



Mối quan hệ giữa virus và tế bào - Những khái niệm cơ bản

Bởi:

Nguyễn Lâm Dũng

phamvanty

Mối quan hệ giữa virus và tế bào

Virus không có khả năng trao đổi chất và trao đổi năng lượng nên chúng phụ thuộc hoàn toàn vào bộ máy tổng hợp của tế bào. Vì vậy ở virus người ta dùng thuật ngữ *nhân lên* thay cho *sinh sản*.

1. Tế bào cho phép. Muốn nhân lên virus phải xâm nhập được vào tế bào cho phép (permissive cells), đó là các tế bào có đủ điều kiện cho virus nhân lên, bao gồm:
 - Có thụ thể phù hợp với protein bề mặt virus.
 - Có các yếu tố cần thiết như yếu tố phiên mã, enzyme của tế bào.
 - Một số virus có phạm vi tế bào cho phép hẹp, ví dụ HBV chỉ có thể nhân lên trong tế bào gan.
 - Một số virus có phạm vi tế bào cho phép rộng, có thể nhân lên cả ở ĐVCXS, ĐVKXS và ở cả thực vật.
 - Một số chỉ nhân lên khi tế bào đang ở pha nhất định của chu kỳ phân chia tế bào. Ví dụ virus retro cần tế bào ở pha M (mitosis), khi đó màng nhân bị vỡ, genome virus mới vào được trong nhân để cài xen vào nhiễm sắc thể của tế bào. Virus parvo sử dụng enzyme DNA polymerase của tế bào chủ nên khi nhân lên chúng cần tế bào ở pha S, là lúc có mặt enzyme này.
2. *Chu trình tan (lytic cycle)*: Chu trình nhân lên, kết thúc bằng sự làm tan và giết chết tế bào gọi là *chu trình tan*. Virus chỉ nhân lên theo chu trình tan gọi là virus độc.
3. *Chu trình tiềm tan (lysogenic cycle)*: Chu trình lây nhiễm không tạo ra virus mới hay không giết chết tế bào, mà gắn xen genome của mình vào nhiễm sắc thể của tế bào, được gọi là *chu trình tiềm tan*. DNA của virus ở trạng thái tiềm

tan gọi là *provirus* (nếu ở phage thì gọi là prophage), còn bản thân virus có khả năng tiến hành cả 2 quá trình tan và tiềm tan được gọi là *virus ôn hoà* (ví dụ phage λ). Dưới tác động của yếu tố ngoại cảnh (bức xạ, hoá chất) genome virus thoát khỏi nhiễm sắc thể để tiến hành chu trình tan.

Tác động của virus lên tế bào

Virus có thể tác động lên tế bào theo 4 cách:

1. *Gây chết tế bào*. Virus nhân lên gây huỷ hoại tế bào, gọi là hiệu ứng gây huỷ hoại tế bào CPE (cytopathic effect) dẫn đến làm tan tế bào.
2. *Chuyển dạng (transformation)*. Virus gây nhiễm nhưng không gây chết tế bào mà chuyển dạng tế bào từ trạng thái bình thường sang trạng thái biến đổi mang đặc điểm của tế bào u ác tính.
3. *Nhiễm tiềm ẩn (latent infection)*. Virus xâm nhập và tồn tại trong tế bào ở dạng tiềm ẩn, không có tác động rõ rệt nào đến chức năng của tế bào. Những người nhiễm virus tiềm ẩn không biểu hiện triệu chứng.
4. *Hấp phụ hồng cầu (haemadsorption)*. Một số virus có protein trên bề mặt (haemagglutinin) có khả năng kết dính hồng cầu để gây ngưng kết. Trong tế bào nuôi cấy mô, các virus này tạo ra chất ngưng kết (haemagglutinin) trên bề mặt tế bào nhiễm, nên cho hồng cầu vào chúng sẽ bị kết dính.

Tổng quan về quá trình nhân lên của virus

Quá trình nhân lên của virus trong tế bào bao gồm 7 bước:

1. Hấp phụ (adsorption)
2. Xâm nhập và cởi vỏ (penetration và uncoating)
3. Phiên mã (transcription) tạo mRNA của virus
4. Dịch mã (translation) mRNA để tạo protein virus
5. Sao chép (replication) genome
6. Tự lắp ráp (maturation) protein với genome để tạo virion
7. Giải phóng (release) ra khỏi tế bào

Nếu các bước 3, 4, 5 nhập vào một bước gọi là bước *tổng hợp các thành phần* (biosynthesis) thì quá trình nhân lên còn 5 bước.

Ở một số virus, quá trình nhân lên không theo trình tự như trên mà xảy ra đồng thời. Ví dụ cùng lúc đều tiến hành phiên mã, dịch mã, sao chép, lắp ráp và chui ra khỏi tế bào.

Virus động vật

Sự hấp phụ

Virus gắn vào thụ thể (receptor) đặc hiệu nằm trên màng sinh chất của tế bào chủ, theo nguyên tắc khoá – chìa. Một số virus còn gắn thêm vào các đồng thụ thể (co-receptor). Sự hấp phụ xảy ra tốt nhất ở 37°C.

Virus gắn được vào các thụ thể là nhờ các liên kết hoá học như liên kết hydro, ion, Vander Waals, nhưng không có liên kết đồng hoá trị.

Vị trí gắn:

Virus có các vị trí khác nhau chứa protein gắn vào thụ thể của tế bào.

Virus trần có vị trí gắn nằm trên bề mặt capsid, đôi khi nằm sau bên trong (ví dụ virus polio) hoặc đôi khi là đỉnh của khối đa diện (virus lở mồm long móng). Ở virus adeno, vị trí gắn là đầu mút của các sợi mọc ra từ đỉnh capsid khối đa diện. Đối với virus có vỏ ngoài, vị trí gắn là các gai glycoprotein bề mặt.

Xâm nhập và cởi vỏ

Sau khi gắn vào thụ thể, virus phải vượt qua màng sinh chất để xâm nhập vào tế bào theo một trong 2 cơ chế nhập bào hoặc dung hợp.

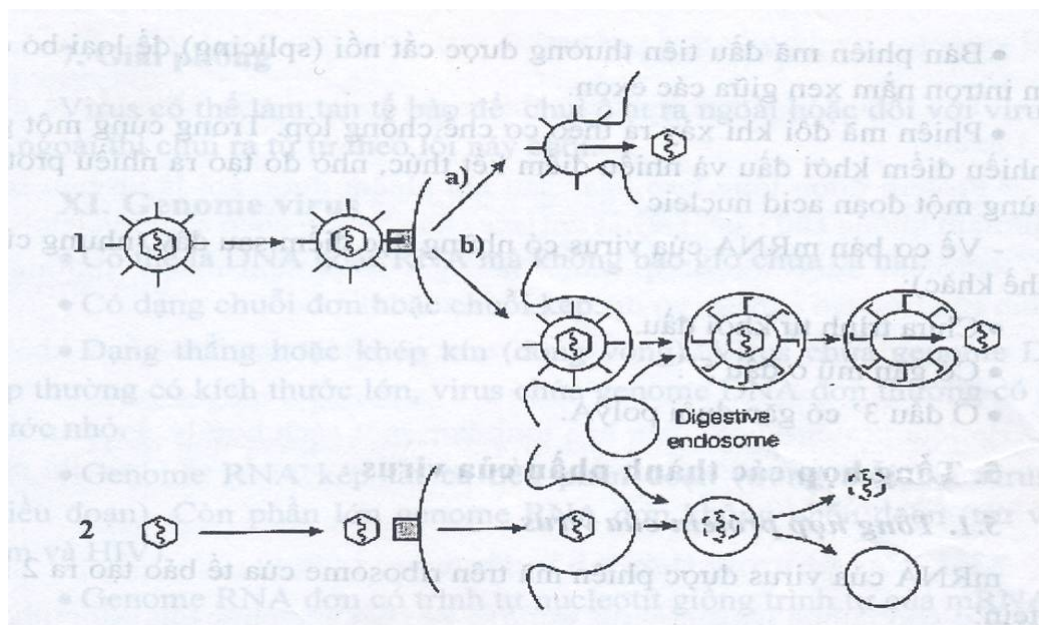
1. Nhập bào: Cả virus trần và virus có vỏ ngoài đều có thể xâm nhập theo lối nhập bào.

Cơ chế chung bao gồm việc virion gắn vào màng sinh chất nơi mặt trong được bao phủ bởi lớp clathrin (protein dạng sợi tạo thành mạng lưới với các mắt hình đa giác). Virion ấn sâu vào màng tạo hốc rồi khép lại tạo thành túi nội bào hay endosome được lớp clathrin bao phía ngoài. Kênh proton của màng endosome vận chuyển H⁺ vào trong làm cho pH trong endosome giảm xuống (pH 4.5 - 5). Endosome sẽ dung hợp với lysosom. Trước khi dung hợp, lớp clathrin bị loại bỏ. pH thấp hoạt hoá enzyme phân giải capsid. Cũng như màng endosome ở một số virus, pH thấp trong endosome dẫn đến việc dung hợp vỏ capsid với màng endosome, làm vỡ vỏ capsid và giải phóng genome.

2. Dung hợp: Khác với virus trần, chỉ có xâm nhập vào tế bào theo lối nhập bào, các virus có vỏ ngoài có thể vào tế bào theo cả 2 cách.

Virus có vỏ ngoài có thể vào tế bào theo cách dung hợp vỏ ngoài virus với màng sinh chất vì chúng có cùng bản chất. Khi 2 màng hoà nhập sẽ đứt ra, nucleocapsid sẽ được chuyển vào tế bào chất. Sự dung hợp này xảy ra với sự tham gia của protein dung hợp (protein F).

