

- + Topoizomerase làm nhiệm vụ mở xoắn của ADN làm cho phân tử ADN duỗi thẳng ra.
- + Helicase làm nhiệm vụ phân huỷ các liên kết hydro để tách 2 chuỗi polynucleotide rời nhau ra.
- + AND - ligase làm nhiệm vụ nối các đoạn AND - okazaki lại.
- + ARN - polymerase (primase) xúc tác tổng hợp đoạn ARN mới.
- Các loại protein: tham gia tái sinh ADN có nhiều loại protein đặc hiệu như protein SSB, protein Dna

12.2.2. Cơ chế tái sinh ADN

Quá trình tái sinh ADN ở procariote xảy ra qua ba giai đoạn: mở đầu, kéo dài, kết thúc.

* *Giai đoạn mở đầu*: topoizomerase tháo xoắn làm duỗi thẳng phân tử ADN. Helicase phân huỷ các liên kết hydro tách 2 chuỗi đơn của ADN, các phân tử protein SSB đến gắn vào chạc tái sinh. Primase xúc tác sự tạo đoạn ARN mới bổ sung vào mạch khuôn 3' - 5' của ADN.

* *Giai đoạn kéo dài*: giai đoạn kéo trên mạch dài diễn ra trên 2 chuỗi có khác nhau:

- Tổng hợp chuỗi sớm: khuôn 3' - 5' của ADN, sau khi tạo đoạn ARN mới, các nucleotide tự do tiếp tục đến gắn vào đầu 3' - OH của chuỗi theo nguyên tắc bổ sung với chuỗi làm khuôn nhờ AND - polymerase III.

- Tổng hợp chuỗi muộn: trên mạch khuôn 5' - 3' của ADN, do chiều tháo xoắn và chiều tổng hợp chuỗi polynucleotide ngược nhau cho nên quá trình tổng hợp không diễn ra liên tục mà tạo ra các đoạn okazaki ngược chiều với chiều phát triển của chạc tái sinh.

Mỗi đoạn okazaki có ARN mới riêng được tổng hợp nhờ primase. Tháo xoắn 1 đoạn vài trăm nucleotide nhờ primase xúc tác sẽ tổng hợp đoạn ARN mới với chiều kéo dài chuỗi ngược chiều tháo xoắn. Sau đó, nhờ AND - polymerase tổng hợp bổ sung đoạn còn lại tạo nên đoạn AND - okazaki. Nhờ đoạn okazaki mới được hoàn chỉnh ARN mới được tách ra nhờ AND - polymerase I sau đó thay vào bởi đoạn ADN tương ứng. Quá trình lại cứ tiếp diễn theo chu kỳ như vậy cho các đoạn okazaki tiếp theo.

Có trường hợp ở E.coli xảy ra quá trình tổng hợp 2 chuỗi xảy ra đồng thời và cùng chiều nhờ sự xoắn của chuỗi 5' - 3' vào enzyme làm đổi chiều của chuỗi.

* *Giai đoạn kết thúc*: quá trình kéo dài cứ tiếp diễn cho đến hết phân tử ADN. Kết quả các ARN mới được cắt bỏ nhờ ARN - polymerase I và được thay thế bằng các đoạn ADN tương ứng. Từ 1 phân tử ADN tạo ra 2 phân tử ADN hoàn toàn giống ADN mẹ.

Ở tế bào eucariote, quá trình tái sinh ADN cơ bản giống cơ chế tái sinh ở procariote, nhưng cũng có một số sai khác ở procariote. Cơ chế tái sinh diễn ra đồng thời ở nhiều điểm, thực hiện trên từng đơn vị sao chép. Mỗi đơn vị sao chép có điểm mở đầu, điểm kết thúc riêng. Tại mỗi điểm khởi đầu, quá trình tái sinh diễn ra theo 2 hướng tạo ra 2 chạc tái bản đối diện nhau. Các đơn vị tái bản phát triển theo hai hướng cho đến khi gặp nhau tạo thành hai phân tử ADN con.

Quá trình tái sinh có vai trò rất quan trọng trong việc thực hiện quá trình truyền đạt thông tin di truyền ở cấp độ phân tử. Nhờ tái sinh ADN tạo ra 2 ADN con hoàn toàn giống ADN mẹ giúp cho cơ chế truyền thông tin di truyền từ tế bào này sang tế bào khác, từ thế hệ này sang thế hệ khác.

