

Một số thí nghiệm nền tảng trong di truyền phân tử

Ban Chuyên môn Sinh học

Di truyền học hiện đại bắt nguồn từ các thí nghiệm đơn giản nhưng mang tính đột phá, giúp làm sáng tỏ bản chất và cơ chế truyền đạt vật chất di truyền. Chuyên đề này tập trung phân tích sâu bốn thí nghiệm kinh điển đã định hình nền tảng của sinh học phân tử: thí nghiệm biến nạp của Frederick Griffith, thí nghiệm chứng minh DNA được biến nạp của Avery–MacLeod–McCarty, thí nghiệm phage gắn đồng vị phóng xạ của Hershey–Chase, và thí nghiệm này chứng minh cơ chế sao chép DNA bán bảo toàn của Meselson–Stahl.

Mỗi thí nghiệm được trình bày đầy đủ qua các bố trí thí nghiệm, kết quả thí nghiệm, và diễn giải khoa học. Qua chuyên đề, người học sẽ nắm vững bốn cột mốc lịch sử quan trọng, hiểu rõ cách các nhà khoa học sử dụng sinh vật mô hình, enzyme, đồng vị phóng xạ và kỹ thuật ly tâm để giải đáp những câu hỏi cơ bản nhất của di truyền học. Đồng thời, việc tiếp cận trực tiếp với dữ liệu gốc và hình ảnh minh họa giúp rèn luyện khả năng đọc hiểu, phân tích và suy luận

LỜI NÓI ĐẦU

Di truyền học phân tử được xây dựng từ chuỗi các thí nghiệm kinh điển làm sáng tỏ bản chất của vật chất di truyền và cơ chế sao chép của nó. Chuyên đề trình bày bốn thí nghiệm nền tảng trong di truyền học phân tử:

- (1) Thí nghiệm Griffith (1928) chứng minh hiện tượng biến nạp ở *Streptococcus pneumoniae*, mở đầu cho việc khám phá vật chất di truyền.
- (2) Thí nghiệm Avery–MacLeod–McCarty (1944) xác định DNA là yếu tố mang nguyên lý biến nạp thông qua xử lý enzyme đặc hiệu.
- (3) Thí nghiệm Hershey–Chase (1952) chứng minh chỉ DNA của phage T2 xâm nhập *E. coli*, khẳng định DNA là vật chất di truyền.
- (4) Thí nghiệm Meselson–Stahl (1958) dùng đồng vị ^{15}N và ly tâm tỉ trọng CsCl chứng minh DNA sao chép theo cơ chế bán bảo toàn.

Chuyên đề này giúp cung cấp kiến thức đầy đủ, chính xác và trực quan về bốn thí nghiệm nền tảng của di truyền phân tử (Griffith, Avery–MacLeod–McCarty, Hershey–Chase, Meselson–Stahl), giúp người học hiểu rõ bản chất vật chất di truyền là DNA và cơ chế sao chép bán bảo toàn – từ hiện tượng đến cơ chế phân tử.



Mục lục

1. Thí nghiệm của Frederick Griffith.....	4
1.1. Câu hỏi nghiên cứu.....	4
1.2. Vật liệu và phương pháp.....	4
1.2.1. Vi khuẩn được sử dụng bao gồm:	4
1.2.2. Các thí nghiệm:.....	4
1.3. Kết quả.....	4
1.4. Bàn luận	4
2. Thí nghiệm của Avery-MacLeod-McCarty	5
2.1. Câu hỏi nghiên cứu.....	5
2.2. Vật liệu và phương pháp.....	5
2.2.1. Vật liệu:	5
2.2.2. Phương pháp tiến hành:	5
2.3. Kết quả.....	6
2.4. Bàn luận	6
3. Thí nghiệm của Hershey – Chase.....	6
3.1. Câu hỏi nghiên cứu.....	6
3.2. Vật liệu và phương pháp.....	6
3.2.1. Vật liệu	6
3.2.2. Phương pháp tiến hành	6
3.3. Kết quả.....	7
3.4. Bàn luận	7
4. Meselson-Stahl	7
4.1. Câu hỏi nghiên cứu.....	7
4.2. Vật liệu và phương pháp.....	8
4.2.1. Vật liệu	8
4.2.2. Phương pháp tiến hành	8
4.3. Kết quả.....	8
4.4. Bàn luận	9
5. Bài tập	10
5.1. Bài tập vận dụng có hướng dẫn giải	10
5.2. Bài tập tự giải.....	12



1. Thí nghiệm của Frederick Griffith

1.1. Câu hỏi nghiên cứu

Frederick Griffith đang trong quá trình phát triển vaccine chống phế cầu khuẩn (*S. pneumoniae*). Khi xét nghiệm đờm của bệnh nhân viêm phổi, Griffith nhận thấy trong cùng một bệnh nhân có thể xuất hiện nhiều loại phế cầu khuẩn khác nhau vào các giai đoạn bệnh khác nhau. Điều này gợi ý rằng vi khuẩn có thể đang thay đổi hình thái và tính chất ngay trong cơ thể người, thay vì là những chủng cố định không đổi. Vì vậy, ông nảy ra ý tưởng rằng liệu chủng R (không độc) có thể chuyển thành chủng S (độc) không. Do đó, ông đã thực hiện thí nghiệm dưới đây để kiểm chứng.

