

MÃ DI TRUYỀN VÀ SỰ DỊCH MÃ

I. Vai trò của ba loại RNA

- 1. mRNA
- 2. tRNA
- 3. rRNA

II. Mã di truyền

III. Quá trình sinh tổng hợp Protein

- 1. Khởi đầu
- 2. Kéo dài
- 3. Kết thúc

IV. Đột biến và sự biểu hiện

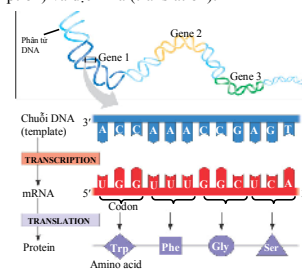
Dòng chảy thông tin di truyền

- Thông tin di truyền được chứa trong DNA là các trình tự nucleotide sắp xếp trên chuỗi DNA.



Gene

- Trong suốt quá trình phiên mã (transcription)
 - gene được xác định dựa vào trình tự các base dọc theo chiều dài của phân tử mRNA.
 - Gen biểu hiện thành protein thông qua con đường phiên mã (transcription) và dịch mã (translation).



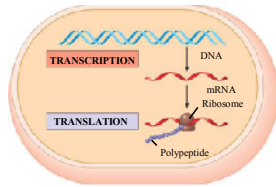
Sự biểu hiện của gen

- DNA là vật liệu di truyền của sự sống
- Quá trình chuyển thông tin di truyền từ DNA sang protein còn gọi là quá trình biểu hiện của gen
- Bao gồm 2 bước, được gọi là phiên mã (transcription) và dịch mã (translation).

- Transcription
 - Là quá trình tổng hợp RNA với khuôn là DNA
 - Tạo ra messenger RNA (mRNA)
- Translation
 - Là quá trình tổng hợp chuỗi polypeptide, xảy ra dưới sự điều khiển của mRNA
 - Xảy ra trên ribosome.

Prokaryote

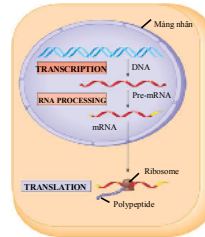
- Phiên mã và dịch xảy ra gần như đồng thời



(a) Tế bào Prokaryote. Tế bào không có màng nhân, mRNA được tổng hợp bởi quá trình transcription thì ngay lập tức được translation mà không thông qua quá trình chế biến.

Eukaryote

- RNA transcript được biến đổi trước khi trở thành mRNA trưởng thành
- RNA được phiên mã trong nhân, mRNA được dịch mã ở tế bào chất



(b) Tế bào Eukaryote. Quá trình transcription xảy ra trong nhân được ngăn cách bởi màng nhân. Khi RNA mới được phiên mã, gọi là pre-mRNA, sau khi qua chế biến mRNA được gọi là trưởng thành hay mRNA thật sự và rời nhân.

I. Vai trò của ba loại RNA

- mRNA
- tRNA
- rRNA

RNA thông tin (mRNA)

mRNA là bản sao của những trình tự nhất định trên DNA, đóng vai trò trung gian chuyển thông tin mã hóa trên phân tử DNA đến bộ máy giải mã thành protein tương ứng.

mRNA được tạo ra nhờ quá trình phiên mã khi có nhu cầu; và do đó nó sẽ mã hóa cho các protein đặc hiệu cho tế bào.

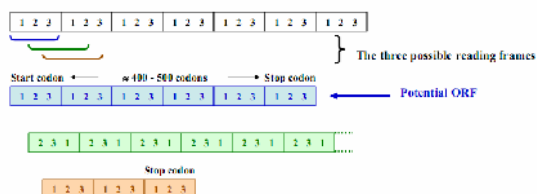
mRNA ở tế bào eukaryote sau khi được dịch mã sẽ được xử lý (processing) trước khi rời nhân đi ra tế bào chất là nơi xảy ra quá trình dịch mã

ở Prokaryote quá trình dịch mã diễn ra gần như đồng thời cùng với quá trình phiên mã



mRNA

Khung đọc mở ORF



RNA ribosom (rRNA)

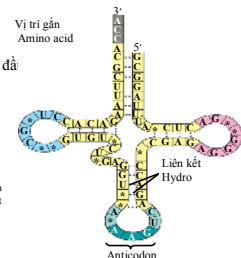
- RNA ribosom chiếm đến 80% tổng số RNA tế bào
- Các RNA kết hợp với các protein chuyên biệt tạo thành Ribosom.
- Một Ribosom gồm một tiểu đơn vị nhỏ và một tiểu đơn vị lớn. Mỗi tiểu đơn vị gồm nhiều protein và rRNA có kích thước khác nhau
- Tiểu đơn vị nhỏ có vị trí gắn với phân tử mRNA. Tiểu đơn vị lớn có ba vị trí gắn cho phân tử tRNA, vị trí P, vị trí A và vị trí E (Exit site). Trong suốt quá trình sinh tổng hợp protein hai tiểu phần này gắn với nhau.

