

## **CHƯƠNG 1**

# **MỞ ĐẦU**

Chương này trình bày một số vấn đề chung của vi sinh vật và vi sinh vật học như mục tiêu của vi sinh vật học, các đặc tính tế bào của vi sinh vật, tiến hóa và thế giới vi sinh vật, vi sinh vật trong tự nhiên và chủng thuần trong phòng thí nghiệm, vai trò của vi sinh vật học và các nhà khoa học đã bắt đầu lịch sử vi sinh vật học. Mặc dù vi sinh vật học chỉ mới phát triển mạnh mẽ trong những năm của thế kỷ 20, nhưng ngành khoa học này có vai trò quan trọng đối với con người vì hai lý do: (1) vi sinh vật là công cụ nghiên cứu tuyệt vời để tìm hiểu sinh học phân tử của tế bào và (2) nhiều vấn đề quan trọng đối với xã hội loài người là hệ quả từ hoạt động của vi sinh vật.

### **1. Vi sinh vật học**

Vi sinh vật học nghiên cứu về vi sinh vật, là một nhóm lớn và đa dạng các sinh vật có kích thước nhỏ ở dạng đơn bào, đa bào, kể cả virus (là các phần tử kích thước nhỏ không có cấu tạo tế bào). Khác với tế bào động vật, thực vật là các tế bào không có khả năng tồn tại độc lập trong tự nhiên, bắt buộc phải tồn tại ở dạng bộ phận của một sinh vật đa bào, hầu hết tế bào vi sinh vật đều có khả năng thực hiện các quá trình sống như tăng trưởng, tạo năng lượng, sinh sản một cách độc lập không phụ thuộc các tế bào khác.

Mục tiêu của vi sinh vật học là nghiên cứu về đời sống và hoạt động của tế bào; về sinh học của vi sinh vật, đặc biệt là vi khuẩn, là nhóm có ý nghĩa khoa học và thực tiễn to lớn; về sự đa dạng và tiến hóa ở vi sinh vật; về hoạt động của vi sinh vật trong tự nhiên, trong xã hội loài người, trong cơ thể con người, động vật và thực vật.

Các nhà vi sinh vật học nghiên cứu vi sinh vật vì hai lý do:

- Về mặt khoa học, vi sinh vật là công cụ, mô hình ưu việt để tìm hiểu bản chất của các quá trình sống do tế bào vi sinh vật có nhiều quá trình sinh hóa giống sinh vật bậc cao, do có thể được nuôi ở mật độ rất cao trong điều kiện phòng thí nghiệm, do dễ dùng trong các nghiên cứu sinh hóa và di truyền.

- Về mặt thực tiễn, vi sinh vật học có vai trò quan trọng trong y học, nông nghiệp, công nghiệp, môi trường. Vi sinh vật là tác nhân gây ra những bệnh nguy hiểm nhất ở người, động, thực vật; có vai trò quan trọng trong độ phì nhiêu của đất, trong sản xuất vật nuôi, trong các quá trình lên men công nghiệp, trong kỹ thuật di truyền và công nghệ sinh học hiện đại, trong bảo vệ môi trường.

### **2. Đặc tính tế bào của vi sinh vật**

Đa số vi sinh vật thuộc dạng đơn bào nên vi sinh vật mang những thuộc tính căn bản của một hệ thống sống ở dạng tế bào.

#### **2.1. Tế bào là một hệ thống hở**

Tế bào được bao bọc bởi một màng tế bào chất có tác dụng tách biệt tế bào với môi trường. Bên trong tế bào chứa nhiều cấu trúc và hóa chất khác nhau giúp cho tế bào

duy trì hoạt động sống. Cấu trúc cốt lõi nhất là nhân hoặc thể nhân (nucleoid) chứa thông tin di truyền DNA, tế bào chất chứa bộ máy giúp tế bào tăng trưởng và hoạt động sống. Tế bào còn chứa những hợp chất phân tử lượng lớn (các đại phân tử) như protein, nucleic acid, lipid và polysaccharid. Bản chất hóa học và cấu trúc của các đại phân tử này quyết định đặc điểm phân biệt giữa các tế bào. Tế bào còn là một cấu trúc động học, trong đó các thành phần cấu thành tế bào thường xuyên bị biến đổi và được thay thế, thường xuyên nhận vật chất từ bên ngoài vào để tạo thành cấu trúc của tế bào đồng thời tiết chất thải vào môi trường. Do vậy tế bào là một hệ thống hở, cách ly nhưng trao đổi với môi trường, luôn luôn thay đổi nhưng về mặt tổng thể vẫn giữ được các đặc trưng riêng của mình.

## 2.2. Các đặc điểm chung của hệ thống sống

Tế bào có những đặc điểm chung của hệ thống sống như sau:

- Có khả năng biến dưỡng, thu nhận cơ chất từ môi trường, chuyển hóa chúng để thu lấy năng lượng, vật liệu cấu thành tế bào và trả lại môi trường các chất thải.
- Có khả năng sinh sản tạo ra các tế bào hậu thế.
- Có khả năng phân hóa hình thành cơ chất hoặc cấu trúc mới trong chu kỳ sống của tế bào giúp cho quá trình sinh sản, phát tán và tồn tại của tế bào.
- Có khả năng giao tiếp với môi trường xung quanh, đáp ứng thích nghi với các tín hiệu từ môi trường.
- Có khả năng tiến hóa hình thành những thuộc tính mới và truyền lại cho hậu thế (Fig. 1.3).

