền ngoài nhiễm sắc thể, là phân tử ADN vòng, nhỏ được phát hiện thấy ở tế bào chất của vi khuẩn, nó có khả năng tái bản độc lập với sự tái bản của ADN nhiễm sắc thể tế bào vi khuẩn. Plasmid có thể chứa một số gen khác nhau, dựa vào các gen này mà người ta phân nhóm các plasmid tự nhiên. Ví dụ: plasmid R chứa một số gen đề kháng thuốc như kháng sinh, . . ., plasmid F chứa yếu tố giới tính ở vi khuẩn.

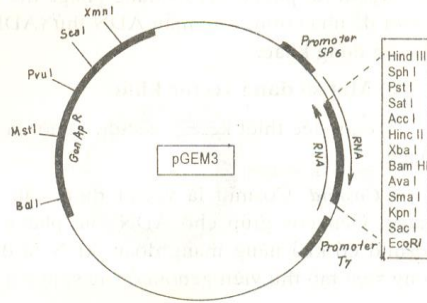
Plasmid có những chất quan trọng, đáp ứng được những yêu cầu cơ bản của một vector chuyển gen. Tuy nhiên, trong thực nghiệm người ta ít (hoặc không) sử dụng các plasmid tự nhiên, mà chúng được kiến tạo lại

hoàn thiện, phức tạp hơn, đa năng và chuyên dụng hơn, phục vụ cho các mục đích sử dụng khác nhau.

- Một trong các plasmid được cấu tạo phức tạp hơn và sử dụng rộng rãi hơn, đó là plasmid pBR 322, có độ dài 5.000 cặp bazơ. Bình thường, plasmid này tồn tại theo 20÷30 bản ở tế bào chủ vi khuẩn. Tuy nhiên, ở những điều kiện nuôi cấy xác định số bản của nó có thể khuếch đại tới 1.000 bản trong một tế bào.



Hình 8.5. Plasmid 322. Trên ADN của plasmid được chỉ ra các vị trí cắt của các enzym giới hạn



Hình 8.6. Plasmid thuộc gia đình Gemini và khối các điểm cắt của nó

Nguồn gốc của pBR 322 là plasmid nhỏ Col E₁ được bổ sung thêm các đoạn ADN của plasmid khác nhau. Nó được gắn các gen kháng thuốc: Tel^R-kháng tetracycline, amp^R-kháng ampicilin, có trật tự cắt của các enzym giới hạn nằm ở hai gen này (Hình 8.5). Khi gen lạ xen vào vị trí cắt sẽ làm cho một trong hai gen không bị bất hoạt, điều này tạo thuận lợi cho việc chọn lọc các plasmid có gen lạ (plasmid tòi tổ hợp). Ví dụ, khi cắt plasmid bằng enzym BamH₁-gen lạ xen vào chỗ cắt ở vùng gen tel^R, làm cho tế bào vi khuẩn chỉ có khả năng kháng với ampicillin. Người ta chọn lọc chúng ở môi trường nuôi cấy có kháng sinh này.

- Các plasmid đa năng và chuyên dụng: Đó là các plasmid được thiết kế theo kiểu phân bố trật tự sắp xếp liên tục nhau tạo thành một khối để thuận lợi cho việc sử dụng các loại enzym giới hạn khác nhau. Loại enzym giới hạn được chọn lọc nhằm tạo các đầu cắt có hiệu quả tốt cho sự gắn một gen lạ cụ thể nào đó. Có nhiều plasmid thuộc nhóm này, ví dụ như các plasmid thuộc gia đình pUC, gia đình Gemini (Hình 8.6).

Các plasmid thường được dùng làm vector chuyển gen ở tế bào sinh vật nhân sơ. Ở thực vật bậc cao đã sử dụng Ti-plasmid của vi khuẩn *A. tumefaciens* làm vector chuyển gen.

b. Phage λ

Các thực khuẩn thể (phage) - (virus sống ở tế bào vi khuẩn) cũng được sử dụng làm vector. Vector phage λ thường được sử dụng rộng rãi để tách dòng ADN trong việc thiết lập ngân hàng gen, vì nó có thể mang

được những đoạn ADN lớn hơn (15÷23 ngàn đôi nucleotit), dễ bảo quản và dễ tách ra để phân tích. Hơn nữa, phage λ còn có hệ thống tự xâm nhập và sản sinh trong tế bào vi khuẩn với hiệu quả cao hơn nhiều so với sự xâm nhập của plasmid.

Ngoài ra, phage M13-dạng phage thể sợi, có ADN mạch đơn, nó được dùng làm vector để nhân dòng các mẫu ADN thử (ADN mạch đơn), và sử dụng vào các mục đích chuyên dụng khác.

C. Một số dạng vector khác

Trong việc thiết kế các vector, người ta có thể gắn plasmid với một đoạn ADN của phage, ví dụ:

- *Cosmid*: Đây là vector được cấu tạo từ plasmid có gắn thêm gen của phage. Gen cosmid giúp cho ADN của phage nối 2 đầu lại với nhau tạo dạng vòng. Cosmid có khả năng mang đoạn ADN lại dài tới 45 ngàn đôi bazơ, nó được sử dụng trong việc tạo thư viện genom cấu tạo từ plasmid có gắn thêm đoạn ADN mạch đơn của phage M13.

8.3.1.2. Tạo Plasmid tái tổ hợp

Như đã trình bày ở phần trên, các vector là ADN thể mang dùng để gắn các đoạn ADN lạ vào, phục vụ cho mục đích chuyển gen. Plasmid khi gắn với ADN gọi là plasmid tái tổ hợp. Ở mục này cần giải đáp vấn đề là ADN lạ được gắn vào plasmid theo những cơ chế như thế nào? Có nhiều phương pháp gắn ADN lạ vào vector. Phản ứng ghép nối ở giai đoạn cuối được thực hiện nhờ enzym ligase.