Như trên đã nói, virus có vỏ ngoài cũng có thể xâm nhập vào tế bào theo lối nhập bào. Vỏ ngoài virus bám vào thụ thể sau đó ấn lõm tạo endosome. Khi pH trong endosome giảm gai protein F sẽ chồi lên cắm vào màng endosome như chiếc neo, kéo vỏ ngoài virus sát với màng endosome và tiến hành dung hợp.



Sự nhập bào theo kiểu thực bào, tạo endosome

Bơm proton làm giảm pH trong endosome, hoạt hoá sự dung hợp giữa vỏ ngoài virus với màng endosome (1b), hoặc hoạt hoá enzyme làm tan màng endosome (2). Dung hợp xảy ra trên bề mặt tế bào giữa vỏ ngoài virus với màng sinh chất.

Sự vận chuyển genome virus vào nhân

Hầu hết virus RNA ở eukaryota tiến hành sao chép trong tế bào chất, vì chúng có thể mã hoá cho tất cả các enzyme cần cho sao chép genome mà không cần đến các enzyme của tế bào nằm trong nhân. Virus cúm A là ngoại lệ, chúng cần bộ máy cắt nối của tế bào nên genome của chúng phải được đưa vào nhân.

Virus retro cũng là virus RNA, nhưng tiến hành sao chép trong nhân. Thoạt đầu chúng nhờ enzyme phiên mã ngược tổng hợp DNA trên khuôn RNA trong tế bào chất, sau đó nằm đợi cho đến khi tế bào bắt đầu phân chia (giai đoạn M), màng nhân tạm thời bị vỡ, DNA cùng với protein liên kết lúc đó mới vào được trong nhân. Do đó virus này chỉ nhân lên được ở giai đoạn tế bào đang phân chia.

Hầu hết virus DNA tiến hành sao chép trong nhân, ngoại trừ virus pox và irido có thể sao chép trong tế bào chất. Đối với virus sao chép trong nhân, protein cấu trúc của chúng có trình tự bám được vào vi ống (microtubule). Vi ống là các ống rỗng, đường kính 25 nm, là thành phần của bộ khung tế bào, có chức năng nâng đỡ và neo giữ nhiều thành

phần của tế bào và được ví như đường ray để vận chuyển vật chất hoặc bào quan tới một vị trí nhất định trong tế bào. Một đầu vi ống được ký hiệu là (+) và một đầu ký hiệu là (-). Đầu (+) nằm gần màng sinh chất, còn đầu (-) nằm gần nhân. Một protein gọi là protein vận chuyển (motor protein) tự nó di chuyển và chở các chất cũng như bào quan dọc theo vi ống từ vùng ngoại vi của tế bào tới vùng gần nhân. Các virus herpes, adeno, parvo, retro sử dụng hệ thống này để chở nucleocapsid vào sát màng nhân.

Màng nhân được cấu tạo từ 2 lớp lipid kép, ở đó có lỗ nhân. Hầu hết nucleocapsid có kích thước quá lớn để có thể lọt qua lỗ nhân. Các phân tử muốn qua lỗ phải tạo phức với các protein chuyên biệt của tế bào có chức năng mang gọi là importin để mang vào hoặc exportin để mang ra khỏi nhân. Kênh có thể mở để cho phép các hạt có kích thước đến 25 nm thậm chí lớn hơn đi qua, ví dụ virus nhỏ như parvo, nhưng với virus lớn hơn thì phải cởi vỏ ở lỗ nhân.

Cởi vỏ cho genome

Cởi toàn bộ hoặc một phần vỏ để giải phóng genome ra khỏi vỏ capsid. Tùy loại virus mà quá trình có thể diễn ra tại các vị trí khác nhau:

- Trên bề mặt tế bào, capsid rỗng nằm lại bên ngoài tế bào.
- Cởi vỏ bên trong tế bào chất.
- Cởi vỏ tại lỗ nhân.
- Cởi vỏ bên trong nhân.

Cần nhớ rằng virus xâm nhập thành công vào tế bào không có nghĩa là chúng luôn luôn nhân lên được. Tế bào cũng có cơ chế bảo vệ chống lại virus, ví dụ enzyme từ lysosom có thể làm bất hoạt virus trước và sau cởi vỏ; interferon cảm ứng tạo protein độc ức chế sự nhân lên của virus. Một số virus nhiễm ở dạng tiềm ẩn, chúng không nhân lên, nhưng genome vẫn còn nguyên vẹn và vẫn có tiềm năng nhân lên.

Tổng hợp các thành phần

Sau khi xâm nhập vào tế bào, pha đầu tiên của chu trình nhân lên gọi là pha ẩn. Ở giai đoạn này không phát hiện được bất kỳ virus nào. Đây là đặc điểm chỉ thấy có ở virus. Sự biểu hiện của genome được bắt đầu rất sớm, ngay sau khi virus xâm nhập vào tế bào. Có 4 quá trình xảy ra trước khi hạt virus được lắp ráp:

1. Phiên mã tạo mRNA
2. Dịch mã sớm tạo protein phi cấu trúc – đó là các enzyme dùng cho sao chép
3. Sao chép tạo genome
4. Dịch mã muộn tạo protein cấu trúc để cấu tạo capsid và vỏ ngoài

(1) -Phiên mã tạo m RNA

a- Phiên mã genome virus

Thông thường phiên mã là quá trình truyền thông tin di truyền từ DNA sang RNA nhờ enzyme RNA polymerase (chính xác hơn là RNA polymerase phụ thuộc DNA), tuy nhiên genome của virus có thể là RNA, cho nên ở virus phiên mã đơn giản chỉ là quá trình truyền thông tin di truyền từ genome sang mRNA. Có 3 loại RNA polymerase: RNA polymerase I phiên mã rRNA, RNA polymerase II phiên mã các gen mã hoá protein và RNA polymerase III phiên mã rRNA 5S, tRNA và các RNA nhỏ bé khác.

Dựa vào quá trình phiên mã, tạo ra mRNA mà David Baltimore đã phân loại tất cả virus thành 7 nhóm như đã nêu ở phần phân loại: (1) Virus DNA kép, (2) virus DNA đơn (+/-), (3) virus RNA kép, (4) Virus RNA (+), (5) virus RNA (-), (6) virus RNA phiên mã ngược và (7) virus DNA phiên mã ngược.

Axit nucleic sợi đơn (DNA hoặc RNA) có trình tự nucleotide giống với trình tự nucleotide của mRNA quy ước là sợi (+), ngược lại có trình tự tương bù với mRNA được quy ước là sợi (-).

Nhóm I. Virus DNA kép hầu hết tiến hành phiên mã trong nhân, sử dụng RNA polymerase phụ thuộc DNA (tức là RNA polymerase II) của tế bào. Đối với virus DNA kép thì không phân biệt sợi (+) và sợi (-) mà gọi là sợi trái (L) và sợi phải (R), bởi vì genome của hầu hết các virus này có khung đọc mở (ORF) theo cả 2 hướng. Một số virus DNA phiên mã trong tế bào chất (ví dụ virus pox), sử dụng RNA polymerase phụ thuộc DNA do virus mã hoá.

Nhóm II. Virus DNA đơn (+) hoặc (-), tất cả đều phiên mã trong nhân và sử dụng RNA polymerase II của tế bào. Cả virus DNA (+) và DNA (-) khi phiên mã tạo mRNA đều phải qua giai đoạn trung gian DNA kép, dạng sao chép, viết tắt là RF (replicative form).

Nhóm III. Virus RNA kép, tất cả đều phiên mã trong tế bào chất, sử dụng enzyme RNA polymerase phụ thuộc RNA do virus mã hoá để tạo mRNA.

Nhóm IV. Virus RNA (+) có chức năng của mRNA trước khi phiên mã phải dịch mã để tạo RNA polymerase phụ thuộc RNA của riêng mình sau đó mới phiên mã tạo mRNA.

Nhóm V. Virus RNA (-) không phân đoạn phiên mã trong tế bào chất, sử dụng RNA polymerase phụ thuộc RNA do chúng mang theo. Virus RNA (-) phân đoạn (ví dụ virus cúm) tuy phiên mã trong nhân nhưng chúng sử dụng RNA polymerase phụ thuộc RNA mang theo, vì tế bào không có enzyme này.

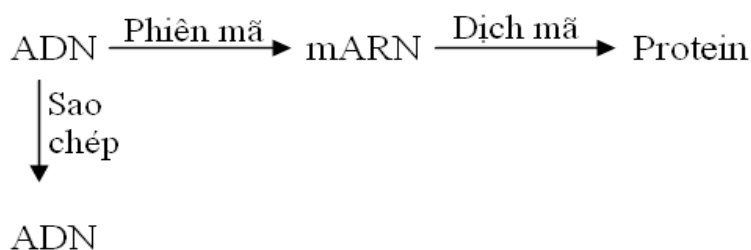
Nhóm VI. Virus retro phiên mã ngược, gồm 2 giai đoạn: Lúc đầu phiên mã genome RNA (+) thành cDNA (-) tiến hành trong tế bào chất nhờ enzyme phiên mã ngược của virus, sau đó DNA vào nhân tích hợp với nhiễm sắc thể của tế bào và tiến hành phiên mã tạo mRNA nhờ enzyme RNA polymerase phụ thuộc DNA của tế bào.

Nhóm VII. Virus DNA kép phiên mã ngược, ví dụ HBV, tiến hành phiên mã trong nhân dùng enzyme RNA polymerase phụ thuộc DNA của tế bào để tạo RNA (+) tiền genome, sau đó ra khỏi nhân, dùng enzyme phiên mã ngược của virus để phiên mã RNA tiền genome thành DNA (-) rồi sau đó tạo genome DNA kép.