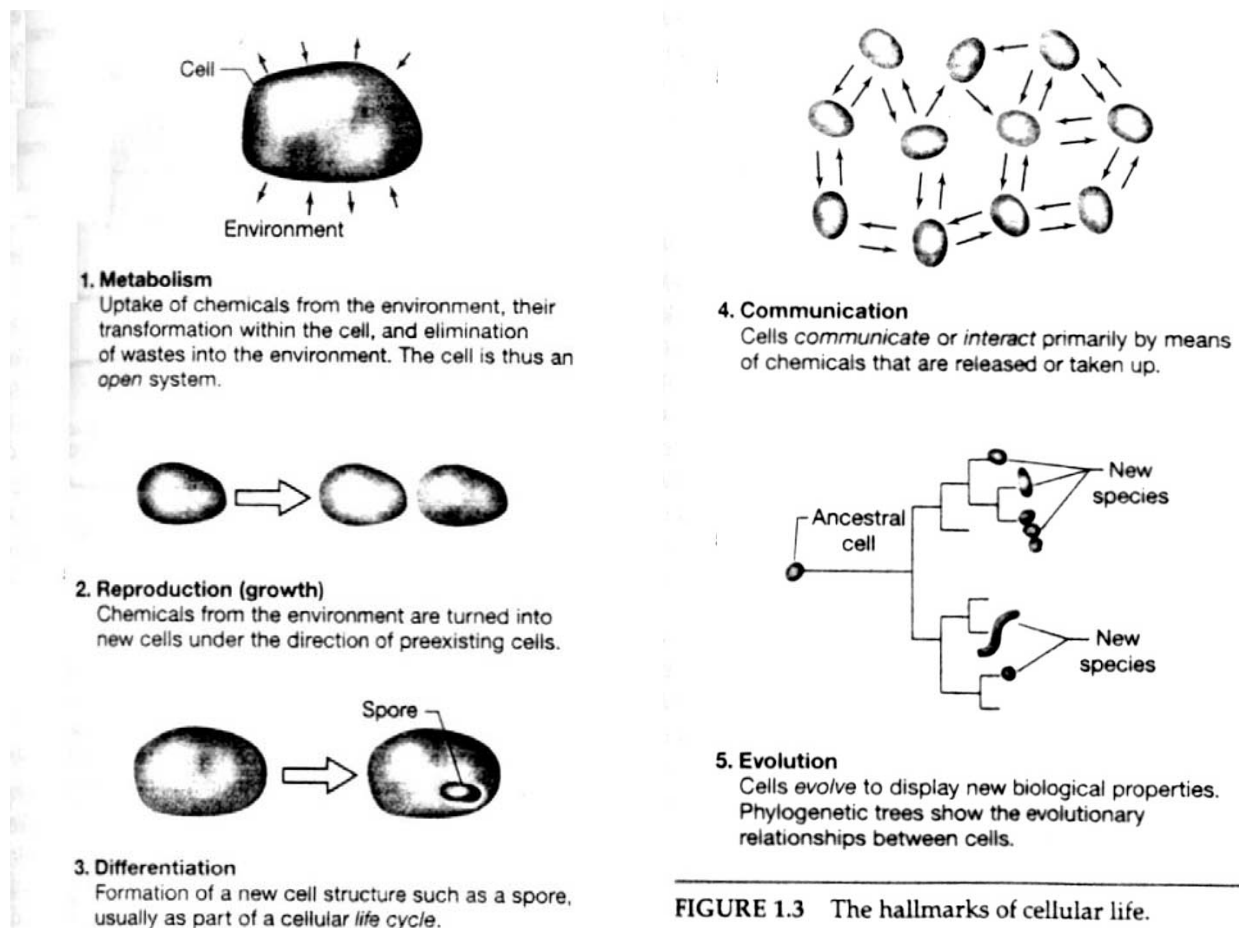
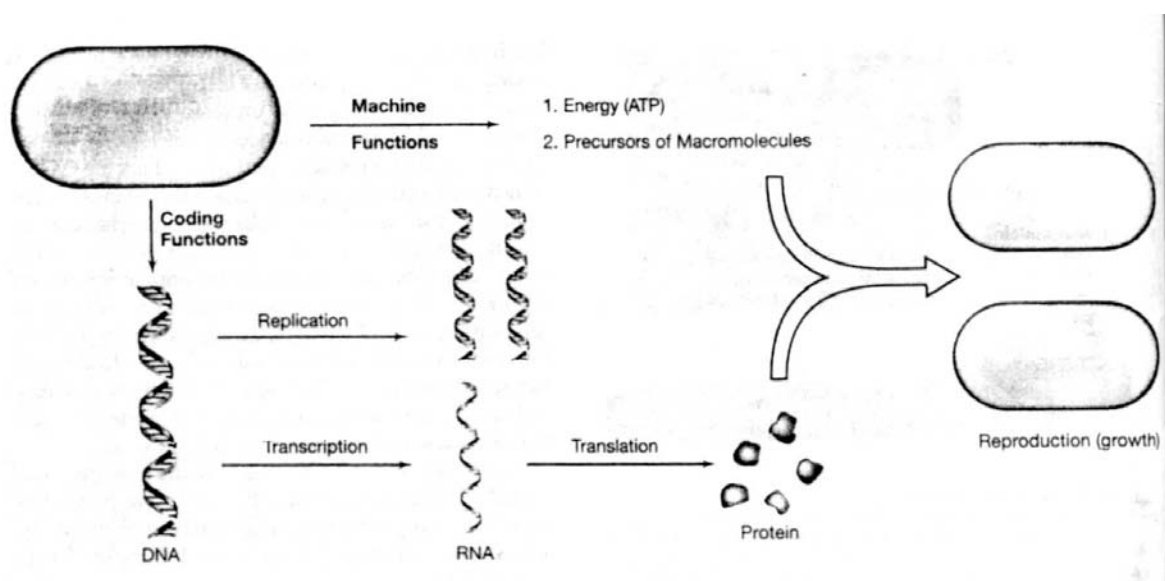


