

Chương 5

PHIÊN MÃ VÀ DỊCH MÃ

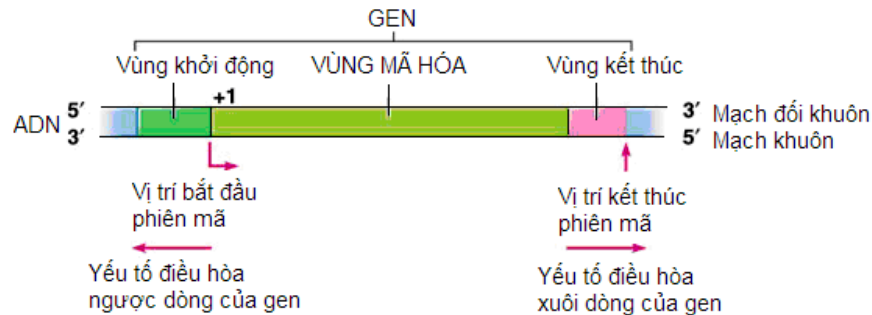
Nói đến gen tức là nói đến ADN và các quan hệ của nó với ARN và protein trong sơ đồ *Lý thuyết trung tâm* của Sinh học phân tử; trong đó các sợi đơn của ADN được dùng làm khuôn cho *tái bản* (replication). Mặt khác, các gen có thể làm khuôn cho sự tổng hợp các ARN trong quá trình *phiên mã* (transcription). Đến lượt, các phân tử ARN này lại làm khuôn cho sự tổng hợp các chuỗi polypeptide mà từ đó tạo thành các protein, gọi là *dịch mã* (translation). Phiên mã và dịch mã là hai giai đoạn chính trong sự biểu hiện của các gen mã hóa protein.

Trong chương này, chúng ta sẽ lần lượt tìm hiểu các vấn đề sau: (i) Quá trình phiên mã; (ii) Cấu trúc và chức năng của các loại ARN cơ bản trong tế bào; (iii) Quá trình dịch mã; và (iv) So sánh những điểm liên quan ở các tế bào prokaryote và eukaryote.

1. Phiên mã (Transcription)

1.1. Đặc điểm chung của phiên mã ở prokaryote và eukaryote

Phiên mã (transcription) là quá trình tổng hợp các ARN khác nhau từ thông tin di truyền chứa đựng trong ADN. Trừ các gen mã hóa protein trong các operon ở vi khuẩn, nói chung, các ARN mới được tổng hợp chỉ là các *bản sao sơ cấp* (primary transcript) gọi là các pre-ARN. Các pre-ARN này phải trải qua một quá trình sửa đổi để trở thành các ARN trưởng thành (mature) trước khi tham gia vào quá trình sinh tổng hợp protein của tế bào.



Hình 5.1. Cấu trúc chung của một gen hay đơn vị phiên mã.

Quá trình phiên mã (Hình 5.2) có các đặc điểm chung sau đây:

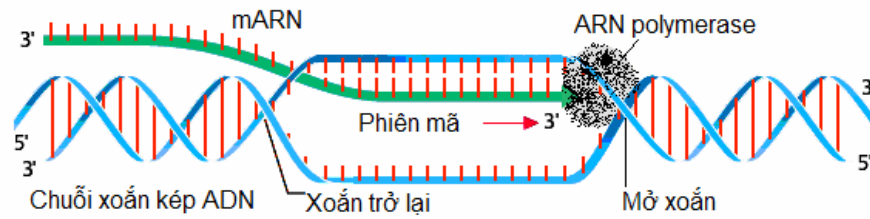
- Diễn ra dưới tác dụng của các enzyme *ARN polymerase*.
- Vùng ADN chứa gen được mở xoắn cục bộ, và chỉ một mạch đơn gọi là *mạch có nghĩa* (sense) được dùng làm *khuôn* (template) cho tổng hợp ARN.
- Phản ứng tổng hợp ARN diễn ra theo *nguyên tắc bổ sung* và được kéo dài theo chiều 5'→3', ngược với chiều của mạch khuôn như sau:

Mạch khuôn: 3'-A-T-G-C-5'

Mạch ARN: 5'-U-A-C-G-3'

- Nguyên liệu là 4 loại *ribonucleoside triphosphate*: ATP, UTP, GTP, CTP.
- Sản phẩm của phiên mã là các *ARN mạch đơn*.
- Sự khởi đầu và kết thúc phiên mã phụ thuộc vào các tín hiệu điều hoà là các trình tự ADN đặc thù nằm trước và sau gen được phiên mã.

(vii) Quá trình phiên mã có thể chia làm ba bước: *Mở đầu* là sự tương tác giữa ARN polymerase với vùng promoter nhằm xác định mạch khuôn của gen và tổng hợp vài nucleotide; *Kéo dài* là giai đoạn sinh trưởng tiếp tục của chuỗi ARN dọc theo mạch khuôn cho đến cuối gen; và *Kết thúc* phiên mã đặc trưng bằng sự giải phóng mạch ARN và ARN polymerase ra khỏi khuôn ADN.



Hình 5.2. Sự tổng hợp ARN trên mạch khuôn của gen (ADN) dưới tác dụng của ARN polymerase.

1.2. Phiên mã ở prokaryote

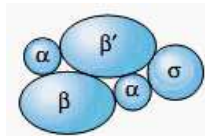
1.2.1. ARN polymerase ở prokaryote

Ở các prokaryote, đại diện là *E. coli*, ARN polymerase hoàn chỉnh (holoenzyme) là một protein có nhiều tiểu đơn vị, gồm hai phần chính là yếu tố sigma (σ) và lõi enzyme. Yếu tố sigma (sigma factor) giúp cho ARN polymerase nhận biết và bám chặt vào promoter để có thể bắt đầu phiên mã tại vị trí chính xác, và lõi enzyme (polymerase core) đóng vai trò chính trong tổng hợp mạch ARN. Tất cả các lớp ARN ở *E. coli* đều được phiên mã bởi chỉ một ARN polymerase.

Sau đây là một số đặc tính hoạt động của ARN polymerase của *E. coli* (Bảng 5.1; Hình 5.3):

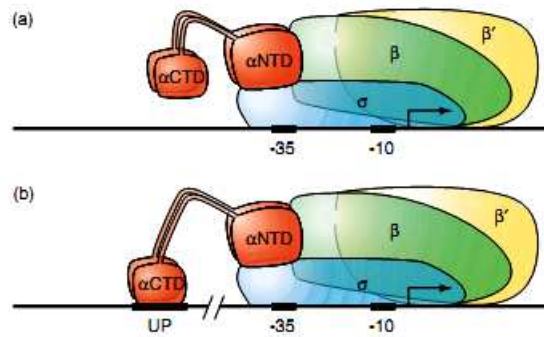
Bảng 5.1. Các thành phần cấu trúc của ARN polymerase prokaryote

Tiểu đơn vị	Số lượng	Vai trò
α	2	dùng để kết hợp holoenzyme ARN polymerase
β	1	hình thành liên kết phosphodiester
β'	1	bám khuôn ADN
σ	1	nhận biết promoter và khởi đầu phiên mã
$\alpha_2\beta\beta'\sigma \leftrightarrow \alpha_2\beta\beta' + \sigma$		
Holoenzyme = Lõi enzyme + Yếu tố sigma		



(i) Khi bám vào promoter, ARN polymerase gây tháo xoắn ít nhất 10 bp, nhưng có lẽ là khoảng 17 bp ở vùng lân cận điểm bắt đầu phiên mã.

(ii) Búp phiên mã lan tỏa cùng với ARN polymerase làm lộ ra mạch khuôn vì vậy nó có thể được phiên mã. Thực tế, ARN polymerase của *E. coli* mở rộng ít nhất từ vị trí -44 đến +3 trong phức hợp mở của promoter.



Hình 5.3. Mô hình chức năng của vùng đầu cuối C (C-terminal domain = CTD) của tiểu đơn vị α ARN polymerase. (a) Trong lõi promoter, α CTD không được sử dụng, nhưng (b) trong một promoter có yếu tố UP, thì α CTD tiếp xúc với yếu tố UP. Lưu ý hai tiểu đơn vị α được mô tả: một cái nằm khuất sau cái kia.

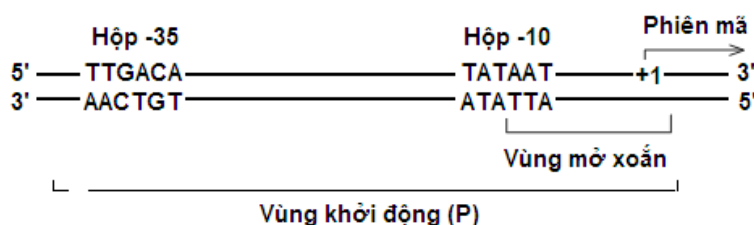
(iii) Tiểu đơn vị α của ARN polymerase có một vùng chức năng đầu C (C-terminal domain = CTD) uốn gập một cách độc lập sao cho có thể nhận biết và bám vào yếu tố điều hòa ngược dòng của promoter gọi là UP. Điều này cho phép sự tương tác chặt giữa polymerase và promoter.

