

TÍCH HỢP KIẾN THỨC CÔNG NGHỆ CHỈNH SỬA GEN CRISPR/CAS9 TRONG GIẢNG DẠY CHO SINH VIÊN NGÀNH KHOA HỌC TỰ NHIÊN TẠI TRƯỜNG ĐẠI HỌC TÂN TRÀO

NGUYỄN KIỀU LINH
Trưởng Đại học Tân Trào

Nhận bài ngày 06/11/2025. Sửa chữa xong 29/12/2025. Duyệt đăng 08/01/2026.

Abstract

CRISPR/Cas9 gene editing represents one of the most significant recent advances in genetic engineering. This technology enables scientists to precisely modify genes and regulate gene expression in living organisms, thereby facilitating a wide range of applications, from fundamental research to the development of novel therapies and biotechnological products. In the context of higher education reform, integrating contemporary scientific achievements into university curricula has become an urgent requirement. This article analyzes the potential for incorporating CRISPR/Cas9 gene editing technology into the teaching of Molecular Biology and Genetics courses for Natural Science students. Through examining the mechanisms and processes underlying CRISPR/Cas9, lecturers can support students in consolidating foundational knowledge of DNA structure and genetic repair mechanisms, while also fostering critical thinking, particularly regarding bioethical issues.

Keywords: CRISPR/Cas9, integrated teaching, Molecular Biology, Natural Sciences, Tan Trao University.

1. Đặt vấn đề

Chỉnh sửa gen là một công nghệ sửa đổi chính xác trình tự bộ gen để tạo ra các sản phẩm chèn, xóa hoặc thay thế bazơ trong gen. Từ năm 2013 việc nghiên cứu công nghệ CRISPR đã ghi nhận sự tăng trưởng bùng nổ với hàng chục nghìn bài báo liên quan đến CRISPR được xuất bản. Trong những năm gần đây, công nghệ sinh học thế giới đã chứng kiến những bước tiến nhảy vọt, đánh dấu bằng sự ra đời của công nghệ chỉnh sửa gen CRISPR/Cas9 - thành tựu được vinh danh lớn nhất vào tháng 10 năm 2020, giải Nobel Hóa học đã được trao cho nhà vi sinh vật học người Pháp Emmanuelle Charpentier và nhà sinh vật học người Mỹ Jennifer Doudna vì “Phát triển một phương pháp mới để chỉnh sửa bộ gen”. Hệ thống CRISPR/Cas9 tiến hóa tự nhiên trong vi khuẩn và vi sinh vật cổ như một cơ chế phòng vệ chống lại sự nhiễm trùng phage và chuyển Plasmid. Vi khuẩn hoặc vi khuẩn cổ thu nhận một đoạn trình tự DNA của chúng để chèn vào vùng đệm CRISPR khi lần đầu bị xâm nhập bởi phage hoặc plasmid ngoại lai. Các nhà khoa học đã nghiên cứu phương pháp này trong gần ba thập kỷ trước khi được công nhận và được sự chú ý rộng rãi. Cho đến nay công nghệ chỉnh sửa gen đã trải qua ba thế hệ phát triển chính: Thế hệ đầu tiên của công nghệ chỉnh sửa gen là nuclease ngón tay kềm (ZFN); thế hệ thứ hai là nuclease tác động giống như chất hoạt hóa phiên mã (TALENs) và công nghệ chỉnh sửa gen thế hệ thứ 3 được sử dụng rộng rãi nhất là trình tự lặp lại ngắn xen kẽ đều đặn (CRISPR)/protein liên kết CRISPR/Cas9.

Tại Việt Nam, công nghệ chỉnh sửa gen liên quan đến CRISPR hiện là công cụ sinh học được quan tâm nhất công nghệ này đang được nghiên cứu và ứng dụng mạnh mẽ trong lĩnh vực nông nghiệp nhằm tạo ra các giống cây trồng, vật nuôi thích ứng với biến đổi khí hậu và đảm bảo an ninh lương thực [1]. Bối cảnh này đặt ra yêu cầu cấp thiết về nguồn nhân lực chất lượng cao, am hiểu sâu sắc về công nghệ gen để phục vụ chiến lược phát triển nông nghiệp công nghệ cao của đất nước.

Email: NKLinh@tqu.edu.vn

2. Phương pháp nghiên cứu

Nghiên cứu sử dụng phương pháp tổng hợp tài liệu (Literature Review) để hệ thống hóa cơ chế phân tử của CRISPR/Cas9 từ các công trình nghiên cứu gốc của Jinek và cộng sự (2012). Đồng thời, phương pháp phân tích và hệ thống hóa kiến thức được áp dụng để chuyển hóa các quy trình kỹ thuật phức tạp thành các đơn vị kiến thức (module) phù hợp với trình độ SV đại học.