12.3. Phiên mã

Phiên mã là quá trình tổng hợp ARN_m. Mã di truyền chứa đựng trong phân tử ADN được chuyển sang cho ARN_m để ARN_m trực tiếp thực hiện chức năng truyền đạt thông tin di truyền đến cấu trúc phân tử protein trong quá trình giải mã. Phiên mã là quá trình sao bản mã gốc trên gen sang bản mã hoá trên ARN_m. Quá trình phiên mã ở procariote và encariote cơ bản giống nhau nhưng cũng có một số đặc trưng riêng.

12.3.1. Phiên mã ở procariote

12.3.1.1. Các yếu tố tham gia phiên mã

* *Khuôn*. Để tổng hợp ARN cần có khuôn. Khuôn cho phiên mã có thể là ADN hay cũng có thể là ARN (với các virus chứa ARN làm vật chất mang thông tin di truyền) khác với trong tái sinh ADN, trong phiên mã khuôn là 1 đoạn ADN tương ứng 1 gen chứ không phải toàn bộ phân tử ADN. Đồng thời trên phân tử ADN chỉ sử dụng 1 chuỗi làm khuôn cho tổng hợp ARN - đó là chuỗi có chiều 3' - 5'. Mạch làm khuôn chỉ thuần tuý làm khuôn chứ không tham gia trong thành phần sản phẩm như trong tái sinh ADN.

Ở các virus loại ARN trong tế bào chỉ chứa ARN nên ARN được phiên mã từ ARN gốc, đó là quá trình phiên mã ngược.

* *Nguyên liệu*. Để phiên mã cần có các nguyên liệu ribonucleotide – Tri - P (ATP, GTP, UTP) vừa làm nguyên liệu vừa làm nguồn cung cấp năng lượng. Các nucleotide hiếm không phải là nguyên liệu cho phiên mã mà sau khi phiên mã xong các nucleotide mới bị biến đổi thành thành các nucleotide hiếm.

* *Enzyme*. Có nhiều loại enzyme tham gia vào quá trình phiên mã:

- ARN - polymerase phụ thuộc ADN xúc tác quá trình phiên mã từ ADN khuôn.
- ARN - polymerase phụ thuộc ARN xúc tác quá trình phiên mã từ ADN khuôn.
- Yếu tố Rho (ρ) xúc tác quá trình kết thúc chuỗi.

12.3.1.2. Giai đoạn mở đầu

Bước vào giai đoạn mở đầu, ARN-polymerase tách yếu tố σ ra khỏi lõi enzyme.

- Lõi enzyme tiến hành mở xoắn ADN.
- Yếu tố σ nhận biết chuỗi làm khuôn và điểm mở đầu nhờ tín hiệu mở đầu trên promotor của ADN.
- Hai chuỗi ADN được tách ra 1 đoạn khoảng 30 nucleotide tạo nên vùng phiên mã.

Chuỗi đơn của ADN làm khuôn (chuỗi 3' - 5') nhận một ribonucleotide gắn bổ sung vào nucleotide mở đầu trên chuỗi làm khuôn. Tiếp theo một nucleotide thứ hai tương ứng bổ sung với nucleotide đứng sau nucleotide mở đầu trên chuỗi đến gắn với nucleotide đầu

bằng liên kết photphodiester và tạo liên kết hydro với nucleotide bổ sung với nó trên chuỗi khuôn.

Sau khi liên kết photphodiester đầu trên này được tạo ra, yếu tố σ tách khỏi phức hệ phiên mã để cho lõi enzyme làm nhiệm vụ kéo dài chuỗi. Trên vùng phiên mã hình thành dạng cấu trúc 3 sợi: 1 sợi của chuỗi ADN còn lại và 2 sợi của phân tử lai AND - ARN.

12.3.1.3. Giai đoạn kéo dài chuỗi

Quá trình kéo dài chuỗi được thực hiện tại bóng phiên mã. Nhờ lõi enzyme, các nucleotide trong môi trường tế bào đến tạo liên kết photphodiester với nucleotide của chuỗi ARN đang kéo dài về đầu 3' và tạo liên kết bổ sung với nucleotide trên chuỗi ADN khuôn tạo nên đoạn phân tử lai. Đoạn phân tử lai có chiều dài 12 cặp nucleotide.