(iv) Tiểu đơn vị α dùng để kết hợp holoenzyme ARN polymerase. Và điều này gây ra sự kết hợp các gốc chức năng ở vùng đầu mút N của α (α -NTD; N-terminal domain). Các điểm tiếp xúc giữa α -NTD và các tiểu đơn vị β và β' nằm trên các phía đối diện của dimer α -NTD so với các vùng đầu cuối C của dimer. (v) Tiểu đơn vị β lõi bám vào các nucleotide tại vị trí hoạt động của ARN polymerase nơi mà các liên kết phosphodiester được hình thành. Yếu tố σ cũng gần kề vị trí bám nucleotide, ít nhất trong pha khởi đầu.

1.3. Các promoter ở prokaryote

Các vùng khởi động (promoter) nói chung nằm kề trước gen và có chứa các đoạn trình tự đặc thù cho phép ARN polymerase nhận biết và bám chặt vào để khởi đầu phiên mã tại vị trí chính xác trên mạch khuôn của gen. Các promoter của các operon ở vi khuẩn nói chung có cấu trúc khá tương đồng. Đoạn trình tự quan trọng nhất của promoter được gọi là *hộp TATA* (TATA box) hay *hộp Pribnow* (Pribnow box). Đó là trình tự TATAAT nằm ở vị trí "-10" (Hình 5.4). Ngoài ra, trong các promoter vi khuẩn còn có trình tự TTGACA ở gần vị trí "-30", gọi là *đoạn nhận biết* (recognition sequence). Đối với các gen mã hóa protein eukaryote, nằm phía trước điểm bắt đầu phiên mã chừng 75 nucleotide có trình tự GGCCAAATCT, thường được gọi là *hộp CCAAT* (CCAAT box) - đọc là "hộp cat"; nó đóng vai trò điều hòa tốc độ phiên mã (Hình 5.4).

* *Lưu ý:* Tất cả các trình tự tín hiệu đều được quy ước trên mạch đối khuôn của gen, vì chúng có trình tự giống với ARN được tổng hợp (chỉ khác là bazơ T trong gen được thay bởi U trong ARN). Các ký hiệu dấu '-' và '+' chỉ các vị trí trước và sau vị trí bắt đầu phiên mã, còn gọi là các yếu tố ngược dòng (*upstream*) và xuôi dòng (*downstream*).

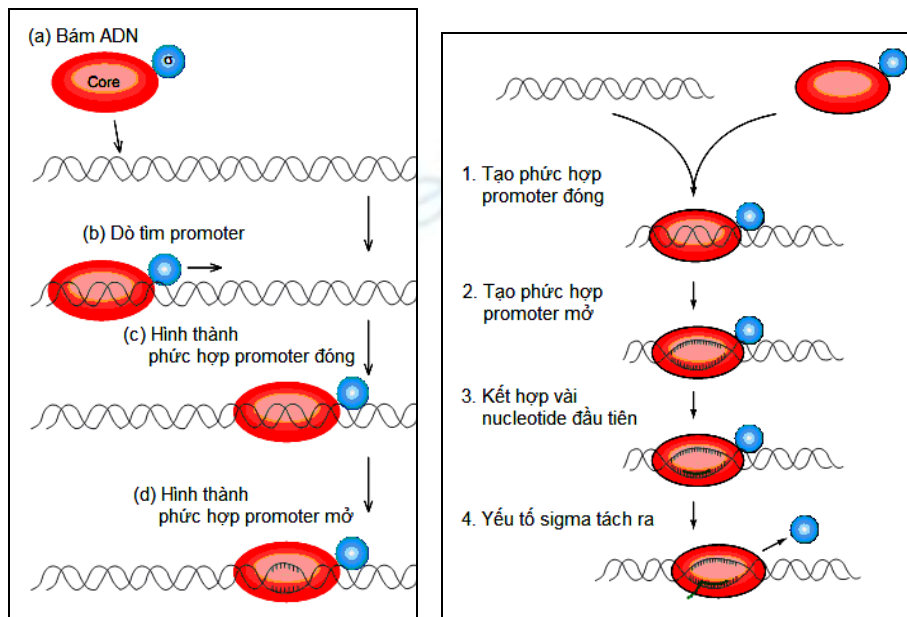


Hình 5.4. Mô hình cấu trúc vùng khởi động (promoter) của *E. coli*.

1.4. Các giai đoạn của quá trình phiên mã ở *E. coli*

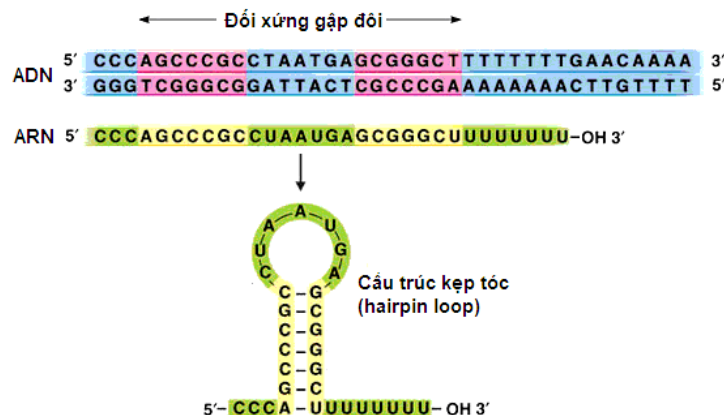
- *Giai đoạn bám và khởi đầu*: Trước tiên, enzyme ARN polymerase hoàn chỉnh (holoenzyme) nhận biết và bám chặt vào promoter sẽ tháo xoắn một vùng có kích thước khoảng 12-17 cặp bazơ. Tổng hợp ARN thường được khởi đầu bằng nucleotide đầu tiên là ATP hoặc GTP. Sau khi holoenzyme ARN polymerase tổng hợp được một vài nucleotide, nhân tố sigma tách ra để đi vào một chu kỳ phiên mã khác, gọi là *chu kỳ sigma* (sigma cycle) (Hình 5.5).

- *Giai đoạn kéo dài*: Enzyme lõi tiến hành kéo dài chuỗi ARN theo chiều 5'→3' dọc theo mạch khuôn có chiều ngược lại. ARN polymerase lõi tiến đến đâu thì ADN được mở xoắn và phiên mã đến đấy; và vùng ADN đã được phiên mã đóng xoắn trở lại.

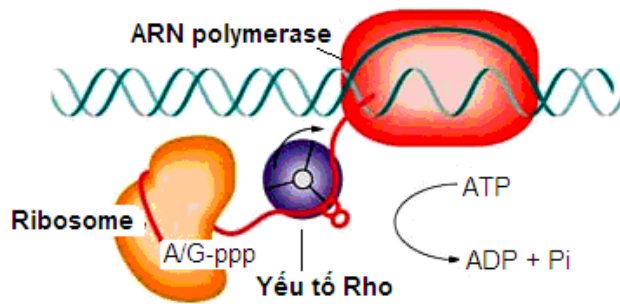


Hình 5.5. ARN polymerase bám promoter (trái) và các giai đoạn khởi đầu phiên mã ở *E. coli*.

- *Giai đoạn kết thúc*: Khi quá trình phiên mã tổng hợp xong hai đoạn kết thúc giàu GC và AT nằm đằng sau gen thì tại vùng đuôi mạch ARN hình thành cấu trúc "kẹp tóc" làm dừng sự phiên mã của lõi ARN polymerase. Việc kết thúc một số bản sao ARN cần tới yếu tố *rho* (ρ) có bản chất protein, khiến cho mạch ARN vừa được tổng hợp và enzyme lõi được giải phóng ra khỏi ADN khuôn (Hình 5.6 và 5.7).



Hình 5.6. Mô hình cấu trúc vùng kết thúc phiên mã (terminator) của prokaryote



Hình 5.7. Phiên mã ở *E. coli*, với sự hình thành cấu trúc “kẹp tóc” và tham gia của yếu tố Rho ở giai đoạn kết thúc phiên mã. Lưu ý, ở vi khuẩn sự dịch mã mRNA được bắt đầu trong khi phiên mã đang còn tiếp diễn.

1.5. Phiên mã và sửa đổi ARN sau phiên mã ở eukaryote

1.5.1. Các ARN polymerase ở eukaryote

Ở các eukaryote, có ba loại ARN polymerase I, II và III với sự phân bố và chức năng chuyên hóa khác nhau đối với bộ gen trong nhân, như sau: *ARN polymerase I* ở trong hạch nhân (nucleolus) phiên mã phức hợp gen rARN cho sản phẩm gồm các rARN 18S, 28S và 5,8S; *ARN polymerase II* có trong dịch nhân (nucleoplasm) phiên mã các gen mã hóa protein cho sản phẩm là các hARN - tiền chất của các mARN và cả gen cho các kiểu snARN; *ARN polymerase III* có trong dịch nhân phiên mã các gen tARN, rARN 5S, và cả snARN U6. Ngoài ra, ARN polymerase ở ty thể chịu trách nhiệm tổng hợp tất cả các ARN của ty thể (Bảng 5.2).

