



# Review Questions

1. What is the function of staining in light microscopy? Why are cationic dyes used for general staining purposes (Sections 2.1 and 2.2)?
2. What is the advantage of a differential interference contrast microscope over a bright-field microscope? A phase-contrast microscope over a bright-field microscope (Sections 2.2 and 2.3)?
3. What is the major advantage of electron microscopes over light microscopes? What type of electron microscope would be used to view the three-dimensional features of a cell (Section 2.4)?
4. Which domains of life have a prokaryotic cell structure? Is prokaryotic cell structure a predictor of phylogenetic status (Section 2.5)?
5. How long is a cell of the bacterium *Escherichia coli*? How much larger are you than this single cell (Section 2.5)?
6. How do viruses resemble cells? How do they differ from cells (Section 2.5)?
7. What is meant by the word genome? How does the chromosome of prokaryotes differ from that of eukaryotes (Section 2.6)?
8. How many genes does an organism such as *Escherichia coli* have? How does this compare with the number of genes in one of your cells (Section 2.6)?

9. What is meant by the word endosymbiosis (Section 2.7)?
10. How would you explain the fact that many proteins of *Archaea* resemble their counterparts in eukaryotes more closely than those of *Bacteria* (Section 2.7)?
11. From the standpoint of energy metabolism, how do chemoorgano-trophs differ from chemolithotrophs? What carbon sources do members of each group use? Are they heterotrophs or autotrophs (Section 2.8)?
12. What domain contains the phylum *Proteobacteria*? What is notable about the *Proteobacteria* (Section 2.9)?
13. What is unusual about the organism *Pyrolobus* (Sections 2.8 and 2.10)?
14. What similarities and differences exist between the following three organisms: *Pyrolobus*, *Halobacterium*, and *Thermoplasma* (Section 2.10)?
15. How have rRNA sequencing studies improved our understanding of microbial diversity (Section 2.11)?
16. What are the major similarities and differences between protists, fungi, and the slime molds (Section 2.12)?

# Application Questions

1. Calculate the size of the smallest resolvable object if 600-nm light is used to observe a specimen with a 100 $\times$  oil-immersion lens having a numerical aperture of 1.32. How could resolution be improved using this same lens?
2. Explain why a bacterium containing a plasmid can typically be “cured” of the plasmid (that is, the plasmid can be permanently removed) with no ill effects, whereas removal of the chromosome would be lethal.
3. It has been said that knowledge of the evolution of macroorganisms greatly preceded that of microorganisms. Why do you think that reconstruction of the evolutionary lineage of horses, for example, might have been an easier task than doing the same for any group of prokaryotes?

4. Examine the phylogenetic tree shown in Figure 2.16. Using the sequence data shown, describe why the tree would be incorrect if its branches remained the same but the positions of organisms 2 and 3 on the tree were switched.
5. Explain why even though microbiologists have cultured a great diversity of microorganisms, they know that an even greater diversity exists, despite having never seen or grown them in the laboratory.
6. What data from this chapter could you use to convince your friend that extremophiles are not just organisms that were “hanging on” in their respective habitats?
7. Defend this statement: If cyanobacteria had never evolved, life on Earth would have remained strictly microbial.

# Chương 3: Sinh lý vi sinh vật

- 1. Dinh dưỡng và biến dưỡng**
- 2. Tăng trưởng**
- 3. Kiểm soát tăng trưởng**
- 4. Các phương thức biến dưỡng vật chất và năng lượng**

# Dinh dưỡng và biến dưỡng ở vi sinh vật

# Dinh dưỡng và biến dưỡng

- **Chất dinh dưỡng:** vật chất cung cấp nguồn năng lượng, vật chất cấu thành tế bào
- **Biến dưỡng:** chuyển hóa chất dinh dưỡng để cung cấp năng lượng, vật chất cho tế bào
- **Các chất dinh dưỡng cần thiết ở VSV**
  - + **C:**  $\text{CO}_2$ , hợp chất carbon hữu cơ
  - + **N:**  $\text{N}_2$ ,  $\text{NH}_3$ , đạm hữu cơ
  - + **P:**  $\text{PO}_4^{3-}$ , lân hữu cơ
  - + **S:**  $\text{SO}_4^{2-}$
  - + **Nhóm đa lượng:** C, H, O, N, P, S, K, Mg, Na, Ca và Fe
  - + **Nhóm vi lượng:** Cr, Co, Cu, Mn, Mo, Ni, Se, W, V và Zn



# Thành phần % các nguyên tố cần thiết của sinh khối khô tế bào

C 50%

O 17%

N 13%

H 8.2%

P 2.5%

S 1.8%

Se <0.01%

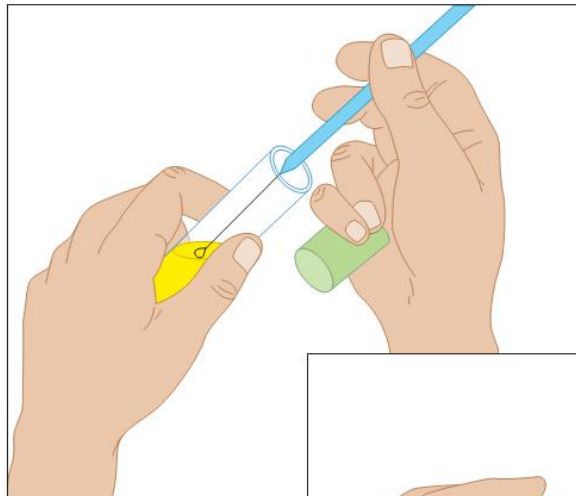
# Thành phần các đại phân tử của tế bào

Macromolecule	Percent of dry weight
Protein	55
Lipid	9.1
Polysaccharide	5.0
Lipopolysaccharide	3.4
DNA	3.1
RNA	20.5

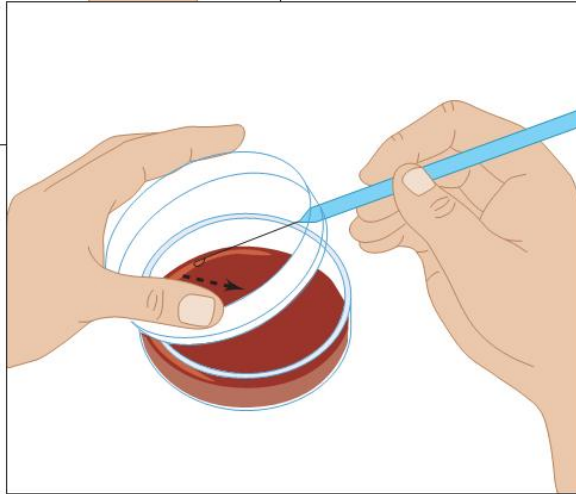
# Môi trường nuôi cấy VSV

- Nguồn gốc thành phần môi trường: môi trường dinh dưỡng tự nhiên, tổng hợp
- Tính chất thành phần môi trường: môi trường đơn giản, phức tạp
- Thành phần môi trường: môi trường xác định, không xác định
- Tính chất vật lý: môi trường lỏng, rắn, bán rắn

# Thao tác vô trùng



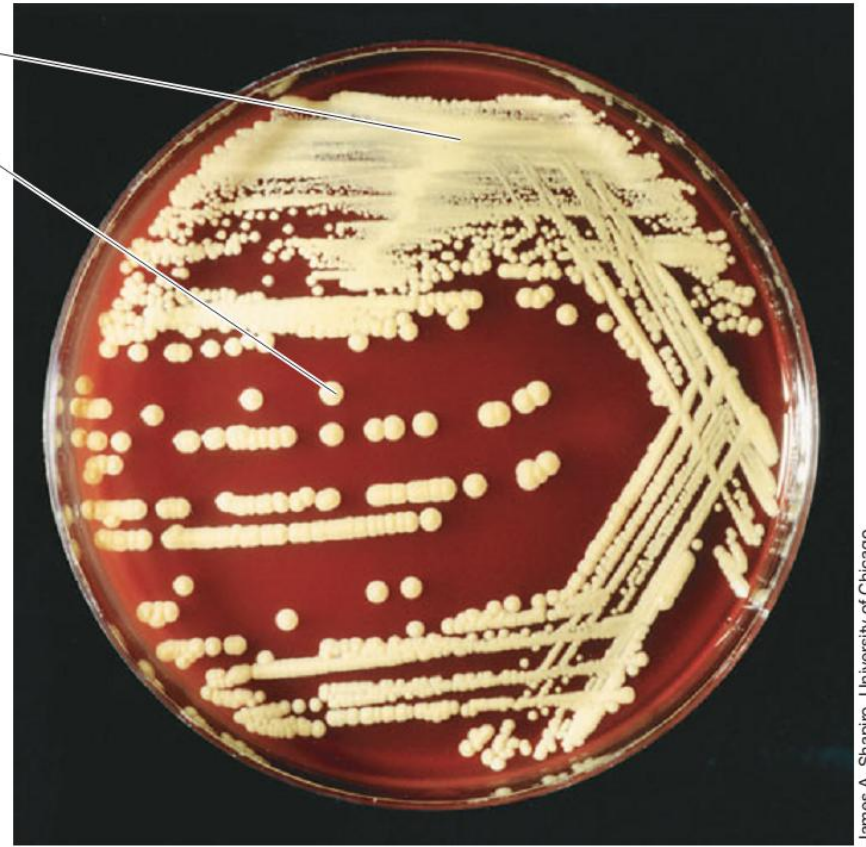
(a)



(b)

Confluent growth at beginning of streak

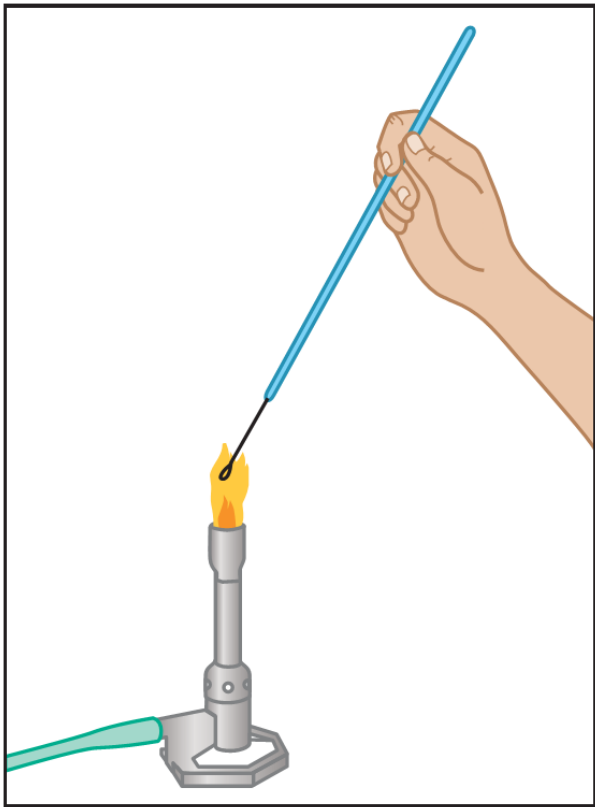
Isolated colonies at end of streak



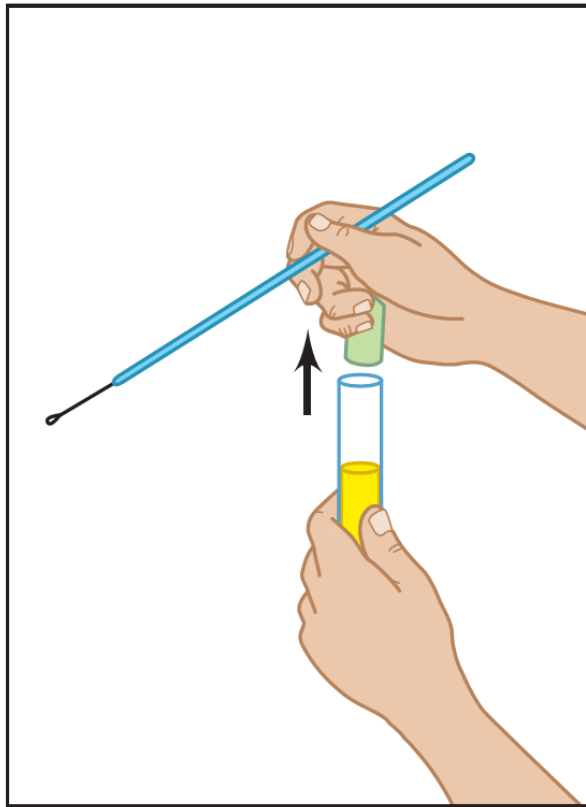
(c)

James A. Shapiro, University of Chicago

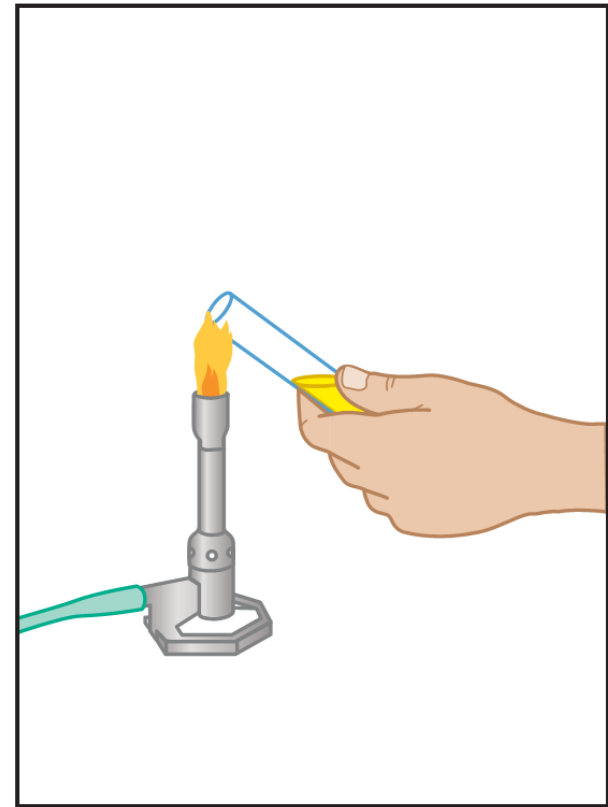
# Phương pháp cấy chuyền vô trùng



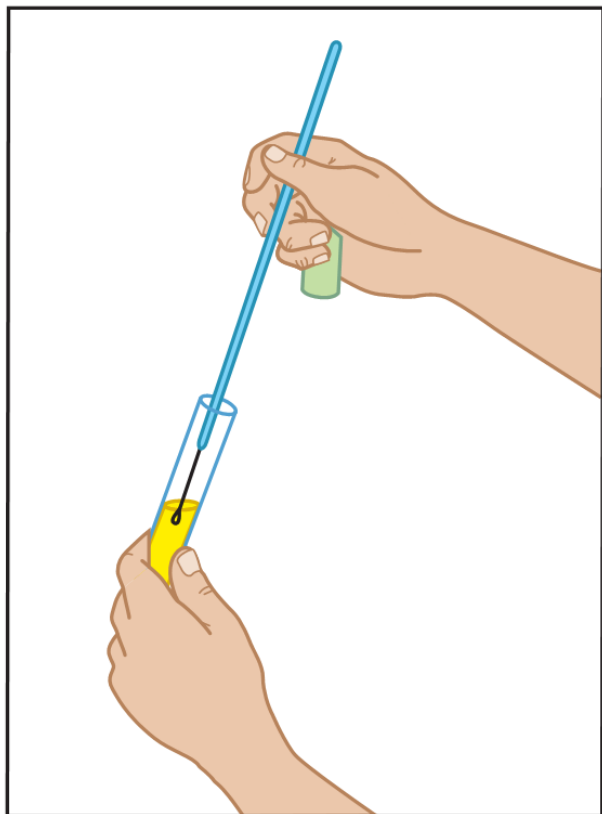
(a)



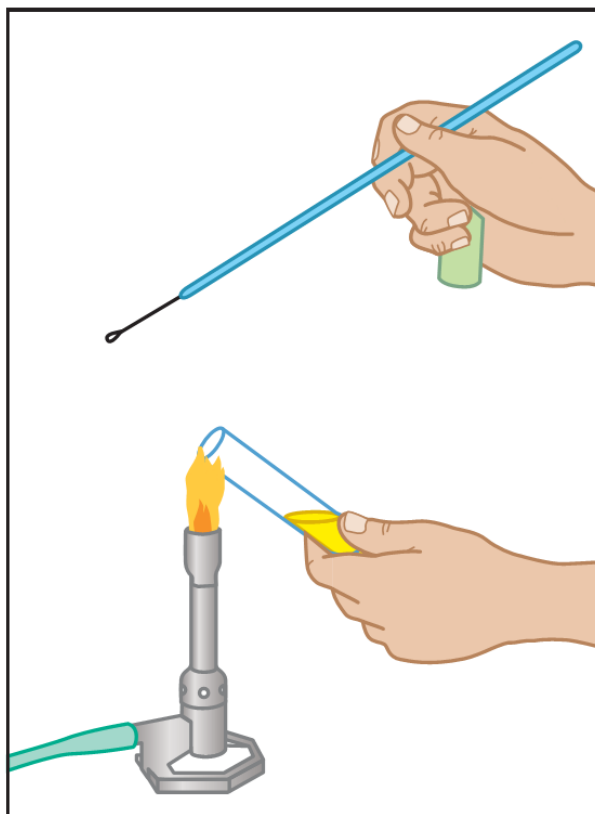
(b)



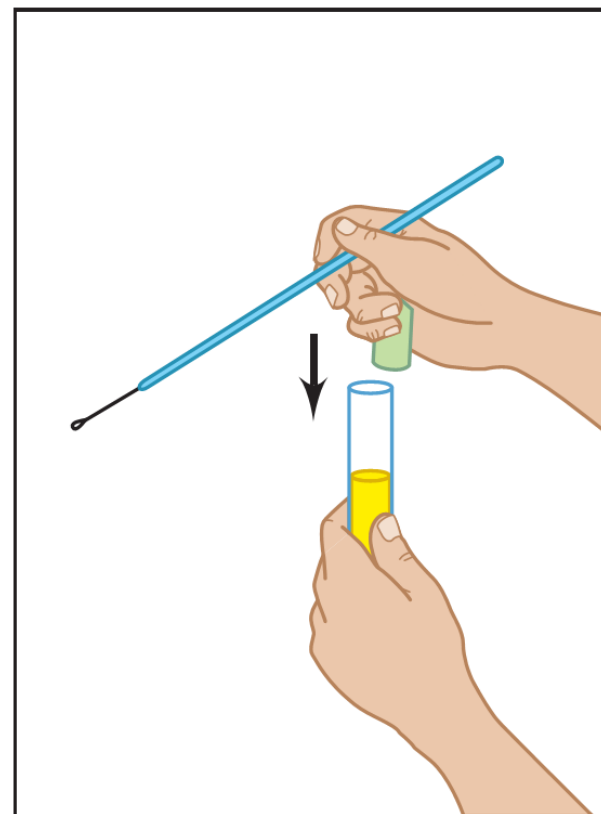
(c)



(d)



(e)



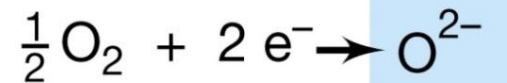
(f)

# Cơ sở của sự tạo năng lượng trong tế bào VSV

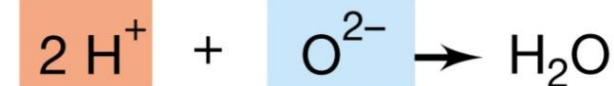
- Phản ứng ôxi hóa khử
- Sự ôxi hóa một hợp chất: sự lấy điện tử (và proton) khỏi một hợp chất
- Sự khử một chất: sự thêm điện tử (và proton) vào một chất
- Chất cho điện tử (chất bị ôxi hóa), chất nhận điện tử (chất bị khử)



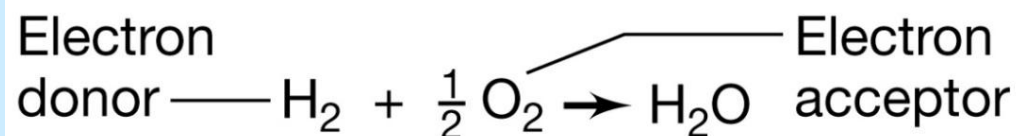
Electron-donating half reaction



Electron-accepting half reaction



Formation of water



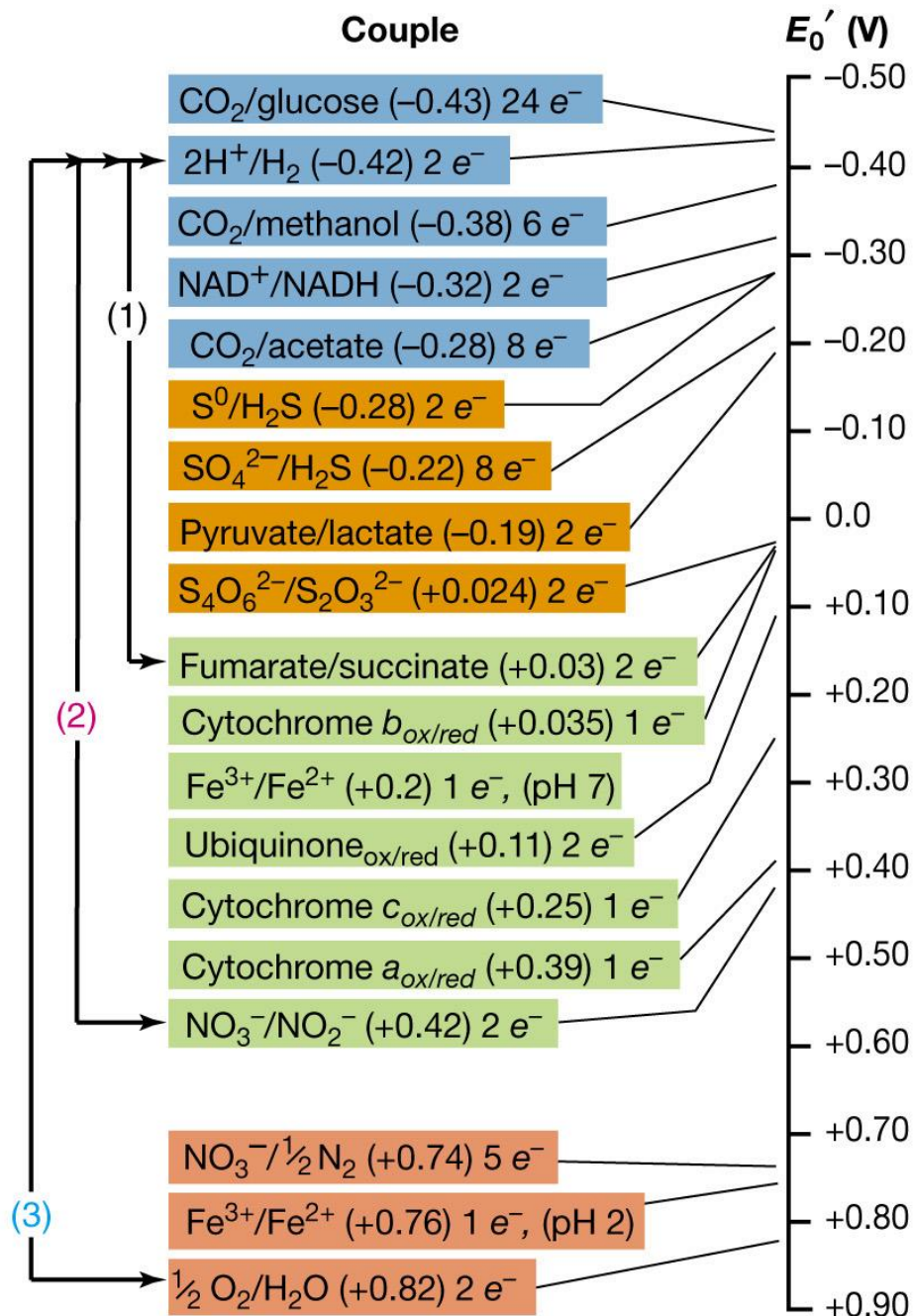
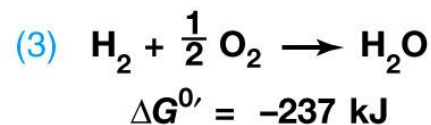
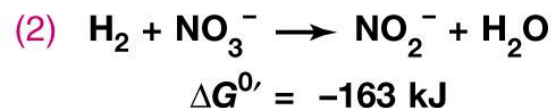
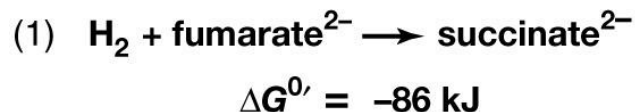
Net reaction

# Thế oxy hóa khử và tháp điện tử

- Thế oxy hóa khử  $E_0$  (Oxidation-reduction = redox): khuynh hướng nhận điện tử
  - + Thế khử thấp: có khuynh hướng cho điện tử
  - + Thế khử cao: có khuynh hướng nhận điện tử
- Tháp điện tử: sự sắp xếp các hợp chất được sử dụng bởi tế bào theo thế khử từ thấp đến cao
- Phản ứng ôxi hóa khử: giữa hai chất có thế khử khác nhau, điện tử được truyền từ chất có thế khử thấp sang chất có thế khử cao hơn
- $\Delta G$  của phản ứng ôxi hóa khử phụ thuộc mức độ khác biệt giữa thế khử của hai bán phản ứng



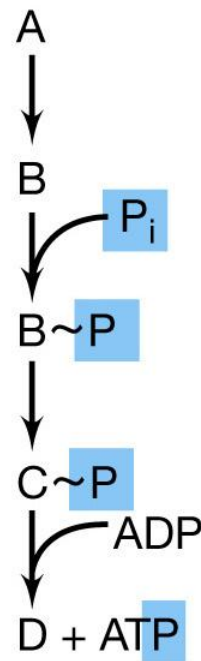
**Examples of reactions  
with H<sub>2</sub> as e<sup>-</sup> donor**



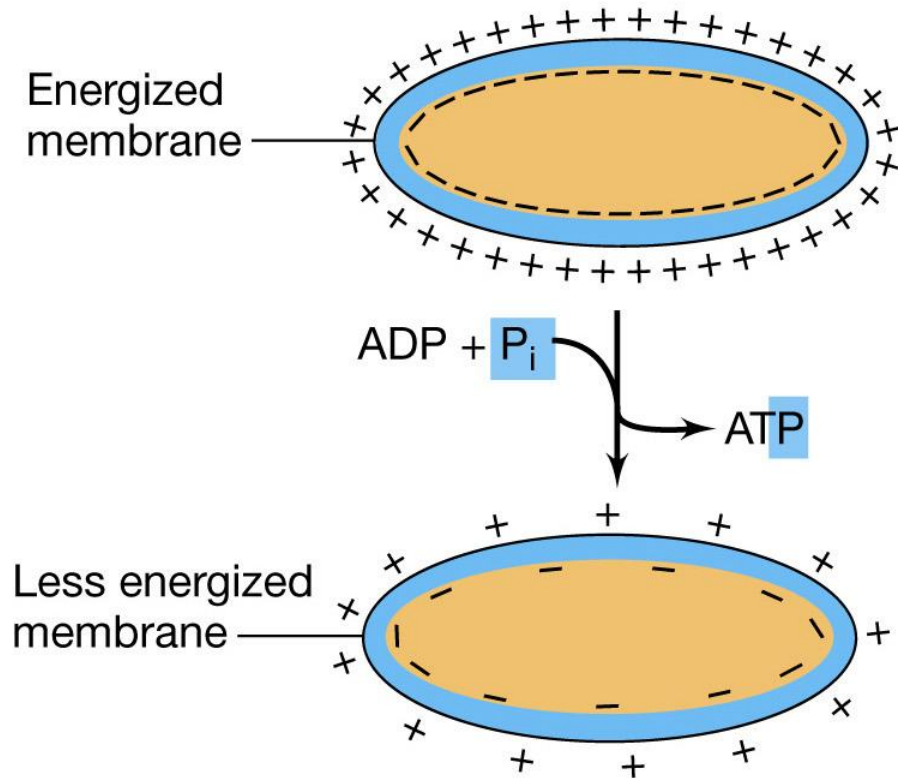
# Hợp chất chứa năng lượng cao và sự lưu trữ năng lượng