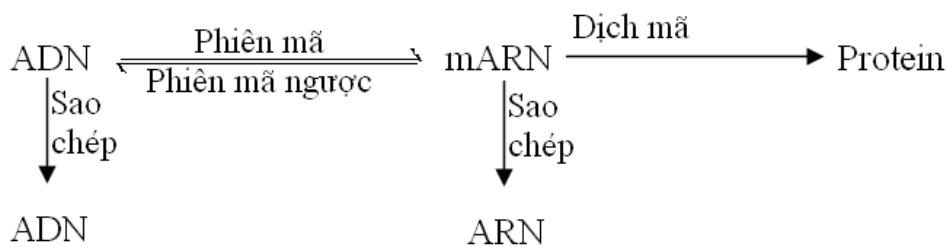
Tất cả các virus có genome RNA đều phiên mã trong tế bào chất trừ virus cúm. Tất cả các virus có genome RNA (-) đều phải mang theo RNA polymerase phụ thuộc RNA để phiên mã.

b- Cải biên lý thuyết trung tâm

Năm 1958 Francis Crick đưa ra lý thuyết Trung tâm (Central Dogma), theo đó dòng thông tin di truyền luôn đi từ DNA mRNA Protein.



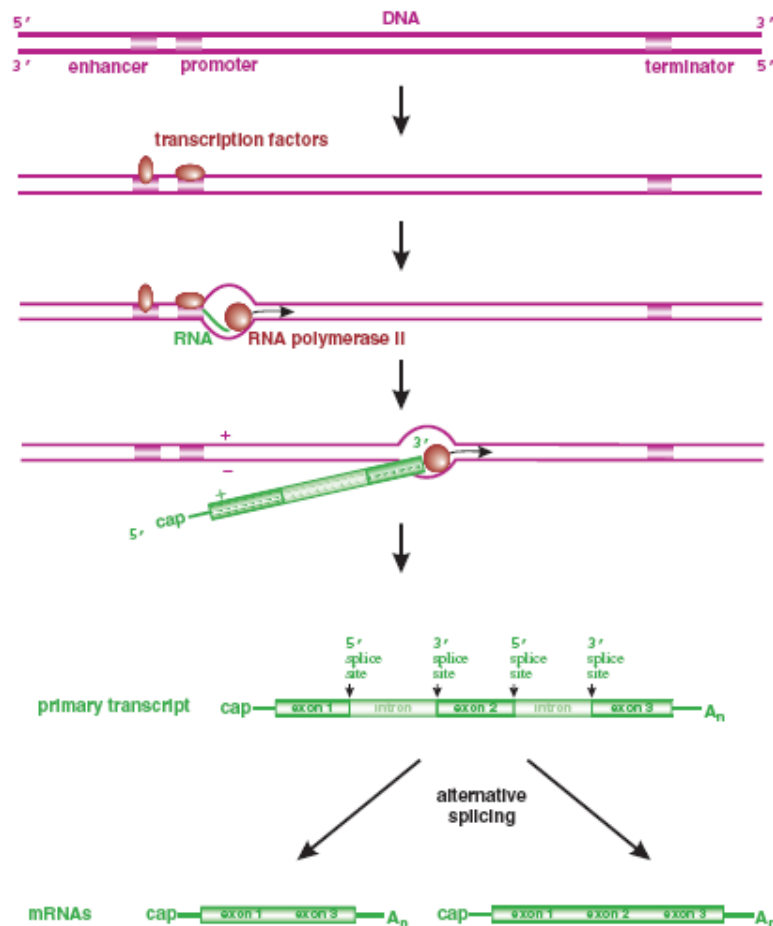
Những kiến thức về virus đã đưa đến sự cải biên lý thuyết trung tâm. Nhiều virus có genome RNA được sao thành RNA và một số có genome RNA được phiên mã ngược thành DNA.



c- Promoter và enhancer

Trong promoter của nhiều tế bào eukaryota và virus có trình tự chung (consensus) sau: TATAA/TAA/TA/G. Không phải promoter nào cũng có trình tự giống hệt nhau mà có thể sai lệch, nên gọi là trình tự chung. Trình tự TATAA còn gọi là hộp TATA hay hộp Pridnow nằm ở phía trước điểm khởi đầu phiên mã, khoảng 25-30bp. Hộp TATA chịu trách nhiệm cho phép RNA polymerase gắn vào vùng khởi động phiên mã. Ví dụ: Hộp TATA có trong promotor duy nhất của HIV-1, nhưng trong số 4 promoter của HBV thì chỉ có 1 promoter chứa hộp này.

Enhancer (đoạn tăng cường) có trình tự bám vào yếu tố phiên mã. Sự tương tác này làm tăng tốc độ phiên mã bởi RNA polymerase II.



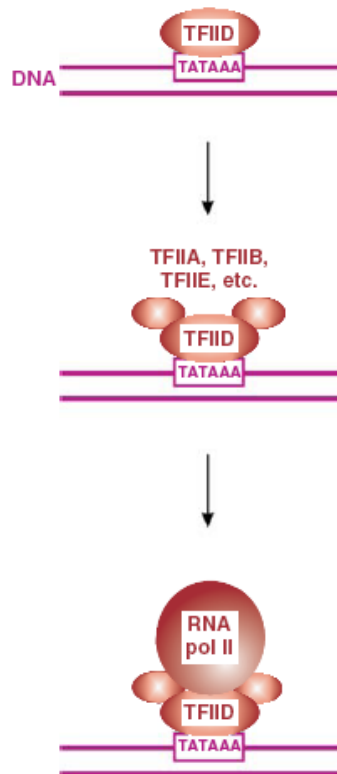
Phiên mã từ DNA kép của eukaryota

d- Yếu tố phiên mã

Yếu tố phiên mã là các protein gắn đặc hiệu vào promoter và enhancer để kiểm soát sự biểu hiện gen. Một số virus tạo ra yếu tố phiên mã của riêng mình, ví dụ VP/6 của virus herpes simplex, nó là một thành phần của virion và protein Tax của virus HTLV (virus gây ung thư tế bào T ở người) được tạo ra trong tế bào nhiễm.

Một số yếu tố phiên mã của tế bào cũng tham gia hoạt hoá hoặc kiểm chế sự phiên mã của các gen virus. Các yếu tố phiên mã đặc hiệu mô (tissue – specific transcription factors) cần cho một số virus mang tính đặc hiệu mô nghiêm ngặt, nghĩa là chúng chỉ nhân lên trong một số mô nhất định.

Một số yếu tố phiên mã của tế bào có tên là yếu tố phiên mã chung (general transcription factor) tham gia vào sự kiểm soát biểu hiện gen của nhiều loại tế bào và virus. Ví dụ yếu tố phiên mã TFIID bám vào hộp TATA (hình 19.3).



Sự bám của các yếu tố phiên mã và RNA pol II vào hộp TATA

TFIID là một phức hợp gồm 13 polypeptide, một trong số đó là protein bám hộp TATA. Sau khi TFIID bám vào hộp TATA là đến lượt các yếu tố phiên mã chung khác (TFIIA, TFIIB, TFIIE, TFII, TFIIH) và RNA pol II bám vào.

Trong số các yếu tố phiên mã của tế bào bám vào enhancer, có:

- AP1 và AP2 (activator protein 1 và 2) là các protein hoạt hoá.
- SP1 (stimulator protein) là protein kích thích.
- NF-kB (nuclear factor kB) là yếu tố nhân kB.

Hầu hết các yếu tố phiên mã này tham gia vào quá trình phiên mã của HIV-1. Cũng như hoạt hoá sự biểu hiện gen, các yếu tố phiên mã cũng tham gia vào sự kiểm chế biểu hiện gen.

Mọi cơ thể đều có khả năng tự điều hoà các gen của mình. Ví dụ côn trùng có các gen khác nhau và sự biểu hiện các gen này tùy thuộc việc chúng đang ở giai đoạn nào: ấu trùng, sâu non, sâu trưởng thành hay bướm. Ở virus cũng vậy, chúng có các gen khác nhau, biểu hiện ở các thời điểm khác nhau. Gen sớm mã hoá cho các protein sớm, đó là các protein không cấu trúc, thường là các enzyme và gen muộn mã hoá cho các protein muộn, đó là các protein cấu trúc, tham gia vào tạo capsid hoặc vỏ ngoài.

e- Gắn mũ và o RNA

Ngay sau khi tổng hợp RNA và trong lúc quá trình phiên mã còn đang tiếp tục thì hầu hết các bản phiên mã (RNA) đã được gắn mũ ở đầu 5'. Mũ là guanosine triphosphate nối với một nucleotide ở đầu 5' nhờ liên kết 5'-5', thay vì liên kết 5'-3' như bình thường.

Hầu hết mRNA ở tế bào eukaryota và ở virus đều có mũ ở đầu 5'.

Mũ có chức năng:

- Giúp mRNA vận chuyển từ nhân ra tế bào chất.
- Bảo vệ mRNA khỏi sự thủy phân của enzyme exonuclease.
- Cần cho khởi đầu cho dịch mã.

Enzyme thực hiện gắn mũ của tế bào là guanylyl transferase (thêm guanosin 5'-triphosphate) và methyl transferase (thêm nhóm methyl). Các enzyme này nằm trong nhân, nên hầu hết các virus phiên mã trong nhân đều sử dụng. Tuy nhiên các virus phiên mã trong tế bào chất sẽ mã hoá cho enzyme gắn mũ và enzyme methyl hoá của riêng mình.

Virus có genome RNA (-) phân đoạn (cúm A) cần có một cơ chế riêng để đoạt lấy mũ từ mRNA của tế bào. Phức hợp protein của virus giúp RNA polymerase của nó gắn vào đầu 5' của mRNA đã gắn mũ của tế bào, sau đó nhờ hoạt tính endonuclease của phức hợp sẽ cắt một đoạn khoảng 10-20 nucleotide (chứa cả mũ) ra khỏi đầu 5' của mRNA. Đoạn này sẽ được dùng làm mồi để khởi đầu phiên mã cho virus.

