

CHƯƠNG 2

TẾ BÀO VI SINH VẬT

Chương này đề cập đến các quá trình hóa học có vai trò quan trọng trong hoạt động sống của tế bào, các nguyên tử, phân tử, đại phân tử quan trọng trong tế bào; mối quan hệ giữa cấu trúc và chức năng trong tế bào; so sánh giữa tế bào prokaryote và eukaryote.

1. Các đại phân tử sinh học

1.1. Các liên kết trong hệ thống sinh học

Tất cả các dạng sống đều có các dạng phân tử chung, trong đó nhiều phân tử không có trong các vật liệu không sống. Các phân tử sinh học cũng tuân theo các qui luật vật lý và hóa học, chứa các nguyên tử của sáu nguyên tố chính: hydrogen, carbon, nitrogen, oxygen, phosphorus (lân) và sulfur (lưu huỳnh) trong tổng số 92 nguyên tố hiện diện trong quả đất. Trong sáu nguyên tố này, carbon có vai trò quan trọng nhất, có khả năng tạo liên kết khác nhau với các nguyên tố khác để hình thành các phân tử phức tạp, đa dạng. Mỗi nguyên tử có một nhân mang các proton có điện tích dương và các neutron không mang điện; bên ngoài nhân là các điện tử mang điện tích âm di chuyển trên các vân đạo chung quanh nhân. Sự chia sẻ các điện tử giữa các nguyên tử khác nhau tạo thành liên kết hóa học. Nếu điện tử được chia sẻ đều giữa hai nguyên tử thì hình thành liên kết cộng hóa trị (covalent bond) bền vững. Trong tế bào, liên kết cộng hóa trị chỉ được hình thành hoặc dễ gãy thông qua những phản ứng chuyên biệt được xúc tác bởi enzyme.

Ngoài liên kết cộng hóa trị, trong các phân tử và đại phân tử sinh học còn có những liên kết khác có vai trò quan trọng quyết định hình dạng của các đại phân tử hoặc sự gắn của đại phân tử vào các hợp chất khác. Các liên kết quan trọng nhất là:

- Liên kết hydrogen (hydrogen bond): được hình thành do sự thu hút tự nhiên giữa các nguyên tử mang điện tích dương nhẹ với nguyên tử mang điện tích âm nhẹ trong phân tử. Một liên kết hydrogen riêng lẻ là rất yếu so với liên kết cộng hóa trị, nhưng sự hình thành một số lượng lớn các liên kết hydrogen bên trong một phân tử hoặc giữa các phân tử thì chúng có lực rất mạnh và có ảnh hưởng rất lớn trên các phân tử. Một số dạng liên kết hydrogen được trình bày trên Hình 2.2.

- Tương tác kỵ nước (hydrophobic interaction): đây là dạng tương tác giữa các phần kỵ nước (bị nước đẩy ra) dẫn đến sự liên kết, kết tụ giữa các phần kỵ nước này. Tương tác kỵ nước có thể xảy ra bên trong phân tử cũng như giữa các phân tử khác nhau.

- Lực van der Waals: là một tương tác yếu giữa các đại phân tử sinh học. Lực này hình thành khi hai nguyên tử cách nhau một khoảng 3-4Å do sự bất đối xứng điện quay khi các điện tử chuyển động. Khi khoảng cách giữa hai nguyên tử nhỏ hơn 3-4Å chúng sẽ đẩy nhau. Lực van der Waals có vai trò quan trọng trong sự gắn của cơ chất vào enzyme, trong tương tác giữa protein và nucleic acid.

Trong các hợp chất hữu cơ khác nhau trong hệ thống sống, các nguyên tố khác được kết hợp với nguyên tố C tạo thành những nhóm chức năng (functional group) có

các đặc tính hóa học và vai trò sinh học khác nhau trong tế bào. Bảng 2.1 liệt kê một số nhóm chức năng quan trọng trong hệ thống sinh học.

TABLE 2.1 Functional groups of biochemical importance		
Chemical species	Structure	Biological importance
Carboxylic acid	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ -\text{C}-\text{OH} \end{array}$	Organic, amino, and fatty acids; lipids, proteins
Aldehyde	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ -\text{C}-\text{H} \end{array}$	Functional group of reducing sugars such as glucose; polysaccharides
Alcohol	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ -\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{H} \end{array}$	Lipids; carbohydrates
Keto	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ -\text{C}- \end{array}$	Pyruvate, citric acid cycle intermediates
Ester	$\begin{array}{c} \text{H} \quad \text{O} \\ \quad \\ -\text{C}-\text{O}-\text{C}- \\ \\ \text{H} \end{array}$	Lipids of Bacteria and Eukarya, amino acid attachment to tRNAs
Phosphate ester	$\begin{array}{c} \text{O}^- \\ \\ -\text{O}-\text{P}-\text{O}-\text{C}- \\ \quad \\ \text{O} \quad \end{array}$	Nucleic acids, DNA and RNA
Thioester	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{R}_1-\text{C} \sim \text{S}-\text{R}_2 \end{array}$	Energy metabolism, biosynthesis of fatty acids
Ether	$\begin{array}{c} \text{H} \quad \text{H} \\ \quad \\ -\text{C}-\text{O}-\text{C}- \\ \quad \\ \text{H} \quad \text{H} \end{array}$	Lipids of Archaea; sphingolipids
Acid anhydride	$\begin{array}{c} \text{O} \quad \text{O}^- \\ \quad \\ \text{R}-\text{C} \sim \text{O}-\text{P}=\text{O} \\ \\ \text{O} \end{array}$	Energy metabolism, for example, acetyl phosphate
Phosphoanhydride	$\begin{array}{c} \text{O}^- \quad \text{O}^- \\ \quad \\ -\text{O}-\text{P} \sim \text{O}-\text{P}-\text{O}- \\ \quad \\ \text{O} \quad \text{O} \end{array}$	Energy metabolism, for example, ATP

1.2. Nước là dung môi của hệ thống sống

Bản chất của sự sống trên hành tinh không những được xác định bởi hóa học của nguyên tử carbon mà còn phụ thuộc và đặc tính của nước. Nước chiếm tỷ trọng lớn nhất trong tế bào (70 – 90%) và các phản ứng sinh hóa trong tế bào không xảy ra khi không có đủ nước trong tế bào. Phân tử nước có tính phân cực nhẹ, tức là điện tích (+) hoặc (-) có khuynh hướng tách nhau ra trong phân tử. Tính phân cực này dẫn đến hệ quả sau:

- Các phân tử phân cực quan trọng trong tế bào như protein, nucleic acid, chất dinh dưỡng, các đơn phân để tạo thành các đại phân tử... tan được trong nước.

- Các phân tử không phân cực như lipid không tan được trong nước và kết tụ lại với nhau. Sự kết tụ của lipid dẫn đến hình thành những hàng rào như màng, ngăn cản sự di chuyển của các phân tử phân cực vào hoặc ra khỏi tế bào.

1.3. Các đại phân tử sinh học của hệ thống sống

Các đại phân tử sinh học có vai trò tạo thành cấu trúc của tế bào, xúc tác các phản ứng biến dưỡng và chứa thông tin di truyền để sao chép thành tế bào con. Có bốn loại đại phân tử sinh học quan trọng là protein, nucleic acid, polysaccharide và lipid. Trong số này, protein chiếm tỷ lệ rất cao (55% trọng lượng khô của tế bào *E. coli*) do có nhiều vai trò như vai trò cấu trúc, enzyme, bảo vệ, vận chuyển... Thành phần quan trọng về số lượng sau protein là RNA (20,5%), do RNA tham gia vào thành phần của ribosome hiện diện rất nhiều trong tế bào, cũng như có vai trò thông tin, vận chuyển... trong tổng hợp protein. Ngược lại, DNA chiếm tỷ lệ không lớn trong tế bào (3,1%) nhưng có vai trò cực kỳ quan trọng là chứa thông tin di truyền để tế bào tăng trưởng và tạo tế bào mới (Bảng 2.2).

TABLE 2.2 Chemical composition of a prokaryotic cell^a

Molecule	Percent of dry weight ^b	Molecules per cell	Different kinds
Total macromolecules	96	24,610,000	~2500
Protein	55	2,350,000	~1850
Polysaccharide	5	4,300	2 ^c
Lipid	9.1	22,000,000	4 ^d
Lipopolysaccharide	3.4	1,430,000	1
DNA	3.1	2.1	1
RNA	20.5	255,500	~660
Total monomers	3.0		~350
Amino acids and precursors	0.5		~100
Sugars and precursors	2		~50
Nucleotides and precursors	0.5		~200
Inorganic ions	1		18
Total	100%		

^a Data from Neidhardt, F. C., et al. (eds.), 1996. *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*—Cellular and Molecular Biology, 2nd edition. American Society for Microbiology, Washington, DC.

^b Dry weight of an actively growing cell of *E. coli* $\approx 2.8 \times 10^{-13}$ g; total weight (70% water) = 9.5×10^{-13} g.

^c Assuming peptidoglycan and glycogen to be the major polysaccharides present.