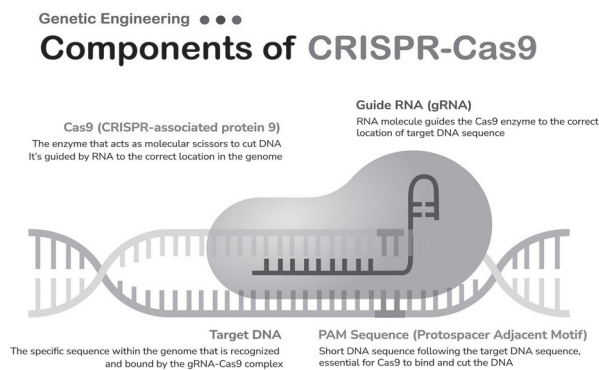
3. Kết quả nghiên cứu và bàn luận

3.1. Cơ chế phân tử của CRISPR/Cas9

Hệ thống CRISPR/Cas9 hoạt động như một “chiếc kéo phân tử” với hai thành phần chính: enzyme Cas9 và RNA dẫn đường (sgRNA). Theo Jinek và cộng sự (2012), phức hệ này có khả năng nhận diện và cắt đứt chuỗi đôi DNA tại vị trí xác định với độ chính xác cao. Đây là minh chứng rõ ràng nhất cho sự tương tác đặc hiệu giữa protein và axit nucleic. Hoạt động của CRISPR/Cas9 là một chuỗi các sự kiện tinh vi được điều hòa chặt chẽ, dựa trên khả năng của RNA dẫn đường (sgRNA) nhận diện trình tự mục tiêu thông qua nguyên tắc bổ sung base, sự phụ thuộc vào yếu tố PAM - yếu tố giới hạn để Cas9 có thể tiến hành hoạt hóa.

Nguyên lý nền tảng là: Thiết kế RNA dẫn đường → Cas9 nhận diện mục tiêu → tạo tổn thương → khai thác cơ chế sửa chữa nội tại. Việc hiểu rõ PAM, đặc điểm gen đích và bản chất sửa chữa là chìa khóa để nâng cao độ chính xác và hạn chế sai lệch. Sơ đồ cơ chế hoạt động của CRISPR/Cas9 (thường là hình minh họa phức hệ Cas9 cắt DNA).

Hình 1: Mô hình phân tử cơ chế tác động của phức hệ CRISPR/Cas9 lên DNA mục tiêu



Hình 1 mô tả quá trình tương tác phân tử gồm các thành phần chính sau: Enzyme Cas9 (thường được vẽ là khối hình cầu/oval lớn): Đóng vai trò là “chiếc kéo phân tử” (molecular scissors). Trong hình, Cas9 bao lấy chuỗi DNA mục tiêu. sgRNA (RNA dẫn đường - sợi đơn có cấu trúc kẹp tóc): Một đầu của sgRNA liên kết với Cas9, đầu kia chứa trình tự bổ sung (màu khác biệt) đang bắt cặp chính xác với một mạch của DNA mục tiêu theo nguyên tắc bổ sung (A-U, G-X). DNA mục tiêu (Chuỗi xoắn kép): Sợi DNA đang bị Cas9 tháo xoắn cục bộ để lộ ra trình tự gen cần chỉnh sửa. Vị trí cắt (Cleavage site): Hình ảnh thường minh họa hai “mũi tên” hoặc biểu tượng “kéo” cắt vào hai mạch đơn của DNA (thường nằm cách vị trí PAM khoảng 3 nucleotide). Trình tự PAM (Protospacer Adjacent Motif): Điểm mốc quan trọng (thường là 3 nu NGG) giúp Cas9 nhận diện và bám vào DNA.

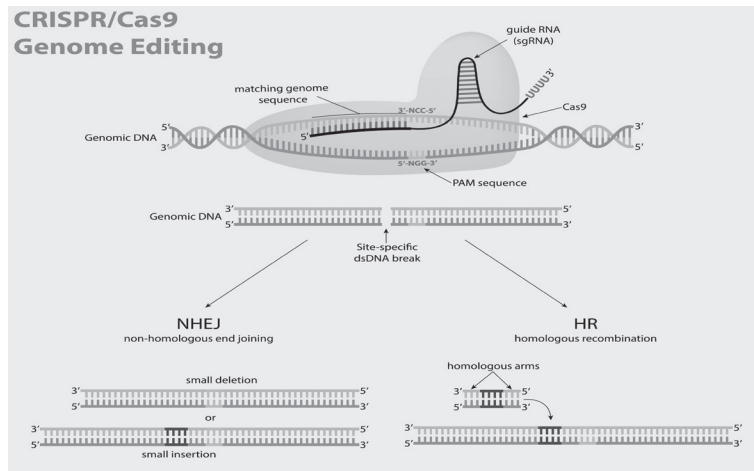
Hình 1 minh họa trực quan sự phối hợp chính xác giữa việc “dẫn đường” của sgRNA và khả năng “cắt” của Cas9, tạo ra vết đứt gãy mạch kép (DSB) - bước khởi đầu cho quá trình chỉnh sửa gen.