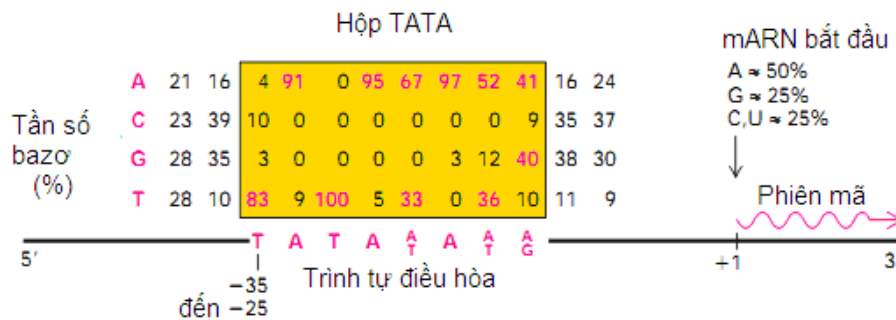
Bảng 5.2. Các ARN polymerase ở eukaryote

Polymerase	Định khu	Sản phẩm
ARN polymerase I	hạch nhân	các rARN 18S, 28S và 5,8S
ARN polymerase II	dịch nhân	các mARN, snARN (và snARN U1, U2, U3, U4, U5)
ARN polymerase III	dịch nhân	các tARN, rARN 5S, (và snARN U6, rARN 7S hay 7SL)
ARN polymerase ty thể	ty thể	tất cả các ARN của ty thể

1.5.2. Các promoter ở eukaryote

Các vùng khởi động (promoter) nói chung nằm kề trước gen và có chứa các đoạn trình tự đặc thù cho phép ARN polymerase nhận biết và bám chặt vào để khởi đầu phiên mã tại vị trí chính xác trên mạch khuôn của gen. Vấn đề này tương đối phức tạp ở các eukaryote, vì vậy ở đây ta chỉ xét các promoter của các gen mã hóa protein mà không đề cập các loại promoter của các gen mã hóa các ARN khác.

Các promoter của các gen mã hóa protein eukaryote và của operon vi khuẩn nói chung có cấu trúc khá tương đồng nhau. Nếu như *hộp TATA* ở vi khuẩn, có trình tự TATAAT nằm ở vị trí “-10” thì đối với các gen mã hóa protein của eukaryote, đó là trình tự TATAAA nằm gần vị trí “-30” (Hình 5.8) và nó đặc trưng riêng cho các ARN polymerase II.



Hình 5.8. Cấu trúc vùng khởi động (promoter) của eukaryote.

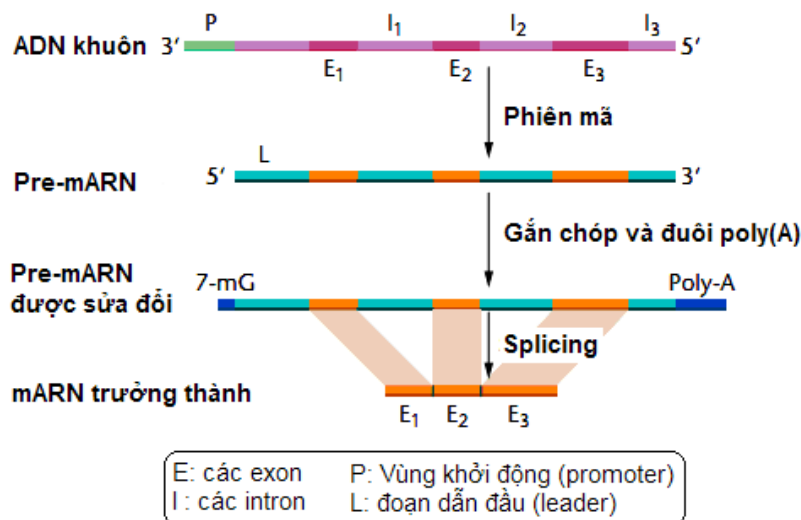
Nói chung, các vùng này được bảo tồn cao và đặc thù cho từng loại ARN polymerase nhất định, được gọi là các *trình tự điều hòa* (consensus sequences). Các đột biến thay thế bazơ tại các hộp TATA, nghĩa là làm cho nó bớt giống với trình tự được bảo tồn (ví dụ, TATAAT → TGTAAT) do đó sẽ làm yếu khả năng phiên mã của promoter (*down mutation*). Ngược lại, các đột biến làm cho các trình tự promoter trở nên giống với các trình tự điều hòa (ví dụ, TATCTT → TATAAT), sẽ làm mạnh khả năng phiên mã của promoter (*up mutation*).

1.5.3. Sửa đổi sau phiên mã đối với sản phẩm của các gen phân đoạn

Để trở thành các phân tử mRNA trưởng thành có khả năng tham gia vào quá trình dịch mã trong tế bào chất, tất cả các bản sao mARN (pre-mRNA) của các gen mã hóa protein ở tế bào eukaryote đều phải trải qua quá trình sửa đổi ARN sau phiên mã ở trong nhân (RNA processing). Sau đó các phân tử mARN đi ra tế bào chất để tham gia vào quá trình dịch mã. Hai sự kiện sửa đổi chính yếu đối với bản sao mARN, đó là:

- Gắn thêm chóp m⁷Gppp và đuôi poly(A); và
- Cắt bỏ các intron và nối các exon hay còn gọi là splicing.

Các chóp 5' và đuôi poly(A) này có tác dụng bảo vệ mARN khỏi bị phân cắt bởi các enzyme trong tế bào chất (Hình 5.9). Về chi tiết, xem ở chương 6.



Hình 5.9. Các bước tổng quát của quá trình phiên mã và sửa đổi sau phiên mã đối với bản sao pre-mARN của các gen phân đoạn: (1) Lắp chóp 5'-m⁷Gppp cùng lúc phiên mã; (2) Gắn đuôi poly(A); và (3) Splicing – loại bỏ các intron và nối các exon.

2. Cấu trúc và chức năng của các ARN

Trên nguyên tắc, các ARN được cấu tạo từ các đơn phân là các *ribonucleotide*; các ribonucleotide này nối kết với nhau bằng các liên kết 3',5'-phosphodiester tạo thành các chuỗi *polyribonucleotide* - cấu trúc sơ cấp của các phân tử ARN (Chương 1). Đường pentose đặc trưng của ARN là ribose, còn thành phần bazơ, ngoài bốn loại cơ bản adenine (A), uracil (U), guanine (G) và cytosine (C), còn phát hiện khá nhiều dạng bazơ hiếm có mặt chủ yếu trong các tARN.

Có ba loại phân tử ARN cơ bản tham gia vào quá trình sinh tổng hợp protein của các tế bào, đó là: *ARN thông tin* (messenger RNA = mRNA), *ARN vận chuyển* (transfer RNA = tRNA), và *ARN ribosome* (ribosomal RNA = rRNA).

Nói chung, các phân tử ARN có kích thước bé hơn các phân tử ADN ở bất kỳ sinh vật cụ thể nào. Các phân tử ARN có thể là mạch đơn hoặc mạch kép, mạch thẳng hoặc mạch vòng nhưng phổ biến là dạng mạch đơn, thẳng (nhưng không thấy có các phân tử ARN mạch kép, vòng nào được mô tả). Loại ARN có hàm lượng cao nhất trong các tế bào là rARN.

Ở Bảng 5.3 cho thấy hàm lượng tương đối (%) và kích thước (trọng lượng phân tử và số nucleotide) của các phân tử ARN ở vi khuẩn *E. coli*.

Bảng 5.3. Các phân tử ARN ở *E. coli*

Loại ARN		Chức năng	(%)	TLPT	Số nucleotide
mARN		Mã hoá các protein	5	Biến thiên	Biến thiên
tARN		Mang axit amin	15	$2,5.10^1$	~ 75
rARN	5S	Thành phần ribosome	80	$3,6.10^1$	120
	16S	Thành phần ribosome		$0,55.10^3$	1542
	23S	Thành phần ribosome		$1,2.10^3$	2904

Ngoài ba loại ARN chính (rARN, tARN và mARN) có mặt trong các tế bào prokaryote và eukaryote, các tế bào eukaryote còn có các loại ARN khác, như: (i) *ARN dị nhân*, hnARN (heterogenous nuclear RNA) với kích thước sai biệt rất lớn, chúng là tiền thân của các mARN trưởng thành sau này; (ii) các *ARN nhân kích thước bé*, snARN (small nuclear RNA), với các loại như U1 → U10... trong đó sáu loại đầu có vai trò quan trọng trong xử lý pre-mARN của các gen phân đoạn; và (iii) *ARN tế bào chất*, scARN (small cytoplasmic RNA) 7SL cần cho tổng hợp các protein chế tiết và bám vào màng; và một vài ARN khác nữa được giới thiệu ở Bảng 5.4.

Bảng 5.4. Các lớp ARN chức năng chính và phụ trong các tế bào.