Enzym ligase xúc tác phản ứng nối bằng cách tạo liên kết photphodiester để tạo đầu nối các nucleotit kề nhau. Phản ứng nối các đầu dính (có các trình tự bổ sung) có hiệu quả cao hơn 50÷100 lần so với phản ứng nối các đầu tù. Hai enzym được sử dụng phổ biến nhất đó là ADN-ligase của vi khuẩn *E.coli* và ADN-ligase của phage T4.

a. Sự gắn ADN lạ vào vector khi sử dụng các đầu dính

Vector được cắt bởi một enzym giới hạn nào đó (ví dụ: *EcoR*1) tạo ra hai đầu dính với trình tự đặc thù. Khi ADN của genom khác được cắt bởi enzym cùng loại sẽ tạo ra đoạn cắt có 2 đầu dính với các trật tự tương đồng (bổ sung) với các đầu dính ở vector. Enzym ligase xúc tác cho phản ứng nối các đoạn ADN có đầu dính với hiệu quả rất cao. Phương pháp này được ứng dụng rộng rãi trong việc tạo ra các plasmid tái tổ hợp.

b. Phương pháp dùng các đoạn nối (linkers)

Như chúng ta đã biết, enzym ligase xúc tác phản ứng nối ADN đầu tù, với hiệu quả thấp. Đối với những đoạn ADN cắt đầu tù, nhất là các c-ADN, người ta thường dùng các mẫu oligonucleotit ngắn để làm cấu trúc đầu nối theo kiểu đầu dính. Các mẫu nối được thiết kế sao cho chúng có trật tự đặc hiệu với enzym giới hạn cắt ở vector. Sau khi thực hiện quá trình cắt bởi enzym giới hạn (*EcoR*1), ta thu được các đầu dính tương đồng ở ADN lạ và vector. Chúng được nối lại với nhau một cách hiệu quả nhờ *E. coli* ADN-ligase.

Khi vi khuẩn nhiễm vào tế bào cây chủ (thực vật 2 lá mầm), Ti-plasmid của vi khuẩn chuyển Ti-ADN vào nhân tế bào cây chủ. Ở đó, các

nhóm gen Ti-ADN được biểu hiện nhờ hệ thống sinh tổng hợp protein của tế bào cây chủ để tạo ra các sản phẩm phục vụ cho hoạt động ký sinh của vi khuẩn. Đó là:

- Nhóm 1: Gồm các gen mã hoá các enzym tham gia vào việc tổng hợp một số a.a bất thường gọi là các opines. Các opines được sử dụng như chất dinh dưỡng của vi khuẩn *A. Tumefaciens* nhờ một nhóm gen khác có mặt ở Ti-plasmid (tham gia vào phân giải các opines).

- Nhóm 2: bao gồm các gen *iaaM* và *iaaH* mã hoá các enzym có vai trò cơ bản trong việc hình thành auxin. Gen thứ 3 là *iptZ* mã hoá enzym tham gia vào việc hình thành một phytohormon thứ hai. Hai loại phytohormon này cảm ứng sự phân chia tế bào gia tăng ở chỗ bị nhiễm vi khuẩn trên cây chủ, từ đó tạo thành khối u lớn.

Ngoài ra, Ti-plasmid còn có các gen mã hoá các protein tham gia vào quá trình tách và chuyển T-ADN vào nhân tế bào chủ. Như đã nói ở trên, hoạt động của các gen ở T-ADN là nguyên nhân gây bệnh khối u, vì thế các gen tham gia vào chuyển T-ADN coi như gen gây hại, do vậy người ta đặt tên cho chúng là các vir-gen (vir-virusence).

b. Cơ chế chuyển T-ADN từ plasmid của vi khuẩn vào tế bào cây chủ

Các vir-gen được kích thích hoạt động bởi chất gây cảm ứng (chất này được tạo ra ở tế bào cây chủ khi bị nhiễm vi khuẩn). Sau đó sản phẩm của các gen vir-gen tham gia vào việc tách T-ADN ra khỏi Ti-plasmid và sự chuyển của nó vào tế bào cây chủ.

Ở hai đầu của T-ADN trên Ti-plasmid có hai trật tự đặc biệt, dài 25 đôi bazơ là trật tự bờ phải (RB) và trật tự bờ trái (LB). T-ADN tách ra từ hai bờ này. Quá trình gồm hai bước: Ở bờ phải xảy ra sự cắt ở vị trí bazơ 3-4 sau đó sự cắt thứ hai xảy ra ở trật tự bờ trái và đoạn T-ADN mạch đơn được tách ra. T-ADN được chuyển vào tế bào cây chủ như cơ chế tiếp hợp của hai vi khuẩn. Trên Ti-plasmid đoạn đơn T-ADN được tổng hợp hồi phục. Có thể có nhiều đoạn T-ADN được chuyển vào tế bào cây chủ.

Ở nhân tế bào cây chủ (có xảy ra phân bào - tái bản ADN) các đoạn T-ADN mạch đơn có thể gắn những vị trí ngẫu nhiên trên sợi ADN mạch đơn của nhiễm sắc thể cây chủ. Tuy nhiên, những hiểu biết về cơ chế này cho tới nay vẫn còn ít.

8.3.1.3. Ti-plasmid và thiết kế các vector chuyển gen

Như đã trình bày ở trên Ti-plasmid có những tính chất quan trọng trong sự lây nhiễm ở tế bào thực vật từ đó người ta sử dụng nó để thiết kế các kiểu vector cho việc chuyển gen.

a. Phương pháp tạo vector hợp nhất

Đây là một vector phức tạp, nó được hình thành qua 2 bước:

- T-ADN được gắn vào một plasmid chuẩn, sử dụng phổ cập ở vi khuẩn *E. coli*, đó là pBR322 tạo thành một vector trung gian. Bên cạnh đó những cấu phần cơ bản của một vector (điểm tái bản, gen chỉ thị để chọn lọc ở vi khuẩn -Amp^R, . . .) ở plasmid này còn được đưa vào một gen chỉ thị

dùng cho việc chọn lọc sản phẩm chuyển nạp, đó là gen NPTII kiểm tra tính kháng với kanamixil (kan^R). Vector này được gắn với gen cần chuyển nạp.