Không phải tất cả mRNA virus đều có gắn mũ, mRNA của virus picorna (bại liệt) không có mũ. Đây là virus phiên mã trong tế bào chất, nên không phải vận chuyển ra khỏi nhân. Chúng có thể tiến hành dịch mã theo cơ chế không phụ thuộc mũ, mà nhờ đoạn IRES.

f- Gắn đuôi poly (A)

Các bản phiên mã đầu tiên của eukaryota và virus được gắn thêm một loạt gốc adenosin ở đầu 3' để tạo đuôi poly (A). Sự polyadenin hoá ở đầu 3' làm tăng tính bền của mRNA tránh sự phân giải của exonuclease và có vai trò nhất định trong khởi đầu dịch mã.

Tuy nhiên mRNA của một số virus không gắn đuôi (ví dụ virus reo) nên chức năng kể trên sẽ được thực hiện theo cách khác.

Trước vị trí gắn đuôi có một đoạn tín hiệu gắn đuôi dài 20-30bp. Đoạn này ở SV40 là AATAAA, ở HBV là TATAAA (giống như hộp TATA). Khi phiên mã RNA polymerase tiếp tục chạy dọc khuôn, vượt qua tín hiệu gắn đuôi và vị trí gắn đuôi. Sợi RNA mới tổng hợp được cắt tại vị trí gắn đuôi và các gốc adenosin được lần lượt thêm vào nhờ phức hợp protein, trong đó có enzyme gắn đuôi (poly (A) -polymerase).

g- Cắt nối

Một số bản phiên mã có chức năng của mRNA nhưng hầu hết còn cần phải chế biến, cắt bỏ intron để tạo mRNA. Hơn nữa từ mRNA, bằng phương thức cắt nối (ghép đoạn này với đoạn kia), có thể tạo ra nhiều loại mRNA khác nhau. Ví dụ bằng phương pháp cắt nối, HIV-1 có thể tạo ra 30 loại mRNA khác nhau.

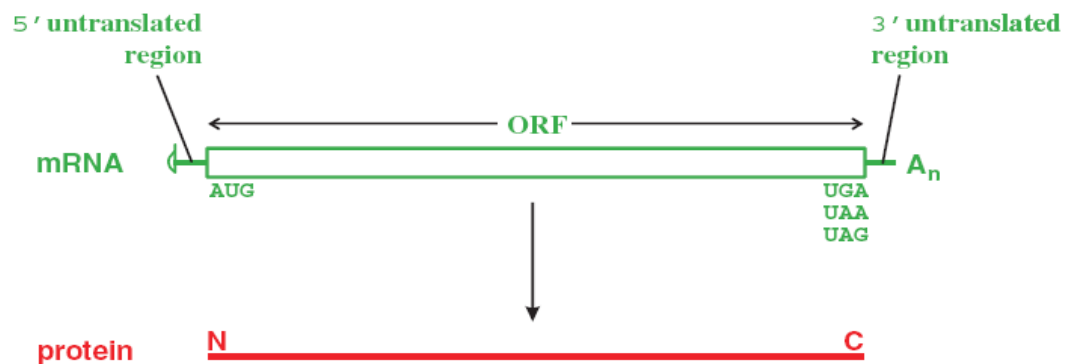
(2) -Dịch mã

Tham gia vào dịch mã gồm mRNA, tRNA, axit amin và riboxom. Quá trình gồm 3 giai đoạn: Khởi đầu, kéo dài và kết thúc.

Ở eukaryota, mRNA là đơn gen (monocistron) có nghĩa là chỉ có một khung đọc, mã hoá cho 1 protein, còn ở prokaryota, mRNA thường là đa gen (polycistron) có nhiều khung đọc và mã hoá cho nhiều protein.

Có các vùng không mã hoá, còn gọi là vùng không dịch mã, nằm ở phía đầu 5' (5'-UTR) và đầu 3' (3'-UTR).

Một khung đọc lớn có thể mã hoá cho một polyprotein lớn sau đó được enzyme phân cắt thành các protein nhỏ với chức năng khác nhau.



Dịch mã từ mRNA-monocistron

Một khung đọc mở bắt đầu từ codon khởi đầu AUG ở đầu 5' của mRNA và kết thúc tại codon kết thúc (UGA, UAA, UAG). Dịch mã theo hướng 5' 3'. Đầu N của protein được tổng hợp trước.

a- Khởi đầu dịch mã

Như đã nói trên, hầu hết mRNA của eukaryota và virus được gắn mũ và đuôi. Các cấu trúc này có vai trò quan trọng trong dịch mã.

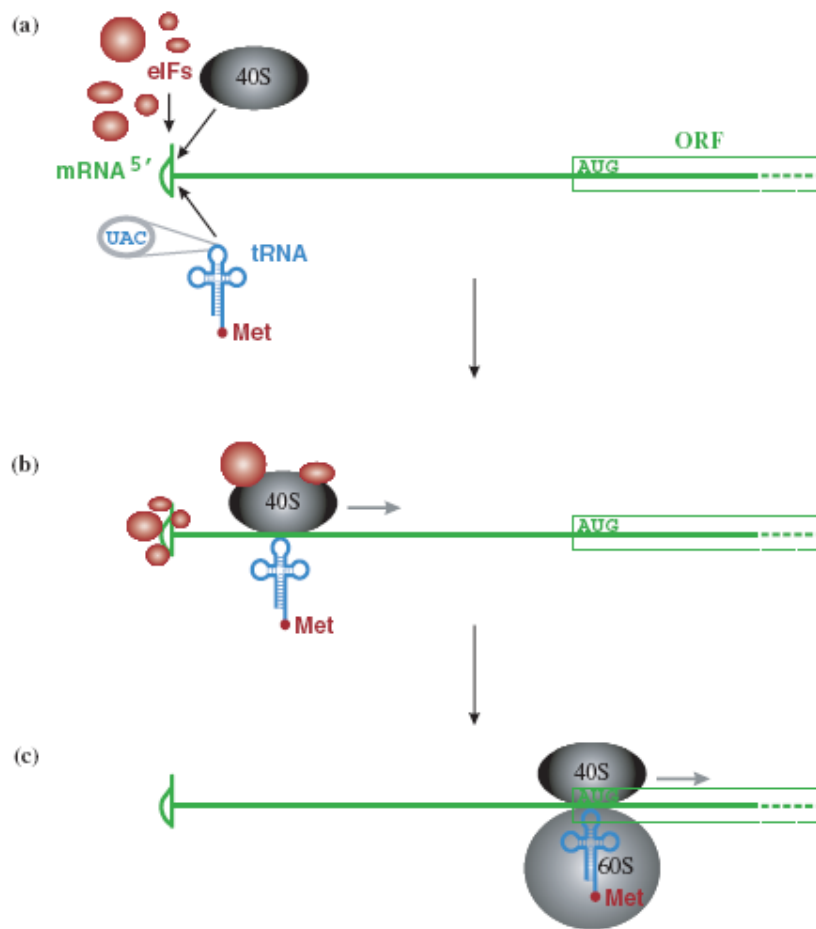
Mối quan hệ giữa virus và tế bào - Những khái niệm cơ bản

- Mũ là nơi bám của các yếu tố khởi đầu dịch mã, eIF (e = eukaryota), tRNA gắn với axit amin (Met-tRNA_I^{Met}) và tiểu phần riboxom 40S (hình 6.)

- Một protein gọi là protein bám poly (A) bám vào đuôi poly (A). Các protein bám vào đầu sợi RNA có khả năng tương tác và người ta cho rằng sự tương tác này làm cho mRNA truyền tin dẫn đến sự kích thích dịch mã.

Các mRNA không có mũ hoặc đuôi có thể truyền tin theo cách khác.

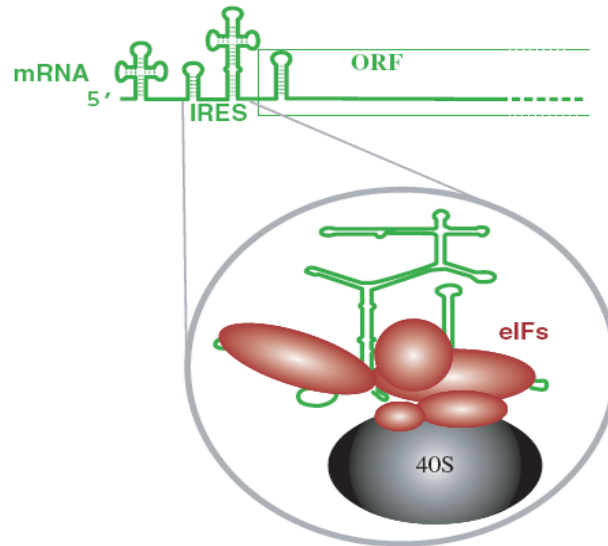
Tiểu phần riboxom 40S di chuyển dọc theo RNA theo hướng 5' 3' và quét cho đến khi gặp codon khởi đầu AUG ở đầu 5'. Tuy nhiên, một số virus có codon khởi đầu khác. Ví dụ virus Sendai dùng codon khởi đầu là ACG cho một số gen.



Khởi đầu dịch mã trên mRNA có gắn mũ

a – Các yếu tố khởi đầu eIF, tiểu phần riboxom 40S và tRNA-methionine bám vào đầu 5' của mRNA, b - Phức hợp quét từ đầu 5' theo hướng 3' của mRNA, c – khi tới codon khởi đầu AUG sẽ được anticodon UAC trên tRNA nhận diện, tiểu phần 60S bám vào và các yếu tố eIF sẽ rời ra.