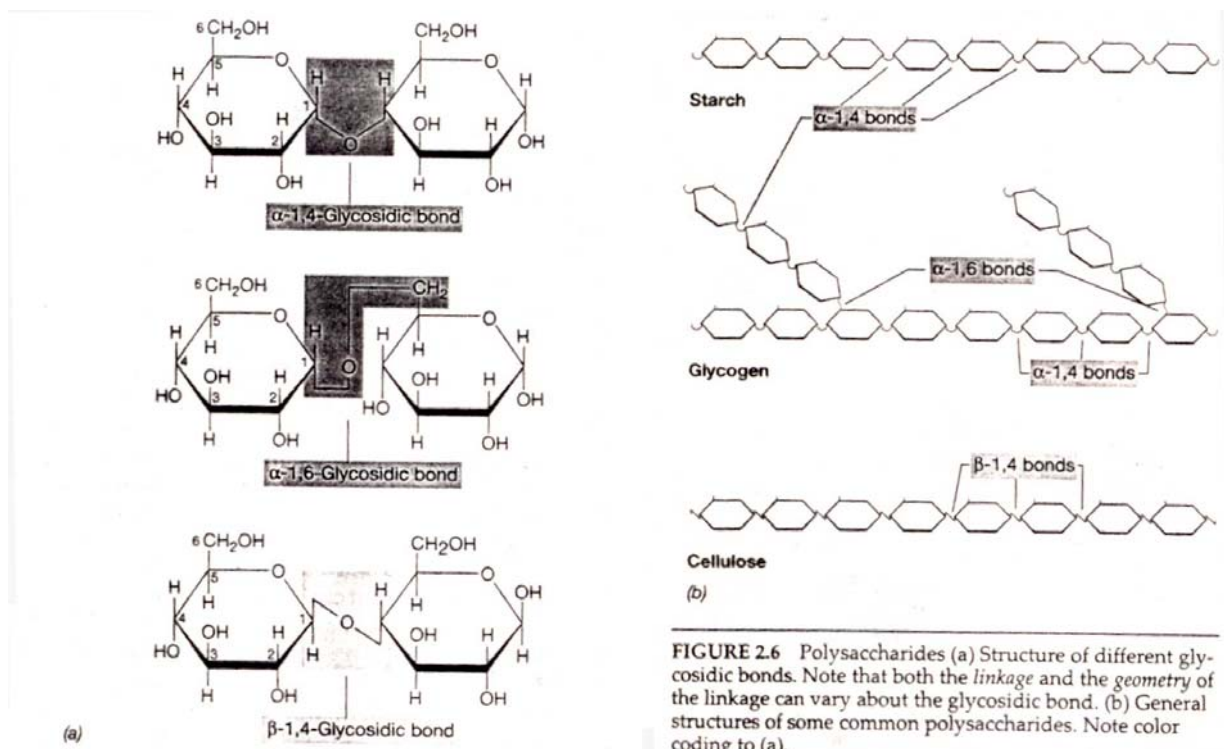
^d There are several classes of phospholipids, each of which exists in many kinds because of variability in fatty acid composition between species and because of different growth conditions.

Mỗi đại phân tử sinh học là một polymer (đa phân) được tạo thành bởi các đơn phân (monomer) hoặc các đơn vị cấu thành và được gắn với nhau bằng liên kết cộng hóa trị. Các đặc trưng của loại đơn phân hoặc đơn vị cấu thành này có ảnh hưởng rất quan trọng đến đặc trưng cấu trúc và chức năng của mỗi đại phân tử. Trong nucleic acid và protein, trình tự của các đơn phân này thay đổi theo mỗi phân tử và chính trình tự này quyết định hoạt tính sinh học của các đại phân tử tương ứng trong tế bào.

1.4. Polysaccharide

Polysaccharide là phân tử đa phân được tạo thành từ hàng trăm đến hàng ngàn đơn vị đường phân tử lượng nhỏ (carbohydrate, CHO). Các carbohydrate chứa 4 – 7 nguyên tử carbon là dạng phổ biến nhất trong tế bào. Các loại phân tử carbohydrate khác nhau có thể được tạo thành từ một sườn cấu trúc chung bằng cách thay các nhóm thế và bằng cách thay đổi vị trí không gian của nhóm OH- trong mạch carbon, tạo ra các đồng phân lập thể (stereoisomer).

Các đơn phân đường trong polysaccharide được nối với nhau bằng liên kết glycoside (glycosidic bond). Liên kết glycoside tồn tại ở hai hướng liên kết khác nhau là liên kết α và liên kết β (Fig. 2.6). Liên kết α -1,4- giữa hai phân tử glucose là dạng dự trữ năng lượng và dự trữ carbon quan trọng ở vi khuẩn, thực vật, động vật (trong tinh bột, glycogen). Liên kết β -1,4- giữa glucose là dạng cấu thành thành phần vách tế bào (cellulose). Các phân tử polysaccharide khác nhau có thể được tạo thành bằng cách thay đổi hướng của các liên kết glycoside, thay đổi loại carbohydrate đơn phân, phối hợp hai hoặc nhiều đơn phân carbohydrate khác nhau trong một phân tử polysaccharide. Các polysaccharide còn có thể liên kết với các đại phân tử sinh học khác như protein, lipid tạo thành polysaccharide phức như glycoprotein, glycolipid, có vai trò tương tác với các thành phần của môi trường, ví dụ như các thụ thể (receptor) trên màng. Các polysaccharide quan trọng trong tế bào là cellulose, glycogen, tinh bột và peptidoglycan.



1.5. Lipid

Lipid là thành phần quan trọng của màng. Lipid có chứa phần ưa nước (phân cực) và phần kỵ nước (không phân cực) nên kết tụ lại thành màng với phần ưa nước hướng ra môi trường nước bên ngoài và bên trong tế bào, còn phần kỵ nước hướng vào bên trong màng, tránh môi trường nước. Bản chất hóa học của lipid thích hợp cho vai trò tạo màng chắn ngăn cản sự thẩm thấu của các phân tử phân cực qua màng. Lipid có thể ở dạng đơn giản hoặc phức tạp. Dạng lipid đơn giản được gọi là triglyceride trong đó ba nhóm acid béo gắn với một phân tử glycerol. Dạng lipid phức tạp là lipid đơn giản có chứa các nguyên tố khác như P, N, S hoặc chứa các nhóm ưa nước như đường, ethanolamine, serine, choline. Lipid chứa nhóm phosphate được gọi là phospholipid là một nhóm lipid phức tạp rất quan trọng trong cấu tạo của màng.

1.6. Nucleic acid

Trong tế bào có hai dạng nucleic acid chính là DNA và RNA. Cả hai phân tử này đều được tạo thành từ các đơn phân nucleotide. Một số nucleotide còn có vai trò trong sự biến dưỡng năng lượng như ATP (adenosine triphosphate). Phân tử nucleotide gồm có một đường, phosphate và một base nitric. Hai nucleic acid là DNA và RNA khác nhau ở thành phần đường (deoxyribose và ribose) trong nucleotide. Nucleic acid được tạo thành nhờ liên kết cộng hóa trị giữa các nhóm đường và phosphate của hai nucleotide kề nhau, tạo thành khung đường phosphate. Tính chất độc đáo của nucleic acid được tạo ra bởi trình tự các base trong bộ khung này. Mỗi loại nucleic acid có bốn loại base, trong đó ba loại base adenine (A), guanine (G) và cytosine (C) hiện diện trong cả hai loại nucleic acid. Base thứ tư ở DNA là thymine (T) và ở RNA là uracil (U).

Phân tử DNA gồm hai sợi khung đường – phosphate được giữ gắn với nhau bằng liên kết hydrogen giữa các base của hai sợi. Có sự ưu tiên trong sự bắt cặp base để tạo liên kết hydrogen. Về mặt cấu trúc, bốn loại base thuộc hai nhóm khác nhau là purine và pyrimidine. Luôn có sự bắt cặp của một purine ở một sợi với một pyrimidine ở sợi kia, cụ thể là A với T và G với C. Do vậy, hai sợi của phân tử DNA có trình tự bổ sung cho nhau. Nếu biết trình tự base của sợi này thì sẽ suy ra được trình tự base của sợi kia dựa vào qui luật bắt cặp bổ sung. Tính chất này giúp tế bào một biện pháp thuận lợi để sao chép chính xác trình tự DNA chứa thông tin di truyền.

RNA khác với DNA ở chỗ chỉ có mạch đơn (sợi đơn). Ngoài ra, phân tử RNA chỉ dài tối đa vài ngàn nucleotide trong khi DNA có thể dài đến hàng triệu nucleotide. Có ba loại RNA phổ biến là RNA thông tin (mRNA), RNA vận chuyển (tRNA) và RNA ribosome (rRNA), đều tham gia và có vai trò quan trọng trong việc chuyển trình tự nucleotide của DNA thành trình tự amino acid trong phân tử protein.

1.7. Protein

Protein là phân tử đa phân được cấu tạo bởi chuỗi các amino acid nối với nhau bằng liên kết peptide. Liên kết này được tạo thành giữa nhóm amine của amino acid này với nhóm carboxylic acid của amino acid kia. Hai mươi amino acid khác nhau về tính chất hóa học của các nhánh bên trong phân tử. Các đặc tính kỵ nước và ưa nước của các vùng trên phân tử protein được quyết định bởi đặc tính của các amino acid trong vùng

tương ứng. Các đặc tính rất đa dạng của amino acid cho phép tạo thành một số lượng không hạn chế các protein khác nhau bằng cách thay đổi trình tự amino acid.

Phân tử protein không tồn tại ở dạng polymer mạch thẳng mà uốn khúc bằng nhiều kiểu khác nhau. Các nhà sinh hóa học phân biệt bốn cấp độ cấu trúc protein như sau:

- Cấu trúc bậc một (primary structure) là trình tự các amino acid.
- Cấu trúc bậc hai (secondary structure) là kết quả do sự hình thành các vòng xoắn (helix) hoặc các phiến (sheet) trong sợi polypeptide do liên kết hydrogen giữa các nguyên tử (Fig. 2.15).
- Cấu trúc bậc ba (tertiary structure) là cấu trúc uốn khúc nhiều hơn do các liên kết không cộng hóa trị hoặc cộng hóa trị (liên kết –SH).
- Cấu trúc bậc bốn (quaternary structure) là sự kết hợp của nhiều phân tử polypeptide thành một phân tử protein có hoạt tính.