Quá trình kéo dài chuỗi khá phức tạp, xảy ra nhiều phản ứng theo chu kỳ tạo nên sự ổn định của vùng mở xoắn (vùng phiên mã). Vùng phiên mã có chiều dài 30 cặp nucleotide, trong đó chứa đoạn phân tử lai AND - ARN dài 12 cặp nucleotide và chiều dài vùng hoạt động phiên mã dài 17 cặp nucleotide. Quá trình đó xảy ra các phản ứng theo tuần tự sau:

- Tháo xoắn của ADN. Cắt liên kết hydro của cặp nucleotide sát đầu tháo xoắn để mở rộng vòng phiên mã thành 31 cặp nucleotide.
- Đóng xoắn trở lại. Tạo liên kết bổ sung của cặp nucleotide phía cuối cùng phiên mã để vùng phiên mã phục hồi lại chiều dài 30 cặp nucleotide.
- Kéo dài thêm một nucleotide của chuỗi ARN đang được tổng hợp theo nguyên lý bổ sung với nucleotide trên mạch khuôn của ADN. Chiều dài đoạn phân tử lai AND - ARN tăng thêm 1 cặp nucleotide.
- Phân cắt liên kết hydro tạm thời giữa nucleotide trên mạch ARN với nucleotide trên mạch khuôn ADN ở cuối đoạn phân tử lai, tách 2 chuỗi AND - ARN ra bớt 1 cặp nucleotide để khôi phục lại chiều dài đoạn phân tử lai 12 cặp nucleotide.

Quá trình cứ tiếp diễn theo chu kỳ như vậy nhờ sự xúc tác của lõi enzyme cho đến khi gặp tín hiệu kết thúc thì dừng lại.

12.3.1.4. Giai đoạn kết thúc chuỗi

Có 2 cách kết thúc chuỗi: kết thúc nhờ yếu tố ρ và kết thúc không cần yếu tố ρ .

* *Kết thúc nhờ yếu tố ρ* . Trên bề mặt của một số vị trí kết thúc quá trình phiên mã có mặt protein Rho (yếu tố ρ). Yếu tố ρ di chuyển trên ARN mới được tổng hợp và đi tới vùng phiên mã, ở đó, yếu tố ρ tách xoắn AND - ARN lai và giải phóng ARN kết thúc quá trình phiên mã.

* *Kết thúc không nhờ yếu tố ρ* . Trên ARN có tín hiệu kết thúc với đặc trưng:

- Có một vùng cấu trúc dạng ngược chiều (palindrome) không hoàn toàn và giàu GC.
- Có một vùng khác giàu AU.

Vùng giàu GC nối tiếp ngay vùng giàu AU. Vùng giàu GC liên kết bổ sung chặt chẽ hơn vì có 3 liên kết hydro cho 1 cặp nucleotide, còn vùng giàu AU liên kết yếu hơn do chỉ có 2 liên kết hydro cho 1 cặp nucleotide. Do vậy, vùng giàu AU dễ bị tách mạch

ARN ra khỏi phân tử lai AND - ARN nhờ ARN - polymerase. Phiên mã vùng palindroma tạo ra trình tự ARN tự bổ sung và chúng sẽ tạo nên cấu trúc dạng cái trâm cài tóc bền vững làm kết thúc quá trình tổng hợp ARN.

Quá trình kết thúc tổng hợp ARN diễn ra các hoạt động:

- Tách liên kết bổ sung của đoạn phân tử lai AND - ARN để tháo rời ARN ra khỏi phân tử lai.
- Giải phóng ARN ra khỏi vùng phiên mã tạo nên proARN (tiền ARN).
- Lôi enzyme tách khỏi phức hợp và đến liên kết trở lại với yếu tố σ để phục hồi enzyme ARN - poly.

12.3.2. Phiên mã ở eucariote

Quá trình phiên mã ở eucariote cơ bản giống ở procariote. Tuy nhiên do đặc điểm cấu tạo ADN của eucariote khác với ADN của procariote nên trong quá trình tổng hợp có một số khác nhau:

- ADN của procariote phần lớn đều chứa các nucleotide tham gia mã hoá protein nên sau khi tổng hợp proARN, từ proARN biến đổi thành ARN_m không qua nhiều khâu phức tạp.
- ADN của eucariote có chứa các vùng mã hoá protein (vùng exon - E) xen kẽ các vùng không mã hoá protein (vùng intron - I). Do vậy, sau khi tổng hợp proARN, từ proARN phải qua quá trình cắt bỏ các intron và ghép các exon lại rất phức tạp.
- Vùng khởi động promotor của ADN ở eucariote cũng có cấu trúc khác promotor của procariote.