RNA vận chuyển (tRNA)

- Hầu hết các phân tử tRNA của prokaryote và eukaryote có cấu trúc rất giống nhau.
- Dây đơn RNA gấp khúc tạo thành vòng (loop), cho ra một phân tử có cấu trúc bậc hai trên thân chính.
 - Thân (stem) hoặc nhánh (arm) là vùng chứa các cặp base nối với nhau, tương ứng theo mã di truyền.
 - Ở các loop không có sự bắt cặp giữa các base

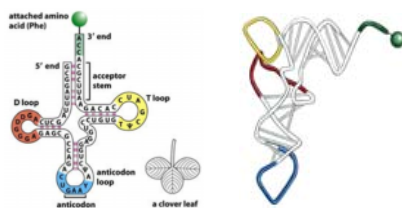
Cấu trúc RNA vận chuyển

- Phân tử tRNA
- Là một chuỗi RNA mạch đơn có chiều dài khoảng 80 nucleotide
 - Có hình L
 - Mỗi tRNA mang một amino acid đặc hiệu với dâ
 - Mỗi tRNA mang một anticodon ở đầu khác



(a) Cấu trúc thứ cấp. Tất cả tRNA có bốn vùng base bấp cạp bổ sung và ba vùng loop, amino acid được gắn vào đầu 3' của tRNA. Anticodon triplet đặc trưng cho mỗi loại tRNA.

Cấu trúc tRNA



II. Mã di truyền

Mã di truyền

- Có bao nhiêu base tương ứng với một amino acid?
- Codon (bộ ba mã hóa) : Thông tin di truyền được mã hóa bằng những bộ ba base (base triplets) không chồng lấp lên nhau, hay còn gọi là codon.

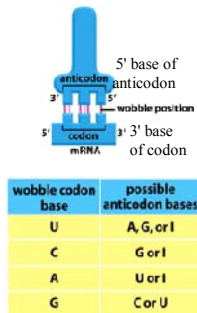
Bảng mã di truyền

- Một codon trong RNA thông tin tương ứng với một amino acid hoặc là tín hiệu ngừng phiên mã

		Base mRNA thứ 2			
		U	C	A	G
Base mRNA thứ 1 (5' end)	U	UUU Phe UUC UUA UUG	UCU Phe UCC UCA UCG	UAU Tyr UAC UAA Stop UAG Stop	UGU Cys UGC UGA Stop UGG Trp
	C	CUU Leu CUC CUA CUG	CCU Leu CCC CCA CCG	CAU His CAC CAA CAG	CGU Arg CGC CGA CGG
	A	AUU Ile AUC AUA AUG Met or start	ACU Ile ACC ACA ACG	AAU Asn AAC AAA AAG	AGU Ser AGC AGA AGG
	G	GUU Val GUC GUA GUG	GCU Val GCC GCA GCG	GAU Asp GAC GAA GAG	GGU Gly GGC GGA GGG
		Base mRNA thứ 3 (3' end)			
		U	C	A	G

Anticodon và giả thuyết rung (Wobble)

- Crick đã đề ra giả thuyết rung, giả thuyết này đã giải thích được nhiều nhược điểm.
- Khi codon và anticodon tương tác, sự bắt cặp đầu tiên xảy ra ở những base đầu của 5' codon, và đầu 3' anticodon, những base ở giữa bắt cặp tiếp theo đó, và cuối cùng là hai base ở vị trí số ba, 3' của codon và 5' của anticodon. Hai cặp đầu có tính chất rất chuyên biệt, base ở đuôi 5' của anticodon có thể rung, dao động. Base này có thể tạo cầu nối hydrogen với nhiều hơn một loại base ở đuôi 3' của RNA codon.
- Ví dụ: anticodon Arg 3'-UCU-5', base Uracil ở 5' gọi là vị trí rung, ở vị trí này, Uracil có thể bắt cặp với cả hai loại base Adenin hoặc Guanine của một codon, cụ thể là hai codon 5'-AGA-3' hoặc 5'-AGG-3'.

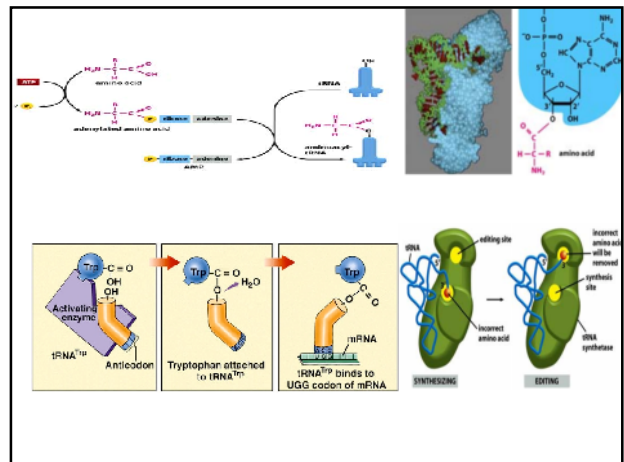


tRNA Charging

- Các Aminoacyl-tRNA synthetase gắn các amino acid vào các tRNA chuyên biệt với chúng
- Quá trình này hoàn thành thông qua hai bước phản ứng:
 - Khởi đầu là quá trình hoạt hóa amino acid với AMP có nguồn gốc từ ATP
 - Bước thứ hai, năng lượng từ aminoacyl-AMP được sử dụng để chuyển amino acid tới tRNA

