

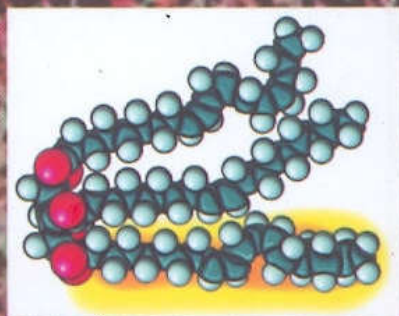
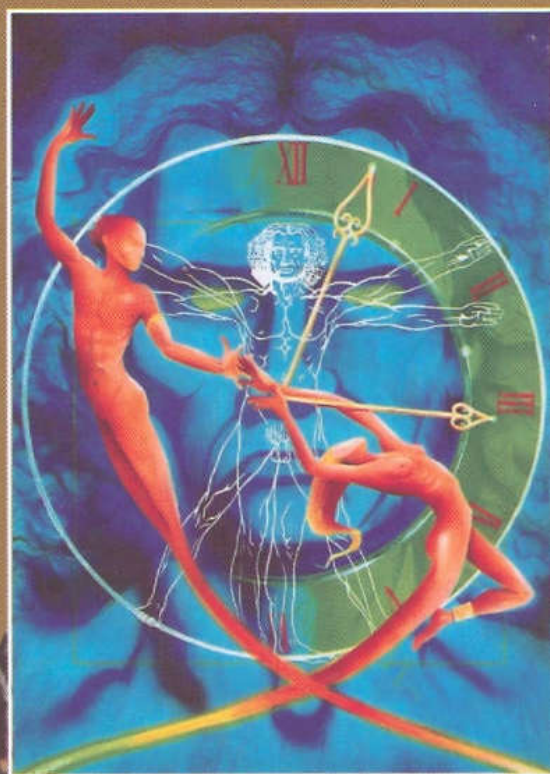
DH2.55

BỘ Y TẾ

SINH HỌC ĐẠI CƯƠNG

(DÙNG CHO ĐÀO TẠO DƯỢC SỸ ĐẠI HỌC)

Chủ biên: PGS. TS. CAO VĂN THU



NHÀ XUẤT BẢN GIÁO DỤC VIỆT NAM



THƯ VIỆN
Y HỌC

TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ

BỘ Y TẾ

SINH HỌC ĐẠI CƯƠNG

DÙNG CHO ĐÀO TẠO DƯỢC SỸ ĐẠI HỌC

Mã số: Đ.20.X.06

(Tái bản lần thứ hai)

NHÀ XUẤT BẢN GIÁO DỤC VIỆT NAM



Chỉ đạo biên soạn:

CỤC KHOA HỌC CÔNG NGHỆ VÀ ĐÀO TẠO – BỘ Y TẾ

Chủ biên:

PGS.TS. CAO VĂN THU

Những người biên soạn:

ThS. TRẦN TRINH CÔNG

ThS. ĐỖ NGỌC QUANG

PGS.TS. CAO VĂN THU

Thư ký biên soạn:

PGS.TS. PHAN THỊ HOAN

Tham gia tổ chức bản thảo:

ThS. PHÍ VĂN THÂM

TS. NGUYỄN MẠNH PHA

Lời giới thiệu

Thực hiện một số điều của Luật Giáo dục, Bộ Giáo dục & Đào tạo và Bộ Y tế đã ban hành chương trình khung đào tạo **Dược sỹ đại học**. Bộ Y tế tổ chức biên soạn tài liệu dạy – học các môn cơ sở và chuyên môn theo chương trình trên nhằm từng bước xây dựng bộ sách đạt chuẩn chuyên môn trong công tác đào tạo nhân lực y tế.

Sách **Sinh học đại cương** được biên soạn dựa vào chương trình giáo dục của Trường Đại học Dược Hà Nội trên cơ sở chương trình khung đã được phê duyệt. Sách được tập thể các nhà giáo giàu kinh nghiệm của Trường Đại học Dược Hà Nội biên soạn theo phương châm: kiến thức cơ bản, hệ thống; nội dung chính xác, khoa học; cập nhật các tiến bộ khoa học, kỹ thuật hiện đại và thực tiễn Việt Nam.

Sách **Sinh học đại cương** đã được Hội đồng chuyên môn thẩm định sách và tài liệu dạy – học chuyên ngành DƯỢC SỸ ĐẠI HỌC của Bộ Y tế thẩm định năm 2007. Bộ Y tế quyết định ban hành tài liệu dạy – học đạt chuẩn chuyên môn của ngành trong giai đoạn hiện nay. Trong thời gian từ 3 đến 5 năm, sách phải được chỉnh lý, bổ sung và cập nhật.

Bộ Y tế chân thành cảm ơn các tác giả đã dành nhiều tâm huyết để hoàn thành cuốn sách; cảm ơn GS. TS. Nguyễn Văn Thanh, PGS. TS. Lê Hồng Hình đã đọc và phản biện để cuốn sách sớm hoàn thành, kịp thời phục vụ cho công tác đào tạo nhân lực y tế.

Lần đầu xuất bản, chúng tôi mong nhận được ý kiến đóng góp của đồng nghiệp, các bạn sinh viên và các độc giả để lần xuất bản sau sách được hoàn thiện hơn.

CỤC KHOA HỌC CÔNG NGHỆ VÀ ĐÀO TẠO – BỘ Y TẾ

Lời nói đầu

Tài liệu **Sinh học đại cương** về cơ bản bao gồm nội dung chính của những bài giảng cho các lớp sinh viên được tập hợp trong một số năm giảng dạy. Công nghệ sinh học ngày nay (thời kỳ hậu giải mã genom người) thay đổi rất mạnh mẽ, nên bên cạnh những kiến thức cơ bản cần thiết cho sinh viên ngành khoa học Dược các tác giả đã cố gắng cập nhật những kiến thức khoa học mới nhất liên quan tới Sinh học phân tử, Công nghệ sinh học Dược. Tài liệu này được biên soạn cho sinh viên, học viên năm thứ nhất Đại học Dược. Nội dung bao gồm:

- Cấu trúc của tế bào tiền nhân và tế bào nhân chuẩn, sự vận chuyển vật chất qua màng.
- Quá trình trao đổi chất trong tế bào, enzym, quá trình hô hấp, quá trình quang hợp.
- Vật chất di truyền, quá trình sao chép ADN, di truyền nhiễm sắc thể và ngoài nhiễm sắc thể, biến dị.
- Hệ thống phân loại 5 giới của Whittaker.

Với thời lượng 2 đơn vị học trình, có những vấn đề cơ bản chỉ nêu lên khái niệm. Về cấu trúc, tài liệu này chia làm 4 chương chính:

Chương 1: Tế bào.

Chương 2: Sự trao đổi chất và năng lượng.

Chương 3: Di truyền và biến dị.

Chương 4: Nguồn gốc sự sống và đa dạng sinh học.

Tài liệu này có thể tiếp thu được một cách dễ dàng khi người học nắm vững được các thuật ngữ, giới hạn được vấn đề, biết so sánh các khái niệm và quá trình cũng như tham khảo trước và tích cực tham gia vào bài giảng.

Với tinh thần cầu thị và nhất quán, hy vọng rằng những kiến thức được trình bày trong tài liệu **Sinh học đại cương** này góp phần tạo nên nền tảng kiến thức tương đối vững chắc về lĩnh vực sinh học cho các dược sỹ tương lai. Mặc dù đã cố gắng, nhưng do thời gian có giới hạn nên không tránh khỏi những khiếm khuyết và thiếu sót. Các tác giả rất mong nhận được những ý kiến đóng góp để tài liệu này hoàn thiện hơn trong các lần tái bản sau. Mọi ý kiến xin gửi về Công ty Cổ phần sách Đại học – Dạy nghề, Nhà xuất bản Giáo dục Việt Nam, 25 Hàn Thuyên, Hà Nội.

DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT

A	Adenin
ADN, DNA	Acid 2'-deoxyribonucleic
ARN, RNA	Acid ribonucleic
C	Cytosin
dATP	2'-deoxyadenosintriphosphat
dCTP	2'-deoxycytidintriphosphat
dGTP	2'-deoxyguanosintriphosphat
dTTP	2'-deoxythymidintriphosphat
EST	Đầu trình tự biểu hiện (expressed sequence tags)
G	Guanin
G1	Gap 1
G2	Gap 2
M	Nguyên phân (mitosis)
NST	Nhiễm sắc thể
PCR	Phản ứng chuỗi trùng hợp (polymerase chain reaction)
S	Tổng hợp (synthesis)
SSB	Protein liên kết sợi đơn (single strand binding protein)
T	Thymin
TMV	Virus khảm thuốc lá (tobacco mosaic virus)
TTHĐ	Trung tâm hoạt động

MỤC LỤC

Trang

CHƯƠNG 1. TẾ BÀO

1. Học thuyết tế bào	9
2. Cấu trúc tế bào Prokaryota	10
3. Cấu trúc tế bào Eukaryota	14
4. Sự vận chuyển chất qua màng	41
Câu hỏi lượng giá	50

CHƯƠNG 2. SỰ TRAO ĐỔI CHẤT VÀ NĂNG LƯỢNG

1. Năng lượng sinh học	51
2. Sự trao đổi chất trong tế bào	55
3. Enzym	56
4. Hô hấp tế bào	65
5. Quang hợp	74
Câu hỏi lượng giá	90

CHƯƠNG 3. DI TRUYỀN VÀ BIẾN DỊ

1. Cơ sở phân tử của chất liệu di truyền	91
2. Cấu trúc nhiễm sắc thể ở Prokaryota và Eukaryota	98
3. Sao chép ADN ở Prokaryota và Eukaryota	109
4. Chu trình tế bào	118
5. Các kiểu phân bào	123
6. Di truyền nhiễm sắc thể và di truyền ngoài nhân	129
7. Đột biến và biến dị	153
Câu hỏi lượng giá	166

CHƯƠNG 4. NGUỒN GỐC SỰ SỐNG VÀ ĐA DẠNG SINH HỌC

1. Nguồn gốc sự sống	167
2. Đa dạng sinh học	171
Câu hỏi lượng giá	209
Tài liệu tham khảo	210

Chương 1

TẾ BÀO

MỤC TIÊU

1. Trình bày được đặc điểm, cấu tạo và chức năng của các thành phần có trong tế bào Prokaryota: thành tế bào, màng sinh chất, ribosom, thể nhân, lông, roi, bao nhày.
2. Trình bày được đặc điểm, cấu tạo và chức năng của các thành phần có trong tế bào Eukaryota: màng sinh chất, lưới nội chất, thể Golgi, lysosom, peroxysom, nhân, ribosom, ty thể, lục lạp, khung tế bào, trung tử, lông, roi.
3. Trình bày được mô hình phân tử phospholipid, qua đó giải thích được sự hình thành của lớp màng kép.
4. Trình bày được cấu tạo của màng sinh chất theo mô hình khảm động. Giải thích được tại sao màng sinh chất có tính linh hoạt.
5. Trình bày được tính chất và cơ chế vận chuyển vật chất qua màng theo phương thức có tiêu phí năng lượng và không tiêu phí năng lượng.

1. HỌC THUYẾT TẾ BÀO

Từ thời nguyên thủy, con người đã biết quan sát và tìm hiểu thế giới sinh vật bao quanh mình. Dấu tích của những quan sát đó vẫn còn lưu lại đến ngày nay qua các bức vẽ cổ xưa của người tiền sử. Cho đến thế kỷ XVII, một sự kiện quan trọng đã giúp quá trình tìm tòi đó bước sang một trang mới. Đó là vào năm 1665, lần đầu tiên Rober Hook đã quan sát thế giới sinh vật bằng kính hiển vi tự tạo có độ phóng đại 30 lần. Ông đã quan sát mô bần ở thực vật và thấy rằng cấu trúc của chúng có dạng các xoang rỗng có thành bao quanh và đặt tên là Cella (theo tiếng Latin, Cella có nghĩa là xoang rỗng hoặc tế bào).

Những quan sát của Rober Hook đã đặt nền móng cho một môn khoa học mới, đó là Tế bào học.

Tiếp đó, đến năm 1674, Antoni Van Leeuwenhoek với kính hiển vi có độ phóng đại 270 lần đã tiến hành quan sát và mô tả các loại tế bào động vật (tế bào máu, tinh trùng v.v..) và xác định rằng tế bào không đơn giản là các xoang rỗng như Rober Hook đã quan sát trước đây mà có cấu trúc phức tạp.

Cho đến thế kỷ XIX, nhờ sự hoàn thiện của kỹ thuật hiển vi, cùng với tổng kết từ công trình nghiên cứu trên các lĩnh vực thực vật, động vật, vi khuẩn của nhiều nhà khoa học khác nhau, học thuyết tế bào đã ra đời. Nội dung cơ bản của học thuyết bao gồm hai ý sau:

- Sinh vật có tính đa dạng cao song đều có cấu tạo từ tế bào.
- Mọi tế bào sống đều có cấu trúc và chức năng tương tự nhau.

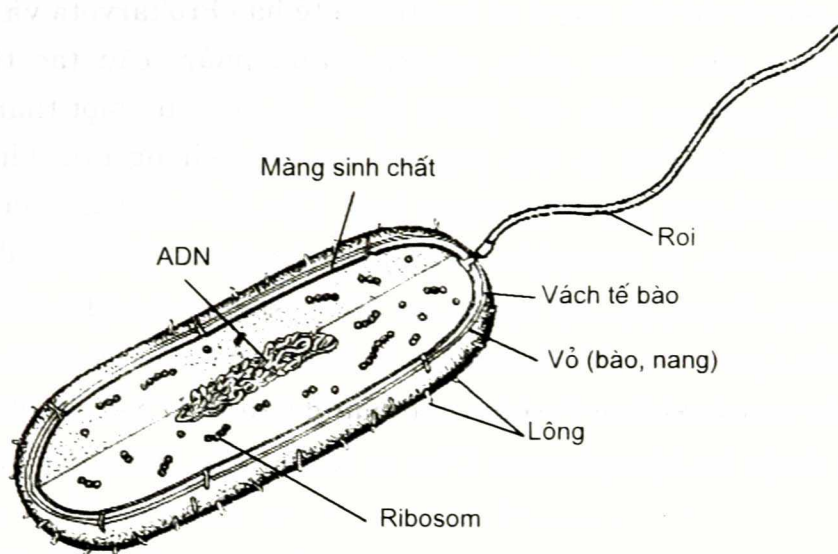
Theo F.Engel (1870), học thuyết tế bào là một trong ba phát kiến vĩ đại của khoa học tự nhiên thế kỷ XIX (cùng với học thuyết tiến hoá và học thuyết chuyển hoá năng lượng). Tế bào học đã trở thành một khoa học thật sự độc lập và phát triển nhanh chóng cả về nghiên cứu cấu trúc và chức năng.

Theo thời gian, cấu trúc của tế bào ngày càng được nghiên cứu chi tiết. Từ quan niệm đầu tiên là một “xoang rỗng”, về sau tế bào đã được mô tả gồm 3 phần là khối tế bào chất (Purkinje, 1838 và Pholmon, 1844), được giới hạn bởi màng tế bào và bên trong có chứa nhân (R.Brawn, 1831). Hàng loạt bào quan trong tế bào chất đã được phát hiện về sau như trung tử (Van Beneden và Boverie phát hiện vào năm 1876), ty thể (Altman và Benda, 1894), phức hệ Golgi (Golgi, 1898),...

Việc nghiên cứu cấu trúc cũng cho thấy tính đa dạng của tế bào. Cũng giống như sinh vật, các nhóm tế bào có sự phân hóa và biến đổi thích nghi với từng vai trò nhất định. Ví dụ, ở người có tới hơn 200 loại tế bào khác nhau. Dựa vào đặc điểm nhân, người ta chia tế bào ra thành hai nhóm lớn là tế bào Prokaryota và tế bào Eukaryota. Hai nhóm tế bào này là đơn vị tổ chức cơ bản của tất cả các cơ thể sống về phương diện cấu trúc và chức năng.

2. CẤU TRÚC TẾ BÀO PROKARYOTA

Tế bào Prokaryota (hay còn gọi là tế bào nhân nguyên thủy) có kích thước nhỏ, đường kính khoảng 0,2 – 2,0 μ m, chiều dài khoảng 2,0 – 8,0 μ m. Đây là dạng tế bào đơn giản, bên trong tế bào chất hầu như không có các bào quan (hình 1.1). Vi khuẩn là nhóm sinh vật duy nhất có cấu trúc từ loại tế bào này.



Hình 1.1. Cấu trúc tế bào Prokaryota

2.1. Thành tế bào

Thành tế bào (hay còn gọi là vách tế bào) là lớp ngoài cùng, có độ rắn chắc nhất định để bảo vệ và duy trì hình dạng tế bào. Thông thường, nồng độ các chất tan trong tế bào cao hơn môi trường bên ngoài, bởi vậy tế bào hấp thu khá nhiều nước. Sự thẩm thấu của nước sẽ khiến cho tế bào bị trương lên. Lúc này, thành tế bào có vai trò quan trọng trong việc nâng đỡ, giúp cho tế bào không bị vỡ dưới tác động của áp suất thủy tĩnh. Tùy theo cấu tạo mà thành tế bào có thể giúp chống chịu một áp suất thẩm thấu từ 5atm lên đến 20atm.

Không chỉ có vai trò bảo vệ về mặt cơ học, thành tế bào còn giúp bảo vệ tế bào khỏi những tác động của các hợp chất hoá học. Ví dụ, thành tế bào ở một số vi khuẩn có thể gây cản trở sự xâm nhập của chất kháng sinh vào bên trong tế bào. Với chức năng bảo vệ như vậy, thành tế bào chính là một trong số các đích tác dụng của thuốc đối với vi khuẩn.

Về mặt cấu tạo, thành tế bào vi khuẩn có hai kiểu cấu tạo chính tương ứng với hai nhóm vi khuẩn có tên là Gram (+) và Gram (-). Người đầu tiên đề xướng phương pháp nhuộm để phân biệt hai nhóm vi khuẩn này là H.C.Gram, một nhà vi sinh vật học Đan Mạch. Theo phương pháp nhuộm Gram, vi khuẩn Gram (+) sẽ bắt màu xanh tím, còn vi khuẩn Gram (-) sẽ bắt màu đỏ tía. Cấu tạo khái quát của hai loại thành vi khuẩn có thể tóm lược như sau:

- Vi khuẩn Gram (+): thành tế bào dày, gồm một lớp, thành phần tương đối đồng nhất.
- Vi khuẩn Gram (-): thành tế bào mỏng, gồm nhiều lớp, thành phần và cấu trúc khá phức tạp.

Thành tế bào có thể bắt gặp ở cả hai nhóm tế bào Prokaryota và Eukaryota với những chức năng gần giống nhau nhưng thành phần, cấu tạo thì khác nhau. Thành tế bào Prokaryota được đặc trưng bởi sự có mặt của một thành phần có tên là peptidoglycan (PG). Đây là một loại polyme xếp, không tan, khá cứng và bền vững, bao quanh tế bào như một mạng lưới. Cấu trúc cơ bản của peptidoglycan gồm có 3 thành phần: N-acetylglucosamin; N-acetylmuramic acid và chuỗi acid amin. Ở vi khuẩn Gram (+), PG chiếm tới 50% trọng lượng khô của thành tế bào. Còn ở vi khuẩn Gram (-), PG chỉ chiếm 5–10%, còn lại là các lipid, protein v.v.. Không phải tất cả các tế bào Prokaryota đều có thành tế bào, ví dụ như ở một số loại vi khuẩn thuộc họ *Mycoplasma*. Ở họ vi khuẩn này, lớp ngoài cùng sẽ là màng tế bào chất.

2.2. Màng tế bào chất

Màng tế bào chất (cytoplasmic membrane hay plasmamembrane) nằm ngay dưới thành tế bào. Màng tế bào chất dày khoảng 5 – 10nm, được hình thành bởi lớp kép phospholipid. Chức năng của lớp màng này có thể được tóm lược như sau:

- Ngăn cách tế bào với môi trường, giúp tế bào trở thành một hệ thống biệt lập.
- Thực hiện quá trình trao đổi chất, thông tin giữa tế bào và môi trường
- Là giá thể để gắn các enzym của quá trình trao đổi chất trong tế bào.

2.3. Tế bào chất

Tế bào chất (cytoplasm) là vùng dịch thể được giới hạn bởi màng tế bào. Tế bào chất có cấu tạo dạng keo, chứa 80% là nước. Đặc điểm quan trọng tạo nên sự khác biệt với tế bào Eukaryota là tế bào chất của tế bào Prokaryota hầu như không chứa các bào quan. Toàn bộ tế bào chất là một khối thống nhất, không phân hoá thành vùng chức năng. Các hoạt động sống của tế bào đều diễn ra chung ở trong tế bào chất mà không có sự phân định ranh giới rõ rệt. Ở nhiều loại vi khuẩn, trong tế bào chất cũng không chứa hệ thống sợi nâng đỡ giúp duy trì hình dạng tế bào một cách ổn định. Lúc này hình dạng có được là do thành tế bào.

Nằm rải rác trong tế bào chất là các hạt ribosom, bào quan có vai trò tổng hợp protein. Số lượng ribosom trong tế bào chất tương đối lớn, chiếm tới 70% trọng lượng khô của tế bào vi khuẩn. Ribosom của tế bào Prokaryota được hình thành từ hai tiểu đơn vị 50S và 30S. S là đơn vị Svedberg, đại lượng đo tốc độ lắng của các hạt trong một huyền dịch khi ly tâm cao tốc. Ribosom của vi khuẩn chịu tác động của nhiều kháng sinh như streptomycin, neomycin, tetracyclin,...

2.4. Thể nhân

Tế bào Prokaryota chưa có nhân hoàn chỉnh mà chỉ tồn tại thể nhân (nuclear body). Đây là một dạng nhân nguyên thủy, chưa có màng bao bọc nên thể nhân và tế bào chất không được tách biệt rõ ràng. Về thành phần, thể nhân chứa nhiễm sắc thể (NST) được cấu tạo từ một sợi ADN xoắn kép, dạng trần không liên kết với protein. ADN của tế bào vi khuẩn có chiều dài nằm trong khoảng $0,25 - 3,0\mu\text{m}$, tương ứng với khoảng $6,6 - 13,0 \cdot 10^6$ cặp nucleotid. Do chỉ chứa 1 sợi NST duy nhất nên đại đa số vi khuẩn là tế bào ở dạng đơn bội. Vai trò của thể nhân là nơi chứa đựng thông tin di truyền và là trung tâm điều khiển mọi hoạt động sống của tế bào.

Ở nhiều loại vi khuẩn, ngoài thể nhân, ADN còn nằm trong tế bào chất dưới dạng một vòng ADN nhỏ được gọi là plasmid. Plasmid có khả năng sao chép một cách độc lập đối với ADN trong thể nhân. Các gen nằm trên plasmid thường mã hoá cho các protein không đóng vai trò quan trọng trong quá trình sinh trưởng của tế bào. Trong một số trường hợp, gen nằm trên plasmid tạo nên đặc tính kháng kháng sinh hoặc quyết định giới tính của vi khuẩn.

2.5. Bao nhày

Nằm bên ngoài của thành tế bào một số loại vi khuẩn còn có thêm một lớp bao nhày (capsule). Đây là một lớp vật chất dạng keo, có độ dày không cố định. Thành phần chủ yếu của bao nhày là các polysaccarid.