- Chuyển vector trung gian này vào tế bào *E. coli*, sau việc chọn dòng, tiến hành chuyển nó vào tế bào vi khuẩn *A. tumefaciens* có Ti-plasmid nguyên thủy theo cơ chế tiếp hợp của 2 tế bào vi khuẩn. Ở *A. tumefaciens* hai plasmid tiếp hợp với nhau theo đoạn tương đồng T-ADN. Từ đó xảy ra quá trình tái tổ hợp, kết quả thu được vector hợp chất, bao gồm Ti-plasmid, T-ADN, gen cần chuyển và hệ thống di truyền khác, *A. tumefaciens* có vector hợp nhất này cho lây nhiễm tế bào thực vật chuyên gen.

b. Một số thuận lợi khi sử dụng *A. tumefaciens* trong việc chuyển gen ở thực vật

A. tumefaciens được dùng để thực hiện sự lây nhiễm cho tế bào của cây thuộc nhóm hai lá mầm, có hiệu quả cao khi sử dụng để chuyển gen đối với nhóm cây này.

Vật liệu cho lây nhiễm có thể đa dạng: Các tế bào trần, tế bào callus, đỉnh sinh trưởng, các loại mô khác nhau có khả năng tái sinh cây, trong đó mô lá dễ thực hiện hơn cả.

Sau sự lây nhiễm, tiến hành chọn lọc những tế bào được chuyển gen theo biểu hiện của gen chỉ thị có hệ thống chuyển nạp, ví dụ như chọn lọc các tế bào kháng thuốc trừ cỏ Kanamixin, . . . Các tế bào chuyển nạp được tái sinh cây và tiếp tục phát hiện của gen cần chuyển nạp.

Ở những đối tượng dễ nuôi cấy như thuốc lá, khoai tây, cà chua, . . . có thể trực tiếp sử dụng các mầm lá để cho lây nhiễm *A. tumefaciens* và tái sinh cây. Các mầm lá được vô trùng, cắt rời thành từng mảnh rồi nhúng vào dung dịch chứa vi khuẩn *A. tumefaciens* (có hệ thống vector chuyển gen). Sau đó các mầm lá được đưa vào môi trường nuôi cấy. Các vi khuẩn thâm nhập vào tế bào chủ và tạo ra những tế bào chuyển gen. Chúng được chọn (bằng gen kháng kanamixin, β -glucuronidase, . . .) và cho tái sinh cây.

Phương pháp chọn gen thông qua việc sử dụng *A. tumefaciens* được áp dụng rộng rãi ở các loại cây 2 lá mầm và thu được nhiều thành công ở thuốc lá, cà chua, khoai tây, . . .

8.3.1.4. Một số phương pháp chuyển gen khác ở thực vật

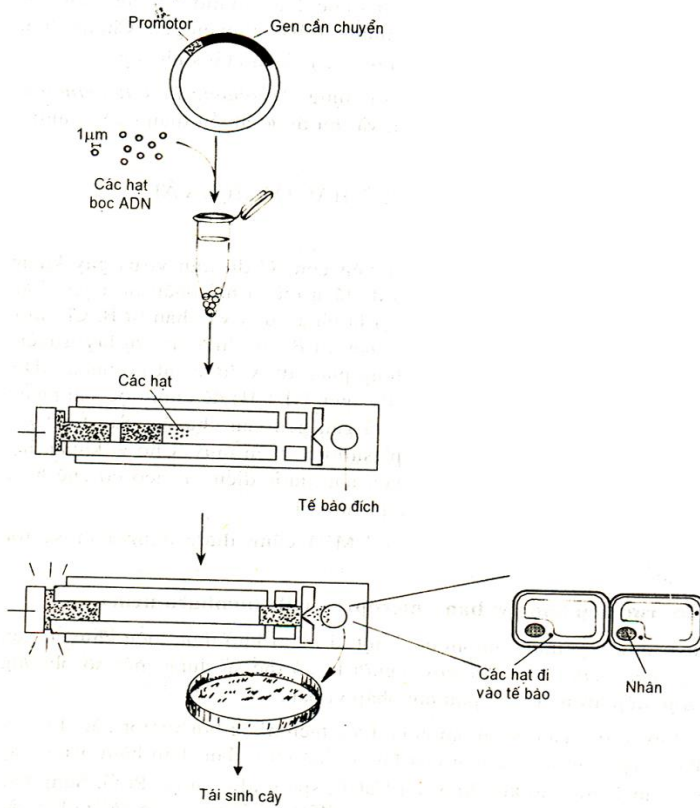
a. Sử dụng vector chuyển hoá là virus

Một số virus thực vật có thể làm vector chuyển gen, ví dụ: Virus gây khảm vàng lá ở cà chua (TGMV). ADN của virus này dễ tách thành hai phân tử A và phân tử B. Chỉ một phân tử A thực hiện nhân bản ở tế bào chủ, còn phân tử B cần thiết cho sự lây truyền. Trong thiết kế vector chuyển gen, người ta đã sử dụng phân tử A cắt bỏ phần ADN mang gen tạo vỏ virus, thay vào đó một gen chỉ thị (gen NPT II) để chọn lọc sản phẩm chuyển nạp, lắp thêm 2 trật tự bờ LB, RB và gắn thêm gen cần chuyển. Sau thiết kế, vector này được đưa vào *A. tumefaciens* có Ti-plasmid nguyên thủy. Cho vi khuẩn lây nhiễm vào tế bào của cây cần chuyển gen. Sự chuyển nạp được diễn ra theo cơ chế hoạt động của hệ thống vector kép như đã trình bày ở phần trên.

Ngoài TGMV, *Cauliflower mosaic virus* (CaMV) cũng được dùng làm vector chuyển gen ở thực vật.

b. Chuyển gen trực tiếp bằng vi bắn (microprojectile bombardment)

Đối với các loài thực vật thuộc nhóm cây một lá mầm khó thực hiện chuyển gen bằng lây nhiễm *A. tumefaciens*, người ta có thể sử dụng một số phương pháp chuyển gen trực tiếp, trong đó có phương pháp vi bắn.