- Năng lượng của phản ứng ôxi hóa khử được lưu trữ ở dạng hợp chất hóa học chứa năng lượng cao: ATP (adenosine triphosphate)
- NAD, NADP, FMN, FAD là chất mang điện tử trung gian trong phản ứng ôxi hóa khử nhận điện tử từ cơ chất phản ứng ôxi hóa khử (trở thành NADH, NADPH, FADH<sub>2</sub>). Điện tử này được sử dụng để tạo ATP hay được truyền đến cơ chất có thế khử cao của phản ứng ôxi hóa khử khác

# Tạo ATP bằng phosphoryl hóa cơ chất (a) và phosphoryl ôxi hóa (b)



**(a) Substrate-level phosphorylation**



**(b) Oxidative phosphorylation**

# **Phương thức biến dưỡng năng lượng: hô hấp và lên men**

- **Hô hấp (respiration):** điện tử từ chất cho qua chuỗi truyền điện tử được truyền đến chất nhận điện tử cuối cùng ở ngoài môi trường như  $O_2$ ,  $NO_3^+$ ... ATP được tạo thành theo cơ chế phosphoryl hóa ôxi hóa
- **Lên men (fermentation):** điện tử từ một chất hữu cơ bị ôxi hóa được chuyển đến sản phẩm lên men là chất hữu cơ để cân bằng phản ứng ôxi hóa khử. ATP được tạo ra theo cơ chế phosphoryl hóa cơ chất

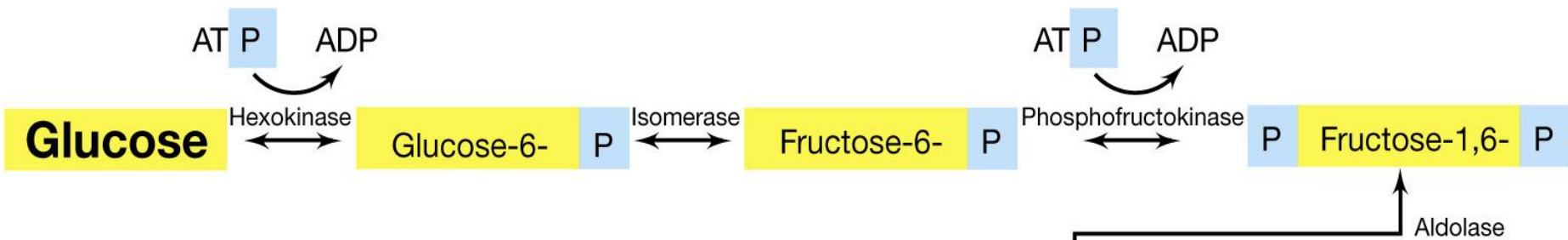
# Cơ sở sinh hóa của sự lên men

- Cơ bản là đường phân (con đường Embden – Meyerhoff)
- Ba bước:
  - + Bước chuẩn bị (preparatory reactions)
  - + Bước ôxi hóa (oxidation)
  - + Bước khử (reduction)

# Bước chuẩn bị và bước ôxi hóa trong lên men

## Stage I: Preparatory reactions

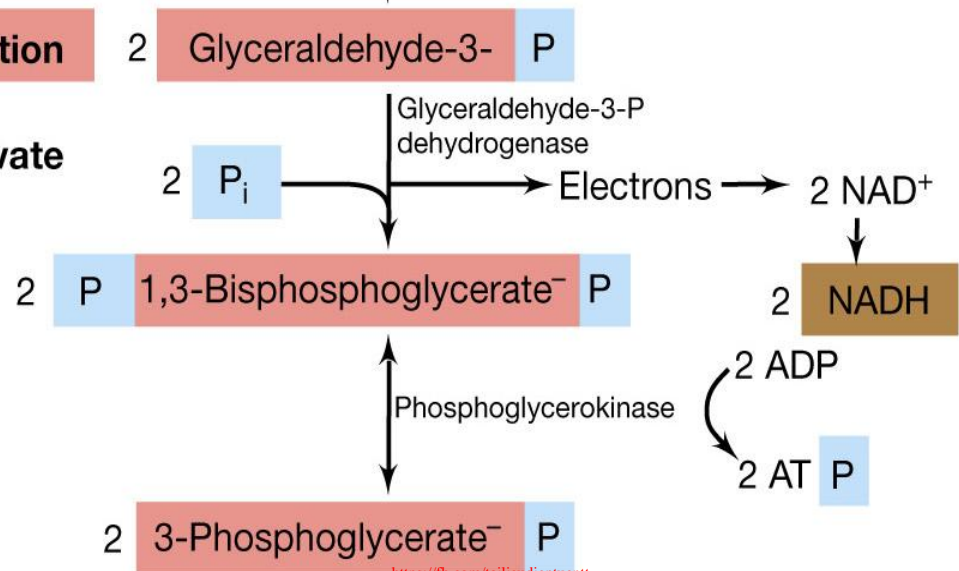
Production of glyceraldehyde-3-P



+ Bước ôxi hóa:  
điện tử từ  
glyceraldehyde 3-P  
được chuyển cho  
NAD, xảy ra sự  
phosphoryl hóa  
mức cơ chất, hình  
thành pyruvate

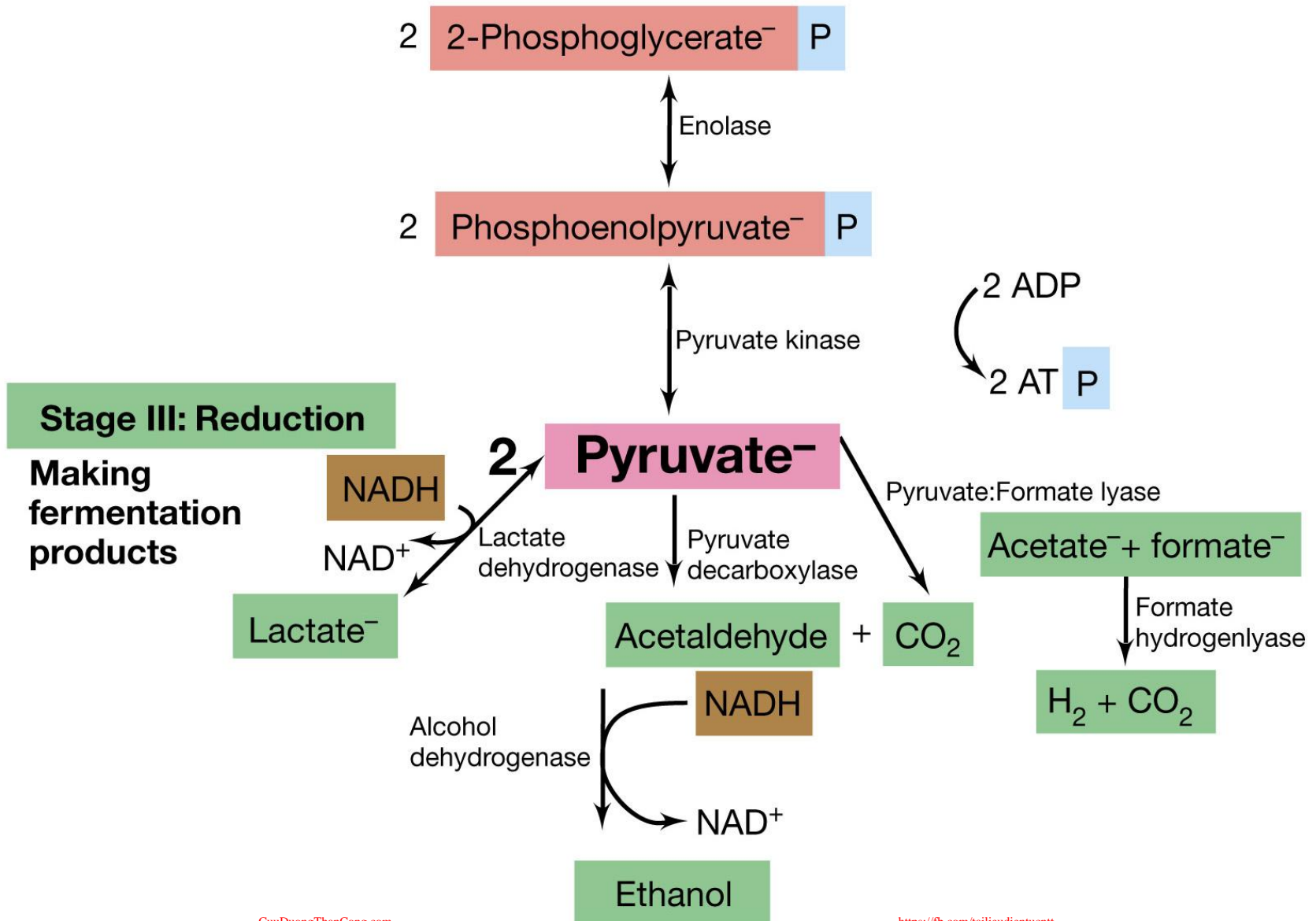
## Stage II: Oxidation

Making ATP;  
making pyruvate



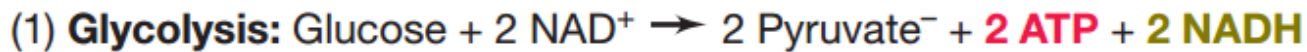
# Bước khử trong lên men

- pyruvate hay một dẫn xuất biến dưỡng từ pyruvate sẽ trở thành chất nhận điện tử từ NADH để tái tạo lại NAD





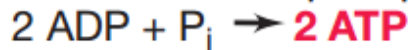
## Energetics Balance Sheet for Aerobic Respiration



↓  
to CAC

↓  
to Complex I

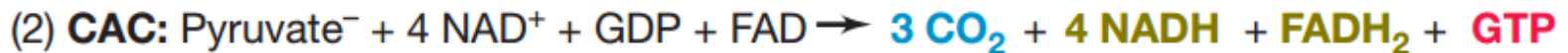
(a) Substrate-level phosphorylation



(b) Oxidative phosphorylation



8 ATP

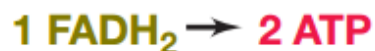
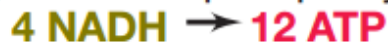


↓                      ↓  
to Complex I    to Complex II

(a) Substrate-level phosphorylation



(b) Oxidative phosphorylation



15 ATP (× 2)



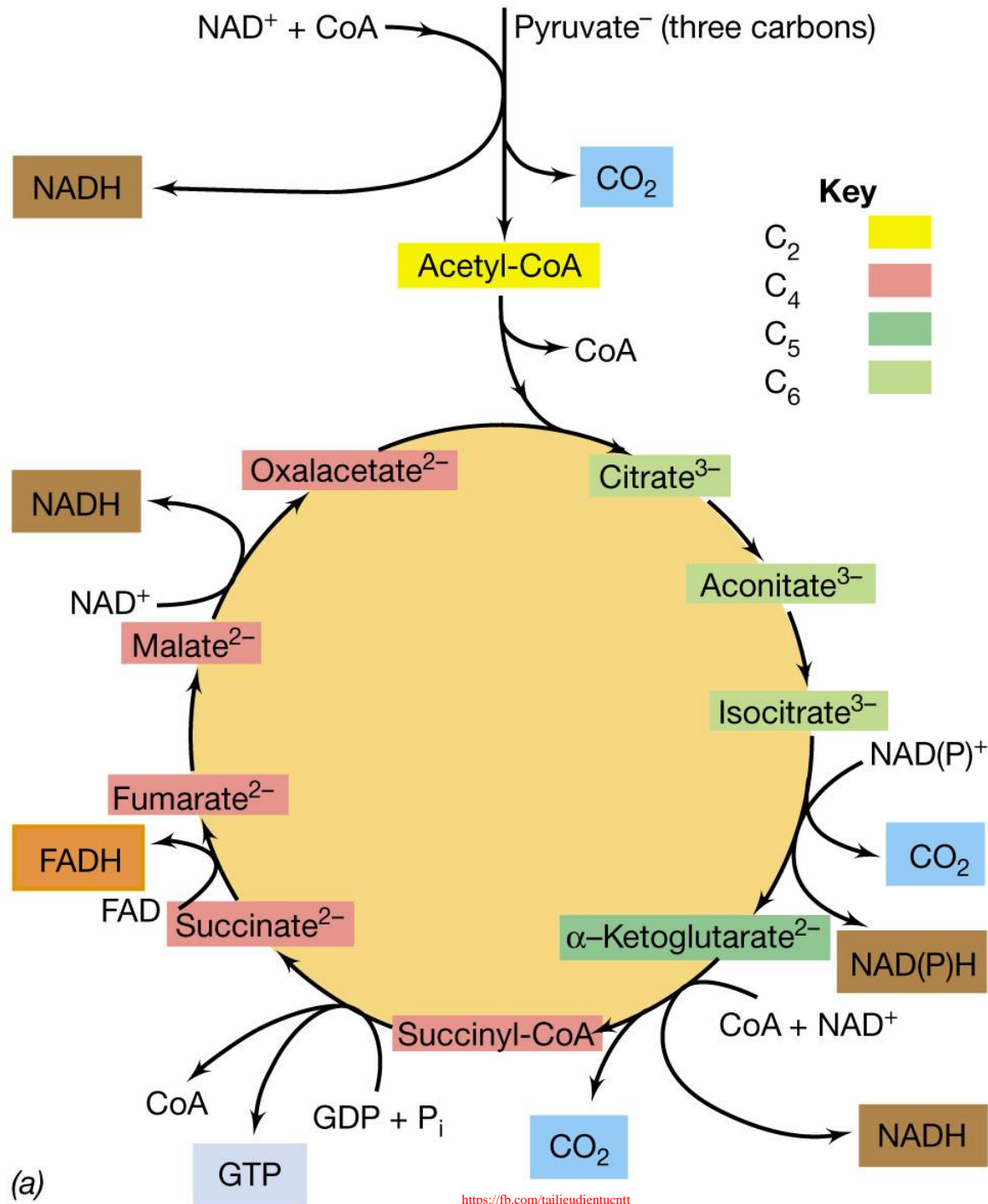


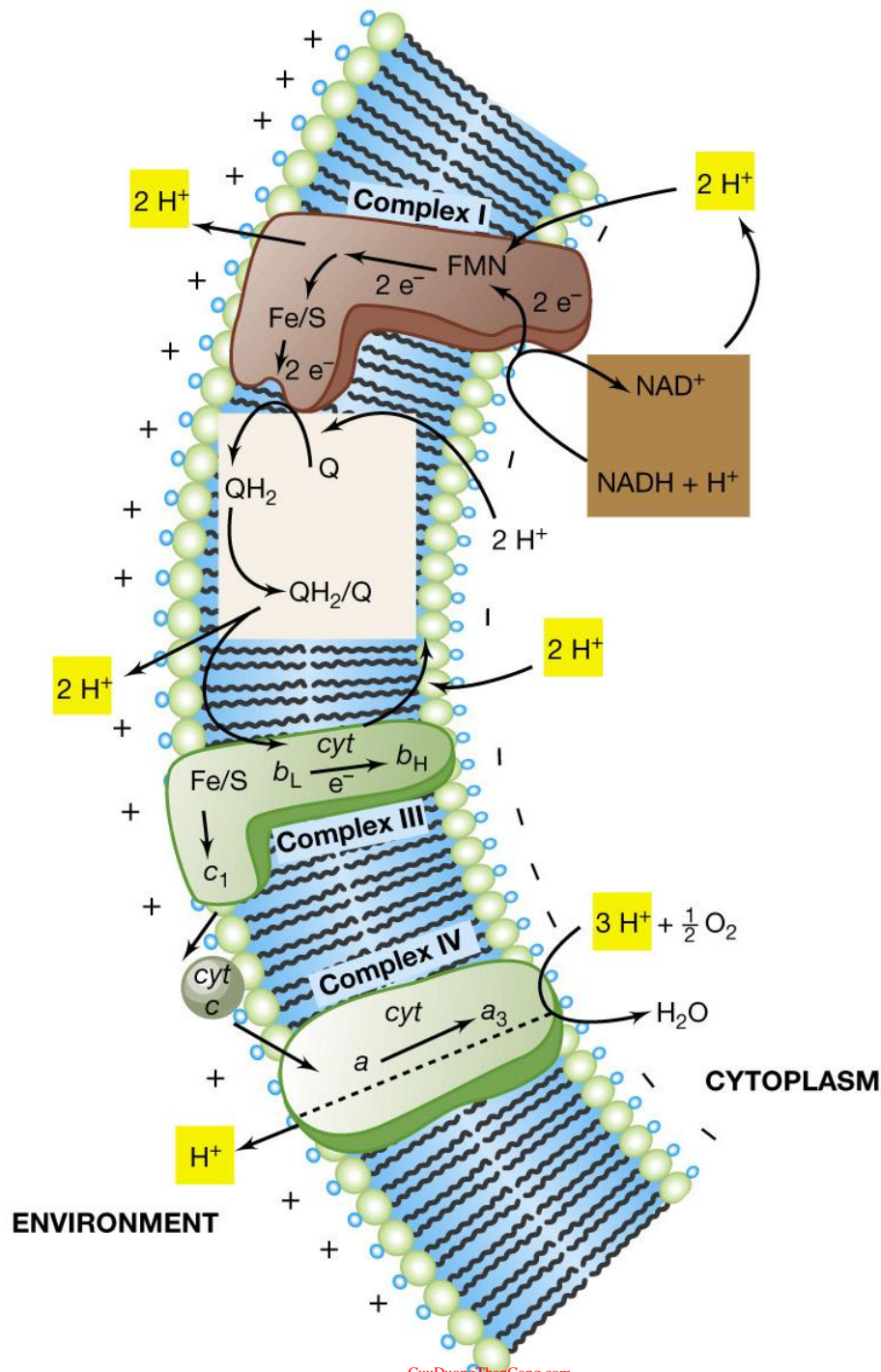
# Hô hấp hiếu khí và chuỗi truyền điện tử

- **NADH, FADH<sub>2</sub> truyền điện tử vào chuỗi truyền điện tử (electron transport) trên màng**
- **Chuỗi truyền điện tử (electron chain): tập hợp các chất mang điện tử trung gian (flavoprotein, cytochrome, quinone...) được sắp xếp trong màng tế bào chất sao cho điện tử và proton được truyền từ chất mang này sang chất mang kia**

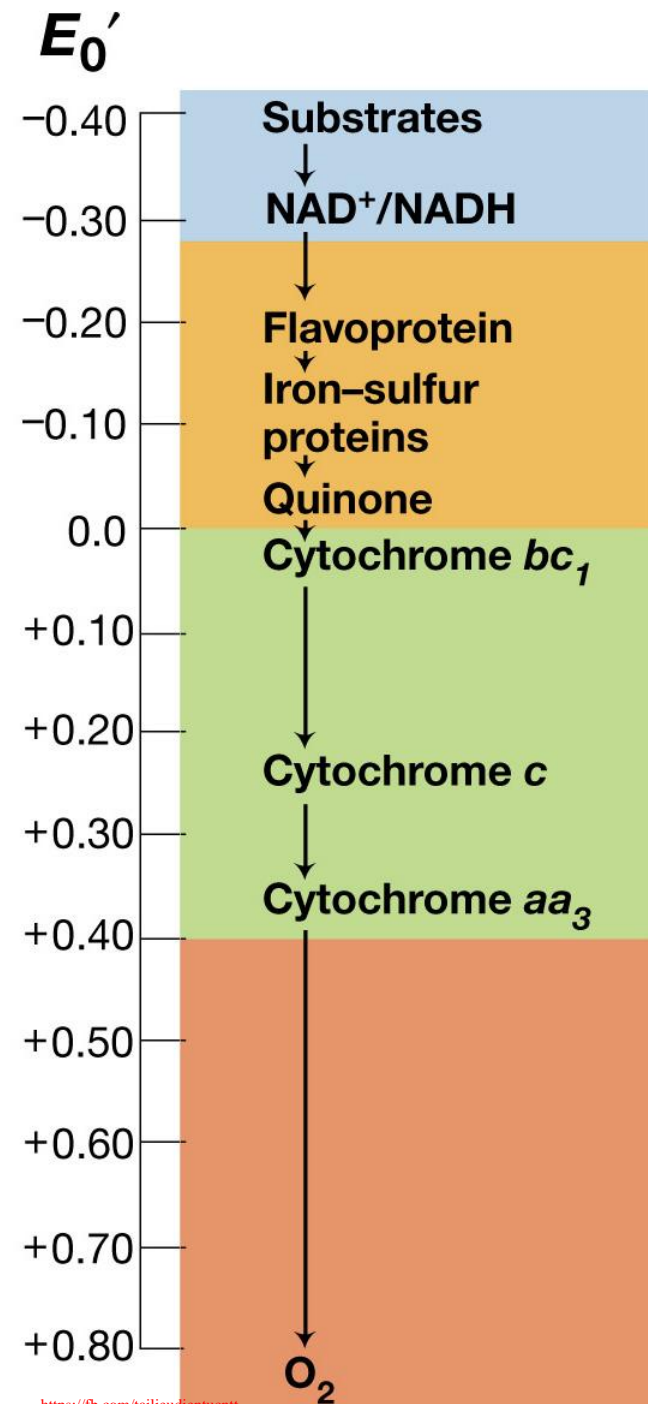
# Hô hấp hữu cơ hiếu khí

- Glucose được biến dưỡng bằng đường phân tạo pyruvate
- Pyruvate được biến dưỡng tiếp trong chu trình tricarboxylic acid (TCA) thành  $\text{CO}_2$ , điện tử được chuyển đến NAD thành NADH,  $\text{FADH}_2$
- NADH,  $\text{FADH}_2$  đi vào chuỗi truyền điện tử
- C hữu cơ bị ôxi hóa hoàn toàn thành  $\text{CO}_2$ , tạo nhiều ATP hơn lên men (38 ATP/glucose)





## Reduction potential (V)

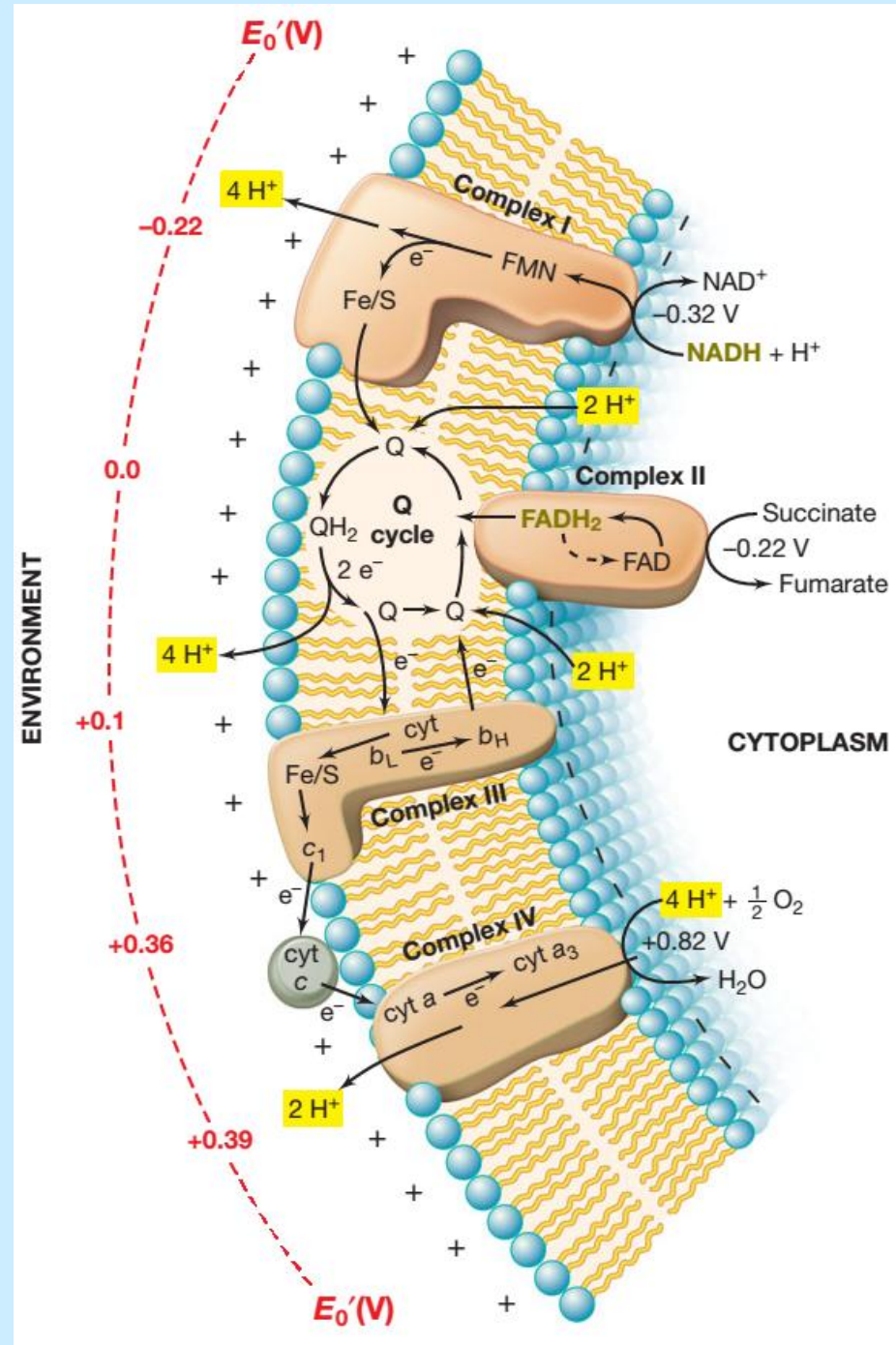


# Các chữ viết tắt

- FMN, flavin mononucleotide
- FAD, flavin adenine dinucleotide
- Q, quinone
- Fe/S, iron–sulfur–protein
- cyt a,b,c, cytochromes (bL
- and bH,
- low- and high-potential b-type cytochromes)

