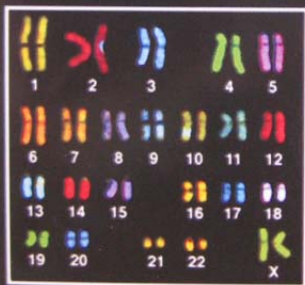


HOÀNG TRỌNG PHÁN (chủ biên)
TRƯƠNG THỊ BÍCH PHƯƠNG
TRẦN QUỐC DUNG

GIÁO TRÌNH

DI TRUYỀN HỌC



NHÀ XUẤT BẢN ĐẠI HỌC HUẾ

Lời nói đầu

Đến nay, di truyền học ra đời chỉ mới hơn một trăm năm song nó đã phát triển với một tốc độ hết sức nhanh chóng. Đặc biệt là, trong vòng 50 năm lại đây kể từ ngày James Watson và Francis Crick khám phá ra cấu trúc phân tử DNA, 25/4/1953. Sự hoàn thành việc giải mã di truyền bởi hai nhóm nghiên cứu của Marshall Nirenberg và Har Gobind Khorana vào tháng 6 năm 1966 và sự ra đời của Kỹ thuật Di truyền và Công nghệ DNA tái tổ hợp vào giữa thập niên 1970 là hai sự kiện nổi bật nhất kể từ sau khi sinh học phân tử ra đời. Kế đó, sự hoàn tất của Dự án Bộ gene Người vào tháng 4 năm 2003 được xem là một trong những kỳ công thám hiểm vĩ đại nhất của loài người. Lần đầu tiên con người có thể đọc được một cách đầy đủ toàn bộ trình tự 3.164.700.000 cặp base trong bộ gene của mình. Tất cả những sự kiện nổi bật này minh chứng một điều rằng: Sự phát triển cùng với những thành tựu đạt được của di truyền học trong thời gian qua quả là vô cùng to lớn!

Để góp phần đổi mới nội dung giáo trình Di truyền học theo hướng cập nhật kiến thức cũng như phương pháp dạy và học bộ môn ở bậc Đại học, chúng tôi đã tham cứu nhiều tài liệu khác nhau và nỗ lực biên soạn giáo trình trên tinh thần ấy. Chúng tôi hy vọng rằng giáo trình này sẽ đáp ứng được phần nào nhu cầu giảng dạy và học tập của giảng viên và sinh viên, và cũng có thể sử dụng như một tài liệu tham khảo bổ ích cho giáo viên Sinh học các trường THPT trong bối cảnh đổi mới giáo dục hiện nay.

Nội dung giáo trình gồm phần Mở đầu cộng với 12 chương bao quát các kiến thức đại cương của một giáo trình Di truyền học. Các chương 1-4 đề cập chủ yếu nội dung thuộc Di truyền học cổ điển, các chương 5-10 tập trung vào phần Di truyền học phân tử và chương 12 được xem là phần nhập môn của Di truyền học quần thể, còn chương 11 là sự kết hợp giữa các kiến thức di truyền cổ điển và hiện đại trên đối tượng là con người. Cuối mỗi chương đều có các phần Câu hỏi và Bài tập và Tài liệu Tham khảo để bạn đọc tiện ôn tập và tra cứu.

Giáo trình Di truyền học được ra đời trong khuôn khổ của Dự án Giáo dục thuộc Đại học Huế, vì vậy một số kiến thức nâng cao sẽ được đề cập trong một giáo trình riêng, như: Di truyền Vi sinh vật và Ứng dụng, và Công nghệ DNA Tái tổ hợp. Bên cạnh đó, một số thuật ngữ khoa học được thống nhất sử dụng bằng tiếng Anh để giúp người học dễ dàng hơn trong việc tiếp cận với thông tin qua sách báo nước ngoài hoặc internet.

Giáo trình này do ThS. Hoàng Trọng Phán (chủ biên), TS. Trương Thị Bích Phượng và TS. Trần Quốc Dung là những giảng viên đang công tác tại Khoa Sinh học các trường Đại học Sư phạm và Đại học Khoa học thuộc Đại học Huế biên soạn, với sự phân công như sau:

ThS. Hoàng Trọng Phán biên soạn phần Mở đầu và các chương 1, 2, 3, 4, 5, 6, 10 và 12;

TS. Trương Thị Bích Phượng biên soạn các chương 7, 8 và 9; và

TS. Trần Quốc Dung biên soạn chương 11.

Để giáo trình này kịp thời ra mắt bạn đọc, chúng tôi xin trân trọng cảm ơn Dự án Giáo dục Đại học Huế đã tài trợ cho việc biên soạn và xuất bản giáo trình trong khuôn khổ của Dự án Giáo dục Đại học mức B.

Chúng tôi xin bày tỏ lòng cảm ơn đặc biệt đến GS. TS. Phan Cự Nhân, Trường Đại học Sư phạm Hà Nội, đã dày công đọc bản thảo và cho nhiều ý kiến quý báu cũng như đã khích lệ chúng tôi rất nhiều kể từ khi đề cương giáo trình bắt đầu được hình thành.

Do khả năng còn hạn chế, chắc chắn giáo trình còn nhiều thiếu sót. Chúng tôi rất mong nhận được sự phê bình và chỉ bảo của các đồng nghiệp và bạn đọc để giáo trình được hoàn chỉnh hơn trong lần in sau.

Huế, ngày 25 tháng 6 năm 2005

Các tác giả

Mở đầu

I. Khái niệm di truyền học

Theo quan niệm của Bateson (1906), *di truyền học* (genetics) là khoa học nghiên cứu các đặc tính di truyền và biến dị vốn có của mọi sinh vật cùng với các nguyên tắc và phương pháp điều khiển các đặc tính đó. Ở đây, *tính di truyền* (heredity) được biểu hiện ở sự giống nhau giữa con cái với cha mẹ; và *tính biến dị* (variability) biểu hiện ở sự sai khác giữa cha mẹ và con cái cũng như giữa các con cái với nhau.

Cần lưu ý rằng, *gene* là khái niệm căn bản của di truyền học cho nên nội dung của khái niệm gene không ngừng được phát triển cùng với sự phát triển của di truyền học.

II. Lược sử phát triển của di truyền học

Sự ra đời và phát triển của di truyền học gắn liền với công trình nghiên cứu của Gregor Mendel năm 1865. Tuy nhiên, trước thời Mendel đặc biệt là từ thế kỷ XVII có một số sự kiện quan trọng sau đây: (1) Sự ra đời của kính hiển vi sơ khai bởi A.van Leuvenhook (1632-1723); và (2) Sinh học bắt đầu phát triển mạnh vào thế kỷ XIX với sự ra đời thuyết tế bào của M.Schleiden và T.Schwann (1838,1839) và các thuyết tiến hóa của J.B.Lamarck (1809) và đặc biệt là của R.C.Darwin (1859). Nhìn chung, quan niệm phổ biến thời bấy giờ vẫn là sự *di truyền các tính trạng tập nhiễm* (inheritance of acquired characters) do Lamarck đề xuất và sự *di truyền hòa hợp* (blending inheritance), nghĩa là sự pha lẫn "tinh cha huyết mẹ" ở con cái.

1. Sự ra đời và phát triển của di truyền Mendel



Từ đậu Hà Lan (*Pisum sativum*), với ý tưởng và phương pháp nghiên cứu độc đáo, năm 1865 Gregor Mendel (Hình 1) đã phát hiện ra các quy luật di truyền cơ sở đầu tiên và qua đó suy ra sự tồn tại tất yếu của các đơn vị di truyền đặc thù - *nhân tố di truyền* (genetic factor) - quy định các tính trạng được truyền từ thế hệ này sang thế hệ khác mà sau này gọi là *gene*. Tuy nhiên, giới khoa học đương thời không hiểu và do đó không thể đánh giá tầm vóc vĩ đại của phát minh này.

Hình 1 G. Mendel Mãi đến năm 1900, ba nhà thực vật học là Carl Correns (Germany), Hugo de Vries (Netherlands) và Erich von Tschermak (Austria) độc lập nhau khám phá lại các quy luật di truyền của Mendel. Và di truyền học chính thức ra đời từ đây mà người sáng lập là Mendel.

Trong những năm đầu thế kỷ XX, nhờ ứng dụng di truyền Mendel, các nhà chọn giống đã phát hiện thêm các hiện tượng như: trội không hoàn toàn, đồng trội, gene gây chết, đa allele, các kiểu tương tác gene... Ở giai đoạn này, ngoài thuyết đột biến của H.de Vries năm 1901, còn có hai sự kiện liên quan đến sự ra đời của thuyết di truyền nhiễm sắc thể và di truyền học quần thể sau này, đó là sự khởi xướng "thuyết nhiễm sắc thể" bởi Walter Sutton và Theodor Boveri năm 1902 và việc thiết lập quy luật Hardy-Weinberg năm 1908.

Một số thuật ngữ thông dụng cũng được đề xuất trong giai đoạn này, như: *di truyền học* (genetics) bởi W.Bateson năm 1906, *gene*, *kiểu gene* (genotype) và *kiểu hình* (phenotype) bởi W.Johannsen năm 1909.

2. Sự ra đời và phát triển của thuyết di truyền nhiễm sắc thể



Từ 1910, Thomas Hunt Morgan (Hình 2) cùng với ba cộng sự là Alfred H. Sturtevant, Calvin Bridges và Herman J. Muller đã xây dựng thành công *thuyết di truyền nhiễm sắc thể* (chromosome theory of inheritance) dựa trên đối tượng nghiên cứu là ruồi giấm *Drosophila melanogaster*. Học thuyết này xác nhận rằng gene là đơn vị cơ sở của tính di truyền nằm trên nhiễm sắc thể (ở trong nhân); trên đó các gene sắp xếp theo đường thẳng

Hình 2 T.H.Morgan

tạo thành nhóm liên kết. Những đóng góp đáng kể của các môn đệ xuất sắc của Morgan đó là: xây dựng bản đồ di truyền (Sturtevant 1913), chỉ ra cơ chế xác định các kiểu hình giới tính ở ruồi giấm (Bridges 1916) và phát triển phương pháp gây đột biến bằng tia X (Muller 1927). Với đóng góp to lớn đó Morgan đã được trao giải Nobel năm 1933 và Muller năm 1946.



Năm 1931, Barbara McClintock (Hình 3) và Harriet Creighton thu được bằng chứng vật lý trực tiếp về tái tổ hợp ở ngô. Sau đó, hiện tượng này cũng được C. Stern quan sát ở *Drosophila*. Như vậy tái tổ hợp có thể được phát hiện cả về mặt vật lý lẫn di truyền ở động vật cũng như ở thực vật. Đến 1944, McClintock phát hiện các *yếu tố di truyền vận động* (transposable genetic elements), và bà đã được trao giải Nobel năm 1983 về khám phá này.

Hình 3 B.McClintock

3. Sự ra đời và phát triển của di truyền học phân tử

Sự ra đời của *di truyền học phân tử* (molecular genetics) gắn liền với các khám phá về DNA (deoxyribonucleic acid) từ giữa thế kỷ XX trên đối

tượng nghiên cứu chủ yếu là các vi sinh vật. Tuy nhiên, trước đó Friedrich Miescher (1869) đã khám phá ra một hỗn hợp trong nhân tế bào gọi là nuclein mà thành phần chính của nó sau này được biết là DNA.



Hình 4 Beadle, Tatum, Jacob và Monod (từ trái sang)

Về mối quan hệ giữa gene và protein, từ 1902 Archibald Garrod qua nghiên cứu bệnh alcaptonuria ở người đã gợi ý rằng đây là một tính trạng lặn Mendel, có thể liên quan tới sự sai hỏng một enzyme. Bằng các thí nghiệm gây đột biến các gene liên quan đến các con đường sinh hóa trên nấm mốc *Neurospora*, năm 1941 George Beadle và E.L. Tatum (Hình 4) xác nhận mỗi gene kiểm soát sự tổng hợp một enzyme đặc thù. Chính *giả thuyết một gene-một enzyme* (one gene-one enzyme hypothesis) nổi tiếng này đã mở đường cho sự ra đời của di truyền hóa-sinh, và hai ông đã được trao giải Nobel cùng với Joshua Lederberg năm 1958. Về sau, giả thuyết này được chính xác hóa là một gene xác định chỉ một chuỗi polypeptid - cấu trúc sơ cấp của các protein, trong đó có các enzyme.



Hình 5 O.T. Avery

Vậy bản chất của gene là gì? Năm 1944, Oswald Avery (Hình 5) và các cộng sự là MacLeod và McCarty bằng thí nghiệm biến nạp *in vitro* đã chứng minh rằng DNA là vật chất mang thông tin di truyền. Năm 1949, Erwin Chargaff công bố các kết quả đầu tiên về thành phần hóa học của DNA một số loài.



Hình 6 R.Franklin (trái) và M.Wilkins

Việc nghiên cứu cấu trúc phân tử DNA được bắt đầu từ 1951 với các dẫn liệu nhiễu xạ tia X của Rosalind Franklin và Maurice Wilkins (Hình 6). Các số liệu hóa học và vật lý này là cơ sở mà từ đó James Watson và Francis Crick (Hình 7) đã xây dựng thành công mô hình cấu trúc phân tử DNA năm 1953, còn gọi là *chuỗi*



xoắn kép (double helix). Phát minh vĩ đại này mở ra kỷ nguyên mới cho sự phát triển của di truyền học và sinh học nói chung. Với phát minh đó, Watson và Crick cùng với Wilkins được trao giải Nobel năm 1962.

Bài báo nhan đề "Một cấu trúc cho Deoxyribose Nucleic Acid" của Watson và Crick đăng trên tạp chí *Nature* ngày 25/4/1953 được đánh giá

Hình 7 J.D.Watson (trái) và F.H.C.Crick

là một bài báo không bình thường. Chỉ vỏn vẹn có 128 dòng nhưng đằng sau bài báo là cả một bước tiến lịch sử vĩ đại của di truyền học mà mỗi dòng là một câu chuyện. Thật vậy, sau cấu trúc chuỗi xoắn kép là hàng loạt các khám phá mới. Năm 1958 Matthew Meselson và Franklin Stahl chứng minh sự tái bản bán bảo toàn của DNA; và năm 1961



Seymour Benzer hoàn tất công trình nghiên cứu cấu trúc tinh vi của gene; Francois Jacob và Jacques Monod (Hình 4) tìm ra cơ chế điều hòa sinh tổng hợp protein (giải Nobel 1965 với Andre Lwoff); S.Brenner, Jacob và Meselson khám phá ra RNA thông tin; S.Brenner và F.Crick chứng minh mã di truyền là mã bộ ba; công trình giải mã

Hình 8 H.G.Khorana (trái) và M.Nirenberg

di truyền này được hoàn thành vào tháng 6 năm 1966 bởi hai nhóm nghiên cứu của Marshall Nirenberg và Har Gobind Khorana (giải Nobel năm 1968; Hình 8).

4. Sự ra đời và phát triển của công nghệ DNA tái tổ hợp

Có thể nói, nền tảng của công nghệ DNA tái tổ hợp (recombinant DNA technology) được thành lập từ 1972 khi Paul Berg (Hình 10) tạo ra phân tử DNA tái tổ hợp đầu tiên trong ống nghiệm (recombinant DNA *in vitro*). Một năm sau Herbert Boyer và Stanley Cohen (Hình 10) lần đầu tiên sử dụng plasmid để tạo dòng DNA. Lĩnh vực ứng dụng mới này của sinh học phân tử đã tạo ra một cuộc cách mạng mới trong sinh học. Đóng góp đáng kể trong lĩnh vực này là khám phá về các enzyme giới hạn (restriction enzyme) từ 1961-1969 của Werner Arber, Daniel Nathans và

Hamilton Smith (giải Nobel 1978; Hình 10); đề xuất các phương pháp xác định trình tự base trong các nucleic acid năm 1977 bởi P.Berg, W.Gilbert



Hình 9 Các nhà khoa học đoạt giải Nobel y học liên quan kỹ thuật gene. Từ trái sang: D.Nathans, H.Smith, W.Arber, P.Sharp và R.Robert.



Hình 10 Các nhà khoa học đoạt giải Nobel hóa học liên quan kỹ thuật gene. Từ trái sang: H.Boyer, S.Cohen, P.Berg, W.Gilbert, F.Sanger và K.Mullis.

và Frederick Sanger (giải Nobel hóa học 1980; Hình 10); sự khám phá ra các *gene phân đoạn* (split gene) năm 1977 bởi Phillip Sharp và Richard Robert (giải Nobel 1993; Hình 9); sự phát minh ra phương pháp PCR (*polymerase chain reaction*) của Kary B.Mullis năm 1985 (Hình 10) và phương pháp *gây đột biến định hướng* (site-directed mutagenesis) của Michael Smith từ 1978-1982 (giải Nobel hóa học 1993)...

Cùng với những thành tựu ứng dụng ly kỳ trong sản xuất và đời sống xã hội, như việc sản xuất các chế phẩm y-sinh học bằng công nghệ DNA tái tổ hợp, sử dụng *liệu pháp gene* (gene therapy) trong điều trị bệnh di truyền, tạo các giống sinh vật mới bằng con đường biến đổi gene (genetically modified organisms = GMOs), *dự án bộ gene người* (Human Genome Project = HGP)... gây ra không ít hoài nghi, tranh cãi xung quanh các vấn đề về *đạo lý sinh học* (bioethics) và *an toàn sinh học* (biosafety).

III. Đối tượng và các lĩnh vực nghiên cứu của di truyền học

Trong giai đoạn đầu, đối tượng của di truyền học là các thực vật, động vật, người và các vi sinh vật. Từ đó dẫn tới sự hình thành các lĩnh vực nghiên cứu tương ứng là di truyền học thực vật, động vật, người và di truyền học vi sinh vật, trong đó di truyền học tế bào là cơ sở. Giai đoạn

này kéo dài từ thời Mendel cho đến thập niên 1940, với đặc trưng là nghiên cứu quy luật di truyền các tính trạng qua các thế hệ. Vì vậy nó thường được gọi là giai đoạn *di truyền học Mendel* hay *di truyền học cổ điển* (Mendelian or classical genetics).

Từ thập niên 1950 đến nay, với sự ra đời của *di truyền học phân tử* (molecular genetics), đối tượng nghiên cứu là tổ chức, cấu trúc, chức năng và cơ chế hoạt động của các *bộ gene* (genomes), các gene và các sản phẩm của chúng ở mức phân tử. Đặc biệt với sự ra đời của các *kỹ thuật tạo dòng gene* (gene-cloning techniques) từ thập niên 1970, việc nghiên cứu cơ bản cũng như ứng dụng trở nên hết sức thuận lợi. Sự phân hóa thành các chuyên ngành lúc này là vô cùng phong phú và đa dạng, như: *di truyền học bệnh* (genetics of disease), *di truyền học ung thư* (genetics of cancer), *di truyền học phát triển* (developmental genetics), *công nghệ sinh học* (biotechnology)...Gần đây còn xuất hiện một số lĩnh vực nghiên cứu mới như *genomics*, *DNA chip technology*, *DNA microarray technology*...

Một hướng khác của di truyền học chuyên nghiên cứu cấu trúc di truyền của các quần thể và sự biến đổi di truyền bên trong quần thể và giữa các quần thể. Đó là nhánh *di truyền học quần thể* (population genetics), mà nguyên lý cơ sở của nó được G.Hardy (England) và W.Weinberg (Germany) độc lập đưa ra năm 1908. Tuy nhiên, lĩnh vực nghiên cứu này chỉ thực sự bắt đầu từ thập niên 1930 với các công trình của R.A.Fisher, J.B.S.Haldane và Sewall Wright. Ngày nay các nhà di truyền học không còn thiên về nghiên cứu sự biến đổi ở mức kiểu hình mà tập trung vào sự biến đổi phân tử trong một quần thể nhằm tìm hiểu ý nghĩa tiến hóa của các biến đổi đó. Và như thế di truyền học quần thể trở thành nền tảng cho các thuyết tiến hóa hiện đại.

Qua phân tích ở trên cho thấy ba nhánh chính của di truyền học, đó là: di truyền học Mendel, di truyền học phân tử và di truyền học quần thể.

IV. Các phương pháp nghiên cứu của di truyền học

Việc nghiên cứu di truyền học được tiến hành bởi nhiều phương pháp khác nhau. Bên cạnh các phương pháp kinh điển đặc thù còn có sự phát triển và tích hợp của các phương pháp từ toán học, tin học, vật lý và hóa học đặc biệt là trong lĩnh vực sinh học phân tử.

1. Các phương pháp kinh điển đặc thù của di truyền học

Trước hết đó là phương pháp tự thụ phần dùng để chọn các dòng thuần làm bố mẹ trong các phép lai, các phương pháp lai một hoặc đồng thời nhiều tính trạng giữa các bố mẹ do Mendel đề xuất. Trong đó bao gồm cả các hình thức lai thuận nghịch và *lai phân tích* (testcross) nhằm rút

ra quy luật, kiểm tra kiểu gene hoặc dùng để thiết lập bản đồ di truyền.

Đối với nghiên cứu di truyền người và một số vật nuôi *giao phối cận huyết* (consanguineous), đặc trưng là phương pháp *phân tích phả hệ* (pedigree analysis) nhằm xác định đặc điểm di truyền trội-lặn của một tính trạng hoặc bệnh tật; nghiên cứu trẻ sinh đôi cùng trứng và khác trứng nhằm xác định *hệ số di truyền* (heritability) của tính trạng; phương pháp *gây đột biến* (mutagenesis) kết hợp với lai hữu tính dùng trong nghiên cứu và chọn tạo giống, đặc biệt là ở thực vật...

2. Phương pháp toán học

Trong nghiên cứu khoa học nói chung và di truyền học nói riêng, việc áp dụng các công cụ toán thống kê và lý thuyết xác suất để phân tích định lượng và lý giải các kết quả nghiên cứu là rất thiết yếu. Chính điều đó làm cho di truyền học trở thành một khoa học chính xác và mang tính dự báo. Điều này thể hiện rõ trong các công trình nghiên cứu của Mendel, Morgan cũng như trong các nghiên cứu di truyền số lượng và di truyền quần thể.

3. Các phương pháp vật lý và hóa học

Trong nghiên cứu di truyền, đặc biệt là di truyền phân tử và tế bào đòi hỏi phải sử dụng các kỹ thuật và phương pháp của vật lý và hóa học. Chẳng hạn, trong nghiên cứu hình thái nhiễm sắc thể không thể thiếu các loại kính hiển vi quang học và điện tử, các *kỹ thuật nhuộm băng* (banding techniques); nghiên cứu thành phần hóa học và cấu trúc DNA đòi hỏi các phương pháp sắc ký và nhiễu xạ tia X...

4. Các phương pháp tế bào học

Trong nghiên cứu di truyền tế bào có rất nhiều phương pháp được sử dụng để quan sát hình thái nhiễm sắc thể và thiết lập *kiểu nhân* (karyotype) của các loài cũng như để chẩn đoán các bệnh tật liên quan đến sự biến đổi số lượng và cấu trúc nhiễm sắc thể.

Bên cạnh các kỹ thuật nuôi cấy mô và chuẩn bị nhiễm sắc thể là các kỹ thuật nhuộm băng khác nhau, kỹ thuật *lai huỳnh quang tại chỗ* (fluorescence *in situ* hybridization = FISH), kỹ thuật miễn dịch tế bào học... (xem Verma và Babu 1995).

5. Các phương pháp của sinh học phân tử - kỹ thuật di truyền

Sự tiến bộ nhanh chóng gần đây của sinh học phân tử và công nghệ sinh học là nhờ sự phát triển mạnh mẽ của các kỹ thuật tái tổ hợp DNA, lai phân tử, sử dụng các mẫu dò và phương pháp đánh dấu khác nhau, phương pháp PCR, các phương pháp xác định trình tự nucleic acid cũng như các phương pháp biến đổi vật liệu di truyền mới.

Với các công cụ kỹ thuật mới này đã cho phép đi sâu nghiên cứu tổ

chức của các gene và bộ gene, các cơ chế điều hòa và biến đổi di truyền ở mức phân tử cũng như các thành tựu ứng dụng mới trong y-sinh học, nông nghiệp và các lĩnh vực khác của đời sống-xã hội.

V. Các nguyên tắc nghiên cứu và phương pháp học tập di truyền học

1. Các nguyên tắc nghiên cứu của di truyền học

Trong nghiên cứu di truyền học và sinh học nói chung có các nguyên tắc chung cần tuân thủ như là phương pháp luận, sau đây: (1) Lấy tế bào làm đơn vị nghiên cứu; (2) Thông tin di truyền chứa trong bộ gene tế bào chi phối mọi biểu hiện sống của nó mà các gene là đơn vị di truyền cơ sở; (3) Sự hoạt động của các gene trong quá trình phát triển cá thể là đặc trưng cho từng gene trong từng giai đoạn cụ thể; (4) Các quá trình trong các hệ thống sống phải được điều hòa và kiểm soát để đảm bảo cho sự tồn tại của nó là liên tục, trong đó phổ biến là sự tự điều chỉnh bằng các *cơ chế phản hồi thông tin* (feed-back mechanism); (5) Sự thống nhất giữa cấu trúc và chức năng biểu hiện ở tất cả các mức độ tổ chức khác nhau của sự sống; (6) Tất cả các tổ chức và quá trình sống đều tuân theo các quy luật vật lý và hóa học; (7) Sự sống trên trái đất trải qua quá trình tiến hóa khoảng 3,5 tỷ năm qua, vì vậy khi so sánh, những nét tương đồng giữa chúng cho thấy tính thống nhất về mặt nguồn gốc và những nét dị biệt cho thấy tính phát triển, sự phân hóa đa dạng tất yếu của chúng.

2. Phương pháp học tập môn di truyền học

Cũng như bất kỳ môn học nào khác, việc học tập môn di truyền đòi hỏi phải nắm vững lịch sử môn học, đối tượng, nhiệm vụ, phương pháp nghiên cứu và hệ thống kiến thức căn bản của nó. Bên cạnh các nguyên tắc nói trên vốn rất cần cho tư duy trong học tập, dưới đây nêu một số điểm chính liên quan phương pháp học tập đặc thù của bộ môn.

(1) Nắm vững các kiến thức liên môn (như tế bào học, hóa sinh học, vi sinh học, học thuyết tiến hóa...) và liên ngành (như các khái niệm và nguyên lý cơ bản của toán thống kê-xác suất, vật lý và hóa hữu cơ).

(2) Nắm vững hệ thống khái niệm cơ bản cũng như các thuật ngữ mới không ngừng nảy sinh. Trong đó gene là khái niệm căn bản có nội hàm không ngừng phát triển, đặc biệt là trong ba thập niên lại đây.

(3) Hiểu rõ bản chất của các nguyên lý di truyền trong từng chủ đề cũng như mối liên quan giữa chúng để có thể giải thích và vận dụng trong giải quyết các bài toán hoặc tình huống của đời sống và thực tiễn sản xuất.

(4) Để nắm kiến thức và phát triển các kỹ năng tư duy một cách vững chắc đòi hỏi phải biết vận dụng kiến thức vào giải bài tập cũng như các kỹ năng thực hành thí nghiệm.

(5) Di truyền học là một khoa học thực nghiệm, nên thông tin thu được là nhờ các quan sát từ thế giới tự nhiên, và phương pháp khoa học chính là công cụ để hiểu biết các quan sát đó. Nói đến phương pháp nghiên cứu khoa học là nói đến các bước tiến hành theo một trình tự tổ chức công việc chặt chẽ sau đây: Quan sát → Giả thuyết → Dự đoán → Thực nghiệm (để kiểm tra giả thuyết đặt ra) → Đề xuất giả thuyết mới.

Cũng cần lưu ý rằng, đặc tính của khoa học là hoài nghi, đòi hỏi phải có bằng chứng xác thực, là kết hợp giữa logic và trí tưởng tượng, là giải thích và dự đoán, không có sự độc đoán; người nghiên cứu hay nhà khoa học phải nhận biết sáng tỏ, trung thực, vô tư, và nói chung là chịu sự chi phối của các nguyên tắc đạo đức đã được thừa nhận rộng rãi.

(6) Trong khi học giáo trình, bạn nên làm ít nhất một tiểu luận về một vấn đề cập nhật mình yêu thích. Điều đó rất lý thú và bổ ích. Bởi công việc này đòi hỏi sự say mê tìm tòi các thông tin mới, đặc biệt là trên mạng để viết một bài tổng luận có tính khoa học và trình bày trong một seminar.

(7) Bởi di truyền học là một ngành khoa học non trẻ nhưng phát triển với tốc độ cực nhanh, nên khối lượng kiến thức mới tích lũy được là vô cùng phong phú và đa dạng. Để có thể cập nhật thông tin về môn học đòi hỏi phải tăng cường khả năng sử dụng tiếng Anh và internet. Điều quan trọng là phải tạo cho mình một thói quen học tập, một khả năng và phương pháp tự học và thành lập cho được một thư mục tra cứu. Trong đó đáng kể là các trang web (được giới thiệu trong từng chương), hoặc có thể sử dụng ngay các từ khóa (key words) được cho ở từng chủ đề để tìm kiếm với công cụ có thể nói mạnh nhất hiện nay là *Google*.

VI. Di truyền học với công nghệ sinh học, tin học và các vấn đề xã hội

Như đã đề cập, sự phát triển hết sức nhanh chóng của di truyền học trong vài thập niên qua, đặc biệt là sự tiến bộ của *công nghệ sinh học* (biotechnology) nói chung đã có những tác động mạnh mẽ lên nhiều ngành khoa học và trên mọi mặt của đời sống, kinh tế, chính trị và xã hội ở phạm vi toàn cầu. Di truyền học được hình dung ở vị trí trung tâm và giao thoa với sinh học, hóa sinh học, kỹ nghệ, y-dược, nông nghiệp, sinh thái học, kinh tế học, luật, xã hội học và triết học.

Giáo sư danh dự môn hóa học ở Đại học Havard, F.H. Westheimer, bình luận về sinh học phân tử như sau: "Cuộc cách mạng trí tuệ vĩ đại nhất của 40 năm qua đã xảy ra trong sinh học. Liệu có thể tìm ra một người nào đó có học ngày nay mà không hiểu biết chút gì về sinh học phân tử?" (dẫn theo Weaver và Hedrick 1997, tr.15).

Các thành tựu đạt được nhờ ứng dụng di truyền học trong nông nghiệp

là vô cùng to lớn, góp phần tạo nên cuộc "cách mạng xanh lần thứ hai" với sự ra đời của hàng loạt các giống vật nuôi-cây trồng có ưu thế lai vượt trội, các sinh vật biến đổi gene (GMOs) mang những đặc tính hoàn toàn mới lạ.

Trong y học, đó là sự ra đời của hàng loạt các dược phẩm được sản xuất bằng kỹ thuật di truyền dùng cho điều trị bệnh và cải biến trí thông minh của con người; đó là các phương pháp chẩn đoán và điều trị bệnh ở mức phân tử...Sự thành công của dự án bộ gene người (HGP) vào tháng 4 năm 2003 cho phép chúng ta lần đầu tiên đọc được toàn bộ trình tự khoảng 3,2 tỷ cặp nucleotide trong bộ gene con người (*Homo sapiens*). HGP là một trong những kỳ công thám hiểm vĩ đại nhất trong lịch sử nhân loại (NHGRI 2005). Theo ước tính mới nhất được công bố ngày 21/10/2004 trên tạp chí *Nature*, bộ gene chúng ta chứa số lượng gene mã hóa protein thấp một cách đáng kinh ngạc, khoảng 20.000 đến 25.000 chứ không phải là 50.000 đến 140.000 gene như dự đoán ban đầu hoặc 35.000 theo dự đoán trong vài ba năm lại đây (NHGRI 2005).

Chính sự kết hợp tin học và máy tính trong nghiên cứu sinh học phân tử dẫn tới sự ra đời một ngành mới là *sinh-tin học* (bioinformatics) cho phép thu thập, tổ chức và phân tích số lượng lớn các số liệu sinh học nhờ sử dụng mạng máy tính và các nguồn dữ liệu (databases). Và một số lĩnh vực nghiên cứu mới khác cũng ra đời như: *genomics* - phân tích toàn bộ genome của một sinh vật được chọn, *DNA microchip technology* - xác định các đột biến trong các gene, *DNA microarray technology* - nghiên cứu cách thức một số lượng lớn các gene tương tác lẫn nhau và cơ chế mạng lưới điều hòa của tế bào kiểm soát đồng thời số lượng cực kỳ lớn các gene...

Những thách thức cho tương lai của nghiên cứu *khoa học về các bộ gene* (genomics) đối với sinh học, vấn đề sức khỏe và xã hội cũng được đặt ra (Collins và cs 2003). Sự hoàn tất của HGP tự nó không có nghĩa là đã xong mà đúng hơn là điểm khởi đầu cho công cuộc nghiên cứu thậm chí còn hứng thú hơn. Các nhà nghiên cứu hiện giờ đang cố gắng làm sáng tỏ một số quá trình phức tạp nhất của sinh học, đó là: một đứa bé phát triển từ một tế bào đơn lẻ bằng cách nào, các gene phối hợp chức năng của các mô và cơ quan như thế nào, sự tiền định bệnh tật xảy ra như thế nào và bộ não người làm việc ra sao (NHGRI 2005).

Cùng với những thành tựu ứng dụng ly kỳ trong sản xuất và đời sống xã hội nói trên, nhiều vấn đề mới được đặt ra cho các ngành giáo dục, luật, triết học, xã hội học và đã gây không ít hoài nghi, tranh cãi xung quanh các vấn đề về đạo lý sinh học, an toàn sinh học và môi sinh.

Tài liệu Tham khảo

Tiếng Việt

- Hồ Huỳnh Thùy Dương. 1997. *Sinh học Phân tử*. NXB Giáo Dục.
 Phạm Thành Hồ. 2000. *Di truyền học*. Tái bản lần II, NXB Giáo Dục.
 Phan Cự Nhân (chủ biên), Nguyễn Minh Công, Đặng Hữu Lan. 1999. *Di truyền học*. NXB Giáo Dục.

Tiếng Anh

- Collins FS, Green ED, Guttmacher AE, Guyer MS. 2003. A vision for the future of genomics research. *Nature*, Vol. 422, No. 6934, p.835-847.
 McKusick V. 1998. *Mendelian Inheritance in Man*. 12th ed., Johns Hopkins University Press, Baltimore.
 National Human Genome Research Institute (NHGRI)/ National Institute of Health (NIH). 2005: <http://www.genome.gov/>
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>
 Online Mendelian Inheritance in Man (OMIMTM):
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=OMIM>
 Tamarin RH. 1999. *Principles of Genetics*. 6th ed, McGraw-Hill, Inc, NY.
 Verma RS and Babu A. 1995. *Human chromosome : principles and techniques*. 2nd ed, international edition, McGraw-Hill, Inc., New York.
 Watson JD and Crick FHC. 1953. A structure for Deoxyribose Nucleic Acid. April 25, 1953, *Nature*, Vol.171, page 737.
 Weaver RF, Hedrick PW. 1997. *Genetics*. 3rd ed, McGraw-Hill Companies, Inc. Wm.C.Brown Publishers, Dubuque, IA.
 Zinnen T. 2005. JD Watson and FHC Crick - A structure for Deoxyribose Nucleic Acid - *Nature*, 25 April 1953. (<http://www.accessexcellence.org>)

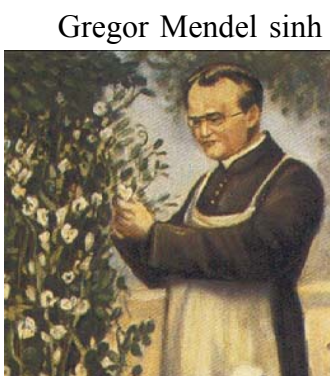
Chương 1

Cơ sở của Di truyền học Mendel

Cho đến đầu thế kỷ XX, mọi người còn chưa hiểu được cơ chế của sự di truyền, mặc dù vẫn biết rằng con cái sinh ra thường giống bố mẹ. Quan niệm phổ biến cho đến giữa thế kỷ XIX được gói gọn trong cái gọi là *thuyết di truyền hòa hợp* (theory of blending inheritance) nhằm giải thích sự kiện con cái mang các đặc điểm của cả hai bố mẹ. Tuy nhiên, đến năm 1866 Gregor Mendel đã đưa ra *thuyết di truyền gián đoạn* (theory of particulate inheritance), với gợi ý rằng: Đơn vị di truyền đặc thù kiểm soát một tính trạng được truyền từ thế hệ này sang thế hệ khác tồn tại dưới dạng hạt, ngày nay ta gọi là *gene*.

Các khám phá quan trọng của Mendel đặt nền móng cho sự ra đời của di truyền học sau này. Như Thomas Hunt Morgan đã nhận định: "Trong mười năm nghiên cứu ở cây đậu Hà Lan trong ngôi vườn của tu viện, G. Mendel đã làm nên sự khám phá vĩ đại nhất trong sinh học đã đạt được trong năm trăm năm qua".

I. Tiểu sử Mendel - Cha đẻ của Di truyền học



Gregor Mendel sinh năm 1822, lớn lên ở trang trại của cha mình tại một tỉnh của Austria (Áo). Vì gia đình nghèo nên ông phải vào tu viện để tiếp tục việc học của mình. Trong khoảng thời gian này, Mendel nghiên cứu vật lý và toán là những môn học giúp ông nhiều trong các thí nghiệm di truyền sau này. Ông đã được gọi tới Đại học Vienna để thi lấy bằng giáo viên chính thức, nhưng không đỗ và quay về tu viện "dạy học" trong nhiều năm.

Hình 1.1 Gregor Mendel trong ngôi vườn của tu viện Brno.

Khi còn ở trang trại của cha mình, Mendel đã quan tâm tới các cây cối và con vật, và thường giữ lại những cái hoa, con ong và chuột. Sau này ở tu viện Brno ông tập trung vào các cây đậu Hà Lan (*Pisum sativum*).

Mendel đã xác định được các nguyên lý di truyền cơ sở từ các thí nghiệm chọn giống thực vật. Các kết quả nghiên cứu này đã được Mendel trình bày năm 1865 trước Hội Nghiên cứu Khoa học Tự nhiên Brno và công bố năm 1866 ở Germany trong một bài báo nhan đề là *Các thí nghiệm lai ở thực vật* (Experiments on Plant Hybrids). Bài báo này nhanh chóng có mặt ở nhiều thư viện, nhưng những người cùng thời ông không

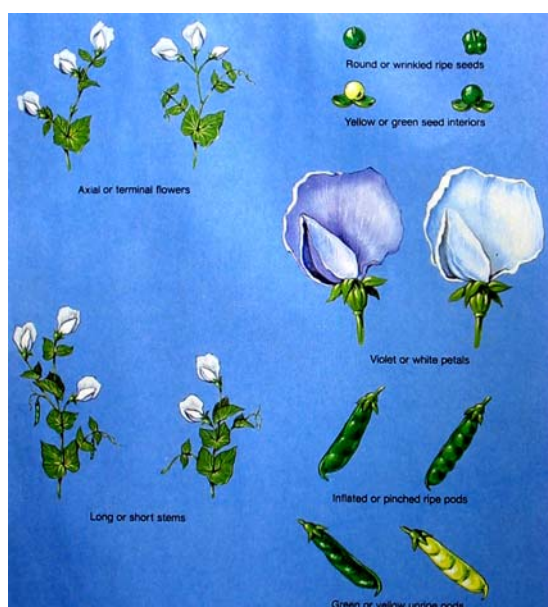
hiều được các phát hiện của ông, có lẽ một phần là do ông sử dụng toán học để lý giải các kết quả của mình. Ngoài ra, hầu hết các nhà nghiên cứu đương thời do tiến hành nhiều tính trạng đồng thời dẫn tới các kết quả rối bời nên không thể nhận ra được các nguyên lý di truyền cơ sở.

Mendel trở thành tu viện trưởng từ năm 1868 và không công bố thêm một kết quả nào về di truyền nữa kể từ sau kiệt tác năm 1866.

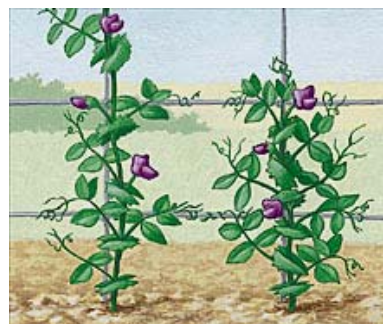
Mendel qua đời năm 1884 trước khi công trình của ông được giới khoa học thấu hiểu. Mãi đến năm 1900, công trình của ông mới được ba nhà thực vật học độc lập nhau khám phá lại, đó là Carl Correns của Germany, Hugo de Vries của Netherlands và Erich von Tschermak của Austria. Đây là mốc khởi đầu cho các nghiên cứu di truyền học hiện đại. Ngày nay, phương pháp thí nghiệm của Mendel được xem là thí dụ kinh điển về sự nghiên cứu khoa học được lập kế hoạch cẩn thận và bài báo của ông là sự minh họa tuyệt vời của một thiên tài khoa học.

II. Đối tượng và phương pháp thí nghiệm của Mendel

1. Đối tượng



(a)



(b)

Hình 1.2 (a) Bảy tính trạng tương phản ở đậu Hà Lan được Mendel nghiên cứu; dạng trội nằm bên trái của mỗi trường hợp. **(b)** Cấu tạo hoa đậu, phương pháp thụ phấn chéo và cây đậu Hà Lan.

Mendel chọn đậu Hà Lan (*Pisum sativum*) làm đối tượng nghiên cứu vì chúng có hai đặc điểm cơ bản là sai khác nhau về nhiều tính trạng tương phản dễ quan sát (hình 1.2a) và sinh sản bằng lối tự thụ phấn. Ngoài ra, đậu có hoa khá lớn nên thao tác dễ dàng (hình 1.2b); có khả năng cho số lượng đời con nhiều; và nhiều giống đậu lúc bấy giờ có giá trị kinh tế cao.

2. Phương pháp

Tính chất độc đáo của phương pháp nghiên cứu Mendel thể hiện ở chỗ: (1) Chọn các *dòng thuần* (pure lines) khác nhau bằng cách cho tự thụ phấn liên tiếp nhiều thế hệ dùng làm dạng bố mẹ trong các phép lai; (2) Theo dõi trước tiên kết quả di truyền riêng biệt của từng tính trạng qua vài thế hệ, trong đó thế hệ cây lai thứ nhất hay F_1 sinh ra do giao phấn giữa hai dạng bố mẹ thuần chủng khác nhau, còn thế hệ cây lai thứ hai hay F_2 sinh ra từ sự tự thụ phấn của các cây lai F_1 , rồi sau đó mới tiến hành nghiên cứu sự di truyền đồng thời của hai hoặc nhiều tính trạng; (3) Khái quát và lý giải các kết quả thí nghiệm thu được bằng toán thống kê và xác suất; và (4) Kiểm tra lại một cách cẩn thận các giả thuyết khoa học bằng các phép *lai thuận nghịch* (reciprocal matings) và *lai phân tích* (testcross).

III. Lai một tính và nguyên lý phân ly

1. Kết quả thí nghiệm lai một tính (monohybrid cross)

Mendel đã tiến hành bảy phép lai một tính khác nhau và các kết quả thu được được trình bày ở Bảng 1.1.

Bảng 1.1 Các kết quả lai một tính của Mendel

TT	Kiểu hình P	F_1	F_2	Tỷ lệ F_2
1	Hạt trơn × nhăn	Trơn	5474 trơn : 1850 nhăn	2,96:1
2	Hạt vàng × xanh	Vàng	6022 vàng : 2001 xanh	3,01:1
3	Hoa đỏ tía × trắng	Đỏ tía	705 đỏ tía : 224 trắng	3,15:1
4	Quả phồng × tóp	Phồng	882 phồng : 299 tóp	2,95:1
5	Quả xanh × vàng	Xanh	428 xanh : 152 vàng	2,82:1
6	Hoa dọc thân × đỉnh	Dọc thân	651 dọc thân : 207 đỉnh	3,14:1
7	Thân cao × thấp	Cao	787 cao : 277 thấp	2,84:1

Từ tất cả các phép lai trên cho thấy: Khi bố mẹ ở thế hệ xuất phát (P) thuần chủng khác nhau về một cặp tính trạng tương phản, thì ở thế hệ F_1 tất cả con lai đều biểu hiện chỉ một tính trạng của bố hoặc mẹ, tính trạng đó được gọi là tính trạng *trội* (dominant) và tính trạng kia không quan sát được gọi là tính trạng *lặn* (recessive). Sau đó cho các con lai F_1 tự thụ phấn thì ở thế hệ F_2 ông thu được cả hai *kiểu hình* (phenotype) của bố mẹ ban đầu với tỷ lệ xấp xỉ 3/4 trội và 1/4 lặn.

Ngoài ra, Mendel cũng cho các cây F_2 tự thụ phấn riêng rẽ và theo dõi sự phân ly ở thế hệ F_3 . Kết quả cho thấy 1/4 cây của F_2 sinh ra kiểu hình

lặn tất cả đều là các cây lặn thuần chủng; điều đó có nghĩa là tất cả con cái của chúng là lặn. Tuy nhiên, trong số 3/4 biểu hiện kiểu hình trội thì một số là trội thuần chủng, còn số khác thì giống như các cá thể F_1 ở chỗ chúng cho đời con gồm cả trội và lặn. Nhìn chung, có ba kiểu cá thể F_2 đó là: 1/4 trội thuần chủng, 1/2 trội không thuần chủng (cho đời con với tỷ lệ 3 trội : 1 lặn) và 1/4 lặn thuần chủng.

2. Giải thích và kiểm chứng nguyên lý phân ly

Từ các kết quả thí nghiệm đó Mendel kết luận rằng, thông qua các giao tử bố mẹ đã truyền cho con cái các *nhân tố di truyền* (genetic factor) mà ngày nay ta gọi là gene. Mendel còn gợi ý rằng các nhân tố này tồn tại dưới vài dạng biến đổi (nay gọi là các *allele*) xác định các kiểu hình khác nhau của cùng một tính trạng. Ông giả định rằng mỗi cá thể có hai allele của mỗi gene, một cái nhận từ giao tử của bố và một cái từ giao tử của mẹ. Mặc dù điều đó đối với chúng ta bây giờ có vẻ đơn giản, nhưng ở thời đại Mendel không có ai hiểu được nó.

Bây giờ ta hãy xét thí nghiệm 2. Trước tiên, quy ước các gene xác định các tính trạng trội và lặn bằng các chữ cái viết hoa và viết thường, chẳng hạn: A - hạt vàng, và a - hạt xanh. Như vậy có ba *kiểu gene* (genotype), trong đó hai kiểu *đồng hợp tử* (homozygote) - có hai allele giống nhau: AA và aa, tức dạng thuần chủng và một kiểu *dị hợp tử* (heterozygote) - chứa hai allele khác nhau: Aa, tức dạng lai. Vì allele vàng là trội hơn allele xanh, nên cá thể dị hợp tử Aa có cùng kiểu hình với thể đồng hợp trội AA.

P Hạt vàng (AA) × Hạt xanh (aa)

Giao tử P A a

F_1 Aa (vàng)

Giao tử F_1 ($\frac{1}{2}$ A : $\frac{1}{2}$ a)_{cái} ($\frac{1}{2}$ A : $\frac{1}{2}$ a)_{dực}

Khung Punnett

	$\frac{1}{2}$ A	$\frac{1}{2}$ a
$\frac{1}{2}$ A	$\frac{1}{4}$ AA	$\frac{1}{4}$ Aa
$\frac{1}{2}$ a	$\frac{1}{4}$ Aa	$\frac{1}{4}$ aa

F_2 Tỷ lệ kiểu gene 1 AA : 2 Aa : 1 aa

 Tỷ lệ kiểu hình 3 vàng (A-) : 1 xanh (aa)

Hình 1.3 Sơ đồ biểu diễn kết quả lai một tính của Mendel.

Trong giảm phân, mỗi bố mẹ thuần chủng hạt vàng (AA) và hạt xanh (aa) chỉ cho một loại giao tử mang allele tương ứng là A và a. Do đó kết quả của sự thụ tinh chỉ tạo ra một kiểu dị hợp tử Aa, nghĩa là tất cả con lai

F_1 đều có kiểu hình trội hạt vàng. Khi bước vào giảm phân, các cá thể F_1 dị hợp tử (Aa) sẽ cho hai loại giao tử (A và a) với tỷ lệ tương đương. Đó cũng là thực chất của nguyên lý phân ly (principle of segregation), hay quy luật thứ nhất của Mendel (Mendel's first law). Kết quả của sự tự thụ tinh ngẫu nhiên giữa các loại giao tử đực và cái của F_1 này sẽ cho ra bốn kiểu tổ hợp ở F_2 , với tỷ lệ phân ly theo kiểu gene là $1AA: 2Aa: 1aa$ và tỷ lệ kiểu hình tương ứng là 3 vàng ($A-$): 1 xanh (aa). Lưu ý rằng thông thường người ta sử dụng *khung Punnett* (Punnett square) do nhà di truyền học người Anh R.C.Punnett đưa ra năm 1905 để xác định kết quả di truyền của các phép lai. Sơ đồ biểu diễn kết quả lai một tính được nêu ở hình 1.3.

Để khẳng định nguyên lý phân ly, Mendel đã tiến hành hai thí nghiệm: Một là, cho các cá thể dị hợp tử F_1 tự thụ phấn như đã nói ở trên; và hai là, cho F_1 lai ngược trở lại với bố hoặc mẹ có kiểu hình lặn. Phép lai với một cá thể lặn như thế được gọi là *lai phân tích* (testcross), thay vì gọi là *lai ngược* (backcross) bởi vì nó cho phép kiểm tra kiểu gene của một cá thể trội là dị hợp hay đồng hợp. Cơ sở di truyền của kiểu lai này như sau:

Bố mẹ	Aa (hạt vàng)	×	aa (hạt xanh)
Giao tử	50% A : 50% a		100% a
Đời con	50% Aa (vàng)	:	50% aa (xanh)

3. Nguyên lý phân ly và tính phổ biến của nó

Sau khi các nguyên lý di truyền của Mendel được khám phá lại năm 1900, tính phổ biến của các nguyên lý Mendel nói chung và nguyên lý phân ly nói riêng đã được các nhà nghiên cứu khẳng định bằng cách lặp lại các phép lai của ông (chẳng hạn giữa đậu hạt vàng và hạt xanh; bảng 1.2) cũng như tiến hành các phép lai tương tự ở các động vật và thực vật khác.

Bảng 1.2 Các kết quả lai lặp lại ở đậu Hà Lan

Nhà nghiên cứu	Vàng	Nhăn	Tỷ lệ F_2
Mendel (1866)	6.022	2.001	3,01:1
Correns (1900)	1.394	453	3,08:1
Tschermak (1900)	3.580	1.190	3,01:1
Bateson (1905)	11.902	3.903	3,05:1
Darbishire (1909)	109.060	36.186	3,01:1
Tính toàn bộ	131.958	43.733	3,02:1

Nội dung chính của nguyên lý hay quy luật phân ly có thể tóm lược như sau: *Các allele là những dạng khác nhau của cùng một gene; trong các thể dị hợp tử chúng phân ly về các giao tử với tỷ lệ tương đương.*

IV. Lai hai tính và nguyên lý phân ly độc lập

1. Kết quả thí nghiệm lai hai tính (dihybrid cross)

Để xác định sự di truyền đồng thời của nhiều cặp tính trạng, Mendel đã tiến hành nhiều thí nghiệm khác nhau. Bảng 1.3 giới thiệu kết quả lai hai tính giữa các giống đậu thuần chủng hạt vàng-trơn và hạt xanh-nhăn.

Bảng 1.3 Các kết quả lai hai tính của Mendel

Thế hệ	Kiểu hình hạt	Số lượng	Tỷ lệ F ₂ (quan sát)	Tỷ lệ F ₂ (kỳ vọng)
P _{tc}	Vàng-trơn × xanh-nhăn	—	—	—
F ₁	Vàng-trơn	—	—	—
F ₂	Vàng-trơn	315	9,84	9
	Vàng-nhăn	101	3,16	3
	Xanh-trơn	108	3,38	3
	Xanh-nhăn	32	1,0	1
Tổng =		556		

Với phép lai này, tất cả con lai F₁ đều có kiểu hình trội kép là hạt vàng và trơn. Khi cho F₁ tự thụ phấn, ở F₂ xuất hiện 4 kiểu hình là vàng-trơn, vàng-nhăn, xanh-trơn và xanh-nhăn với tỷ lệ xấp xỉ 9:3:3:1.

2. Giải thích và nội dung nguyên lý phân ly độc lập

Nếu xét tỷ lệ phân ly của từng tính trạng ở F₂, ta có: 315 + 101 = 416 vàng và 108 + 32 = 140 xanh, xấp xỉ 3 vàng : 1 xanh. Tương tự, về hình dạng hạt, ta có 315 + 108 = 423 trơn và 101 + 32 = 133 nhăn, xấp xỉ 3 trơn : 1 nhăn. Điều đó chứng tỏ mỗi tính trạng đều tuân theo quy luật phân ly 3 trội : 1 lặn.

Bằng cách áp dụng quy tắc nhân xác suất của các biến cố độc lập (xem mục VI), ta dễ dàng chứng minh được rằng sự phân ly của hai tỷ lệ này là hoàn toàn độc lập nhau như dự đoán ban đầu. Thật vậy, (3 vàng : 1 xanh)(3 trơn : 1 nhăn) = 9 vàng-trơn : 3 vàng-nhăn : 3 xanh-trơn : 1 xanh-nhăn.

Cần lưu ý là tỷ lệ 9:3:3:1 này cũng được Mendel tìm thấy trong khi lặp lại thí nghiệm với các tính trạng khác. Từ đó ông mới xây dựng nên *nguyên lý phân ly độc lập* (principle of independent assortment), còn gọi là *quy luật thứ hai của Mendel* (Mendel's second law). Nội dung của nguyên lý này phát biểu rằng: *Các allele của các gene khác nhau thì phân ly một cách độc lập với nhau trong quá trình hình thành giao tử (kết quả là tạo ra tỷ lệ 9:3:3:1 ở thế hệ F₂ từ một phép lai hai tính).*

Để minh họa cho những điều trình bày trên đây, ta quy ước: A - vàng, a - xanh, B - trơn, b - nhăn.

Lưu ý: Để kiểm tra lại giả thuyết phân ly độc lập, Mendel đã tiến hành lai phân tích giữa các cây vàng-trơn F₁ (AaBb) với cây xanh-nhăn (aabb). Kết quả thu được gồm 55 vàng-trơn : 49 vàng-nhăn : 51 xanh-trơn : 53

xanh-nhãn, tương đương với tỷ lệ $1:1:1:1 = (1:1)(1:1)$. Điều đó chứng tỏ các cây F_1 đã cho bốn loại giao tử với tỷ lệ ngang nhau, nghĩa là chứa hai cặp gene dị hợp phân ly độc lập.

P_{tc} Kiểu hình vàng, trơn $\times$ xanh, nhãn
 Kiểu gene AAbb aabb
 Giao tử AB ab

F_1 Kiểu gene AaBb
 Kiểu hình vàng, trơn
 Giao tử $\frac{1}{4} AB : \frac{1}{4} Ab : \frac{1}{4} aB : \frac{1}{4} ab$

Khung Punnett

	$\frac{1}{4} AB$	$\frac{1}{4} Ab$	$\frac{1}{4} aB$	$\frac{1}{4} ab$
$\frac{1}{4} AB$	AABB	AABb	AaBB	AaBb
$\frac{1}{4} Ab$	AABb	AAbb	AaBB	Aabb
$\frac{1}{4} aB$	AaBB	AaBb	aaBB	aaBb
$\frac{1}{4} ab$	AaBb	Aabb	aaBb	aabb

F_2 Tỷ lệ kiểu gene Tỷ lệ kiểu hình

$\frac{1}{16} AABB + \frac{2}{16} AaBB +$
 $\frac{2}{16} AABb + \frac{4}{16} AaBb$ = $\frac{9}{16}$ vàng, trơn
 $\frac{1}{16} AAbb + \frac{2}{16} Aabb$ = $\frac{3}{16}$ vàng, nhãn
 $\frac{1}{16} aaBB + \frac{2}{16} aaBb$ = $\frac{3}{16}$ xanh, trơn
 $\frac{1}{16} aabb$ = $\frac{1}{16}$ xanh, nhãn

Hình 1.4 Cơ sở di truyền học của nguyên lý phân ly độc lập.

V. Sự di truyền Mendel ở người

Cũng như ở đậu Hà Lan, ruồi giấm hay mèo, ở người có rất nhiều tính trạng di truyền theo các quy luật Mendel. Chẳng hạn, theo thống kê của Victor A. McKusick năm 1994, có 6.678 tính trạng và các bệnh đơn gene. Cho đến ngày 8/2/2005, các số liệu về số lượng gene và kiểu hình được nêu ở bảng 1.4 (OMIM 2005).

Nói chung, việc xác định phương thức di truyền ở người là tương đối khó khăn, vì mỗi gia đình có ít con, thường không quá 10 người. Để khắc phục điều đó người ta sử dụng phương pháp *phân tích phả hệ* (pedigree analysis). Dưới đây nêu một số tính trạng trội và lặn ở người mà không phân tích đặc điểm của các kiểu di truyền đó (xem chương 11).

Bảng 1.4 Số lượng các mục

	NST thường	Liên kết X	Liên kết Y	DNA ty thể	Tổng
Gene có trình tự đã biết	9517	423	48	37	10.025
Gene có trình tự và kiểu hình đã rõ	360	38	0	0	398
Mô tả kiểu hình, cơ sở ph.tử đã rõ	1512	137	2	27	1.678
Kiểu hình hay locus Mendel, cơ sở phân tử chưa biết	1326	134	4	0	1.464
Các kiểu hình chính yếu khác có cơ sở Mendel còn khả nghi	2150	153	2	0	2.305
Tổng	14.865	885	56	64	15.870

1. Các tính trạng lặn (*recessive traits*)

Ở người, hầu hết các rối loạn di truyền là lặn (xem bảng 1.5). Đại đa số những người mắc các bệnh này thường có bố mẹ đều bình thường về kiểu hình, nhưng lại mang gene bệnh ở trạng thái dị hợp.

Bảng 1.5 Một số rối loạn đơn gene thuộc nhiễm sắc thể thường ở người
(phỏng theo Campbell và Reece 2001; Lewis 2003)

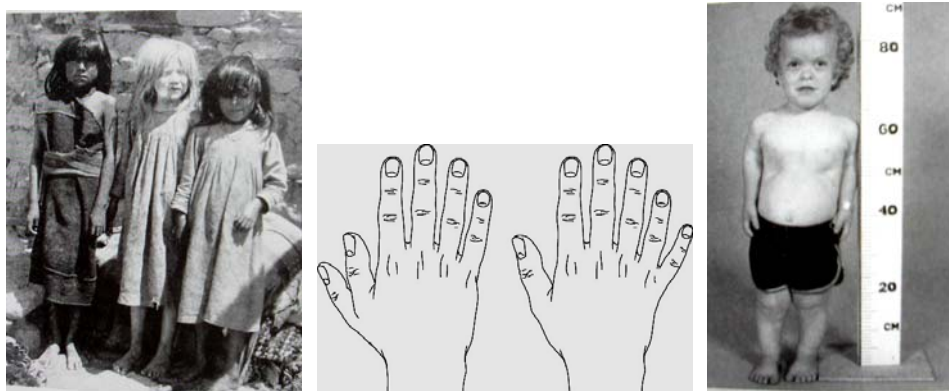
Rối loạn	Các triệu chứng (và nguy cơ mắc phải)
<i>Các rối loạn lặn</i>	
Bạch tạng	Thiếu sắc tố ở da, tóc và mắt (1/22.000)
Hóa xơ nang	Thừa chất nhầy ở phổi, dịch tiêu hóa, gan
Galactosemia	Tích lũy galactose ở các mô; trì độn; tổn thương mắt và gan. (1/100.000; xử lý bằng kiêng galactose).
Gaucher	Gan và lách sưng phồng, thiếu máu, xuất huyết nội
Hemochromatosis	Cơ thể giữ lại sắt; nguy cơ lây nhiễm cao, tổn thương gan, tim và tụy, thừa sắc tố da
Phenylketonuria	Tích lũy phenylalanyl trong máu; thiếu sắc tố da bình thường; trì độn, hôn mê, chết ở tuổi nhỏ (1/10.000)
Bệnh hồng cầu liềm (đồng hợp tử)	Tổn thương lách và nhiều cơ quan; nguy cơ lây nhiễm cao (1/500 ở người Mỹ gốc châu Phi; đồng trội)
Bệnh Tay-Sachs	Tích lũy lipid trong các tế bào não gây suy thoái thần kinh; mù màu; chết thời thơ ấu
<i>Các rối loạn trội</i>	
Achondroplasia	Lùn với tứ chi ngắn, đầu và thân bình thường
Bệnh Alzheimer	Thoái hóa tâm thần; thường xảy ra muộn màng
Bệnh Huntington	Thoái hóa tâm thần và các cử động mất kiểm soát
Hypercholesterolemia	Thừa cholesterol trong máu; bệnh tim; 1/500 là dị hợp
Không dung nạp lactose	Không có khả năng phân giải đường lactose, gây ra tình trạng chuột rút sau khi ăn loại đường này
Hội chứng Marfan	Tứ chi dài như vượn, ngực lõm, hồng thủy tinh thể, các ngón tay mảnh khảnh, động mạch chủ suy yếu

Bệnh thận đa nang	Các bọng trong các quả thận, urê trong máu, huyết áp cao, đau bụng dưới
Tật nhiều ngón	Thừa các ngón tay, ngón chân

Hai bệnh lặn điển hình đó là bạch tạng và hóa xơ nang. Những người bị *bạch tạng* (albino) là do thiếu hụt sắc tố melanin, nên da dễ trắng bạch, tóc và tròng đen của mắt trở nên nhạt khác thường (hình 1.5)... *Hóa xơ nang* (cystic fibrosis) là một bệnh di truyền gây chết phổ biến nhất ở Mỹ (USA). Bệnh lặn này phổ biến nhất ở những người Mỹ da trắng gốc Capca (Caucasians), với tần số chung là 1/1.800, nghĩa là trung bình cứ 25 người có một người mang allele lặn này (Campbell và Reece 2001) hay đối với trẻ sơ sinh là 1/2.500 (Weaver và Hedrick 1997). Người bị bệnh này có đặc điểm là tiết ra một lượng dư thừa chất nhầy dày ở phổi, tụy và các cơ quan khác. Các chất nhầy này có thể làm nhiều loạn sự thở, tiêu hóa và chức năng của gan và làm cho người bệnh rơi vào nguy cơ viêm phổi và các bệnh truyền nhiễm khác. Nếu không được điều trị, hầu hết trẻ em mắc bệnh này sẽ bị chết ở độ tuổi lên năm. Theo thống kê của McKusick năm 1994, có 1.730 mục cho các locus lặn.

2. Các tính trạng trội (dominant traits)

Mặc dù hầu hết các allele có hại là allele lặn, nhưng một số các rối loạn ở người là do các allele trội (xem bảng 1.5). Trong số đó có một vài allele không gây chết, chẳng hạn như tật thừa các ngón tay và chân (hình 1.5), hoặc có màng da giữa các ngón tay và chân. Các tính trạng như có tàn nhang, mái tóc thẳng cũng như các khả năng uốn lưỡi hình ống và gập ngược lưỡi lên trên đều do các gene trội đơn khác nhau kiểm soát. Theo thống kê của McKusick năm 1994, có 4.458 mục cho các locus trội.



Hình 1.5 Một số ví dụ về di truyền Mendel ở người.

Từ trái sang là bạch tạng, tật nhiều ngón và dạng lùn phổ biến (achondroplasia).

Thí dụ điển hình về rối loạn trội nghiêm trọng đó là dạng lùn phổ biến do thoái hóa sụn gọi là *achondroplasia* (hình 1.5), đầu và thân mình phát triển bình thường nhưng tay chân ngắn một cách bất thường; tỷ lệ mắc bệnh này là khoảng 1 trên 25.000 người. Chỉ những người dị hợp tử mới bị rối loạn này; còn kiểu gen đồng hợp tử trội gây chết phôi. Trường hợp khác là *bệnh Huntington* (Huntington's disease), một dạng rối loạn do sự suy thoái của hệ thần kinh thường xảy ra từ sau độ tuổi trung niên. Khi bệnh tiến triển, nó làm cho các cử động trên mọi phần của cơ thể mất khả năng kiểm soát. Sự mất mát các tế bào não dẫn tới mất trí nhớ và khả năng suy xét, góp phần đẩy nhanh sự suy thoái. Cuối cùng, mất luôn các kỹ năng vận động làm cho không nuốt và nói năng được. Cái chết thường xảy ra sau khi các triệu chứng đó bắt đầu biểu hiện khoảng 10-20 năm (Campbell và Reece 2001).

VI. Lý thuyết xác suất trong dự đoán và phân tích di truyền học

Để hiểu rõ các phát hiện của Mendel và các nguyên lý của di truyền học nói chung, cũng như để vận dụng các kiến thức này một cách có hiệu quả vào trong học tập và thực tiễn đời sống-sản xuất, chúng ta cần nắm vững một vài khái niệm và nguyên lý xác suất cơ bản sau đây.

1. Một số khái niệm và tính chất cơ bản của xác suất

(1) Một cách đơn giản, *xác suất* (probability) được định nghĩa bằng số lần xảy ra một *biến cố* hay *sự kiện* (event) cụ thể chia cho tổng số cơ may mà biến cố đó có thể xảy ra. Nếu ta ký hiệu xác suất của biến cố A là $P(A)$, m là số lần xuất hiện của A và n là tổng số phép thử hay toàn bộ số khả năng có thể có, khi đó: $P(A) = m / n$; trong đó $0 \leq m \leq n$, và $n > 0$. Như vậy, $0 \leq P(A) \leq 1$.

(2) *Phép thử* là việc thực hiện một nhóm các điều kiện xác định, ví dụ một thí nghiệm tung đồng xu hay gieo hạt xúc xắc hoặc một phép lai cụ thể. Các kết cục khác nhau có thể có từ phép thử gọi là các *biến cố*, được ký hiệu bằng các chữ cái in hoa A, B, C... Ví dụ: Khi tung một đồng xu, sự kiện xảy ra chỉ có thể là mặt sấp (S) hoặc ngửa (N) với xác suất tương đương là 0,5. Tương tự, kiểu gene dị hợp Aa có thể tạo ra hai loại giao tử mang A và a với xác suất ngang nhau là 0,5 trong khi các kiểu gene đồng hợp như aa chẳng hạn chỉ cho một loại giao tử mang a; vì vậy đời con của phép lai phân tích $Aa \times aa$ có tỷ lệ kỳ vọng là 0,5 Aa : 0,5 aa.

Khi thực hiện phép thử có thể xuất hiện một trong các loại biến cố sau:

-*Biến cố ngẫu nhiên* (A) là sự kiện có thể xảy ra nhưng cũng có thể không, $0 \leq P(A) \leq 1$.

-*Biến cố chắc chắn* (Ω) là sự kiện nhất thiết xảy ra, $P(\Omega) = 1$.

-*Biến cố không thể có* ($\emptyset$) là sự kiện nhất thiết không xảy ra, $P(\emptyset) = 0$.

-*Biến cố xung khắc*: Hai biến cố A và B gọi là đôi xung khắc với nhau nếu tích của chúng là một biến cố không thể có: $A \cap B = \emptyset \Rightarrow P(A \cap B) = 0$ và $P(A \cup B) = P(A) + P(B)$.

-*Biến cố đối lập*: "không A" ($\bar{A}$) được gọi là biến cố đối lập của biến cố A khi $\bar{A} = \Omega \setminus A$ và $\bar{A} \cup A = \Omega$. Khi đó $P(\bar{A}) = 1 - P(A)$.

-*Nhóm đầy đủ các biến cố* hay *không gian biến cố sơ cấp* (Ω) là tập hợp toàn bộ các biến cố sơ cấp (ω) của một phép thử mà khi được thực hiện thì nhất thiết một trong chúng phải xảy ra, và có hiện tượng xung khắc từng đôi. Ví dụ, dãy các biến cố $B_1, B_2, \dots, B_n$ lập thành một nhóm đầy đủ nếu thỏa mãn hai điều kiện: (i) Tổng của chúng là một biến cố chắc chắn: $B_1 \cup B_2 \cup \dots \cup B_n = \Omega$; và (ii) Chúng xung khắc từng đôi một: $B_i B_j = \emptyset$; $i \neq j$ ($i, j = 1, 2, \dots, n$).