Một số mRNA không có mũ thì sự dịch mã xảy ra theo cơ chế khác. Các eIF thay vì gắn vào mũ, chúng gắn vào vị trí IRES (internal ribosome entry site) gọi là bến đỗ riboxom, đó là đoạn mRNA có cấu trúc bậc 2 ở mức độ cao nằm trước khung đọc, cũng là vị trí gắn của tiểu đơn vị riboxom 40S. Đoạn IRES có ở một số virus RNA, như virus viêm gan C, picorna, đồng thời cũng thấy có ở mRNA của tế bào và mRNA của một số virus khác (ví dụ virus herpes simplex, Sarcoma Rous).



Khởi đầu dịch mã trên mRNA không gắn mũ.

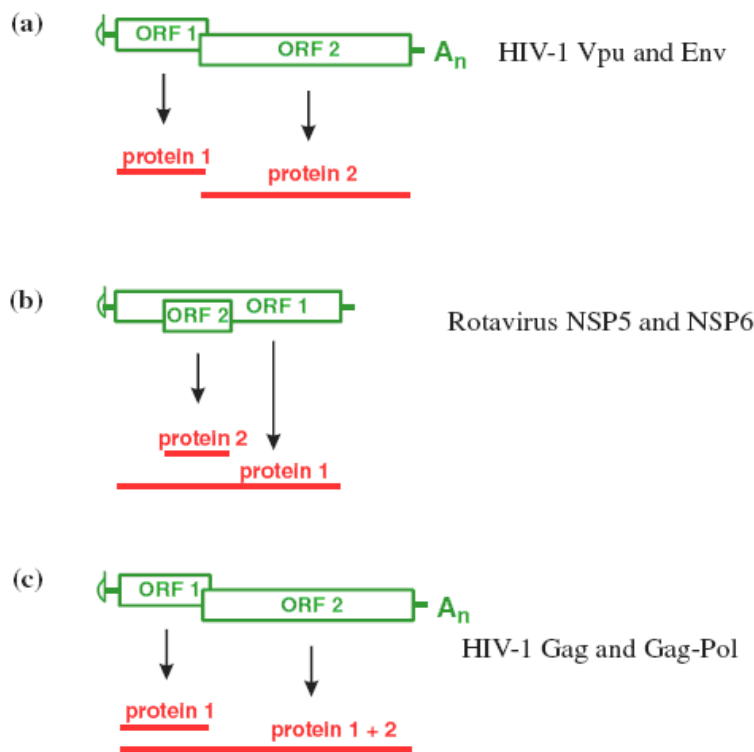
Tiểu phần riboxom 40S, các eIF bám vào vị trí IRES (bến đỗ riboxom) nằm phía trước khung đọc.

b- Dịch mã từ mRNA hai khung đọc

Hầu hết mRNA của tế bào và của nhiều virus chỉ có 1 khung đọc mở (ORF), nhưng một số mRNA của virus có 2 hoặc nhiều khung đọc, trong số các mRNA bicistron hoặc polycistron này có một số có chức năng là monocistron, nhưng một số mRNA có cấu trúc là bicistron thì cũng có chức năng là bicistron. Sự khác nhau về tỷ lệ dịch mã của hai khung đọc quy định cơ chế biểu hiện 2 gen ở mức độ khác nhau. Ở nhiều mRNA bicistron có khung đọc chồng lớp. Ở trường hợp khác, khung đọc này nằm gọn trong khung đọc kia.

- Một cơ chế dùng để đọc khung thứ 2 gồm sự quét bỏ sót (leaky): Tiểu đơn vị riboxom 40S có thể quét bỏ qua codon khởi đầu của khung đọc thứ nhất và bắt đầu dịch mã tại điểm khởi đầu của khung đọc thứ 2. Các khung đọc cho hai protein là khác nhau nên hai protein do chúng mã hoá là khác nhau.

Mối quan hệ giữa virus và tế bào - Những khái niệm cơ bản



Sự dịch mã của mRNA bicistron.

a – Riboxom có thể dịch mã tại điểm khởi đầu của ORF-1 hoặc có thể quét qua codon khởi đầu của ORF-2. b – Hai codon khởi đầu là của 2 khung đọc khác nhau và protein được tổng hợp là khác nhau. c – Khung đọc 2 được dịch mã là nhờ sự dịch khung riboxom, tạo ra một dạng kéo dài của protein 1.

- Một cơ chế khác để đọc khung đọc thứ hai của mRNA là sự dịch khung (frameshifting) của riboxom: Riboxom nhảy sang khung đọc khác nằm trước điểm kết thúc của khung đọc thứ 1. Do đó nó không bị codon kết thúc của khung đọc thứ nhất nhận ra, mà tiếp tục chạy dọc mRNA để đọc khung đọc thứ nhất kéo dài (hình 19.7c). Sự dịch khung xảy ra khi riboxom di chuyển dọc theo RNA bắt gặp tín hiệu dịch khung (1 trình tự chuyên biệt) có cấu trúc bậc 2, và thường là một pseudoknot (nút giả).

c-Cải biến trong và sau dịch mã

Trong hoặc sau quá trình dịch mã, protein có thể phải qua một hoặc nhiều lần cải biến, bao gồm glycosyl hoá, acyl hoá hoặc phosphoryl hoá.

-Glycosyl hoá

Glycosyl hoá là sự gắn thêm nhóm oligosaccarit vào chuỗi polypeptide. Khi một oligosaccarit được gắn vào nhóm -OH của serin hoặc treonin thì gọi là O-glycosyl hoá, còn nếu gắn vào nhóm -NH₂ của asparagin thì gọi là N-glycosyl hoá. Protein được tổng

hợp trong mạng lưới nội chất hạt, nơi bắt đầu N-glycosyl hoá, sau đó chúng được chuyển tới bộ máy Golgi, nơi hoàn thiện N-glycosyl hoá nhờ enzyme α -mannosidase I và II, và galactosyl transferase. O-glycosyl hoá được thực hiện trong bộ máy Golgi.

Có những virus chỉ cần một loại glycosyl hoá, ví dụ HIV-1 tiến hành N-glycosyl hoá gp120 nhưng cũng có những virus cần cả 2 loại N- và O-glycosyl hoá, ví dụ gC và gD của herpes simplex. Các glycoprotein này được gắn vào vị trí chuyên biệt trên màng sinh chất của tế bào và sẽ là các gai bề mặt sau này của vỏ ngoài. Virus rota không có vỏ ngoài nhưng cũng có glycoprotein. Protein bề mặt VP7 là glycoprotein. Một số glycoprotein của virus là protein không cấu trúc, ví dụ protein NSP4 của virus rota.

-Acyl hoá

Acyl hoá là sự gắn thêm nhóm acyl (R-CO-) vào phân tử protein. Nhóm acyl thường được gắn là myristyl, trong đó R là $\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_{12}$ - nhóm myristyl được gắn vào glycin tại đầu N của protein. Hầu như virus không có enzyme N-myristyl transferase để gắn nhóm myristyl, chúng phải sử dụng của tế bào.

Protein myristyl hoá gắn vào màng sinh chất, ví dụ protein Gag của hầu hết virus retro. Nếu không được myristyl hoá thì chúng không gắn được vào màng sinh chất và sự lắp ráp virus sẽ không xảy ra.

- Phosphoryl hoá

Phosphoryl hoá là sự chuyển nhóm phosphate từ một nucleotide, thường là ATP, cho oxy ở nhóm -OH của serin, treonin hoặc tyrosin. Sự chuyển nhóm phosphate nhờ enzyme kinase của tế bào hoặc của virus.

Sự phosphoryl hoá có thể làm thay đổi cấu hình, hoạt tính, vị trí và độ bền của protein. Nhiều quá trình của virus đòi hỏi protein phải được phosphoryl hoá.

c- Sự vận chuyển các phân tử trong tế bào eukaryota

Các phân tử của virus được vận chuyển tới các vị trí nhất định trong tế bào. Genome của virus được đưa vào nhân nhờ trượt theo vi ống và qua lỗ nhân, mRNA virus được vận chuyển từ nhân ra tế bào chất và các protein virus sau khi được tổng hợp có thể được vận chuyển vào các vị trí khác nhau, kể cả vào nhân (Các virus lắp ráp trong nhân).

Nhiều protein có một trình tự axit amin giống như mã số vùng của buru điện, nó quy định điểm đến của protein. Protein đến gắn vào màng có một trình tự tín hiệu – đó là dãy các gốc axit amin kỵ nước. Sự tổng hợp protein bắt đầu tại các riboxom tự do, nhưng khi trình tự tín hiệu được tổng hợp thì nó sẽ hướng dẫn phức hợp polypeptide-riboxom đi vào mạng lưới nội chất và tiếp tục tổng hợp protein tại đó. Vùng mạng lưới nội chất có chứa riboxom vì thế gọi là mạng lưới nội chất sần.

Mỗi một loại protein gắn vào màng có một hoặc nhiều trình tự gắn vào màng, gọi là trình tự neo màng (membrane anchor sequences) giàu gốc axit amin kỵ nước. Một số protein loại này có trình tự tín hiệu hoạt động như cái mỏ neo cắm vào màng. Các protein gắn vào màng khác, ví dụ protein vỏ ngoài của HIV-1 sẽ được chuyển qua màng cho đến khi chạm tới trình tự neo và sau đó trình tự tín hiệu sẽ bị enzyme của tế bào loại bỏ.

Nhiều protein được tổng hợp trong mạng lưới nội chất hạt sẽ được tạo bọt để tới bộ máy Golgi. Hầu hết protein gắn màng được glycosyl hoá trong các khoang màng này, sau đó được chuyển tới các màng tế bào chất hoặc màng nhân và có thể nảy chồi qua các màng này.