Hình 8.7. Sơ đồ chuyển trực tiếp ADN vào tế bào bằng vi bắn

Một gen cần chuyển (đã được gắn với promotor) được tách dòng bởi vector nào đó. Vật liệu chuyển gen này được phủ lên bề mặt của những hạt nhỏ (đạn) làm bằng vàng hay wolfram có đường kính 1mm, nhờ sự kết dính bởi CaCl_2 sperimidine hoặc PEG. Súng bắn là một thiết bị đặc biệt, có đủ sức nén (tốc độ bắn hạt 430 m/s) để bắn các vi hạt vào tế bào của cây cần chuyển gen (Hình 8.7). Mật độ bắn hạt cần điều chỉnh cho hợp lý để không làm tổn thương nặng tế bào. Sau đó, các tế bào được nuôi cấy, chọn lọc các tế bào có gen chuyển nạp và tái sinh cây.

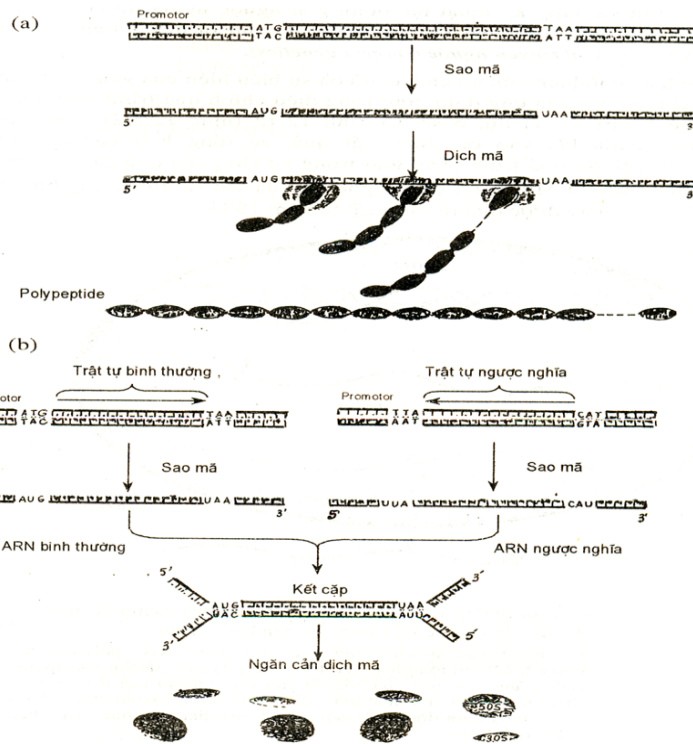
Đối tượng bắn gen có thể là các mẫu khác nhau của cây như tế bào tách rời, tế bào trần, phôi soma, phôi non, hợp tử, mô lá mầm và các mô khác. Sau đó người ta sử dụng các phương pháp nuôi cấy, phân lập để thu cây chuyển gen. Phương pháp vi bắn có khả năng ứng dụng rộng rãi,

ngoài mục đích chuyển gen vào nhân tế bào, nó còn được ứng dụng để chuyển gen vào ty thể, lục lạp. Phương pháp chuyển gen này đã thu được kết quả trên nhiều đối tượng cây trồng như ngô, lúa nước, lúa mì, cao lương, đậu tương, bông, đu đủ, . . .

8.4. Kỹ thuật di truyền và chiến lược cải tiến giống cây trồng

8.4.1. Kỹ thuật tạo ARN ngược nghĩa và vấn đề điều khiển sự biểu hiện của gen

Một tiến bộ lớn trong kỹ thuật di truyền là việc sử dụng ARN ngược nghĩa trong quá trình điều khiển sự biểu hiện của gen, mARN ngược nghĩa bắt cặp bổ sung với mARN bình thường, từ đó quá trình dịch mã bị kìm hãm.



Hình 8.8. Sơ đồ về ức chế sự biểu hiện của gen trong kỹ thuật mARN ngược nghĩa: (a) ở tế bào bình thường chỉ có mARN, (b) ở tế bào tái tổ hợp, có cả mARN bình thường và mARN ngược nghĩa

Các nhà nghiên cứu đã dùng kỹ thuật tạo dòng mARN ngược nghĩa cho một gen bất kỳ nào đó, bằng cách quay ngược bộ mã hóa của gen. Ví dụ, từ mARN của một gen tiến hành thu nhận c-ADN, sau đó c-ADN này được tạo dòng bằng cách quay ngược chiều và gắn nó với promoter. Khi ở trong tế bào của cơ thể thực vật chuyển gen có hoạt tính sao mã của gen ngược nghĩa, sự biểu hiện của gen ngược bản bị kìm hãm.

Việc thu nhận các đột biến định hướng (những gen xác định bị bất hoạt) là một công việc khó khăn. Với việc sử dụng kỹ thuật tạo dòng ngược nghĩa, ta có thể ức chế hoạt động của một gen định trước. Kỹ thuật này mở ra một hướng mới trong nghiên cứu di truyền, gọi là *di truyền ngược nghĩa* (reverse genetics).

Bên cạnh ý nghĩa về nghiên cứu cơ chế điều hòa sự biểu hiện của gen, kỹ thuật tạo gen ngược nghĩa còn có ý nghĩa ứng dụng trong việc điều chỉnh quá trình trao đổi chất, trong tạo sức đề kháng bệnh virus, . . . Ví dụ, ở Hình 8.8. trình bày sự chuyển gen ngược nghĩa PG vào cà chua, kết quả của sự tổng hợp enzym polygalacturonase bị ức chế, từ đó quá trình phân giải trong sự chín của quả cà chua bị kìm hãm, làm cho chúng chậm chín lại. Ở Mỹ, công nghệ này đã tạo ra giống cà chua chín chậm “Flavr savr”, giống này đã được đưa vào sản xuất từ năm 1994.

Vấn đề sử dụng mARN ngược nghĩa đó được phát triển rộng hơn. Sự kìm hãm hoạt động của một gen không đòi hỏi một phân tử mARN ngược nghĩa nguyên vẹn, mà chỉ cần một đoạn ngắn.

Việc tổng hợp các đoạn ngắn mARN ngược nghĩa (oligonucleotit antisense) được phát triển mạnh để sử dụng cho các thực nghiệm nhằm ức chế sự biểu hiện của gen mục tiêu.

Ở quá trình ADN → mARN → Protein có nhiều điểm khác nhau, mà khi đoạn ARN ngược nghĩa gắn vào có thể gây kìm hãm sự biểu hiện của gen. Như vậy, kỹ thuật “mARN ngược nghĩa” mở ra một chiến lược mới trong vấn đề điều khiển sự biểu hiện của gen, tiềm năng của nó hứa hẹn nhiều ứng dụng lớn.

