

Đại Học Y Dược TP. Hồ Chí Minh
Khoa Khoa học cơ bản
Bộ môn Sinh Học
Môn Di truyền học

CÁC QUÁ TRÌNH SINH HỌC Ở MỨC PHÂN TỬ

Thạc sĩ Lê Thuý Quyên

SỰ TỰ NHÂN ĐÔI ADN

SINH TỔNG HỢP ADN: SỰ TỰ NHÂN ĐÔI ADN

Các điều kiện xảy ra

Các liên kết H₂ giữa hai mạch phải bị phá vỡ

Phải có đủ 4 loại deoxyribonucleotide triphosphate (dATP, dTTP, dGTP, dCTP)

Phải có đoạn mồi (primer) để bắt cặp với mạch khuôn

Tổng hợp trên mạch khuôn diễn ra theo hướng 3' → 5'

Có sự tham gia của nhiều Enzyme đặc hiệu: Topoisomerase, helicase, ADN polymerase I và III, ligase; và một số protein đặc hiệu khác

DIỄN TIẾN QUÁ TRÌNH SAO CHÉP ADN

Giai đoạn khởi sự

Protein B nhận biết điểm gốc, gắn vào

Tháo xoắn tại điểm gốc bởi **Topoisomerase**

☛ Topois I → tháo xoắn 1 mạch

☛ Topois II → tháo xoắn 2 mạch

Helicase cắt đứt liên kết H₂, tạo nên 2 chạc ba tái bản ở hai bên điểm gốc. Helicase hoạt động suốt chiều dài ADN dọc theo mạch khuôn

Các mạch đã được tách rời được **protein SSB** (single strand binding protein) làm căng mạnh tạo điều kiện cho việc sao chép được dễ dàng

Mô hình trên *E. coli*

DIỄN TIẾN QUÁ TRÌNH SAO CHÉP ADN

Giai đoạn kéo dài

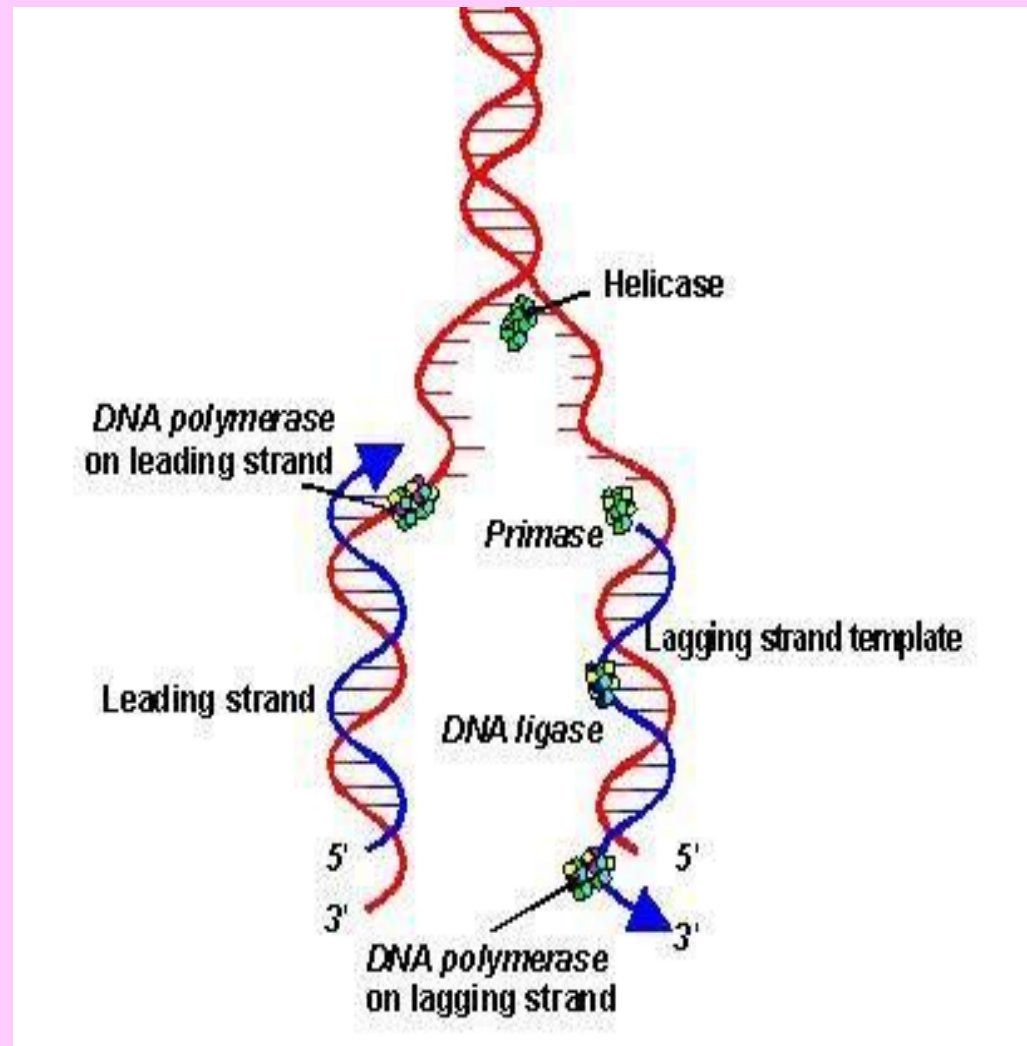
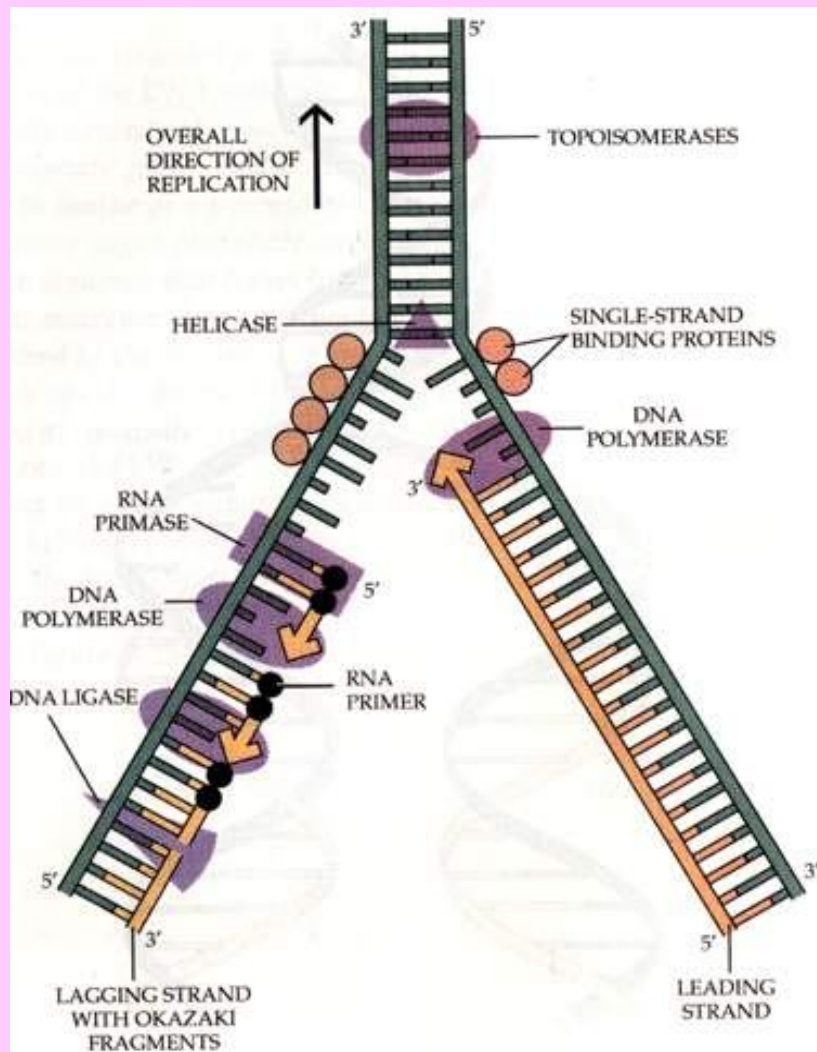
Tổng hợp mồi (primer): mồi là 1 đoạn mạch RNA # 5-10 base, nhờ phức hợp primosome gồm nhiều protein và enzyme primase

Tổng hợp mạch mới bởi ADN polymerase III (liên tục trên một mạch khuôn và gián đoạn ở mạch khuôn kia)

- ADN pol III chỉ có thể tổng hợp mạch ADN bằng cách nối dài ở đầu 3'OH của một mồi đã bắt cặp sẵn trên mạch khuôn
- Trên mạch khuôn 3'5', mạch mới được tổng hợp liên tục → mạch tới, mạch dẫn (leading strand)
- Trên mạch khuôn 5'3', mạch mới được tổng hợp không liên tục → đoạn Okazaki 100-1000 cặp base, gọi là mạch chậm (lagging strand)

Mô hình trên *E. coli*

DIỄN TIẾN QUÁ TRÌNH SAO CHÉP ADN



DIỄN TIẾN QUÁ TRÌNH SAO CHÉP ADN

Giai đoạn kết thúc

Mỗi ARN bị phân hủy bởi **RNAse H**.
Các lỗ hổng sẽ được lấp lại nhờ **ADN polymerase I**.
Enzym **ligase** nối tất cả các chỗ gián đoạn.

Mô hình trên *E. coli*

DIỄN TIẾN QUÁ TRÌNH SAO CHÉP ADN

Sửa sai trong sao chép

ADN polymerase I và III có 2 hoạt tính: polymer hóa và exonuclease 5'-3' và 3'-5'
Trên đường di chuyển, nếu gặp Nu lắp sai, ADN polymerase sẽ lùi lại cắt bỏ theo hướng 3'-5'

Mô hình trên *E. coli*

SỰ SAO CHÉP ADN Ở TẾ BÀO EUKARYOTE

Khá giống ở Prokaryote.

Có 5 loại ADN polymerase và nhiều protein chuyên biệt tham gia.