1.2. Vật liệu và phương pháp

1.2.1. Vi khuẩn được sử dụng bao gồm:

- Chủng S sống (virulent, type III-S)
- Chủng R sống (non-virulent, type II-R)
- Chủng S chết do nhiệt (heat-killed S): Đun nóng ở 60°C để giết chết vi khuẩn
- Hỗn hợp chủng S chết và R sống

1.2.2. Các thí nghiệm:

Thí nghiệm 1: Tiêm chủng S sống vào chuột

Thí nghiệm 2: Tiêm chủng R sống

Thí nghiệm 3: Tiêm chủng S chết do nhiệt

Thí nghiệm 4: Tiêm hỗn hợp chủng S chết và chủng R sống (thử nghiệm chính)

1.3. Kết quả

Thí nghiệm 1: Chuột chết

Thí nghiệm 2: Chuột sống

Thí nghiệm 3: Chuột chết

Thí nghiệm 4: Chuột chết, thu được các vi khuẩn mang lớp vỏ như chủng S từ huyết thanh của chuột.

1.4. Bàn luận

Thí nghiệm 1 và 2 được sử dụng như đối chứng về mẫu vi khuẩn được sử dụng. Thí nghiệm 3 chắc chắn rằng chủng S đã chết khi thực hiện đun bằng nhiệt. Do đó, việc chuột chết ở thí nghiệm 4 khẳng định chủng R đã thông qua một cơ chế chưa biết, để chuyển thành chủng S. Hiện tượng này cho thấy một yếu tố từ tế bào S đã chết có thể truyền sang tế bào R sống, làm R biến đổi kiểu hình và trở thành S sống. Griffith gọi là hiện tượng biến nạp. Mặc dù thời điểm đó chưa biết bản chất phân tử của yếu tố này, kết quả thí nghiệm vẫn chứng minh rằng khả năng gây bệnh của vi khuẩn *S. pneumoniae* có thể được truyền từ tế bào đã chết sang tế bào sống khác.

2. Thí nghiệm của Avery-MacLeod-McCarty

2.1. Câu hỏi nghiên cứu

Mặc dù hiện tượng một loại vi khuẩn phẩy cầu (*Pneumococcus*) có thể chuyển đổi thành loại khác đã được chứng minh, nhưng bản chất hóa học của chất gây ra sự biến đổi này (biến nạp) vẫn chưa được biết rõ. Nhóm nghiên cứu muốn tìm hiểu bản chất hoá học của hiện tượng này do phân tử carbohydrate hay protein hay nucleic acid gây ra.

2.2. Vật liệu và phương pháp

2.2.1. Vật liệu:

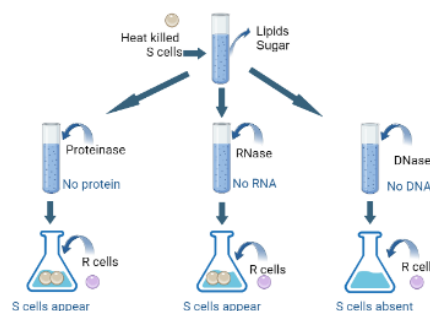
- Chủng S độc
- Chủng R không độc
- Enzyme phân tích:
 - +Enzyme phân giải protein: Trypsin, chymotrypsin
 - +Enzyme phân giải RNA: RNase
 - +Enzyme phân giải DNA: DNase

2.2.2. Phương pháp tiến hành:

Nhóm nghiên cứu thu lấy sinh khối vi khuẩn chủng S từ dịch nuôi, xử lý ở 65°C sau đó ly giải tế bào. Chuyển dịch ly giải đã được tinh sạch vào huyết thanh có chủng R và ủ 37°C. Để phân tích bản chất hoá học của vật chất gây biến nạp, nhóm nghiên cứu đã xử lý mỗi lô dịch ly giải với một trong 3 nhóm enzyme: trypsin/chymotrypsin (loại bỏ protein), RNase (loại bỏ RNA), DNase (loại bỏ DNA) (hình 1).

Để đánh giá sự xuất hiện của vi khuẩn và định danh chủng vi khuẩn tìm được, nhóm nghiên cứu dựa trên phân bố của vi khuẩn, độ đục môi trường và kết quả cấy lên thạch máu để quan sát hình thái khuẩn lạc. Nếu biến nạp xảy ra, vi khuẩn S mọc lan tràn làm đục môi trường; nếu không, vi khuẩn R lắng xuống đáy, dịch trong. Kết quả được xác nhận bằng cách cấy lên thạch máu để quan sát hình thái khuẩn lạc (khuẩn lạc S to, nhầy ướt so với R nhỏ, nhám).

Avery, MacLeod and McCarty's Experiment (1944)



Hình 1. Enzyme được dùng ở mỗi lô dịch ly giải và kết quả về sự xuất hiện của chủng S ở từng lô.

2.3. Kết quả

Dịch ly giải được xử lý với trypsin/chymotrypsin, vẫn thu được vi khuẩn chủng S, hiện tượng biến nạp vẫn xảy ra.

Dịch ly giải được xử lý với RNase, vẫn thu được vi khuẩn chủng S, hiện tượng biến nạp vẫn xảy ra.

Dịch ly giải được xử lý với DNase, không thu được vi khuẩn chủng S, không có hiện tượng biến nạp.