Vai trò của bao nhày là giúp bảo vệ tế bào khỏi các tác động bên ngoài (như sự khô hạn hoặc sự tấn công của bạch cầu). Do có cấu tạo từ polysaccarid nên bao nhày còn giống như một nguồn dự trữ dinh dưỡng cho tế bào, để phòng khi nguồn dinh dưỡng trong môi trường bị cạn kiệt. Các vi khuẩn có bao nhày thường có khả năng bám dính tốt trên các giá thể hoặc kết dính với nhau thành mảng. Ví dụ, ở các vi khuẩn gây sâu răng như *Streptococcus salivarius* và *Streptococcus mutans*, bao nhày giúp các loại vi khuẩn này bám dính vào bề mặt răng. Trong quá trình sống, vi khuẩn sẽ lên men đường (có trong thực phẩm còn sót lại trong kẽ răng) để sinh ra acid lactic làm hỏng dần men răng. Nhiều loại vi khuẩn sống thủy sinh cũng có bao nhày. Bao nhày sẽ giúp chúng bám được trên các giá thể và không bị nước rửa trôi. Đây là những vi khuẩn có vai trò quan trọng trong việc làm sạch nước.

2.6. Lông (roi) và khuẩn mao

Khi quan sát nhiều loại vi khuẩn, người ta thấy chúng có thể chuyển động được trong môi trường lỏng. Sự chuyển động đó có khi là hoàn toàn ngẫu nhiên nhưng cũng không ít trường hợp là do chúng tìm đến hoặc tránh xa một yếu tố nào

đó như: tìm đến nguồn thức ăn, tới chỗ có ánh sáng, ẩm áp hoặc tránh xa những nơi có hoá chất độc hại. Sự chuyển động đó được thực hiện nhờ hệ thống roi trên bề mặt vi khuẩn.

Lông (cilia, roi-flagella) là những sợi lông dài, uốn khúc, mọc ở mặt ngoài của tế bào. Lông đặc biệt được gọi là roi. Thành phần cấu tạo của lông (roi) là các protein flagellin. Roi không nằm ngẫu nhiên mà phân bố có quy luật trên bề mặt tế bào. Đặc điểm phân bố có tính đặc thù tùy theo loại vi khuẩn. Roi có thể nằm ở một đầu, ở cả hai đầu, nằm ở giữa hoặc khắp xung quanh tế bào. Roi hoạt động theo cách quay như kiểu vặn nút chai. Nhờ có sự vận động của roi mà vi khuẩn có thể chuyển động trong dịch lỏng với tốc độ khoảng $20 - 80\mu\text{m/s}$.

Ngoài lông (roi), trên bề mặt của vi khuẩn còn có hệ thống khuẩn mao (pilus hay fimbria) bao phủ. Khác với roi, khuẩn mao có kích thước nhỏ và có số lượng lớn hơn rất nhiều. Khuẩn mao không có vai trò vận động mà giúp cho tế bào bám dính vào giá thể. Đây là đặc điểm khiến nhiều loại vi khuẩn gây bệnh có thể sống bám trên vật chủ (ví dụ đường tiêu hoá, đường hô hấp, đường tiết niệu,...).

3. CẤU TRÚC TẾ BÀO EUKARYOTA

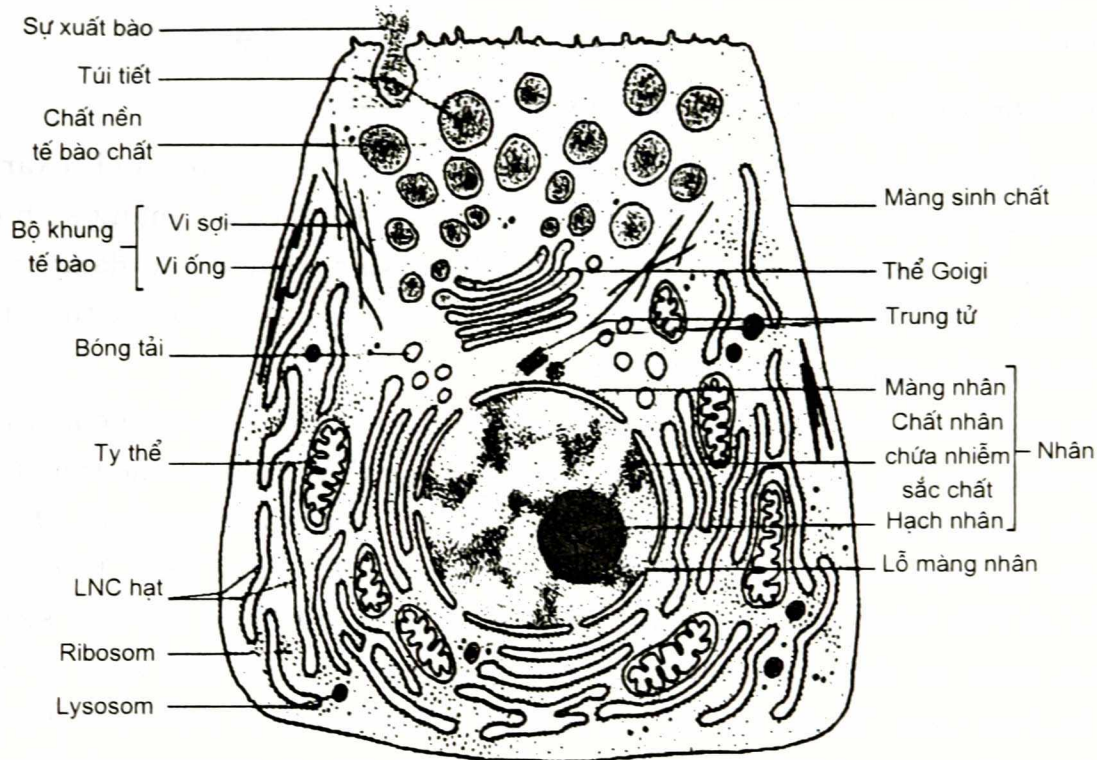
Theo hệ thống phân loại của R. H. Whittaker, các sinh vật trên Trái Đất được phân thành 5 giới là Monera, Protista, Nấm (Fungi), Động vật (Animalia) và Thực vật (Plantae). Trong đó, các sinh vật thuộc giới Monera có cấu tạo cơ thể từ tế bào Prokaryota, bốn giới còn lại có cấu tạo từ tế bào Eukaryota. Tế bào Eukaryota có kích thước thay đổi tùy loại nhưng nói chung lớn hơn tế bào Prokaryota ($10 - 100\mu\text{m}$). Cấu trúc tế bào Eukaryota khá phức tạp. Tế bào chất không còn là một khối đồng nhất như ở tế bào Prokaryota mà thay vào đó chứa rất nhiều các bào quan với những chức năng chuyên hoá khác nhau (hình 1.2).

Tính từ ngoài vào trong, tế bào Eukaryota cũng gồm 3 thành phần chính là màng sinh chất bao bọc bên ngoài, bên trong là một khối tế bào chất, ở giữa tế bào là nhân. Để dễ dàng cho việc nghiên cứu, có thể tạm chia các bào quan trong tế bào ra làm 3 nhóm lớn có liên hệ với nhau về mặt chức năng như sau:

- Các bào quan thuộc hệ màng trong: lưới nội chất (có hạt, không hạt), phức hệ Golgi, lysosom, peroxysom.
- Các bào quan tham gia sản sinh năng lượng: ty thể, lục lạp.
- Các bào quan tham gia biểu hiện gen: nhân, ribosom.

Ngoài những bào quan kể trên, trong tế bào còn một số các cấu trúc khác như bộ khung xương, trung tử, các hạt dự trữ v.v... Mỗi loại tế bào đều có những cấu

trúc đặc thù riêng, phù hợp với chức năng mà nó đảm nhiệm. Nội dung chương này chỉ đề cập đến một số bào quan chính.



Hình 1.2. Cấu trúc tế bào Eukaryota

3.1. Màng sinh chất

Màng sinh chất là một dạng của màng sinh học, được coi là tiền thân của tất cả các hệ thống màng trong tế bào. Về cấu tạo, màng sinh học là một màng lipoprotein dày chỉ khoảng 7–10nm. Người ta giả thiết rằng, tế bào sơ khai được hình thành dưới dạng một túi màng bao bọc các phân tử hữu cơ (tương tự tế bào Prokaryota). Về sau, lớp màng này được phân hoá vào trong, tạo nên một hệ thống màng nội bào phân chia tế bào chất thành những khu vực với chức năng riêng biệt (tế bào Eukaryota). Những khu vực đó là các bào quan. Nhờ có sự phân hoá này, các hoạt động của tế bào được thực hiện một cách có trật tự và hiệu quả hơn rất nhiều. Màng sinh học không chỉ đơn thuần có vai trò ngăn cách mà còn là nơi diễn ra rất nhiều hoạt động trao đổi cũng như chuyển hoá của tế bào.

Màng sinh chất của tế bào ở hầu hết các sinh vật đều có những chức năng chung, đó là:

- Ngăn cách tế bào với môi trường, giúp tế bào trở thành một hệ thống biệt lập.
- Thực hiện quá trình trao đổi chất, thông tin giữa tế bào và môi trường.
- Là giá thể để gắn các enzym của quá trình trao đổi chất trong tế bào.

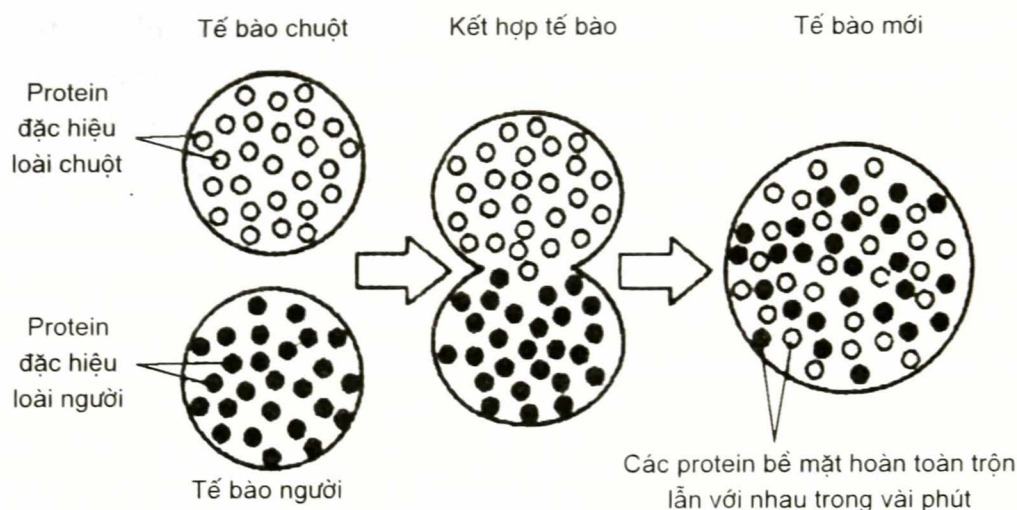
Với đặc điểm bao bọc toàn bộ tế bào, màng sinh chất tạo cho tế bào trở thành một hệ thống biệt lập. Qua màng sinh chất, tế bào thực hiện sự trao đổi chất với môi trường một cách có chọn lọc, phù hợp với nhu cầu sinh trưởng và phát triển của tế bào cũng như cơ thể.

3.1.1. Thành phần và cấu trúc của màng sinh chất

Màng sinh chất là một lớp màng bao phủ tế bào chất có ở cả tế bào Prokaryota và Eukaryota. Thậm chí một số loại virus cũng được bao bọc bởi màng sinh chất (như *Togavirus*, *Rabdo virus*, *Micovirus*,...). Màng sinh chất ở các dạng tế bào thường khác nhau về tỷ lệ cũng như sự phân bố của một số cấu trúc, thế nhưng chúng đều có bản chất là lớp lipoprotein.

Cấu trúc của màng sinh chất đã được nghiên cứu từ rất sớm, có thể kể ra một số công trình nổi bật như sau. Năm 1899, sau những thực nghiệm cho thấy tốc độ thẩm vào màng của các chất tỷ lệ thuận với tốc độ hoà tan trong lipid, Overton đã đi đến giả thuyết màng tế bào là một lớp lipid. Đến năm 1925, Gortner và Grendel đã tiến hành xác định diện tích lipid của màng hồng cầu sau khi trải trên mặt nước và thấy rằng diện tích đó rộng gấp đôi diện tích tổng số màng hồng cầu được tách. Từ đó, hai tác giả đề xuất màng tế bào là một hệ thống 2 lớp màng lipid. Vào năm 1952, Davson và Danielli đã đưa ra một trong những mô hình hoàn thiện đầu tiên về cấu tạo của màng sinh chất. Theo đó, nền tảng của màng sinh chất là lớp lipid kép, nằm ở mặt trong và mặt ngoài màng còn có thêm hai lớp protein liên tục. Mô hình này phù hợp với những phân tích về thành phần hoá học cũng như những quan sát trên kính hiển vi thời bấy giờ. Tuy nhiên, càng nghiên cứu sâu, người ta càng thấy mô hình của Davson và Danielli còn nhiều khiếm khuyết. Protein không nằm cố định một cách cứng nhắc ở hai mặt của màng mà có sự phân bố linh hoạt và có khả năng vận động được. Để chứng minh, người ta đã tiến hành lai hai loại tế bào của người và của chuột với nhau. Kết quả là chỉ sau một vài phút, protein đặc hiệu của hai loại tế bào này hoàn toàn trộn đều với nhau (hình 1.3).

Đến năm 1972, Singer và Nicolson đã đề xuất một mô hình màng sinh chất mới, gọi là mô hình khảm lỏng. Đây là mô hình được thừa nhận rộng rãi hiện nay. Theo Singer và Nicolson, màng tế bào cũng có nền tảng là lớp phospholipid kép. Trên màng cũng có các protein nhưng protein không chỉ nằm ở hai bề mặt mà được định khu và phân tán linh hoạt theo kiểu “khảm” vào lớp kép phospholipid. Về thành phần hoá học, màng sinh chất chứa 3 nhóm hợp chất là: lipid, protein và hydratcarbon.



Hình 1.3. Sơ đồ thí nghiệm lai tế bào chuột và tế bào người

3.1.1.1. Lipid

Lipid chiếm khoảng 50% (dao động từ 25–75%) trọng lượng màng. Các lipid chủ yếu của màng gồm:

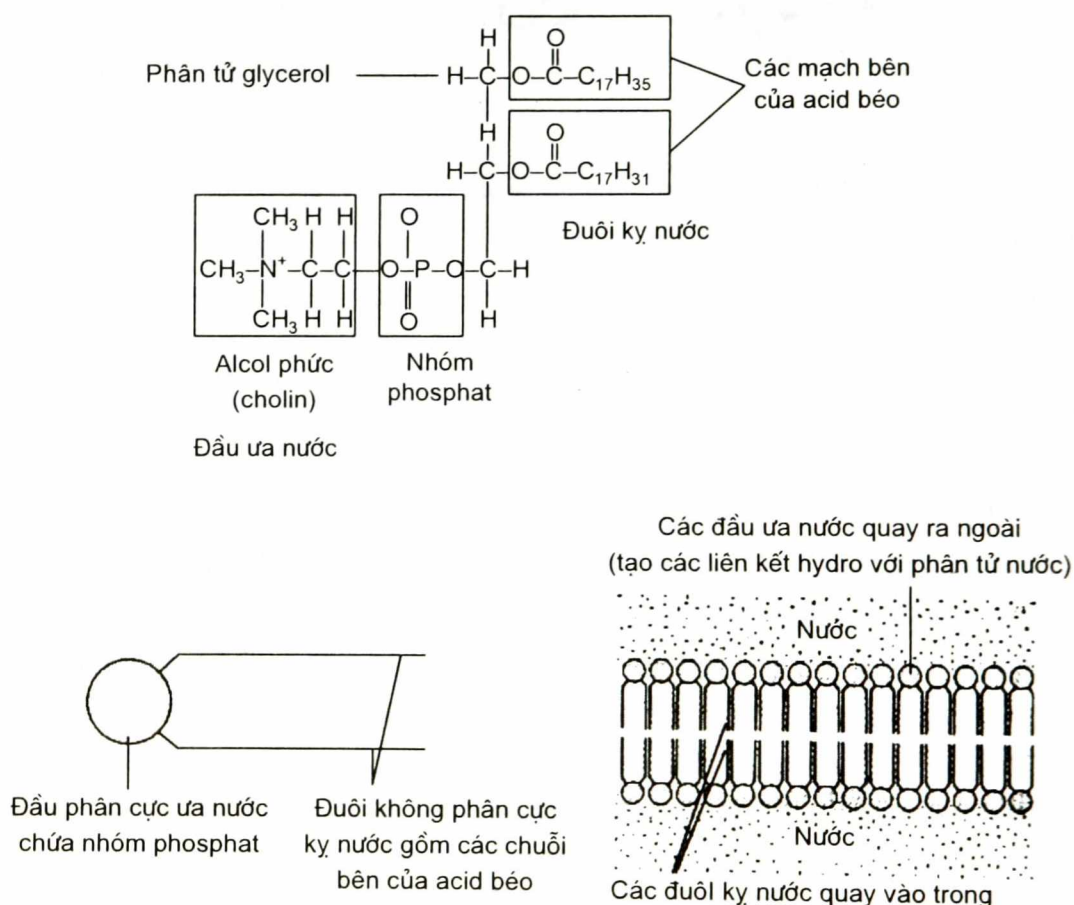
- Phospholipid (chiếm khoảng 55–57%).
- Cholesterol.
- Glycolipid.

Nền tảng cơ bản của màng sinh chất là một lớp kép các phân tử phospholipid. Khung của phospholipid là một phân tử glycerol có 3 carbon. Gắn với C1 và C2 là các acid béo có trọng lượng phân tử lớn (acid palmitic và oleic), các acid này có thể ở dạng no hoặc không no. Hai acid béo này cùng quay về một phía so với khung glycerol. Do tính không phân cực nên hai acid béo này sẽ tạo nên đầu kỵ nước của phân tử phospholipid. Gắn vào vị trí C3 là phân tử rượu đã được phosphoryl hoá và có tính phân cực (rượu phosphocholin). Phân tử này quay về phía đối diện với hai acid béo và tạo nên đầu ưa nước của phân tử phospholipid. Với kiểu cấu tạo này phospholipid là một phân tử lưỡng cực: một đầu phân cực (ưa nước) và một đầu không phân cực (kỵ nước) (hình 1.4).

Khi đưa một nhóm các phân tử phospholipid vào nước, các phân tử nước sẽ hút đầu phân cực của phân tử phospholipid về phía mình và đẩy đầu không phân cực ra xa. Bởi hiện tượng này nên các phân tử phospholipid sẽ ngẫu nhiên được sắp xếp theo kiểu quay đầu không phân cực vào nhau, còn đầu phân cực hướng ra ngoài. Cấu trúc này có thể có dạng hình cầu (còn gọi là mixen) hoặc dạng lớp kép. Trong đó, dạng lớp kép chính là nền tảng của màng sinh chất. Sự sắp xếp các phân tử phospholipid để tạo nên lớp màng này có tính tự phát và không tiêu tốn năng lượng.

Thành phần lipid thứ hai có mặt trong màng sinh chất là các cholesterol. Phân tử cholesterol có cấu tạo gồm một nhóm phân cực liên kết với nhân steroid. Các phân tử cholesterol xếp xen kẽ vào lớp màng kép phospholipid theo phương thức nhân steroid thì nằm cạnh các đuôi acid béo, còn đầu phân cực thì xếp gần với rượu phosphocholin, nghĩa là các thành phần có cùng tính chất phân cực thì nằm gần nhau. Khi nằm xen kẽ với các phân tử phospholipid, cholesterol sẽ có vai trò cố định cơ học cho màng bởi chúng làm cho các đuôi acid béo trở nên bất động. Các phân tử phospholipid vì thế khó có thể chuyển dịch được.

Dạng lipid thứ ba là glycolipid. Đó là các lipid liên kết với oligosaccarid.



Hình 1.4. Công thức cấu tạo phân tử phospholipid và sự hình thành lớp màng kép trong môi trường nước

3.1.1.2. Protein

Protein trong màng sinh chất chiếm khoảng 25–75% trọng lượng màng. Thành phần cũng như chức năng của protein màng rất đa dạng. Nó có thể là protein cấu trúc, enzym xúc tác, protein vận chuyển chất qua màng, thụ thể màng, thu nhận thông tin, v.v.. Có thể ví protein như những công cụ được gắn trên lớp màng kép phospholipid.

Tuỳ theo cách sắp xếp mà người ta phân ra hai loại protein:

– Protein xuyên màng.

– Protein rìa màng.

a) Protein xuyên màng

Những protein này nằm xuyên qua chiều dày của màng và liên kết rất chặt chẽ với lớp kép lipid qua chuỗi acid béo. Có loại protein xuyên màng 1 lần, ví dụ như glycophorin ở màng tế bào hồng cầu. Có loại protein xuyên màng nhiều lần, ví dụ như protein band₃ cũng ở tế bào hồng cầu giống glycophorin nhưng xuyên màng tới 12 lần hoặc bacteriorhodopsin là một loại protein xuyên màng tới 7 lần có ở vi khuẩn. Với những protein xuyên màng, phần nằm trong màng thường có tính không phân cực và liên kết với đuôi kỵ nước của lớp kép phospholipid. Còn đầu thò ra ngoài rìa màng tế bào (có thể ở rìa ngoài hoặc rìa trong) của các protein này có tính phân cực và thường là nhóm amin hoặc carboxyl. Bên cạnh đó, những phần protein nằm ở rìa ngoài màng hay liên kết với hydratcarbon tạo nên các glycoprotein.

Nhiều nghiên cứu cho thấy các protein xuyên màng một lần phần nhiều có vai trò là các thụ thể (receptor). Còn các protein xuyên màng nhiều lần thường là các kênh dẫn truyền phân tử.

Một số ví dụ về protein xuyên màng:

Glycophorin là một loại protein xuyên màng một lần ở hồng cầu, có cấu tạo gồm 131 acid amin. Nằm ở phía rìa ngoài màng là chuỗi peptid chứa nhóm amin ở đầu, chuỗi này liên kết với một loại hydratcarbon chứa tới 16 mạch oligosaccarid. Các oligosaccarid này tạo phần lớn các hydratcarbon của bề mặt màng tế bào. Nằm ở phía rìa trong là chuỗi peptid chứa nhóm carboxyl ở đầu. Phần này thường liên kết với các protein nằm bên trong tế bào chất.

Protein band₃ được nghiên cứu đầu tiên ở hồng cầu. Đây là một protein xuyên màng nhiều lần, có cấu tạo từ một chuỗi peptid rất dài, gồm tới 930 acid amin. Giống như glycophorin, phần thò ra rìa ngoài màng của band₃ cũng liên kết với một số oligosaccarid. Vai trò của protein band₃ là một kênh dẫn truyền anion. Hoạt động của protein band₃ có liên quan mật thiết đến chức năng chuyên chở O₂ và CO₂ của hồng cầu.