8.4.2. Chiến lược tạo giống kháng sâu và bệnh hại

8.4.2.1. Tạo giống kháng virus

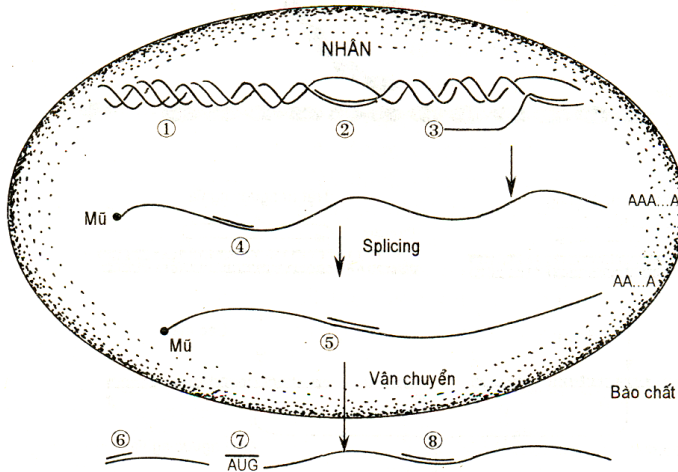
Kỹ thuật ADN tái tổ hợp có hiệu quả ứng dụng cao trong chiến lược tạo giống kháng virus. Dựa vào các cơ chế gây nhiễm bệnh, người ta đã đưa ra những chiến lược tạo giống kháng virus khác nhau, trong đó có việc sử dụng các gen khác nhau được phân lập từ virus để chuyển cho cây trồng. Dưới đây là một số trường hợp:

1. Như đã biết, khi nhiễm vào tế bào chủ, sự nhân bản axit nucleic của virus xảy ra dựa vào hệ thống tổng hợp của tế bào chủ. Tuy nhiên, quá trình nhân bản này bị chậm lại khi axit nucleic của virus bị bọc bởi vỏ protein của nó. Người ta đã chuyển gen mã hóa protein vỏ virus vào tế bào chủ (thông qua *A. tumefaciens*), các protein này tạo ra sự đáp ứng cơ chế kháng bệnh của cây chủ-kìm hãm sự nhận biết của virus, ngăn chặn bệnh phát sinh.

Bằng phương pháp nêu trên người ta đã tạo ra giống kháng được 36 loại bệnh virus thuộc nhiều nhóm khác nhau, trong đó kháng được một số bệnh có ý nghĩa kinh tế như: Virus khảm lá ở cỏ Medicago, khảm lá ở dưa chuột, virus đốm vàng ở đu đủ, virus xoắn lá ở khoai tây,....

2. Ở những virus chứa axit nucleic mạch đơn (ADN mạch đơn hay ARN) đã phát hiện thấy gen mã hóa enzym cần thiết cho quá trình sao

chép (enzym replicase). Ở các virus chứa ARN, enzym replicase dùng ARN để làm mạch khuôn cho quá trình sao chép. Chương trình tạo giống kháng virus thứ 2 được hình thành trên cơ sở tách dòng ADN chứa một đầu của gen replicase và chuyển vào tế bào cây trồng. Gen này sao mã ra ARN chứa một đoạn nhận biết liên kết với replicase. Từ đó phân tử này cạnh tranh với ARN của virus trong quá trình liên kết với replicase để nhân bản. Như vậy, khi cây chuyển gen tạo ra số lượng ARN đáp ứng cho sự cạnh tranh, sự nhân bản của virus sẽ bị ức chế.



Hình 8.9. Sơ đồ diễn tả những điểm mà đoạn mRNA ngược nghĩa có thể gắn vào để kìm hãm sự biểu hiện của gen ở các giai đoạn khác nhau. 1. Tạo đoạn mạch có mạch xoắn ba; 2. Gắn vào chuỗi kép mở ra cho ARN-polymerase; 3. Gắn vào vị trí làm cho mạch mRNA tổng hợp kết thúc sớm; 4. Gắn mRNA sơ cấp gây cản trở các quá trình thành thực hóa của nó; 5. Gắn vào mRNA cản trở nó đi ra bào chất; 6. Gắn vào điểm nhận biết cho dịch mã-điểm gắn với ribissom của mRNA (tbs); 7. Gắn vào vị trí có bộ ba khởi động; 8. Cản trở sự tiếp diễn của quá trình dịch mã-mạch polypeptit bị kết thúc sớm.

3. Chương trình tạo giống kháng virus thứ 3 dựa vào việc sử dụng kỹ thuật tạo dòng ADN ngược nghĩa. Cây chuyển gen tạo ra ARN ngược nghĩa có khả năng kìm hãm sự biểu hiện của gen ở virus, từ đó dẫn tới sự ngăn cản quá trình hoàn thiện và phát triển của virus ở thể bào thực vật.

Cho tới nay người ta đã tạo ra được nhiều giống cây trồng chuyển gen kháng virus ở các loài như: Thuốc lá, cà chua, đu đủ, bí đỏ và đã được đưa vào sản xuất.

8.4.2.2. Tạo giống kháng sâu bệnh

Ở vi khuẩn *Bacillus thuringiensis* đã phát hiện ra gen Delta endotoxin kiểm tra tổng hợp một loại protein có khả năng gây độc đối với nhiều loại côn trùng, nhưng lại không độc đối với người. Protein này là

độc tố Bt, nó được tạo ra trong quá trình hình thành bào tử của vi khuẩn. Người ta đã nuôi cấy vi khuẩn này ở quy mô lớn để sử dụng độc tố Bt trong dịch chiết để phun lên cây trồng nhằm trừ sâu hại. Chế phẩm này được gọi là thuốc trừ sâu vi sinh. Khi sâu ăn phải lá cây có độc tố Bt, trong đường ruột của sâu độc tố này bị phân hủy bởi enzym protease trở thành dạng cấu trúc thể lõi. Thể này có hoạt tính gây độc, khi nó liên kết với chất tiếp nhận đặc thù ở tế bào biểu mô của ruột và đi vào bào chất làm cho tế bào bị tổn hại. Sâu phải ngừng ăn và bị chết đói sau khoảng 24 giờ.