Các tế bào biểu mô có mặt đỉnh (ở phía ngoài) và mặt đáy (ở phía trong),

được cấu tạo từ lipid và protein. Khi nhiễm virus có vỏ ngoài vào tế bào biểu mô chúng sẽ nảy chồi qua màng sinh chất một cách giới hạn hoặc qua mặt đỉnh hoặc qua mặt đáy. Ví dụ nếu là VSV (virus chốc mép), chúng sẽ nảy chồi từ mặt đáy, còn virus cúm A sẽ nảy chồi từ mặt đỉnh. Điều này giải thích vì sao virus cúm nhiễm vào động vật có vú đều khu trú ở đường hô hấp.

Nếu virus nhân lên ở trong nhân thì hầu hết (nhưng không phải tất cả) các protein virus phải được đưa vào nhân. Cơ chế vận chuyển liên quan đến sự nhận diện của tín hiệu định vị nhân (NLS-nuclear localization signal) nằm trên protein của tế bào, gọi là importin, sau đó gắn vào các sợi (fibril) mọc ra từ phức hợp lỗ nhân để vận chuyển qua lỗ nhân.

(3) - Sao chép genome của virus

Đây là bước thứ 5 của chu trình nhân lên. Nhìn chung virus DNA và virus RNA sao chép trực tiếp genome của mình thành RNA. Tuy nhiên một số virus DNA khi sao chép cần qua trung gian RNA và một số virus RNA cần qua trung gian DNA.

Các virus DNA tiến hành sao chép trong nhân (trừ virus pox). Các virus có genome nhỏ (virus papilloma) sử dụng DNA polymerase của tế bào, còn virus có genome lớn (ví dụ herpes) thì mã hoá cho enzyme của mình.

Các virus RNA tiến hành sao chép trong tế bào chất (trừ virus cúm và retro), sử dụng enzyme do chúng mã hoá. Trong hầu hết trường hợp, sao chép và phiên mã là một. Enzyme dùng cho sao chép cũng là enzyme dùng cho phiên mã.

1. Virus DNA kép sao chép trong nhân theo cơ chế bán bảo tồn như ở tế bào, sử dụng enzyme DNA polymerase phụ thuộc DNA của tế bào. Tuy nhiên virus pox là virus DNA kép, sao chép trong tế bào chất sử dụng enzyme DNA polymerase do chúng mã hoá.

2. Virus DNA đơn (+ hoặc -) tất cả đều sao chép trong nhân, sử dụng DNA polymerase của tế bào và phải qua giai đoạn trung gian tạo sợi DNA kép, gọi là dạng sao chép (RF-replicative form). Từ RF sao chép tạo genome.
3. Virus RNA kép (ví dụ virus rota) luôn có genome phân đoạn, sao chép trong tế bào chất và sử dụng enzyme RNA polymerase phụ thuộc RNA do chúng mã hoá.
4. Virus RNA đơn, (+) khi sao chép phải qua bước tạo RNA (-) trung gian làm khuôn để tổng hợp genome RNA (+). Genome ban đầu được dùng làm mRNA để tổng hợp RNA polymerase.
5. Virus RNA đơn, (-) sao chép trong tế bào chất, sử dụng enzyme RNA polymerase phụ thuộc RNA (RNA-replicase) do chúng mang theo để tổng hợp sợi RNA (+) trung gian làm khuôn tổng hợp genome (-).

Virus RNA (-) phân đoạn (ví dụ virus cúm) sao chép trong nhân, sử dụng RNA polymerase phụ thuộc RNA do chúng mang theo.

1. Virus RNA (+) phiên mã ngược (ví dụ HIV), trước hết dùng enzyme phiên mã ngược của virus (DNA polymerase phụ thuộc RNA) để tạo DNA kép trong tế bào chất, sau đó vào nhân gắn vào nhiễm sắc thể của tế bào rồi từ đó sao chép tạo genome RNA nhờ enzyme RNA polymerase phụ thuộc DNA của tế bào.
2. Virus DNA kép phiên mã ngược (ví dụ HBV). Muốn sao chép phải qua bước trung gian tạo RNA tiền genome trong nhân, dùng enzyme RNA polymerase phụ thuộc DNA của tế bào. RNA mới sinh ra khỏi nhân làm khuôn để tổng hợp sợi DNA (-) (sợi L) nhờ enzyme phiên mã ngược của virus. Từ sợi DNA (-) làm khuôn tổng hợp sợi DNA (+) tương bù do enzyme của virus mã hoá.

a- Khởi đầu sao chép

Mỗi genome virus có một trình tự đặc biệt, tại đó bắt đầu sao chép axit nucleic của virus. Khi sao chép cần gắn môi. Đó là phản ứng đầu tiên của một nucleotide với nhóm -OH tại vị trí khởi đầu sự sao chép genome của nhiều virus (ví dụ rota, rhabdo) bắt đầu khi nucleotide đầu tiên của sợi mới bắt cặp với 1 nucleotide trong RNA của virus. Nucleotide đầu tiên hoạt động có hiệu quả như một môi để sao chép RNA, khi nhóm 3'-OH của nó gắn với nucleotide thứ 2.

Một số virus DNA đơn (ví dụ virus parvo) sử dụng cách tự tạo môi. Đầu 3' của DNA có các trình tự tương bù, nên có thể gấp lại, bắt cặp với nhau tạo đầu 3'-OH thay cho môi.

Để khởi đầu sao chép, nhiều genome DNA và một số genome RNA của virus dùng một phân tử RNA hoặc protein làm môi.

b- RNA môi và protein môi

Sự tổng hợp DNA của tế bào được bắt đầu sau khi một vùng xoắn kép được mở xoắn tạo bong bóng nhờ enzyme helicase và sau khi enzyme primase tổng hợp một đoạn RNA ngắn làm môi. Cần một môi cho sợi dẫn đầu và nhiều môi cho tổng hợp các đoạn Okazaki của sợi muộn (sợi sau). Nucleotide đầu tiên của DNA mới gắn vào 3'-OH của RNA môi.

Một số virus DNA dùng môi RNA để sao chép genome. Một số (ví dụ virus polymerase) dùng primase của tế bào để tổng hợp môi. Số khác (ví dụ virus herpes và phage T7) lại mã hoá cho primase của riêng mình. Virus retro dùng tRNA của tế bào làm môi khi ở ngoài tế bào chất, nhưng khi cài xen genome của mình vào nhiễm sắc thể của tế bào nên để sao chép, chúng dùng môi do primase của tế bào tổng hợp.

Một số virus động vật sử dụng protein làm môi, trong đó có virus DNA như virus adeno và virus RNA như picorna. Nhóm 3'-OH của serin hoặc tyrosin trong protein sẽ gắn với nucleotide sợi mới.

Virus hepDNAa (ví dụ HBV) là virus DNA kép, dùng môi là protein để khởi đầu tổng hợp sợi DNA (-) và môi RNA để khởi đầu tổng hợp DNA (+). Môi protein và môi RNA của virus hepDNAa không bị cắt bỏ sau khi vai trò của chúng đã hoàn tất mà vẫn được dính vào đầu 5' của genome.

c- Sao chép DNA

Mỗi DNA virus có ít nhất một trình tự chuyên biệt để bắt đầu sao chép gọi là trình tự khởi đầu (Ori). Các protein khởi đầu sao chép DNA bám vào vị trí này bao gồm:

- Helicase bám vào vị trí để tháo xoắn.
- Một số protein bám sợi DNA đơn, giữ cho 2 sợi không bắt cặp lại với nhau.
- Một DNA polymerase.

Về cơ bản quá trình sao chép DNA của virus giống như của tế bào. Ở vi khuẩn, số enzyme tham gia ít hơn so với ở eukaryota. Ví dụ helicase-primase của phage T7 (ở *E.coli*) chỉ là 1 phân tử, trong khi của virus herpes simplex (ở tế bào động vật) là một phức hợp gồm 3 loại protein.

Sự tổng hợp DNA diễn ra gần chạc sao chép. Một trong 2 sợi là sợi dẫn đầu, sợi còn lại là sợi muộn, được tổng hợp thành các đoạn Okazaki sau đó nối lại với nhau nhờ DNA-ligase. Sợi DNA kép mới tạo thành có chứa một mạch của sợi mẹ. Cách sao chép này gọi là bán bảo tồn. Ngược lại với nó là sao chép bảo tồn xảy ra ở một số virus.

Một số genome DNA là phân tử dạng thẳng trong khi một số khác lại là dạng khép vòng. Một số phân tử dạng thẳng khi sao chép lại được khép vòng, cho nên nhiều genome virus được sao chép như là một phân tử vòng tròn. Từ đây có 2 phương thức sao chép.

- Sao chép theo cơ chế theta hay dạng mắt. Từ vị trí Ori tạo ra 2 chạc ba sao chép. Sao chép cùng lúc theo 2 chiều thuận nghịch kim đồng hồ.

- Sao chép theo cơ chế xích ma (δ). Phân tử DNA kép dạng vòng gồm sợi ngoài (+) và sợi trong (-). Sợi ngoài bị cắt đứt ở liên kết photphodierte tạo ra đầu 3'-OH tự do (gọi là điểm sinh trưởng) Sợi trong xoay được dùng làm khuôn. Các nucleotide nối vào đầu 3'-OH để tạo ra 1 sợi DNA mới. Từ sợi DNA mới này lại được gắn mỗi tổng hợp mạch bổ sung tạo DNA kép.

Một số virus lúc mới nhiễm sao chép theo cơ chế theta nhưng ở giai đoạn sau lại theo cơ chế xích ma (ví dụ phage ϕ x174).

Một số virus DNA như virus herpes và phage T4, kết quả sao chép tạo ra phân tử DNA rất lớn gọi là phân tử trùng lặp (concateme). Mỗi concateme cấu tạo gồm nhiều bản sao genome nối với nhau. Trước khi lắp ráp vào virion concateme sẽ được phân cắt thành các phân tử có kích thước và trình tự của genome.