2.4. Bàn luận

Kết quả cho thấy chỉ khi DNA bị phá hủy, hiện tượng biến nạp mới bị ngăn chặn. Do đó, DNA là phân tử mang thông tin di truyền, có khả năng truyền đặc tính di truyền từ vi khuẩn S chết sang vi khuẩn R sống. Bằng phương pháp chứng minh bằng loại trừ, nhóm Avery – MacLeod – McCarty đã xác định rõ vai trò trung tâm của DNA trong quá trình di truyền. Thí nghiệm Avery – MacLeod – McCarty đã khẳng định DNA là vật chất di truyền của vi khuẩn, là phân tử lưu giữ và truyền thông tin di truyền giữa các thế hệ tế bào. Kết quả này giải thích bản chất phân tử của hiện tượng biến nạp mà Griffith đã phát hiện

3. Thí nghiệm của Hershey – Chase

3.1. Câu hỏi nghiên cứu

Mục tiêu chính của thí nghiệm này là xác định vai trò riêng biệt của nucleic acid và protein trong chu kỳ sống của phage T2.

3.2. Vật liệu và phương pháp

3.2.1. Vật liệu

- Phage T2
- Vi khuẩn *E. coli*
- Đồng vị phóng xạ ^{32}P và ^{35}S
- Máy xay Waring Blendor, máy ly tâm, máy đếm phóng xạ

3.2.2. Phương pháp tiến hành

Dịch nuôi cấy của vi khuẩn *E. coli* được chia thành 2 lô theo đồng vị phóng xạ được sử dụng:

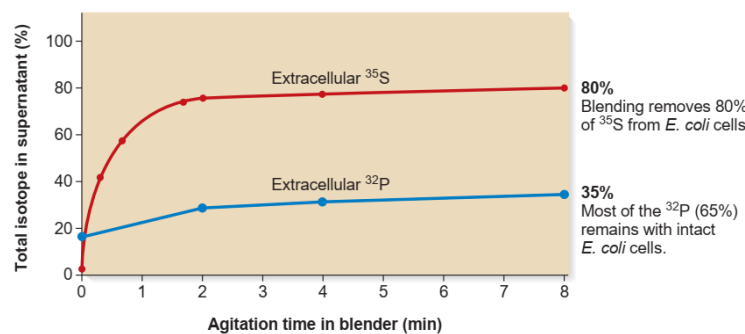
+Lô 1: Nuôi cấy thể thực khuẩn T2 trong môi trường chứa đồng vị phóng xạ Sulfur-35 (^{35}S). Sulfur có trong protein (cụ thể là amino acid methionine và cysteine) nhưng không có trong DNA. Kết quả: Vỏ protein của phage được đánh dấu phóng xạ.

+Lô 2: Nuôi cấy thể thực khuẩn T2 trong môi trường chứa đồng vị phóng xạ Phosphorus-32 (^{32}P). Phosphorus có trong DNA (cụ thể là nhóm phosphate) nhưng không có trong hầu hết protein. Kết quả: DNA của phage được đánh dấu phóng xạ.

Nhóm nghiên cứu bổ sung tế bào *E. coli* làm vật chủ của phage T2, cho thực hiện nhiễm phage đối với vi khuẩn sau đó dùng máy xay để đẩy các phage rỗng khỏi tế bào. Sau đó, nhóm thực hiện ly tâm 10000 vòng/phút để phân tách vi khuẩn (tỷ trọng lớn hơn) ở đáy ống ly tâm và phần dịch nổi chứa các vật chất không đi vào được tế bào vi khuẩn. Sau đó nhóm nghiên cứu sử dụng ống đếm Geiger để đếm tín hiệu phóng xạ.

3.3. Kết quả

Kết quả được thể hiện ở hình 2. Trong dịch nổi, 80% lượng tín hiệu ^{35}S so với ban đầu được tìm thấy. Ngược lại, phần lớn tín hiệu ^{32}P (65%) được phát hiện ở trong tế bào vi khuẩn tại cặn ly tâm (chỉ quan sát được 35% tín hiệu ^{32}P ở dịch nổi).



Hình 2. Kết quả đếm tín hiệu phóng xạ của từng đồng vị ^{35}S và ^{32}P .

3.4. Bàn luận

Từ kết quả thí nghiệm trên, ta có thể thấy hầu hết protein của phage không đi vào bên trong tế bào vật chủ trong khi đó DNA đi vào tế bào vật chủ và sinh sản ra những đời phage mới. Do các phage thế hệ con được tạo ra trong tế bào chủ, vật chất quy định các phage mới này phải được chuyển vào tế bào *E. coli* trong thí nghiệm trên, vì vậy DNA là vật chất quy định tính di truyền ở phage T2.