# Tạo lực proton trong hô hấp hiếu khí

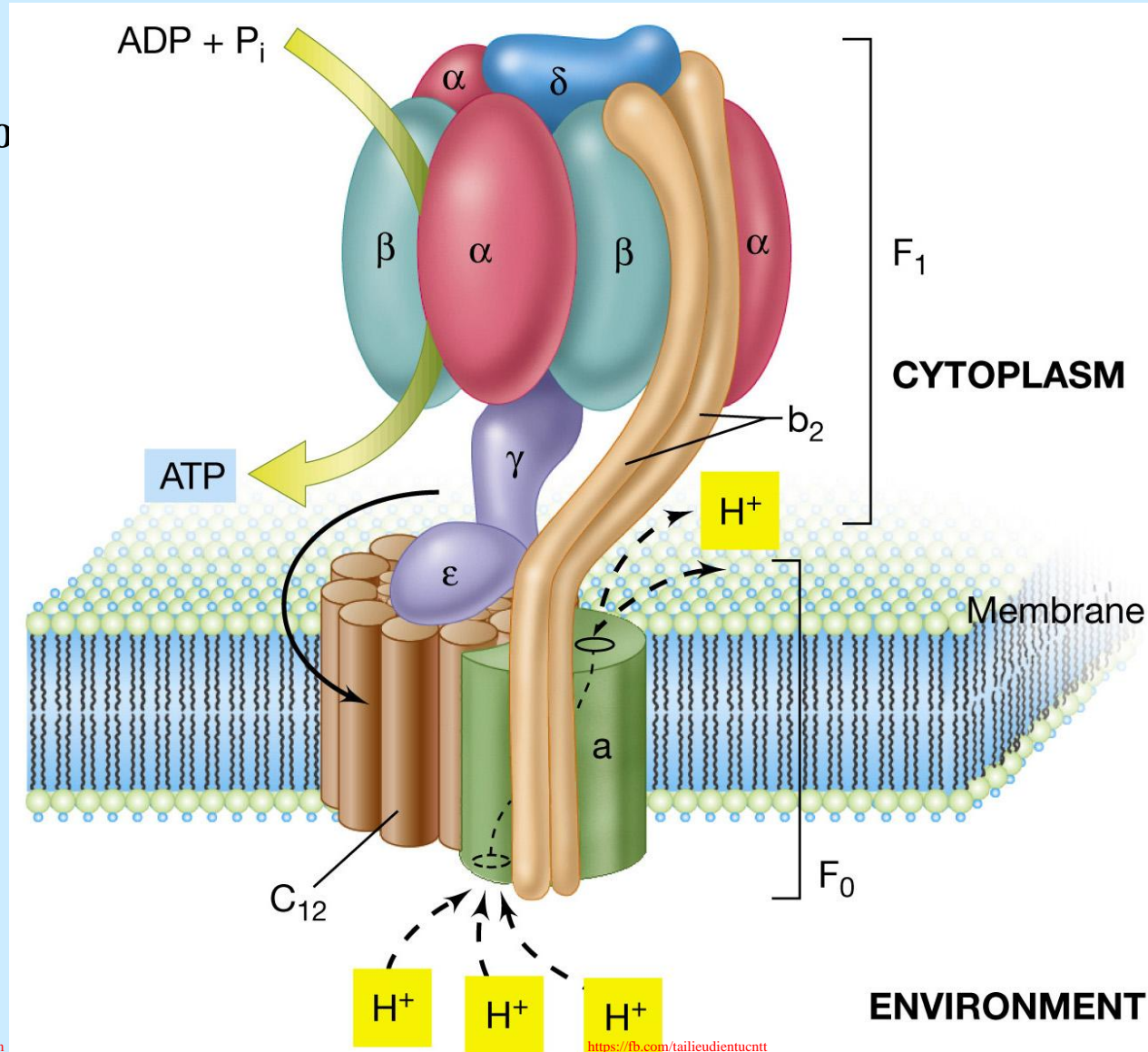
- Complex I: quinone oxidoreductase; Flavoprotein; nonheme iron protein (Fe/S)
- Complex II: succinate reductase complex, cung cấp  $e^-$  và  $H^+$  từ  $FADH$  đến quinone





# Động lực proton và sự lưu trữ năng lượng từ chuỗi truyền điện tử

- Qua chuỗi truyền điện tử, proton được đẩy ra bên ngoài màng tế bào và điện tử được quay vào trở lại tế bào chất
- Một gradient proton được hình thành qua màng: trạng thái tích năng lượng của màng được gọi là động lực proton
- Sự cho qua có kiểm soát các proton qua màng sẽ tạo công dùng để vận chuyển ion, quay tiêm mao, tổng hợp ATP
- ATP được tổng hợp nhờ ATPase (ATP synthetase)



# Các phương thức tạo năng lượng khác

- **Hô hấp hiếu khí:**
- **Hô hấp kỵ khí:** sự hô hấp dùng nitrate, sulfate, carbonate... làm chất nhận điện tử cuối cùng
- **Năng lượng từ các chất cho điện tử vô cơ:** hóa năng vô cơ
- **Năng lượng từ ánh sáng:** quang năng

# Các phương thức biến dưỡng vật chất và năng lượng ở vi sinh vật



# Sự thu năng lượng và biến dưỡng C

## - Nguồn năng lượng:

- + Ánh sáng: quang năng

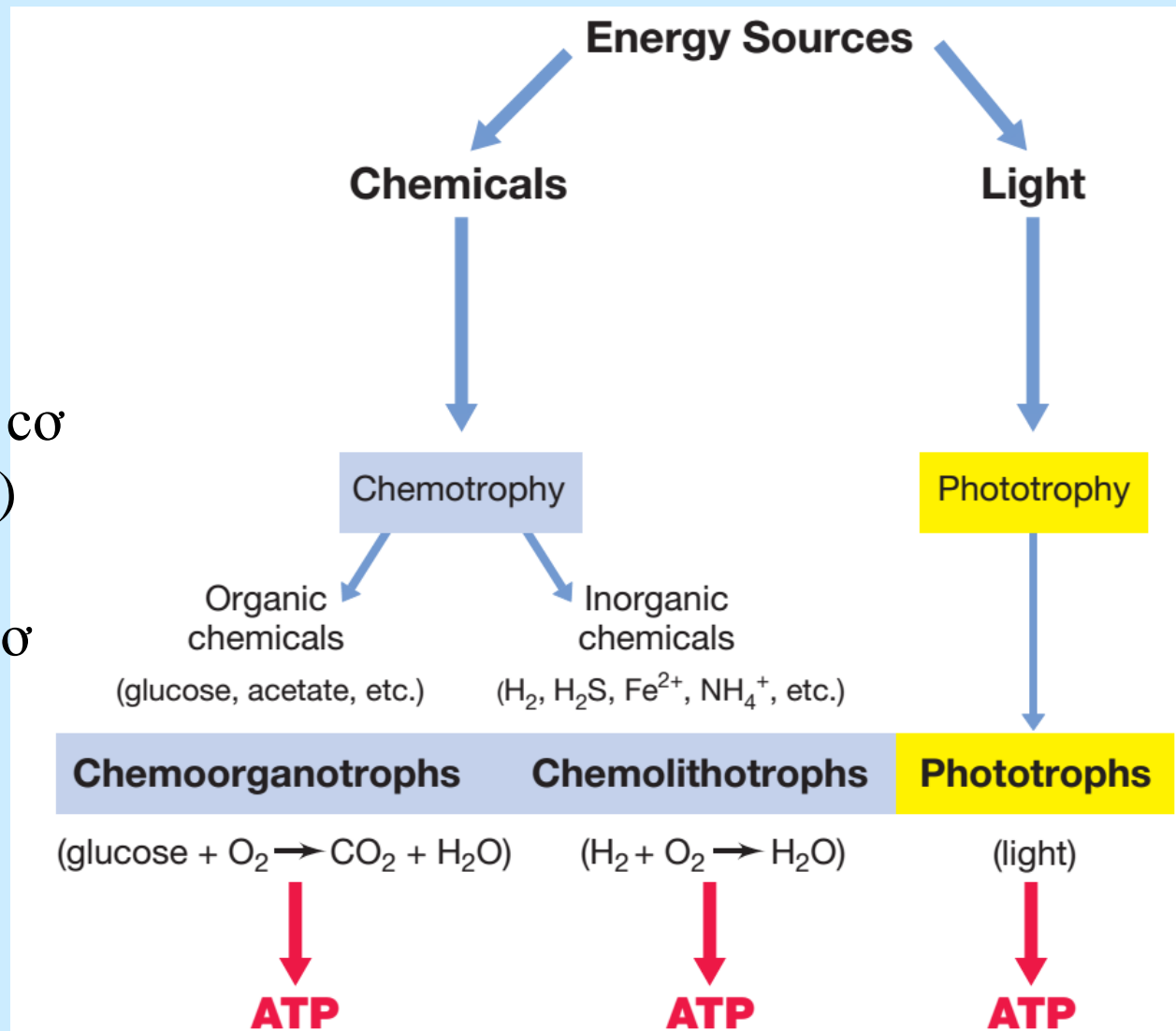
- + Hợp chất hóa học: hóa năng (vô cơ hoặc hữu cơ)

## - Nguồn C:

- +  $\text{CO}_2$ : tự dưỡng (autotroph)

- + Hợp chất hữu cơ: dị dưỡng (heterotroph)

- VSV hóa năng (Chemotrophs)
- VSV hóa năng hữu cơ (chemoorganotrops)
- VSV hóa năng vô cơ (chemolithotrophs)
- Quang năng (phototrops)



**Figure 2.18** Metabolic options for conserving energy. The organic and inorganic chemicals listed here are just a few of the chemicals used by one organism or another. Chemotrophic organisms oxidize organic or inorganic chemicals, which yields ATP. Phototrophic organisms use solar energy to form ATP.

# Quang năng tự dưỡng không sinh ôxi

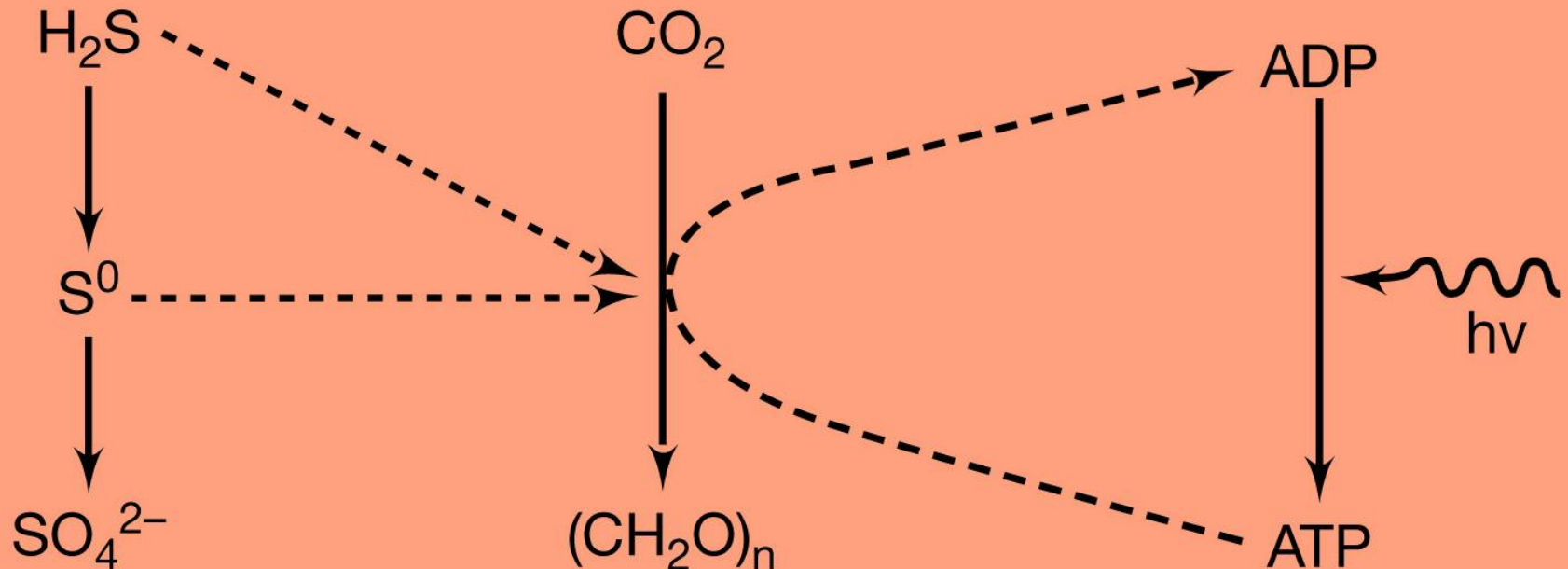
- Quang hợp không sinh ôxi, anoxygenic photosynthesis
- Năng lượng: ánh sáng
- Chất cho điện tử để tạo lực khử  $\text{CO}_2$ : không là  $\text{H}_2\text{O}$  ( $\text{H}_2\text{S}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{H}_2\ldots$ )

## Anoxygenic

Reducing power

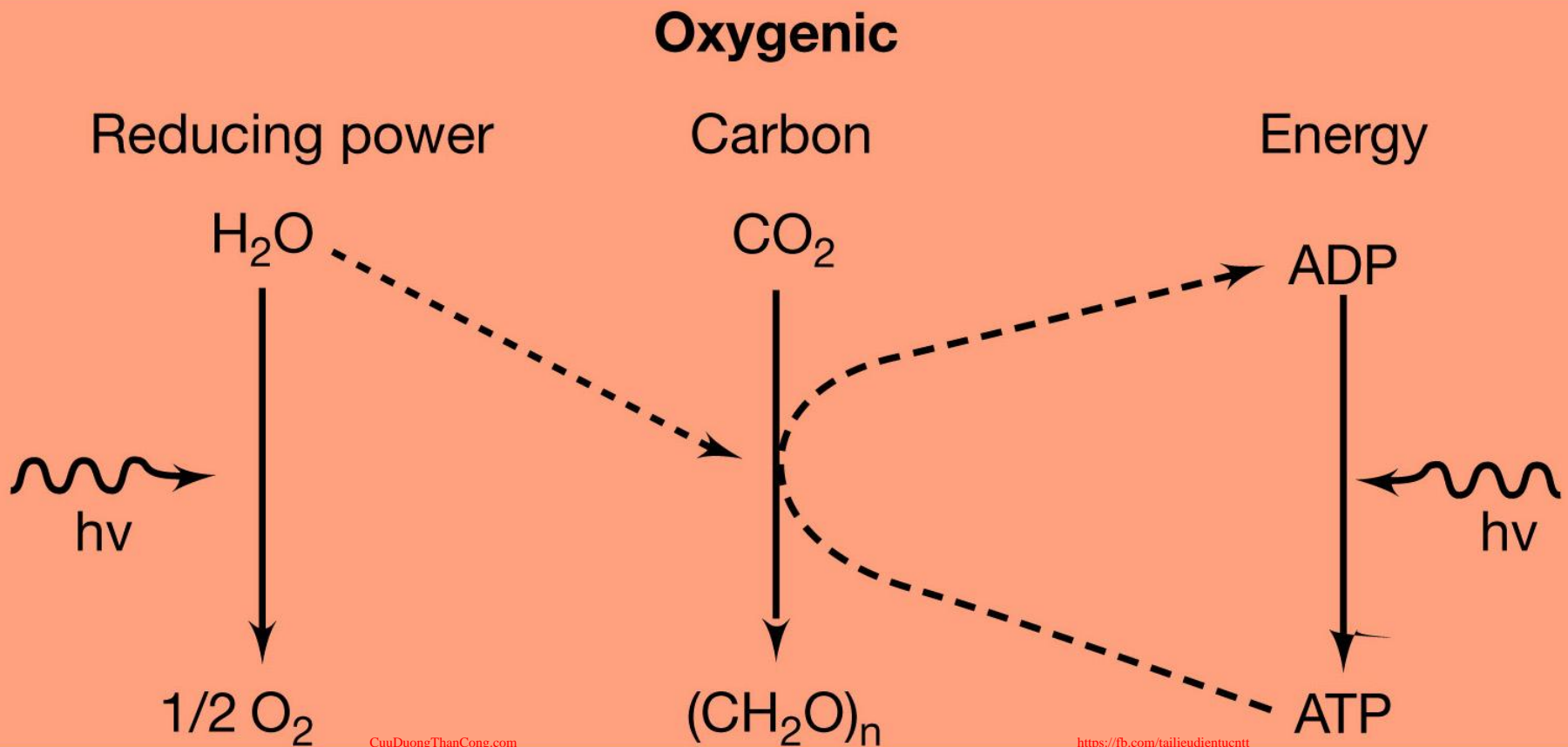
Carbon

Energy



# Quang năng tự dưỡng sinh ôxi

- Quang hợp sinh ôxi, oxygenic photosynthesis
- Năng lượng: ánh sáng
- Chất cho điện tử để tạo lực khử  $\text{CO}_2$ :  $\text{H}_2\text{O}$



# PHOTOTROPHS

(use light  
as energy source)

## Quang năng tự dưỡng và quang năng dị dưỡng

- Quang năng tự dưỡng  
(photoautotroph): quang hợp,  
quang tổng hợp (photosynthesis)
- Năng lượng: ánh sáng
- Nguồn C:  $\text{CO}_2$

- Quang năng dị dưỡng  
(photoheterotroph)
- Năng lượng: ánh sáng
- Nguồn C: chất hữu cơ

**Photoautotrophs**  
C= $\text{CO}_2$

**Photoheterotrophs**  
C=Organic

# Quang tổng hợp (photosynthesis)

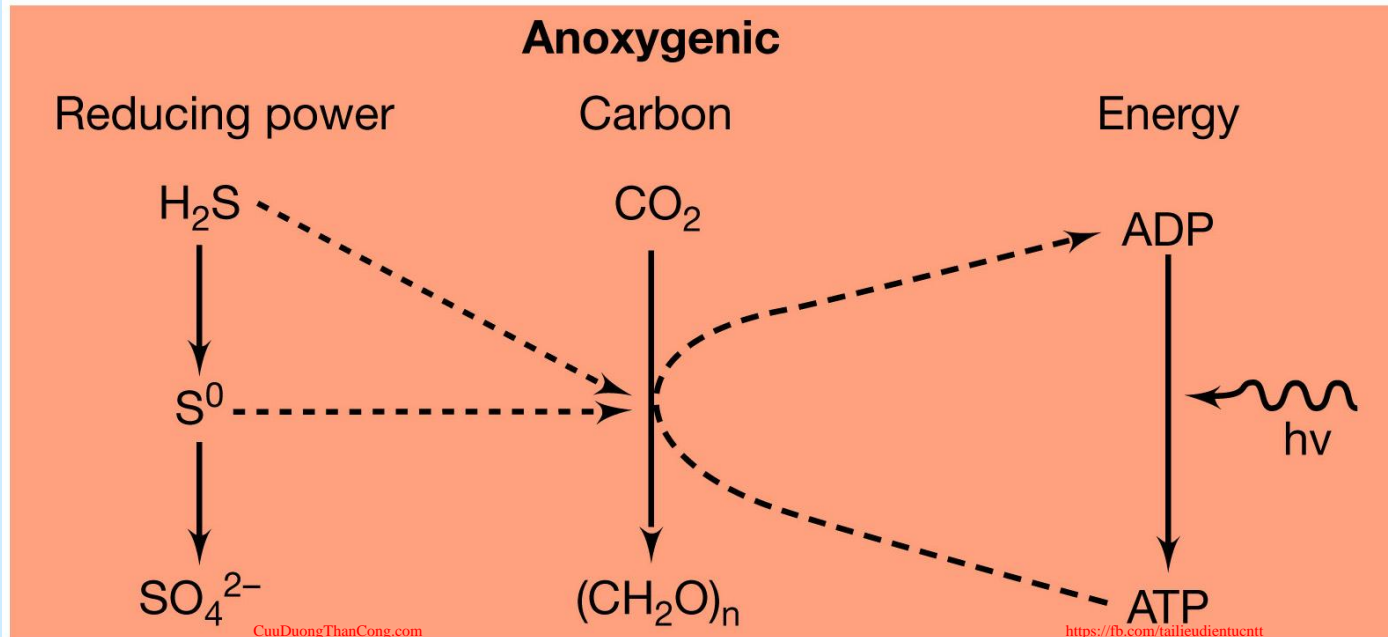
- Các phản ứng sáng: năng lượng bức xạ của ánh sáng được chuyển thành năng lượng hóa học
- Các phản ứng tối: cố định (khử  $\text{CO}_2$ ) thành vật liệu tế bào.

# **Tổng hợp ATP trong quang tổng hợp**

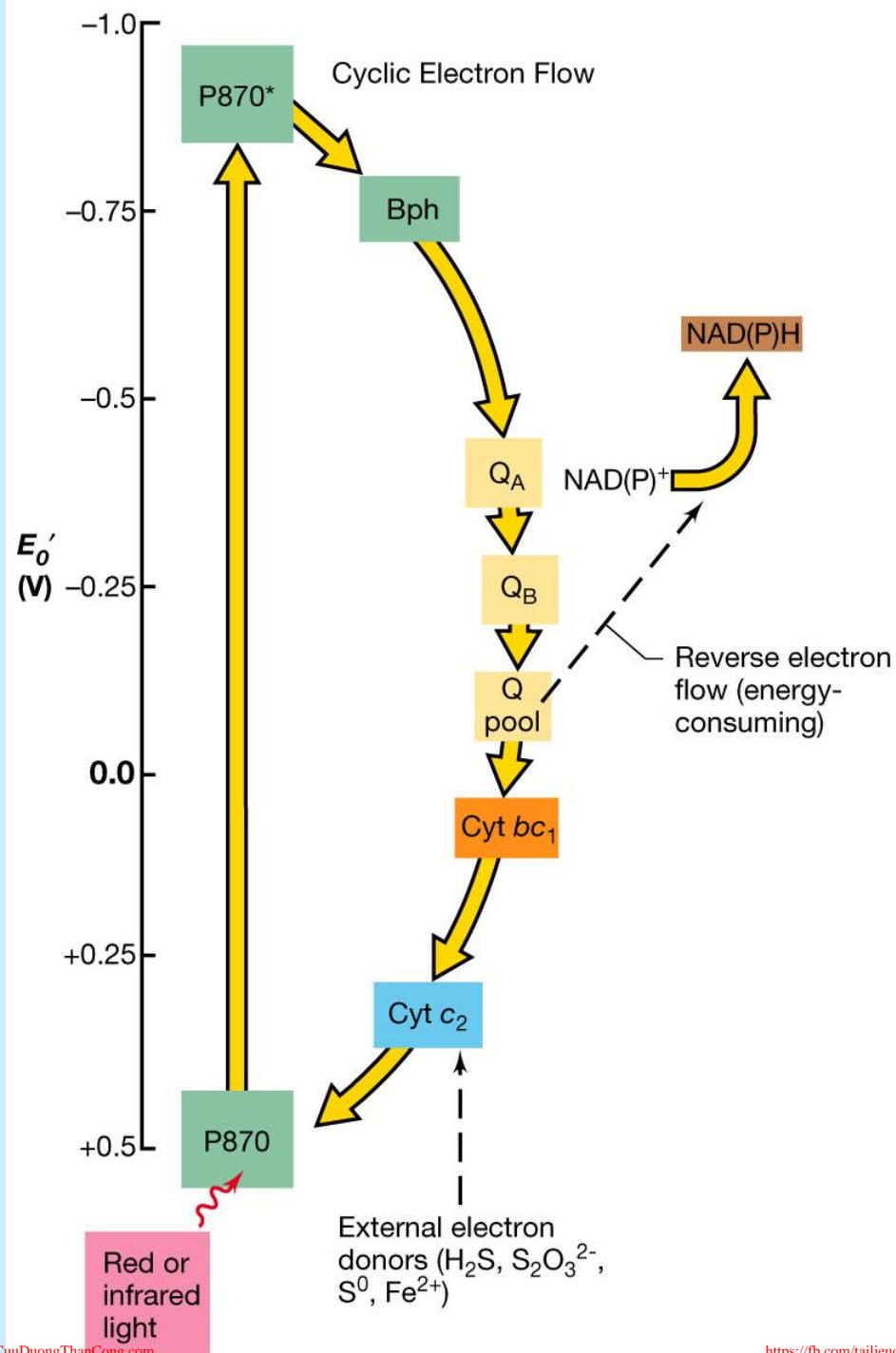
- Cơ chế quang phosphoryl hóa: chuỗi truyền điện tử, tạo được động lực proton, tổng hợp ATP nhờ ATPase gắn trong màng
- Năng lượng ánh sáng dùng để thực hiện một phản ứng không thuận lợi về nhiệt động học là sự ôxi hóa sắc tố có thế khử khá cao (không có khuynh hướng cho điện tử)

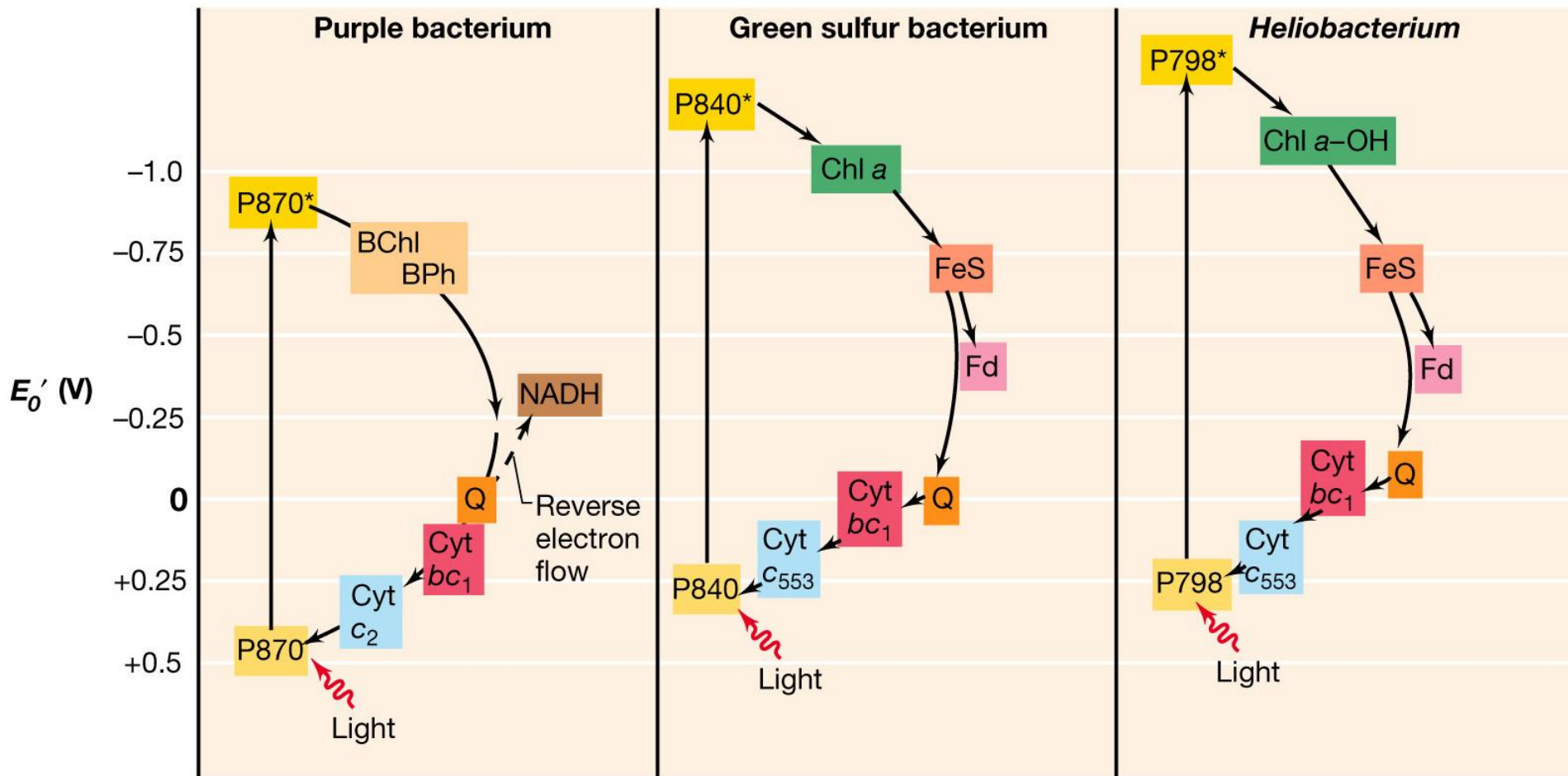
# Quang tổng hợp không sinh ôxi

- Vi khuẩn quang năng lực và tía
- Năng lượng ánh sáng giúp lấy điện tử từ bacteriochlorophyll truyền cho các chất mang điện tử, cuối cùng quay trở về bacteriochlorophyll đã bị ôxi hóa
- Điện tử được truyền trong một vòng kín: dòng điện tử vòng và phosphoryl hóa vòng
- Nhiều vi khuẩn là quang năng tự dưỡng không sinh ôxi: lực khử  $\text{CO}_2$  (NADPH) được tạo ra bằng sự truyền điện tử ngược cần ATP
- Một số loài quang năng dị dưỡng không sinh ôxi: chỉ thực hiện phản ứng sáng để thu năng lượng, nguồn C từ hợp chất hữu cơ