2. Một số nguyên lý xác suất cơ bản

2.1. Quy tắc cộng

Quy tắc cộng phát biểu rằng: *xác suất kết hợp của hai (hoặc nhiều) sự kiện xung khắc từng đôi xảy ra là tổng các xác suất riêng rẽ của chúng.*

(i) Với A, B là hai biến cố bất kỳ, ta có $P(A \cup B) = P(A) + P(B) - P(A \cap B)$

(ii) Nếu A và B là hai biến cố xung khắc, thì: $P(A \cup B) = P(A) + P(B)$

(iii) Hệ quả: Nếu $\bar{A}$ là biến cố đối lập của A, thì $P(\bar{A}) = 1 - P(A)$.

Ví dụ, với kiểu gene Rr, nếu ta ký hiệu xác suất của loại giao tử mang allele R là $P(R)$ và của loại giao tử mang allele a là $P(r)$, theo lý thuyết ta có: $P(R \text{ hoặc } r) = P(R) + P(r) = 1/2 + 1/2 = 1$.

2.2. Xác suất điều kiện

Định nghĩa: Nếu A, B là hai biến cố bất kỳ và $P(A) > 0$, thì xác suất điều kiện của biến cố B với điều kiện biến cố A đã xảy ra là:

$$P(B/A) = P(A \cap B) : P(A).$$

Ví dụ: Từ kết quả thí nghiệm lai giữa hai thứ đậu thuần chủng hạt vàng và hạt xanh của Mendel, hãy tìm xác suất để một cây đậu hạt vàng ở F_2 là thể dị hợp (Vv). Bằng lập luận thông thường ta thấy trong số bốn kiểu tổ hợp ở F_2 có 3 kiểu tổ hợp cho kiểu hình hạt vàng (V-) nhưng chỉ có 2 kiểu là dị hợp (Vv). Vì vậy xác suất cần tìm là $2/3$.

Nếu giải theo định nghĩa xác suất, ta ký hiệu: A là sự kiện hạt vàng ở F_2 và B là sự kiện hạt vàng dị hợp. Theo lý thuyết, ở F_2 có 4 sự kiện đồng khả năng với tỷ lệ là 1VV: 2Vv: 1vv. Ở đây $P(A) = 3/4$ và $P(A.B) = P(B) = 2/4 \Rightarrow P(B/A) = P(A \cap B) : P(A) = 2/4 : 3/4 = 2/3$.

2.3. Quy tắc nhân

Từ định nghĩa về xác suất điều kiện, ta đi đến định nghĩa về *hai biến cố độc lập* như sau: Hai biến cố A và B được gọi là độc lập với nhau nếu $P(B/A) = P(B)$ hoặc $P(A/B) = P(A)$. Nghĩa là sự xảy ra hay không xảy ra của biến cố này không ảnh hưởng đến sự xảy ra của biến cố kia.

Khi đó, quy tắc nhân được phát biểu như sau: *Xác suất trùng hợp của cả hai biến cố độc lập bằng tích các xác suất riêng rẽ của chúng*. Nghĩa là, nếu A và B là các biến cố độc lập thì: $P(A \cap B) = P(A).P(B)$

Ví dụ: Khi gieo một đồng xu hai lần liên tiếp hoặc gieo hai đồng xu cân đối và đồng chất cùng một lượt thì có 4 khả năng xảy ra là (SS), (SN), (NS), (NN) với xác suất ngang nhau. Thật vậy, xác suất xuất hiện cả hai mặt sấp hoặc ngửa là: $P(S,S) = P(N,N) = 1/2 \times 1/2 = 1/4$; còn xác suất xuất hiện một mặt sấp và một mặt ngửa là $P(S,N) = 2 \times 1/2 \times 1/2 = 1/2$; và tổng các xác suất của tất cả các sự kiện đó đương nhiên bằng 1.

Từ đây ta có thể xây dựng cơ sở của "phép thử độc lập", nguyên tắc giải bài toán lai hai tính và các phương pháp biểu diễn kết quả lai như sau:

(i) Mệnh đề "*phép thử độc lập*" dưới đây được thiết lập dựa trên quy tắc nhân xác suất, chủ yếu dùng để kiểm tra xem quy luật di truyền chi phối đồng thời cả hai tính trạng nào đó trong một phép lai là độc lập hay liên kết (nếu là liên kết thì liên kết hoàn toàn hay không hoàn toàn), hoặc một tính trạng nào đó có liên kết với giới tính hay không. Mệnh đề này được phát biểu như sau: *Nếu các gene phân ly độc lập và tổ hợp tự do, thì tỷ lệ phân ly đồng thời của cả hai tính trạng bằng tích các tỷ lệ phân ly riêng rẽ của các tính trạng đó, và ngược lại*.

Ví dụ 1: Kết quả của một phép lai hai tính có tỷ lệ phân ly là 3:3:1:1 và các tỷ lệ của từng tính là 3:1 và 1:1. Ta nói rằng các tính trạng đó tuân theo quy luật phân ly độc lập, vì: $3:3:1:1 = (3:1)(1:1)$.

Ví dụ 2: Kết quả sự tự thụ tinh của một cá thể F_1 (hoặc tạp giao giữa các cá thể F_1 sinh ra từ các bố mẹ thuần chủng khác nhau về từng cặp gene allele) về một tính trạng nào đó mà có tỷ lệ phân ly là 9:3:3:1 hoặc là một biến dạng của công thức phân ly đó. Ta có thể khẳng định rằng tính trạng này tuân theo quy luật tương tác giữa các gene không allele phân ly độc lập. Thật vậy, từ kết quả trên cho thấy ở đời lai có $9+3+3+1 = 16$ kiểu tổ hợp với tỷ lệ ngang nhau, chứng tỏ (các) cá thể F_1 đó đã cho ít nhất 4 loại giao tử với tỷ lệ tương đương, nghĩa là dị hợp ít nhất 2 cặp gene phân ly độc lập. Nghĩa là tính trạng đó tuân theo quy luật tương tác gene.

(ii) Hệ quả: *Nếu tích các tỷ lệ phân ly riêng rẽ của các tính trạng khác với tỷ lệ phân ly đồng thời của cả hai tính, chứng tỏ các tính trạng đó tuân*

theo quy luật di truyền liên kết.

Ví dụ: Kết quả của một phép lai cho thấy tỷ lệ phân ly của cả hai tính là 1A-bb:2A-B-:1aabb hoặc 3A-B-:1aabb, trong khi tỷ lệ phân ly của mỗi tính trạng vẫn là 3:1. Ta dễ dàng thấy rằng tích $(3:1)(3:1) \neq 1:2:1$ hoặc 3:1, chứng tỏ các tính trạng này tuân theo quy luật liên kết hoàn toàn, và kiểu gene của bố mẹ chúng đối với trường hợp đầu là $Ab/aB \times Ab/aB$ hoặc $AB/ab \times Ab/aB$, và trường hợp sau là $AB/ab \times AB/ab$.

(iii) Nguyên tắc tổng quát giải một bài toán lai hai hoặc nhiều tính

Từ những điều trình bày trên đây cho thấy rằng thực ra toán lai gồm hai dạng tổng quát: lai một tính và lai nhiều tính, và việc giải một bài toán lai hai tính trở lên nói chung được thực hiện theo ba bước chính: *Bước 1:* Tách xét quy luật di truyền của từng tính trạng; *Bước 2:* Gộp xét quy luật di truyền của hai tính hoặc từng hai tính trạng một (để xác định xem chúng tuân theo quy luật nào, độc lập hay liên kết); và *Bước 3:* Thiết lập (các) sơ đồ lai kiểm chứng (xem "Phép giải toán lai", *Hoa học trò* số 362 tr.40-41).

Như vậy, cái khó của các bài toán lai thực ra là ở dạng lai một tính, và cái khó nhất của dạng toán này là xác định cho được quy luật chi phối tính trạng và các kiểu quan hệ có thể có giữa các gene allele cũng như giữa các gene không allele với nhau. Từ đó mới có thể xác định các kiểu gene, kiểu hình, và cuối cùng là kiểm chứng các kết quả bằng sơ đồ lai thích hợp.

(iv) Các phương pháp biểu diễn kết quả lai: Bởi vì bất cứ một mệnh đề quy luật nào cũng là "mệnh đề kéo theo" và có tính xác suất (nghĩa là chứa đựng khả năng tiên đoán tiềm tàng), cho nên việc tính toán và biểu diễn các kết quả kỳ vọng của bất kỳ một phép lai nào rõ ràng là đều dựa trên cơ sở xác suất mà chủ yếu là quy tắc nhân. Có nhiều cách khác nhau trong biểu diễn kết quả của các phép lai. Chẳng hạn, trình bày dưới dạng khung Punnett, vốn là phương pháp kinh điển của di truyền học. Một phương pháp thông dụng khác là *phương pháp phân nhánh* (forked-line approach), Phương pháp này có thể dùng để tìm xác suất của các kiểu đời con đối với nhiều gene phân ly độc lập; nó cũng rất tiện dụng khi xác định thành phần allele và xác suất của các loại giao tử từ một kiểu gene cụ thể. Ngoài ra, tùy trường hợp có thể sử dụng trực tiếp *quy tắc nhân* (product rule).

2.4. Công thức xác suất nhị thức

Để đơn giản, ta xét phép thử đồng xu gồm hai sự kiện đối lập là mặt sấp (S) và mặt ngửa (N), với các xác suất tương ứng là p và q, trong đó $q = 1-p$. Giả sử trong n phép thử độc lập được tiến hành, sự kiện S xuất hiện k lần và sự kiện N là n-k. Để tính các xác suất này ta phải sử dụng công thức *xác suất nhị thức* (binomial probability) sau đây:

$$P_n(k) = C_n^k \cdot p^k \cdot q^{n-k}; \quad k = 0, 1, 2, \dots, n.$$

trong đó, C_n^k là hệ số nhị thức; ở đây $C_n^k = n! / k!(n-k)!$

Lưu ý: Dãy n phép thử này còn gọi là dãy *phép thử Bernoulli*, vì nó thoả mãn ba điều kiện: (1) Nó là dãy độc lập; (2) Trong mỗi phép thử, không gian biến cố sơ cấp chỉ có hai biến cố sơ cấp đối lập là S và N ; và (3) Xác suất của một biến cố S hoặc N là không thay đổi trong mọi phép thử, $P(S) = p$ và $P(N) = q = 1 - p$.

Ví dụ: Gieo một đồng xu liên tiếp ba lần, có thể xảy ra $2^3 = 8$ khả năng độc lập về thứ tự trong 4 nhóm sau đây:

<u>3 mặt sấp</u>	<u>2 sấp và 1 ngửa</u>	<u>1 sấp và 2 ngửa</u>	<u>3 mặt ngửa</u>
SSS	SSN	SNN	NNN
	SNS	NSN	
	NSS	NNS	

Với giả thiết $p = q = 1/2$, dựa vào công thức xác suất nhị thức ta dễ dàng tính được xác suất của mỗi trường hợp trên như sau:

$$P(3 \text{ mặt sấp}) = 1 \times (1/2)^3 \times (1/2)^0 = 1/8$$

$$P(3 \text{ mặt ngửa}) = 1 \times (1/2)^0 \times (1/2)^3 = 1/8$$

$$P(2 \text{ sấp } 1 \text{ ngửa}) = 3 \times (1/2)^2 \times (1/2)^1 = 3/8$$

$$P(1 \text{ sấp } 2 \text{ ngửa}) = 3 \times (1/2)^1 \times (1/2)^2 = 3/8$$

2.5. Công thức xác suất toàn phần

Giả sử dãy $B_1, B_2, \dots, B_n$ là một nhóm đầy đủ các biến cố, nghĩa là chúng có hợp là một sự kiện tất yếu ($B_1 \cup B_2 \cup \dots \cup B_n = \Omega$) và gồm từng đôi xung khắc ($B_i \cap B_j = \emptyset$, với $i \neq j$; $i, j = 1, 2, \dots, n$); và gọi A là một biến cố bất kỳ. Khi đó:

$$A = \Omega \cap A = (B_1 \cup B_2 \cup \dots \cup B_n) \cap A = (B_1 \cap A) \cup (B_2 \cap A) \cup \dots \cup (B_n \cap A)$$

Áp dụng các định lý cộng và nhân, ta có *công thức xác suất toàn phần*

$$P(A) = P(B_1).P(A/B_1) + P(B_2).P(A/B_2) + \dots + P(B_n).P(A/B_n)$$

$$= \sum P(B_i).P(A/B_i); \text{ với } i = 1, \dots, n.$$

2.6. Công thức Bayes

Với giả thiết như trên cộng thêm một điều kiện mới là phép thử được tiến hành và kết quả là sự kiện A đã xảy ra. Vì các B_i ($i = 1, 2, \dots, n$) lập thành một nhóm đầy đủ nên cùng với A phải có chỉ một sự kiện B_k nào đó xảy ra. Vậy khi A xuất hiện thì sự kiện nào trong số các B_i có nhiều khả năng xảy ra hơn cả? Giải đáp câu hỏi này có nghĩa là cần tính xác suất

$P(B_k/A)$. Vận dụng định lý nhân xác suất, ta có:

$$P(A \cap B_k) = P(A).P(B_k/A) = P(B_k).P(A/B_k)$$

Suy ra: $P(B_k/A) = P(B_k).P(A/B_k) : P(A)$; với $P(A) > 0$.

Thay $P(A)$ từ công thức xác suất toàn phần ở trên, ta được công thức Bayes như sau: $P(B_k/A) = P(B_k).P(A/B_k) : \sum P(B_i).P(A/B_i)$

Trong đó các $P(B_i)$ được gọi là các *xác suất tiên nghiệm* (vì chúng được xác định trước khi tiến hành phép thử), còn $P(B_k/A)$ được gọi là *xác suất hậu nghiệm* (vì nó chỉ được xác định sau khi tiến hành phép thử).

Cần lưu ý rằng, các quy luật Mendel về thực chất là các định luật nhân xác suất, cho nên để tiên đoán các nguy cơ di truyền cần sử dụng đến công thức Bayes, tức là định lý xác suất của nguyên nhân. Và bài toán đặt ra chỉ có thể giải quyết trọn vẹn một khi biết được các xác suất tiên nghiệm.

Ví dụ: Lấy ngẫu nhiên một cây đậu hạt vàng ở F_2 (trong thí nghiệm của Mendel) cho lai với cây hạt xanh, và ở thế hệ lai nhận được tất cả là 6 cây hạt vàng. Hãy tìm xác suất của cây hạt vàng F_2 đem lai là thể đồng hợp. (Quy ước: Y- hạt vàng, y - hạt xanh).

Giải: Ta biết rằng ở F_2 có tỷ lệ kiểu gene là $1/4 YY : 1/2 Yy : 1/4 yy$ và tỷ lệ kiểu hình là $3/4$ vàng : $1/4$ xanh. Vì cây hạt vàng (Y-) được chọn ngẫu nhiên trong số các cây hạt vàng F_2 nên nó có thể là đồng hợp (YY) hoặc dị hợp (Yy), với xác suất tương ứng là $1/3$ hoặc $2/3$.

Gọi B_1 - sự kiện "cây hạt vàng F_2 lấy ra là thể đồng hợp"

B_2 - sự kiện "cây hạt vàng F_2 lấy ra là thể dị hợp"; ($B_1 \cup B_2 = \Omega$)

và A là sự kiện "6 cây hạt vàng nhận được ở thế hệ lai".

Ta có các xác suất tiên nghiệm: $P(B_1) = 1/3$ và $P(B_2) = 2/3$

Và các xác suất điều kiện: $P(A/B_1) = 1$ và $P(A/B_2) = (1/2)^6 = 1/64$

Vậy xác suất (hậu nghiệm) cần tìm là:

$$\begin{aligned} P(B_1/A) &= P(B_1).P(A/B_1) : [P(B_1).P(A/B_1) + P(B_2).P(A/B_2)] \\ &= (1/3 \times 1) : [(1/3 \times 1) + (2/3 \times 1/64)] = 32/33 = 0,97. \end{aligned}$$

Lưu ý: Kết quả này cho thấy rằng cây hạt vàng F_2 (được lấy ngẫu nhiên để lai phân tích) có kiểu gene đồng hợp là hầu như chắc chắn (đến 97%), với mức $\alpha = 0,05$. Nói cách khác, chỉ với 6 cây hạt vàng đó thôi cũng đủ để khẳng định sự đồng tính của đời con. Đến đây hẳn là chúng ta đã thấy rõ công thức Bayes có tầm quan trọng như thế nào trong việc tiên đoán nguyên nhân và nguy cơ di truyền, cũng như cho phép lý giải một số tình huống phức tạp (xem Hoàng Trọng Phán 1995, 2000b).

VII. Phương pháp Khi-bình phương (Chi-square method) trong đánh giá độ phù hợp giữa các số liệu quan sát và kỳ vọng

Nói chung, các số liệu thống kê thu được từ các thí nghiệm vốn sai khác ít nhiều so với các con số mang tính chất lý thuyết, tùy thuộc chủ yếu vào mẫu thí nghiệm và phương pháp lấy mẫu. Trong trường hợp đó, chúng ta băn khoăn không rõ liệu sự giả định "xấp xỉ" của chúng ta có thật chắc chắn không? Hay nói theo ngôn ngữ thống kê, "giả thuyết tương đồng H_0 được chấp nhận hay bị bác bỏ", nghĩa là kết quả thu được có thật nghiệm đúng với tỷ lệ của một quy luật nào đó hay không?

Để có được câu trả lời rõ ràng cho vấn đề này chỉ có cách là sử dụng *trắc nghiệm Khi-bình phương* (χ^2 -test). Đây là một công cụ toán thống kê thông dụng cho phép kiểm tra *độ phù hợp* giữa các trị số thực tế *quan sát* được (observed, ký hiệu: O) và các trị số lý thuyết được *kỳ vọng* (expected, ký hiệu: E) của một giả thuyết hay phân phối thực nghiệm khoa học nào đó, hoặc để kiểm tra tính độc lập của hai đại lượng ngẫu nhiên. Nhờ đó ta có thể rút ra quy luật, hoặc hiệu quả của hai phương pháp thí nghiệm nào đó. Đúng về phương diện thực hành, phương pháp này được tiến hành đơn giản như sau:

Bước 1: Đặt giả thuyết tương đồng H_0 và sau đó tính trị số χ^2 thực tế dựa theo công thức: $\chi^2 = \sum [(O_i - E_i)^2 / E_i]$; $i = 1, 2, \dots, n$.

Bước 2: Tìm trị số χ^2 lý thuyết bằng cách tra *Bảng các giá trị của phân phối χ^2_α* với k bậc tự do. Thông thường người ta sử dụng mức xác suất sai lầm P hay mức ý nghĩa $\alpha = 0,05$ và $k = n - 1$; trong đó n là số lớp kiểu hình và nó còn tùy trường hợp cụ thể. Mức $\alpha = 0,05$ thường được dùng làm ranh giới phân chia giữa miền ấn định chấp nhận giả thuyết H_0 và miền ấn định bác bỏ giả thuyết H_0 . Để tiện lợi, dưới đây nêu ra một vài trị số $\chi^2_{\alpha=0,05}$ lý thuyết thông dụng ứng với một số bậc tự do k như sau:

Số bậc tự do (k)	1	2	3	4
Giá trị $\chi^2_{\alpha=0,05}$	3,84	5,99	7,82	9,49

Bước 3: So sánh các giá trị χ^2 thực tế và lý thuyết.

- Nếu như trị số χ^2 thực tế nhỏ hơn trị số χ^2 lý thuyết, tức là có mức xác suất P hay $\alpha > 0,05$, giả thuyết H_0 được chấp nhận. Nghĩa là kết quả thu được phù hợp với tỷ lệ được giả định.

- Ngược lại, nếu như trị số χ^2 thực tế lớn hơn hoặc bằng trị số χ^2 lý thuyết, tức là có mức xác suất P hay $\alpha \leq 0,05$, giả thuyết H_0 bị bác bỏ. Nghĩa là kết quả thu được không phù hợp với tỷ lệ được giả định.

Ví dụ: Trong thí nghiệm lai một tính của Mendel, ở F_2 thu được 705 hoa tím và 224 hoa trắng. Trên nguyên tắc, với hai kiểu hình ở F_2 khiến ta có thể nghĩ tới một số tỷ lệ lý thuyết gần với nó như 2:1, 3:1 hoặc 9:7. Nhưng ở đây tỷ lệ "tím : trắng" thực tế là 3,15:1 nên tỷ lệ kỳ vọng hợp lý hơn cả là 3:1. Đó chính là giả thuyết H_0 cần kiểm tra.

Bây giờ ta có thể tính toán giá trị χ^2 thực tế như sau:

Kiểu hình	Số quan sát (O_i)	Số kỳ vọng (E_i)	$(O_i - E_i)^2 / E_i$
Hoa tím	705	$3/4 \times 929 = 696,75$	0,098
Hoa trắng	224	$1/4 \times 929 = 232,25$	0,293
Tổng	929	929	$\chi^2 = 0,391$

Bằng cách tra bảng các giá trị của phân phối $\chi^2_{\alpha=0,05}$ với $k = 2 - 1 = 1$ bậc tự do, ta tìm được trị số χ^2 lý thuyết là 3,84. Vì trị số χ^2 thực tế (0,391) nhỏ hơn trị số χ^2 lý thuyết (3,84) rất nhiều, nên giả thuyết H_0 hoàn toàn được chấp nhận. Nghĩa là kết quả thí nghiệm trên phù hợp một cách sít sao với tỷ lệ 3:1. Điều đó có nghĩa rằng sự sai khác giữa các số liệu thực và các con số lý thuyết tương ứng là rất không đáng kể, không có ý nghĩa về phương diện thống kê.

Câu hỏi và Bài tập

1. Đối tượng và phương pháp thí nghiệm của Mendel có những đặc điểm độc đáo nào mà từ đó Mendel đã khám phá ra các quy luật di truyền cơ sở đầu tiên, đặt nền móng cho sự ra đời của di truyền học?

2. Khi lai giữa chuột đen và chuột nâu nhận được F_1 toàn chuột đen. Sau đó cho các chuột này tạp giao với nhau thu được F_2 gồm 53 đen và 17 nâu. Hãy giải thích kết quả, viết các sơ đồ lai và tính xác suất của mỗi trường hợp phân ly kiểu hình có thể có ở F_2 (biết rằng số chuột F_2 thu được từ mỗi tổ hợp lai của các chuột F_1 trung bình là bốn con).

3. Từ kết quả lai ở cừu sau đây, hãy xác định kiểu gene của mỗi cá thể.

Phép lai

Đời con

Trắng-1 x trắng-2

6 trắng : 1 đen

Trắng-1 x trắng-3

5 trắng

Trắng-1 x đen-1

3 trắng : 3 đen

4. Cho một ruồi giấm mắt nâu cánh dài giao phối với một ruồi giấm mắt đỏ cánh dài. Đời con thu được gồm 51 đỏ dài, 53 nâu dài, 17 đỏ ngắn và 18 nâu ngắn. Hãy xác định kiểu gene của các ruồi giấm bố mẹ.

5. Dựa vào các phép lai và kết quả dưới đây, hãy biện luận để chỉ ra các quy luật di truyền và kiểu gene của các bố mẹ trong mỗi phép lai.

Đời con	Vàng, trơn	Vàng, nhăn	Xanh, trơn	Xanh, nhăn
Phép lai				
Vàng, trơn × vàng, trơn	45	15	16	5
Vàng, nhăn × vàng, nhăn	0	42	0	15
Xanh, trơn × vàng, nhăn	31	29	32	30

6. Giả sử đã thực hiện phép lai giữa con mèo lông ngắn, thưa, có đốm trắng (llDdSs) và mèo lông dài, rậm, có đốm trắng (LlDdSs). Hãy trình bày các phương pháp nhân xác suất đơn giản và sơ đồ phân nhánh để tính tỷ lệ kỳ vọng của mỗi một mèo con có kiểu hình sau: lông ngắn, thưa, không có đốm trắng; lông ngắn, rậm, có đốm trắng; và lông dài, rậm, có đốm trắng.

7. Ở ruồi giấm, mắt đỏ (se^+) là trội so với mắt màu nâu tối (se ; viết tắt của *sepia*). Cho hai ruồi giấm mắt đỏ dị hợp lai với nhau, và lấy một con mắt đỏ đời con cho lai trở lại với một bố mẹ mắt đỏ. Cơ may để đời con phép lai ngược đó xuất hiện ruồi giấm mắt màu nâu tối là bao nhiêu?

8. Để khẳng định các nguyên lý di truyền của Mendel, các nhà nghiên cứu đã lặp lại các thí nghiệm ở đậu Hà Lan. Riêng các thí nghiệm về màu sắc hạt, ở F_2 Correns thu được 1.394 vàng và 453 xanh, trong khi Tschermak quan sát thấy có 3.580 vàng và 1.190 xanh. Các trị số này có phù hợp với nguyên lý phân ly không? Bạn hãy chứng minh điều đó bằng công cụ toán thống kê thích hợp.

9. Giả sử người chồng bị bạch tạng, người vợ và các con của họ (một trai và hai gái) đều bình thường. Khi lớn lên, chúng lập gia đình với những người cũng không mắc bệnh này và mỗi gia đình này đều có một trai và một gái bình thường. Giả sử xảy ra sự kết hôn đồng huyết giữa hai đứa cháu có quan hệ cậu cô ruột, khi đó xác suất để sinh ra một trai đầu lòng mắc bệnh này là bao nhiêu? Hãy vẽ sơ đồ phả hệ nói trên và giải thích.

10. Giả sử bạn có một cây đậu Hà Lan thân cao chưa rõ kiểu gene. Bạn đem cây này lai phân tích với cây thân thấp hoặc cho nó tự thụ phấn và đã thu được tất cả bảy cây đều có thân cao. Hỏi xác suất để cây thân cao đem lai kiểm tra có kiểu gene đồng hợp là bao nhiêu?

Tài liệu Tham khảo

Tiếng Việt

Nguyễn Ngọc Kiềng 1996. *Thống kê học trong Nghiên cứu Khoa học*.

NXB Giáo Dục, Hà Nội.

Phạm Văn Kiêu 1998. *Lý thuyết Xác suất và Thống kê Toán học*. NXB Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.

Hoàng Trọng Phán 1995. Đánh giá hiện tượng đồng tính trong lai phân tích nhờ công thức Bayes. *Thông tin Khoa học và Giáo dục* số 11/1995, tr. 133-138, Trường ĐHSP Huế.

Hoàng Trọng Phán 2000a. Phép giải toán lai. *Hoa học trẻ* số 362, tr.40-41.

Hoàng Trọng Phán 2000b. Công thức Bayes và phép tính gần đúng trong phân tích di truyền học. *Thông báo Khoa học* số 4/2000, tr. 65-76, Trường ĐHSP Hà Nội.

Tiếng Anh

Brooker RJ. 1999. *Genetics - Analysis and Principles*. Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc., Menlo Park, CA.

Campbell NA, Reece JB. 2001. *Essential Biology*. Benjamin/Cummings, an imprint of Addison Wesley Longman, Inc, San Francisco, CA.

Hartl DL, Freifelder D, Snyder LA. 1988. *Basic Genetics*. Jones and Bartlett Publishers, Inc, Boston - Portola Valley.

Lewis R. 2003. *Human Genetics: Concepts and Applications*. 5th ed, McGraw-Hill, Inc, NY.

Online Mendelian Inheritance in Man (OMIMTM):

<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Omim/mimstats.html>>

Russell PJ. 2000. *Fundamentals of Genetics*. 2nd ed, Benjamin/ Cummings Publishing Company, Inc, Menlo Park, CA.

Suzuki DT, Griffiths AJF, Miller JH, Lewontin RC. 1989. *An Introduction to Genetic Analysis*. 4th ed, W-H Freeman and Company, New York.

Tamarin RH. 1999. *Principles of Genetics*. 6th ed, McGraw-Hill, Inc, NY.

Weaver RF and Hedrick PW. 1997. *Genetics*. 3rd ed, McGraw-Hill Companies, Inc. Wm.C.Brown Publishers, Dubuque, IA.

Một số trang web

<http://www.mhhe.com/lewisgenetics5>

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=OMIM>

<http://fpt.netSPACE.org/MendelWeb/Mendel.htm>

<http://www.nord-rdb.com/~orphan>

Chương 2

Mở rộng và Áp dụng của Di truyền học Mendel

Nét đặc sắc của các thí nghiệm Mendel là ở sự nhất quán hoàn toàn giữa các quan sát và giả thuyết của ông. Tuy nhiên, kể từ sau khi các công trình của Mendel được khám phá lại, người ta còn phát hiện ra nhiều ngoại lệ suy rộng từ mô hình Mendel. Trong chương này, chúng ta sẽ tìm hiểu các vấn đề sau: (i) Sự khác nhau giữa các kiểu trội hoàn toàn, trội không hoàn toàn và đồng trội; (ii) Tác động của gene gây chết; (iii) Hiện tượng đa allele; (iv) Tính đa hiệu của gene; (v) Các kiểu di truyền do nhiều gene cùng tác động lên một tính trạng - tương tác gene; (vi) Cơ sở di truyền của các tính trạng số lượng. Các kiểu di truyền liên kết và liên kết với giới tính tuy cũng được xem như là sự mở rộng của các nguyên lý Mendel, nhưng sẽ được trình bày trong một chương riêng, chương 4.

I. Các kiểu quan hệ giữa các gene allele đối với một tính trạng

1. Các kiểu trội hoàn toàn, không hoàn toàn và đồng trội

Kể từ sau năm 1900, người ta còn phát hiện thêm một số trường hợp trội khác nhau, bổ sung cho tỷ lệ 3 trội : 1 lặn của Mendel.

1.1. Trội hoàn toàn (*complete dominance*)

Đây là trường hợp di truyền trội-lặn Mendel. Trong hầu hết các trường hợp, allele bình thường (hay kiểu dại) trội hoàn toàn so với các allele đột biến. Điều này có thể lý giải dựa trên cơ sở di truyền sinh hóa ở chỗ, allele trội cho sản phẩm protein hoạt động chức năng bình thường trong khi allele đột biến không tạo ra được sản phẩm có hoạt tính. Do đó các cá thể đồng hợp về allele lặn không hoàn thành được con đường chuyển hóa có liên quan đến gene này. Ở người, đó là trường hợp của các allele đột biến lặn gây bạch tạng, bệnh *phenylxêton-niêu* (*phenylketonuria* = PKU)...

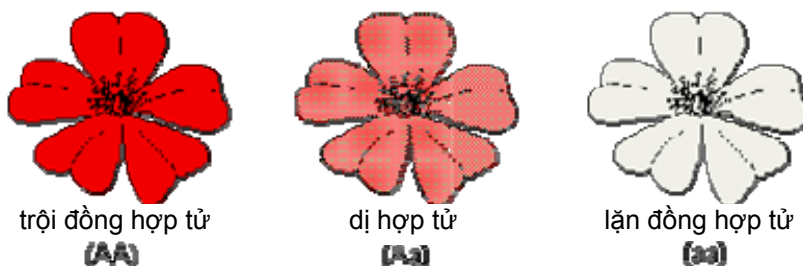
Tuy nhiên, ở một số trường hợp, allele đột biến trội hơn kiểu dại; nghĩa là allele kiểu dại là lặn. Ví dụ: ở người, kiểu lùn phổ biến do không tạo được sụn là trội, cho nên các thể dị hợp biểu hiện kiểu hình đột biến.

1.2. Trội không hoàn toàn (*incomplete dominance*)

Khi lai giữa hai giống hoa bốn giờ (*four-o'clock*; *Mirabilis jalapa*) thuần chủng có hoa màu đỏ và hoa màu trắng, Carl Correns thu được tất cả các cây F_1 có hoa màu hồng, kiểu hình trung gian giữa hai bố mẹ. Sau khi cho các cây F_1 tự thụ phấn, tỷ lệ kiểu hình ở F_2 là 1 đỏ : 2 hồng : 1 trắng. Mặc dù tỷ lệ kiểu hình này có hơi lệch so với của Mendel, nhưng

thực tế nó tương ứng với tỷ lệ kiểu gene 1:2:1 (hình 2.1). Nếu sử dụng quy ước gene A- đỏ là trội không hoàn toàn so với a- trắng, ta có sơ đồ lai sau:

P _{tc}	Hoa đỏ (AA) × Hoa trắng (aa)
F ₁	Aa (Hoa hồng)
F ₂	Tỷ lệ kiểu gene $\frac{1}{4}$ AA : $\frac{1}{2}$ Aa : $\frac{1}{4}$ aa
	Tỷ lệ kiểu hình $\frac{1}{4}$ đỏ : $\frac{1}{2}$ hồng : $\frac{1}{4}$ trắng

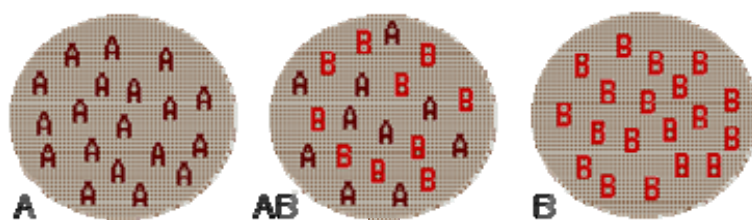


Hình 2.1 Sự di truyền trung gian đối với màu sắc hoa ở nhiều thực vật.

Bởi kiểu hình của thể dị hợp là trung gian giữa hai thể đồng hợp, vì vậy ta có thể lý giải trên phương diện sinh hóa rằng hàm lượng sản phẩm tích lũy do một allele trội kiểm soát là không đủ để thể hiện kiểu hình màu đỏ như trong trường hợp có mặt cả hai allele trội.

1.3. Đồng trội (codominance)

Đồng trội là hiện tượng cả hai allele khác nhau trong một thể dị hợp cùng biểu hiện ra các sản phẩm có hoạt tính khác nhau trong tế bào. Các allele như thế được gọi là các allele đồng trội. Điển hình là trường hợp nhóm máu AB của hệ nhóm máu ABO (hình 2.2; xem giải thích ở mục 3 bên dưới) và nhóm máu MN của hệ nhóm máu M-N ở người.



Hình 2.2 Kiểu hình các nhóm máu A, AB và B. (Ở đây cho thấy sự đồng trội ở nhóm máu AB. Nhóm máu O không có kháng nguyên nào).

Hệ nhóm máu M-N (do một locus thuộc nhiễm sắc thể thường kiểm soát) có hai allele L^M và L^N . Như thế, trong một quần thể sẽ có ba kiểu gene $L^M L^M$, $L^M L^N$ và $L^N L^N$ (có thể viết gọn là MM, MN và NN) tương ứng với ba kiểu hình hay nhóm máu là M, MN và N. Nếu cho rằng các phép hôn phối thuận nghịch là tương đương, thì có thể có sáu kiểu hôn phối với các tỷ lệ kiểu gene kỳ vọng ở đời con được cho ở bảng 2.1.

Bảng 2.1 Các tỷ lệ kỳ vọng ở đời con đối với hệ nhóm máu M-N

Bố mẹ	Đời con		
	$L^M L^M$	$L^M L^N$	$L^N L^N$
$L^M L^M \times L^M L^M$	1	—	—
$L^M L^M \times L^M L^N$	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{2}$	—
$L^M L^M \times L^N L^N$	—	1	—
$L^M L^N \times L^M L^N$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{4}$
$L^M L^N \times L^N L^N$	—	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{2}$
$L^N L^N \times L^N L^N$	—	—	1

Một ví dụ khác là allele lặn gây bệnh hồng cầu hình liềm. Ở những người dị hợp tử về allele này ($Hb^A Hb^S$), cả hai allele đều được biểu hiện và các tế bào máu của họ chứa cả hemoglobin bình thường và bất thường.

2. Tác động của gene gây chết (lethal)

Các allele gây chết là những đột biến có thể trội hoặc lặn làm giảm sức sống hoặc gây chết đối với các cá thể mang nó và do đó, làm biến đổi tỷ lệ 3:1 của Mendel. Nhiều gene có các allele ảnh hưởng lên tỷ lệ chết chứ không gây chết; các allele này được gọi là các allele *có hại* (deleterious).

**Hình 2.3** Biến đổi màu lông ở chuột.**Hình 2.4** Mèo Manx không đuôi.

Nói chung, các allele gây chết thường là lặn và gây chết ở các thể đồng hợp. Ví dụ, đột biến bạch tạng ở thực vật làm cho cây chết ở giai đoạn non vì không có diệp lục để quang hợp. Bệnh thiếu máu hồng cầu hình liềm ở người (xem mục II) có thể gây chết với tỷ lệ đáng kể ở tuổi trưởng thành khi allele đột biến lặn này ở trạng thái đồng hợp.

Tuy nhiên, một số allele gây chết là những đột biến trội. Điển hình là thí nghiệm lai về màu sắc lông ở chuột của Lucien Cuénot năm 1904. Khi lai giữa hai chuột thân vàng (allele vàng là trội; Hình 2.3), ông thu được tỷ lệ xấp xỉ 2 vàng : 1 kiểu đại. Mặt khác, khi lai giữa các chuột vàng với chuột kiểu đại (màu agouti), ông thấy rằng đời con có tỷ lệ xấp xỉ 1:1.

chúng xác định tên nhóm máu tương ứng. Các cá thể mang allele I^A và/hoặc allele I^B có kháng nguyên tương ứng A và/hoặc B; còn allele I^O không tạo được bất kỳ kháng nguyên nào (nên những người đồng hợp về allele lặn này có kiểu hình O, nghĩa là "không" có kháng nguyên A hoặc B nào cả trên bề mặt các tế bào hồng cầu).

Các *kháng thể* (antibody) là những protein do hệ thống miễn dịch tạo ra với một số lượng lớn nhằm đáp ứng với các kháng nguyên đặc thù từ bên ngoài. Cụ thể, trong huyết thanh ở những người mang nhóm máu O thấy có cả hai loại kháng thể kháng-A và kháng-B gọi là α và β ; ở những người nhóm máu AB không có bất kỳ loại kháng thể nào; còn ở những người nhóm máu A và B chỉ có một loại kháng thể tương ứng là α và β .

Ý nghĩa lâm sàng của nguyên tắc truyền máu là ở chỗ khi truyền sai nhóm máu sẽ xảy ra phản ứng ngưng kết chết người do phản ứng giữa kháng nguyên bề mặt của hồng cầu người *cho* (donor), mà lượng huyết thanh là không đáng kể, với kháng thể có trong huyết thanh của người *nhận* (recipient). Vì thế, những người có cùng nhóm máu thì có thể cho và nhận của nhau. Đặc biệt, nhóm máu O do thiếu cả hai loại kháng nguyên A và B nên có thể truyền cho một người mang bất kỳ nhóm máu nào; ngược lại người mang nhóm máu AB có thể nhận bất kỳ nhóm máu nào.

Hiện tượng đa allele tồn tại phổ biến trong các quần thể sinh vật khác nhau. Ví dụ, gene kiểm soát màu mắt đỏ-trắng ở ruồi giấm gồm một chuỗi 12 allele, với tính trội giảm dần từ đỏ kiểu dại cho đến trắng đột biến lặn (w) theo thứ tự từ trái sang phải và trên xuống như sau:

Allele	W^+	W^{sat}	W^{co}	W^w	W^{ap3}	W^{ch}
Màu	đỏ dại	satsuma	coral	wine	apricot3	cherry
Allele	W^e	W^{bl}	W^{ap}	W^i	W^t	w
Màu	eosin	blood	apricot	ivory	tinged	white

Một số gene ở người, chẳng hạn như các gene đối với kháng nguyên bạch cầu người *HLA* (human leukocyte antigen) xác định các kháng nguyên trên bề mặt của hầu như tất cả các tế bào có thể có nhiều allele. Ví dụ, gene *HLA-B* có nhiều hơn 30 allele được xác định khác nhau về mặt kháng nguyên trong một số quần thể. Kết quả của sự đa dạng này là, trong một quần thể có rất nhiều kiểu gene ở gene *HLA-B* (465 kiểu gene khác nhau, với 30 kiểu đồng hợp và 435 kiểu dị hợp), thực sự tạo nên một dãy biến dị kiểu gene rộng.

II. Tính đa hiệu của gene (*pleiotropy*)

Hiện tượng một gene ảnh hưởng đến hai hoặc nhiều tính trạng được gọi là *tính đa hiệu* (*pleiotropy*). Ví dụ, trong các thí nghiệm ở đậu Hà Lan,

Mendel đã lưu ý rằng gene kiểm soát màu hoa tím và trắng cũng ảnh hưởng lên màu sắc hạt (vỏ xám hoặc nâu) và gây ra sự có mặt hoặc không có mặt của các vết màu tím ở bẹ lá. Trong ví dụ allele kiểm soát lông vàng ở chuột nói trên, ta thấy rằng nó còn ảnh hưởng lên sức sống ở các thể dị hợp và gây chết ở các thể đồng hợp.

Nhiều bệnh di truyền ở người gây ra bởi các gen có tác dụng đa hiệu. Chẳng hạn, bệnh *phenylxê-tôn-niêu* (phenylketonuria = PKU) xảy ra ở các cá thể đồng hợp về allele lặn đó. Những người mắc bệnh này thiếu hẳn enzyme cần thiết cho sự chuyển hóa bình thường của amino acid phenylalanine thành sản phẩm sinh hóa kế tiếp. Khi so sánh các cá thể bình thường và PKU với nhau cho thấy mức phenylalanine ở nhóm bệnh cao hơn nhiều. Ngoài ra, ở những người bệnh còn có một số biến đổi khác như: chỉ số IQ thấp hơn, đầu bé hơn, và tóc hơi nhạt hơn. Tất cả các hiệu quả đa hiệu này có thể hiểu như là hậu quả của sự rối loạn sinh hóa cơ sở. Chẳng hạn, ở các bệnh nhân PKU có sự tích lũy một độc tố trong đầu khiến cho bộ não bị tổn thương và dẫn tới IQ thấp hơn, đầu bé hơn.

Một ví dụ khác về tính đa hiệu ở người là *bệnh hồng cầu hình liềm* (sickle-cell disease). Vậy tính đa hiệu giải thích trường hợp này như thế nào? Những người đồng hợp về allele đột biến lặn này ($Hb^S Hb^S$) chỉ tạo ra các phân tử hemoglobin bất thường, khiến cho tất cả các tế bào hồng cầu có dạng hình liềm, kích thước bé, màu đỏ nhạt (Hình 2.5). Các tế bào hình liềm nhanh chóng bị cơ thể phá hủy và gây ra sự thiếu máu và suy yếu cơ thể nói chung. Ngoài ra,



Hình 2.5 Các tế bào hồng cầu bình thường (trên) và dạng hình liềm (dưới), với độ phóng đại gần gấp đôi của hình trên.

do hình dạng góc cạnh mà các tế bào hình liềm không thể vận chuyển trơn tru trong máu và có xu hướng tích tụ và gây tắc nghẽn các mao mạch. Dòng máu đi đến các bộ phận cơ thể bị giảm bớt, gây sốt định kỳ, đau đớn, và tổn thương các cơ quan khác nhau như não bộ, lách, tim, thận...

III. Các kiểu tương tác giữa các gene không allele

Kể từ sau khi phát hiện lại các nguyên lý di truyền của Mendel, đã xuất hiện nhiều công trình nghiên cứu trên các đối tượng khác nhau, như: bí ngô, đậu ngọt, lúa mì, ngô, ruồi giấm, gà, chuột, chó, ngựa... Một số kết quả thu được từ các thí nghiệm lai một tính đó cho thấy tỷ lệ phân ly khác với các tỷ lệ 3:1 hoặc 9:3:3:1. Các trường hợp cho tỷ lệ phân ly 9:3:3:1

hoặc một dạng biến đổi của nó được lý giải là do sự tương tác qua lại giữa các gene không allele phân ly độc lập.

Tự trung có hai kiểu tương tác gene, đó là: tương tác giữa các gen allele (đã xét ở trên) và tương tác giữa các gen không allele (thường được gọi tắt là *tương tác gene*). Do các gene không allele có thể nằm trên cùng một cặp nhiễm sắc thể hoặc trên các cặp nhiễm sắc thể tương đồng khác nhau, cho nên về nguyên tắc sẽ có hai dạng tương tác gene không allele tương ứng là tương tác độc lập và tương tác liên kết; và dạng sau phải là chủ yếu bởi vì số lượng gene của một sinh vật nhiều hơn số lượng nhiễm sắc thể của nó rất nhiều. Tuy nhiên, trên thực tế, khi nói đến sự tương tác giữa các gene không allele là ta muốn nói tới sự tương tác giữa các gene không allele phân ly độc lập.

Lưu ý: (1) Số lượng các tính trạng hình thành nên một cơ thể sinh vật nói chung là nhiều hơn số lượng gene mã hóa protein có mặt trong bộ gene của nó. Chẳng hạn, theo ước tính gần đây cho thấy trong bộ gene người có khoảng 25.000 gene khác nhau trong khi có tới 50.000 loại protein thực hiện tất cả mọi hoạt động sống của các tế bào. (2) Như thế, sự biểu hiện của đa số tính trạng là kết quả của sự tương tác giữa nhiều gene khác nhau trong quá trình phát triển cá thể; và thực chất của sự tương tác đó là do sự tương tác giữa các sản phẩm hoạt động của các gen có bản chất protein hoặc giữa các sản phẩm sinh ra từ sự xúc tác của các enzyme. (3) Con đường chuyển hóa một chất cụ thể trong tế bào là một chuỗi gồm nhiều phản ứng sinh hóa nối tiếp nhau mà mỗi khâu phản ứng được xúc tác bởi một enzyme (chương 7). Ngay cả một enzyme hay protein có cấu trúc bậc bốn cũng gồm một số chuỗi polypeptide thuộc các gene khác nhau tạo nên (chương 6). (4) Để cho đơn giản, thông thường ta giải thích các kết quả tương tác bằng hai gene nhưng trên thực tế, có thể có nhiều hơn hai gene cùng quy định một tính trạng.

Dưới đây chúng ta xét ba kiểu tương tác gen chính: Tương tác bổ trợ, tương tác át chế và tương tác đa phân cộng gộp. Các ví dụ nêu ra dưới đây là những thí nghiệm kinh điển của di truyền học. Để hiểu được bản chất di truyền của các tính trạng đó, đặc biệt là các tính trạng màu sắc, chúng ta cố gắng làm sáng tỏ cơ chế sinh hóa của chúng trong khả năng có thể.

1. *Tương tác bổ trợ (complementary)*

Tương tác bổ trợ là trường hợp tương tác gene làm xuất hiện kiểu hình mới khi có mặt đồng thời các gene không allele trong một kiểu gene. Các gene bổ trợ có thể là gene trội hoặc gene lặn (ở trạng thái đồng hợp). Tương tác kiểu bổ trợ biểu hiện dưới nhiều dạng với các tỷ lệ kiểu hình F_2 khác nhau, như 9:3:3:1; 9:6:1; 9:7.

1.1. Tương tác bổ trợ với tỷ lệ 9:3:3:1

Ví dụ kinh điển cho trường hợp này là các thí nghiệm của W. Bateson và R.C. Punnett về sự di truyền hình dạng mào ở gà. Khi lai giữa các giống gà thuần chủng mào hình hoa hồng với mào đơn (còn gọi là mào hình lá) thu được F_1 toàn mào hoa hồng, và sau khi cho tạp giao F_1 thì ở F_2 có tỷ lệ phân ly 3 mào hoa hồng : 1 mào đơn. Tương tự, khi lai giữa các giống gà thuần chủng mào hình hạt đậu với mào đơn, F_1 gồm tất cả mào hạt đậu và F_2 phân ly 3 mào hạt đậu : 1 mào đơn. Nhưng khi lai giữa hai giống gà thuần chủng mào hoa hồng và mào hạt đậu, thì ở F_1 lại thu được tất cả có mào hình quả óc chó (hay hạt hồ đào) và tỷ lệ phân ly ở F_2 xấp xỉ 9 quả óc chó : 3 hình hoa hồng : 3 hình hạt đậu : 1 mào đơn (hình 2.6).

Giải thích: Các kết quả trong hai thí nghiệm đầu cho thấy các dạng mào hoa hồng và hạt đậu là trội so với dạng mào đơn. Kết quả sau cùng cho thấy F_2 có 16 kiểu tổ hợp với tỷ lệ ngang nhau, trong khi F_1 đồng nhất kiểu gen (vì bố mẹ thuần chủng); điều đó chứng tỏ F_1 đã cho 4 loại giao tử với tỷ lệ tương đương, nghĩa là dị hợp tử về hai cặp gene phân ly độc lập. Suy ra tính trạng này do hai gene khác nhau chi phối, nghĩa là tuân theo *quy luật tương tác gene*. Mặt khác, kiểu hình mới biểu hiện ở F_1 và khoảng 9/16 ở F_2 (ứng với sự có mặt của cả hai gene trội không allele) phải là kết quả của sự tương tác giữa các gene trội không allele theo *kiểu bổ trợ*.

Quy ước: Dựa vào tỷ lệ phân ly kiểu hình ở F_2 trong trường hợp hai gene phân ly độc lập và tên gọi các dạng mào theo tiếng Anh (rose: hoa hồng, pea: hạt đậu), ta có



óc chó: R-P-



hoa hồng: R-pp



hạt đậu: rrP-



mào đơn: rrpp

Hình 2.6 Các kiểu mào đặc trưng của các giống gà khác nhau và các kiểu gene tương ứng.

thể quy ước và kiểm chứng đơn giản như sau:

R-P-: mào hình quả óc chó (do bổ trợ giữa các gene trội R và P)

R-pp: mào hình hoa hồng (do biểu hiện của gene trội R)

rrP-: mào hình hạt đậu (do biểu hiện của gene trội P)

rrpp: mào đơn (do khuyết cả hai gene trội; kiểu đại)

Kiểm chứng:

P_{tc} mào hoa hồng (RRpp) × mào hạt đậu (rrPP)

F_1 mào quả óc chó (RrPp)

$$F_1 \times F_1 = RrPp \times RrPp = (Rr \times Rr)(Pp \times Pp)$$

$$\rightarrow F_2 = (3R-:1rr)(3P-:1pp) = 9 R-P- : 3 R-pp : 3 rrP- : 1 rrpp$$

$$= 9 \text{ óc chó} : 3 \text{ hoa hồng} : 3 \text{ hạt đậu} : 1 \text{ đơn}$$

Một ví dụ khác, đó là lai giữa hai giống chuột lông màu đen với màu vỏ quế (cinnamon) được F_1 toàn chuột lông màu xám (có dạng "muối tiêu" khi nhìn gần, còn gọi là *agouti*) và F_2 cho tỷ lệ 9 xám : 3 màu vỏ quế : 3 đen : 1 nâu. Bạn có thể giải thích cơ sở di truyền của trường hợp này?

1.2. Tương tác bổ trợ với tỷ lệ 9:7

Ví dụ: Thí nghiệm của Bateson và Punnett về sự di truyền màu sắc hoa ở cây đậu ngọt (*Lathyrus odoratus*). Từ phép lai giữa hai giống hoa trắng thuần chủng khác nhau, hai ông thu được F_1 gồm tất cả cây lai có hoa màu đỏ tía (purple). Khi cho các cây F_1 tự thụ phấn ở F_2 nhận được 382 hoa đỏ tía và 269 hoa trắng; kết quả này gần với tỷ lệ 9:7.

Giải thích: Với cách lập luận như trên, ta dễ dàng thấy rằng kiểu hình hoa đỏ tía là kết quả của sự tương tác bổ trợ giữa hai gene trội không allele phân ly độc lập. Trước khi đi vào giải thích cơ sở di truyền sinh hóa của các kiểu hình, ta hãy quy ước và kiểm chứng kết quả thí nghiệm trên.

Quy ước:

C-P- : hoa đỏ tía (do tác động bổ trợ giữa các gene trội C và P)

C-pp, ccP-, ccpp : hoa trắng (do không có mặt đầy đủ cả hai gene trội)

Kiểm chứng:

P_{tc} giống hoa trắng 1(CCpp) $\times$ giống hoa trắng 2(ccPP)

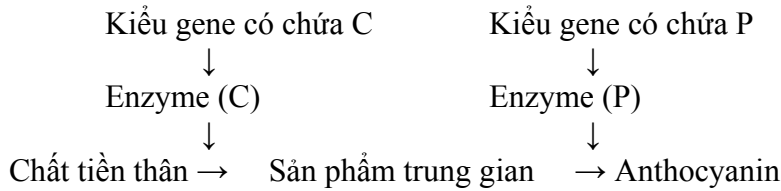
F_1 hoa đỏ tía (CcPp)

$$F_1 \times F_1 = CcPp \times CcPp = (Cc \times Cc)(Pp \times Pp)$$

$$\rightarrow F_2 = (3C-:1cc)(3P-:1pp) = 9 C-P- : (3 C-pp + 3 ccP- + 1 ccpp)$$

$$= 9 \text{ đỏ tía} : 7 \text{ trắng}$$

Bây giờ ta thử giải thích cơ sở sinh hóa của các kiểu hình. Sự hình thành màu hoa ở cây đậu ngọt là kết quả của sự tổng hợp một hợp chất gọi là *anthocyanin*; nó xảy ra thông qua một chuỗi các khâu chuyển hóa được xúc tác bởi các enzyme vốn là sản phẩm của các gene. Nếu như bất kỳ khâu nào trong quá trình tổng hợp này bị gián đoạn do vắng mặt của một enzyme hoạt động thì sự hình thành màu sắc không xảy ra. Mặc dù chi tiết chính xác của sự tổng hợp màu sắc ở cây đậu ngọt còn chưa rõ, nhưng có thể minh họa bằng mô hình tổng quát ở hình 2.7.



Hình 2.7 Sơ đồ minh họa mối quan hệ giữa các gene trội C và P trong quá trình hình thành sắc tố anthocyanin ở cây đậu ngọt.

Đối với các kiểu gene có chứa cả hai gene trội C và P (C-P-), có đầy đủ các enzyme cần thiết cho việc tạo ra anthocyanin và do vậy hoa có màu đỏ tía. Trong khi đó, kiểu gene chứa cc (ccP- hay ccpp), enzyme thứ nhất không được tạo ra hay không có hoạt tính; hậu quả là, phản ứng tạo sản phẩm trung gian không thực hiện được. Tương tự, kiểu gene chứa pp (C-pp hoặc ccpp) thì phản ứng thứ hai biến đổi chất trung gian thành anthocyanin bị dừng lại, vì thiếu hẳn một enzyme tương ứng. Nói cách khác, nếu như kiểu gen có mang cặp allele hoặc là cc hoặc là pp thì con đường tổng hợp bị gián đoạn và các sắc tố không được tạo ra, và kết quả là hoa màu trắng.

1.2. Tương tác bổ trợ với tỷ lệ 9:6:1

Ví dụ: Sự di truyền hình dạng quả ở bí ngô. Khi lai hai giống bí ngô thuần chủng quả tròn khác nguồn gốc với nhau, ở F_1 xuất hiện toàn dạng quả dẹt, và ở F_2 có sự phân ly kiểu hình xấp xỉ 9 dẹt : 6 tròn : 1 dài.

Giải thích: Kết quả này có thể được giải thích theo một trong hai cách sau: bổ trợ giữa các gene trội hoặc bổ trợ giữa các gene lặn. Để đơn giản, dưới đây ta giải thích theo cách đầu, dựa trên quy ước sau đây:

Quy ước: D-F- : quả dẹt (do tương tác bổ trợ giữa các gene D và F)

D-ff và ddF- : quả tròn (chỉ có một trong hai gene trội D, F)

ddff : quả dài (do khuyết đồng thời cả hai gene trội)

Kiểm chứng:

P_{tc} quả tròn-1 (DDff) × quả tròn-2 (ddFF)

F_1 quả dẹt (DdFf)

$F_1 \times F_1 = DdFf \times DdFf = (Dd \times Dd)(Ff \times Ff)$

→ $F_2 = (3D-:1dd)(3F-:1ff) = 9 D-F- : (3 D-ff + 3 ddF-) : 1 ddff$
 $= 9 \text{ quả dẹt} : 6 \text{ quả tròn} : 1 \text{ quả dài}$

2. Tương tác át chế (epistasis)

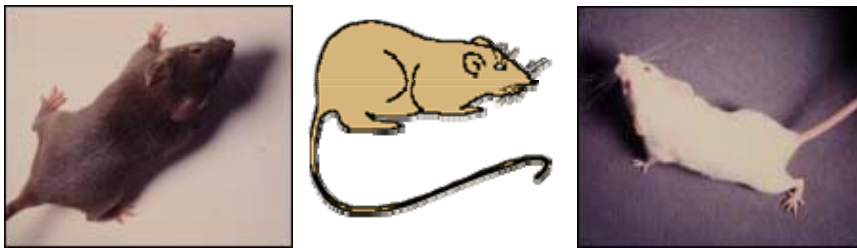
Tương tác át chế là hiện tượng một gene này kìm hãm sự biểu hiện của một gene khác không allele với nó. Gene át chế có thể là trội hoặc lặn.

2.1. Át chế do gene lặn với tỷ lệ 9:3:4

Ví dụ: Sự di truyền màu sắc lông ở chuột (hình 2.8). Khi lai giữa hai dòng chuột thuần chủng lông nâu và bạch tạng, ở F_1 xuất hiện toàn chuột lông đen; và khi cho các chuột F_1 tạp giao với nhau thì ở F_2 có sự phân ly gần với tỷ lệ 9 đen : 3 nâu : 4 bạch tạng. Để giải thích kết quả này, ta dựa vào biện luận như ở ví dụ đầu tiên (mục III-1.1) và quy ước sau đây:

Quy ước: B-C- : đen; bbC- : nâu; B-cc và bbcc : bạch tạng

Giải thích: Từ quy ước này, ta thấy rằng allele c khi ở trạng thái đồng hợp (cc) ức chế sự biểu hiện của B- và bb khiến cho các kiểu B-cc và bbcc không có sắc tố (bạch tạng, *albino*). Đối với hai kiểu hình còn lại có thể giải thích theo một trong hai cách sau: (1) Allele C là đột biến trội, nên mất khả năng át chế và bản thân nó không tạo màu; khi đó allele trội B quy định màu đen là trội so với allele b quy định màu nâu khi nó ở trạng thái đồng hợp; kết quả là B-C- có kiểu hình lông đen và bbC- cho kiểu hình lông nâu. Như thế ở đây không xảy ra sự tương tác hỗ trợ giữa các gene trội B và C. Cách lý giải này rõ ràng là hợp lý. (2) Allele C quy định màu nâu và B là gene tạo màu, trong khi bb không có khả năng đó. Do đó khi gene trội C (không có khả năng át chế) đứng riêng sẽ cho màu nâu; còn đứng chung với gene trội B sẽ cho hiệu quả hỗ trợ trội với kiểu hình màu đen. Rõ ràng cách giải thích này chỉ hợp lý trên hình thức khi cho rằng allele trội C xác định màu nâu.



Hình 2.8 Từ trái sang là các chuột agouti đen, agouti nâu và bạch tạng.

Kiểm chứng:

P_{tc} Chuột nâu (bbCC) × Chuột bạch tạng (BBcc)

F_1 Tất cả chuột đen (BbCc)

$F_1 \times F_1 = BbCc \times BbCc = (Bb \times Bb)(Cc \times Cc)$

→ $F_2 = (3B-:1bb)(3C-:1cc) = 9 B-C- : 3 bbC- : (3 B-cc + 1 bbcc)$
= 9 đen : 3 nâu : 4 bạch tạng

2.2. Át chế do gene trội với tỷ lệ 12:3:1

Ví dụ: Sự di truyền màu sắc lông ở ngựa. Khi lai giữa hai giống ngựa

thuần chủng lông xám và hung đỏ với nhau, ở F_1 thu được toàn ngựa lông xám. Sau khi cho tạp giao các ngựa F_1 thì ở F_2 có tỷ lệ kiểu hình xấp xỉ 12 xám : 3 đen : 1 hung đỏ.

Giải thích: Để giải thích kết quả này, ta quy ước: A-B- và A-bb : xám; aaB-: đen; và aabb: hung đỏ. Theo đó, allele trội B quy định màu đen là trội so với b- hung đỏ. Và sở dĩ A-B- và A-bb cho kiểu hình lông xám trong khi chúng có chứa B và bb, bởi vì gene trội A át chế các gene không allele và đồng thời nó còn có khả năng tạo màu xám, còn allele a không có cả hai khả năng đó. Điều này được thể hiện qua sơ đồ lai sau đây:

$$\begin{aligned}
 P_{tc} & \quad \text{Ngựa xám (AABB)} \times \text{Ngựa hung đỏ (aabb)} \\
 F_1 & \quad \text{Tất cả ngựa xám (AaBb)} \\
 F_1 \times F_1 & = \text{AaBb} \times \text{AaBb} = (\text{Aa} \times \text{Aa})(\text{Bb} \times \text{Bb}) \\
 \rightarrow F_2 & = (3\text{A-} : 1\text{aa})(3\text{B-} : 1\text{bb}) = (9 \text{A-B-} + 3 \text{A-bb}) : 3 \text{aaB-} : 1 \text{aabb} \\
 & = 12 \text{ xám} : 3 \text{ đen} : 1 \text{ hung đỏ}
 \end{aligned}$$

2.3. Át chế do gene trội với tỷ lệ 13:3

Ví dụ: Sự di truyền màu sắc lông ở gà. Khi lai giữa giống gà thuần chủng, gà Leghorn trắng với gà Wyandotte trắng, ở F_1 thu được toàn gà lông trắng. Sau khi cho tạp giao các cá thể F_1 , ở F_2 có tỷ lệ phân ly kiểu hình xấp xỉ 13 lông trắng (white): 3 lông có màu (colored).

Giải thích: Để giải thích kết quả này, ta quy ước: I-C-, I-cc và iicc : trắng; và iiC-: có màu. Theo đó, allele trội C - gene sản xuất chất tạo màu (*chromogen*) là trội so với allele c- không có khả năng tạo màu; và allele trội I (*inhibitor*) át chế gene không allele với nó và nó cũng không có khả năng tạo màu, còn allele i không có khả năng át chế lẫn tạo màu.

Sơ đồ lai:

$$\begin{aligned}
 P_{tc} & \quad \text{Gà Leghorn trắng (IICC)} \times \text{Gà Wyandotte trắng (iicc)} \\
 F_1 & \quad \text{Tất cả gà trắng (IiCc)} \\
 F_1 \times F_1 & = \text{IiCc} \times \text{IiCc} = (\text{Ii} \times \text{Ii})(\text{Cc} \times \text{Cc}) \\
 \rightarrow F_2 & = (3\text{I-} : 1\text{ii})(3\text{C-} : 1\text{cc}) = (9 \text{I-C-} + 3 \text{I-cc} + 1 \text{iicc}) : 3 \text{iiC-} \\
 & = 13 \text{ trắng} : 3 \text{ có màu}
 \end{aligned}$$

3. Tương tác cộng gộp - sự di truyền đa gene và các tính trạng số lượng

3.1. Tương tác cộng gộp (*additive*)

Tương tác cộng gộp hay sự di truyền *đa gene* (polygenic) là hiện tượng di truyền đặc trưng của một số *tính trạng số lượng* (quantitative trait), trong đó các gene không allele tác động cùng hướng lên sự biểu hiện của một tính trạng. Mỗi allele (thường là trội) của các gene đa phân như

thể đóng góp một phần ngang nhau trong sự biểu hiện ra kiểu hình ở một mức độ nhất định. Như vậy, liều lượng các allele tăng dần trong các kiểu gene sẽ tạo ra một dãy biến dị kiểu hình liên tục trong quần thể.

Ví dụ: Các thí nghiệm nổi tiếng năm 1909 của nhà di truyền học Thụy Điển (Sweden) Herman Nilsson-Ehle về sự di truyền màu sắc hạt lúa mì (hạt ở đây tức là phôi nhũ - kernel). Khi lai giữa các giống lúa mì thuần chủng hạt đỏ với hạt trắng, ở F_1 ông thu được toàn dạng trung gian có màu hồng; và tùy theo dạng hạt đỏ được sử dụng trong các thí nghiệm mà ở F_2 sẽ có các tỷ lệ phân ly giữa hạt có màu với hạt không màu (trắng) là 3:1, 15:1 hay 63:1. Kết quả phân tích cho thấy chúng do 2-3 gene đa phân chi phối. Sau đây ta hãy xét trường hợp F_2 với tỷ lệ 15 có màu : 1 không màu, hay cụ thể là 1 đỏ: 4 đỏ nhạt: 6 hồng: 4 hồng nhạt: 1 trắng.

Giải thích: Do F_2 có 16 kiểu tổ hợp với tỷ lệ tương đương trong khi F_1 đồng nhất kiểu gene, chứng tỏ F_1 cho 4 loại giao tử với tỷ lệ ngang nhau nghĩa là dị hợp tử về hai cặp gene phân ly độc lập. Ở đây, F_1 biểu hiện kiểu hình trung gian của hai bố mẹ và F_2 xuất hiện một dãy biến dị liên tục cùng hướng. Điều đó chứng tỏ tính trạng này tuân theo quy luật tác động cộng gộp hay đa phân tích lũy.

Quy ước: Vì allele cho màu đỏ là trội hơn allele cho màu trắng và mức độ biểu hiện của các hạt có màu ở F_2 tùy thuộc vào liều lượng các allele đỏ trong kiểu gene, nên người ta thường ký hiệu các gene không allele bằng các chỉ số 1,2...kèm theo các chữ cái in hoa (A) cho allele trội và chữ cái in thường (a) cho allele lặn, như sau: A_1, A_2 - đỏ; a_1, a_2 - trắng. Từ đây ta có thể dễ dàng xác định kiểu gen của F_1 ($A_1a_1A_2a_2$) và của bố mẹ P: đỏ ($A_1A_1A_2A_2$) và trắng ($a_1a_1a_2a_2$), và thiết lập sơ đồ lai ở hình 2.9.

P_{tc}	$A_1A_1A_2A_2$ (đỏ) $\times$ $a_1a_1a_2a_2$ (trắng)				
F_1	$A_1a_1A_2a_2$ (hồng)				
F_2					
Allele trội	4	3	2	1	0
Kiểu gen	$1A_1A_1A_2A_2$	$2A_1A_1A_2a_2$ $2A_1a_1A_2A_2$	$4A_1a_1A_2a_2$ $1A_1A_1a_2a_2$ $1a_1a_1A_2A_2$	$2A_1a_1a_2a_2$ $2a_1a_1A_2a_2$	$1a_1a_1a_2a_2$
Kiểu hình	đỏ	đỏ nhạt	hồng	hồng nhạt	trắng
Tỷ lệ	1/16	4/16	6/16	4/16	1/16

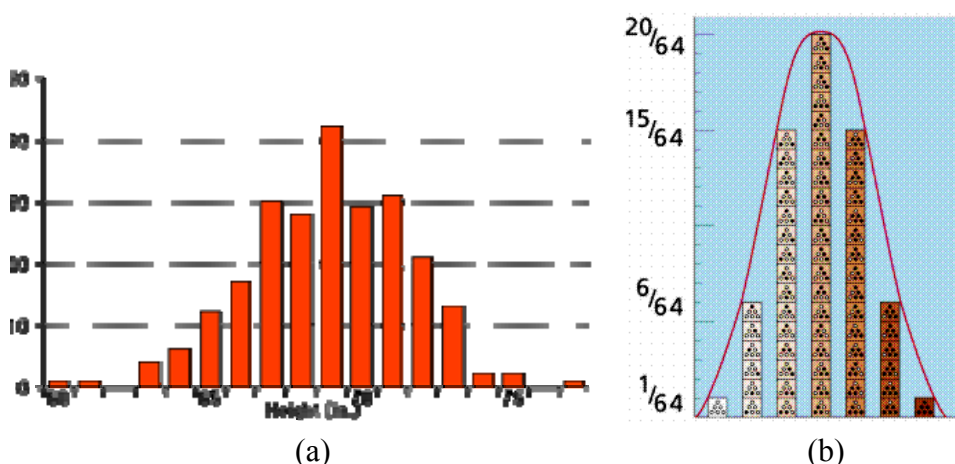
Hình 2.9 Một phép lai của lúa mì đỏ và trắng do hai gene chi phối, cho thấy mối tương quan giữa tỷ lệ của các kiểu hình F_2 và số allele trội.

Một ví dụ độc đáo khác là trường hợp di truyền số dãy hạt trên bắp ngô (xem trong *Di truyền học đại cương* - Dubinin 1981, tr.135-145).