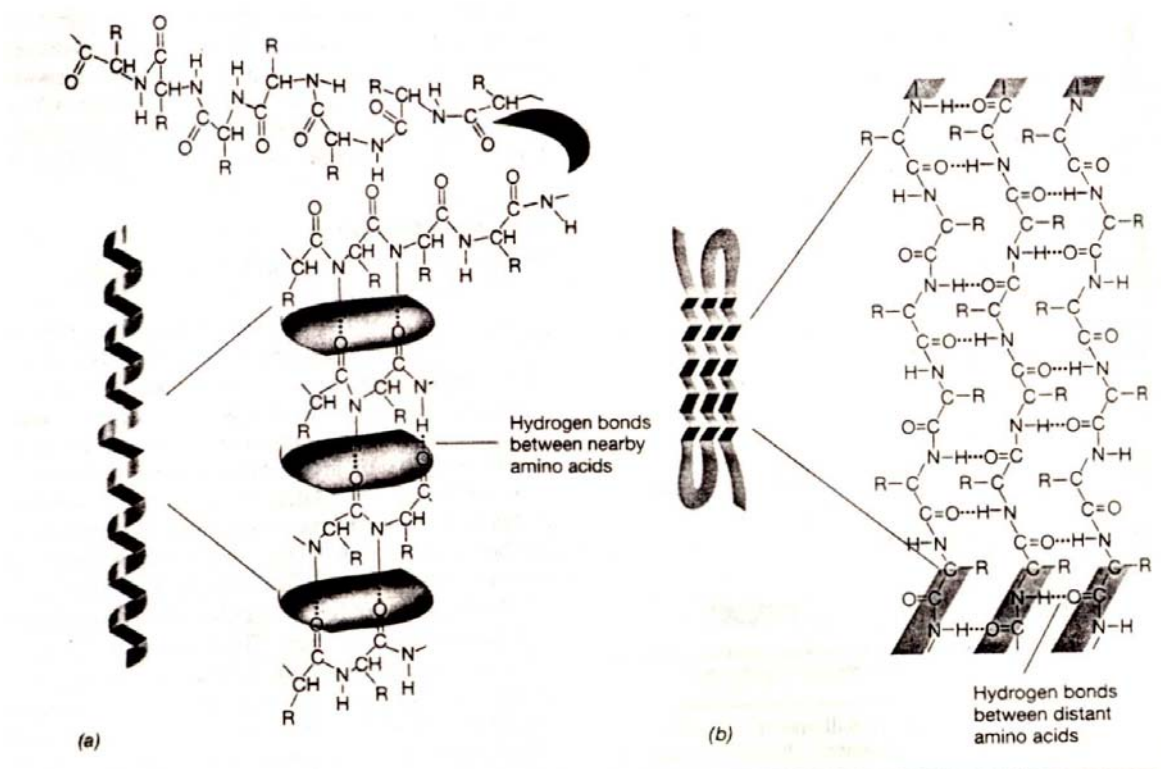


FIGURE 2.15 Secondary structure of polypeptides. (a) α -Helix secondary structure. Note that hydrogen bonding does not involve the R groups but instead occurs between atoms in the peptide bonds. (b) β -Sheet secondary structure.

Đặc tính uốn khúc này là rất cần thiết để tạo cho phân tử protein một hình dạng không gain đặc trưng tạo điều kiện cho các phân tử khác gắn vào bằng liên kết không cộng hóa trị. Sự uốn khúc này bị mất đi khi protein bị biến tính (denaturation) bởi nhiệt độ, pH, hoặc bởi một số hóa chất, kim loại. Khi đó phân tử này mất hoạt tính xúc tác hoặc chức năng cấu trúc (Fig. 2.18).

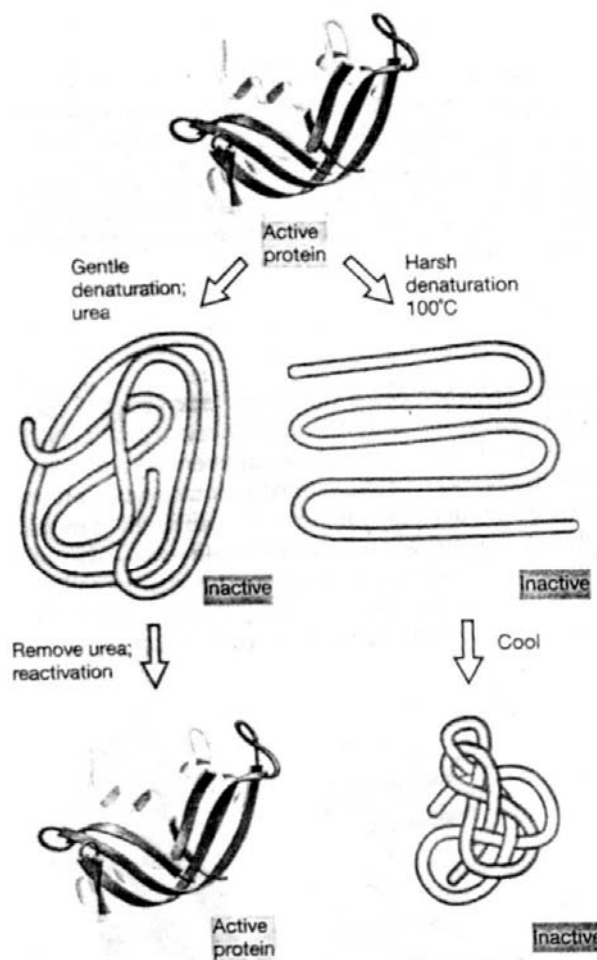


FIGURE 2.18 Denaturation of a protein using ribonuclease (whose structure was discussed in Figure 2.16b) as an example. Note how harsh denaturation generally yields a permanently destroyed molecule from the standpoint of biological function because of improper folding.

Khi một phân tử chứa nguyên tử carbon có bốn nhóm thế khác nhau thì phân tử này có thể tạo thành các đồng phân lập thể (stereoisomer hay enantiomer). Các đồng phân này có công thức cấu tạo giống nhau nhưng đồng phân này là ảnh qua gương của đồng phân kia (tương tự như bàn tay trái là ảnh qua gương của bàn tay phải). Các đồng phân này ở đường và amino acid được đặt tên là D- và L-. Đồng phân D- của đường chiếm ưu thế trong hệ thống sống. Trong khi đó, đồng phân L- chiếm ưu thế ở amino acid trong tế bào.

2. Sinh học tế bào vi sinh vật

2.1. Kính hiển vi quang học

Tế bào vi sinh vật có kích thước quá nhỏ không thể thấy bằng mắt thường. Do vậy, muốn nghiên cứu đặc điểm hình thái của vi sinh vật, cần sử dụng các dụng cụ phóng đại là kính hiển vi. Kính hiển quang học là dụng cụ thường được dùng để nghiên

cứu hình thái tế bào. Nhiều kỹ thuật khác nhau của kính hiển vi quang học: nền sáng (bright-field), đối pha (phase contrast), nền tối (dark-field), huỳnh quang (fluorescence) đã được nghiên cứu để đáp ứng những yêu cầu quan sát chuyên biệt.

- Kính hiển vi nền sáng dựa vào sự khác nhau ở độ tương phản giữa tế bào và môi trường xung quanh. Các thuốc nhuộm được sử dụng để làm nổi bật và tăng độ tương phản của các cấu trúc tế bào chuyên biệt. Các thuốc nhuộm mang điện dương như xanh methylene (methylene blue), tím kết tinh (crystal violet), safranin thường được sử dụng vì chúng có khả năng gắn chặt vào các thành phần tích điện âm của bề mặt tế bào. Kỹ thuật nhuộm quan trọng nhất là nhuộm Gram, cho phép phân biệt tế bào và vi sinh vật dựa trên cấu trúc vách tế bào; theo đó, vi khuẩn được chia thành hai nhóm: Gram âm và Gram dương. Một nhược điểm của phương pháp nhuộm là thường làm chết tế bào và có thể làm biến dạng tế bào.

- Kính hiển vi đối pha được trang bị bộ phận đặc biệt ở vật kính có tác dụng làm tăng độ phân giải của kính hiển vi mà không cần nhuộm.

- Kính hiển vi nền tối được thiết kế sao cho ánh sáng đến mẫu từ phía bên của tiêu bản, do vậy mẫu vật được thấy trên một nền tối. Kỹ thuật này cho phép làm tăng cao độ phân giải đối với mẫu không quan sát được bởi kỹ thuật nền sáng và kỹ thuật đối pha, đặc biệt được dùng để quan sát sự di động của tế bào vi sinh vật.

- Kính hiển vi huỳnh quang được dùng để quan sát vật thể phát huỳnh quang. Vật thể này có thể là thành phần tự phát huỳnh quang (autofluorescence) của tế bào (ví dụ như diệp lục tố) hoặc là thành phần hay toàn bộ tế bào được nhuộm bằng phẩm nhuộm phát huỳnh quang. Kính hiển vi huỳnh quang thường được dùng trong chẩn đoán bệnh và trong sinh thái học vi sinh vật.

Mặc dù nhiều cải tiến giúp tăng độ phân giải của kính hiển vi quang học nhưng các loại kính này có giới hạn độ phân giải ở mức $0,2\mu\text{m}$. Các cấu trúc nhỏ, tinh vi hơn của tế bào có thể thấy được nhờ kính hiển vi điện tử.

2.2. Tổng quan về cấu trúc tế bào và ý nghĩa của kích thước nhỏ

Tế bào prokaryote của vi khuẩn và vi khuẩn cổ chứa một số cấu trúc để thực hiện các chức năng khác nhau. Các cấu trúc quan trọng nhất của tế bào prokaryote là màng tế bào chất (cytoplasmic membrane), ribosome và bộ gen (genome). Ribosome là thành phần hiện diện với số lượng lớn trong tế bào (10.000 ribosome/tế bào). Bộ gen tồn tại ở dạng một phân tử DNA ở dạng kết tụ gọi là thể nhân (nucleoid) khi nhìn dưới kính hiển vi điện tử.