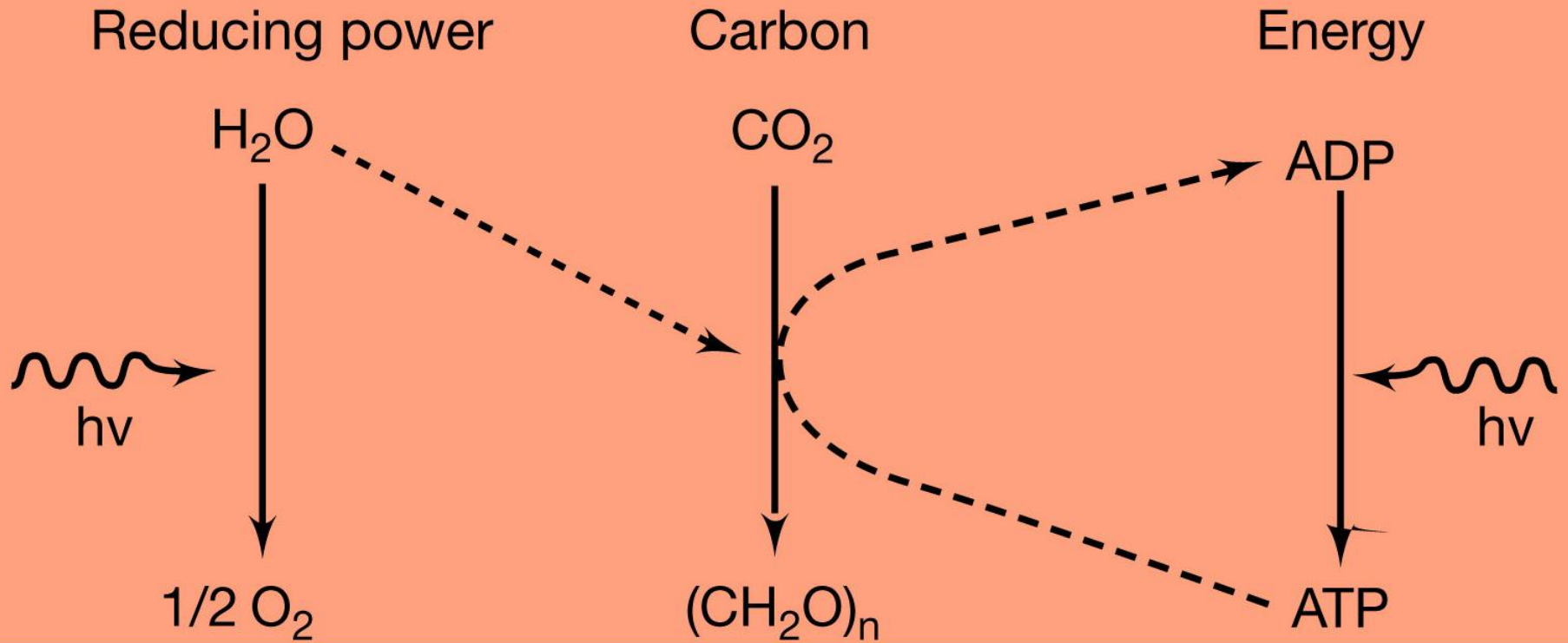


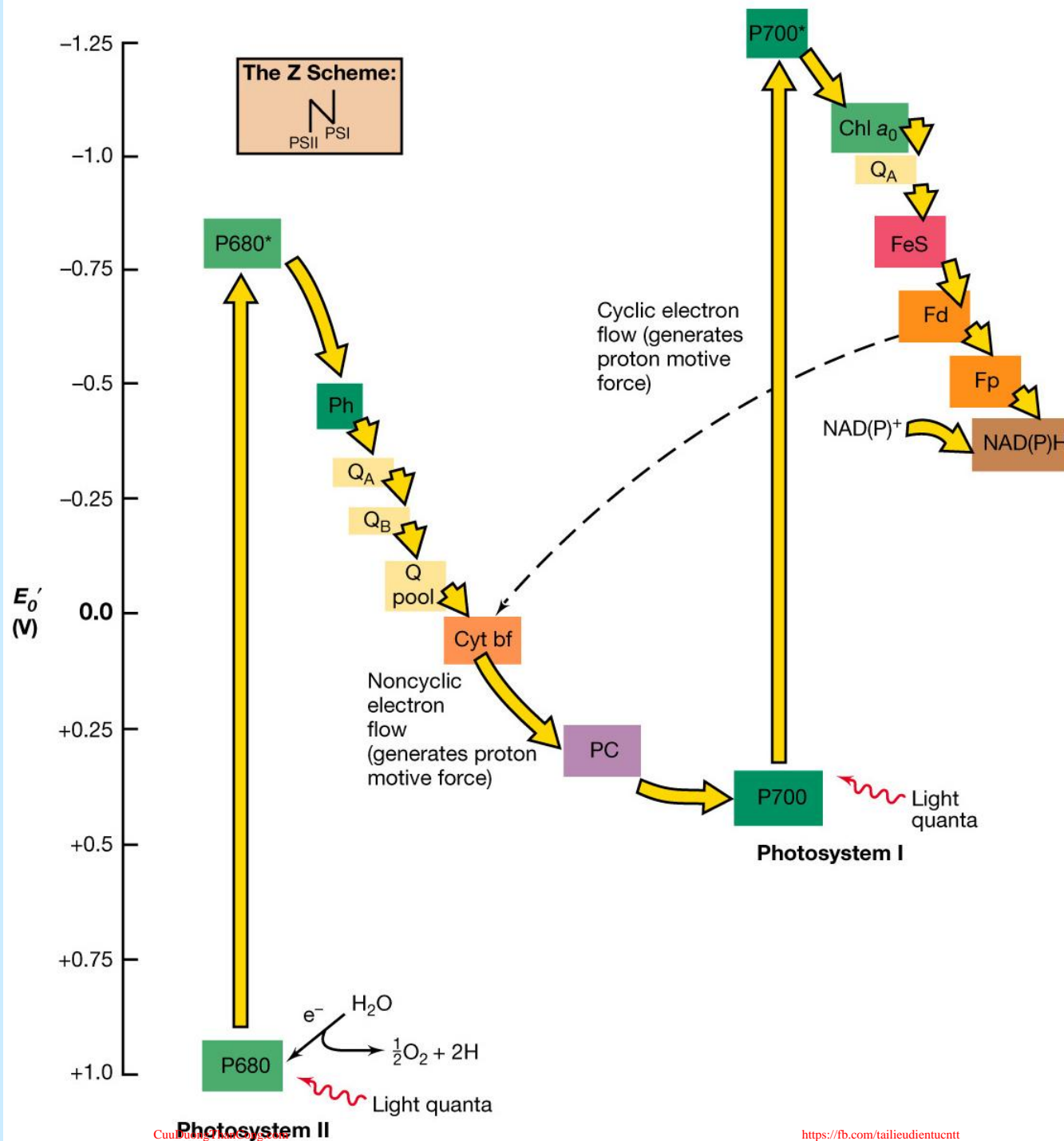


# Quang tổng hợp sinh ôxi

- Tảo, vi khuẩn lam
- Hai loại chlorophyll khác nhau và hai hệ quang
- Sau khi chlorophyll hệ quang II bị ôxi hóa do năng lượng ánh sáng, phân tử này sẽ bị khử trở về trạng thái bình thường nhờ nhận điện tử từ phân tử nước; điện tử không quay trở lại phân tử chlorophyll (dòng điện tử không vòng và phosphoryl hóa không vòng)
- Điện tử của hệ quang II chuyển đến chlorophyll hệ quang I bị ôxi hóa bởi ánh sáng; sau đó điện tử này được truyền vào chuỗi truyền điện tử đến ferredoxin (Fd)
- + Fd truyền điện tử cho  $\text{NADP}^+$  tạo NADPH
- + Fd truyền điện tử cho cyt b<sub>6</sub> ở hệ quang II và được truyền trở lại chlorophyll của trung tâm phản ứng I (dòng điện tử vòng và quang phosphoryl hóa vòng)

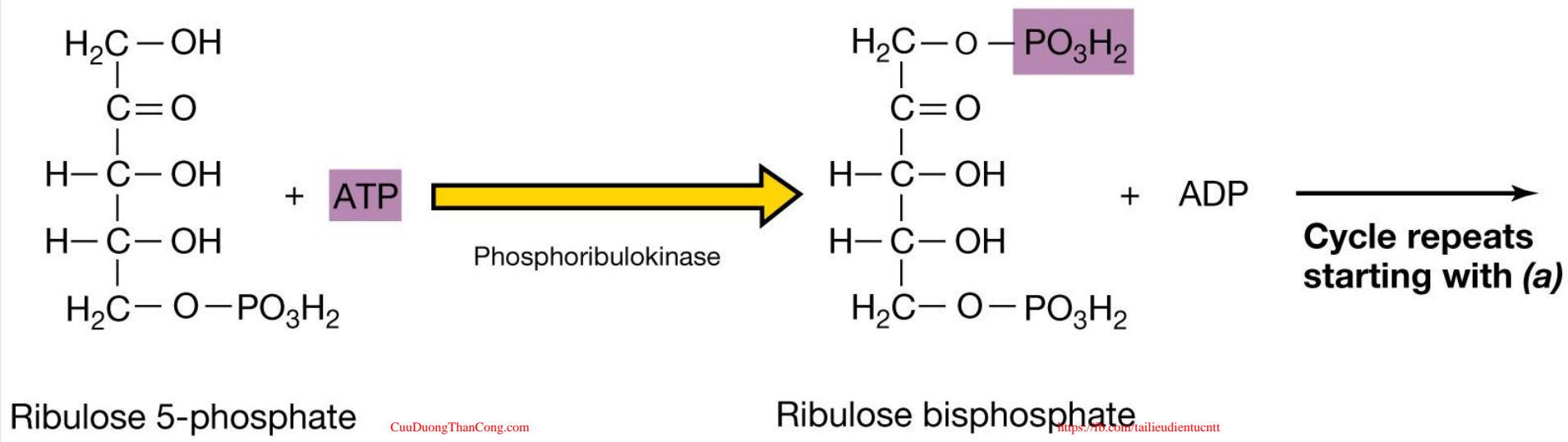
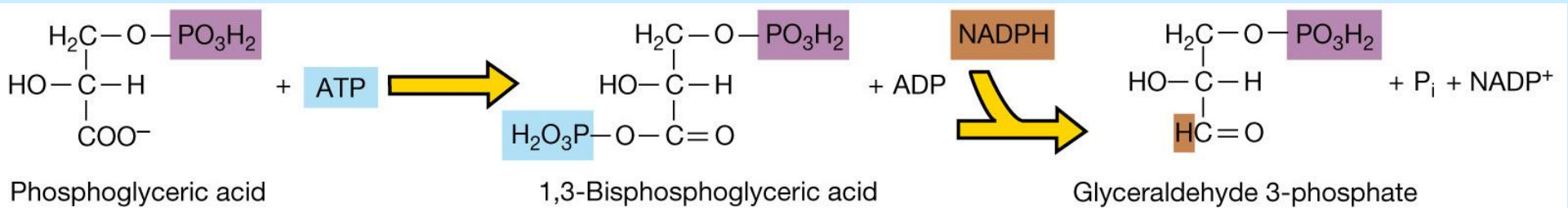
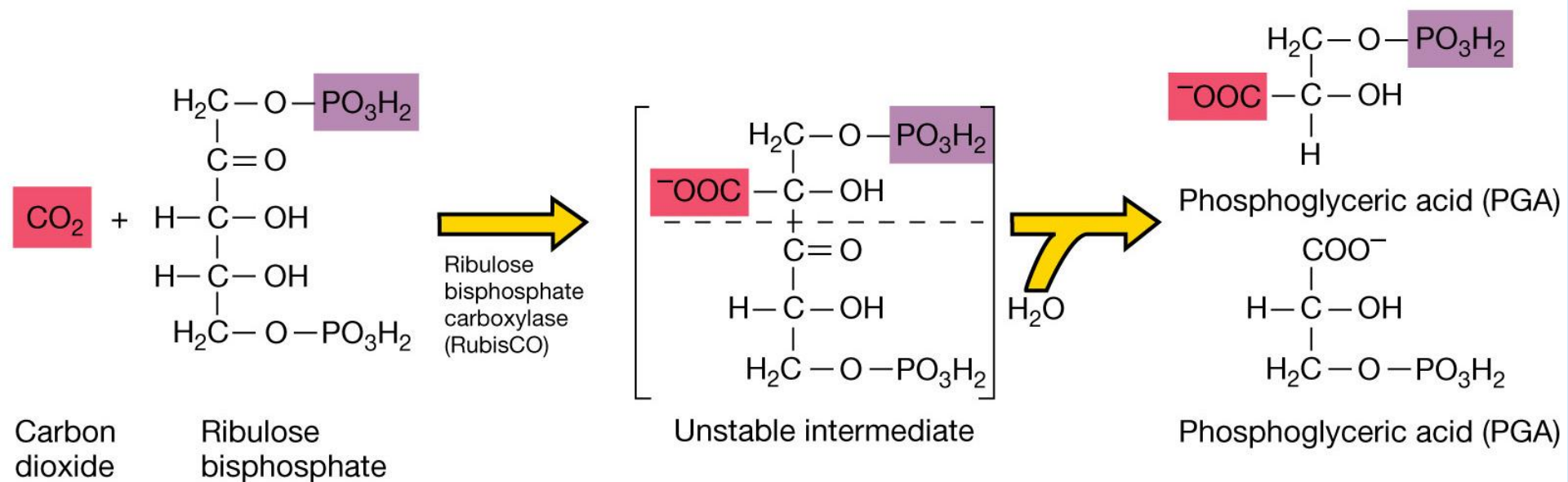
## Oxygenic

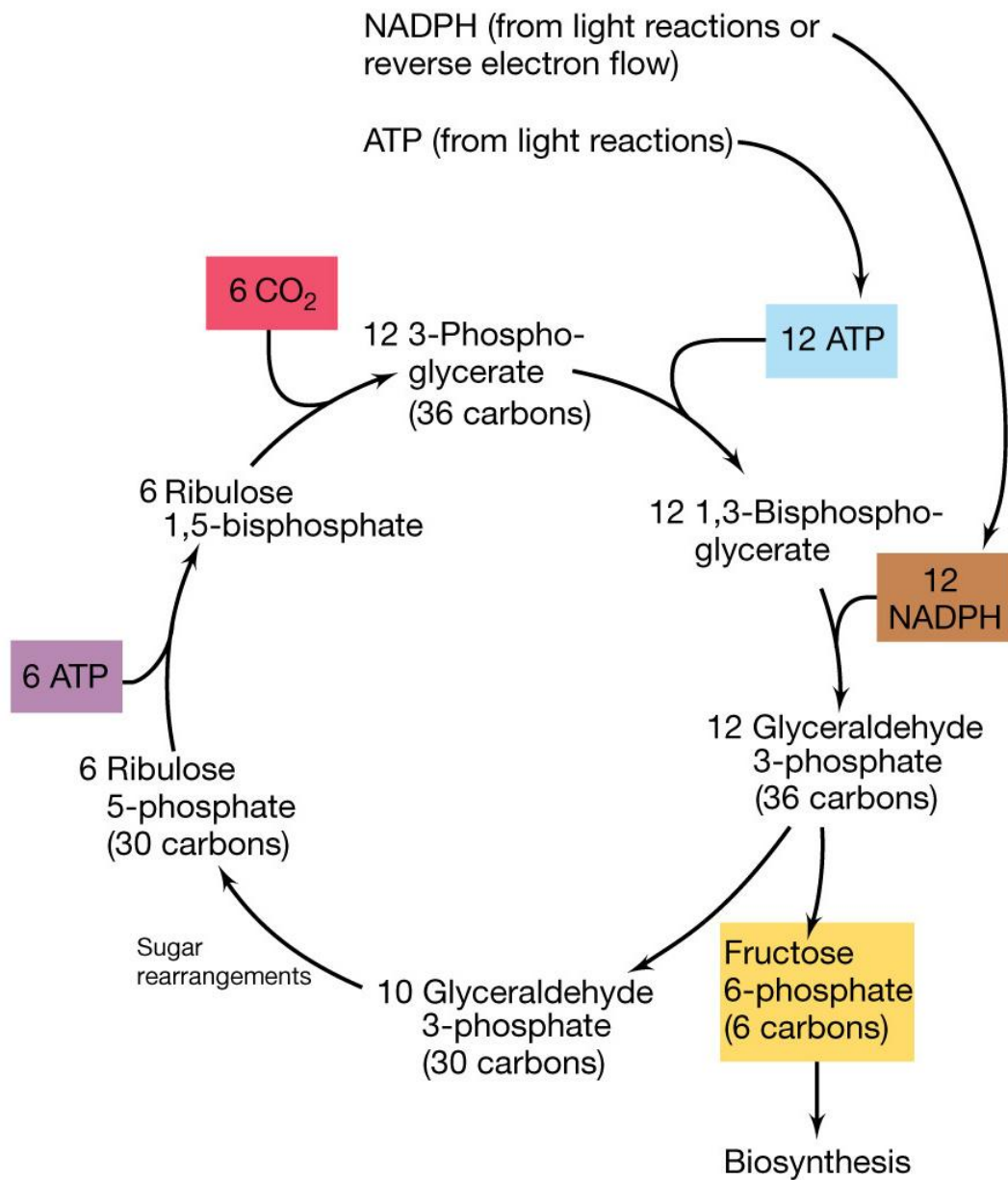




# Cố định $\text{CO}_2$ bằng chu trình Calvin

- Chu trình Calvin để cố định  $\text{CO}_2$ :
  - + Gắn  $\text{CO}_2$  vào một phân tử nhận (ribulose biphosphate):  
xúc tác bởi ribulose biphosphate carboxylase
  - + Khử C của  $\text{CO}_2$  đến trạng thái ôxi hóa của vật liệu trong tế bào (cần ATP và NADPH)
  - + Tái sinh phân tử nhận: gồm nhiều phản ứng sắp xếp lại đường để tái tạo ribulose biphosphate
- 12 phân tử NADP và 18 phân tử ATP cần cho sự tổng hợp một phân tử glucose từ 6 phân tử  $\text{CO}_2$





**Overall stoichiometry:**  

$$6 \text{ CO}_2 + 12 \text{ NADPH} + 18 \text{ ATP} \longrightarrow \text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6(\text{PO}_3\text{H}_2) + 12 \text{ NADP}^+ + 18 \text{ ADP} + 17 \text{ P}_i$$



# Hóa năng vô cơ (chemolithotrophy)

- Thu năng lượng bằng cách ôxi hóa hợp chất vô cơ (hydrogen, sulfide, sulfur, ammonium, nitrite, ferrous ion)
- Đặc điểm:
  - + Tự dưỡng bằng chu trình Calvin
  - + Dùng sự truyền điện tử ngược để tạo ra lực khử (trừ vi khuẩn ôxi hóa  $H_2$ ) khi tự dưỡng
  - + Một số vừa tự dưỡng, vừa dị dưỡng
  - + Một số vừa hóa năng vô cơ, vừa hóa năng hữu cơ hỗn dưỡng (mixotroph)
  - + Hầu hết hiếu khí, tạo ATP bằng phosphoryl hóa ôxi hóa
- Vi khuẩn hydrogen (hydrogen bacteria)
- Vi khuẩn lưu huỳnh (sulfur bacteria)
- Vi khuẩn ôxi hóa sắt (iron-oxidizing bacteria)
- Vi khuẩn ôxi hóa nitrogen

# Hóa năng hữu cơ (chemoorganotrophy)

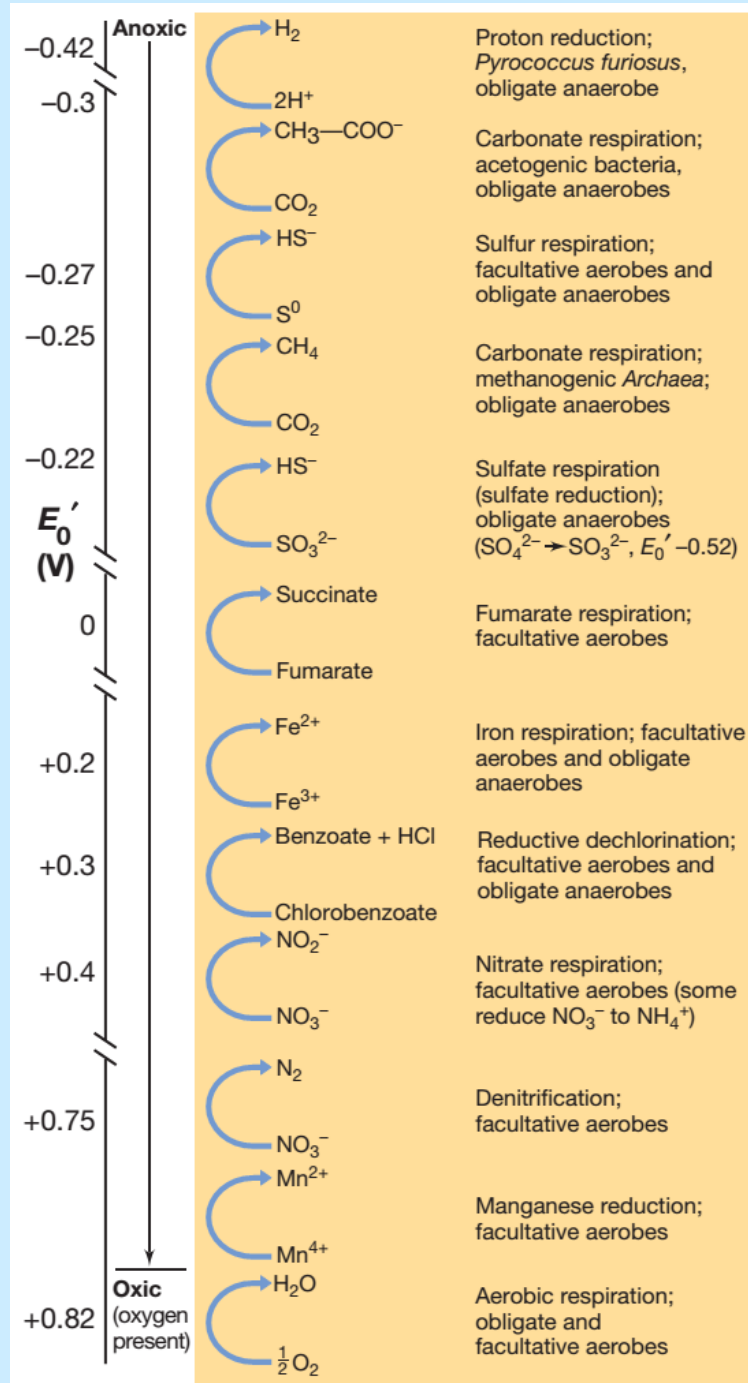
- Thu năng lượng bằng cách ôxi hóa hợp chất hữu cơ: lên men, hô hấp
- Lên men:
  - + Chuyển hóa đường  $C_6$  thành pyruvate (đường phân) để thu năng lượng
  - + Từ pyruvate tạo ra các sản phẩm lên men khác nhau để cung cấp NAD cần trong đường phân
- Hô hấp: thu năng lượng từ chất cho điện tử (chất hữu cơ), điện tử được truyền qua chuỗi truyền điện tử đến chất nhận điện tử cuối cùng.
  - + Hô hấp hiếu khí: chất nhận điện tử cuối cùng là ôxi phân tử
  - + Hô hấp kỵ khí: chất nhận điện tử cuối cùng không phải là ôxi phân tử

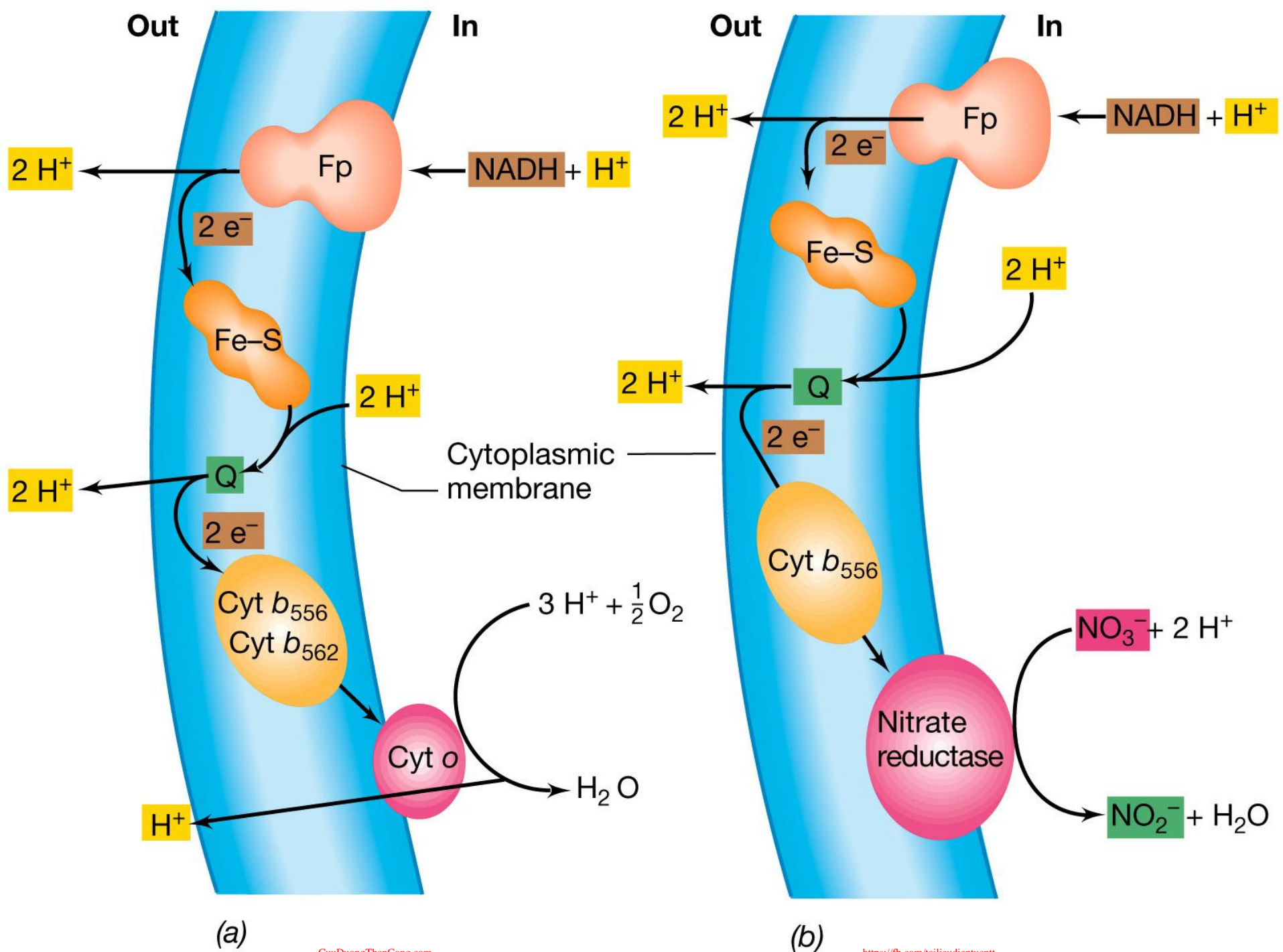
# Hô hấp kỵ khí (anaerobic respiration)

- Hô hấp kỵ khí: hóa năng hữu cơ (đa số, chất cho điện tử là chất hữu cơ), hay hóa năng vô cơ (dùng  $H_2$  làm chất cho điện tử) dùng chuỗi truyền điện tử để tạo động lực proton, chất nhận điện tử sau cùng không phải là ôxi
- ATP được tạo thành ít hơn hô hấp hiếu khí
- Vi khuẩn phản nitrate hóa ( $NO_3^-$ , denitrifying bacteria)
- Vi khuẩn khử sulfate ( $SO_4^{2-}$ , sulfate reducer)
- Vi khuẩn sinh methane ( $CO_2$ , methanogen)
- Vi khuẩn sinh acetate đồng hình ( $CO_2$ , homoacetogen)

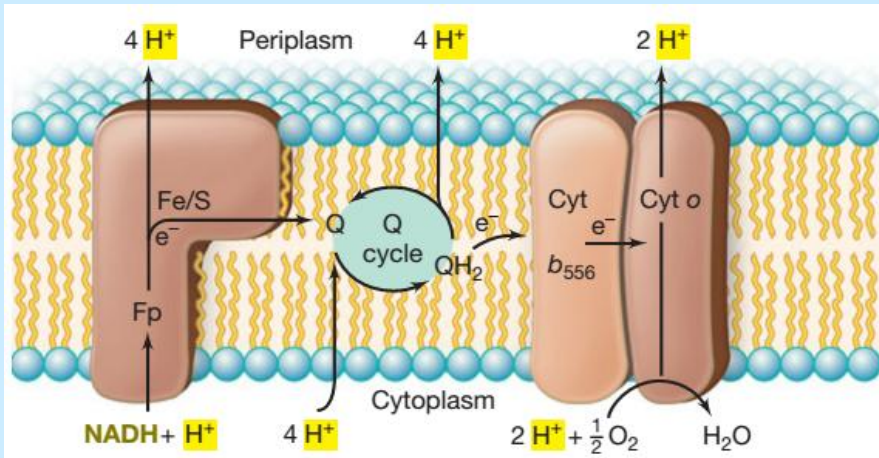
**Figure 14.11** Major forms of anaerobic respiration. The redox couples are arranged in order from most electronegative  $E_0'$  (top) to most electropositive  $E_0'$  (bottom). See Figure 4.9 to compare how the energy yields of these anaerobic respirations vary.