FIGURE 1.3 The hallmarks of cellular life.

### 2.3. Tế bào vừa là nhà máy hóa học vừa là công cụ mã hóa

Có thể xem tế bào là nhà máy hóa học trong đó diễn ra nhiều chuyển hóa hóa học trong không gian bên trong tế bào nhờ sự xúc tác của các protein là enzyme. Mặt khác, tế bào cũng có thể được xem là công cụ mã hóa, tương tự như các máy tính, có vai trò lưu trữ và xử lý các thông tin di truyền để truyền lại cho hậu thế. Trên thực tế, tế bào vừa là nhà máy hóa học vừa là công cụ mã hóa. Sự liên kết hai chức năng này của tế bào giúp cho tế bào tăng trưởng (sinh sản): chức năng nhà máy hóa học giúp cung cấp cho tế bào năng lượng và vật liệu để sinh tổng hợp các đại phân tử để tế bào tăng kích thước; chức năng công cụ mã hóa giúp tế bào truyền lại thông tin di truyền chính xác cho hậu thế trong quá trình sinh sản. Hai chức năng này phối hợp chặt chẽ với nhau và được điều hòa nghiêm ngặt để tế bào luôn thích nghi một cách tốt nhất với môi trường bên ngoài (Fig. 1.4).



**FIGURE 1.4** The machine and coding functions of the cell. In order for a cell to reproduce itself there must be an adequate supply of energy and precursors for the synthesis of new macromolecules, the genetic instructions must be replicated such that upon division each cell receives a copy, and genes must be expressed (the processes of transcription and translation) to form the proper amounts of necessary proteins and other macromolecules that will make up the new cell.

Ngược lại, tế bào luôn giữ được cấu trúc rất trật tự trong quá trình sống. Để giữ được trật tự theo thời gian, tế bào cần liên tục tạo ra năng lượng và sử dụng một phần năng lượng đó để giữ cấu trúc tế bào. Sự tạo năng lượng là một khía cạnh quan trọng của biến dưỡng. Khía cạnh khác của biến dưỡng là các phản ứng hóa học để tổng hợp các hợp chất và các phản ứng lắp ghép để hình thành cấu trúc tế bào. Các phản ứng hóa học trong tế bào được xúc tác bởi các phân tử protein là enzyme. Phân tử enzyme có cấu trúc chuyên biệt để hoạt động chức năng. Cấu trúc của mỗi enzyme và của mỗi phân tử protein cần được mã hóa bởi một bộ thông tin gọi là gen. Bộ thông tin này được giữ trong DNA là vật liệu di truyền của tất cả tế bào. Ngoài ra, còn có hệ thống phiên mã và dịch mã để chuyển đổi thông tin chứa trong DNA thành protein. Một số loại phân tử RNA như RNA thông tin (mRNA), RNA ribosome (rRNA) và RNA vận chuyển (tRNA) có vai trò quan trọng trong quá trình này.

Kết quả của các quá trình sinh tổng hợp là sự tăng trưởng của tế bào. Để có thể tăng trưởng, sinh sản, tế bào cần phải tổng hợp hơn 1.000 phân tử protein khác nhau. Ở tế bào prokaryote, tế bào có thể chứa thông tin di truyền để tổng hợp khoảng 3.000 protein khác nhau. Các gen không được thể hiện đồng loạt và ở mức độ như nhau. Những gen được thể hiện là những gen mã hóa cho protein có ích nhất cho sự tăng trưởng hoặc tồn tại của tế bào dưới một điều kiện môi trường nhất định.