3.2. Các con đường sửa chữa DNA của tế bào sau khi DNA bị cắt, tế bào sẽ tự sửa chữa theo hai hướng chính

NHEJ (Non-Homologous End Joining): Nối tự do hai đầu vỡ, thường gây đột biến thêm/mất nucleotide (indel), dẫn đến bất hoạt gen (gene knockout) (Phạm Văn Toàn & cộng sự, 2020).

HDR (Homology-Directed Repair): Sửa chữa theo khuôn mẫu, cho phép chèn hoặc thay thế gen chính xác nếu có sự hiện diện của đoạn DNA cho (donor DNA). Sau đây là sơ đồ mô tả hai cơ chế sửa chữa DNA chính sau khi bị cắt bởi Cas9: NHEJ và HDR giúp SV phân biệt được sự khác nhau giữa việc làm mất chức năng gen (Knockout) và chỉnh sửa chính xác (Knock-in/Replacement).

Hình 2: Mô tả hai cơ chế sửa chữa DNA chính sau khi bị cắt bởi Cas9: NHEJ và HDR



Hình 2 bắt đầu từ sự kiện trung tâm: Phức hệ Cas9 tạo ra một vết đứt gãy mạch kép (Double-Strand Break - DSB) tại vị trí mục tiêu trên DNA. Từ đây, tế bào sẽ kích hoạt một trong hai con đường sửa chữa riêng biệt:

1. Nhánh bên trái: Cơ chế nối đầu tận cùng không tương đồng (NHEJ).

Cơ chế: Đây là phản ứng tự nhiên và nhanh chóng của tế bào để hàn gắn vết thương. Các enzyme sửa chữa sẽ “khâu” trực tiếp hai đầu vỡ lại với nhau mà không cần khuôn mẫu.

Kết quả: Quá trình này thường không chính xác (error-prone), dẫn đến việc thêm vào hoặc mất đi ngẫu nhiên một vài nucleotide (đột biến thêm/mất - Indels) tại vị trí nối.

Ý nghĩa sinh học: Sự thay đổi khung đọc này thường làm gen bị lỗi và mất chức năng. Đây là cơ chế nền tảng để tạo ra các sinh vật biến đổi gen dạng Knockout (ví dụ: tắt gen gây bệnh).

2. Nhánh bên phải: Cơ chế sửa chữa rập khuôn theo mẫu (HDR).

Cơ chế: Xảy ra khi nhà nghiên cứu cung cấp thêm một đoạn DNA mẫu (Donor DNA) có trình tự mong muốn. Tế bào sẽ sử dụng đoạn này làm khuôn để sửa chữa vết đứt gãy thông qua quá trình tái tổ hợp tương đồng.

Kết quả: Đoạn DNA mẫu được chèn vào hoặc thay thế chính xác vị trí bị cắt.

Ý nghĩa sinh học: Cho phép chỉnh sửa tinh vi (sửa lỗi sai thành đúng) hoặc chèn thêm gen mới (Knock-in) để tạo tính trạng mong muốn (ví dụ: chèn gen kháng thuốc, gen tạo mùi thơm).

3.3. Ý nghĩa thực tiễn về kết quả ứng dụng đối với sinh viên

Sinh viên cần nắm được các ứng dụng điển hình để thấy rõ: Công nghệ sinh học không chỉ là lý thuyết trong phòng thí nghiệm mà đã và đang trực tiếp làm thay đổi đời sống con người, sản xuất và bảo vệ môi trường.

Trong y học và chăm sóc sức khỏe tạo ra vắc-xin thế hệ mới, sản xuất insulin bằng vi khuẩn E.coli biến đổi gen là insulin “người tinh khiết, rẻ hơn và an toàn hơn. Chuẩn đoán bệnh bằng công nghệ sinh học...; Công nghệ sinh học tạo ra sản phẩm cứu sống con người, nâng cao chất lượng sống.

Trên cây trồng: Tạo giống lúa chịu hạn, chịu mặn (Zhang và cộng sự, 2017) và cà chua có độ ngọt cao, thời gian bảo quản dài (Li và cộng sự, 2018). Trên vật nuôi: Tạo giống heo có khả năng kháng virus

PRRS (Hội chứng rối loạn hô hấp và sinh sản) giúp giảm thiểu thiệt hại kinh tế (Whitworth và cộng sự, 2016). Gắn trực tiếp vào bối cảnh Việt Nam và phát triển bền vững, giúp con người giải bài toán “nuôi sống con người” trong tương lai.

Công nghệ thực phẩm là lĩnh vực gắn gũi nhất với cuộc sống hàng ngày như lên men sữa chua, phomai, rượu, bia..., sản xuất enzyme Amylase, protease, lactase để dùng trong chế biến thực phẩm, những món ăn hàng ngày chính là sản phẩm của công nghệ sinh học.

Vai trò của công nghệ sinh học trong xử lý nước thải bằng vi sinh vật, xử lý chất thải chăn nuôi, phân hủy rác hữu cơ thành phân vi sinh. Công nghệ sinh học không chỉ sản xuất mà còn “chữa lành” môi trường.