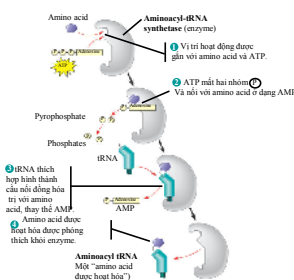
Hoạt hóa amino acid

- Có hai bước để hoạt hóa amino acid nhờ enzyme aa-tRNA synthetase
- Nhận ra tRNA nhờ vào việc xác định trình tự base của anticodon và các vùng khác những vùng này được gọi là vùng xác định.
- Một aminoacyl tRNA synthetase có thể nạp được nhiều lần tRNA cùng họ với một loại amino acid (20 synthetase khác nhau được sử dụng).
- Aminoacyl tRNA synthetase có thể sửa chữa các amino acid nạp sai.



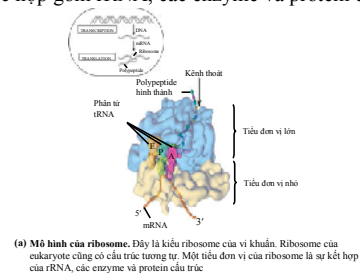
Aminoacyl-tRNA synthetase

- Một enzyme đặc hiệu gọi là aminoacyl-tRNA synthetase gắn các amino acid đúng với tRNA chuyên biệt



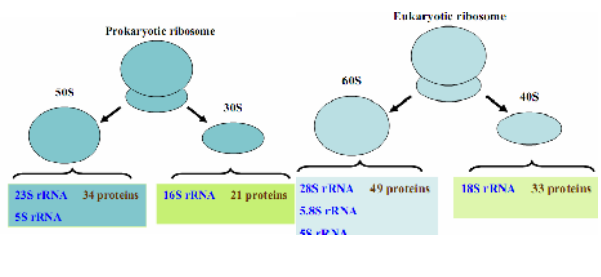
Ribosome

- Quá trình dịch mã thực hiện trên các ribosome
- Mỗi ribosome gồm hai tiểu đơn vị lớn và nhỏ
- Là phức hợp gồm rRNA, các enzyme và protein cấu trúc



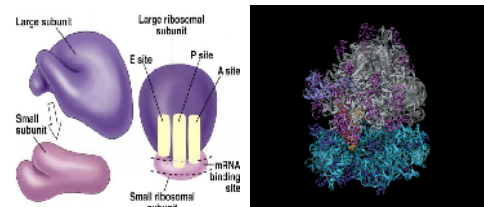
Ribosome

- Ở Prokaryote 70S ribosome = 30S + 50S
- Ở Eukaryote 80S ribosome = 40S + 60S



Ribosome

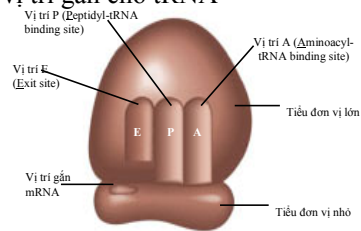
- Là một thành phần nằm trong tế bào chất tham gia vào quá trình dịch mã (translation), tổng hợp chuỗi polypeptide.



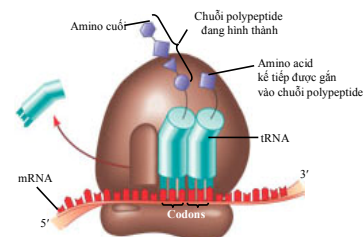
Ribosome

- Ribosome có ba vị trí gắn cho tRNA

- Vị trí P
- Vị trí A
- Vị trí E



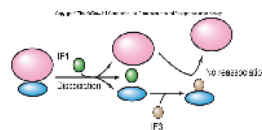
(b) Mô hình cho thấy các vị trí gắn của Ribosome.



(c) Mô phỏng sự kết hợp giữa Ribosome, mRNA và tRNA. Một tRNA được gắn với một amino acid kế tiếp mang anticodon tương ứng bắt cặp với codon ở vị trí A (A site) còn trống. Vị trí P (P site) giữ tRNA mang chuỗi polypeptide đang hình thành. tRNA sau đó được giải phóng nhờ vị trí E (E site).

Sự phân tách của Ribosome

- Các ribosome *E. coli* phân tách thành các tiểu phần tại bước cuối của quá trình dịch mã
- IF1 xúc tác hoạt hóa cho quá trình phân tách này
- IF3 gắn vào tiểu phần 30S tự do và ngăn cản sự tái liên kết với tiểu phần 50S để hình thành ribosome hoàn chỉnh.