Tế bào cũng phải có khả năng sao chép trung thực thông tin di truyền của mình và chuyển một bản sao cho tế bào mới. Thỉnh thoảng có xảy ra sai sót trong quá trình sao chép thông tin di truyền và tạo ra đột biến. Thông thường đột biến là có hại và làm tế bào chết. Tuy nhiên, đột biến cũng tạo cho tế bào một cơ chế để tiếp nhận những đặc tính mới. Điều này xảy ra nếu protein mã hóa bởi gen đột biến có khả năng xúc tác một phản ứng khác hơn so với protein ban đầu. Dưới những điều kiện môi trường nhất định, tế bào đột biến này có thể có ưu thế chọn lọc cao hơn các tế bào khác (tức là có thể sinh sản nhanh hơn). Đây chính là cơ chế căn bản của chọn lọc tự nhiên theo học thuyết tiến hóa của Darwin.

### 3. Hai dạng tế bào và ba giới sinh vật

Tế bào được chia thành hai loại khác nhau về cấu trúc: (1) tế bào prokaryote, tương đối đơn giản về cấu trúc; (2) tế bào eukaryote, cấu trúc phức tạp hơn, có chứa các bào quan phân khu những hoạt động biến dưỡng chuyên biệt như nhân, ti thể, diệp lục thể... (Fig. 1.5).

Ngoài hai dạng hệ thống nêu trên, còn có sự tồn tại của virút là một hệ thống sống không có cấu trúc tế bào, nhưng có khả năng sử dụng bộ máy biến dưỡng của tế bào chủ để tự sao chép. Tuy nhiên, hai dạng cấu trúc tế bào nêu trên chưa phản ánh được một cách chính xác mối quan hệ tiến hóa giữa các hệ thống sống. Phân tích trình tự nucleotide của RNA ribosome (rRNA) đã cho thấy rằng thế giới sinh vật được chia thành ba giới (domain) trong đó có hai giới đơn bào có cấu tạo tế bào prokaryote là Giới Vi khuẩn cổ (Archaea) và Giới Vi khuẩn (Bacteria). Mặc dù vậy, hai tế bào prokaryote này không còn có quan hệ tiến hóa gần nhau hơn so với mối quan hệ của mỗi giới với Giới Tế bào nhân thật Eukarya (Fig. 1.8).

### 4. Vi sinh vật trong tự nhiên và chủng thuần trong phòng thí nghiệm

Trong tự nhiên, sự tăng trưởng của vi sinh vật chịu ảnh hưởng bởi tương tác với các quần thể vi sinh vật khác cũng như với các yếu tố vật lý, hóa học của môi trường. Việc hiểu các tương tác sinh thái trong các quần xã vi sinh vật là cực kỳ quan trọng để xác định vai trò của một nhóm vi sinh vật nhất định trong tự nhiên. Tuy nhiên, rất khó thực hiện nghiên cứu vi sinh vật trong điều kiện tự nhiên trung thực, do vậy, hầu hết các kiến thức chúng ta hiện có về vi sinh vật là do các nghiên cứu trên các chủng thuần trong phòng thí nghiệm.