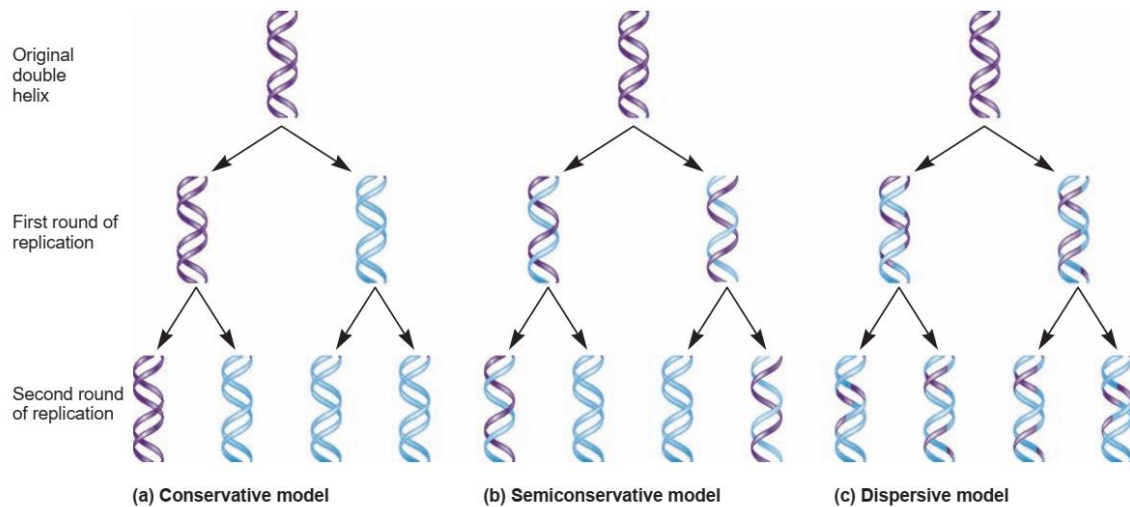
4. Meselson-Stahl

4.1. Câu hỏi nghiên cứu

Vào những năm 1950, sự công bố cấu trúc xoắn kép của DNA đã tạo ra một số mô hình về cách thức của quá trình nhân đôi DNA để đảm bảo tính di truyền cho sự sống. Dưới đây là 3 mô hình giả thuyết được cộng đồng khoa học thời đó đề xuất (hình 3):

- Mô hình bán bảo tồn (Semiconservative model): hai mạch DNA tiến hành tháo xoắn và mỗi mạch đều đóng vai trò khuôn mẫu để tổng hợp DNA con. Từ đó, tạo ra các phân tử DNA với một mạch gốc là của DNA mẹ và một mạch mới bổ sung lấy nguyên liệu từ nucleotide tự do ngoài môi trường.
- Mô hình bảo tồn (Conservative model): từ 1 DNA mẹ qua quá trình nhân đôi DNA đã tạo ra thành 2 phân tử DNA con bao gồm 1 phân tử DNA gốc (với 2 mạch cũ của phân tử mẹ ban đầu) và 1 phân tử DNA hoàn toàn mới (với 2 mạch giống trình tự của DNA mẹ nhưng được tổng hợp mới nhờ nucleotide tự do của môi trường).
- Mô hình phân tán (Dispersive model): chuỗi xoắn kép DNA mẹ ban đầu bị đứt thành các phân đoạn DNA ngắn. Chúng theo cơ chế bảo toàn được dùng làm khuôn để tổng hợp các phân đoạn DNA. Những phân đoạn mới này sau đó được lắp ráp ngẫu nhiên để tạo nên phân tử DNA hoàn chỉnh. Do đó tạo thành các phân tử DNA con mang các phân đoạn DNA có nguồn gốc từ DNA mẹ và các phân đoạn DNA mới nằm xen kẽ nhau.

Để kiểm tra mô hình nào tồn tại trong cơ thể sống, Meselson và Stahl được thực hiện nghiên cứu dưới đây.



Hình 3. Kết quả nhân đôi theo từng mô hình được đề xuất: (a) mô hình bảo toàn, (b) mô hình bán bảo toàn, (c) mô hình phân tán.

4.2. Vật liệu và phương pháp

4.2.1. Vật liệu

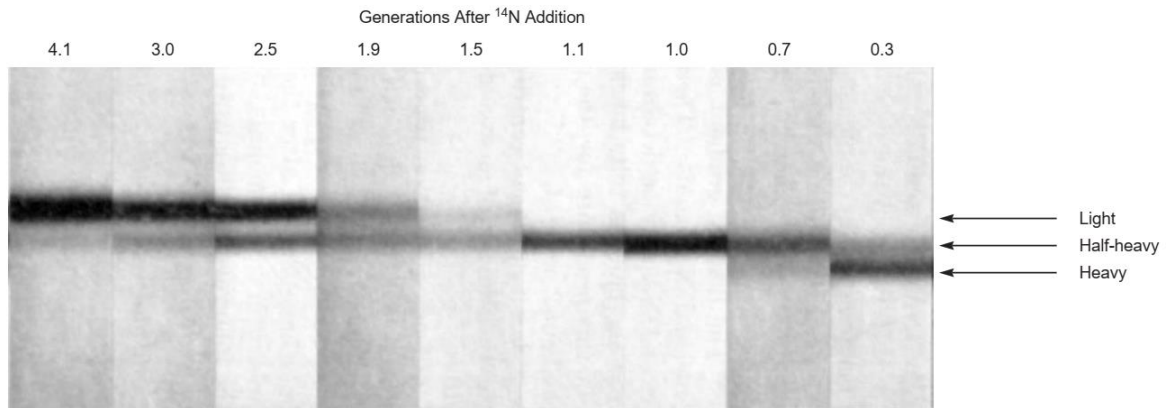
- Vi khuẩn *E. coli*
- Muối amoni chứa đồng vị Nitrogen nặng (^{15}N) và nhẹ (^{14}N)
- Hệ thống ly tâm gradient tỉ trọng cesiumchloride (CsCl)

4.2.2. Phương pháp tiến hành

Nhóm nghiên cứu đã nuôi cấy vi khuẩn trong môi trường chứa ^{15}N . Khi bắt đầu thí nghiệm, nhóm chuyển vi khuẩn sang môi trường ^{14}N . Sau một khoảng thời gian nhất định, các tế bào vi khuẩn được ly giải và ly tâm gradient tỉ trọng CsCl để kiểm tra tỉ trọng của DNA thu được trong các tế bào. DNA mang các đồng vị phóng xạ nitrogen khác nhau sẽ có tỉ trọng khác nhau nên cũng sẽ có vị trí phân bố khác nhau khi ly tâm.