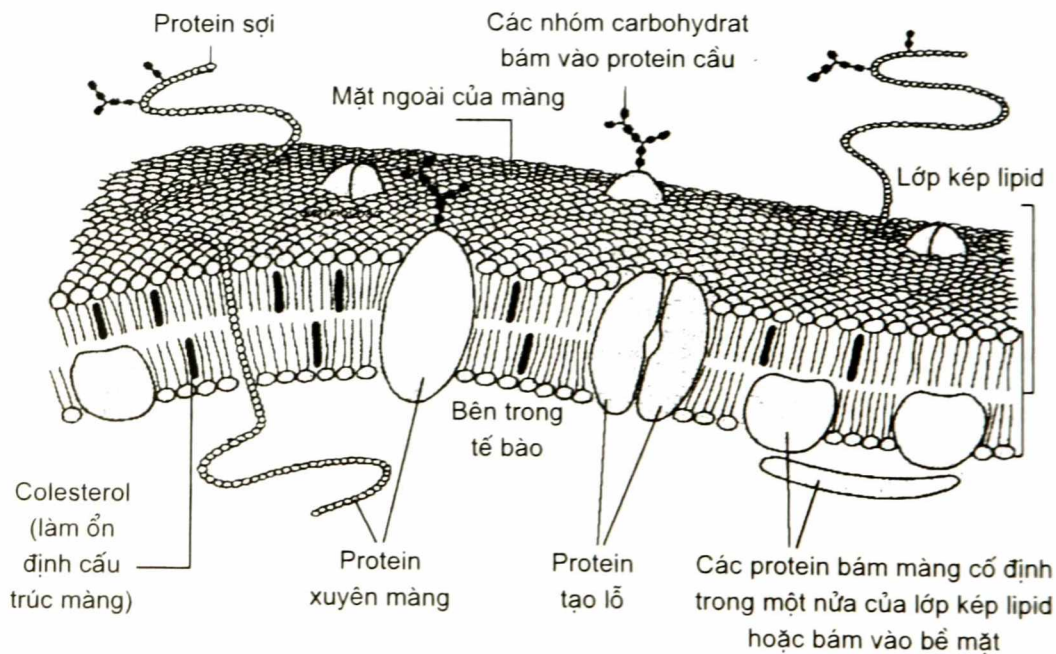
b) Protein rìa màng

Protein rìa màng chiếm khoảng 30% thành phần protein màng. Chúng có thể nằm ở rìa ngoài hoặc rìa trong của màng. Những protein này liên kết với lớp kép phospholipid thông qua liên kết hoá trị. Ngoài ra, chúng cũng có thể liên kết với các protein xuyên màng thông qua lực hấp phụ.

Nhiều protein rìa màng tham gia vào chức năng liên kết của tế bào. Ví dụ protein fibronectin là một loại protein rìa ngoài màng, có ở hầu hết các loài động vật. Fibronectin có dạng mạng lưới áp sát bề mặt ngoài của màng tế bào. Nhờ có protein này mà tế bào động vật có thể bám dính với nhau hoặc bám vào giá thể. Fibronectin được giữ trên bề mặt tế bào nhờ các protein xuyên màng. Tế bào ung thư có khả năng sản sinh ra fibronectin nhưng lại không giữ được nó trên bề mặt màng, làm tế bào mất khả năng bám dính với các tế bào khác. Đó cũng là một trong những nguyên nhân khiến cho tế bào ung thư có thể di cư đi nhiều nơi trong cơ thể.

Một ví dụ khác về protein rìa màng là các protein actin, spectrin, ankyrin và band_{4.1} có ở hồng cầu. Bốn loại protein trên đan với nhau tạo nên một cấu trúc lưới nằm ở rìa trong của màng hồng cầu. Mất lưới là hình 6 cạnh. Trong đó, cạnh lưới là protein spectrin dạng sợi xoắn. Còn các góc được cấu tạo từ protein actin, ankyrin và band_{4.1}. Lưới được gắn với màng thông qua liên kết giữa ankyrin và protein band₃. Nhờ có cấu trúc lưới này neo giữ mà tế bào hồng cầu có dạng đĩa lõm hai mặt, giúp tăng cường khả năng trao đổi khí với môi trường xung quanh.

3.1.1.3. Hydratcarbon



Hình 1.5. Mô hình màng sinh chất theo Singer và Nicolson

Khoảng 2 – 10% hydratcarbon trong màng sinh chất là những mạch oligosaccarid hoặc polysaccarid. Chúng thường liên kết với lipid hoặc protein để tạo nên các glycolipid và glycoprotein. Người ta thấy rằng khoảng một phần mười số phân tử lipid màng có gắn với hydratcarbon ở đầu ưa nước. Đặc điểm phân bố

của hydratcarbon là luôn được định khu ở bề mặt ngoài của màng. Phần hydratcarbon này tạo nên một lớp cấu trúc sợi với chức năng khá đa dạng. Ví dụ, như tạo điện tích âm cho màng (hầu hết mặt ngoài tế bào động vật đều tích điện âm), tạo kháng nguyên bề mặt, tham gia liên kết tế bào.

3.1.2. Tính linh hoạt của màng sinh chất

Màng sinh chất không phải là một cấu trúc cứng nhắc mà là một hệ thống có tính linh hoạt cao. Sự linh hoạt đó được quy định bởi các thành phần cấu tạo nên màng.

3.1.2.1. Tính linh hoạt của lớp kép phospholipid

Như đã trình bày ở trên, phân tử phospholipid chứa hai acid béo có mạch carbon rất dài tạo nên đầu kỵ nước nằm bên trong màng. Hai acid béo này có thể ở dạng no hoặc không no. Khi ở trạng thái no, hai mạch acid béo có dạng đuôi thẳng. Các phân tử phospholipid nằm sát nhau nên màng ở trạng thái nhót. Khi ở trạng thái chưa no, mạch carbon của acid béo có dạng gấp khúc. Điều này khiến cho các phân tử phospholipid đẩy nhau ra xa. Cấu trúc màng trở nên lỏng lẻo và có dạng lỏng. Số lượng phân tử phospholipid ở trạng thái no hoặc không no vì thế có ảnh hưởng đến tính linh hoạt của màng.

Số lượng phân tử cholesterol cũng làm thay đổi tính ổn định của màng. Các phân tử này có vai trò cố định các phân tử phospholipid về mặt cơ học nên màng chứa nhiều cholesterol thì tính ổn định càng cao.

Các phân tử phospholipid trong lớp kép không đứng yên tại chỗ mà có sự dịch chuyển vị trí. Sự chuyển động này phụ thuộc vào tình trạng của màng sinh chất đang ở dạng lỏng hay nhót. Sự chuyển động sẽ diễn ra mạnh hơn khi màng sinh chất ở dạng lỏng. Khi chuyển động dịch chỗ, các phân tử lipid sẽ chuyển chỗ theo chiều ngang (sang bên cạnh), đây là loại chuyển động nhanh. Không chỉ chuyển động ngang, phân tử phospholipid còn có khả năng chuyển chỗ từ lớp lipid này sang lớp lipid khác (còn gọi là chuyển dịch “bấp bênh” hay chuyển dịch Flip-Flop), đây là kiểu chuyển dịch chậm.

3.1.2.2. Tính linh hoạt của các protein màng

Nhiều loại protein có khả năng chuyển động quay và dịch chỗ trong màng. Bình thường các phân tử protein phân bố tương đối đồng đều, nhưng khi có một tác động nào đấy của môi trường (nhiệt độ, pH, kháng thể,...) chúng có thể di chuyển và tập hợp thành đám. Nhiều thực nghiệm cho thấy, nếu không được neo giữ, phân tử protein có thể chuyển dịch trên màng với tốc độ chừng 10nm/phút.

Một trong những ví dụ về sự chuyển dịch của protein màng do sự tác động bên ngoài là các glycoprotein ở tế bào lympho. Các glycoprotein này bình thường phân bố đồng đều trên màng sinh chất. Khi xử lý tế bào ở nhiệt độ lạnh hoặc khi tế bào ngừng trao đổi chất, chúng sẽ tập hợp lại thành nhóm, tạo nên “mũ kháng nguyên” ở tế bào lympho.

3.2. Tế bào chất

Tế bào chất của tế bào Eukaryota cũng là một khối dịch lỏng song không đồng nhất mà được phân chia thành nhiều khu vực khác nhau, gọi là các bào quan. Mỗi bào quan có một cấu trúc và chức năng chuyên biệt.

3.2.1. Lưới nội chất

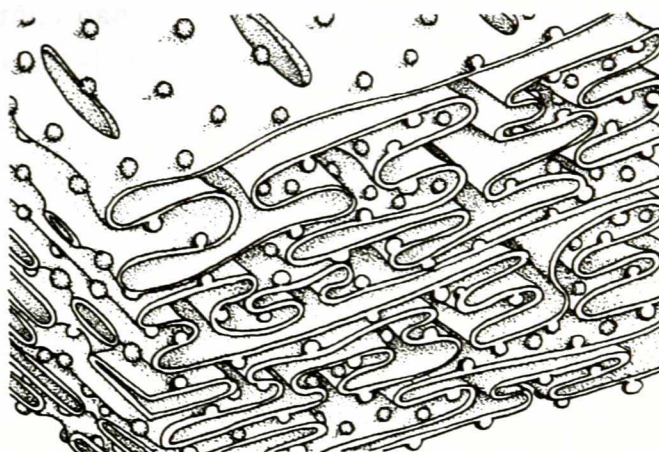
Mạng lưới nội chất (endoplasmic reticulum) được phát hiện vào những năm 50 của thế kỷ XX nhờ những tiến bộ của kỹ thuật kính hiển vi điện tử. Đây là một hệ thống phức tạp bao gồm các kênh, các túi liên thông nhau và phân bố khắp trong tế bào chất. Chính vì phân bố rộng như vậy nên lưới nội chất là thành phần chủ yếu của hệ màng trong. Hầu hết các tế bào Eukaryota đều có lưới nội chất (trừ hồng cầu trưởng thành). Cấu trúc cũng như mức độ phát triển của lưới nội chất thay đổi tùy loại tế bào, trong đó phát triển nhất là ở những tế bào có chức năng bài tiết protein. Ngay cả đối với một tế bào, ở những giai đoạn khác nhau, mức độ phát triển của lưới nội chất cũng khác nhau. Những tế bào đang trong trạng thái phân chia thường có hệ thống lưới nội chất phát triển kém.

Về cấu tạo, lưới nội chất cũng có cấu tạo từ lớp phospholipid giống như màng sinh chất tuy có mức độ linh hoạt cao hơn. Lưới nội chất được chia ra làm hai loại là lưới nội chất có hạt và lưới nội chất trơn.

3.2.1.1. Lưới nội chất có hạt

Loại lưới nội chất này phát triển ở những loại tế bào có mức độ tổng hợp protein mạnh. Ví dụ, tế bào bạch cầu, tế bào tuyến tụy... Lưới nội chất có hạt có cấu tạo gồm các kênh, các xoang dẹt thông nhau. Trên bề mặt có gắn rất nhiều hạt ribosom với chức năng tổng hợp protein. Lưới nội chất có hạt thường nằm sát và nối liền với màng nhân, từ đó lan rộng vào tế bào chất. Ở một số loại tế bào, lưới nội chất còn thông với cả màng sinh chất (hình 1.6).

Khi lưới nội chất hoạt động, các protein sau khi được ribosom tổng hợp sẽ tập trung trong lòng túi. Tiếp đó, các protein này sẽ đi theo các kênh của lưới nội chất và chuyển đến phức hệ Golgi để tiếp tục được hoàn thiện thành sản phẩm hoàn chỉnh.



Hình 1.6. Mô hình lưới nội chất có hạt (theo I. Livingstone©Biodidac)

3.2.1.2. Lưới nội chất trơn

Lưới nội chất trơn có cấu tạo từ các ống lớn, nhỏ phân nhánh. Bề mặt của lưới không có ribosom mà thay vào đó là một hệ thống các enzym phục vụ cho quá trình chuyển hoá lipid và hydratcarbon. Lưới nội chất trơn không nằm tách biệt mà nối liền với lưới nội chất có hạt. Điều này khiến cho hai loại lưới nội chất đôi khi rất khó phân biệt với nhau.

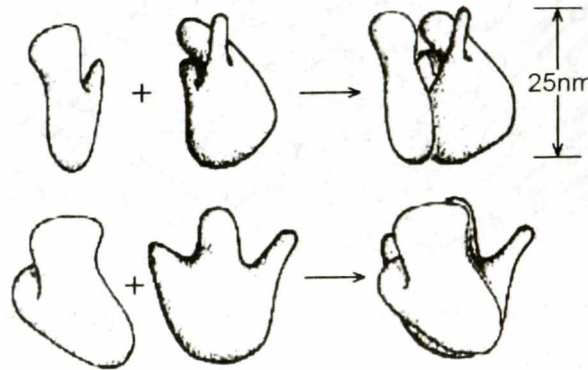
Chức năng của lưới nội chất trơn khá đa dạng. Với hệ thống enzym trên bề mặt, lưới nội chất thực hiện quá trình tổng hợp và chuyển hóa các lipid, hydratcarbon. Ở tế bào gan, lưới nội chất tham gia vào việc tổng hợp các enzym giúp khử một số độc tố xâm nhập vào tế bào. Các loại thuốc như amphetamin, morphin, codein, phenobarbitan,... đều là những thành phần bị chuyển hoá bởi tế bào gan. Tế bào não cũng là một trong những loại tế bào có lưới nội chất trơn phát triển mạnh với chức năng tổng hợp một số hormone giới tính. Ngoài ra, lưới nội chất trơn còn phát triển mạnh ở các tế bào mô mỡ, tế bào tuyến nhờn ở da, vỏ tuyến thượng thận,...

Đặc điểm chung của lưới nội chất có hạt và lưới nội chất trơn là các sản phẩm sau khi tạo ra được vận chuyển trong lòng lưới đến các vùng khác nhau của tế bào. Với đặc điểm này, hệ thống lưới nội chất có vai trò như là một hệ thống giao thông nội bào.

3.2.2. Ribosom

Mặc dù ribosom là một bào quan có kích thước nhỏ và cấu tạo không phức tạp song nó có vai trò vô cùng quan trọng đối với tế bào. Chúng là nơi thực hiện quá trình sinh tổng hợp protein. Phần lớn ribosom được định khu trên bề mặt ngoài của lưới nội chất có hạt. Tại đây, chúng được sắp xếp theo từng chuỗi dài, theo hình hoa thị hoặc hình xoắn. Các ribosom này được gắn với lưới nội chất thông qua

protein riboforin. Ribosom còn nằm tự do trong tế bào chất. Ở những tế bào có mạng lưới nội chất có hạt phát triển kém thì đây là trạng thái chủ yếu của ribosom. Ngoài ra, ribosom còn được tìm thấy trong cả ty thể và lục lạp – là các bào quan có kích thước lớn trong tế bào.



Hình 1.7. Sự lắp ráp hai tiểu đơn vị tạo nên ribosom

Về mặt cấu tạo, ribosom có kích thước khoảng 20 – 35nm. Được cấu tạo từ hai tiểu đơn vị lớn (60S) và nhỏ (40S). Cả hai tiểu đơn vị đều có thành phần gồm ARN ribosom và các protein (hình 1.7). Mặc dù có cả ở hai loại tế bào nhưng ribosom của tế bào Eukaryota khác với tế bào Prokaryota về kích thước. Hằng số lắng ribosom của tế bào Eukaryota là 80S, còn của tế bào Prokaryota là 70S.

3.2.3. Phức hệ Golgi

Phức hệ Golgi (Golgi complex) là một hệ thống tương đối phức tạp, thường nằm gần với lưới nội chất. Ở động vật, số lượng phức hệ Golgi có thể thay đổi từ 3 – 20 phức hệ/tế bào. Ở tế bào thực vật, phức hệ Golgi còn có một tên gọi khác là dictiosom với số lượng khoảng một vài trăm/ tế bào.

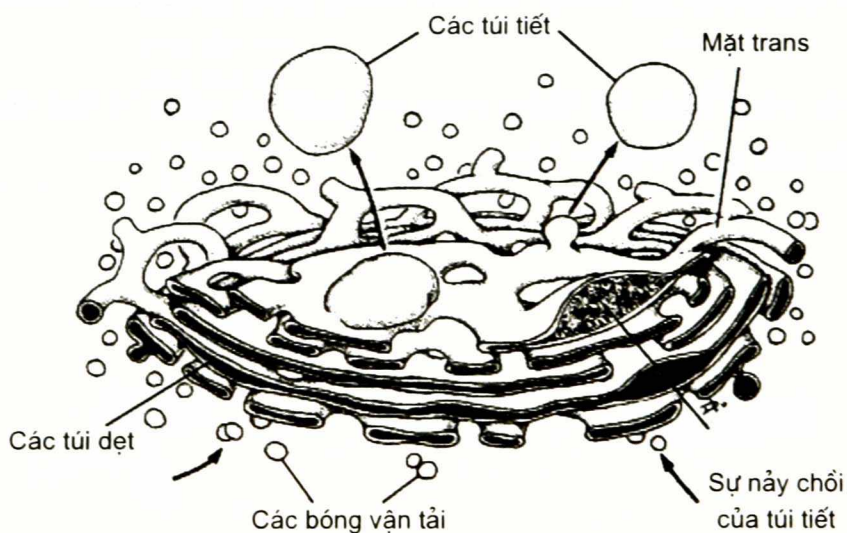
Phức hệ Golgi có cấu tạo gồm các túi dẹt lớn nhỏ, xếp chồng lên nhau. Hai mép túi uốn cong. Chiều dày mỗi túi khoảng 20 – 40nm. Màng túi cũng giống như màng lưới nội chất, có thành phần là lớp lipoprotein. Dựa vào kích thước, người ta chia các túi tạo nên phức hệ Golgi thành 3 loại:

- Hệ thống các bể chứa: thường xếp thành bó hoặc chồng 5–8 bể kề sát nhau.
- Không bào lớn: thường nằm cạnh hoặc xen kẽ vào các bó bể chứa.
- Không bào bé: có kích thước nhỏ nhất, thường nằm ở mép bể chứa.

Các loại túi này có mối liên hệ và nguồn gốc liên quan đến nhau. Khi các bể chứa phình lên, chúng có thể trở thành các không bào lớn. Các không bào này khi xếp xuống lại trở thành bể chứa. Còn các không bào bé có thể được hình thành do sự tách ra ở mép bể chứa.

Phức hệ Golgi có ba miền cis, trans và miền trung gian. Miền cis hướng vào lưới nội chất, miền trans hướng ra ngoài màng tế bào, còn miền trung gian nằm ở giữa (hình 1.8).

Mức độ phát triển của các thành tố cấu tạo nên phức hệ Golgi khác nhau tùy loại tế bào. Ví dụ, trong tế bào thận, tế bào neuron, tế bào gan thì hệ thống bể chứa phát triển. Trong khi đó ở tinh tử, tinh trùng và noãn bào thì hệ thống bể chứa phát triển rất yếu hoặc thiếu hẳn, phức hệ Golgi chỉ gồm các không bào lớn nhỏ. Trong cùng một cơ thể nhưng ở các giai đoạn phát triển khác nhau, cấu tạo của phức hệ Golgi cũng khác nhau. Ở chuột cống, trong giai đoạn đầu phát triển của phôi, phức hệ Golgi của tế bào tuyến tụy chỉ là hệ thống bể chứa phát triển yếu, không có không bào lớn nhỏ. Về sau, từ hệ thống bể chứa này mới tách ra các không bào bé với số lượng ngày càng nhiều. Ở những giai đoạn phát triển muộn hơn của phôi, bể chứa bắt đầu phình to lên để trở thành các không bào lớn.



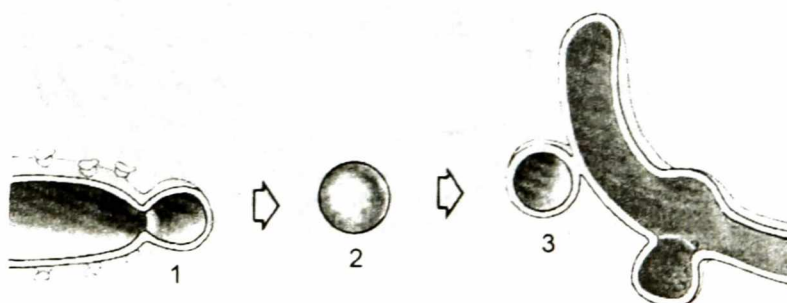
Hình 1.8. Phức hệ Golgi (theo David H. Cormack)

Vai trò của thể Golgi là thu góp, chế biến, đóng gói và phân phát các sản phẩm của lưới nội chất. Sản phẩm của lưới nội chất, bao gồm các hydratcarbon, các lipid, các protein thường chỉ ở dạng thành tố cơ bản. Để trở thành các sản phẩm có chức năng hoàn chỉnh, chúng cần được chế biến ở phức hệ Golgi. Ví dụ, quá trình hình thành các enzym thủy phân chứa trong lysosom: các protein sau khi được chuyển đến phức hệ Golgi từ lưới nội chất, tại đây chúng sẽ được gắn các phân tử đường để tạo nên glycoprotein. Tiếp đó, các glycoprotein này lại được phosphoryl hoá để trở thành enzym có chức năng hoàn chỉnh, được bao gói trong các túi nhỏ gọi là lysosom. Các sản phẩm của phức hệ Golgi gồm nhiều chủng loại với các vai trò khác nhau. Ví dụ, các enzym thủy phân, các hạt noãn hoàng, các hormone steroid,

các hormone insulin v.v... Chúng có thể được sử dụng ngay trong tế bào hoặc bài xuất ra ngoài môi trường.

Quá trình chế biến tại phức hệ Golgi bắt đầu từ mặt cis và hoàn thành ở mặt trans. Các sản phẩm của lưới nội chất như protein, lipid, hydratcarbon được vận chuyển đến phức hệ Golgi dưới dạng các túi nhỏ. Các túi này nhập vào hệ thống bể chứa của phức hệ Golgi ở mặt cis (hình 1.9). Tiếp đó, các sản phẩm sẽ được chuyển dần lên mặt trans. Trong quá trình vận chuyển đó, sản phẩm sẽ được lắp ráp với nhau, được biến đổi để khi nằm ở mặt trans thì chúng đã trở thành sản phẩm hoàn chỉnh. Theo một số nghiên cứu, quá trình vận chuyển bên trong phức hệ Golgi được thực hiện thông qua phương thức nảy chồi. Sau khi kết thúc mỗi giai đoạn chế biến, sản phẩm sẽ tách ra ở mép bể chứa dưới dạng các túi nhỏ và nhập vào bể chứa phía trên. Tại đây, quá trình hoàn thiện sản phẩm lại tiếp tục diễn ra. Khi đã nằm ở mặt trans, các sản phẩm không bài xuất ra ngoài tế bào chất một cách tự do mà được bao gói trong các túi màng tách ra từ mặt trans của phức hệ Golgi.

Có thể thấy rằng phức hệ Golgi cùng với lưới nội chất là hai thành phần tạo nên dây chuyền sản xuất của tế bào.