Loại ARN	Chức năng
<i>1. Các lớp chính</i>	
mARN	ARN được phiên mã từ các gen mã hoá protein, mang thông tin cho dịch mã. Một số bản sao tương tự mARN không được dịch mã, ví dụ XIST, H19 do cơ chế in dấu bộ gen bố mẹ (parental imprinting).
hnARN (heterogenous)	mARN trước khi cắt-nối. Đó là các bản sao chưa được sửa đổi của các gen eukaryote; sở dĩ gọi như

nuclear)	vậy bởi vì tính đa dạng lớn về kích thước của nó so với tARN và rARN.
tARN	Phân tử thích ứng thực hiện việc dịch mã. tARN cũng làm môi cho tái bản ADN trong sự tái bản của các retrovirus.
rARN	Thành phần cấu trúc chính của các ribosome, cần cho quá trình tổng hợp protein của tế bào.
2. Các lớp phụ	
iARN (initiator)	Các trình tự ARN ngắn được dùng làm môi cho sự tổng hợp ADN ở mạch ra chậm.
snARN (small nuclear) hay U-RNA (uridine-rich)	Các phân tử ARN trọng lượng phân tử thấp phát hiện được trong dịch nhân, là thành phần của các enzyme cắt bỏ các intron và các phản ứng xử lý (processing) khác; chúng chứa nhiều gốc uridine được sửa đổi.
snoARN (small nucleolar)	Các phân tử ARN trọng lượng phân tử thấp phát hiện được trong hạch nhân, có thể tham gia vào quá trình xử lý rARN (ARN processing).
scARN (small cytoplasmic)	Các phân tử ARN trọng lượng phân tử thấp phát hiện được trong tế bào chất với các chức năng khác nhau. Ví dụ ARN 7S thành phần của tiểu phần nhận biết tín hiệu và <i>pARN</i> (prosomal), một ARN bé kết hợp với khoảng 20 protein và được bọc gói với mARN trong <i>mRNP</i> hay <i>thể thông tin</i> vốn có tác dụng điều hoà sự biểu hiện của gen.
ARN của telomerase	Một ARN nhân có chứa khuôn cho các đoạn lặp <i>telomere</i> và là thành phần của enzyme <i>telomerase</i> .
gARN (guide RNA)	Một loại ARN được tổng hợp trong các roi động ở <i>Trypanosoma</i> ; nó cung cấp khuôn cho <i>biên tập ARN</i> .
ARN antisense	<i>ARN ngược nghĩa</i> bổ sung với mARN và có thể tạo thành một mạch đôi với nó để kìm hãm việc tổng hợp protein. Nó có trong nhiều hệ thống, nhưng rất phổ biến ở vi khuẩn; và cũng gọi là <i>ARN bổ sung gây nhiễu mARN</i> .
Ribozyme	Các phân tử ARN mà có thể xúc tác cho các phản ứng hoá học, các <i>enzyme chứa ARN</i> . Thông thường nó có hoạt tính tự xúc tác (các <i>intron tự cắt</i>), nhưng một ribonuclease P là một chất xúc tác đích thực (ví dụ <i>xử lý tARN</i>). Các ARN khác hoạt động hài hoà với các protein, ví dụ MRP endonuclease trong tái bản

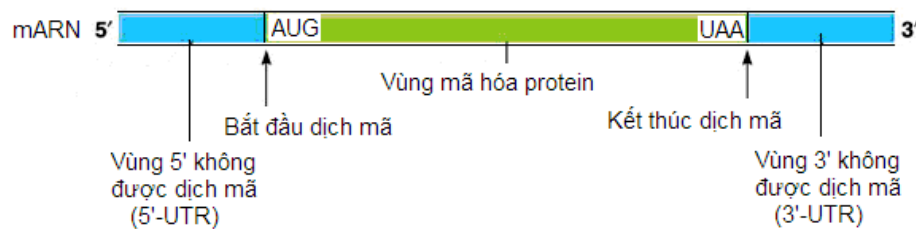
(i) *Vùng dẫn đầu* (5'UTR) không được dịch mã nhưng có cấu trúc cần thiết cho sự bám vào của tiểu đơn vị ribosome bé (Hình 5.10).

(ii) *Vùng mã hoá* (coding region) nằm kế sau vùng 5'-UTR; nó mang thông tin cấu trúc của một chuỗi polypeptide, nếu là mARN của eukaryote (monocistronic) hoặc mang thông tin của nhiều polypeptide khác nhau và cách nhau bởi các đoạn đệm không được dịch mã, nếu là mARN prokaryote (polycistronic).

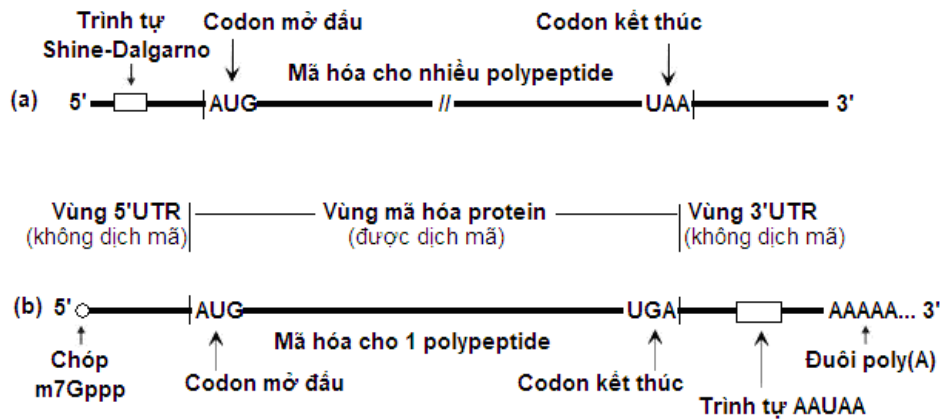
(iii) *Vùng kéo sau* (3'-UTR) nằm ở đuôi mARN, không được dịch mã.

2.1. ARN thông tin (mARN)

Các mARN là loại ARN quan trọng nhất được dùng làm khuôn trực tiếp cho quá trình tổng hợp polypeptide trong tế bào chất. Nhìn chung, các mARN có cấu trúc mạch thẳng, với kích thước khác nhau và đều có ba phần chính như sau:



Hình 5.10. Cấu trúc chung của mARN.



Hình 5.11. Cấu trúc của mARN prokaryote (a) và mARN eukaryote (b).

Ở Hình 5.11 cho thấy những điểm khác nhau trong cấu trúc của các mARN ở prokaryote và eukaryote, cho thấy cấu trúc “mũ” đặc trưng có mặt ở đầu 5' của tất cả các mARN trưởng thành ở eukaryote.

Trong nhân các tế bào eukaryote có các ARN nhân kích thước lớn và sai khác nhau rất lớn gọi là hnARN (*heterogenous nuclear RNA*) vốn là tiền thân của các mARN, các ARN nhân kích thước bé snARN (*small nuclear RNA*) có mặt trong thành phần của các enzyme splicing, và các ARN tế bào chất kích thước bé scARN (*small cytoplasmic RNA*).

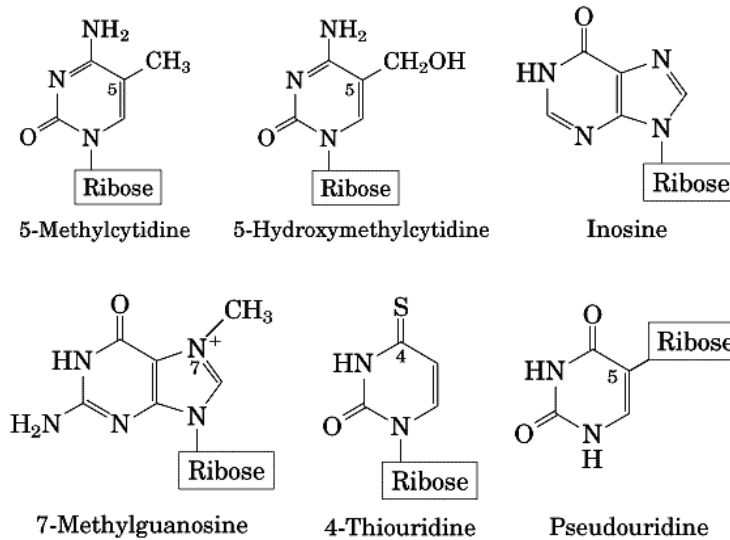
Trong các tế bào động vật có vú, một vài loại mARN thì hết sức phong phú, trong khi đó hầu như mức độ phức tạp của mARN (số lượng loại mARN khác nhau) được đại diện bởi các mARN hiếm. Một điểm cần chú ý là sự biểu hiện của một gen tỷ lệ với độ phong phú của loại ARN tương

ứng (một gen biểu hiện càng mạnh khi số bản sao của nó trong tế bào càng lớn).

2.2. Các ARN vận chuyển (tARN)

Mỗi phân tử tARN có hai chức năng chính là mang axit amin đã được hoạt hoá và đi đến phức hệ “ribosome-mARN” để tiến hành việc đọc dịch mã cho một codon cụ thể của mARN.

Trong thành phần nucleotide của các tARN có khá nhiều bazơ chuẩn bị biến đổi thành các bazơ sửa đổi nhờ hoạt động xúc tác của các enzyme sau phiên mã. Các bazơ này (còn gọi là các bazơ hiếm) tập trung chủ yếu ở các vòng thân (stem loops) như: 5',6'-dihydrouridine (DHU), inosine (I), ribothymidine (T), pseudouridine (Ψ) v.v. (Hình 5.12).



Hình 5.12. Các bazơ hiếm có mặt trong ARN, chủ yếu là các tARN.