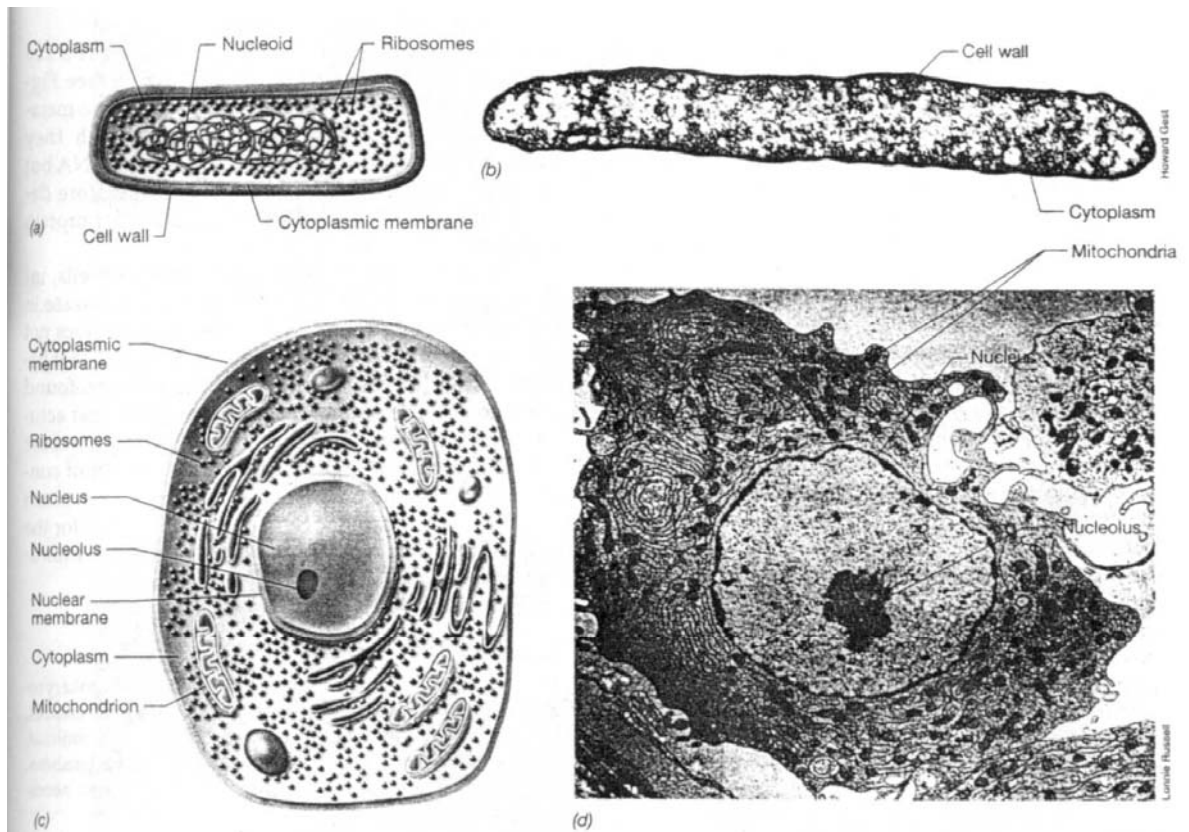


FIGURE 1.5 Internal structure of microbial cells. (a) Diagram of a prokaryote. (b) Electron micrograph of a prokaryote. The cell is about 1  $\mu\text{m}$  in diameter and the light-colored areas in the cell are DNA (the nucleoid). (c) Diagram of a eukaryote. (d) Electron micrograph of a eukaryote (animal cell). The cell is about 25  $\mu\text{m}$  in diameter.

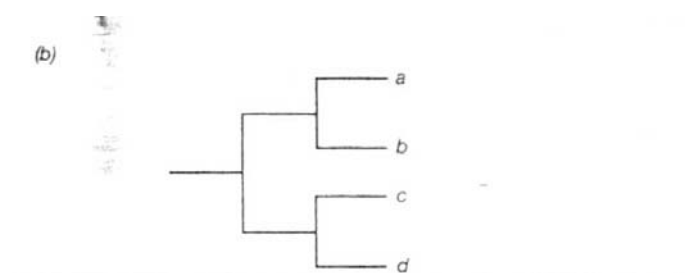
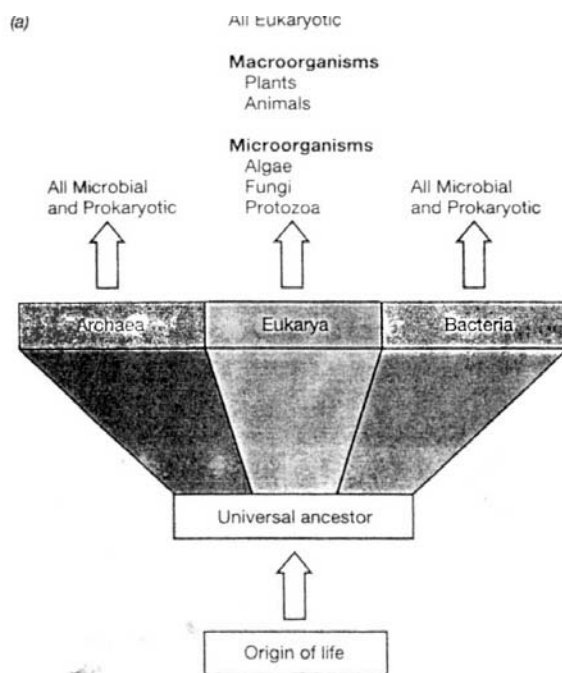


FIGURE 1.8 (a) The three domains of life. (b) A phylogenetic tree based on comparative nucleic acid sequences. In this tree organism *a* and *b* are more closely related to each other than they are to organism *c* or *d*.

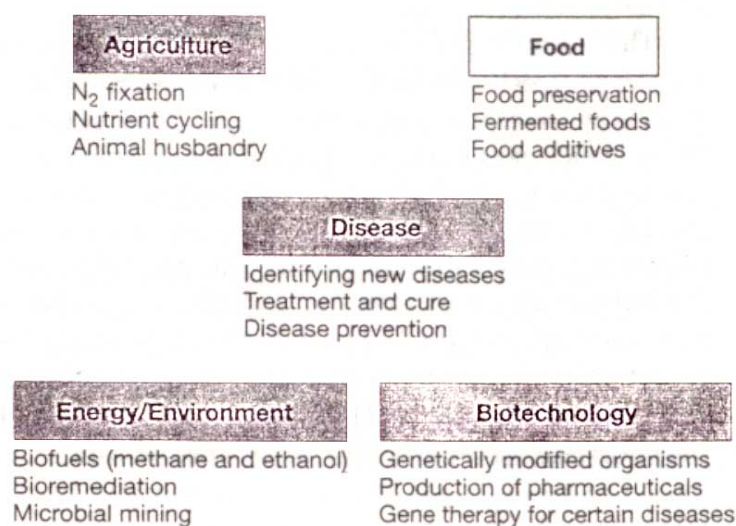
## 5. Vai trò của vi sinh vật đối với đời sống con người

Một số ít loài vi sinh vật có thể gây bệnh nguy hiểm trên con người, ví dụ như các bệnh truyền nhiễm. Tuy nhiên, những thành tựu trong nghiên cứu về khoa học vi sinh vật đã có một đóng góp rất lớn là giúp con người kiểm soát được các bệnh truyền nhiễm nguy hiểm ở các nước phát triển. Hiện nay, các bệnh này vẫn còn rất nguy hiểm ở những nước đang phát triển.