SỰ KHÁC BIỆT GIỮA QUÁ TRÌNH TỰ NHÂN ĐÔI ADN Ở PROKARYOTE VÀ EUKARYOTE

PROKARYOTE	EUKARYOTE
<ul style="list-style-type: none">•Tốc độ nhanh (50000 nu/phút).•Chỉ có 1 điểm khởi sự sao chép (ori).•Cơ chế đơn giản hơn.•Có 3 loại ADN polymerase tham gia	<ul style="list-style-type: none">•Tốc độ chậm hơn (3000 nu/phút).•Khoảng 500 ori (tương ứng 500 đơn vị sao chép).•Phức tạp hơn.•Có 5 loại

SINH TỔNG HỢP ARN (SỰ PHIÊN MÃ)

SINH TỔNG HỢP ARN

ARN di truyền:

Sự phiên mã ngược
(Reverse transcription)

ARN \longrightarrow cADN \longrightarrow ARN

ARN không di truyền: Sự phiên mã
(Transcription)

.

QUÁ TRÌNH PHIÊN MÃ

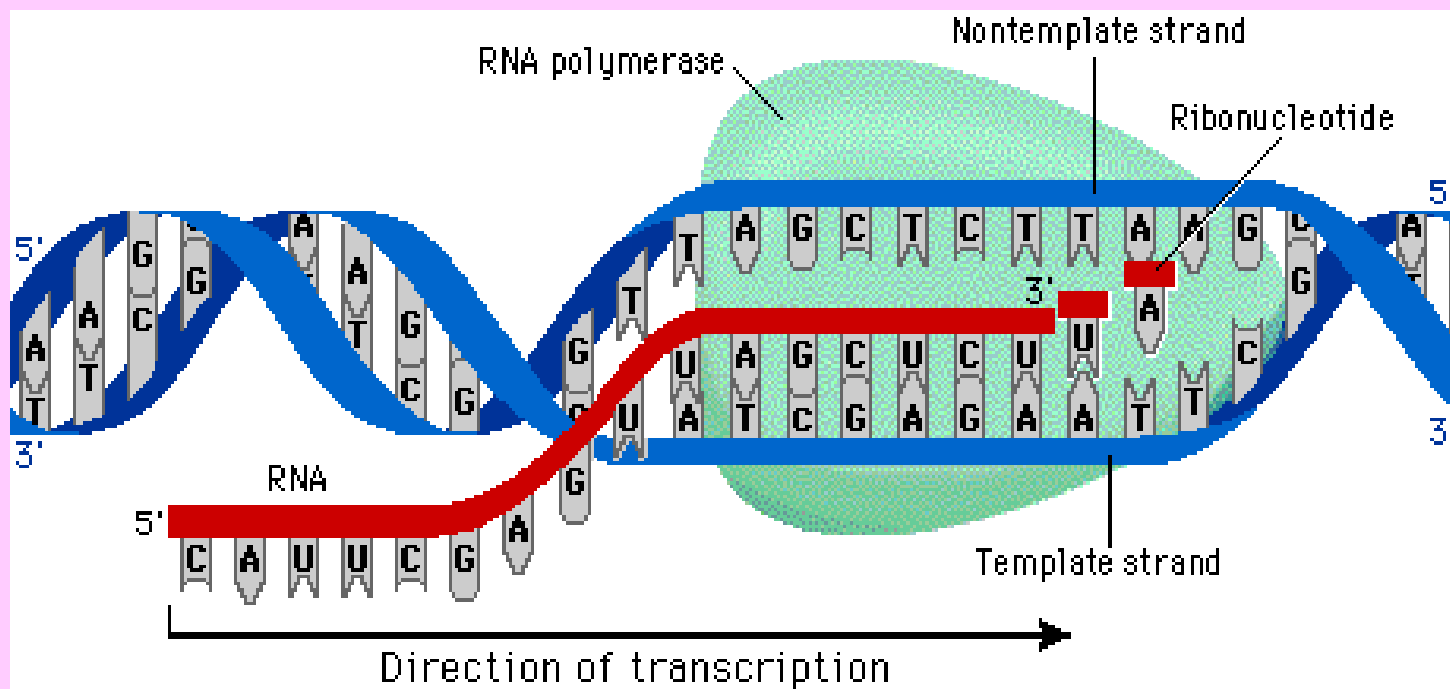
Nguyên tắc chung

Chỉ thực hiện trên **1 mạch ADN**

ARN được tổng hợp theo hướng **5' – 3'** nhờ tác dụng của enzym **ARN polymerase** phụ thuộc **ADN**

QUÁ TRÌNH PHIÊN MÃ

Nguyên tắc chung



PHIÊN MÃ Ở PROKARYOTE

Giai đoạn khởi động

ARN polymerase nhận biết và gắn vào trình tự khởi động trên mạch khuôn nhờ **nhân tố khởi động** (σ : sigma)

PHIÊN MÃ Ở PROKARYOTE

Giai đoạn kéo dài

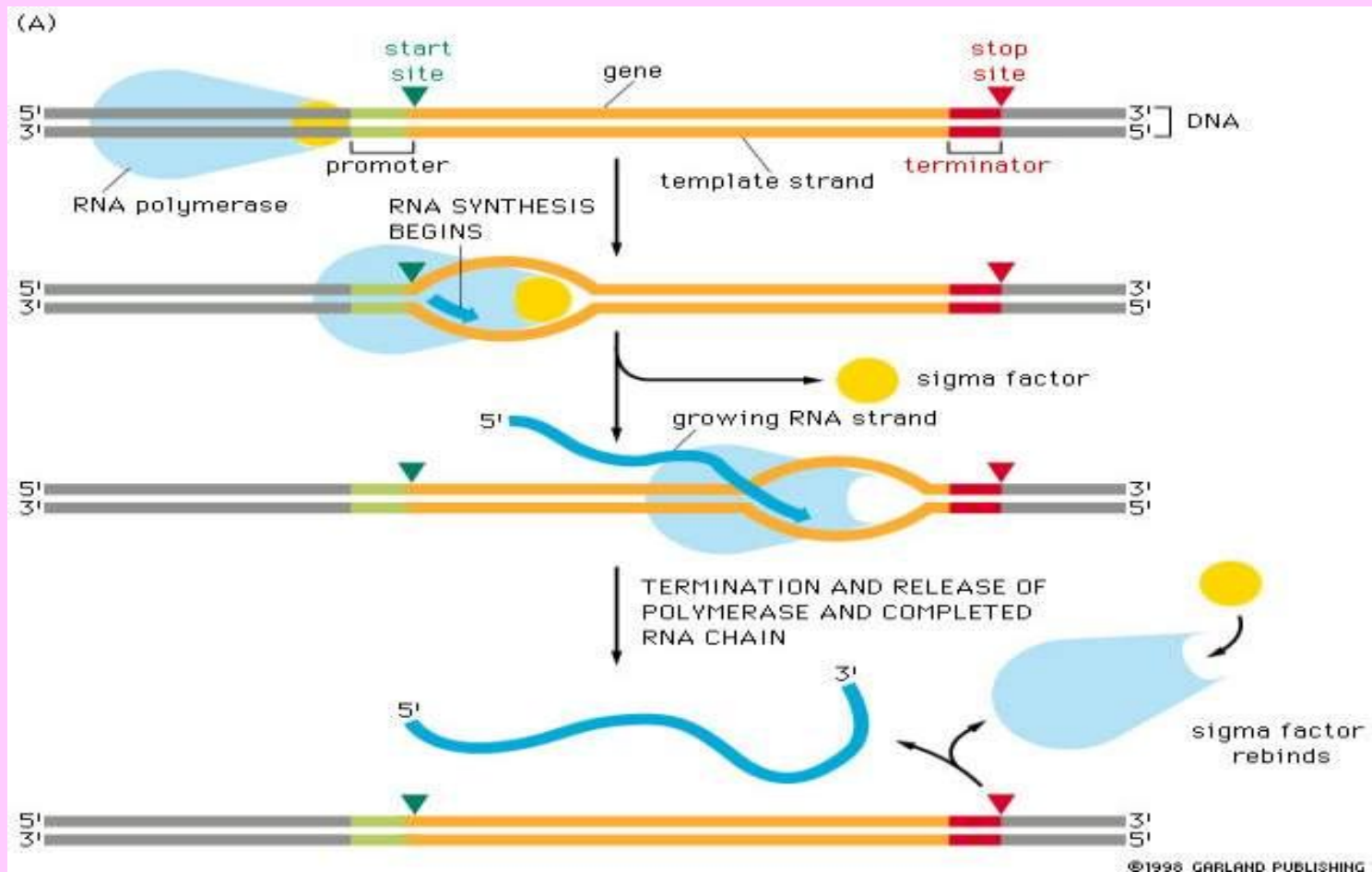
Do tác động của nhân tố kéo dài, khi **ARN** đạt được chiều dài # 8 rNu

ADN tháo xoắn liên tục (khoảng 17 Nu) theo hướng 3'–5' trên mạch khuôn

Mạch mới được **tổng hợp** theo hướng 5'–3' bởi tác dụng của **ARNpolymerase** đồng thời **tách dần** khỏi mạch khuôn (trừ 1 đoạn gồm khoảng 12 rNu)