12.3.2.1. Tổng hợp proARN

Cũng như ở procariote, sự phiên mã ở eucariote được xúc tác bởi ARN - polymerase. Sự phiên mã tiến hành trên suốt đoạn gen bao gồm cả những exon và intron để tạo nên proARN dài tương ứng chiều dài của gen.

Cơ chế phiên mã cũng xảy ra tương tự ở procariote.

Quá trình phiên mã kết thúc khi gặp tín hiệu kết thúc. Đầu 3' của proARN sẽ kết thúc bằng một trình tự đuôi. Sản phẩm của quá trình này là phân tử proARN có trình tự nucleotide bổ sung với chuỗi làm khuôn của ADN, trong đó, G tương ứng dC, A tương ứng dT, U tương ứng dA và C tương ứng dG. ProARN mã hoá cả các đoạn exon và intron nhưng chưa có đầu mũ và đuôi.

12.3.2.2. Quá trình trưởng thành của ARN_m

Từ proARN qua những biến đổi phức tạp mới tạo ra được ARN_m trưởng thành tham gia vào dịch mã.

- Thêm mũ vào đầu 5': proARN chưa có phần mũ cho nên giai đoạn đầu của quá trình trưởng thành ARN_m là gắn thêm mũ vào đầu 5'. Mũ được tổng hợp riêng trong

nhân, sau đó, gắn vào với proARN ở phía 5' bởi liên kết anhydric acid. Vì nucleotide đầu tiên trên phía 5' bắt đầu bằng gốc triphosphat nên GMP của mũ liên kết với nhóm triphosphat này bằng liên kết anhydric acid chứ không tạo liên kết ester với nhóm 3' - OH. Kết quả phản ứng này tạo ra cấu trúc G - P.P.P.A, có đầu 3' - OH của G tự do.

Như vậy, ARN_m của eucariote không có gốc photpho tự do ở đầu 5' mà đã bị mũ bảo vệ, do đó không bị các ribonuclease phân huỷ.

Mũ còn có chức năng nhận biết cho tiểu đơn vị ribosome gắn vào đầu 5' của ARN_m.

- Thêm đuôi vào đầu 3': cũng như mũ đuôi không được mã hoá trong ADN nên trong phân tử pro ARN chưa có phần đuôi. Đuôi poly A được nối vào đầu 3' của pro ARN nhờ enzyme poly A - polymerase.

- Cắt bỏ các đoạn intron: vì trên pro ARN có các đoạn không mã hoá acid amin (intron) cho nên để tạo ra ARN_m cần cắt bỏ các đoạn intron.

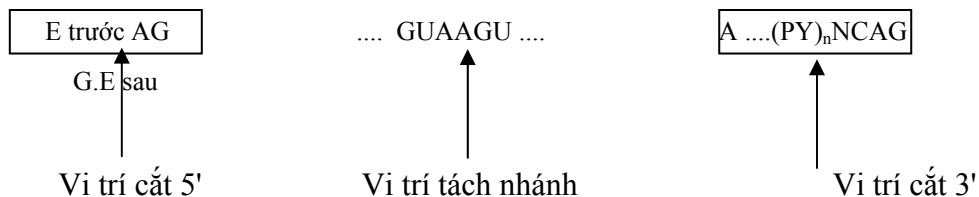
Để tín hiệu di truyền được truyền đạt chính xác, sự cắt nối đòi hỏi có độ chính xác cao. Vì chỉ cần cắt lệch một nucleotide thì toàn bộ mã di truyền phía sau vị trí cắt bị thay đổi và phân tử protein do ARN_m đó tổng hợp có sự thay đổi lớn về thành phần acid amin.

Các trình tự cắt nối thường gặp

Vùng của gen	E trước	I	E sau
Ovalbumin (I ₂)	UAAG	GUGAGC UUACAG	GUUG
Ovalbumin (I ₃)	UCAG	GUACAG AUUCAG	UCUG
β. Globin (I ₁)	GCAG	GUUGGU.... CCUAG	GCUG
β. Globin (I ₂)	CAGG	GUUGGU.... CCACAG	UCUC
Immunoglobulin λ(I ₁)	UGAG	GUCAGC.... UUGCAG	GGGC

Những trình tự trên khác nhau nhưng có điểm chung là đầu 5' của intron luôn là GU còn đầu 3' luôn là AG, đầu 3' của exon trước phần lớn là AG còn đầu 5' của exon sau thường là G.