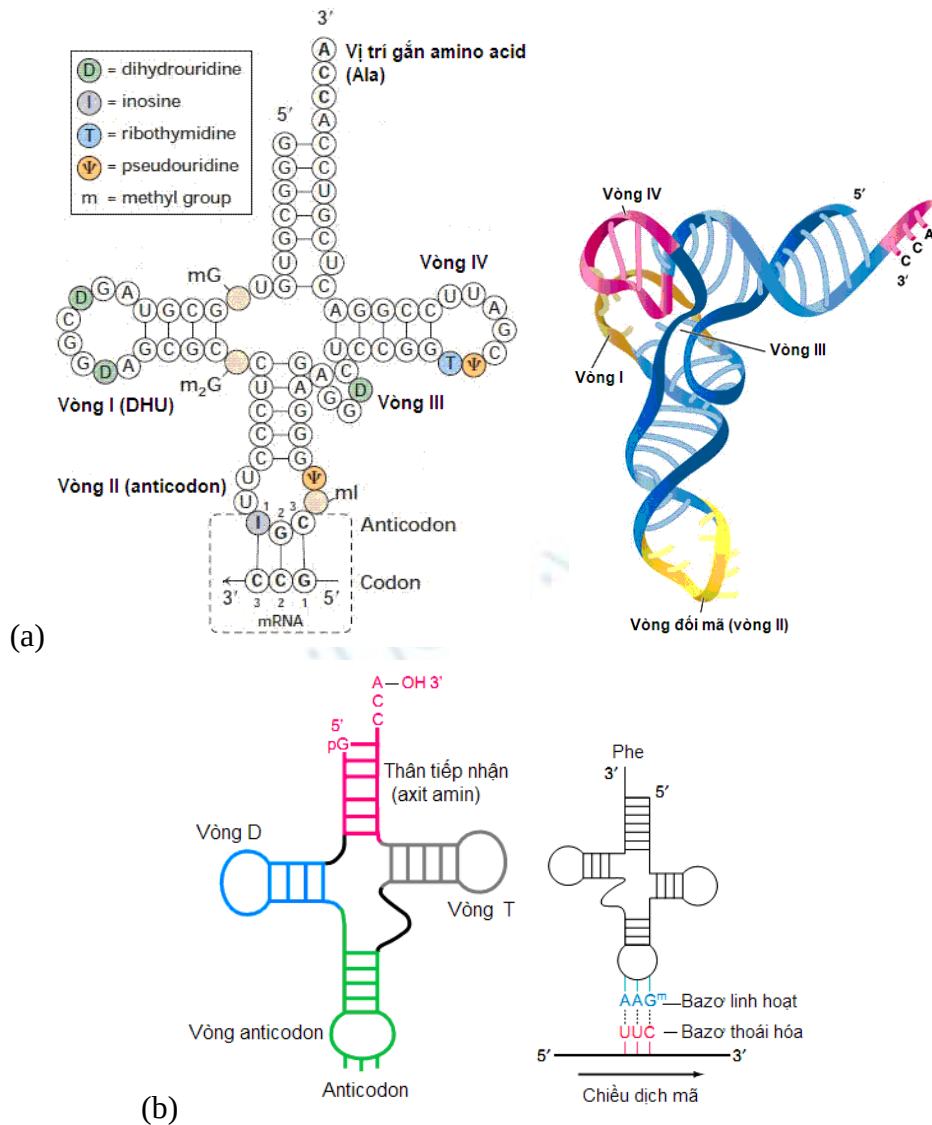
Mỗi tế bào có chừng 45-50 phân tử tARN khác nhau. Hầu hết các tARN có khoảng 75-80 nucleotide với *cấu trúc bậc hai* mở rộng do các tương tác cặp bazơ (A-U và G-C) ở một số đoạn của chúng (Hình 5.13) cũng như *cấu trúc bậc ba*. Đây là kiểu cấu trúc “lá ba thùy” gọn nhẹ, vững chắc phù hợp với các chức năng khác nhau của các tARN.

Nói chung, các phân tử tARN thường rất giống nhau ở nhiều đoạn và khác nhau chủ yếu ở *bộ ba đối mã* (anticodon). Lưu ý rằng, bazơ hiếm Inosine (I) có mặt ở vị trí 5' của anticodon trong một số phân tử tARN có thể kết cặp linh hoạt với C, U hoặc A ở vị trí 3' của các codon trong mARN.

Mỗi tARN thường có 3-4 vòng trên thân (tính từ đầu 5') với chức năng khác nhau như sau (Hình 5.13):

- (i) vòng I - DHU nhận biết aminoacyl-tARN synthetase;
- (ii) vòng II - anticodon đọc mã trên mARN bằng sự kết cặp anticodon-codon (theo nguyên tắc bổ nhưng có sự linh hoạt; chương 3);
- (iii) vòng III - phụ (extra loop) có thể không có ở một số tARN;
- (iv) vòng IV - TΨC nhận biết ribosome để đi vào đúng vị trí tiếp nhận aminoacyl-tARN (vị trí A).

Và cuối cùng, *đoạn mạch thẳng* -CCA ở đầu 3' là vị trí gắn vào của axit amin đã được hoạt hoá để tạo thành các aminoacyl-tARN.

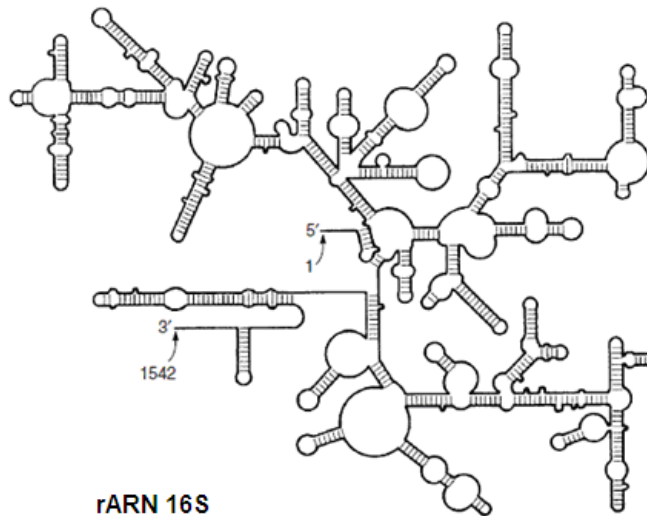


Hình 5.13. (a) Cấu trúc bậc hai (trái) và bậc ba của tARN-Ala. (b) Một sơ đồ hóa khác về cấu trúc của tARN (trái) và hoạt động dịch mã trên mRNA theo nguyên tắc bổ sung – ngược chiều giữa anticodon và codon.

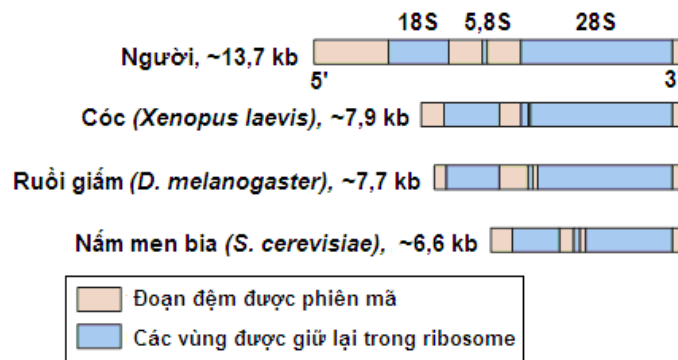
2.3. ARN ribosome (rARN) và ribosome

Các rARN cùng với các protein đặc thù là những thành phần cấu trúc nên các ribosome là “nhà máy” tổng hợp protein của tế bào.

Ở vi khuẩn có 3 loại rARN có các hệ số lắng là 23S, 16S (Hình 5.14) và 5S, với số lượng nucleotide tương ứng là 2904, 1542 và 120 (Bảng 5.5). Ở tế bào eukaryote có 4 loại rARN với các hệ số lắng là 28S, 18S, 5,8S và 5S (Hình 5.15). Riêng các tế bào thực vật còn có các rARN được mã hoá bởi ADN lập thể (chloroplast DNA = cpDNA).



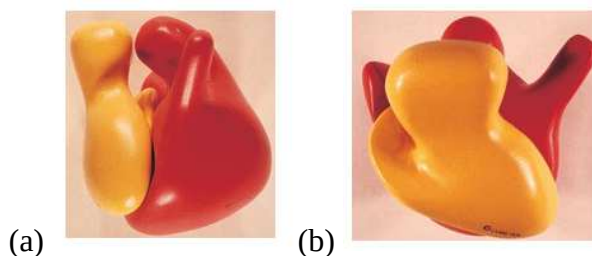
Hình 5.14. Cấu trúc bậc hai của rARN 16S.

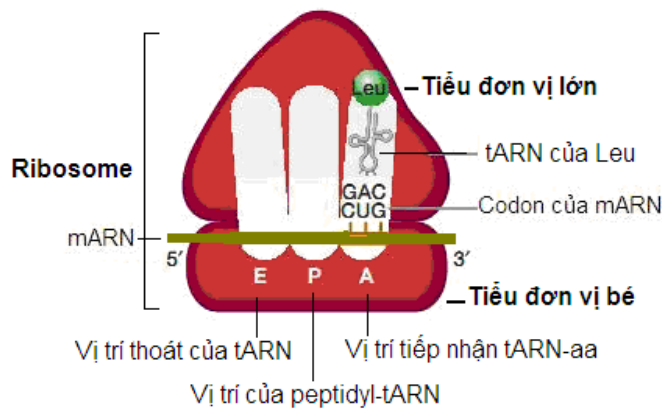


Hình 5.15. Cấu trúc tổng quát các đơn vị phiên mã của pre-rARN ở các eukaryote. Ba vùng mã hóa (màu xanh) mã hóa các rARN 18S, 5.8S và 28S phát hiện được trong các ribosome của các eukaryote bậc cao hoặc một số loài tương đương với chúng. Thứ tự các vùng mã hóa trong các bộ gen này luôn luôn theo chiều 5'→3'. Sự thay đổi về độ dài các đoạn đệm được phiên mã (vàng nhạt) nói lên sự sai khác trong chiều dài của các đơn vị phiên mã (transcription unit) của pre-rARN ở các sinh vật khác nhau.