PHIÊN MÃ Ở PROKARYOTE

05



PHIÊN MÃ Ở PROKARYOTE

Giai đoạn kết thúc

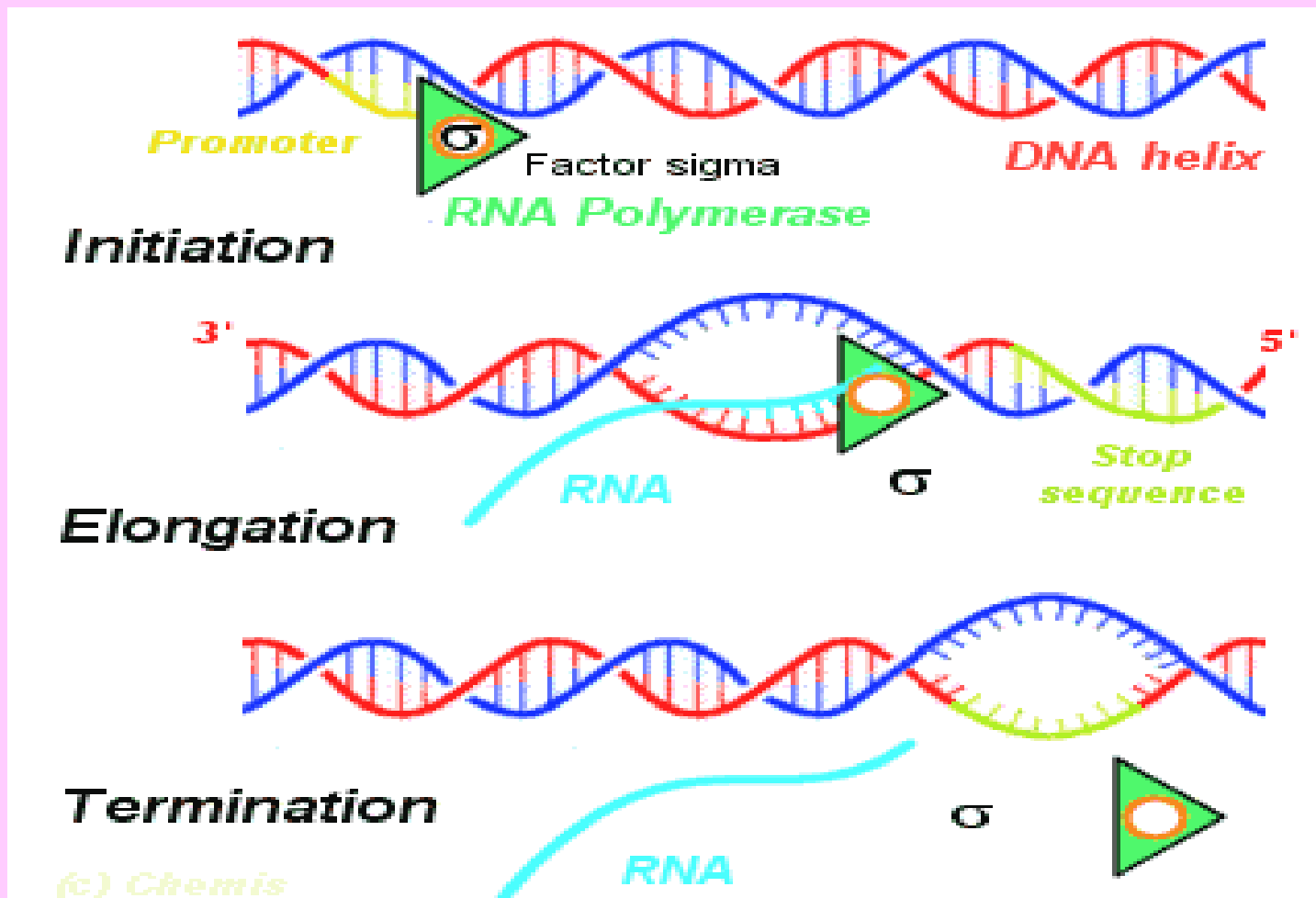
o5

ARN polymerase **dừng phiên mã**, tách khỏi mạch khuôn khi di chuyển đến **vị trí kết thúc** (vùng terminator).

Sợi ARN tách hẳn mạch khuôn

PHIÊN MÃ Ở PROKARYOTE

o5



PHIÊN MÃ Ở EUKARYOTE

Đặc điểm

o5

- Có 3 loại ARN-polymerase:
 - ARN-polymerase I: tham gia vào quá trình phiên mã rARN 18S, 5,8S, 28S
 - ARN-polymerase II chịu trách nhiệm tổng hợp mARN
 - ARN-polymerase III: giúp phiên mã tARN và rARN 5S
- mARN chứa thông tin của 1 gen

PHIÊN MÃ Ở EUKARYOTE

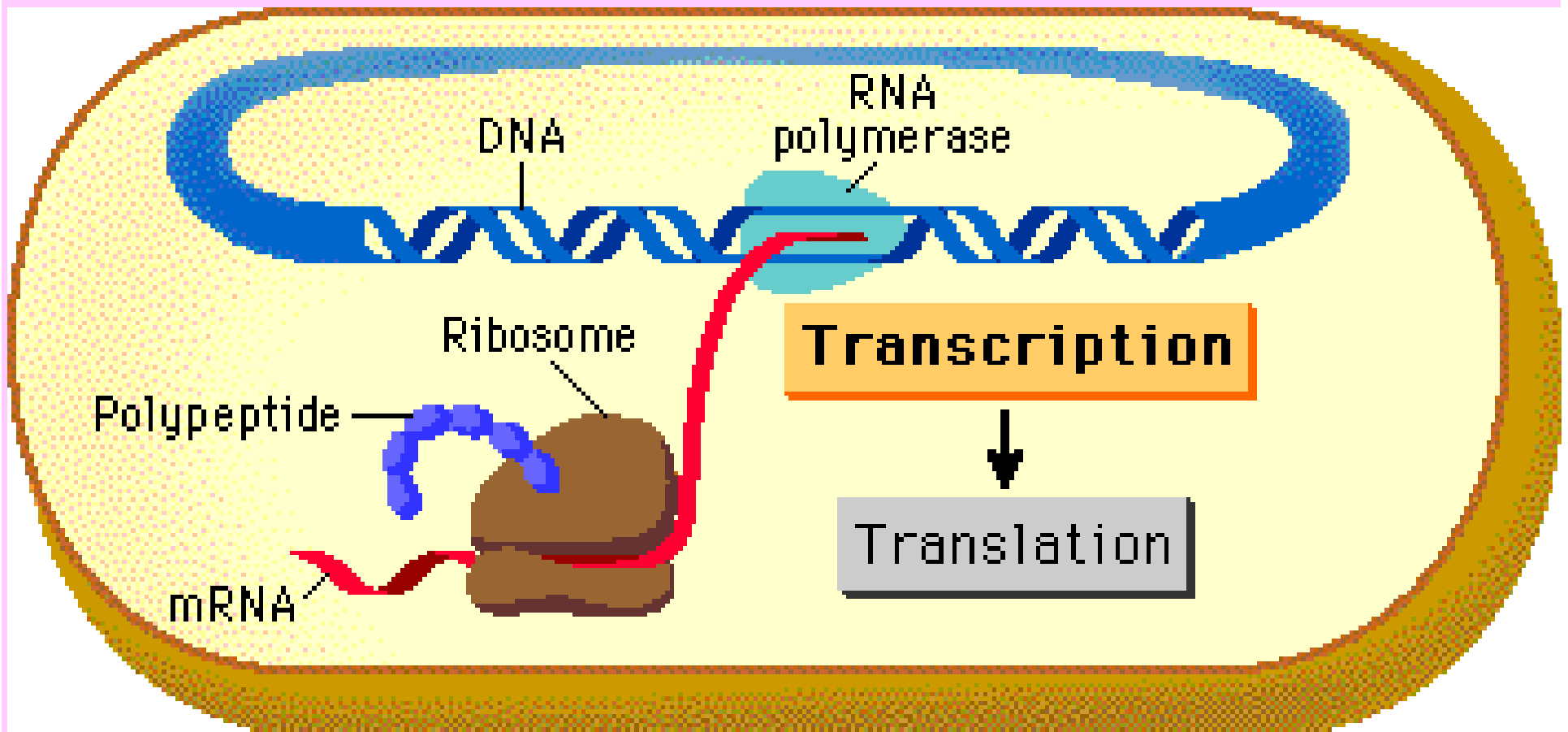
Đặc điểm

o5

- Quá trình phiên mã phức tạp:
 - Bản phiên mã đầu tiên (tiền mARN) chưa được sử dụng trực tiếp mà phải qua quá trình chế biến (trưởng thành).
 - Giai đoạn trưởng thành:
 - gắn “chóp” (cap) là 7-methylguanosine
 - gắn “đuôi” polyA dài 100 – 200 Adenine
 - Cắt bỏ các intron, **nối các exon lại**

PHIÊN MÃ Ở EUKARYOTE

o5



PHIÊN MÃ Ở EUKARYOTE

- **Giai đoạn khởi động**

Các nhân tố tham gia khởi động:

TF II D: nhận biết & gắn vào vị trí khởi động ở promoter

TF II A: gắn vào TF II D

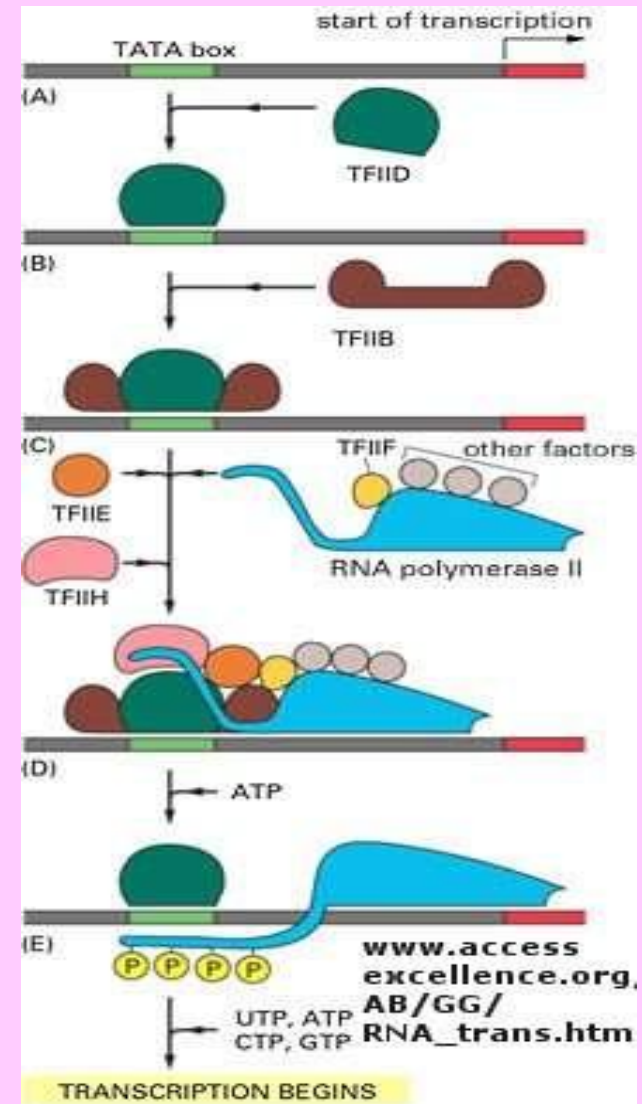
TF II B giúp ARN-polymerase gắn vào phức hợp TF II A – TF II D