Ý tưởng tiến xa hơn đó là tách dòng gen kiểm tra độc tố Bt từ vi khuẩn rồi chuyển vào cây trồng (thông qua *A. tumefaciens* bằng vi bắn) nhằm tạo ra giống cây trồng kháng sâu hại. Người ta đã chuyển gen vào 12 dạng cây trồng khác nhau như: Cà chua, ngô, khoai tây, thuốc lá, bông,....

Một số protein khác có khả năng ức chế sự phát triển của sâu. Ví dụ, chất ức chế proteinase chiết từ cây khoai môn khổng lồ (chất này có tác dụng làm mất hoạt tính của men tiêu hóa protease) có khả năng ức chế sinh trưởng của sâu non *Heliothis ornigera*, bên cạnh đó người ta còn phát hiện ra chất tripsin ở cây đậu bò, . . . Các phát hiện này đã mở ra triển vọng trong việc áp dụng kỹ thuật tách dòng và chuyển các gen mã hóa các chất ức chế nêu trên vào cây trồng nhằm tạo giống cây trồng kháng sâu hại.

8.4.2.3. Cây chuyển gen kháng thuốc trừ cỏ

Các dạng thuốc trừ cỏ có những tác động gây hại đặc thù đối với thực vật. Người ta đã đưa ra các chiến lược khác nhau nhằm trang bị cho cây trồng khả năng kháng thuốc trừ cỏ bằng kỹ thuật chuyển gen. Dưới đây là một số trường hợp đã được sử dụng:

1. *Cây chuyển gen có hoạt tính tổng hợp enzym tăng mạnh, đảm bảo cho nó khả năng kháng thuốc trừ cỏ.* Ví dụ, thuốc trừ cỏ Phosphinothricin (tên thương phẩm Basta) có tác dụng ức chế enzym glutaminsynthase-GS, enzym này tham gia vào việc tổng hợp các a.a glutamin. Tăng khả năng tổng hợp GS đảm bảo cho cây trồng kháng thuốc trừ cỏ. Tương tự, thuốc trừ cỏ glyphosate ức chế enzym 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase-EPSPS (enzym này tham gia vào việc tổng hợp các a.a thơm). Tách dòng c-ADN mã hóa EPSPS rồi chuyển vào cây trồng, có thể thu được cây kháng thuốc trừ cỏ glyphosate.

2. Sử dụng gen mã hóa enzym biến đổi (đột biến) không mẫn cảm với thuốc trừ cỏ để chuyển vào cây trồng. Ví dụ, ở vi khuẩn đã phát hiện ra dạng đột biến tạo ra enzym EPSPS khác với khởi thủy, nó rất kém mẫn cảm với tác dụng ức chế của thuốc trừ cỏ glyphosate.

3. Sử dụng gen mã hóa enzym có khả năng khử độc của thuốc trừ cỏ. Người ta đã tách gen Bar từ *Streptomyces hygroscopicus* mã hóa enzym phosphinothricin axetyltransferase (PAT). Enzym này có tác dụng axetyl hóa nhóm NH₂ tự do của phosphinothricin làm cho nó mất khả năng gây độc đối với cây trồng. Tương tự, gen mã hóa enzym detoxifying (ở vi khuẩn) có khả năng khử tính gây độc của thuốc trừ cỏ glyphosate.

Giống chuyển gen kháng thuốc trừ cỏ đưa ra sản xuất đã thu được ở một số đối tượng cây trồng như: Ngô, đậu tương, bông, cải dầu, thuốc lá,....

8.4.2.4. Một số chiến lược khác trong cải tiến giống cây trồng

Bên cạnh các vấn đề đã nêu trên, kỹ thuật ADN tái tổ hợp còn được ứng dụng mạnh để cải tiến cây trồng theo nhiều hướng khác nhau.

1. Cải tiến chất lượng thực phẩm của cây trồng

Thực vật bậc cao là nguồn cung cấp tinh bột cơ bản. Tinh bột gồm hai thành phần chủ yếu: Amylose mạch thẳng, khó tiêu hóa trọng dạ dày người và amylopectin mạch nhánh, dễ hồ hóa và dễ tiêu hóa. Kỹ thuật di truyền đã được ứng dụng để cải tiến chất lượng thực phẩm. Ví dụ, người ta đã tạo ra giống khoai tây chứa rất ít amylose, giống chứa nhiều hàm lượng tinh bột trong củ giảm mạnh (chỉ còn 2÷5% so với khởi thủy) nhưng nó có hàm lượng glucose và sucrose tăng lên 6÷8 lần.

Kỹ thuật di truyền mở ra nhiều hứa hẹn trong lĩnh vực cải tiến chất lượng dầu thực vật, bằng cách làm biến đổi thành phần các axit béo. Ví dụ, các nhà khoa học đã thành công trong việc chuyển hóa axit linoleic thành axit α -linoleic.

Kỹ thuật di truyền còn hướng vào việc cải tiến thành phần protein ở thực vật và loại bỏ các chất độc hại về mặt thực phẩm trong cây trồng.

Vấn đề tạo ra cây chuyển gen có hương vị đặc biệt, có hợp chất đặc thù cũng được phát triển mạnh. Người ta đã phát hiện ra cây *Thaumacoccus damielli* ở châu Phi có chứa chất thaumatin là một peptit có vị ngọt gấp 10.000 lần so với đường sucrose. Bước đầu đã thu được kết quả chuyển gen mã hóa chất này vào khoai tây. Triển vọng gen này sẽ được chuyển vào dưa bở, dâu tây,....

2. Đối với các cây hoa, cây cảnh, người ta đã sử dụng kỹ thuật di truyền nhằm biến đổi màu sắc hoa theo ý muốn

Sắc tố của hoa chủ yếu do ba nhóm chất quyết định, đó là flavonoid, carotenoid và betalain. Bằng cách thay đổi liều lượng hoặc loại bỏ hay thêm vào chất sắc tố nào đó ta có thể làm thay đổi màu sắc của hoa.