Ngoài các thành phần căn bản nêu trên, tế bào còn có vách tế bào (cell wall) để bảo vệ tế bào đối với áp suất thẩm thấu. Trong một số trường hợp, tế bào prokaryote còn tạo các thể vùi (inclusion) để chứa các chất dự trữ. Nhiều vi khuẩn có thể chuyển động nhờ các cấu trúc gọi là tiên mao (flagella).

Về hình thái, vi khuẩn có thể có dạng hình cầu, hình que và hình cong hoặc xoắn. Nhiều vi khuẩn hình dạng cụm liên tế bào, không tách nhau sau khi phân chia.

Khác với tế bào prokaryote, tế bào eukaryote to và phức tạp hơn nhiều. Ngoài những thành phần căn bản như tế bào prokaryote, tế bào có cấu trúc nhân (nucleus) nằm bên trong màng nhân và bộ gen được tổ chức thành những phân tử DNA rõ rệt gọi là

nhiễm sắc thể (chromosome). Tế bào eukaryote còn chứa các bào quan quan trọng khác trong đó có ti thể (mitochondria) và diệp lục thể (chloroplast).

Kích thước nhỏ của vi sinh vật mang một số ý nghĩa quan trọng. Kích thước vi khuẩn thay đổi trong khoảng từ 0,1 – 0,2µm đến 50µm đường kính. Tỷ lệ bề mặt so với dung tích tế bào là đại lượng cho biết có bao nhiêu diện tích màng phục vụ cho sự cung cấp chất dinh dưỡng cho tế bào trong một đơn vị dung tích tế bào chất vì các chất dinh dưỡng cần cho các phản ứng biến dưỡng trong tế bào chất cần được vận chuyển xuyên qua màng. Khi kích thước tế bào tăng, dung tích tăng nhanh hơn so với diện tích bề mặt. Ở tế bào kích thước nhỏ, tỷ lệ giữa bề mặt với dung tích tế bào sẽ lớn hơn nhiều so với tế bào kích thước lớn. Điều này tạo điều kiện cho tế bào trao đổi chất với môi trường bên ngoài nhanh chóng hơn và cho phép tế bào tăng trưởng nhanh hơn tế bào kích thước lớn.

2.3. Cấu trúc màng tế bào chất

Màng tế bào chất là một hàng rào chọn lọc ngăn cách tế bào chất với môi trường bên ngoài. Tế bào được tổ chức rất trật tự chặt chẽ. Để giữ được trật tự như vậy, tế bào cần kiểm soát được vật chất đi vào và đi ra khỏi tế bào. Sự kiểm soát này được thực hiện chủ yếu bởi màng tế bào chất, trong đó lớp phospholipid kép có vai trò ngăn cản sự qua lại không kiểm soát của vật chất. Nhóm glycerol ưa nước của lipid được sắp xếp ở mặt ngoài của màng trong khi các acid béo kỵ nước tụ tập bên trong màng. Lớp kỵ nước này ngăn cản sự chuyển dịch qua màng của các phân tử phân cực, tích điện tan trong nước. Các phân tử này chỉ được vận chuyển qua màng thông qua các protein xuyên qua màng (transmembrane protein). Tế bào có khả năng điều hòa thành phần và hoạt động của các protein vận chuyển này để kiểm soát sự di chuyển của phân tử vào và ra khỏi tế bào (Fig. 3.18).

Thành phần lipid trong màng thay đổi ở các giới vi sinh vật. Ở giới vi khuẩn Bacteria và giới nhân thật Eukarya, liên kết giữa glycerol và mạch kỵ nước là liên kết ester. Ở giới vi khuẩn cổ Archaea, liên kết này là liên kết ether và mạch kỵ nước không là acid béo mà là mạch trùng ngưng của các phân tử isoprene phân nhánh.

2.4. Chức năng của màng tế bào chất

Màng tế bào chất có chức năng là hàng rào ngăn cản sự khuếch tán của các thành phần tế bào chất vào và ra khỏi tế bào; màng này là nơi khu trú của nhiều protein có chức năng là enzyme, vận chuyển; màng là thành phần tham gia vào việc lưu trữ năng lượng cho tế bào.

Các protein ở màng tế bào chất có vai trò trong các hoạt tính biến dưỡng phụ thuộc màng. Mặt ngoài của màng có vai trò trong sự vận chuyển chất dinh dưỡng, còn mặt trong của tế bào có vai trò trong sự truyền điện tử. Các protein được chôn trong màng lipid cần chứa vùng kỵ nước để gắn vào được vào màng.

Nhiều protein màng có vai trò vận chuyển các hợp chất chuyên biệt bằng cách gắn vào cơ chất và giúp cơ chất xuyên qua được lớp kỵ nước bên trong màng. Các protein này có tên gọi là protein vận chuyển ở màng (membrane transport protein). Người ta phân biệt các protein này thành các nhóm: protein vận chuyển đơn một chiều (uniporter), protein vận chuyển kép một chiều (symporter) và protein vận chuyển kép

đối chiều (antiporter). Uniporter có vai trò vận chuyển cơ chất từ phía này sang phía kia của màng. Symporter và antiporter vận chuyển cơ chất và một phân tử khác qua màng. Symporter vận chuyển cả hai phân tử theo cùng một chiều, trong khi đó, antiporter vận chuyển một cơ chất vào và một cơ chất khác ra khỏi tế bào (Fig. 3.25, 3.26).

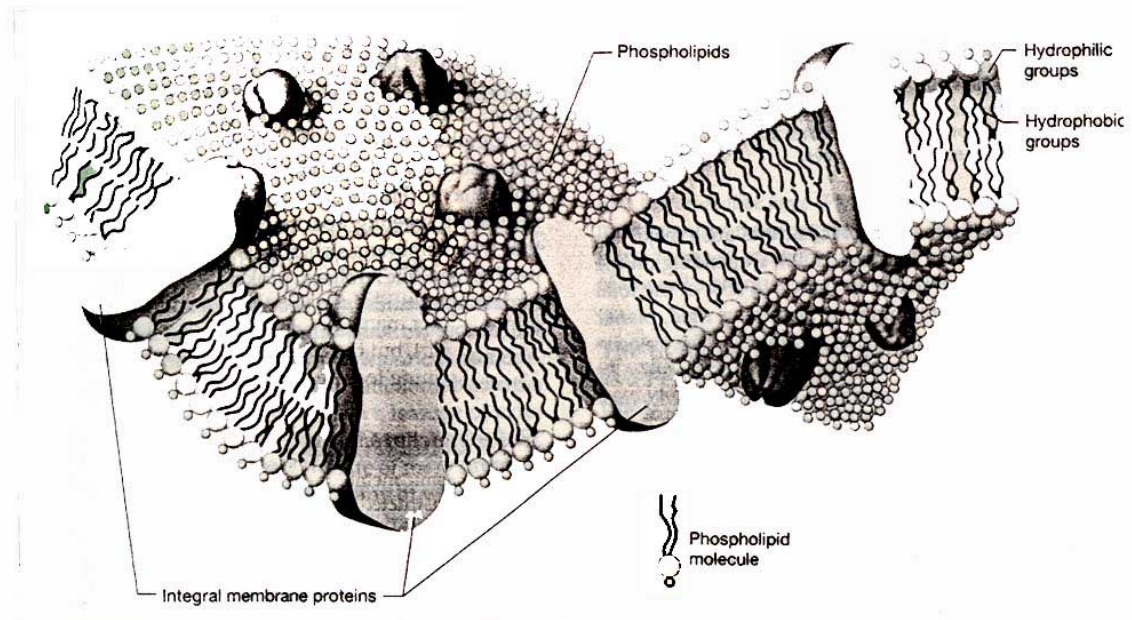


FIGURE 3.18 Diagram of the structure of the cytoplasmic membrane. The matrix of the unit membrane is composed of phospholipids, with the hydrophobic groups directed inward and the hydrophilic groups toward the outside, where they associate with water. Embedded in the matrix are proteins that have considerable hydrophobic character in the region that traverses the fatty acid bilayer. Hydrophilic proteins and other charged substances, such as metal ions, may be attached to the hydrophilic surfaces. Although there are some chemical differences, the overall structure of the cytoplasmic membrane shown is similar in both prokaryotes and eukaryotes (but see an exception to the bilayer design in Figure 3.21).

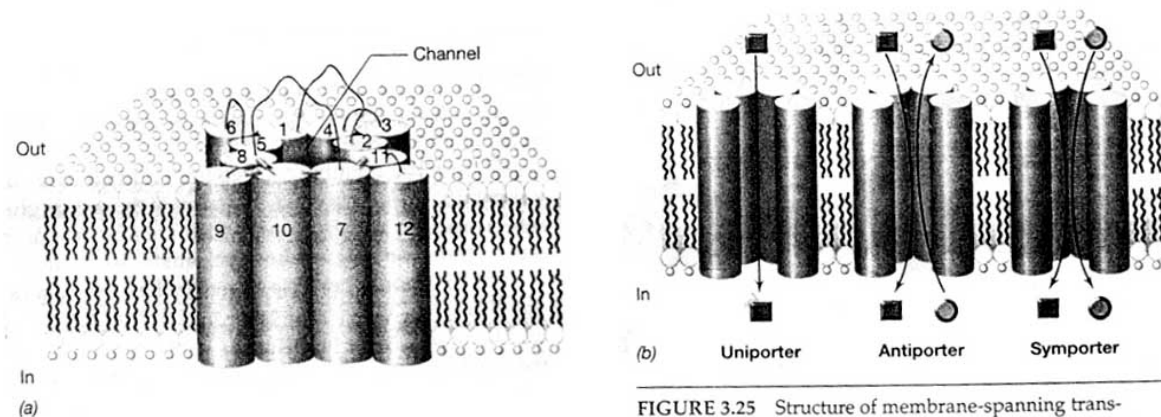


FIGURE 3.25 Structure of membrane-spanning transporters and types of transport events. (a) In prokaryotes, membrane-spanning transport proteins typically contain 12 alpha helices (shown as connected barrels here) that form a channel through the membrane. (b) The three transport events that can occur; the molecule transported into the cell is shown in red. For antiporters and symporters the cotransported molecule is shown in yellow.