4.3. Kết quả

Kết quả của thí nghiệm được thể hiện ở hình 4. DNA nhẹ được tìm thấy đầu tiên cùng với một lượng ít (vạch mờ) các DNA có kích thước trung gian ở 0.3 thế hệ. Càng tiến dần đến 1 thế hệ, DNA dần tập trung ở vị trí trung gian. Từ 1.5 thế hệ đến 4 thế hệ, DNA nhẹ xuất hiện rõ hơn và vạch DNA trung gian mờ dần. Điều này thể hiện DNA trung gian chỉ chiếm tỉ lệ nhỏ trong lượng DNA thu được sau 4 thế hệ nuôi cấy.



Hình 4. Vị trí phân bố trong ống ly tâm của DNA thu được từ các tế bào *E. coli* sau các thế hệ khác nhau.

4.4. Bàn luận

Sau một thế hệ, tất cả DNA đều lắng xuống ở mức tỷ trọng trung gian. Điều này bác bỏ mô hình bảo toàn vì sau khi nhân đôi, DNA đều sẽ đồng nhất về từng đồng vị phóng xạ do đó ta sẽ quan sát được hai băng DNA nặng và nhẹ khi ly tâm gradient tỷ trọng. Việc xuất hiện băng DNA trung gian thể hiện sự tồn tại của hai loại đồng vị trong cùng chuỗi xoắn kép, điều này xuất hiện ở cả mô hình bán bảo toàn và mô hình phân tán. Do đó, để xác định xem mô hình nào trong hai mô hình còn lại là đúng, Meselson và Stahl đã phải khảo sát các thế hệ tiếp theo.

Sau khoảng hai vòng sao chép DNA (tức là 1,9 thế hệ), người ta quan sát thấy một hỗn hợp gồm DNA nhẹ và DNA nửa nặng. Kết quả này phù hợp với mô hình sao chép DNA bán bảo toàn, bởi vì một số phân tử DNA sẽ chứa toàn bộ là DNA nhẹ, và các phân tử khác sẽ là DNA trung gian. Mô hình phân tán dự đoán rằng sau hai thế hệ, nitrogen nặng sẽ được phân tán đều giữa bốn mạch, mỗi mạch chứa 1/4 nitrogen nặng và 3/4 nitrogen nhẹ (xem hình 1c). Tuy nhiên, sự phân bố này không quan sát được ở ống ly tâm. Thay vào đó, kết quả thí nghiệm của Meselson và Stahl đã cung cấp bằng chứng thuyết phục chỉ ủng hộ cho mô hình bán bảo toàn của sự sao chép DNA.

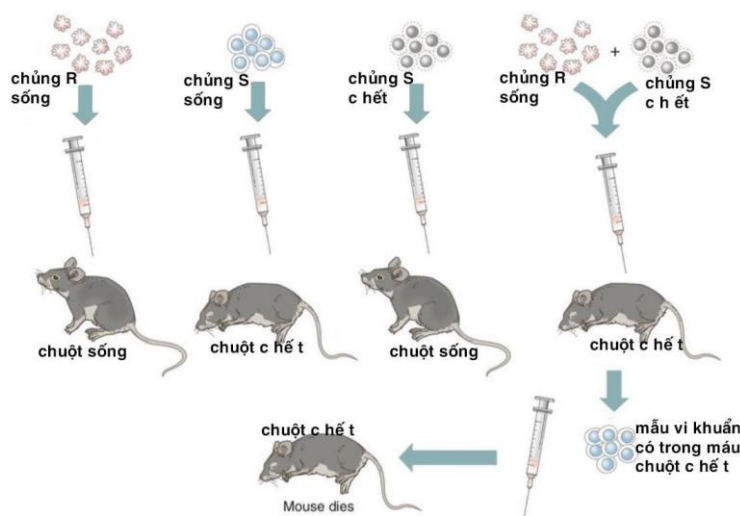
5. Bài tập

5.1. Bài tập vận dụng có hướng dẫn giải

Câu 1: (Đề thi đầu vào THPT Chuyên Đại học Sư phạm Hà Nội 2019)

Những năm đầu của thế kỷ XX con người chưa biết trong sinh vật sống chất nào là vật chất di truyền. Đã có nhà khoa học tham gia khám phá bí mật này.

Năm 1928, Griffith sử dụng 2 dòng vi khuẩn để thăm dò vật chất di truyền (Dòng S-gây bệnh và dòng R – lành tính, những đặc tính này do vật chất di truyền chi phối). Ông tiến hành thực nghiệm được mô tả như hình dưới đây:



Đến năm 1940, người ta nghi ngờ 1 trong 3 chất: protein, DNA và RNA là vật chất di truyền. Ba nhà khoa học Avery, Macleod và McCarty tiến hành thực nghiệm tiếp nối của thực nghiệm kể trên như sau:

	Mẫu A	Mẫu B	Mẫu C	Mẫu D
Thành phần 1	Dịch chiết từ chuỗi S đã chết	Dịch chiết từ chuỗi S sống đã chết	Dịch chiết từ chuỗi S sống đã chết	Dịch chiết từ chuỗi S sống đã chết
Thành phần 2	Chuỗi R sống	Chuỗi R sống	Chuỗi R sống	Chuỗi R sống
Thành phần 3	Nước cất	Enzyme phân giải protein	Enzyme phân giải RNA	Enzyme phân giải DNA
Thành phần 4	Cấy vào chuột, chuột chết	Cấy vào chuột, chuột chết	Cấy vào chuột, chuột chết	Cấy vào chuột, chuột sống

a. Hãy rút ra kết luận từ thực nghiệm của Griffith. Có thể kết luận DNA là vật chất di truyền được không? Giải thích

b. Phân tích kết quả 4 mẫu thí nghiệm trong thực nghiệm của Avery, Macleod và McCarty từ đó rút ra kết luận cuối cùng chất nào là vật chất di truyền? Giải thích

Giải:

a. Kết luận: Vi khuẩn có khả năng truyền thông tin di truyền thông qua quá trình biến nạp.