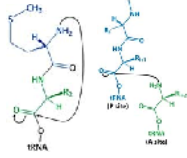


III. Sinh tổng hợp Protein

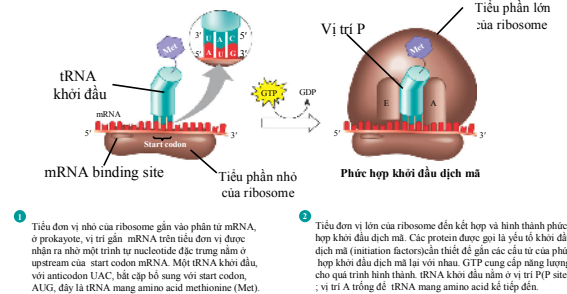
1. Khởi đầu (Initiation)
2. Kéo dài (Elongation)
3. Kết thúc (Termination)

Codon và aminoacyl-tRNA đầu tiên

- Codon khởi đầu ở Prokaryote là:
 - Thông thường là AUG
 - Có thể là GUG
 - Đôi khi là UUG
- Khi dipeptide được hình thành, $\alpha\text{-NH}_2$ của Met mở đầu có thể tác kích vào nhóm -C=O của gốc aa thứ hai. Quá trình này không xảy ra nếu $\alpha\text{-NH}_2$ của Met khởi đầu được formyl hóa thành -NH-CHO .
- Aminoacyl-tRNA khởi đầu là *N*-formyl-methionyl-tRNA
- N*-formyl-methionine (fMet) là amino acid đầu tiên của chuỗi polypeptide được tổng hợp
- Amino acid này sau đó được tách khỏi phân tử protein trong suốt quá trình trưởng thành



Sự khởi đầu dịch mã



Phức hợp 30S khởi đầu dịch mã

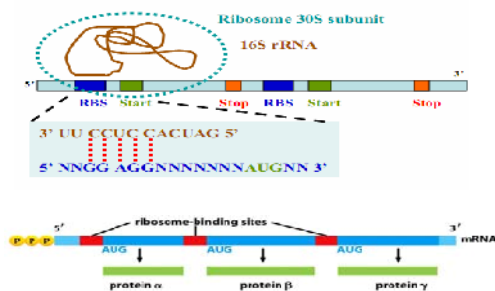
Khi ribosome hoàn toàn tách thành hai tiểu phần 50S và 30S, tế bào tiến hành thiết lập một phức hợp khởi đầu dịch mã hoàn chỉnh trên tiểu phần 30S gồm:

- mRNA
- fMet-tRNA
- GTP
- Yếu tố IF1, IF2, IF3

Gắn mRNA vào tiểu phần 30S

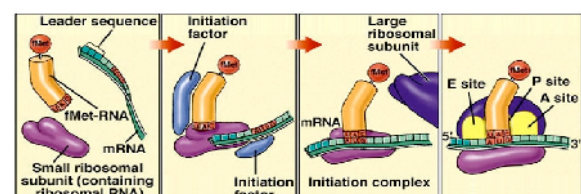
- Phức hợp 30S khởi đầu dịch mã được hình thành từ một tiểu phần ribosome 30S tự do cộng thêm mRNA và fMet-tRNA
- Việc gắn giữa tiểu phần ribosome 30S ở prokaryote vào vị trí khởi đầu dịch mã (initiation site) của mRNA phụ thuộc vào sự bắt cặp bổ sung giữa:
 - Một trình tự ngắn Shine-Dalgarno của mRNA nằm ở upstream của codon khởi đầu
 - Trình tự bổ sung ở đầu cuối 3' của 16S RNA

Ở vi khuẩn, tiểu đơn vị nhỏ gắn với mRNA tại trình tự Shine-Dalgarno (RBS = ribosome binding site) ở thượng nguồn codon AUG khởi đầu.



Initiation Factor và tiểu phần 30S

- Liên kết giữa trình tự Shine-Dalgarno với trình tự bổ sung của 16S rRNA được hoạt hóa bởi IF3
 - Trợ giúp bởi IF1 và IF2
 - Lúc này cả 3 initiation factor đều liên kết với tiểu phần 30S



Gắn fMet-tRNA vào 30S Initiation Complex

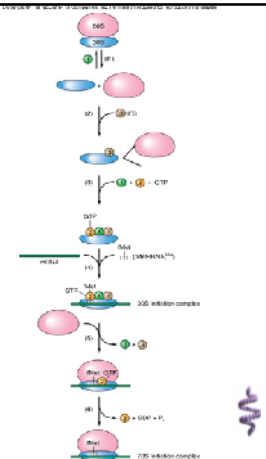
- IF2 là nhân tố chính xúc tác cho việc gắn của fMet-tRNA vào 30S initiation complex
- Hai yếu tố khởi đầu dịch mã còn lại cũng đóng vai trò trợ giúp quan trọng
- GTP cần thiết cho việc gắn của IF2
- GTP không bị thủy phân ở bước này