Nhiều gen tạo sắc tố ở hoa đã được tách dòng và tìm cách chuyển vào cây. Ví dụ, người ta đã tách dòng c-ADN gen mã hóa enzym tham gia vào việc tổng hợp anthocyanin



Hình 8.10. Hoa hồng xanh sản phẩm của BDG có giá 15÷20 bảng/bông ở Nhật Bản ở ngô, gen này được chuyển vào cây oetunia và đã thu được dạng có màu sắc hoa biến đổi. Bên cạnh đó, người ta còn áp dụng kỹ thuật ARN ngược nghĩa hoặc sử dụng yếu tố di truyền di động để ức chế sự biểu hiện của gen

tạo sắc tố nào đó, nhờ đó có thể thu được dạng hoa biến đổi màu sắc, như dạng khảm.

3. Khả năng tạo cây trồng chuyển gen để sản xuất các hợp chất quý hiếm

Thực vật dễ trồng và có thể sản xuất ra một khối lượng sản phẩm với giá thành rẻ. Nếu chúng được sử dụng như nhà máy sản xuất ra những hợp chất quý hiếm thì sẽ đem lại hiệu quả kinh tế cao.

Ví dụ, người ta đã tách dòng và chuyển gen sản xuất chất kháng thể (gen kiểm tra chuỗi nhẹ và chuỗi nặng của kháng thể ở chuột) vào cây thuốc lá. Ở cây chuyển gen có sự hoạt động của gen này, năng suất chất kháng thể đạt 1,3% khối lượng chất khô. Một ví dụ khác nữa, người ta đã chuyển gen mã hóa chất dẻo (polyhydroxybutyrate-PHB) của vi khuẩn vào cây trồng và đã thu được kết quả chất dẻo PHB ở cây thuốc lá chuyển gen.



Hình 8.11. Cây trồng chuyển gen được trồng lấy được liệu để điều chế thuốc

Ngoài những vấn đề vừa nêu, kỹ thuật chuyển gen còn được ứng dụng trong những chiến lược tạo các dòng bất dục đực, tạo dòng chống chịu với một số yếu tố bất lợi của ngoại cảnh như chịu lạnh, chịu mặn, chịu hạn, . . .

Tóm lại, kỹ thuật di truyền đó thể hiện sức mạnh to lớn trong cải tiến sinh giới, tạo nên những biến đổi màu sắc từ những chi tiết của các thành phần và quá trình trao đổi chất, đến những biến đổi lớn ở nhiều tính trạng khác nhau. Nhiều thành tựu đã thu được liên tiếp trong thời gian qua của kỹ thuật di truyền đó giúp phần cho sinh học đi sâu vào tìm hiểu bản chất của sự sống, tạo ra các vũ khí sắc bén trong chọn, tạo giống sinh vật và có thể tác động trực tiếp tới sinh học của con người. Trong những năm gần đây đó nảy sinh sự tranh cãi khá quyết liệt giữa các nước sản xuất ra và buôn bán các sản phẩm lượng thực, thực phẩm sử dụng các sản phẩm biến đổi gen. Người tiêu dùng ở các nước phát triển thì cho rằng, các sản phẩm biến đổi gen là không có lợi cho sức khỏe và sự an toàn của con người. Người tiêu dùng ở các nước nghèo-do còn “đói” về lương thực cũng như thực phẩm nên chưa quan tâm nhiều đến vấn đề chất lượng, mà họ đang quan tâm nhiều đến vấn đề số lượng để đáp ứng nhu cầu cuộc sống hàng ngày. Vì vậy, bài toán ứng dụng kỹ thuật di truyền còn đặt ra nhiều vấn đề hóc búa về mặt phát triển sinh học nói chung, cũng như về mặt đạo lý sinh học, chúng cần được xem xét kỹ lưỡng trước khi ứng dụng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bùi Chí Bửu, Nguyễn Thị Lang: *Di truyền phân tử*, NXB Nông nghiệp, 2004.
2. Douglas Tave: *Genetics for Fishery Managers*; AVI Publishing Company, Inc. Westport Connecticut, 1986
3. Dubinin N.P.: *Di truyền học đại cương*, người dịch: Trần Đình Miên, Phan Cự Nhân, NXB Nông nghiệp và NXB Mir Mat cơ va, 1981.
4. Nguyễn Kim Đường: *Di truyền quần thể*, NXB Nông nghiệp, 2008.
5. Nguyễn Kim Đường, Nguyễn Đình Vinh, *Đa hình di truyền ở động vật*, NXB Đại học Vinh, 2012.
6. Nguyễn Kim Đường, Trần Đình Miên, Nguyễn Tiến Văn: *Chọn giống và nhân giống gia súc*, NXB Nông nghiệp, Hà Nội, 1992
7. Falconer D.S.: *Introduction to Quantitative Genetics*, second edition, Longman London and New York, 1981
8. Nguyễn Minh Hoàn, Nguyễn Kim Đường, Phạm Khánh từ: *Di truyền học động vật*, NXB Nông nghiệp, Hà Nội, 2000
9. Hutt F. B.: *Di truyền học động vật*, NXB Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội, 1978
10. Klug W.S., Cummingham M.R.: *Concepts of Genetics*, Scott, Foresmen, and Company Glenview, Illinois, London England, 1986
11. Lê Đình Lượng, Phan Cự Nhân: *Cơ sở di truyền học*, NXB Giáo dục, 1994
12. Nguyễn Hồng Minh: *Di truyền học*, NXB Nông nghiệp, Hà Nội, 1999
13. De Robertis E.D.P, Nowinski W.W., Saez F.A.: *Biologia Celular*, sexta edicion totalmente renovada, Edicion Revolucionada, Instituto del Libro, Vedado Habana, Cuba, 1965

MỤC LỤC

BÀI MỞ ĐẦU

| | | |
|-----|---|---|
| 01. | Đối tượng nghiên cứu của di truyền học | 1 |
| 02. | Các phương pháp nghiên cứu di truyền | 4 |
| 03. | Ý nghĩa của di truyền học đối với cây trồng | 5 |