Ở động vật có xương sống có trình tự chung là:



Trong đoạn intron có vị trí quan trọng tham gia cơ chế cắt nối của proARN. Vị trí này nằm ở vùng khoảng 20 - 50 nucleotide phía trước vị trí cắt nối của đầu 3', vị trí này gọi là vị trí tách nhánh, trong vị trí này có chứa A.

Quá trình cắt nối xảy ra khá phức tạp.

+ Bước 1: cắt liên kết photphodiester ở vị trí cắt đầu 5', tức là vị trí giữa đầu 3' của exon. Gốc tác động bởi enzyme trong phản ứng này là 3' -OH của A ở vị trí tách nhánh. Liên kết 2' - 5' photphodiester tạo thành giữa A và đầu 5' của I hình thành cấu trúc dạng vòng thông lọng và đầu 3' của exon trước ở trạng thái tự do (3' - OH).

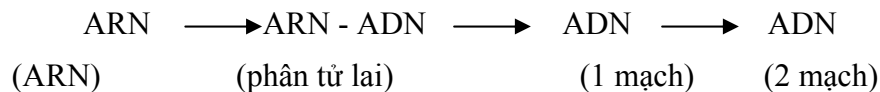
+ Bước 2: tạo vết cắt thứ 2 tại vị trí cắt 3', exon trước và exon sau nối lại với nhau. Thông lọng được giải phóng, tức là intron tách ra khỏi proARN.

ARN_m trưởng thành chỉ còn lại chiều dài khoảng 1/10 của proARN do các intron bị cắt bỏ.

Kết quả của quá trình lắp ghép mũ, đuôi và cắt nối đã tạo nên phân tử ARN_m trưởng thành.

12.3.3. Phiên mã ngược

Đây là quá trình tổng hợp ADN trên khuôn ARN. Quá trình này xảy ra ở các virus chứa ARN. Khi tế bào bị nhiễm virus, ARN của virus xâm nhập vào tế bào nhận cùng với enzyme phiên mã ngược (ARN - polymerase - phụ thuộc ARN). Quá trình tổng hợp chuỗi ADN mới bổ sung với chuỗi ARN khuôn xảy ra tạo nên phân tử lai AND - ARN. Sau đó, enzyme làm thoái hoá ARN và thay vào đó bằng chuỗi ADN:



Quá trình phiên mã đã truyền đạt thông tin cấu trúc phân tử protein được mã hoá trong gen (ADN) bằng các bộ mã gốc (mã bộ ba) sang phân tử ARN_m. Từ ARN_m được giải mã qua quá trình tổng hợp protein sẽ tạo nên phân tử protein.

12.4. Dịch mã - Tổng hợp protein

Tổng hợp protein là chặng cuối của quá trình truyền đạt thông tin di truyền để từ đó biểu hiện ra tính trạng. Đây là quá trình rất phức tạp và cũng vô cùng quan trọng nên đã được nhiều nhà khoa học tập trung nghiên cứu.

Quá trình tổng hợp protein diễn ra tại ribosome với sự tham gia của nhiều thành phần khác nhau.

12.4.1. Các thành phần tham gia quá trình dịch mã

Có nhiều yếu tố tham gia quá trình tổng hợp protein. Mỗi yếu tố có cấu trúc và chức năng riêng tham gia vào một vài khâu của quá trình, nhưng tất cả các yếu tố đó đều cùng phối hợp nhịp nhàng, ăn khớp nhau chặt chẽ bảo đảm cho quá trình tổng hợp protein xảy ra nhanh chóng, chính xác.

* *AND*. Phân tử ADN chứa đựng thông tin cấu trúc của phân tử protein ở dạng mã hoá bởi mã bộ ba. Thành phần nucleotide của ADN quyết định thành phần acid amin của protein do nó mã hoá.

- ADN của procariote gồm các nucleotide tham gia mã hoá acid amin. Bởi vậy, ở procariote, thành phần trật tự các nucleotide trên ADN (trong 1 gen) qui định thành phần trật tự của phân tử protein được gen đó mã hoá.

- ADN của eucariote gồm có các đoạn chứa các nucleotide mã hoá các acid amin (exon) xen kẽ các nucleotide không mã hoá acid amin (intron). Bởi vậy, không phải tất cả các nucleotide trên ADN mã hoá phân tử protein mà chỉ có các nucleotide trong các đoạn exon mới tham gia mã hoá protein.