Phức hợp 70S khởi đầu dịch mã

- GTP được thủy phân sau khi tiểu phần 50S gắn vào phức hợp 30S để hình thành phức hợp 70S khởi đầu dịch mã (70S initiation complex)
- Sự thủy phân GTP được tách khỏi IF2 trong việc gắn với tiểu phần ribosome 50S
- Mục đích của sự thủy phân là tách IF2 và GTP khỏi complex nhờ đó mà quá trình kéo dài chuỗi polypeptide có thể được bắt đầu

Khởi đầu dịch mã

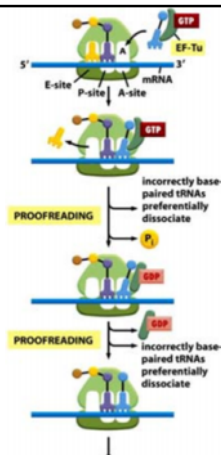
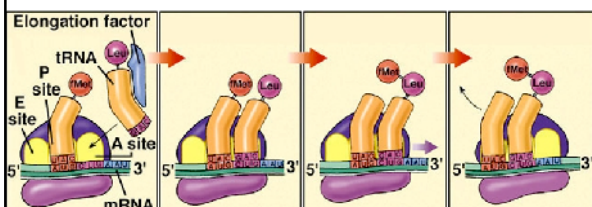
1. IF1 tác động làm tách ribosome 70S thành 50S và 30S
2. Gắn IF3 vào 30S, ngăn cản sự tái hình thành ribosome hoàn chỉnh
3. IF1, IF2, GTP gắn vào dọc bên IF3
4. Gắn mRNA vào fMet-tRNA hình thành 30S initiation complex
 - a. IF2 xúc tác cho việc gắn fMet-tRNA
 - b. IF3 xúc tác cho việc gắn mRNA
5. Việc gắn vào của 50S cùng với việc tách ra của IF1 và IF3
6. IF2 tách ra và thủy phân GTP

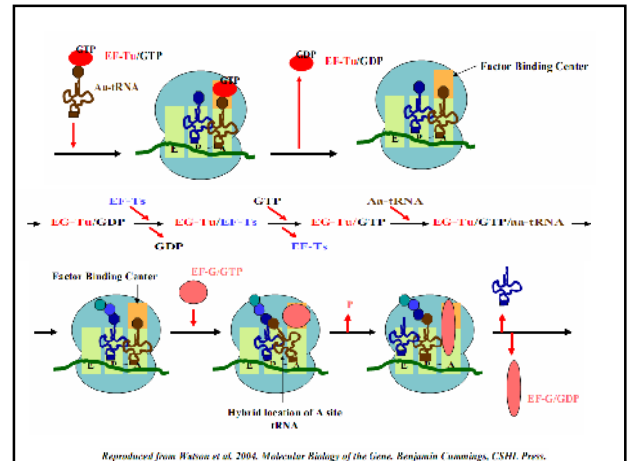
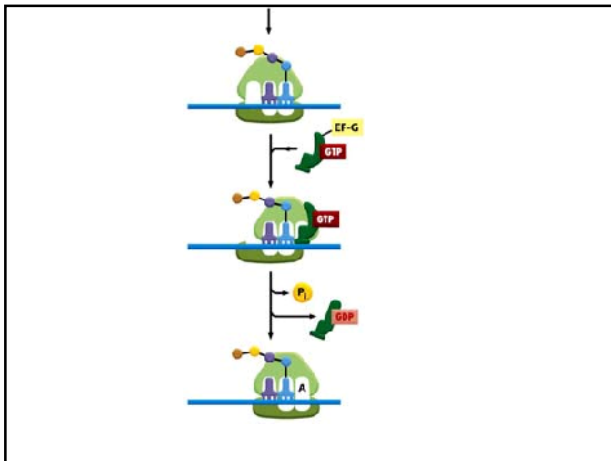


Khởi đầu dịch mã

- Eukaryote
 - Bắt đầu với methionine
 - tRNA khởi đầu không giống như tRNA tham gia vào quá trình kéo dài
 - Không có trình tự Shine-Dalgarno
 - mRNA có mũ chập tại đầu 5'
- Vi khuẩn
 - N-formyl-methionine
 - Trình tự Shine-Dalgarno chỉ cho ribosome biết đầu là điểm khởi đầu dịch mã

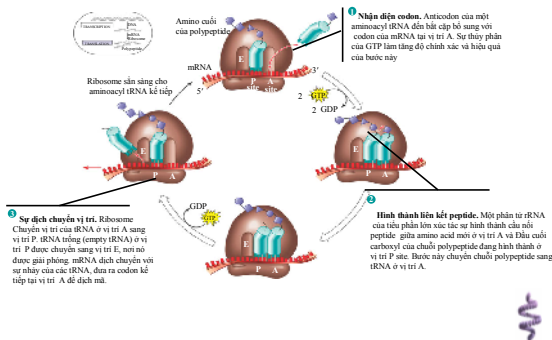
Sự kéo dài chuỗi Polypeptide





Reproduced from Watson et al. 2004. Molecular Biology of the Gene, Benjamin Cummings, CSHL Press.

