



Acid nucleic của virus

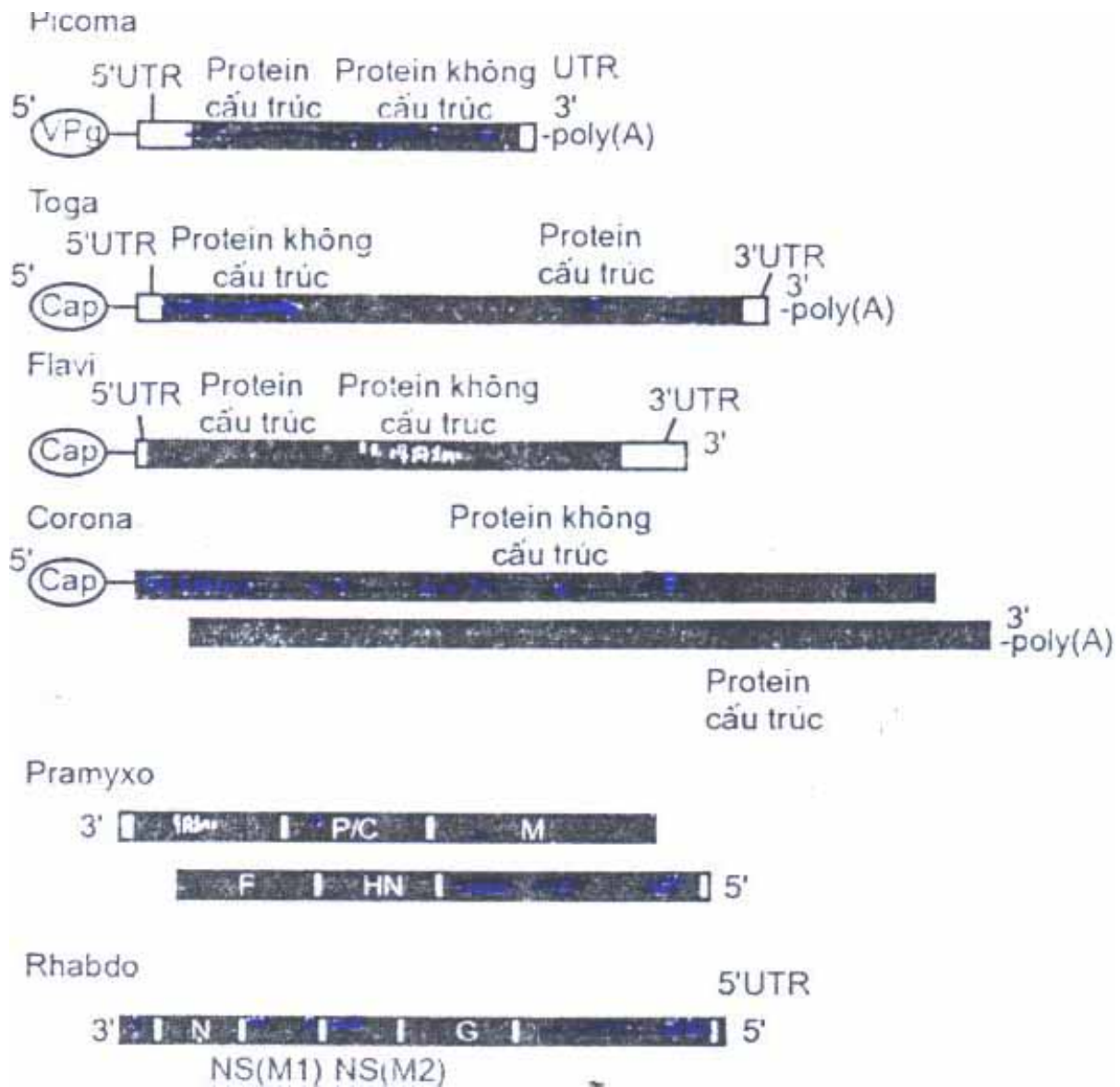
Bởi:

Nguyễn Lâm Dũng

Acid nucleic của virus

Các loại genom của virus

Như trên đã nói, genom của virus rất đa dạng về cấu trúc, kích thước và thành phần nucleotid. Chúng có thể là ADN hoặc ARN, chuỗi đơn hoặc kép, thẳng hoặc khép vòng. Kích thước genom có thể từ 3500 nucleotid (ở phage nhỏ) đến 560.000 nucleotid (ở virus herpes). Các trình tự genom virus phải được đọc mã bởi tế bào chủ, cho nên các tín hiệu điều khiển phải được các yếu tố của tế bào chủ nhận biết. Các yếu tố này thường liên kết với protein virus. Do có kích thước nhỏ nên genom virus đã tiến hoá để sử dụng tối đa tiềm năng mã hóa của mình. Vì thế hiện tượng gen chồng lớp và hiện tượng cắt nối (splicing) mARN ở virus là rất phổ biến.



Hình 7. Sơ đồ genôm của virus ARN cho thấy sự phân bố của các gen mã hoá cho protein cấu trúc, protein không cấu trúc, cũng như các vùng không dịch mã UTR (untranslated region). Theo J. Nicklin et al., Instant Notes in Microbiology, Bios Scientific Publisher, 1999.

Genom của virus được xác định dựa theo các thông số sau: * Thành phần acid nucleic (ADN hay ARN). * Kích thước genôm, chuỗi đơn hay kép. * Cấu trúc đầu chuỗi * Trình tự nucleotid * Khả năng mã hoá * Các yếu tố điều hoà, promoter, enhancer và terminator

Một số đặc điểm của genôm virus cần lưu ý:

- * Genôm ADN kép (ví dụ ở virus pox, herpes và adeno) thường có kích thước lớn nhất.
- * Genôm ADN kép khép vòng (siêu xoắn hoặc không siêu xoắn) thường thấy ở phage*

Genom ADN kép ở virus vaccinia có hai đầu khép kín ADN đơn dạng thẳng (ví dụ virus parvo) có kích thước rất nhỏ. Các ADN dạng thẳng thường có trình tự lặp lại ở đầu. * Tất cả genom ARN kép đều phân đoạn (chứa một số đoạn không giống nhau, mang thông tin di truyền tách biệt). * Genom ARN đơn được phân thành ARN dương (genom +) và ARN âm (genom -) dựa vào trình tự nucleotid của mARN. Phần lớn genom ARN đơn đều không phân đoạn trừ virus orthomyxo (virus cúm). * Virus retro có genom là hai phân tử ARN đơn giống nhau, nối với nhau ở đầu 5 nhờ cầu nối hydro. * Virus đốm cây Alfalfa (AMV) có genom gồm 4 đoạn ARN đơn, dương, dạng thẳng, được gói vào 4 vỏ capsid khác nhau nên còn gọi là virus dị capsid (hetero-capsidic) để phân biệt với virus mà tất cả các đoạn đều được gói trong một hạt-virus đồng capsid (isocapsidic).