CHƯƠNG I

CƠ SỞ VẬT CHẤT CỦA DI TRUYỀN

| | | |
|--------|--|----|
| I. | CƠ SỞ VẬT CHẤT DI TRUYỀN Ở MỨC ĐỘ TẾ BÀO | 8 |
| 1.1.1. | Cấu tạo và chức năng di truyền của tế bào | 8 |
| 1.1.2. | Nhân tế bào và vai trò của nhân tế bào trong di truyền | 10 |
| 1.1.3. | Nhiễm sắc thể và vai trò của nhiễm sắc thể trong di truyền | 11 |
| 1.1.4. | Chu kỳ tế bào và phân bào nguyên nhiễm | 16 |
| 1.1.5. | Phân bào nguyên nhiễm | 17 |
| 1.1.6. | Phân bào giảm nhiễm (Meiose) | 23 |
| 1.1.7. | Quá trình sinh sản hữu tính | 29 |
| 1.1.8. | Vòng đời của cơ thể sống | 34 |
| II. | CƠ SỞ PHÂN TỬ CỦA SỰ DI TRUYỀN | 36 |
| 1.2.1. | ADN-vật chất di truyền | 36 |
| 1.2.2. | Những đòi hỏi tất yếu của thông tin di truyền | 46 |
| 1.2.3. | Sinh tổng hợp ARN | 46 |
| 1.2.4. | Sinh tổng hợp ADN nhờ phiên mã ngược | 47 |
| 1.2.5. | Mật mã di truyền | 48 |
| 1.2.6. | Quá trình sao mã di truyền | 51 |
| 1.2.7. | Quá trình giải mã di truyền | 52 |
| 1.2.8. | Điều hoà sinh tổng hợp protein | 57 |
| 1.2.9. | Các quá trình sao chép và biểu hiện của gen | 61 |

CHƯƠNG II

CẤU TẠO VÀ HOẠT ĐỘNG CỦA GEN

| | | |
|------|---|----|
| 2.1. | Cấu tạo của gen | 62 |
| 2.2. | Tổ chức các gen ở genom | 70 |
| 2.3. | Hoạt động của gen | 76 |
| 2.4. | Cơ sở di truyền của quá trình phát triển cá thể | 82 |

CHƯƠNG III

CÁC QUY LUẬT DI TRUYỀN CỦA CÁC TÍNH TRẠNG

| | | |
|------|--|-----|
| 3.1. | Các quy luật di truyền Mendel | 85 |
| 3.2. | Quy luật di truyền của các gen có hoạt động tương tác không cùng locus | 96 |
| 3.3. | Hoạt động đa hiệu của các gen | 99 |
| 3.4. | Quy luật di truyền của các gen đa alen | 100 |
| 3.5. | Quy luật di truyền của các tính trạng số lượng | 106 |

CHƯƠNG IV

DI TRUYỀN QUA TẾ BÀO CHẤT VÀ DI TRUYỀN LIÊN KẾT

| | | |
|------|--|-----|
| 4.1. | Quy luật di truyền của các yếu tố ngoài nhân | 118 |
| 4.2. | Di truyền liên kết và bản đồ gen | 128 |
| 4.3. | Di truyền xác định và liên kết giới tính | 137 |

| | | |
|---|--|-----|
| CHƯƠNG V | | |
| BIẾN DỊ VÀ ĐỘT BIẾN | | |
| 5.1. | Khái niệm và phân loại của biến dị | 143 |
| 5.2. | Đột biến gen | 146 |
| 5.3. | Đột biến nhiễm sắc thể | 156 |
| 5.4. | Định luật về dãy biến dị đồng nguồn | 174 |
| 5.5. | Đột biến tự nhiên và đột biến nhân tạo | 174 |
| CHƯƠNG VI | | |
| DI TRUYỀN HỌC QUẦN THỂ | | |
| 6.1. | Một số khái niệm về quần thể và quần thể Mendel | 179 |
| 6.2. | Vốn gen của quần thể | 179 |
| 6.3. | Một số đặc trưng của quần thể sinh sản tự do | 180 |
| 6.4. | Quy luật ổn định hóa | 187 |
| 6.5. | Tính tần số gen và kiểu gen trong quần thể | 118 |
| 6.6. | Các yếu tố làm thay đổi tần số gen trong quần thể | 191 |
| 6.7. | Ứng dụng định luật Hardy-Weinberg | 200 |
| 6.8. | Chọn lọc trong quần thể và dòng thuần | 201 |
| 6.9. | Quần thể dưới tác động tổng hợp của các tác nhân làm biến đổi tần số gen | 203 |
| CHƯƠNG VII | | |
| GIAO PHỐI CẬN THÂN VÀ ƯU THỂ LAI | | |
| 7.1. | Giao phối cận thân | 204 |
| 7.2. | Ưu thế lai | 211 |
| CHƯƠNG VIII | | |
| ỨNG DỤNG KỸ THUẬT DI TRUYỀN TRONG CÂY TRỒNG | | |
| 8.1. | Các enzym giới hạn và các đoạn cắt ADN | 231 |
| 8.2. | Thu nhận các gen | 238 |
| 8.3. | Tạo các vector chuyển gen | 241 |
| 8.4. | Kỹ thuật di truyền và chiến lược cải tiến giống cây trồng | 247 |
| TÀI LIỆU THAM KHẢO | | |
| MỤC LỤC | | |
| | | 254 |

NHÀ XUẤT BẢN ĐẠI HỌC VINH
182 Lê Duẩn, Vinh, Nghệ An
Điện thoại: 038.3551345 - Fax: 038 3855269
Email: nxbdhv@gmail.com

GIÁO TRÌNH DI TRUYỀN THỰC VẬT

Chịu trách nhiệm nội dung
Hội đồng nghiệm thu
Trường Đại học Vinh

Người nhận xét:
PGS.TS. Nguyễn Quang Phổ
TS. Trương Xuân Sinh

Chịu trách nhiệm xuất bản
Giám đốc: PGS.TS. Đinh Trí Dũng
Tổng biên tập: PGS.TS. Trần Văn Ân

Biên tập:

Trình bày:
Quang Minh

Sửa bản in:
Tác giả

In 300 bản, khổ 17 x 25 cm
Tại Chi nhánh Công ty CP phát hành sách Nghệ An
Đăng ký kế hoạch xuất bản số:
Quyết định xuất bản số: /QĐXB-ĐHV ngày tháng năm 2013
In xong và nộp lưu chiểu tháng năm 2013