Hình 1.9. Sự vận chuyển sản phẩm từ lưới nội chất có hạt đến thể Golgi

1. Nảy chồi từ lưới nội chất hạt; 2. Vận chuyển dưới dạng bóng tải; 3. Nhập vào phức hệ Golgi.

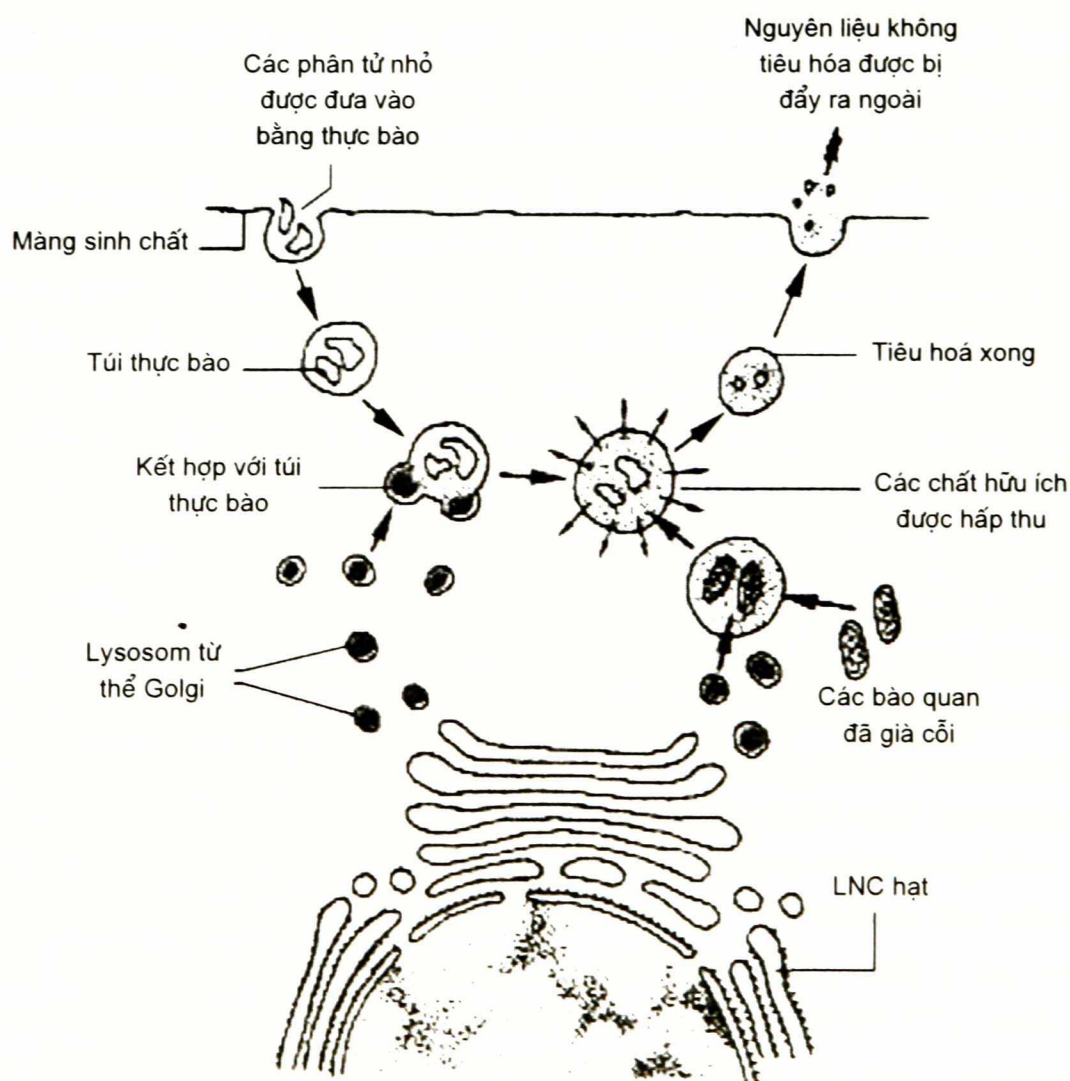
3.2.4. Lysosom

Lysosom là một trong rất nhiều sản phẩm của phức hệ Golgi với vai trò là tham gia vào quá trình tiêu hoá nội bào. Các khối chất hữu cơ sau khi đưa vào tế bào sẽ được phân giải nhờ lysosom.

Lúc mới hình thành, lysosom chỉ là các túi có kích thước nhỏ ($0,3 - 0,5\mu\text{m}$) có dạng hình cầu hoặc hình trứng được giới hạn bởi màng lipoprotein, bên trong chứa các enzym thuỷ phân. Loại lysosom này được gọi là lysosom cấp 1 và ở trạng thái chưa hoạt động. Chúng được tạo ra do sự nảy chồi ở mép các bể chứa của phức hệ Golgi. Số lượng lysosom cấp 1 được sản sinh tùy thuộc loại tế bào. Các tế bào bạch

cầu mono, các bạch cầu trung tính là những loại tế bào có số lượng lysosom trong tế bào chất tương đối lớn.

Lysosom cấp 1 chuyển sang trạng thái hoạt động khi chúng được dung hợp với các túi nhập bào. Trong quá trình nhập bào, các khối chất hữu cơ được đưa vào tế bào dưới dạng các túi màng. Các túi này được đưa sâu vào trong tế bào chất và dung hợp với các lysosom cấp 1. Qua đó, enzym thuỷ phân từ lysosom cấp 1 sẽ được giải phóng vào túi và tiến hành phân cắt các phân tử hữu cơ. Dạng dung hợp giữa túi thực bào và lysosom cấp 1 được gọi là lysosom cấp 2, dạng lysosom đang hoạt động. Các đường đơn, acid amin, nucleotid,... được tạo ra sau khi enzym phân cắt khối chất hữu cơ sẽ được giải phóng vào trong tế bào chất. Các thành phần không sử dụng được nằm lại trong túi và được thải ra ngoài theo phương thức xuất bào (hình 1.10).



Hình 1.10. Sự tạo thành và hoạt động của lysosom

Các enzym thủy phân chứa trong lysosom có thể quy về bốn nhóm chính là protease, lipase, glucosidase, nuclease. Ngoài ra, còn có một số nhóm khác như phosphatase, phospholipase, sunfatase v.v... Các enzym này có đặc điểm chung là hoạt động trong điều kiện pH = 5, trong khi đó pH của tế bào chất bằng 7. Chính điều kiện pH đặc trưng như vậy đã giới hạn các enzym trên chỉ hoạt động được trong lysosom mà không thể hoạt động trong tế bào chất.

Không chỉ tham gia vào quá trình thực bào, lysosom còn thực hiện tiêu hủy các mảnh vỡ tế bào, các bào quan đã bị già cỗi, hư hỏng, giúp tế bào tái sử dụng lại các đơn vị cấu trúc. Ở sinh vật đa bào, lysosom của một số tế bào nhất định khi đến một thời điểm nào đó sẽ đồng loạt bị vỡ và giải phóng các enzym thủy phân vào tế bào chất, pH của tế bào chất bị giảm xuống. Lúc này, toàn bộ các cấu trúc của tế bào sẽ bị enzym phân giải. Đó là quá trình tự tiêu. Một ví dụ điển hình của hiện tượng này là quá trình biến đổi nòng nọc thành ếch. Khi phát triển đến một giai đoạn nhất định, đuôi của nòng nọc trở nên không cần thiết nữa và sẽ bị tiêu biến để nòng nọc trở thành ếch. Có thể thấy rằng quá trình tự tiêu đã đóng góp vào quá trình biến thái cơ thể của một số loài từ dạng đơn giản trở thành dạng có tổ chức phức tạp hơn.

Ở người, những rối loạn sai hỏng về cấu trúc của lysosom là nguyên nhân gây nên nhiều căn bệnh mà đôi khi là khá trầm trọng. Ví dụ, bệnh Tay-Sachs phát sinh do lysosom thiếu một enzym có tên là β -N-hexominase A. Những trẻ bị bệnh này có biểu hiện rối loạn hệ thần kinh trung ương, chậm phát triển trí tuệ và chết ở tuổi thứ 5. Một căn bệnh khác hay gặp ở các thợ mỏ là bệnh viêm phổi. Các loại bụi như bụi silic, amian, các kim loại nặng khi xâm nhập nhiều vào phổi sẽ làm hỏng các lysosom của tế bào phế nang. Enzym của lysosom bị giải phóng tác động lên các phế nang và gây bệnh viêm phổi.

3.2.5. Peroxysom

Đây là một loại bào quan gần với lysosom. Chúng có cấu tạo từ các túi màng lipoprotein có kích thước từ 0,15 – 1,7 μ m. Bên trong màng là chất nền (matrix) đồng nhất, hoặc có chứa các hạt nhỏ hay sợi phân nhánh. Trong peroxysom chứa các enzym oxy hoá như catalase, D-aminoacid oxydase, urat oxydase. Riêng enzym catalase có mặt trong mọi loại peroxysom và chiếm tới 15% thành phần protein của bào quan này.

Chức năng được nhắc đến nhiều nhất của peroxysom là tham gia phân giải hydro peroxyd (H_2O_2) thành nước nhờ sự có mặt của enzym catalase. Bên cạnh đó, peroxysom còn tham gia oxy hoá acid uric, tham gia chuyển hoá các acid amin. Ở động vật có xương sống, peroxysom có nhiều trong tế bào gan, thận.

Ở thực vật có một loại peroxysom đặc biệt có tên là glioxysom. Bào quan này tham gia vào quá trình chuyển hoá các lipid thành glucid, một quá trình quan trọng đặc trưng cho thực vật.

3.2.6. Ty thể

Ty thể là bào quan có mặt trong tất cả các tế bào hô hấp hiếu khí, thực hiện chức năng vô cùng quan trọng là nơi chuyển hoá năng lượng từ các phân tử dinh dưỡng thành dạng năng lượng tích trữ trong phân tử ATP, dạng năng lượng cần thiết cho tất cả các hoạt động sống của tế bào.

Ty thể thường có dạng hạt hoặc dạng sợi với đường kính từ $0,5 - 1\mu\text{m}$, chiều dài từ $1 - 7\mu\text{m}$. Hình dạng và kích thước của ty thể thay đổi tùy loại và tùy theo trạng thái hoạt động của tế bào. Ở những tế bào đang hoạt động mạnh, ty thể thường có kích thước lớn hơn bình thường. Các nhân tố như áp suất thẩm thấu, pH, tình trạng bệnh lý của tế bào đều gây nên những biến đổi về hình dạng của ty thể.

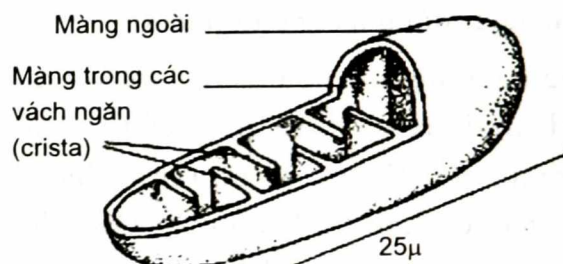
Thông thường, ty thể phân bố đồng đều khắp tế bào chất. Tuy nhiên, có những lúc chúng tập trung nhiều ở phần này hoặc phần khác của tế bào, nơi cần nhiều năng lượng để hoạt động. Ví dụ, ở tế bào ống thận, ty thể thường tập trung ở phần đáy, nơi màng tế bào cần nhiều ATP để vận chuyển nước và các chất. Khi tiến hành quay phim, người ta thấy ty thể không nằm yên một chỗ mà luôn chuyển động. Ty thể có thể co ngắn lại, duỗi dài ra, liên kết lại với nhau thành sợi dài hoặc đứt thành nhiều khúc nhỏ. Ty thể cũng chuyển động từ vị trí này đến vị trí khác của tế bào. Sự chuyển động dịch chỗ của ty thể có nguồn gốc do sự vận động của tế bào chất tạo nên.

Cũng giống như hình dạng và kích thước, số lượng ty thể thay đổi từ vài chục đến vài nghìn tùy loại và trạng thái hoạt động của tế bào. Tế bào gan là một trong những tế bào có rất nhiều ty thể. Ví dụ, ở chuột có thể lên đến $1.000 - 2.000$ ty thể/tế bào.

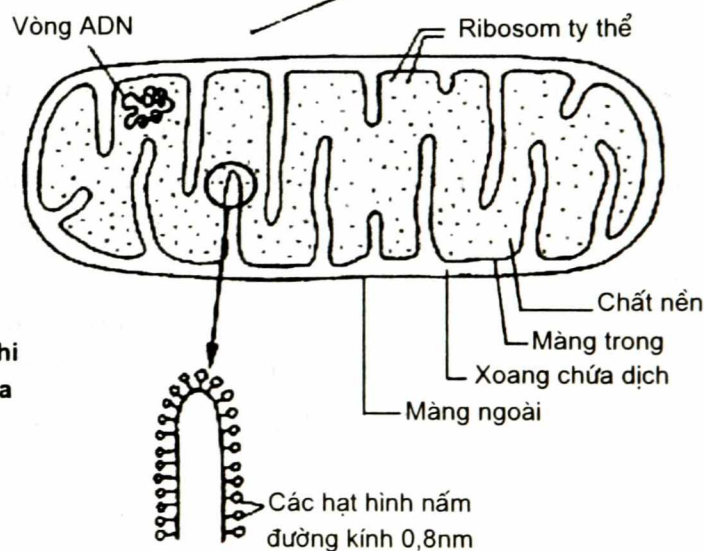
Về cấu tạo, ty thể bao gồm hai lớp màng lipoprotein, giữa hai lớp màng là khe gian màng hay còn gọi là xoang ngoài. Màng ngoài của ty thể bằng phẳng, có thành phần protein chiếm khoảng 60%, 40% còn lại là lipid. Thành phần protein của màng ngoài gồm nhiều loại kênh dẫn truyền và các enzym như transferase, cytocrom B, phospholipase,... Màng trong có thành phần và cấu trúc khác với màng ngoài. Bề mặt màng trong không phẳng mà gấp hoặc lõm vào trong tạo nên các cấu trúc dạng ống hoặc túi được gọi là mào (cristae). Hàm lượng protein của màng trong rất cao, có thể lên đến 80%, được bố trí xuyên màng hoặc ở rìa màng. Các protein này bao gồm các phức hệ dẫn truyền điện tử, các enzym, kênh dẫn

truyền phân tử và các hạt cơ bản. Các hạt cơ bản có dạng hình cầu có cuống đâm xuyên qua màng trong ty thể. Đường kính của hạt cơ bản khoảng 11nm. Vai trò của hạt cơ bản là thực hiện công đoạn cuối cùng tạo ra sản phẩm ATP của ty thể. Việc gấp nếp của màng trong làm tăng diện tích bề mặt, qua đó làm tăng hiệu quả hoạt động của ty thể.

A. Cắt bỏ một phần



B. Lát cắt



C. Cấu trúc chi tiết một crista

Hình 1.11. Ty thể

Màng trong giới hạn một khoảng không gian được gọi là xoang trong (còn gọi là chất nền) ty thể. Đây là một phần dịch lỏng chứa hệ enzym của chu trình Krebs (một giai đoạn của quá trình hô hấp) chứa các enzym tổng hợp acid béo, các ion và đặc biệt là acid nucleic (ADN, ARN) và ribosom. Nhờ có acid nucleic và ribosom riêng nên ty thể có khả năng tự tổng hợp một số thành phần protein cấu tạo cho chính nó. Tuy nhiên, số protein này không nhiều, chỉ khoảng 10%, phần lớn protein còn lại vẫn được mã hoá trên ADN trong nhân.

ADN của ty thể có dạng vòng, không liên kết với protein histon, nằm tự do hoặc bám vào màng trong của ty thể. So với ADN trong nhân, ADN ty thể có một số điểm khác biệt về mã bộ ba. Trong khi một số mã bộ ba trên ADN nhân có vai

trò là bộ ba kết thúc thì ở ty thể lại mã hoá cho acid amin và ngược lại. Ở người, bộ gen của ty thể có tính ổn định cao, ít bị biến đổi qua các thế hệ.

3.2.7. Lục lạp

Lục lạp thuộc nhóm bào quan có tên là lạp thể, được Schimper mô tả vào năm 1885 như là một thành phần đặc trưng chỉ có ở tế bào thực vật. Ngày nay, người ta chia lạp thể ra làm hai nhóm lớn là bạch lạp (loại lạp thể không có màu) và sắc lạp (loại lạp thể có chứa sắc tố). Trong đó, lục lạp là một loại sắc lạp có vai trò thực hiện quá trình quang hợp ở thực vật.

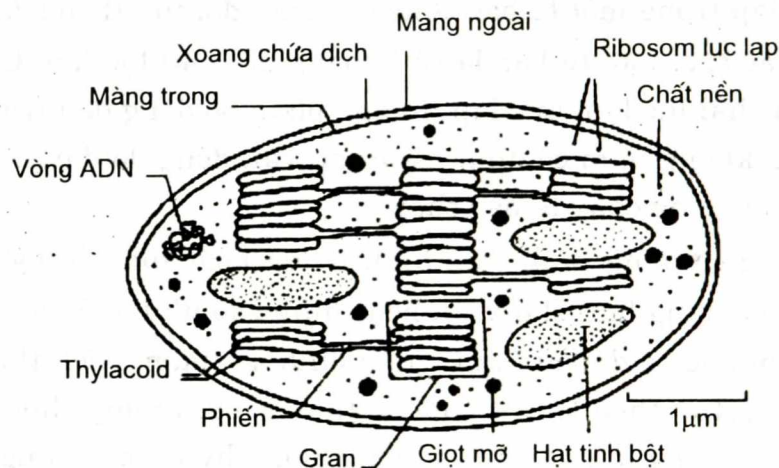
Số lượng lục lạp trong một tế bào thực vật thay đổi tùy theo loài và chủng loại mô. Ở thực vật bậc cao, mỗi tế bào lá có khoảng 20 – 40 lục lạp. Chỉ một số ít tế bào là có một hoặc hai lục lạp. Lục lạp thường phân bố đồng đều trong tế bào chất. Tuy nhiên, chúng không nằm cố định mà có sự vận động do điều kiện ngoại cảnh hoặc ảnh hưởng của dòng chảy tế bào chất.

Lục lạp thường có dạng hình cầu, hình trứng hoặc đĩa. Trong một số trường hợp, lục lạp có thể ở dạng lưới, dải xoắn hoặc hình sao như ở tế bào tảo. Ở thực vật bậc cao, lục lạp thường có đường kính trung bình 4 – 6 μ m. Kích thước của lục lạp cũng có sự đa dạng tùy theo loài. Người ta thấy rằng, những thực vật mọc trong bóng râm, lục lạp thường lớn và chứa nhiều chlorophyll hơn những thực vật được chiếu sáng thường xuyên.

Giống như ty thể, lục lạp có cấu tạo gồm hai lớp màng lipoprotein, nhưng khác ở chỗ cả hai lớp màng này đều phẳng chứ không gấp nếp như ở ty thể. Giữa hai lớp màng là khoảng không gian được gọi là khe gian màng. Phần dịch được giới hạn bởi màng trong gọi là chất nền (stroma). Trong chất nền chứa thành phần quan trọng nhất của lục lạp. Đó là hệ thống các cột được nối với nhau thành mạng lưới. Các cột có tên là grana còn các dải mỏng nối các cột được gọi là lamella. Số lượng grana có thể thay đổi từ vài cột đến 50 cột tùy loại lục lạp. Chúng có cấu tạo gồm rất nhiều túi nhỏ, được gọi là túi thylacoid, xếp chồng lên nhau. Túi thylacoid có dạng dẹt, đường kính 0,6 μ m, dày 20nm và cũng có cấu tạo từ màng lipoprotein. Trên màng túi thylacoid có chứa hệ thống sắc tố và chuỗi truyền điện tử để thực hiện pha sáng của quang hợp. Ngoài hệ thống grana, trong chất nền lục lạp còn chứa các enzym tổng hợp hydratcarbon, các acid nucleic và ribosom.

ADN của lục lạp cũng có dạng vòng giống như ty thể với chiều dài khoảng 150 μ m và không liên kết với protein histon. Mặc dù là thành phần của tế bào Eukaryota nhưng ribosom của cả ty thể và lục lạp đều có hằng số lắng là 70S chứ không phải là 80S như ở trong tế bào chất.

Với đặc điểm chung là đều chứa acid nucleic, ribosom và có thể tự tổng hợp một số thành phần protein cho riêng mình, ty thể và lục lạp được gọi là bào quan bán tự trị. So sánh đặc điểm cấu tạo ADN và ribosom của các bào quan này với của tế bào Prokaryota, người ta đã đưa ra giả thuyết rằng ty thể và lục lạp vốn là những tế bào Prokaryota xâm nhập và sống cộng sinh trong tế bào Eukaryota. Dần dần, bộ gen của ty thể, lục lạp tách ra và sát nhập vào bộ gen của tế bào, các thành phần không cần thiết bị tiêu biến và chúng trở thành những bào quan của tế bào Eukaryota.



Hình 1.12. Lục lạp

3.3. Nhân tế bào

Nhân là thành phần bắt buộc của tất cả các loại tế bào Eukaryota. Ở tế bào Prokaryota tuy không có nhân nhưng cũng có một vùng với chức năng tương ứng được gọi là thể nhân. Nhân thực hiện hai chức năng quan trọng là:

- Lưu trữ và truyền thông tin di truyền từ thế hệ tế bào này sang thế hệ tế bào khác.
- Điều khiển mọi hoạt động sống của tế bào.

Phần lớn tế bào chỉ có một nhân. Thế nhưng cũng có những trường hợp mà một tế bào có thể có 2, 3 hoặc nhiều nhân. Ví dụ, trùng đế giày *Paramecium* là một sinh vật đơn bào có hai nhân với một nhân lớn và một nhân bé, khoảng 15% tế bào gan của người cũng có hai nhân, còn tế bào megakaryocyte trong tủy xương thì có tới hàng chục nhân.

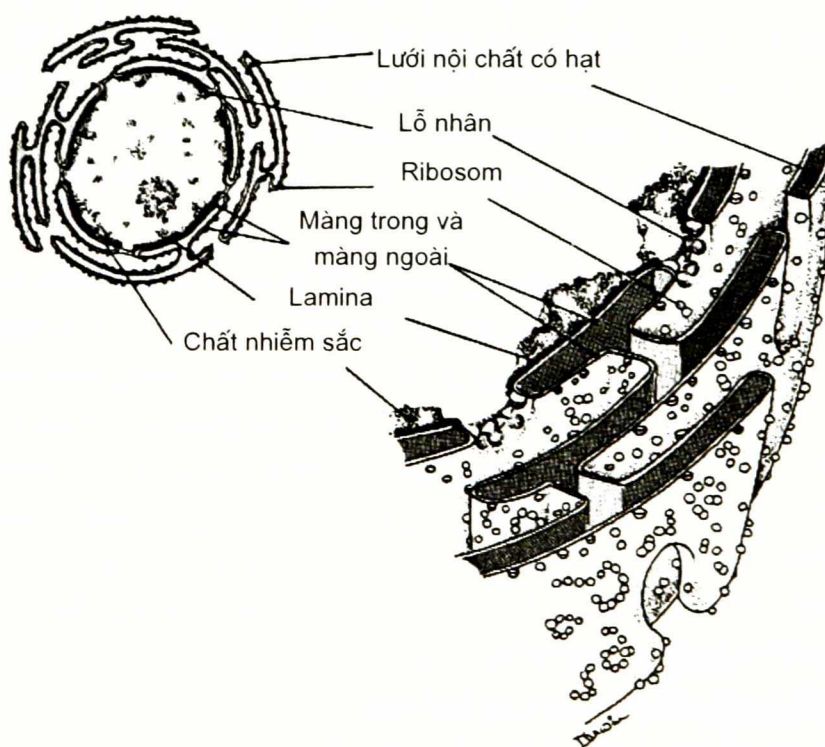
Hình dạng của nhân thường phụ thuộc vào hình dạng tế bào. Với những tế bào hình khối, đa giác, hình cầu,... nhân thường có dạng hình cầu. Ở những tế bào hình trụ thì nhân có dạng kéo dài, ví dụ, tế bào cơ. Nhân cũng có thể có dạng đặc

biệt như dạng chia thùy ở bạch cầu hạt. Ngoài ra, hình dạng nhân có thể thay đổi tùy theo tuổi và hoạt động của tế bào. Những tế bào hoạt động mạnh thường có nhân lớn hoặc có thể chia thùy.

Kích thước của nhân thay đổi tùy loại tế bào. Ngay cả trong cùng một loại, kích thước nhân cũng thay đổi tùy theo trạng thái hoạt động của tế bào. Mỗi một loại tế bào thường có tỷ số giữa thể tích nhân và thể tích tế bào chất dao động trong một khoảng xác định. Nếu lớn hơn khoảng đó, đồng nghĩa với việc nhân lớn hơn bình thường thì đó là lúc tế bào chuyển sang trạng thái phân chia.

Bên cạnh hình dạng và kích thước, vị trí của nhân cũng có tính đặc thù cho loại tế bào và các trạng thái khác nhau của tế bào. Trong các tế bào phôi, nhân thường nằm ở trung tâm. Trong tế bào trứng giàu noãn hoàng, nhân lại nằm ở ngoại vi. Ở tế bào tiết, nhân hay nằm lệch xuống phần đáy của tế bào, còn phần ngọn thường chứa nhiều hạt tiết.

Về cấu trúc, có thể chia nhân thành bốn phần: màng nhân, dịch nhân, nhiễm sắc thể và hạch nhân (hình 1.13).



Hình 1.13. Nhân tế bào

3.3.1. Màng nhân

Giống như màng sinh chất, màng nhân thực hiện hai chức năng chính là:

- Tách biệt nhân với phần tế bào chất bên ngoài.
- Điều chỉnh sự trao đổi chất giữa nhân và phần còn lại của tế bào.

