



# Sự hoàn thiện mARN ở eukaryote

Bởi:

PGS. TS. Phạm Thành Hồ

## Cắt bỏ các intron

Quá trình này xảy ra trong nhân nhằm cắt bỏ các trình tự intron không mã hóa khỏi phân tử tiền-mARN để hình thành nên phân tử mARN hoàn chỉnh chỉ chứa các trình tự mã hoá liên tục tương ứng với các exon. Sau đó, phân tử mARN hoàn chỉnh được chuyển ra tế bào chất để làm khuôn tổng hợp protein.

Quá trình cắt bỏ intron phụ thuộc vào trình tự tín hiệu ở các đoạn nối giữa các intron và exon. Các intron điển hình được giới hạn bởi đầu 5'-GT và 3'-AG. Đoạn trình tự tín hiệu đầy đủ ở đầu 5' gặp ở phần lớn các gen là: 5'-AGGTAAGT-3' và ở đầu 3' là 5'-YYYYYYNCAG-3' (Y = pyrimidin, N = nucleotit bất kỳ).

Việc cắt bỏ các intron được thực hiện bởi một phức hệ gọi là spliceosom, gồm phân tử tiền-mARN liên kết với các hạt ribonucleoprotein nhân kích thước nhỏ snRNP (*smallnuclearribonucleoproteinparticle*, được đọc tắt là snóp). snRNP được tạo thành từ sự liên kết giữa snARN và protein. Có 5 loại snARN phổ biến được kí hiệu là U1, U2, U4, U5 và U6. Mỗi loại liên kết với một số phân tử protein để hình thành nên snRNP. Trừ U4 và U6 thường tìm thấy trong cùng một snRNP, còn các loại khác tìm thấy trong các snRNP riêng biệt.

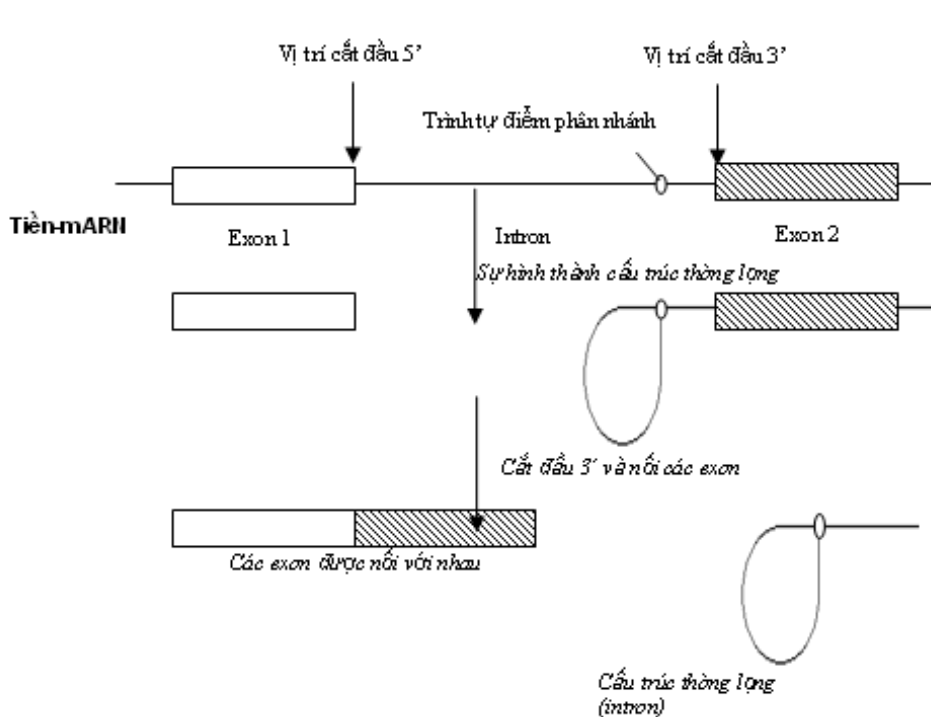
Quá trình cắt intron trải qua một số bước như sau (hình 5 và 6):

- U1 snRNP gắn vào vị trí cắt đầu 5' của intron. Việc gắn này dựa trên nguyên tắc hỗ trợ của U1 snARN có trong snRNP với trình tự ở đoạn nối với exon ở gần đầu 5' của intron.