Sự kéo dài của chuỗi Polypeptide

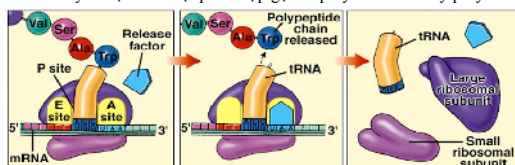


Cơ chế sửa sai

- Trong suốt quá trình kéo dài, một aa-tRNA có anticodon không đúng (mismatched) với codon sẽ bị đẩy ra khỏi vị trí A nhờ cơ chế sửa sai. Cơ chế này hướng đến việc loại ra tRNA bắt cặp không đúng. Cơ chế này hoạt động theo ba bước
 - Dựa vào việc bắt cặp Codon – Anticodon: Khi quá trình bắt cặp đúng xảy ra, hai cấu nối hình thành giữa 16S rRNA và anticodon. Khi bắt cặp sai của tRNA và codon, sẽ thiếu sự thêm vào hai cấu nối này nên quá trình phân ly dễ dàng xảy ra hơn.
 - Sự định vị của aa – tRNA trong vị trí A bởi EF-Tu/GTP: Nếu bắt cặp đúng thì vị trí của EF-Tu/GTP nằm tại Factor binding center (FBC) vì vậy GTP có thể bị thủy phân và EF-Tu tách khỏi aminoacyl-tRNA. Nếu bắt cặp sai, EF-Tu/GTP tạo phức hợp với aa-tRNA sẽ không tiếp xúc với FBC theo đúng cách. GTP không được thủy phân và EF-Tu/GTP/ aa-tRNA bị đẩy ra.
 - Sự thích nghi: Nếu bắt cặp đúng sẽ giúp cho tRNA ở vị trí A dễ dàng hình thành liên kết peptide giữa aa và chuỗi polypeptide đang hình thành. Nếu tRNA ở vị trí A sai thì nó sẽ bị đẩy ra khỏi Ribosome.

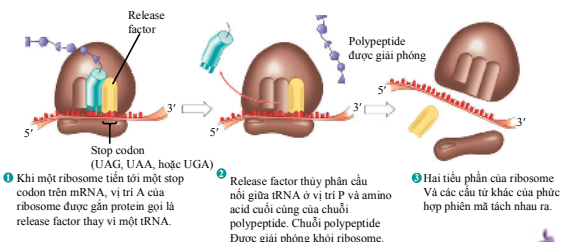
Kết thúc dịch mã

- Nhân tố kết thúc tương tự như một tRNA đi vào vị trí A và cung cấp một phân tử nước (H_2O) để thủy phân tRNA cuối cùng khỏi chuỗi polypeptide để kết thúc dịch mã
- mRNA vì khuôn được dịch mã mà không có quá trình xử lý (processing) trước khi kết thúc phiên mã và do không có màng nhân nên quá trình phiên mã và dịch mã đi cùng với nhau
- mRNA ở eukaryote hình thành một vòng cho phép ribosome sau khi dịch mã xong nhanh chóng tiếp xúc với đầu 5'
- Một phân tử mRNA được dịch mã bởi nhiều ribosome ở cả prokaryote và eukaryote tạo nên một phức hợp gọi là polysome hay polyosome

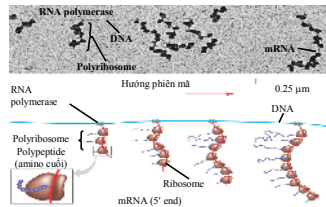


Sự kết thúc quá trình dịch mã

- Bước cuối cùng của dịch mã là sự kết thúc khi ribosome đi tới stop codon trên mRNA

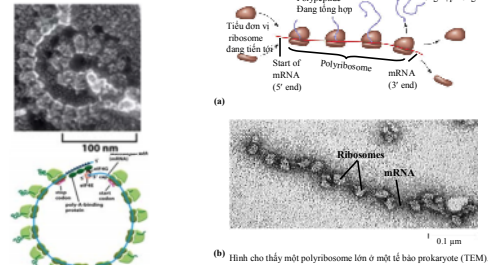


- Sự khác nhau giữa quá trình biểu hiện gen của tế bào prokaryote và tế bào eukaryote
- Prokaryote thiếu màng nhân cho phép quá trình dịch mã bắt đầu trong khi quá trình phiên mã vẫn đang diễn ra.