Nhận xét: (1) Bằng cách vẽ một đồ thị biểu diễn mối quan hệ giữa số allele trội có mặt trong kiểu gen (trên trục hoành) và các tần số kiểu hình (trên trục tung) ở F_2 , ta sẽ thu được một đường cong phân bố chuẩn có dạng hình chuông, gọi là phân phối Gauss. Trong đó kiểu hình trung gian hay các kiểu gene chứa hai allele trội (tương ứng với trị trung bình) chiếm tỷ lệ cao nhất, còn các kiểu hình hoặc kiểu gene ở hai đầu mút tương ứng với các ngưỡng "cực đoan" bao giờ cũng chiếm tần số thấp nhất (xem Hình 2.10). (2) Đối với các tính trạng di truyền theo kiểu đa phân công gộp, các hệ số của tỷ lệ kiểu hình có thể xác định bằng cách dựa vào tam giác Pascal.

3.2. Tính trạng số lượng (*quantitative trait*)

Thông thường, các tính trạng có trị số kiểu hình liên quan đến kích thước, trọng lượng hay hình dạng... được xác định dựa trên *thang định lượng* (*quantitative scale*), được gọi là các tính trạng số lượng.



Hình 2.10 Mô hình đơn giản về (a) sự phân bố chiều cao ở người (đơn vị tính ở đây là inch, 1 in = 2,54 cm; trục tung chỉ số lượng); và (b) tương quan giữa các mức độ màu da (trục hoành) và các tỷ lệ trong quần thể (trục tung).

Nói chung, các tính trạng số lượng có các đặc điểm sau: Do nhiều gene quy định; chịu ảnh hưởng lớn của các điều kiện môi trường; và có sự phân bố kiểu hình liên tục trong một quần thể (hình 2.10), nhưng chúng cũng có thể xảy ra dưới dạng các lớp kiểu hình khác nhau, chẳng hạn như trong các ví dụ về dãy màu sắc hạt ở lúa mì hoặc số dãy hạt trên bắp ngô nói trên. Vì vậy, đối với các tính trạng này, không có một mối quan hệ chính xác giữa trị số kiểu hình và một kiểu gene cụ thể. Chẳng hạn, ở người, đó là các tính trạng về chiều cao, trọng lượng, hay *chỉ số thông minh* (intelligence quotient - IQ); ở cây lúa, lúa mì đó là số hạt trên mỗi bông,

số bông trên mỗi khóm...Tuy nhiên, trong những năm gần đây nhờ sử dụng các *chỉ thị phân tử* (molecular marker), người ta đã tiến hành lập bản đồ các gene có hiệu quả lớn lên các tính trạng đặc biệt (như các bệnh phức tạp ở người, năng suất cây trồng...) gọi là QTLs, tức các *locus tính trạng số lượng* (quantitative trait loci).

Để nghiên cứu sự biến đổi kiểu hình của các tính trạng số lượng, nhất thiết phải sử dụng các phương pháp của thống kê toán học. Chẳng hạn, phương pháp lấy mẫu sao cho hợp lý, nghĩa là mẫu phải đủ lớn, mang tính ngẫu nhiên và đại diện; việc xử lý số liệu đòi hỏi phải sử dụng một số đại lượng hay tham số thống kê cơ bản sau đây:

- *Trung bình cộng* (mean): $\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i$

- *Biến lượng* (variance): $v_x = \frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2$

- *Độ lệch chuẩn* (standard deviation) bằng căn bậc hai của biến lượng (hay phương sai mẫu).

Một số đại lượng khác, như *hệ số biến thiên* (coefficient of variation, Cv%), *hệ số tương quan* (r) v.v... có thể xem trong các giáo trình *Di truyền học số lượng* và *Thống kê liên quan* (Trần Văn Diễn và Tô Cẩm Tú 1995; Falconer 1983; Phan Hiếu Hiền 2001).

3.3. Mô hình các tính trạng số lượng

Để hiểu và xác định được tầm quan trọng của các tính trạng số lượng, ta cần phải xây dựng một mô hình cho phép chia cắt các trị số kiểu hình thành ra các thành phần di truyền và môi trường. Điều này có thể thực hiện theo cách đơn giản bằng cách biểu thị trị số kiểu hình (P: phenotype) cho một kiểu gene (i) trong một môi trường cụ thể (j) như sau:

$$P_{ij} = G_i + E_j$$

trong đó G_i là phần đóng góp về mặt di truyền của kiểu gene (genotype) i vào kiểu hình, và E_j là độ sai lệch do môi trường (environment) j. E_j có thể âm hoặc dương tùy thuộc vào sự tác động của môi trường j. Cần lưu ý rằng, trong nhiều trường hợp, các quần thể khác nhau có các trị số trung bình khác nhau; và thật khó mà xác định sự khác nhau đó là do các nhân tố di truyền, nhân tố môi trường, hay là sự kết hợp của cả hai gây ra.

Các kiểu gene khác nhau có thể tương tác một cách khác nhau với môi trường của chúng để tạo ra kiểu hình. Nếu như các mối tương tác đặc thù như thế xảy ra giữa các kiểu gene và các môi trường, khi đó ta có thể mở rộng mô hình cơ sở nói trên thành mô hình *tương tác kiểu gene-môi*

trường (genotype-environment interaction), với trị số kiểu hình là:

$$P_{ij} = G_i + E_j + GE_{ij}$$

trong đó GE_{ij} là số đo sự tương tác giữa kiểu gene i và môi trường j . Vì môi trường biến động nên sự tương tác đó có thể âm hoặc dương.

Nói chung, mô hình di truyền có thể được định nghĩa một cách chính xác hơn bằng cách phân chia trị số kiểu gene ra hai thành phần như sau:

$$G_i = A_i + D_i$$

trong đó A_i và D_i là các thành phần cộng gộp (additive) và trội (dominant). Nếu như thể dị hợp đúng là trung gian giữa các thành phần đồng hợp (như ở ví dụ về sự di truyền màu sắc hạt lúa mì nói trên), thì sự đóng góp của thành phần trội là zero; nghĩa là, toàn bộ thành phần di truyền là cộng gộp. Nói cách khác, nếu cho rằng sự tương tác kiểu gene-môi trường là không đáng kể, thì trị số kiểu hình có thể được biểu thị bằng:

$$P_{ij} = A_i + D_i + E_j$$

Như đã nói từ đầu, không có sự tương ứng chính xác giữa một kiểu gene với một kiểu hình đối với các tính trạng số lượng. Vì vậy, cách thực tế hơn để kiểm tra các tính trạng này là tách sự biến đổi trong một quần thể đối với một kiểu hình cụ thể thành ra hai phần, phần biến đổi do nhân tố di truyền gây ra và phần biến đổi do nhân tố môi trường gây ra. Khi đó phương sai hay *biến lượng kiểu hình* (phenotypic variance) sẽ là:

$$V_P = V_G + V_E$$

trong đó V_P , V_G và V_E tương ứng là các biến lượng của kiểu hình, di truyền và môi trường. Và theo cách làm ở trên, nếu ta tách các thành phần cộng gộp và trội để kiểm tra biến lượng kiểu hình, ta có:

$$V_P = (V_A + V_D) + V_E$$

trong đó V_A và V_D tương ứng là các biến lượng di truyền do các hiệu quả cộng gộp và trội. Nếu ta chia biểu thức này cho V_P , lúc đó ta thu được tỷ lệ của biến lượng kiểu hình do các thành phần khác nhau gây ra. Cụ thể là, tỷ số giữa biến lượng di truyền cộng gộp và biến lượng kiểu hình được coi là *hệ số di truyền* (h^2 ; heritability):

$$h^2 = V_A/V_P$$

Đại lượng hệ số di truyền này rất quan trọng trong việc xác định tốc độ và hàm lượng đáp ứng đối với sự *chọn lọc định hướng* (directional selection), tức chọn lọc đào thải các kiểu hình cực đoan, và nó thường được các nhà chọn giống động vật và thực vật ước tính trước khi bắt đầu một chương trình chọn lọc nhằm cải thiện năng suất hoặc các tính trạng khác.

3.3. Ước lượng hệ số di truyền (*heritability*)

Bây giờ ta thử tìm hiểu vấn đề ước lượng hệ số di truyền dựa trên hệ số tương quan của một số tính trạng ở các *cặp sinh đôi cùng trứng* (monozygotic twins) và sinh đôi *khác trứng* (dizygotic). Ta biết rằng những cặp sinh đôi giống hệt nhau (cùng trứng) thì có cùng kiểu gene; như vậy bất kỳ sự sai khác nào giữa chúng phải là kết quả của các nhân tố môi trường. Trên thực tế, các cặp sinh đôi giống hệt nhau là do sự chia xẻ cùng kiểu gene cũng như các điều kiện môi trường như nhau. Một cách để xác định mức độ tương đồng hay giống nhau là tính *hệ số tương quan r* (correlation) giữa các cá thể về các tính trạng khác nhau. Trị số cao nhất của hệ số r là 1, trong đó tất cả các cặp cá thể đều có cùng trị số kiểu hình như nhau. Nếu như các tính trạng là không có tương quan giữa các cặp cá thể thì $r = 0$. Một kết quả nghiên cứu về các hệ số tương quan của bốn tính trạng khác nhau ở các cặp sinh đôi cùng trứng (r_M) và các cặp sinh đôi khác trứng (r_D) nhưng cùng giới tính được cho ở bảng 2.3. Những sai khác giữa các trị số này phải là kết quả của sự tương đồng di truyền thấp hơn ở các cặp sinh đôi khác trứng vốn chia xẻ (tính bình quân) chỉ một nửa các gen của chúng nói chung. Công thức để tính hệ số di truyền như sau:

$$h^2 = 2(r_M - r_D)$$

trong đó r_M và r_D lần lượt là các hệ số tương quan giữa các cặp sinh đôi cùng trứng và khác trứng. Bằng cách sử dụng công thức này, ta tính được các hệ số di truyền cho bốn tính trạng ở bảng 2.3 biến thiên từ 0,98 đến 0,16. Qua đó cho thấy, hầu hết sự biến đổi các chỉ số IQ và trưởng thành về mặt xã hội dường như là do môi trường, trong khi hầu như sự biến đổi trong số lượng nếp vân tay và chiều cao dường như là do di truyền.

Bảng 2.3 Sự tương quan của bốn tính trạng giữa các cặp sinh đôi ở người

Tính trạng	Hệ số tương quan		Hệ số di truyền
	r_M	r_D	
Số lượng nếp vân tay	0,96	0,47	0,98
Chiều cao	0,90	0,57	0,66
Điểm IQ	0,83	0,66	0,34
Điểm trưởng thành xã hội	0,97	0,89	0,16

IV. Các mối quan hệ kiểu gene-kiểu hình

1. Thường biến và mức phản ứng

Đối với các tính trạng số lượng nói trên, sự biểu hiện ra kiểu hình của một kiểu gene nào đó rõ ràng là tùy thuộc của các nhân tố môi trường, tức là tùy thuộc tùy thuộc vào độ thâm nhập và độ biểu hiện của kiểu gene đó (như chúng ta sẽ xét dưới đây). Hay nói cách khác, kiểu hình là kết quả của sự tương tác giữa kiểu gene và môi trường.

Trong một tình huống lý tưởng, phạm vi tác dụng của môi trường lên một kiểu gene nào đó có thể xác định được bằng cách quan sát kiểu hình của các cá thể giống nhau về mặt di truyền được nuôi dưỡng chăm sóc trong các môi trường khác nhau. Ở người, các cặp sinh đôi cùng trứng được tách nuôi riêng lúc sơ sinh đã chứng minh cho một tình huống như vậy. Tuy nhiên, những chỉ dẫn tốt nhất về các tác dụng của môi trường bắt nguồn từ các nghiên cứu ở loài mà có thể nuôi trồng với số lượng lớn trên các môi trường được kiểm soát.

Thí dụ kinh điển cho nghiên cứu như vậy được J.Clausen và các cộng sự tiến hành trong thập niên 1940. Để xác định hiệu quả của môi trường lên các kiểu hình, các nhà nghiên cứu này đã trồng các *dòng* (clones), tức gồm các cá thể giống nhau về mặt di truyền, cắt theo các vĩ độ khác nhau. Chẳng hạn, họ đã thu thập loài thuộc họ hoa hồng là *Potentilla glandulosa* từ ba vùng: phạm vi ven bờ biển Thái Bình Dương ở vĩ độ 100 mét; vùng lưng chừng dãy núi Sierras ở vĩ độ 1.400 mét (ngọn Mather); và ở độ cao 3.040 mét của dãy Sierras (ngọn Timberline). Từ các mẫu này, họ tạo ra được các dòng bằng cách nhân giống sinh dưỡng và đem trồng ở ba vùng khác nhau đó. Nói khác đi, mỗi kiểu gene thu được từ một trong ba vùng đó được đưa trồng ở cả ba điều kiện môi trường (ứng với các vĩ độ) khác nhau. Từ thí nghiệm này cho thấy rằng dường như cả hai nhân tố di truyền và môi trường đều quan trọng trong việc xác định sự sinh trưởng của cây. Thí dụ, các kiểu gene vùng ven bờ sinh trưởng tốt ở cả vĩ độ thấp và trung bình nhưng không thể sống được ở vĩ độ cao. Điều đó chỉ ra tầm quan trọng của các nhân tố di truyền.

Cách thức mà kiểu hình thuộc một kiểu gene nào đó thay đổi theo môi trường của nó được gọi là *mức phản ứng* (norm of reaction). Các mức phản ứng có thể sai khác rất lớn trong số các kiểu gene đối với các tính trạng liên quan đến tập tính hay hành vi (behaviour). Dù cho đến nay ta không hề xem tập tính hay hành vi như là một kiểu hình, thế nhưng một số các gene đột biến có ảnh hưởng lên tập tính hay hành vi. Chẳng hạn, các cá thể bị bệnh PKU không được điều trị thì có các chỉ số IQ thấp hơn bình thường; IQ là một tính trạng có thể đo được bằng trắc nghiệm IQ.

Tóm lại, mối quan hệ giữa kiểu gene và kiểu hình là phức tạp, không dễ gì căn cứ vào kiểu hình để xác định kiểu gene. Mức phản ứng trên các môi trường khác nhau là một cách để định lượng mối quan hệ đó.

2. Độ thâm nhập (penetrance) và độ biểu hiện (expressivity)

Để đánh giá mức độ thể hiện ra kiểu hình của các kiểu gene như thế, năm 1925 Timofeev-Rissofsky đã nêu lên hai khái niệm: độ thâm nhập và độ biểu hiện của gene.

2.1. Độ thâm nhập (*penetrance*)

Trong các thí dụ đã xét trước đây, như bảy gene xác định bảy tính trạng ở đậu Hà Lan, các kiểu nhóm máu và nhiều bệnh di truyền ở người đều cho thấy một kiểu tuyệt đối chắc chắn. Tuy nhiên, đối với một số gene, thì một kiểu gene nào đó có thể hoặc không thể cho thấy một kiểu hình nào đó. Hiện tượng này được gọi là *độ thâm nhập* (*penetrance*) của một gene. *Mức độ thâm nhập* (level of penetrance) này có thể tính bằng tỷ lệ của các cá thể mang một kiểu gene nào đó bộc lộ ra một kiểu hình cụ thể. Khi tất cả các cá thể của một kiểu gene cụ thể có cùng kiểu hình như nhau, thì gene đó cho thấy độ thâm nhập hoàn toàn và mức độ thâm nhập này được coi là bằng 1. Mặt khác, gene được coi là thâm nhập không hoàn toàn và mức thâm nhập cụ thể có thể tính được. Chẳng hạn, trong số 160 cá thể thuộc một kiểu gene nào đó có 30 cá thể biểu hiện một kiểu hình bị bệnh, thì mức độ thâm nhập là $30/160 = 0,1875$; nghĩa là gene đó chỉ thể hiện ra được kiểu hình có 18,75%.

Như vậy sự có mặt của độ thâm nhập không hoàn toàn tại một gene có thể khiến cho một kiểu hình tính trạng trội (giả sử kiểu gene là Aa) bị ngắt quãng một thế hệ trong một phả hệ, rồi lại xuất hiện trở lại ở thế hệ tiếp theo. Đó là do allele trội thâm nhập không hoàn toàn. Chẳng hạn, dạng trội của nguyên bào lưới (retinoblastoma), một bệnh gây các u ác tính ở mắt trẻ em, chỉ thâm nhập khoảng 90%.

2.2. Độ biểu hiện (*expressivity*)

Ngoài ra, một kiểu gen cụ thể nào đó bộc lộ ra kiểu hình kỳ vọng, tức *mức độ biểu hiện* (level of expression) hay *độ biểu hiện* (*expressivity*), có thể sai khác đi. Chẳng hạn, mặc dù một gene gây ra một bệnh có thể phát hiện được ở hầu hết các cá thể mang một kiểu gene nào đó, nhưng một số cá thể có thể bị ảnh hưởng nặng hơn các cá thể khác.

Bệnh Huntington ở người là một tính trạng cho thấy độ biểu hiện biến thiên sai khác theo độ tuổi phát bệnh. Bệnh này nói chung xảy ra ở độ tuổi bắt đầu trung niên, với tuổi trung bình bắt đầu phát bệnh là trên 30 tuổi, nhưng đôi khi có thể xảy ra rất sớm ở tuổi chưa lên 10 hoặc ở một người già hơn. Một số người mang kiểu gene bệnh này chết vì những nguyên nhân khác trước khi bệnh biểu hiện, do độ thâm nhập không hoàn toàn cũng như độ biểu hiện biến thiên đối với gene đó gây ra.

2.3. Các nhân tố môi trường và các gene khác

2.3.1. Môi trường và các gene gây chết có điều kiện

Vấn đề đặt ra là cái gì là nguyên nhân của độ thâm nhập không hoàn toàn và độ biểu hiện sai khác? Trong một số trường hợp cụ thể, thường thì

không thể xác định được nguyên nhân, nhưng cả môi trường và các gen khác cũng được coi là có ảnh hưởng lên độ thâm nhập và độ biểu hiện của một gene. Ví dụ, ở ruồi giấm, các allele của một số gene tác động lên sức sống và có thể gây chết ở nhiệt độ tăng cao trên 28°C nhưng lại ảnh hưởng chút ít hoặc không ảnh hưởng ở nhiệt độ thấp hơn. Các gene như thế gọi là các *gene gây chết có điều kiện* (conditional lethals); nói chung chúng cho thấy các hiệu quả gây chết trong các tình huống môi trường cực đoan.

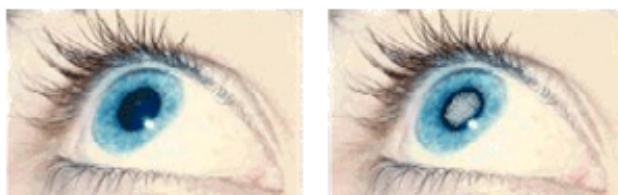
Nhiệt độ cũng có thể ảnh hưởng mạnh mẽ lên kiểu hình của các thực vật. Chẳng hạn, cây anh thảo có hoa đỏ khi trồng ở 24°C nhưng lại có hoa trắng khi trồng ở nhiệt độ trên 32°C. Ở mèo Xiêm (Thái Lan) và thỏ Himalaya, màu sắc bộ lông của chúng tối sẫm hơn ở chân, tai và mũi tại vì thân nhiệt ở các bộ phận xa nhất của cơ thể này tỏ ra thấp hơn. Nếu như để chúng ở nhiệt



Hình 2.11 Màu lông của mèo Xiêm tối sẫm ở các vùng chân, tai và mũi. độ ẩm áp hơn, thì sự sinh trưởng lớp lông mới tại các điểm này sẽ cho màu sáng nhạt (hình 2.11).

2.3.2. Các gene sửa đổi (*modifier or modifying genes*)

Nói chung, mức độ biểu hiện của một tính trạng giữa các cá thể có quan hệ họ hàng thường giống nhau hơn là giữa các cá thể không có quan hệ họ hàng, khi cả hai nhóm cá thể đó được nuôi dưỡng chăm sóc trong những môi trường gần giống như nhau. Các gen có ảnh hưởng thứ cấp lên một tính trạng như thế gọi là các *gene sửa đổi* (modifier genes) và chúng có thể gây ảnh hưởng lên kiểu hình một cách đáng kể. Nói cách khác, các gene sửa đổi là những gene gây biến đổi các gene khác trong khi chúng biểu hiện ra kiểu hình.



Hình 2.12 Thủy tinh thể bình thường (trái) và bệnh đục thủy tinh thể (phải) do một gen trội gây ra có tác động của gene sửa đổi.

Ở nhiều động vật, allele pha loãng (dilute allele) vốn làm giảm cường độ hình thành sắc tố (như từ màu đen sang màu xám ở chuột nhà) khi ở

trạng thái đồng hợp là một ví dụ về gene sửa đổi. Mức độ của hiện tượng không đuôi ở các mèo Manx biến thiên từ không có các đốt sống đuôi cho đến có một ít đốt sống đuôi dính liền nhau, hình như là do ảnh hưởng của các gene sửa đổi lên sự biểu hiện của thể đột biến trội này. Ở người, đó là trường hợp một gene trội gây đục thủy tinh thể (hình 2.12). Gene này gây ra những mức độ suy yếu thị lực khác nhau tùy thuộc vào sự có mặt của một allele đặc thù về một gene sửa đổi đi cùng.

2.3.3. Hiện tượng sao hình (*phenocopy*)

Một hiện tượng liên quan gọi là *sao hình* (*phenocopy*), xảy ra khi các nhân tố môi trường gây ra một kiểu hình cụ thể mà thông thường được xác định về mặt di truyền. Trong trường hợp này, một môi trường cực đoan có thể làm gián đoạn sự phát triển bình thường bằng một kiểu tựa như của một gene đột biến. Một trường hợp thảm thương xảy ra ở các nước Tây Âu vào cuối thập niên 1950 và đầu thập niên 1960 khi một số lượng các cháu bé sinh ra có tứ chi bị ngắn đi một cách kinh khủng. Hiện tượng bất thường này giống với một dạng rối loạn di truyền lặn. Chỉ sau khi có một cuộc nghiên cứu rộng rãi người ta mới hay rằng dạng khuyết tật đó được gây ra về mặt môi trường bởi sự bổ sung thalidomide vào bào chế viên thuốc ngủ mà các bà mẹ của các cháu bé bị bệnh đã uống trong suốt thời kỳ đầu mang thai.

Câu hỏi và Bài tập

1. Hãy chỉ ra các mối quan hệ giữa gene và tính trạng. Phân biệt các kiểu tương tác giữa các gene không allele lên sự hình thành một tính trạng.
2. Đặc trưng của các tính trạng số lượng là gì? Phân biệt các cặp khái niệm sau: tính trạng số lượng và tính trạng chất lượng, độ thâm nhập và độ biểu hiện, tương tác giữa các gene allele và các gene không allele.
3. Một phụ nữ nhóm máu M có một đứa con mang nhóm máu MN. Bà ta nói rằng một người đàn ông nào đó có nhóm máu MN là bố của nó, và ông ấy tuyên bố không phải như vậy. (a) Với thông tin đó, bạn có thể loại trừ người đàn ông này với tư cách người bố không? (b) Việc nghiên cứu xa hơn cho thấy người đàn bà này mang nhóm máu B, đứa con máu O, và người đàn ông kia nhóm máu AB. Với thông tin này, có thể gạt người đàn ông kia ra khỏi tư cách người bố hay không? Tại sao?
4. Ở cú mèo, các phép lai giữa các cá thể lông đỏ và bạc đôi khi sinh ra tất cả lông đỏ; đôi khi $\frac{1}{2}$ đỏ: $\frac{1}{2}$ bạc; và đôi lúc là $\frac{1}{2}$ đỏ: $\frac{1}{4}$ trắng: $\frac{1}{4}$ bạc. Các phép lai giữa hai con lông đỏ sinh ra hoặc là toàn bộ đỏ; hoặc $\frac{3}{4}$ đỏ: $\frac{1}{4}$ trắng; hoặc $\frac{3}{4}$ đỏ: $\frac{1}{4}$ bạc. Hãy xác định phương thức di truyền của tính

trạng này và kiểu gene của các cá thể khác nhau tham gia vào các phép lai.

5. Ở thỏ, màu sắc lông do bốn allele của một gene đơn kiểm soát. Thứ tự trội của các allele như sau: C- xám > c^a - sọc len > c^b - Himalaya > c - bạch tạng. Ngoài ra, các kiểu gene $c^a c^b$ và $c^a c$ đều cho màu xám nhạt.

Kết quả lai giữa một thỏ xám với ba con thỏ khác như sau:

<u>Phép lai</u>	<u>Đời con</u>
Xám × sọc len	6 xám, 5 xám nhạt
Xám × xám nhạt	8 xám, 3 xám nhạt, 4 himalaya
Xám × bạch tạng	9 xám, 8 himalaya

Hãy chỉ ra phương thức di truyền và kiểu gene của các thỏ bố mẹ.

6. Các màu sắc của một loài thực vật có thể là đỏ, hồng hoặc trắng. Từ kết quả dưới đây, hãy biện luận để xác định phương thức di truyền của tính trạng màu hoa và chỉ ra các kiểu gene của các giống đem lai.

<u>Phép lai</u>	<u>Đời con</u>
Đỏ -1 × Hồng	$\frac{2}{3}$ đỏ : $\frac{1}{3}$ hồng
Đỏ -1 × Trắng	$\frac{1}{2}$ đỏ : $\frac{1}{2}$ hồng
Đỏ -2 × Hồng	$\frac{1}{2}$ đỏ : $\frac{1}{4}$ hồng : $\frac{1}{4}$ trắng
Đỏ -3 × Hồng	Tất cả đỏ
Đỏ -3 × Trắng	Tất cả đỏ

7. Màu tóc người gồm có năm sắc độ: vàng, nâu nhạt, nâu vừa, nâu thẫm và đen. Các phép lai giữa các màu tóc khác nhau cho kết quả sau:

- (1) vàng × vàng → tất cả vàng;
- (2) đen × đen → tất cả đen;
- (3) vàng × nâu vừa → tất cả nâu nhạt; hoặc $\frac{1}{2}$ vàng : $\frac{1}{2}$ nâu vừa;
- (4) nâu vừa × nâu vừa → tất cả nâu vừa; hoặc $\frac{1}{2}$ nâu thẫm : $\frac{1}{2}$ nâu nhạt; hoặc $\frac{1}{2}$ nâu vừa : $\frac{1}{4}$ đen : $\frac{1}{4}$ vàng.

Hãy xác định kiểu gene của năm màu tóc, và cho biết: (a) Nếu lai giữa nâu nhạt và nâu thẫm, tỷ lệ kỳ vọng kiểu hình sinh ra như thế nào?

8. Ở chuột, bất kỳ cá thể nào có cc là bạch tạng (albino). Hai cặp allele khác, A/a và B/b, khi có mặt allele C sẽ cho màu xám, đen, nâu vàng và nâu sẫm. Bốn dòng thuần chủng bạch tạng khác nhau về kiểu gene được cho giao phối với các con lông xám thuần chủng (AABBCC). Tất cả chuột các đời F₁ đều màu xám. Sau đó các chuột F₁ từ mỗi phép lai được cho giao phối giữa chúng với nhau, và kết quả các đời F₂ như sau đây. Hãy xác định kiểu gene mỗi dòng bạch tạng.

Dòng albino	Xám	Đen	Nâu vàng	Nâu sẫm	Bạch tạng
1	44	0	16	0	20
2	31	0	0	0	9
3	48	15	0	0	21
4	145	43	46	15	82

9. Ở một loài thực vật, khi lai giữa một dòng hoa đỏ tía thuần chủng và ba dòng hoa trắng thuần chủng khác nhau với kết quả cho như sau:

	Phép lai 1	Phép lai 2	Phép lai 3
P	Đỏ tía × trắng-1	Đỏ tía × trắng-2	Đỏ tía × trắng-3
F ₁	18 đỏ tía	17 đỏ tía	19 đỏ tía
F ₂	95 đỏ tía 31 trắng	80 đỏ tía 36 trắng 28 đỏ	54 đỏ tía 32 trắng 19 đỏ 17 xanh da trời 6 nâu

Hãy biện luận và xác định: (a) kiểu gene của bốn giống hoa bố mẹ; (b) tỷ lệ kiểu hình của đời con nếu F₁ của phép lai 2 được lai với trắng-2; (c) tỷ lệ kiểu hình của đời con nếu F₁ từ phép lai 3 được cho lai với trắng-3.

10. Khi lai hai giống ngô thuần chủng có 20 dãy hạt và 8 dãy hạt, tất cả bắp ngô F₁ đều có 14 dãy hạt, và ở F₂ có bảy kiểu hình khác nhau: 20, 18, 16, 14, 12, 10 và 8 (dãy hạt) với số lượng thống kê tương ứng là 40 : 245 : 594 : 793 : 603 : 236 : 38 (bắp ngô). Phương thức di truyền của tính trạng nói trên là gì? Giải thích, trình bày sơ đồ lai và minh họa kết quả F₂ bằng một đồ thị. Bạn thử rút ra quy luật chung về sự di truyền của loại tính trạng này và chỉ ra cách xác định tỷ lệ kiểu hình kỳ vọng ở F₂ đối với trường hợp một tính trạng được kiểm soát bởi n locus độc lập.

Tài liệu Tham khảo

Tiếng Việt

Trần Văn Diễn và Tô Cẩm Tú. 1995. *Di truyền số lượng* (Giáo trình cao học Nông nghiệp). NXB Nông Nghiệp, Hà Nội.

Dubin NP. 1981. *Di truyền học đại cương* (bản dịch của Trần đình Miên và Phan Cự Nhân). NXB Nông Nghiệp, Hà Nội.

Hutt FB. 1964. *Di truyền học động vật*. (Bản dịch của Phan Cự Nhân). NXB Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội, 1978.

Phan Hiếu Hiền. 2001. *Phương pháp bố trí thí nghiệm và xử lý số liệu (Thống kê thực nghiệm)*. NXB Nông Nghiệp Tp.Hồ Chí Minh.

Phan Cự Nhân (chủ biên), Nguyễn Minh Công, Đặng Hữu Lan. 1999. *Di truyền học*. NXB Giáo Dục, Hà Nội.

Tiếng Anh

Boon WH. 1984. *Genes and the IQ*. PG Publishing Pte Ltd, Singapore-Hong Kong-New Dehli.

Campbell NA, Reece JB. 2001. *Essential Biology*. Benjamin/Cummings, an imprint of Addison Wesley Longman, Inc, San Francisco, CA.

Clegg CJ, Mackean DG. 2000. *Advanced Biology: Principles and Applications*. 2nd ed, John Murray Published Ltd, London.

Falconer DS. 1983. *Introduction to Quantitative Genetics*. 2nd ed., Longman, London and New York.

Hartl DL, Freifelder D, Snyder LA. 1988. *Basic Genetics*. Jones and Bartlett Publishers, Inc, Boston - Portola Valley.

Suzuki DT, Griffiths AJF, Miller JH, Lewontin RC. 1989. *An Introduction to Genetic Analysis*. 4th ed, W-H Freeman and Company, New York.

Weaver RF, Hedrick PW. 1997. *Genetics*. 3rd ed, McGraw-Hill Companies, Inc. Wm.C.Brown Publishers, Dubuque, IA.

Wellnitz WR. 1995. *Genetics: Problem Solving Guide*. 2nd ed., Wm.C. Brown Publishers. Dubuque, Iowa.

Một số trang web

<http://www.biology.about.com/library/weekly/aa122602a.htm>

<http://gslc.genetics.utah.edu/units/basis/>

<http://mhhe.com/lewisgenetics5>

<http://www.goodnet.com/nee72478/enable/hotline.htm>

<http://www.cff.org>

<http://consensus.nih.gov>

Chương 3

Cơ sở Tế bào của sự Sinh sản, Di truyền và Biến dị

Như chúng ta đều biết, các khám phá của Mendel và những nghiên cứu về cấu trúc tế bào trong nửa cuối thế kỷ XIX vẫn còn chưa có sự gắn kết với nhau. Vào năm 1902, Walter Sutton (USA) và Theodor Boveri (Germany), dựa trên tập tính tương tự của các gene và *nhễm sắc thể* (chromosome) trong quá trình giảm phân đã gợi ý rằng các gene có lẽ nằm trên các nhiễm sắc thể. Sutton nhận định: "Cuối cùng, tôi xin lưu ý rằng xác suất kết hợp của các nhiễm sắc thể bố và mẹ theo các cặp và phân ly sau đó trong sự phân chia giảm nhiễm... tạo thành cơ sở vật lý cho các quy luật di truyền Mendel". Ngày nay, điều ấy quá hiển nhiên. Nhưng vào thời đó nhận định này hết sức quan trọng; nó tạo ra sự kết nối chặt chẽ giữa di truyền học và tế bào học, hình thành nên lĩnh vực mới gọi là di truyền học tế bào với sự ra đời của thuyết di truyền nhiễm sắc thể.

Trong chương này, chúng ta sẽ tìm hiểu các nhiễm sắc thể có hình thái đặc trưng như thế nào; bằng cách nào số lượng nhiễm sắc thể được duy trì ổn định trong quá trình nguyên phân, nhưng lại giảm đi một nửa trong quá trình giảm phân; và các kiểu biến đổi về cấu trúc và số lượng nhiễm sắc thể (đột biến nhiễm sắc thể).

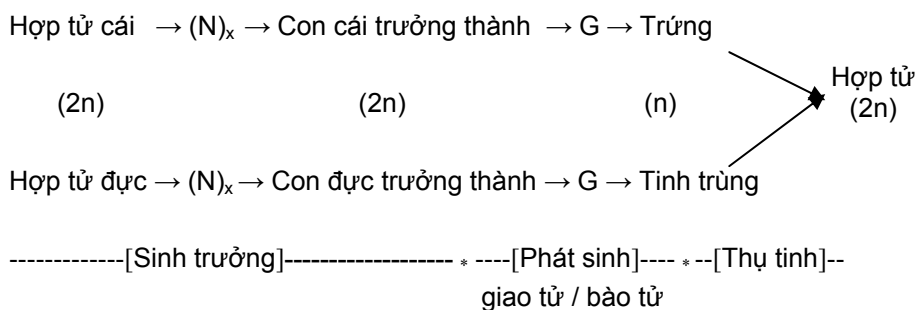
I. Sinh sản hữu tính và tính ổn định của bộ nhiễm sắc thể

Trước tiên, ta đề cập chủ yếu phương thức sinh sản hữu tính ở eukaryote và mối liên quan giữa nó với sự ổn định về số lượng nhiễm sắc thể đặc trưng của mỗi loài. Thực ra, các eukaryote có hai kiểu sinh sản chính, vô tính và hữu tính.

Sự *sinh sản vô tính* (asexual reproduction) xảy ra khi một cá thể đơn độc tạo ra một cá thể mới giống nó; đây là phương thức sinh sản phổ biến ở thực vật và các động vật đơn giản. Sự *trình sinh* (parthenogenesis) ở rệp cái chẳng hạn là một trường hợp đặc biệt, cũng sinh con nhưng không qua thụ tinh. Nói chung, con cái sinh ra bằng cách này thì giống với bố mẹ về mặt di truyền.

Sự *sinh sản hữu tính* (sexual reproduction) xảy ra khi các cá thể tạo ra các tế bào sinh dục đực và cái, hay các *giao tử* (gametes), đến lượt chúng kết hợp với nhau tạo thành một tế bào trứng được thụ tinh gọi là *hợp tử* (zygote), tức một tế bào hoàn chỉnh mà từ đó phát triển thành một cá thể mới. Hình thức sinh sản này xảy ra ở hầu như toàn bộ các kiểu sinh vật, kể

cả các động vật đơn giản nhất như con sum (*Balanus*) chẳng hạn, các thực vật, và thậm chí cả vi khuẩn. Ở vi khuẩn, có các kiểu trao đổi thông tin di truyền như tiếp hợp, biến nạp và tải nạp được gọi là *sinh sản cận tính* (parasexual; vấn đề này được trình bày riêng trong giáo trình *Di truyền Vi sinh vật và Ứng dụng*). Thông thường thì các giao tử đực và cái bắt nguồn từ các cá thể khác nhau, cho nên đời con sinh ra khác với bố mẹ chúng về nhiều chi tiết. Đây là nội dung chính mà chương này sẽ tập trung thảo luận. Còn sự tự thụ tinh được xem là trường hợp ngoại lệ quan trọng của sinh sản hữu tính (xem chương 12).



Hình 3.1 Sơ đồ tổng quát về sinh trưởng và sinh sản ở sinh vật hữu tính.

Ở đây cho thấy số lượng nhiễm sắc thể lưỡng bội ($2n$) và đơn bội (n) tương ứng với các giai đoạn khác nhau (hàng dưới cùng). Ký hiệu $(N)_x$ biểu thị nhiều lần nguyên phân, và G - giảm phân.

Sơ đồ tổng quát về sự sinh trưởng và sinh sản của sinh vật sinh sản hữu tính được trình bày ở hình 3.1. Trên nguyên tắc, mỗi hợp tử nhân được hai bộ nhiễm sắc thể *đơn bội* (haploid) ký hiệu là n , một từ giao tử đực và một từ giao tử cái; nên số lượng nhiễm sắc thể trong hợp tử là *lưỡng bội* (diploid), tức $2n$ đặc trưng và ổn định cho loài. Mỗi bộ đơn bội chứa n nhiễm sắc thể khác nhau, mỗi chiếc hay kiểu nhiễm sắc thể chỉ có mặt một lần và chứa các gene khác nhau. Tập hợp toàn bộ các gene trong một bộ nhiễm sắc thể đơn bội như thế được gọi là *bộ gene* (genome). Như vậy, trong bộ lưỡng bội đặc trưng của các tế bào soma, các nhiễm sắc thể tồn tại theo từng cặp gồm hai chiếc giống nhau về hình dạng, kích thước và trật tự phân bố các gene - một có nguồn gốc từ bố và một từ mẹ - gọi là các *nhiễm sắc thể tương đồng* (homologous chromosomes).

Ở sinh vật đa bào, hợp tử tăng số lượng tế bào nhờ quá trình *nguyên phân* (mitosis), là kiểu phân chia tế bào tạo ra các tế bào con có số lượng nhiễm sắc thể $2n$ được giữ nguyên. Khi cơ thể đạt tới độ thành thục sinh dục, một số tế bào của cơ quan sinh sản trải qua *giảm phân* (meiosis), tức kiểu phân chia tế bào tạo ra các giao tử có số lượng nhiễm sắc thể giảm đi

một nửa (n). Quá trình này được gọi là *phát sinh giao tử* (gametogenesis) ở động vật và *phát sinh bào tử* (sporogenesis) ở thực vật. Sau đó, trong quá trình *thụ tinh* (fertilization), các giao tử cái hay *trứng* (egg) và giao tử đực hay *tinh trùng* (sperm) hợp nhất với nhau tạo thành các hợp tử đời con. Các hợp tử mới này lại bắt đầu đi vào một chu kỳ sinh trưởng và sinh sản y hệt như vậy.

Bảng 3.1 Số lượng nhiễm sắc thể $2n$ của các tế bào soma ở một số loài

Loài động vật	$2n$	Loài thực vật	$2n$
Người (<i>Homo sapiens</i>)	46	Đậu Hà Lan (<i>Pisum sativum</i>)	14
Chimpanzee (<i>Pan troglodites</i>)	48	Ngô (<i>Zea mays</i>)	20
Bò (<i>Bos taurus</i>)	60	Lúa gạo (<i>Oryza sativa</i>)	24
Ngựa (<i>Equus caballus</i>)	64	Lúa mạch (<i>Secal cereale</i>)	14
Lừa (<i>Equus asinus</i>)	62	Lúa mỳ (<i>Triticum durum</i>)	28
Chó (<i>Canis familiaris</i>)	78	Lúa mỳ (<i>Triticum vulgare</i>)	42
Mèo (<i>Felis catus</i>)	38	Khoai tây (<i>Solanum tuberosum</i>)	48
Chuột nhắt (<i>Mus domesticus</i>)	40	Thuốc lá (<i>Nicotiana tabacum</i>)	48
Gà (<i>Gallus domesticus</i>)	~78	Loa kèn (<i>Lilium longiflorum</i>)	12
Ếch cụt (<i>Rana pipiens</i>)	26	Mận (<i>Prunus domestica</i>)	48
Cá chép (<i>Cyprinus carpio</i>)	104	Bông (<i>Gossypium hirsutum</i>)	52
Ruồi giấm (<i>D. melanogaster</i>)	8	Hướng dương (<i>Helianthus annuus</i>)	34

Mỗi loài có một số lượng nhiễm sắc thể đặc trưng; nghĩa là tất cả các cá thể của cùng một loài thì có số lượng nhiễm sắc thể như nhau. Số lượng nhiễm sắc thể này ở hầu hết các loài động-thực vật là lưỡng bội ($2n$) được giới thiệu ở bảng 3.1, và ở một số loài là đơn bội (n) - theo nghĩa có pha đơn bội là chính - như các nấm mốc bánh mỳ hồng (*Neurospora crassa*, $n = 7$), mốc bánh mỳ đen (*Aspergillus nidulans*, $n = 8$), nấm men bia (*Saccharomyces cerevisiae*, $n = 17$)...Rõ ràng là số lượng nhiễm sắc thể không tương ứng với nấc thang tiến hóa của các loài. Tuy nhiên, ta có thể thấy các loài có quan hệ họ hàng gần nhau như người và chimpanzee hay ngựa và lừa thì có số lượng nhiễm sắc thể gần bằng nhau. Cũng cần lưu ý rằng, ở một số loài thuộc bộ cánh màng Hymenoptera như ong mật (*Apis mellifera*) chẳng hạn, con cái là $2n = 32$ và con đực là $n = 16$. Đối với các sinh vật này người ta dùng thuật ngữ là *đơn-lưỡng bội* (haplodiploid). Ở một số loài động-thực vật như ngô, lúa mạch đen... bên cạnh các nhiễm sắc thể chuẩn của bộ nhiễm sắc thể bình thường (gọi là các nhiễm sắc thể A), còn có thêm một vài nhiễm sắc thể rất bé vốn sai khác giữa các cá thể, gọi là các *nhiễm sắc thể thừa số* (supernumerary chromosomes) hay nhiễm

sắc thể *B*, để phân biệt với các nhiễm sắc thể *A*. Các nhiễm sắc thể này được coi là không chứa các gen quan trọng, mặc dù trong một vài trường hợp chúng ảnh hưởng lên độ hữu thụ. Ở đa số loài thuộc lớp chim (*Aves*), bộ nhiễm sắc thể chứa các nhiễm sắc thể rất nhỏ gọi là các *vi nhiễm sắc thể* (microchromosomes) và thường có số lượng lớn.

II. Hình thái học nhiễm sắc thể eukaryote

Để tìm hiểu sâu hơn về cấu trúc và chức năng của các nhiễm sắc thể, ta cần phải phân biệt giữa các nhiễm sắc thể khác nhau về các điểm sau đây.

1. Kích thước nhiễm sắc thể

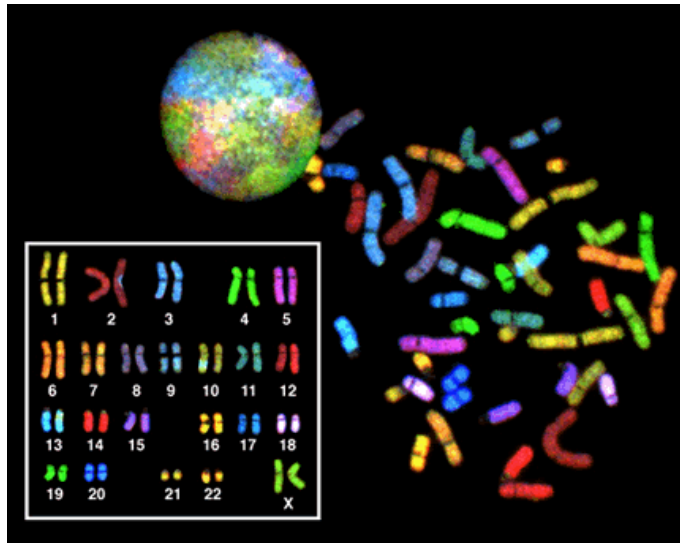
Kích thước các nhiễm sắc thể sai khác nhau rất lớn. Giữa các loài khác nhau sự sai khác này có thể lên tới hơn 100 lần, trong khi một số nhiễm sắc thể trong một loài có kích thước hơn kém nhau khoảng 10 lần.



Hình 3.2 (a) Bộ nhiễm sắc thể được xử lý bằng thuốc nhuộm phổ biến Giemsa; và (b) xác định các đặc điểm của một nhiễm sắc thể.

Để mô tả bộ nhiễm sắc thể của một loài và xác định các nhiễm sắc thể của nó, cần phải thiết lập *kiểu nhân* (karyotype) và sử dụng một hệ thống các quy ước dựa trên kích thước của chúng, vị trí tâm động, và các kiểu băng (các hình 3.2 và 3.5). Theo truyền thống, người ta sử dụng kỹ thuật hiện băng (ví dụ băng G ở hình 3.2; xem thêm mục 3) và chụp ảnh các nhiễm sắc thể ở kỳ giữa của nguyên phân, gọi là phương pháp kỳ giữa. Sau đó phóng đại ảnh, cắt rời từng chiếc (gồm hai chromatid chị em) và sắp thành từng cặp tương đồng (vai ngắn quay lên trên và vai dài hướng xuống dưới), rồi xếp theo thứ tự nhỏ dần về kích thước và đánh số từ lớn nhất đến nhỏ nhất. Chẳng hạn, đối với người (xem các hình 3.3 và 3.5): (i) các nhiễm sắc thể không phải giới tính gọi là *nhiễm sắc thể thường* (autosome) được đánh số từ 1 đến 22 trên cơ sở chiều dài, còn các nhiễm sắc thể giới tính X và Y được tách riêng. (ii) Vai ngắn của nhiễm sắc thể được biểu thị bằng p và vai dài bằng q dựa trên vị trí của tâm động. (iii) mỗi vai trước tiên được chia thành các vùng và sau đó được xác định bằng các băng. Ví dụ, ký hiệu 9q34 có nghĩa là vai dài của nhiễm sắc thể số 9,

vùng 3, và băng 4. Đây là nơi khu trú của gene xác định hệ nhóm máu ABO.



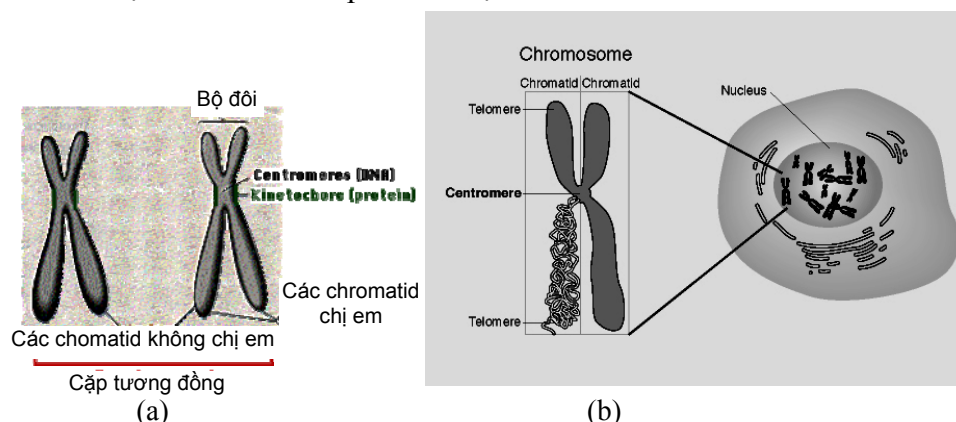
Hình 3.3 Bộ nhiễm sắc thể người được thiết lập bằng phương pháp mới - kiểu nhân phổ (spectral karyotype). *Nguồn:* Schrock và cs (1996).

Gần đây, Schrock và cs (1996) đã giới thiệu các phương pháp thiết lập kiểu nhân mới sử dụng các thuốc nhuộm huỳnh quang có khả năng bám vào các vùng đặc thù của các nhiễm sắc thể, gọi là *thiết lập kiểu nhân phổ* (spectral karyotyping; Hình 3.3). Bằng cách sử dụng một loạt các vật dò (*probes*) đặc thù có hàm lượng các thuốc nhuộm khác biệt, các cặp nhiễm sắc thể khác nhau sẽ có các đặc trưng phổ riêng. Một đặc điểm độc đáo của công nghệ này là sự sử dụng một nhiễu kế (interferometer) giống như các nhà thiên văn dùng để đo quang phổ phát ra từ các vì sao. Công nghệ này cho phép phát hiện các biến đổi nhẹ về màu sắc (mà mắt thường chúng ta không thể phát hiện) bằng chương trình máy tính rồi sau đó phân loại từng cặp nhiễm sắc thể theo các màu sắc khác nhau. Việc sắp xếp các nhiễm sắc thể theo từng cặp rất đơn giản vì các cặp tương đồng thì có cùng màu như nhau, và các sai hình hoặc các trao đổi chéo có thể nhận biết được một cách dễ dàng hơn.

2. Tâm động và các kiểu nhiễm sắc thể

Các nhiễm sắc thể thường khác nhau về vị trí *tâm động* (centromere), là nơi mà các sợi thoi bám vào trong quá trình phân bào (hình 3.4). Thường thì mỗi nhiễm sắc thể chỉ có một eo thắt lớn chứa một tâm động gọi là *eo sơ cấp* (primary constriction). (Thuật ngữ *kinetochore* dùng để chỉ cấu trúc protein bao quanh vùng tâm động). Nói chung, có ba kiểu

nhuộm sắc thể chính: nếu tâm động nằm gần chính giữa, gọi là nhuộm sắc thể *tâm giữa* (metacentric); nếu tâm động nằm lệch về một đầu, gọi là nhuộm sắc thể *tâm đầu* (acrocentric); và nếu tâm động ở gần sát đầu mút, gọi là nhuộm sắc thể *tâm mút* (telocentric). Nói cách khác, tâm động chia nhuộm sắc thể thành hai vai hay cánh (arms) dài ngắn khác nhau; chẳng hạn, trong khi nhuộm sắc thể tâm giữa có hai vai gần như bằng nhau, thì nhuộm sắc thể tâm lệch có một vai ngắn và một vai dài. Các kết quả nghiên cứu cho thấy ở chuột nhà tất cả 40 cặp nhuộm sắc thể đều thuộc kiểu tâm giữa, trong khi ở bộ nhuộm sắc thể người gồm hai kiểu tâm giữa và tâm đầu, không có kiểu tâm mút (hình 3.3). Ngoài eo sơ cấp, trên một số nhuộm sắc thể cụ thể còn có thể có *eo thứ cấp* (secondary constriction), và nếu eo này ở gần đầu mút và xảy ra sự thắt sâu sẽ tạo nên một vệ tinh (satellite) của nhuộm sắc thể (ở người, đó là các nhuộm sắc thể 13, 14, 15, 21 và 22; xem hình 3.5b). Eo thứ cấp thường chứa các gene tổng hợp các RNA ribosome, tích tụ tạm thời và hình thành nên tổ chức gọi là hạch nhân (nucleolus); nó có mặt trong *nhân* (nucleus) ở một số giai đoạn khác nhau của sự phân bào. Hai đầu mút của mỗi nhuộm sắc thể eukaryote có cấu trúc đặc biệt gọi là *telomere* (sẽ được thảo luận ở chương 5) và thường có trình tự DNA khác với phần còn lại của nhuộm sắc thể.

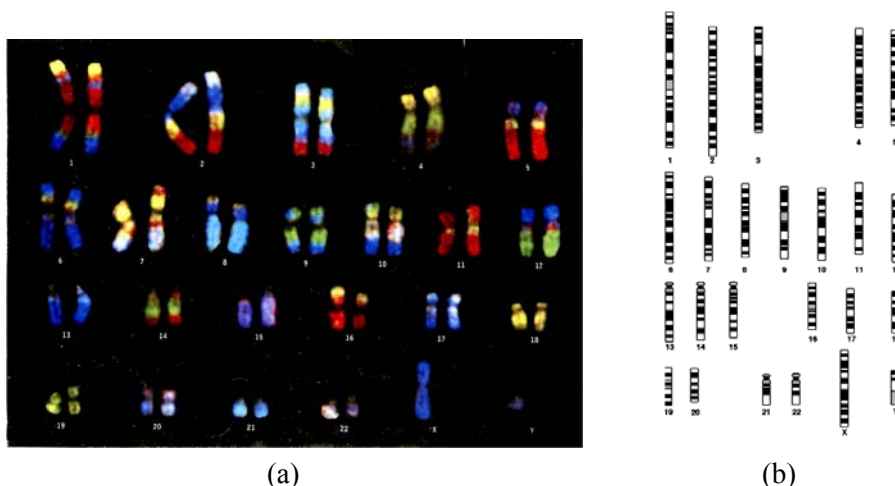


Hình 3.4 (a) Một cặp nhuộm sắc thể tương đồng kiểu tâm đầu ở kỳ giữa. (b) Mỗi chiếc lấy ra từ nhân kỳ giữa gồm hai chromatid chị em dính nhau ở tâm động, gọi là bộ đôi (dyad) và có các đầu mút đặc trưng gọi là telomere.

3. Các kiểu băng nhuộm sắc thể (chromosomal bands)

Người ta có thể xác định các vùng khác nhau trên các nhuộm sắc thể bằng các kỹ thuật hiện băng (band techniques) có xử lý các hóa chất khác nhau, như các băng G, Q và R (tương ứng là Giemsa, quinacrine và reverse bands- băng đảo ngược) (xem Verma và Babu 1995). Thực ra, thuật ngữ *chromosome* (= *chromo*: màu + *soma*: thể) theo nghĩa đen có

nghĩa là "thể bắt màu". Các kỹ thuật sử dụng các thuốc nhuộm khác nhau để xác định các vùng của nhiễm sắc thể nào đó làm hiện ra các *vạch, dải* hay *băng* (bands) có độ đậm nhạt, sáng tối hoặc hiển thị bằng các màu khác nhau. Chẳng hạn, các băng sẫm hơn thường xuất hiện ở gần tâm động hoặc ở các *đầu mút* (telomeres) của các nhiễm sắc thể, trong khi các vùng khác bắt màu yếu hơn nên nhạt hơn. Các vùng bắt màu đậm gọi là *chất dị nhiễm sắc* (heterchromatin) và các vùng bắt màu nhạt gọi là *chất đồng nhiễm sắc* (euchromatin). Nói chung, các vùng đặc trưng này được duy trì ổn định trong các tế bào hay các cá thể khác nhau của một loài và do đó chúng tỏ ra hữu ích cho việc xác định các nhiễm sắc thể cụ thể. Hình 3.5 trình bày kiểu nhân và *biểu đồ nhiễm sắc thể* (idogram) người.



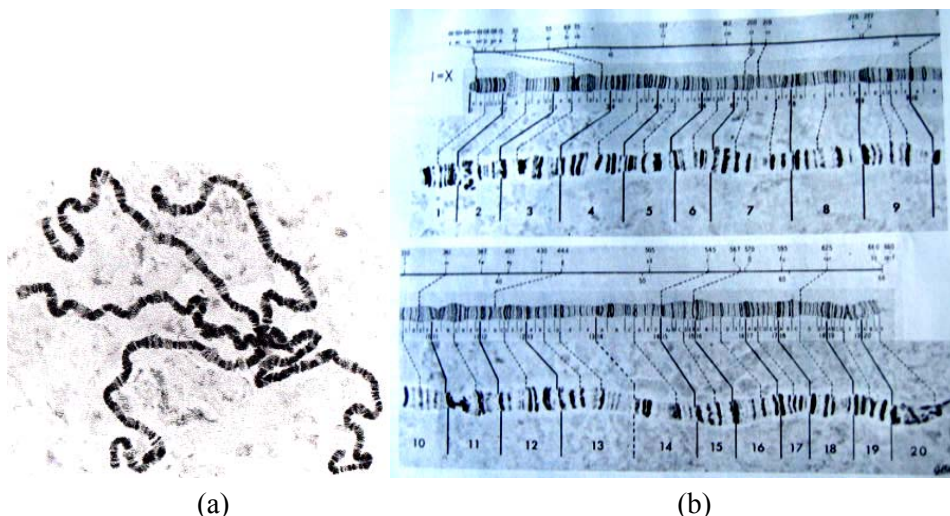
Hình 3.5 (a) Kiểu nhân, và (b) biểu đồ nhiễm sắc thể người.

Nguồn: © Current Opinion in Genetics & Development (1998)

Các vùng euchromatin thường trải qua một chu kỳ đóng và mở xoắn đều đặn, tương ứng với sự hoạt động của hầu hết các gene khu trú trên đó. Các vùng heterochromatin gồm hai kiểu: *ổn định* (constitutive) và *không ổn định* (facultative). Heterochromatin ổn định, tức là phần cố định của bộ gene và không biến đổi được thành euchromatin; chúng được coi là bất hoạt về mặt di truyền. Ngược lại, heterochromatin không ổn định bao gồm cả euchromatin là những vùng bắt giữ màu và cô đặc (theo nghĩa đóng xoắn chặt) đặc trưng của euchromatin trong một số giai đoạn phát triển; hay nói cách khác, đó thực chất là các vùng euchromatin nhưng chỉ biến đổi thành heterochromatin trong kỳ trung gian (interphase) ở một số mô.

Trên thực tế, người ta còn phát hiện một số dạng nhiễm sắc thể đặc biệt có kích thước khổng lồ, như: (i) các nhiễm sắc thể kiểu *chổi lông* hay *bàn chải đèn* (lampbrush chromosomes) bắt gặp trong noãn bào sơ cấp của

động vật có xương sống (có thể dài tới 1mm như ở lưỡng thê có đuôi); và (ii) các *nhiễm sắc thể đa sợi* (polytene chromosomes) có mặt trong nhân tế bào tuyến nước bọt của ấu trùng bộ hai cánh (*Diptera*).



Hình 3.6 (a) Nhiễm sắc thể khổng lồ trong một nhân tế bào tuyến nước bọt của ấu trùng *D. melanogaster*, và (b) cấu trúc chi tiết của nhiễm sắc thể X được tách làm hai nửa, mỗi nửa có 10 vùng và mỗi vùng bắt đầu bằng một băng màu đậm.

Chẳng hạn, ở ruồi giấm *D. melanogaster*, các nhiễm sắc thể đa sợi này sinh ra do hiện tượng *nội nguyên phân* (endomitosis), tức các nhiễm sắc thể tự nhân đôi liên tiếp cả chục lần nhưng tế bào không phân chia và hầu như ở trạng thái mở xoắn. Vì vậy chúng có thể chứa tới cả ngàn sợi chromatid dính nhau trong một bó, với chiều dài hơn 100 lần so với các nhiễm sắc thể bình thường (hình 3.6). Và đã xác định được tất cả là 102 vùng, với hơn 5.000 băng. Riêng một mình nhiễm sắc thể X (tức nhiễm sắc thể số 1) có 20 vùng được đánh số từ 1 đến 20, với hơn 1.000 băng. Ở hình 3.7b cho thấy nó là nhiễm sắc thể tâm mút, có tâm động ở vùng 20 nằm sát đầu mút bên phải của nửa dưới, và gene gây ra mắt trắng nằm gần đầu mút bên trái ở vùng 3 thuộc nửa trên.

III. Chu kỳ tế bào và nguyên phân

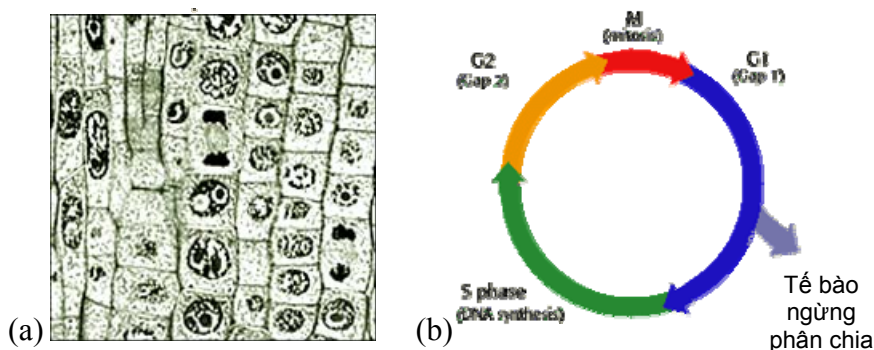
Nguyên phân (mitosis) là quá trình phân chia tế bào trong đó các tế bào con được tạo ra có số lượng nhiễm sắc thể giống với các tế bào bố mẹ. Kiểu phân bào này đặc trưng cho các tế bào soma, kể cả các tế bào sinh dục ($2n$) ở pha sinh sản của sự phát sinh giao tử ở các động-thực vật (mục IV.2), và xảy ra theo cấp số nhân với công bội bằng 2, nghĩa là: từ một tế bào ban đầu trải qua k lần nguyên phân liên tiếp sẽ cho ra 2^k tế bào giống

nó. Nhờ vậy mà cơ thể lớn lên và các tế bào trong cơ thể thường xuyên được đổi mới. Quy luật phân bào này được minh họa đơn giản như sau:

$$1 \rightarrow 2 \rightarrow 4 \rightarrow 8 \rightarrow 16 \rightarrow 32 \rightarrow 64 \rightarrow 128 \rightarrow 256 \rightarrow 512 \rightarrow \dots$$

1. Chu kỳ tế bào (cell cycle)

Quá trình nguyên phân lặp lại theo chu kỳ như vậy được gọi là chu kỳ nguyên phân hay *chu kỳ tế bào* (cell cycle). Nguyên phân là một phần của toàn bộ chu kỳ tế bào đối với các tế bào trải qua nguyên phân (như hợp tử, các tế bào phôi, các tế bào thuộc các mô sinh trưởng hay mô phân chia; hình 3.7a). Nói chung, một chu kỳ tế bào bao gồm hai giai đoạn chính là nguyên phân (ký hiệu: M), là một phần tương đối nhỏ của toàn bộ chu kỳ

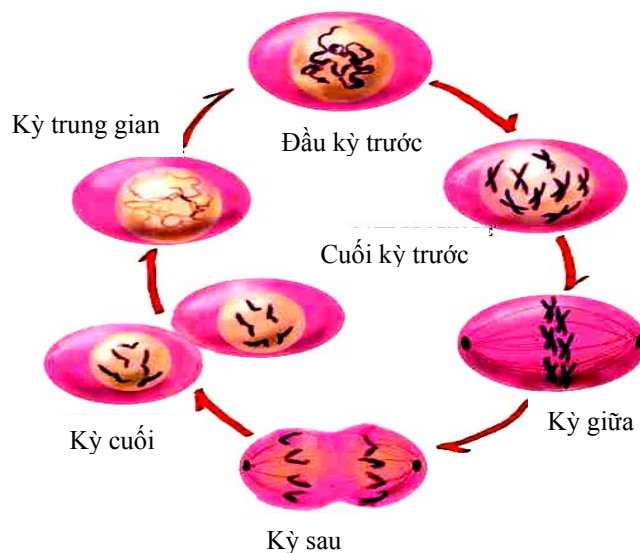


**Hình 3.7 (a) Sự phân chia của các tế bào chóp rễ hành tây (*Allium cepa*).
(b) Sơ đồ tổng quát của một chu kỳ tế bào.**

tế bào, và phần còn lại của chu kỳ tế bào gọi là *kỳ trung gian* (interphase). Gọi là kỳ trung gian bởi vì nó nằm giữa hai lần phân chia liên tiếp. Đây là giai đoạn tế bào diễn ra các hoạt động chuyển hóa cao độ, tổng hợp và tái bản vật chất di truyền - DNA, chuẩn bị tích cực cho tế bào bước vào nguyên phân. Nó được chia thành ba phần, gọi là G₁, S và G₂. Như vậy, theo nguyên tắc, một chu kỳ tế bào bao gồm bốn giai đoạn theo thứ tự sau đây (hình 3.7b): (1) G₁ (first gap) = giai đoạn khởi đầu trong đó tế bào sinh trưởng, chuyển hóa và chuẩn bị cho sự tái bản bộ gene; (2) S (DNA synthesis) = tổng hợp DNA (về chi tiết, xem chương 5); (3) G₂ (second gap) = chuẩn bị cho quá trình nguyên phân; và (4) M = *nguyên phân* (mitosis). Thời gian của các giai đoạn khác nhau trong chu kỳ tế bào khác nhau một cách đáng kể, tùy thuộc vào từng loài, từng kiểu tế bào, nhiệt độ và các nhân tố khác. Chẳng hạn, thời lượng tương ứng với bốn giai đoạn G₁, S, G₂ và M đối với các tế bào máu trắng của người đang phân chia là 11, 7, 4 và 2 giờ (thời gian toàn bộ là 24 giờ).

Khi một hợp tử vừa được hình thành hay một cơ thể đang sinh trưởng,

chu kỳ này được lặp lại nhiều lần để hình thành nên một cá thể với hàng tỷ tế bào. Một số kiểu tế bào trưởng thành, như các tế bào thần kinh và tế bào cơ vẫn giữ nguyên ở kỳ trung gian, thực hiện các chức năng đã được biệt hóa trong cơ thể cho đến lúc chết và không bao giờ phân chia nữa; giai đoạn đó được gọi là pha G_0 . Tuy nhiên, một số tế bào có thể từ pha G_0 quay lại đi vào chu kỳ tế bào. Mặc dù hầu hết các tế bào lympho trong máu người ở pha G_0 , nhưng nếu có sự kích thích thích hợp như khi bắt gặp kháng nguyên phù hợp chẳng hạn, chúng có thể bị kích thích để quay lại chu kỳ tế bào. Có thể nói, G_0 không đơn thuần chỉ ra sự vắng mặt của các tín hiệu cho nguyên phân mà là một sự ức chế hoạt tính của các gene cần thiết cho nguyên phân. Các tế bào ung thư thì không thể đi vào pha G_0 và được định trước để lặp lại chu kỳ tế bào một cách vô hạn (xem chương 5).



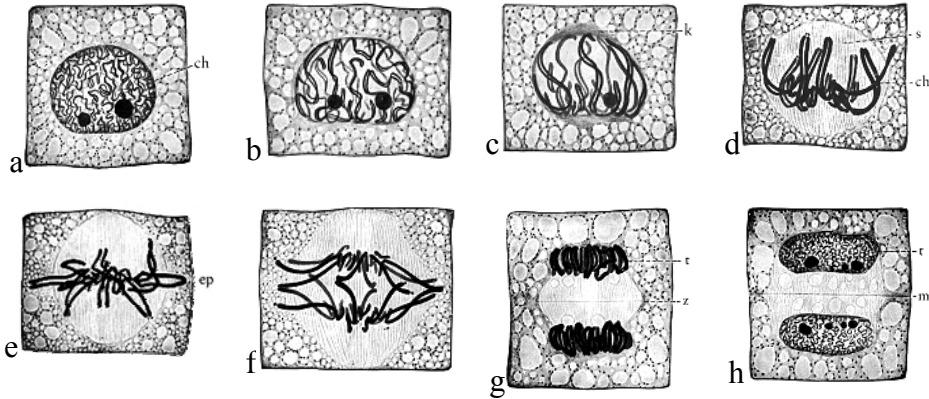
Hình 3.8 Sơ đồ biểu diễn các kỳ của nguyên phân và chu kỳ của nó.

2. Nguyên phân (mitosis)

Nguyên phân tự nó có thể chia làm bốn giai đoạn khác nhau, diễn tiến theo một trình tự như sau: *kỳ trước* (prophase), *kỳ giữa* (metaphase), *kỳ sau* (anaphase) và *kỳ cuối* (telophase). Mỗi giai đoạn có một nét đặc trưng riêng, đặc biệt là mối liên quan với tập tính của nhiễm sắc thể, nhờ đó mà ta có thể xác định chúng (hình 3.8 và 3.9).

Sau khi tự nhân đôi ở kỳ trung gian (cụ thể là pha S) và hoàn tất việc chuẩn bị bước vào nguyên phân (pha G_2), lúc này các nhiễm sắc thể tiếp tục đóng xoắn và kết đặc, nhờ vậy chúng hiện rõ dần dưới kính hiển vi quang học. Mỗi nhiễm sắc thể bây giờ gồm hai *chromatid chị em* (sister

chromatids) dính nhau ở tâm động. Theo nguyên tắc, các chromatid này hoàn toàn giống nhau do kết quả của sự tái bản bán bảo toàn DNA ở pha S (chương 5). Hơn nữa, vì hai chromatid chị em dính nhau tại vùng tâm động, nên chúng được xem là một nhiễm sắc thể.



Hình 3.9 Các giai đoạn của quá trình nguyên phân ở một tế bào chóp rễ hành tây (*Allium cepa*).