Khi nồng độ chất dinh dưỡng trong môi trường thấp, các hệ thống vận chuyển này giúp tế bào cô đặc nồng độ chất dinh dưỡng bên trong tế bào. Quá trình này cần năng lượng. Protein vận chuyển có đặc điểm giống với enzyme ở chỗ một protein nhất định chỉ gắn được vào một phân tử chuyên biệt hoặc một nhóm các phân tử có cấu trúc tương tự nhau. Ionophore là những hợp chất có tác dụng phá vỡ tính thấm chọn lọc của màng.

Sự khuếch tán hỗ trợ (facilitated diffusion) là dạng khuếch tán với sự giúp đỡ của một chất mang nhưng không cần năng lượng.

Vật chất được vận chuyển có thể giữ nguyên cấu hình (sự vận chuyển tích cực) hoặc có thể bị biến đổi hóa học (hoán vị nhóm, group translocation). Hệ thống phosphotransferase là một ví dụ điển hình của sự hoán vị nhóm. Đường được phosphoryl hóa bằng nhóm phosphate của phosphoenol pyruvate trong khi vận chuyển. Do liên kết phosphate chứa năng lượng cao nên quá trình này giải phóng năng lượng.

Trong vận chuyển tích cực, có sự tham gia của một bơm cần năng lượng và cơ chất được vận chuyển qua màng ở dạng không thay đổi. Năng lượng cần cho sự vận chuyển này có nguồn gốc từ ánh sáng, từ sự phân hủy chất hữu cơ hoặc vô cơ giúp hình thành một điện thế màng là một gradient proton H^+ xuyên qua màng. Khi cơ chất được vận chuyển bởi một protein là vật mang chuyên biệt thì proton cũng di chuyển qua màng vào bên trong tế bào và làm giảm điện thế màng. Điện thế màng và gradient proton giúp cho sự vận chuyển chất dinh dưỡng vào bên trong tế bào.

Sự liên kết gradient proton hay động lực proton (proton motive force) và các protein vận chuyển của tế bào, cho phép các protein vận chuyển bơm chất dinh dưỡng vào bên trong tế bào sử dụng năng lượng của gradient proton này mà không cần ATP.

Khi gradient proton hình thành, các cation như K^+ có thể được vận chuyển vào bên trong tế bào bằng unipoter vì bên trong tế bào tích điện âm. Các anion sẽ được vận chuyển vào tế bào chung với proton bởi symporter. Hai trường hợp này làm giảm điện thế màng.

Na^+ thừa bên trong tế bào được bơm ra ngoài bằng antiporter thay bằng proton từ bên ngoài vào nên giữ nguyên điện thế màng.

Các phân tử không tích điện như đường, amino acid được vận chuyển vào tế bào bằng symporter, một phân tử cơ chất được vận chuyển cùng lúc với một hay vài proton.

Trường hợp vận chuyển tích cực nhưng không liên kết với một gradient proton thì dùng năng lượng của ATP để thực hiện sự vận chuyển.

2.5. Vách tế bào prokaryote

Tất cả tế bào prokaryote cần có vách (cell wall) để bảo vệ tế bào tránh ảnh hưởng do thay đổi mạnh về áp suất. Nồng độ của chất tan bên trong tế bào thường cao hơn bên ngoài tế bào. Sự không cân bằng này có thể được khắc phục bằng cách cho nước đi qua màng để vào tế bào chất (sự thẩm thấu). Vách tế bào giúp tế bào chịu được áp lực thẩm thấu. Nếu dùng enzyme lysozyme thủy phân thành phần peptidoglycan của vách tế bào, thì tế bào sẽ phồng to lên và vỡ tan ra. Tuy nhiên, nếu tế bào này được đặt vào dung dịch sucrose có nồng độ tương ứng với nồng độ chất tan bên trong tế bào, tế bào được ổn định, có thể tăng trưởng được.

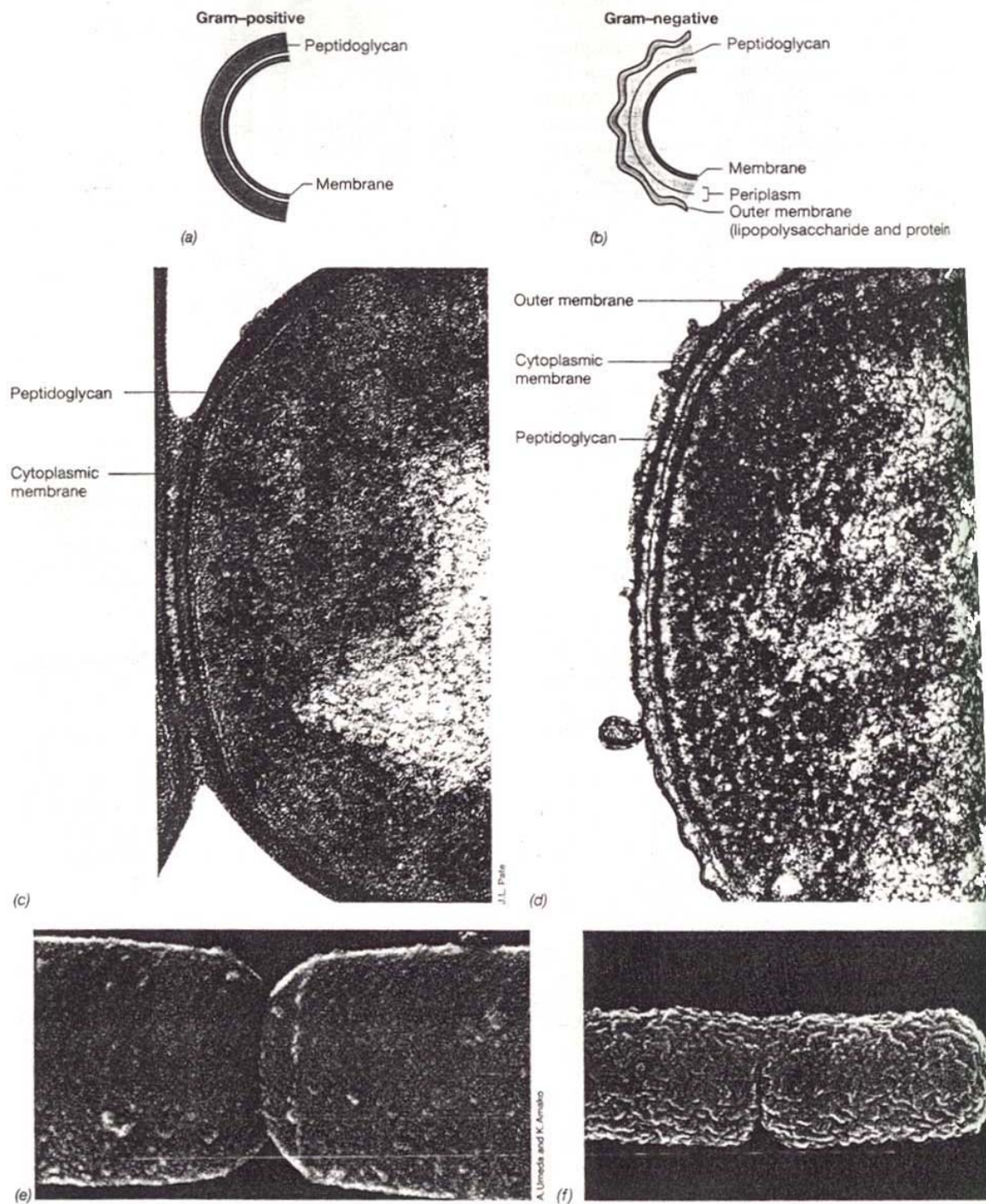


FIGURE 3.29 Cell walls of Bacteria. (a,b) Schematic diagrams of gram-positive and gram-negative cell walls. (c) Electron micrograph showing the cell wall of a gram-positive bacterium, *Arthrobacter crystallopoietes*. (d) Gram-negative bacterium, *Leucothrix mucor*. (e,f) Scanning electron micrographs of gram-positive (*Bacillus subtilis*) and gram-negative (*Escherichia coli*) Bacteria. Note the surface texture in the cells shown in (e) and (f). A single cell of *B. subtilis* or *E. coli* is about 1 μm in diameter.

Vách tế bào prokaryote chứa thành phần hóa học đặc trưng không có trong tế bào eukaryote. Ở Giới vi khuẩn, tế bào có vách chứa lớp peptidoglycan (còn được gọi là murein) dày nhưng không có cấu trúc quan trọng khác thì thuộc nhóm Gram dương. Vi khuẩn có vách peptidoglycan mỏng và một màng ngoài thuộc thành phần của vách tế bào thì nhuộm Gram âm (Fig. 3.29).

Lớp peptidoglycan là một lớp polysaccharide được tạo thành bằng cách nối chéo các mạch glycan bằng liên kết peptide giữa các amino acid của các mạch. Sự nối chéo làm tăng độ bền của lớp peptidoglycan. Đơn phân cấu thành của peptidoglycan được tạo thành từ hai dẫn xuất đường là N-acetylglucosamine và N-acetylmuramic acid và một đoạn ngắn amino acid. Peptidoglycan hiện diện trong tất cả vi khuẩn có vách tế bào (trừ mycoplasma không có vách) nhưng không có ở Archaea và eukaryote. Tuy nhiên, một số Archaea thuộc nhóm sinh methan (methanogen) có vách tế bào được cấu tạo bởi một polysaccharide tương tự như peptidoglycan gọi là pseudopeptidoglycan (Fig. 3.35).