* ARN_m . Thông tin cấu trúc của phân tử protein được mã hoá trên gen (một đoạn của ADN) được phiên mã sang phân tử ARN_m . Thường một phân tử ADN chứa đựng thông tin cấu trúc cho nhiều phân tử protein. Một gen mã hoá một phân tử protein. Bởi vậy, khi 1 phân tử ADN phiên mã sẽ cho nhiều ARN_m . Mỗi gen cấu trúc phiên mã ra một ARN_m và thực hiện việc tổng hợp một phân tử protein.

Trên ARN_m chứa đựng các mã bộ ba, đó là bộ ba mã hoá, chúng được sao từ bộ ba mã gốc của ADN.

* ARN_t . Làm nhiệm vụ vận chuyển acid amin từ tế bào chất đến ribosome, đồng thời nhận biết vị trí của bộ ba mã hoá trên ARN_m nhờ bộ ba đối mã trên ARN_t để đặt đúng vị trí acid amin trên chuỗi polypeptid. ARN_t là cầu nối trung gian giữa ARN_m với polypeptid, là chìa khoá để giải mã. Mỗi acid amin có vài loại ARN_t , đó là các izoacceptor ARN_t .

* ARN_r . Tham gia cấu trúc ribosome. Trong ribosome có nhiều loại ARN_r khác nhau để cùng với protein cấu trúc nên các phần của ribosome, đặc biệt là tạo nên 2 vị trí A và P trong tiểu thể lớn của ribosome để thực hiện cơ chế giải mã ở đó. Trong tiểu thể bé của ribosome có loại ARN_r (như ARN_r - 16S ở procariote, ARN_r - 28S ở eucariote) - loại ARN_r này có 1 đoạn ngắn có cấu trúc bổ sung với đoạn không mã hoá nằm trước mã mở đầu của ARN_m . Nhờ tính chất bổ sung của 2 loại ARN đó mà đặt đúng vị trí ARN_m ở giai đoạn mở đầu sao cho bộ ba mở đầu của ARN_m nằm vào đúng vị trí P của ribosome.

* *Các enzyme tham gia dịch mã:*

- Aminoacyl - ARN_t - sintetase là loại enzyme xúc tác quá trình hoạt hóa acid amin, gắn acid amin vào với ARN_t tạo phức aminoacyl - ARN_t để đi đến ribosome. Mỗi acid amin có loại enzyme tương ứng xúc tác.

- Peptidyl - transferase là enzyme xúc tác phản ứng cắt liên kết ester giữa chuỗi polypeptid đang được tổng hợp với ARN_t ở vị trí P của ribosome, đồng thời vận chuyển chuỗi polypeptid đó từ vị trí P sang vị trí A và tổng hợp lại liên kết peptid giữa chuỗi polypeptid với acid amin đang có ở vị trí A.

- Translocase là enzyme xúc tác sự di chuyển của ribosome trên ARN_m theo chiều 5' - 3'. Mỗi lần di chuyển ribosome đi được 3 nucleotide. Sau khi ribosome di chuyển, phức hệ ARN_t mang chuỗi polypeptid từ vị trí A được chuyển sang vị trí P, còn vị trí A không có acid amin nào nên sẵn sàng tiếp nhận phức hệ ARN_t mang acid amin mới vào để tiếp tục quá trình tổng hợp.

** Các yếu tố tham gia dịch mã:*

Trong quá trình tổng hợp protein có nhiều yếu tố tham gia vào cơ chế dịch mã như vai trò của chất kích thích, chất hỗ trợ.

- Yếu tố mở đầu: Tham gia vào giai đoạn mở đầu quá trình tổng hợp chuỗi polypeptid, có nhiều loại yếu tố mở đầu:

+ Ở procariote có IF₁, IF₂, IF₃.

+ Ở eucariote có eIF₁, eIF₂, eIF₃, eIF₄

- Yếu tố kéo dài: tham gia vào giai đoạn kéo dài chuỗi polypeptid ở ribosome có nhiều yếu tố kéo dài với chức năng khác nhau.

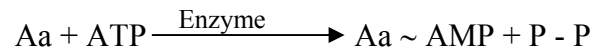
- Yếu tố kết thúc hay yếu tố giải phóng tham gia vào giai đoạn kết thúc tổng hợp chuỗi polypeptid và giải phóng chuỗi polypeptid khỏi ribosome.