2.1. Kỳ trước (*prophase*)

Cũng trong giai đoạn này, *hạch nhân* (nucleolus) thường biến mất và màng nhân bắt đầu tan vỡ. *Trung thể* (centriole) phân chia và hình thành xung quanh nó một cấu trúc mới gồm rất nhiều *sợi thoi* (spindle fiber) trải dài tới các cực của tế bào. Một số sợi thoi dính trực tiếp vào tâm động (cụ thể là *kinetochore*) của nhiễm sắc thể.

2.2. Kỳ giữa (*metaphase*)

Vào kỳ giữa, màng nhân tan biến hoàn toàn, các sợi thoi dính vào tâm động của các nhiễm sắc thể và đẩy chúng về *mặt phẳng xích đạo* (equatorial plane) của tế bào và xếp thành một vòng. Nói chung, lúc này các nhiễm sắc thể đóng xoắn cực đại (nghĩa là chiều dài rút ngắn tối đa và do đó đường kính cũng nở ra tối đa), với cấu trúc điển hình đặc trưng cho từng loài. Do đó, kỳ giữa là thời điểm thuận lợi nhất cho việc thiết lập các kiểu nhân và nghiên cứu hình thái học các nhiễm sắc thể như đã nói ở trên.

2.3. Kỳ sau (*anaphase*)

Vào đầu kỳ sau, tại mỗi nhiễm sắc thể xảy ra sự phân tách tâm động, các chromatid chị em bây giờ rời nhau và được gọi là *các nhiễm sắc thể con* (daughter chromosomes). Kế đó, các sợi thoi co rút và gây ra sự chuyển động của các nhiễm sắc thể con giống nhau về hai cực đối diện. Nếu nhìn dưới kính hiển vi lúc này, ta thấy nhiễm sắc thể xuất hiện dưới

dạng chữ V, J hoặc I, tùy theo kiểu tâm giữa, tâm đầu hay tâm mút.

Như vậy, chính sự sắp xếp thành một vòng của các nhiễm sắc thể ở kỳ giữa và sự phân ly đồng đều của chúng về hai cực ở kỳ sau làm thành bản chất hay là quy luật đặc trưng cho quá trình nguyên phân.

2.4. Kỳ cuối (*telophase*)

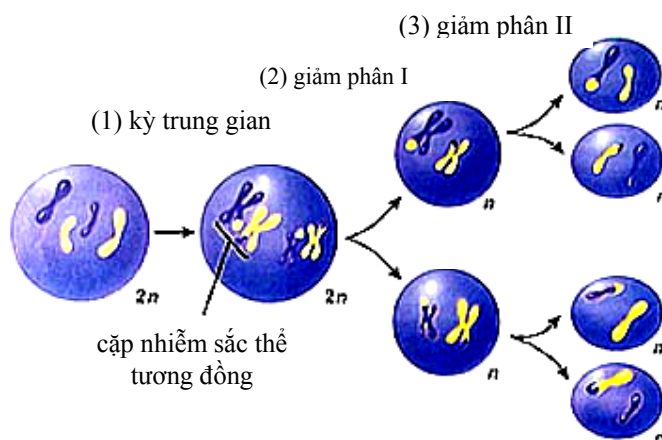
Vào kỳ cuối, hai bộ nhiễm sắc thể con đã về tới các cực đối diện và bắt đầu mở xoắn. Lúc này màng nhân xuất hiện trở lại và bao bọc các bộ nhiễm sắc thể; các sợi thoi tan biến, hạch nhân và các nhân được hình thành trở lại.

Kế đó, ở động vật, màng tế bào hình thành một *eo thắt* (*furrow*) từ ngoài vào trong; ở thực vật, một *phiến tế bào* (*cell plate*) phát triển từ trung tâm ra ngoài. Điều này làm phân cách hai bộ nhiễm sắc thể con và tế bào chất giữa hai tế bào con. Các tế bào con có số lượng nhiễm sắc thể giống với tế bào ban đầu. Như vậy, thực ra, nguyên phân gồm hai quá trình phân chia: *phân chia nhân* (*karyokinesis*) và *phân chia tế bào chất* (*cytokinesis*); nhưng thực chất của nguyên phân là sự phân chia nhân.

IV. Giảm phân, sự phát sinh giao tử và thụ tinh

1. Giảm phân (*meiosis*)

Giảm phân là kiểu phân bào đặc trưng cho các tế bào sinh dục, trong đó các tế bào con sinh ra (gọi chung là các giao tử) có số lượng nhiễm sắc thể giảm đi một nửa (hình 3.10).



Hình 3.10 Kết quả của giảm phân với hai lần phân chia. Ở đây cho thấy hậu quả của sự tái tổ hợp và phân chia giảm nhiễm trong giảm phân I.

Giảm phân là một giai đoạn trong quá trình phát sinh giao tử, xảy ra ở pha trưởng thành (mature) sau khi bộ nhiễm sắc thể đã được nhân đôi ở kỳ trung gian thuộc pha sinh trưởng. Quá trình giảm phân gồm hai lần phân

chia nối tiếp nhau, giảm phân I và giảm phân II (hình 3.10). Mỗi lần phân chia này cũng được chia làm bốn kỳ. *Giảm phân I* (meiosis I) còn gọi là *phân chia giảm nhiễm* (reductional division), vì số lượng nhiễm sắc thể ($2n$) giảm xuống còn đơn bội (n). Trong giảm phân I, các chromatid chị em vẫn còn dính nhau trong khi các nhiễm sắc thể tương đồng phân ly. *Giảm phân II* (meiosis II) còn gọi là *phân chia đồng đều* (equational division) và rất giống với nguyên phân ở chỗ phân tách các chromatid chị em và số lượng nhiễm sắc thể giữ nguyên không đổi.

Bởi vì giảm phân là quá trình di truyền quan trọng và căn bản nhất ở cấp độ tế bào, cơ sở cho việc lý giải các quy luật di truyền và biến dị, cho nên trước khi đi vào mô tả giảm phân, cần nắm ba điểm chính sau đây: (1) Giảm phân cùng với sự thụ tinh sau đó cho phép duy trì số lượng nhiễm sắc thể ở các loài sinh sản hữu tính. (2) Giảm phân I cho phép các nhiễm sắc thể bố và mẹ khác nhau phân ly ngẫu nhiên về mỗi giao tử. (3) Sự trao đổi chéo giữa các chromatid trên các cặp nhiễm sắc thể tương đồng ở kỳ trước trong giảm phân I tạo ra các tổ hợp allele mới ở các gene khác nhau.

1.1. Giảm phân I (*meiosis I*)

1.1.1. Kỳ trước I (*prophase I*)

Đây là pha phức tạp nhất của toàn bộ quá trình giảm phân, được chia thành năm giai đoạn khác nhau (hình 3.11a-e). Giai đoạn thứ nhất gọi là giai đoạn *leptotene* (sợi mảnh), đặc trưng bằng sự xuất hiện của các nhiễm sắc thể ở dạng các sợi mảnh khi nhìn dưới kính hiển vi quang học.

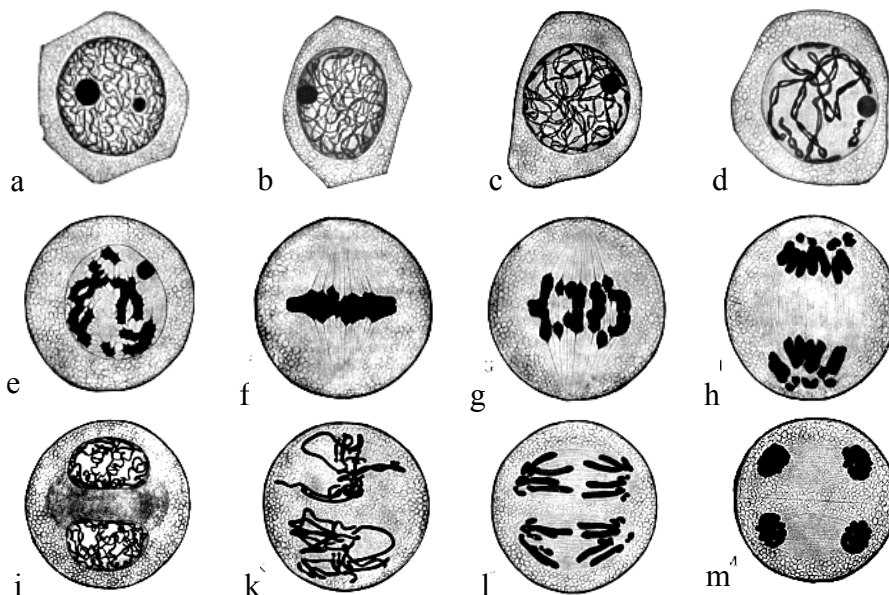
Kế tiếp là giai đoạn *zygotene* (sợi kết hợp), các nhiễm sắc thể tương đồng tiến lại gần nhau và các gene tương ứng đối diện nhau. Quá trình kết hợp của các nhiễm sắc thể tương đồng sau đó gọi là *tiếp hợp* (synapsis), là nét đặc trưng cơ bản phân biệt giữa giảm phân và nguyên phân. Cấu trúc gồm hai nhiễm sắc thể tương đồng chứa bốn chromatid kết cặp như vậy gọi là *thể lưỡng trị* (bivalent).

Giai đoạn thứ ba có tên là *pachytene* (sợi dày), vì lúc này các thể lưỡng trị ngắn lại và dày lên và sự tiếp hợp hoàn tất. Trong giai đoạn này có thể xảy ra hiện tượng *trao đổi chéo* (crossing over) hay *tái tổ hợp* (recombination) ở từng phần của mỗi cặp nhiễm sắc thể tương đồng.

Giai đoạn thứ tư gọi là *diplotene* (sợi kép), các nhiễm sắc thể tương đồng bắt đầu tách ra, đặc biệt là ở các vùng nằm hai bên tâm động. (Đĩ nhiên, các chromatid chị em còn dính nhau ở tâm động cho tới đầu kỳ sau II). Thông thường mỗi cặp nhiễm sắc thể tương đồng có thể có một hoặc hai vùng trong đó chúng vẫn còn kề sát nhau hoặc tiếp xúc với nhau, gọi là các *hình chéo* (chiasmata). Các hình chéo này (hình 3.12) là bằng chứng

vật lý cho sự tái tổ hợp xảy ra sau khi các nhiễm sắc thể tương đồng đã tiếp hợp. Nói chung, có ít nhất một hình chéo trên một vai nhiễm sắc thể, nhưng dọc theo các nhiễm sắc thể thì có thể có một số hình chéo.

Giai đoạn cuối của kỳ trước I, *diakinesis*, được đặc trưng bằng sự ngắn lại của các nhiễm sắc thể và chấm dứt các hình chéo. Điều đó có nghĩa là, các hình chéo bị đẩy về các đầu mút của các nhiễm sắc thể. Lúc này, hạch nhân và màng nhân cũng biến mất.



Hình 3.11 Các giai đoạn của quá trình giảm phân ở hoa hành tây (*Allium cepa*). Kỳ trước I gồm 5 giai đoạn: (a) *leptotene*, (b) *zygotene*, (c) *pachytene*, (d) *diplotene*, và (e) *diakinesis*. Tiếp theo là (f) kỳ giữa I, (g) kỳ sau I, (h) kỳ cuối I, (i) kỳ nghỉ ngắn giữa hai lần phân chia (*interkinesis*), (k) kỳ giữa II, (l) kỳ sau II, và (m) kỳ cuối II.

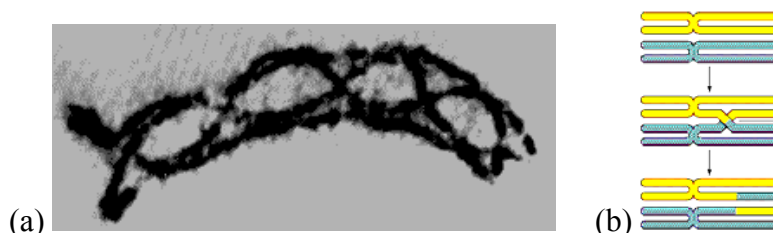
1.1.2. Kỳ giữa I (*metaphase I*)

Ở kỳ giữa I (hình 3.11f), các nhiễm sắc thể xếp trên mặt phẳng xích đạo thành hai vòng và các tâm động được đính vào các sợi thoi, sao cho cứ hai nhiễm sắc thể của mỗi cặp tương đồng (tức thể lưỡng trị) nằm đối diện nhau qua mặt phẳng kỳ giữa, với các hình chéo xếp thẳng hàng dọc theo nó. Sự kiện này khác biệt với kỳ giữa nguyên phân và là cơ sở cho sự phân chia giảm nhiễm và phân ly ngẫu nhiên của các nhiễm sắc thể ở kỳ sau I.

1.1.3. Kỳ sau I (*anaphase I*)

Vào lúc này, hai tâm động trong các nhiễm sắc thể tương đồng của

mỗi thể lưỡng trị đẩy nhau ra xa, sao cho một nhiễm sắc thể của mỗi cặp tương đồng đi về một cực (hình 3.11g). Khi các nhiễm sắc thể tương đồng đẩy nhau ra, các hình chéo hoàn toàn chấm dứt. Khác với kỳ sau nguyên phân, các chromatid chị em ở kỳ sau I vẫn còn dính nhau ở tâm động.



Hình 3.12 (a) Các hình chéo trên một cặp nhiễm sắc thể. (b) Sự hình thành các chromatid tái tổ hợp bởi một hình chéo từ hai nhiễm sắc thể tương đồng.

1.1.4. Kỳ cuối I (*telophase I*)

Ở hầu hết sinh vật, sau khi các nhiễm sắc thể di chuyển tới các cực thì màng nhân hình thành xung quanh chúng và tế bào này phân chia thành hai tế bào con (hình 3.11h). Tuy nhiên, các chi tiết chính xác về mặt tế bào học của kỳ cuối I còn nhiều sai biệt, đặc biệt là ở các thực vật.

1.2. Giảm phân II (*meiosis II*)

Giữa giảm phân I và giảm phân II thường chỉ có một kỳ trung gian ngắn ngủi gọi là *interkinesis* (hình 3.11i) Trong thời gian này không xảy ra sự tổng hợp DNA; mỗi tế bào chứa một bộ nhiễm sắc thể đơn bội (n), trong đó mỗi nhiễm sắc thể chứa hai chromatid chị em. *Kỳ trước II* (*prophase II*) thường xảy ra rất nhanh và không rõ nét; các kỳ còn lại tương tự như trong nguyên phân. Thật vậy, ở *kỳ giữa II* (*metaphase II*), các tâm động dính vào các sợi thoi và di chuyển về mặt phẳng xích đạo (hình 3.11k). Vào đầu *kỳ sau II* (*anaphase II*), các nhiễm sắc thể tách nhau ở tâm động và sau đó các nhiễm sắc thể con phân ly về các cực đối diện (hình 3.11l). *Kỳ cuối II* (*telophase II*) bắt đầu khi tại mỗi cực có một bộ nhiễm sắc thể đơn bội đơn (n) và màng nhân hình thành xung quanh chúng (hình 3.11m).

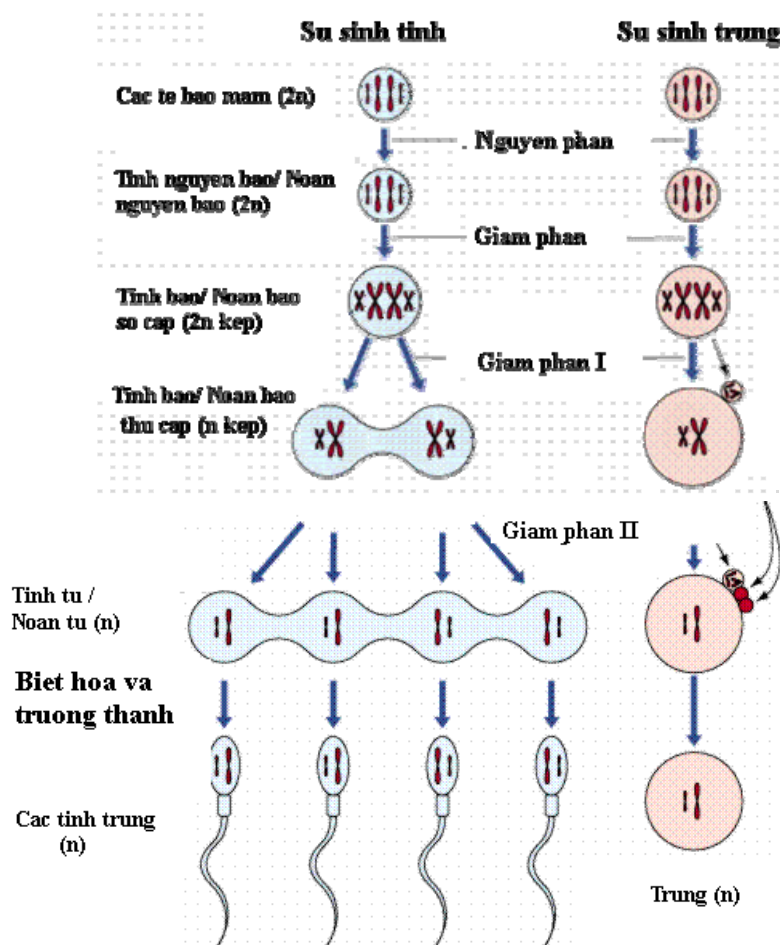
Như vậy, theo nguyên tắc, từ một tế bào sinh dục $2n$ trải qua giảm phân cho ra bốn tế bào sinh dục đơn bội, gọi là các giao tử (hình 3.10).

2. Sự phát sinh giao tử (*gametogenesis*)

Như đã biết, giảm phân là thời kỳ hay pha (phase) quan trọng nhất của quá trình phát sinh giao tử ở động vật và phát sinh bào tử ở thực vật. Dưới đây chỉ đề cập chủ yếu quá trình phát sinh giao tử ở động vật (hình 3.13).

Ở động vật, sự tạo thành các giao tử đực hay *tinh trùng* (sperm), gọi là *sự sinh tinh* (spermatogenesis), xảy ra trong *tinh hoàn* (testis) - cơ quan

sinh sản đực. Quá trình này bắt đầu với sự sinh trưởng của một tế bào lưỡng bội chưa biệt hóa gọi là *tế bào mẹ tinh trùng* (spermatogonium). Tại pha sinh sản, tế bào này thực hiện nhiều lần quá trình nguyên phân để gia tăng số lượng tế bào mẹ tinh trùng ($2n$). Sau đó, mỗi tế bào này chuyển qua pha sinh trưởng, biệt hóa thành một *tinh bào sơ cấp* (primary spermatocyte; $2n$ kép). Kế đó, tế bào này trải qua pha trưởng thành với hai lần phân chia liên tiếp của giảm phân. Sau giảm phân I, một tinh bào sơ cấp cho ra hai *tinh bào thứ cấp* đơn bội kép (secondary spermatocyte; n kép). Sau giảm phân II, mỗi tế bào này phân chia thành hai *tinh tử* đơn bội (spermatid; n). Bước cuối cùng là sự biệt hóa của các tinh tử thành các tế bào *tinh trùng* (sperm), có cấu tạo đầy đủ các bộ phận (như đầu, cổ và đuôi dài; hình 3.13 và 3.14).



Hình 3.13 Sơ đồ minh họa quá trình sinh tinh và sinh trứng ở động vật.

Sự *sinh trứng* (oogenesis) hay tạo các giao tử cái ở động vật xảy ra

trong các *buồng trứng* (ovary), cơ quan sinh sản cái. Quá trình này cũng bắt đầu bằng một *tế bào mẹ của trứng* (oogonium; $2n$). Sau khi trải qua pha sinh sản, mỗi tế bào sinh noãn này biệt hóa thành *noãn bào sơ cấp* (primary oocyte; $2n$ kép) ở pha sinh trưởng, với kích thước tăng trưởng một cách đặc biệt. Tại pha trưởng thành, sau giảm phân I, từ noãn bào sơ cấp tạo ra một *noãn bào thứ cấp* (secondary oocyte; n kép) và *thể cực* (polar body) thứ nhất. Sau lần giảm phân II, từ noãn bào thứ cấp cho ra một *noãn tử* (ootid; n) và một thể cực, còn thể cực kia tạo ra hai thể cực thứ hai. Chung cuộc, từ một tế bào sinh noãn ($2n$) cho ra chỉ một noãn (n) kích thước rất lớn và ba thể cực (n) kích thước rất nhỏ. Nguyên nhân là do giảm phân xảy ra gần màng tế bào, nên các thể cực chỉ nhận được một ít tế bào chất và chúng vẫn còn bám trên bề mặt của trứng cho đến lúc tiêu biến, tách ra. Sự tập trung tế bào chất trong một noãn tử để rồi sau đó biệt hóa thành *trứng* (ovum, egg) chính là nguồn cung cấp chất dinh dưỡng cho sự phát triển phôi sau khi thụ tinh.

Sự sinh tinh diễn ra liên tục ở các động vật trưởng thành sinh sản quanh năm, chẳng hạn như người và tùy theo mùa ở các động vật sinh sản theo mùa. Khả năng cho tinh trùng là cực kỳ cao ở hầu hết các động vật; một con đực (male) trưởng thành sản xuất hàng tỷ tỷ tinh trùng trong suốt quãng đời của chúng. Ngược lại, việc sinh trứng ở các con cái (female) nói chung là thấp hơn rất nhiều; chẳng hạn, một người nữ suốt đời chỉ có thể sản sinh chừng 500 trứng chín. Tất cả số trứng này phát triển thành các noãn bào sơ cấp trước khi con cái (female) được sinh ra và chúng dừng lại ở kỳ trước I cho tới tuổi dậy thì. Lúc này chúng tiếp tục giảm phân và bắt đầu chín lần lượt thành các trứng và mỗi tháng rụng một trứng. Tế bào trứng người có đường kính chừng 0,1 mm (100 μm) trong khi đó phần rộng nhất của tinh trùng có đường kính là 2,5 μm .

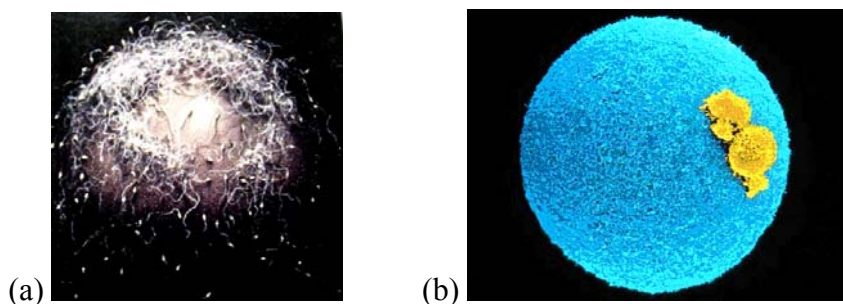
Ở thực vật bậc cao, sự hình thành các giao tử đực được gọi là sự hình thành hạt phấn hay *phát sinh tiểu bào tử* (microsporogenesis). Quá trình này giống như sự sinh tinh ở động vật ở chỗ giảm phân cho ra bốn tế bào đơn bội có cùng kích thước và tiềm năng chức năng. Sự hình thành noãn ở thực vật còn gọi là sự hình thành túi phôi hay *phát sinh đại bào tử* (megasporogenesis). Nó cũng tương tự như quá trình giảm phân ở động vật. Tuy nhiên, các sản phẩm sai khác nhau đáng kể.

3. Sự thụ tinh (fertilization)

Nói chung, thụ tinh (hình 3.14) là hiện tượng kết hợp ngẫu nhiên giữa các giao tử đực và giao tử cái mang bộ nhiễm sắc thể đơn bội (n) tạo thành các *hợp tử* (zygotes) có bộ nhiễm sắc thể lưỡng bội ($2n$) đặc trưng của loài. Thông thường, một trứng chỉ được thụ tinh bởi một tinh trùng và tạo

ra một hợp tử (hình 3.14b).

Ở các thực vật bậc cao có quá trình *thụ tinh kép* (double fertilization). Khi ống phấn xâm nhập *túi phôi* (embryo sac) và đưa hai tinh tử vào, sẽ xảy ra hai quá trình thụ tinh: một tinh tử sẽ kết hợp với *noãn* (egg) tạo thành hợp tử ($2n$) và tinh tử kia sẽ dung hợp với *nhân nội nhũ* (endosperm nucleus; $2n$) tạo thành một nhân nội nhũ ($3n$). Sau đó, trong quá trình hình thành hạt, hợp tử sẽ phát triển thành phôi hạt và nhân nội nhũ sẽ phát triển thành nội nhũ nuôi phôi, gọi là phôi nhũ.



Hình 3.14 (a) Các tinh trùng nhím biển (sea urchin) vây quanh một trứng nhím biển. (b) Một tế bào trứng người vừa được thụ tinh, các nhân của tinh trùng và trứng thể hiện bằng hai hình dạng không đều nhau, có màu vàng-nâu. Khi hai nhân này dung hợp thì sự thụ tinh coi như hoàn tất.

Nguồn: (a) Francis Leroy, Biocosmos/SPL/Photo Researchers, Inc.

(b) Phototake NYC/Dr. Nikas/Jason Burns © 1993-2003 Microsoft Corporation.

V. Các biến đổi của nhiễm sắc thể

Trên đây chúng ta mới chỉ tìm hiểu các đặc tính di truyền ổn định của những cá thể mang bộ nhiễm sắc thể bình thường mà chưa đề cập đến mặt biến đổi của nó. Trên thực tế, các nhiễm sắc thể có thể bị biến đổi (đột biến) theo hai cách căn bản, đó là các biến đổi về cấu trúc và về số lượng (bảng 3.2). Các biến đổi này có thể gây những hậu quả khác nhau tùy loại, nhưng thường là nghiêm trọng. Chúng có thể gây hiệu quả tức thời lên các nhiễm sắc thể, gây rối loạn trong hoạt động của bộ gene và giảm phân; và từ đó ảnh hưởng tới sức sống, độ hữu thụ... của các cá thể mang chúng.

1. Các biến đổi về cấu trúc nhiễm sắc thể

Có bốn kiểu biến đổi cấu trúc nhiễm sắc thể, đó là: lặp đoạn (hay nhân đoạn), mất đoạn (hay khuyết đoạn), đảo đoạn và chuyển đoạn như đã giới thiệu ở bảng 3.2 (xem Hình 3.15). Các kiểu đột biến cấu trúc nhiễm sắc thể xảy ra là do sự đứt gãy và nối lại bất thường của các đoạn trên cùng một cặp tương đồng hoặc thậm chí giữa các cặp khác nhau như trong trường hợp chuyển đoạn. Nói chung, các đột biến này thường ít gặp, trung

binh cứ 1.000 giao tử mới hình thành có một vài đột biến liên quan kiểu nào đó. Các hậu quả về sau đều là kết quả của sự tiếp hợp gene-đôi-gene giữa các nhiễm sắc thể bình thường và bất thường (kiểu kết cặp không hoàn toàn tương xứng này được gọi là kiểu *dị nhân*, heterokaryotypic) cũng như các vấn đề sau này xảy ra ở các kỳ sau I và II trong giảm phân.

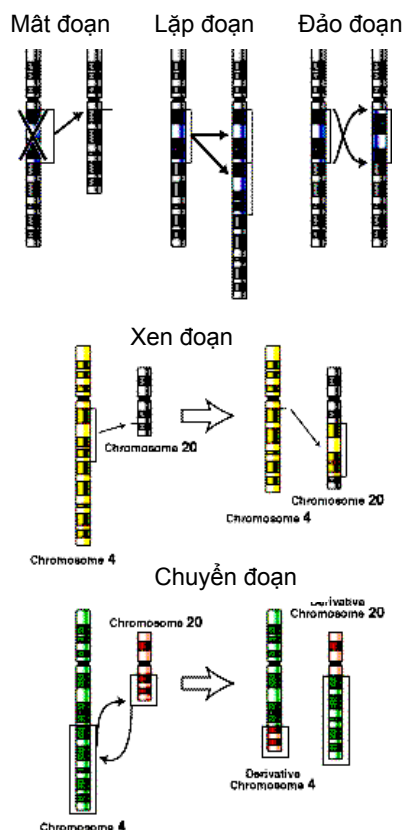
Bảng 3.2 Các kiểu biến đổi (đột biến) nhiễm sắc thể

Các kiểu biến đổi về cấu trúc	Các kiểu biến đổi về số lượng
Lặp đoạn (duplication)	Mức nguyên bội (Euploidy)
Mất đoạn (deletion)	Các thể tự đa bội (autopolyploids)
Đảo đoạn (inversion)	Các thể dị đa bội (allopolyploids)
Chuyển đoạn (translocation)	Lệch bội (Aneuploidy)
	Các thể một (monosomies; $2n - 1$)
	Các thể ba (trisomies; $2n + 1$)

1.1. Lặp đoạn (*duplication*)

Lặp đoạn hay nhân đoạn là trường hợp một đoạn nhiễm sắc thể nào đó có mặt hai lần trên một nhiễm sắc thể. Tùy theo vị trí và trật tự của các vùng lặp đoạn, ta có thể phân ra hai kiểu chính sau: (i) Lặp đoạn có thể nằm kế sát vùng nhiễm sắc thể ban đầu. Trong trường hợp trật tự các băng (hoặc các gene) vẫn giữ nguyên như ban đầu thì gọi là lặp đoạn *nối tiếp* (tandem), hoặc có trật tự ngược lại, gọi là lặp đoạn *đảo ngược* (reverse). (ii) Nếu như vùng lặp lại nằm cách xa đoạn gốc ban đầu thì gọi là lặp đoạn *chuyển chỗ* (displaced).

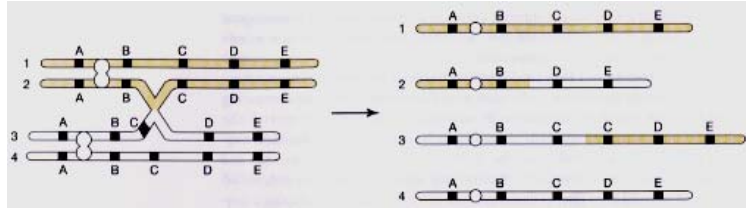
Có thể hình dung cách lặp đoạn nối tiếp xảy ra là do các nhiễm sắc thể tương đồng gối nhau và có các chỗ đứt đồng thời trên hai nhiễm sắc thể tại các điểm khác nhau. Nếu các nhiễm sắc thể tương đồng khác nhau này nối lại, thì một chiếc sẽ có một đoạn lặp nối tiếp và chiếc kia sẽ mất đi một đoạn tương ứng.



Hình 3.15 Sơ đồ tổng quát các kiểu

Kiểu *xen đoạn* ở đây là sự *chuyển đoạn giữa* (interstitial translocation).

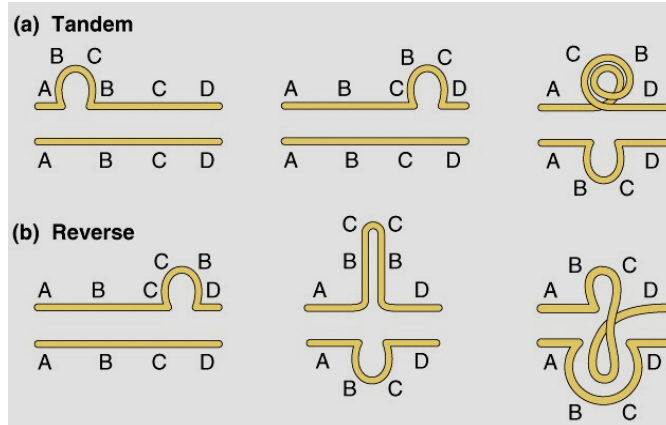
Trong trường hợp đó, lặp đoạn và mất đoạn là hai kiểu thuận nghịch của nhau. Điều đó cũng có thể do cơ chế *trao đổi chéo không đều* (unequal crossing over) gây ra (Hình 3.16).



Hình 3.16 Lặp đoạn và mất đoạn do cơ chế trao đổi chéo không đều gây ra.

Hậu quả là:

(1) Về phương diện tế bào học, khi một cá thể là dị hợp kiểu nhân về một nhiễm sắc thể lặp đoạn và một nhiễm sắc thể bình thường thì vùng lặp đoạn đó không có đoạn tương đồng để kết cặp trong giảm phân. Lúc đó đoạn lặp sẽ phình ra dưới dạng một cấu trúc *hình vòng* (loop) sao cho các phần còn lại của cả hai nhiễm sắc thể có thể bắt cặp với nhau, tức tiếp hợp gene-đối-gene (Hình 3.17). Ở một số trường hợp, một vai nhiễm sắc thể có chứa đoạn lặp có thể uốn vòng lại sao cho hai đầu của đoạn lặp giao nhau.



Hình 3.17 Sự kết cặp của các nhiễm sắc thể ở các cá thể có kiểu nhân dị hợp về (a) lặp đoạn nối tiếp - *tandem* và (b) lặp đoạn đảo ngược - *reverse*.

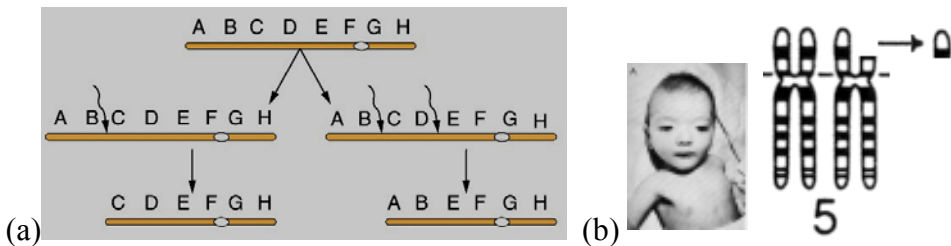
(2) Về phương diện kiểu hình, các cá thể dị hợp hoặc đồng hợp về các đoạn lặp bé vẫn có thể sống, mặc dù chúng thường bộc lộ ra một vài hiệu quả kiểu hình (như trong trường hợp các đột biến mắt *Bar* ở ruồi giấm).

(3) Về phương diện tiến hóa, nếu như các cá thể mang các đột biến này vẫn sống bình thường, thì chúng sẽ có tiềm năng cho sự biến đổi tiến hóa xa hơn nữa ở các gene phụ thêm này, gọi là tiến hóa bằng cơ chế nhân đôi gene. Thực ra, có rất nhiều bằng chứng chứng tỏ sự nhân đôi gene là một

cơ chế quan trọng nhất để sinh ra các gen mới và các quá trình tiến hóa mới, tạo thuận lợi cho sự tiến hóa của các sinh vật phức tạp từ các sinh vật nguyên sơ. Chẳng hạn, các gene khác nhau mã hóa cho hemoglobin ở các động vật có xương sống có thể bắt nguồn từ một gene tổ tiên đã được nhân đôi, và sau đó các bản sao nhân đôi này phân ly về mặt chức năng của chúng (có thể xem thêm trong: Kimura 1983; Li 1983).

1.2. Mất đoạn (*deletion*)

Một nhiễm sắc thể bị khuyết mất đi một đoạn được gọi là đột biến *mất đoạn* (*deletion*) hay *khuyết đoạn* (*deficiency*) (hình 3.18). Mất đoạn có thể xảy ra tại một phần bên trong nhiễm sắc thể, gọi là mất đoạn giữa hay *mất đoạn khe* (*interstitial deletion*). Còn nếu như một đoạn nhiễm sắc thể bị đứt và không nối lại được, gọi là *mất đoạn mút* (*terminal deletion*). Trong trường hợp đoạn đứt gãy có chứa tâm động thì cả đoạn này lẫn nhiễm sắc thể mất đoạn thường sẽ bị dung giải trong quá trình phân bào. Cơ chế mất đoạn do sự trao đổi chéo không đều đã nói tới ở phần trên.



Hình 3.18 (a) Cơ chế gây mất đoạn mút (trái) và đoạn khe; (b) Hội chứng *cri du chat* do mất đoạn mút trên vai ngắn nhiễm sắc thể số 5.

Hậu quả: Khi các thể mất đoạn ở trạng thái đồng hợp, chúng thường bị chết do khuyết hẳn các gene thiết yếu. Thậm chí khi ở trạng thái dị hợp, các gene gây chết có thể gây ra sự phát triển bất thường. Một ví dụ nổi tiếng ở người đó là đột biến mất đoạn ở một phần đáng kể của vai ngắn trên nhiễm sắc thể số 5 (5p), khi ở trạng thái dị hợp gây ra hội chứng "mèo kêu" (tiếng Pháp: *cri du chat*; tiếng Anh: *cry-of-the-cat*). Những đứa trẻ mắc hội chứng này nói chung có giọng cao the the đặc trưng giống như tiếng mèo kêu, có đầu nhỏ và trí tuệ; và chúng thường bị chết sớm ở độ tuổi sơ sinh hoặc thơ ấu (Hình 3.18).

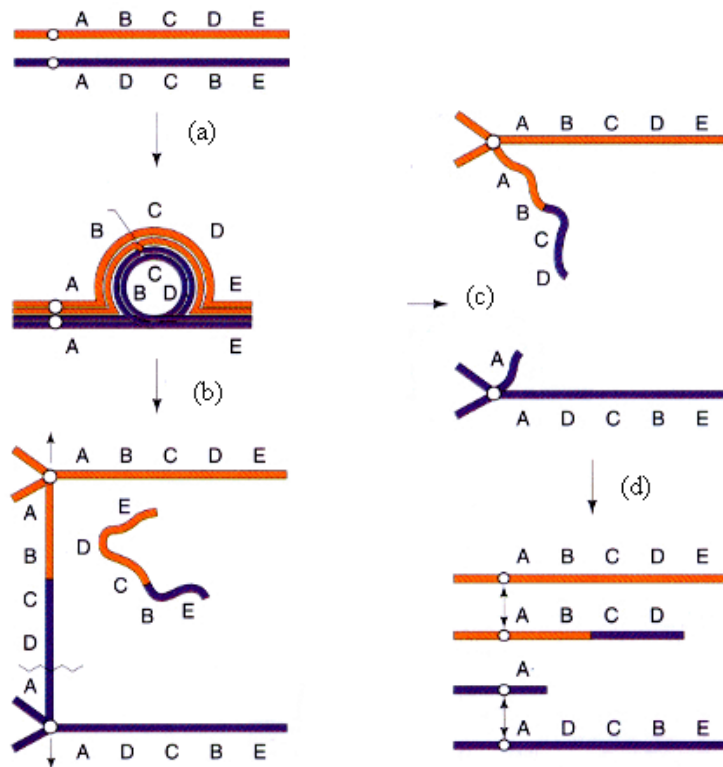
Ngoài ra, các thể dị hợp về mất đoạn thường cho thấy sự kết cặp nhiễm sắc thể bất thường trong giảm phân. Do nó không có vùng tương đồng để mà kết cặp với, nên trên nhiễm sắc thể bình thường sẽ hình thành một cái vòng gọi là *vòng mất đoạn* (*deletion loop*).

Tuy nhiên, một số đặc điểm khác lại tỏ ra hữu ích cho việc xác định các mất đoạn, chẳng hạn: (1) Không như các đột biến khác, các đột biến

mất đoạn là không đảo ngược trở thành nhiễm sắc thể kiểu đại được (tức dạng bình thường vốn có của tự nhiên). (2) Ở các thể dị hợp mất đoạn, các allele lặn trên nhiễm sắc thể bình thường sẽ biểu hiện ra kiểu hình bởi vì nhiễm sắc thể mất đoạn bị khuyết vùng tương ứng. Sự biểu hiện của các allele lặn trong trường hợp như vậy, gọi là hiện tượng *trội giả* (pseudo-dominance); nó có ích trong việc xác định chiều dài của đoạn bị mất.

1.3. Đảo đoạn (*inversion*)

Đảo đoạn là hiện tượng xảy ra do sự đứt đồng thời tại hai điểm trên một nhiễm sắc thể và sau đó đoạn bị đứt xoay 180° rồi nối lại. Hậu quả là, trật tự các gene trong đoạn đảo ngược lại với trật tự bình thường (hình 3.15). Tùy theo sự tương quan của đoạn đảo với vị trí tâm động, có thể chia làm hai kiểu đảo đoạn. Nếu đoạn đảo không chứa tâm động, gọi là *đảo đoạn cận tâm* (paracentric inversion); ngược lại, nếu đoạn đảo băng qua cả tâm động thì gọi là *đảo đoạn quanh tâm* (pericentric inversion).



Hình 3.19 Sự trao đổi chéo xảy ra bên trong vòng của thể dị hợp đảo đoạn cận tâm tạo ra các giao tử chứa các khuyết đoạn lớn. (a) Kết cặp và xuất hiện vòng; (b) Phân ly làm xuất hiện cầu nối và đoạn không tâm; (c) Cầu nối hai tâm đứt gãy ngẫu nhiên; và (d) Các sản phẩm được tạo ra.

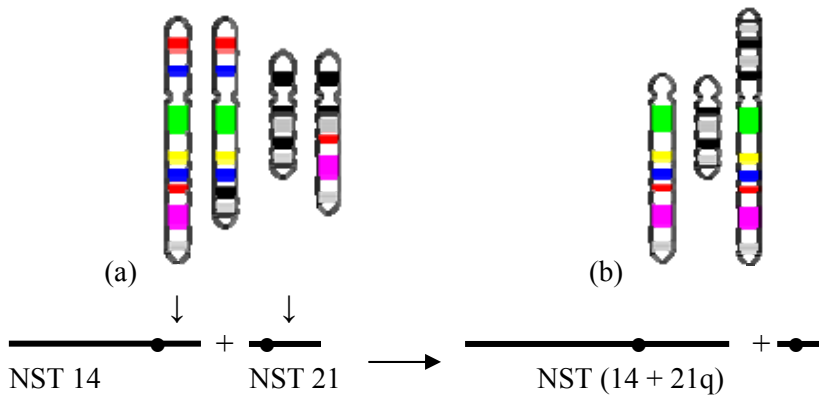
Về cơ chế, có thể hình dung như sau: vì lý do nào đó, một nhiễm sắc thể xoắn lại ở một vai (không liên quan tâm động) hoặc băng qua cả hai vai (tâm động nằm trên vòng cuộn), sau đó xảy ra sự đứt gãy tại vùng giao nhau rồi nối lại không đúng. Các cá thể dị hợp về một đoạn đảo có thể nhận diện bởi sự có mặt của các *vòng đảo đoạn* (inversion loops) trên các nhiễm sắc thể thuộc giai đoạn *sợi dày* (pachytene) của giảm phân. Đó là do ái lực của hai nhiễm sắc thể tương đồng. Cách duy nhất mà hai nhiễm sắc thể tương đồng này cặp được với nhau là một chiếc tự nó xoắn lại thành một cấu trúc hình vòng trong khi chiếc kia làm thành một nửa vòng bao quanh nó mà không xoắn lại. Nếu như sự trao đổi chéo xảy ra trong vùng có đoạn đảo (Hình 3.19), có thể dẫn tới hình thành các giao tử chứa các đoạn lặp và khuyết đoạn lớn và thường gây chết ở giai đoạn hợp tử.

1.4. Chuyển đoạn (*translocation*)

Chuyển đoạn là di chuyển của một đoạn nhiễm sắc thể từ một nhiễm sắc thể này sang một nhiễm sắc thể khác, không tương đồng với nó và gây ra sự cấu trúc lại nhiễm sắc thể đáng kể (hình 3.15, 3.20). Có hai kiểu chuyển đoạn: (i) *chuyển đoạn giữa* (interstitial translocation) là sự di chuyển một đoạn cho một nhiễm sắc thể khác mà không nhận lại, tức chuyển đoạn không thuận nghịch; và (ii) *chuyển đoạn thuận nghịch* (reciprocal translocation), tức có sự trao đổi qua lại hai chiều. Kiểu thứ hai phổ biến hơn. Nếu như hai đoạn được nối lại trong chuyển đoạn thuận nghịch tạo ra hai chiếc có kích thước lớn và hai chiếc kia bé, thì các nhiễm sắc thể được chuyển đoạn có kích thước bé hơn thường bị biến mất. Khi đó, số lượng nhiễm sắc thể bị giảm đi do sự trao đổi nhiễm sắc thể. Như thế, các chuyển đoạn có thể làm thay đổi cả kích thước lẫn vị trí tâm động.

Những cá thể dị hợp về chuyển đoạn chỉ sinh ra khoảng một nửa số con bình thường; hiện tượng đó được gọi là *bán bất dục* (semi-sterility). Khi các thể dị hợp chuyển đoạn trải qua giảm phân sẽ cho ra khoảng một nửa số giao tử chứa cả hai phần của chuyển đoạn thuận nghịch và khoảng một nửa kia chứa cả hai nhiễm sắc thể bình thường. Số giao tử còn lại chỉ chứa một phần của chuyển đoạn và một nhiễm sắc thể bình thường; các giao tử loại này sẽ gây chết hợp tử do mất cân bằng về vật chất di truyền.

Diễn hình là trường hợp *chuyển đoạn Robertson* (Robertsonian translocation), trong đó các vai dài của hai nhiễm sắc thể tâm đầu không tương đồng gắn với nhau và chỉ có một tâm động (hình 3.20b). Còn nhiễm sắc thể tâm đầu bị đứt gãy ở vai dài và đoạn đứt từ nhiễm sắc thể kia được nối lại thường biến mất trong quá trình phân bào hoặc sau vài thế hệ. Các chuyển đoạn Robertson có ý nghĩa quan trọng trong di truyền học người.



Hình 3.20 (a) Chuyển đoạn thuận nghịch; (b) Chuyển đoạn Robertson, và sơ đồ bên dưới cho thấy sự đứt - nối của hai nhiễm sắc thể không tương đồng tạo ra kiểu chuyển đoạn này. Mũi tên (↓) chỉ các điểm đứt.

Mặc dù các chuyển đoạn có thể tạo ra các nhiễm sắc thể bình thường, song chúng cũng có thể gây ra nhiều bệnh di truyền ở người. Chẳng hạn, khoảng 5% số người mắc *hội chứng Down* (Down syndrome) có một bố mẹ là dị hợp về một chuyển đoạn. Cụ thể trong trường hợp này, vai dài nhiễm sắc thể 21 (đoạn 21q) bị đứt ra và gắn vào chỗ đứt trên vai ngắn nhiễm sắc thể 14; người bố hoặc mẹ này ở trạng thái dị hợp với kiểu hình bình thường, nhưng có nguy cơ gây hội chứng Down ở đời con do sự phân ly sai hình xảy ra trong giảm phân. Theo nguyên tắc, khi giảm phân, thể dị hợp chuyển đoạn có thể tạo ra bốn loại giao tử, với xác suất ngang nhau, thuộc hai nhóm có bộ nhiễm sắc thể cân bằng và không cân bằng sau đây:

$$[14 ; 21] : [14 + 21q] : [14] : [(14 + 21q) ; 21]$$

Khi các giao tử này thụ tinh với các giao tử bình thường $[14 ; 21]$ sẽ cho ra bốn kiểu hợp tử tương ứng là:

$$[(14)_2 ; (21)_2] : [(14;14 + 21q) + 21] : [(14)_2 + 21] : [(14;14 + 21q) + (21)_2]$$

$$\begin{array}{cccc} \downarrow & \downarrow & \downarrow & \downarrow \\ \text{Bình thường} : & \text{Thể dị hợp chuyển đoạn} : & \text{Thể một 21} : & \text{Thể ba 21} \\ (46) & (45) & (45; \text{chết}) & (46) \end{array}$$

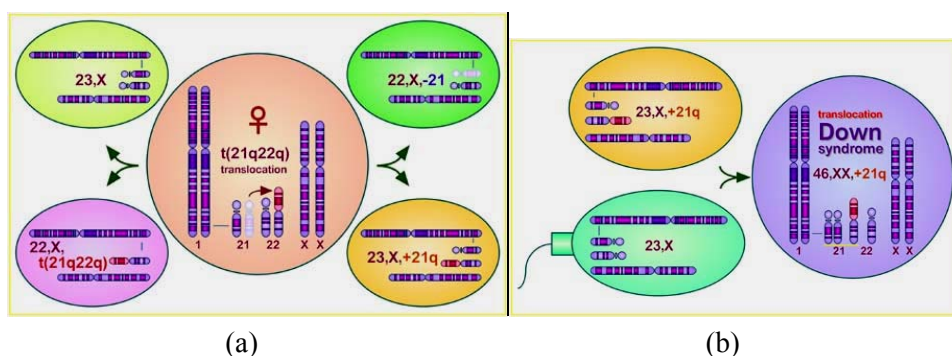
Bởi vì các cá thể nhận được chỉ một nhiễm sắc thể 21 sẽ bị chết, nên chung cuộc có khoảng 1/3 số trẻ sống (từ một thể dị hợp chuyển đoạn như vậy) được kỳ vọng là mắc hội chứng Down. Trên thực tế, tỷ lệ này thấp hơn 1/3, chủ yếu là do một số cá thể không sống sót được ở thời kỳ thai.

Cần lưu ý rằng, nguyên nhân này của hội chứng Down đưa ra các gợi ý cho *tư vấn di truyền* (genetic counseling) ở chỗ: (1) Hội chứng Down có thể tái diễn ở các con cái của một kiểu nhân dị hợp về chuyển đoạn, trong

khi đó hội chứng Down bình thường thì không tái diễn trong các anh chị em ruột vì vô sinh (xem mục 2.2 dưới đây). (2) Một nửa số anh chị em ruột bình thường về kiểu hình của các cá thể Down chính họ lại là những thể dị hợp về chuyển đoạn, và do đó có thể sinh ra con cái bị Down.

Ở nước ta, theo Nguyễn Văn Rực (2004), có khoảng 6% trường hợp hội chứng Down do các thể chuyển đoạn gây ra, bao gồm các dạng $t(14q; 21q)$, $t(21q; 21q)$ và $t(21q; 22q)$.

Trên hình 3.21 trình bày cơ chế hình thành các loại giao tử từ người nữ thuộc dạng chuyển đoạn $t(21q; 22q)$ và sự thụ tinh giữa một trứng bất thường có nhiễm sắc thể 22 được chuyển đoạn 21q (ký hiệu là: $23,X,+21q$) với tinh trùng bình thường ($23,X$) tạo ra hội chứng Down thuộc dạng chuyển đoạn ($46,XX,+21q$).

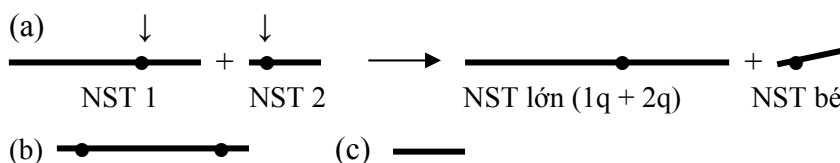


Hình 3.21 Hội chứng Down do thể chuyển đoạn dạng $t(21q; 22q)$ gây ra: (a) Sự hình thành các loại giao tử khác nhau từ người nữ $t(21q; 22q)$; và (b) Sự thụ tinh giữa một trứng bất thường ($23,X,+21q$) với tinh trùng bình thường ($23,X$) tạo ra hội chứng Down chuyển đoạn dạng ($46,XX,+21q$).

2. Các biến đổi về số lượng nhiễm sắc thể

Từ bảng 3.2 cho thấy sự biến đổi số lượng nhiễm sắc thể sai khác nhau ở hai cách cơ bản: (1) Các thể biến dị nguyên bội hay thể đa bội (euploid variants) có số lượng các bộ nhiễm sắc thể khác nhau; và (2) các thể biến dị lệch bội hay thể dị bội (aneuploid variants) có số lượng nhiễm sắc thể cụ thể không phải là lưỡng bội. Nói chung, các kiểu biến đổi số lượng nhiễm sắc thể ảnh hưởng lên sự sống sót lớn hơn các kiểu biến đổi cấu trúc nhiễm sắc thể. Trên thực tế, ở người, hơn một nửa các trường hợp sảy thai tự nhiên xảy ra trong ba tháng mang thai đầu có liên quan tới các thai bị lệch bội, đa bội, hoặc các sai hình nhiễm sắc thể lớn khác.

Trước khi thảo luận các thể đột biến số lượng nhiễm sắc thể liên quan tới sự tăng hoặc giảm hàm lượng vật chất di truyền, ta hãy xét qua các cơ chế khác mà qua đó số lượng nhiễm sắc thể có thể thay đổi (hình 3.22).

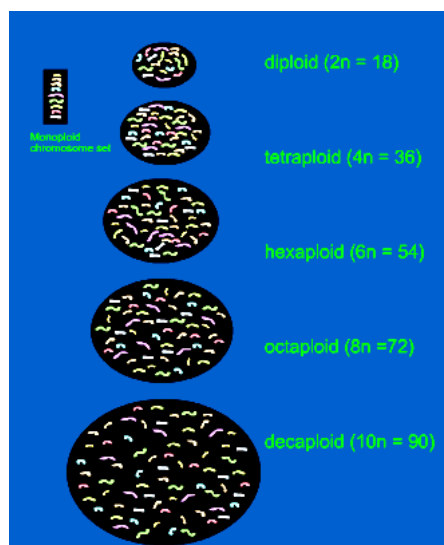


Hình 3.22 Sự hình thành nhiễm sắc thể tâm giữa do dung hợp tâm động của hai nhiễm sắc thể tâm đầu không tương đồng (a), và các dạng nhiễm sắc thể hai tâm và không tâm (b và c).

Như đã đề cập, nếu như các chuyển đoạn thuận nghịch xảy ra giữa hai nhiễm sắc thể tâm đầu mà các đoạn lớn (tức vai dài) được nối lại với nhau, kết quả là tạo ra một nhiễm sắc thể lớn có tâm giữa và một nhiễm sắc thể bé mà nó có thể biến mất trong quá trình phân bào. Cơ chế hình thành một nhiễm sắc thể tâm giữa lớn do sự đứt-nối xảy ra tại các tâm động của hai nhiễm sắc thể tâm đầu không tương đồng như thế gọi là sự *dung hợp tâm động* (centric fusion; hình 3.22a). Ngoài ra, thỉnh thoảng cũng bắt gặp các dạng nhiễm sắc thể bất thường có hai tâm động và không tâm động (hình 3.22b-c). Tuy nhiên, các dạng bất thường như thế có tính không ổn định bởi vì chúng thường bị loại bỏ khỏi tế bào khi phân ly về hai cực trong quá trình phân bào; chẳng hạn, dạng hai tâm động thường xuất hiện ở dạng cầu nối và sẽ bị đứt gãy do các sợi thoi kéo căng về hai cực.

2.1. Hiện tượng đa bội (*polyploidy*)

Các *thể đa bội* (polyploids) là trường hợp trong đó các sinh vật có ba, bộ nhiễm sắc thể trở lên (hình 3.23). Nếu ta gọi x là số nhiễm sắc thể đơn bội cơ bản, khi đó các sinh vật có ba, bốn bộ nhiễm sắc thể... sẽ có số nhiễm sắc thể và tên gọi tương ứng là $3x$ (*thể tam bội*: triploid), $4x$ (*thể tứ bội*: tetraploid)... Lưu ý: thay vì dùng ký hiệu n để chỉ số nhiễm sắc thể đơn bội như trước đây, ở đây x chỉ số nhiễm sắc thể trong một bộ và n biểu thị cho số nhiễm sắc thể trong một giao tử. Ví dụ: một sinh vật lục bội với 60 nhiễm sắc thể ($6x = 2n = 60$), thì $x = 10$ và $n = 30$.



Hình 3.23 Hiện tượng đa bội hóa điển hình ở chi *Chrysanthemum*, với rất nhiều loài đa bội thể khác nhau sinh ra từ loài lưỡng bội ($2n = 18$).

Nói chung, hiện tượng đa bội thể tương đối phổ biến ở các thực vật nhưng hiếm gặp ở hầu hết các động vật. Gần như một nửa số thực vật có hoa đều là các thể đa bội, kể cả các loài cây trồng quan trọng. Chẳng hạn, khoai tây tứ bội ($4x = 48$), lúa mì mềm lục bội ($6x = 42$), và cây dâu tây bát bội ($8x = 56$). Ở thực vật bậc cao, *Chrysanthemum* là một chi điển hình về hiện tượng đa bội hóa (hình 3.23). Trong quá trình giảm phân ở các loài thuộc chi này, các nhiễm sắc thể kết đôi tạo thành các thể lưỡng trị, loài 118 nhiễm sắc thể tạo thành 9 thể lưỡng trị, loài 36 nhiễm sắc thể tạo thành 18 thể lưỡng trị v.v... Mỗi giao tử nhận một nhiễm sắc thể từ mỗi thể lưỡng trị, vì vậy số lượng nhiễm sắc thể trong mỗi giao tử của bất kỳ loài nào cũng chính bằng một nửa số lượng nhiễm sắc thể được tìm thấy trong mỗi tế bào soma của nó. Ví dụ, loài thập bội có 90 nhiễm sắc thể thì tạo thành 45 thể lưỡng trị, do đó mỗi giao tử sẽ mang 45 nhiễm sắc thể. Nhờ vậy qua thụ tinh, bộ đầy đủ 90 nhiễm sắc thể của loài này được phục hồi. Như vậy, các giao tử của cơ thể đa bội rõ ràng là không phải đơn bội như ở cơ thể lưỡng bội.

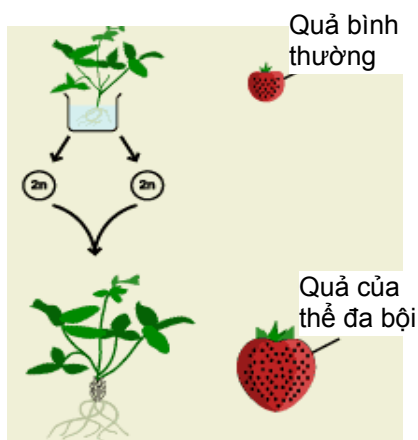
Thông thường, người ta phân biệt hai kiểu thể đa bội: (1) các *thể đa bội cùng nguồn* hay *thể tự đa bội* (autopolyploids) là các thể đa bội nhận được tất cả các bộ nhiễm sắc thể của chúng từ cùng một loài; và (2) các *thể đa bội khác nguồn* hay *thể dị đa bội* (allopolyploids) là các thể đa bội nhận được các bộ nhiễm sắc thể từ các loài khác nhau. Chẳng hạn, nếu như một hạt phấn lưỡng bội không giảm nhiễm từ một loài lưỡng bội thụ tinh cho một trứng lưỡng bội cũng của loài đó, đời con sinh ra là các *thể tự tứ bội* (autotetraploids), hay AAAA, trong đó A biểu thị một bộ nhiễm sắc thể hoàn chỉnh hay *bộ gene* (genome) của kiểu A. Mặt khác, nếu như hạt phấn lưỡng bội của một loài thụ tinh cho một trứng lưỡng bội của một loài khác có quan hệ họ hàng với loài này, đời con sinh ra sẽ là các *thể dị tứ bội* (allotetraploids), hay AABB, trong đó B chỉ bộ gene của loài thứ hai. Tất cả các bộ nhiễm sắc thể trong một thể tự đa bội đều là tương đồng, giống như khi chúng ở trong một thể lưỡng bội. Nhưng trong các thể dị đa bội, các bộ nhiễm sắc thể khác nhau nói chung sai khác nhau ở một mức độ nào đó, và được gọi là *tương đồng một phần* (homeologous), hay *tương đồng từng phần* (partially homologous).

Trong tự nhiên, các thể đa bội xảy ra với tần số rất thấp, khi một tế bào trải qua sự nguyên phân hoặc giảm phân bất thường. Chẳng hạn, nếu trong nguyên phân tất cả các nhiễm sắc thể đi về một cực, thì tế bào đó sẽ có số nhiễm sắc thể là tứ bội. Nếu như xảy ra giảm phân bất thường, có thể tạo ra một giao tử không giảm nhiễm có $2n$ nhiễm sắc thể. Tuy nhiên, trong hầu hết các tình huống, giao tử lưỡng bội này sẽ kết hợp với một giao tử đơn bội bình thường và sinh ra một thể tam bội. Người ta cũng có

thể tạo ra các thể đa bội bằng cách xử lý colchicine, một loại hóa chất gây rối loạn sự hình thành thoi vô sắc. Kết quả là, các nhiễm sắc thể không phân ly về các cực được, và thường thì xuất hiện các thể tự tứ bội.

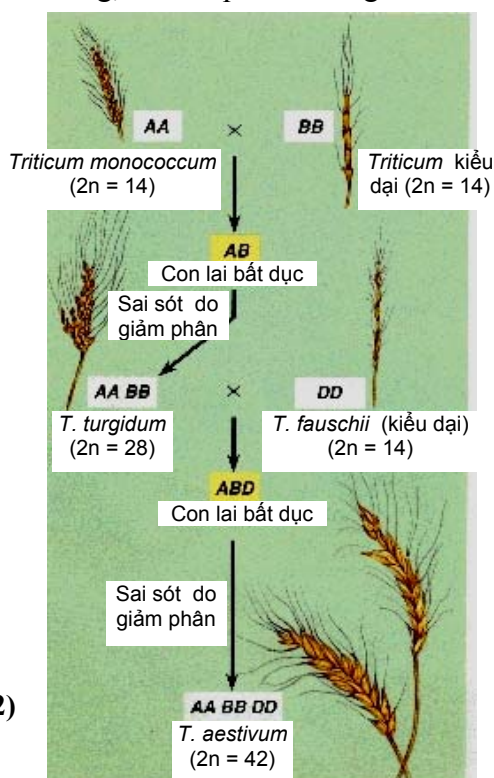
2.1.1. Các thể tự đa bội (*autopolyploids*)

Các cơ thể tam bội (AAA) thường là các thể tự đa bội sinh ra do thụ tinh giữa các giao tử đơn bội và lưỡng bội. Chúng thường bất dục bởi vì xác suất sinh ra các giao tử có được cân bằng là rất thấp. Trong giảm phân, ba cái tương đồng có thể kết cặp và hình thành một thể lưỡng trị, hoặc hai cái tương đồng kết cặp như là một thể lưỡng trị, để lại nhiễm sắc thể thứ ba không kết cặp. Tuy nhiên, do tập tính của các nhiễm sắc thể không tương đồng là độc lập, nên xác suất để một giao tử có chính xác n nhiễm sắc thể là $(\frac{1}{2})^n$ (sử dụng quy tắc nhân), và xác suất để một giao tử có được chính xác $2n$ nhiễm sắc thể cũng là $(\frac{1}{2})^n$. Tất cả các giao tử khác còn lại sẽ là không có sự cân bằng và nói chung là không hoạt động chức năng trong các hợp tử có chứa chúng. Chẳng hạn, hầu hết các cây chuối là các thể tam bội; chúng sinh ra các giao tử không cân bằng, và kết quả là không có hạt.



Hình 3.24 Sự hình thành thể đa bội với hoa trái lớn hơn thể $2n$ bình thường.

Hình 3.25 Sự hình thành lúa mì *Triticum aestivum* dị lục bội ($2n = 42$) bằng con đường dị đa bội. ➔



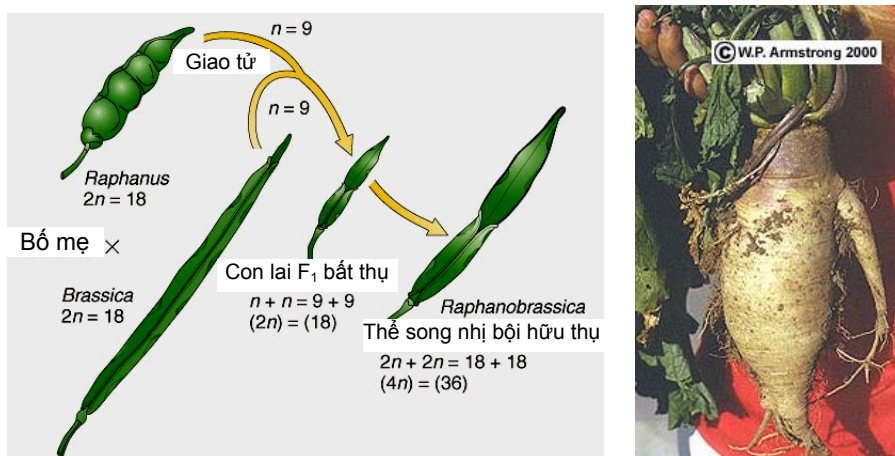
Các thể đa bội thường lớn hơn các thể lưỡng bội họ hàng (ví dụ, cho hoa trái lớn hơn; Hình 3.24). Các thể tự đa bội có thể giảm phân bình

thường nếu như chúng chỉ tạo thành các thể lưỡng trị hoặc các thể tứ trị. Còn nếu như bốn nhiễm sắc thể tương đồng tạo thành một thể tam trị và một thể đơn trị, thì các giao tử nói chung sẽ có quá nhiều hoặc quá ít các nhiễm sắc thể.

2.1.2. Các thể dị đa bội (*allopolyploids*)

Hầu hết các thể đa bội trong tự nhiên đều là các thể dị đa bội, và chúng có thể cho ra một loài mới. Chẳng hạn, lúa mì *Triticum aestivum* là một dạng dị lục bội với 42 nhiễm sắc thể. Qua kiểm tra các loài hoang dại họ hàng cho thấy lúa mì này bắt nguồn từ ba dạng tổ tiên lưỡng bội khác nhau, mỗi dạng đóng góp hai bộ nhiễm sắc thể (ở đây ta ký hiệu AABBDD). Sự kết cặp chỉ xảy ra giữa các bộ nhiễm sắc thể tương đồng, vì vậy giảm phân là bình thường và cho ra các giao tử cân bằng có $n = 21$. Rõ ràng, hiện tượng dị đa bội đóng vai trò quan trọng trong sự tiến hoá của lúa mì (xem Hình 3.25).

Năm 1928, nhà khoa học người Nga, G. Karpechenko đã tạo ra một thể dị tứ bội rất là đặc biệt; khi ông lai giữa cải bắp *Brassica* và cải củ *Raphanus sativus*, cả hai đều có số nhiễm sắc thể lưỡng bội là 18. Ông muốn tạo ra con lai có lá của cây cải bắp và củ của cây cải củ. Sau khi thu được các hạt lai từ một cây lai nhân tạo, đem gieo trồng và phát hiện rằng chúng có 36 nhiễm sắc thể. Tuy nhiên, thay vì thu được các tính trạng như ông mong đợi, cây lai này có lá của cây cải củ và củ của cây cải bắp! Hình 3.26 cho thấy sự hình thành con lai giữa hai loài cải củ và cải bắp nói trên, được gọi là *Raphanobrassica*.

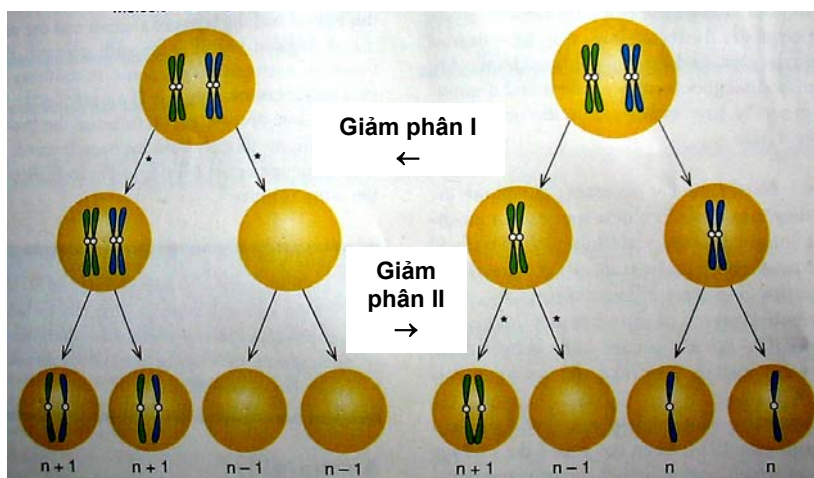


Hình 3.26 Sự tạo thành thể song nhị bội hữu thụ *Raphanobrassica* từ hai loài cải bắp *Brassica* và cải củ *Raphanus* đều có $2n = 18$ (trái); và một kết quả cụ thể của con lai *F₁* *Raphanobrassica* (theo W.P.Armstrong 2000).

Trong trường hợp nếu một hạt phấn đơn bội có bộ gene A thụ phấn cho hoa của loài có bộ gene B, sẽ cho ra một con lai bất thụ có thành phần bộ gene AB. Nếu như sau đó nguyên phân không xảy ra được trên một nhánh, có thể sinh ra các tế bào AABB. Nếu các tế bào này tự thụ phấn thì sẽ tạo ra một thể dị đa bội. Lợi dụng đặc điểm này, các nhà chọn giống sử dụng colchicine tác động lên con lai bất thụ để tạo ra các thể dị đa bội.