Màng nhân có cấu tạo từ màng lipoprotein. Như vậy là về thành phần, màng nhân cũng tương tự như màng của các bào quan khác và tương tự như màng sinh chất. Còn về tính chất, màng nhân có những đặc điểm riêng. Màng nhân không có khả năng tự hàn gắn lại như màng sinh chất. Nếu bị chọc thủng, nhân sẽ bị phá huỷ. Tính thấm thấu của màng nhân cũng khác với màng sinh chất. Nhiều thành phần thấm được qua màng tế bào nhưng không thể thấm qua màng nhân.

Quan sát trên kính hiển vi điện tử cho thấy, màng nhân là một cấu trúc gồm hai lớp màng: màng ngoài và màng trong. Xoang được giới hạn bởi hai màng này được gọi là xoang quanh nhân. Đa số màng nhân có độ dày chừng 40nm, độ dày của màng trong và màng ngoài gần 10nm, còn của xoang quanh nhân là 10 – 20nm. Bề mặt màng ngoài gắn nhiều hạt ribosom. Màng ngoài có thành phần gần giống và nối liền với lưới nội chất. Ở nhiều loại tế bào, ví dụ như ở tế bào ống thận, tế bào bạch cầu, một số tế bào thực vật,... xoang quanh nhân và hệ thống các bể chứa của lưới nội chất cũng được nối với nhau bởi các khe hẹp, tạo nên một hệ thống xoang thông nhau. Trong một số trường hợp, hệ thống xoang này có thể thông ra ngoài tế bào. Áp sát bề mặt của màng trong là một hệ thống sợi dày đặc gọi là lamina. Lamina được tạo nên do sự đan kết lại của ba loại protein laminin A, B và C. Hệ thống sợi lamina có tác dụng như giá đỡ cho màng nhân và đồng thời cũng là nơi dính bám của các sợi nhiễm sắc ở vùng ngoại vi bên trong nhân.

Màng nhân có một đặc điểm quan trọng, đó là tính không liên tục. Trên màng nhân có rất nhiều các lỗ nhỏ giúp cho phần bên trong của nhân thông với tế bào chất. Các lỗ phân bố trên bề mặt màng nhân tương đối đồng đều với khoảng cách từ 50 – 100nm. Lỗ màng nhân không phải là lỗ đơn giản mà được tạo nên từ một phức hệ các protein. Mỗi phức hệ này gồm tám đơn vị xếp vòng quanh tạo thành lỗ nhân với đường kính lỗ khoảng 9nm, nằm ở giữa lỗ nhân là một hạt protein trung tâm. Phức hệ protein này sẽ đảm nhận vai trò điều tiết các chất đi qua màng nhân. Ngoài ra, lỗ nhân còn giống như một hệ thống cột nâng đỡ giúp ổn định cấu trúc của màng nhân.

3.3.2. Dịch nhân

Dịch nhân là một khối dịch lỏng chứa chất nhiễm sắc, ion, enzym của quá trình như nhân đôi ADN, quá trình phiên mã tạo ARN v.v... Trong dịch nhân người ta cũng thấy có hệ thống các sợi giống như trong tế bào chất với vai trò tạo nên bộ khung nâng đỡ của nhân. Bên cạnh đó, bộ khung này cũng tham gia vào quá trình vận động của acid nucleic và các protein bên trong nhân.

3.3.3. Nhiễm sắc thể

Trong tế bào Prokaryota cũng như Eukaryota, thông tin di truyền đều được mã hoá trên ADN (acid deoxyribonucleic). Ở tế bào Eukaryota, nhiễm sắc thể có cấu tạo do sự kết hợp của phân tử ADN và các protein (chủ yếu là histon). Đây là điểm khác biệt lớn so với nhiễm sắc thể của tế bào Prokaryota vốn chỉ là sợi ADN trần. Một điểm khác biệt nữa là số lượng nhiễm sắc thể giữa hai loại tế bào. Tế bào Prokaryota chỉ có một sợi nhiễm sắc thể duy nhất trong khi ở tế bào Eukaryota có rất nhiều sợi tương ứng với bộ nhiễm sắc thể của loài, ví dụ ở người là 46 sợi, ở muỗi là 6 sợi, ruồi giấm là 8 sợi v.v...

Qua mỗi giai đoạn của chu trình tế bào, nhiễm sắc thể lại có những hình thái khác nhau. Ở kỳ trung gian, nhiễm sắc thể ở dạng sợi mảnh. Khi tế bào bước sang trạng thái phân chia, các nhiễm sắc thể được nhân đôi và bắt đầu co xoắn lại thành dạng chữ X điển hình. Điều này không có ở tế bào Prokaryota.

Từ những thông tin mã hoá trên ADN trong nhân, tế bào tiến hành chuyển đổi chúng thành trình tự acid amin của các protein. Các protein này có thể là protein cấu trúc, cũng có thể là protein với chức năng điều khiển các hoạt động sống của tế bào.

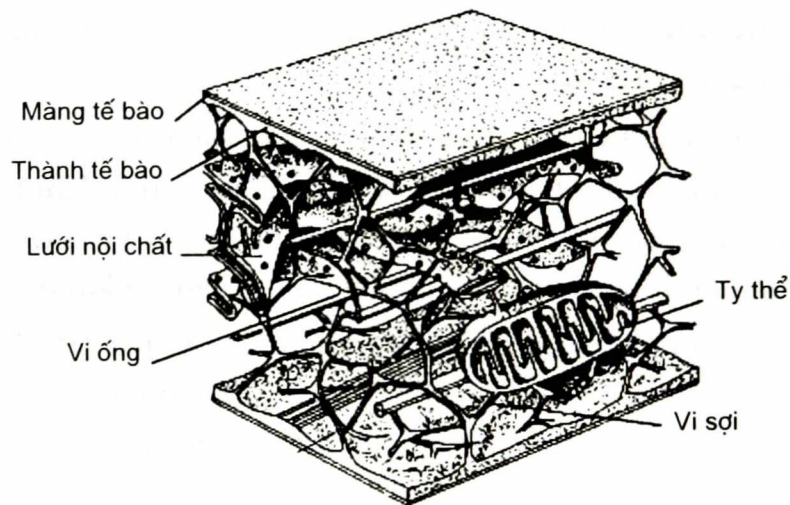
3.3.4. Hạch nhân

Khi quan sát trên kính hiển vi, người ta thấy trong nhân có một hoặc một số vùng bắt màu sẫm và gọi là hạch nhân. Hạch nhân không có cấu trúc tách biệt với các phần khác của nhân. Đó chỉ là một nơi có mật độ các acid nucleic và protein tập trung rất cao. Ở người, hạch nhân do 10 nhiễm sắc thể thuộc các cặp 13, 14, 15, 21 và 22 chụm đầu lại tạo thành. Trong hạch nhân, người ta thấy có sự tổng hợp mạnh mẽ của các ARN. Về thành phần, hạch nhân chứa 10 – 20% ARN của cả tế bào. Một số loại protein sau khi được tổng hợp ở tế bào chất sẽ được đưa vào nhân và chuyển tới hạch nhân. Tại đây sẽ diễn ra quá trình kết hợp các đoạn ARN với protein để tạo nên các hạt nhỏ. Đây là các tiểu đơn vị của ribosom. Nói cách khác, hạch nhân chính là nơi sản xuất các tiểu đơn vị ribosom của tế bào. Các tiểu đơn vị này sau khi được tạo nên sẽ đi ra ngoài nhân và ghép với nhau để thành ribosom hoàn chỉnh. Phần nhiễm sắc thể nằm trong hạch nhân là những đoạn mang gen mã hoá cho ARN ribosom và được gọi là vùng NOR (Nuclear Organization Regions). Hạch nhân chỉ tồn tại trong nhân ở kỳ trung gian. Chúng sẽ biến mất ở kỳ đầu và xuất hiện lại khi kết thúc kỳ cuối của quá trình phân bào.

3.4. Một số thành phần khác trong tế bào Eukaryota

3.4.1. Bộ khung tế bào

Bộ khung tế bào có cấu tạo từ một hệ thống các vi sợi và vi ống đan xen vào nhau. Chúng thực hiện chức năng nâng đỡ, neo giữ các bộ phận trong tế bào, giúp chúng không bị trôi dạt một cách tự do trong tế bào chất (hình 1.14). Ngoài ra, hệ thống các vi sợi, vi ống còn tham gia chức năng vận động của tế bào.



Hình 1.14. Bộ khung tế bào

3.4.1.1. Vi sợi

Trong tế bào có 3 loại vi sợi chủ yếu là vi sợi actin, vi sợi myozin và vi sợi trung gian.

• Vi sợi actin

Là loại vi sợi có cấu tạo từ protein actin. Loại protein này rất phổ biến ở tế bào Eukaryota với hàm lượng lớn (chiếm 5% protein tổng số của tế bào). Protein actin phân bố hầu khắp tế bào chất. Ở đa số tế bào động vật, chúng xếp thành bó song song hoặc mạng lưới nằm ngay sát màng sinh chất, gắn với màng sinh chất thông qua các protein liên kết (spectrin, α -actinin, clathrin) và có vai trò nâng đỡ, cố định màng.

Protein actin được chia làm hai loại: actin G (dạng cầu) và actin F (dạng sợi). Dạng actin F được hình thành từ hai chuỗi actin G xoắn quanh nhau, có đường kính 7nm và chiều dài bước xoắn là 72nm. Quá trình trùng hợp của các actin G diễn ra khi có mặt ion Mg^{2+} và ATP. Đây là một quá trình có tính thuận nghịch, sợi actin F có thể được hình thành và phân giải nhanh chóng ở những nơi, những thời điểm cần thiết tùy theo nhu cầu của tế bào. Dạng actin F chính là các vi sợi actin với vai trò tạo nên bộ khung tế bào (hình 1.15). Sự trùng hợp và giải trùng

hợp của các protein actin góp phần làm thay đổi đặc tính của tế bào chất. Khi chứa nhiều actin F, tế bào chất có trạng thái nhớt, còn khi chứa nhiều actin G sẽ có dạng lỏng.



Hình 1.15. Vi sợi actin

Ngoài vai trò tạo nên bộ khung, các vi sợi còn tham gia vào quá trình vận động tế bào. Các dạng vận động tế bào như vận động chân giả, vận động dòng tế bào chất hay vận động của các bào quan từ phần này đến phần khác của tế bào đều liên quan đến hoạt động của vi sợi actin kết hợp với vi sợi myozin. Sự vận động của toàn bộ hệ thống tế bào cơ của cơ thể sinh vật cũng có nguồn gốc từ hoạt động của các vi sợi tạo nên. Ngoài ra, các vi sợi còn đóng vai trò tạo các mối liên kết và cầu nối giữa các tế bào cạnh nhau.

- *Vi sợi myozin*

Là loại vi sợi cấu tạo từ protein myozin. Đây là một loại protein phức tạp, có cấu trúc bất đối xứng với trọng lượng phân tử khoảng 450.000 Dalton. Một phân tử myozin được hình thành từ 6 mạch polypeptid: 2 mạch nặng, 4 mạch nhẹ. Ở tế bào bình thường vi sợi myozin có cấu trúc ngắn, trong khi ở tế bào cơ chúng có kích thước khá dài và có thể lên đến 1,5 μ m. Vi sợi myozin góp phần tạo nên bộ khung và kết hợp cùng vi sợi actin để thực hiện chức năng vận động của tế bào.

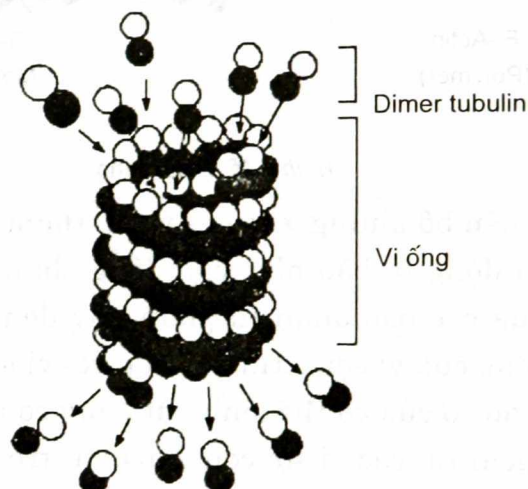
- *Vi sợi trung gian*

Đây là loại vi sợi phổ biến trong các tế bào Eukaryota. Chúng có độ dày từ 8 – 10nm và được hình thành từ nhiều loại protein khác nhau như vimentin, desmin, cytokeratin v.v... Dựa vào thành phần protein mà người ta chia vi sợi trung gian thành nhiều nhóm khác nhau. Đặc điểm chung của các loại vi sợi này là đều có cấu trúc phức tạp, gồm nhiều sợi nhỏ bện xoắn với nhau. Chức năng của vi sợi trung gian là tham gia tạo bộ khung tế bào.

3.4.1.2. Vi ống

Vi ống là những cấu trúc hình trụ dài, không phân nhánh, có đường kính trung bình 25nm, thành bên dày 5nm và rỗng ở giữa. Chiều dài của vi ống thay đổi tùy tình trạng tế bào và có thể lên đến vài μ m. Vi ống có cấu tạo từ protein

tubulin. Mỗi phân tử protein tubulin là một dimer gồm hai monomer là tubulin A và B nối với nhau. Các protein tubulin xếp với nhau thành vòng xoắn và tạo nên vi ống. Nhìn từ trên xuống, thành vi ống được cấu tạo từ 13 protein tubulin xếp với nhau. Sự trùng hợp tạo nên vi ống có tính thuận nghịch và xảy ra với sự có mặt của ion Mg^{2+} và GTP.



Hình 1.16. Vi ống

Ngoài việc kết hợp với vi sợi để tạo nên bộ khung tế bào, vi ống còn tham gia vào nhiều vai trò khác như vận tải nội bào hay là thành phần cấu tạo của trung tử, lông và roi. Các bào quan như ty thể, lục lạp, các bóng xuất nhập bào được vận chuyển từ phần này đến phần kia của tế bào chất là nhờ hoạt động của vi ống. Trong quá trình phân bào, thoi vô sắc nối với các nhiễm sắc thể cũng có cấu tạo từ các vi ống. Colchicin là một chất có tác dụng ngăn cản sự trùng hợp của các protein tubulin. Khi có mặt chất này, thoi vô sắc không thể hình thành dẫn đến rối loạn trong việc phân chia nhiễm sắc thể. Quá trình phân bào có thể bị dừng lại ở kỳ giữa.

3.4.2. Trung thể

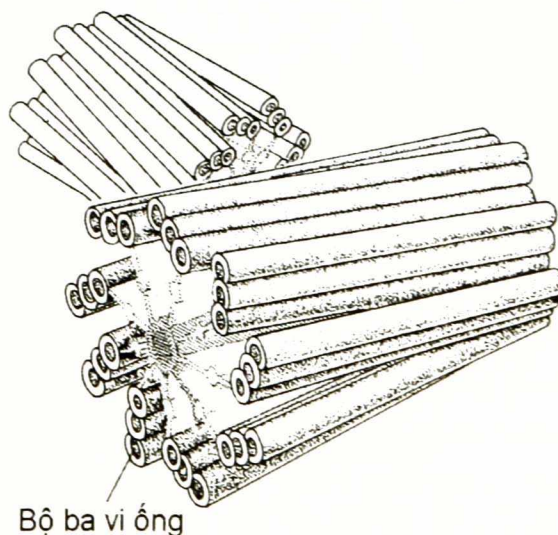
Trung thể (centrosome) là bào quan có trong tất cả các tế bào động vật đa bào cũng như đơn bào. Mỗi tế bào có một trung thể nằm ở gần nhân. Cấu tạo của trung thể bao gồm trung tử (centriole) và chất quanh trung tử (pericentriole). Ở tế bào thực vật, cấu tạo của trung thể không có trung tử mà chỉ có chất quanh trung tử.

Trung tử của tế bào động vật thường có hai chiếc nằm vuông góc với nhau trong trung thể. Trung tử có cấu tạo hình trụ với đường kính $0,15 - 0,25\mu m$ và chiều dài $0,7\mu m$. Thành trụ được tạo bởi 9 bộ 3 vi ống xếp nối nhau. Các vi ống

trong bộ ba có đường kính 20 – 26nm, được gọi là vi ống A, B và C. Vi ống A nằm ở gần tâm nhất, rồi đến vi ống B và xa nhất là vi ống C. Những quan sát trên kính hiển vi điện tử cho thấy trong ba vi ống, chỉ có vi ống A là hoàn chỉnh, còn vi ống B và C có dạng chữ U và nối với vi ống phía trước. Các bộ ba vi ống được nối với nhau bởi protein nexin, protein này sẽ nối vi ống A của bộ ba phía trước với vi ống C của bộ ba nằm phía sau. Với cách tổ chức như vậy, người ta gọi cấu trúc của trung tử là 9 + 0.

Chất bao quanh trung tử được cấu tạo từ hai phần. Phần thứ nhất là các thể kèm có cấu trúc hình cầu đường kính 40 – 70nm được nối với vi ống của trung tử thông qua các cuống. Phần thứ hai là một hệ thống gồm các vi ống tự do xếp xung quanh trung tử theo hình phóng xạ.

Trung thể đóng vai trò quan trọng trong quá trình phân bào. Khi tế bào bước sang kỳ giữa, trung thể được nhân đôi và đi về hai cực của tế bào. Với sự có mặt của ATP, trung thể kích thích sự trùng hợp tạo nên các vi ống. Việc hai trung thể nằm ở hai cực của tế bào sẽ giúp định hướng cho các vi ống tạo thành thoi vô sắc. Nhờ có thoi vô sắc, các nhiễm sắc thể được phân chia và vận chuyển động về hai cực của tế bào. Đến kỳ cuối của phân bào, các vi ống tạo nên thoi vô sắc được giải trùng hợp, thoi vô sắc biến mất. Do hoạt động của trung thể như vậy nên người ta còn gọi chúng với một cái tên khác là MTOC (Microtubule Organizing Center – trung tâm tổ chức vi ống).

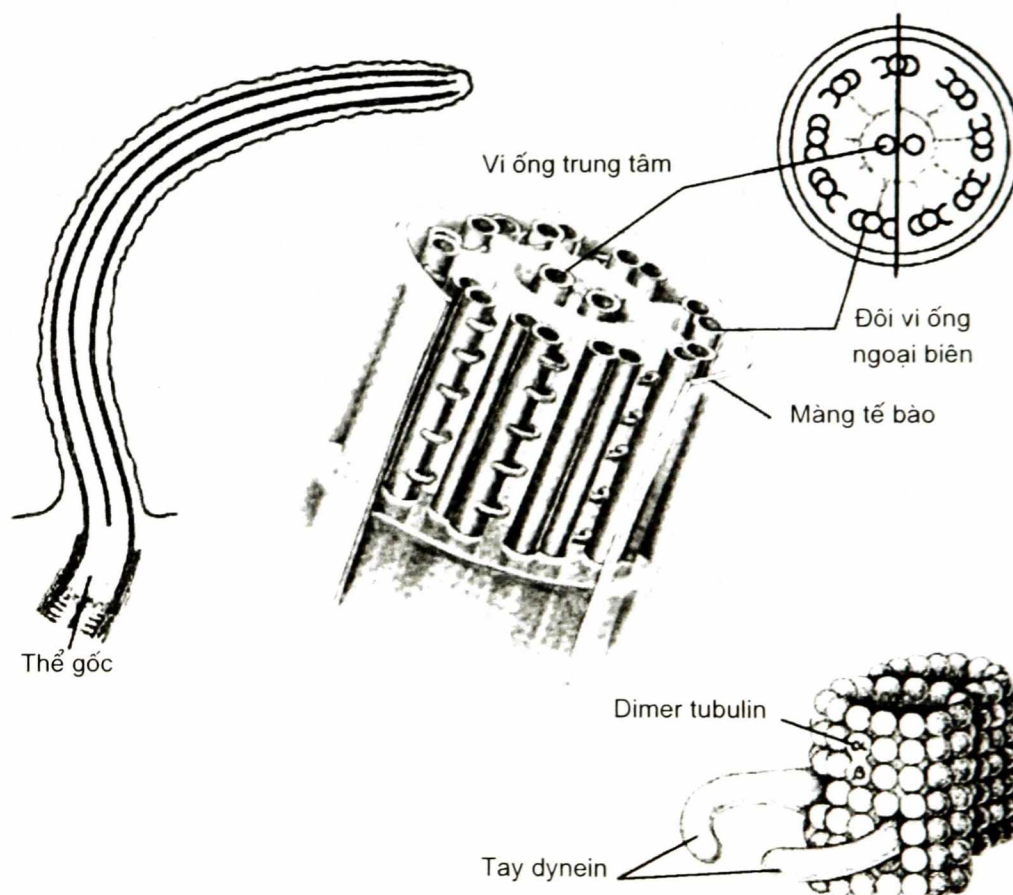


Hình 1.17. Trung tử

3.4.3. Lông và roi

Lông (cilia) và roi (flagella) là những phần lồi ra của tế bào chất được bao bọc bởi màng, bên trong có chứa hệ thống các vi ống. Lông và roi có chức năng vận

động. Người ta phân biệt lông và roi thông qua số lượng và kích thước của chúng. Lông có chiều dài từ 10 – 20 μm và có số lượng rất nhiều, có khi tới 300 lông/tế bào. Roi có kích thước lớn hơn lông, chiều dài có thể tới 150 μm . Thông thường mỗi tế bào chỉ có một vài roi. Lông và roi chỉ có ở một số loại tế bào nhất định. Ví dụ, ở các động vật nguyên sinh, lông và roi là phương tiện chủ yếu giúp chúng chuyển động. Ở cơ thể đa bào, bề mặt các tế bào biểu mô thành ống cũng có lông nhưng chúng không đóng vai trò giúp tế bào chuyển động mà giúp tạo nên dòng chảy trong lòng ống. Tinh trùng cũng là một loại tế bào có roi là phương tiện chuyển động.



Hình 1.18. Cấu tạo của lông và roi

Về cấu trúc, lông và roi giống nhau. Chúng có dạng hình trụ, đường kính 0,2 μm . Các vi ống bên trong lông và roi được bố trí theo kiểu 9 + 1. Ở giữa là một đôi vi ống trung tâm đường kính 20nm, có màng bao quanh. Xếp xung quanh đôi vi ống trung tâm là 9 đôi vi ống ngoại vi. Mỗi vi ống ngoại vi có đường kính từ 18 – 22nm. Mỗi đôi vi ống bao gồm hai vi ống ký hiệu là A và B xếp sát nhau. Ống A có kích thước bé và nằm gần trung tâm hơn. Thành của ống A có gắn 2 mẫu protein dynein. Khi có mặt ATP và Ca^{2+} , các mẫu dynein sẽ liên kết với đôi ống

bên cạnh, gây ra sự trượt của các đôi vi ống ngoại vi và làm cho lông, roi chuyển động. Các đôi vi ống ngoại vi được nối với nhau bằng cầu nối nexin và nối với đôi vi ống trung tâm thông qua các dải mảnh như hình nan hoa.

4. SỰ VẬN CHUYỂN CHẤT QUA MÀNG

4.1. Một số khái niệm

4.1.1. Sự khuếch tán

Khi nhỏ một giọt mực vào trong cốc nước, chúng ta dễ dàng thấy ban đầu mực tập trung tại một chỗ, về sau giọt mực đó sẽ lan dần ra toàn bộ cốc nước. Đây là một thí nghiệm đơn giản về sự khuếch tán. Khuếch tán có thể hiểu là sự chuyển động của các phân tử từ nơi có nồng độ cao đến nơi có nồng độ thấp hơn. Nguyên nhân của sự chuyển động này là do đặc tính chuyển động hỗn loạn của các phân tử. Khi mật độ càng dày đặc, xác suất va chạm giữa các phân tử càng lớn. Điều đó khiến chúng có xu hướng chuyển động ra xa nhau và dàn đều trong môi trường. Khuếch tán là một trong những cách thức để tế bào có thể trao đổi vật chất với bên ngoài.