12.4.2. Cơ chế dịch mã

12.4.2.1. Hoạt hóa acid amin

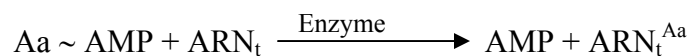
Tự acid amin không di chuyển được đến ribosome mà phải nhờ ARN_t. Để gắn vào ARN_t, acid amin phải được hoạt hoá. Sự hoạt hoá acid amin nhờ có ATP cung cấp năng lượng, enzyme aminoacyl - ARN_t - sintetase xúc tác. Quá trình diễn ra qua 2 giai đoạn:

- Hoạt hoá acid amin, tạo aminoacyl - adenilat:



Aa ~ AMP là phức linh động nhờ có liên kết cao năng giữa Aa với AMP làm cho Aa có hoạt tính cao để thực hiện tiếp phản ứng sau:

- Tạo aminocyl - ARN_t (ARN_t^{Aa}):



Phức hệ ARN_t^{Aa} di chuyển đến ribosome tham gia vào quá trình tổng hợp chuỗi polypeptid tại đó.

12.4.2.2. Giai đoạn mở đầu

Giai đoạn mở đầu xảy ra qua nhiều bước:

- Bước 1. Tiểu đơn vị ribosome 30S kết hợp với yếu tố khởi đầu IF - 3. Sau đó, tiểu đơn vị 30S lại liên kết với ARN_m: mã mở đầu trên ARN_m nằm đúng vị trí P nhờ đoạn không mã hoá của ARN_m nhận biết đoạn bổ sung trên ARN_{16S} của tiểu đơn vị và liên kết với nhau để đặt đúng mã mở đầu của ARN_m vào vị trí P.

- Bước 2. ARN_m kết hợp với yếu tố mở đầu IF₂. Qua yếu tố mở đầu, phức hệ ARN_t^{f.Met} đến gắn vào mã mở đầu ở vị trí P. ARN_t^{f.Met} là phức hợp gồm ARN_t mà có bộ ba đối mã tương ứng bổ sung với bộ ba mở đầu trên ARN_m - đó là ARN_t mở đầu. ARN_t

mở đầu này được gắn f.Met vào. f.Met là acid amin mở đầu. Nó là loại acid amin được tạo ra từ metionin.

- Bước 3. Phức hợp trên kết hợp với tiểu thể lớn của ribosome (tiểu thể 50S). GTP thủy phân tạo GDP + H_3PO_4 để cung cấp năng lượng và tách GDP H_3PO_4 ra khỏi phức hệ. IF cũng được giải phóng. Phức hợp mở đầu được hình thành, phức hợp mở đầu gồm:

- + Ribosome, gồm cả 2 tiểu thể.
- + ARN_m có mã mở đầu nằm ở vị trí P của ribosome.
- + Phức hợp $ARN_t^{f.Met}$ gắn với mã mở đầu.

12.4.2.3. Giai đoạn kéo dài chuỗi polypeptid

Giai đoạn kéo dài chuỗi xảy ra theo chu kỳ, mỗi chu kỳ nối dài thêm một acid amin vào chuỗi polypeptid. Một chu kỳ xảy ra qua 3 bước:

- Bước 1. ARN_t^{Aa} mang acid amin mới vào vị trí A đang trống của ribosome, bộ ba đối mã của ARN_t^{Aa} liên kết bổ sung với bộ ba mã hoá acid amin đang được nối vào và đặt phức hệ ARN_t^{Aa} vào vị trí A của ribosome. Tùy theo bộ ba mã hoá của ARN_m nằm ở vị trí A mã hoá cho acid amin nào mà phức hệ ARN_t^{Aa} tương ứng tham gia vào quá trình này.

- Bước 2. Tạo liên kết peptid nhờ enzyme peptidyl - transferase xúc tác phân huỷ liên kết giữa acid amin với ARN_t nằm ở vị trí P. Sau đó vận chuyển chuỗi polypeptid đang tổng hợp này sang vị trí A của ribosome. Tại vị trí A, liên kết peptid được hình thành giữa acid amin ở vị trí A (Aa nằm trên phức hệ ARN_t^{Aa} mới chuyển vào) với acid amin cuối cùng của chuỗi polypeptid đang được tổng hợp.

- Bước 3. Dịch chuyển ribosome nhờ transferase, ribosome dịch chuyển, trên ARN_m theo chiều 5' - 3'. Mỗi lần di chuyển ribosome chuyển sang phía 3' của ARN_m một đoạn dài 3 nucleotide - vừa trọn một bộ ba. Năng lượng cung cấp cho sự di chuyển này là GTP. Sau khi dịch chuyển, ARN_t nằm vùng P không mang acid amin sẽ được giải phóng ra tế bào chất để tiếp tục thực hiện vận chuyển acid amin tiếp theo. Phức hợp ARN_t mang chuỗi polypeptid chuyển sang vị trí P, vị trí A bỏ trống.