Polyribosome

- Nhiều ribosome có thể tham gia dịch mã một phân tử mRNA cùng một lúc hình thành nên polyribosome

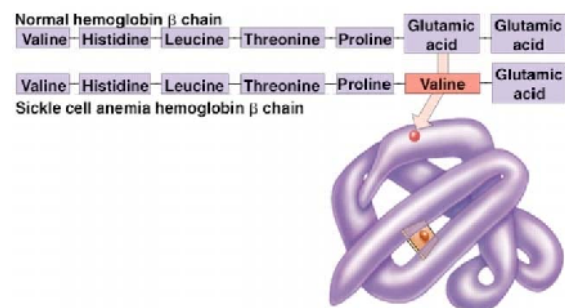
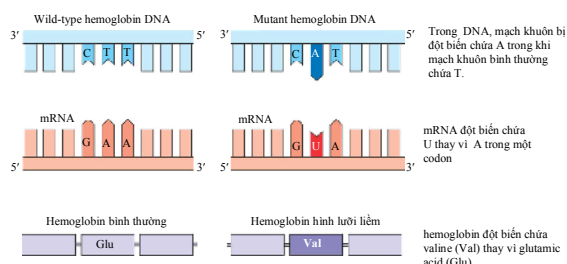


IV. Đột biến và sự biểu hiện

Đột biến và sự biểu hiện

- Đột biến là sự thay đổi trong vật liệu di truyền của tế bào
- Đột biến tự phát có thể xảy ra trong suốt quá trình sao chép của DNA, sự tái tổ hợp, hoặc sửa chữa
- Đột biến do các tác nhân vật lý hay hóa học có thể là nguyên nhân gây đột biến
- Đột biến điểm là sự thay đổi chỉ một cặp base của gene
- Đột biến điểm có thể gây ảnh hưởng đến cấu trúc và chức năng của protein

- Sự thay đổi chỉ một base của chuỗi làm khuôn dẫn tới việc tổng hợp một protein không bình thường

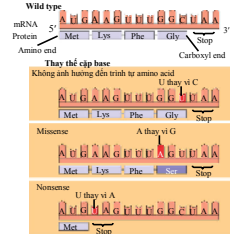


Các loại đột biến điểm

- Đột biến điểm xảy ra trong gene có thể chia thành hai loại chính
 - Thay thế cặp base
 - Chèn hoặc mất một cặp base

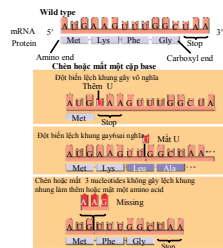
Thay thế base

- Là sự thay thế một base và nucleotide bắt cặp của nó bằng một cặp base khác
 - Có thể gây ra đột biến sai nghĩa (missense) hoặc đột biến vô nghĩa (nonsense)

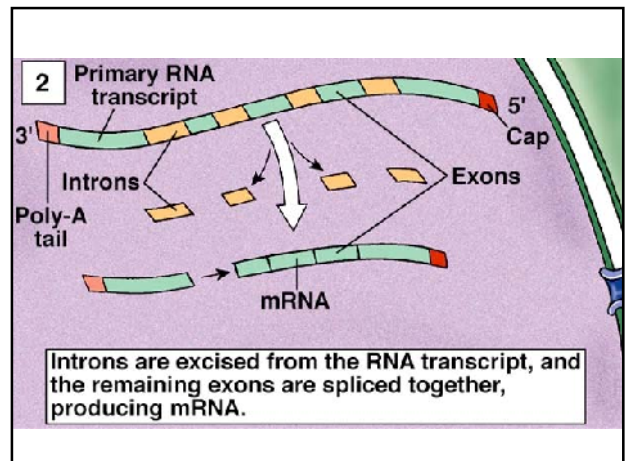
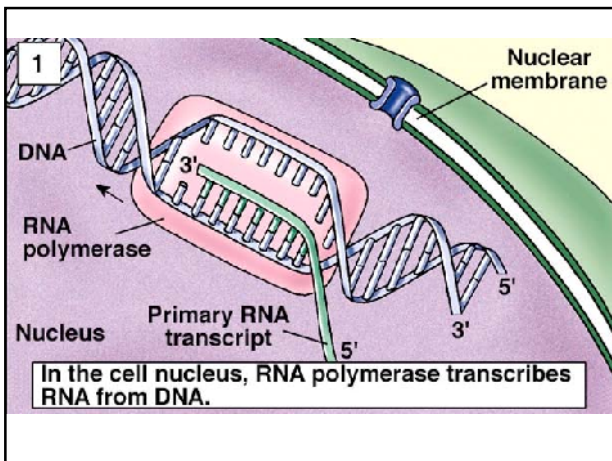
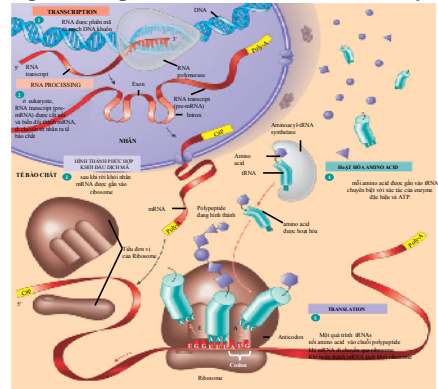