- U2 snRNP gắn vào một trình tự gọi là điểm phân nhánh nằm ngược dòng so với đoạn nối với exon về phía đầu 3' của intron. Điểm phân nhánh là vị trí đặc thù của các intron, tại đó chứa một adenyl là vị trí gắn vào của đầu 5' tự do của intron trong quá trình cắt bỏ intron.

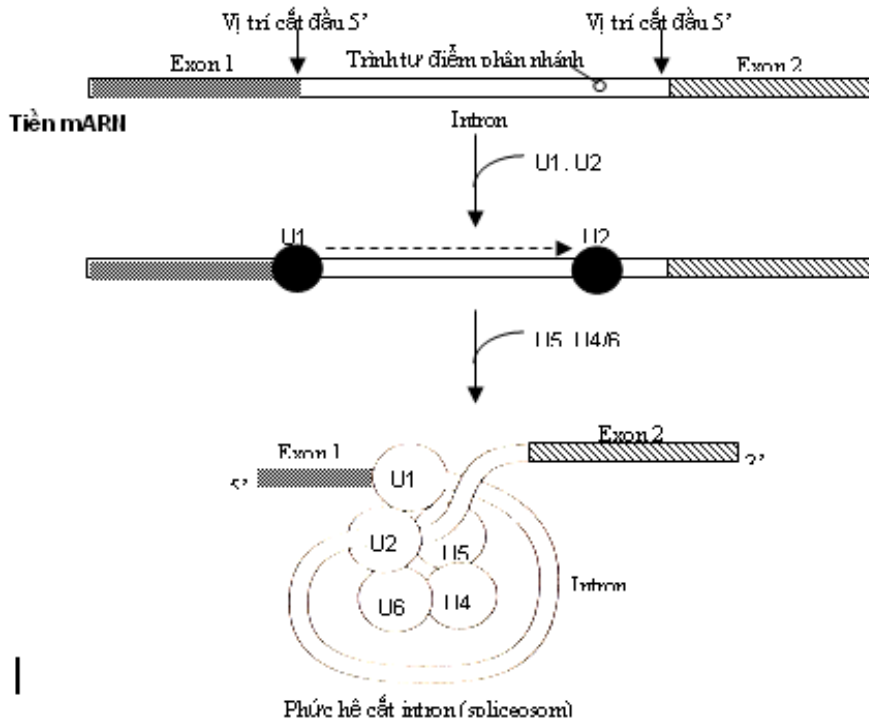
## Sự hoàn thiện mARN ở eukaryote

- Phức hệ U4/U6 snRNP tương tác với U5 snRNP rồi gắn vào các phức hệ U1 và U2 snRNP làm hai đầu 5' và 3' của intron tiến lại gần nhau, tạo thành cấu trúc thông lọng.
- U4 snRNP tách ra khỏi phức hệ, lúc này spliceosome chuyển thành dạng có hoạt tính cắt (exonuclease).
- snRNP cắt intron ở đầu 5' tạo ra một đầu 5' tự do. Đầu này sẽ liên kết với nucleotit A tại điểm phân nhánh vào vị trí nhóm 2'-OH (liên kết phosphodiester 5'-2'). Nhóm 3'-OH của adênin này vẫn liên kết bình thường với nucleotit khác trong chuỗi.
- Intron được cắt ở phía đầu 5' (intron vẫn ở dạng thông lọng) và các exon liền kề ở hai đầu 5' và 3' của intron liên kết với nhau. Lúc này phức hệ snRNP rời khỏi phân tử ARN. Và quá trình cắt intron như vậy được lặp đi lặp lại.



*Quá trình cắt bỏ intron của phân tử mARN tiền thân ở sinh vật nhân chuẩn.*

## Sự hoàn thiện mARN ở eukaryote



Sự hình thành phức hệ cắt intron (spliceosom).