Đến đây kết thúc một chu kỳ kéo dài thêm một acid amin vào chuỗi polypeptid đang tổng hợp. Tùy vị trí A của ribosome đang có bộ ba mã hoá nào của ARN_m mà phức hợp ARN_t^{Aa} mang acid amin tương ứng vào tiếp tục chu kỳ tiếp theo.

12.4.2.4. Giai đoạn kết thúc tổng hợp chuỗi polypeptid

Quá trình kéo dài chuỗi cứ tiếp diễn đến khi có một trong ba bộ ba kết thúc (UAG, UGA hoặc UAA) nằm ở vị trí A của ribosome thì kết thúc quá trình tổng hợp chuỗi polypeptid ở ribosome. Đó là vì các bộ ba này không mã hoá acid amin, nên không có phức hợp ARN_t mang acid amin vào kéo dài chuỗi, quá trình bị gián đoạn nên chuỗi polypeptid được phóng thích ra khỏi ribosome và kết thúc quá trình tổng hợp.

Quá trình kết thúc xảy ra nhờ yếu tố kết thúc RF và diễn ra các hoạt động:

- Thủy phân liên kết giữa chuỗi polypeptid với ARN_t để giải phóng chuỗi polypeptid ra tế bào chất.

- ARN_m rời khỏi ribosome. Nếu quá trình tổng hợp protein diễn ra trên polyxom (poly ribosome) thì trên mỗi ribosome tiến hành tổng hợp một chuỗi polypeptid. Các chuỗi polypeptid được tổng hợp từ một polyxom có thành phần, trật tự các acid amin giống nhau, tức là tạo ra cùng một protein bậc I như nhau vì cùng được tổng hợp từ một bản phiên mã: ARN_m

12.4.2.5. Quá trình hoàn thiện phân tử protein

Sau khi rời khỏi ribosome, chuỗi polypeptid phải trải qua một số biến đổi để trở nên phân tử protein trưởng thành đi vào các bộ phận của tế bào để thực hiện chức năng của nó.

Ở procariote, do acid amin mở đầu là formin - metionin (f.Met) nên trước hết acid amin này được loại bỏ khỏi chuỗi polypeptid nhờ peptidase. Ở eucariote, nếu acid amin mở đầu là metionin thì phản ứng này có thể không xảy ra.

Sau khi loại bỏ acid amin mở đầu, chuỗi polypeptid trở nên phân tử protein bậc I. Từ đó trở thành liên kết hydro để tạo nên cấu trúc bậc II, hình thành các liên kết disunfit, liên kết ion, liên kết kỵ nước... để tạo cấu trúc bậc III theo nhu cầu của tế bào.

Phân tử protein hoàn thiện sẽ được vận chuyển đến nơi sử dụng. Để đưa các protein đến đúng địa chỉ sử dụng nhờ hoạt động của một đoạn ngắn polypeptid (dài khoảng 15 - 20 acid amin) ở đầu amin của chuỗi polypeptid, đó là trình tự tín hiệu. Khi protein đã đến nơi sử dụng, đoạn trình tự tín hiệu vận chuyển protein đến đích này sẽ bị cắt bỏ, lúc đó, protein mới trở nên protein trưởng thành để thực hiện chức năng của nó do tế bào phân công.

12.4.3. Điều hoà tổng hợp protein

Sự điều hoà tổng hợp protein đảm bảo cho sự cung cấp protein đúng theo yêu cầu của tế bào. Sự điều hoà tổng hợp protein ở procariote và ở eucariote có những nét khác nhau nhưng đều diễn ra ở cả ba giai đoạn

- Điều hoà phiên mã.
- Điều hoà dịch mã.
- Điều hoà bài tiết protein.

Trong đó quan trọng nhất là điều hoà phiên mã.

12.4.3.1. Điều hoà phiên mã

Điều hoà tổng hợp protein ở giai đoạn phiên mã thực hiện qua operon. Điều hoà qua operon được Monod.J và Jacob.E phát hiện ra năm 1965.

* *Khái niệm operon.* Năm 1965, J.Monod và E.Jacob đưa ra khái niệm operon: operon là một đoạn ADN, trên đó có một nhóm gen hoạt động phối hợp với nhau để điều hoà sự tổng hợp một nhóm protein.

Thành phần operon gồm có:

- Một gen khởi động - promotor (P).
- Một gen tác động - operator (O).