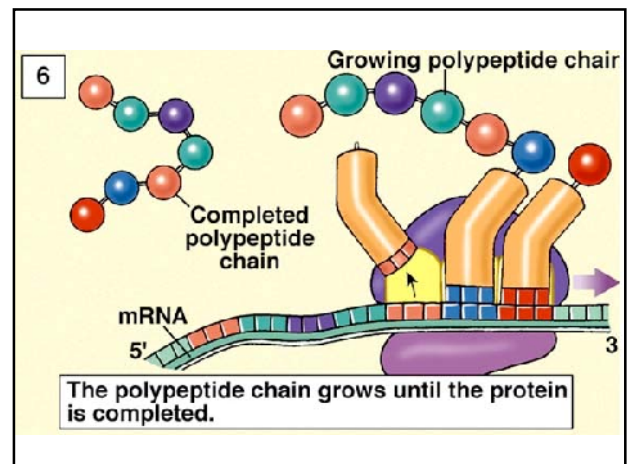
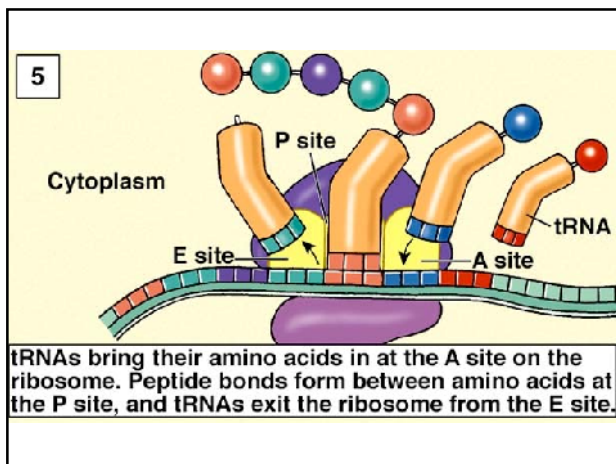
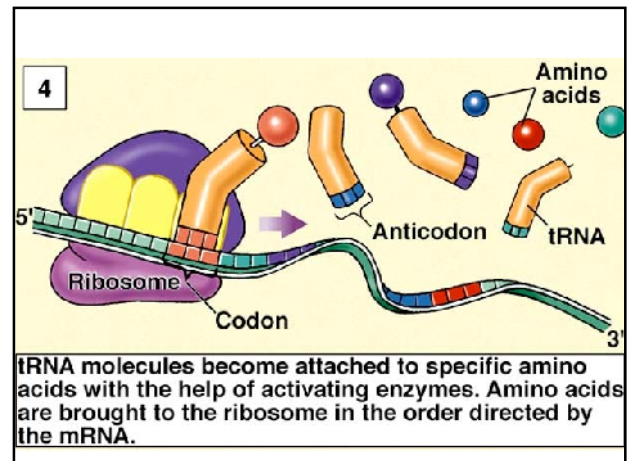
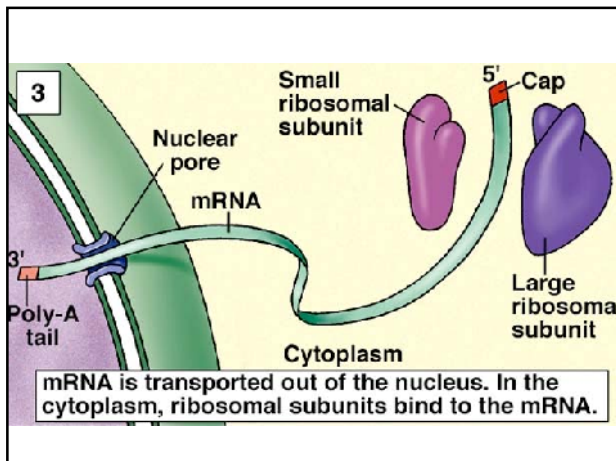
Chèn base và mất base

- Việc thêm hoặc mất một cặp nucleotide trong gene in a gene có thể gây ra đột biến lệch khung (frameshift mutation).



- Tóm tắt quá trình phiên mã và dịch mã ở eukaryote





Hình thành Protein có chức năng

- Chuỗi polypeptide tiếp tục trải qua sự biến đổi sau khi dịch mã
- Sau khi dịch mã protein có thể được biến đổi theo nhiều con đường để hình thành nên hình dạng 3-D.

Targeting Polypeptides to Specific Locations

- Có hai loại ribosome hiện diện trong tế bào
 - Tự do và dạng liên kết
- Ribosome tự do nằm trong cytosol
 - Khởi đầu của tất cả quá trình sinh tổng hợp protein.

- Protein được đưa đến hệ thống nội màng hoặc được tiết ra
 - Được chuyển đến ER
 - Có signal peptides được nối với signal-recognition particle (SRP), giúp Ribosome dịch mã tới liên kết với ER

Cơ chế chuyển protein mục tiêu đến ER