**Các kiểu chính của hô hấp kỵ khí:** Các cặp oxy hóa khử được sắp xếp theo một thứ tự từ thế khử thấp (trên cùng) đến thế khử cao (dưới cùng).

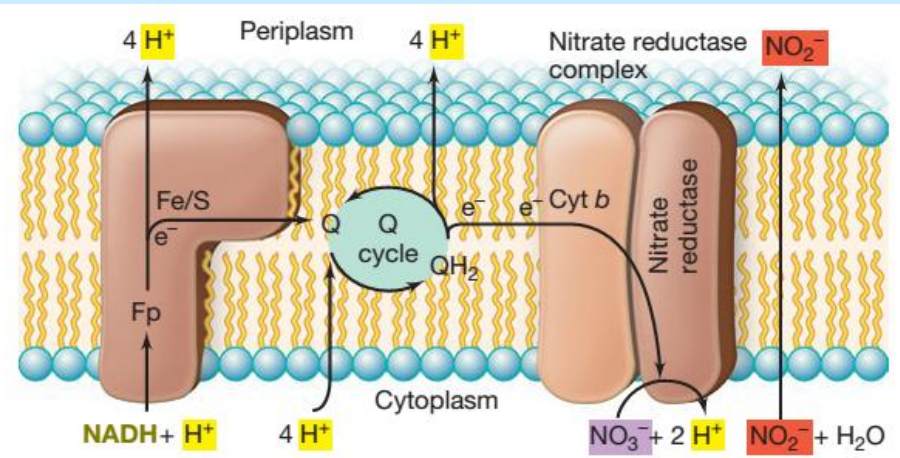




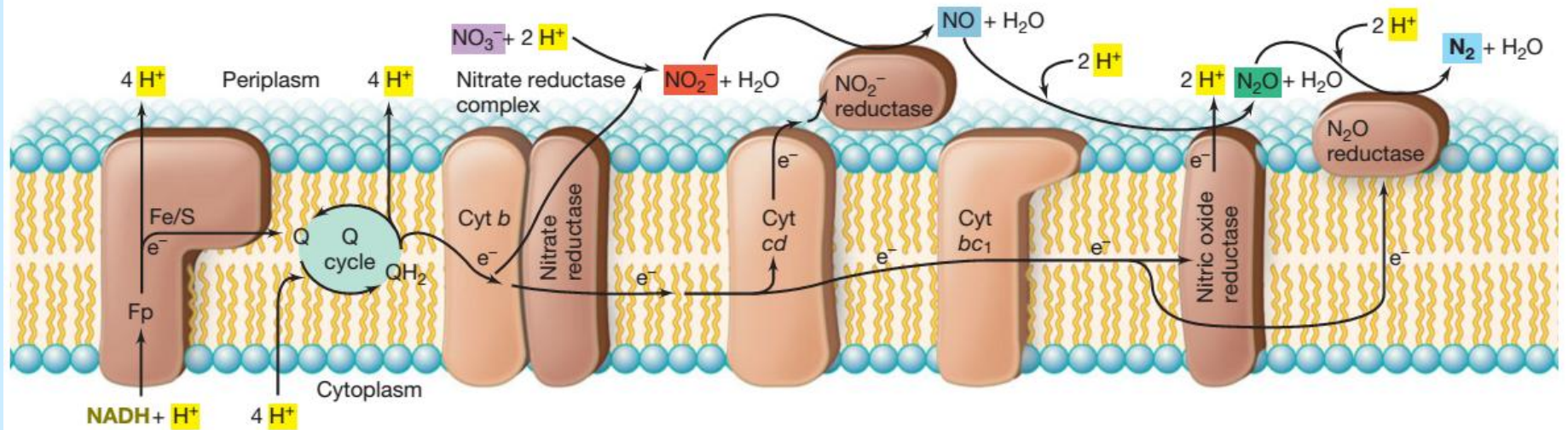




(a) Aerobic respiration



(b) Nitrate reduction

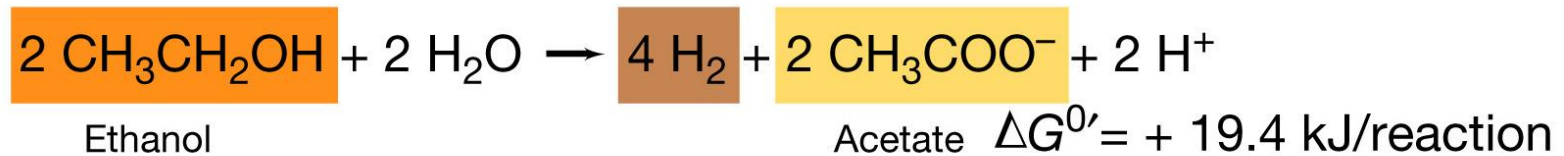


(c) Denitrification

## Hiện tượng cộng dưỡng (syntrophy)

- Sự tăng trưởng của một loài vi khuẩn của một quá trình lên men phụ thuộc vào việc sử dụng sản phẩm của quá trình lên men này bởi một loài khác
- Quá trình lên men không thuận lợi về nhiệt động học, sản phẩm lên men cần được tiêu thụ ngay bởi một loài khác
- Điện tử (hydrogen) trong phản ứng ôxi hóa khử được truyền giữa hai loài

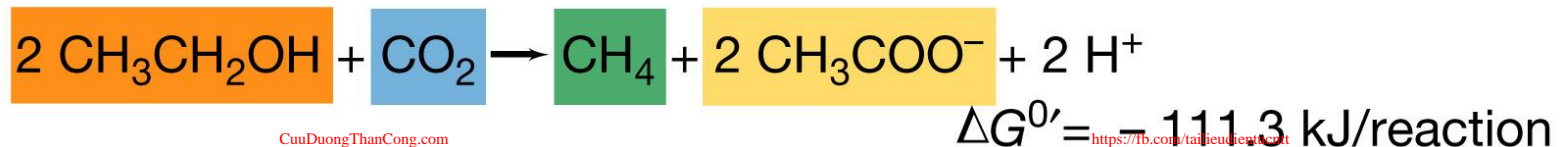
## Ethanol fermentation



# Methanogenesis



## Syntrophic, coupled reaction



# **Biến dưỡng vật chất hữu cơ bởi vi sinh vật**

- Biến dưỡng carbon:**
  - + Biến dưỡng polysaccharide**
  - + Biến dưỡng các acid hữu cơ**
  - + Biến dưỡng lipid**
  - + Biến dưỡng hydrocarbon**
- Biến dưỡng nitrogen**



## **Dị hóa và đồng hóa**

- **Dị hóa (catabolism):** các quá trình biến dưỡng năng lượng nhằm tạo năng lượng cho tế bào
- **Đồng hóa (anabolism):** các quá trình biến dưỡng vật chất thu năng lượng nhằm tạo ra các đơn phân dùng để tạo các hợp chất đại phân tử sinh học cho tế bào

Substrates

Products

## CATABOLISM

Energy generation



ATP  $\rightleftharpoons$  Proton motive force



## ANABOLISM

Energy consumption

Monomers

Biosynthesis

Macromolecules and other cellular constituents

# Biến dưỡng nitrogen

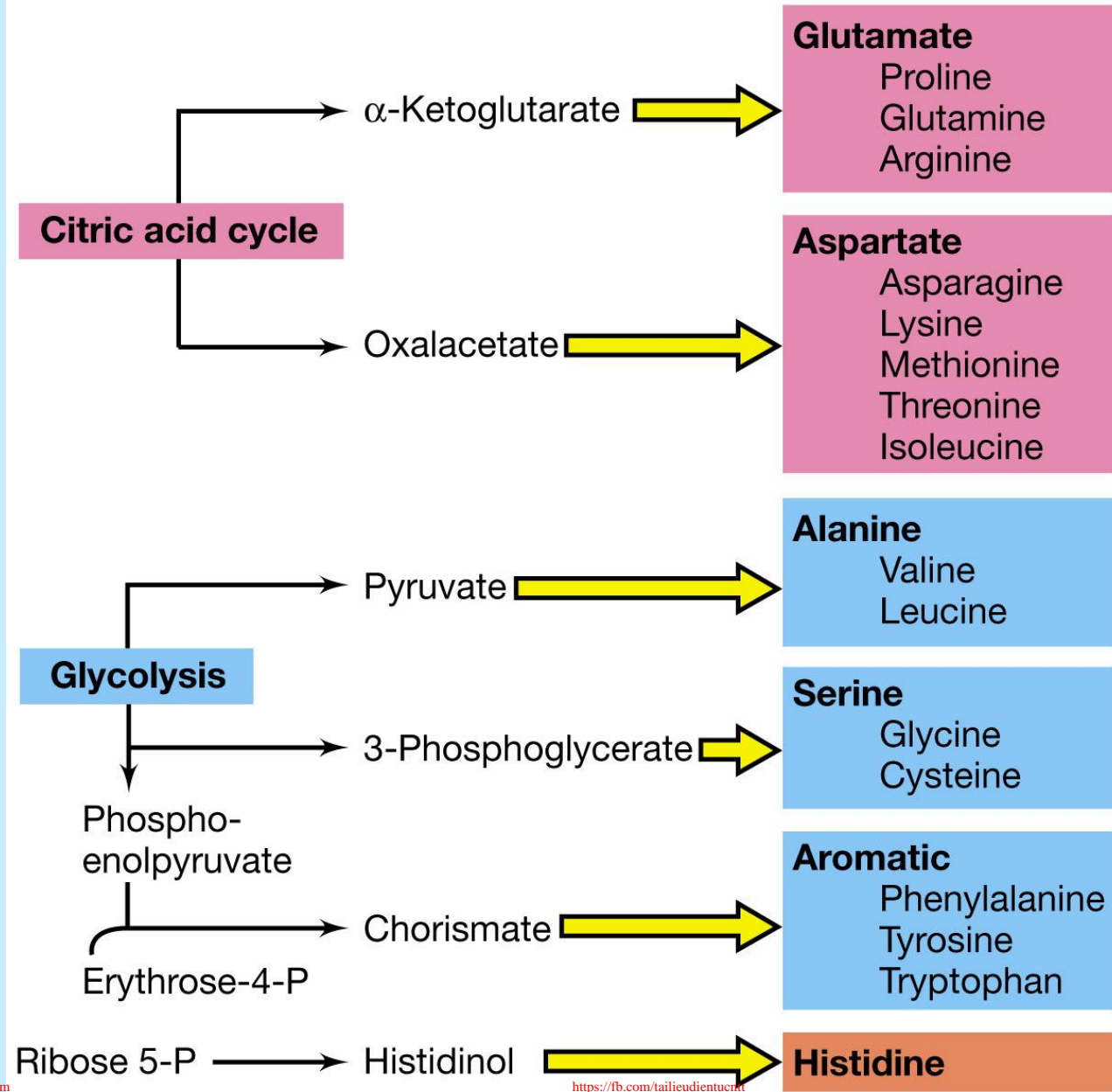
- Nitrogen được cung cấp từ nguồn hữu cơ (như amino acid) hoặc vô cơ
- Vi sinh vật sử dụng đạm vô cơ ở dạng  $\text{NH}_3$  và  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{N}_2$
- Khi nhiều  $\text{NH}_3$ , glutamate dehydrogenase xúc tác sự gắn  $\text{NH}_3$  vào các hợp chất hữu cơ
- Khi nồng độ  $\text{NH}_3$  thấp, glutamine synthetase–glutamate synthase chuyển  $\text{NH}_3$  và  $\alpha$ -ketoglutarate thành glutamate
- Cố định đạm  $\text{N}_2$  thành  $\text{NH}_3$  được xúc tác bởi một phức hợp enzyme là nitrogenase bị bất hoạt bởi  $\text{O}_2$

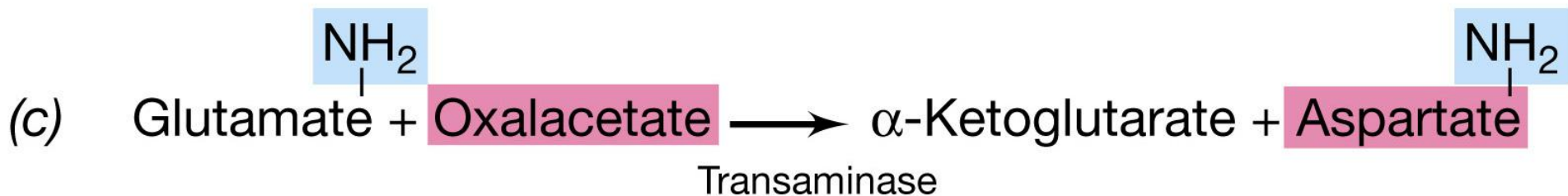
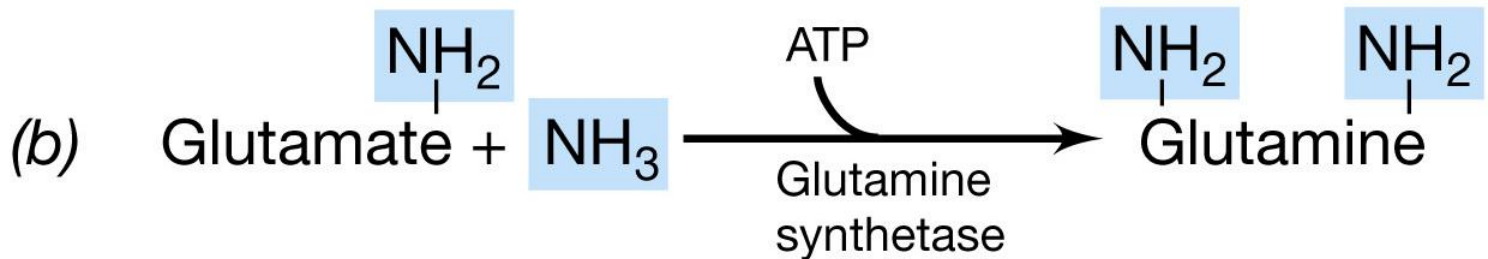
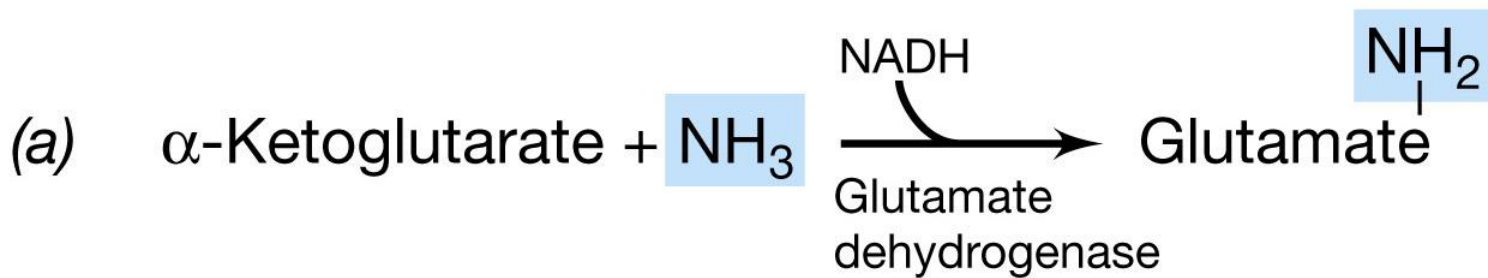
# Đồng hóa và sinh tổng hợp các đường đơn

- Khung carbon cũng được cung cấp bởi các con đường dị hóa, đặc biệt là đường phân và chu trình TCA.
- Đường được cung cấp từ môi trường bên ngoài hoặc được tổng hợp bên trong tế bào, dùng để sinh tổng hợp vách tế bào, polysaccharide, nucleic acid
- Sự tổng hợp glucose từ nguyên liệu không phải là carbohydrate được gọi là gluconeogenesis: phosphoenol pyruvate từ chu trình TCA và hai chất trung gian là glucose 6-phosphate và UDP-glucose

# Đồng hóa và sinh tổng hợp các amino acid

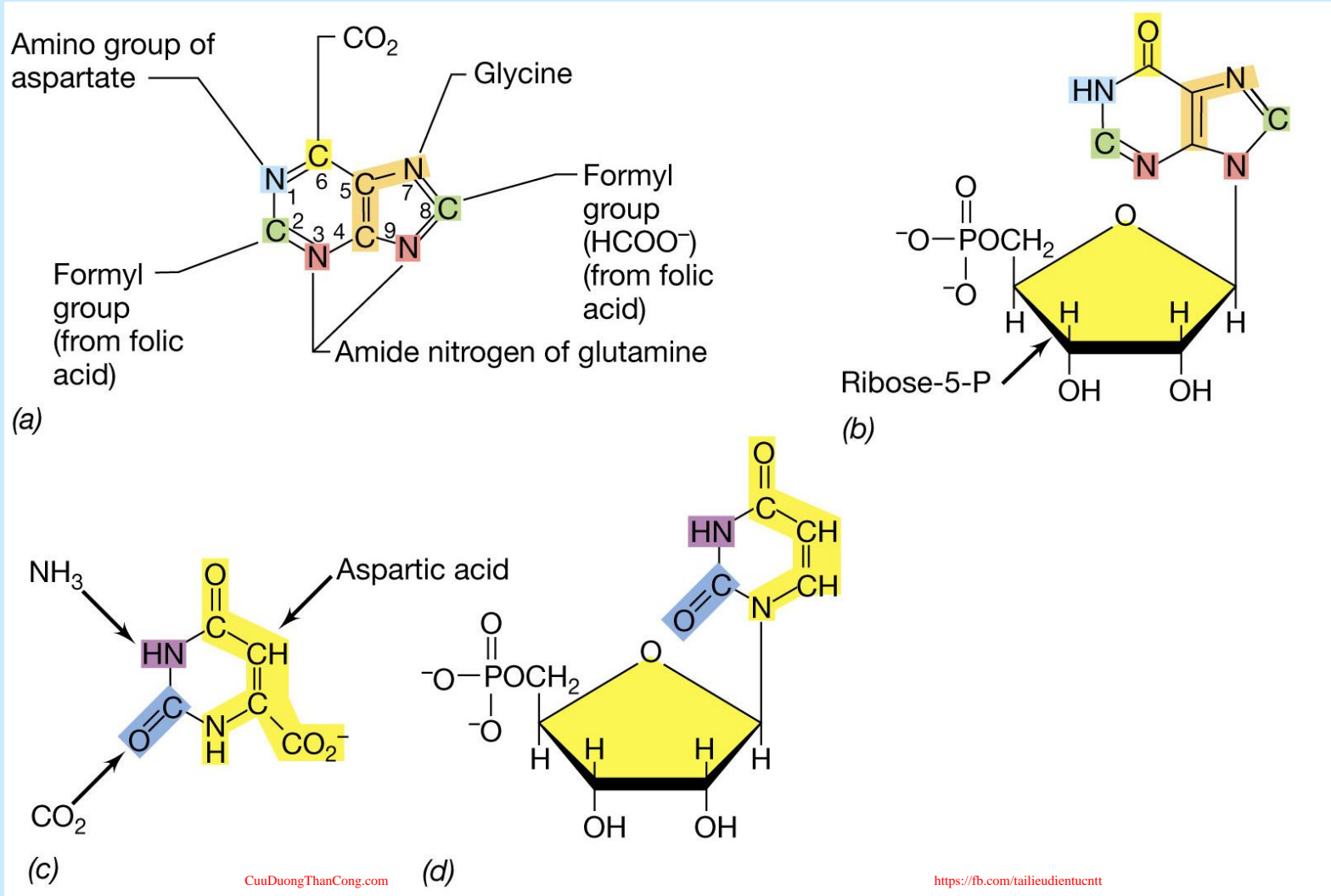
- Hai mươi amino acid có thể được chia thành 5 nhóm dựa vào tiền chất của chúng. Mỗi nhóm có con đường sinh tổng chung để tạo thành tiền chất tương ứng
- Nitrogen được đưa vào hầu hết các amino acid bởi các phản ứng chuyển amin dùng nhóm amine của glutamate; glutamate được tái tạo bằng  $\text{NH}_3$  và glutamate dehydrogenase





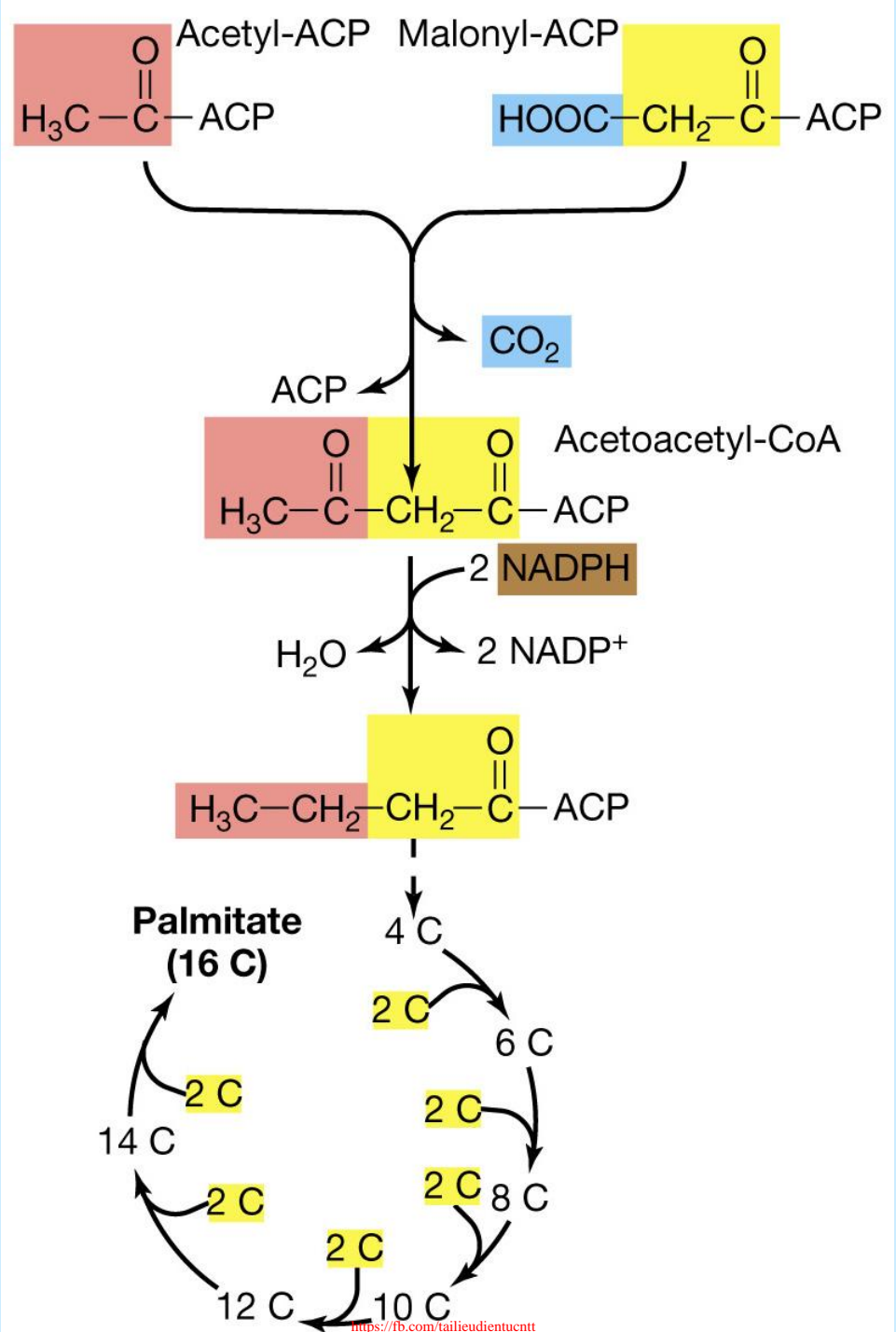
# Sinh tổng hợp các nucleotide

- Purine (A, G) được tổng hợp bằng cách thêm từng nguyên tử vào khung đường-phosphate
- Pyrimidine (C, T, U) được tổng hợp trước khi gắn đường vào



# Sinh tổng hợp axit béo

- Acid béo được tổng hợp bằng cách thêm dần các phân tử acetyl-CoA để tạo thành mạch dài với sự hỗ trợ của acyl carrier protein (ACP)





# Tăng trưởng (growth) ở vi sinh vật

# Tăng trưởng của quần thể vi sinh vật

- Tế bào phân đôi
- Số lượng tế bào sẽ tăng theo thời gian và sinh khối sẽ được tổng hợp với vận tốc tăng dần khi quần thể tăng trưởng
- Tế bào tăng trưởng với vận tốc không đổi nhưng số lượng/mật độ tế bào (N) tăng lên theo hàm mũ (tăng trưởng hàm mũ):

$$N = N_0 2^n \quad (n: \text{số lần tế bào phân đôi})$$

$$n = 3,3 (\log N - \log N_0)$$

- Thời gian giữa hai lần phân đôi được gọi là thời gian thế hệ g (generation time) = thời gian mật độ tế bào tăng gấp đôi (doubling time)
- Một số chỉ số tăng trưởng trong pha tăng trưởng hàm mũ:

Thời gian thế hệ  $g = t/n$  (t: thời gian của pha tăng trưởng hàm mũ)

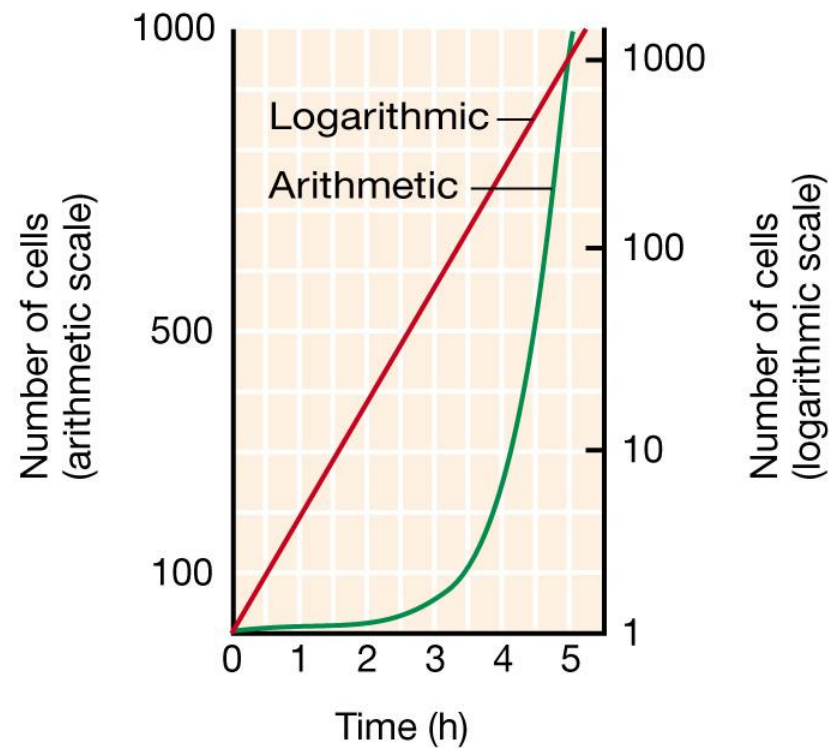
Tốc độ tăng trưởng riêng  $k = \log_2 n/t = 0,301n/t$  (độ dốc đường cong tăng trưởng)