4.1.2. Sự thẩm thấu

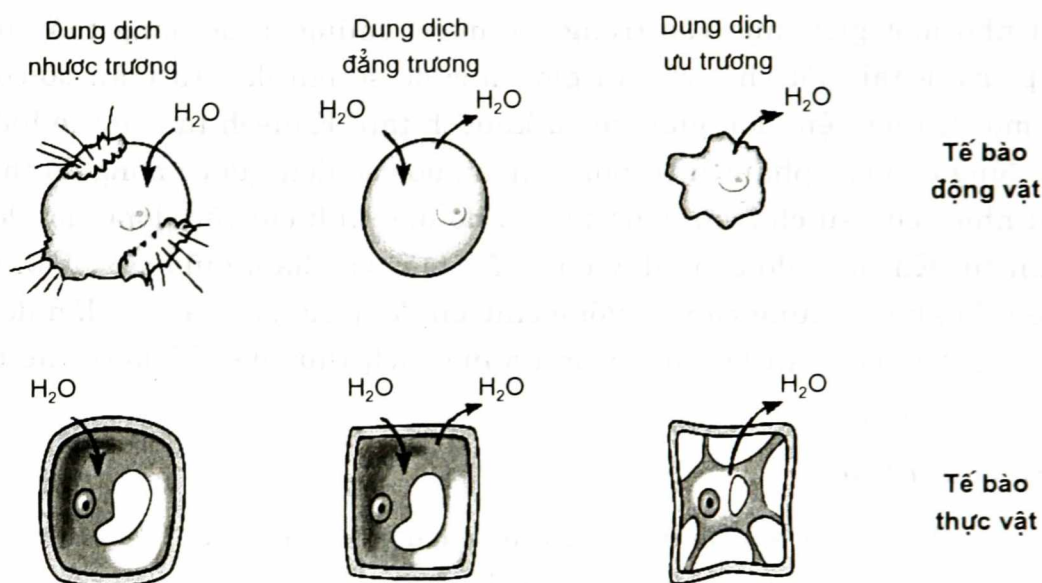
Màng sinh chất là một màng bán thấm. Không phải phân tử nào cũng có thể tự do đi qua được mặc dù có sự chênh lệch nhiều về nồng độ giữa hai bên màng. Trong trường hợp này, để cân bằng nồng độ, đối tượng khuếch tán qua màng sẽ là dung môi. Đối với tế bào, dung môi hoà tan của phần lớn các chất là nước. Chính sự chênh lệch về nồng độ chất tan đã tạo động lực để kéo nước qua màng nhằm thiết lập sự cân bằng nồng độ. Sự vận chuyển nước như vậy gọi là thẩm thấu. Chênh lệch về nồng độ chất tan càng cao, áp suất thẩm thấu sinh ra càng mạnh.

Hướng chuyển động của nước luôn đi từ nơi có nồng độ chất hoà tan thấp đến nơi có nồng độ chất hoà tan cao. Do tế bào là một hệ thống tách biệt với môi trường và nồng độ các chất nội bào luôn có sự ổn định một cách tương đối. Bởi vậy, cũng giống như sự khuếch tán chất tan, sự thẩm thấu nước phụ thuộc vào điều kiện môi trường. Dựa vào mối tương quan với tế bào, người ta chia môi trường ngoại bào ra làm ba kiểu: ưu trương, nhược trương và đẳng trương. Sự biến đổi của tế bào khi đưa vào các môi trường trên cũng khác nhau (hình 1.19).

– Môi trường ưu trương: là môi trường có nồng độ chất tan cao hơn tế bào. Nước vì thế sẽ bị rút ra ngoài khiến tế bào bị co rút lại. Nếu không hồi phục được, tế bào có thể chết.

– Môi trường nhược trương: là môi trường có nồng độ chất tan thấp hơn tế bào. Nước sẽ thẩm thấu vào trong và làm tế bào trương lên. Màng tế bào sẽ phải chịu một áp suất thủy tĩnh do nước gây nên. Càng nhiều nước, áp suất thủy tĩnh càng lớn. Nếu như quá ngưỡng chịu đựng, màng tế bào sẽ bị vỡ, phần tế bào chất bên trong trào ra ngoài. Đó là hiện tượng tan bào.

– Môi trường đẳng trương: là môi trường có nồng độ chất tan cân bằng với tế bào. Lượng nước đi vào và đi ra khỏi tế bào là cân bằng. Lúc này tế bào ở trạng thái ổn định.



Hình 1.19. Sự vận chuyển nước qua màng

Có thể thấy rằng trừ trường hợp đẳng trương, còn lại các môi trường nhược trương và ưu trương đều có nguy cơ gây hại cho tế bào. Thế nhưng trong môi trường tự nhiên, rất ít khi nồng độ chất tan lại có thể cân bằng với tế bào. Vì thế tế bào hay cơ thể phải có những phương thức nhất định để giảm thiểu tác hại của sự thẩm thấu nước quá mức. Một trong những cách thức phổ biến là sử dụng vách tế bào. Tế bào vi khuẩn hay thực vật hầu như luôn được bao bọc bởi một lớp vách tế bào dày. Chính lớp vách này giúp tế bào có thể chịu được áp suất rất cao. Khi nước thẩm thấu nhiều vào bên trong, tế bào chỉ căng lên chứ không bị vỡ. Cách thứ hai là điều chỉnh nồng độ chất tan cân bằng với môi trường. Nhiều trường hợp khi cho tế bào vào môi trường ưu trương, tế bào bị rút nước và co lại. Thế nhưng nếu cứ để vậy trong một thời gian thì tế bào lại phình lên và trở về trạng thái bình thường. Sở dĩ có hiện tượng như vậy là vì tế bào đã vận chuyển chất tan vào trong tế bào chất và làm nồng độ nội bào tăng lên cân bằng với môi trường. Khi đó nước sẽ không bị rút ra nữa. Một cách thích nghi khác là sử dụng các bào quan chuyên

trách để vận chuyển nước. Điều này thường gặp ở các động vật nguyên sinh. Trong mỗi tế bào động vật nguyên sinh thường có một hoặc vài không bào co bóp nằm sát màng. Nhiệm vụ của những không bào co bóp này là hút nước từ trong tế bào chất vào nó và đẩy ra ngoài môi trường.

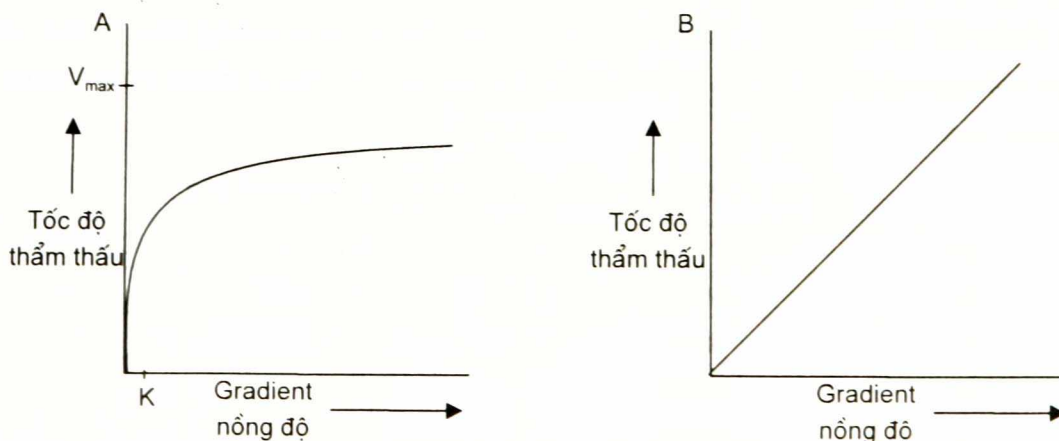
4.2. Vận chuyển các chất không tiêu phí năng lượng

Hình thức vận chuyển này còn có một tên gọi khác là vận chuyển thụ động. Khả năng vận chuyển thụ động các chất phụ thuộc vào ba yếu tố:

- **Gradient nồng độ:** Đây là yếu tố quan trọng nhất và cũng là động lực của sự vận chuyển thụ động. Khi có sự chênh lệch về nồng độ một chất ở hai phía của màng, các phân tử của chất đó sẽ dịch chuyển theo nguyên tắc khuếch tán từ nơi có nồng độ cao tới nơi có nồng độ thấp hơn. Như vậy, có thể thấy rằng chiều hướng của sự vận chuyển hoàn toàn phụ thuộc vào hướng của gradient nồng độ. Đó chính là tính chất thụ động của kiểu vận chuyển này.

- **Kích thước phân tử:** Thông thường các chất có kích thước càng lớn thì vận chuyển càng chậm. Tuy nhiên, chúng cũng phải đáp ứng được yêu cầu là không phân cực và không tích điện.

- **Tính chất của phân tử:** Các chất có độ tích điện thường khó đi qua màng. Ví dụ, các ion mặc dù có kích thước nguyên tử nhưng rất khó đi qua được lớp kép phospholipid, trong khi đó, phân tử O_2 và CO_2 thì lại có thể đi qua dễ dàng. Các hợp chất hoà tan được trong lipid thì cũng đi qua được màng như alcol, aldehyd, ceton, glycerol v.v... Còn các hợp chất hoà tan trong nước hầu như đều bị lớp kỵ nước của màng đẩy ra ngoài.



Hình 1.20. Ảnh hưởng của gradient nồng độ đến tốc độ vận chuyển chất qua màng

A. Qua các kênh protein, B. Thẩm thấu trực tiếp

Trong nghiên cứu y dược học, người ta đã lợi dụng tính chất dễ thấm qua màng của hợp chất lipid để tạo ra các liposome làm phương tiện vận chuyển thuốc vào tế bào. Đó là các túi màng lipid kép có kích thước khoảng 50nm, bên trong có chứa các hợp chất cần đưa vào tế bào.

Sự vận chuyển thụ động các chất diễn ra khá dễ dàng và có thể thực hiện qua hai con đường: thấm trực tiếp qua màng kép phospholipid hoặc đi qua các kênh protein dẫn truyền. Hai con đường này có một sự khác biệt về tốc độ vận chuyển các chất. Với cách thấm trực tiếp qua màng, tốc độ vận chuyển sẽ tỷ lệ thuận với gradient nồng độ. Còn khi đi qua kênh protein, tốc độ và gradient chỉ tỷ lệ thuận trong một giới hạn nhất định. Khi quá giới hạn đó, dù tăng gradient thì tốc độ cũng không tăng nữa. Sở dĩ có hiện tượng bão hoà như vậy là vì số lượng cũng như khả năng hoạt động của kênh protein trên màng là có hạn. Sự chênh lệch nồng độ càng cao, các phân tử đi qua kênh càng nhiều. Nhưng đến khi các kênh hoạt động hết công suất thì tốc độ không thể tăng lên nữa.

4.3. Vận chuyển các chất có kèm theo tiêu phí năng lượng

Đây là hình thức vận chuyển các chất không phụ thuộc vào gradient nồng độ nhờ sử dụng năng lượng hoá học. Nhờ có tính chất như vậy nên có thể gọi hình thức vận chuyển này là vận chuyển chủ động. Vận chuyển chủ động bắt buộc phải thực hiện thông qua các kênh dẫn truyền có bản chất là protein xuyên màng.

Vận chuyển chủ động có vai trò rất quan trọng trong tế bào. Nó giúp tế bào có thể chủ động thiết lập nồng độ nội bào của các chất theo nhu cầu mà có khi là chênh lệch với môi trường rất nhiều (ví dụ Na^+ , K^+ , Cl^- , HPO_4^{2-} , ...). Sự duy trì này tạo điều kiện ổn định cho tế bào hoạt động bình thường. Vận chuyển chủ động không chỉ diễn ra giữa tế bào với môi trường mà còn giữa các phần của tế bào với nhau. Bơm H^+ là một ví dụ như vậy. Bơm này nằm trên màng của ty thể và lực lặp với vai trò tạo sự chênh lệch về nồng độ H^+ để duy trì hoạt động chức năng của các bào quan này.

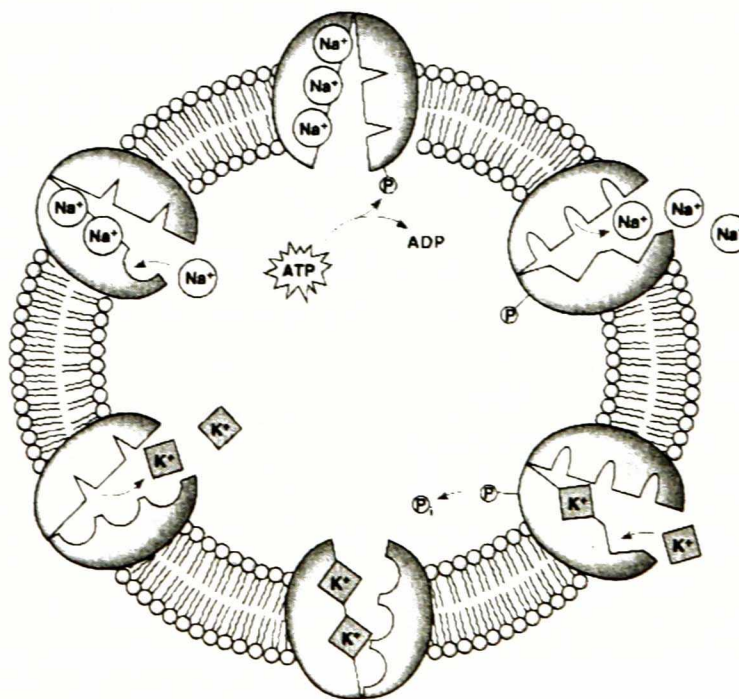
Bảng 1.1. Nồng độ của một số ion ở trong và ngoài tế bào

Ion	Nồng độ ngoại bào	Nồng độ nội bào	Chênh lệch
Na^+	140mM	10mM	14x
K^+	4mM	140mM	35x
Ca^{2+}	2,5mM	0,1 μM	25000x
Cl^-	100mM	4mM	25x

Trong tế bào có 3 loại kênh (bơm) vận chuyển rất quan trọng là: kênh Na^+/K^+ , kênh liên kết và kênh H^+ .

• **Kênh Na^+/K^+ :** Các tế bào động vật có khả năng duy trì nồng độ nội bào của Na^+ rất thấp, còn K^+ rất cao so với môi trường ngoại bào. Khả năng đó là do trên màng sinh chất có rất nhiều kênh Na^+/K^+ , chúng vận chuyển một cách chủ động Na^+ ra ngoài và đưa K^+ vào trong tế bào. Năng lượng để thực hiện sự vận chuyển đó lấy từ phân tử ATP được sản sinh trong quá trình hô hấp tế bào. Người ta tính ra có tới 1/3 lượng ATP được sản sinh trong tế bào động vật là để duy trì hoạt động này. Bởi vậy, khi sự hô hấp bị đình trệ thì hoạt động vận chuyển Na^+ , K^+ cũng bị ngừng lại.

Một trong những tế bào thực hiện tích cực việc vận chuyển Na^+ , K^+ là tế bào thần kinh. Thông qua việc đưa Na^+ ra ngoài và K^+ vào trong, tế bào đã tạo nên sự khác biệt về nồng độ ion ở mặt trong và mặt ngoài của màng, qua đó tạo nên điện thế màng. Việc thay đổi từ điện thế tĩnh sang điện thế hoạt động là cơ sở để dẫn truyền xung thần kinh. Ngoài ra, nồng độ Na^+/K^+ còn gián tiếp ảnh hưởng đến các hoạt động khác của tế bào. Ví dụ, ở tế bào cơ tim, nếu vì một lý do nào đấy mà sự vận chuyển Na^+ không thực hiện được, lúc đó nồng độ Na^+ nội bào tăng cao sẽ gián tiếp làm nồng độ Ca^{2+} tăng theo và kết quả là sự co bóp của cơ tim tăng lên.



Hình 1.21. Cơ chế hoạt động của kênh Na^+/K^+

Kênh Na^+/K^+ còn có tên gọi khác là Na^+ , K^+ adenosintriphosphatase (Na^+ , K^+ ATPase). Đây là một loại protein xuyên màng có khối lượng phân tử 270.000D.

Kênh được tạo nên từ 4 tiểu đơn vị: 2α và 2β . Việc thủy phân ATP lấy năng lượng được thực hiện tại một khu vực trên tiểu đơn vị α . Hoạt động của kênh diễn ra theo chu kỳ. Đầu tiên, 2 ion Na^+ sẽ bám vào mặt trong của kênh. Với sự có mặt của Mg^{2+} , kênh sẽ tiến hành thủy phân ATP để lấy gốc phosphat cao năng và giải phóng ra ADP. Sau khi được phosphoryl hoá bằng cách tiếp nhận gốc phosphat của ATP, kênh Na^+/K^+ sẽ bị biến đổi thù hình và nhả 3 ion Na^+ ra ngoài. Ngay sau khi nhả Na^+ , 2 ion K^+ từ môi trường sẽ bám vào mặt ngoài của kênh. Sự biến đổi thù hình của kênh Na^+/K^+ chỉ diễn ra trong giây lát rồi lại giải phóng nốt gốc phosphat và quay trở lại hình dạng ban đầu. Quá trình lấy lại thù hình ban đầu cũng là lúc 2 ion K^+ được vận chuyển và nhả vào trong tế bào. Như vậy, sau một chu kỳ có 3 ion Na^+ được chuyển ra ngoài và 2 ion K^+ được đưa vào trong qua kênh Na^+/K^+ .

- **Kênh liên kết:** Kênh này gồm nhiều loại và có vai trò vận chuyển đường cũng như các acid amin. Việc vận chuyển cũng cần sự tham gia của ATP và các ion. Từ “liên kết” ở đây để chỉ quá trình dẫn truyền các chất không diễn ra một cách đơn lẻ mà đi kèm với sự vận chuyển các ion. Ví dụ, quá trình vận chuyển glucose được thực hiện đồng thời với vận chuyển Na^+ qua màng theo cùng hướng. Khi kênh Na^+/K^+ hoạt động, nó sẽ bơm Na^+ ra ngoài tế bào và tạo sự chênh lệch về nồng độ rất lớn giữa hai bên màng. Lúc này, Na^+ có xu hướng khuếch tán trở lại qua kênh liên kết. Sự khuếch tán của Na^+ tương đối lớn, vì thế nó hỗ trợ và giúp cho phân tử glucose đi qua màng một cách dễ dàng, thậm chí là có thể đi ngược với gradient nồng độ.

- **Kênh H^+ :** Như đã trình bày ở trên, kênh H^+ không nằm trên màng sinh chất mà nằm trên màng của ty thể và lục lạp. Năng lượng để kênh H^+ hoạt động lấy từ các điện tử cao năng được tạo ra thông qua quá trình oxy hoá các hợp chất hữu cơ hoặc hấp thụ năng lượng photon ánh sáng diễn ra trong các bào quan này. Quá trình hoạt động của kênh sẽ giúp tạo ra sự chênh lệch về nồng độ H^+ giữa hai bên màng. Mục đích của sự chênh lệch về nồng độ H^+ là tạo động lực cho quá trình tổng hợp ATP theo phương thức hoá thẩm (trình bày ở những chương sau).

4.4. Sự nhập bào và xuất bào

Trong hai quá trình đã trình bày ở trên, sự vận chuyển được thực hiện ở mức các phân tử. Ngoài ra, ở một số tế bào còn có một phương thức khác cho phép vận chuyển cả khối vật chất đi vào hoặc ra khỏi tế bào. Đó là nhập bào và xuất bào. Đây là một hình thức vận chuyển chủ động. Trong đó, vật chất sẽ được vận chuyển thông qua các túi màng.

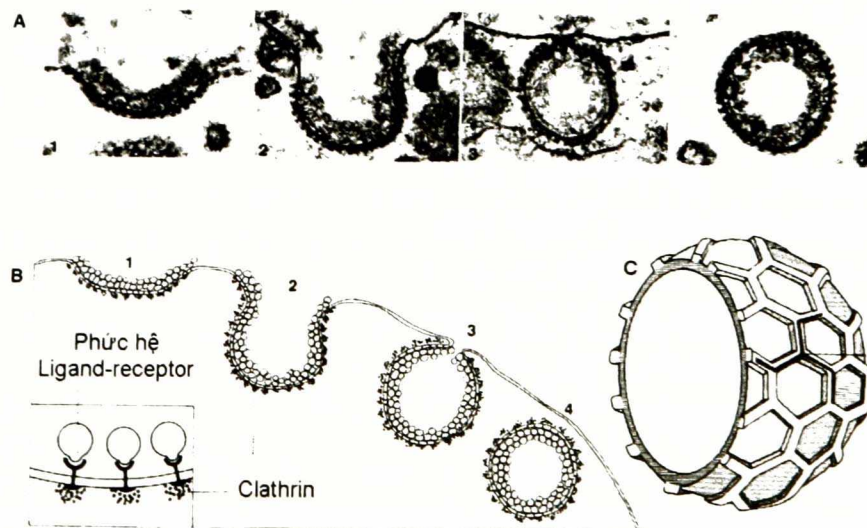
4.4.1. Sự nhập bào (endocytosis)

Hiện tượng nhập bào là sự hình thành các bóng nội bào do sự lõm vào và tách ra của một phần màng có chứa một khối rắn hoặc dịch lỏng ở bên trong. Nhập bào được chia thành 3 dạng: ẩm bào (pinocytosis), thực bào (phagocytosis) và nhập bào-thụ thể (receptor-mediated endocytosis).

- **Ẩm bào:** là hiện tượng bắt giữ và đưa vào tế bào các giọt chất lỏng ngoại bào. Trong dịch lỏng có chứa các chất hoà tan mà tế bào sử dụng. Diễn biến của quá trình ẩm bào như sau: một phần màng sinh chất lõm vào thành túi đường kính khoảng $0,1\mu\text{m}$, chất lỏng ngoại bào sẽ tràn vào lòng túi, miệng túi khép lại, túi tách ra khỏi màng trở thành một bóng ẩm bào và được đưa sâu vào tế bào chất.

- **Thực bào:** là hiện tượng hình thành và đưa vào tế bào các bóng có kích thước lớn ($1 - 2\mu\text{m}$) có màng bao bọc và chứa các phần tử rắn, vi khuẩn hoặc mảnh vỡ tế bào,... Hiện tượng này có ở một số bạch cầu, đặc biệt là bạch cầu mono và ở một số động vật nguyên sinh (ví dụ amíp). Ở thực bào, màng sinh chất không lõm vào như ẩm bào mà thay vào đó có sự hình thành chân giả để vây bắt các phần tử ngoại bào để hình thành các túi có đường kính lớn được gọi là phagosome. Về cấu tạo, túi thực bào cũng có cấu tạo màng giống túi ẩm bào nhưng khác ở chỗ có thêm các vi sợi actin bao bọc ở bên ngoài.

- **Nhập bào – thụ thể:**



Hình 1.22. Quá trình nhập bào – thụ thể

A. Ảnh chụp bằng kính hiển vi điện tử; B. Mô hình.

Nhập bào – thụ thể là dạng nhập bào, trong đó tạo thành các bóng nhập bào do sự lõm vào và tách ra của một phần màng đặc biệt có chứa nhóm thụ thể (receptor). Các bóng này được bao bọc bởi một hệ thống sợi clathrin. Clathrin là

một loại protein gồm 6 mạch polypeptid (3 mạch dài và 3 mạch ngắn) xếp với nhau tạo thành dạng kiềng 3 chân. Khi các receptor được gắn với các phân tử mang tín hiệu đặc trưng đến từ môi trường (ligand), hệ thống sợi clathrin sẽ được hình thành kéo lõm phần màng chứa receptor xuống, khép miệng lại tạo nên các bóng nhập bào–thụ thể. Bằng cách tạo nên các bóng nhập bào như vậy, tế bào thu nhận được các chất hoá học mang thông tin để từ đó điều chỉnh hoạt động sống cho phù hợp (hình 1.22).