Phương pháp nghiên cứu

Những tiến bộ về sinh học phân tử trong vài thập niên gần đây đã giúp cho việc nghiên cứu acid nucleic trở nên dễ dàng và nhanh chóng hơn. Hệ gen của các đại diện của hầu hết các họ virus đều được giải trình tự, các khung đọc mở của chúng đã được biết rõ, các sản phẩm của hệ gen đã được xác định tính chất. Điều đó cho phép có thể so sánh các trình tự đã biết trong ngân hàng gen với các trình tự đang nghiên cứu và so sánh với các trình tự của các sinh vật khác, nhân sơ và nhân thật, qua đó có thể thấy sự tương đồng cũng như sự tiến hoá trong sinh giới. Gen virus cũng có thể được tách dòng vào các vectơ khác nhau và được phân tích nhờ kỹ thuật phát sinh đột biến định hướng (site-directed mutagenesis) và kỹ thuật phát sinh đột biến đặc hiệu (site-specific mutagenesis) để nghiên cứu vai trò của các acid amin riêng biệt trong việc xác định cấu trúc và chức năng của protein. Virus ADN thường được biểu hiện trên sơ đồ là một phân tử dạng thẳng với các vị trí enzym giới hạn nằm rải rác khắp genom. Có hàng chục enzym giới hạn đã được dùng để phân cắt ADN thành các đoạn nhỏ với trình tự nucleotid đặc thù. Mỗi genom ADN có một bản đồ enzym cắt giới hạn đặc trưng cho chúng. Điều này không thể có với genom ARN, trừ phi nhờ enzym phiên mã ngược tiến hành tổng hợp cADN từ ARN khuôn. Lúc đó cADN sẽ bị enzym giới hạn cắt. Acid nucleic của virus có thể được đặc trưng bởi nhiệt độ nóng chảy (T_m), mật độ nổi trong gradient nồng độ xesi clorua ($CsCl$), giá trị S trong gradient nồng độ saccarosa, có hoặc không có khả năng gây nhiễm, sự miễn cảm với nucleaza và sự xuất hiện dưới kính hiển vi điện tử

Loại acid nucleic	Cấu trúc	Ví dụ
ADN đơn	<p>Chuỗi đơn, dạng thẳng</p> <p>Chuỗi đơn, khép vòng</p>	<p>Virus parvo</p> <p>Phage jX174, M13, fd</p> <p>Herpes, adeno, coliphage T,</p>
ADN kép	<p>Chuỗi kép, dạng thẳng</p> <p>Chuỗi kép, dạng thẳng, trên một mạch có những chỗ đứt ở cầu nối phosphodiester.</p> <p>Chuỗi kép với hai đầu khép kín</p> <p>Chuỗi kép khép vòng kín</p>	<p>Coliphage T5</p> <p>Vaccinia, Smallpox</p> <p>Polioma (SV40), papilo PM2, virus đốm hoa lơ</p>
ARN đơn	<p>Chuỗi đơn, dương dạng thẳng</p> <p>Chuỗi đơn, âm, dạng thẳng</p> <p>Chuỗi đơn, dương, dạng thẳng, nhiều đoạn.</p> <p>Chuỗi đơn, dương dạng thẳng gồm hai đoạn gắn với nhau.</p> <p>Chuỗi đơn, âm dạng thẳng, phân đoạn</p>	<p>Picornas (polio, rhino), t ARN, MTV và hầu hết v vật.</p> <p>Rhabdo, paramyxo, (s</p> <p>Virus đốm cây tước mạ (Bromus) (các đoạn đ trong các virion tách b</p> <p>Retro (HIV, Sarcoma R</p>
ARN kép	<p>Chuỗi kép, dạng thẳng, phân đoạn</p>	<p>Orthomyxo (cúm)</p> <p>Reo (rota), một số viru thực vật, NPV ở côn trù j6 và nhiều virus ở nấm (mycovirus).</p>

Bảng các loại acid nucleic của virus Kích thước genom thay đổi rất nhiều ở các virus khác nhau. Các genom nhỏ nhất (ví dụ Bacteriophage MS2, Q β) có kích thước 1×10^6 Da đủ để mã hóa cho 3-4 protein. Một số virus khác tận dụng tối đa không gian của genom bằng cách sử dụng các gen chồng lớp, tức là các gen gối lên nhau trên cùng khung đọc, chỉ khác nhau ở điểm khởi đầu hoặc kết thúc. Các genom của coliphage T chẵn, herpes, vaccinia có kích thước $1,6 \times 10^8$ Da có thể mã hóa cho 100 protein.