Mỗi ribosome hoàn chỉnh có hai *tiểu đơn vị bé* và *lớn*. Hai tiểu đơn vị này chỉ kết hợp với nhau tạo ra một ribosome hoạt động khi quá trình dịch mã trên mARN thực sự bắt đầu. Tiểu đơn vị bé bám vào mARN trước tiên trong dịch mã. Tiểu đơn vị lớn chứa hai vị trí: vị trí A là nơi bám vào của aminoacyl-tARN và vị trí P là chỗ dừng tạm của peptidyl-tARN. Trong tiểu đơn vị lớn có chứa *peptidyl transferase*. Enzyme này có chức năng tách gốc peptidyl ra khỏi tARN của nó (ở vị trí P) và nối với aminoacyl-tARN (ở vị trí A) bằng một liên kết peptide làm cho chuỗi polypeptide sinh trưởng dài ra theo chiều N→C.

Các hợp phần cấu tạo nên các ribosome của prokaryote và eukaryote được trình bày ở Bảng 5.5 và Hình 5.16.





(c)

Hình 5.16. Cấu trúc ribosome của E. coli. (a) Ribosome 70S nhìn từ mặt bên với tiểu phần 30S particle (màu vàng) và tiểu phần 50S (đỏ) đang dính với nhau. (b) Ribosome 70S xoay một góc 90 độ so với hình (a). [Nguồn: J. Lake (1976), J. Mol. Biol. 105; p.155, fig.14]. (c) Sơ đồ các vị trí hoạt động của một ribosome.

3. Dịch mã (Translation)

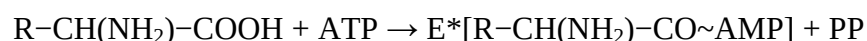
Dịch mã (translation) hay tổng hợp protein là một quá trình sinh học quan trọng diễn ra trong tế bào chất, và phụ thuộc vào nhiều yếu tố; quan trọng nhất là các mARN, tARN và ribosome. mARN mang thông tin quy định trình tự kết hợp các axit amin vào chuỗi polypeptide, mà việc dịch mã mARN được thực hiện bởi các aminoacyl-tARN, còn ribosome đóng vai trò ổn định việc kết hợp giữa mARN với các tARN (Hình 5.18). Quá trình này được chia làm hai giai đoạn dưới đây.

Bảng 5.5. Thành phần cấu tạo của ribosome ở Prokaryote và Eukaryote

	Vi khuẩn	Tế bào động vật có vú
RIBOSOME	70S	80S
Đường kính	18-20 nm	20-22 nm
Tiểu đơn vị lớn	50S	60S
rARN	23S (2904 nt) 5S (120 nt)	28S (4.718 nt) 5,8S (160 nt) 5S (120 nt)
Protein	34 phân tử	~50 phân tử
Tiểu đơn vị bé	30S	40S
rARN	16S (1.542 nt)	18S (1.874 nt)
Protein	21 phân tử	~35 phân tử

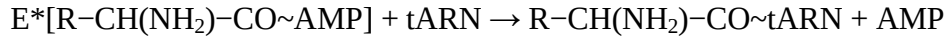
3.1. Hoạt hoá axit amin

Quá trình này diễn ra trong bào tương tạo nguồn các tARN mang các axit amin sẵn sàng tham gia dịch mã. Mỗi axit amin được đính vào tARN thích hợp nhờ một enzyme *aminoacyl-tARN synthetase* đặc thù. Trước tiên, enzyme này (E) xúc tác cho phản ứng ATP hoạt hoá axit amin, với sự có mặt của Mg^{2+} , tạo ra phức hợp [aminoacyl-AMP + E]. (Hình 5.17)



Tiếp theo, cũng dưới tác dụng của enzyme đó, phức hợp này kết hợp với tARN thích hợp

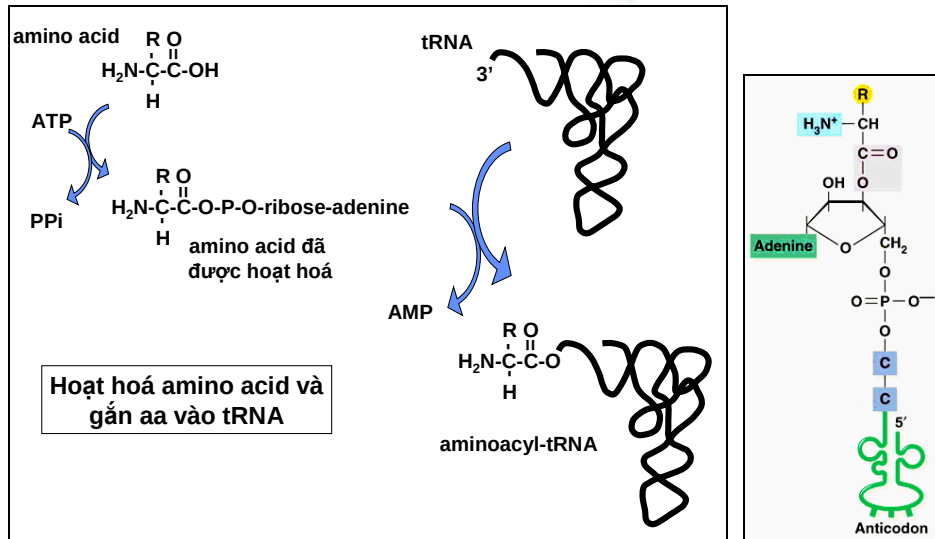
bằng liên kết đồng hoá trị để tạo ra *aminoacyl-tARN*.



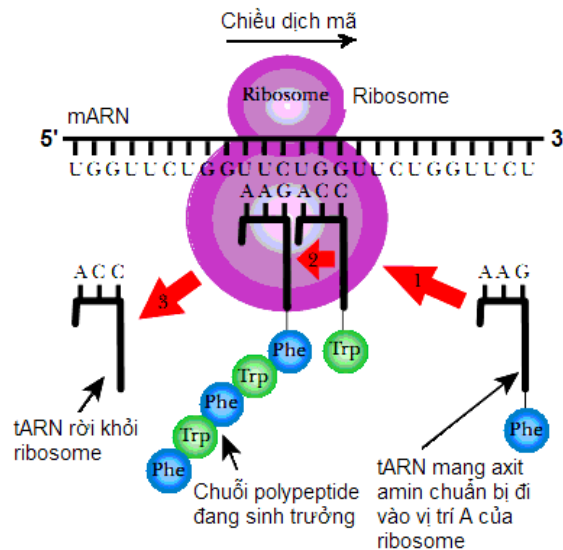
3.2. Cơ chế dịch mã (tổng hợp chuỗi polypeptide)

Bước 1: Mở đầu (initiation)

Quá trình dịch mã bắt đầu khi một tiểu đơn vị ribosome bé bám vào mARN tại vị trí của codon khởi đầu AUG. Lúc này một phân tử tARN khởi đầu đặc thù mang methionine (ở vi khuẩn là formyl-Met; cấu trúc của Met và f-Met được giới thiệu dưới đây) đi vào và khớp anticodon của nó với codon mở đầu của mARN. Kế đó, tiểu đơn vị ribosome lớn bám vào tiểu đơn vị bé tạo ra một ribosome hoạt động hoàn chỉnh. Lúc này Met-tARN ở vị trí P và vị trí A để trống; một tARN thứ hai (aa₂- tARN) đi vào vị trí A và khớp với codon thứ hai (Hình 5.20).



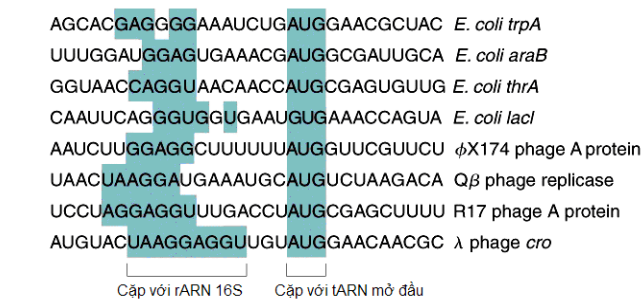
Hình 5.17. Sự hoạt hoá axit amin và gắn axit amin đã hoạt hoá vào tARN.



Hình 5.18. Một ribosome đang tham gia dịch mã trên mARN cùng với các tARN mang các axit amin tương ứng.