Thành tựu của công nghệ chỉnh sửa gen chứng minh rằng sinh học không chỉ là khoa học nghiên cứu sự sống mà còn tạo ra giải pháp cho các vấn đề lớn của nhân loại: sức khỏe, lương thực, môi trường và phát triển bền vững.

3.4. Đề xuất tích hợp trong giảng dạy các học phần

Thực tiễn giáo dục đại học cho thấy, nội dung giảng dạy các học phần Sinh học và Di truyền học đôi khi chưa bắt kịp tốc độ phát triển của khoa học hiện đại. SV khối ngành Khoa học Tự nhiên thường nắm vững lý thuyết kinh điển nhưng còn hạn chế trong việc tiếp cận các công nghệ tiên tiến (Phạm Văn Toàn & cộng sự, 2020). Tại Trường Đại học Tân Trào, việc đổi mới nội dung và phương pháp giảng dạy theo hướng gắn liền với thực tiễn là một trong những ưu tiên hàng đầu.

Toàn bộ chương trình được thực hiện trong 4 năm, mỗi năm học được chia thành 2 học kỳ, mỗi học kỳ là 15 tuần; có thể tổ chức học tập thêm trong kỳ nghỉ hè nếu xét thấy cần thiết.

- Quy định thực hiện các học phần: + Các học phần lý thuyết học tại lớp: không quá 30 tiết/tuần, được chia thành các phần: lý thuyết, bài tập, thảo luận, kiểm tra, thực hành môn học; + Học phần thực tập: thời gian không quá 40 giờ/tuần; + Mỗi tiết học là 50 phút.

Khối lượng kiến thức toàn khóa gồm 137 tín chỉ (không kể giáo dục thể chất và giáo dục quốc phòng-an ninh), trong đó: - Kiến thức giáo dục đại cương: 28 tín chỉ; - Kiến thức cơ sở ngành: 16 tín chỉ; - Kiến thức ngành: 57 tín chỉ; - Kiến thức chuyên ngành: 22 tín chỉ; - Thực tập: 8 tín chỉ; - Khóa luận tốt nghiệp hoặc các học phần thay thế khóa luận tốt nghiệp: 6 tín chỉ. Công nghệ gen được tích hợp vào các giờ giảng môn học chuyên ngành như di truyền, thực vật học, động vật học, hóa sinh học... giúp SV hiểu sâu về lĩnh vực công nghệ gen trong di truyền, biến đổi sinh vật, nông nghiệp và bảo vệ môi trường thông qua phân tích gen, sàng lọc gen, mô hình DNA. Sự kết nối lý thuyết với thực tế để SV nắm bắt được kiến thức hiện đại, cập nhật sự phát triển của khoa học và công nghệ. phát triển tư duy khoa học; kỹ năng giải quyết vấn đề. Hiểu rõ hơn về bản thân và thế giới sinh vật, nâng cao nhận thức về đạo đức sinh học.

Sinh viên có khả năng tự học, tự nghiên cứu về các lĩnh vực khoa học tự nhiên và các lĩnh vực khác có liên quan.

Tích hợp trong dạy học Sinh học về cấu trúc gen, công nghệ tái tổ hợp DNA, chỉnh sửa gen, tạo sinh vật biến đổi gen.

Hóa học giúp SV hiểu về cấu trúc phân tử DNA, RNA, protein, phản ứng hóa học trong tách chiết gen, xác định trình tự gen.

Sử dụng các kiến thức vật lý để phân tích vật liệu di truyền.

Cụ thể học phần Vi sinh vật học gồm các kiến thức về về hình thái, cấu tạo tế bào, sinh trưởng, sự trao đổi chất và hoạt động sinh lý rất đa dạng của vi sinh vật. Một số ứng dụng trong chăn nuôi, trồng trọt, công nghiệp thực phẩm, sản xuất nguyên liệu, công nghiệp dược phẩm.

Kiến thức về đất phân bón và các loại hóa được dùng trong nông nghiệp gồm: Thành phần hóa học, sự chuyển hóa các chất dinh dưỡng trong đất và cách bảo quản, sử dụng chúng.

Kỹ năng thực hành sinh học, bao gồm các kỹ năng trong thực hành sinh học và ứng dụng cơ bản trong sinh học phân tử, ứng dụng của công nghệ vi sinh trong sản xuất insulin, vacin, trong chế biến

thực phẩm, sản xuất acid hữu cơ, thuốc trừ sâu vi sinh và các sản phẩm bảo vệ môi trường.

Chương trình đào tạo trình độ đại học ngành Sư phạm Khoa học tự nhiên được thiết kế theo hướng phát huy tinh thần chủ động, sáng tạo của người học, tích hợp chuyên môn và nghiệp vụ, tạo điều kiện thuận lợi cho người học sau khi tốt nghiệp có thể đảm nhiệm tốt những công việc phù hợp với chuyên ngành được đào tạo.