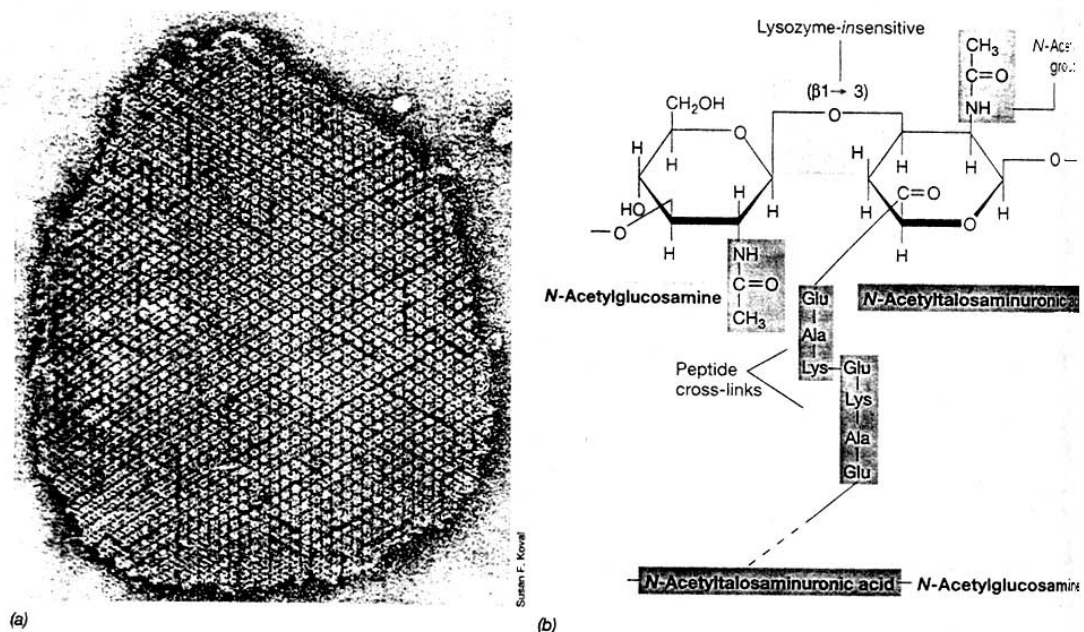


FIGURE 3.35 The S-layer and pseudopeptidoglycan. (a) Transmission electron micrograph of a portion of an S-layer showing the paracrystalline nature of this cell wall layer. Shown is the S-layer from the prokaryote *Aquaspirillum serpens* (a member of the Bacteria); this S-layer displays hexagonal symmetry as do many of the S-layers found in Archaea. (b) Structure of pseudopeptidoglycan, the cell wall polymer of *Methanobacterium* species. Note the resemblance to the structure of peptidoglycan shown in Figure 3.31, especially the peptide cross-links, in this case between N-acetyltalosaminuronic acid residues instead of muramic acid residues.

2.6. Màng ngoài của vi khuẩn Gram âm

Ở màng ngoài của vi khuẩn Gram âm, ngoài phospholipid còn chứa lipid gắn với polysaccharide (gọi là lipopolysaccharide). Thành phần lipid này có vai trò quan trọng trong tính gây bệnh của vi khuẩn Gram âm vì hai lý do: (1) độc đối với động vật; (2) khác nhau nhiều giữa các chủng (nhất là thành phần O-polysaccharide). Sự đa dạng này cho phép các chủng gây bệnh tấn công vào hệ thống miễn dịch của động vật và người. Màng ngoài có tính thấm cao hơn màng nguyên sinh chất. Màng này có chứa các protein porin tạo những lỗ nhỏ trên màng không cho phép các đại phân tử đi qua. Do vậy, các protein được tế bào tiết ra qua màng tế bào chất và được giữ lại trong vùng giữa màng tế bào chất và màng ngoài ở vi khuẩn Gram âm (vùng chu chất, periplasmic space). Các protein hiện diện ở vùng này có các enzyme thủy phân các hợp chất cao phân tử (bước

đầu tiên trong phân hủy thức ăn), các protein có vai trò trong vận chuyển các chất dinh dưỡng, các thụ quan hóa học có vai trò trong các đáp ứng hướng hóa (chemoreceptors). (Fig. 3.37).

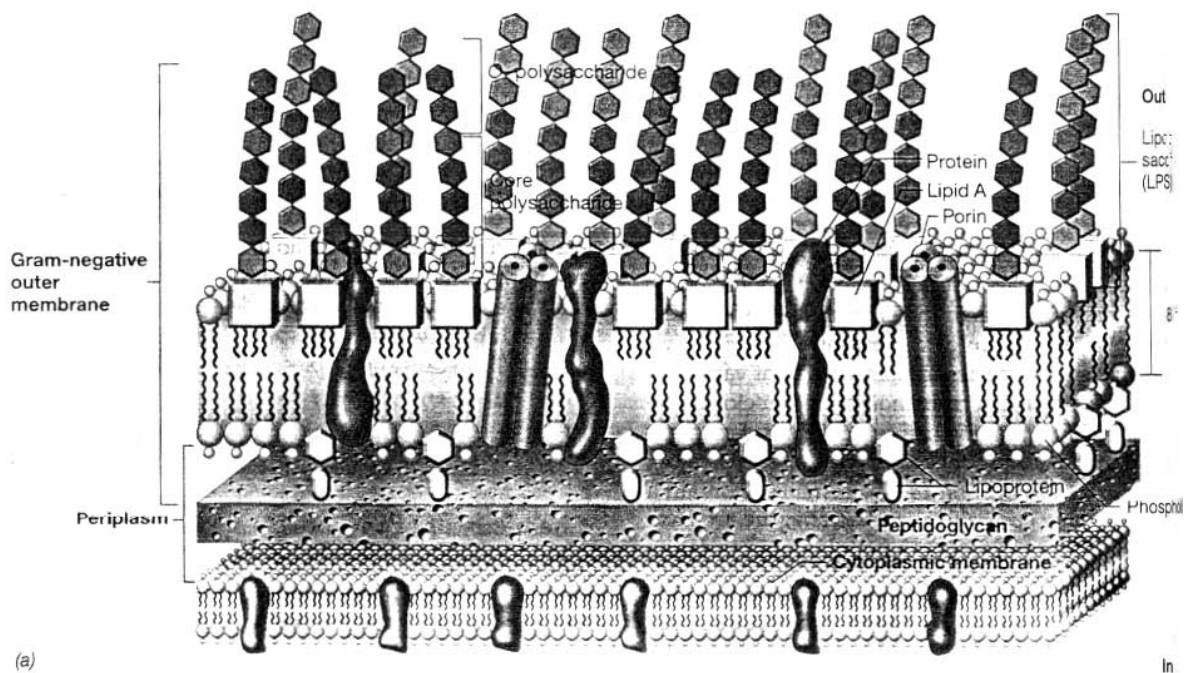
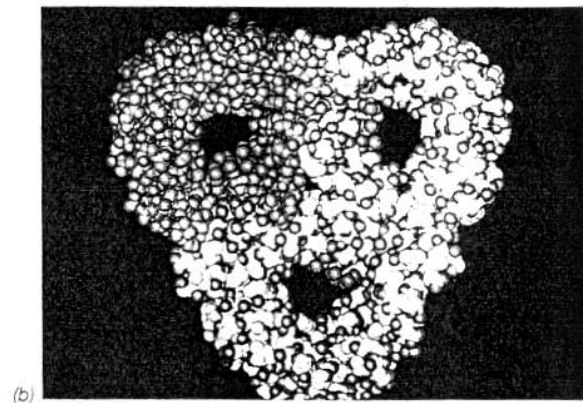
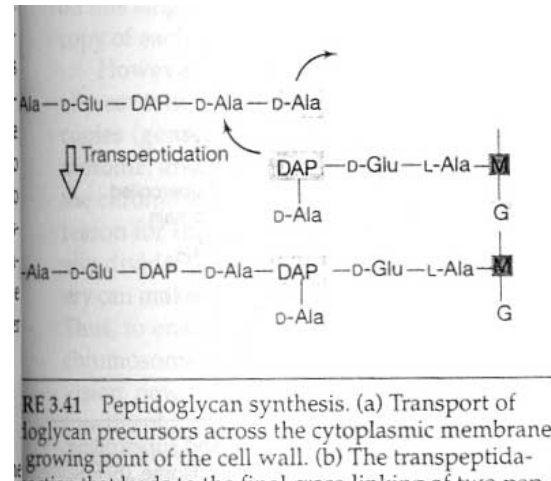
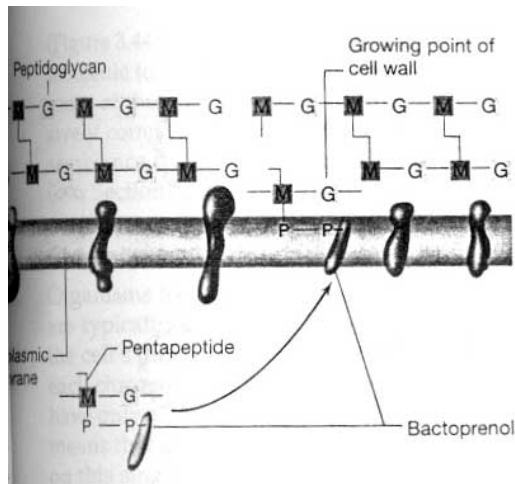


FIGURE 3.37 The gram-negative cell wall. (a) Arrangement of lipopolysaccharide, lipid A, phospholipid, porins, and lipoprotein in the outer membrane. See Figure 3.36 for details of the structure of LPS. (b) Molecular model of porin proteins. Note the three pores present, one formed from each of the proteins forming a porin molecule. The view is perpendicular to the plane of the membrane. Model based on X-ray diffraction studies of *Rhodobacter blasticus* porin.