2.2. Hiện tượng lệch bội (*aneuploidy*)

Trong tự nhiên, thỉnh thoảng ta bắt gặp các cá thể có số lượng nhiễm sắc thể không phải là bội số của số nhiễm sắc thể đơn bội, do chúng bị thừa hoặc thiếu một hoặc vài nhiễm sắc thể cụ thể nào đó. Đó là các thể lệch bội hay *thể dị bội* (*aneuploids*).

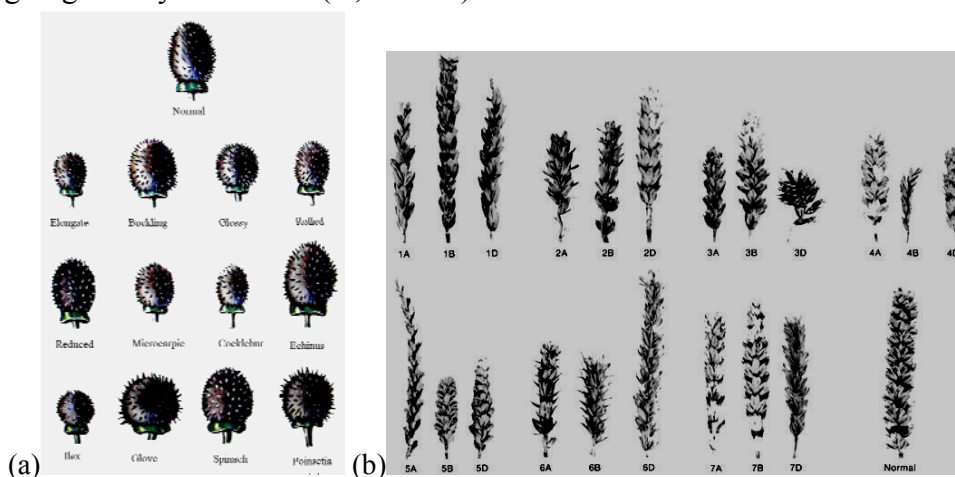


Hình 3.27 Sự không phân tách xảy ra trong giảm phân I (bên trái) và giảm phân II (bên phải) với các giao tử được tạo ra.

Nguyên nhân của hiện tượng lệch bội là sự *không phân tách* (*nondisjunction*) của hai nhiễm sắc thể tương đồng trong quá trình giảm phân hoặc nguyên phân. Sự không phân tách trong giảm phân tự nó được coi là kết quả của sự kết cặp không đúng cách của các nhiễm sắc thể tương đồng trong giảm phân sớm đến nỗi các tâm động không đối diện nhau trên mặt phẳng kỳ giữa, hoặc là không hình thành được hình chéo. Kết quả là cả hai nhiễm sắc thể cùng đi về một cực, làm cho một tế bào con thừa một nhiễm sắc thể và tế bào con kia không có nhiễm sắc thể đó. Khi các giao tử bất thường ($n + 1$) và ($n - 1$) này thụ tinh với các giao tử bình thường (n) sẽ sinh ra các hợp tử có bộ nhiễm sắc thể bất thường tương ứng: thừa một chiếc ($2n + 1$), gọi là *thể ba* (*trisomy*) và thiếu một chiếc ($2n - 1$), gọi là *thể một* (*monosomy*). Sự không phân tách phổ biến nhất là trong giảm phân I, nhưng cũng có thể xảy ra cả trong giảm phân II (hình 3.27). Các

kiểu tổ hợp nhiễm sắc thể khác như $2n + 2$ (*thể bốn*: tetrasomy) hoặc $2n - 2$ (*thể không*: nullisomy) cũng có thể xảy ra, nhưng ở đây ta không quan tâm. Sự không phân tách cũng có thể xảy ra trong nguyên phân gây ra các thể khảm về các tế bào bình thường và lệch bội.

Các thể ba được biết đến ở nhiều loài. Ở thực vật, ví dụ điển hình đó là một loạt các thể ba với những đặc tính kỳ lạ ở loài cà độc dược *Datura stramonium* được Alfred Blakeslee nghiên cứu vào khoảng năm 1920. Thực ra, người ta đã phát hiện được tất cả các thể ba về từng nhiễm sắc thể trong số 12 nhiễm sắc thể khác nhau ở loài này; và mỗi thể ba có một kiểu hình đặc trưng, thể hiện rõ nhất là ở vỏ quả. Điều đó chứng tỏ các nhiễm sắc thể khác nhau có các hiệu quả di truyền khác nhau lên tính trạng này (hình 3.28a). Các thể ba cũng được nghiên cứu ở nhiều loài cây trồng như ngô, lúa gạo và lúa mì nhằm xác định các nhiễm sắc thể mang các gene khác nhau. Ở hình 3.28b còn cho thấy hiệu quả di truyền của các *thể khuyết nhiễm* liên quan 7 nhiễm sắc thể khác nhau đối với kiểu bông ở ba giống lúa mì khác nhau (A, B và D).



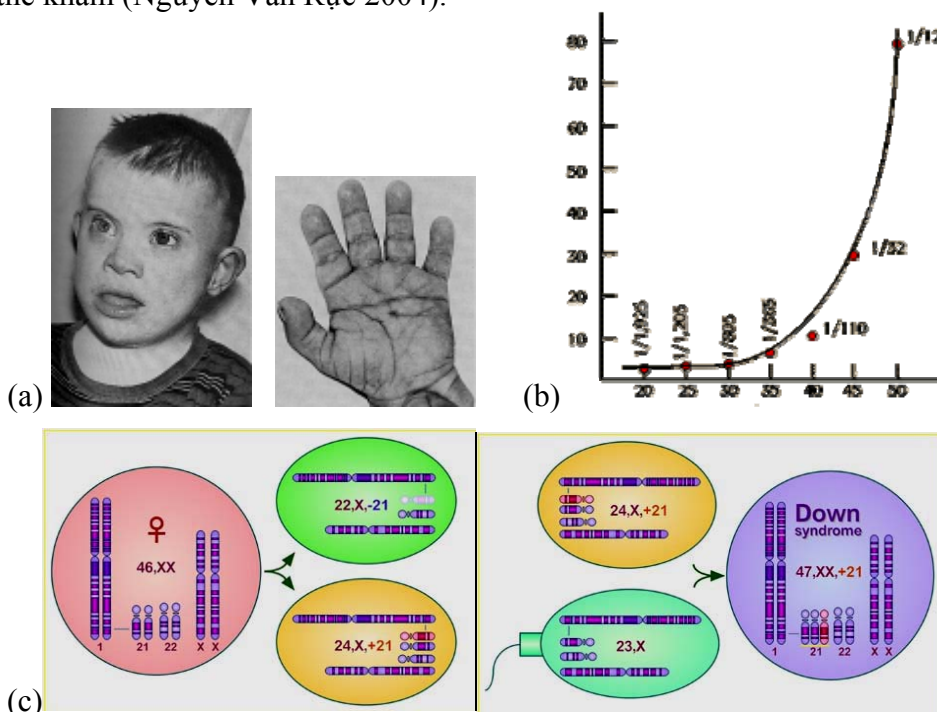
Hình 3.28 (a) Quả bình thường của cà độc dược *Datura* (trên cùng) và 12 kiểu *thể ba* khác nhau, mỗi kiểu có một vẻ ngoài và tên gọi khác nhau.

(b) Các *thể khuyết nhiễm* liên quan 7 nhiễm sắc thể khác nhau ở ba bộ gen lúa mì (A, B và D) cho các hiệu quả di truyền khác nhau đối với kiểu hình bông so với dạng bình thường (hình cuối).

Ở người, việc phân tích các thành phần nhiễm sắc thể của các trường hợp sảy thai tự phát cho thấy hầu như tất cả các thể một và nhiều thể ba đều là các dạng gây chết thai. Tuy nhiên, một số trường hợp vẫn được sinh ra với các hội chứng khác nhau. Phổ biến nhất là hội chứng Down, thể ba nhiễm sắc thể 21, với tần số 1/700 số trẻ sơ sinh và thường tỷ lệ với tuổi

tác người mẹ, đặc biệt là từ độ tuổi 35 trở đi (Hình 3.29). Hội chứng Down được mô tả cách đây chừng 160 năm, nói chung có các đặc trưng là trí tuệ thấp và về ngoài chung dễ thấy như: đầu to, trán vát, khe mắt xếch, lưỡi hay thè ra ..., thường tử vong ở độ tuổi 10-40 và hiếm khi sinh sản.

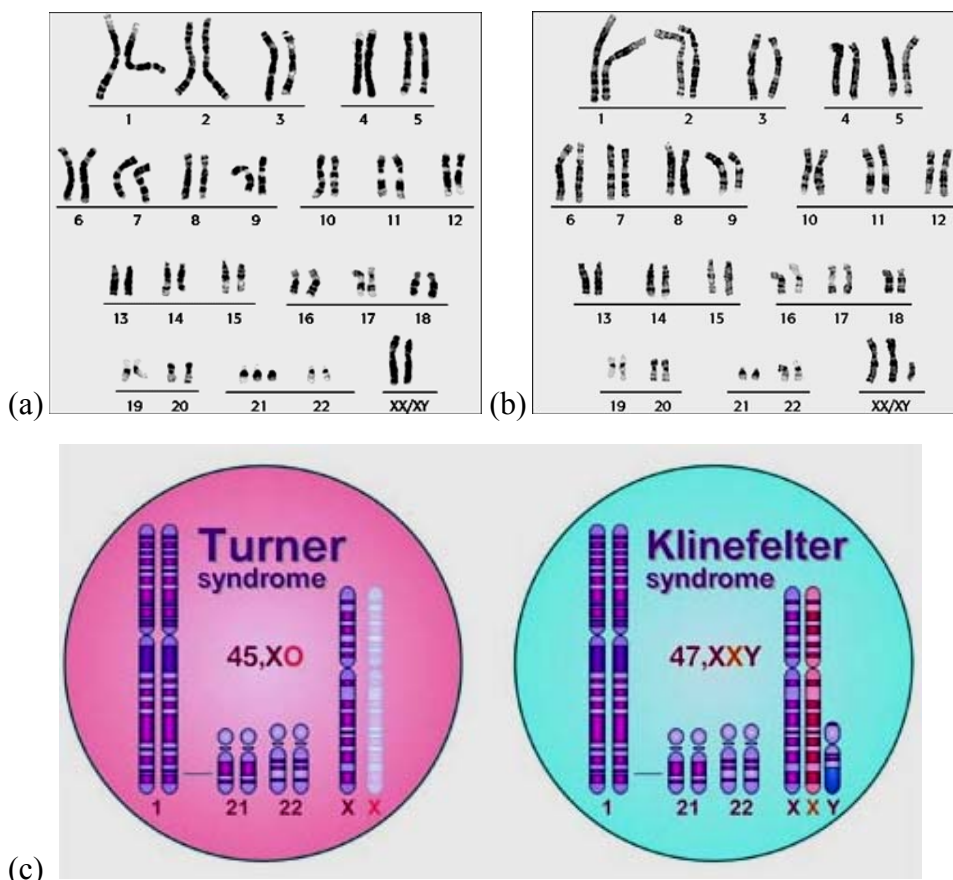
Cơ sở nhiễm sắc thể của hội chứng Down được khám phá đầu tiên vào năm 1959. Kiểu nhân của những người này được cho thấy ở các hình 3.29c và 3.30a. Danh pháp hiện hành để chỉ cá thể có thể ba 21 là (47,+21), trong đó con số 47 chỉ toàn bộ số nhiễm sắc thể và +21 chỉ ra rằng có ba bản sao của nhiễm sắc thể 21. Trong số những người mắc hội chứng Down, chỉ có chừng 5% là kiểu nhân dị hợp về chuyển đoạn thuận nghịch như đã nói trước đây, và hầu hết (khoảng 95% trường hợp) là kết quả của sự không phân tách trong giảm phân. Một kết quả nghiên cứu gần đây cho thấy đặc điểm karyotype của các trường hợp Down ở nước ta, như sau: 91% thể trisomy 21 thuần, 6% thể chuyển đoạn như đã nói ở trên và 3% là thể khảm (Nguyễn Văn Rục 2004).



Hình 3.29 Hội chứng Down

(a) Một cháu bé mắc hội chứng Down (trái) với đặc điểm cấu tạo bàn tay. (b) Một đồ thị về nguy cơ mắc hội chứng Down tính trên 1.000 trẻ sơ sinh (trục tung) liên quan với các độ tuổi người mẹ (trục hoành). (c) Sự hình thành các trường thừa và thiếu NST 21 (trái) và sự thụ tinh giữa trứng thừa NST 21 với tinh trùng bình thường tạo ra thể ba 21.

Các thể ba nhiễm sắc thể thường khác là rất hiếm, chủ yếu là bởi vì chúng không sống được khi còn là thai nhi. Ví dụ, *hội chứng Patau*, thể ba 13 ($47, +13$), có tần số sảy thai là $1/33$, tần số bắt gặp là $1/15.000$ trẻ sơ sinh, và sống chưa đầy sáu tháng. Trường hợp khác là *hội chứng Edward*, thể ba 18 ($47, +18$), tần số bắt gặp ở trẻ sơ sinh là $1/5.000$ và sống không đến một năm.



Hình 3.30 Kiểu nhân của một số thể đột biến lệch bội thường gặp.

(a) Kiểu nhân người nữ mắc hội chứng Down ($47, XX, +21$); (b) Kiểu nhân người mắc hội chứng Klinefelter ($47, XXY$). (c) Một trình bày đơn giản kiểu nhân của những người mắc hội chứng Turner và Klinefelter.

Ngoài ra, sự không phân tách của các nhiễm sắc thể giới tính ở người gây ra một số kiểu nhiễm sắc thể bất thường phổ biến như: XO, XXX, XXY và XYY. Chẳng hạn, *hội chứng Klinefelter* XXY (hay $47, XXY$) bắt gặp ở trẻ sơ sinh với tần số khoảng $1/2.000$; đây là trường hợp của những người nam có các đặc điểm như vô sinh, thân hình cao không cân đối...

Kiểu nhân của cá thể mắc hội chứng Klinefelter được mô tả ở hình 3.30b.

Những người mắc *hội chứng* *XYX* (có thể gọi là "siêu nam"), xuất hiện với tần số khoảng 1/1.000 trong số các trẻ nam sơ sinh; những cá thể này không có vẻ gì là bệnh tật, sức sống và sinh sản bình thường. Các nghiên cứu xa hơn cho thấy dường như những người này có khuynh hướng phạm tội, có thể có tương quan tối thiểu với hành vi. Tần số các cá thể *XYX* bị ngời tù cao đáng kể so với cộng đồng dân cư nói chung; tuy nhiên, chưa tới 5% tổng số các cá thể *XYX* là được giáo dục dạy dỗ đàng hoàng. *Hội chứng* *Turner* *XO* (hay 45, X) xuất hiện ở trẻ sơ sinh với tần số chừng 1/5.000 và tần số sảy thai khoảng 1/18; đây là trường hợp của những người nữ vô sinh, lùn không cân đối, cổ ngắn... Còn *hội chứng* "*siêu nữ*" *XXX* (hay 47, *XXX*) bắt gặp ở trẻ sơ sinh với tần số khoảng 1/700; hầu như tất cả những người nữ mắc hội chứng này đều vô sinh.

Câu hỏi và Bài tập

1. Thế nào là chu kỳ tế bào? Bằng cách nào số lượng nhiễm sắc thể đặc trưng của mỗi loài được duy trì ổn định trong quá trình nguyên phân?
2. Bằng cách nào số lượng nhiễm sắc thể từ trạng thái lưỡng bội giảm xuống còn đơn bội trong quá trình giảm phân? Tại sao nói các sự kiện ở kỳ trước và kỳ sau của giảm phân I góp phần quan trọng trong việc tạo ra nguồn biến dị tổ hợp phong phú đa dạng ở các loài sinh sản hữu tính?
3. So sánh nguyên phân và giảm phân, và cho biết ý nghĩa của chúng.
4. Tại sao trong mỗi tế bào số lượng nhiễm sắc thể (mức n) và hàm lượng ADN (mức c) là không đồng bộ trong mỗi giai đoạn của phân bào?
5. Hai điểm sai khác chính giữa sự sinh tinh và sinh trứng ở người và hầu hết các động vật có vú khác là gì? Các quá trình phát sinh giao tử ở động vật và thực vật bậc cao có những điểm giống và khác nhau nào?
6. Một sinh vật có số lượng nhiễm sắc thể lưỡng bội bằng 12, được ký hiệu: Aa, Bb, Cc, Dd, Ee và Ff. (a) Có bao nhiêu tổ hợp nhiễm sắc thể khác nhau có thể xuất hiện trong các giao tử? (b) Xác suất để một giao tử nhận được tất cả các nhiễm sắc thể viết hoa là gì?
7. (a) Có thể có những kiểu biến đổi nào xảy ra trong cấu trúc nhiễm sắc thể? Mô tả những nét chính xảy ra trong mỗi kiểu cùng với hậu quả và ứng dụng của chúng. (b) Gọi tên các trường hợp lệch bội phổ biến ở người và mô tả các thành phần nhiễm sắc thể của chúng.
8. Một ruồi giấm cái thân đen mun ee (e = ebony) đồng hợp được cho

lai với một con đực hoang dại đồng hợp (e^+e^+) đã được chiếu tia X. Ở đời con có xuất hiện một ruồi cái thân mun. Khi cho ruồi giấm này lai với ruồi giấm F_1 thu được $\frac{1}{2}$ thân mun: $\frac{1}{2}$ hoang dại. Hãy giải thích kết quả này.

9. Giả sử rằng ở F_1 của phép lai ở bài tập 8 ta phát hiện được hai con ruồi giấm đực và cái đều có thân đen mun. Có thể nói gì về số lượng tương đối của đời con nếu cho hai con ruồi giấm F_1 đó lai với nhau? (Cho biết các mắt đoạn thường gây chết ở trạng thái đồng hợp).

10. Cho một cây dị hợp ABCDE/abcde lai với một cây abcde/abcde, và đời con xuất hiện sáu dạng sau: ABCDE; abcde; Abcde; aBCDE; ABCDe; abcdE. Có điều gì bất thường trong kết quả này và bạn có thể giải thích điều đó ra sao? (Gợi ý: sự thiếu vắng của hai hoặc nhiều kiểu hình được kỳ vọng gợi ra một thể dị hợp đảo đoạn có liên quan đến các gene liên kết).

Tài liệu Tham khảo

Tiếng Việt

Dubinín NP. 1981. *Di truyền học đại cương* (bản dịch của Trần Đình Miên và Phan Cự Nhân). NXB Nông Nghiệp, Hà Nội.

Kimura M. 1983. *Thuyết tiến hóa phân tử trung tính*. (Bản dịch của Hoàng Trọng Phán). NXB Thuận Hóa - Huế, 1993 (tr.17-33).

Lê Đình Lương, Phan Cự Nhân. 1997. *Cơ sở di truyền học*. NXB Giáo Dục, Hà Nội.

Phan Cự Nhân (chủ biên), Nguyễn Minh Công, Đặng Hữu Lan. 1999. *Di truyền học*. NXB Giáo Dục, Hà Nội.

Nguyễn Văn Rực. 2004. *Nghiên cứu đặc điểm karyotype, kiểu hình của trẻ Down và karyotype của bố mẹ*. Luận án Tiến sĩ Y học, Trường Đại học Y Hà Nội, Hà Nội.

Phạm Quang Vinh. 2003. *Nghiên cứu bất thường nhiễm sắc thể trong các thể bệnh Leucémie cấp ở người lớn tại Viện Huyết học Truyền máu*. Luận án Tiến sĩ Y học, Trường Đại học Y Hà Nội, Hà Nội.

Tiếng Anh

Campbell NA, Reece JB. 2001. *Essential Biology*. Benjamin/Cummings, an imprint of Addison Wesley Longman, Inc, San Francisco, CA.

Clarke L. 1998. Centromeres: proteins, protein complexes, and repeated domains at centromere of simple eukaryotes. In: *Current Opinion in Genetics & Development*, Vol 8, No2 (Allis CD and Gasser SM, eds.), pp 212-218.

Clegg CJ, Mackean DG. 2000. *Advanced Biology: Principles and Applications*. 2nd ed, John Murray Published Ltd, London.

Dobie KW, Hari KL, Maggert KA, Karpen GH. 1999. Centromere proteins and chromosome inheritance: a complex affair. In: *Current Opinion in Genetics & Development*, Vol 9, No2 (Kadonaga JT and Grunstein M, eds.), pp 206-217.

Hartl DL, Freifelder D, Snyder LA. 1988. *Basic Genetics*. Jones and Bartlett Publishers, Inc, Boston - Portola Valley.

Lewis R. 2003. *Human Genetics: Concepts and Applications*. 5th ed, McGraw-Hill, Inc, NY.

Li W-H. 1983. Evolution of duplication genes and pseudogenes. In: *Evolution of Genes and Proteins* (Nei M, Koehn RK, eds.), pp. 14-37. Sinauer Associates Inc.-Publishers, Sunderland, Massachusetts, USA.

Biggins S. and Murray AW. 1999. Sister chromatid cohesion in mitosis. In: *Current Opinion in Genetics & Development*, Vol 9, No2 (Kadonaga JT and Grunstein M, eds.), pp 230-236.

Russell PJ. 2003. *Essential Genetics*. Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc, Menlo Park, CA.

Schrock E, du Manoir S, Veldman T, Schoell B, Weinberg J, Ferguson-Smith MA, Ning Y, Ledbetter DH, Bar-Am I, Soenksen D, Garini Y, Ried T. 1996. Multicolor spectral karyotyping of human chromosomes. *Science* 273: 495.

Verma RS and Babu A. 1995. *Human chromosomes: Principles and Techniques*. 2nd ed., McGraw-Hill, Inc, NY. (Ch2-6, pp.6-231).

Weaver RF, Hedrick PW. 1997. *Genetics*. 3rd ed, McGraw-Hill Companies, Inc. Wm.C.Brown Publishers, Dubuque, IA.

Một số trang web

<http://www.mhile.com/lewisgenetics5>

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=OMIM>

<http://www.genetic.org>

<http://www.fivepminus.org>

<http://www.ndss.org>

<http://www.members.aol.com/cdoua/cdo.htm>

<http://www.turner-syndrom-us.org>

<http://www.trisomy.org>

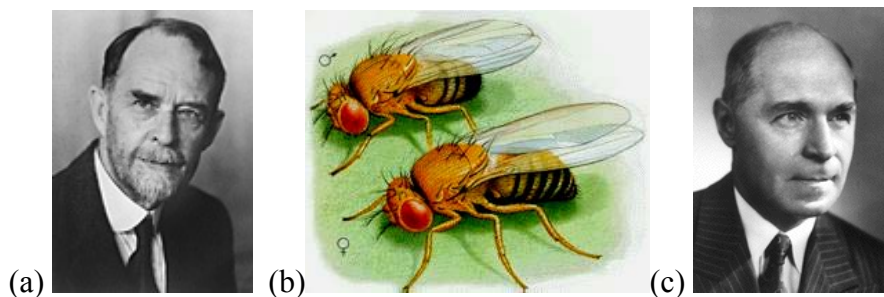
Chương 4

Di truyền học Nhiễm sắc thể

Như đã thảo luận ở các chương trước, nguyên lý phân ly độc lập của Mendel chỉ nghiệm đúng trong trường hợp các gene nằm trên các nhiễm sắc thể khác nhau và được lý giải bằng sự phân ly ngẫu nhiên của các nhiễm sắc thể trong giảm phân. Tuy nhiên, vào đầu thập niên 1910, Thomas Hunt Morgan (hình 4.1a) dựa vào các kết quả nghiên cứu ở ruồi giấm *Drosophila melanogaster* (hình 4.1b) đã nhận ra rằng có nhiều gene cùng nằm trên một nhiễm sắc thể. Điều khẳng định đúng đắn này đã sớm bổ sung và làm sáng tỏ cho các nguyên lý di truyền Mendel, đồng thời đặt nền tảng vững chắc cho sự phát triển của di truyền học trong suốt nửa đầu thế kỷ XX. Trong chương này, chúng ta lần lượt tìm hiểu thuyết di truyền nhiễm sắc thể với các vấn đề xác định giới tính, các kiểu di truyền liên kết đối với hai hoặc nhiều gene trên cùng một nhiễm sắc thể, cũng như các phương pháp kinh điển dùng để lập bản đồ di truyền ở các sinh vật.

I. Trường phái Morgan với thuyết di truyền nhiễm sắc thể

Từ 1910, Morgan cùng với ba cộng sự là Alfred H. Sturtevant, Calvin Bridges và Herman J. Muller (hình 4.1c) đã xây dựng thành công *thuyết di truyền nhiễm sắc thể* (chromosome theory of inheritance) dựa trên đối tượng nghiên cứu nổi tiếng là ruồi giấm *D. melanogaster*. Trước tiên, chúng ta hãy tìm hiểu đặc điểm của đối tượng, phương pháp nghiên cứu và nội dung của học thuyết này.



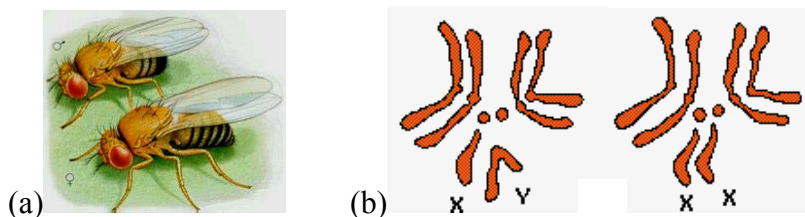
Hình 4.1 (a) T.H.Morgan; (b) Ruồi giấm *D. melanogaster*, đối tượng nghiên cứu nổi tiếng của Morgan; và (c) Herman Muller, một trong ba môn đệ xuất sắc của Morgan với phương pháp gây đột biến bằng tia X.

1. Tầm quan trọng của ruồi giấm *Drosophila*

1.1. Các đặc điểm và giá trị của ruồi giấm trong nghiên cứu di truyền học

Drosophila melanogaster (hình 4.1 và 4.2) có lẽ là sinh vật nổi tiếng

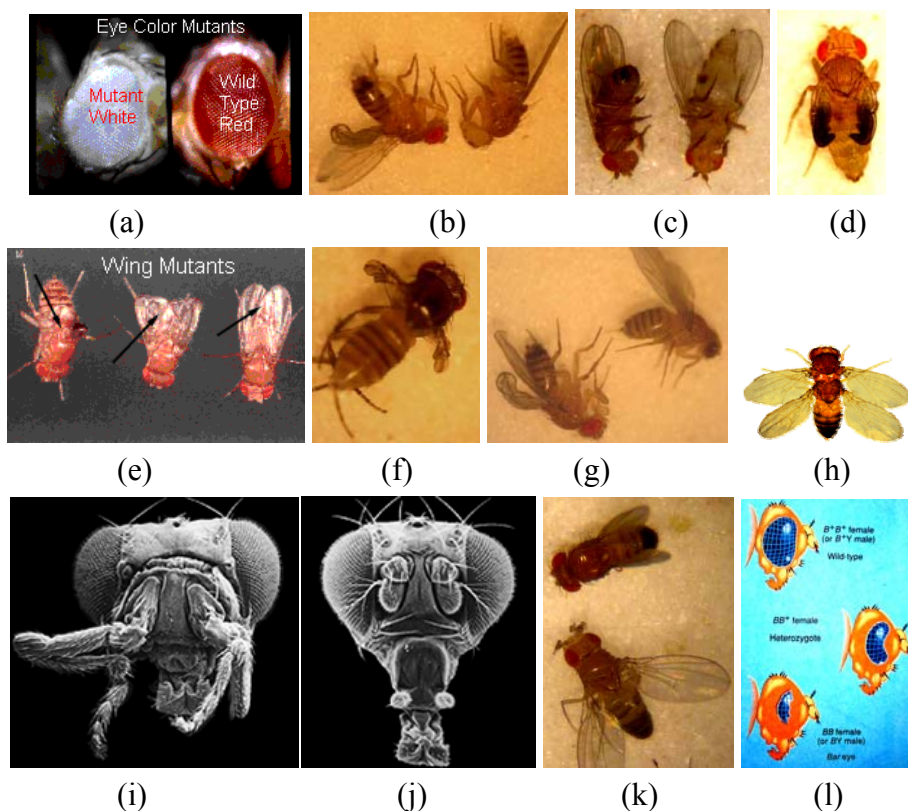
nhất được dùng làm *sinh vật mô hình* (model organism) cho các nhà di truyền học. Ruồi giấm thuộc lớp côn trùng (Insecta), bộ hai cánh (Diptera). Chúng rất thích mùi lên men của các hũ dưa vại cả và đặc biệt là những trái cây chín muồi như chuối, mít hay cam, chanh..., vì vậy chúng được biết dưới cái tên thông dụng là ruồi giấm hay "ruồi trái cây" (fruit-flies). Ruồi giấm phân bố rộng khắp các vùng ôn đới và nhiệt đới trên hành tinh chúng ta.



Hình 4.2 (a) Sự khác nhau về hình thái ngoài giữa ruồi giấm đực (trên) và ruồi giấm cái (dưới); và **(b)** bộ nhiễm sắc thể lưỡng bội $2n = 8$ của chúng, với cặp nhiễm sắc thể giới tính XY- con đực (trái) và XX- con cái.

Giá trị của ruồi giấm *Drosophila* trong các thí nghiệm di truyền nằm trong các đặc điểm sau (các hình 4.2, 4.3 và 4.4):

- Mỗi cặp ruồi giấm sinh được hàng trăm con trong một lứa;
- Vòng đời ngắn, chỉ có hai tuần lễ là chúng có thể nhanh chóng đạt tới tuổi trưởng thành để tham gia sinh sản; và chu kỳ sống có thể rút xuống còn 10 ngày, nếu ở nhiệt độ 25°C . Các ruồi cái trưởng thành về mặt sinh dục nội trong 12 giờ, và chúng lại đẻ trứng hóa nhộng trong hai ngày..
- Sau khi giao phối, các con cái có thể bảo quản các tinh trùng, vì vậy cần thiết phải tiến hành các phép lai với các con cái đang còn trinh (virgin). Ruồi cái còn trinh có thể dễ dàng nhận ra qua màu cứt su (meconium) hay xám nhọt của cơ thể chúng (hình 4.3d) và phân nhộng dưới dạng chấm đen có thể nhìn thấy xuyên qua vùng bụng.
- Ruồi giấm *Drosophila* tương đối dễ nuôi, và dễ dàng phân biệt đực-cái ở các giai đoạn non và trưởng thành để cách ly và tiến hành lai. Bên cạnh sự phân biệt ngoại hình các ruồi non còn trinh như đã nói trên, ở giai đoạn trưởng thành ruồi đực thường khác với ruồi cái ở các điểm sau: cơ thể bé hơn; vùng bụng dưới có ba vạch đen với vạch dưới cùng rộng, trong khi ruồi cái có năm vạch rời nhau; chòm bụng ở con đực hơi tròn và ở con cái nhọn (hình 4.2a).
- Bộ nhiễm sắc thể đầy đủ của các tế bào soma ruồi giấm chỉ có bốn cặp, $2n = 8$ (hình 4.2b). Toàn bộ bộ gene của *Drosophila* đã được xác định trình tự trong thời gian gần đây.



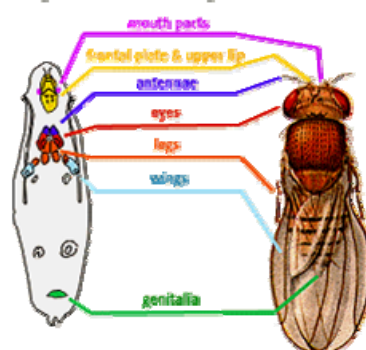
Hình 4.3 Một số thể đột biến quan trọng của ruồi giấm *Drosophila*.

Chú thích: (a-b) thể đột biến mắt trắng và mắt đỏ kiểu dại; (c) con đực trưởng thành (trái) và con đực còn trình có màu cắt su; (d) con cái trình có màu cắt su; (e) các dạng đột biến khác nhau về cánh; (f) thể đột biến này là một ví dụ về hai kiểu hình cánh ngắn/thân màu đen mun; (g) thể đột biến cánh quăn ở con cái (trái) so với con cái bình thường; (h) thể đột biến hai đốt ngực; (i) thể đột biến antennapedia- kiểu chân râu và (j) anten kiểu dài; (k) so sánh thể đột biến anten (dưới) và dạng bình thường (trên); (l) Mắt kiểu dài với các dạng mắt thối (Bar eye) dị hợp và đồng hợp (theo thứ tự từ trên xuống).

- Ruồi giấm có nhiều tính trạng, đặc biệt là các thể đột biến tự phát như mắt trắng hoặc được tạo ra trong phòng thí nghiệm (như thân đen, cánh ngắn, cánh quăn, mắt nâu...); các tính trạng này có thể phân biệt bằng mắt thường, kính lúp hoặc kính hiển vi quang học (hình 4.3 và 4.5).

- Các tế bào tuyến nước bọt của ấu trùng ruồi giấm (hình 4.4) có chứa các nhiễm sắc thể không lồ đa sợi (như đã giới thiệu ở chương 3); đây là điểm thuận lợi cho việc xác định các phân cụ thể của các nhiễm sắc thể. Các băng này tự chúng không phải là các gene nhưng rất hữu ích cho việc lập bản đồ các gene trên các nhiễm sắc thể.

Hình 4.4 Các đĩa mầm (trong ấu trùng) từ đó hình thành nên các cơ quan của ruồi giấm trưởng thành. Từ trên xuống: các phần phụ miệng, mảnh trán và môi trên, anten, mắt, chân, cánh và cơ quan sinh dục.



Ngoài ra, các dụng cụ và hóa chất được sử dụng trong các thí nghiệm ở ruồi giấm là tương đối đơn giản, được giới thiệu ở hình 4.5 dưới đây.



Hình 4.5 Các dụng cụ thí nghiệm với ruồi giấm. (a) ống nghiệm nuôi và lai ruồi giấm; (b) khay đựng các lọ hóa chất và một số vật dụng khác; và (c) kính hiển vi quang học dùng cho nghiên cứu hình thái và tế bào học.

1.2. Các tính trạng được kiểm soát về mặt di truyền của ruồi giấm

Một quần thể bình thường của ruồi giấm *Drosophila* bao gồm các con ruồi điển hình có thân xám, cánh dài và mắt đỏ. Dạng ruồi giấm này là phổ biến nhất, và được các nhà di truyền học xếp vào kiểu dại (wild type).

Nhiều dạng đột biến cũng được phát hiện trong tự nhiên. Một con ruồi đột biến có một xuất phát điểm di truyền ít nhất là một trong số các tính trạng của dạng ruồi giấm bình thường. Các tính trạng đột biến được biết đến bằng một tên gọi. Ví dụ:

đột biến	tên gọi	ký hiệu	đặc tính
mắt trắng	trắng (white)	w	lặn
thân đen mun	mun (ebony)	e	lặn
cánh ngắn	ngắn (vestigial)	vg	lặn
mắt nâu	nâu (brown)	bw	lặn
mắt thoi (Bar)	Bar	B	trội

Các thể đột biến lặn được ký hiệu bằng các chữ cái viết thường, và các tính trạng trội tương ứng được biểu thị bằng các chữ cái viết hoa.

Trong các thí nghiệm lai di truyền, allele bình thường ở một locus cụ thể được các nhà di truyền học trước đây ký hiệu bằng dấu "+". Ký hiệu này thường được bỏ qua ở mức nhập môn, mặc dù nó thường được dùng cho ruồi giấm. Tuy nhiên, đối với bậc Đại học, các allele bình thường được quy cho "kiểu đại" và sử dụng các ký hiệu của các nhà di truyền học.

2. Thuyết di truyền nhiễm sắc thể

Ruồi giấm *Drosophila melanogaster* đã được nhà di truyền học người Mỹ (USA), T.H. Morgan (1866-1945), sử dụng trong nghiên cứu di truyền học từ những năm đầu của thế kỷ XX, trong khi đang làm việc tại Học viện Công nghệ California (California Institute of Technology). Nhờ sử dụng ruồi giấm này, Morgan và các cộng sự của mình đã xây dựng thành công học thuyết di truyền nhiễm sắc thể (chromosome theory of heredity).

Trước tiên, ta hãy tóm lược các nội dung chính của thuyết di truyền nhiễm sắc thể và những đóng góp của trường phái Morgan cho sự phát triển của di truyền học.

(1) Học thuyết này xác nhận rằng: gene là đơn vị cơ sở của tính di truyền nằm trên nhiễm sắc thể. Trên mỗi nhiễm sắc thể có nhiều gene phân bố thẳng hàng, mỗi gene chiếm một vị trí xác định gọi là locus; các gene trên mỗi nhiễm sắc thể hợp thành một nhóm liên kết. Số nhóm liên kết gene chính là số nhiễm sắc thể đơn bội, còn gọi là bộ gene (genome).

(2) Trong quá trình giảm phân, các gene trên cùng nhiễm sắc thể có xu hướng phân ly cùng nhau về giao tử. Đây là cơ sở của hiện tượng di truyền liên kết gene hoàn toàn và di truyền liên kết (linkage) nói chung.

(3) Tuy nhiên, trong quá trình giảm phân có thể xảy ra sự trao đổi chéo (crossing over) ở một số đoạn giữa hai nhiễm sắc thể tương đồng, kéo theo sự trao đổi các gen giữa chúng, còn gọi là tái tổ hợp hay hoán vị gene. Đây chính là cơ sở của hiện tượng liên kết gene không hoàn toàn.

(4) Tần số tái tổ hợp (rate of recombination) của các gene là một số hữu tỷ, thỏa mãn giới hạn từ 0,0 đến 0,5 (tức không vượt quá 50%). Đại lượng này tỷ lệ thuận với khoảng cách giữa các gene và phụ thuộc vào một số yếu tố khác như giới tính cũng như mức độ ức chế bởi các trao đổi chéo đồng thời tại nhiều điểm trên một cặp tương đồng. Dựa vào các tần số tái tổ hợp gene này ta có thể thiết lập bản đồ nhiễm sắc thể (chromosome map) của các loài, hay còn gọi là bản đồ liên kết (linkage map).

(5) Vấn đề các nhiễm sắc thể xác định giới tính (sex-determining chromosomes) và hiện tượng di truyền liên kết với giới tính (sex linkage) được làm sáng tỏ lần đầu tiên bởi học thuyết này.

(6) Ngoài ra, trường phái của Morgan đã xác định rằng: gene - đơn vị

di truyền học then chốt này đóng ba vai trò: (i) Gene là *đơn vị chức năng*, nghĩa là gene được xem như một thể thống nhất toàn vẹn kiểm soát một tính trạng cụ thể. (ii) Gene là *đơn vị tái tổ hợp*, nghĩa là gene không bị chia nhỏ bởi sự trao đổi chéo (vì theo quan điểm này, trao đổi chéo không xảy ra bên trong phạm vi một gene mà chỉ xảy ra giữa các gene); như thế gene được coi là *đơn vị cấu trúc cơ sở của vật chất di truyền*, nhiễm sắc thể. (iii) Gene là *đơn vị đột biến*, nghĩa là nếu đột biến xảy ra trong gene dù ở bất kỳ vị trí nào hoặc với phạm vi ra sao, chỉ gây ra một trạng thái cấu trúc mới tương ứng với một kiểu hình mới, kiểu hình đột biến, khác với kiểu hình bình thường. Tuy nhiên, quan niệm này vẫn còn chưa rõ ràng và không thực sự chính xác theo quan điểm của di truyền học hiện đại (sẽ được thảo luận ở chương 6).

Trong việc xây dựng học thuyết di truyền nhiễm sắc thể, phải kể đến những đóng góp to lớn của các môn đệ xuất sắc của Morgan, đó là: Alfred H. Sturtevant với việc đề xuất phương pháp xây dựng bản đồ di truyền năm 1913; Calvin Bridges với việc phát hiện ra cơ chế xác định các kiểu hình giới tính ở ruồi giấm năm 1916; và Herman J. Muller với sự phát triển phương pháp gây đột biến bằng tia X năm 1927. Nhờ đóng góp to lớn đó, Morgan đã được trao giải thưởng Nobel năm 1933 và Muller - năm 1946.

II. Sự xác định giới tính (sex determination)

Cơ chế tự nhiên mà trong đó một cá thể của một loài phân tính (dioecious species) trở thành con đực hoặc con cái (hay lưỡng tính, hermaphroditic) được gọi là *xác định giới tính* (sex determination). Thực ra, không có một phương thức phổ biến nào cho việc xác định giới tính; nhưng cho đến nay, các nhà sinh học đã khám phá ra nhiều cơ chế xác định giới tính, tập trung vào hai tiêu chí sau (xem các Bảng 4.1- 4.3). Ở một số loài, giới tính được xác định sau khi thụ tinh bởi các nhân tố môi trường như nhiệt độ hoặc sự có mặt của các thể kèm giới tính. Kiểu xác định giới tính này được gọi là *xác định giới tính do môi trường* (environmental sex determination = ESD). Ở các loài khác, giới tính được xác định lúc thụ tinh bằng sự tổ hợp của các gene mà hợp tử nhận được. Kiểu xác định giới tính này được gọi là *xác định giới tính do kiểu gene* (genotypic sex determination = GSD). Dưới đây chúng ta lần lượt xét qua hai hệ thống này (về chi tiết, xem trong: Kalthoff 1997, tr.660-685; và Yablokov 1986, tr.17-30). Riêng vấn đề bất hoạt nhiễm sắc thể X sẽ được thảo luận ở mục II-3-2, vì nó có liên quan đến di truyền liên kết giới tính.

1. Sự xác định giới tính do kiểu gen (GSD)

Ở hầu hết các sinh vật, giới tính được xác định bằng sự sai khác nhiễm sắc thể và các gene trên chúng (bảng 4.1). Ví dụ đầu tiên về sự xác định

giới tính do nhiễm sắc thể được ghi nhận ở rệp *Protenor* năm 1905, trong đó các con cái được khám phá có hai nhiễm sắc thể X và con đực chỉ có một X. Các giao tử đực có thể có một X hoặc không có nhiễm sắc thể X được biết là có tỷ lệ ngang nhau, và các giao tử cái thì lúc nào cũng mang một X, vì vậy số lượng đời con có XX (cái) và X (đực) là ngang nhau.

Sau đó không lâu, nhiều nhà nghiên cứu đã xác định sự có mặt của một nhiễm sắc thể giới tính Y ở các sinh vật khác. Ở các loài này, sự có mặt của Y cùng với một X cho ra con đực, trong khi hai bản sao của X sinh ra một con cái. Với lại, các giao tử đực gồm hai kiểu, vì vậy có số lượng tinh trùng hay hạt phấn mang X và mang Y bằng nhau. Trong trường hợp giới tính có cả hai kiểu nhiễm sắc thể giới tính như thế, thì kiểu XY được gọi là *giới tính dị giao tử* (heterogametic sex), còn kiểu XX được gọi là *giới tính đồng giao tử* (homogametic sex). Ở hình 4.6 cho thấy các nhiễm sắc thể X và Y, và cơ chế xác định giới tính ở người.

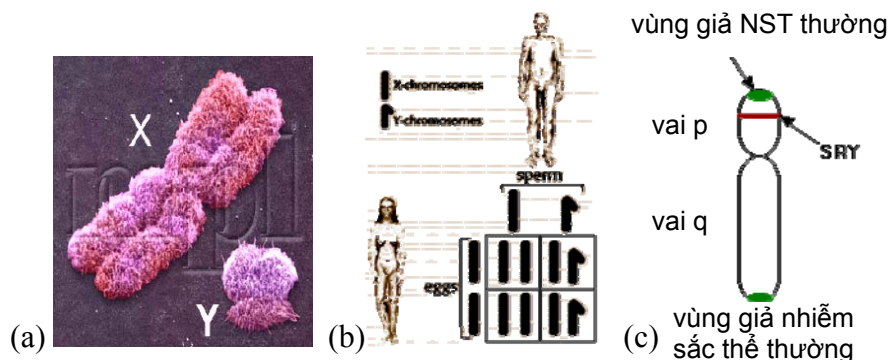
Ở một số sinh vật thuộc các lớp như chim và bò sát thì ngược lại, các con đực (trống) là đồng giao tử và các con cái (mái) là dị giao tử. Để tránh sự nhầm lẫn, người ta thường gọi các nhiễm sắc thể giới tính này là Z và W; như vậy cặp nhiễm sắc thể giới tính con đực là ZZ và con cái là ZW. Kết quả là, các con cái cho hai loại giao tử (một loại mang Z và một loại mang W với tỷ lệ ngang nhau), trong khi các con đực chỉ cho một loại giao tử tất cả đều mang một nhiễm sắc thể Z. Sự hiểu biết về giới tính này cùng với sự di truyền liên kết giới tính có ý nghĩa thực tiễn to lớn trong chăn nuôi gia cầm. Vấn đề này sẽ được thảo luận trở lại ở cuối mục III.

Bảng 4.1 Các kiểu xác định giới tính khác nhau bởi nhiễm sắc thể

Sinh vật	Con cái	Con đực
Hầu hết động vật có vú, một số côn trùng (tất cả bọ hai cánh), một số cá, một số thực vật	XX	XY
Rệp <i>Protenor</i> , một số côn trùng khác, kangaroo	XX	X
Lớp chim, hầu hết các bò sát, bướm đêm	ZW	ZZ
Bộ cánh màng (Hymenoptera)	Lưỡng bội	Đơn bội

Hầu như ở tất cả các động vật có vú, sự có mặt của một nhiễm sắc thể Y cần thiết cho sự phát triển của kiểu hình giống đực. Chẳng hạn, những người mắc hội chứng Turner (45, X) đều là nữ. Hơn nữa, những người mắc hội chứng Klinefelter (47, XXY hoặc 48, XXXY) đều là nam mặc dù họ có thể có tới hai hoặc ba nhiễm sắc thể X. Điều đó chứng tỏ nhiễm sắc thể Y có chứa gene xác định tính đực (maleness). Ngày nay ta biết rõ rằng đó chính là *nhân tố xác định tinh hoàn* (TDF = testis-determining factor) nằm trên vai ngắn nhiễm sắc thể Y (hình 4.6c). Sinclair và cs (1990) gọi

nó là gene *SRY* (sex-determining region Y).



Hình 4.6 (a) Các nhiễm sắc thể X và Y ở động vật có vú, đại diện là người. (b) Cơ chế xác định giới tính ở người. (c) Nhiễm sắc thể Y của người với gene *SRY* nằm kề vùng giả nhiễm sắc thể thường ở đầu mút của vai ngắn.

Cần lưu ý rằng, gần đây người ta cũng đã xác định được gene "chuyển đổi" (switch gene) *SRY* trên nhiễm sắc thể Y bằng cách kiểm tra một vài cá thể hiếm hoi bị *đảo ngược giới tính* (*sex-reversed*), nghĩa là con đực XX và con cái XY. Các con đực XX thực tế có mang một mẫu của Y chứa gene xác định tính đực, còn các con cái XY thì lại thiếu hẳn vùng như vậy ở Y. Chẳng hạn, ở một vài bệnh nhân đảo ngược giới tính vốn là những người nam vô sinh rõ ràng là mang cả hai nhiễm sắc thể X và không có Y, và một số người nữ mắc hội chứng Turner thì lại mang một X và một Y rõ ràng. Các kết quả phân tích kỹ hơn (trên bốn người bệnh đảo ngược giới tính nhờ áp dụng các vật dò DNA được tạo dòng từ nhiễm sắc thể Y vào *Southern blots* toàn bộ DNA bộ gene của họ) cho thấy rằng hầu hết các trường hợp này đều có liên quan đến sự chuyển một đoạn DNA đặc thù trên nhiễm sắc thể Y (nằm sát *vùng giả nhiễm sắc thể thường* - pseudoautosomal region); và chính sự chuyển đoạn này đã gây ra hiện tượng đảo ngược giới tính. Điều này được giải thích là do các sự kiện trao đổi chéo hiếm hoi giữa X và Y trong giảm phân ở người nam hay con đực. Lưu ý rằng gene *SRY*⁺ mã hóa một protein bám DNA và nó được bảo tồn cao độ ở các động vật có vú. John Gubbay và cs (1990) phát hiện ra một gene tương đồng ở chuột, ký hiệu là *Sry*⁺, không có mặt trong chuột cái XY bị đảo ngược giới tính. Ở ruồi giấm, có một thể đột biến autosome của gene "chuyển đổi", *tra* (transformation), mà khi ở trạng thái đồng hợp trong các cá thể XX biến đổi chúng thành những con đực, chứ không phải là các con cái như kỳ vọng. Tình huống ngược lại được biết ở người, trong đó các cá thể mang một đột biến trên nhiễm sắc thể X có một trạng thái gọi là *nữ hóa tinh hoàn* (testicular feminization). Trong trường hợp này, các cá thể XY về mặt kiểu hình là nữ, có ngực nở nang và âm đạo, nhưng

họ đều vô sinh. Đột biến này hiển nhiên là có liên quan tới một chất mang hormone mà nó ngăn không cho những người này tiết ra testosterone; và hậu quả là họ không phát triển được các tính trạng nam thứ cấp.

Bảng 4.2 Tỷ lệ X/A và các kiểu hình giới tính của ruồi giấm *D. melanogaster*
(theo Bridges 1921, trích từ Yablokov 1986)

Bộ nhiễm sắc thể (*)	Tỷ lệ X/A	Kiểu hình giới tính	Ghi chú
3X : 2A	1,50	Siêu cái	Bất thụ, tính trạng thiên về cái
4X : 3A	1,33	Siêu cái	Bất thụ, tính trạng thiên về cái
4X : 4A	1,00	Cái tứ bội	Hữu thụ
3X : 3A	1,00	Cái tam bội	Độ hữu thụ giảm
2X : 2A	1,00	Cái lưỡng bội	Hữu thụ
1X : 1A	1,00	Cái đơn bội	Bất thụ
3X : 4A	0,75	Giới tính trung gian	Bất thụ
2X : 3A	0,67	Giới tính trung gian	Bất thụ
1X : 2A	0,50	Đực lưỡng bội	Hữu thụ
2X : 4A	0,50	Đực tứ bội	Hữu thụ
1X : 3A	0,33	Siêu đực	Bất thụ, tính trạng thiên về đực

(*) X - số nhiễm sắc thể X, A - số bộ đơn bội nhiễm sắc thể thường.

Mặc dù ở ruồi giấm *Drosophila* những con cái là XX và con đực là XY, song sự có mặt của Y không nhất thiết cho kiểu hình đực (như ở động vật có vú). Chẳng hạn, các kiểu hình ngoại lệ này đã được Calvin Bridges, một học trò xuất sắc của Morgan, phát hiện từ năm 1916 đó là các con đực XO có mắt đỏ và các con cái XXY mắt trắng. Sau đó, Bridges phát triển các nòi ruồi giấm tam bội. Khi kiểm tra các cá thể có số lượng nhiễm sắc thể X khác nhau, ông phát hiện ra rằng kiểu hình giới tính ở ruồi giấm là một hàm số của tỷ lệ giữa số lượng các nhiễm sắc thể X (X) và số lượng các bộ nhiễm sắc thể thường (A). Ví dụ, ở bảng 4.2 cho thấy các con cái bình thường có hai nhiễm sắc thể X và hai bộ nhiễm sắc thể thường, nghĩa là tỷ lệ $X/A = 2/2 = 1$. Các con đực bình thường có một X và hai bộ nhiễm sắc thể thường, do đó $X/A = 1/2 = 0,5$. Cũng vậy, các con đực và cái ngoại lệ vẫn có các tỷ lệ tương ứng là 0,5 và 1,0. Khi Bridges kiểm tra các con ruồi có ba nhiễm sắc thể X và hai bộ nhiễm sắc thể thường, tức $3/2 = 1,5$, ông thấy rằng chúng đều là các con cái bất dục (đôi khi gọi là "siêu cái", metafemales), trong khi các con ruồi có một X và ba bộ nhiễm sắc thể thường, $X/A = 1/3 = 0,33$, đều là các con đực bất dục hay gọi là dạng siêu đực (metamales). Cuối cùng, các con ruồi có hai X (XX) và ba bộ nhiễm sắc thể thường, $X/A = 2/3 = 0,67$ và chúng có các đặc điểm kiểu hình của cả hai giới và được gọi là giới tính trung gian (intersexes). Từ các phát hiện này, Bridges đề nghị rằng, nhìn chung, các nhiễm sắc thể X

xác định giới cái và các *nhễm sắc thể thường* (autosomes) xác định giới đực. Nói cách khác, khi tỷ lệ X/A là 1 hoặc lớn hơn, các ruồi giấm sẽ có kiểu hình cái, và khi tỷ lệ X/A là 0,5 hoặc nhỏ hơn thì chúng sẽ có kiểu hình đực. Tuy nhiên, ta cần lưu ý rằng mặc dù thậm chí nhiễm sắc thể Y không nhất thiết cho kiểu hình đực ở ruồi giấm, nhưng nó nhất thiết cần cho độ hữu thụ (các con đực XO và các con ruồi siêu đực đều bất thụ).

Ngoài ra, các sinh vật thuộc bộ cánh màng (Hymenoptera) như ong mật và ong bắp cày, chúng không có nhiễm sắc thể giới tính; trong trường hợp này, như đã nói ở chương 3, con cái là lưỡng bội và con đực là đơn bội. Ví dụ, ở ong mật (*Apis mellifera*), các ong cái bao gồm cả ong chúa lẫn ong thợ là lưỡng bội ($2n = 32$) và các ong đực - đơn bội ($n = 16$). Khi giảm phân, ong chúa cho các giao tử cái ($n = 16$), và ong đực với hiện tượng lưỡng bội giả giảm phân cho các giao tử đực ($n = 16$). Các trứng được thụ tinh ($2n = 32$) phát triển thành các ong cái, chỉ một vài con được ưu tiên mớm sữa chúa liên tục trong 3-5 ngày đầu sẽ phát triển thành ong chúa; còn các trứng không được thụ tinh sẽ phát triển thành các ong đực.

2. Sự xác định giới tính do môi trường (ESD)

Một trường hợp nổi bật nhất về xác định giới tính do môi trường là *Bonellia viridis*, một loại ấu trùng giun biển (Leutert 1975). Các con cái trưởng thành của loài này bám vào các mỏm đá ở đại dương. Cơ thể con cái dài hơn 10 cm, con đực rất bé (1-3 mm) sống ký sinh bên trong con cái. Các ấu trùng của *Bonellia* sống như là thành phần của *sinh vật trôi nổi* (plankton), nghĩa là, các sinh vật nhỏ bé di chuyển thụ động trong nước. Sự xác định giới tính xảy ra khi các ấu trùng được thụ tinh trên một giá thể và biến thái. Những ấu trùng được thụ tinh trong sự cách ly (sống tự do) thì phát triển thành các con cái, trong khi đó các ấu trùng chui vào trong một con cái trưởng thành thì trở thành các con đực. Một số trường hợp khác, chẳng hạn như các trứng cá sấu châu Mỹ (*Alligator*) được đưa vào nhiệt độ cao cho ra hầu hết là con đực, còn nếu ở nhiệt độ thấp cho ra hầu hết là con cái. Ở rùa thì ngược lại (xem bảng 4.3).

Bảng 4.3 Các kiểu xác định giới tính khác nhau do môi trường (ESD)

Loài	Cơ chế	Các giới tính	
Rùa (Turtles)	Nhiệt độ	Ấm: cái	Lạnh: đực
Cá sấu (Alligators)	Nhiệt độ	Lạnh: cái	Ấm: đực
<i>Meloidogyne incognita</i>	Mật độ quần thể	Phân tán: cái	Tập trung: đực
<i>Bonellia viridis</i>	Sự có mặt con cái	Có: đực	Không: cái

Nguồn: Hodgkin (1992), trích chọn theo sửa đổi của Kalthoff (1997, tr.662).

Ngoài ra, giới tính của một số loài cá chịu ảnh hưởng bởi ưu thế sống thành đàn, còn các loài thực vật nào đó lại cho các giới tính khác nhau tùy thuộc vào độ dài ngày hoặc các nhân tố khác ảnh hưởng lên tốc độ sinh trưởng của chúng.

Tóm lại, ở các loài sinh sản hữu tính giao phối, nói chung tỷ lệ đực/cái trên quy mô quần thể-loài là xấp xỉ 1:1, và có thể giải thích bằng cơ chế phân ly của các nhiễm sắc thể giới tính về các giao tử trong quá trình giảm phân và sự kết hợp ngẫu nhiên của chúng trong thụ tinh.

III. Sự di truyền liên kết với giới tính (sex-linked inheritance)

Trong các chương 1 và 2 chúng ta mới chỉ đề cập đến các gene trên *nhiễm sắc thể thường* (autosomes), tức các nhiễm sắc thể tồn tại trong các tế bào soma đúng nghĩa là các cặp tương đồng; vì vậy mà các kết quả lai thuận nghịch là tương đương nhau. Tuy nhiên, một số thí nghiệm của Morgan ở ruồi giấm vào năm 1910 cho thấy các kết quả *lai thuận nghịch* (reciprocal crosses) là khác nhau. Dưới đây ta xét một số trường hợp di truyền liên kết với giới tính chủ yếu ở ruồi giấm và ở người, mối liên quan giữa di truyền liên kết giới tính và sự bất hoạt của nhiễm sắc thể X, cũng như sự di truyền của một số tính trạng bị giới hạn bởi giới tính và chịu ảnh hưởng của giới tính.

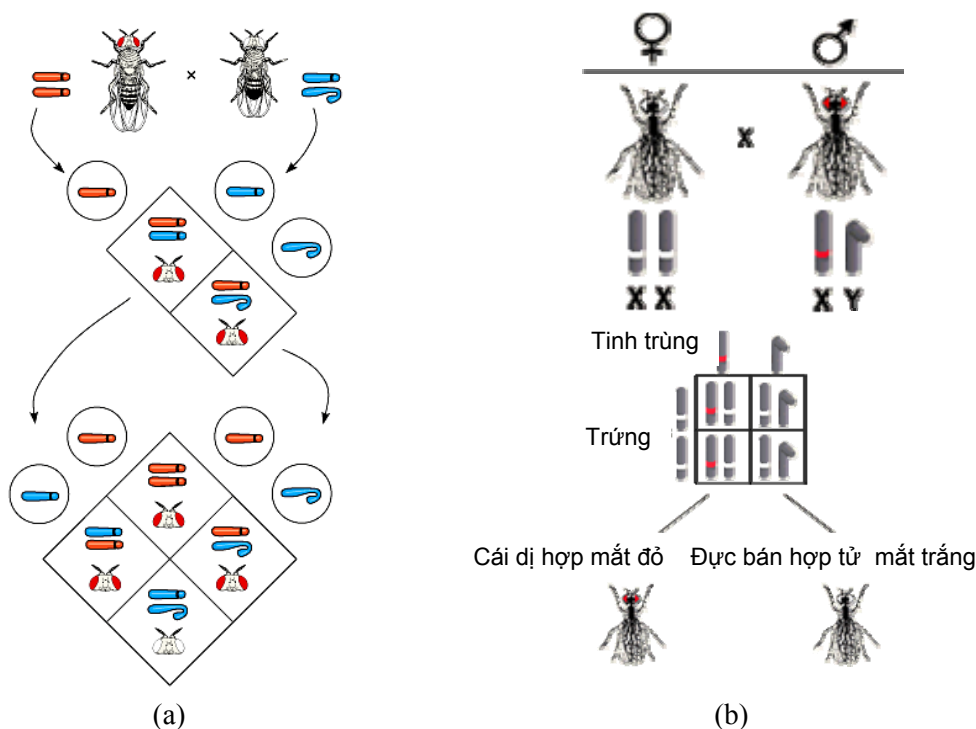
1. Đặc điểm di truyền của các gen trên nhiễm sắc thể X và Y

Bản chất của các nhiễm sắc thể giới tính X và Y là khác nhau (hình 4.6). Trong khi nhiễm sắc thể X thường rất lớn và mang nhiều gene kiểm soát chủ yếu các tính trạng thường, thì nhiễm sắc thể Y lại rất bé và chứa ít gene. Vì vậy sự *di truyền liên kết với giới tính* (sex-linked inheritance), tức sự di truyền của các gen trên các nhiễm sắc thể giới tính cũng khác nhau.

1.1. Sự di truyền liên kết - X

Hiện tượng di truyền liên kết giới tính được Morgan khám phá lần đầu tiên ở ruồi giấm *Drosophila*. Bình thường màu mắt của ruồi giấm có màu đỏ. Trong một quần thể *Drosophila* nuôi qua nhiều thế hệ, Morgan đã phát hiện một thể đột biến mắt trắng ở ruồi đực (xem hình 4.3a-b). Khi cho lai giữa ruồi đực mắt trắng này với ruồi cái mắt đỏ thuần chủng, ở đời con F_1 nhận được tất cả mắt đỏ (đúng như kỳ vọng allele mắt trắng là lặn). Sau khi cho tạp giao các ruồi F_1 với nhau, ở F_2 thu được 2.459 ruồi cái mắt đỏ, 1.011 ruồi đực mắt đỏ và 782 ruồi đực mắt trắng. Nhìn chung, tỷ lệ đỏ : trắng không gần với tỷ lệ 3:1. Tuy nhiên, kết quả bất ngờ là tất cả các con ruồi mắt trắng đều là đực (hình 4.7a)! Hơn nữa, khi cho ruồi đực mắt trắng lai với ruồi cái mắt đỏ F_1 , đời con sinh ra gồm cả hai loại mắt đỏ và trắng ở mỗi giới tính với tỷ lệ tương đương. Điều đó chứng tỏ tính trạng mắt

trắng phân bố ở cả hai giới, chứ không phải chỉ ở giới đực. Mặt khác, khi tiến hành phép lai nghịch giữa ruồi cái mắt trắng ở F_2 trong thí nghiệm nói trên với ruồi đực mắt đỏ, kết quả thu được khác với phép lai thuận trước đây, tất cả ruồi cái mắt đỏ và tất cả ruồi đực mắt trắng (hình 4.7b).



Hình 4.7 Các phép lai thuận nghịch về mắt trắng và mắt đỏ ở ruồi giấm. (a) Phép lai thuận: $P = \text{cái mắt đỏ} \times \text{đực mắt trắng} \rightarrow F_1 \text{ tất cả đỏ} \rightarrow F_2 \text{ 3 đỏ : 1 trắng}$ (mắt trắng chỉ có ở giới đực); và (b) Phép lai nghịch: $P = \text{cái mắt trắng} \times \text{đực mắt đỏ} \rightarrow F_1 \text{ gồm tất cả ruồi cái mắt đỏ và tất cả ruồi đực mắt trắng}$.

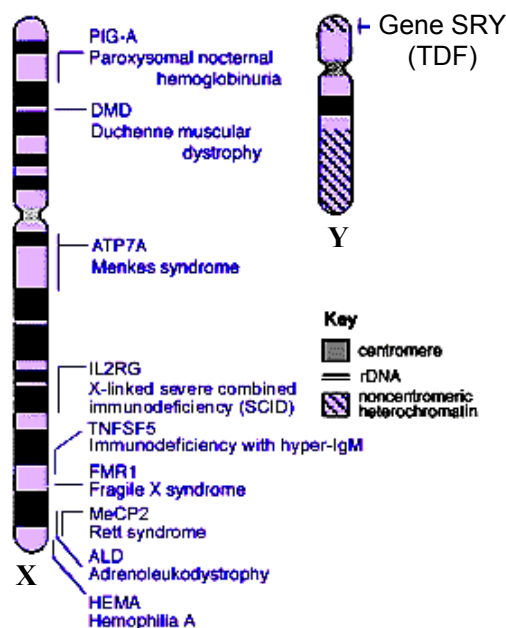
Với các kết quả đó, Morgan cho rằng các tính trạng mắt đỏ và mắt trắng này di truyền liên kết giới tính, do các allele trội (w^+) và (w) lặn tương ứng nằm trên nhiễm sắc thể X kiểm soát; ở con cái là XX và ở con đực là XY. Và thuật ngữ *bán hợp tử* (hemi-zygote) được ông dùng để mô tả trường hợp này.

Ta có thể tóm tắt các đặc điểm của sự di truyền liên kết X như sau: (1) Một cơ thể cái dị hợp tử sẽ truyền allele lặn cho một nửa con cái và một nửa con đực của nó. (2) Allele lặn ở con đực tồn tại ở trạng thái bán hợp tử sẽ biểu hiện ra kiểu hình lặn (nên kiểu hình lặn này phổ biến ở giới đực), và con đực sẽ truyền allele lặn này cho các con cái (female) của nó. (3) Hiện tượng di truyền allele lặn từ bố cho con gái và biểu hiện ở cháu ngoại

traí như thế rõ ràng là có sự cách quãng thể hệ, và nó được gọi là *di truyền chéo*. (4) Nói chung, việc nhận biết một tính trạng nào đó tuân theo quy luật di truyền liên kết-X có thể dựa vào các tỷ lệ kiểu hình khác nhau từ các phép lai thuận nghịch, hoặc sự phân bố không đều của các kiểu hình ở hai giới, hoặc bằng cách sử dụng "phép thử độc lập" (quy tắc nhân) như đã nói ở chương 1.

Bây giờ ta xét sơ qua sự di truyền liên kết giới tính (các gene trên X) ở người. Năm 1994, McKusick liệt kê 161 locus đã được xác định trên nhiễm sắc thể X người. Tuy nhiên, theo thống kê của OMIM, tính đến ngày 8/2/2005 con số này là 539 (OMIM 2005) trong tổng số hơn 1.400 gene chứa trong 150 triệu cặp base của nhiễm sắc thể này (NCBI 2005). Dù nhiễm sắc thể X mang hàng trăm gene như vậy nhưng rất ít gene này, nếu có, trực tiếp tác động lên giới tính. Tuy nhiên, như đã nói, sự di truyền của các gene này tuân theo các quy tắc đặc biệt, vì: (i) người nam chỉ có một nhiễm sắc thể X đơn độc; (ii) hầu như tất cả các gene trên X không có các gene tương ứng trên Y; do vậy (iii) bất kỳ gene nào trên X sẽ được biểu hiện ở nam giới, dù nó là lặn ở nữ giới. Những người nữ dị hợp tử được gọi là "*thể mang*" (carrier) vì mặc dù họ không cho thấy các triệu chứng, nhưng lại truyền gene này cho khoảng một nửa số con trai (sẽ phát triển bệnh) và một nửa cho con gái của họ (cũng là các thể mang).

Một ví dụ quen thuộc về sự di truyền liên kết-X là bệnh *máu khó đông* (hemophilia) do một allele lặn của gene hemophilia A nằm gần đầu mút vai dài gây ra (hình 4.8). Các cá thể bị bệnh này mất khả năng tổng hợp một protein (nhân tố VIII) cần thiết cho sự đông máu bình thường. Một phả hệ nổi tiếng của bệnh này bắt đầu từ gia đình nữ hoàng Victoria nước Anh (England). Một trong số các con trai của nữ hoàng bị bệnh máu khó đông, và hai trong số các cô con gái của bà là các thể dị hợp tử về gene này (đã sinh ra



Hình 4.8 Bản đồ nhiễm sắc thể X của người (bên trái) cho thấy vị trí một số gene bệnh, và sự không tương đồng giữa nó với nhiễm sắc thể Y.

ba cháu ngoại trai của bà đều mắc bệnh máu khó đông và bốn cháu ngoại gái tất cả đều dị hợp tử). Các allele lặn từ hai trong số bốn cô gái (cháu ngoại) dị hợp tử này đã được nhập vào các gia đình hoàng tộc của Nga và Tây Ban Nha. Còn gia đình hoàng tộc nước Anh hiện giờ do phát xuất từ một hoàng tử bình thường của nữ hoàng nên không mắc bệnh này. Hình 4.9 cho thấy gia đình của Czar Nicholas II nước Nga (Russia), trong đó người vợ Alexandra chính là cháu ngoại gái của nữ hoàng Victoria. Cậu con trai Alexis của họ (phía trước hình) mắc bệnh hemophilia và đã bị hành hình ở tuổi 14. Trong khi bốn cô con gái của họ đều bình thường. Đối với bệnh hemophilia, các kiểu gene và kiểu hình của những người nữ và nam thường được biểu diễn như sau:

Nữ	Kiểu gene	Kiểu hình	Nam	Kiểu gene	Kiểu hình
	$X^H X^H$	bình thường		$X^H Y$	bình thường
	$X^H X^h$	thể mang		$X^h Y$	bệnh
	$X^h X^h$	bệnh			

Bệnh hemophilia chỉ ảnh hưởng đến 0,004% (hay 1/25.000) trong số nam giới của quần thể, nghĩa là tần số allele này bằng 0,00004. Vậy xác suất để cho một người nữ mắc bệnh này là khoảng $(0,00004)^2$.