TF II F gắn ARN-polymerase vào promoter

TF II E cho phép khởi động sự phiên mã

TF II H: sử dụng helicase để tách ADN và sửa sai ADN

1 ATP sử dụng để tách 2 mạch đơn



PHIÊN MÃ Ở EUKARYOTE

Giai đoạn kéo dài

mARN được tổng hợp từ mạch khuôn theo hướng 5'-3' nhờ nhân tố **TFII S**

PHIÊN MÃ Ở EUKARYOTE

Giai đoạn kết thúc

Sự phiên mã kết thúc trước điểm gắn đuôi poly A

mARN tách khỏi mạch khuôn

PHIÊN MÃ Ở EUKARYOTE

Quá trình trưởng thành của tiền mRNA

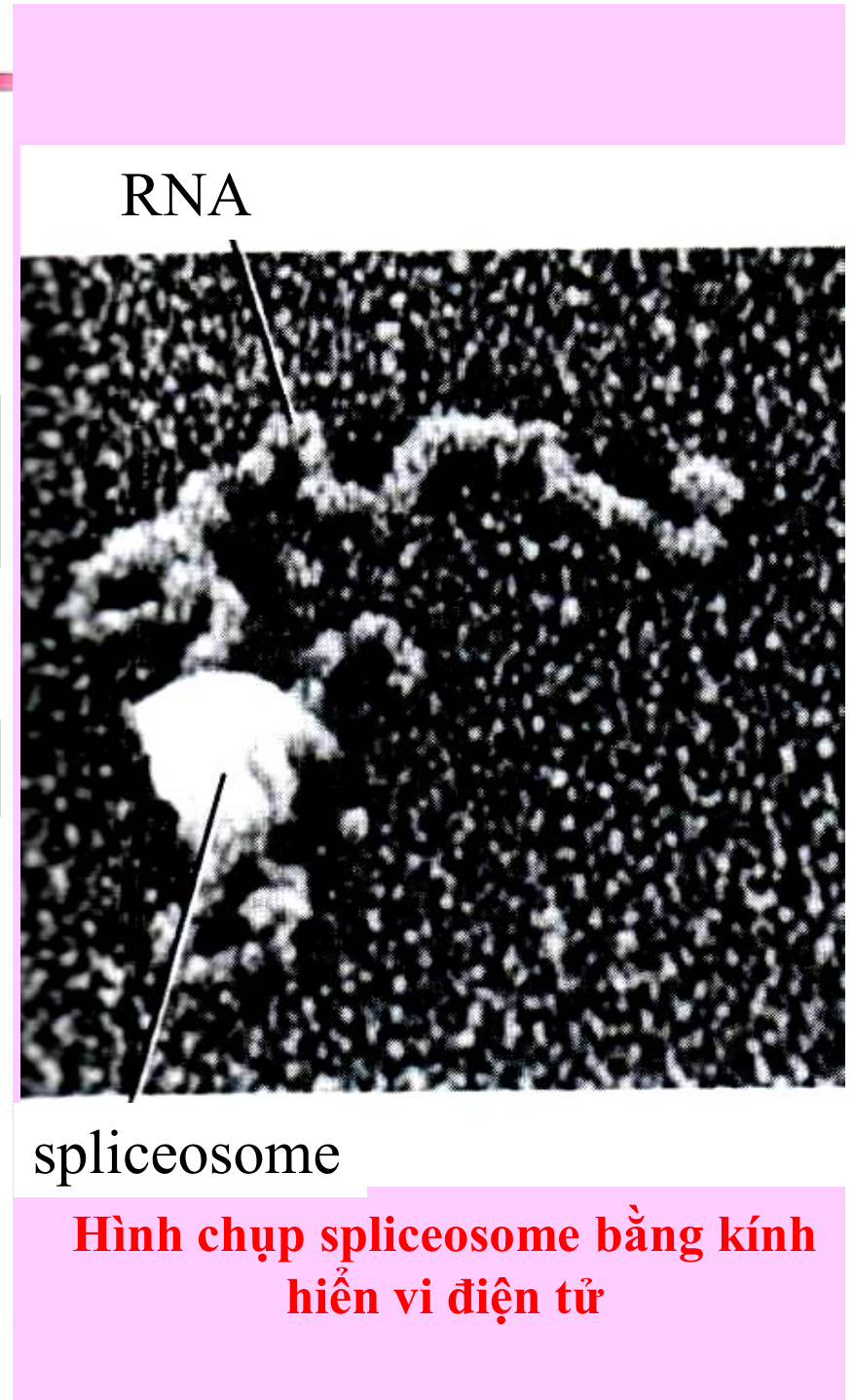
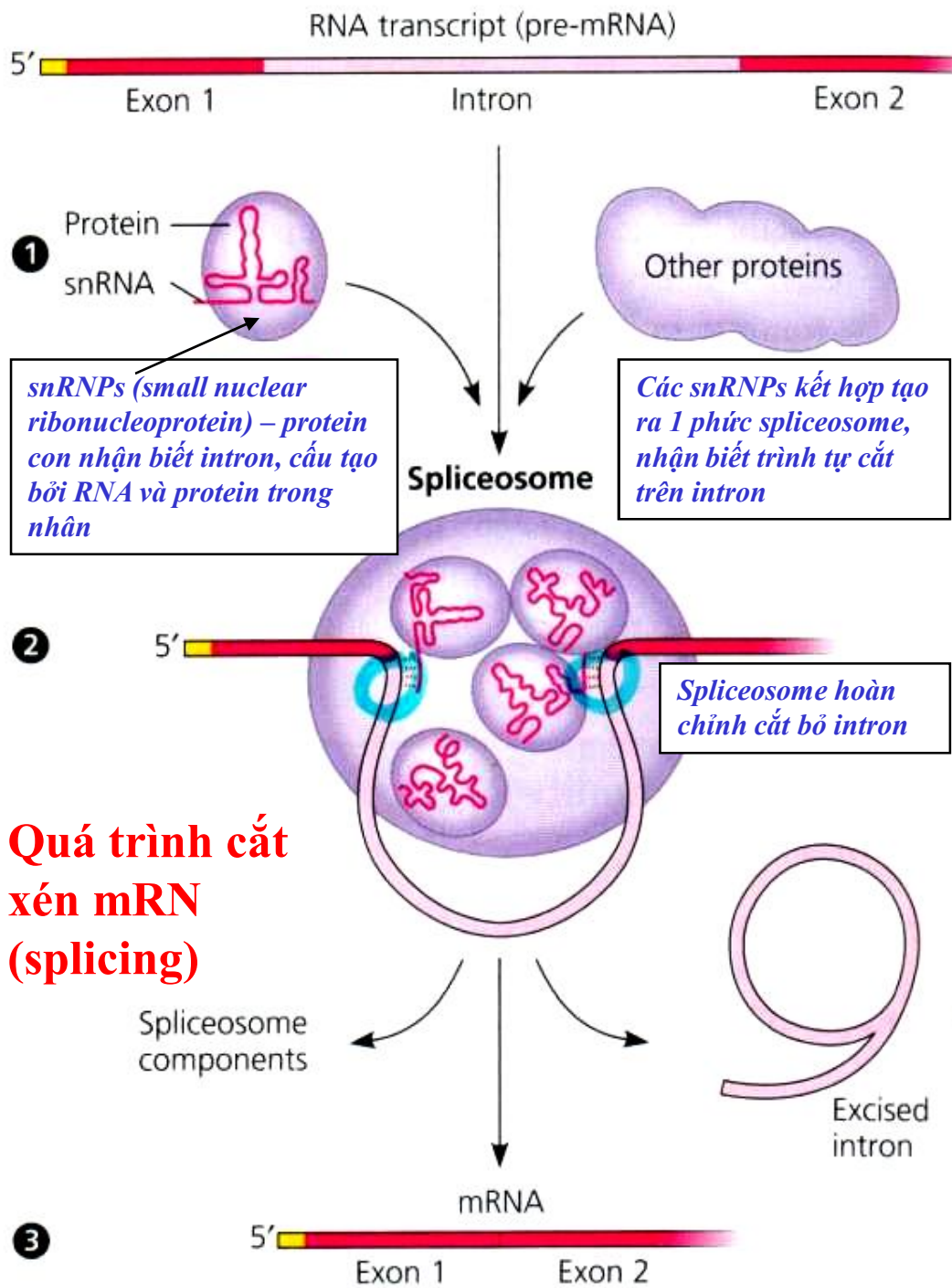
Gồm 3 giai đoạn

Gắn mũ chạp (Capping) vào đầu 5'

Gắn đuôi poly A vào đầu 3'

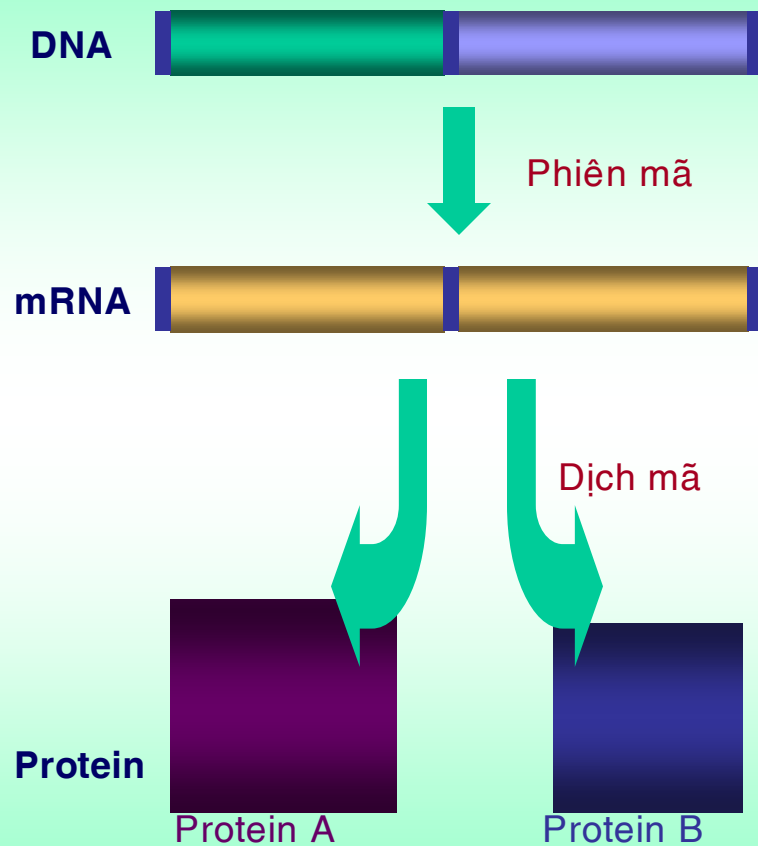
Cắt xén (Splicing)