Tích hợp công nghệ chỉnh sửa gen vào dạy học các môn khoa học tự nhiên có vai trò rất quan trọng vì nó gắn kết kiến thức sách giáo khoa với thực tiễn, vừa giúp học sinh phổ thông thấy được sự phát triển hiện đại của khoa học. Đặc biệt với định hướng giáo dục STEM và trải nghiệm, công nghệ sinh học là cầu nối rất tốt giữa giáo viên và học sinh; tăng tính thực nghiệm, giúp học sinh thấy khoa học gắn chặt với cuộc sống hàng ngày.

Nghiên cứu này được thực hiện nhằm trả lời câu hỏi: “Làm thế nào để tích hợp hiệu quả tri thức chuyên sâu về công nghệ CRISPR/Cas9 vào chương trình đào tạo ngành Khoa học Tự nhiên?”. Bài báo sẽ hệ thống hóa cơ sở lý thuyết và đề xuất phương án sư phạm cụ thể để lồng ghép nội dung này vào giảng dạy.

3.4.1. Trong học phần Di truyền học

Trong cấu trúc chương trình đào tạo ngành Khoa học Tự nhiên, Di truyền học là học phần nền tảng nghiên cứu về tính di truyền và biến dị. Công nghệ CRISPR/Cas9 cung cấp một mô hình thực tế sống động để làm sáng tỏ các cơ chế di truyền phức tạp. Chúng tôi đề xuất tích hợp nội dung này vào các chương cụ thể như sau:

a. Tích hợp trong chương “Đột biến gen”

Mục tiêu bài giảng: Giúp SV hiểu rõ cơ chế phát sinh đột biến ở cấp độ phân tử và hậu quả của nó. Nội dung tích hợp: Sử dụng cơ chế sửa chữa NHEJ sau tác động của Cas9 để minh họa cho sự hình thành đột biến lệch khung.

Hoạt động dạy học: Giảng viên trình chiếu sơ đồ Cas9 cắt DNA và tế bào tự nối lại gây mất 1-2 nucleotide.

Câu hỏi thảo luận: “Tại sao việc mất đi một vài nucleotide (không chia hết cho 3) lại dẫn đến việc phá hỏng hoàn toàn chức năng của protein, trong khi mất 3 nucleotide có thể chỉ làm mất 1 axit amin?”. Kết quả mong đợi: SV củng cố kiến thức về mã di truyền (bộ ba), khung đọc mở và mối quan hệ nhân quả giữa Đột biến gen Biến đổi Protein Thay đổi Kiểu hình.

b. Tích hợp trong chương “Công nghệ DNA tái tổ hợp”

Mục tiêu bài giảng: Phân biệt được các phương pháp biến đổi gen truyền thống và hiện đại.

Nội dung tích hợp: So sánh cơ chế HDR của CRISPR/Cas9 với các phương pháp chuyển gen ngẫu nhiên cũ (như súng bắn gen, vi tiêm).

Hoạt động dạy học: Bài tập so sánh: Yêu cầu SV lập bảng so sánh giữa “Gây đột biến bằng hóa chất/tia xạ” và “Chỉnh sửa gen bằng CRISPR/Cas9” về các tiêu chí: độ chính xác, tính ngẫu nhiên, và hiệu quả sàng lọc.

Phân tích ví dụ về giống lúa chịu mặn được tạo ra bằng CRISPR không chứa gen ngoại lai, khác biệt thế nào với sinh vật biến đổi gen (GMO) truyền thống về mặt bản chất di truyền. Tích hợp trong chương “Di truyền học quần thể”.

Nội dung tích hợp: Giới thiệu khái niệm Gene Drive (Phát động gen) dựa trên CRISPR/Cas9. Vấn đề thảo luận: “Làm thế nào một gen được chỉnh sửa có thể lan truyền nhanh chóng ra toàn bộ quần thể muỗi (để chống sốt rét) nhanh hơn quy luật di truyền Mendel thông thường?”. Ý nghĩa: Giúp SV mở rộng tư duy về sự lan truyền alen trong quần thể và các yếu tố ảnh hưởng đến tần số alen.

Ví dụ minh họa: Chủ đề: Đột biến mất chức năng (Loss-of-function mutation).

Đối tượng: Gen quy định mùi thơm ở lúa (Betaine Aldehyde Dehydrogenase 2 - BADH2).

Dữ liệu: Lúa tẻ thường có gen BADH2 hoạt động bình thường ức chế mùi thơm. Lúa tám thơm có

gen BADH2 bị đột biến lặn nên có mùi thơm.

Yêu cầu SV: Đề xuất cách sử dụng CRISPR/Cas9 để biến giống lúa tẻ năng suất cao thành lúa thơm.

Giải thích cơ chế phân tử: Cần cắt vào vị trí nào của gen BADH2? Tế bào sẽ sửa chữa ra sao để gen này bị “tắt” (Knockout)?

Bài tập này kết hợp kiến thức về tính trạng lặn/trội (Di truyền Mendel) với công nghệ gen hiện đại, giúp SV thấy được ứng dụng thực tế của bài học vào sản xuất nông nghiệp Việt Nam.

3.4.2. Trong học phần Sinh học phân tử

Sử dụng mô hình phức hệ Cas9-sgRNA để minh họa cho nguyên tắc bổ sung.