2.7. Sự tổng hợp vách tế bào và sự phân bào

Thành phần đơn phân của peptidoglycan được tổng hợp trong tế bào chất. Monomer này được một protein vận chuyển lipid gọi là bactoprenol vận chuyển qua màng và gắn monomer vào các đầu mở ở vách tế bào được tạo ra bởi autolysin. Các tetrapeptid ở các mạch glycan kế cận nhau được kết nối chéo nhau gọi là transpeptidation. Quá trình này bị ức chế bởi penicillin. Do vậy, khi các tế bào đang phân chia bị xử lý bởi penicillin, việc hình thành vách tế bào bị ức chế nên tế bào bị vỡ tan và chết (Fig. 3.41).



2.8. Vách tế bào nhân thật

Nấm và tảo có vách tế bào chứa thành phần polysaccharide là cellulose và chitin. Một số tảo còn chứa hợp chất vô cơ như calcium carbonate hoặc silica trong vách tế bào.

2.9. Tiên mao và các đặc tính di động ở vi khuẩn

Các tế bào prokaryote và eukaryote có các cấu trúc giúp tế bào di động (motility). Cấu tạo và cơ chế hoạt động của các cấu trúc này ở tế bào prokaryote và eukaryote là khác nhau. Ở prokaryote, cấu trúc này là tiên mao (flagella) có cấu tạo đơn giản và có vai trò là cánh quạt đẩy. Ở eukaryote, cấu trúc này là các lông (cilia) có cấu tạo phức tạp và chuyển động như một cái roi đẩy tế bào bởi sự trượt của các vi ống (microtubule) tương tự như các sợi cơ.

Tiên mao ở vi khuẩn được cấu tạo bởi các đơn vị protein là flagellin. Trong ống nghiệm, các flagellin dạng tinh thể có thể kết tụ lại tạo thành sợi tiên mao. Như vậy, bằng tương tác để tạo cấu trúc bậc 4 của protein, các flagellin có thể tự lắp ghép lại thành flagella mà không cần có sự hiện diện của protein khác. Sự di động được tạo ra bởi thể nền (basal body) là các protein hiện diện trong vách tế bào và màng (Fig. 3.48).

Sự di động chỉ có ý nghĩa đối với vi khuẩn khi nó được định hướng. Nhiều vi khuẩn có chuyển động hướng hóa (chemotactic). Như vậy cơ chế nào giúp tế bào nhận biết được gradient hóa học và đáp ứng với gradient này? Vi khuẩn có hai kiểu di động: (a) bơi thẳng theo chiều tiến hoặc lui và (b) ngưng bơi và chuyển hướng. Hướng di động tiến hoặc lui sẽ thay đổi tùy vào hướng quay của tiên mao (thuận hay ngược chiều kim đồng hồ). Việc ngưng và chuyển hướng được thực hiện bằng cách bung các sợi tiên mao (Fig. 3.49). Tần số xoay thay đổi khi tế bào cần di chuyển về phía hoặc ra khỏi chất dẫn dụ hóa học. Các thụ quan này là các protein ở vùng chu chất được gọi là thụ quan hóa học (chemoreceptor). Khi các thụ quan này gắn với chất dẫn dụ chuyên biệt, thụ quan sẽ tương tác với các protein màng là MCP. MCP truyền tính hiệu cho Che Y là một protein có vai trò kiểm soát hướng quay của tiên mao. Ngoài ra, MCP còn có vai trò là bộ nhớ khi được methyl hóa. Tế bào đáp ứng được với những biến đổi về nồng độ theo thời gian chứ không theo không gian. Sự tương tác của chemoreceptor với MCP sẽ cảm

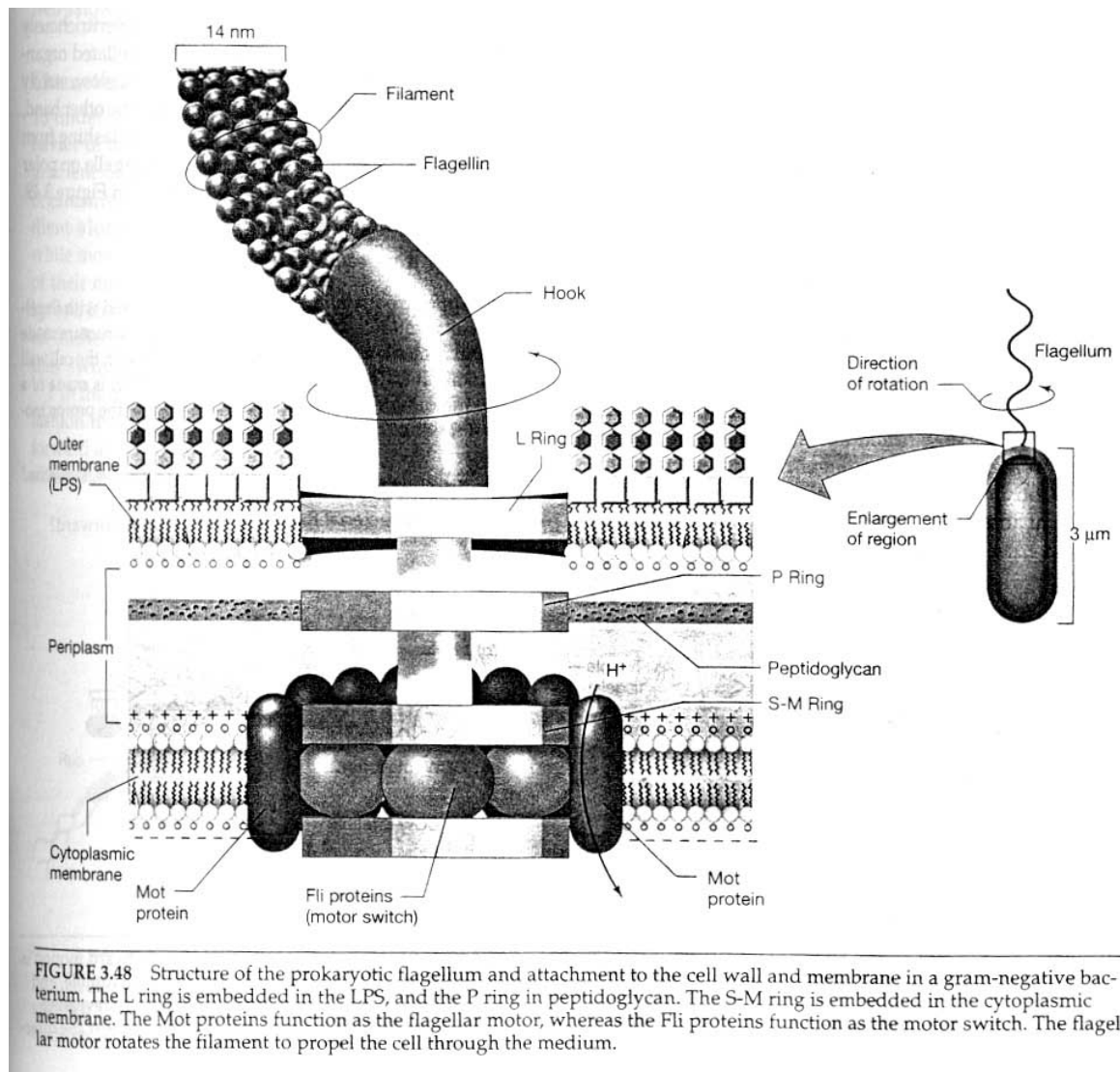


FIGURE 3.48 Structure of the prokaryotic flagellum and attachment to the cell wall and membrane in a gram-negative bacterium. The L ring is embedded in the LPS, and the P ring in peptidoglycan. The S-M ring is embedded in the cytoplasmic membrane. The Mot proteins function as the flagellar motor, whereas the Fli proteins function as the motor switch. The flagellar motor rotates the filament to propel the cell through the medium.

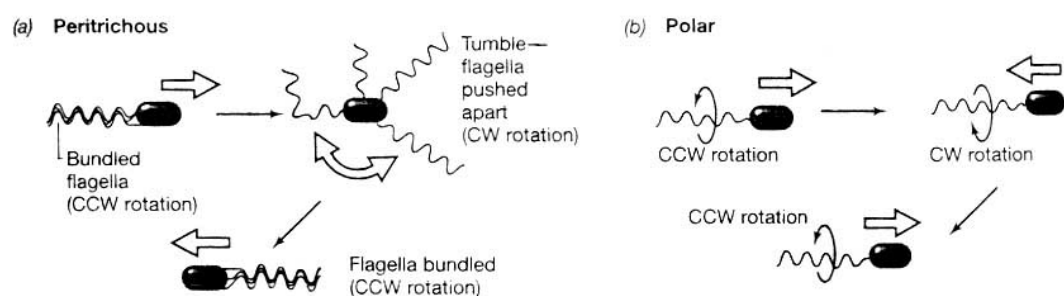


FIGURE 3.49 Manner of movement in polarly and peritrichously flagellated prokaryotes. (a) Peritrichous: Forward motion imparted by all flagella rotating counterclockwise (CCW) in a bundle. Clockwise (CW) rotation causes the cell to tumble, and then a return to counterclockwise rotation leads the cell off in a new direction. (b) Polar: Cells change direction by reversing flagellar rotation (thus pulling instead of pushing the cell) and then return to pushing. The large yellow arrows show the direction the cell is traveling.