(4) -Lắp ráp

Lắp ráp là sự tự kết nối các thành phần virus để tạo ra virion hoàn chỉnh đòi hỏi phải có cấu trúc bền vững, tồn tại được trong môi trường như là một thực thể có khả năng gây nhiễm, tuy nhiên cũng đòi hỏi khi vào trong tế bào cấu trúc này phải không bền vững thì mới có thể giải phóng dễ dàng genome vào tế bào chất. Do vậy virion phải có cơ chế đóng mở kiểu “công-tắc” để có thể biến đổi từ trạng thái bền vững sang trạng thái không bền vững. Công tắc này liên quan đến việc gắn vào receptor hoặc sự thay đổi pH trong endosome.

Khi số lượng genome và protein cấu trúc được tích lũy đến ngưỡng thì chúng sẽ tiến hành lắp ráp tạo nucleocapsid.

1. Virus có cấu trúc dạng xoắn: Đối với virus RNA đơn có cấu trúc dạng xoắn, lúc đầu một số phân tử protein cấu trúc sẽ bám theo chiều xoắn của genome RNA, sau đó các phân tử khác lần lượt bám theo cho đến khi phủ hết RNA.
2. Virus có cấu trúc dạng khối đa diện: Trước hết cần phải lắp ráp một cấu trúc rỗng hình cầu gọi là procapsid. Genome virus chui vào procapsid, sau đó cải biến từ cấu trúc hình cầu sang hình khối đa diện; ví dụ các virus adeno, picorna thực hiện cải biến bằng cách cắt bớt 1 hoặc nhiều protein cấu trúc.

Genome chui vào trong procapsid qua kênh nằm ở vị trí mà sau này sẽ là đỉnh của khối đa diện. Bất kỳ enzyme nào tham gia vào đóng gói genome cũng nằm ở vị trí này. Ở tế

bào thực khuẩn cũng như vậy, trước hết cũng phải tạo một “tiền đầu” (prohead) sau đó genome chui qua 1 cái cổng nằm ở một đỉnh. Vị trí này cũng có chức năng nối với đuôi.

a- Đóng gói genome

Trong tế bào có rất nhiều axit nucleic, của cả virus và tế bào. Vậy làm thế nào để genome của virus lại được lựa chọn và lắp ráp chứ không phải của tế bào? Sở dĩ như vậy vì virus có một protein chuyên biệt, nhận diện tín hiệu đóng gói, nằm ở vùng có cấu trúc bậc hai của genome. Hầu hết virus có genome sợi đơn có thể đóng gói hoặc sợi dương hoặc sợi âm, nên tín hiệu đóng gói phải có duy nhất ở sợi cần được đóng gói. Genome được nén trong thể tích nhỏ. Virus DNA kép có kích thước lớn như virus herpes, đóng gói genome chặt đến nỗi tạo áp suất lớn gấp 10 lần so với áp suất trong chai rượu sâm – banh.

b- Cơ chế lắp ráp

Trước đây Fraenkel-Conrat đã tách genome ra khỏi capsid của virus đốm thuốc lá, sau đó lại lắp ráp chúng với nhau trong điều kiện pH và sự có mặt của một số ion nhất định, để tạo virus hoàn chỉnh. Với các virus đơn giản, chỉ chứa 1 axit nucleic và một số ít loại protein thì có thể tự lắp ráp một cách đơn giản như trên. Nhưng với các virus phức tạp, như virus herpes và phage có đuôi, thì không thể tái lắp ráp như vậy. Chúng cần phải được lắp ráp trực tiếp trong môi trường của tế bào nhiễm. Khi lắp ráp cần phải có mặt tạm thời 1 protein dùng làm giàn giáo. Các protein cấu trúc theo đó mà lắp vào để tạo capsid. Khi công việc hoàn tất, protein giàn giáo bị loại bỏ khỏi virion hoặc bằng enzyme phân giải hoặc giữ lại để tái sử dụng.

c- Sự tạo màng virion

Vỏ ngoài virus có thể được tạo thành theo 1 trong 2 cơ chế: *Cải biến màng sinh chất của tế bào* rồi nảy chồi ra ngoài hoặc *tự tổng hợp màng mới* bao quanh nucleocapsid.

-Cải biến màng sinh chất

Vỏ ngoài của virus thường có nguồn gốc từ màng sinh chất, được cuốn theo khi virus nảy chồi. Vùng màng mà virus sẽ nảy chồi được đính trước 1 hoặc nhiều loại protein đặc hiệu của virus, thường là glycoprotein, các protein này ngậm trong lớp lipid kép. Protein M của virus (các phân tử protein này gắn với nhau tạo thành màng đệm – M) tập trung nhiều ở vùng màng, có ái lực với nhau và đẩy protein tế bào ra khỏi màng. Đôi khi protein tế bào không bị đẩy ra hết nên chúng có thể tham gia vào thành phần vỏ ngoài. Ví dụ vỏ ngoài của virus HIV-1 có chứa protein MHC-II (phức hợp hoà hợp mô chính) của tế bào. Trước khi nảy chồi, protein M tới gắn vào phần đuôi nằm trong tế bào chất của glycoprotein xuyên màng, sau đó nucleocapsid tiến đến bám vào màng M. Nucleocapsid khi nảy chồi sẽ cuốn theo màng tế bào chất và màng M để tạo vỏ ngoài. Không phải tất cả các virus đều có màng M. Ví dụ ở trường hợp virus sốt vàng thì bề mặt nucleocapsid sẽ gắn trực tiếp vào đuôi glycoprotein trong màng.

-Tổng hợp mới màng virus

Chỉ có một số ít virus tạo màng lipid muộn trong quá trình nhân lên. Màng này có thể tham gia hình thành vỏ ngoài (ví dụ virus pox) hoặc nằm trong nhân tạo 1 lớp phía mặt dưới của capsid (ví dụ virus irido).

Khi nhân lên virus baculo tạo ra 2 loại virion có vỏ ngoài: Loại thứ nhất có chức năng lây nhiễm sang tế bào khác trong vật chủ. Loại này có được vỏ ngoài là do nảy chồi qua màng sinh chất. Loại virion thứ hai có chức năng gây nhiễm vào vật chủ mới, vỏ ngoài của nó bao quanh nucleocapsid nằm trong nhân dẫn đến các virion hợp nhất với nhau trong một bọc gọi là thể bọc (occlusion body). Thể bọc giúp virus tránh tác động của môi trường bên ngoài, nên virus có thể duy trì rất lâu ngoài tế bào sống.

(5) -Giải phóng virus khỏi tế bào

Đây là giai đoạn cuối cùng của chu trình nhân lên. Nhiều virus được giải phóng khi tế bào bị nổ tung, do thành tế bào bị phân giải, cộng với áp lực lớn trong tế bào. Ví dụ nhiều phage, peptidoglycan bị phân giải dẫn đến làm vỡ tế bào. Số khác lại có khả năng tổng hợp protein ức chế enzyme tham gia vào tổng hợp thành tế bào, làm cho thành tế bào yếu đi nên dễ bị vỡ.

Số lượng virus được tạo thành qua mỗi mẻ là rất lớn. Trong tế bào *E.coli* có kích thước nhỏ bé, phage T4 có kích thước lớn tạo ra được 200 virion. Virus picorna có kích thước rất nhỏ khi nhiễm vào tế bào động vật có kích thước lớn đã tạo ra đến 100.000 virion.

Một số virus không làm tan tế bào mà chỉ chui ra từ từ theo lối nảy chồi, số khác chui ra thông qua việc tạo thành túi hay bong từ màng lưới nội chất hoặc bộ máy Golgi. Màng bong dung hợp với màng tế bào chất và đẩy virus ra ngoài. Ở các trường hợp này, tế bào vẫn còn sống thêm một thời gian nữa.

Phiên mã và dịch mã ở Prokaryota

Phiên mã ở Prokaryota

Sự phiên mã ở các tế bào prokaryota có những đặc điểm sau:

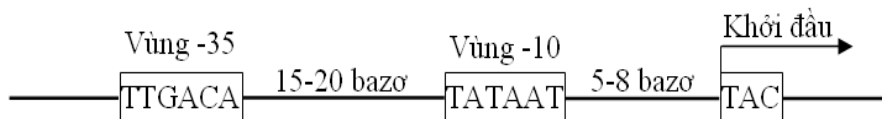
- Chỉ cần một loại RNA polymerase để tổng hợp tất cả các loại RNA.
- mRNA là đa gen (polycistron) có nhiều khung đọc, tất cả các khung đọc đều có thể được dịch mã cùng một lúc.
- mRNA không gắn mũ và đuôi poly (A).

Mối quan hệ giữa virus và tế bào - Những khái niệm cơ bản

- Phiên mã được thực hiện khi RNA-polymerase bám vào promoter. Sự tổng hợp bắt đầu từ điểm xuất phát, thường là TAC, nằm sau điểm bám 7-8 base nằm phía đầu 3' của khuôn.
- Phiên mã tiếp tục cho đến khi đọc qua trình tự kết thúc. Khi kết thúc, RNA polymerase và mRNA rời khỏi mạch khuôn.
- Quá trình phiên mã và dịch mã xảy ra đồng thời.

RNA-polymerase của *E.coli* là một phức hợp gồm 5 tiểu đơn vị là $\alpha\alpha\beta\beta'$ và δ . δ (xích ma) có thể tách ra khỏi enzyme lõi. $\alpha\alpha\beta\beta'$ (enzyme lõi) là yếu tố xác định tính đặc hiệu của promoter.