Nội dung: Phân tích cấu trúc của sgRNA và cách thiết kế trình tự để nhận diện gen mục tiêu trên bộ gen sinh vật.

Mục tiêu: củng cố kiến thức về cấu trúc DNA, RNA và cơ chế hoạt động xúc tác của enzyme nuclease. Sinh học phân tử nghiên cứu về cấu trúc, chức năng và tương tác giữa các phân tử sinh học (DNA, RNA, Protein).

Hệ thống CRISPR/Cas9 là một ví dụ hoàn hảo về phức hệ Ribonucleoprotein (RNP), nơi RNA và Protein phối hợp hoạt động. Chúng tôi đề xuất tích hợp vào các chủ đề sau:

a. Tích hợp trong chương “Cấu trúc và chức năng của Axit Nucleic

Mục tiêu bài giảng: củng cố kiến thức về nguyên tắc bổ sung và tính định hướng 5’-3’ của chuỗi polynucleotide.

Nội dung tích hợp: Phân tích cơ chế nhận diện mục tiêu của sgRNA (single guide RNA).

Nguyên tắc bổ sung: sgRNA không bám ngẫu nhiên, mà 20 nucleotide đầu tiên của nó phải bắt cặp bổ sung chính xác với mạch DNA mục tiêu (A liên kết với U/T, G liên kết với X/C). Sự biến tính cục bộ: Để Cas9 cắt được, chuỗi xoắn kép DNA phải được tháo xoắn cục bộ để lộ ra mạch đơn cho sgRNA bám vào.

Hoạt động thực hành: Bài tập: Cho SV một đoạn trình tự gen đích (ví dụ: một đoạn gen kháng thuốc).

Yêu cầu SV thiết kế trình tự sgRNA phù hợp để cắt gen này, đảm bảo đúng chiều 5’ - 3’ và nhận diện đúng mã PAM (NGG).

b. Tích hợp trong chương “Cấu trúc và chức năng của Protein/Enzyme”: Mục tiêu bài giảng: Hiểu về các miền chức năng của protein và tính đặc hiệu của enzyme.

Nội dung tích hợp: Phân tích cấu trúc phân tử của enzyme Cas9.

Cấu trúc đa miền: Cas9 có 2 “lưỡi dao” (miền xúc tác nuclease) là RuvC và HNH. Mỗi miền chịu trách nhiệm cắt một mạch đơn của DNA, tạo nên vết cắt mạch kép hoàn chỉnh. Tương tác Protein - DNA: Cas9 phải nhận diện được trình tự PAM (Protospacer Adjacent Motif - thường là NGG) trên DNA trước khi nó cho phép sgRNA dò tìm mục tiêu.

Đây là cơ chế “khóa an toàn” phân tử. Hoạt động thảo luận: So sánh: So sánh Cas9 với Enzyme cắt giới hạn (Restriction Enzyme) truyền thống. Enzyme giới hạn: Chỉ cắt được trình tự cố định (ví dụ EcoRI chỉ cắt GAATTC) Củng nhắc.Cas9: Cắt được bất kỳ trình tự nào miễn là thay đổi đoạn sgRNA dẫn đường rightarrow Linh hoạt, “lập trình được”.

c. Minh họa cho “Hóa sinh xúc tác” (Catalytic Biochemistry)

Nội dung: Phân tích phản ứng thủy phân liên kết phosphodiester. Điểm nhấn: Enzyme Cas9 đóng vai trò xúc tác sinh học, làm giảm năng lượng hoạt hóa để phá vỡ liên kết cộng hóa trị bền vững trên khung xương sống của phân tử DNA.

Bài tập: Thiết kế “kéo” phân tử.

Đề bài: Giả sử bạn muốn vô hiệu hóa gen X có trình tự vùng mục tiêu như sau (mạch 5’ - 3’): 5’... A T G C C G T A G C T G G A A C T G G ...3’.

Yêu cầu SV: - Xác định vị trí PAM: Tìm trình tự NGG trong đoạn trên (Đáp án: TGG ở cuối); - Thiết kế sgRNA: Viết trình tự 20 nu của sgRNA sẽ bám vào đoạn trên.

Lưu ý cho SV: sgRNA phải bổ sung với mạch khuôn (mạch đối diện), tức là trình tự sgRNA sẽ tương tự mạch mã hóa (chỉ thay T bằng U).

Dự đoán: Nếu enzyme Cas9 cắt tại vị trí cách PAM 3 nucleotide về phía trước, vết cắt sẽ nằm giữa hai nucleotide nào?. Ý nghĩa: Bài tập này bắt buộc SV phải vận dụng kiến thức về cấu trúc DNA (mạch đôi, chiều, bổ sung) một cách chính xác tuyệt đối, tránh tình trạng học vẹt lý thuyết.