Quá trình cắt intron như trên được tìm thấy ở các gen được phiên mã nhờ ARN polymerase II. Ngoài cơ chế trên đây, một số loại phân tử ARN có thể tự cắt bỏ intron. Quá trình cắt bỏ intron này không phụ thuộc vào protein và được gọi là các intron nhóm I. Cơ chế tự cắt của các intron nhóm I được tìm thấy ở các gen rARN, một số gen mã hóa protein trong ti thể và một số gen mã hóa mARN và tARN ở thực khuẩn thể.

Một ví dụ về quá trình tự cắt của intron nhóm I (ở *Tetrachynema*) được mô tả như sau:

- Phân tử tiền-mARN được cắt ở vị trí nối với exon ở phía đầu 5' và một nucleoit G gắn vào vị trí cắt này.
- Intron được cắt ở vị trí nối tại đầu 3'.
- Hai exon liền kề được nối lại với nhau.
- Phần intron được cắt ra đóng vòng tạo thành một phân tử ADN dạng vòng. Sản phẩm tạo ra là intron ở dạng mạch vòng còn phân tử ADN chứa các exon ở dạng mạch thẳng.

Quá trình tự cắt của intron nhóm I do chính ARN tự xúc tác, và các ARN có hoạt tính như vậy được gọi là ribozym. Tuy vậy, hoạt tính tự xúc tác của ARN không nên coi là hoạt tính enzym. Bởi, không giống như enzym protein, các phân tử ARN không trở về dạng ban đầu sau khi phản ứng kết thúc.

Việc tìm ra ARN có hoạt tính xúc tác gần giống với protein đã làm thay đổi quan điểm về nguồn gốc sự sống. Trước đây, người ta cho rằng protein là yếu tố thiết yếu để quá trình sao chép các nucleotit có thể xảy ra. Nhưng lý thuyết mới gần đây cho rằng các axit nucleic đầu tiên có khả năng tự sao chép thông qua hoạt tính kiểu ribozym.

## **Lắp mũ**

Đầu 5' của phân tử mARN ở sinh vật nhân chuẩn được sửa đổi bằng cách gắn thêm một nucleotit bị cải biến là 7-methylguanosin (7-mG); quá trình đó được gọi là sự lắp mũ. Mũ 7-mG được gắn nhờ enzym guanyltransferase nối GTP với nucleotit đầu tiên của mARN bằng liên kết triphosphat 5' → 5' khác thường. Sau đó enzym methyl transferase sẽ gắn thêm nhóm -CH<sub>3</sub> vào nitơ số 7 của vòng guanin; đồng thời thường gắn thêm cả vào nhóm 2'-OH của đường ribose của hai nucleotit kế tiếp. Việc tạo mũ giúp bảo vệ đầu 5' của mARN không bị phân hủy bởi exonuclease trong tế bào chất, đồng thời làm tín hiệu cho ribosom nhận biết điểm bắt đầu của phân tử mARN.

## **Gắn đuôi poly(A)**

Đầu 3' của phân tử tiền-mARN của hầu hết các sinh vật nhân chuẩn được sửa đổi bằng cách thêm vào một đoạn trình tự poly A (còn được gọi là đuôi polyA) có thể dài tới 250 bazơ adenin. Sự sửa đổi này được gọi là đa adenin hóa và cần có một trình tự tín hiệu trên phân tử tiền-mARN. Đó là trình tự 5'-AAUAAA-3' nằm gần đầu 3' của phân tử tiền-mARN. Khoảng 11 - 20 bazơ tiếp theo có trình tự là YA (Y = pyrimidin), rồi tiếp đến là đoạn trình tự giàu GU nằm xuôi dòng. Có nhiều protein đặc hiệu có khả năng nhận biết và gắn vào đoạn trình tự tín hiệu tạo thành một phức hệ cắt mARN ở vị trí khoảng 20 nucleotit phía sau của trình tự 5'-AAUAAA-3'. Sau đó, enzym poly(A) polymerase sẽ bổ sung thêm các adenin vào đầu 3' của mARN. Mục đích tạo đuôi A còn chưa rõ, nhưng có thể nó có vai trò bảo vệ cho mARN không bị phân hủy ở đầu 3' bởi exonuclease. Tuy nhiên, một số mARN, như mARN mã hoá các protein histon, không có đuôi polyA (nhưng thường có thời gian tồn tại ngắn)..