4.4.2. Sự xuất bào (exocytosis)

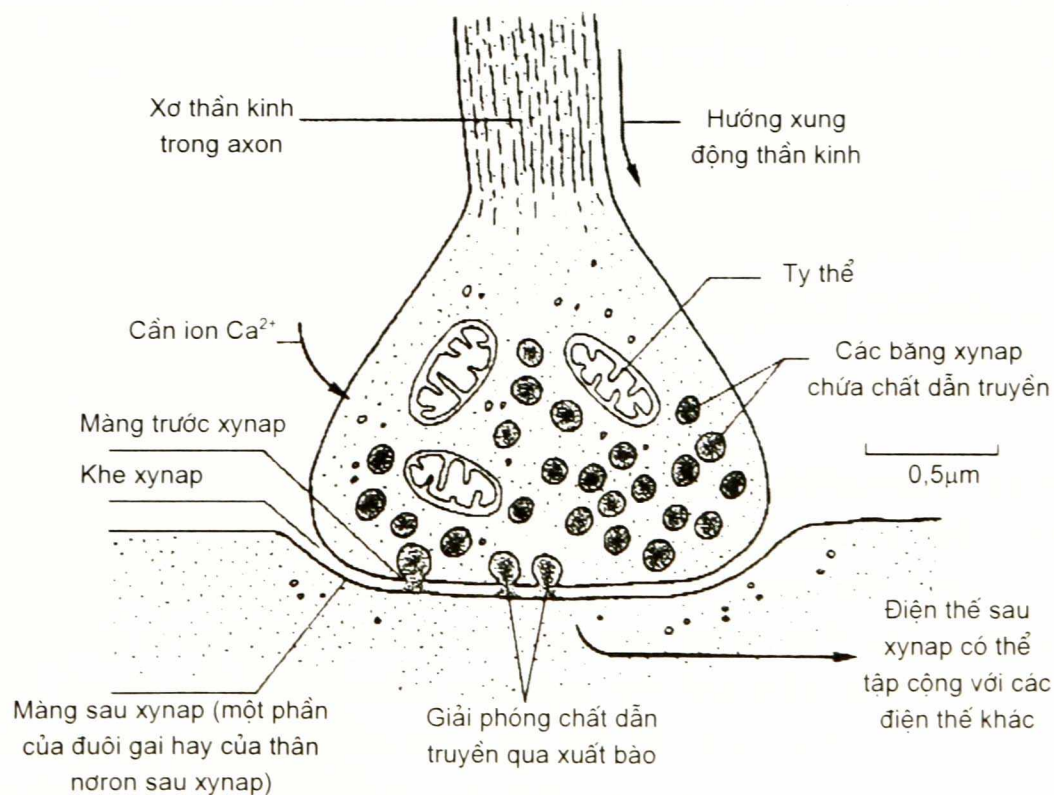
Xuất bào là một hình thức vận chuyển chất ra khỏi tế bào qua màng sinh chất. Quá trình xuất bào diễn ra ngược với nhập bào. Các bóng chứa chất bài tiết được hình thành trong tế bào chất sau đó chuyển dần ra ngoài màng. Màng của bóng xuất bào tiếp đó sẽ hoà nhập với màng sinh chất và giải phóng các thành phần chứa trong nó ra ngoài tế bào. Cũng giống như nhập bào, xuất bào là một quá trình đòi hỏi tiêu tốn năng lượng. Sự vận động của bóng xuất bào diễn ra nhờ tác động của hệ thống vi sợi, vi ống có trong tế bào chất. Thành phần được đưa ra ngoài nhờ bóng xuất bào cũng khá đa dạng. Đó có thể là các chất cặn bã, các sản phẩm thừa của quá trình tiêu hoá nội bào hoặc cũng có thể là những sản phẩm có chức năng mà tế bào chịu trách nhiệm sản xuất (ví dụ các enzym tiêu hoá, các hormone,...).

4.5. Sự trao đổi thông tin qua màng tế bào

Bên cạnh sự trao đổi chất, tế bào còn trao đổi thông tin với môi trường bên ngoài. Những thông tin đó có thể là những tín hiệu hoá học, nhiệt độ, ánh sáng,... Bộ phận tiếp nhận thông tin chính là các thụ thể (receptor) gắn trên màng sinh chất. Thông qua việc tiếp nhận những thông tin từ môi trường mà tế bào hoặc cơ thể có thể điều chỉnh các hoạt động sống một cách phù hợp. Môi trường bên ngoài ở đây không chỉ hiểu đơn thuần là môi trường tự nhiên mà còn là môi trường ở bên trong cơ thể sinh vật. Ngay cả những tế bào ở sâu bên trong cơ thể sinh vật đa bào cũng có sự tiếp nhận thông tin.

Ở sinh vật đa bào, sự phối hợp hoạt động của các tế bào trong cùng một cơ thể là vô cùng cần thiết. Cơ thể sinh vật thực hiện điều đó thông qua một hệ thống các tín hiệu, chủ yếu dưới dạng các chất hoá học (hormone). Khi tiếp nhận tín hiệu hormone, các tế bào sẽ lập tức điều chỉnh hoạt động trao đổi chất một cách phù hợp. Khoảng cách giữa tế bào phát và tế bào nhận tín hiệu có thể cách xa mà cũng có thể ở ngay cạnh nhau. Mỗi trường hợp như vậy đều có phương thức gửi và nhận thông tin tương ứng.

Đối với các tế bào ở xa nhau, sự phát và nhận tín hiệu được thực hiện thông qua các hormone và thụ thể màng. Các tín hiệu hormone này xuất phát từ các tuyến nội tiết và đi đến các nơi trong cơ thể thông qua hệ thống mạch máu. Ví dụ, hormone glucagon do tuyến đảo tiết ra có tác động hoạt hoá các tế bào gan, làm tăng cường giải phóng glucose vào máu... Một tín hiệu có thể mang ý nghĩa kích thích mà cũng có thể là ức chế các hoạt động của tế bào. Glucagon làm tăng glucose trong máu, còn insulin lại có vai trò ngược lại. Các thụ thể màng, bộ phận tiếp nhận thông tin ở tế bào, có bản chất là các protein xuyên màng. Một đầu của thụ thể thò ra ngoài màng và là nơi tiếp nhận các phân tử mang tín hiệu từ bên ngoài. Sự hình thành phức hệ phân tử mang tín hiệu – thụ thể (ligand–receptor) sẽ tạo nên một loạt các biến đổi dây chuyền, cuối cùng lan truyền đến đầu kia của thụ thể và làm thay đổi hoạt động của tế bào. Sau khi thực hiện chức năng, hormone sẽ rời ra ngoài và thụ thể lại trở về trạng thái bình thường. Trong nhiều trường hợp, sau khi chuyển vào trong tế bào, thông tin có thể được khuếch đại lên rất nhiều lần. Ví dụ, đối với hormone glucagon là từ 10^5 đến 10^9 lần. Vì thế nên chỉ cần một lượng rất nhỏ hormone cũng đủ làm biến đổi trên diện rộng hoạt động của các tế bào trong cơ thể.



Hình 1.23. Mô hình cấu tạo và hoạt động của xynap

Khi hai tế bào ở cạnh nhau muốn trao đổi thông tin thì điều đó sẽ được thực hiện thông qua các cấu trúc chuyên biệt nằm ở màng. Đối với hai tế bào thần kinh, đó là các xynap hoá học hoặc xynap điện. Còn ở hai tế bào bình thường thì đó là các cầu nối tế bào (gap).

CÂU HỎI LƯỢNG GIÁ

1. Hãy trình bày đặc điểm cấu tạo của tế bào Prokaryota.
2. Hãy trình bày đặc điểm cấu tạo và chức năng của các thành phần có trong tế bào Eukaryota.
3. Trình bày cấu trúc của màng sinh chất theo mô hình khảm động. Tính linh hoạt của màng được thể hiện ra sao ?
4. Cơ chế vận chuyển vật chất quang màng theo phương thức thụ động là gì ? Tính chất ra sao ?
5. Thế nào là vận chuyển chủ động ? Trình bày đặc điểm của ba kênh vận chuyển chủ động quan trọng trong tế bào: kênh Na^+/K^+ , kênh liên kết và kênh H^+ .
6. Quá trình xuất/ nhập bào là gì ? Diễn biến ra sao ?

Chương 2

SỰ TRAO ĐỔI CHẤT VÀ NĂNG LƯỢNG

MỤC TIÊU

1. Trình bày được khái niệm về ΔG , vai trò của năng lượng hoạt hóa.
2. Trình bày được mô hình phân tử và chức năng của ATP, phương thức tổng hợp ATP trong tế bào.
3. Trình bày được đặc điểm cấu trúc và chức năng của enzym, cơ chế hoạt động của enzym, giải thích được tính đặc hiệu của enzym.
4. Trình bày được ảnh hưởng của các nhân tố nhiệt độ, pH, nồng độ enzym / cơ chất, các chất ức chế lên tốc độ phản ứng do enzym xúc tác.
5. Trình bày được khái niệm và các giai đoạn chính của quá trình hô hấp hiếu khí. So sánh hô hấp hiếu khí với hô hấp kỵ khí.
6. Trình bày được khái niệm và các giai đoạn chính của quá trình quang hợp.

1. NĂNG LƯỢNG SINH HỌC

Nghiên cứu về năng lượng sinh học là lĩnh vực nghiên cứu về sự biến đổi năng lượng diễn ra kèm với các phản ứng sinh hoá trong cơ thể. Giống như các phản ứng hoá học, phản ứng sinh hoá là quá trình một hoặc một vài cơ chất này được chuyển hoá thành một hoặc một vài cơ chất khác. Trong cơ thể sinh vật, đại đa số các phản ứng sinh hoá này đều diễn ra với sự có mặt của các chất xúc tác. Ví dụ, phản ứng biến đổi dihydroxyaceton phosphat thành glyceraldehyd – 3 – phosphat cần một xúc tác có tên là triose phosphat isomerase.

1.1. Sự biến đổi năng lượng tự do

Thông số nhiệt động học quan trọng nhất trong nghiên cứu năng lượng sinh học là sự biến đổi năng lượng tự do, được ký hiệu là ΔG (chữ G xuất phát từ tên J. Willard Gibbs, người có nhiều đóng góp quan trọng trong lĩnh vực nghiên cứu nhiệt động học). Đây là sự biến đổi năng lượng diễn ra trong một phản ứng ở điều kiện nhiệt độ và áp suất không đổi (điều kiện thông thường của các phản ứng sinh hoá). Đối với phản ứng biến đổi dihydroxyacetone phosphat thành glyceraldehyd – 3 – phosphat đã nêu ở trên, ta có ΔG được tính như sau:

$$\Delta G = \Delta G^0 + R.T.\ln \frac{[G3P]}{[DHAP]}$$

Trong đó: ΔG : sự biến đổi năng lượng tự do

ΔG^0 : sự biến đổi năng lượng tự do tiêu chuẩn

R: hằng số khí

T: nhiệt độ tuyệt đối

[G3P]: nồng độ glyceraldehyd – 3 – phosphat

[DHAP]: nồng độ dihydroxyacetone phosphat

Với phản ứng $A + B \rightleftharpoons C + D$ ta có:

$$\Delta G = \Delta G^0 + R.T.\ln \frac{[C][D]}{[A][B]}$$

ΔG^0 tương ứng với sự biến đổi năng lượng diễn ra khi một mol chất tham gia phản ứng được chuyển hoá thành một mol sản phẩm tạo thành và các chất trong phản ứng đều có nồng độ 1M. Trong cơ thể, các phản ứng diễn ra trong môi trường nước mà lượng nước là không đổi. Vì vậy, người ta coi tác động của nồng độ nước bằng 1.

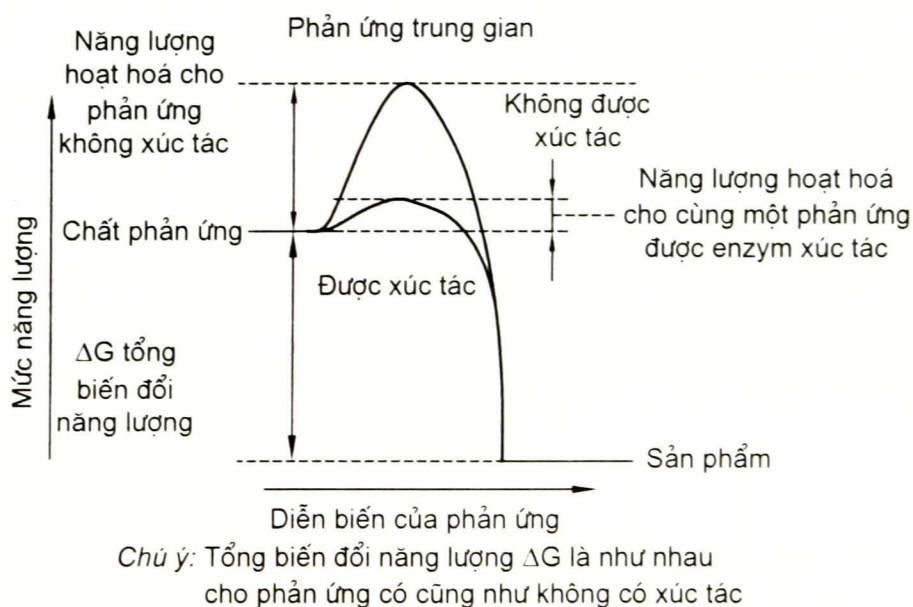
ΔG có thể mang giá trị âm, dương hoặc bằng không. Phản ứng có ΔG dương được gọi là thu nhiệt (endergonic). Trong phản ứng này, mức năng lượng tự do của sản phẩm cao hơn mức năng lượng tự do của các chất tham gia phản ứng. Bởi vậy, để phản ứng diễn ra được cần có sự cung cấp năng lượng từ môi trường bên ngoài. Phản ứng có ΔG âm được gọi là phản ứng phát nhiệt (exegonic). Lúc này, mức năng lượng tự do của sản phẩm thấp hơn các chất tham gia phản ứng. Một phản ứng có ΔG âm thường có xu thế diễn ra một cách tự phát.

1.2. Năng lượng hoạt hoá

Mặc dù phản ứng phát nhiệt có xu thế diễn ra tự phát nhưng có thể thấy rằng chúng ít khi xảy ra trong điều kiện bình thường. Ví dụ như các phản ứng cháy,

xăng hay cồn đều không thể tự bốc cháy mà cần có một nhiệt lượng ban đầu để khơi mào phản ứng. Năng lượng dùng để khơi mào phản ứng đó được gọi là năng lượng hoạt hoá. Vận tốc của một phản ứng không phụ thuộc vào việc chúng giải phóng ra bao nhiêu năng lượng mà phụ thuộc vào mức năng lượng để hoạt hoá. Các phản ứng có mức năng lượng hoạt hoá lớn hơn thường có khuynh hướng diễn ra chậm hơn.

Vai trò của năng lượng hoạt hoá là giúp phá vỡ các liên kết vốn có của phân tử chất tham gia phản ứng để từ đó hình thành nên các liên kết có mức năng lượng thấp hơn. Năng lượng hoạt hoá không phải là một hằng số cố định. Chúng phụ thuộc vào trạng thái của các liên kết trong phân tử. Nếu có một tác động nào đó khiến cho các liên kết này bị yếu đi thì năng lượng hoạt hoá cần thiết cũng sẽ thấp hơn. Tác động này được gọi là sự xúc tác. Trong cơ thể sinh vật, chất xúc tác được gọi là các enzym.



Hình 2.1. Mức năng lượng hoạt hóa của phản ứng trong điều kiện bình thường và khi có enzym xúc tác

1.3. ATP – tiền tệ năng lượng của cơ thể

Nguồn năng lượng cung cấp hằng ngày cho cơ thể con người cũng như các sinh vật khác được lấy từ sự oxy hoá các hợp chất hữu cơ mà quan trọng nhất là glucose. Khi oxy hoá hoàn toàn 1 mol glucose, bên cạnh sản phẩm CO_2 và H_2O , ta có năng lượng giải phóng ra là 2870kJ ($\Delta G^\circ = -2870\text{kJ}$). Số năng lượng này không giải phóng ra cùng một lúc mà diễn ra một cách từ từ và phần lớn được sử dụng để tổng hợp phân tử ATP, một hợp chất được coi là tiền tệ năng lượng của cơ thể.

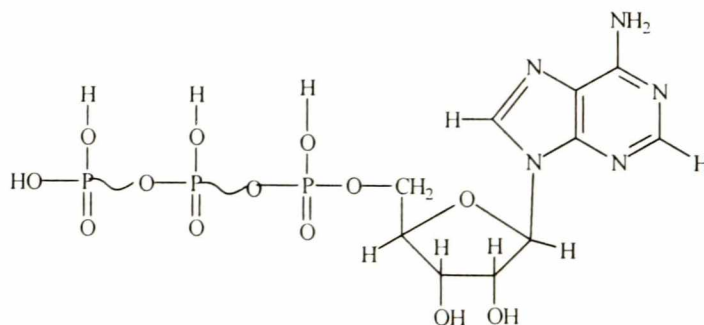
ATP (adenosin triphosphat) là một hợp chất giàu năng lượng, có vai trò như một người cung cấp năng lượng hoá học cho các hoạt động của tế bào như vận chuyển ion, vận động tế bào hay các phản ứng sinh tổng hợp v.v..

Về mặt cấu tạo, phân tử ATP được hình thành từ ba phần là:

- Gốc adenin.
- Đường ribose.
- Ba gốc phosphat liên nhau.

Ba gốc phosphat là thành phần mấu chốt quyết định đặc tính của phân tử ATP. Chúng được nối với nhau bởi các liên kết giàu năng lượng. Năng lượng được giải phóng ra nhiều nhất khi liên kết giữa hai gốc phosphat ngoài cùng bị phá vỡ, tương đương khoảng 30kJ/mol. Năng lượng này nhiều gấp hai lần năng lượng hoạt hoá trung bình của các phản ứng trong tế bào.

Các hoạt động của cơ thể, sâu hơn là của tế bào thực ra đều là một chuỗi các phản ứng sinh hoá khác nhau và ATP chính là nguồn cung cấp năng lượng hoạt hoá phổ biến để chúng diễn ra. Năng lượng này được giải phóng thông qua sự phân tách phân tử ATP thành ADP và gốc phosphat. Thông thường, phản ứng phân tách ATP (phản ứng toả nhiệt) và phản ứng cần năng lượng (phản ứng thu nhiệt) được kết hợp với nhau theo cặp, tức là diễn ra cùng nhau, cùng thời gian, tại cùng địa điểm và được xúc tác bởi cùng một phức hệ enzym. Năng lượng giải phóng ra sẽ được sử dụng để gắn gốc phosphat với chất tham gia phản ứng, chuyển chúng thành dạng hoạt động. Quá trình này được gọi là sự phosphoryl hoá.



Hình 2.2. Công thức cấu tạo phân tử ATP

Trong tế bào, ATP được tạo ra theo hai cách là phosphoryl hóa mức cơ chất và tổng hợp hoá thẫm.

• Phosphoryl hoá mức cơ chất

Là sự hình thành ATP thông qua việc gắn ADP với gốc phosphat lấy từ một hợp chất hữu cơ. Phản ứng này diễn ra dưới sự xúc tác của enzym. Ví dụ:



Phản ứng trên được xúc tác bởi enzym pyruvat kinase. Đây là một phản ứng có ΔG âm. Năng lượng chứa trong liên kết giữa gốc phosphat cao năng và phân tử pyruvat là 62kJ/mol, trong khi liên kết giữa gốc phosphat và ADP chỉ là 30kJ/mol. Bởi vậy, phản ứng xảy ra không khó khăn. Tổng hợp ATP theo phương thức phosphoryl hoá mức cơ chất là quá trình có ở mọi loại tế bào.

- *Tổng hợp hoá thẩm*

Đây là quá trình tổng hợp ATP thông qua sự thẩm thấu của ion H^+ qua màng các bào quan chuyên biệt trong tế bào (ví dụ: ty thể, lục lạp).

Theo quá trình này, tế bào sẽ sử dụng các điện tử cao năng để bơm và tạo sự chênh lệch về nồng độ ion H^+ giữa hai bên màng. Các điện tử cao năng được sử dụng có thể bắt nguồn từ phản ứng oxy hoá các hợp chất hữu cơ trong quá trình hô hấp hoặc qua quá trình hấp thụ năng lượng ánh sáng Mặt Trời trong quang hợp. Sau khi thiết lập sự chênh lệch về mật độ nồng độ, các ion H^+ sẽ có xu hướng khuếch tán ngược trở lại, từ nơi có nồng độ cao quay về nơi có nồng độ thấp hơn. Quá trình khuếch tán của ion H^+ không được thực hiện trực tiếp qua lớp màng phospholipid mà thông qua các kênh đặc biệt có sự kết hợp với enzym sinh tổng hợp ATP. Sự vận động của các ion H^+ qua kênh sẽ tạo động lực để enzym gắn ADP với gốc phosphat vô cơ và tạo nên phân tử ATP.

So với tổng hợp theo phương thức phosphoryl hoá mức cơ chất, tổng hợp hoá thẩm có hiệu suất cao hơn rất nhiều. Phần lớn ATP của tế bào Eukaryota đều được tổng hợp theo phương thức hoá thẩm và ty thể là bào quan chịu trách nhiệm chính trong việc thực hiện quá trình này.

2. SỰ TRAO ĐỔI CHẤT TRONG TẾ BÀO

Sự trao đổi chất được hiểu là toàn bộ các phản ứng hoá học diễn ra trong cơ thể sinh vật. Tên gọi “metabolism” (trao đổi chất) xuất phát từ một từ Hy Lạp có nghĩa là sự thay đổi. Các nghiên cứu cho thấy rằng, gần như toàn bộ các phản ứng diễn ra trong hệ thống sống đều được xúc tác bởi các enzym.

Các phản ứng trao đổi chất không diễn ra một cách ngẫu nhiên, vô trật tự. Chúng được sắp xếp theo những trình tự đặc hiệu phù hợp với từng mục đích nhất định. Trình tự này được gọi là các con đường trao đổi chất. Một con đường trao đổi chất có thể gồm từ 2 cho đến 20 phản ứng nối tiếp nhau cho phép biến đổi một hợp chất ban đầu thành sản phẩm mong muốn của tế bào; các thành phần tham gia vào chuỗi biến đổi đó được gọi là các chất chuyển hoá.

Quá trình trao đổi chất trong cơ thể diễn ra theo hai hướng là đồng hoá và dị hoá. Dị hoá là quá trình phân tách các hợp chất hữu cơ lớn, phức tạp thành các

sản phẩm đơn giản và có kích thước nhỏ hơn. Một số phản ứng trong quá trình dị hoá giải phóng ra năng lượng và một phần năng lượng hoá học này được sử dụng để tổng hợp ATP cho tế bào. Nói cách khác, dị hoá cung cấp cho tế bào nguồn năng lượng và các đơn vị cấu trúc cần cho hoạt động sống. Ngược với dị hoá, đồng hoá là quá trình lắp ráp các phân tử đơn giản thành các sản phẩm lớn, có cấu trúc phức tạp. Các phản ứng sinh tổng hợp này cần được cung cấp năng lượng hoá học, chủ yếu từ ATP.