3.4.3. Giáo dục đạo đức sinh học

Sự phát triển của công nghệ sinh học hiện đại, đặc biệt là công nghệ chỉnh sửa gen CRISPR/Cas9 đã tạo ra bước ngoặt lớn trong khả năng can thiệp của con người vào sự sống. CRISPR/Cas9 là một hệ thống “kéo phân tử” có thể cắt ADN tại vị trí xác định với độ chính xác cao, mở ra tiềm năng to lớn trong nghiên cứu và ứng dụng sinh học. Tuy nhiên chính khả năng can thiệp sâu vào nền tảng di truyền của sinh vật này đã đặt ra những vấn đề đạo đức sinh học hết sức phức tạp, đòi hỏi sự cân nhắc cẩn trọng giữa lợi ích khoa học - kinh tế và trách nhiệm đối với sự sống, môi trường cũng như xã hội [2].

Từ góc độ thực tiễn, các nghiên cứu các nghiên cứu về chỉnh sửa gen ở cà chua; về lúa mì không mang gen ngoại lai hay về lợn kháng vi rút PRRS cho thấy công nghệ chỉnh sửa gen có thể mang lại những lợi ích rõ rệt: tăng năng suất cây trồng, cải thiện khả năng kháng bệnh, giảm sử dụng thuốc bảo vệ thực vật và kháng sinh, góp phần đảm bảo an ninh lương thực và bảo vệ sức khỏe cộng đồng. Ở Việt Nam công nghệ sinh học đang đóng vai trò ngày càng quan trọng trong tái cơ cấu ngành công nghiệp theo hướng hiện đại và bền vững. Dưới góc nhìn đạo đức sinh học, những lợi ích này tạo ra cơ sở chính đáng để con người tiếp tục nghiên cứu và ứng dụng công nghệ, bởi mục tiêu cuối cùng là nâng cao chất lượng cuộc sống và giảm thiểu rủi ro cho con người cũng như môi trường [1], [3], [7], [6].

Tuy nhiên, đạo đức sinh học không chỉ dừng lại ở việc nhìn nhận lợi ích mà còn phải phân tích sâu những nguy cơ tiềm ẩn của công nghệ sinh học vẫn đang được các nhà khoa học đánh giá. Một số tranh cãi vẫn còn đang được tiếp tục đối với sử dụng CRISPR/Cas9 để chỉnh sửa gen cho phôi người, chuyển gen bệnh từ người vào động vật tạo mô hình nghiên cứu bệnh, tìm kiếm thuốc mới, lập hồ sơ hệ gen người. Công nghệ DNA tái tổ hợp tạo ra các động vật, thực vật và vi sinh vật biến đổi gen có thể gây nguy cơ phát tán các nguồn gen ngoại lai, gen kháng kháng sinh,...vào hệ sinh thái tự nhiên. Cây trồng, vật nuôi GMO thích ứng tốt hơn với điều kiện chăn nuôi, trồng trọt của địa phương, kháng bệnh, kháng thuốc trừ sâu tốt hơn cũng có thể dẫn đến nguy cơ mất cân bằng sinh thái, tăng tốc độ tuyệt chủng của các loài bản địa. Bên cạnh đó, các nguy cơ của việc sử dụng thực phẩm từ cây trồng và vật nuôi chuyển gen có thể mang các chất trao đổi đặc biệt gây dị ứng, gây bệnh, thậm chí gây độc đối với người sử dụng. Công nghệ lên men vi sinh vật và các phương pháp cô đặc, tinh chế các chất có hoạt tính sinh học cũng có thể là tiền đề để tạo ra vũ khí sinh học từ các vi sinh vật gây bệnh, các chất trao đổi gây độc đối với con người [5].

Công nghệ gen là một công cụ vô cùng mạnh mẽ nhưng sức mạnh đó phải đi cùng với trách nhiệm. Một câu hỏi mang tính nền tảng của đạo đức sinh học là: Con người có quyền can thiệp vào sự sống đến mức nào? Khi việc chỉnh sửa gen ở thực vật và động vật ngày càng được chấp nhận, ranh giới với chỉnh sửa gen ở người trở nên nhạy cảm hơn bao giờ hết. Điều này đặt ra yêu cầu phải có chuẩn mực đạo đức và pháp lý chặt chẽ để ngăn chặn nguy cơ lạm dụng khoa học. Đạo đức sinh học còn gắn liền với vấn đề công bằng xã hội. Nếu công nghệ sinh học chỉ phụ thuộc lợi ích của các tập đoàn lớn, khiến nông dân nhỏ lẻ phụ thuộc vào hạt giống bản quyền hoặc làm gia tăng khoảng cách giàu nghèo thì công nghệ đó sẽ đi ngược lại giá trị nhân văn nó hướng tới. Vì vậy, việc xây dựng chính sách quản lý công bằng, đảm bảo quyền tiếp cận công nghệ cho nhóm đối tượng trong xã hội là một yêu cầu đạo đức quan trọng [4].