- Vật chất di truyền từ tế bào đã chết (vi khuẩn S đã bị chết do nhiệt) có khả năng biến đổi đặc tính di truyền của tế bào sống (vi khuẩn R lành tính) thành tế bào S gây bệnh.

Không thể kết luận DNA là vật chất di truyền chỉ dựa trên thí nghiệm của Griffith vì:

- Thí nghiệm của Griffith chỉ chứng minh được sự tồn tại của nguyên tắc biến nạp khi có khả năng truyền đặc tính gây bệnh từ chủng , nhưng ông chưa xác định được bản chất hóa học của nguyên tắc này. Nguyên tắc biến nạp đó có thể là Protein, DNA, RNA hoặc một chất nào khác.

b. Kết luận cuối cùng: DNA là vật chất di truyền vì:

- Từ mẫu A đối chứng, có thể thấy, vật chất di truyền sẽ mang thông tin di truyền có khả năng biến nạp truyền đặc tính di truyền từ vi khuẩn S chết sang vi khuẩn R sống (có thể vật chất di truyền là protein, DNA, RNA).

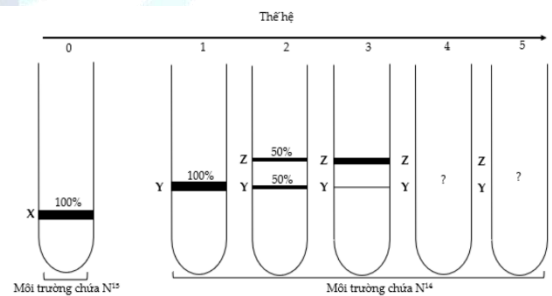
- Mẫu B, C khi bỏ enzyme phân giải RNA và protein thì vật chất di truyền vẫn không bị phân hủy vì chuột vẫn chết từ đó loại trừ được trường hợp vật chất di truyền là protein hay RNA

- Kết quả cho thấy chỉ khi DNA bị phá hủy, hiện tượng biến nạp mới bị ngăn chặn (bằng chứng là ở mẫu D khi có enzyme phân giải DNA thì cho ra kết quả chuột sống)

- DNA là phân tử mang thông tin di truyền giữa các thế hệ tế bào

Câu 2: (Câu 1.34 trang 13 sách bài tập Sinh học 12)

Một nhóm nghiên cứu thực hiện thí nghiệm để kiểm chứng mô hình nhân đôi DNA ở vùng nhân của tế bào nhân sơ. Họ đã nuôi một số vi khuẩn *E.coli* trong môi trường chỉ có nitơ đồng vị nặng (^{15}N). Sau đó họ chuyển vi khuẩn sang nuôi tiếp 5 thế hệ (tương ứng 100 phút) ở môi trường chỉ có nitơ đồng vị nhẹ (^{14}N). Biết số lần nhân lên của vi khuẩn *E.coli* trong các ống nghiệm là như nhau. Tách DNA sau mỗi thế hệ và thu được kết quả như hình dưới đây. Cho biết X là vị trí của DNA chứa cả hai mạch ^{15}N , Y là vị trí của DNA chứa cả mạch ^{14}N và mạch ^{15}N ; Z là vị trí của DNA chứa cả hai mạch ^{14}N .



a. Thí nghiệm trên đã kiểm chứng nguyên tắc nào trong quá trình nhân đôi DNA? Quá trình nhân đôi DNA tuân theo nguyên tắc nào?

b. Ở thế hệ thứ 4, tỉ lệ DNA ở vị trí Y là bao nhiêu?

c. Giả sử 3 vi khuẩn *E.coli* được nuôi với các điều kiện thí nghiệm như trên thì số vi khuẩn *E.coli* có DNA chứa ^{15}N sau 100 phút là bao nhiêu?

d. Giả sử 3 vi khuẩn *E.coli* được nuôi với các điều kiện thí nghiệm như trên thì số *E.coli* có DNA chứa ^{15}N sau 60 phút, người ta đưa toàn bộ vi khuẩn được tạo thành sang nuôi cấy trong môi trường chỉ có ^{15}N . Sau 100 phút kể từ thế hệ 1 đã tạo ra bao nhiêu DNA chỉ có ^{15}N ?

Giải

a. Thí nghiệm trên đã kiểm chứng nguyên tắc bán bảo toàn trong quá trình nhân đôi DNA.

Quá trình nhân đôi DNA tuân theo nguyên tắc bổ sung, khuôn mẫu, bán bảo toàn.

b. Gọi x là số DNA ở thế hệ 0 chỉ có ^{15}N (Điều kiện: $x \in \mathbb{N}^*$)

Số DNA ở thế hệ 4: $x \cdot 2^4 = 16x$

Số mạch DNA ^{15}N : $2x$



Tỉ lệ DNA ở vị trí Y là: $\frac{2x}{16x} \times 100\% = 12,5\%$

c. Những thế hệ ở môi trường chứa ^{14}N có số mạch ^{15}N không thay đổi và bằng với số vi khuẩn *E.coli* có DNA chứa mạch ^{15}N

Số vi khuẩn *E.coli* có DNA chứa ^{15}N sau 100 phút là: $3.2=6$

d. Ta có: thời gian tạo ra 5 thế hệ là 100 phút nên mỗi lần nhân đôi DNA diễn ra trong $100:5=20$ phút