Tốc độ phân chia  $v = 1/g \text{ (h}^{-1}\text{)}$

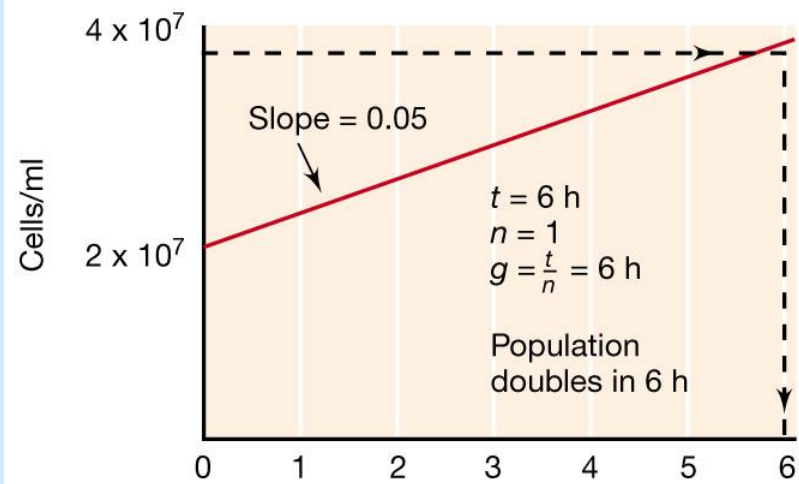
- Biến thiên của số lượng/mật độ tế bào theo thời gian được biểu diễn bằng đồ thị tương quan giữa hàm logarithm của số lượng/mật độ tế bào theo thời gian nuôi.
- Xác định g, k bằng thực nghiệm:

Time (h)	Total number of cells	Time (h)	Total number of cells
0	1	4	256
0.5	2	4.5	512
1	4	5	1,024
1.5	8	5.5	2,048
2	16	6	4,096
2.5	32	.	.
3	64	.	.
3.5	128	10	1,048,576

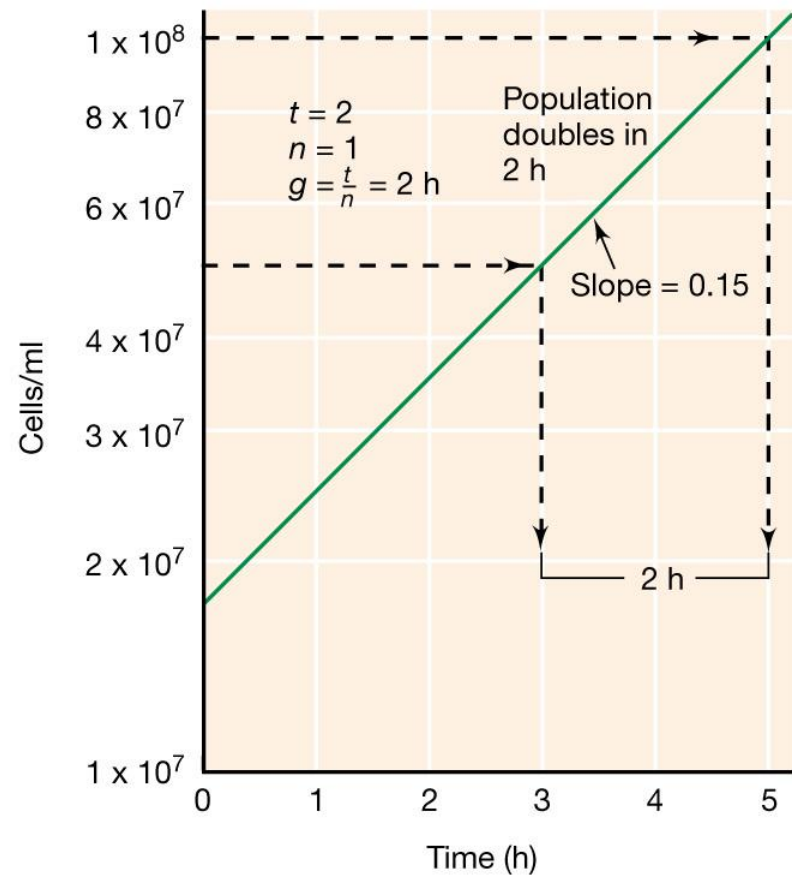
(a)



(b)



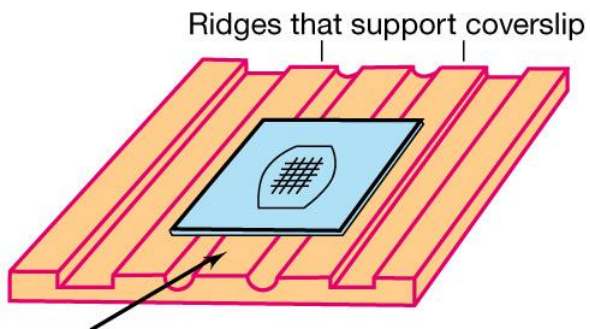
(a)



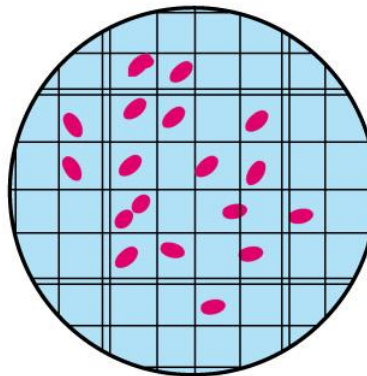
(b)

# Đo đạc sự tăng trưởng

- Đếm trực tiếp bằng kính hiển vi
- Đếm số tế bào sống (đếm khuẩn lạc)
- Cân sinh khối
- Đo độ đục
- MPN (Most Probable Number)



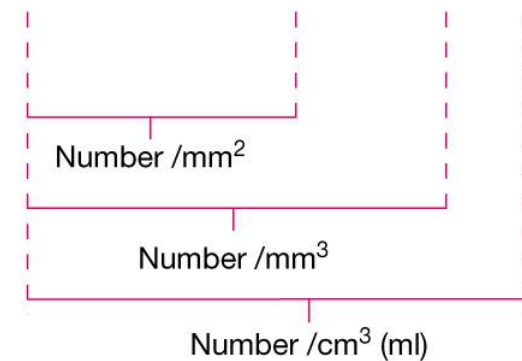
Sample added here; care must be taken not to allow overflow; space between coverslip and slide is 0.02 mm ( $\frac{1}{50}$  mm). Whole grid has 25 large squares, a total area of 1 mm<sup>2</sup> and a total volume of 0.02 mm<sup>3</sup>.



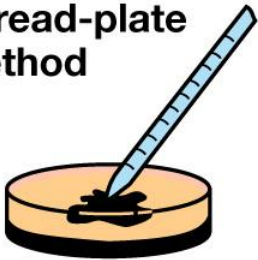
Microscopic observation; all cells are counted in large square: 12 cells (in practice, several squares are counted and the numbers averaged.)



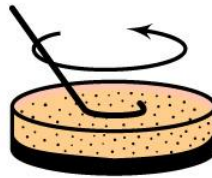
To calculate number per milliliter of sample:  
 12 cells x 25 large squares x 50 x 10<sup>3</sup>  
 = 1.5 x 10<sup>7</sup>



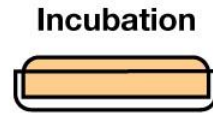
## Spread-plate method



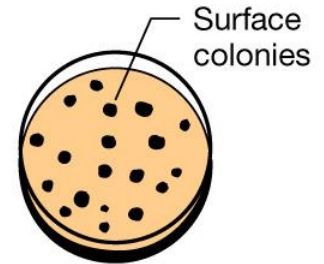
Sample is pipetted onto surface of agar plate (0.1 ml or less)



Sample is spread evenly over surface of agar using sterile glass spreader

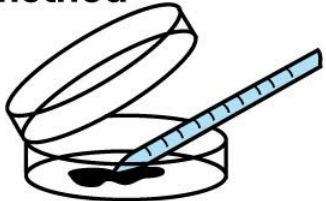


Incubation



Typical spread-plate results

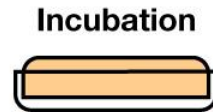
## Pour-plate method



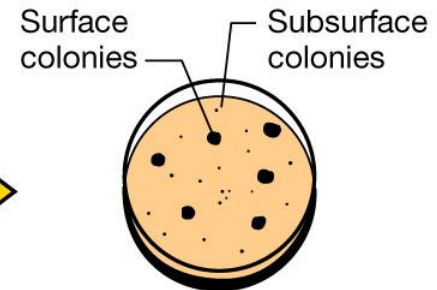
Sample is pipetted into sterile plate



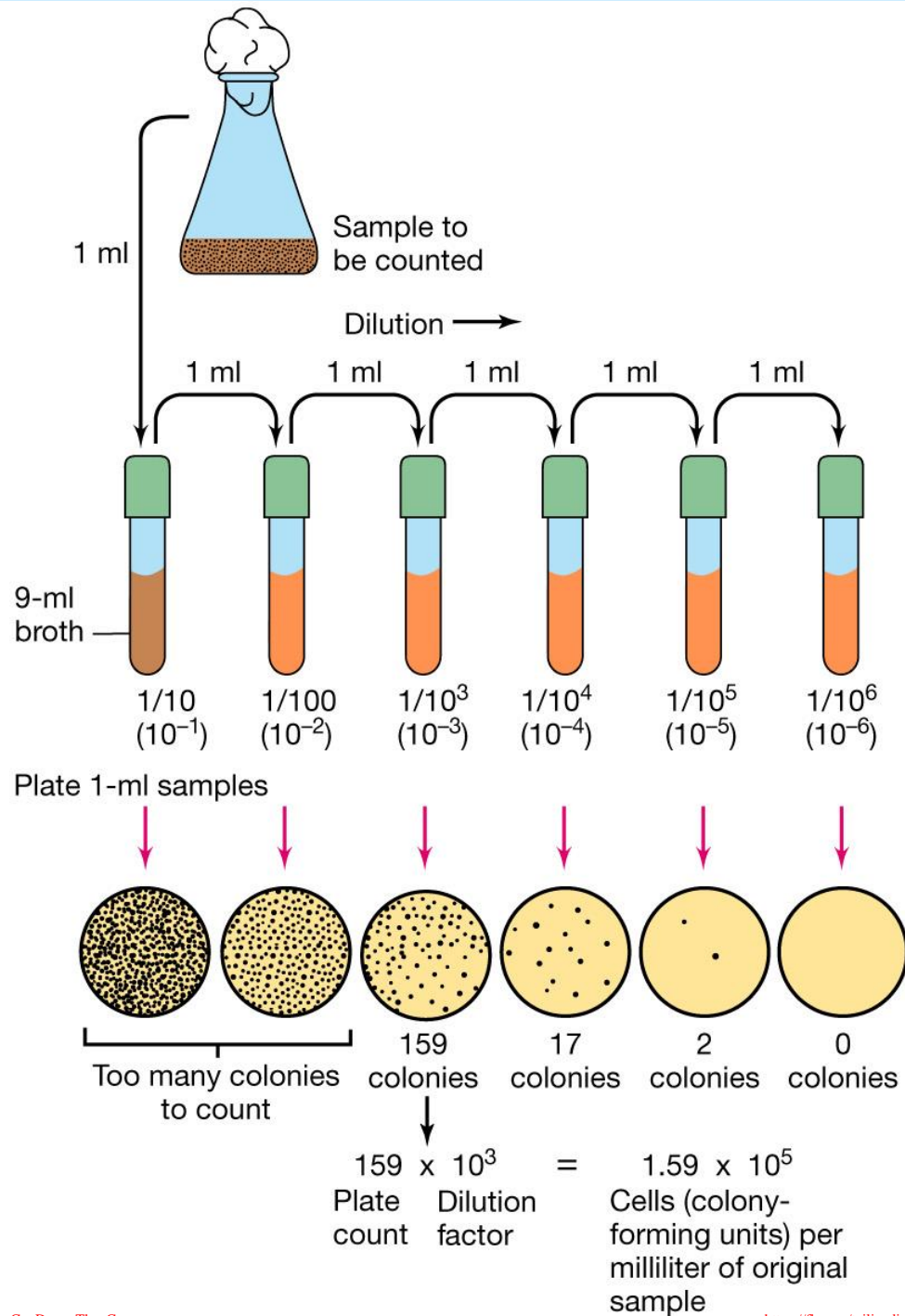
Sterile medium is added and mixed well with inoculum



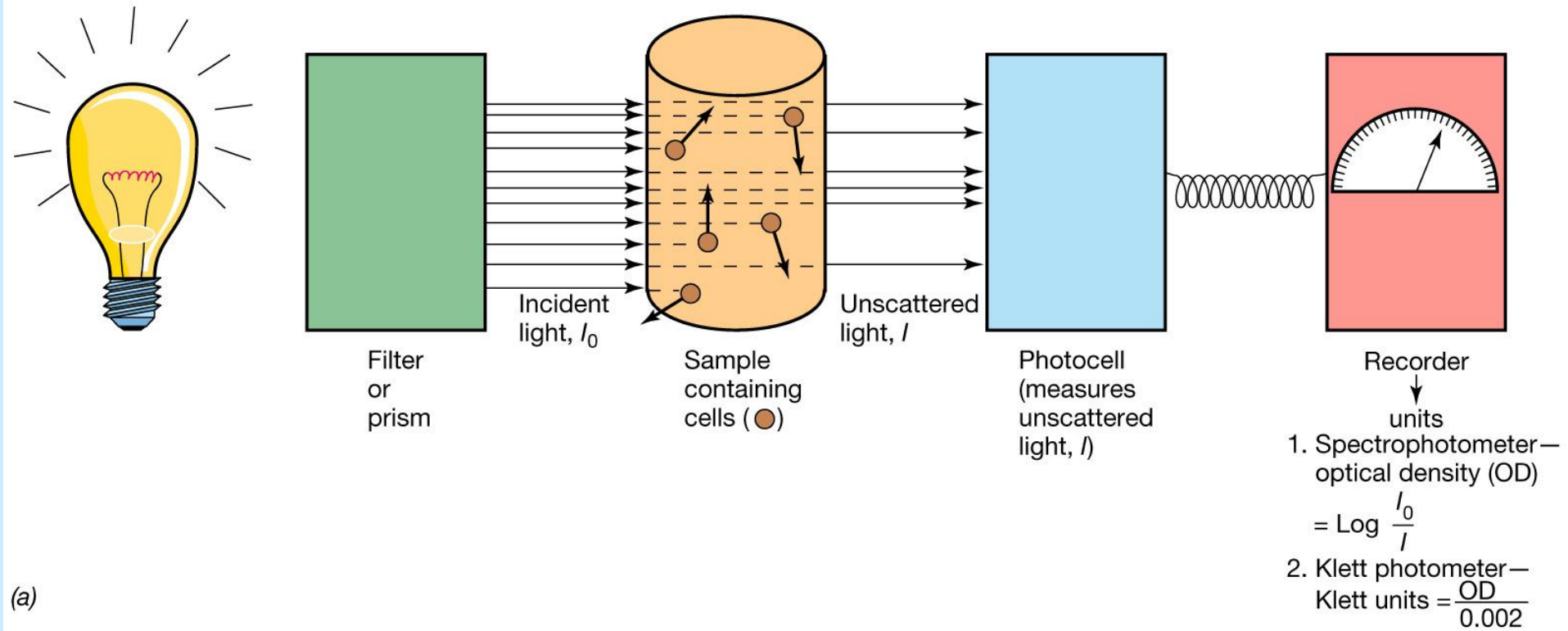
Incubation



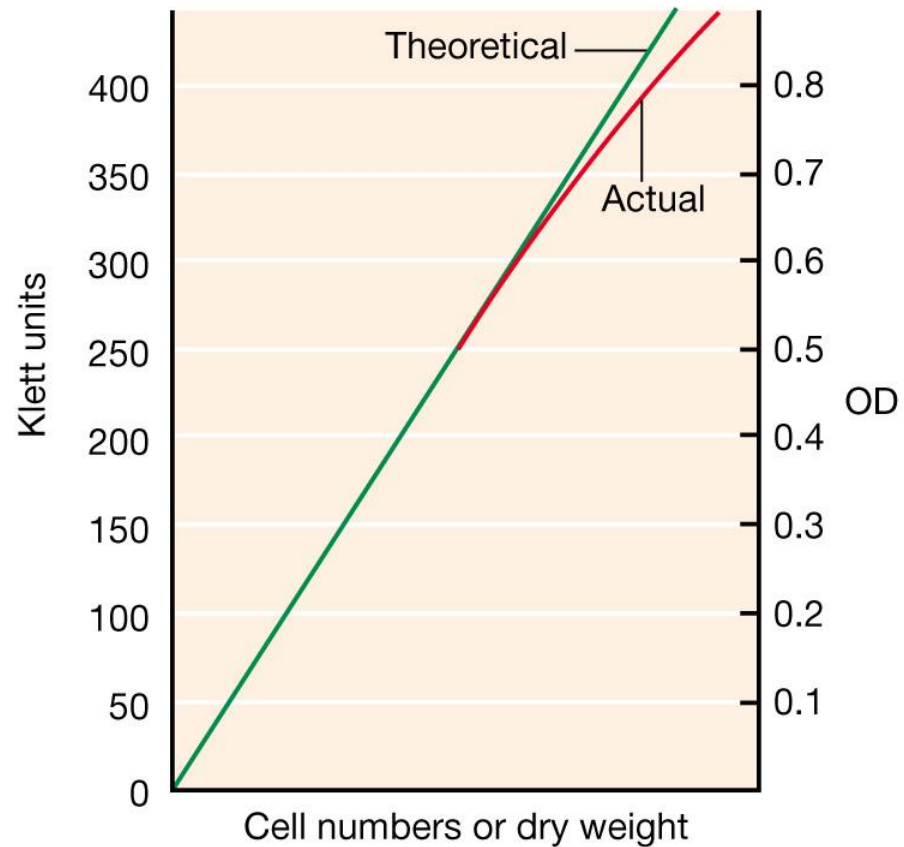
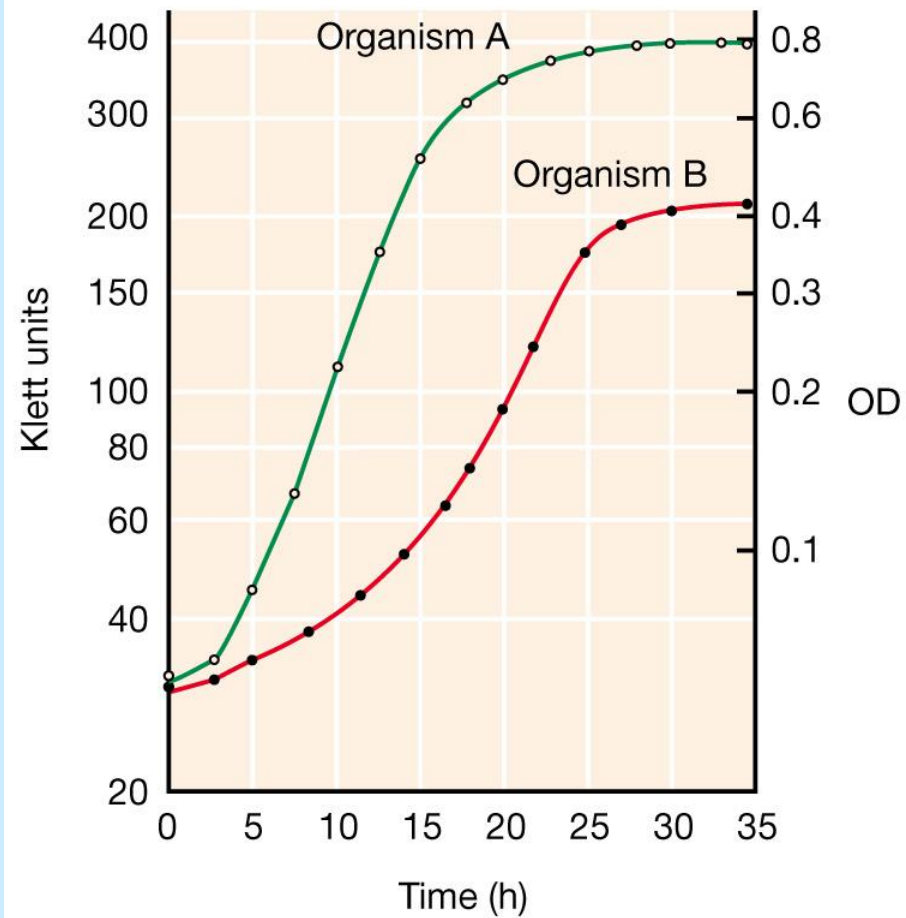
Typical pour-plate results





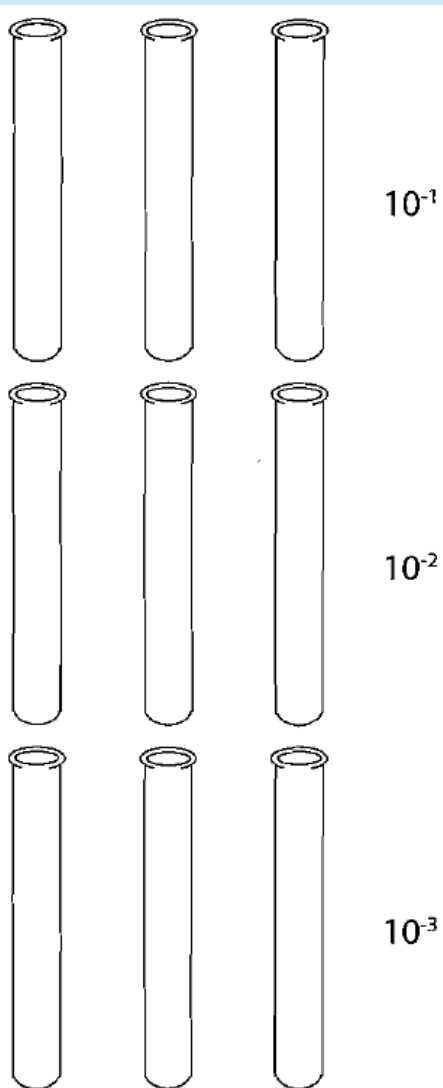


(a)