- ☛ Loại bỏ các intron, nối các exon lại
- ☛ Được thực hiện bởi các phân tử ghép nối (spliceosome)

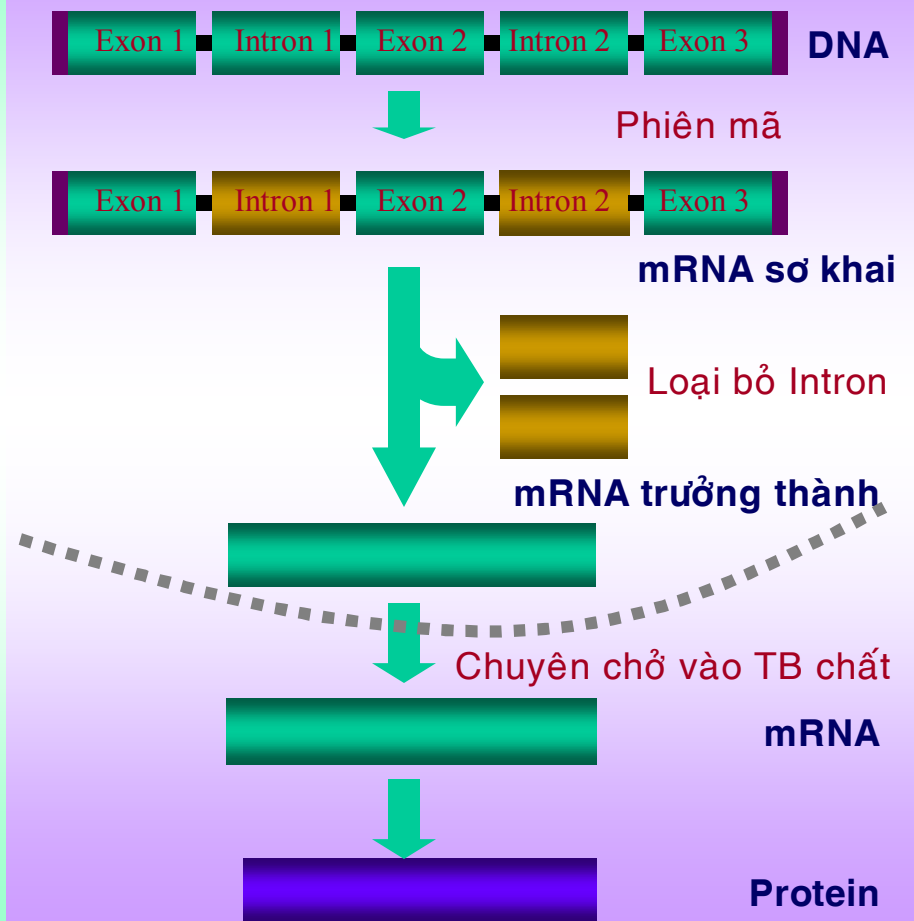


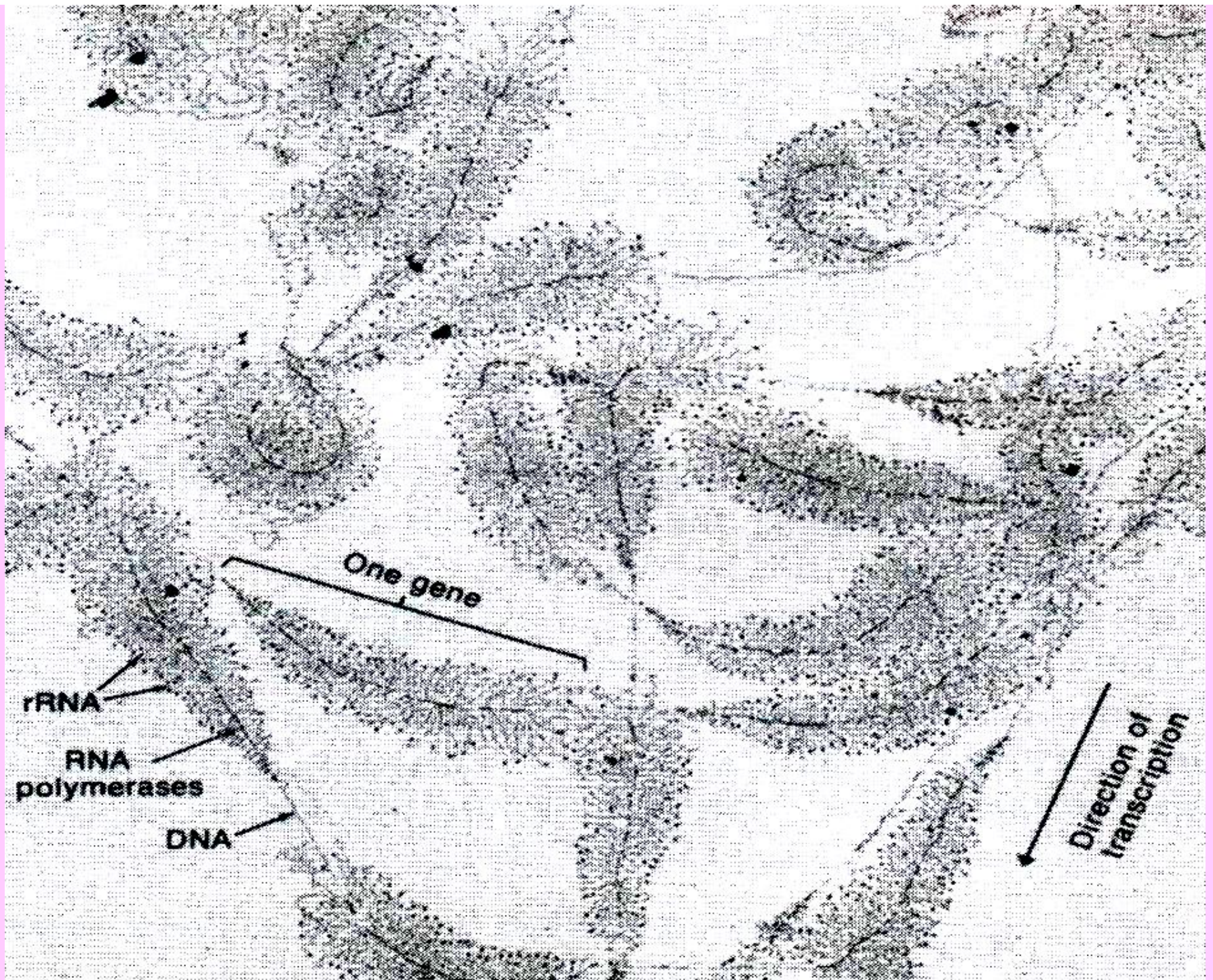
Đặc trưng phiên mã

Polycystronic (Vi khuẩn)



Monocystronic (TB có nhân)





PHÂN BIỆT QUÁ TRÌNH PHIÊN MÃ GIỮA PROKARYOTE VÀ EUKARYOTE

- Prokaryote:
 - Không có giai đoạn tiền mARN
 - 1 loại ARN-polymerase tổng hợp tất cả **loại** ARN
 - mARN chứa nhiều của nhiều gen
- Eukaryote:
 - mARN qua 2 giai đoạn: tiền mARN và mARN trưởng thành
 - mARN có cap 7-methylguanine ở 5' và đuôi polyadenine ở 3'
 - Tiền mARN được loại bỏ intron và nối các exon (splicing)
 - 3 loại ARN-polymerase:
 - ARN-polymerase II: tổng hợp mARN
 - ARN-polymerase I, III: tổng hợp rARN, tARN và ARN khác.
 - mARN chứa thông tin của 1 gen

SINH TỔNG HỢP PROTEIN

SINH TỔNG HỢP PROTEIN



Quá trình Sinh tổng hợp protein là bản chất hóa

học của quá trình truyền thông tin DT từ Gen đến

Protein để biểu hiện các tính chất của tế bào và

cơ thể.