Promoter là vùng khởi động. Nếu ký hiệu base đầu tiên phiên mã thành mRNA (thường là adenin) là +1 thì các base nằm phía trước theo hướng ngược chiều phiên mã sẽ ký hiệu là (-). Promoter gồm 2 trình tự một trình tự là TATAAT cách điểm khởi đầu 5-8 base và có base trung tâm là -10. Trình tự này gọi là hộp TATA hay Pridnow và một trình tự nữa là TTGACA, có base trung tâm là -35 (nằm trước điểm khởi đầu 35 bp). Vùng -35 tham gia vào việc gắn RNA polymerase

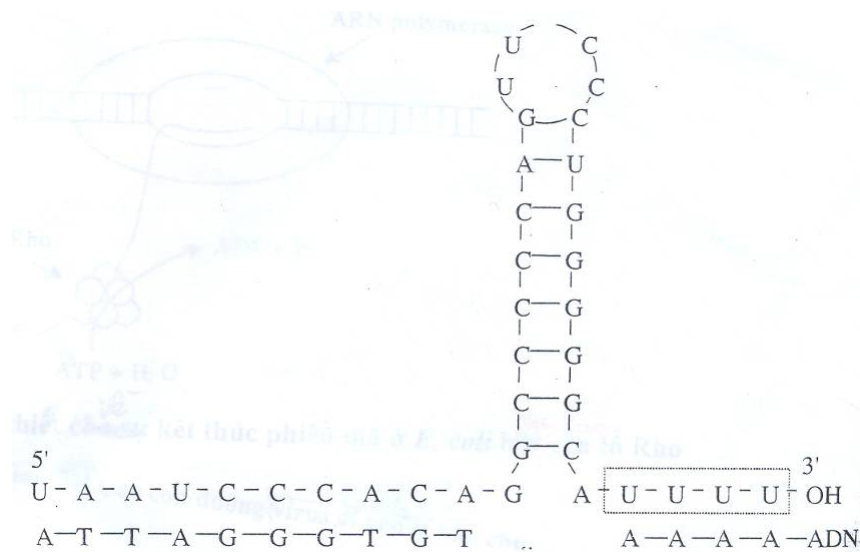


Cụ thể là ngay trước vùng -35 của một số promoter còn có thêm yếu tố UP để cho tiểu đơn vị α của RNA polymerase nhận diện và tăng cường sự bám của enzyme. Khi khởi đầu phiên mã hoàn thành, yếu tố α sẽ rời ra để tái sử dụng.

Phiên mã kết thúc sau khi một trình tự kết thúc được phiên mã. Sự kết thúc có thể theo cơ chế phụ thuộc hay không phụ thuộc yếu tố ρ (rho).

- *Kết thúc phiên mã không phụ thuộc rho* được đặc trưng bởi trình tự giàu G-C trên DNA. Trình tự này đối xứng 2 bên, có thêm 5 hoặc 6 adenin kèm theo. RNA được phiên mã từ trình tự này có thể tạo ra cấu trúc nút vòng có cuống (stem loop) và cấu trúc nối A-U hình thành trong sợi lai DNA-RNA (DNA khuôn và RNA mới sinh). Đoạn lặp lại oligo A với oligo U bắt cặp không bền vững nên RNA có thể tách khỏi DNA khuôn. Sau đó sợi DNA kép được hình thành trong “bong bóng phiên mã”. Lõi của enzyme RNA polymerase có ái lực thấp với DNA kép nên được tách ra.

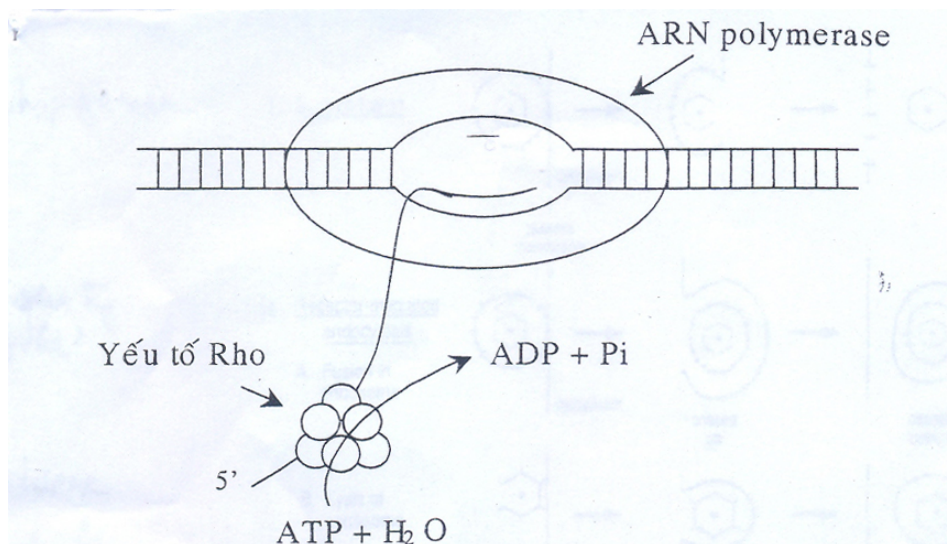
Mối quan hệ giữa virus và tế bào - Những khái niệm cơ bản



Cấu trúc bậc 2 ở đầu 3' của RNA ở operon *E.coli*.

- *Kết thúc phiên mã phụ thuộc yếu tố rho* cần phải có yếu tố rho. Đó là protein gồm có 6 tiểu đơn vị có ái lực cao với RNA đơn, có hoạt tính helicase và ATP-ase để tháo xoắn sợi lai DNA-RNA. Khi bám vào RNA, yếu tố rho sẽ phân giải ATP. Năng lượng được giải phóng giúp nó chuyển dọc sợi RNA mới sinh tới bong bóng phiên mã, sau đó yếu tố rho tách đôi DNA-RNA và giải phóng RNA.

Gen của virus và vi khuẩn ít khi có intron. Một số phage dùng RNA pol phụ thuộc DNA của tế bào vật chủ để phiên mã, trong khi số khác lại tự tổng hợp enzyme này cho riêng mình.



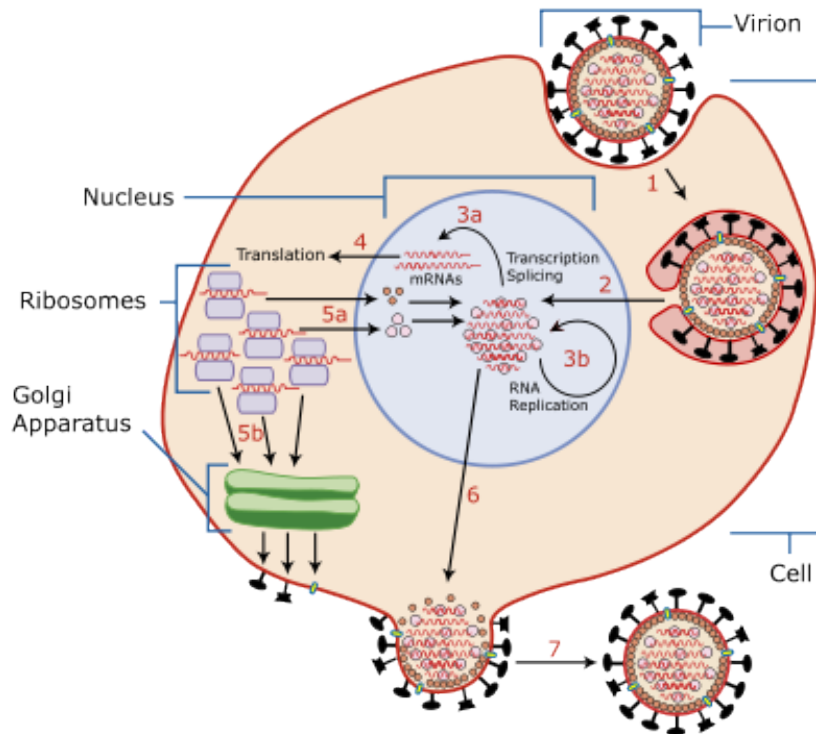
Mô hình kết thúc phiên mã phụ thuộc yếu tố Rho ở *E. Coli*

Dịch mã ở prokaryota

Dịch mã ở vi khuẩn có các đặc điểm sau:

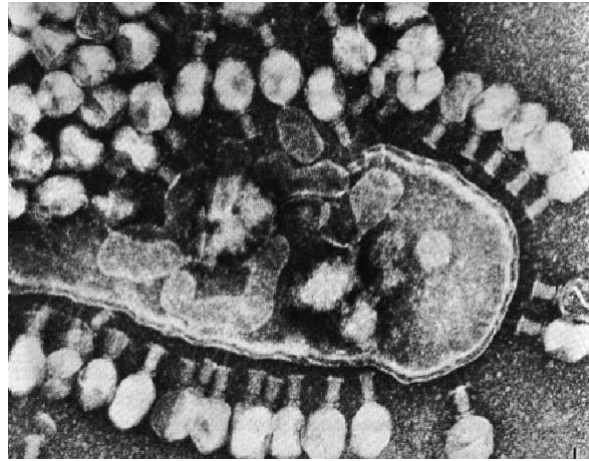
Mối quan hệ giữa virus và tế bào - Những khái niệm cơ bản

- Dịch mã có thể được bắt đầu trước khi kết thúc phiên mã. Do không có nhân nên phiên mã và dịch mã xảy ra đồng thời.
- Riboxom 70S gồm 2 tiểu phần là 50S và 30S.
- mRNA không có mũ nhưng có trình tự SD (Shine DalgRNAo) nằm trước vị trí khởi đầu dịch mã AUG và bắt cặp với đoạn 3'RNA riboxom 16S trong tiểu phần 30S.
- Methionine của tRNA đầu tiên thường được methyl hoá (fMet-tRNA_i^{Met}).
- Chỉ cần một lượng rất ít các yếu tố khởi đầu.
- mRNA có nhiều khung đọc (polycistron). Tất cả các khung đọc đều được dịch mã cùng lúc.



Quá trình nhân lên của virus trong tế bào vật chủ

Mối quan hệ giữa virus và tế bào - Những khái niệm cơ bản



Sự xâm nhập của thực khuẩn thể vào tế bào vi khuẩn