Mặc dù vậy, hầu hết các vi sinh vật là có lợi cho con người, được ứng dụng để giải quyết nhiều vấn đề trong lĩnh vực nông nghiệp, thực phẩm, năng lượng và môi trường (Fig. 1.14).

Hoạt động chức năng bình thường của sinh quyển và đất phụ thuộc vào hoạt động của vi sinh vật. Các lợi ích trực tiếp cho con người của vi sinh vật là sản xuất công nghiệp các loại kháng sinh, sản xuất thực phẩm, hóa chất, dung môi hữu cơ và sinh khối. Vi sinh vật là tác nhân tạo ra khí tự nhiên (methane), nhưng cũng là tác nhân gây nhiều ảnh hưởng tiêu cực lên ngành khai thác dầu. Trong tương lai, sinh khối của vi sinh vật, đặc biệt quan trọng là nhóm vi khuẩn quang dưỡng, có thể sẽ trở thành một nguồn năng lượng thay thế vì sinh khối được tạo từ ánh sáng mặt trời và CO<sub>2</sub> và sinh khối có thể được chuyển hóa thành methane, ethanol dùng làm nhiên liệu. Vi sinh vật cũng có vai trò quan trọng trong việc làm sạch môi trường ô nhiễm. Gần đây, vi sinh vật được sử dụng làm nhà máy để sinh tổng hợp protein từ các gen có nguồn gốc thực, động vật trong ngành công nghiệp mới, nhiều triển vọng là công nghiệp công nghệ sinh học (biotechnology industry).

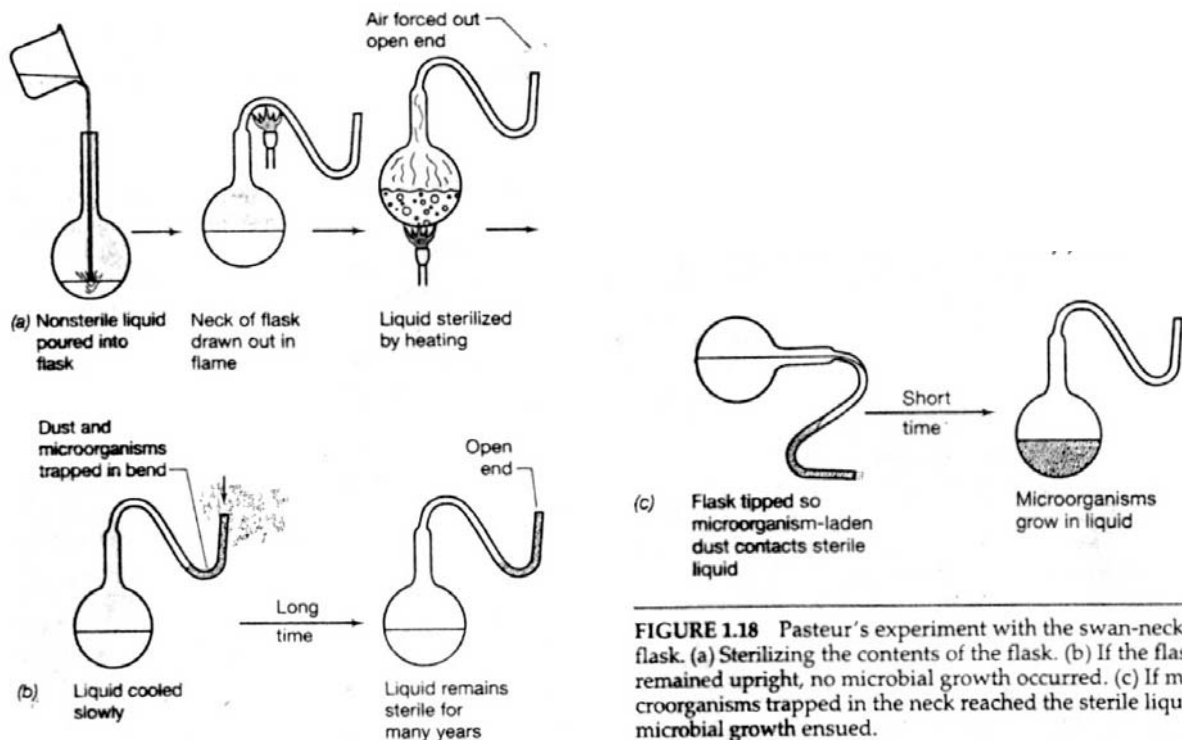
Vi sinh vật cũng có vai trò quan trọng trong nông nghiệp và trong gây hư hỏng thực phẩm (Fig. 1.14).



**FIGURE 1.14** The impact of microorganisms on human affairs. Although many people think of microorganisms in the context of infectious diseases, few microorganisms actually cause disease. Microorganisms affect many aspects of our lives in addition to playing a role as disease agents.