Ở *E. coli*, bước này có sự tham gia của các yếu tố mở đầu (IF-1, IF-2 và IF-3), GTP và đặc biệt là, sự tương tác giữa trình tự Shine-Dalgarno giàu purine ở vùng 5'-UTR của mARN với trình tự bổ sung của rARN 16S có mặt trong tiểu đơn vị ribosome bé (R30S). Nhờ đó R30S có thể bám

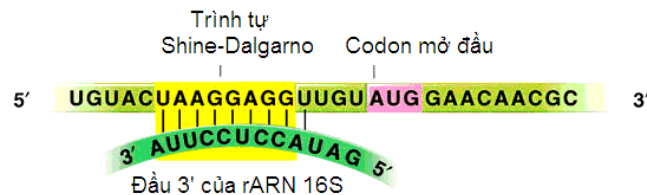
vào mARN, nhận biết codon mở đầu AUG để có thể bắt đầu quá trình dịch mã tại vị trí chính xác (Hình 5.19).



(a) Trình tự ở đầu 3' của rARN 16S



(b) Ví dụ đoạn dẫn đầu 5'-UTR của mARN và cặp với rARN 16S



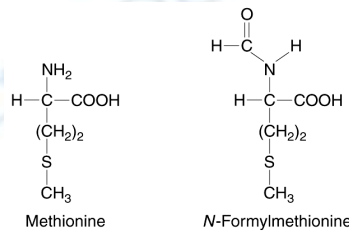
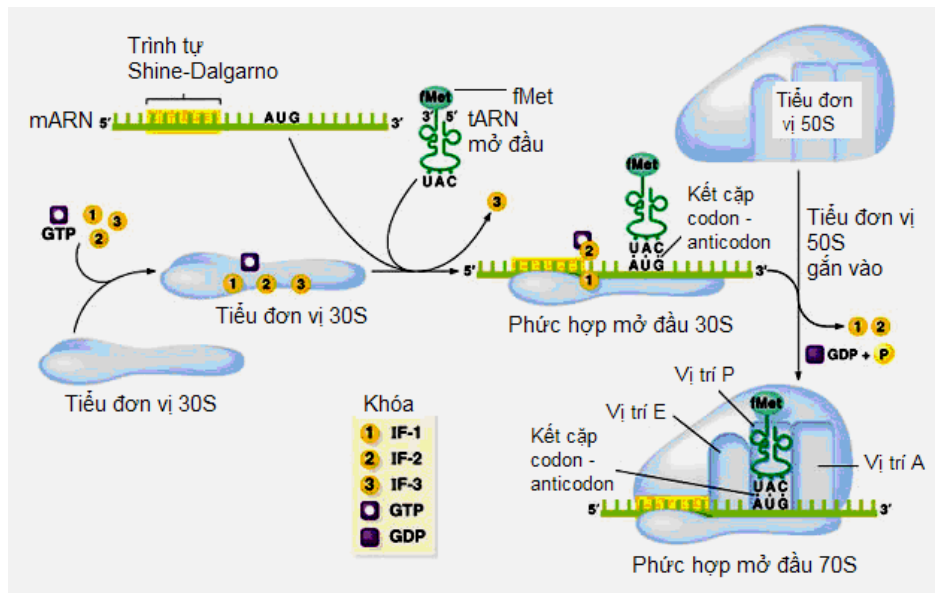
Hình 5.19. Mở đầu dịch mã ở tế bào *E. coli* (trên) và trình tự Shine-Dalgarno ở vùng 5'UTR của *E. coli* và các phage của chúng.

Bước 2: Kéo dài (*elongation*)

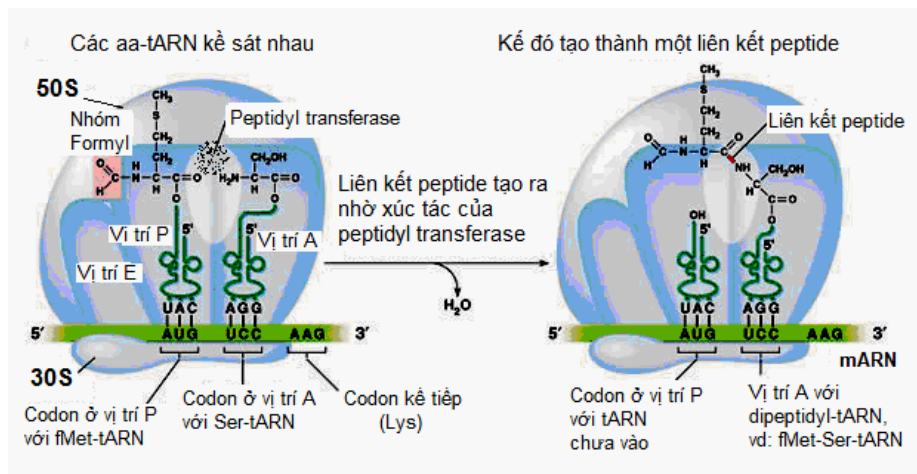
Quá trình kéo dài bắt đầu sau khi liên kết peptide đầu tiên được hình thành. Phản ứng này được xúc tác bởi enzyme *peptidyl transferase*, và kết quả là tạo ra một peptidyl-tARN ở vị trí A (fMet-aa₂-tARN). Sau đó, ribosome lập tức chuyển dịch sang một codon mới dọc theo mARN theo chiều 5'→3'. Phản ứng này đẩy phân tử tARN tự do vốn ở vị trí P ra ngoài; lúc này peptidyl-tARN (fMet-aa₂-tARN) nằm ở vị trí P và vị trí A lại để trống. Một chu kỳ dịch mã mới lại bắt đầu, một aminoacyl-tARN thứ ba (aa₃-tARN) đi vào và khớp anticodon của nó với codon đang để trống ở vị trí A, một liên kết peptid thứ hai được hình thành (fMet-aa₂-aa₃-tARN), và ribosome lại dịch chuyển sang codon kế tiếp. Quá trình nói trên diễn ra một cách tuần tự dọc theo mARN theo chu kỳ ba bước nói trên, và làm cho chuỗi polypeptide dài dần ra cho đến dịch mã xong codon có nghĩa cuối cùng (Hình 5.21).

Bước 3: Kết thúc (*termination*)

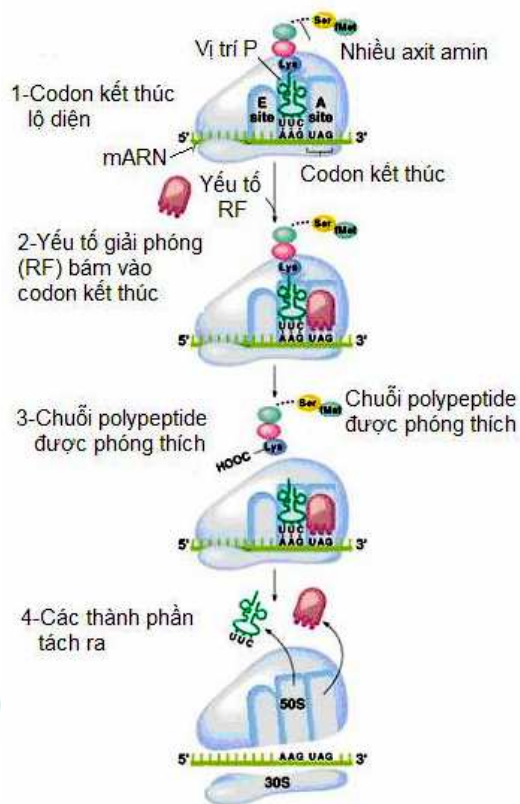
Quá trình tổng hợp chuỗi polypeptide sẽ dừng lại khi một codon kết thúc được đưa đối diện với vị trí A để trống, vốn được nhận biết bởi một protein kết thúc gọi là *nhân tố giải phóng* RF (release factor). Sự có mặt của nó cùng với transferase cắt rời chuỗi polypeptide ra khỏi tARN cuối cùng và phóng thích hai tiểu đơn vị ribosome cũng như chuỗi polypeptide và tARN ra khỏi mARN (Hình 5.22).



Hình 5.20. Mở đầu dịch mã ở tế bào *E. coli*. Hình dưới phân biệt cấu tạo của N-formylmethionine - axit amin Met đã được sửa đổi để chỉ chuyên làm nhiệm vụ mở đầu cho quá trình dịch mã ở tế bào vi khuẩn (nó được nhận biết và mang bởi một loại tARN mở đầu gọi là $\text{tRNA}_i^{\text{fMet}}$) với loại Methionine bình thường.



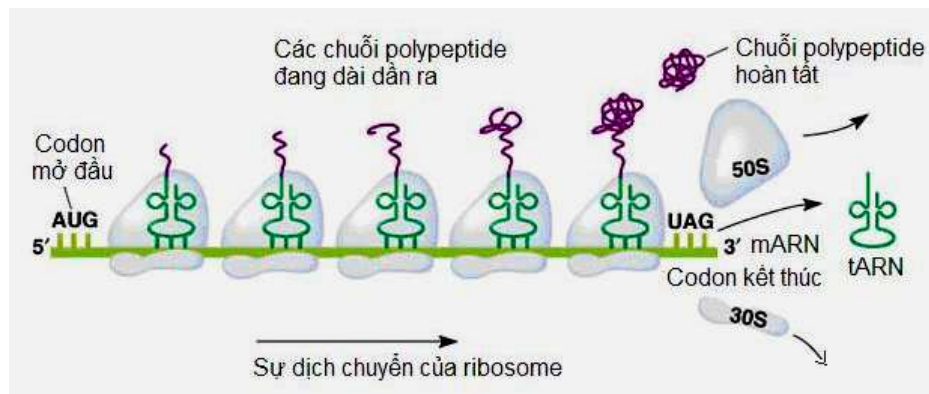
Hình 5.21. Quá trình tổng hợp kéo dài chuỗi polypeptide.