ứng sự methyl hóa MCP. Mức độ methyl hóa thay đổi theo nồng độ chất dẫn dụ. Khi không còn chất dẫn dụ nữa, nhóm methyl sẽ bị loại ra khỏi MCP.

Các vi khuẩn quang hợp (photosynthetic bacteria) có tính di động hướng quang (phototaxis) giúp tế bào định hướng để có thể thu năng lượng hữu hiệu nhất.

2.10. Các cấu trúc khác trên bề mặt tế bào và các cấu trúc dự trữ

Một số cấu trúc bề mặt tế bào vi khuẩn giúp tế bào gắn vào một giá thể khác ví dụ như gắn vào bề mặt mô của ký chủ, thụ thể của virút... Tua viền (fimbriae) và sợi pili là những cấu trúc do sự tự lắp ghép của các đơn phân protein giống nhau (tương tự như cách của tiên mai).

Lớp S (S-layer) là một lớp protein kép có thể có vai trò cho phép thấm qua các phân tử nhỏ phân cực nhưng vẫn giữ không cho phân tử lớn đi qua. Ở vi khuẩn gây bệnh, lớp này có thể có vai trò chống lại hệ thống phòng vệ của tế bào chủ.

Glycolax là thuật ngữ chung cho các polisaccharide ngoại bào. Một số vi sinh vật gây bệnh bắt đầu quá trình nhiễm của mình bằng cách gắn vào tế bào, mô chủ thông qua glycolax, hoặc trong trường hợp khác glycolax cho phép vi sinh vật gây bệnh xâm chiếm hệ thống bảo vệ của tế bào chủ.

Trong tế bào, có một số cấu trúc có vai trò trữ các polymer của carbon (glycogen, poly-alkanoic acid) hoặc phosphate (polyphosphate). Các hạt chứa nguyên tố lưu huỳnh hiện diện trong vi khuẩn ôxi hóa lưu huỳnh. Các túi gas (gas vesicle) là cấu trúc protein gồm các khe có thể chứa khí.

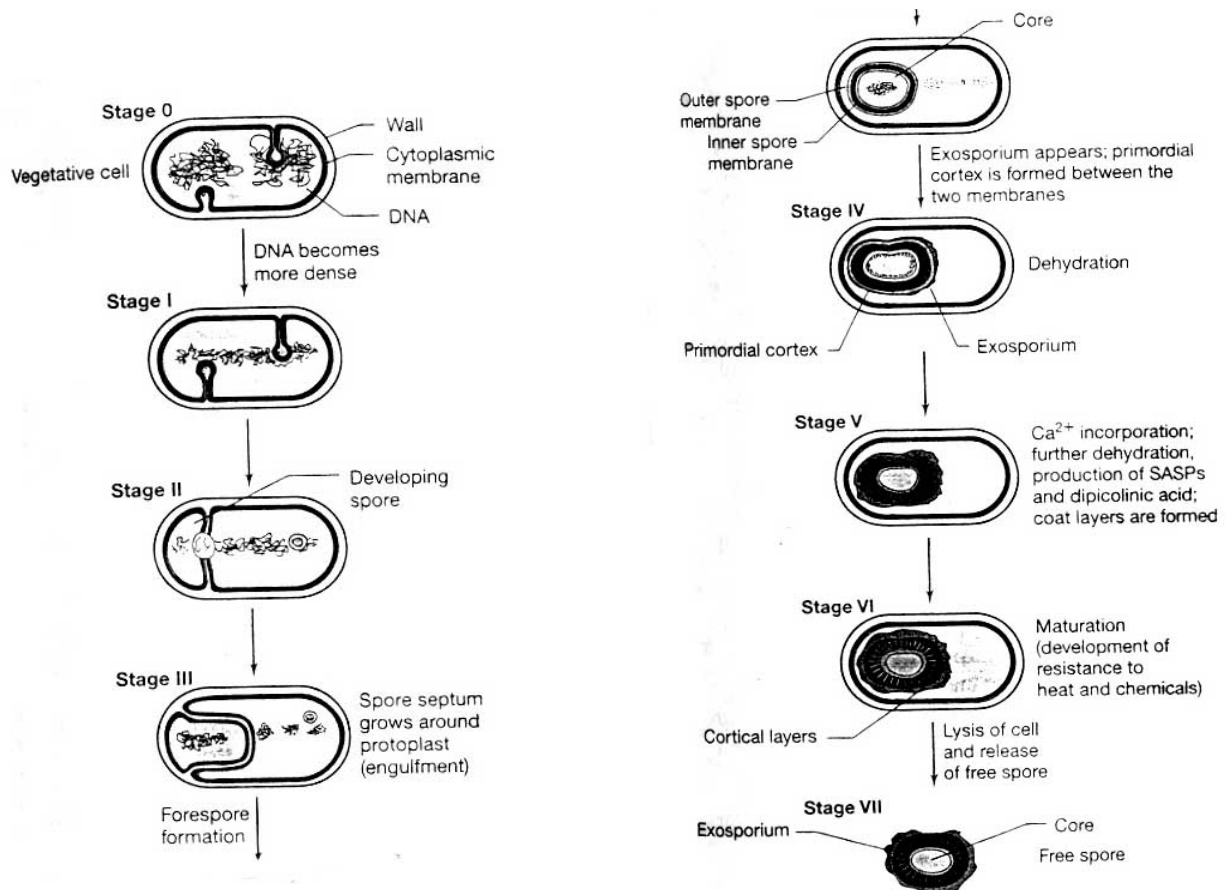
2.11. Nội bào tử

Nội bào tử (endospore) của vi khuẩn rất quan trọng trong các ứng dụng cần khử trùng do tính bền vững đối với nhiệt. Chỉ một số giống vi khuẩn có thể tạo nội bào tử. Khi môi trường cạn kiệt dinh dưỡng, một số tế bào sinh dưỡng phân hóa thành nội bào tử. Tính bền nhiệt của bào tử là do dipicolinic acid và ion calcium. Nội bào tử có thể hữu miên trong vài chục năm thậm chí đến vài nghìn năm. Khi gặp môi trường thuận lợi, có chất dinh dưỡng thì nảy mầm tạo tế bào sinh dưỡng (Fig. 3.67).

2.12. Bộ gen của vi khuẩn

Trong tế bào vi khuẩn, DNA là một phân tử trần dạng vòng gấp khúc và tự xoắn nằm trong tế bào chất. Cấu trúc này của DNA được gọi là nhiễm sắc thể của vi khuẩn hay thể nhân (nucleoid). Sự gấp khúc và xoắn giúp cho phân tử DNA có chiều dài 1mm có thể hiện diện trong tế bào có đường kính 2 - 3 μ m. Ngoài ra, không gian chật hẹp cũng buộc DNA tạo nên cấu trúc siêu xoắn (supercoil). Các tế bào prokaryote có bộ gen chỉ nằm trên một phân tử DNA và mRNA không chứa những trình tự không mang mã. Do DNA ở prokaryote hiện diện trần và không có cấu trúc bào quan nên các quá trình phiên mã và dịch mã được diễn ra song hành trong tế bào chất.

DNA ở tế bào vi khuẩn có thể được chuyển đổi trong quần thể tế bào thông qua một số quá trình như: (1) giao nạp (conjugation), trong đó DNA được chuyển đổi khi hai tế bào tiếp xúc nhau; (2) tải nạp (transduction), trong đó sự chuyển DNA được thực hiện bởi virut; và (3) biến nạp (transformation) trong đó tế bào tiếp nhận DNA trần từ môi trường.



2.13. Nhân và các bào quan ở tế bào nhân thật

Ba bào quan quan trọng nhất ở tế bào eukaryote là nhân, ti thể (mitochondria), và diệp lục (chloroplast). Tất cả các bào quan này đều được bao bọc bởi màng lipid nhưng các màng này có tính thấm đối với các chất phân cực cao hơn so với màng nguyên sinh chất.

Nhân là bào quan chứa vật liệu di truyền ở tế bào eukaryote. Bộ gen được chứa trong một số cấu trúc DNA được gọi là nhiễm sắc thể. RNA được tổng hợp bên trong nhân và các phần không mang thông tin (intron) sẽ bị loại ra khỏi phân tử mRNA khi đi qua màng nhân vào tế bào chất để được dịch mã thành protein trên ribosome.

Trong tế bào eukaryote, ti thể là nơi tạo ra năng lượng. Các chất có phân tử lượng nhỏ có thể qua lại dễ dàng màng ti thể. Màng trong của ti thể được gọi là cristae là nơi hiện diện của các protein tham gia vào quá trình tạo năng lượng. Chất nền (matrix) của ti thể chứa các enzyme xúc tác sự biến dưỡng các hợp chất hữu cơ.

Màng trong của lục thể được gọi là thylakoid chứa sắc tố và protein cần cho sự thu nhận năng lượng ánh sáng. Năng lượng và lực khử được tạo ra bởi phản ứng sáng sẽ được dùng để cố định CO_2 thành hợp chất hữu cơ trong stroma.

Ti thể và lục thể có kích thước cỡ tế bào prokaryote. Nguồn gốc ti thể và lục thể trong tế bào eukaryote là sự xâm chiếm và nội cộng sinh của các tế bào prokaryote trong các tế bào lớn hơn trong quá trình tiến hóa hình thành tế bào eukaryote.

2.14. So sánh tế bào prokaryote và eukaryote

Sự khác biệt chung giữa tế bào prokaryote và eukaryote là tế bào prokaryote có cấu trúc đơn giản, trong khi đó, tế bào eukaryote có cấu trúc khá phức tạp. Tuy nhiên, cần nhớ rằng cả hai loại tế bào đều có thành phần hóa học giống nhau, chỉ có sự lắp ghép các thành phần hóa học là khác nhau.