Hình 4.9 Một bức ảnh của gia đình Hoàng đế Czar Nicholas II. Vợ ông, Czarina Alexandra, ngồi bên trái, với bốn cô con gái tất cả đều có máu đông bình thường, và riêng mỗi cậu con trai Alexis (phía trước) bị bệnh hemophilia.



Một trường hợp khác khá phổ biến là bệnh mù màu đỏ-lục (red-green colour blindness). Những người mắc bệnh này không thể phân biệt các màu mà những người khác nhìn thấy như màu lục, vàng, cam và đỏ (chúng được nhìn thấy như là một màu). Để phát hiện dạng bệnh này người ta sử dụng các sơ đồ màu chẳng hạn như *Phiếu trắc nghiệm mù màu của Ishihara* (Ishihara's tests for colour blindness). Bệnh này do một allele lặn trên X (nằm giữa hai gene hemophilia A và B) gây ra; ở nam giới có khoảng 8% mắc bệnh này trong khi ở nữ chỉ khoảng 0,4%.

Ngoài ra, rối loạn dưỡng cơ Duchenne (Duchenne muscular dystrophy = DMD) là một căn bệnh quái ác thảm thương mà hầu hết xảy ra ở trẻ em, cuộc đời chúng gắn chặt với chiếc xe lăn, hít thở cũng khó khăn. Hiện giờ

một người bệnh này cũng hiếm khi sống sót quá 20 tuổi. Bệnh DMD ảnh hưởng tới 1 trên 4.000 trẻ em nam, và khoảng 1/3 trong số đó là hậu quả của các đột biến tự phát trong gene này. Gene DMD nằm trên vai ngắn của nhiễm sắc thể X (xem hình 4.8). Theo số liệu hiện giờ, gene DMD là gene có kích thước lớn nhất, khoảng 2,4 triệu cặp base, tương ứng khoảng 1,5% chiều dài của nhiễm sắc thể X ($2,4 \times 10^6 : 150 \times 10^6 = 0,016$).

Trước khi kết thúc phần này, ta hãy đề cập một vài ứng dụng thực tiễn của sự hiểu biết về di truyền giới tính và liên kết với giới tính. Trong chăn nuôi gia cầm, việc xác định giới tính lúc chúng còn non hoặc thậm chí ở giai đoạn trứng thật là quan trọng. Chẳng hạn, ở gà, một gene trên nhiễm sắc thể Z có một allele lặn xác định màu lông vàng ($Z^S Z^S$ hoặc $Z^S W$), và một allele trội xác định lông bạc ($Z^s Z^s$, $Z^S Z^s$ hoặc $Z^S W$). Khi cho lai giữa con mái lông bạc ($Z^S W$) và con trống lông vàng ($Z^s Z^s$) sẽ cho đời con tất cả con trống lông bạc ($Z^S Z^s$) và tất cả con mái lông vàng ($Z^S W$). Rõ ràng là, với hiểu biết quy luật di truyền chéo, cho phép ta dễ dàng xác định giới tính khi gà con mới một ngày tuổi. Bạn hãy kiểm tra phép lai ngược lại (chẳng hạn $Z^s Z^s \times Z^S W$) xem thử liệu phép lai này có thể dùng để xác định giới tính của các con mới nở hay không?

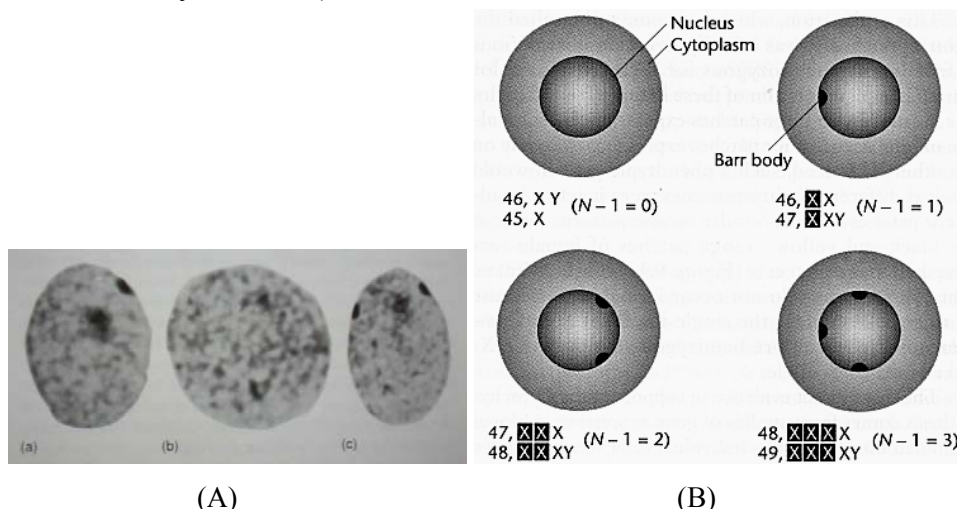
1.2. Sự di truyền liên kết-Y

Nói chung, nhiễm sắc thể Y rất bé, chứa ít gene. Nhiễm sắc thể Y ở ruồi giấm hầu như không mang gene, trong khi đó ở người có 48 gene đã biết trình tự trong tổng số hơn 200 gene được ước tính là chứa trong khoảng 50 triệu cặp base (OMIM-NCBI 2005). Ở hai đầu mút của nhiễm sắc thể Y có hai vùng được gọi là các *vùng giả nhiễm sắc thể thường* (pseudautosomal regions; hình 4.6c) bởi vì các gene định khu bên trong chúng (cho đến nay chỉ phát hiện được 9 gene) đều được di truyền giống như bất kỳ các gene nào thuộc nhiễm sắc thể thường. Và sự trao đổi chéo giữa X và Y chỉ có thể xảy ra ở hai vùng tương đồng rất nhỏ này của Y.

Mặc dù 95% của nhiễm sắc thể Y nằm giữa các vùng giả tương đồng, nhưng số gene được phát hiện ở đây là chưa tới 80. Một số gene này mã hóa các protein dùng chung cho tất cả các tế bào (và cả hai giới tính). Những gen còn lại mã hóa các protein hình như chỉ hoạt động trong các tinh hoàn. Gene chủ chốt nhất ở nhóm sau là gene xác định tinh hoàn *TDF*, hay gene *SRY*, định khu trên vai ngắn ngay bên ngoài vùng giả nhiễm sắc thể thường (hình 4.6c). Các tính trạng được quy định bởi các gene nằm ở vùng không tương đồng này của Y được di truyền theo *đường thẳng* (straightforward), nghĩa là: (i) Chúng chỉ biểu hiện ở nam giới; và (ii) chúng luôn luôn được truyền từ bố cho con trai.

2. Sự bất hoạt của nhiễm sắc thể X và một số vấn đề liên quan

Ở tất cả các động vật có vú kể cả người, nhiễm sắc thể X khác biệt với các nhiễm sắc thể khác ở chỗ chỉ có một chiếc hoạt động trong một tế bào. Các con cái (gái) có hai nhiễm sắc thể X, bình thường chỉ một chiếc là hoạt động và chiếc kia bất hoạt. Nhiễm sắc thể X bất hoạt kết vón tạo thành một cấu trúc bất màu tối sẫm, thường có dạng thấu kính lồi bám vào mặt trong màng nhân, gọi là *thể Barr* (Barr body) (hình 4.10). Nó mang tên của người khám phá đầu tiên là Murray Barr. Các con đực bình thường chỉ có một X và ở trạng thái hoạt động trong tất cả các tế bào, do vậy không có thể Barr. Về nguyên tắc, số thể Barr bằng số nhiễm sắc thể X (ở hình 4.10B, ký hiệu là N) trừ đi một.



Hình 4.10 (A) Ảnh chụp các nhân từ các tế bào của (a) một con cái (XX) với một thể Barr, (b) một con đực (XY) với không thể Barr nào, và (c) một con cái XXX với hai thể Barr. (B) Sơ đồ minh họa sự hình thành thể Barr trong các trường hợp khác nhau.

• **Cơ chế bất hoạt-X:** Sự bất hoạt của một nhiễm sắc thể X cần đến một gene trên nhiễm sắc thể này gọi là *XIST*. Gene *XIST* mã hóa một phân tử RNA lớn (một kiểu khác với các RNA, như mRNA, được sử dụng trong tổng hợp protein). Phân tử RNA của gene *XIST* tích tụ dọc theo nhiễm sắc thể X có chứa gene *XIST* hoạt động và gây bất hoạt tất cả (hoặc hầu như tất cả) hàng trăm gene khác trên nhiễm sắc thể đó. Một điểm cần lưu ý là, RNA của gene *XIST* không di chuyển trên nhiễm sắc thể X nào khác ở trong nhân. Các thể Barr là những nhiễm sắc thể X bất hoạt được "son phết" (painted) bởi RNA *XIST*. (Rastan 1994; Lee và Jaenisch 1997).

Trong những giai đoạn đầu của sự phát triển phôi cái, locus *XIST* trên mỗi trong số hai nhiễm sắc thể X của nó được biểu hiện nhưng RNA *XIST* nhanh chóng bị bẻ gãy. Rồi một điều gì đó xảy ra để thông báo trước sự

cân bằng đối với một chiếc này hoặc chiếc kia của các nhiễm sắc thể X. Sự phiên mã tiếp tục trên một trong số các nhiễm sắc thể X, dẫn tới việc tích tụ của RNA *XIST* và làm biến đổi nhiễm sắc thể đó thành ra một thể Barr bất hoạt. Sự phiên mã của *XIST* dừng lại trên nhiễm sắc thể X khác cho phép tất cả hàng trăm gene khác của nó được biểu hiện. Sự tắt ngấm của locus *XIST* trên nhiễm sắc thể X hoạt động được tiến hành bằng việc methyl hóa các *trình tự điều hòa XIST* (*XIST* regulator sequences). Sự *methyl hóa DNA* (DNA methylation) thường xảy ra trong biểu hiện gene cho nên sự methyl hóa khóa chặt hẳn sự biểu hiện của gene *XIST* và nó cho phép biểu hiện liên tục của tất cả các gene liên kết-X còn lại. Ngoài ra, sự bất hoạt-X ở phôi cái là hoàn toàn ngẫu nhiên đối với một trong hai X (hình 4.10B), và nó xảy ra sớm trong quá trình phát triển phôi (ở giai đoạn khoảng 2.000 tế bào). Không thể dự đoán liệu X từ bố hay X từ mẹ bị bất hoạt trong một tế bào nào đó. Nhưng đây không phải là trường hợp cho các *màng ngoài phôi* (extraembryonic membranes); ở tất cả các tế bào của các màng này thì chỉ có nhiễm sắc thể X của người bố là bị bất hoạt (Rastan 1994; Lee và Jaenisch 1997; Kimball 2004).

- **Một số gene trên X thoát khỏi sự bất hoạt:** Vấn đề đặt ra là, với 18 gene được phát hiện trên Y cũng như X thì sao? Sẽ không có nhu cầu nào cho các con cái (females) làm bất hoạt một bản sao của các gene đó để giữ cân bằng với tình huống ở các con đực. Thế thì chúng quản lý điều tiết việc này ra sao vẫn còn chưa được khám phá (Kimball 2004).

- **Chẩn đoán các bất thường nhiễm sắc thể X:** Rõ ràng là, sự hiểu biết về hiện tượng này có ứng dụng thực tế to lớn trong chẩn đoán trước sinh hoặc kiểm tra các bệnh tật ở những người trưởng thành có thể có liên quan đến các đột biến lệch bội nhiễm sắc thể X. Chẳng hạn, để chẩn đoán trước sinh, người ta sử dụng phương pháp *chọc ối* (amniocentesis), rồi làm tiêu bản kiểm tra sự bất thường nhiễm sắc thể và thiết lập kiểu nhân. Công thức tổng quát cho trường hợp này là:

$$\text{Số nhiễm sắc thể X} = \text{số thể Barr} + 1$$

Như vậy, những người nam bình thường và các cá thể mắc hội chứng Turner (XO) không có thể Barr nào; những người nữ bình thường và các cá thể mắc hội chứng Klinefelter (XXY) có một thể Barr; những cá thể XXX có hai thể Barr v.v. (xem Hình 4.10B).

- **Giải thích sự hình thành các thể khảm di truyền:** Với cơ chế bất hoạt ngẫu nhiên của các nhiễm sắc thể X, các tế bào của con cái sẽ là *thể khảm di truyền* (genetic mosaics) về hai nhiễm sắc thể X của nó. Đây là nguyên nhân dẫn tới sự hình thành màu lông "sọc vằn" hay tam thể ở mèo cái (*Felix catus*). Ta có thể hình dung mối quan hệ giữa kiểu gene và kiểu

hình ở mèo liên quan tới một gene xác định màu lông trên nhiễm sắc thể X như sau: Nếu quy ước allele B - màu đen và allele O- màu da cam, ta có:

Cái	Kiểu gene	Kiểu hình	Đực	Kiểu gene	Kiểu hình
	$X^B X^B$	đen		$X^B Y$	đen
	$X^O X^O$	da cam		$X^O Y$	da cam
	$X^B X^O$	tam thể			

Như vậy, để cho mèo đực là tam thể rõ ràng là nó phải có hai nhiễm sắc thể X, $X^B X^O Y$, nghĩa là thể dị bội về nhiễm sắc thể giới tính. Điều này rất hiếm khi xảy ra trên thực tế. Đến đây ta thấy rằng việc giải thích sự xuất hiện mèo tam thể bằng cơ chế tương tác giữa các gene allele theo kiểu đồng trội trong nhiều tài liệu trước đây và cả hiện nay là không đúng! Đó cũng là lý do tại sao chúng tôi đưa mục này vào đây mà không đặt nó trong chương 3 (khi xem xét các thể đột biến lệch bội) hoặc sau mục II-1 của chương này như cách làm truyền thống.



Hình 4.11 Sự hình thành màu sắc bộ lông ở mèo tam thể được giải thích bằng sự bất hoạt ngẫu nhiên của các nhiễm sắc thể X.

3. Các tính trạng giới hạn bởi giới tính và chịu ảnh hưởng của giới tính

Như đã nói ở trên, thông thường các tính trạng có sự phân bố không đồng đều giữa hai giới tính hoặc tập trung ở một giới làm ta liên tưởng tới quy luật di truyền liên kết với giới tính do gene hoặc trên X (di truyền chéo) hoặc trên Y (di truyền thẳng). Tuy nhiên, một số tính trạng được biểu hiện một cách khác biệt ở cả hai giới nhưng không phải là liên kết với giới tính. Đó là những tính trạng bị giới hạn bởi giới tính hoặc là chịu ảnh hưởng của giới tính.

(1) *Các tính trạng bị giới hạn bởi giới tính* (sex-limited traits): đó là những tính trạng chỉ biểu hiện ở một giới. Có nhiều tính trạng như vậy liên quan với các đặc điểm sinh sản ở các động vật cái. Chẳng hạn, khả năng cho sữa ở các gia súc như trâu-bò, khả năng đẻ trứng ở gia cầm và lớp chim nói chung, hoặc tập tính đẻ trứng ở các côn trùng.

Bảng 4.4 Ví dụ về tính trạng chịu ảnh hưởng của giới tính ở Cừu

	<i>HH</i> (Suffolk)	<i>Hh</i> (Con lai)	<i>hh</i> (Dorset có sừng)
Con đực	Không sừng	Có sừng	Có sừng
Con cái	Không sừng	Không sừng	Có sừng

(2) *Các tính trạng chịu ảnh hưởng của giới tính (sex-influenced traits)*: đó là những tính trạng được xác định bởi các gene trên nhiễm sắc thể thường nhưng lại biểu hiện một cách khác biệt ở hai giới. Chẳng hạn, các gene xác định sự có sừng (horn) ở cừu được biểu hiện một cách khác biệt ở các con đực và con cái. Ở một số giống cừu, như giống cừu Suffolk, sừng chẳng thấy ở giới nào cả (chúng được gọi là cừu không sừng), trong khi ở các giống khác, như giống cừu có sừng Dorset (Dorset Horn), thì cả hai giới đều có sừng mặc dù các sừng của con đực lớn hơn sừng của con cái rất nhiều. Khi lai giữa hai giống cừu này với nhau, các con lai thu được là những thể dị hợp tử về gene *H* thuộc nhiễm sắc thể thường (*Hh*); tuy kiểu gene như nhau nhưng chỉ có ở con đực mới có sừng, còn con cái không có sừng (Bảng 4.4). Điều đó chứng tỏ rằng, ở các cá thể dị hợp tử, chính sự có mặt của các hormone đực hoặc cái xác định phát triển sừng hay là không phát triển sừng. Người ta cho rằng hiện tượng *hói đầu sớm* (premature baldness) ở người, thường xảy ra trước tuổi 35, tuân theo cùng kiểu di truyền như trường hợp vừa xét ở cừu; nghĩa là, hói đầu là trội ở những người nam dị hợp tử (*Bb*) và lặn ở những người nữ dị hợp tử (*Bb*). Đó là lý do tại sao chúng hói đầu rất hiếm khi thấy ở phụ nữ.

IV. Liên kết và tái tổ hợp của các gen trên một nhiễm sắc thể

Trước khi đề cập vào các khám phá của Morgan về hiện tượng di truyền liên kết ở ruồi giấm, ta cần lưu ý rằng: Vào năm 1906, Bateson và Punnett đã nghiên cứu sự di truyền của các tính trạng khác nhau ở cây đậu ngọt (sweet pea). Trong một thí nghiệm kiểm tra sự di truyền đồng thời của màu hoa và hình dạng hạt phấn, họ đã thu được các kết quả ở F_2 không phù hợp với tỷ lệ 9:3:3:1 của Mendel. Kết quả các phép lai (kể cả quy ước gene) được trình bày tóm tắt ở hình 4.12.

P_{tc}	Hoa tím, hạt phấn dài × Hoa đỏ, hạt phấn tròn
	(PPLL) (ppll)
F_1	Hoa tím, hạt phấn dài
	(PpLl)
F_1 (tự thụ phấn) → F_2	

Kiểu hình	Số quan sát (<i>O</i>)	Số kỳ vọng (<i>E</i>)	$(O - E)^2 / E$
Tím, dài	296	240,2	13,1
Tím, tròn	19	80,1	46,5
Đỏ, dài	27	80,1	35,1
Đỏ, tròn	85	26,7	127,3
Tổng	427	427,1	$\chi^2 = 222,0$

Hình 4.12 Kết quả lai hai tính của Bateson và Punnett ở đậu ngọt.

Rõ ràng là tỷ lệ F_2 được quan sát và kỳ vọng theo tỷ lệ 9:3:3:1 là hoàn toàn không khớp nhau; nếu kiểm tra bằng phương pháp χ^2 , sự sai khác này cao một cách đáng kể và không phù hợp với giả thuyết phân ly độc lập. Hai ông đã cố gắng đưa nó về tỷ lệ 7:1:7:1 để giải thích bằng kiểu tương tác gene, nhưng không thành công. Và cuối cùng, họ đã đưa ra gợi ý rằng bởi vì hai kiểu hình bố mẹ vượt quá mức cho phép ở F_2 , có lẽ có một sự nối kết giữa các allele dạng bố mẹ. Đối với hiện tượng gây nhiễu lên sự phân ly độc lập này, họ gọi là kiểu *kết nối* (coupling). Mặt khác, họ cho rằng số lượng thấp của các kiểu F_2 vốn có một kiểu hình trội ở gene này và một kiểu hình lặn ở gene kia, là do ái lực âm tính tự nhiên của các allele trội và lặn, và họ gọi là kiểu *đẩy nhau* (repulsion).

1. Khám phá về sự trao đổi chéo ở ruồi giấm

Để giải thích về mặt vật lý các quan sát của Bateson và Punnett, vài năm sau đó Morgan đã tiến hành hàng loạt thí nghiệm sử dụng đồng thời hai gene ở *Drosophila*, mà mỗi gene đều có hai allele lặn và trội (ký hiệu allele dựa theo tên của thể đột biến lặn trong tiếng Anh như đã đề cập). Có thể kể một số thí nghiệm mà ông đã làm sau đây: (i) một gene kiểm soát màu mắt (pr : tím và pr^+ : đỏ đại) và gene kia kiểm soát cánh (vg : ngắn và vg^+ : dài bình thường); (ii) màu mắt (w : trắng và w^+ : đỏ) và dạng cánh (m : cánh bé và m^+ : cánh bình thường); hoặc (iii) màu thân (e : mun và e^+ : xám) và dạng cánh (c : cánh cong và c^+ : cánh thẳng) v.v... Bây giờ ta hãy xét một trường hợp quen thuộc, đó là: gene quy định màu sắc thân (allele lặn b : đen và allele trội B : xám) và gen xác định chiều dài cánh (vg : cánh ngắn và Vg : cánh dài bình thường).

• Morgan cho lai giữa hai dòng ruồi thuần chủng thân xám, cánh dài ($BBVgVg$) và thân đen, cánh ngắn ($bbvgvg$), ở đời con F_1 ông thu được tất cả các con đực và cái đều có thân xám, cánh dài ($BbVgvg$). Nhưng khi đem lai phân tích các con đực và cái F_1 , kết quả hoàn toàn khác nhau.

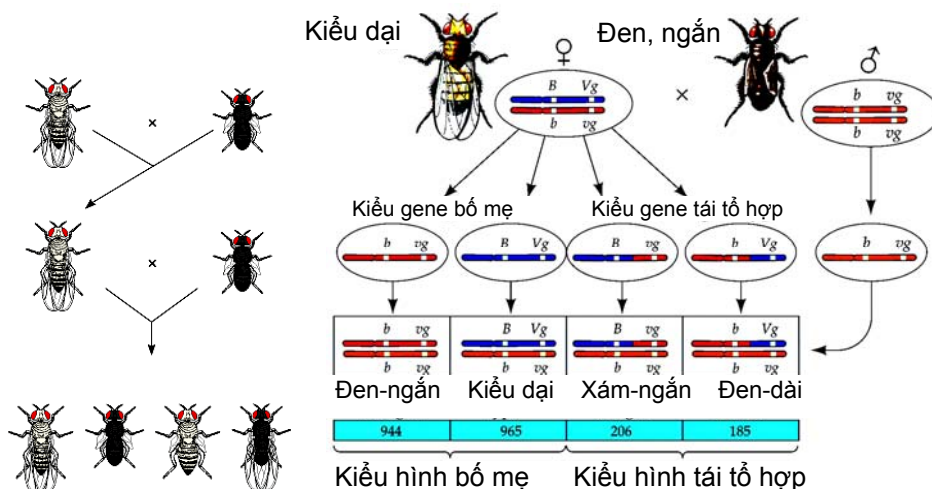
Trước tiên, ta xét phép lai phân tích giữa các con cái xám-dài F_1 với con đực đen-ngắn. Kết quả các phép lai này cho đời con có đủ cả bốn kiểu hình (xem hình 4.13a), nhưng với tỷ lệ quan sát khác xa với tỷ lệ kỳ vọng 1:1:1:1 (xem hình 4.13b), như sau:

Kiểu hình	xám-dài	đen-ngắn	xám-ngắn	đen-dài	Tổng
Số liệu quan sát	965	944	206	185	2300
Số liệu kỳ vọng	575	575	575	575	2300
Các kiểu hình bố mẹ		Các kiểu hình tái tổ hợp			

Từ kết quả đời con của lai phân tích ruồi cái F_1 còn cho thấy các kiểu hình bố mẹ ban đầu là xấp xỉ nhau, chiếm 83% ($[965 + 944]: 2300 =$

0,83); các kiểu hình tái tổ hợp cũng có số lượng gần như tương đương, chiếm 17% ([206 + 185]: 2300 = 100% - 83% = 0,17). Điều này chỉ có thể lý giải nếu như các gene nằm trên cùng nhiễm sắc thể, hay gọi là liên kết (linkage), và trong quá trình giảm phân ở ruồi cái có xảy ra sự *trao đổi chéo* (crossing over) hay *tái tổ hợp* (recombination) giữa hai gene này.

Thật vậy, trong phép lai phân tích này, ruồi đực đen-ngắn (bvg/bvg) chỉ cho một loại giao tử chứa cả hai allele lặn, bvg . Từ đây suy ra ruồi cái F_1 đã xảy ra trao đổi chéo và cho bốn loại giao tử tương ứng với tỷ lệ các kiểu hình ở đời con: (i) Các kiểu bố mẹ (*parental*) mỗi kiểu có tỷ lệ trung bình là 41,5% ($BVg = bvg = 0,415$); và (ii) Các kiểu tái tổ hợp (*recombinant*) mỗi kiểu có tỷ lệ trung bình là 8,5% ($Bvg = bVg = 0,085$). Như thế, dựa vào thành phần gene của P hoặc thành phần allele của các giao tử chiếm tỷ lệ cao (tức các kiểu bố mẹ) ta dễ dàng xác định được kiểu gene của F_1 là BVg/bvg (kiểu *cis*).



Hình 4.13 Kết quả của các phép lai P và lai phân tích ruồi cái F_1 (trái) và giải thích bằng cơ sở tế bào học của kết quả lai phân tích ruồi cái F_1 .

• Trong thí nghiệm thứ hai, Morgan lai hai kiểu gene, mỗi kiểu là đồng hợp về allele trội ở một gene này và đồng hợp về allele lặn ở một gene kia ($BBvgvg \times bbVgVg$). Các ruồi F_1 dị hợp tử kép ($BbVgvg$) sau đó được lai với dòng kiểm tra $bbvgvg$. Kết quả của phép lai này, so với thí nghiệm trước, cho thấy ở đời con có sự đảo ngược giữa nhóm các kiểu bố mẹ và nhóm các kiểu tái tổ hợp; nghĩa là, số lượng đời con mang các tính trạng trội đơn (Bvg/bvg và bVg/bvg) cao hơn nhiều so với kỳ vọng, trong khi số lượng đời con mang các tính trạng trội kép (BVg/bvg) và các tính trạng lặn kép (bvg/bvg) thấp hơn nhiều so với kỳ vọng. Như vậy, F_1 có kiểu gene Bvg/bVg (kiểu *trans*).

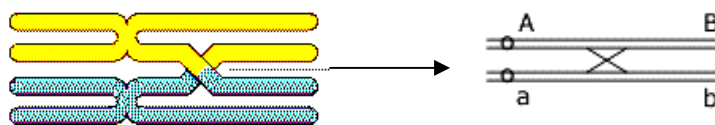
• *Ghi nhớ:*

(1) Sự kiện trao đổi chéo thường được chỉ ra trên các sơ đồ bằng một 'dấu chéo' (×) nối giữa các nhiễm sắc thể tương đồng (hình 4.14).

(2) Đối với trường hợp dị hợp tử kép về hai cặp gen liên kết, có hai cách sắp xếp các allele trên một cặp nhiễm sắc thể: $\frac{AB}{ab}$ và $\frac{Ab}{aB}$, mà có thể viết đơn giản là: AB/ab và Ab/aB .

- Cách sắp xếp các allele trong đó hai allele trội trên một nhiễm sắc thể và hai allele lặn trên chiếc kia, AB/ab , được gọi là kiểu kết nối (*coupling*) hay kiểu đều (*cis*). Với kiểu gene này, $\underline{AB}$ và $\underline{ab}$ là các giao tử thuộc kiểu cha mẹ, còn $\underline{Ab}$ và $\underline{aB}$ là các giao tử thuộc kiểu tái tổ hợp.

- Cách sắp xếp các allele trong đó mỗi nhiễm sắc thể mang một allele trội và một allele lặn sao cho trong thể dị hợp tử kép chúng ở các vị trí chéo nhau, Ab/aB , được gọi là kiểu đẩy nhau (*repulsion*) hay kiểu lệch (*trans*). Với kiểu gene này, $\underline{Ab}$ và $\underline{aB}$ là các giao tử thuộc kiểu cha mẹ, còn $\underline{AB}$ và $\underline{ab}$ là các giao tử thuộc kiểu tái tổ hợp.



Hình 4.14 Mô hình một trao đổi chéo đơn (trái) và cách biểu diễn nó.

(3) Sự tái tổ hợp của các gene liên kết ở kiểu đều (*cis*) cũng như kiểu chéo (*trans*) từ cả hai phép lai phân tích nói trên và ở các phép lai thuận nghịch nói chung đều xảy ra với tần số gần như nhau;

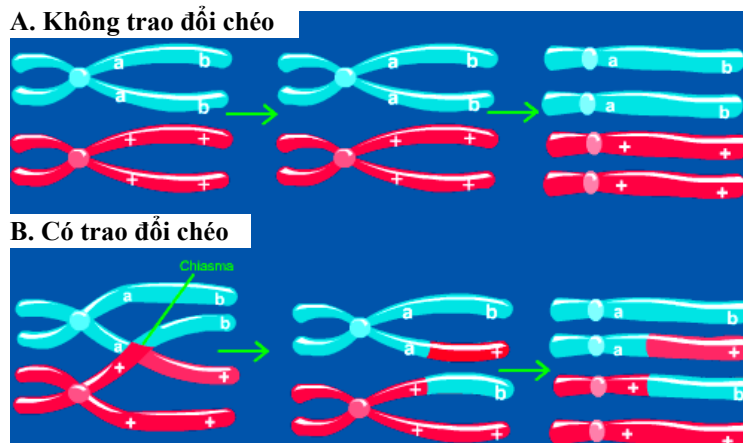
(4) Tổng tỷ lệ của các kiểu tái tổ hợp ở đời con của phép lai phân tích được gọi là tần số tái tổ hợp, và tần số này đặc trưng cho mỗi cặp gene riêng biệt (như sẽ thảo luận dưới đây).

2. Liên kết gene hoàn toàn (hay giảm phân không có trao đổi chéo)

Bây giờ ta trở lại thí nghiệm đầu tiên của Morgan. Khi thực hiện phép lai phân tích giữa các con đực xám-dài F_1 với con cái đen-ngắn, đời con chỉ có hai kiểu hình xám-dài và đen-ngắn với tỷ lệ xấp xỉ 1:1, chứ không phải bốn kiểu với tỷ lệ đều nhau như dự đoán. Điều này chứng tỏ ruồi đực F_1 chỉ cho hai loại giao tử với tỷ lệ tương đương ($\underline{BVg} = \underline{bv g} = 50\%$), tương ứng với hai kiểu hình đời con (vì ruồi cái đen-ngắn chỉ cho một loại giao tử chứa hai allele lặn, $\underline{bv g}$); nghĩa là các gene này cùng nằm trên một nhiễm sắc thể và giữa chúng có sự liên kết hoàn toàn (*complete linkage*). Nói cách khác, tái tổ hợp không xảy ra ở ruồi giấm đực.

Giảm phân mà không có bất kỳ sự trao đổi chéo nào chỉ xảy ra ở một số ít loài. Ở các sinh vật này, tại kỳ giữa I các nhiễm sắc thể tương đồng nằm dọc bên nhau ở mặt phẳng của thoi. Chúng phân tách theo cách thông thường ở kỳ sau I, và giảm phân tiến hành một cách bình thường sau đó. Kiểu giảm phân này thấy có ở một vài côn trùng, kể cả các con đực của ruồi giấm, và ở một số thực vật có hoa. Ở tất cả các loài còn lại có ít nhất một trao đổi chéo được hình thành trong mỗi thể lưỡng trị ở kỳ trước I.

Tóm lại, ở tất cả các loài sinh sản hữu tính, trong quá trình giảm phân có thể không xảy ra trao đổi chéo hoặc có ít nhất một trao đổi chéo được hình thành trong mỗi thể lưỡng trị ở kỳ trước I. Đối với hai cặp gene bất kỳ trên một cặp nhiễm sắc thể tương đồng, các sản phẩm tương ứng được tạo thành trong các giao tử được minh họa ở hình 4.15 dưới đây.



Hình 4.15 Giảm phân không có trao đổi chéo (A) và có một trao đổi chéo đơn (B), và các sản phẩm được tạo thành đối với hai cặp gene bất kỳ trên một cặp nhiễm sắc thể tương đồng.

V. Trao đổi chéo và lập bản đồ di truyền

1. Tần số tái tổ hợp

Sự trao đổi chéo là một quá trình trao đổi giữa các nhiễm sắc thể trong giảm phân (kết hợp với sự hình thành giao tử một cách bình thường) cho ra các tổ hợp tính trạng mới, gọi là các biến dị tổ hợp (xem hình 4.13). *Tần số tái tổ hợp* (frequency of recombination or rate of recombination), còn được gọi là *trị số trao đổi chéo* (cross over value), ký hiệu là r , được tính bằng tỷ lệ phần trăm của các thể tái tổ hợp sinh ra trong một phép lai phân tích, theo công thức sau:

$$r = \frac{n}{m} \times 100$$

trong đó: n - số lượng các cá thể tái tổ hợp được sinh ra, và m - tổng số cá thể của đời con của phép lai phân tích; và r - tần số tái tổ hợp (thường gọi là *tần số hoán vị gene*), là một số hữu tỷ thỏa mãn miền giới hạn $[0; 0,5]$, có thể biểu diễn bằng số thập phân hoặc phần trăm.

Ở các sinh vật mà chỉ số trao đổi chéo đã được nghiên cứu rộng rãi, chẳng hạn như ngô và ruồi giấm, tỷ lệ của các thể tái tổ hợp sinh ra trong một phép lai cụ thể là khá ổn định. Tuy nhiên, các tỷ lệ này là khác nhau đối với các gene khác nhau trên cùng một nhiễm sắc thể. Điều này được giải thích dựa trên cơ sở rằng mỗi một gene có một vị trí cố định (tức locus của nó) trên một nhiễm sắc thể cụ thể, và rằng sự trao đổi chéo có thể xảy ra giữa các gene nằm xa nhau. Với ví dụ về hai gene b và vg ở ruồi giấm nói trên, ta có thể nói rằng các locus này nằm khá gần nhau, bởi vì có rất ít các thể tái tổ hợp được tạo ra. Áp dụng công thức tính tần số tái tổ

hợp ở trên, ta tính được: $r = \frac{206 + 185}{2300} \times 100 = 17\%$. Từ đây suy ra tỷ lệ

kỳ vọng của các loại giao tử tái tổ hợp và không tái tổ hợp (dạng bố mẹ):

giao tử kiểu tái tổ hợp $Bvg = bVg = 17\%: 2 = 8,5\%$

giao tử kiểu bố mẹ $BVG = bvg = (100\% - 17\%): 2 = 41,5\%$

Một cách tổng quát, dựa theo tần số tái tổ hợp (r), ta có thể biểu diễn tỷ lệ của các loại giao tử tái tổ hợp và không tái tổ hợp đối với hai kiểu gene dị hợp tử đều (AB/ab) và dị hợp tử chéo (Ab/aB) ở bảng 4.5.

Bảng 4.5 Tỷ lệ của các loại giao tử

Giao tử	Kiểu gene bố mẹ	
	AB/ab	Ab/aB
AB	$\frac{1}{2}(1 - r)$	$\frac{1}{2}r$
ab	$\frac{1}{2}(1 - r)$	$\frac{1}{2}r$
Ab	$\frac{1}{2}r$	$\frac{1}{2}(1 - r)$
aB	$\frac{1}{2}r$	$\frac{1}{2}(1 - r)$
Tổng	1	1

Bây giờ ta đề cập một ít về mối quan hệ giữa hai gene không allele trong quá trình giảm phân tạo giao tử, mà ta có thể kiểm tra bằng phương pháp kinh điển được áp dụng trong nghiên cứu di truyền học là lai phân tích. Ngoài ra, cũng có thể sử dụng các phương pháp khác, không được phổ biến lắm hoặc khá phức tạp như là tự thụ phân hoặc tạp giao.

Đối với hai gene ở trạng thái dị hợp tử kép quy định hai cặp tính trạng tương phản khác nhau, trong một phép lai phân tích:

(i) Nếu như hai gene nằm trên hai nhiễm sắc thể khác nhau, sẽ có bốn kiểu giao tử (hay kiểu hình) được tạo thành với tỷ lệ ngang nhau;

(ii) Nếu như hai gene liên kết hoàn toàn trên một nhiễm sắc thể, chỉ có thể tạo ra hai loại giao tử (hay kiểu hình) với tỷ lệ ngang nhau ($r = 0$);

(iii) Nếu như hai gene liên kết không hoàn toàn trên một nhiễm sắc thể, có thể tạo ra bốn loại giao tử (hay kiểu hình) thuộc hai nhóm, trong đó các kiểu giao tử tái tổ hợp mỗi kiểu chiếm tỷ lệ bằng $r/2$, và các kiểu giao tử bố mẹ mỗi kiểu chiếm tỷ lệ bằng $(1-r)/2$;

(iv) Tần số tái tổ hợp (r) biến thiên trong khoảng $0 \rightarrow 0,5$; thông thường r thấp hơn 50%, phụ thuộc vào khoảng cách vật lý giữa hai gene trên nhiễm sắc thể. Trong các trường hợp cực đoan, trị số r có thể bằng zero ($r = 0$), nếu như hai gene liên kết hoàn toàn hoặc nằm gần sát nhau; và trị số r này cũng có thể đạt cực đại, nghĩa là $r = 0,5$ hay 50%, trong trường hợp các gene nằm cách nhau hơn 50 đơn vị bản đồ (như chúng ta sẽ đề cập ngay dưới đây) hay nói cách khác, tất cả các tế bào sinh giao tử trải qua giảm phân đều xảy ra trao đổi chéo giữa hai gene được xét đến. Khi đó tỷ lệ các giao tử (hay tỷ lệ phân ly kiểu hình) trùng với trường hợp các gene phân ly độc lập. Tuy nhiên, rất hiếm khi xảy ra như vậy.

2. Bản đồ di truyền

Việc thiết lập bản đồ gene của các nhiễm sắc thể lần đầu tiên được áp dụng ở ruồi giấm *Drosophila*, được đề xuất vào năm 1913 bởi Alfred Sturtevant, một môn đệ của Morgan. Theo ông, ta có thể dựa vào các tần số tái tổ hợp của các gene thu được trong các phép lai phân tích để mô tả mối quan hệ vật lý của các gene trên một nhiễm sắc thể theo trật tự tuyến tính, gọi là *bản đồ liên kết* (linkage map) hay *bản đồ di truyền* (genetic map). *Khoảng cách bản đồ* (map distance) giữa hai gene, ví dụ b và vg là 17%, được coi là cách nhau 17 đơn vị bản đồ (map unit; viết tắt là: m.u.); hay nói cách khác, 1 đơn vị bản đồ là 1% tái tổ hợp. Các nghiên cứu về sau cho thấy rằng khoảng cách di truyền được đo bằng phương pháp thống kê (tức tỷ lệ phần trăm tái tổ hợp, do Morgan và Sturtevant đề xuất) nói chung là giống với các khoảng cách trên nhiễm sắc thể đo được về mặt tế bào học hay hóa sinh học.

Nguyên tắc chung của việc xây dựng bản đồ nhiễm sắc thể ở một loài nào đó, theo Morgan và các đồng sự của ông, có thể tóm tắt thế này:

(1) Xác lập số nhóm liên kết (số nhiễm sắc thể đơn bội) của loài. Điều này có thể tiến hành bằng cách thực hiện hàng loạt các phép lai có thể được để xác định các mối quan hệ (độc lập và liên kết) trong số hàng loạt gene, kết hợp với các nghiên cứu tế bào học (đếm số lượng nhiễm sắc thể).

(2) Xác định thành phần gene của mỗi một nhóm liên kết (dựa vào các kết quả lai khác nhau).

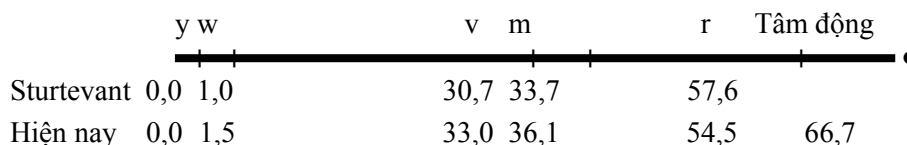
(3) Xác định vị trí, trật tự và khoảng cách giữa các gene trên mỗi nhóm liên kết. Nguyên tắc chung là, giữa các gene liên kết có tần số tái tổ hợp càng thấp chừng nào chúng tỏ chúng nằm càng gần nhau chừng ấy; theo chuỗi suy luận đó ta có thể biết được vị trí của một gene khởi đầu và các gene kế tiếp theo chiều dọc trên một nhiễm sắc thể, và đặt gene khởi đầu nằm ở đầu mút của vai ngắn ứng với vị trí zero (0,0); sau đó dùng phương pháp cộng dồn để biểu diễn vị trí và khoảng cách trên bản đồ của các gene kế tiếp với so với gene đầu mút này. Khi đó ta có được bản đồ của một nhóm liên kết. Ta có thể hình dung nó như một đoạn thẳng nằm ngang có nhiều vạch chỉ ra trật tự thẳng hàng của các gene, mỗi vạch ứng với một locus-gene cụ thể (phía trên vạch là ký hiệu và có thể cả tên đầy đủ của thể đột biến gene đó và phía dưới vạch là vị trí trên bản đồ của gene so với gene khởi đầu, được ghi bằng một con số cụ thể; hình 4.17a). Nếu ta dựng đứng bản đồ lên, theo nguyên tắc, ký hiệu các gen sẽ nằm về phía bên phải và khoảng cách bản đồ của các gene nằm phía bên trái (hình 4.17b).

Ở đây, có một số điểm cần lưu ý: (i) Độ chính xác của bất kỳ bản đồ liên kết nào được thiết lập trước đây đều có thể thay đổi và ngày càng chính xác hơn; đó là do các phát hiện bổ sung những gene mới nằm trung gian giữa các gene đã được định vị cùng với các tần số tái tổ hợp của chúng; (ii) Riêng ruồi giấm, nhiễm sắc thể X được Morgan gán cho số I, kể đến là các số II, III và IV tương ứng với sự nhỏ dần về kích thước. Ngày nay, mặc dù hệ thống đánh số nhiễm sắc thể có thay đổi, song đối với ruồi giấm vẫn được giữ nguyên để biểu thị lòng tôn kính đối với Morgan - người sáng lập thuyết di truyền nhiễm sắc thể; và (3) Morgan đã cải tiến cách lập bản đồ vốn công kênh phức tạp nói trên bằng phương pháp lai phân tích ba điểm (như sẽ được thảo luận dưới đây).

Bảng 4.6 Tần số tái tổ hợp của năm cặp gene liên kết-X

Các gen	Tần số tái tổ hợp
thân vàng (y) – mắt trắng (w)	$214/21.736 = 0,010$
thân vàng (y) – mắt đỏ tươi (v)	$1.464/4.551 = 0,322$
mắt trắng (w) – mắt đỏ tươi (v)	$471/1.584 = 0,297$
mắt đỏ tươi (v) – cánh bé (m)	$17/573 = 0,030$
mắt trắng (w) – cánh bé (m)	$2.062/6.116 = 0,337$
mắt trắng (w) – cánh không phát triển (r)	$406/898 = 0,452$
mắt đỏ tươi (v) – cánh không phát triển (r)	$109/405 = 0,269$

Chẳng hạn, bằng cách sử dụng số liệu ở bảng 4.6, Sturtevant đã xác định các mối quan hệ vật lý của năm gene này và gợi ý rằng chúng xếp theo một đường thẳng. Cách làm như sau: (1) Hai gene y và w có tần số nhỏ nhất ($r_{y-w} = 1\%$) nên nằm gần nhau. (2) vì $r_{w-v} = 29,7\% < r_{y-v} = 32,2\% \Rightarrow$ trật tự ba gene này phải là $y-w-v$. (3) Gene gần nhất với v là m ($r_{v-m} = 3\%$), mà $r_{w-m} \approx r_{w-v} + r_{v-m} \Rightarrow m$ phải nằm bên phải v . (4) $r_{v-r} = 26,9\% < r_{w-r} = 45,2\% \Rightarrow r$ phải nằm bên phải v và m . Vậy, trật tự của năm gene liên kết trên X là: $y-w-v-m-r$. Từ đây, Sturtevant xây dựng nên một bản đồ bắt đầu bằng y ở vị trí 0,0 về phía bên trái và sử dụng các tần số tái tổ hợp giữa các gene kề nhau để biểu thị vị trí của chúng trên bản đồ ứng với từng con số cụ thể. Theo đó, w ở vị trí 1,0, v ở vị trí 30,7 ($= 1,0 + 29,7$), m ở vị trí 33,7 ($= 30,7 + 3,0$), và r ở vị trí 57,6 ($= 30,7 + 26,9$). So với bản đồ hiện nay, vị trí năm gene trên bản đồ của Sturtevant có hơi khác một chút bởi vì có nhiều gene trung gian được phát hiện bổ sung (hình 4.16).

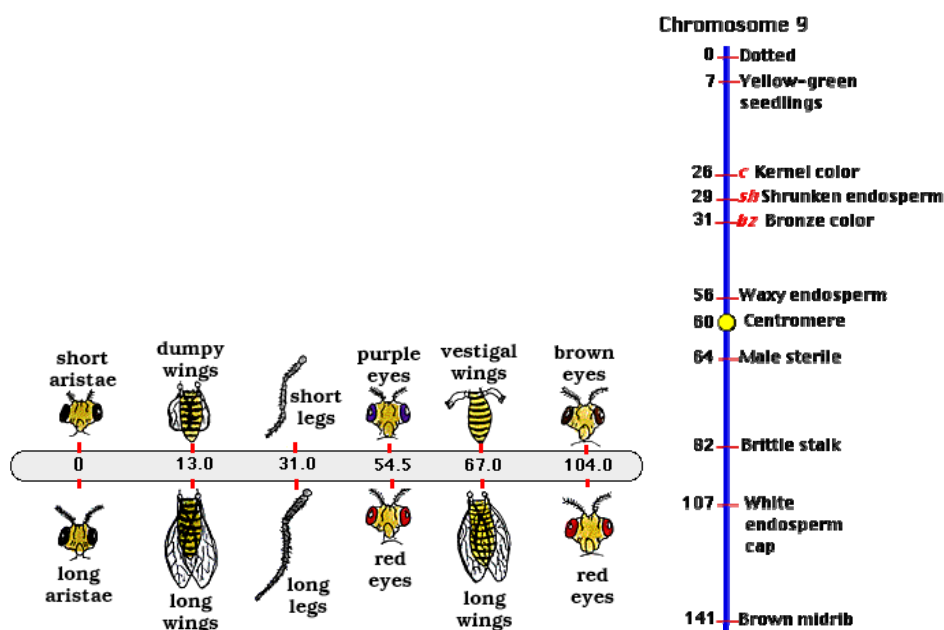


Hình 4.16 Bản đồ Sturtevant về năm gene liên kết-X và so với hiện nay.

Dưới đây cho thấy bản đồ của nhiễm sắc thể số 2 ở ruồi giấm (hình 4.17a) và nhiễm sắc thể số 9 ở ngô (hình 4.17b) với những gene chính yếu. Chẳng hạn, trên hình 4.17a, hình ống ở giữa tượng trưng cho nhiễm sắc thể số 2 ruồi giấm chỉ ra vị trí của sáu gene; phía trên là các kiểu hình đột biến, và phía dưới là các kiểu hình bình thường. Từ trái sang: vị trí 0 - gene al (aristaleless antenna) chỉ đột biến râu ngắn đối với râu dài bình thường; vị trí 13 - gene dp (dumpy wings) chỉ đột biến cánh xén với cánh dài; vị trí 31 - gene d (dachs) chỉ đột biến chân ngắn với chân dài, vị trí 54,5 - gene pr (purple eyes) chỉ đột biến mắt đỏ tía với mắt đỏ, vị trí 67,0 - gene vg (vestigial) chỉ đột biến cánh ngắn với cánh dài, vị trí 104 - gene bw (brown eyes) chỉ đột biến mắt nâu với mắt đỏ).

Cần lưu ý rằng, ngày nay, sau khi định vị bản đồ các gene xác định bảy tính trạng mà Mendel đã nghiên cứu ở đậu Hà Lan, người ta không khỏi ngạc nhiên tại sao Mendel lại không quan sát hiện tượng liên kết trong các phép lai hai tính của mình. Mặc dù Mendel chọn ra bảy tính trạng và có bảy nhiễm sắc thể ở đậu Hà Lan ($2n = 14$), hai trong số các tính trạng ông nghiên cứu được xác định bởi các gene trên nhiễm sắc thể số 1 và ba tính trạng được xác định bởi các gene trên nhiễm sắc thể số 4 (bảng 4.7). Thực ra, Mendel chỉ chọn nghiên cứu một vài tính trạng và có lẽ, thật may mắn là ông đã không quan sát thấy các kiểu mà khác với kỳ

vọng về sự phân ly độc lập. Chính điều này đã làm nên sự nhất quán hoàn toàn và hết sức rõ ràng, đơn giản trong các kết quả mà ông đã công bố.



Hình 4.17 Bản đồ nhiễm sắc thể số 2 của ruồi giấm (bên trái) và nhiễm sắc thể số 9 của ngô (bên phải).

Quả đúng như Watson đã viết trong *Lời nói đầu* cuốn "*Chuỗi xoắn kép - Hồi ký về việc phát minh ra cấu trúc của DNA*" của mình, rằng: "Cách giải quyết đúng không những phải đẹp mà còn phải đơn giản" (Watson 1968). Chân lý bao giờ cũng giản dị nhưng giản dị chưa hẳn là chân lý; chân lý bao giờ cũng đẹp nhưng đẹp thì chưa đủ để là chân lý. Tuy nhiên, để nhận chân được cái giản dị, cái đẹp đích thực trong các khám phá của Mendel, như chúng ta đều biết, nhân loại đã phải mất chừng 35 năm!

Bảng 4.7 Các vị trí nhiễm sắc thể đối với bảy tính trạng ở đậu Hà Lan

Tính trạng	Kiểu hình	Allele	Nhiễm sắc thể
Dạng hạt	tròn-nhăn	$R-r$	7
Màu sắc hạt	vàng-xanh	$I-i$	1
Màu sắc quả	xanh-vàng	$Gp-gp$	5
Kết cấu quả	trơn-nhăn	$V-v$	4
Màu sắc hoa	tím-trắng	$A-a$	1
Vị trí hoa	trục-đỉnh	$Fa-fa$	4
Chiều cao cây	cao-thấp	$Le-le$	4

3. Trao đổi chéo bốn sợi

Học thuyết của Morgan về các gene liên kết và trao đổi chéo đã được ủng hộ rộng rãi bởi nhiều số liệu. Tuy nhiên, còn chưa thật sự rõ ràng ở chỗ, liệu sự tái tổ hợp xảy ra giữa các nhiễm sắc thể trước khi chúng tái bản (ở giai đoạn hai sợi) hay sau tái bản (ở giai đoạn bốn sợi). Nếu như trao đổi chéo xảy ra trước khi tái bản thì tất cả bốn chromatid sẽ là các thể tái tổ hợp, trong khi nếu xảy ra sau tái bản thì chỉ có hai trong bốn chromatid sẽ là các thể tái tổ hợp (xem hình 4.15).

Để phân biệt giữa các dạng biến đổi này, phải cần tới một hệ thống di truyền trong đó tất cả các sản phẩm di truyền từ giảm phân phải được xác định. Bằng chứng đầu tiên về sự trao đổi chéo sau tái bản nhiễm sắc thể có được từ việc nghiên cứu ở ruồi giấm, trong đó hai nhiễm sắc thể X của ruồi giấm cái dính nhau ở tâm động của nó và tạo thành một nhiễm sắc thể sai hình, gọi là *nhiễm sắc thể X-dính* (attached-X). Kết quả của sự dính này là, từ con cái có nhiễm sắc thể X-dính đó và một nhiễm sắc thể Y tách riêng (X-XY) sẽ cho ra các giao tử hoặc chứa hai nhiễm sắc thể X hoặc không có X (chỉ có một Y). Ví dụ, phép lai trong đó cả hai nhiễm sắc thể X đều có mang allele kiểu dại tại locus mắt trắng được cho ở hình 4.18. Các con cái X-XY với allele kiểu dại trên cả hai X (X^+-X^+Y) được cho lai với các con đực mắt trắng "bình thường" (X^wY). Các cá thể con sống được đều giống với bố mẹ, trong khi đó các con ruồi giấm YY chết hết và X-XX thường là bị chết.

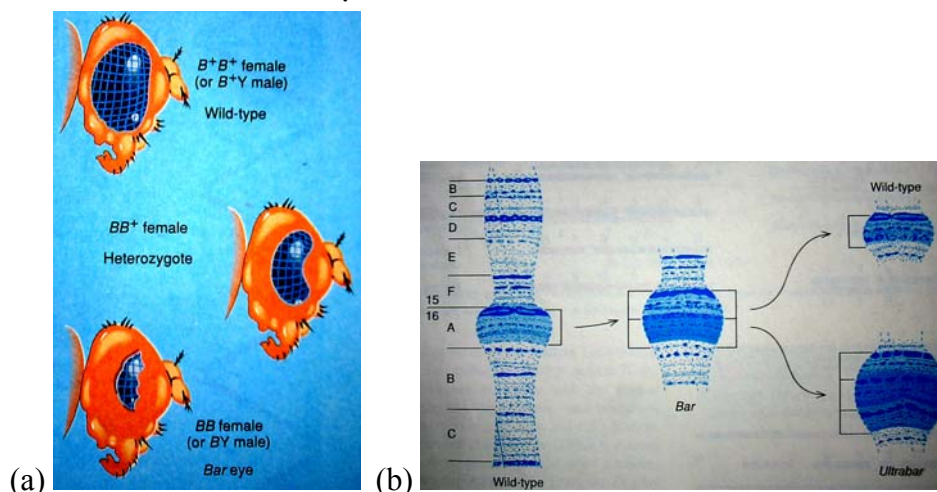
$$\begin{array}{llll}
 \text{P} & \text{♀ } X^+-X^+Y & \times & \text{♂ } X^wY \\
 & (\text{cái mắt đỏ}) & & (\text{đực mắt trắng}) \\
 \text{Giao tử} & (X^+-X^+ : Y) & & (X^w : Y) \\
 \text{F}_1 \text{ Kiểu gene} & = X^+-X^+X^w & : X^+-X^+Y & : X^wY : YY \\
 \text{Kiểu hình} & = (\text{thường chết}) : (\text{cái mắt đỏ}) : (\text{đực mắt trắng}) : (\text{chết})
 \end{array}$$

Hình 4.18 Một phép lai giữa ruồi giấm cái kiểu dại X-dính và con đực mắt trắng. Ở đây đời con sống sót thì giống hệt các bố mẹ chúng.

Khi các allele trên hai nhiễm sắc thể X-dính là khác nhau thì sự trao đổi chéo hai sợi và bốn sợi là có thể phân biệt được. Chẳng hạn, ở hình 4.19 cho thấy thể đột biến *mắt thối Bar* làm giảm số lượng các mắt bé từ con số bình thường khoảng 780 ở kiểu dại (con cái B^+B^+ hoặc con đực B^+Y) xuống còn khoảng 360 ở các thể dị hợp (con cái BB^+) và khoảng 70 ở các thể đồng hợp (con cái BB hoặc con đực BY).

Bằng các thực nghiệm cho thấy rằng: (i) Trong trường hợp không xảy ra trao đổi chéo, tất cả các giao tử mang các nhiễm sắc thể X thì có dạng

X-dính ở trạng thái dị hợp và do đó có kiểu hình mắt Bar dị hợp. (ii) Nếu trao đổi chéo xảy ra ở giai đoạn hai sợi thì sẽ có dính lúu tới cả hai sợi. Vì vậy, khi tái bản xảy ra sau đó, tất cả các giao tử sẽ lại là dị hợp. Nói cách khác, các kết quả quan sát được trong cả hai trường hợp không có trao đổi chéo và trao đổi chéo hai sợi là như nhau.



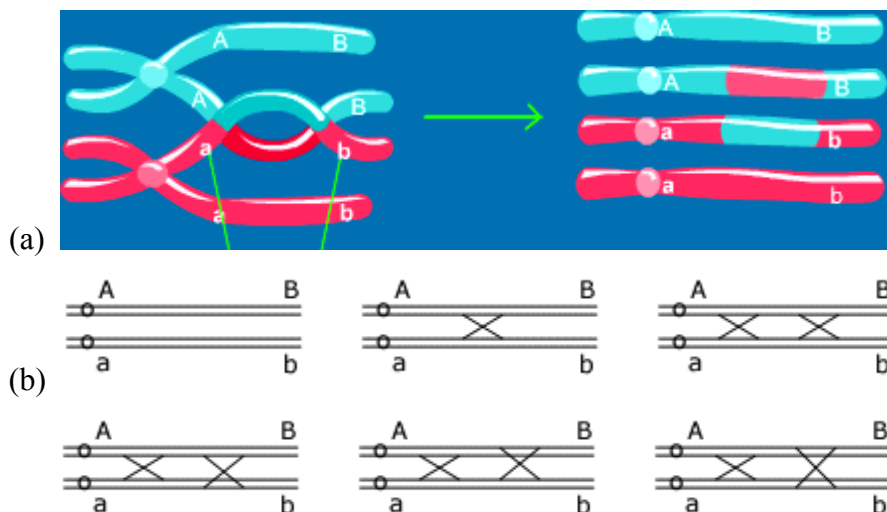
Hình 4.19 (a) Các kiểu hình đại, mắt Bar dị hợp và đồng hợp (ultraBar); và (b) Các kiểu băng tương ứng có một, hai và ba bản sao của băng 16A.

Tái tổ hợp ở giai đoạn bốn sợi sinh ra các kết quả khác nhau ở đời con. Trong trường hợp này, chỉ có hai trong bốn sợi tham gia vào tái tổ hợp, vì vậy sẽ sinh ra các kiểu mới. Với tái tổ hợp ở giai đoạn bốn sợi, cả kiểu đại lẫn kiểu đồng hợp BB sẽ được tạo ra. Trên thực tế, điều này được quan sát trong các thí nghiệm, chỉ ra rằng sự tái tổ hợp xảy ra sau khi tái bản - nghĩa là, trao đổi chéo phải xảy ra ở giai đoạn bốn sợi (xem hình 4.15). Chúng ta sẽ đề cập trở lại bằng chứng bổ sung về trao đổi chéo bốn sợi ở vi nấm *Neurospora* trong phần sau (mục VII).

• **Sơ lược về trao đổi chéo phức (multiple crossing over)**

Trên thực tế, khi hai gene nằm xa nhau trên một nhiễm sắc thể, giữa chúng có thể xảy ra nhiều trao đổi chéo trong một lần giảm phân và điều này gây ra những rắc rối trong việc tính toán, giải thích các số liệu tái tổ hợp và lập bản đồ dựa trên các số liệu này. Trên hình 4.20 cho thấy trao đổi chéo kép ở giai đoạn bốn sợi có thể xảy ra theo nhiều cách khác nhau. Chẳng hạn, hình 4.20a cho thấy trao đổi chéo kép xảy ra giữa hai cặp gene Aa và Bb nhưng các nhiễm sắc thể này không tái tổ hợp đối với các allele của hai gene, và do đó không thể phân biệt được với các nhiễm sắc thể không trao đổi chéo về mặt di truyền. Kết quả là cho ra chỉ hai loại giao tử với tỷ lệ ngang nhau ($\underline{AB} = \underline{ab}$) giống như trường hợp không trao đổi chéo

(hình 4.15A), thay vì cho bốn loại giao tử thuộc hai kiểu (hình 4.15B). Hiện tượng này làm cho giá trị tái tổ hợp nhận được sẽ thấp hơn tần số trao đổi chéo thực và ảnh hưởng tới khoảng cách bản đồ giữa các gene.



Hình 4.20 (a) Hai trao đổi chéo đơn xảy ra ở vùng giữa hai gene A và B, và kết quả là sinh ra cả bốn loại giao tử không tái tổ hợp đối với hai gene này, nghĩa là không phát hiện được thể trao đổi chéo kép nào. (b) Trao đổi chéo đơn và các dạng trao đổi chéo kép liên quan đến hai, ba và cả bốn sợi có thể xảy ra trong một cặp nhiễm sắc thể tương đồng.

Như đã nói, tần số tái tổ hợp cực đại giữa hai gene bất kỳ trên một cặp nhiễm sắc thể tương đồng là 50%. Điều này chỉ có thể xảy ra khi hai gene nằm cách xa nhau tới mức ít nhất có một đoạn trao đổi chéo hầu như lúc nào cũng xảy ra giữa chúng. Trên hình 4.15B ta thấy rõ rằng, cứ một trao đổi chéo đơn trong mỗi lần giảm phân sẽ cho ra một nửa số sản phẩm có các tổ hợp giống bố mẹ và nửa kia là các sản phẩm có tái tổ hợp gene.

Trên hình 4.20b cũng cho thấy khi xảy ra hai trao đổi chéo đơn mà có một chromatid chung hay trao đổi chéo kép liên quan ba sợi (hai hình đầu của hàng dưới), thì kết quả sẽ không khác với kết quả của trao đổi chéo đơn như ở hình 4.15B. Một khả năng khác, đó là trao đổi chéo kép liên quan cả bốn sợi (hình 4.20b, xem hình cuối của hàng dưới), trong đó sự trao đổi chéo thứ hai xảy ra giữa hai chromatid (ở ngoài) khác với hai chromatid tham gia vào trao đổi chéo thứ nhất (ở trong). Trong trường hợp này, tất cả các sản phẩm đều được tái tổ hợp. Nếu các chromatid tham gia vào hai trao đổi chéo đơn một cách ngẫu nhiên thì tỷ lệ kỳ vọng của ba kiểu trao đổi chéo kép sẽ tương ứng với tỷ lệ $\frac{1}{4} : \frac{1}{2} : \frac{1}{4}$. Điều đó có nghĩa là trung bình sẽ có hai trong bốn sản phẩm của giảm phân là có tái tổ hợp:

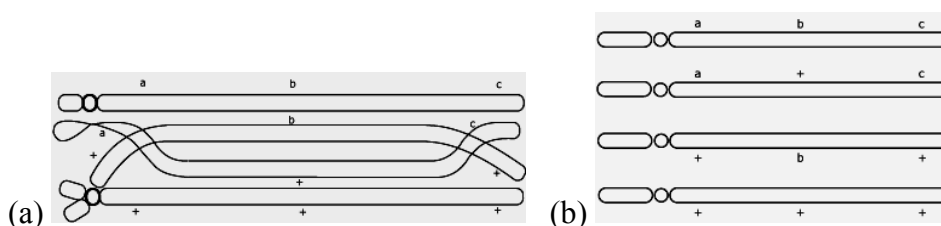
$(\frac{1}{4})(0) + (\frac{1}{2})(2) + (\frac{1}{4})(4) = 2$. Tỷ lệ này rõ ràng là giống như khi một trao đổi chéo đơn mà lúc nào cũng xảy ra giữa hai gene.

Thực ra, như sẽ đề cập dưới đây, trao đổi chéo kép có thể phát hiện được trong các thí nghiệm tái tổ hợp sử dụng ba gene, gọi là lai ba điểm.

VI. Lập bản đồ gene từ các phép lai phân tích ba điểm

1. Trao đổi chéo kép với việc xác định trật tự và khoảng cách các gene

Giả sử ta có ba gene liên kết A, B và C cần lập bản đồ. Theo lý thuyết, có thể có ba cách sắp xếp khác nhau tùy vào vị trí gene ở giữa, đó là: (i) A-B-C; (ii) A-C-B; và (iii) B-A-C. Tuy nhiên, trong trường hợp chưa biết chắc về sự liên kết của ba gene, và giả sử ta đã xác định được tần số tái tổ hợp giữa hai gene A và B là 15% và giữa hai gene B và C là 20%. Theo suy luận, ta biết rằng ba gene này cùng nhóm liên kết; và theo nguyên tắc, chúng có thể liên kết với nhau theo một trong hai cách: (i) A-B-C; hoặc (ii) B-A-C. Trong trường hợp này, ta cần phải tiến hành một phép lai phân tích giữa A và C để xem liệu tần số tái tổ hợp là 35% hay 5%. Như vậy, để xác định được vị trí tương đối của ba gene ta phải tiến hành ba phép lai phân tích riêng biệt. Trong khi đó, nếu dựa vào khả năng xảy ra một trao đổi chéo kép hay là hai trao đổi chéo đơn đồng thời (trong trường hợp ba gene ở khoảng cách đủ lớn), ta chỉ cần thực hiện một *phép lai phân tích ba điểm* (three-point testcross) là đủ. Điều đó có nghĩa là, việc lập bản đồ ba gene trở nên gọn nhẹ, không còn cồng kềnh phức tạp như trước nữa.



Hình 4.21 (a) Một trao đổi chéo kép, và (b) các sản phẩm tạo thành.

Thật vậy, theo lý thuyết xác suất của các sự kiện ngẫu nhiên, một khi trao đổi chéo kép xảy ra (ở một số tế bào này), thì các trao đổi chéo đơn riêng rẽ (dĩ nhiên là xảy ra ở các nhóm tế bào khác) tất yếu phải xảy ra và có các tần số cao hơn hẳn tần số trao đổi chéo kép. Trong trường hợp đó, đời con của phép lai phân tích thu được (nếu đầy đủ) sẽ có tám kiểu hình thuộc bốn nhóm khác nhau: Trước hết là các kiểu cha mẹ với tần số cao nhất; kế đến là các kiểu trao đổi chéo đơn khác nhau; và cuối cùng là các kiểu trao đổi chéo kép với tần số thấp nhất. Và theo nguyên tắc, cứ hai kiểu hình của mỗi nhóm sẽ có số lượng tương đương nhau. Trên hình 4.21 cho thấy một trao đổi chéo kép xảy ra ở đoạn chứa gene b (nằm giữa a và

c), và kết quả là cho ra bốn sản phẩm gồm hai kiểu cha mẹ (abc và +++) và hai kiểu tái tổ hợp đối với gene b (a + c và + b +). Với kết quả này ta dễ dàng xác định gene ở giữa vì nó là sản phẩm của trao đổi chéo kép.

Bây giờ ta hãy tìm hiểu hai ví dụ kinh điển về lai phân tích ba điểm, một thí nghiệm ở ruồi giấm và một thí nghiệm chọn giống ở ngô.

• **Ví dụ 1:** Trong thí nghiệm sử dụng lại ba gene liên kết-X ở ruồi giấm (y, w và m), sau khi thu được các con cái F₁ dị hợp tử về ba cặp gen, Morgan cho chúng lai trở lại với con đực dòng kiểm tra (hình 4.22). Kết quả phân tích cho thấy các con cái F₁ cho tám loại giao tử (tức tám kiểu hình ở đời con của nó), hai trong số đó là các kiểu giao tử bố mẹ và sáu kiểu còn lại là các giao tử tái tổ hợp.

Theo sự trình bày ở trên, ta có thể tiến hành phân loại và tính tần số của mỗi kiểu giao tử dựa vào số lượng các kiểu hình thống kê được (hình 4.22) rồi vẽ bản đồ cho ba gene này, theo các bước chung nhất như sau:

P	♀ + + + / + + +	×	♂ y w m / Y
	↓		
	+ + + / y w m	×	y w m / Y
	(♀ F ₁)		(♂ dòng kiểm tra)
	↓		
		<u>Giao tử</u>	<u>Số lượng</u>
Kiểu bố mẹ (không tái tổ hợp)	+ + +	3.501	0,664
	y w m	3.471	
Kiểu tái tổ hợp đơn m với w	+ + m	1.754	0,329
	y w +	1.700	
Kiểu tái tổ hợp đơn y với w	y + +	28	0,0057
	+ w m	32	
Kiểu tái tổ hợp kép w với y và m	+ w +	6	0,00086
	y + m	3	
Tổng		10.495	1,0

Hình 4.22 Một phép lai phân tích các ruồi giấm cái dị hợp tử về ba gene liên kết-X (có cho sẵn số lượng và tần số của các kiểu khác nhau ở đời con).

Bước 1: *Xác định thành phần gene trội lặn trong nhóm liên kết* (dựa vào các kiểu giao tử bố mẹ, tức hai kiểu hình có số lượng nhiều nhất). Ở đây là y w m và + + + (đã biết trước).

Bước 2: *Xác định vị trí gene ở giữa.* Căn cứ vào hai kiểu hình có số

lượng ít nhất để suy ra đây là sản phẩm của trao đổi chéo kép (Lưu ý: trên thực tế, có thể chỉ xuất hiện một kiểu hình có thể là do số lượng chưa đủ lớn hoặc do các gene nằm khá gần nhau nên gây nhiễu, như sẽ thảo luận ở phần sau). Qua so sánh thành phần gene của các kiểu tái tổ hợp kép với các kiểu bố mẹ cho phép tìm ra gene thay đổi vị trí chính là gene ở giữa. Trong ví dụ này, gene ở giữa là *w*. Vậy trật tự ba gene là *y-w-m*, và kiểu gene của con cái F_1 là: $+++ / ywm$. Khi biết được gene ở giữa, ta dễ dàng xác định được các kiểu trao đổi chéo đơn bằng cách sắp xếp lại trật tự gene ở các kiểu giao tử rồi so sánh với các kiểu bố mẹ để tìm ra gene có sự thay đổi vị trí. Ví dụ, với hai kiểu giao tử $++m$ và $yw+$, vì *m* đổi chỗ nên đây là kết quả của trao đổi chéo đơn giữa *w* và *m*. Vậy hai kiểu còn lại là do trao đổi chéo đơn giữa *y* và *w*.