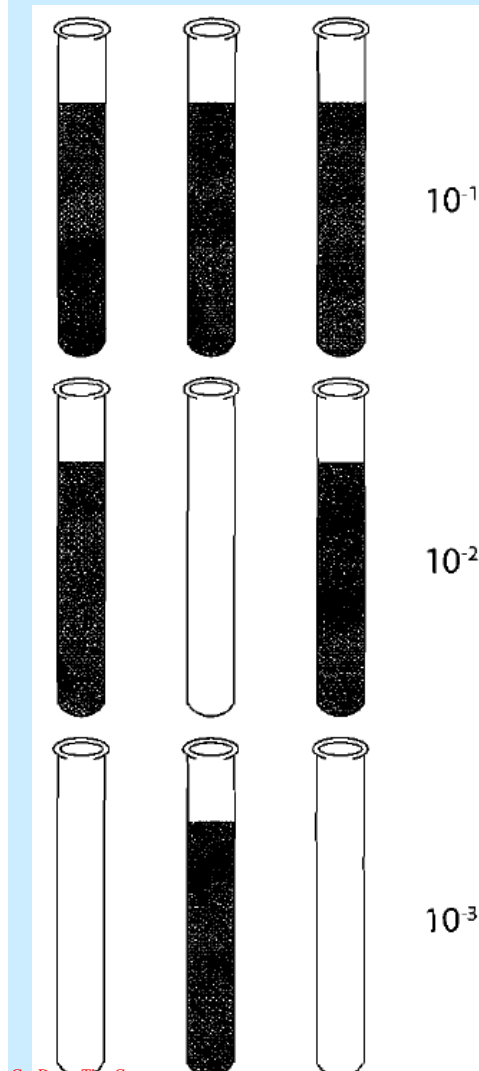


# Phân tích MPN: trường hợp 3 x 3 ống

**Trước ủ**



**Sau ủ**

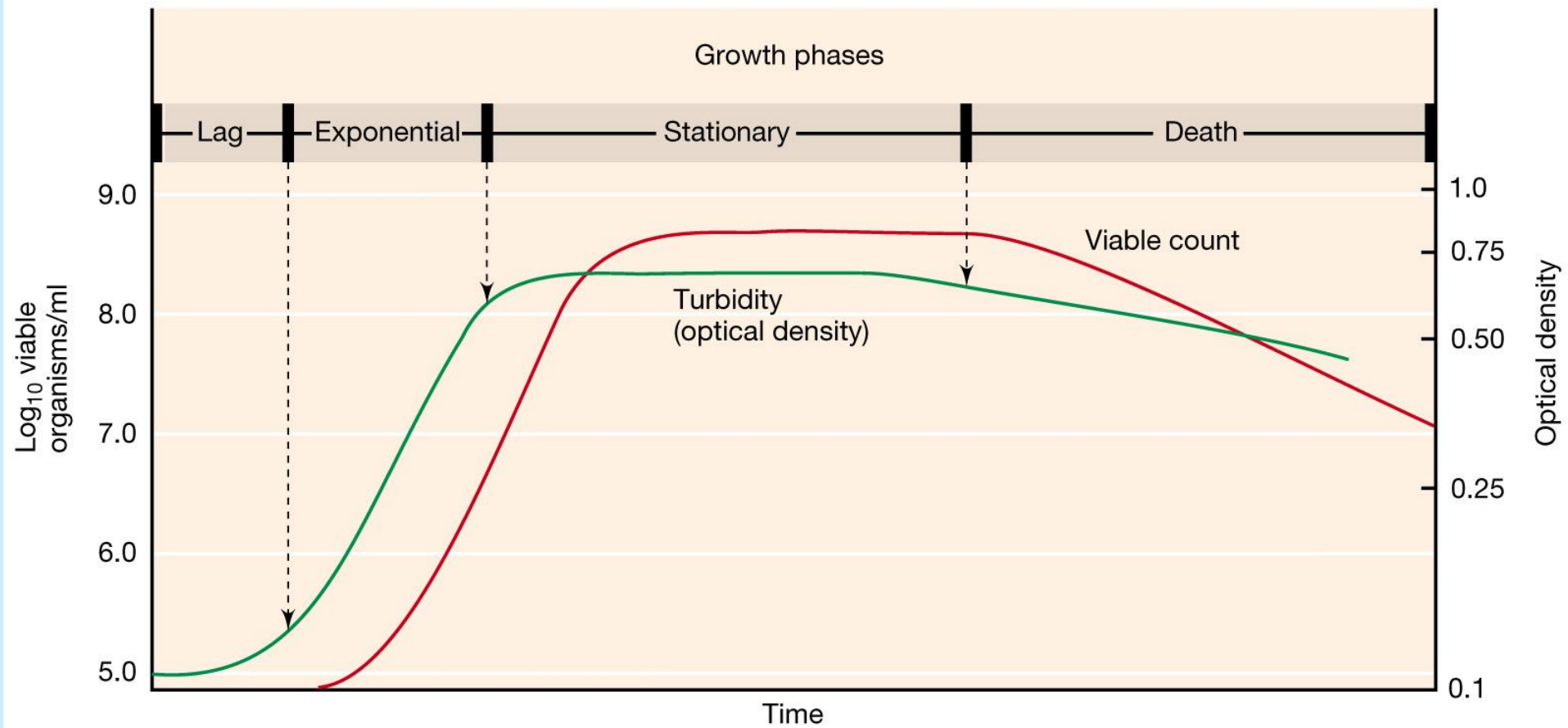


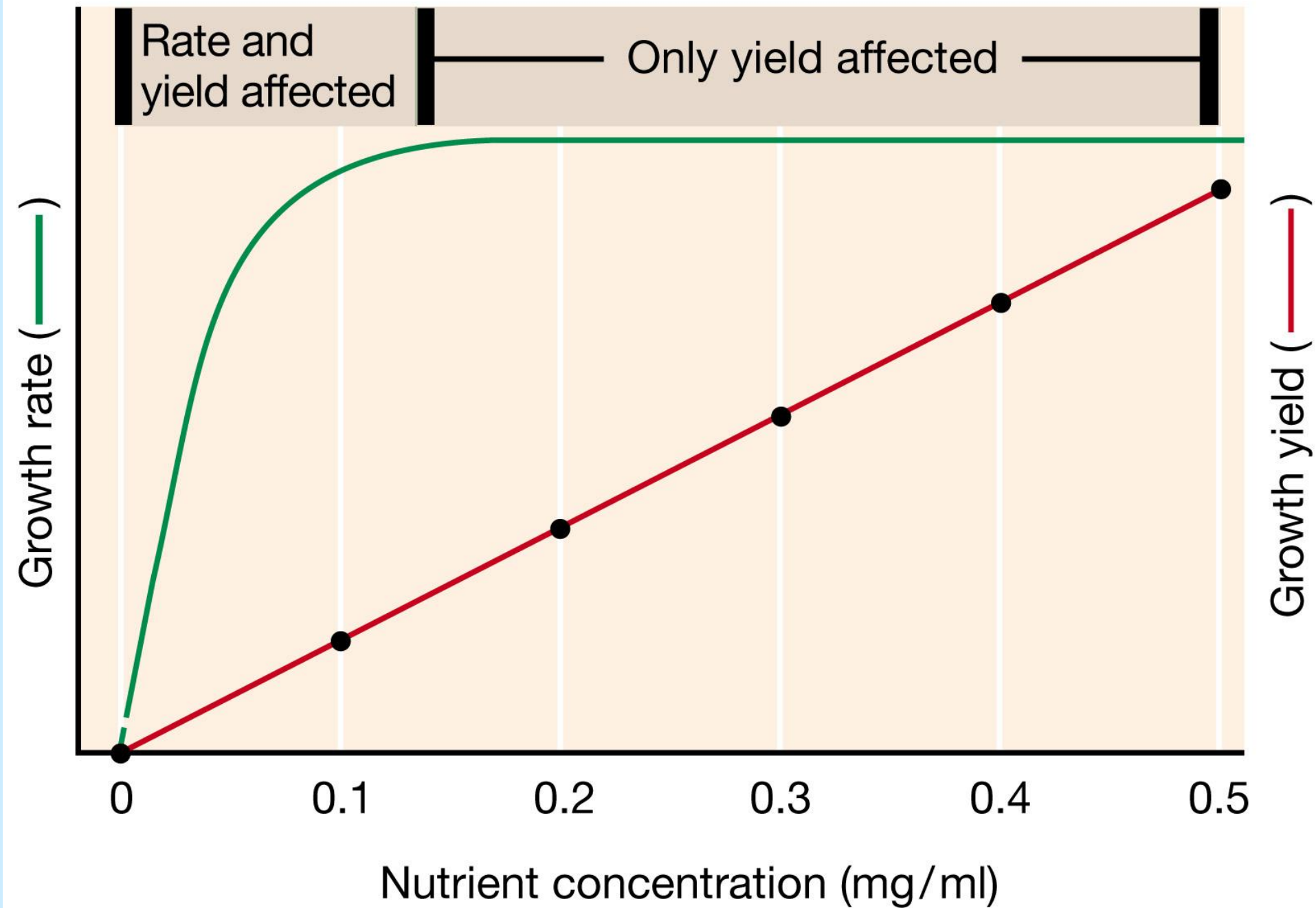
Positive Tubes

0.1	0.01	0.001	MPN	95% Confidence Range
2	2	0	21	4.5-42
2	2	1	28	8.7-94
2	2	2	35	8.7-94
2	3	0	29	8.7-94
2	3	1	36	8.7-94
3	0	0	23	4.6-94
3	0	1	38	8.7-110
3	0	2	64	17-180
3	1	0	43	9-180
3	1	1	75	17-200
3	1	2	120	37-420
3	1	3	160	40-420
3	2	0	93	18-420
3	2	1	150	37-420
3	2	2	210	40-430
3	2	3	290	90-1000
3	3	0	240	42-1000
3	3	1	460	90-2000
3	3	2	1100	180-4100
3	3	3	>1100	420-4000

# **Đặc tính tăng trưởng của quần thể vi sinh vật trong nuôi cấy mẻ - batch culture)**

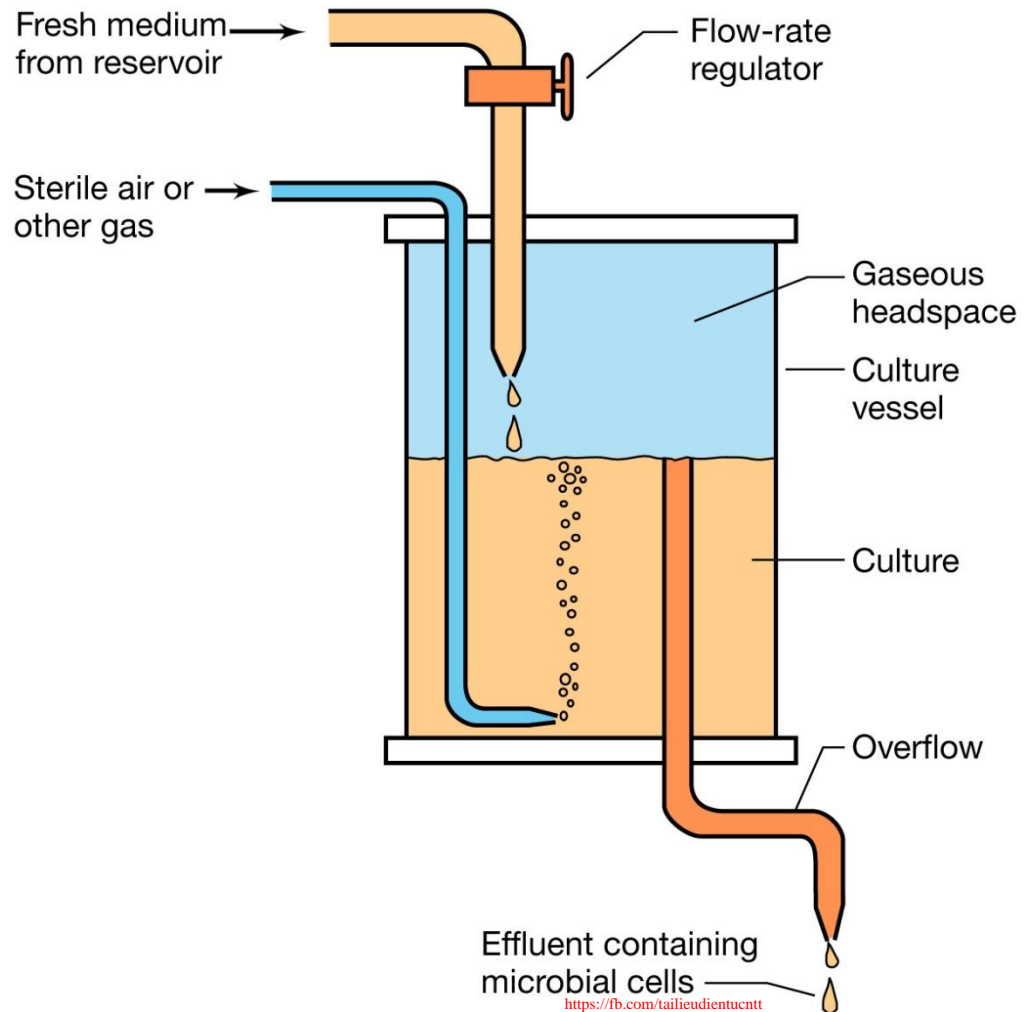
- Chu kỳ 4 pha:**
  - + pha tiềm tàng (lag phase)**
  - + pha hàm mũ (exponential phase)**
  - + pha ổn định (stationary phase)**
  - + pha chết (death phase)**
- Chất dinh dưỡng ảnh hưởng đồng thời đến tốc độ tăng trưởng và hiệu suất tăng trưởng (mật độ tế bào, sinh khối) ở nồng độ thấp; chỉ ảnh hưởng đến hiệu suất tăng trưởng ở nồng độ đủ cao**





# Đặc tính tăng trưởng của quần thể vi sinh vật trong nuôi cấy liên tục

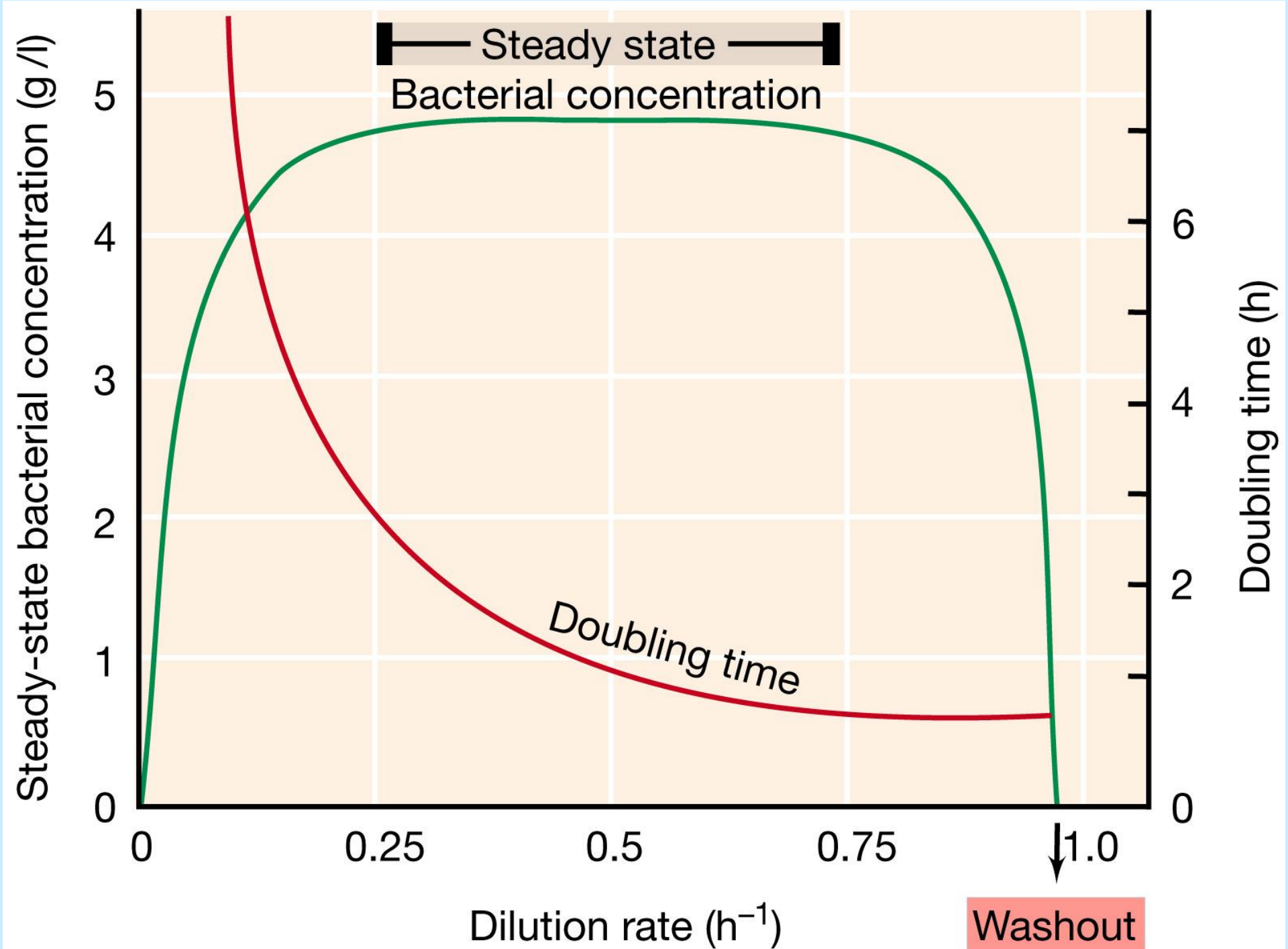
- Hệ ổn hóa (chemostat)
- Tốc độ pha loãng: thời gian cần để bổ sung thay mới 100% môi trường
- Đặc điểm: pha hàm mũ kéo dài; ở trạng thái ổn định nồng độ của chất dinh dưỡng giới hạn và số lượng tế bào không thay đổi theo thời gian



# **Ảnh hưởng của chất dinh dưỡng lên sự tăng trưởng của quần thể vi sinh vật trong nuôi cấy liên tục**

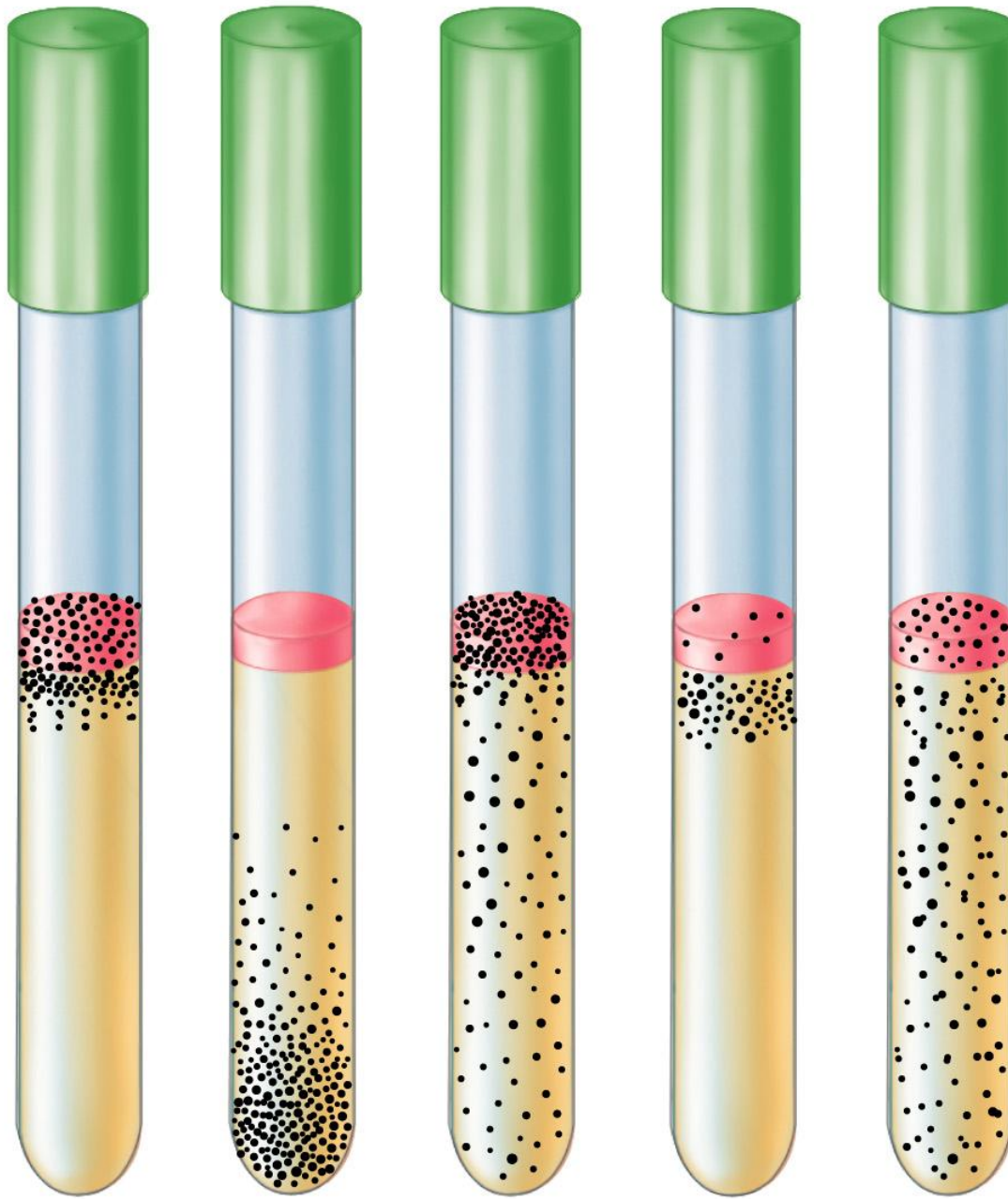
- Ảnh hưởng đến tốc độ tăng trưởng (growth rate):
  - + Tốc độ tăng trưởng thay đổi theo tốc độ pha loãng
  - + Khi lượng chất dinh dưỡng được thu nhận vào tế bào không đáp ứng được nhu cầu tăng trưởng của tế bào
- Ảnh hưởng đến năng suất tăng trưởng (growth yield):
  - + Năng suất tăng trưởng thay đổi theo nồng độ chất dinh dưỡng giới hạn
  - + Nồng độ chất dinh dưỡng thấp làm giảm tổng sinh khối của quần thể
- 1 mole ATP từ dị hóa tạo ra 9 – 10g sinh khối khô của tế bào





# **Ảnh hưởng của các yếu tố môi trường lên sự tăng trưởng của quần thể vi sinh vật**

- **Nhiệt độ tăng giúp tế bào có thể tăng trưởng nhanh hơn nhưng có giới hạn nhiệt độ:**
  - + Vi sinh vật ôn hòa
  - + Vi sinh vật ưa hàn
  - + Vi sinh vật ưa nhiệt
  - + Vi sinh vật ưa nhiệt cực đoan
- **pH**
- **Áp suất thẩm thấu và nước hoạt tính**
- **Ôxi phân tử**
  - + Hiếu khí
  - + Kỵ khí
  - + Kỵ khí tùy ý



(a)

(b)

(c)

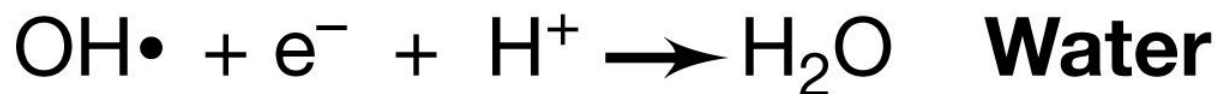
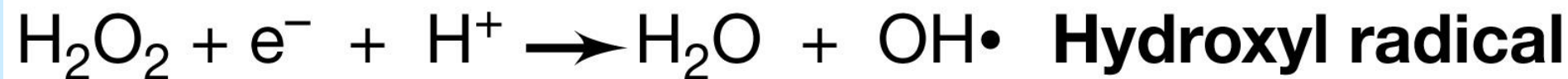
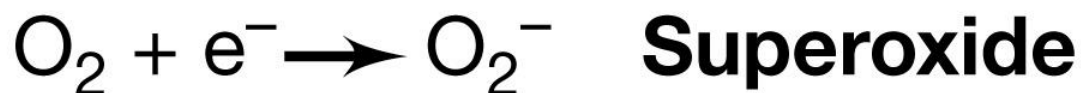
(d)

(e)



Deborah O. Jung and M. T. Madigan

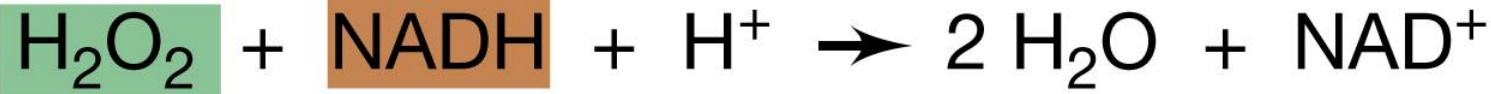
(a)



**(a) Catalase:**



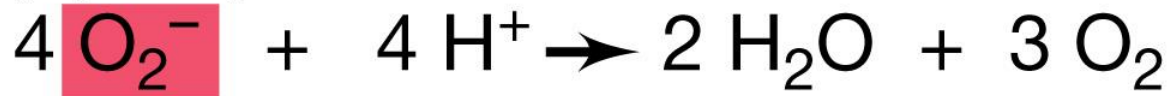
**(b) Peroxidase:**



**(c) Superoxide dismutase:**



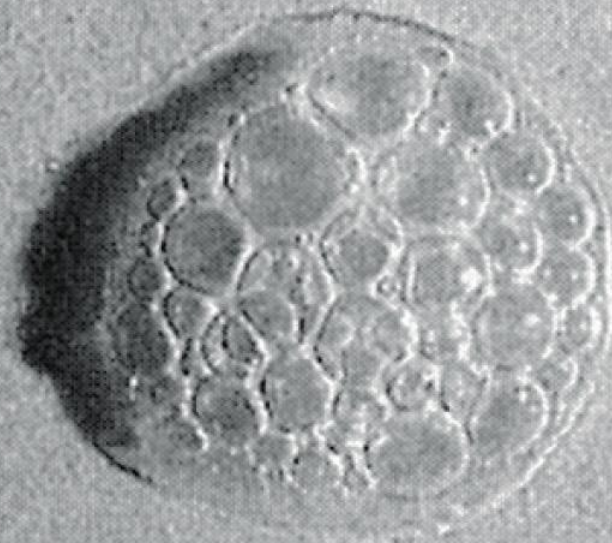
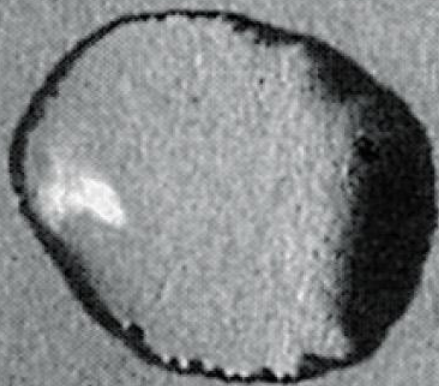
**(d) Superoxide dismutase/catalase in combination:**



**(e) Superoxide reductase:**







# Kiểm soát sự tăng trưởng của vi sinh vật



# Các phương pháp kiểm soát tăng trưởng

- **Kiểm soát tăng trưởng:** ức chế tăng trưởng, diệt tế bào hoặc loại bỏ vi sinh vật
- **Chất kháng khuẩn:** các chất diệt khuẩn (bactericidal), chất ức chế tăng trưởng (bacteriostatic)
- **Sự khử trùng (sterilization)** là quá trình diệt hoặc loại tất cả sinh vật sống, virút ra khỏi môi trường: nhiệt, lọc và chiếu xạ

# Khử trùng bằng nhiệt

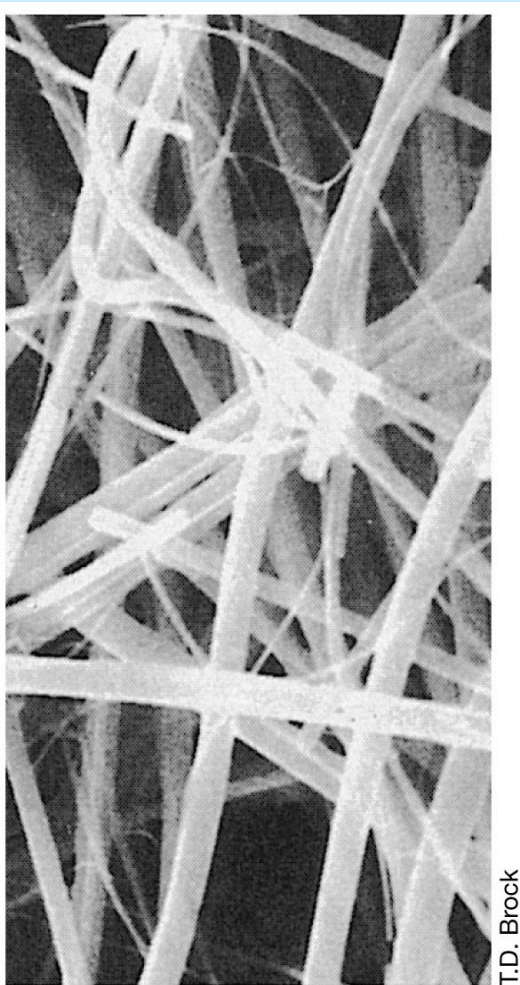
- Nhiệt độ cao diệt tế bào vi sinh vật: biến tính protein, DNA, chức năng màng
- Tốc độ chết phụ thuộc vào nhiệt độ và thời gian xử lý theo một hàm mũ
- Thời gian giảm thập phân: khoảng thời gian làm giảm số lượng tế bào trong quần thể theo hệ số  $10^{-1}$
- Khử trùng nhiệt ẩm
- Khử trùng Pasteur
- Khử trùng nhiệt khô

# Khử trùng bằng chiếu xạ

- **Vi sóng, chiếu xạ tia tử ngoại, tia X, tia gamma và chùm điện tử.**
- **Tia tử ngoại: không xuyên thấu, sát trùng bề mặt, không khí hoặc chất lỏng không hấp thụ các bước sóng UV**
- **Các tia gamma, tia X: tính xuyên thấu cao hơn, bảo quản thực phẩm, dụng cụ y tế**

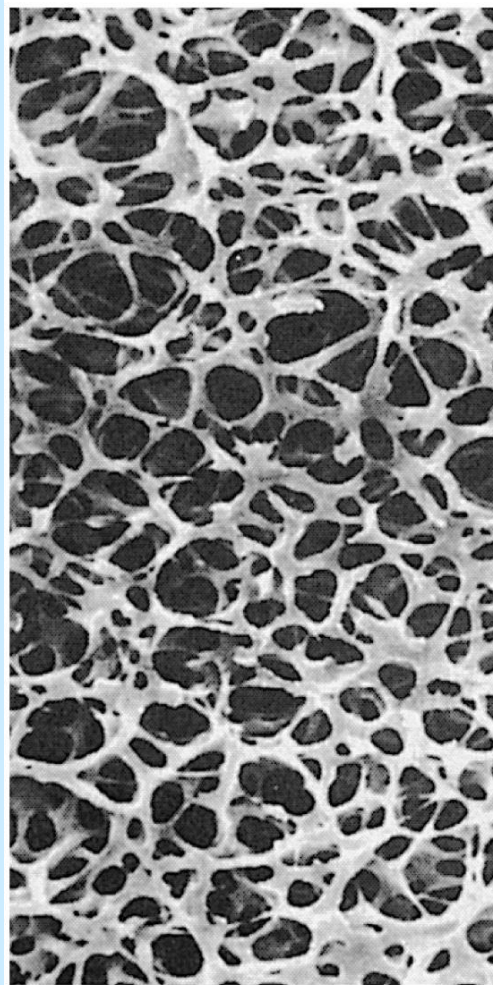
# Khử trùng bằng phương pháp lọc

- Màng lọc phân tử
- Dùng cho môi trường chứa các phân tử có hoạt tính sinh học nhạy cảm với nhiệt



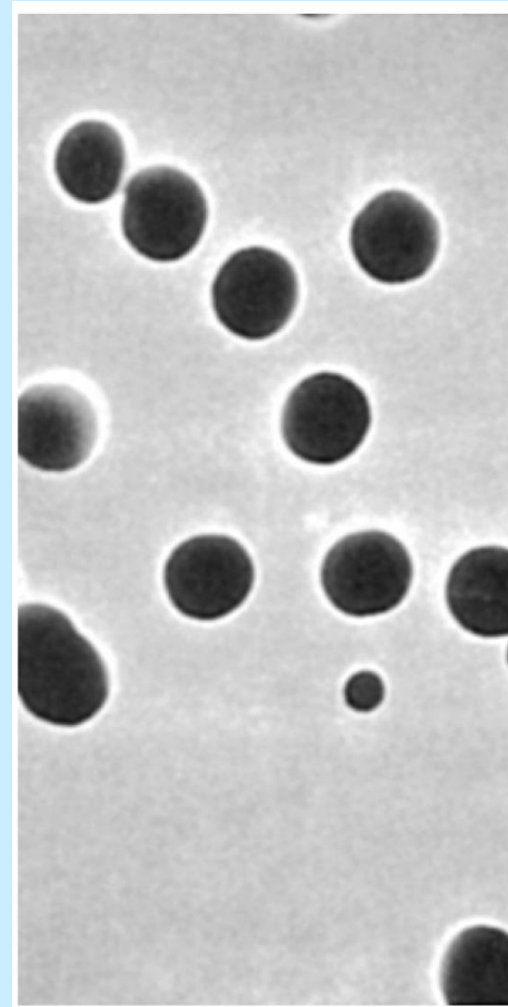
T.D. Brock

(a)