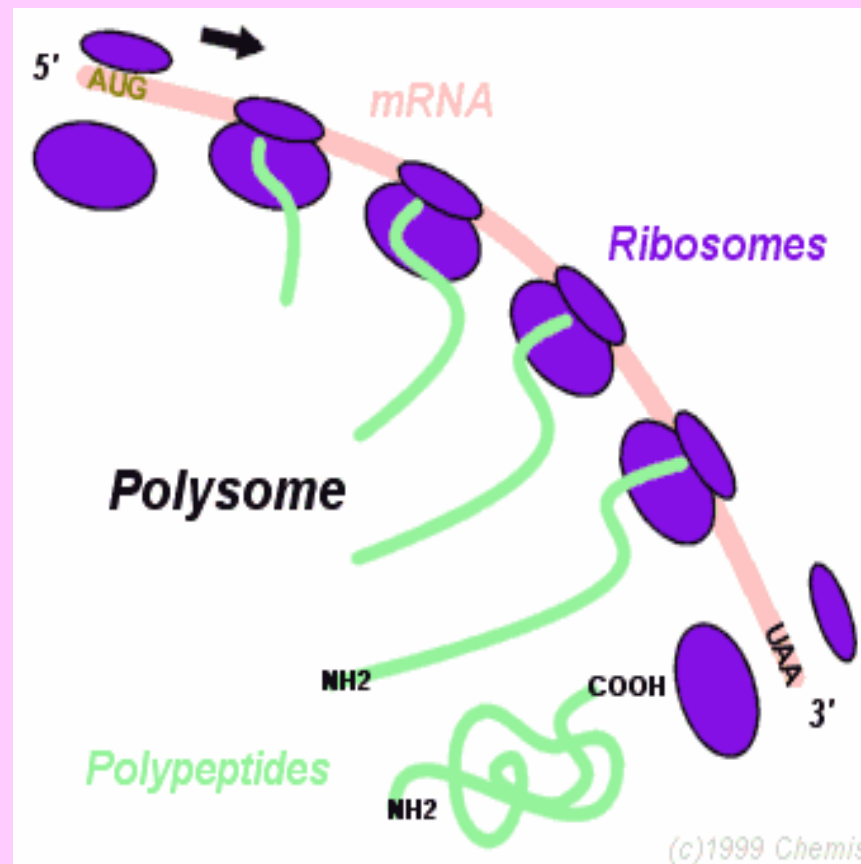
GIẢI MÃ = DỊCH MÃ

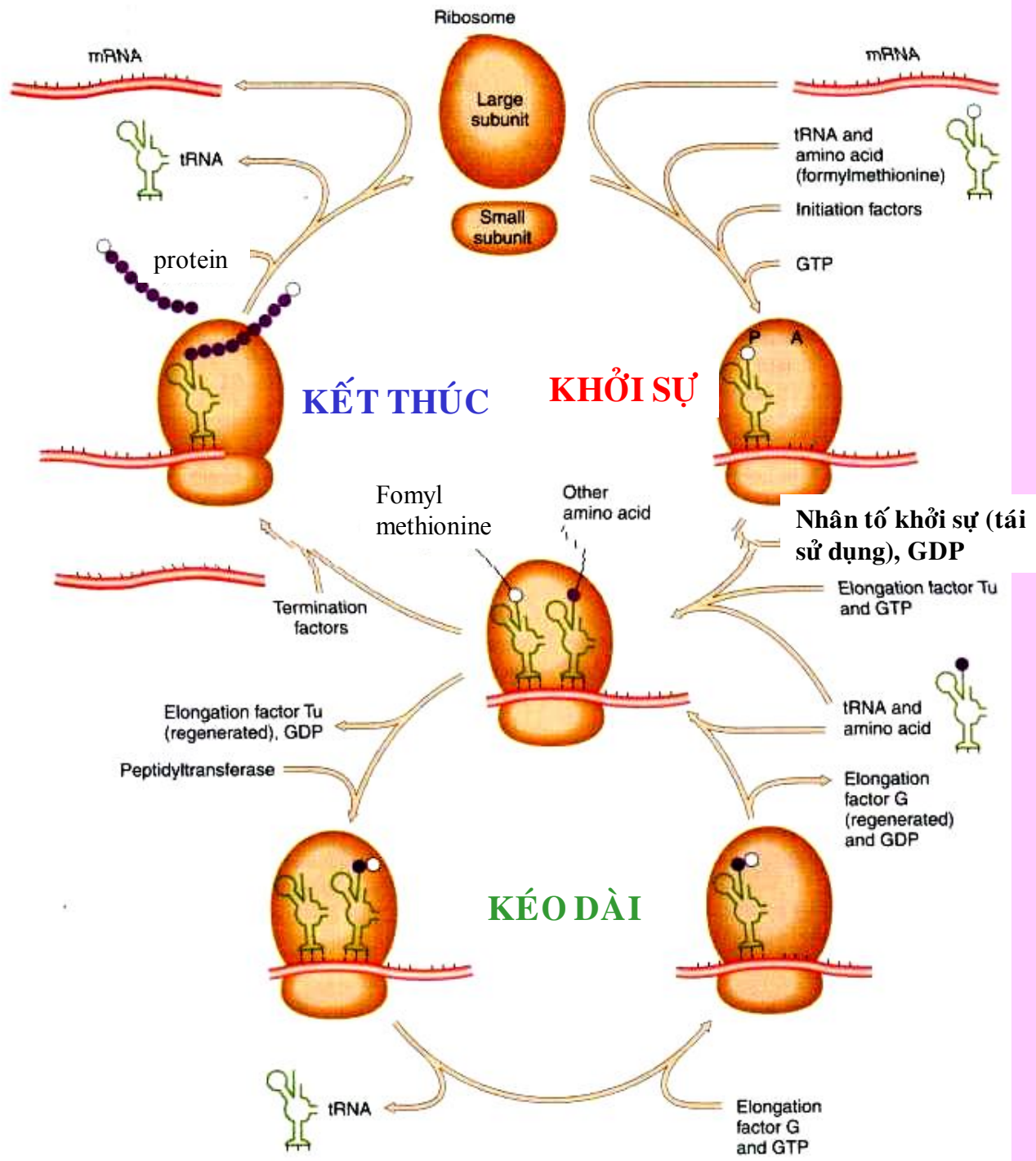
ĐẶC ĐIỂM CHUNG

- ❑ Được thực hiện bởi các ribosome**
- ❑ Trên 1 mARN có thể có nhiều ribosome hoạt động -> Polysome**
- ❑ Rb gồm 2 subunit (Sub):**
 - Lớn (Sub L)**
 - Nhỏ (Sub S)**
- ❑ Trên Rb có 3 vị trí : A,P,E**

GIẢI MÃ = DỊCH MÃ

ĐẶC ĐIỂM CHUNG





KẾT THÚC

KHỞI SỰ

KÉO DÀI

Nhân tố khởi sự (tái sử dụng), GDP

Elongation factor Tu (regenerated), GDP

Peptidyltransferase

Elongation factor G (regenerated) and GDP

Elongation factor G and GTP

Fomyl methionine

Other amino acid

Termination factors

tRNA and amino acid

Ribosome

Large subunit

Small subunit

mRNA

mRNA

protein

tRNA

tRNA and amino acid (formylmethionine)

Initiation factors

GTP

P

A

GIẢI MÃ = DỊCH MÃ

ĐẶC ĐIỂM CHUNG

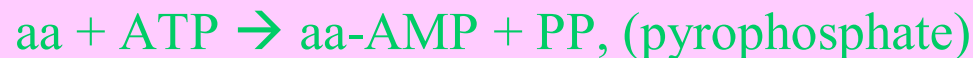
- Ở Prokaryote và Eukaryote đều gồm 3 giai đoạn:
 - Khởi sự
 - Kéo dài
 - Kết thúc
- 2 subunit của Rb:
 - Khi chưa hoạt động giải mã -> tách rời
 - Khi giải mã -> kết hợp lại
- Thực hiện theo hướng 5' -> 3'
- Các Rb tạo dãy polysome

DIỄN TIẾN QUÁ TRÌNH GIẢI MÃ CHUẨN BỊ

Gồm 2 bước:

□ Hoạt hoá a.amin:

Acid amin **liên** kết với tARN đặc hiệu nhờ sự xúc tác của enzyme **aminoacyl-tRNA synthetase** và **ATP** tạo thành phức hợp aa-tARN

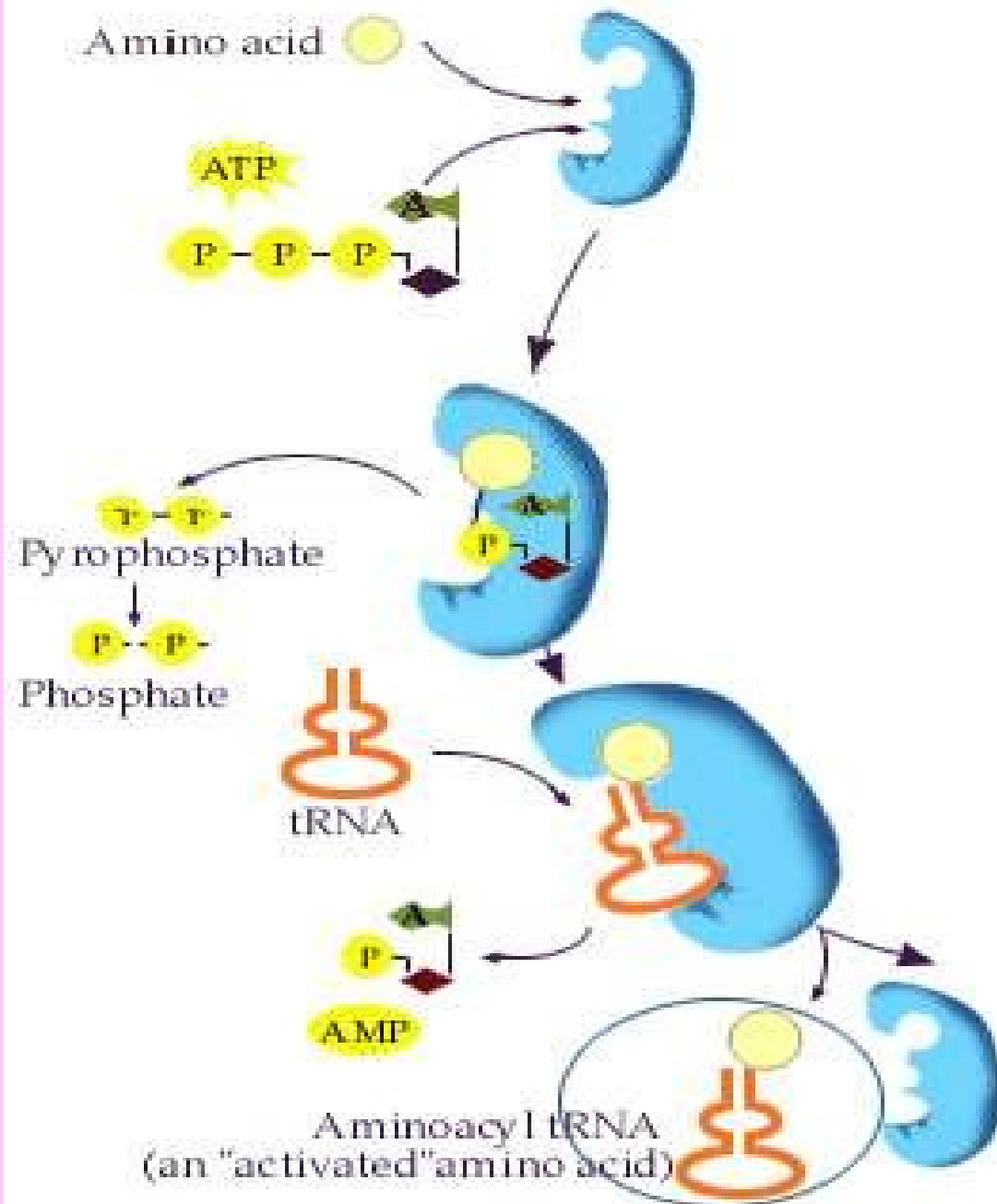


□ Liên kết acid amin vào tARN :



KQ: Tạo phức hợp Aminoacyl-tRNA

Aminoacyl-tRNA synthetase



DIỄN TIẾN QUÁ TRÌNH GIẢI MÃ GIẢI MÃ TẠI RIBOSOME

□ Giai đoạn khởi sự

Đặc điểm chung:

- Có 3 nhân tố IF: IF1, IF2, IF3
- Dấu hiệu bắt đầu là codon AUG

Có 2 loại tRNA mang methionine :

1. $tRNA_i^{met}$ kết hợp với codon mở đầu AUG
2. $tRNA^{met}$ kết hợp với codon AUG nằm giữa phân tử mRNA

DIỄN TIẾN QUÁ TRÌNH GIẢI MÃ

Giai đoạn khởi sự

IF-1: gắn vào sub S, ngăn không cho subS kết hợp với sub L, tăng cường hoạt động của IF-2 và IF-3.