## **Tính bền vững của mARN**

Không giống như rARN và tARN có tính bền vững khá cao trong tế bào, các mARN có vòng đời tương đối ngắn. Điều đó có thể do tế bào cần điều tiết mức độ tổng hợp các loại protein trong tế bào tùy theo yêu cầu thông qua sự thay đổi mức độ phiên mã. Sự thay đổi lượng mARN đang dịch mã phản ánh sự thay đổi mức độ phiên mã. Ở các tế bào vi khuẩn, mARN có thời gian bán phân hủy khoảng vài phút. Trong khi, ở các tế bào nhân chuẩn, mARN có thời gian bán phân hủy có thể lên đến hơn 6 giờ. Mặc dù một số mARN, như các mARN mã hoá globin cấu tạo nên hemoglobin, có thể tồn tại rất lâu trong tế bào.

## Các phân tử mARN được hoàn thiện theo các cách khác nhau

Một trình tự ADN phiên mã chỉ cho ra một phân tử tiền-mARN, nhưng phân tử tiền-mARN có thể được hoàn thiện bằng các cách khác nhau để tạo ra nhiều loại phân tử mARN hoàn chỉnh khác nhau trước khi được sử dụng làm khuôn tổng hợp protein. Đó là các cơ chế cắt bỏ tiền-mARN khác nhau, trong đó tế bào sử dụng những điểm cắt khác biệt để loại bỏ hay giữ lại các exon trong quá trình cắt bỏ. Ngoài ra, việc tồn tại các tín hiệu poly(A) khác nhau trên phân tử tiền-mARN cũng có thể dẫn đến việc sinh ra các phân tử mARN có trình tự dài ngắn khác nhau ở đầu 3'. Ví dụ, việc sử dụng điểm poly(A) nằm phía trước điểm kết thúc đoạn trình tự mã hoá có thể loại bỏ một số exon nằm sau nó và sinh ra mARN mã hóa cho một loại protein ngắn hơn.

Một phân tử tiền-mARN có thể được cắt bỏ các intron theo những cách khác nhau cùng lúc hoặc ở những giai đoạn phát triển khác nhau của một tế bào, hoặc khác nhau giữa các tế bào khác nhau. Các protein được sinh ra theo các cơ chế này thường có quan hệ với nhau, song chúng thường biểu hiện chức năng hoặc có đặc điểm riêng. Ví dụ, quá trình hoàn thiện phân tử tiền-mARN của globulin miễn dịch dẫn đến việc tổng hợp các protein có thể chứa hoặc không chứa các trình tự axit amin kỵ nước cho phép nó liên kết được vào màng tế bào. Điều này giúp tạo ra nhiều dạng globulin miễn dịch có thể liên kết với màng và các dạng để tiết ra khỏi tế bào.

Các phân tử tiền-mARN cũng còn có thể trải qua quá trình sửa đổi trình tự ARN. Trong quá trình đó, trình tự của phân tử tiền-mARN bị biến đổi bằng cách thêm vào, bớt đi hay thay thế các bazơ. Sự sửa đổi trình tự ARN được xác định đầu tiên ở một số nguyên sinh động vật ký sinh. ở những loài này, người ta thấy các bản phiên mã của nhiều gen ty thể bị sửa đổi bằng cách được bổ sung thêm các gốc uracil. Quá trình này cũng gặp ở động vật có xương sống, nhưng mức độ sửa đổi ít hơn nhiều. ở người, phân tử tiền-mARN của gen apolipoprotein B bị sửa đổi ở tế bào ruột non bằng cách thay thế bazơ C bằng U để tạo nên một bộ ba kết thúc, dẫn đến việc tổng hợp một phân tử protein ngắn hơn. Trong khi đó ở tế bào gan, nơi trình tự ARN không bị sửa đổi, protein đó có độ dài đầy đủ.