Genom ADN

* Các virus ADN có kích thước rất nhỏ (như ϕ 174, M13 hay parvo) thường có genom là ADN chuỗi đơn. Một số là ADN đơn, dạng thẳng, song một số khác lại khép vòng. * Hầu hết virus ADN sử dụng ADN kép làm vật liệu di truyền. Một số chứa genom ADN kép dạng thẳng nhưng số khác lại chứa ADN kép dạng vòng. Phage lamda chứa ADN kép dạng thẳng nhưng có hai đầu dính là đoạn đơn bổ sung dài 12 nucleotid nên có thể bắt cặp để khép vòng. * Ngoài các nucleotid thông thường, ở nhiều virus còn có các base đặc biệt, ví dụ phage T chẵn ký sinh ở E.coli mang 5 hydroxymethyl cytosin thay vì cytosin. Glucoza thường gắn vào nhóm hydroxymethyl. * Ở virus ADN kép có kích thước lớn (ví dụ virus họ herpes) genom có cấu tạo khá phức tạp. Kích thước genom thay đổi, từ virus herpes simplex và varicella zoster (120-180kbp) đến virus cytomegalo và HHV-6 (180-230 kbp). ADN mã cho hơn 40 protein cấu trúc và hơn 40 protein không cấu trúc. Cấu trúc genom ít thay đổi giữa các thành viên trong họ nhưng chúng là nhóm duy nhất chứa các đồng phân (isomer) của cùng một phân tử ADN. Mỗi hạt chứa một đồng phân gồm hai đoạn nối với nhau bằng liên kết cộng hóa trị, đoạn dài duy nhất (UL) và đoạn ngắn duy nhất (US). Ở hai đầu mỗi đoạn lại có các đoạn ngắn lặp lại trái chiều. Các đoạn này khác nhau ở các hạt virus khác nhau, do đó làm cho genom thay đổi ít nhiều (lớn hoặc nhỏ hơn kích thước trung bình). * Genom của virus adeno là dạng thẳng có kích thước 30 - 38 kbp nhỏ hơn genom của virus herpes. Mỗi virus chứa 30-40 gen. Genom có hai đầu lặp lại trái chiều dài 100-180 kbp. Đoạn 50 base đầu tiên khá giống nhau ở các virus khác nhau và thường chứa nhiều cặp A-T. Điểm nổi bật của đoạn đầu phân tử ADN ở virus adeno là khi genom tách khỏi virion một mạch sẽ tạo vòng "panhandle" và oligome. Điều này liên tưởng đến phage λ , nhưng khác ở chỗ ADN của adeno không có đầu đơn. Ở mỗi đầu 5 của genom có gắn một protein 55 kDa. Protein này đóng vai trò quan trọng trong sao chép.

Genom ARN

Virus ARN thường có genom nhỏ hơn genom của virus ADN* Các phân tử ARN được chia làm hai loại: ARN (+) và ARN (-) ARN (+) có trình tự nucleotid trùng với trình tự nucleotid của mARN, nên có thể dùng thay cho mARN trong quá trình dịch mã. ARN (-) có trình tự bổ sung với mARN* Cơ chế tổng hợp mARN là đặc điểm quan trọng để phân biệt các virus ARN * Hầu hết các phân tử mARN ở eukaryota là đơn gen (monocistronic), chỉ mã hóa cho một protein, trong khi tất cả các virus ARN đã biết đều là đa gen (Polycistronic), mã hóa cho nhiều protein * Genom ARN không dùng làm

khuôn để trực tiếp tổng hợp ARN của virion mà phải qua mạch trung gian * Đa số ARN (+) đều có mũ ở đầu 5 để bảo vệ khỏi tác động của phosphatase và nucleaza. ở virus picorna mũ được thay thế bởi protein VPg (protein gắn với genom). * Đầu 3 của đa số genom ARN (+) được gắn đuôi poly (A) giống như mARN của eukaryota * Virus ARN (-) thường có genom lớn hơn virus ARN (+) Một số virus ARN có genom phân đoạn. Ví dụ virus cúm có 8 đoạn ARN (-), virus reo có 10 12 đoạn ARN kép. Các đoạn này không giống nhau và mã hóa cho các protein khác nhau, trong khi 2 phân tử ARN (+) ở virus retro thì giống hệt nhau.