Hình 5.22. Quá trình kết thúc tổng hợp chuỗi polypeptide.

4. Những điểm khác biệt trong phiên mã và dịch mã ở prokaryote và eukaryote

(1) Trên đây mới chỉ phân tích hoạt động của một ribosome trên mRNA. Thực ra, trên một mRNA có rất nhiều ribosome cùng hoạt động, gọi là polyribosome hay *polysome*, tạo ra nhiều polypeptide giống nhau.



Hình 5.23. Nhiều ribosome (polysome) nối đuôi nhau trượt qua mRNA để tổng hợp hàng loạt polypeptide trên một phân tử mRNA.

(2) Trên nguyên tắc, axit amin mở đầu sẽ được cắt bỏ khỏi chuỗi polypeptide (sau khi tổng hợp được vài axit amin như trong trường hợp các vi khuẩn) hoặc trước khi chuỗi được tổng hợp đầy đủ (như ở trường hợp eukaryote). Tuy nhiên, ở các eukaryote không phải lúc nào axit amin mở đầu này cũng bị tách bỏ, mà trong một số protein nó vẫn được giữ lại.

(3) Sau khi được tổng hợp, các chuỗi polypeptide sơ cấp này sẽ được sửa đổi và chuyển sang các bậc cấu trúc cao hơn theo cách đặc thù để trở thành các protein hoạt động chức năng.

(4) Tham gia vào các bước mở đầu, kéo dài và kết thúc còn có các yếu tố protein, với tên gọi tương ứng là các *nhân tố mở đầu* (IF: initiation factor), *nhân tố kéo dài* (EF: elongation factor; gồm EF-Tu và EF-G), và *nhân tố giải phóng* (release factor) với GTP và các ion Mg^{2+} , K^{+} và NH_4^{+} .

(5) Trong các tế bào prokaryote, do không có màng nhân và các mARN đa cistron vốn dĩ không phải qua sửa đổi sau phiên mã, cho nên các ribosome và các aminoacyl-tARN sẽ bám vào đầu 5' của mARN để bắt đầu quá trình dịch mã ngay trong khi ở đầu 3' của nó quá trình phiên mã đang còn tiếp diễn. Ngược lại, ở các tế bào eukaryote vì có màng nhân phân cách và các pre-mARN còn phải trải qua các công đoạn sửa đổi phức tạp sau phiên mã (tất cả đều diễn ra trong nhân), còn dịch mã diễn ra sau đó ở trong tế bào chất. Vì thế cho nên phiên mã và dịch mã rõ ràng là hai quá trình tách biệt nhau cả về cả không gian lẫn thời gian.

TÓM TẮT

(1) Phiên mã và dịch mã là hai giai đoạn chính trong sự biểu hiện của các gen mã hóa protein ở các tế bào. Phiên mã là quá trình tổng hợp các ARN từ mạch khuôn của các gen cấu trúc, xảy ra dưới tác dụng của các ARN polymerase theo nguyên tắc bổ sung và ngược chiều với mạch khuôn của gen. Còn quá trình tổng hợp protein diễn ra tại các ribosome trong tế bào chất trên khuôn của mARN, với sự tham gia của các tARN...

(2) Trong khi sự phiên mã tất cả các gen trong bộ gen ở sinh vật nhân sơ chỉ do 1 loại ARN polymerase đảm nhận, thì ở các tế bào sinh vật nhân chuẩn có tới 3 loại ARN polymerase I, II và III chịu trách nhiệm tổng hợp các loại ARN khác nhau của tế bào. Promoter là cơ chất tác động chính của các ARN polymerase, chúng có các trình tự bảo tồn cao độ - gọi là hộp TATA.

(3) Trong mọi tế bào đều có ba loại phân tử ARN tham gia vào quá trình tổng hợp protein: mARN, tARN và rARN. Ở các tế bào nhân chuẩn còn có nhiều loại ARN khác nữa thực hiện các chức năng khác nhau.

(4) Tổng hợp protein là quá trình phức tạp có sự tham gia của nhiều yếu tố, trong đó quan trọng nhất là các mARN, tARN và ribosome cũng như các enzyme và nguồn năng lượng cần thiết. Kết quả là tổng hợp ra các phân tử protein tham gia vào mọi hoạt động sống cơ sở của tế bào.

CÂU HỎI VÀ BÀI TẬP

81. Trong quá trình dịch mã, ribosome dịch chuyển trên mARN ngay sau khi khớp bổ sung giữa anticodon và codon.

(a) Đúng. (b) Sai.

82. Về mặt tổ chức, mARN trưởng thành của prokaryote khác biệt một cách căn bản với mARN của eukaryote chủ yếu ở vùng nào?

A. Vùng khởi động. B. Vùng mã hoá protein.
C. Vùng theo sau hay 3'-UTR. D. Vùng dẫn đầu hay 5'-UTR.

83. Phiên mã là quá trình tổng hợp các ARN theo chiều _____ dưới tác dụng của ARN polymerase hoạt động dọc theo mạch khuôn có chiều _____.

A. 5' đến 3'; 5' đến 3'. B. 5' đến 3'; 3' đến 5'.
C. 3' đến 5'; 5' đến 3'. D. 3' đến 5'; 3' đến 5'.

84. Phát biểu nào sau đây về các gen mã hoá các histone là **không** đúng?

- A. Đứng sau các gen không có trình tự AATAAA.
- B. Các mARN trưởng thành không có đuôi poly(A).
- C. Các mARN của chúng không có chóp m⁷Gppp.
- D. Không có quá trình cắt-nối (splicing) sau phiên mã.

85. Sự đọc mã trên mARN diễn ra trung thực là do

- A. peptidyl transferase.
- B. đoạn -CCA (3').
- C. aminoacyl~tARN synthetase.
- D. anticodon của tARN.

86. Phân tích cấu trúc và tổ chức của một gen điển hình cho bộ gen các sinh vật nhân chuẩn và vẽ một sơ đồ minh họa.

87. Một đoạn trình tự bazơ ở *mạch đối khuôn* của một gen mã hóa protein như sau: 5'-AACGTATTCAACTCA-3'. Hãy cho biết: (a) Trình tự bazơ của ARNm và trình tự axit amin tương ứng. (b) Đoạn polypeptid sẽ như thế nào nếu một đột biến đồng hoán xảy ra đối với nucleotid G trên mạch này?

88. Một đoạn trình tự của gen được cho như sau:

Mạch 1: 5'-AAATCGATTGGCACA-3'

Mạch 2: 3'-TTTAGCTAACCGTGT-5'

Hãy cho biết trình tự bazơ của ARNm (5'→3') và trình tự axit amin của peptide khi: (a) mạch 1 là mạch khuôn, và (b) mạch 2 là khuôn.

89. Giả sử một ARNm có trình tự mã hóa protein như sau:

5'-AUG-UUC-AUU-GAA-GGC-AUC-AAC-GGU-UAA-3'

Hãy xác định trình tự nucleotide của gen và trình tự axit amin của protein.

90. (a) Hàm lượng GC của ADN phage T3 là 53%. Bạn sẽ kỳ vọng hàm lượng G+C của mARN T3 ra sao? (b) Nếu cho trước hàm lượng purin của ADN T3 và không biết mạch nào được sao mã, bạn có thể dự đoán hàm lượng purin của mARN T3? Tại sao, hoặc tại sao không?

91. Phân tích ngắn gọn vai trò của các yếu tố tham gia vào quá trình sinh tổng hợp protein ở tế bào chất.

92. Anh (chị) hãy làm sáng tỏ nhận định sau: Khác với các tế bào tiền nhân, sự phiên mã và dịch mã ở các tế bào nhân chuẩn là các quá trình gián đoạn, tách biệt nhau cả về không gian lẫn thời gian.

93. Phân tích sự tương tác giữa ba thành phần chính là mARN, các aminoacyl~ARNt và ribosome để làm nổi bật vai trò quan trọng của chúng trong cơ chế tổng hợp chuỗi polypeptit.

94. Hãy chỉ ra những đặc điểm giống và khác nhau trong cấu trúc của các mARN trưởng thành của các tế bào prokaryote và eukaryote.

95. Nêu những điểm chính trong sửa đổi sau phiên mã đối với sản phẩm phiên mã sơ cấp của các gen phân đoạn và vai trò của các intron.

96. Phân tích sự phù hợp giữa cấu trúc và chức năng của các mARN.

97. Phân tích sự phù hợp giữa cấu trúc và chức năng của các tARN.

- 98.** Có những loại rARN nào trong các tế bào prokaryote và eukaryote? Chúng đóng vai trò gì trong tế bào?
- 99.** Hãy cho biết sự giống nhau và khác nhau trong thành phần cấu tạo của các ribosome ở các tế bào prokaryote và eukaryote.
- 100.** Dưới đây là sơ đồ của một ADN sợi kép được sao mã.

1. _____
2. _____
3. 

Sợi 1 là sợi không làm khuôn. Sợi 3 là ARN sinh ra. Hãy đánh dấu các đầu 5' và 3' của ARN và sợi không làm khuôn, và của sợi khuôn.

Tailieu.vn