IF-2: Phát hiện codon mở đầu, kết hợp với GTP, làm dễ dàng quá trình kết hợp fMet-tRNA^{fMet}.

IF-3: gắn vào subS, ngăn không cho subS kết hợp với subL.

DIỄN TIẾN QUÁ TRÌNH GIẢI MÃ

Giai đoạn khởi sự

Đặc điểm chung:

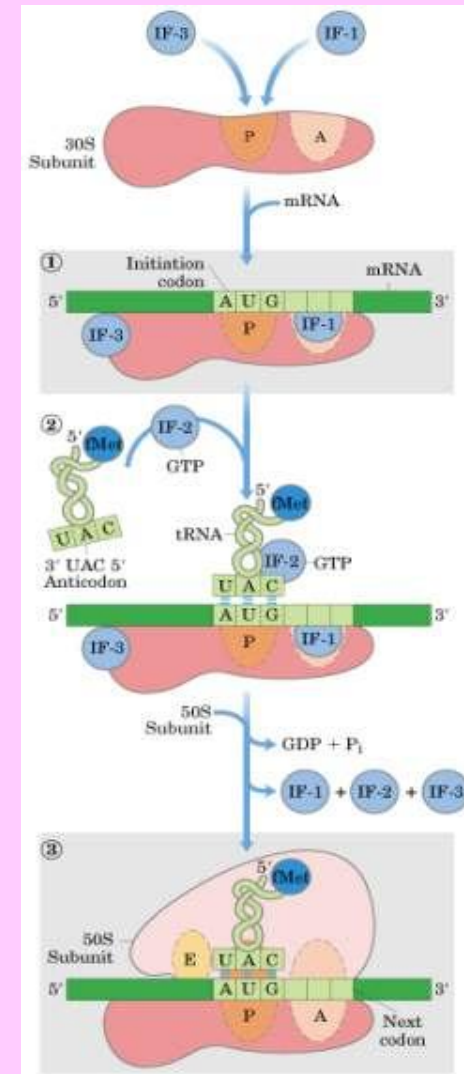
Aminoacyl-tRNA synthetase đặc hiệu đã gắn Methionine vào $tRNA_i^{met}$ tạo thành Met- $tRNA_i^{met}$.

- . Subunit S (30S) hình thành phức hợp với Met- $tRNA_i^{met}$ nhờ vào các nhân tố khởi động.
- . Một trình tự đặc biệt trên 30S trên mRNA (trình tự Shine-Dalgarno hay trình tự SD ~3-9 Rnu) được nhận diện bởi trình tự anti SD thuộc sub S. Nhờ vậy codon mở đầu AUG được chuyển chính xác vào vị trí mở đầu.

DIỄN TIẾN QUÁ TRÌNH GIẢI MÃ

Giai đoạn khởi sự

- **IF1 và IF3** liên kết với **sub S**, chuẩn bị cho sự giải mã.
- **IF2** liên kết với phức hợp Met-tARN^{ifMet} và năng lượng là **GTP**, tạo phức hợp Met-tARN^{iMet}-IF2-GTP. Phức hợp này đến gần vào vị trí **P** trên subS.
- GTP được thủy phân thành GDP và P_i, giải phóng năng lượng để tách các nhân tố mở đầu khởi phức hợp.
- Met-tARN^{iMet} liên kết vào codon AUG tại vị trí P.
- Sub L đến lắp ráp với Sub S, giai đoạn khởi đầu hoàn tất.

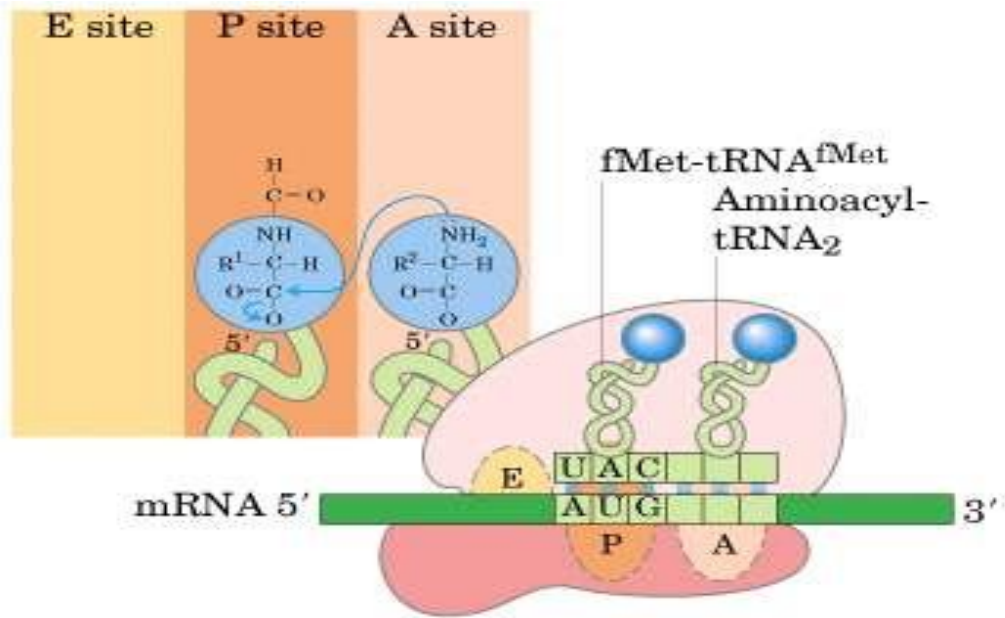


DIỄN TIẾN QUÁ TRÌNH GIẢI MÃ

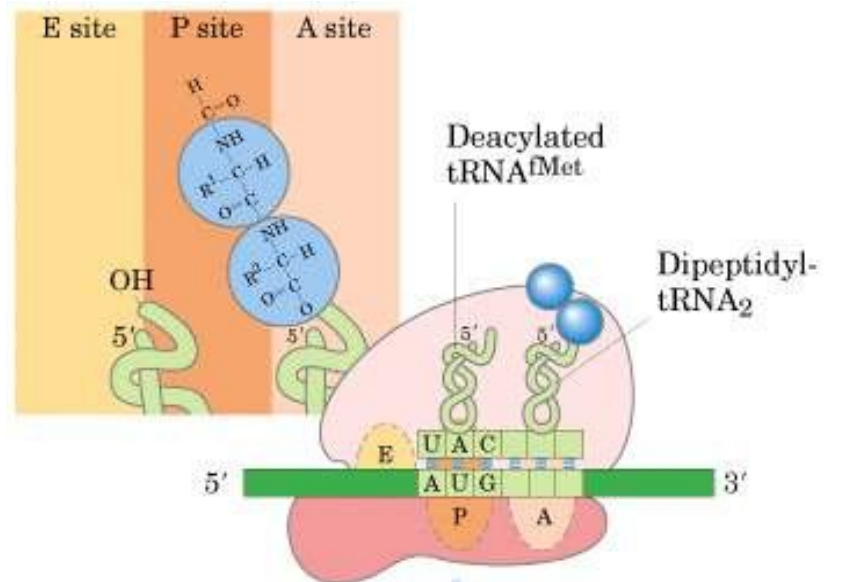
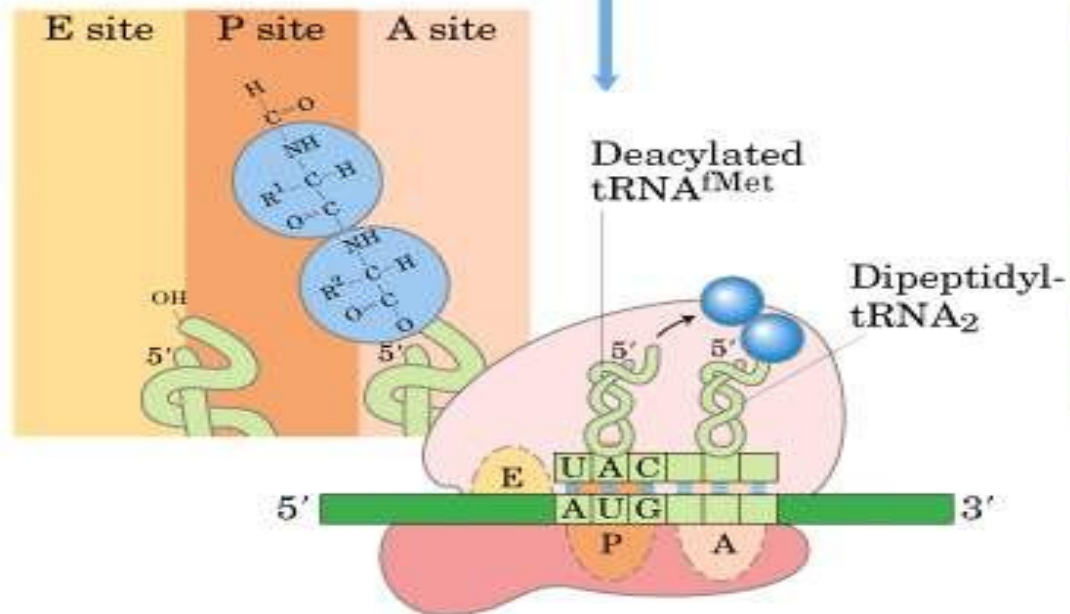
Giai đoạn kéo dài

Tương đối đơn giản và mang tính lặp lại

- **1 Aminoacyl-tARN kế tiếp đến bắt cặp bổ sung với codon tại vị trí A nhờ 1 nhân tố kéo dài EF (elongation factor)**
- **1 liên kết peptide được hình thành giữa a.a ở vị trí P và a.a ở vị trí A bởi enzyme peptidyl transferase**
- **tARN(met) ở P được giải phóng**
- **Quá trình được lặp lại lần lượt qua các codon còn lại tạo thành chuỗi polypeptide**
- **Giai đoạn kéo dài chấm dứt khi Rb dịch chuyển đến mã kết thúc**