## 6. Lịch sử phát triển của vi sinh vật học

Vi sinh vật đã được nhà chế tạo kính hiển vi Antoni van Leeuwenhoek phát hiện từ 300 năm trước, nhưng hầu hết các thành tựu về vi sinh vật học lại diễn ra trong thế kỷ 20 bằng những công trình của hai nhà vi sinh vật học Louis Pasteur và Robert Koch. Một trong những thành tựu khoa học của Pasteur là sự bác bỏ học thuyết phát sinh ngẫu nhiên (vi sinh vật được tạo ra một cách ngẫu nhiên từ vật không sống). Điều này quan trọng để chứng minh rằng các thí nghiệm với vi sinh vật là có thể tái hiện được và không phải là hệ quả của sự phát sinh mới vi sinh vật (Fig. 1.18).

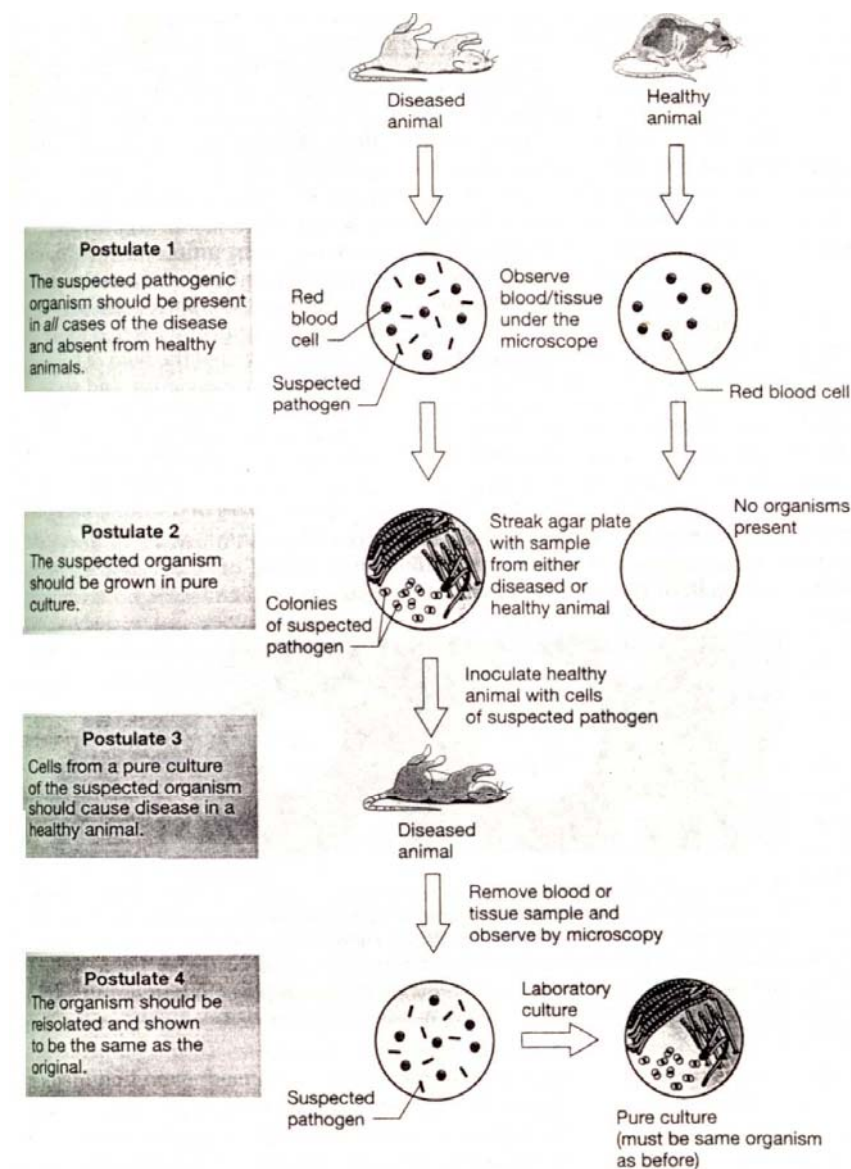


**FIGURE 1.18** Pasteur's experiment with the swan-necked flask. (a) Sterilizing the contents of the flask. (b) If the flask remained upright, no microbial growth occurred. (c) If microorganisms trapped in the neck reached the sterile liquid, microbial growth ensued.

Koch đã đề xuất tiêu chuẩn để chứng minh một bệnh nhất định được gây ra bởi một vi khuẩn nhất định gọi là qui tắc Koch (Koch's postulate). Phân lập chủng thuần là bước cần thiết để thực hiện qui tắc Koch cũng như sử dụng chuẩn thuần vẫn là công cụ cần thiết để nghiên cứu vi sinh vật gây bệnh ngày nay. Đóng góp quan trọng nhất của Koch trong vi sinh y học là các công trình chứng minh *Mycobacterium tuberculosis* là tác nhân gây bệnh lao bằng cách phân lập, nuôi cấy chủng thuần trên môi trường rắn có agar (Fig. 1.19).