Sau 60 phút vi khuẩn đang ở thế hệ $60:20=3$

Số mạch DNA ^{15}N : $3.2=6$

Số mạch DNA ^{14}N : $3.23.2 - 6 = 42$

Sau 100 phút kể từ thế hệ 1, vi khuẩn đang ở thế hệ $100:20 + 1=6$

Số DNA chỉ có ^{15}N : $3.26 - 42 = 150$

5.2. Bài tập tự giải

Câu 1:

Các nhà nghiên cứu tạo ra một chủng vi khuẩn *Streptococcus pneumoniae* mới gọi là S^* , trong đó gene tổng hợp vỏ polysaccharide bị vô hiệu hóa. Chủng này không có vỏ, không gây bệnh, nhưng vẫn giữ nguyên toàn bộ bộ DNA và các protein nội bào khác. Nhóm tiến hành hai thí nghiệm:

Thí nghiệm 1: Tiêm S^* sống vào chuột.

Thí nghiệm 2: Tiêm hỗn hợp gồm S^* chết do nhiệt và R sống vào chuột.

Sau 3 ngày, họ quan sát tình trạng chuột và phân tích loại vi khuẩn có trong máu.

a. Ở thí nghiệm 1, chuột sẽ sống hay chết? Có tìm thấy loại vi khuẩn nào trong máu không? Giải thích nguyên nhân.

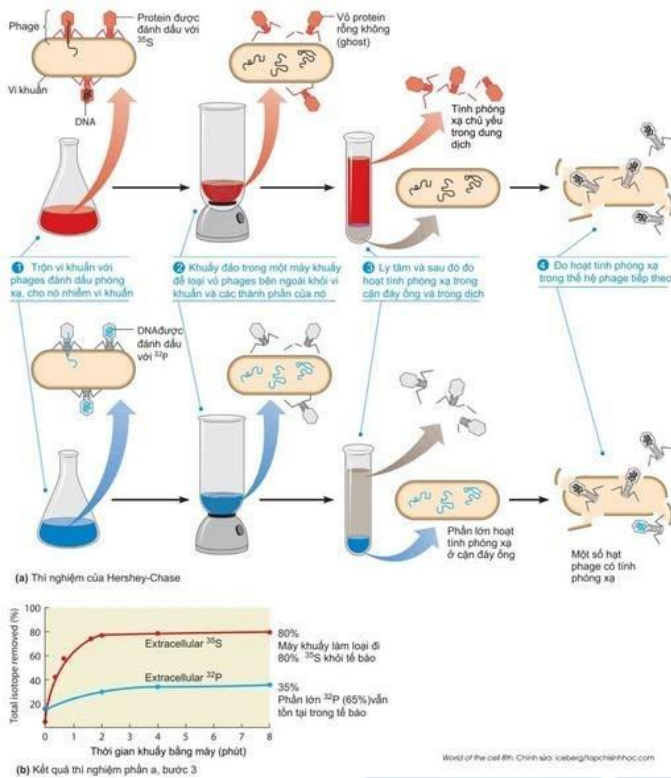
b. Ở thí nghiệm 2, kết quả dự kiến là gì? Loại vi khuẩn nào có thể được tìm thấy trong máu? Giải thích cơ chế hiện tượng này.

Câu 2:

Năm 1952, Alfred Hershey và Martha Chase đã tiến hành thí nghiệm nhằm xác định DNA hay protein là vật chất di truyền của phage T2 - một loại virus lây nhiễm vi khuẩn *E.coli*. Phage T2 có cấu tạo chỉ gồm DNA và protein, virus này xâm nhập vào trong tế bào vi khuẩn *E. coli* để tạo ra các virus mới. Trong thí nghiệm của mình (Hình bên dưới), A.Hershey và M.Chase đã chuẩn bị hai dòng virut tương ứng với các vật liệu cấu tạo được đánh dấu phóng xạ:

Dòng 1: Phage được nuôi trong môi trường chứa đồng vị phóng xạ Lưu huỳnh (^{35}S) để đánh dấu protein

Dòng 2: Phage được nuôi trong môi trường chứa đồng vị phóng xạ Phosphorus (^{32}P) để đánh dấu ADN.



Sau đó, họ tiến hành lây nhiễm 2 dòng phage có đánh dấu phóng xạ này vào vi khuẩn *E. coli*. Tiếp theo sử dụng ly tâm để các tế bào vi khuẩn và thành phần của nó trong cặn ly tâm ở đáy ống nghiệm; phần vỏ bên ngoài của phage nhẹ hơn nên ở dạng phân tán trong dịch ly tâm.

a. Từ thí nghiệm của Alfred Hershey và Martha Chase có thể kết luận DNA hay protein là vật chất di truyền không? Giải thích

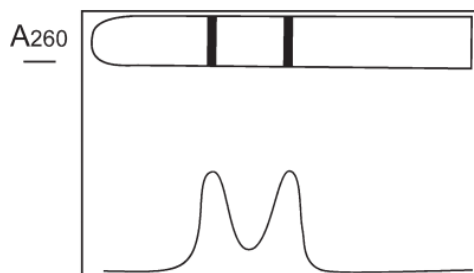
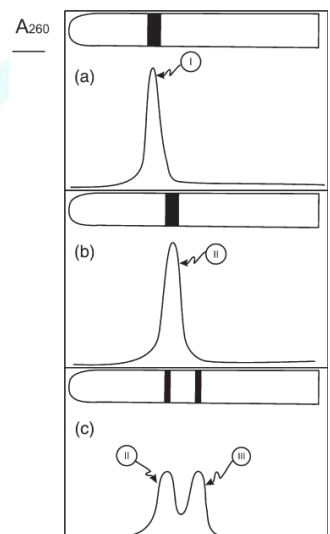
b. Theo em, trong thí nghiệm của Alfred Hershey và Martha Chase có thể dùng đồng vị phóng xạ ^{14}C thay cho ^{32}P được không? Giải thích