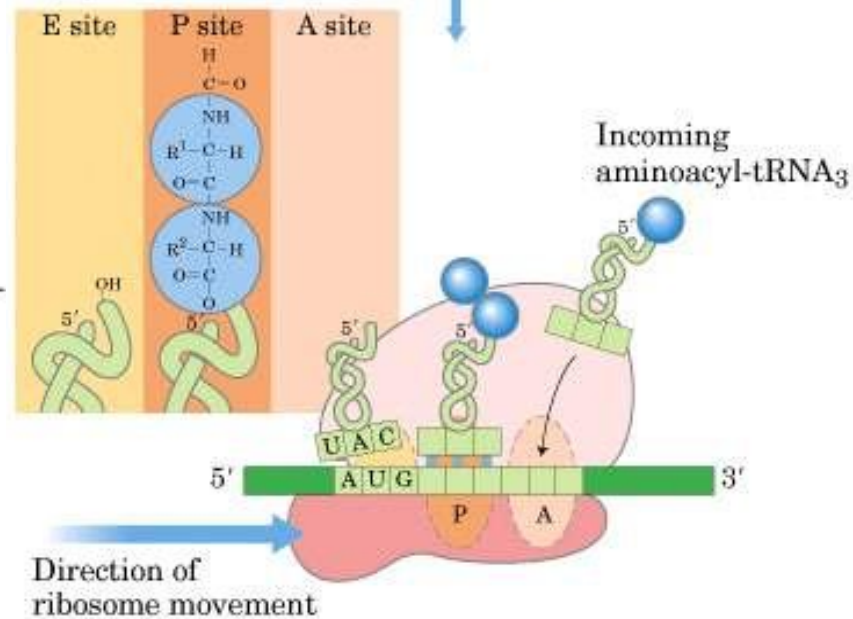


Peptide bond formation



Translocation

EF-G-GTP → EF-G + GDP + P_i



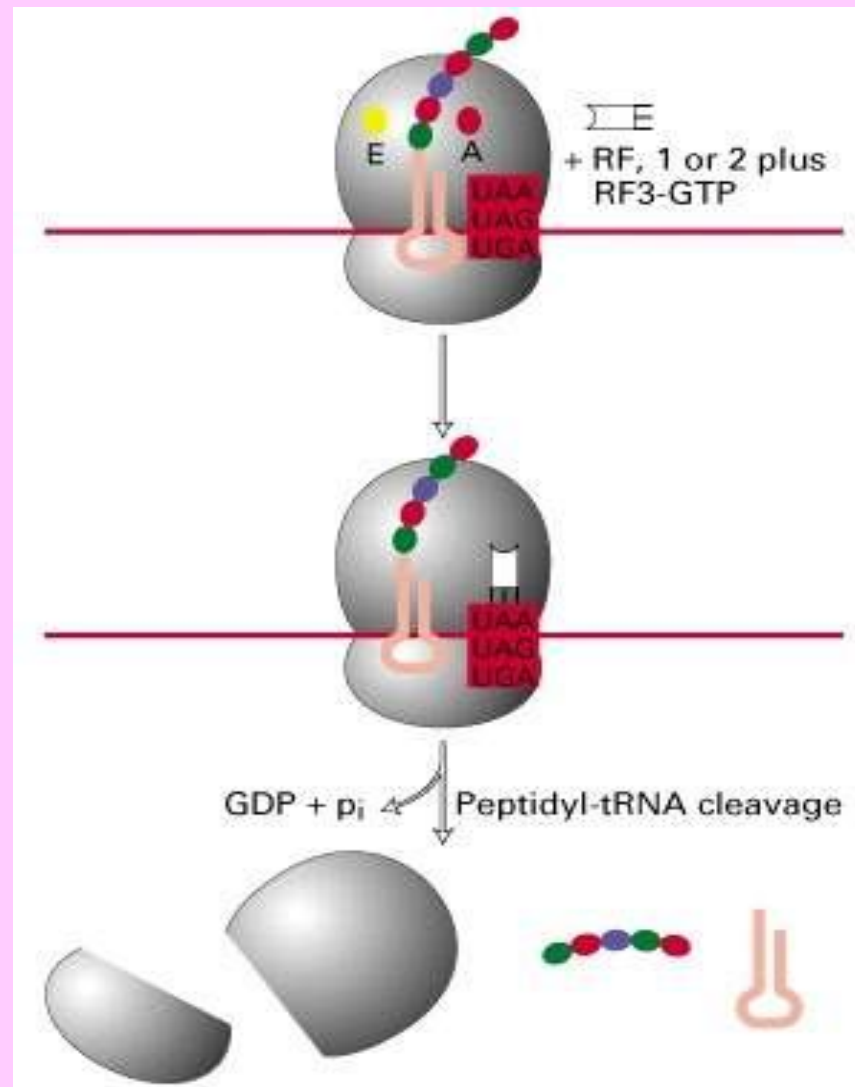
DIỄN TIẾN QUÁ TRÌNH GIẢI MÃ

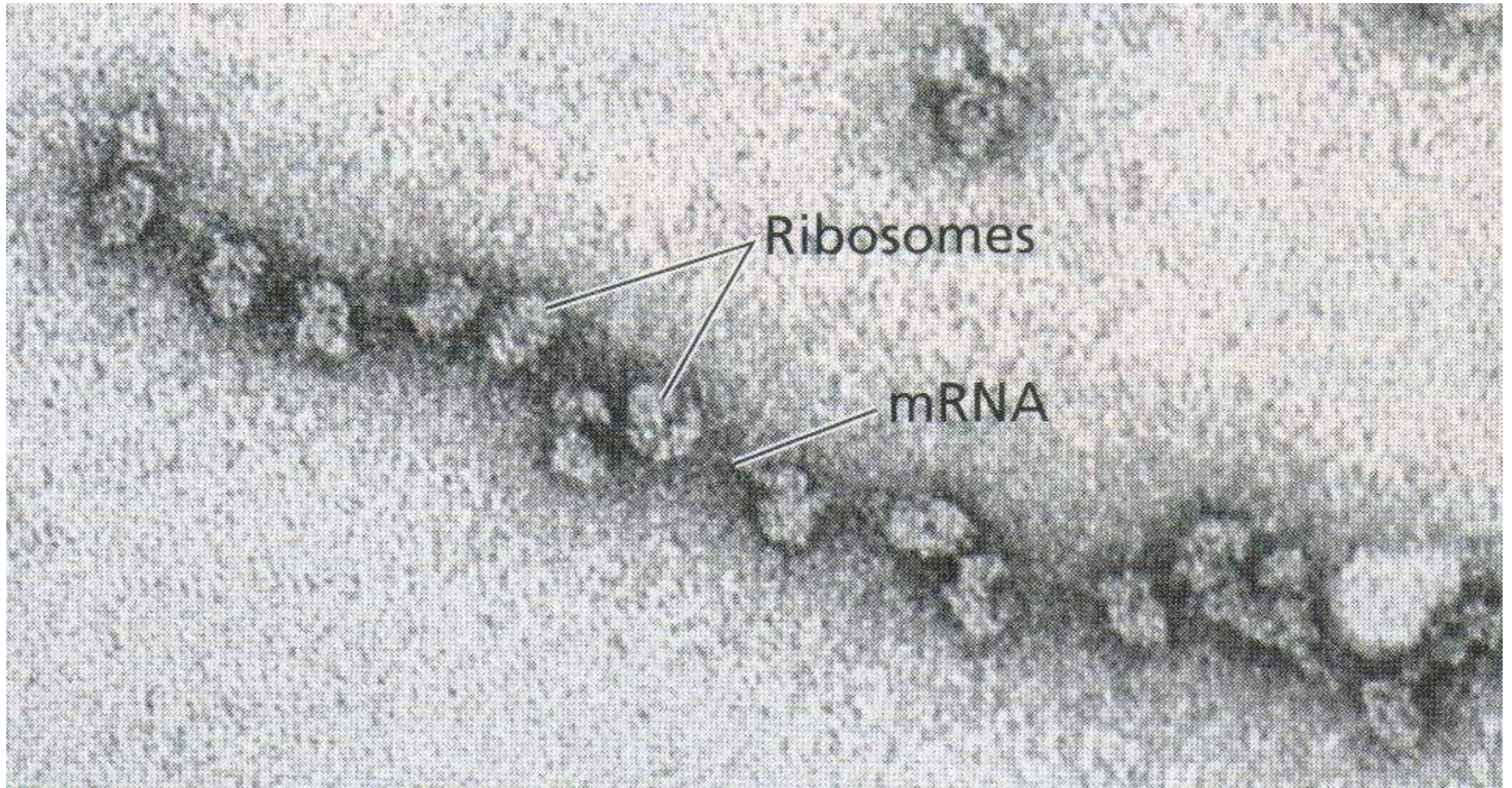
Giai đoạn kết thúc

- 1 nhân tố kết thúc (termination factor – TF) nhận biết mã kết thúc
- Các nhân tố phóng thích (releasing factor – RF) sẽ giải phóng tARN và chuỗi P.
- Rb rời khỏi mARN, 2 subunit tách đôi -> quá trình giải mã kết thúc

DIỄN TIẾN QUÁ TRÌNH GIẢI MÃ

Giai đoạn kết thúc





Giải mã (hình chụp kính hiển vi điện tử, đối tượng: *E.Coli*)

Nhiều ribosome bám trên cùng 1 mRNA

PHÂN BIỆT QUÁ TRÌNH GIẢI MÃ GIỮA PROKARYOTE VÀ EUKARYOTE

Chỉ tiêu	Prokaryote	Eukaryote
Ribosome	-nhỏ hơn -Rb 70S gồm 50S (rRNA 23S, 5S) và 30S (rRNA 16S)	-lớn hơn -Rb 80S gồm 40S(rRNA 18S) và 60S (rRNA 5S, 28S, 5,8S)
aa đầu tiên	N-formylmethionine	Methionine
Tín hiệu giúp Rb nhận biết chính xác mã mở đầu	Trình tự Shine-Dalgarno (trình tự giàu purin) trước codon mở đầu AUG	Vùng 5' nằm giữa AUG mở đầu và mũ m ⁷ G
Yếu tố mở đầu	3 yếu tố: IF-1, IF-2, IF-3	6 yếu tố: eIF1 → eIF6
Yếu tố kết thúc	3 yếu tố chính	1 yếu tố
mRNA	Là 1 polycistron	Là 1 monocistron
Không gian và thời gian	Phiên mã và dịch mã diễn ra đồng thời	Phiên mã diễn ra trong nhân trước, dịch mã diễn trong tế bào chất - sau



Giải mã (hình chụp kính hiển vi điện tử, đối tượng: *E.Coli*)

Phiên mã, giải mã diễn ra cùng lúc