Martinus Beijerinck và Sergei Winogradsky có nhiều đóng góp từ các nghiên cứu về vi sinh vật đất, nước, đã hình thành phương pháp nuôi làm giàu, hay nuôi tích lũy (enrichment culture) và là hai nhà khoa học đã hình thành nên môn học vi sinh học đại cương (general microbiology). Phương pháp nuôi tích lũy sử dụng môi trường và điều kiện nuôi cấy chuyên biệt cho phép tạo ưu thế tăng trưởng cho vi sinh vật mục tiêu và giới hạn sự tăng trưởng của các vi sinh vật không mong muốn khác, giúp cho sự phân lập hữu hiệu vi sinh vật từ môi trường tự nhiên, đặc biệt là trường hợp vi sinh vật hiện diện ở mật độ thấp.





Bảng 1 trình bày những phát minh quan trọng về vi sinh vật học từ thời van Leeuwenhoek đến nay.

Những năm gần đây, vi sinh vật học phát triển nhanh theo hai hướng cơ bản và ứng dụng và phân thành nhiều lĩnh vực nhỏ như như vi sinh vật y học và miễn dịch, vi sinh nông nghiệp, vi sinh công nghiệp, vi sinh vật học đất, vi sinh vật học nước, sinh thái học vi sinh, phân loại học vi khuẩn, sinh lý học vi sinh vật, tế bào học vi sinh vật, sinh hóa học vi sinh vật, di truyền học vi sinh vật, công nghệ sinh học.



**Bảng 1. Một số thành tựu then chốt về vi sinh vật học từ 1648 đến 1999**

<b>Năm</b>	<b>Nhà khoa học</b>	<b>Phát minh</b>
1684	Antoni van Leeuwenhoek	Phát hiện vi khuẩn
1798	Edward Jenner	Vắc xin đậu mùa
1857	Louis Pasteur	Vi sinh vật học lên men lactic
1860	Louis Pasteur	Vai trò nấm men trong lên men cồn
1864	Louis Pasteur	Đánh bại thuyết phát sinh ngẫu nhiên
1867	Robert Lister	Nguyên tắc vô trùng trong phẫu thuật
1881	Robert Koch	Nghiên cứu vi khuẩn bằng chứng thuần
1882	Robert Koch	Phát hiện nguyên nhân gây bệnh lao
1884	Robert Koch	Qui tắc Koch
1884	Christian Gram	Phương pháp nhuộm Gram
1889	Sergei Winogradski	Quan niệm về hóa dưỡng vô cơ
1889	Martinus Beijerinck	Quan niệm về virút
1890	Sergei Winogradski	Tự dưỡng của vi khuẩn hóa dưỡng vô cơ
1901	Martinus Beijerinck	Phương pháp nuôi tích lũy
1901	Karl Landsteiner	Nhóm máu người
1908	Paul Ehrlich	Thuốc hóa trị
1928	Frederick Griffith	Phát hiện biến nạp bởi pneumococcus
1929	Alexander Fleming	Phát hiện penicillin
1944	Oswald Avery, Colin Macleod, Maclyn McCarty	Giải thích phát hiện của Griffith: DNA là vật liệu di truyền
1944	Selman Waksman, Albert Schatz	Phát hiện streptomycin
1946	Edward tatum, Joshua Lederberg	Sự giao nạp ở vi khuẩn
1951	Barbara McClintock	Phát hiện transposable element
1953	James Watson, Francis Crick, Rosalind Franklin	Cấu trúc DNA
1959	Arthur Pardee, Francois Jacob, Jacques Monod	Điều hòa sự thể hiện gen bằng reprssor
1959	Rodney Porter	Cấu trúc immunoglobulin
1959	F. Macfarlane Burnet	Thuyết chọn dòng
1960	Francois Jacob, David Perrin, Carmon Sanchez, Jacques Monod	Quan niệm operon
1960	Rosalyn Yalow, Solomon Berson	Hình thành thử nghiệm miễn dịch phóng xạ (RIA)
1966	Marshall Nirenberg, H. Gobind Khorana	Phát hiện mã di truyền
1967	Thomas Brock	Phát hiện vi khuẩn tăng trưởng trong suối nóng
1969	Howard Temin, David Baltimore, Renato Dulbecco	Phân lập được <i>Thermus aquaticus</i> (nguồn tạo Taq DNA polymerase)
1970	Hamilton Smith	Tính chuyên biệt của enzyme cắt giới hạn
1975	Georges Kohler, Cesar Milstein	Kháng thể đơn dòng
1976	Susumu Tonegawa	Sự sắp xếp lại của các gen của immunoglobulin
1977	Carl Woese, George Fox	Phát hiện Archaea
1977	Fred Sanger, Steven Niklen, Alan Coulson	Phương pháp giải trình tự DNA
1981	Stanley Prusiner	Đặc trưng của các prion
1982	Karl Stetter	Phân lập prokaryote có nhiệt độ tối ưu >100°C
1983	Luc Montagnier	Phát hiện HIV, tác nhân gây AIDS
1988	Kary Mullis	Phát hiện phản ứng PCR
1995	Craig Venter, Hamilton Smith	Giải trình tự hoàn toàn bộ gen vi khuẩn
1999	The Institute for Genomic Research (TIGR)	Đã, đang giải trình tự hơn 100 bộ gen vi sinh vật