Nhận thức rõ được các nguy cơ tiềm ẩn của công nghệ sinh học cũng như các lợi ích to lớn mà công nghệ sinh học đem lại là nhiệm vụ của mỗi cán bộ nghiên cứu, mỗi người học môn công nghệ sinh

học để từ đó có ứng xử phù hợp trong nghiên cứu và trong xã hội; có thái độ tích cực đối với các chính sách phát triển công nghệ của nhà nước. Giáo viên giảng dạy các kiến thức, chuyên đề công nghệ sinh học cần cập nhật thường xuyên các thành tựu đổi mới hiện đại để có thể định hướng học tập, nghề nghiệp một cách phù hợp cho từng nhóm đối tượng. Sinh viên ngành sư phạm Khoa học tự nhiên tại các trường Đại học còn có nhiệm vụ tuyên truyền đúng đắn các hiểu biết về mặt tích cực và các nguy cơ tiềm ẩn của ngành công nghệ sinh học tới các em học sinh, sinh viên và người học [5].

4. Kết luận

Sự ra đời và hoàn thiện của công nghệ chỉnh sửa gen CRISPR/Cas9 không chỉ là một cột mốc chói lọi trong lịch sử sinh học phân tử mà còn đặt ra những yêu cầu cấp thiết đối với việc đổi mới giáo dục đại học. Qua phân tích cơ sở lý thuyết và tiềm năng ứng dụng, bài viết khẳng định việc tích hợp chuyên đề này vào chương trình đào tạo ngành Khoa học Tự nhiên tại Trường Đại học Tân Trào là hoàn toàn khả thi và mang lại giá trị sư phạm to lớn, cụ thể:

Xét về mặt chuyên môn, CRISPR/Cas9 là công cụ trực quan và hiệu quả nhất để minh họa cho các nguyên lý di truyền phức tạp. Thông qua phân tích cơ chế cắt và sửa chữa DNA của hệ thống này, SV không chỉ nắm bắt được kiến thức hàn lâm về cấu trúc gen, enzyme mà còn hiểu sâu sắc bản chất của các quá trình biến dị ở cấp độ phân tử. Đây là cầu nối quan trọng giúp thu hẹp khoảng cách giữa lý thuyết trong giáo trình và thực tiễn sinh động của khoa học thế giới.

Xét về mục tiêu đào tạo năng lực, việc tiếp cận công nghệ này giúp SV hình thành tư duy khoa học hiện đại và đa chiều. Các bài học về ứng dụng của CRISPR trong tạo giống cây trồng chịu hạn, chịu mặn hay vật nuôi kháng bệnh sẽ khơi dậy niềm đam mê nghiên cứu, định hướng nghề nghiệp rõ ràng cho SV trong bối cảnh nông nghiệp công nghệ cao đang là xu thế tất yếu. Đồng thời, những tranh luận về an toàn sinh học và pháp lý là cơ hội tuyệt vời để rèn luyện tư duy phản biện và đạo đức nghề nghiệp - những phẩm chất không thể thiếu của người làm khoa học.

Chú thích

(*) Nghiên cứu này được hỗ trợ bởi Trường Đại học Tân Trào, Tuyên Quang, Việt Nam.

Tài liệu tham khảo

- [1] Bộ Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn (2023). *Báo cáo tình hình ứng dụng công nghệ sinh học trong nông nghiệp tại Việt Nam*, Hà Nội.
- [2] Jinek, M., Chylinski, K., Fonfara, I., Hauer, M., Doudna, J. A., & Charpentier, E. (2012). *A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity*. Science, 337(6096), 816-821. <https://doi.org/10.1126/science.1225829>.
- [3] Li, T., Yang, X., Yu, Y., Si, X., Zhai, X., Zhang, H., Dong, W., Zhu, C., & Li, J. (2018). *Domestication of wild tomato is accelerated by genome editing*. Nature Biotechnology, 36(12), 1160-1163. <https://doi.org/10.1038/nbt.4273>.
- [4] Phạm Văn Toàn (chủ biên), Nguyễn Thị Hồng, Lê Văn Sơn (2020). *Giáo trình Công nghệ Gen và ứng dụng*. NXB Đại học Sư phạm, Hà Nội, tr. 12.
- [5] Trần Thị Thúy (chủ biên), Dương Minh Lam, Phan Duệ Thanh, Nguyễn Lai Thành, Đoàn Văn Thước (2025). *Giáo trình Cơ sở công nghệ sinh học*. NXB Đại học Sư phạm, Hà Nội, tr. 27-29.
- [6] Whitworth, K. M., Rowland, R. R., Ewen, C. L., Tribble, B. R., Kerrigan, M. A., Cino-Ozuna, A. G., Samuel, M. S., Lightner, J. E., McLaren, D. G., Mileham, A. J., Wells, K. D., & Prather, R. S. (2016). *Gene-edited pigs are protected from porcine reproductive and respiratory syndrome virus*. Nature Biotechnology, 34(1), 20-22. <https://doi.org/10.1038/nbt.3434>.
- [7] Zhang, Y., Liang, Z., Zong, Y., Wang, Y., Liu, J., Chen, K., Qiu, J.-L., & Gao, C. (2017). *Efficient and transgene-free genome editing in wheat through transient expression of CRISPR/Cas9 DNA or RNA*. Nature Communications, No 7, pp. 12617. <https://doi.org/10.1038/ncomms12617>.