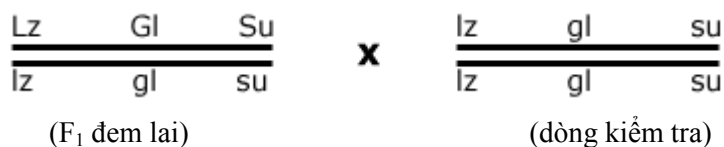
Bước 3: *Tính khoảng cách giữa các gene.* Để tìm khoảng cách giữa các gene có thể tiến hành theo một trong hai cách sau:

(i) Tính trực tiếp dựa vào số lượng của các kiểu tái tổ hợp. Theo nguyên tắc, khoảng cách của hai gene nằm kề nhau thì bằng số lượng cá thể của các kiểu tái tổ hợp giữa hai gene đó cộng với số lượng cá thể của các kiểu tái tổ hợp kép rồi chia cho tổng số cá thể ở đời con. Và khoảng cách giữa hai gene đầu mút thì bằng tổng các khoảng cách của các gene nằm trong nó. Cụ thể, khoảng cách *y* và *w* = $(28 + 32 + 6 = 3) / 10.495 = 0,0066$. Tương tự, ta tính được khoảng cách hai gene *w* và *m* = $(1.754 + 1.700 + 6 = 3) / 10.495 = 0,330$. Khi đó khoảng cách bản đồ giữa *y* và *m* = $0,0066 + 0,330 = 0,3366$.

(ii) Tính gián tiếp thông qua các tần số kiểu hình thuộc các nhóm khác nhau (xem ở hình 4.22). Khi có được các tần số này rồi, ta tính khoảng cách giữa hai gene kề nhau bằng cách cộng tần số trao đổi chéo đơn thực tế của hai gene đó với tần số trao đổi chéo kép thực tế. Ví dụ, khoảng cách hai gene *y* và *w* = $0,0057 + 0,00086 = 0,0066$; và khoảng cách hai gene *w* và *m* = $0,329 + 0,00086 = 0,330$. Khi đó khoảng cách *y* và *m* là 0,3366 (Cũng có thể tính khoảng cách *y* và *m* bằng cách cộng hai tần số trao đổi chéo đơn thực tế; nghĩa là bằng $0,0057 + 0,329 = 0,335$. Con số này có hơi khác một chút so với con số tính được ở trên. Tuy nhiên, trên thực tế, việc tính khoảng cách hai gene đầu mút là không cần thiết).

Bước 4: *Vẽ bản đồ gene.* Bạn hãy tự vẽ bản đồ cho ba gene này.

• **Ví dụ 2:** Tóm tắt kết quả thí nghiệm lai phân tích ba gene trên trên một nhiễm sắc thể ở ngô (*Zea mays*). Các allele lặn được sử dụng trong phép lai một cá thể F_1 dị hợp tử ba cặp gene (*Lz Gl Su / lz gl su*) này là: *lz* (tập tính mọc bò lan), *gl* (lá bóng), và *su* (nội nhũ đường). Phép lai và kết quả được cho ở bảng 4.8.

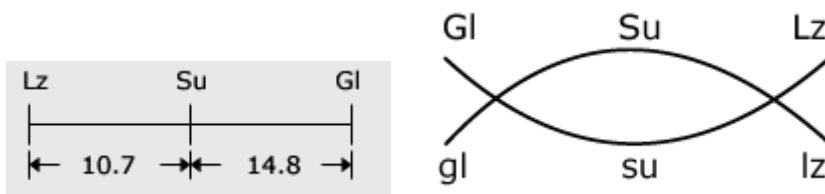


Bảng 4.8 Kết quả ở đời con của phép lai phân tích ba điểm ở ngô

Kiểu hình đời con của phép lai phân tích	Kiểu gene giao tử từ F ₁	Số lượng
bình thường (kiểu đại)	<i>Lz Gl Su</i>	286
mọc bò lan	<i>lz Gl Su</i>	33
lá bóng	<i>Lz gl Su</i>	59
nội nhũ đường	<i>Lz Gl su</i>	4
mọc bò lan, lá bóng	<i>lz gl Su</i>	2
mọc bò lan, nội nhũ đường	<i>lz Gl su</i>	44
lá bóng, nội nhũ đường	<i>Lz gl su</i>	40
mọc bò lan, lá bóng, nội nhũ đường	<i>lz gl su</i>	272
	Tổng	740

Bằng phương pháp trên đây, ta xác định được:

- (i) Thành phần nhóm gene liên kết phải là: *Lz Gl Su* (đã biết trước)
(ii) Gene ở giữa là *Su*, và trật tự ba gene: *Lz-Su-Gl*
(iii) Khoảng cách giữa *Lz* và *Su* = $(40 + 33 + 4 + 2) / 740 = 0,107$ hay 10,7%; giữa *Su* và *Gl* = $(59 + 44 + 4 + 2) / 740 = 0,148$ hay 14,8%.
(iv) Bản đồ gene và sơ đồ trao đổi chéo kép được minh họa như sau:



2. Độ nhiễu (interference) và hệ số trùng hợp (coefficient of coincidence)

Về thực chất, tải tổ hợp hay trao đổi chéo là sự kiện mang tính xác suất cho nên điều quan trọng cần biết là xem liệu các trao đổi chéo đơn này là độc lập với nhau hay có ảnh hưởng nào đó lên nhau hay không. Nếu các sự kiện tải trao đổi chéo khác nhau là độc lập, thì xác suất của hai sự kiện đồng thời như thế xảy ra trong cùng giao tử sẽ bằng tích xác suất của các sự kiện riêng rẽ. Khi đó, tần số trao đổi chéo kép kỳ vọng từ ví dụ 1 sẽ bằng $0,330 \times 0,0066 = 0,00218$. Trong khi đó, tần số trao đổi chéo kép

quan sát được là 0,00086; rõ ràng là thấp hơn tỷ lệ được kỳ vọng. Đúng ra, theo lý thuyết, số cá thể trao đổi chéo kép xuất hiện phải bằng $0,00218 \times 10495 \approx 23$ (con số thực tế xuất hiện ít hơn $23 - 9 = 14$ cá thể).

Sự chênh lệch như thế nói chung rất phổ biến ở các sinh vật, và nó được coi là hiện tượng *nhiều* (interference); nghĩa là sự xuất hiện một trao đổi chéo ở một vùng nhiễm sắc thể làm giảm xác suất xảy ra trao đổi chéo ở vùng thứ hai lân cận nó.

Để mô tả sự khác nhau giữa các số lượng trao đổi chéo quan sát và kỳ vọng đó, lần đầu tiên H.J. Muller đưa ra một phương pháp chuẩn cho sự tính toán này. Theo đó, *hệ số trùng hợp* (coefficient of coincidence) được đo bằng số lượng hay tần số các thể tái tổ hợp kép quan sát (O: observed) chia cho số lượng hay tần số kỳ vọng tương ứng (E: expected); và nếu ta ký hiệu hệ số trùng hợp là C, thì $C = O/E$; trong đó: $0 \leq C \leq 1$. Trị số này là một tiêu chuẩn cho phép đo mức độ nhiễu I (*interference*) của một trao đổi chéo này lên một trao đổi chéo khác. Công thức dùng để tính độ nhiễu này như sau:

$$I = 1 - C$$

trong đó $0 \leq I \leq 1$. Từ ví dụ 1 ở trên, ta tính được $C = 0,00086/0,00218 = 0,3945$; điều này có nghĩa là số lượng trao đổi chéo kép thực tế đã xảy ra chỉ bằng 39,45% con số lý thuyết. Vậy $I = 1 - 0,3945 = 0,6055$. Trị số này cho thấy mức độ nhiễu cao đáng kể.

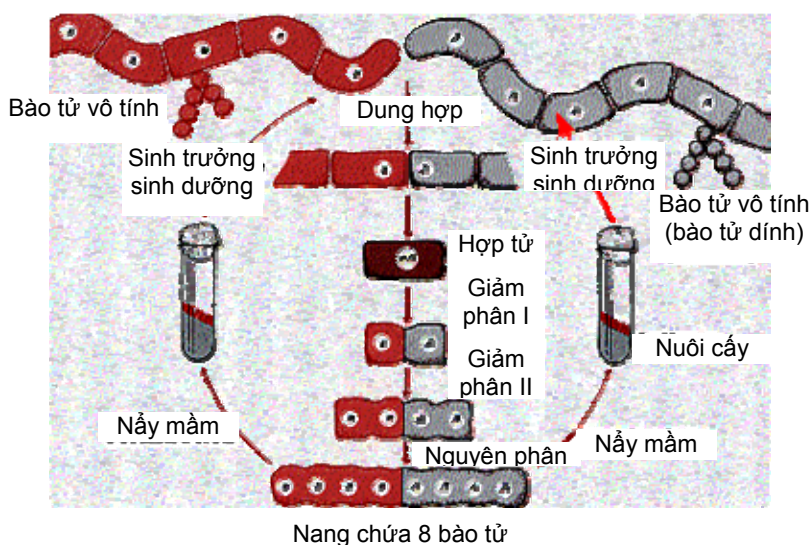
Rõ ràng hai đại lượng này là nghịch nhau và tổng của chúng bằng đơn vị ($I + C = 1$). Nếu $I = 1$, lúc đó $C = 0$; điều đó có nghĩa là, hiện tượng nhiễu tăng dần lên khi mà khoảng cách hai gene phía bên ngoài càng ngắn lại, cho tới khi trao đổi chéo kép không thể xảy ra tại một điểm giới hạn (nhiều hoàn toàn) và hệ số phù hợp bằng zero. Ở nhiều sinh vật khoảng cách này là khoảng 10 đơn vị bản đồ. Ngược lại, nếu $I = 0$, thì $C = 1$; nghĩa là khi các gene nằm rất xa nhau đến nỗi các trao đổi chéo của chúng không ảnh hưởng gì lên nhau (hoàn toàn không nhiễu), thì hiện tượng nhiễu biến mất và hệ số phù hợp bằng 1. Các thực nghiệm cho thấy $I = 0$ khi tổng khoảng cách giữa các gene lớn hơn chừng 45 đơn vị bản đồ.

Một lý thuyết để giải thích tần số trao đổi chéo kép thấp hiếm là ở chỗ trị số nhiễu cao đối với các gene liên kết chặt rõ ràng là có liên quan với hiện tượng "xơ cứng", không thể vận xoắn về mặt vật lý của các chromatid trong một vùng rất ngắn. Tuy nhiên, hiện tượng nhiễu có thể xảy ra ở các gene cách xa nhau tới 30 đơn vị bản đồ; điều này chỉ ra rằng các nhân tố khác cũng có tầm quan trọng không kém. Thật là thú vị, các tâm động của các nhiễm sắc thể tâm giữa ở ruồi giấm (và có lẽ cả ở nhiều sinh vật khác)

hoạt động như là các vật cản đối với hiện tượng nhiễu. Nói cách khác, sự trao đổi chéo ở một vai của nhiễm sắc thể tâm giữa không gây hiệu quả ức chế lên sự trao đổi chéo ở vai kia.

VII. Lập bản đồ bằng phân tích bộ bốn (tetrad analysis)

Việc khẳng định trao đổi chéo bốn sợi cũng thu được ở *Neurospora crassa*, một loại vi nấm được nghiên cứu nhiều trong di truyền học, có các sản phẩm của giảm phân chứa đựng trong một dãy các bào tử có trật tự được sắp xếp theo kiểu thẳng hàng (hình 4.23). Một nhân hợp tử chứa trong một cấu trúc dạng túi gọi là nang (ascus), trải qua giảm phân hầu như ngay sau khi nó vừa được tạo thành. Bốn nhân sinh ra từ giảm phân nằm trong một cái nang theo một trật tự thẳng hàng, và mỗi nhân này lại trải qua một lần nguyên phân nữa tạo thành hai bào tử nang (ascospores) nằm kế nhau và giống hệt nhau về mặt di truyền. Do đó, mỗi nang trưởng thành có chứa tám bào tử nang theo bốn cặp, mỗi cặp biểu thị một sản phẩm của giảm phân. Lúc này, ta có thể tách các bào tử nang theo trình tự của mỗi nang và cho nảy mầm trong các ống nuôi cấy riêng để xác định các kiểu gene của chúng.



Hình 4.23 Vòng đời của *Neurospora crassa*.

Chú thích: Các bào tử sắp xếp thành một dãy thẳng hàng trong nang sao cho mỗi nửa bắt nguồn từ các thể phân ly ở giảm phân I. Mỗi một phần tư bắt nguồn từ các chromatid kết hợp với một tâm động cụ thể.

Sự sắp xếp có trật tự của các sản phẩm giảm phân cho phép xác định tần số tái tổ hợp giữa một gene và tâm động của nó - ấy là cách lập bản đồ

tâm động (map the centromere). Kỹ thuật lập bản đồ này dựa trên một đặc điểm của giảm phân, đó là: *các tâm động tương đồng của các nhiễm sắc thể bố mẹ tách ra ở giảm phân I, và các tâm động của các chromatid chị em tách nhau ở giảm phân II*. Như vậy, trong trường hợp không có trao đổi chéo giữa một gene và tâm động của nó, các allele của gene (ví dụ A và a) tách nhau ở giảm phân I, sự phân ly này được gọi là *phân ly giảm phân I* (first-division segregation). Thay vì, nếu như một trao đổi chéo xảy ra giữa gene và tâm động của nó, các allele A và a của nó sẽ không được phân ly cho đến lúc xảy ra giảm phân II; sự phân ly này được gọi là *phân ly giảm phân II* (second-division segregation). Như thế, khi phân ly giảm phân I xảy ra, chỉ có thể có hai kiểu trật tự sắp xếp của các sản phẩm giảm phân, đó là AAaa và aaAA. Tuy nhiên, có thể có bốn kiểu của phân ly giảm phân II, bởi vì sự sắp xếp ngẫu nhiên của các nhiễm sắc thể tương đồng ở kỳ giữa I và của các chromatid ở kỳ giữa II. Bốn sự sắp xếp này được hình dung như thế này: AaAa, aAaA, AaaA, và aAAa.

Tỷ lệ phần trăm của các nang có kiểu phân ly giảm phân II của một gene có thể được sử dụng để lập bản đồ cho gene gắn liền với tâm động của nó. Chẳng hạn, ta giả sử rằng có 30% số nang từ một phép lai có kiểu phân ly giảm phân II đối với các allele A và a. Điều này có nghĩa là 30% số tế bào trải qua giảm phân đã có một thể trao đổi chéo giữa A và tâm động của nó. Hơn nữa, trong mỗi tế bào đã xảy ra một trao đổi chéo, hai trong số các chromatid là các thể tái tổ hợp và hai cái còn lại là những thể không tái tổ hợp. Nói cách khác, một trao đổi chéo đơn cho ra bốn sản phẩm giảm phân, mà một nửa trong số đó là các thể tái tổ hợp và một nửa là các thể không tái tổ hợp. Như vậy, tần số trao đổi chéo bằng 30% tương ứng với tần số tái tổ hợp là 15%. Theo quy ước, khoảng cách bản đồ phản ánh tần số của các sản phẩm giảm phân có tái tổ hợp hơn là phản ánh tần số của các tế bào mà trong đó trao đổi chéo đã xảy ra. Vì vậy, khoảng cách bản đồ giữa một gene và tâm động của nó được cho ở biểu thức sau:

$$\frac{\frac{1}{2} (\text{Số nang có các kiểu phân ly giảm phân II})}{\text{Tổng số các nang}} \times 100$$

Công thức này có giá trị chừng nào gene nằm đủ gần tâm động sao cho một vài trao đổi chéo phức có thể xảy ra. Như thế, các trị số liên kết đáng tin cậy được xác định tốt nhất cho các gene mà chúng nằm khá gần tâm động. Vị trí của các gene ở xa hơn lúc đó được thực hiện bằng cách lập bản đồ của các gene này gắn liền với các gene nằm gần tâm động hơn.

• **Tái tổ hợp nguyên phân** (*mitotic recombination*)

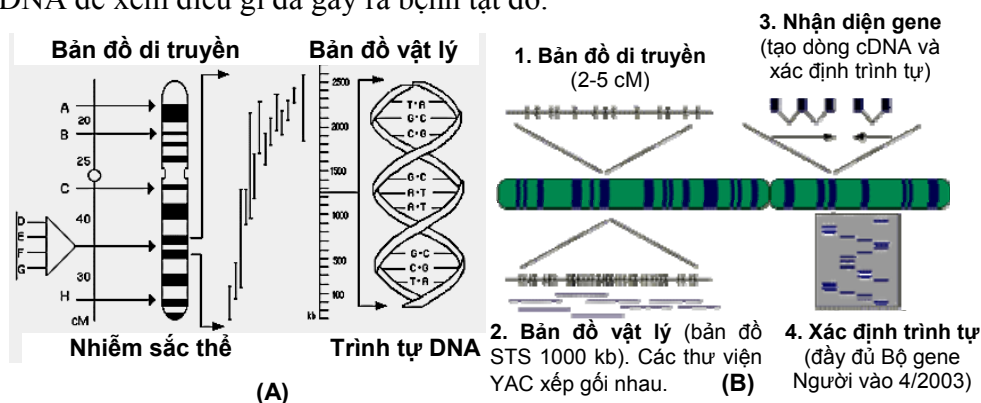
Sự trao đổi chéo cũng có thể xảy ra trong nguyên phân, mặc dù với tần

số thấp hơn khoảng 1000 lần so với giảm phân. Bằng chứng đầu tiên về *tái tổ hợp nguyên phân* (mitotic recombination) thu được ở ruồi giấm, nhưng lại được nghiên cứu kỹ nhất ở các vi nấm, đặc biệt là nấm men bia và *Aspergillus*. Và các bản đồ di truyền có thể thiết lập từ các tần số tái tổ hợp trong nguyên phân. Khoảng cách bản đồ tương đối giữa các gene cụ thể đôi khi tương xứng với khoảng cách bản đồ dựa trên các tần số tái tổ hợp trong giảm phân, nhưng chưa rõ lý do vì sao các khoảng cách này lại thường khác nhau một cách đáng kể. Những sự trái ngược, không nhất quán này có thể là kết quả hoặc là của các cơ chế tiếp hợp khác nhau hoặc là của sự phân bố không ngẫu nhiên của các vị trí trao đổi tiềm năng.

• Khoảng cách bản đồ và khoảng cách vật lý

Như đã đề cập trước đây, khoảng cách bản đồ giữa các gene được ước lượng bằng các phép lai di truyền nói chung là tương ứng với khoảng cách vật lý, hay độ dài của DNA, mà nó tách bạch các gene. Một trường hợp ngoại lệ chính là vùng tâm động, không có tái tổ hợp nhưng có thể chứa một độ dài DNA khá lớn. Hơn nữa, rõ ràng là tái tổ hợp có thể thường được khu trú trong các vùng đặc biệt, và không phải hoàn toàn ngẫu nhiên trên suốt chiều dài của nhiễm sắc thể.

Bằng cách so sánh các *bản đồ di truyền* (genetic map) và *bản đồ vật lý* (physical map), hình 4.24 cho thấy cả khoảng cách bản đồ ước tính được (bằng centiMorgan, viết tắt là cM) lẫn số lượng kilobase (1kbp = 1000 bp) trong DNA (bản đồ vật lý). Kế bên bản đồ di truyền của mỗi nhiễm sắc thể là bản đồ vật lý dựa trên các nghiên cứu xác định bằng nhiễm sắc thể (hình 4.24). Bản đồ mới này có tiềm năng hết sức to lớn trong việc giúp các nhà khoa học xác định vị trí các gene gây ra các bệnh cụ thể và sau đó kiểm tra DNA để xem điều gì đã gây ra bệnh tật đó.



Hình 4.24 Hai cách so sánh khoảng cách bản đồ (A và B); khoảng cách bản đồ di truyền được cho bằng đơn vị cM trên một nhiễm sắc thể và khoảng cách vật lý được cho bằng số kilobase trong trình tự DNA.

Gần đây, một nỗ lực to lớn đã được tập trung hướng tới thu nhận cho được một bản đồ di truyền của bộ gen người (xem hình 4.24, và các trang web <http://www.genome.gov/> và <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Omim/>). Bằng cách sử dụng các *chỉ thị phân tử* (molecular markers) khác nhau (hiện giờ được biết có tới hàng ngàn marker trải khắp bộ gene người) như: (i) *các đa hình độ dài phân đoạn DNA* (restriction fragment length polymorphism = RFLPs), nghĩa là các biến đổi trong các trình tự DNA của các sinh vật thuộc một loài nào đó mà có thể xác định được bằng sự tách đoạn các trình tự này nhờ sử dụng các enzyme giới hạn (chương 10), vì sự biến đổi nằm bên trong vị trí giới hạn; và RFLPs có thể được sử dụng để đo độ đa dạng của một gene trong quần thể; hay (ii) *Vị trí trình tự đích* (sequence tagged site = STS), đó là một trình tự độc nhất từ một vị trí nhiễm sắc thể đã biết mà có thể khuếch đại bằng phương pháp PCR; các STS hoạt động như là những marker vật lý cho việc lập *bản đồ bộ gene* (genome mapping) và *tạo dòng* (cloning) v.v...

• *Lưu ý:* Vấn đề lập bản đồ bằng phân tích bộ bốn ở các vi nấm và vi tảo tạm dừng tại đây bởi vì nó sẽ được trình bày đầy đủ trong giáo trình *Di truyền học vi sinh vật và ứng dụng*. Các hiện tượng *tái tổ hợp bên trong gene* (recombination within genes) và *phép phân tích bổ trợ* (complementation) hay là *trắc nghiệm cis-trans* (cis-trans test) sẽ được đề cập trong chương 6 và trình bày chi tiết trong giáo trình vừa nói trên.

Câu hỏi và Bài tập

1. (a) Trình bày các cơ chế xác định giới tính ở các sinh vật, và nêu ý nghĩa thực tiễn của chúng.

(b) Cơ sở di truyền học của hiện tượng bất hoạt nhiễm sắc thể X là gì?

(c) Phân biệt các tính trạng liên kết với giới tính, tính trạng bị giới hạn bởi giới tính và tính trạng chịu ảnh hưởng của giới tính, và cho các ví dụ.

2. (a) Nội dung cơ bản của thuyết di truyền nhiễm sắc thể là gì? Tần số tần số tái tổ hợp là gì và được ứng dụng trong di truyền học như thế nào? Cho ví dụ.

(b) Hãy chứng minh: Tần số tái tổ hợp (r) của hai cặp gene bất kỳ trên một cặp nhiễm sắc thể tương đồng nằm trong giới hạn $0 \leq r \leq 0,5$. Có nhận xét gì về mối liên hệ giữa các quy luật di truyền liên kết và phân ly độc lập?

3. Ở ruồi giấm, người ta đã tiến hành một số phép lai và nhận được kết quả dưới đây. Hãy giải thích cơ sở di truyền cho mỗi tính trạng và xác định kiểu gene của các cá thể.

P: Cái thân thâm, mắt trắng $\times$ đực thân vàng nhạt, mắt đỏ

F₁: Giới cái = tất cả vàng nhạt, mắt đỏ

Giới đực = tất cả vàng nhạt, mắt trắng

F₂: 27 vàng nhạt, mắt đỏ: 25 vàng nhạt, mắt trắng: 9 thâm, mắt đỏ: 8 thâm, mắt trắng. (Biết rằng không có sự khác nhau về tỷ lệ phân bố đực - cái ở mỗi kiểu hình của F₂).

4. Một phép lai giữa ruồi giấm cái cánh khía với ruồi giấm đực cánh bình thường, đời con gồm có 35 con cái cánh khía, 38 con cái cánh bình thường và 33 con đực bình thường. (a) Hãy xác định phương thức di truyền của kiểu hình cánh có khía và sơ đồ lai. (b) Trên thực tế có xuất hiện ruồi giấm cái cánh khía thuần chủng hay không? Tại sao?

5. Khi tiến hành lai giữa một ruồi giấm cái mắt đỏ và cánh ngắn với ruồi giấm đực mắt nâu và cánh dài thu được tất cả đời con có mắt đỏ và cánh dài. Kết quả tạp giao của các ruồi giấm F₁ thu được F₂ như sau:

Ruồi giấm cái	Ruồi giấm đực
76 đỏ, dài	39 đỏ, dài
24 đỏ, ngắn	37 nâu, dài
	13 đỏ, ngắn
	11 nâu, ngắn

Hãy xác định quy luật di truyền của các tính trạng và lập các sơ đồ lai.

6. Một nòi ruồi giấm kiểu dại được cho lai với một nòi khác đồng hợp về các thể đột biến liên kết trên X là m, r và v. Sau đó đem các ruồi giấm cái F₁ lai ngược với các con đực thuộc nòi lặn thì nhận được số lượng các kiểu hình đời con của chúng như dưới đây.

Kiểu hình	Số lượng	Kiểu hình	Số lượng
+ + +	331	m r +	10
m + +	2	m + v	81
+ r +	73	+ r v	0
+ + v	14	m r v	309

Hãy xác định trật tự các gene và lập bản đồ với khoảng cách tương đối giữa các thể đột biến này.

7. Xét các phép lai sau đây ở ruồi giấm về ba gene liên kết với giới tính:

P: + + +/+ + + $\times$ y w m/Y

F₁: Tất cả đều kiểu dại

Nếu đem các ruồi giấm cái F_1 lai phân tích với các con đực dòng kiểm tra đã tính được tần số của các kiểu hình như sau:

Các lớp kiểu hình	Tần số
Nhóm bố mẹ (không tái tổ hợp)	0,664
Nhóm tái tổ hợp của m với y và w	0,329
Nhóm tái tổ hợp của y với w và m	0,0057
Nhóm tái tổ hợp của w với y và m	0,00086

a) Hãy xác định kiểu gene của các ruồi giấm F_1 .

b) Biểu diễn vị trí và khoảng cách tương đối của các gene.

c) Tính hệ số trùng hợp và độ nhiễu.

d) Tính số cá thể kỳ vọng cho mỗi kiểu hình ở đời con (biết rằng tổng số cá thể là 10.495).

8. Một ruồi giấm cái dị hợp về cả ba gene $+sc$; $+ec$; $+vg$ được cho lai với một con đực đồng hợp lặn về cả ba gene này. Đời con gồm có:

sc ec vg	233	sc + vg	12
+ + +	239	+ ec +	14
sc ec +	241	sc + +	14
+ + vg	231	+ ec vg	16

Hãy giải thích kết quả này và chỉ ra bản đồ liên kết phù hợp.

9. Khi lai hai ruồi giấm *Drosophila* đều dị hợp về các tính trạng lặn liên kết là mắt nâu và thân đen cho kết quả như sau: 52 thân vàng nhạt, mắt đỏ : 9 thân vàng nhạt, mắt nâu : 10 thân đen, mắt đỏ : 9 thân đen, mắt nâu.

Hãy giải thích kết quả và lập sơ đồ lai.

10. Ở ruồi giấm, mắt quả thận (k), mắt dạng máu (cd), và thân mun (e) là ba allele lặn liên kết với nhau. Nếu đem các ruồi cái mắt thận, dạng máu đồng hợp lai với các ruồi đực thân mun đồng hợp, thu được các ruồi F_1 tất cả đều có kiểu dại. Nếu đem các ruồi cái F_1 dị hợp lai với các con đực mắt thận, dạng máu, thân mun thu được đời con gồm 1000 con, trong đó:

Mắt thận, dạng máu	440	Thân mun, mắt máu	23
Thân mun	443	Mắt thận	25
Mắt thận, thân mun	32	Mắt thận, máu, mun	1
Mắt máu	34	Kiểu dại	2

a) Xác định thành phần gene trên một nhiễm sắc thể của ruồi cái F_1 .

b) Vẽ bản đồ của các gene và tính hệ số trùng hợp và độ nhiễu.

Tài liệu Tham khảo

Tiếng Việt

Dubinin NP. 1981. *Di truyền học đại cương* (Bản dịch của Trần Đình Miên và Phan Cự Nhân). NXB Nông Nghiệp, Hà Nội

Hutt FB. 1964. *Di truyền học động vật*. (Bản dịch của Phan Cự Nhân). NXB Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội, 1978.

Phan Cự Nhân. 2001. *Di truyền học động vật*. NXB Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.

Phan Cự Nhân (chủ biên), Nguyễn Minh Công, Đặng Hữu Lanh. 1999. *Di truyền học* (2 tập). NXB Giáo Dục, Hà Nội.

Watson JD. 1968. *Chuỗi xoắn kép: Hồi ký về việc phát minh ra cấu trúc của DNA*. (Bản dịch của Lê Đình Lương và Thái Doãn Tĩnh). NXB Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội, 1984.

Tiếng Anh

Ayala FJ, Kiger JA. 1980. *Modern Genetics*. Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc, Menlo Park, CA.

Brooker RJ. 1999. *Genetics - Analysis and Principles*. Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc., Menlo Park, CA.

Campbell NA, Reece JB. 2001. *Essential Biology*. Benjamin/Cummings, an imprint of Addison Wesley Longman, Inc, San Francisco, CA.

Clegg CJ, Mackean DG. 2000. *Advanced Biology : Principles and Applications*. 2nd ed., John Murray Published Ltd, London.

Hartl DL, Freifelder D, Snyder LA. 1988. *Basic Genetics*. Jones and Bartlett Publishers, Inc, Boston - Portola Valley.

Kalthoff K. 1996. *Analysis of Biological Development*. McGraw-Hill, Inc., New York.

Karpen GH. 1994. Position-effect variegation and the new biology of heterochromatin. In: *Current Opinion in Genetics & Development*, Vol 4, No 2 (Stillman B and Green M, eds.), pp 281-291.

Kimball J. 2004. <http://users.rcn.com/jkimball.ma.ultranet/BiologyPages/>

Lewis R. 2003. *Human Genetics: Concepts and Applications*. 5th ed, McGraw-Hill, Inc, NY.

Martin E, Ruse M, Holmes E. 1996. *Oxford Dictionary of Biology*. 3rd. ed., Oxford University Press, Oxford, UK.

McKusick V. 1998. *Mendelian Inheritance in Man*. 12th ed., Johns Hopkins University Press, Baltimore.

Rastan S. 1994. X chromosome inactivation and the *Xist* gene. In: *Current Opinion in Genetics & Development*, Vol 4, No2 (Stillman B and Green M, eds.), pp 292-297.

Russell PJ. 2003. *Essential Genetics*. Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc., Menlo Park, CA.

Suzuki DT, Griffiths AJF, Miller JH, Lewontin RC. 1989. *An Introduction to Genetic Analysis*. 4th ed, W-H Freeman and Company, New York.

Tamarin RH. 1999. *Principles of Genetics*. 6th ed, McGraw-Hill, Inc, NY.

Weaver RF, Hedrick PW. 1997. *Genetics*. 3rd ed, McGraw-Hill Companies, Inc. Wm.C.Brown Publishers, Dubuque, IA.

Wellnitz WR. 1995. *Genetics: Problem Solving Guide*. 2nd ed., Wm.C. Brown Publishers. Dubuque, Iowa.

Yablokov AV. 1986. *Population Biology* (Progress and problems of studies on natural populations). MIR Publishers, Moscow. pp17-30.

Một số trang web

National Human Genome Research Institute (NHGRI)/ National Institute of Health (NIH). 2005: <http://www.genome.gov/>

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

Online Mendelian Inheritance in Man (OMIMTM):

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=OMIM>

Chương 5

Bản chất Hóa học và Tái bản của Vật chất Di truyền

Trước tiên, chúng ta cần nắm các đặc tính thiết yếu của vật chất di truyền sau đây: (1) Đặc tính *thông tin sinh học*: chứa đựng thông tin cần thiết cho việc xác định cấu trúc của tất cả các protein đặc thù của loài (các gene cấu trúc) và điều khiển các hoạt động sinh trưởng, phân chia và biệt hoá tế bào; (2) Đặc tính *tái bản*: khả năng tự sao chép chính xác, đảm bảo thông tin di truyền của thế hệ sau giống với thế hệ trước; (3) Đặc tính *hoạt động của các gene*: các gene trong bộ gene có khả năng tổng hợp ra các sản phẩm là những phân tử tham gia vào mọi động sống căn bản của tế bào (*phiên mã* và *dịch mã*); (3) Đặc tính *biến đổi*: khả năng bị biến đổi từ nhiều quá trình khác nhau (như đột biến, tái tổ hợp, các yếu tố di truyền vận động). Chính sự biến đổi đa dạng này tạo ra các nguồn biến dị di truyền đa dạng và phong phú cho sự chọn lọc và tiến hoá.

Ngày nay chúng ta đều biết rằng vật chất di truyền chính là các nucleic acid mà ở hầu hết sinh vật là loại *deoxyribonucleic acid* (DNA) và ở một số virus là *ribonucleic acid* (RNA). Trong chương này, chúng ta sẽ tìm hiểu thành phần hóa học và cấu trúc cũng như cơ chế tái bản của vật chất di truyền là các đại phân tử DNA và RNA.

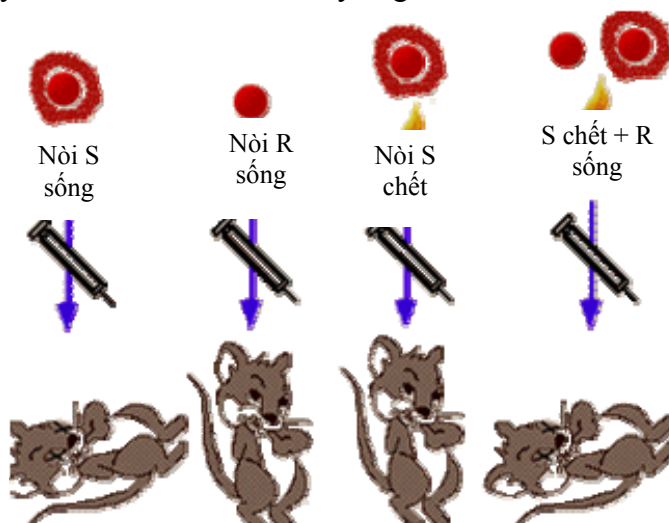
I. Bằng chứng vật chất di truyền là các nucleic acid

1. Các thí nghiệm biến nạp ở vi khuẩn

Năm 1928, Frederick Griffith đặt nền tảng cho việc xác định DNA là vật chất di truyền thông qua thí nghiệm *biến nạp* (transformation) trên phế cầu khuẩn *Streptococcus pneumoniae*. Các vi khuẩn kiểu dại có vỏ bọc bằng polysaccharide mọc thành các khuẩn lạc hay dòng đặc trưng bằng dạng nhẵn (S: smooth); chúng được coi là *độc* (virulent) vì có khả năng gây viêm phổi làm chuột chết. Một nòi đột biến của nó mất khả năng hình thành vỏ bọc và mọc thành các khuẩn lạc bé, xù xì (R: rough); chúng là các vi khuẩn *không độc* (avirulent).

Griffith tiến hành các thí nghiệm khác nhau và nhận thấy rằng: (1) Nếu tiêm các vi khuẩn sống nòi S, chuột chết; (2) Nếu tiêm các vi khuẩn sống nòi R, chuột sống; (3) Nếu tiêm các vi khuẩn sống nòi S đã bị giết chết bằng nhiệt, chuột sống bình thường; (4) Nhưng khi tiêm hỗn hợp gồm các vi khuẩn nòi R còn sống và vi khuẩn nòi S đã bị giết chết bằng nhiệt, kết quả bất ngờ là chuột chết. Từ mẫu máu của các con chuột chết này ông đã phân lập được các vi khuẩn nòi S còn sống. Điều đó chứng tỏ rằng bằng

cách nào đó các mảnh vỡ tế bào vi khuẩn nòi S bị giết bởi nhiệt đã xâm nhập vào tế bào R sống và làm biến đổi nó thành vi khuẩn S sống và gây độc. Quá trình này gọi là biến nạp và chất trong mảnh vỡ tế bào S đã gây sự biến nạp đặc thù đó được gọi là tác nhân biến nạp (*transforming agent*). Vậy bản chất của tác nhân này là gì?



Hình 5.1 Thí nghiệm của Griffith (từ trái sang là 1-4 như đã mô tả trong bài).

Trong hơn mười năm trời kể từ sau thí nghiệm của Griffith, Oswald Avery cùng với MacLeod và McCarty đã tiến hành trở lại thí nghiệm biến nạp này nhưng trong ống nghiệm (*in vitro*). Họ tinh chiết các thành phần của tác nhân gây biến nạp và cho các enzyme khác nhau tác động thăm dò lên hoạt tính của chất chiết này. Kết quả cho thấy hoạt tính của chất chiết chỉ bị phân hủy bởi deoxyribonuclease (DNase) - enzyme có khả năng phân cắt làm suy thoái chỉ đối với DNA, mà không bị tác động phân hủy của ribonuclease (RNase) - enzyme làm suy thoái chỉ các RNA, cũng như của các protease (như trypsin và chymotrypsin) - enzyme phân giải protein. Vào năm 1944, nhóm nghiên cứu của Avery đã chứng minh được rằng: DNA là vật chất mang thông tin di truyền, chứ không phải protein.

2. Tính ổn định của hàm lượng DNA ở các sinh vật bậc cao

Trước khi Avery và cs công bố kết quả này, đa số các nhà hóa sinh học vẫn tin rằng gene chính là protein. Vì vậy sau kết quả hiển nhiên đó, nhiều nhà khoa học vẫn còn nghi ngờ tính phổ quát của nó.

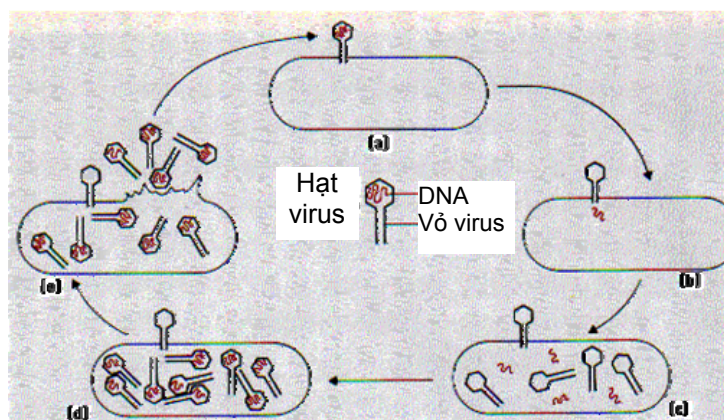
Vào lúc này, các nghiên cứu bản chất hóa học của nhiễm sắc thể đã khẳng định rằng, hầu hết DNA được khu trú trong các nhiễm sắc thể ở trong nhân. Hơn nữa, các phân tích hóa học của A.E.Mirsky và H.Ris

(USA) và của R.Vendrelly (France) cho thấy hàm lượng DNA mỗi bộ nhiễm sắc thể lưỡng bội luôn luôn ổn định đối với một cơ thể nhất định và bằng hai lần hàm lượng DNA mỗi tế bào tinh trùng đơn bội. Chẳng hạn, các số liệu tương ứng ở bò là xấp xỉ 6,6 và 3,3 picogam ($1\text{pg} = 10^{-12}\text{g}$).

3. Các thí nghiệm ở virus

3.1. Thí nghiệm Hershey-Chase

Năm 1952, Alfred D.Hershey và Martha Chase tiến hành các nghiên cứu đánh dấu đồng vị phóng xạ ở loại *thể thực khuẩn* (bacteriophage, thường nói gọn là *phage*) gọi là T2 vốn ký sinh ở vi khuẩn *Escherichia coli*. Phage này chứa một lõi DNA và lớp vỏ bảo vệ bằng protein. Dựa vào đặc điểm nguyên tử lưu huỳnh (S: sulfur) chỉ có trong protein và nguyên tử phosphor (P) chỉ có trong nucleic acid, họ đã đánh dấu protein bằng chất đồng vị phóng xạ S^{35} và DNA bằng P^{32} bằng cách cho các phage này sinh trưởng trên các môi trường có S^{35} và sinh sản khi có S^{32} . Các virus đánh dấu được sử dụng để theo dõi thành phần nào từ virus ban đầu đã đi vào tế bào chủ và sau đó xuất hiện trong các phage thế hệ con.



Hình 5.2 Thí nghiệm Hershey-Chase. (a) Phage bám ở bề mặt ngoài màng tế bào vi khuẩn; (b) bơm lõi DNA vào trong và để lại lớp vỏ protein bám ở ngoài; (c) tái bản, phiên mã và tổng hợp hàng loạt protein của virus; (d) lắp ráp lõi + vỏ để tạo ra các virion; (e) enzym lysozyme phá hủy vách tế bào vi khuẩn và phóng thích các phage thế hệ con.

Kết quả cho thấy trong các phage thế hệ con chỉ có hầu như DNA dạng ban đầu và không hề có protein dạng này (hình 5.2). Hơn nữa, lớp vỏ protein dạng ban đầu bám ở bên ngoài màng tế bào vi khuẩn, không thực hiện chức năng nào sau khi DNA đã được tiêm vào trong vi khuẩn. Như vậy, vật chất di truyền của phage T2 là DNA, chứ không phải protein.

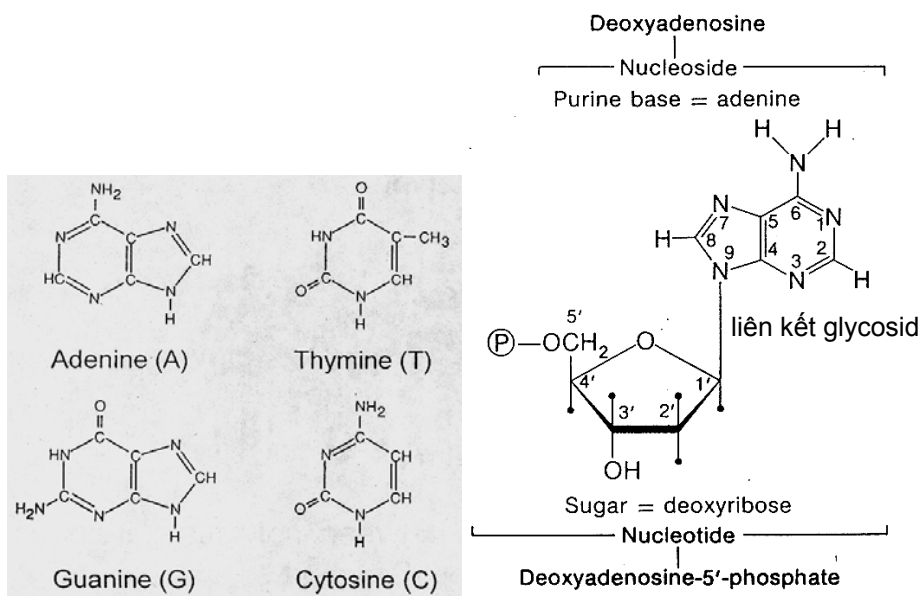
3.2. Thí nghiệm chứng minh vật chất di truyền của một số virus là RNA

Sau này, năm 1956 A.Gierer chứng minh rằng RNA được tinh sạch từ *virus đốm thuốc lá* (tobacco mosaic virus = TMV) có khả năng lây nhiễm khi không có bất kỳ protein nào thuộc virus. Kết quả phân tích các virus thể hệ con cho thấy chúng hoàn toàn giống với các virus sinh ra từ sự cho lây nhiễm bằng các virus còn nguyên vẹn. Bằng chứng RNA là thành phần di truyền của TMV cũng đã được Fraenkel Conrat và B.Singer tái xác nhận năm 1957 trong thí nghiệm "lắp ráp chéo" giữa lõi RNA và vỏ protein của hao kiểu TMV là S và HR.

II. Thành phần hóa học và cấu trúc của DNA

Các *nucleic acid* (DNA, RNA) là những polymer sinh học, có trọng lượng phân tử lớn, gồm nhiều đơn phân (monomer) là các *nucleotide* nối với nhau tạo thành các chuỗi hay mạch *polynucleotide* - cấu trúc sơ cấp của các phân tử nucleic acid.

1. Cấu trúc của các nucleotide



Hình 5.3 Bốn loại base của DNA và cấu trúc một nucleotide (dAMP).

Mỗi nucleotide gồm ba thành phần: một nhóm *phosphate*, một gốc đường pentose và một trong bốn loại *base nitơ* (các dẫn xuất của *purine* hoặc *pyrimidine*). Về cấu trúc, nhóm phosphate nối với gốc đường tại nguyên tử carbon số 5 (C_5') bằng một *liên kết ester* và base nitơ nối với gốc đường tại nguyên tử carbon số 1 (C_1') bằng một *liên kết β -glycosid* (Hình 5.3). *Lưu ý:* (1) Các base là thành phần đặc trưng qui định tên gọi các nucleotide mang chúng. Trong DNA chứa bốn loại base cơ bản:

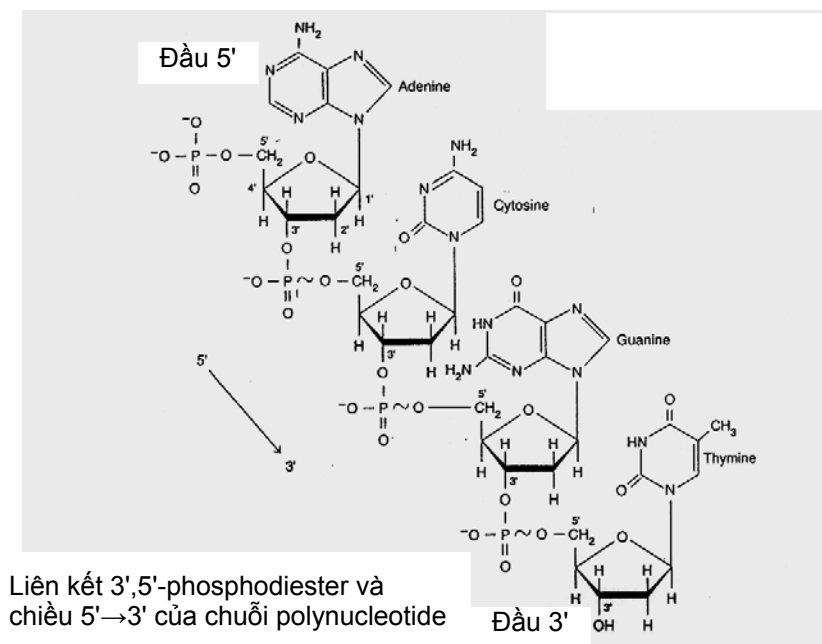
adenine (A), *thymine* (T), *guanine* (G) và *cytosine* (C); trong RNA cũng chứa bốn loại nhưng chỉ khác là thymine được thay bởi *uracil* (U).

(2) Đường pentose của RNA là *D-ribose* và của DNA là *2-deoxy-D-ribose* (ký hiệu D-: chỉ dạng đường quay phải để phân biệt với dạng L-quay trái không có trong thành phần của các nucleic acid tự nhiên). Hai gốc đường này khác nhau ở C_{2'}; trong ribose là nhóm -OH và trong deoxyribose là -H. Sự có mặt của thành phần đường trong các nucleotide phân biệt hai loại *ribonucleotide* và *deoxyribonucleotide* cấu tạo nên hai loại nucleic acid tương ứng là RNA và DNA.

(3) Cấu trúc "base + đường" gọi là *nucleoside*; cách đọc và viết tắt tương ứng với các base A, T, G và C trong DNA như sau: deoxyadenosine (dA), deoxythymidine (dT), deoxyguanosine (dG) và deoxycytidine (dC); cách gọi cho các nucleoside trong RNA chỉ cần bỏ tiền ngữ "deoxy" (d), và thay cho dT là uridine (U). Và nếu đọc đầy đủ tên gọi của một nucleotide chỉ cần thêm cái "đuôi" 5'-monophosphate, ví dụ ở hình 5.3.

(4) Tính phân cực trong cấu trúc một nucleotide còn thể hiện ở các nhóm hydroxyl (-OH) ở hai vị trí C_{5'} (hình thành liên kết ester với nhóm phosphate để tạo ra nucleotide) và C_{3'} (hình thành liên kết phosphodiester với nucleotide khác để tạo chuỗi polynucleotide).

2. Cấu trúc chuỗi polynucleotide



Hình 5.4 Cấu trúc chuỗi polynucleotide của DNA.

Các nucleotide trong DNA hoặc RNA nối với nhau bằng các mối liên kết 3',5'-*phosphodiester* giữa gốc đường của nucleotide này với nhóm phosphate của nucleotide kế tiếp, tạo thành chuỗi *polynucleotide* (nhờ sự xúc tác của các enzyme tương ứng là DNA- hoặc RNA-polymerase). Vì vậy các chuỗi này bao giờ cũng được kéo dài theo chiều 5'→3' (đầu 5' mang nhóm phosphate tự do và đầu 3' chứa nhóm -OH tự do) và có bộ khung gồm các gốc đường và phosphate luân phiên nhau, còn các base nhờ vậy có trình tự được đọc theo một chiều xác định (hình 5.4).

Thông thường người ta biểu diễn trình tự base 5'→3' theo chiều từ trái sang phải. Ví dụ dưới đây cho thấy các chuỗi RNA và DNA chỉ khác nhau bởi base U và T và gốc đường trong các nucleotide của chúng.

chuỗi RNA 5'- AUAGACUACG-3'

chuỗi DNA 5'- dAdTdAdGdAdCdTdAdCdG-3'

3. Thành phần hóa học và cấu trúc của chuỗi xoắn kép DNA

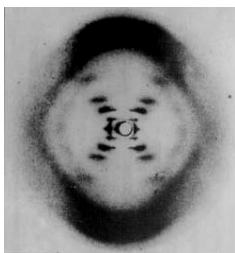
3.1. Thành phần hóa học của DNA

Năm 1949, E.Chargaff áp dụng phương pháp sắc ký giấy vào phân tích thành phần hóa học của DNA các loài khác nhau (Bảng 5.1; có thể xem trong Watson *et al* 1987, tr.73) đã khám phá ra ba điểm quan trọng sau đây: (1) Số lượng bốn loại base trong DNA là không bằng nhau; (2) Tỷ lệ tương đối của các base là không ngẫu nhiên; và trong tất cả các mẫu DNA nghiên cứu tồn tại mối tương quan về hàm lượng (%) giữa các base như sau: $A \approx T$ và $G \approx C$, nghĩa là tỷ số $(A+G)/(T+C) \approx 1$; và (3) Mỗi loài có một tỷ lệ $(A+T)/(G+C)$ đặc thù.

Bảng 5.1 Thành phần base của DNA ở một số loài (từ nhiều tác giả)

Sinh vật	A%	T%	G%	C%	$\frac{A+G}{T+C}$	$\frac{A+T}{G+C}$
Phage lambda	21,3	22,9	28,6	27,2	1,00	0,79
Phage T7	26,0	26,0	24,0	24,0	1,00	1,08
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	15,1	14,6	34,9	35,4	1,00	0,42
<i>Escherichia coli</i>	24,7	23,6	26,0	25,7	1,03	0,93
<i>Aspergillus niger</i> (nấm mốc)	25,0	24,9	25,1	25,0	1,00	1,00
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	31,3	32,9	18,7	17,1	1,00	1,79
<i>Triticum</i> (lúa mì)	27,3	27,1	22,7	22,8	1,00	1,19
<i>Zea mays</i> (ngô)	26,8	27,2	22,8	23,2	0,98	1,17
<i>Salmo salar</i> (cá hồi)	29,7	29,1	20,8	20,4	1,02	1,43
<i>Gallus domestica</i> (gà nhà)	29,5	27,7	22,4	20,4	1,08	1,34
<i>Homo sapiens</i> (người)	30,9	29,4	19,9	19,8	1,01	1,52

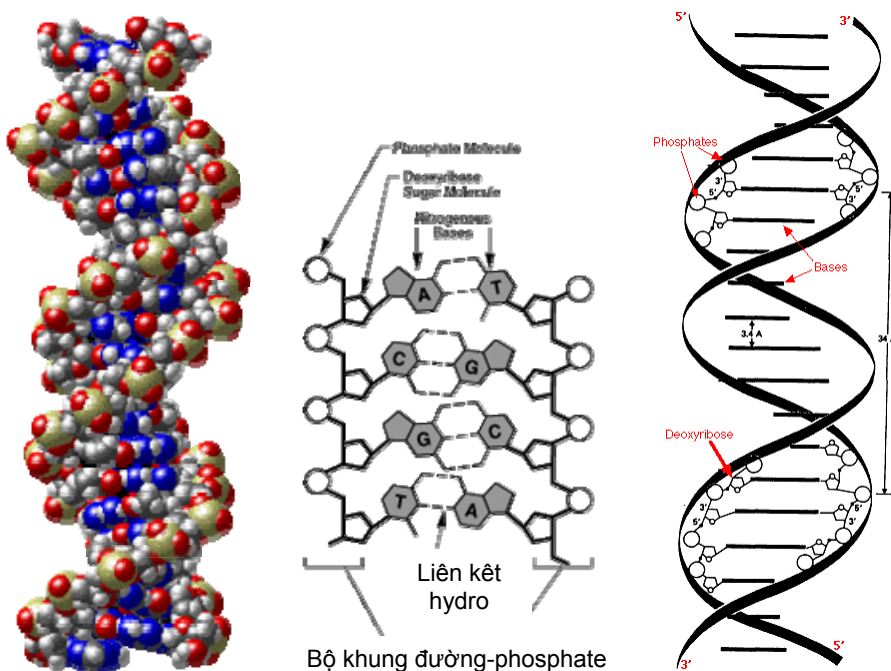
3.2. Cấu trúc chuỗi xoắn kép



Vào năm 1951-52, việc nghiên cứu cấu trúc ba chiều của DNA bằng phân tích nhiễu xạ tia X được bắt đầu bởi Maurice Wilkins và Rosalind Franklin. Các bức ảnh chụp được 1952 (hình 5.5) gợi ý rằng DNA có cấu trúc xoắn gồm hai hoặc ba chuỗi. Lúc này ở Anh còn có một số nghiên cứu khác nhằm phát triển lý thuyết nhiễu xạ của Linus Pauling để tìm hiểu cấu

Hình 5.5 Ảnh chụp DNA tinh thể bằng tia X của Franklin.

trúc DNA. Tuy nhiên, giải pháp đúng đắn nhất là *chuỗi xoắn kép* (double helix) bổ sung do James Watson và Francis Crick đã đưa ra năm 1953. Mô hình này (hình 5.6) phù hợp với các số liệu của Wilkins và Franklin cũng như của Chargaff. Sự kiện này mở ra một bước ngoặt mới cho sự ra đời và phát triển với tốc độ như vũ bão của di truyền học phân tử và sinh học nói chung.



Hình 5.6 Các mô hình cấu trúc DNA. Bên trái là mô hình không gian lấp đầy. Hình giữa là chuỗi xoắn duỗi thẳng cho thấy các cặp base ở giữa và hai bộ khung đường-phosphate ở hai bên, với các thành phần được chỉ ra bằng các mũi tên. Bên phải là sơ đồ chuỗi xoắn kép với hai sợi đối song song.

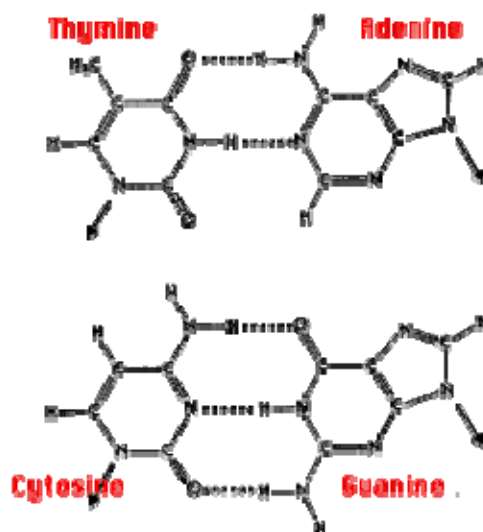
Mô hình Watson-Crick hay DNA dạng B có các đặc điểm sau:

(1) DNA gồm hai chuỗi *đối song song* (antiparallel) cùng uốn quanh một trục trung tâm theo chiều xoắn phải, với đường kính $20\text{\AA}$ ($1\text{\AA} = 10^{-10}\text{m}$), gồm nhiều vòng xoắn lặp lại một cách đều đặn và chiều cao mỗi vòng xoắn là $34\text{\AA}$, ứng với 10 *cặp base* (base pair, viết tắt là bp).

(2) Các bộ khung đường-phosphate phân bố ở mặt ngoài chuỗi xoắn và các base nằm ở bên trong; chúng xếp trên những mặt phẳng song song với nhau và thẳng góc với trục phân tử, với khoảng cách trung bình $3,4\text{\AA}$.

(3) Hai sợi đơn gắn bó với nhau bằng các *liên kết hydro* (vốn là lực hóa học yếu) được hình thành giữa các cặp base đối diện theo *nguyên tắc bổ sung* "một purine - một pyrimidine". Cụ thể là, trong DNA chỉ tồn tại hai kiểu kết cặp base đặc thù là A-T (với hai liên kết hydro) và G-C (với ba liên kết hydro) (xem các hình 5.6 và 5.7).

(4) Tính chất bổ sung theo cặp base dẫn đến sự bổ sung về trình tự các base giữa hai sợi đơn của mỗi chuỗi xoắn kép. Vì vậy, trong DNA sợi kép bao giờ cũng có: $A = T$ và $G = C$ (quy luật Chargaff); nghĩa là $(A+G) = (T+C)$ hay tỷ số $\frac{A+G}{T+C} = 1$, còn tỷ lệ $\frac{A+T}{G+C}$ đặc thù cho từng loài.



Hình 5.7 Hai kiểu kết cặp base của DNA. Cặp G-C nối với nhau bằng ba liên kết hydro (biểu thị bằng các đường chấm), có cùng hình dạng chính xác như cặp A-T nối với nhau bằng hai liên kết hydro. Các mũi tên chỉ vị trí liên kết giữa base với gốc đường.

Cần lưu ý rằng, hai đặc điểm quan trọng nhất trong cấu trúc DNA là sự *phân cực ngược chiều* của hai sợi đơn ($5' \rightarrow 3'$ và $3' \rightarrow 5'$) và *nguyên tắc bổ sung* giữa các cặp base. Hai đặc điểm này cho phép giải thích một cách cơ

bản các cơ chế di truyền ở cấp độ phân tử (tái bản, phiên mã và dịch mã).

4. Sơ lược về các đặc tính hóa lý của các nucleic acid

4.1. Các dạng của DNA

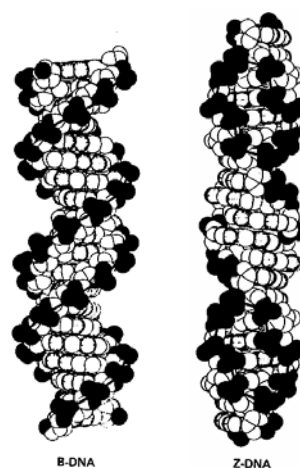
Mô hình Watson-Crick hay DNA *dạng B* là cấu trúc phổ biến. Tuy nhiên, sau này người ta còn phát hiện ra nhiều dạng xoắn phải khác (A,C,D...); chúng có một số biến đổi so với DNA-B (xem bảng 5.2).

Bên cạnh các dạng DNA xoắn phải, từ năm 1979 Alexander Rich và đồng sự còn phát hiện thêm một dạng DNA xoắn trái duy nhất cho đến nay, gọi là *DNA-Z*. Dạng DNA này có các bộ khung zigzag uốn gấp khúc theo chiều trái, mỗi vòng xoắn dài $45,6\text{\AA}$ chứa 12 cặp base (hình 5.8 và bảng 5.2). DNA dạng Z chứa các sợi gồm các purine và pyrimidine xếp xen kẽ nhau, thí dụ:

--GCGCGCGC--

--CGCGCGCG--

Mặc dù Rich khám phá DNA-Z khi nghiên cứu về các hợp chất mô hình, song cấu trúc này dường như cũng có mặt trong các tế bào sống ở một tỷ lệ nhỏ và vẫn còn chưa thật sự hiểu rõ chức năng của nó.



Hình 5.8 DNA-B và DNA-Z

Bảng 5.2 Đặc điểm của các dạng DNA - A, B, C và Z

Dạng	Chiều xoắn	Số bp/vòng xoắn	Đường kính chuỗi xoắn
A	Phải	11,0	$23\text{\AA}$
B	Phải	10,0	$19\text{\AA}$
C	Phải	9,3	$19\text{\AA}$
Z	Trái	12,0	$18\text{\AA}$

*Nguồn: J.Kimball (từ internet). Về chi tiết, xem trong Watson *et al* 1987, tr.249.

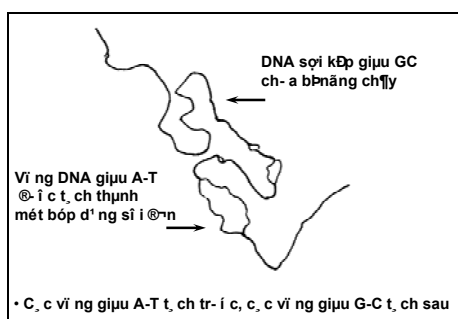
4.2. Biến tính và hồi tính của DNA

4.2.1. Khái niệm biến tính và hồi tính

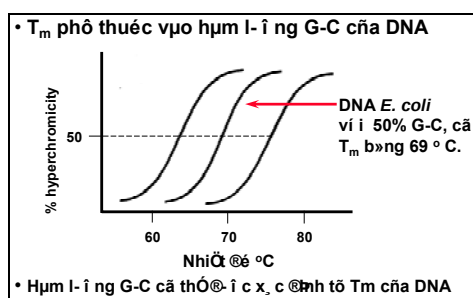
Một trong những đặc điểm quan trọng nhất của DNA là hai mạch đơn bổ sung của nó gắn với nhau bằng các mối liên kết hydro, vốn là lực liên kết hóa học yếu nên chúng có thể bị phân hủy dưới tác dụng của các enzyme, năng lượng... làm cho hai mạch đơn của chuỗi xoắn kép tách rời nhau. Nhờ đó DNA mới có thể tái bản, các gene mới có thể biểu hiện ra

các sản phẩm của mình. Mặt khác, DNA có thể phục hồi trở lại trạng thái ban đầu theo một quá trình ngược lại, nghĩa là có tính thuận-ngịch.

Bằng thực nghiệm, người ta đã chứng minh điều đó bằng cách sử dụng các tác nhân vật lý và hóa học khác nhau. Chẳng hạn, khi đun nóng từ từ các phân tử DNA lên tới nhiệt độ gần 100°C (thường là $90-95^{\circ}\text{C}$), thì các liên kết hydro của chúng bị phá hủy hoàn toàn và hai sợi bổ sung tách ra. Hiện tượng này được gọi là *biến tính* (denaturation). Ngược lại, khi làm nguội từ từ dung dịch đột nóng chứa DNA bị biến tính hoàn toàn, các sợi đơn thường cặp đôi với sợi bổ sung của chúng và làm phục hồi chuỗi xoắn kép như lúc đầu. Hiện tượng đó gọi là *hồi tính* (renaturation).



Hình 5.9 DNA biến tính từng phần.



Hình 5.10 Sự phụ thuộc của T_m vào hàm lượng GC của 3 DNA khác nhau

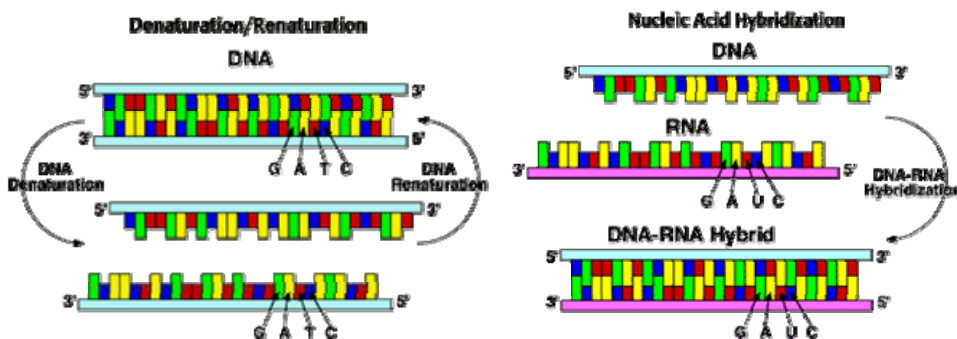
Ở nhiệt độ vừa phải hoặc khi có mặt các tác nhân gây mất ổn định như alkali hay formamide, thì các phân tử DNA bị biến tính từng phần. Khi đó tại các vùng giàu cặp AT sẽ tách từng phần trước, trong khi các vùng giàu cặp GC vẫn giữ nguyên đặc tính xoắn kép. Điều này có thể lý giải là do mỗi cặp AT chỉ có hai liên kết hydro rõ ràng là kém bền hơn so với mỗi cặp GC có tới ba mỗi liên kết như thế.

Nhiệt độ mà tại đó các sợi DNA bị biến tính hay tách nhau một nửa được gọi là *nhệt độ nóng chảy* (melting temperature), hay T_m . T_m là điểm giữa của pha chuyển tiếp (hình 5.9) và nó tùy thuộc vào hàm lượng G-C của DNA, nghĩa là đặc trưng cho DNA mỗi loài. Ví dụ, DNA của *E. coli* với 50% G-C thì có T_m là 69°C (hình 5.10).

Nói chung, hàm lượng GC của một DNA có thể biến thiên từ 22% ở nấm mốc nhầy *Dictyostelium* đến 73% ở *Mycobacterium phlei*. Điều này có thể gây một hiệu quả mạnh lên các đặc tính hóa lý của DNA, đặc biệt là lên nhiệt độ nóng chảy, vốn nó tăng tuyến tính với hàm lượng GC. Nhiệt độ nóng chảy (T_m) của một DNA là nhiệt độ mà tại đó hai sợi bị biến tính hay tách nhau một nửa. Ngoài ra, nồng độ ion thấp và các dung môi hữu cơ cũng thúc đẩy sự biến tính của DNA.

4.2.2. Ứng dụng trong lai phân tử (hình 5.11)

Người ta lợi dụng khả năng nói trên của DNA để tạo ra các phân tử DNA lai nhân tạo bằng cách làm lạnh từ từ hỗn hợp các DNA biến tính từ hai loài khác nhau. *Kỹ thuật lai phân tử* (molecular hybridization) này đã được ứng dụng rộng rãi để xác định mức độ tương đồng DNA của các nhóm phân loại khác nhau. Ví dụ, các thực nghiệm cho thấy có khoảng 25% tổng số DNA người và chuột có thể lai với nhau (Watson *et al* 1987).



Hình 5.11 Biến tính và hồi tính của DNA (trái) và lai nucleic acid (phải).

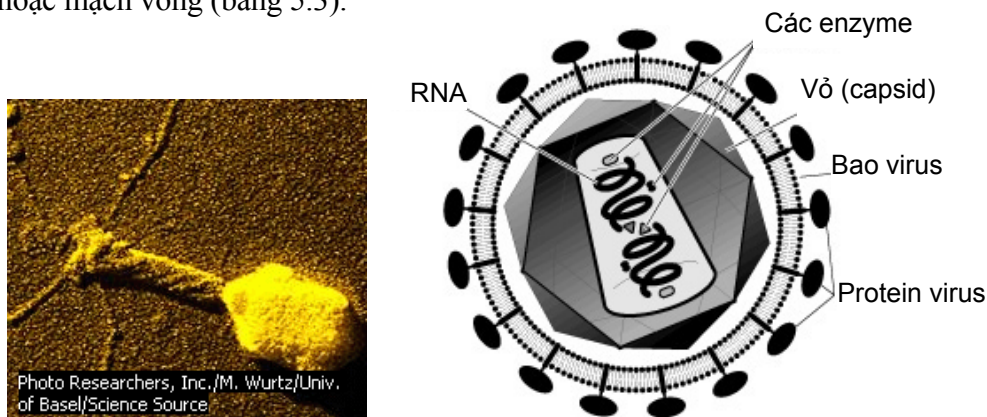
Theo nghĩa rộng, lai phân tử hay lai nucleic acid được hiểu là sự tương tác giữa các sợi nucleic acid bổ sung. Nó có thể xảy ra giữa hai sợi DNA hay giữa các sợi DNA và RNA, và đó chính là cơ sở của nhiều kỹ thuật, chẳng hạn như: lai một *mẫu dò có đánh dấu đồng vị phóng xạ* (radioactive probe) để lọc ra DNA hay RNA bám vào mang lai là một trong những thí nghiệm cho nhiều thông tin bổ ích nhất được tiến hành trong di truyền học phân tử. Hai kiểu cơ bản của lai phân tử là *phương pháp thấm Southern* (Southern blots) và *phương pháp thấm Northern* (Northern blots). Trong đó, kiểu đầu là lai bằng một mẫu dò để lọc DNA, còn kiểu sau dùng để lọc RNA. *Mẫu dò* (probe) là các công cụ sơ cấp được dùng để xác định các trình tự bổ sung cần quan tâm; nó là một nucleic acid sợi đơn được đánh dấu phóng xạ và được dùng để xác định một trình tự nucleic acid bổ sung bám trên màng lọc nitrocellulose hay màng lai bằng nylon. Nói chung, mẫu dò là một *dòng* (clone) được tạo ra bằng cách xen DNA vào một *vector*. Thông thường hầu hết các vật dò này là các dòng thuộc plasmid.