Câu 3:

Thí nghiệm dưới đây được thực hiện bởi Matthew Melselson và Frank Stahl để nghiên cứu cơ chế sao chép DNA ở các tế bào vi khuẩn *Escherichia coli*. Các vi khuẩn được nuôi cấy trong môi trường chứa $^{15}\text{NH}_4\text{Cl}$ trong vài thế hệ cho đến khi các nguyên tử của đồng vị ^{14}N bị thay thế hoàn toàn bởi đồng vị ^{15}N .

Lượng dư $^{14}\text{NH}_4\text{Cl}$ sau đó được bổ sung vào dịch nuôi cấy và mẫu được thu lấy ngay lập tức sau khi bổ sung (hình a), sau 48 phút (hình b) và 92 phút (hình c). Dịch chiết từ các tế bào được thực hiện ly tâm gradient tỉ trọng CsCl. Các phân đoạn của ống ly tâm được định lượng bằng máy quang phổ sử dụng bước sóng 260nm. Các đỉnh sóng về mức hấp thụ (ký hiệu bằng số La Mã) được thể hiện ở hình bên.

Để phân tích định tính DNA ở đỉnh II, mẫu được phân lập từ ống ly tâm, biến tính bằng nhiệt và được đưa vào ly tâm gradient tỉ trọng CsCl trong môi trường kiềm. Kết quả được thể hiện ở hình dưới đây.



a. Đại phân tử nào trong tế bào *E. coli* sẽ được đánh dấu phóng xạ trong điều kiện đánh dấu như trên? Hãy so sánh tỉ trọng nổi (buoyant density, sẽ tăng theo sự tăng kích thước phân tử) của từng cặp sau:
(A) DNA ở đỉnh I và DNA ở đỉnh II



(B) DNA ở đỉnh II hình C và DNA ở đỉnh III hình C

- b. Hãy cho biết % các đồng vị nitrogen tại các đỉnh sóng I, II, III ở ly tâm đồ.
- c. Hãy giải thích việc sử dụng nhiệt và kiềm trong thí nghiệm định tính DNA ở đỉnh II.
- d. Mỗi ý sau đây đúng hay sai:
 - A. Thời gian nhân đôi DNA của *E. coli* ngắn hơn 48 phút.
 - B. Thời gian thế hệ của *E. coli* là 92 phút.
 - C. Một trong hai mạch của DNA ở đỉnh II mang chủ yếu là ^{14}N .
 - D. Một trong hai mạch của DNA ở đỉnh II mang chủ yếu là ^{15}N .
 - E. Thí nghiệm trên chứng minh vai trò làm khuôn tổng hợp DNA của 2 mạch mẹ ban đầu.
 - F. Đỉnh II sẽ cao gấp 3 lần đỉnh III sau 122 phút nuôi cấy.



Lời kết

Bốn thí nghiệm kinh điển –Griffith, Avery–MacLeod–McCarty, Hershey–Chase và Meselson–Stahl đã thiết lập nền tảng cho di truyền học phân tử. Qua chuỗi nghiên cứu nối tiếp, các nhà khoa học đã chứng minh rằng DNA chính là vật chất di truyền, đồng thời xác định cơ chế sao chép của DNA diễn ra theo mô hình bán bảo toàn.

Thông qua chuyên đề, người học không chỉ hiểu rõ cơ sở thực nghiệm của những khái niệm trọng tâm trong di truyền học mà còn rèn luyện khả năng phân tích, so sánh, và diễn giải dữ liệu khoa học

Những thí nghiệm nền tảng này tiếp tục là biểu tượng của phương pháp khoa học thực chứng, khẳng định vai trò trung tâm của DNA trong sự sống và mở đường cho các phát minh về gene, tái tổ hợp và công nghệ sinh học hiện đại.



Tài liệu tham khảo

- 1) Griffith F. (1928). The Significance of Pneumococcal Types. *The Journal of hygiene*, 27(2), 113–159.
<https://doi.org/10.1017/s0022172400031879>
- 2) Malagó W Jr, Soares-Costa A, Henrique-Silva F. DNA as genetic material: Revisiting classic experiments through a simple, practical class. *Biochem Mol Biol Educ*. 2009;37(5):290-295. doi:10.1002/bmb.20309
- 3) National Human Genome Research Institute. (n.d.). 1944: DNA is “transforming principle”. *Genome.gov*. Retrieved November 1, 2025, from <https://www.genome.gov/25520250/online-education-kit-1944-dna-is-transforming-principle>
- 4) Meselson, M., & Stahl, F. W. (1958). THE REPLICATION OF DNA IN *ESCHERICHIA COLI*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 44(7), 671–682.
<https://doi.org/10.1073/pnas.44.7.671>
- 5) Urry, L. A., Cain, M. L., Wasserman, S. A., Minorsky, P. V., & Orr, R. B. (2020). *Campbell biology* (12th ed.). Pearson.
- 6) Brooker, R. J. (2021). *Genetics: Analysis and principles* (7th ed.). McGraw-Hill Education.
- 7) Szeberényi J. (2012). The Meselson-Stahl experiment. *Biochemistry and molecular biology education : a bimonthly publication of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology*, 40(3), 209–211. <https://doi.org/10.1002/bmb.20602>