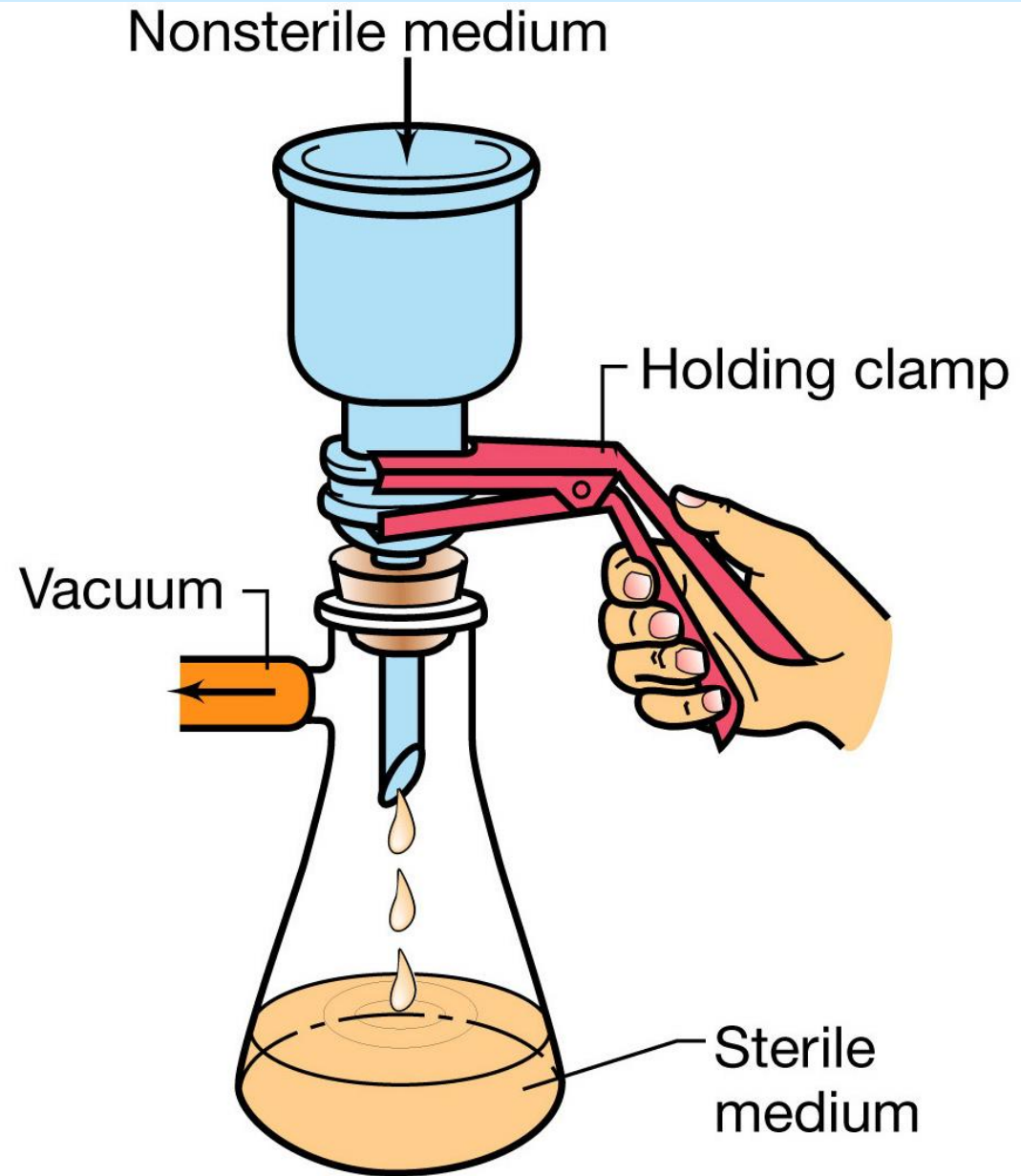
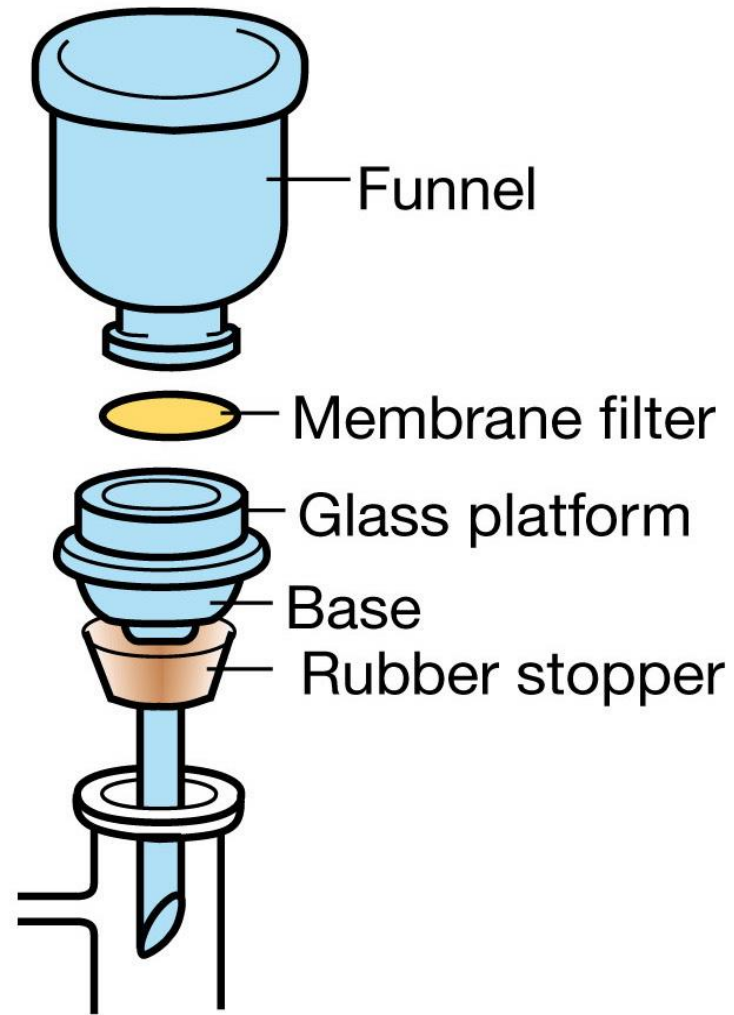
T.D. Brock

(b)



T.D. Brock

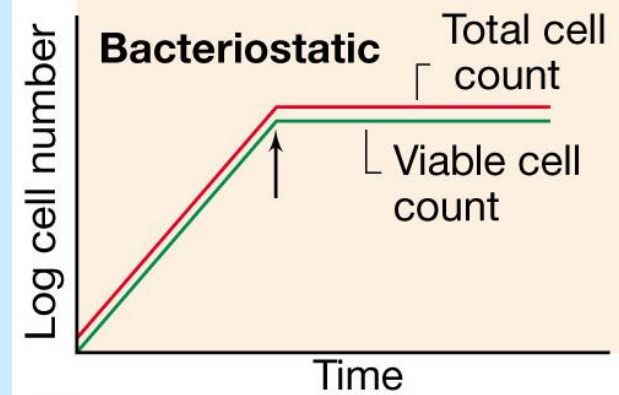
(c)



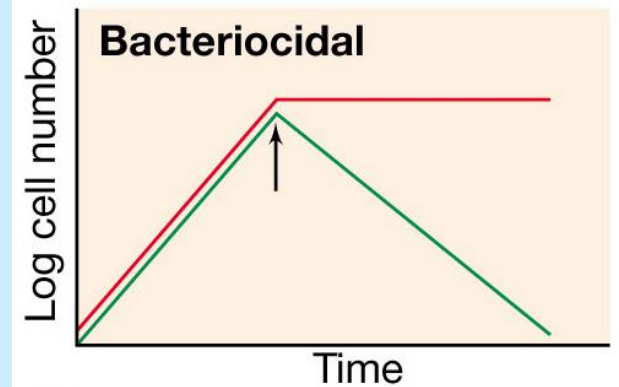
(a)

# Kiểm soát tăng trưởng của VSV bằng hóa chất

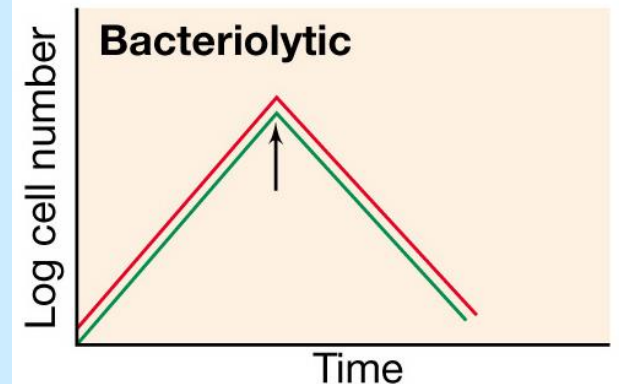
- **Chất diệt vi sinh vật (cidal agent):** chất diệt vi khuẩn (bactericidal), chất diệt nấm (fungicidal), chất diệt virút (viricidal)
- **Chất ức chế vi sinh vật (static agent):** chất ức chế vi khuẩn (bacteriostatic), chất ức chế nấm (fungistatic), chất ức chế virút (viristatic)
- **Chất sát khuẩn (disinfectant)** dùng cho vật liệu không sống
- **Chất kháng khuẩn (antiseptic)** dùng trên mô sống
- **Nồng độ ức chế tối thiểu (minimum inhibitory concentration, MIC)**



(a)

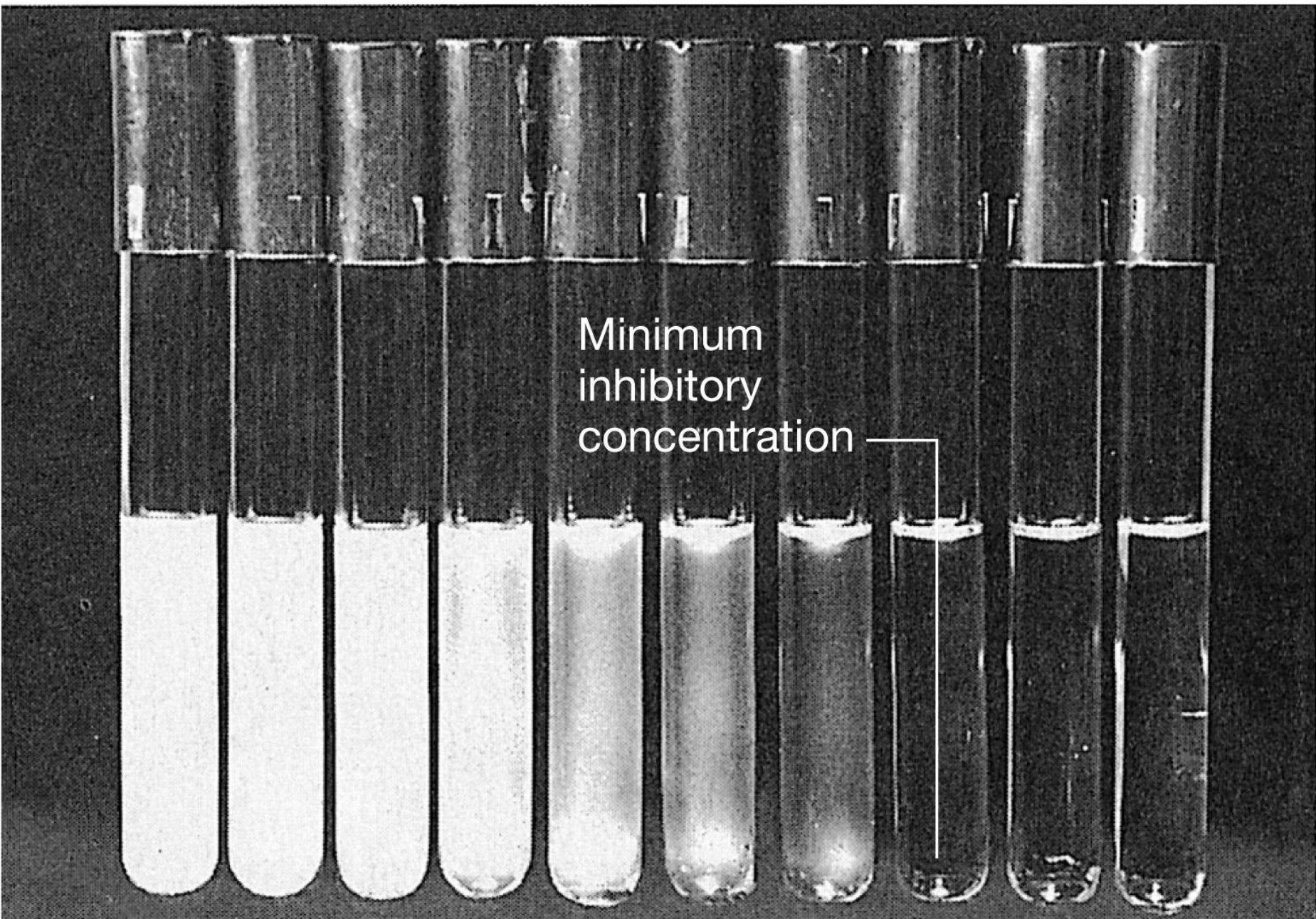


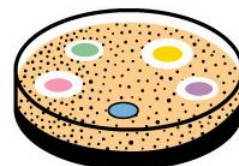
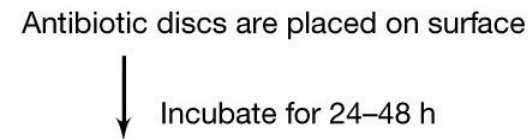
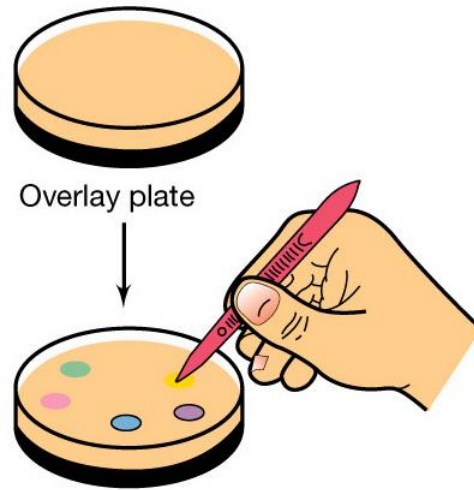
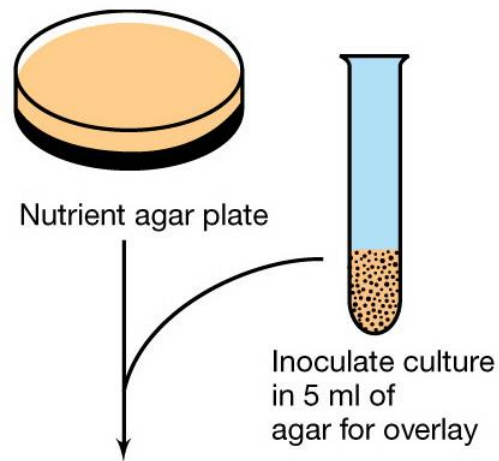
(b)



(c)





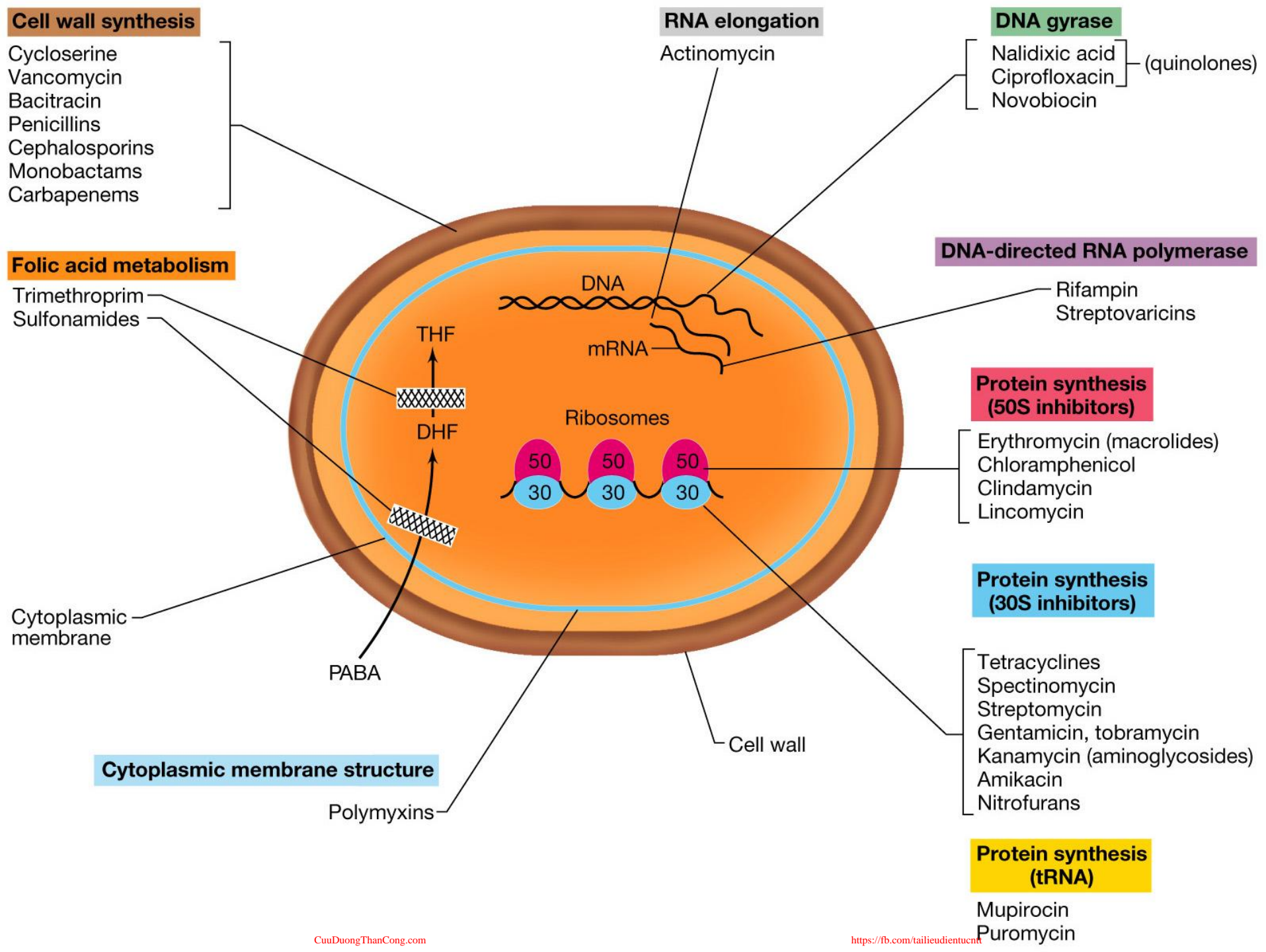


Test organism shows sensitivity to some antibiotics, indicated by inhibition of bacterial growth around discs (zones of inhibition) after incubation

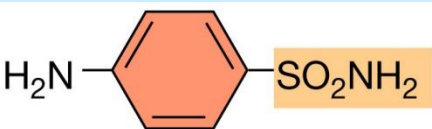


# Kháng sinh

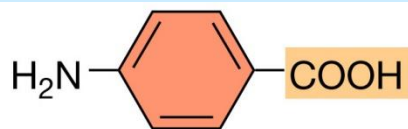
- **Kháng sinh (antibiotic):** nguồn gốc vi sinh vật hoặc tổng hợp hóa học có tác dụng ức chế tăng trưởng của các vi sinh vật khác
- **Mục tiêu tác dụng:** vách tế bào, màng, sao mã, phiên mã và sinh tổng hợp protein
- **Tính kháng kháng sinh của vi khuẩn gây bệnh:** (1) không có mục tiêu tác dụng; (2) tính không thấm của thuốc; (3) enzyme làm mất hoạt tính của kháng sinh



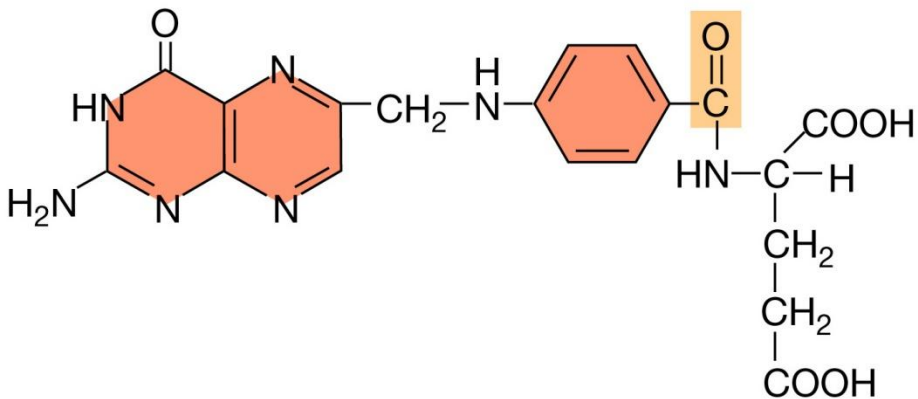
# Các chất đồng dạng nhân tố tăng trưởng



(a) Sulfanilamide

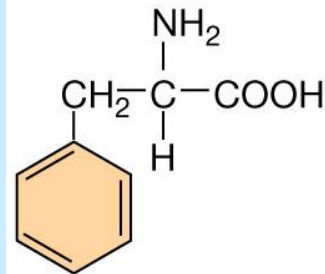


(b) *p*-Aminobenzoic acid

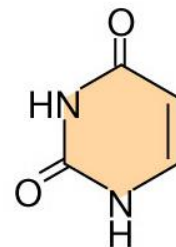


(c) Folic acid

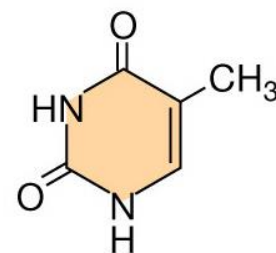
## Growth factor



Phenylalanine  
(an amino acid)

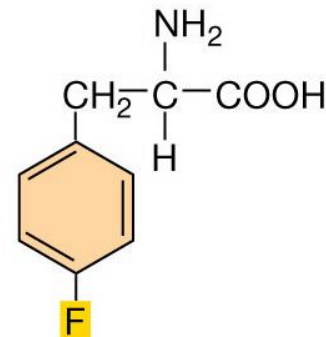


Uracil  
(an RNA base)

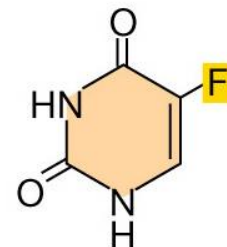


Thymine  
(a DNA base)

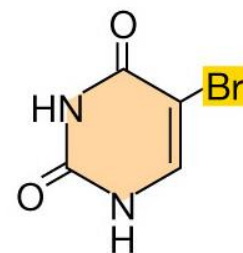
## Analog



*p*-Fluorophenylalanine



5-Fluorouracil  
(a uracil analog)



5-Bromouracil  
(a thymine analog)



1. Tại sao sự oxy hóa các hợp chất hữu cơ bởi oxy để tạo  $\text{CO}_2$  và nước giải phóng năng lượng?

- A) Các cầu nối cộng hóa trị trong các hợp chất hữu cơ và oxy có nhiều động năng hơn các nối cộng hóa trị trong nước và  $\text{CO}_2$ .
- B) Các electron được di chuyển từ các nguyên tử có ái lực thấp đối với electron (như là C) đến các nguyên tử có ái lực cao đối với electron (như oxy)
- C) Sự oxy hóa các hợp chất hữu cơ có thể được sử dụng để tạo ATP.
- D) Các electron có năng lượng cao hơn khi tương tác với nước và  $\text{CO}_2$  so với các hợp chất hữu cơ.
- E) Nối cộng hóa trị trong oxy là không bền và dễ bị bẻ gãy bởi các electron từ hợp chất hữu cơ.

2. Phân tử có chức năng như một chất khử (chất cho điện tử) trong một phản ứng oxy hóa khử sẽ:

- A) nhận electron và nhận năng lượng (potential energy).
- B) mất electron và mất năng lượng.
- C) nhận electron và mất năng lượng
- D) mất electron và nhận năng lượng.
- E) không thu và cũng không nhận electron, nhưng nhận hoặc mất năng lượng.

3. Khi một phân tử  $\text{NAD}^+$  (nicotinamide adenine dinucleotide) nhận một nguyên tử hydrogen (không phải proton), thì phân tử này trở nên:

A) bị mất nước (dehydrogenated).

B) bị oxy hóa (oxidized).

C) bị khử (reduced).

D) bị oxy hóa khử (redoxed).

E) bị thủy phân (hydrolyzed).

4. Tại sao ATP là một phân tử quan trọng trong biến dưỡng?

A) Sự thủy phân của nó cung cấp năng lượng tự do cho các phản ứng tỏa nhiệt.

B) Nó cung cấp năng lượng kết hợp (energy coupling) giữa các phản ứng tỏa nhiệt và thu nhiệt.

C) Nhóm phosphate tận cùng của nó chứa một nối cộng hóa trị mạnh mà khi được thủy phân sẽ giải phóng năng lượng.

D) Nối phosphate tận cùng của nó có năng lượng cao hơn hai nối còn lại.

E) Nó là một trong bốn nguyên liệu cơ bản cho sự tổng hợp DNA.

Campbell – Biology 9<sup>th</sup> – Chapter 11



5. Điều nào sau đây liên quan đến các con đường biến dưỡng là đúng?

- A) Chúng kết hợp các phân tử thành các phân tử giàu năng lượng hơn.
- B) Chúng cung cấp năng lượng, cơ bản ở dạng ATP, cho sự hoạt động của tế bào.
- C) Chúng thu năng lượng.
- D) Chúng là ngẫu nhiên và không cần sự xúc tác bởi các enzyme.
- E) Chúng hình thành các phân tử phức tạp như protein từ các phức hợp đơn giản hơn.

Campbell – Biology 9<sup>th</sup> – Chapter 11

6. Chất nào sau đây là sản phẩm của các phản ứng sáng được sử dụng trong chu trình Calvin?

A) CO<sub>2</sub> và glucose

B) H<sub>2</sub>O và O<sub>2</sub>

C) ADP, Pi và NADP<sup>+</sup>

D) Electrons và H<sup>+</sup>

ATP và NADPH

7. ATP tạo ra trong quá trình đường phân (glycolysis) được tạo ra bởi:

- A) sự phosphoryl hóa cơ chất (substrate-level phosphorylation).
- B) sự chuyển electron (electron transport).
- C) sự quang phosphoryl hóa (photophosphorylation).
- D) chemiosmosis.
- E) sự oxy hóa NADH thành NAD<sup>+</sup>.

Campbell – Biology 9<sup>th</sup> – Chapter 9

8. Nếu cung cấp  $\text{CO}_2$  được tạo với  $^{18}\text{O}$  cho tảo lục đang quang hợp, thì khi phân tích sẽ cho thấy tất cả các hợp chất tạo ra sau đó bởi tảo sẽ chứa  $^{18}\text{O}$  ngoại trừ:

- A) 3-phosphoglycerate.
- B) glyceraldehyde 3-phosphate (G3P).
- C) glucose.
- D) ribulose biphosphate (RuBP).
- E)  $\text{O}_2$ .

9. Ở vi khuẩn tự dưỡng, các enzyme thực hiện việc cố định carbon nằm ở đâu?

- A) trong màng chloroplast
- B) trong chất nền chloroplast
- C) trong tế bào chất
- D) trong thể nhân (nucleoid)
- E) trong màng nguyên sinh chất