III. Kích thước bộ gene và tính phức tạp về mặt tiến hóa

1. Sơ lược về bộ gene của các virus, prokaryote và eukaryote

Virus là nhóm "sinh vật" bé nhất chưa có cấu tạo tế bào, không tồn tại đơn độc mà ký sinh bắt buộc ở các tế bào *sinh vật tiền nhân* (prokaryote) hoặc *sinh vật nhân chuẩn* (eukaryote); chỉ trong điều kiện đó chúng mới có khả năng tái bản. Các virus ký sinh hoặc gây nhiễm vi khuẩn gọi là *thể*

thực khuẩn (bacteriophage) hay *phage*. Cấu trúc của các virus tương đối đơn giản, gồm hai phần chính là lõi axit nucleic và vỏ protein (hình 5.12). Một số virus ở thực vật hoặc các virus gây ung thư, AIDS, SARS ở người và động vật có bộ gene là RNA. Số còn lại bao gồm nhiều virus ký sinh ở vi khuẩn và động vật có bộ gene là DNA sợi kép hoặc sợi đơn, có mạch thẳng hoặc mạch vòng (bảng 5.3).



Hình 5.12 Ảnh chụp phage T4 (trái) và sơ đồ cấu trúc của HIV (phải).



Hình 5.13 Ảnh chụp các tế bào *E. coli* (trái) và vật chất di truyền của nó (phải), và bên dưới là ảnh hiển vi điện tử của plasmid pSC101.

Nhóm prokaryote bao gồm các *vi khuẩn* (bacteria) và *vi khuẩn cổ* (archae) là các sinh vật có cấu tạo tế bào đơn giản nhất. Vi khuẩn *Escherichia coli* (hình 5.13) là đối tượng được sử dụng rộng rãi trong các nghiên cứu di truyền phân tử. Bộ gene chính của nó là một phân tử DNA sợi kép vòng có kích thước lớn (4.639.221 bp, với 4290 gene mã hóa protein và 53 gene RNA) gọi là nhiễm sắc thể chính. Nó thường tập trung ở một "vùng nhân" (nucleoid), không có màng nhân bao bọc, và ở trạng thái *siêu xoắn* (supercoiled DNA) dưới sự kiểm soát của các enzyme

topoisomerase. Ngoài ra còn có nhiều phân tử DNA sợi kép trần mạch vòng khác có kích thước bé hơn nhiều, gọi là các *plasmid* (Vấn đề này được trình bày kỹ trong giáo trình *Di truyền học Vi sinh vật và Ứng dụng*).

Nhóm eukaryote là nhóm lớn nhất và tiến hóa đa dạng nhất về trình độ tổ chức cơ thể, bao gồm tất cả các sinh vật có cấu tạo tế bào (trừ vi khuẩn và vi khuẩn lam), có thể là đơn bào hoặc đa bào. Trong tế bào chứa hai hệ thống di truyền, bộ gene nhân (đã trình bày ở chương 3 và 4) và bộ gene tế bào chất (xem chương 9). Kích thước bộ gene của một số sinh vật thường gặp được giới thiệu ở các bảng 5.3 và 5.4.

2. Mối quan hệ giữa kích thước bộ gene và tính phức tạp về tiến hóa

Dựa trên các kết quả phân tích bộ gene của các virus và vi khuẩn cũng như của bộ gene ở eukaryote (bộ nhiễm sắc thể đơn bội), cho phép khái quát như sau: *Kích thước của bộ gene tăng lên tương đối cùng với mức độ phức tạp về tiến hóa*. Thật vậy, từ bảng 5.3 ta thấy rằng kích thước bộ gene của các virus nói chung là rất nhỏ so với nhóm prokaryote; và kích thước bộ gene của các prokaryote lại tỏ ra quá đơn giản so với ngay cả một eukaryote đơn bào như nấm men.

Ví dụ: Trong khi DNA của một vi khuẩn điển hình như *E. coli* hơn 4,6 triệu cặp base và chứa 4.377 gene mã hóa protein (không kể 53 gene RNA); thì phage MS2 là một trong các virus bé nhất, bộ gene RNA của nó cũng chỉ có 3.569 base với tất cả 4 gene; hoặc có kích thước lớn như virus Epstein-Barr - bộ gene DNA sợi kép mạch vòng - cũng chỉ có 172.282 cặp base với tất cả 80 gene. Nếu xét trên cả hai nhóm prokaryote và eukaryote, ta thấy rằng kích thước các bộ gene biến thiên rất rộng: bộ gene đối với một sinh vật sống tự do (một vi khuẩn) được biết là bé nhất chứa khoảng 600.000 cặp base DNA, trong khi các bộ gen người và chuột là khoảng 3 tỷ. Nếu xét riêng ở nhóm eukaryote, ta đã biết mỗi loài có một số lượng nhiễm sắc thể đặc trưng và nó không phản ánh trình độ tiến hóa của các loài. Tuy nhiên, về mặt nào đó rõ ràng là có sự tương quan thuận giữa hàm lượng DNA của các bộ gene đơn bội và nấc thang tiến hóa của các động-thực vật. Dù vậy vẫn có một số ngoại lệ so với quy tắc này!

3. Hàm lượng DNA và nghịch lý giá trị C

Chẳng hạn, mặc dù *Psilotum nudum*, đôi khi gọi là "dương xỉ lông", là một thực vật đơn giản hơn nhiều so với loài *Arabidopsis thaliana* vốn là một thực vật có hoa thuộc họ cải, nhưng nó lại có hàm lượng DNA lớn hơn tới 3.000 lần. Mặc dù ta hiểu tại sao, nhưng có điều thú vị là trên 80% bộ gene của nó là DNA lặp lại không chứa thông tin di truyền nào cả! Hay một số thực vật (như ngô, loa kèn) hay một số động vật (như lươn thê, cá) lại có kích thước bộ gene lớn gấp nhiều lần so với lớp thú (bảng 5.3).

Một số lượng thể chứa DNA nhiều gấp bộ gene chúng ta đến 30 lần, nhưng chắc chắn không phải là chúng phức tạp gấp chúng ta 30 lần.

Bảng 5.3 Kích thước bộ gene (genome) một số sinh vật thường gặp

Bộ gene sinh vật	Số bp	Số gene	Ghi chú
Virus			
Phage Ø-X174 (ở <i>E. coli</i>)	5.386	10	DNA sợi đơn vòng
Phage lambda (ở <i>E. coli</i>)	48.502	~61	DNA sợi kép thẳng
Phage T2 hoặc T4 (ở <i>E. coli</i>)	$\sim 2 \times 10^5$	150-200	DNA sợi kép thẳng
Phage MS2 (ở <i>E. coli</i>)	3.569	4	RNA
SV40 (gây khối u ở khỉ)	5.226		DNA sợi kép vòng
Virus SARS (ví dụ, H5N1)	29.600		RNA
Epstein-Barr virus (EBV)	172.282	80	DNA sợi kép thẳng
Prokaryote			
<i>Haemophilus influenzae</i>	1.830.138	1.738	Gây nhiễm tai giữa
<i>Chlamydia trachomatis</i>	1.042.519	936	Bệnh lây qua tình dục
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	2.160.837	2.236	<i>Pneumococcus</i>
<i>Vibrio cholerae</i>	4.033.460	3.890	Ở 2 NST; gây cholera
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	4.411.532	3.959	Gây bệnh lao
<i>Bacillus subtilis</i>	4.214.814	4.779	
<i>Escherichia coli</i> *	4.639.221	4.377	Có 4290 cistron
<i>Agrobacterium tumefaciens</i> **	4.674.062	5.419	Vector hữu ích...
<i>E. coli</i> O157:H7	$5,44 \times 10^6$	5.416	Gây bệnh ở người
Eukaryote			
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	12.495.682	5.770	Men bia nảy chồi
<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	12.462.637	4.929	Nấm men phân cắt
<i>Plasmodium falciparum</i> ***	22.853.764	5.268	Gây sốt rét nguy hại
<i>Neurospora crassa</i>	38.639.769	10.082	+ 498 gene RNA
<i>Caenorhabditis elegans</i> ****	100.258.171	~19.000	Giải tr.tự đầu tiên...
<i>Arabidopsis thaliana</i>	115.409.949	25.498	Thực vật có hoa
<i>Drosophila melanogaster</i>	122.653.977	13.379	Ruồi giấm
Người (<i>Homo sapiens</i>)*****	$\sim 3,2 \times 10^9$	~25.000	Giải tr.tự 4/2003 ...
Lúa (<i>Oryza sativa</i>)	$4,3 \times 10^8$	~60.000	
Loa kèn (<i>Lilium longiflorum</i>)	3×10^{11}	?	
Chuột	$2,2 \times 10^9$	?	
Lưỡng thê	$10^9 - 10^{11}$	?	

Chú thích: *Có 4290 gene mã hóa protein, còn lại là các gene RNA; ** Vector hữu ích để chuyển gene ở thực vật; *** Cộng với 53 gene RNA; **** Eukaryote đa bào đầu tiên được xác định trình tự; ***** Được xác định đầy đủ trình tự vào 4/2003 bởi HGP, với tổng cộng 3.164.700.000 cặp base; và theo ước tính mới nhất công bố ngày 21/10/2004 trên tạp chí *Nature*, bộ gene người chúng ta chứa khoảng 20.000-25.000 gene mã hóa protein, chiếm khoảng 2% toàn bộ bộ gene.

Người ta gọi tổng hàm lượng DNA trong bộ gene đơn bội là *giá trị C* (C-value). Với phân tích ở trên cho thấy không hề tồn tại một mối quan hệ nhất quán giữa giá trị C và tính phức tạp của một sinh vật (như lưỡng thể với thú); cái đó được gọi là *nghịch lý giá trị C* (C-value paradox).

4. Về kích thước DNA các bào quan

Kích thước DNA của một số bào quan (bảng 5.4) cho thấy chúng có vẻ đơn giản và không có dấu hiệu tiến hóa rõ rệt. Nói chung, kích thước mỗi phân tử *DNA ty thể* (mitochondrial DNA = mtDNA) của người và các động vật có vú thường nằm trong khoảng 15.000-17.000 bp; ví dụ mtDNA người là 16.569 bp. Trong khi đó, kích thước một *DNA lục thể* (chloroplast DNA = ctDNA hay cpDNA) ở phần lớn tế bào các thực vật thường vào khoảng 130.000 -150.000 bp. Chẳng hạn, ctDNA ở lúa tròng (*O. sativa*) thuộc hai nhóm indica và japonica có kích thước tương ứng là 134.494 bp và 135.525 bp, ở lúa mỳ (*Triticum aestivum*) là 134.545 bp và ở ngô (*Zea mays*) là 140.384 bp... Còn các plasmid hiện diện ở một số tế bào thực vật thường có kích thước rất bé khoảng 1-2 ngàn cặp base.

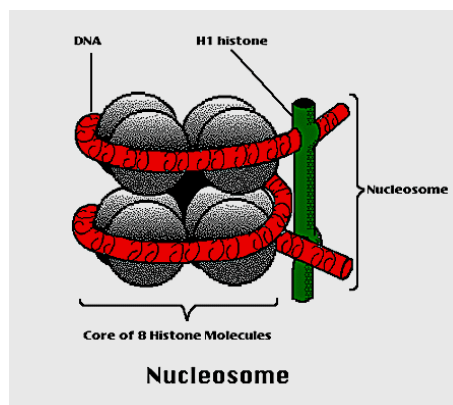
Bảng 5.4 Kích thước DNA bào quan ở một số sinh vật

DNA ty thể	Số cặp base	DNA lục thể	Số cặp base
Người	16.569	Lúa (ind; jap)	134494 ; 134525
<i>D. melanogaster</i>	19.517	Ngô	140.384
<i>S. cerevisiae</i>	85.779	Mía	141.182
Plasmid		Plasmid	
Lúa (indica; japonica)	1485 ; 2.135	<i>N. crassa</i>	3581; 3675; 7050
Ngô	1.913	<i>Brassica</i>	11.640

IV. Tổ chức phân tử của các nhiễm sắc thể

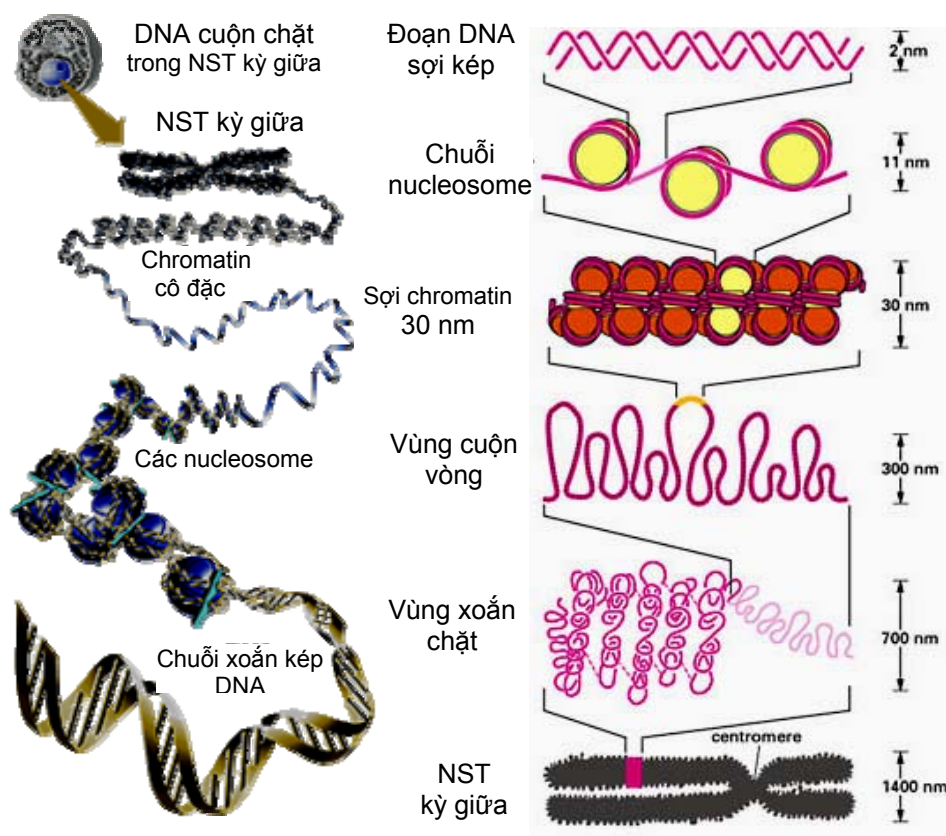
1. Cấu trúc chất nhiễm sắc

Ở đây ta chỉ tìm hiểu tổ chức của DNA trong các nhiễm sắc thể eukaryote. Mỗi nhiễm sắc thể eukaryote là một phức hợp *nucleoprotein* bao gồm một phân tử DNA sợi kép mạch thẳng kết hợp với các phân tử protein cơ sở gọi là histone (giàu các amino acid lysine và arginine). Phức hợp như thế gọi là *chất nhiễm sắc* (chromatin).



Hình 5.14 Sơ đồ cấu trúc một nucleosome

Đơn vị tổ chức của cơ sở các nhiễm sắc thể eukaryote là các *nucleosome* (hình 5.14). Mỗi nucleosome có đường kính khoảng 11 nm, gồm một khối cầu tám phân tử histone, $(H2A + H2B + H3 + H4)_2$, gọi là *lõi octamer* và đoạn DNA có kích thước 146 cặp base quấn $1\frac{3}{4}$ vòng xung quanh nó (thường được mô tả đơn giản: một đoạn DNA dài 160-200 bp quấn hai vòng quanh octamer). Một phân tử H1 bám vào đoạn DNA "nối" (linker DNA) bên ngoài khối cầu, giữ vững sự tương tác của DNA với các histone lõi. Đoạn DNA nối giữa hai nucleosome dài khoảng 150 bp.



Hình 5.15 Tổ chức DNA trong nhiễm sắc thể eukaryote. DNA cuộn chặt trong nhiễm sắc thể kỳ giữa được mở xoắn dần qua các mức độ khác nhau (hình trái). DNA đóng xoắn dần qua các mức cho đến khi hình thành nhiễm sắc thể kỳ giữa nguyên phân, với chiều dài rút ngắn khoảng 50.000 lần (hình phải).

Như vậy, bậc cấu trúc đầu tiên của chromatin được hình dung dưới dạng một chuỗi các nucleosome, hay *sợi nucleosome* (nucleosome fiber) có độ dày 11 nm (1 nanomet = 10 Å). Bậc thứ hai của sự cuộn gấp chromatin có liên quan tới sự xoắn lại của sợi nucleosome thành ra một

sợi dày 25 nm gọi là một *solenoid*. Các histone H1 được coi là tham gia vào sự xoắn lại này bằng cách tương tác với các phân tử H1 khác. Bậc thứ ba của sự hóa xoắn có lẽ là cuộn vòng của sợi 25 nm thành một cấu trúc kiểu như bàn chải (brushlike) với các vòng được neo dính vào một giá trung tâm (dày ~300 nm). Đây chính là vùng tháo giãn xoắn của nhiễm sắc thể, tương ứng với *chất đồng nhiễm sắc* (euchromatin). Sau đó các dây vòng được sắp xếp trong các không gian ba chiều này xoắn chặt tạo thành các vùng gọi là *chất dị nhiễm sắc* (heterochromatin) trên một *chromatid* với độ dày khoảng 700 nm. Tại kỳ giữa của nguyên phân, mỗi nhiễm sắc thể có cấu trúc điển hình gồm hai chromatid chị em (two sister chromatids) dính chung nhau ở *tâm động* (centromere) với độ dày toàn bộ chừng 1400 nm (hình 5.15). Như vậy, chất nhiễm sắc trong các tế bào eukaryote tồn tại ở hai dạng: (1) Chất dị nhiễm sắc là các phần cuộn xoắn chặt và không có hoạt tính phiên mã; và (2) Chất đồng nhiễm sắc là các vùng giãn xoắn và chỉ ít cũng có tiềm năng hoạt tính.

2. Sơ lược các thành phần DNA trong bộ gene eukaryote

Nói chung, trong mỗi bộ gene eukaryote bao gồm các kiểu DNA chính sau đây, và để cho tiện ta lấy bộ gene người làm thí dụ :

- DNA *bản sao đơn* (single-copy or unique), nghĩa là các gene có mặt chỉ một lần trong bộ gene; loại này chiếm khoảng 75% bộ gene và bao gồm hầu hết các gene.

- DNA *lặp lại* (repetitive) bao gồm một số gene được lặp lại vài lần cho đến hàng ngàn lần trong bộ gene. Nhóm này được chia làm hai loại:

- + DNA *lặp lại kiểu phân tán* (interspersed): loại này chiếm khoảng 15% và phân bố rải rác khắp bộ gen giữa các gene cũng như bên trong các gene; bao gồm các *trình tự Alu* (là các đoạn DNA dài khoảng 300 bp và được lặp lại khoảng 300.000 lần trong bộ gene; chúng có thể có mặt ở chỗ tiếp giáp hoặc bên trong các gene trong các intron hoặc các vùng không được dịch mã) và cả các đoạn lặp nối tiếp có số lượng biến thiên (VNTRs = variable numbers of tandem repeats), vốn là các đoạn lặp ngắn chỉ vài cặp base nhưng có chiều dài sai khác, hay các *tiểu vệ tinh* (mini- hay microsatellite). Ví dụ: các đoạn lặp phân tán (5'→3') trong các đoạn Alu:

GCTGCGG.....GCTGAGG.....GCTGAGG

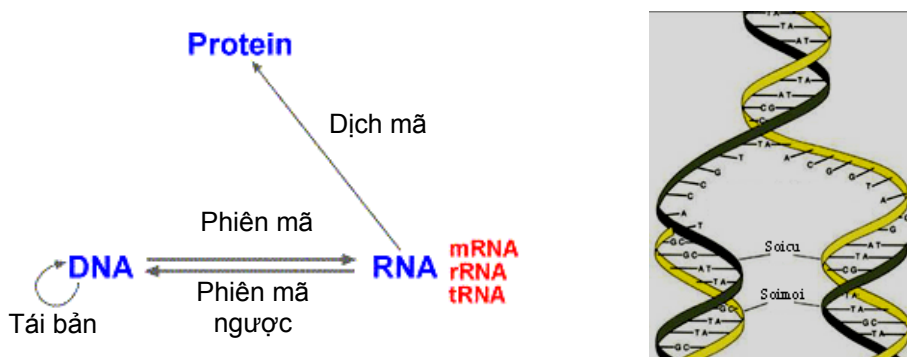
- + DNA *vệ tinh* (satellite) hay DNA lặp lại kiểu *nối tiếp* (tandem): loại này chiếm khoảng 10% và được lặp lại rất nhiều lần, bao gồm các trình tự đơn giản thường khu trú ở các *tâm động* (centromere) và các *đầu mút* (telomere) của các nhiễm sắc thể. Ví dụ: các đoạn lặp nối tiếp (5'→3') thuộc các microsatellite hay telomere:

5'-...TTAGGGTTAGGGTTAGGGTTAGGG...-3'

Nhìn chung, bộ gene người có các đặc điểm sau: (1) Về bộ gene nhân, kích thước bộ gene đơn bội là ~3,2 tỷ bp; hầu như tất cả mức độ phức tạp của nó đều nằm trong lớp DNA bản sao đơn (~75%). Bộ gene người được coi là có chứa khoảng 25.000 *gene mã hóa protein*. Trong đó đa phần là các *gene phân đoạn* với cấu trúc phức tạp (xem chương 6). Các gene đều chứa từ 1 cho đến trên 75 *exon* (đoạn mã hóa protein) và có chiều dài biến thiên từ dưới 100 cho đến khoảng 2.400.000 bp (gene gây rối loạn dưỡng cơ DMD được xem là dài nhất với 2,4 triệu bp này chiếm ~ 1,5% nhiễm sắc thể X mà nó định khu). Trình tự *Alu* có mặt khắp bộ gene. (2) Về bộ gene ty thể, đây là bộ gene mạch vòng với 16.569 bp và chứa ~ 40 gene.

V. Tái bản DNA

Sau khi khám phá ra cấu trúc DNA, Watson và Crick đã đề xuất ba kiểu truyền thông tin di truyền có thể có trong các tế bào: (1) *Tái bản* (replication): DNA→DNA; (2) *Phiên mã* (transcription): DNA→RNA; và (3) *Dịch mã* (translation): RNA→Protein. Các kênh truyền thông tin di truyền này được gọi là *Giáo lý Trung tâm* (Central Dogma) của sinh học phân tử. Sau này đến năm 1970, Baltimore và Temin qua nghiên cứu cơ chế hoạt động của bộ gene RNA ở virus Sarcoma đã bổ sung thêm kênh RNA→DNA, gọi là *phiên mã ngược* (reverse transcription) vì nó ngược hướng với kênh phiên mã phổ biến. Điều này được minh họa ở hình 5.16.



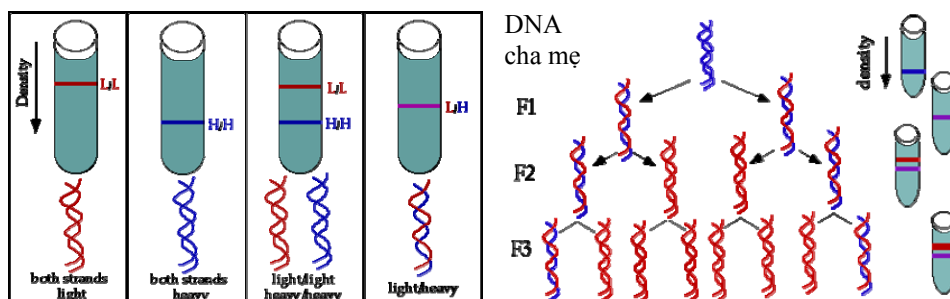
Hình 5.16 Các kiểu truyền thông tin di truyền (trái), và mô hình tái bản DNA theo kiểu bán bảo toàn do Watson và Crick đề xuất.

1. Các nguyên tắc và đặc điểm chung của tái bản DNA

Tái bản (replication) là một đặc tính quan trọng nhất của vật chất di truyền, nhờ đó sự sống được duy trì liên tục, các loài bảo tồn được tính chất đặc trưng của mình, và con cái thường giống bố mẹ. Vậy DNA và các bộ gene nói chung được tái bản như thế nào?

Trong khi khám phá ra mô hình cấu trúc DNA, chính Watson và Crick đã đưa ra dự đoán chính xác (dựa trên nguyên tắc bổ sung của các cặp base) rằng sự tái bản DNA phải diễn ra theo kiểu *bán bảo toàn* (*semi-conservative*) như ở hình 5.16. Đến 1956, S. Luria và Max Delbruck đề nghị ba kiểu tái bản có thể có: *bán bảo toàn*, *bảo toàn* (conservative) và *phân tán* (dispersive). Tuy nhiên, nhiều thí nghiệm sau đó đã nhanh chóng khẳng định sự tái bản DNA diễn ra theo kiểu bán bảo toàn.

Điện hình là thí nghiệm của Meselson và Stahl năm 1958 trên đối tượng là *E. coli* bằng phương pháp đánh dấu đồng vị phóng xạ N^{15} (nitơ nặng) kết hợp với *ly tâm siêu tốc* (ultra-centrifugation). Đầu tiên cho vi khuẩn này sinh trưởng trên môi trường N^{15} ; rồi đưa trở lại môi trường N^{14} (nitơ nhẹ) và sau một, hai hoặc ba thế hệ đều có lấy các mẫu DNA. Để tách DNA nặng và nhẹ, người ta cho trộn lẫn các mẫu này với cesium chloride (CsCl) trước khi đem ly tâm. Khi ly tâm, DNA có các tỷ trọng nặng (heavy), nhẹ (light) và trung bình (intermediate) sẽ tách thành các vạch tương ứng khác nhau trong ống nghiệm (hình 5.17).



Hình 5.17 Thí nghiệm Meselson-Stahl về sự tái bản bán bảo toàn của DNA.

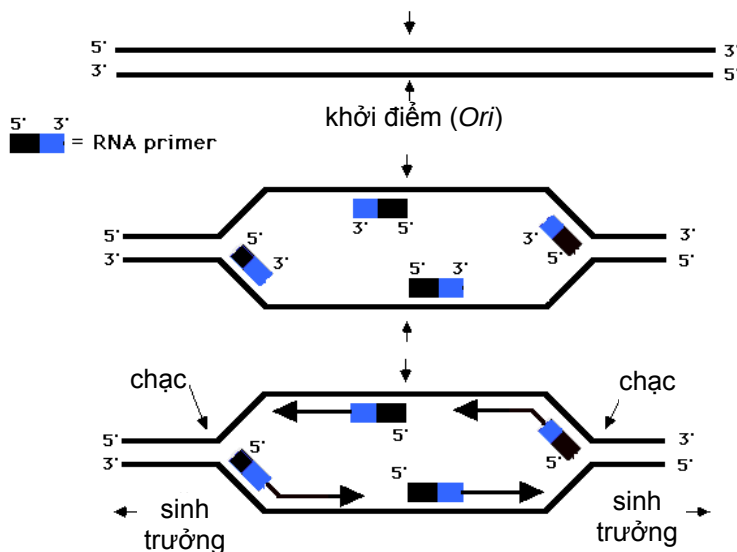
Các kết quả cho thấy rằng sau một thế hệ, 100% DNA sợi kép có tỷ trọng trung bình, nghĩa là một sợi nặng (từ dạng cha mẹ) và một sợi nhẹ (được tổng hợp mới). Kết quả này cho phép dự đoán và kết luận sự tái bản xảy ra theo kiểu bán bảo toàn đúng như dự đoán của Watson và Crick rằng, các sợi DNA làm khuôn cho sự tái bản của riêng chúng.

Dưới đây là các nguyên tắc và đặc điểm chung của tái bản DNA.

(i) Tái bản theo kiểu *bán bảo toàn* và *gián đoạn* (discontinuous);

(ii) Sự tái bản được bắt đầu tại một hoặc nhiều vị trí đặc thù trên phân tử DNA và diễn ra đồng thời theo hai hướng ngược nhau gọi là *khởi điểm tái bản hai hướng* (bidirectional origin of replication). Nghĩa là, từ khởi điểm này DNA sợi kép mở xoắn thành hình vòng mở sinh trưởng theo hai hướng đối lập nhau tạo ra hai *chạc tái bản* (replication fork). Mỗi khởi điểm tái bản cùng với hai chạc như vậy gọi là một *đơn vị tái bản*

(replicating unit hay replicon) được minh họa ở hình 5.18. Nói chung, đối với các DNA mạch vòng (bộ gene một số virus, vi khuẩn, các plasmid và các DNA bào quan của eukaryote), mỗi phân tử chỉ có một khởi điểm tái bản; trong khi đó mỗi DNA trong nhiễm sắc thể eukaryote có nhiều khởi điểm tái bản hoạt động theo một trình tự đặc thù (xem hình 5.20).



Hình 5.18 Một khởi điểm và hai chạc tái bản sinh trưởng theo hai hướng đối lập nhau. Ở đây cũng cho thấy đoạn mỗi RNA được tổng hợp trước.

(iii) Quá trình tái bản DNA phụ thuộc vào một hệ thống gồm nhiều protein và enzyme khác nhau (xem mục 2 bên dưới);

(iv) Tại mỗi chạc tái bản, trước tiên xảy ra sự tổng hợp các đoạn mỗi RNA (primer) bởi vì các DNA polymerase tự nó không thể bắt đầu tổng hợp mới được. Mặt khác, do hai sợi đơn của mỗi chạc phân cực ngược chiều nhau trong khi các enzyme DNA polymerase và RNA polymerase chỉ xúc tác theo chiều $3' \rightarrow 5'$, cho nên phương thức tái bản DNA diễn ra trên hai sợi khuôn là không giống nhau: một sợi liên tục hay còn gọi là *sợi dẫn đầu* (leading strand) và một sợi không liên tục hay còn gọi là *sợi ra chậm* (lagging strand). Kiểu tái bản như thế gọi là *tái bản nửa gián đoạn* (semi-discontinuous).

Sự tổng hợp DNA không liên tục dưới dạng các đoạn ngắn do R. Okazaki phát hiện đầu tiên năm 1969; sau này chúng được gọi là các *đoạn Okazaki* (Okazaki fragments). Sau đó, các đoạn mỗi sẽ được cắt bỏ và chỗ trống được thay bằng DNA, và các đoạn Okazaki được nối lại bởi enzyme DNA ligase.

2. Các enzyme tham gia tái bản DNA

Mặc dù mỗi nhóm sinh vật có một hệ thống các enzyme và protein tái bản riêng, song chúng có các enzyme với vai trò chung nhất sau đây:

(1) Protein nhận biết và bám vào khởi điểm để từ đó hình thành nên "phức hợp mở" (open complex). Ở *E. coli*, đó là protein *dnaA*.

(2) *DNA gyrase*: mở cuộn DNA siêu xoắn phía trước mỗi chạc tái bản.

(3) *Helicase*: tháo xoắn DNA sợi kép tại mỗi chạc tạo thành các vùng sợi đơn. Ở *E. coli*, nó cũng gọi là protein *dnaB* hay protein *rep*.

(4) *Protein SSB* (single strand binding protein): bám vào các vùng DNA sợi đơn do helicase tách ra, giữ cho tạm thời không dính trở lại và nhờ đó mỗi sợi đơn mới có thể làm khuôn (template) cho tái bản.

(5) *Primase*: tổng hợp RNA mồi. Ở *E. coli*, nó còn gọi là protein *dnaG*.

(6) Các DNA polymerase xúc tác chính cho việc tổng hợp DNA mới nhờ có hoạt tính xúc tác: polymerase 5'→3', một số còn có hoạt tính đọc sửa: exonuclease 3'→5'. Ở *E. coli*, đó là *DNA polymerase III*.

(7) DNA polymerase vừa cắt bỏ dần đoạn mồi đi trước nhờ hoạt tính cắt bỏ exonuclease 5'→3', vừa kéo dài đoạn Okazaki theo sau lấp chỗ trống. Ở *E. coli*, đó là *DNA polymerase I*.

(8) *DNA ligase*: hàn liền khe hở giữa các đoạn DNA mới bằng cách hình thành liên kết 3',5'-phosphodiester.

Bảng 5.5 Đặc tính của các DNA polymerase ở *E. coli* và người

DNA polymerase <i>E. coli</i>	pol I	pol II	pol III		
Polymerase 5'→3'	có	có	có		
Exonuclease 3'→5'	có	có	có		
Exonuclease 5'→3'	có	không	không		
DNA polymerase người	α	β	γ	δ	ϵ
Định vị	nhân	nhân	ty thể	nhân	nhân
Tái bản	có	không	có	có	có
Sửa chữa	không	có	không	có	có
Chức năng					
Polymerase 5'→3'	có	có	có	có	có
Exonuclease 3'→5'	không	không	có	có	có
Exonuclease 5'→3'	không	không	không	không	không
Primase	có	không	không	không	không
Kết hợp với PCNA*	không	không	không	có	có
Mẫu trượt (Processivity)	thấp			cao	
Tổng hợp sợi	ra chậm	sử chữa	cả hai	dẫn đầu	ra chậm

Lưu ý: (i) Ở *E. coli*, cả ba loại protein *dnaB*, *dnaC* và *dnaG* hợp thành một phức hợp có tên là *primasome*; trong đó protein *dnaC* bám protein *dnaB*. Bảng 5.5 mô tả các đặc tính của các DNA polymerase ở *E. coli* và người đại diện cho các nhóm tương ứng, prokaryote và eukaryote.

(ii) Tất cả các DNA polymerase đều cần có môi với một nhóm 3'-OH tự do; xúc tác tổng hợp chuỗi theo một hướng 5'→3'; và chỉ một số enzyme này có *hoạt tính đọc sửa* (proofreading activity) 3'→5'.

(iii) Ngược với *E. coli*, các tế bào người có ít nhất năm loại DNA polymerase, trong đó ba loại chịu trách nhiệm tái bản DNA nhân là các DNA polymerase *alpha*, *delta* và *epsilon*. Polymerase δ chịu trách nhiệm chính cho tổng hợp trên *sợi dẫn đầu* (leading strand) và thậm chí cả *sợi ra chậm* (lagging strand). Polymerase α kết hợp với một RNA primase và được coi là có các hoạt tính cho tổng hợp một đoạn mồi RNA-DNA ngắn. Có điều không chắc chắn lắm khi nói về chức năng của *alpha* trên sợi ra chậm. Vì dường như nó thiếu mất hoạt tính đọc sửa, nên không thể tổng hợp DNA với độ chính xác cao và như vậy có thể nó không phải là polymerase chính trong tổng hợp sợi ra chậm. Polymerase ϵ có thể hoạt động như DNA polymerase I của vi khuẩn. Loại *kháng nguyên trong nhân làm tăng sinh tế bào* (proliferating cell nuclear antigen = PCNA) có vai trò trong cả tái bản lẫn sửa chữa. Một trong các chức năng của nó là dùng làm *nhân tố trượt* (processivity factor) cho DNA polymerase δ và ϵ . PCNA giữ DNA polymerase với sợi khuôn để tổng hợp DNA nhanh.

(iv) Ngoài ra còn có một số enzyme và protein đặc thù tham gia vào khâu kết thúc tái bản, tổng hợp các *đầu mút* (telomere) hoặc tham gia cắt nối trong quá trình tái tổ hợp.

3. Cơ chế tái bản DNA

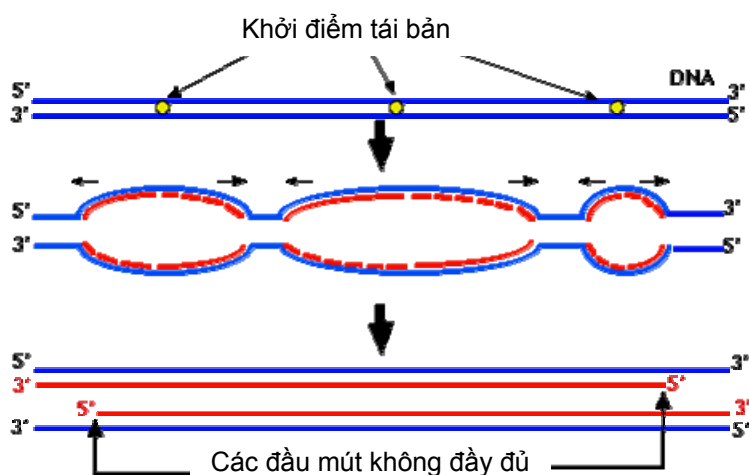
Trong phần này, chúng ta tìm hiểu kỹ cơ chế tái bản ở vi khuẩn *E. coli*, và nêu một ít vấn đề liên quan ở eukaryote mà đại diện là DNA người.

3.1. Giai đoạn khởi đầu của sự tái bản (initiation of replication)

Đối với nhiễm sắc thể *E. coli*, sự tái bản bắt đầu tại một khởi điểm đặc thù gọi là *Ori* (hình 5.18). Trong khi đó, trên mỗi nhiễm sắc thể eukaryote có nhiều khởi điểm tái bản hai hướng như thế (hình 5.19). Quá trình diễn biến tại khởi điểm cho đến lúc hình thành hai chạc có thể tóm tắt (theo Kelman và O'Donnell, 1994) như sau: (1) Các protein bám khởi điểm *dnaA* được tổng hợp để bám *Ori* tạo ra cấu trúc nucleoprotein chuyên hoá của khởi điểm; (2) Sau đó, cấu trúc này mở xoắn vùng DNA giàu AT để hình thành "*phức hợp mở*" (open complex); và (3) Hai phân tử helicase *dnaB* chui vào phức hợp mở làm mở xoắn khởi điểm theo cả hai

hướng, tạo thành hai *chạc tái bản* (replication fork). Khi cả hai sợi đơn của mỗi chạc được tách ra thì các protein SSB bám vào. Nhờ vậy các sợi đơn được dùng làm khuôn hiệu quả cho các enzyme tái bản hoạt động.

Khởi đầu trong tái bản DNA là sự tổng hợp một đoạn mồi ngắn bởi primase, mà ở *E.coli* là phức hợp *primasome* (thể mở đầu) như đã nói ở trên. Kích thước đoạn mồi ở các sinh vật khác nhau là không giống nhau, và thường không vượt quá 12 ribonucleotide. Ở *E. coli*, theo kết quả nghiên cứu của bà Okazaki và cs (1985), đoạn này dài 10-12 nucleotide.



Hình 5.19 Nhiều khởi điểm tái bản (origins of replication) trên một nhiễm sắc thể eukaryote. Ở đây cũng cho thấy các đầu mút (telomeres) không được tổng hợp đầy đủ, cụ thể là ở các đầu 5'.

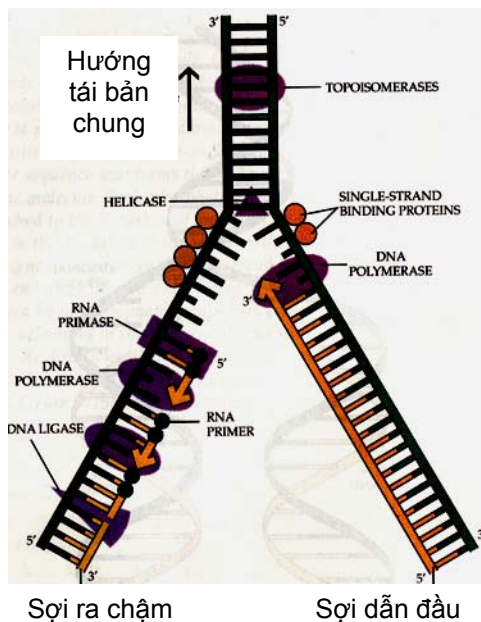
3.2. Giai đoạn kéo dài (elongation)

Một khi primosome tổng hợp xong một mồi, đó là lúc sự kéo dài chuỗi DNA mới bắt đầu. Ở *E. coli*, enzyme then chốt cho quá trình này là DNA polymerase III hoàn chỉnh (*holoenzyme*), một phức hợp gồm mười polypeptide khác nhau. Mỗi phân tử cho một sợi khuôn. Sự kéo dài trong suốt quá trình tổng hợp DNA ở *E. coli* rõ ràng là cần tới một *replisome* (thể tái bản) do kết hợp giữa primosome và DNA polymerase III hoàn chỉnh. Tốc độ tổng hợp trung bình là 1.000 nucleotide mỗi giây.

Sự tái bản DNA trên mỗi chạc, như đã nói ở trên, xảy ra theo kiểu *nửa gián đoạn* (semi-discontinuous). Cụ thể quá trình đó như sau (hình 5.20):

Trên sợi khuôn dẫn đầu (3'→5'): Trước tiên, enzyme primase hay primosome chỉ tổng hợp một đoạn mồi RNA với đầu 3'-OH tự do. Sau đó, enzyme hoàn chỉnh DNA polymerase III (*replisome*) bắt đầu kéo dài chuỗi DNA mới sinh trưởng theo chiều 5'→3' một cách liên tục.

Trên sợi khuôn ra chậm (5'→3'): Sự kéo dài diễn ra không liên tục dưới dạng các đoạn Okazaki. Kích thước trung bình mỗi đoạn Okazaki ở *E. coli* là 1.000 - 2.000 nucleotide; ở eukaryote là 100-200; và nói chung là 100-1.000 nucleotide. Quá trình này đòi hỏi sự "môi hóa" nhiều lần và có tính chu kỳ, với sự tham gia lần lượt của bốn enzyme như sau: (i) primase tổng hợp một đoạn mỗi RNA; (ii) DNA polymerase III hoàn chỉnh kéo dài đoạn Okazaki; (iii) DNA polymerase I vừa cắt bỏ dần từng nucleotide của đoạn mỗi vừa lấp khoảng trống bằng cách kéo dài dần đoạn Okazaki theo sau;



Hình 5.20 Sự tái bản nửa gián đoạn trên một chạc.

(iv) DNA ligase hàn liền khe hở còn lại giữa hai đoạn Okazaki kề nhau bằng một liên kết 3',5'-phosphodiester. Quá trình cứ diễn ra luân phiên như vậy, và cuối cùng sợi DNA mới được tổng hợp trở nên dài ra và liên tục. Còn ở eukaryote, vai trò của các enzyme và protein tham gia vào giai đoạn kéo dài trên cả hai sợi khuôn đã được phân tích ở trên.

3.3. Giai đoạn kết thúc (termination)

Do đặc điểm cấu trúc nhiễm sắc thể ở hai nhóm prokaryote và eukaryote là hoàn toàn khác nhau, đặc biệt là cấu trúc các đầu mút nhiễm sắc thể eukaryote được phát hiện gần đây (hình 5.21), nên cơ chế kết thúc tái bản của chúng cũng khác nhau.

3.3.1. Vấn đề kết thúc tái bản ở prokaryote

Để hoàn thành việc tái bản DNA, tế bào phải lấp đầy các khoảng trống do các RNA môi bị cắt bỏ để lại. Đối với các DNA mạch vòng như của vi khuẩn chẳng hạn, không có vấn đề lấp tất cả các khoảng trống bởi vì bao giờ cũng có đầu 3' DNA khác nằm phía trước dùng làm môi. Thật vậy, cả hai chạc tái bản được bắt đầu từ một khởi điểm duy nhất (*ori*), và di chuyển hầu như cùng tốc độ, theo hai hướng đối lập nhau xung quanh nhiễm sắc thể mạch vòng cho tới khi chúng gặp nhau tại một điểm kết thúc chung đối diện với *ori*. Thực ra, theo Bastia và cs (1997) cũng như

nhiều tác giả khác, đây là vùng chứa các trình tự đặc thù gọi là các *điểm kết thúc tái bản* (replication termini). Và tại các trình tự đặc thù này có các *protein kết thúc tái bản* (replication terminator protein = RTP) bám vào và các phức hợp protein-DNA này ngăn cản sự di chuyển của các chạc tái bản theo một cách phân cực hoặc định hướng đặc thù. Sự ngừng lại của các chạc tái bản tại vùng kết thúc tạo nên bước đầu tiên trong quá trình hoàn thành một vòng tái bản và sau đó, tách hai nhiễm sắc thể con rời ra một cách có trật tự nhờ xúc tác của *topoisomerase IV*.

Lưu ý: (1) Các nghiên cứu gần đây cho thấy RTP của *E. coli* có trọng lượng phân tử ~36kD, được mã hóa bởi gene *tus* (*ter*) và trong mỗi tế bào có ~80 bản sao của protein này được duy trì hầu như ổn định trong suốt chu kỳ tế bào. Còn RTP của *Bacillus subtilis* là một dimer có trọng lượng phân tử mỗi tiểu đơn vị là 14.500 kD, được mã hóa bởi gene *rtp*. (2) Các trình tự nhất trí (*consensus sequences*) của vùng kết thúc tái bản ở *E. coli* (R6K) và *B. subtilis*, theo Bastia và cs (1997), như sau:

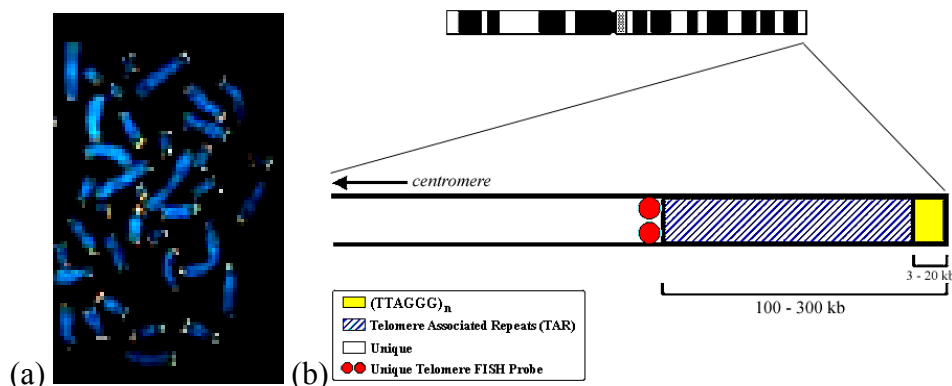
***E. coli* (R6K)** 5'NN(A/T)(A/T)(A/T)G(A/T)(A/G)TGTTGTAAC(A/C)NN3'

B. subtilis

5'ACT(A/G)AN(T/A)(A/G)(A/C)(A/T)(C/T)(T/A)(A/G)TG(T/A)AC/CTTCAN3'

3.3.2. Vấn đề kết thúc tái bản ở eukaryote

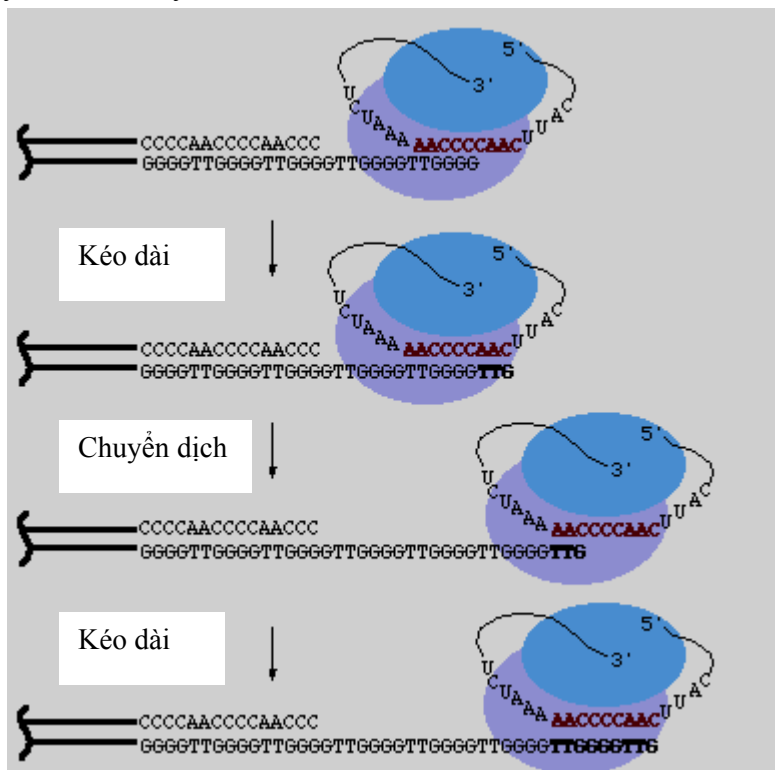
Như chúng ta đều biết, mỗi nhiễm sắc thể eukaryote chứa một phân tử DNA sợi kép mạch thẳng kết hợp với nhiều loại protein, có các đầu mút đặc trưng gọi là *telomere*. Một khi đoạn môi đầu tiên trên mỗi sợi được loại bỏ thì nó không có cách nào để bù đắp lại khoảng trống đó, bởi vì DNA không thể nào nối rộng theo chiều 3'→5', và cũng chẳng có đầu 3'



Hình 5.21 (a) Ảnh chụp cho thấy các đầu mút nhiễm sắc thể - telomeres có màu vàng đặc trưng, và (b) sơ đồ minh họa tổ chức của telomere ở người.

nằm phía trước như trong các DNA mạch vòng. Nếu quả thực như vậy thì các sợi DNA sẽ ngắn bớt đi sau mỗi lần tái bản. Vậy các tế bào eukaryote

giải quyết vấn đề này như thế nào?



Hình 5.22 Mô hình của Carol Greider về cơ chế tổng hợp các đoạn lặp telomere trên sợi giàu G nhờ telomerase ở *Tetrahymena*. Từ đây có thể hình dung các bước tiếp theo: lấp khoảng trống trên sợi đối diện giàu C được thực hiện bởi primase và DNA polymerase, và cuối cùng là cắt bỏ đoạn môi.

Các kết quả nghiên cứu đầu tiên của Elizabeth Blackburn và các đồng sự của bà đã giải đáp cho vấn đề này (hình 5.22). Các telomere không chứa các gene; thay vì thế chúng có cấu trúc đơn giản gồm những trình tự ngắn (6-8 cặp base) lặp lại nối tiếp cả ngàn lần và đặc thù cho từng loài. Chẳng hạn, ở *Tetrahymena*, một nhóm động vật nguyên sinh có lông tơ, nó là $(TTGGGG)_n$; ở *Caenorhabditis*: $(CCCTCCC)_n$; ở bọ *Oxytrichia* thuộc Euplotes: $(CCCCAAA)_n$... Còn ở các động vật có vú và người, nó là 5'-TTAGGG-3' được lặp lại khoảng 1.000-2.000 lần (theo Yakoob và cs 1999, khoảng biến thiên phát hiện được trong các tế bào ở các giai đoạn khác nhau là 150-2000 lần). Các đoạn lặp này được gắn thêm vào đầu 3' của các sợi DNA, không phải bằng tái bản bán bảo toàn, mà bằng một enzyme gọi là *telomerase*. Nếu như telomerase không cho phép một cơ chế tái bản bán bảo toàn, thì nó không thể sử dụng một sợi DNA làm

khuôn cho sợi kia. Blackburn cho thấy rằng tính chất đặc thù này nằm ngay trong chính bản thân telomerase, và do một RNA nhỏ trong enzyme. Như vậy, telomerase là một ribonucleoprotein và là một *enzyme phiên mã ngược* (reverse transcriptase), tổng hợp DNA từ một khuôn RNA. Chẳng hạn, telomerase của *Tetrahymena* có một RNA dài 160 nucleotide có chứa trình tự 3'-CAACCCCAA-5' làm khuôn cho tổng hợp các đoạn lặp 5'-TTGGGG-3' trong các telomere của *Tetrahymena* (hình 5.22); ở người, phân tử RNA trong telomerase dài khoảng 450 nucleotide có chứa trình tự 3'-AAUCCC-5' (nằm trong đoạn ứng với vị trí 46-56) làm khuôn cho tổng hợp các đoạn lặp telomere 5'-TTAGGG-3' trên các sợi đơn có đầu mút 3'. Sau đó, ở sợi đối diện, DNA polymerase có thể hoàn thành việc tổng hợp "các đầu mút không đầy đủ" (incomplete ends) trên sợi đối diện sau khi đã được môi hóa bên trong các telomere đó; và cuối cùng đoạn môi sẽ bị cắt bỏ và khe hở được nối lại.

Các nghiên cứu gần đây cho thấy rằng: enzyme telomerase chỉ có mặt trong các *tế bào mầm* (germ cells), kể cả các *tế bào gốc của phôi* (embryonic stem cells); các *tế bào ung thư* (cancer cells); và các eukaryote đơn bào như *Tetrahymena thermophila*. Trong khi đó, các tế bào soma bình thường của động vật có vú không thấy có telomerase.

Điều đó cho phép lý giải tại sao các tế bào mầm cũng như các tế bào ung thư có khả năng phân chia gần như là vô hạn; hay nói cách khác, telomerase và sự duy trì chiều dài telomere chính là chìa khóa cho sự bất tử của tế bào. Ngược lại, hậu quả của sự vắng bóng telomerase trong các tế bào soma (do gene mã hóa nó bất hoạt) là ở chỗ: cứ sau mỗi lần *nguyên phân* (mitosis), tất cả 92 telomere của các tế bào soma người đồng loạt mỗi cái bị mất đi chừng 100 cặp base, nghĩa là khoảng 16 đoạn lặp TTAGGG. Theo lý thuyết, với tốc độ này thì sau 125 lần nguyên phân các telomere sẽ biến mất hoàn toàn. Trên thực tế, các thí nghiệm khác nhau kể từ khám phá đầu tiên của Leonard Hayflick vào đầu thập niên 1960 cho đến nay (Greider và Blackburn 1996; Hayflick 1997; Shay và cs 2004; ...) đã xác nhận rằng: chỉ sau khoảng 30-50 lần nguyên phân, các tế bào soma mất hẳn khả năng phân chia và đi vào giai đoạn *lão hóa* (senescence) và chết tự nhiên. Cái đó được gọi là *giới hạn Hayflick* (Hayflick limit).

Chính quá trình rút ngắn telomere theo thời gian (nghĩa là số lần nguyên phân) như thế khiến người ta liên tưởng tới sự tồn tại của cái gọi là "*đồng hồ di truyền cho sự lão hóa*" (genetic clock for aging), và bắt đầu tiến hành các nghiên cứu về "*hiệu ứng vị trí telomere*" (telomere position effect = TPE) (Borek 2002). Đó là lý do tại sao các tế bào soma có số lần phân chia hữu hạn trước khi chúng chết và cũng là lý do tại sao tất cả

chúng ta cũng như mọi sinh vật đều phải chết. Như thế, cái chết tất yếu trên phương diện sinh học, cái chết tự nhiên của thân xác đã được lý giải khá rõ ràng và đầy đủ. Và từ các nghiên cứu này đã mở ra triển vọng to lớn cho *liệu pháp ung thư* (cancer therapy) cũng như vấn đề lão hóa và bệnh tật phát sinh từ đó ở con người (Greider và Blackburn 1996; Yakoob và cs 1999; Borek 2002; Shay và cs 1998, 2004).

VI. Tái bản của các bộ gene RNA (RNA genomes)

1. Đặc điểm tái bản của các bộ gene RNA virus và hậu quả của chúng

Ở các virus có bộ gene RNA, phương thức tái bản của chúng rõ ràng là khác với các hệ thống tái bản DNA đã biết. Trước hết, các enzyme tổng hợp RNA không cần có mẫu (primer), vì vậy không có cơ hội cho việc *đọc sửa* (proofreading). Ngoài ra, về mặt di truyền RNA là một phân tử kém bền vững so với DNA bởi vì nhóm hydroxyl có mặt ở nguyên tử C_{2'} của gốc đường cho phép cắt đứt (thủy phân) liên kết phosphodiester giữa hai ribonucleotide và tạo thành dạng phosphodiester vòng giữa các nhóm hydroxyl của C_{2'} và C_{3'} trong cùng một gốc đường; sau đó cấu trúc vòng này mở ra và để lại nhóm phosphate ở vị trí C_{3'}. Sự kết hợp của hai đặc điểm trên là nguyên nhân làm hạn chế kích thước các bộ gene RNA. Các bộ gene này không thể sinh trưởng quá lớn, hoặc không thể tránh khỏi tỷ lệ sai sót cao trong quá trình tái bản (10^{-3} - 10^{-4}). Vì vậy, trên thực tế, bộ gene RNA lớn nhất được biết là một RNA sợi đơn với chừng 29.600 base. Đó là trường hợp của virus gây bệnh sốt viêm phổi cấp (SARS) thuộc họ coronavirus được phát hiện hồi tháng 3/2002 tại một số nước châu Á, Canada... Đó cũng là lý do tại sao các virus RNA cho nhiều biến thể khác nhau đến như vậy, mặc dù kích thước bộ gene đều có lớn. Điều này làm cho các virus RNA thực sự trở thành mối hiểm họa bởi vì chúng có thể tiến hóa nhanh để xâm nhập vào các hệ thống miễn dịch của vật chủ. Chẳng hạn, các bộ gene HIV có nhiều biến thể gây khó khăn cho việc bào chế các vaccine và thuốc chống lại tất cả các biến thể của HIV.

Dưới đây nêu khái quát về hai kiểu tái bản của các virus RNA.

2. Tái bản của bộ gene RNA

Kiểu truyền thông tin trực tiếp từ RNA sang RNA xảy ra trong các tế bào lây nhiễm virus RNA như: virus đốm thuốc lá và nhiều virus thực vật khác, kể cả các phage RNA như MS2... Bộ gene RNA của các virus này có mang gen mã hoá enzyme tái bản đặc thù. Sau khi được tổng hợp trong tế bào chủ, enzyme này sử dụng bản thân RNA virus làm khuôn để tổng hợp các phân tử RNA bổ sung. Đến lượt mình các RNA lại làm khuôn để tổng hợp trở lại các phân tử RNA của các virus thế hệ con.

3. Phiên mã ngược

Phiên mã ngược (reverse transcription) là kiểu truyền thông tin từ RNA sang DNA, chỉ xảy ra trong các tế bào động vật và người bị lây nhiễm bởi một số virus mang một sợi RNA có khả năng gây khối u hoặc hai sợi RNA như trường hợp HIV chẳng hạn. Trên mỗi sợi RNA lõi của các virus này có mang một *enzyme phiên mã ngược* (reverse transcriptase). Khi xâm nhập vào tế bào chủ, enzyme này sử dụng RNA của virus làm khuôn để tổng hợp sợi *DNA bổ sung* (complementary DNA = cDNA). Sau đó, sợi cDNA này có thể làm khuôn để tổng hợp trở lại bộ gene của virus (cDNA→RNA), hoặc tổng hợp ra sợi DNA thứ hai bổ sung với nó (cDNA→DNA) như trong trường hợp virus gây khối u mà kết quả là tạo ra một cDNA sợi kép. Phân tử DNA sợi kép được tổng hợp trước tiên trong quá trình lây nhiễm có thể xen vào DNA của vật chủ và ở trạng thái *tiền virus* (provirus). Vì vậy, provirus được truyền lại cho các tế bào con thông qua sự tái bản của DNA vật chủ, nghĩa là các tế bào con cháu của vật chủ cũng bị chuyển sang tình trạng có mầm bệnh ung thư. Các tế bào ung thư này mất khả năng kiểm soát sự sinh trưởng - phân chia điển hình của tế bào bình thường; chúng tăng sinh rất nhanh và tạo ra *khối u* (tumor). Đó chính là cơ chế gây ung thư bởi virus.

Ngày nay, người ta có thể tinh chiết các enzyme phiên mã ngược để phục vụ cho kỹ thuật tạo dòng cDNA tái tổ hợp (chương 10).

Câu hỏi và Bài tập

1. Trên cơ sở các đặc điểm của mô hình Watson-Crick, hãy cho biết: (a) Mô hình này cho phép giải thích các quy luật Chargaff như thế nào? (b) Cơ sở của đặc tính đối song song trong chuỗi xoắn kép DNA là gì? (c) Mô hình này gợi lên khả năng tự tái bản của DNA ra sao?

2. Hãy xác định hàm tương đối (%) của các nucleotide trong DNA của người, cá hồi (*Salmo salar*) và gà (*Gallus domesticus*). Biết rằng tỷ lệ (A+T)/(G+C) tương ứng của các loài này là 1,52; 1,43; và 1,34.

3. Dựa vào cấu trúc hóa học lập thể của các base (A, T, G và C), hãy giải thích: (a) Tại sao trong ADN chỉ tồn tại hai kiểu kết cặp A-T và G-C mà không có các kiểu khác? (b) Các kiểu kết cặp A-C và G-T có thể xảy ra khi nào và gây ra hậu quả gì? Giải thích và cho các sơ đồ minh họa.

4. Giả sử tỷ lệ (A+T)/(G+C) ở một sợi của chuỗi xoắn kép ADN là 0,25. (a) Hãy cho biết tỷ lệ này trên sợi bổ sung và trên cả phân tử? (b) Nếu cho rằng 0,25 là của tỷ lệ (A+G)/(T+C), thì tỷ lệ này trên sợi bổ sung

và trên cả phân tử sẽ như thế nào?

5. Hãy chỉ ra những điểm giống nhau và khác nhau giữa prokaryote và eukaryote về các vấn đề sau: (a) Khởi điểm tái bản; (b) Các enzyme tham gia tái bản; và (c) Các cơ chế mở đầu, kéo dài, và kết thúc tái bản.

6. Dựa vào hiểu biết về thuyết di truyền nhiễm sắc thể, hãy giải thích thí nghiệm Griffith về sự biến nạp ở phế cầu khuẩn *S. pneumoniae*.

7. So sánh cấu trúc của các nucleotide và các chuỗi polynucleotide cũng như cấu trúc phân tử của DNA và RNA.

8. Thế nào là biến tính và hồi tính của DNA? Các hiện tượng này có ý nghĩa như thế nào đối với các bộ gene sinh vật và kỹ thuật di truyền?

9. Thế nào là giá trị C (C-value) và nghịch lý giá trị C (C-value paradox)? Cho thí dụ và nêu ý nghĩa về mặt lý luận của hiểu biết này.

10. Sự tái bản của các bộ gene RNA ở một số virus khác với các hệ thống tái bản DNA ở những điểm nào? Tại sao kích thước các bộ gene RNA thường nhỏ, nhưng chúng lại có khả năng gây nguy hiểm thực sự đối với các vật chủ? Hãy giải thích một cơ chế gây ung thư bởi virus.

Tài liệu Tham khảo

Tiếng Việt

Hồ Huỳnh Thùy Dương. 1997. *Sinh học Phân tử*. NXB Giáo Dục.

Phạm Thành Hồ. 2000. *Di truyền học*. Tái bản lần II, NXB Giáo Dục.

Phan Cự Nhân. 2001. *Di truyền học Động vật*. NXB Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.

Phan Cự Nhân. 1999. Công nghệ ADN tái tổ hợp. Trong: *Di truyền học tập II* (Phan Cự Nhân, chủ biên). Trang: 257-303. NXB Giáo Dục, Hà Nội.

Hoàng Trọng Phán. 1995. *Một số vấn đề về Di truyền học hiện đại* (Tài liệu BDTX cho giáo viên THPT chu kỳ 1993-1996). Trường ĐHSP Huế.

Hoàng Trọng Phán. 1997. *Di truyền học Phân tử*. NXB Giáo Dục.

Watson JD. 1968. *Chuỗi xoắn kép: Hồi ký về việc phát minh ra cấu trúc của DNA*. (Bản dịch của Lê Đình Lương và Thái Doãn Tĩnh). NXB Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội, 1984.

Tiếng Anh

Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Robert K, Walter P. 2002. *Molecular Biology of the Cell*. Garland Science, NY.

Bastia D, Manna AC, Sahoo T. 1997. Termination of DNA replication in

prokaryotic chromosomes. In: *Genetic Engineering, Vol. 19.* (Setlow JK ed.) pp 101-119. Plenum Press, New York, USA.

Borek C. 2002. *Telomere Control and Cellular Aging*:

[http://www.lef.org/magazine/mag2002/oct2002 report telo 01.html](http://www.lef.org/magazine/mag2002/oct2002%20report%20telo%2001.html).

Donovan S and Diffley JFX. 1995. Replication origins in eukaryotes. In: *Current Opinion in Genetics & Development* (Herr W and Kingston R, eds.), Vol.5(2): 203-207. Current Biology Ltd, UK.

Greider CW and Blackburn EH. 1996. Telomere, Telomerase and Cancer. *Scientific American*, 2/96, p.92: <http://www.genethik.de/telomerase.htm>.

Hamlin JL and Dijkwel PA. 1995. On the nature of replication origins in higher eukaryotes. In: *Current Opinion in Genetics & Development* (Herr W and Kingston R, eds.), Vol.5(2): 153-161. Current Biology Ltd, UK.

Harley CB, Villeponteau B. 1995. Telomeres and telomerase in aging and cancer. In: *Current Opinion in Genetics & Development* (Herr W and Kingston R, eds.), Vol.5(2): 249-255. Current Biology Ltd, UK.

Hayflick L. 1997. *Mortality and Immortality at the Cellular Level. A Review*. Copyright 2005 BioProtNetwork: [webmaster@ protein.bio.msu.su](mailto:webmaster@protein.bio.msu.su).

Kelman Z, O'Donnell M. 1994. DNA replication: enzymology and mechanisms. In: *Current Opinion in Genetics & Development* (Stillman B and Green M, eds.), Vol.4(2): 185-195. Current Biology Ltd, UK.

Lingner J and Cesh TR. 1998. Telomerase and chromosome end maintenance. In: *Current Opinion in Genetics & Development* (Allis CD and Gasser SM, eds.), Vol.8(2): 226-232. Current Biology Ltd, UK.

Lewis R. 2003. *Human Genetics: Concepts and Applications*. 5th ed, McGraw-Hill, Inc, NY.

Price CM. 1999. Telomeres and telomerase: broad effects on cell growth. In: *Current Opinion in Genetics & Development* (Kadonaga JT and Grunstein M, eds.), Vol.8(2): 218-224. Current Biology Ltd, UK.

Russell PJ. 2003. *Essential Genetics*. Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc, Menlo Park, CA.

Shay JW and Wright WE. 1998. *Teleomerase, Cellular Senescence and Cancer*. Page maintained by: [Cell Biology and Neuroscience](#).

Shay JW. 2002. Telomeres, Aging, and Tumorigenesis. *Gac Méd Méx* Vol.138 Suplemento No.1, 2002, pp.S2-S3.

Shay J, Schneider E, Masoro EJ. 2004. *Is there a genetic clock for aging?:* www.infoaging.org/b-tel-home.html.

Tamarin RH. 1999. *Principles of Genetics*. 6th ed, McGraw-Hill, Inc, NY.

Twyman RM. 1998. *Advanced Molecular Biology*. BIOS Scientific Publishers Ltd/ Springer-Verlag Singapore Pte Ltd.

Watson JD, Hopkins NH, Roberts JW, Steitz JA, Weiner AM. 1987. *Molecular Biology of the Gene*. 4th ed, Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc, Menlo Park, CA.

Weaver RF, Hedrick PW. 1997. *Genetics*. 3rd ed, McGraw-Hill Companies, Inc. Wm.C.Brown Publishers, Dubuque, IA.

Yakoob J, Hu G-L, Fan X-G, Zhang Z. 1999. Telomere, telomerase and digestive cancer. *World Journal of Gastroenterology*, 5(4):334-337.

Một số trang web

http://www.lef.org/magazine/mag2002/oct2002/report_telo_01.html.

<http://www.genethik.de/telomerase.htm>.

<http://www.infoaging.org/b-tel-home.html>.

<http://users.rcn.com/jkimball.ma.ultranet/BiologyPages/>

<http://www.ornl.gov/hgmis>

<http://www.horizonpress.com/pcr/>

<http://dir.niehs.nih.gov/dirimg/repl.html>