Nhìn chung, các con đường sinh tổng hợp của một hợp chất không đơn giản là sự đảo ngược lại của quá trình phân giải chất đó. Ví dụ, sự chuyển hoá phân tử glucose thành pyruvat gồm 10 phản ứng, trong khi quá trình ngược lại cần tới 13 phản ứng và giữa hai quá trình này chỉ có 9 phản ứng là chung nhau. Các con đường trao đổi chất có thể độc lập với nhau hoặc cùng chia sẻ những công đoạn trung gian. Kết quả là chúng đan xen với nhau tạo thành một mạng lưới trao đổi chất và tế bào sử dụng mạng lưới này như là phương tiện sống của mình. Không có trao đổi chất, tế bào không thể tồn tại.

Tính độc lập của hai mặt phân giải và tổng hợp chất hữu cơ cho phép chúng có các cơ chế điều hoà riêng. Tốc độ sinh tổng hợp và phân giải có thể được tăng lên hoặc giảm đi một cách độc lập dựa vào các phản ứng riêng của mỗi quá trình. Nếu tất cả các phản ứng đều chung nhau thì khi tác động sẽ khiến cho cả hai quá trình bị thay đổi giống nhau và sự điều hoà trở nên không có kết quả. Sự điều hoà trao đổi chất thường xảy ra ở bước đầu tiên hoặc các công đoạn ban đầu của chuỗi trao đổi chất, và các phản ứng được điều hoà thường không phải là những phản ứng thuận nghịch.

3. ENZYM

Như đã trình bày ở trên, đại đa số các phản ứng trao đổi chất trong tế bào đều diễn ra với sự xúc tác của enzym và đây cũng là đối tượng để tế bào thực hiện sự điều hoà đối với quá trình trao đổi chất. Cho đến nay, người ta đã biết và phân loại được khoảng 3500 enzym.

3.1. Thành phần và cấu tạo

Thành phần hoá học của đại đa số enzym là protein. Bản chất hoá học của enzym chỉ được xác định đúng kể từ khi người ta kết tinh được chúng. Enzym đầu tiên được kết tinh là urease của đậu tương vào năm 1926, tiếp theo là pepsin và tripsin vào năm 1930 và 1931. Cho đến năm 1977, người ta đã kết tinh được gần 200 loại enzym khác nhau. Những phân tích hoá học cho thấy, các tinh thể enzym

nhận được đều là các protein. Tuy nhiên, vào năm 1981, một nhà khoa học tên là Thomas R. Cech làm việc tại đại học Colorado đã phát hiện thấy rằng, một số đoạn trên phân tử ARN có khả năng xúc tác cho sự cắt rời của chính nó. Điều này cho thấy không phải toàn bộ các enzym đều là protein.

Dựa vào thành phần hoá học, người ta chia enzym ra làm hai loại: enzym đơn giản và enzym phức tạp.

Enzym đơn giản (hay còn gọi là enzym một thành phần): khi thủy phân chỉ cho ra thành phần duy nhất là các loại acid amin.

Enzym phức tạp (hay còn gọi là enzym hai thành phần): ngoài phần acid amin ra (gọi là apoenzym), sau khi thủy phân, người ta còn thu được một hoặc một số phần khác không phải là protein gọi là nhóm ngoại (cofactor). Các nhóm ngoại có thể là các ion kim loại như Mg^{2+} , Fe^{2+} hoặc là các phân tử hữu cơ nhỏ gọi là coenzym. Coenzym thường có quan hệ mật thiết với các vitamin, các vitamin là nguyên liệu thô để tạo nên coenzym. Vai trò của nhóm ngoại là hỗ trợ quá trình xúc tác của enzym. Người ta thấy rằng, nhiều enzym sẽ không thể hoạt động chính xác khi thiếu các nhóm ngoại. Chúng hoạt động như là cầu nối giữa enzym với cơ chất và tham gia trực tiếp vào quá trình xúc tác. Phần lớn các nhóm ngoại (khoảng 80%) chỉ gắn với enzym bằng những liên kết lỏng lẻo và sự liên kết này chỉ hình thành khi enzym hoạt động xúc tác. Các nhóm ngoại có thể được tái sử dụng nhiều lần.

Về mặt cấu trúc, enzym thường có dạng cầu, có khối lượng phân tử lớn. Enzym có khối lượng nhỏ nhất hiện nay là ribonuclease (12.700 dalton). Còn lại đa số nằm trong khoảng 20.000 đến 90.000 hoặc vài trăm nghìn, một số enzym có khối lượng lên đến một triệu hoặc lớn hơn.

Trên enzym có một vùng đặc biệt được gọi là trung tâm hoạt động (TTHĐ). TTHĐ có cấu tạo như một vùng lõm trên bề mặt enzym và là nơi tiếp xúc trực tiếp với cơ chất (chất tham gia phản ứng, bị chuyển hoá dưới tác động của enzym), thực hiện việc cắt đứt hoặc hình thành các liên kết mới trên cơ chất để tạo thành sản phẩm. Từ kết quả nghiên cứu trên các enzym, người ta đã rút ra một số đặc điểm chung của TTHĐ là:

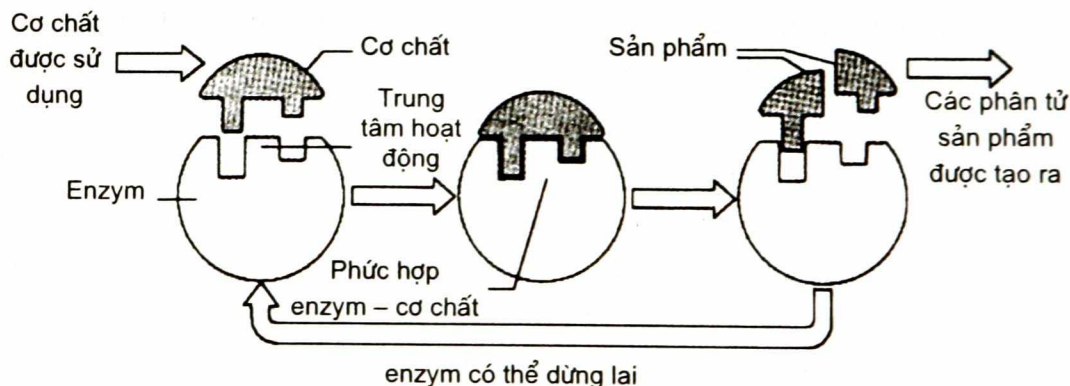
- Chỉ chiếm một tỷ lệ thể tích tương đối nhỏ trên enzym.
- Được cấu tạo bởi nhiều nhóm chức khác nhau của acid amin, các phân tử nước liên kết, trong nhiều trường hợp còn có cả các ion kim loại, các nhóm chức của coenzyme.
- Sự phân bố của các nhóm chức khiến cho TTHĐ có cấu trúc không gian phức tạp, được giữ vững nhờ mạng lưới liên kết hydro. Cấu trúc không gian của TTHĐ chỉ phù hợp với một hoặc một số cơ chất nhất định.

Ở một số enzym, ngoài TTHĐ ra còn có một trung tâm khác gọi là trung tâm điều hoà. Đây là nơi enzym kết hợp với các chất điều hoà. Khi sự kết hợp diễn ra, cấu trúc không gian của enzym sẽ bị thay đổi, trong đó có cấu trúc của TTHĐ, do đó hoạt tính xúc tác cũng bị thay đổi theo. Nếu sự thay đổi diễn ra theo hướng tăng hoạt tính enzym thì gọi là điều hoà dương, còn nếu làm giảm hoạt tính thì gọi là điều hoà âm. Chất điều hoà mặc dù gắn với enzym nhưng không bị enzym tác động.

3.2. Cơ chế hoạt động của enzym

Phương thức hoạt động của enzym là làm tăng tốc độ phản ứng thông qua việc làm giảm năng lượng hoạt hoá. Ví dụ, phản ứng phân huỷ H_2O_2 để giải phóng H_2O và O_2 . Khi có mặt enzym xúc tác là catalase, tốc độ của phản ứng có thể tăng lên 10.000 lần.

Để xúc tác, enzym sẽ kết hợp tạm thời với cơ chất tại TTHĐ để tạo nên phức hợp enzym – cơ chất. Các nhóm chức của TTHĐ sẽ tác động lên cơ chất để phá vỡ và hình thành các liên kết mới. Phức hợp enzym – cơ chất rất kém bền vững, cơ chất nhanh chóng bị chuyển hoá và giải phóng ra sản phẩm cùng enzym tự do. Đối tượng bị biến đổi trong phản ứng chỉ là cơ chất, còn enzym không bị tác động và được tái sử dụng. Các loại liên kết chủ yếu được tạo thành giữa enzym và cơ chất trong phức hợp là: tương tác tĩnh điện, liên kết hydro, tương tác Van der Waals. Mỗi loại liên kết đòi hỏi những điều kiện khác nhau và chịu ảnh hưởng khác nhau khi có nước.



Hình 2.3. Mô hình hoạt động của enzym

Để giải thích khả năng kết hợp của enzym và cơ chất, chúng ta sẽ nghiên cứu hai mô hình là giả thuyết “ổ khoá – chìa khoá” và giả thuyết “khớp cảm ứng”.

• Giả thuyết “ổ khoá – chìa khoá”

Giả thuyết này do Emil Fischer đưa ra năm 1890. Theo ông, TTHĐ của enzym vốn có cấu trúc không gian tương ứng với cấu trúc phân tử cơ chất (tương tự như sự tương ứng giữa chìa khoá và ổ khoá). Do có sự phù hợp như vậy nên enzym có thể liên kết với phân tử cơ chất để xúc tác. Vì không phải cơ chất nào cũng có cấu

trúc phù hợp với TTHĐ nên enzyme chỉ xúc tác cho một số phản ứng và cơ chất nhất định. Giả thuyết “ổ khoá – chìa khoá” là một điểm mốc trong lĩnh vực nghiên cứu enzyme và nó vẫn còn giữ phần lớn giá trị đến ngày nay. Tuy nhiên, giả thuyết của Fischer còn đơn giản và chưa thể mô tả hết sự hoạt động của enzyme.

- *Giả thuyết “khớp cảm ứng”*

Giả thuyết “khớp cảm ứng” ra đời vào năm 1958 do Daniel Koshland đề xuất. Theo đó, phân tử enzyme không cứng nhắc mà có cấu trúc động. Sự tương ứng về cấu hình không gian của TTHĐ và cơ chất chỉ được hình thành trong quá trình enzyme tiếp xúc với cơ chất thay vì tương ứng ngay từ đầu như mô hình của E. Fischer. Khi tiếp xúc với cơ chất, các nhóm chức ở trong TTHĐ của enzyme sẽ thay đổi vị trí trong không gian, tạo thành hình thể khớp với hình thể của cơ chất, quá trình này được gọi là “khớp cảm ứng”. Đây chính là quan niệm hiện nay về cơ chế hoạt động của enzyme.

3.3. Tính đặc hiệu của enzyme

Tính đặc hiệu chính là một trong những điểm khác biệt của enzyme so với các chất xúc tác vô cơ thông thường. Mỗi enzyme chỉ có khả năng xúc tác cho sự chuyển hoá của một hay một số chất nhất định, theo một kiểu phản ứng nhất định. Đặc tính này được quy định do sự phức tạp về cấu trúc không gian của TTHĐ của enzyme. Chỉ những cơ chất hay nhóm cơ chất nào phù hợp thì mới có thể gắn với TTHĐ để tạo nên phức hệ enzyme – cơ chất và bị biến đổi. Tính đặc hiệu của enzyme được chia làm hai loại:

- *Đặc hiệu kiểu phản ứng*

Tính đặc hiệu này thể hiện ở chỗ mỗi enzyme chỉ có thể xúc tác cho một trong các kiểu phản ứng chuyển hoá một chất nhất định. Ví dụ, phản ứng oxy hoá khử, phản ứng thủy phân, phản ứng đồng phân hoá v.v...

- *Đặc hiệu cơ chất*

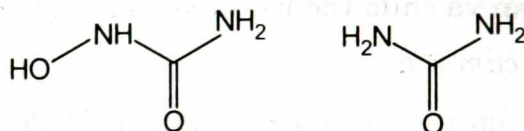
Mức độ đặc hiệu cơ chất của các enzyme là khác nhau. Người ta chia ra hai mức độ đặc hiệu cơ chất:

– Đặc hiệu tuyệt đối: enzyme chỉ có tác dụng trên một chất nhất định và hầu như không có tác dụng với chất nào khác. Ví dụ, urease hầu như chỉ có tác dụng với ure:



Tuy nhiên, về sau người ta thấy rằng, urease còn có tác dụng với hydroxyure (một chất có cấu trúc gần giống ure) nhưng với tốc độ nhỏ hơn 120 lần so với tác

dụng với ure. Một ví dụ khác về tính đặc hiệu tuyệt đối là enzym Lactat dehydrogenase. Enzym này chỉ tiến hành xúc tác với đồng phân dạng L của acid lactic, còn đồng phân dạng D không có tác dụng.



Hydroxy ure

Ure

Đặc hiệu tương đối: enzym có khả năng hoạt động trên nhiều cơ chất khác nhau có những đặc điểm chung về mặt cấu trúc. Ví dụ, carboxyesterase có thể thủy phân este của nhiều loại acid carboxylic khác nhau.

3.4. Các nhân tố ảnh hưởng đến vận tốc của phản ứng được xúc tác bởi enzym

Tốc độ của phản ứng do enzym xúc tác phụ thuộc vào nhiều yếu tố như: nồng độ enzym, nồng độ cơ chất, nhiệt độ, pH môi trường, các chất ức chế v.v... Trong đó, đại đa số các yếu tố này có liên quan đến cơ chế hoạt động và đặc điểm cấu tạo của enzym.

3.4.1. Nhiệt độ

Trong tất cả các phản ứng hoá học, việc tăng nhiệt độ sẽ làm tăng năng lượng động học của các phân tử tham gia phản ứng. Qua đó khiến chúng có tần số va chạm tăng lên và làm tốc độ phản ứng tăng theo. Người ta đánh giá ảnh hưởng của nhiệt độ đến tốc độ phản ứng hoá học thông qua hệ số nhiệt Q_{10} . Q_{10} được tính bằng tỷ số giữa hằng số tốc độ của phản ứng ở một nhiệt độ nào đó so với khi diễn ra ở nhiệt độ thấp hơn nhiệt độ đó 10°C .

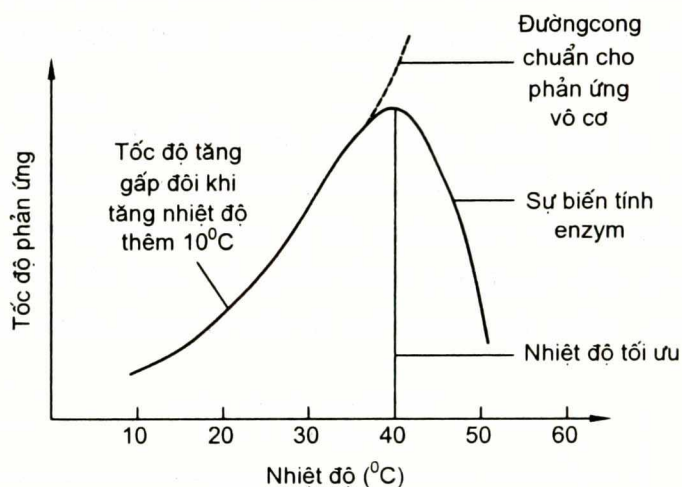
$$Q_{10} = \frac{k_{t+10}}{k_t}$$

Trong đó: k_t là tốc độ phản ứng ở nhiệt độ t ;

k_{t+10} là tốc độ phản ứng ở nhiệt độ $t + 10$.

Q_{10} của phản ứng hoá học thông thường là 2 đến 3, trong khi đó của phản ứng enzym chỉ là 1 đến 2. Khi tăng nhiệt độ, tốc độ của phản ứng enzym cũng tăng nhưng khi đạt đến một ngưỡng nhiệt độ nào đó, tốc độ sẽ lại giảm xuống và phản ứng có thể bị dừng lại. Sở dĩ có điều này là do hầu hết enzym có cấu tạo từ protein. Ở nhiệt độ cao, phân tử protein bị biến tính và enzym không còn hoạt tính nữa.

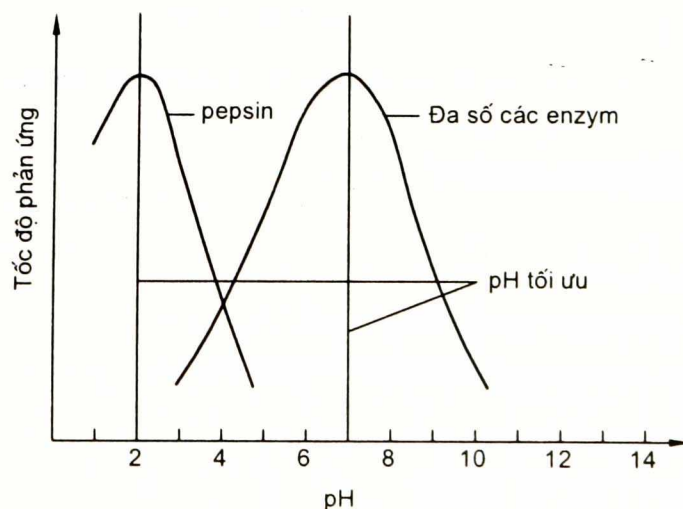
Mỗi enzym có một ngưỡng nhiệt độ tối ưu (hoạt tính mạnh nhất) và một ngưỡng nhiệt độ tới hạn (mất hoạt tính hoàn toàn). Thông thường, ngưỡng nhiệt độ tối ưu nằm ở khoảng 40 – 50°C, còn nhiệt độ tới hạn là khoảng 70°C. Tuy nhiên, trong những trường hợp cá biệt, nhiệt độ tối ưu của enzym có thể rất cao hoặc rất thấp. Ví dụ, enzym một số vi khuẩn sống ở suối nước nóng có nhiệt độ tối ưu trên 70°C, hoặc enzym của một số loài cá ở Nam Cực có thể hoạt động tốt ở -2°C. Độ bền của enzym có thể tăng lên khi kết hợp với cơ chất hoặc một số kim loại.



Hình 2.4. Ảnh hưởng của nhiệt độ tới tốc độ của phản ứng enzym

3.4.2. pH

pH môi trường tác động rõ rệt đến phản ứng enzym vì nó ảnh hưởng đến mức độ ion hoá của cơ chất và enzym. pH ≈ 7 thích hợp cho nhiều loại enzym. Khi vượt qua khoảng tối ưu, các ion trong môi trường sẽ ảnh hưởng tới các nhóm tích điện của TTHĐ, khiến chúng mất đi khả năng tác động với cơ chất. Nếu pH nằm xa khoảng tối ưu, các liên kết cấu tạo nên enzym có thể bị phá vỡ và làm enzym biến tính.

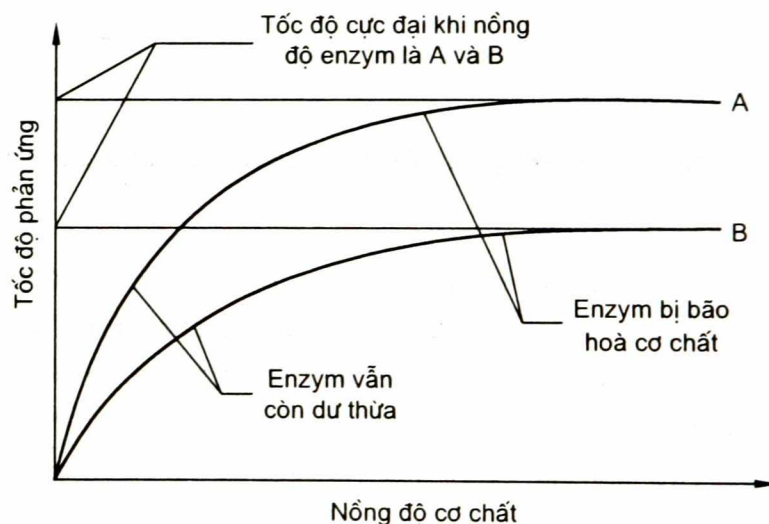


Hình 2.5. Ảnh hưởng của pH tới tốc độ của phản ứng enzym

3.4.3. Nồng độ enzyme và nồng độ cơ chất

Ảnh hưởng của nồng độ enzyme, cơ chất lên tốc độ phản ứng được thể hiện trên hình 2.6. Từ đồ thị có thể thấy, việc tăng nồng độ cơ chất sẽ làm tăng tốc độ phản ứng. Tuy nhiên, sự tăng lên này không kéo dài mãi mà sẽ đạt đến một trạng thái bão hoà. Tại đây, dù có cho tăng thêm nồng độ cơ chất, tốc độ của phản ứng vẫn sẽ không tăng lên được. Tốc độ của phản ứng tại trạng thái bão hoà cao hay thấp phụ thuộc vào nồng độ enzyme. Tương ứng với nồng độ enzyme cao, ta có tốc độ phản ứng tại điểm bão hoà lớn. Bởi vậy, muốn tốc độ phản ứng vượt qua điểm bão hoà, cần bổ sung thêm enzyme.

Hiện tượng này có thể được giải thích một cách đơn giản. Khi hàm lượng cơ chất thấp, nhiều enzyme có TTHĐ còn trống (lượng enzyme dùng chưa hết) nên tốc độ của phản ứng phụ thuộc vào nồng độ cơ chất. Nhưng khi lượng cơ chất quá nhiều, toàn bộ enzyme đều tham gia hoạt động, lúc này tốc độ phản ứng đạt trạng thái bão hoà. Đến đây, nồng độ enzyme lại là yếu tố quyết định tốc độ phản ứng.



Hình 2.6. Ảnh hưởng của nồng độ enzyme, nồng độ cơ chất lên tốc độ của phản ứng enzyme

3.4.4. Các chất ức chế enzyme

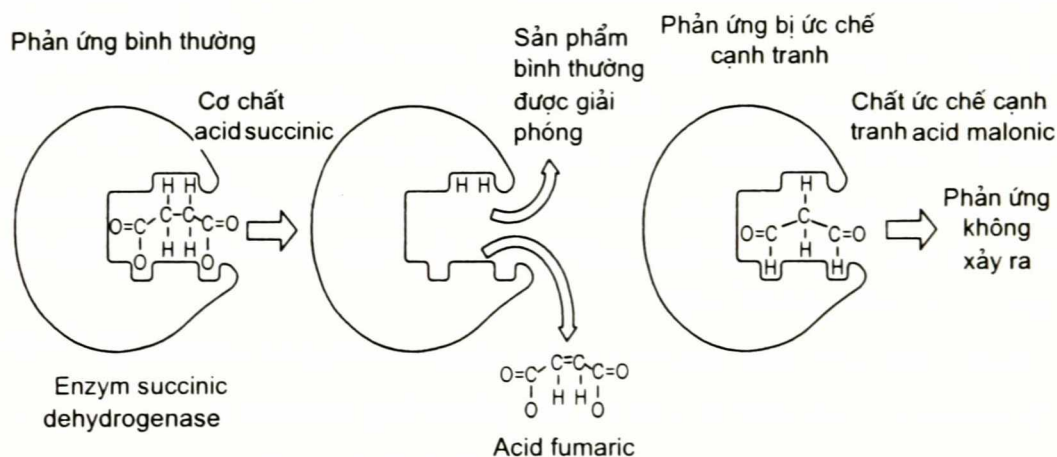
Hoạt động của enzyme có thể bị thay đổi do tác động của các chất ức chế. Người ta chia các chất ức chế enzyme ra làm hai nhóm lớn là chất ức chế cạnh tranh và chất ức chế không cạnh tranh.

- *Chất ức chế cạnh tranh*

Các chất này có cấu trúc phân tử gần giống với cơ chất. Chính vì vậy, chúng có khả năng cạnh tranh với cơ chất để gắn vào TTHĐ của enzyme. Mặt khác, chất ức chế cạnh tranh lại không bị enzyme làm biến đổi nên chúng sẽ gắn lâu dài ở TTHĐ,

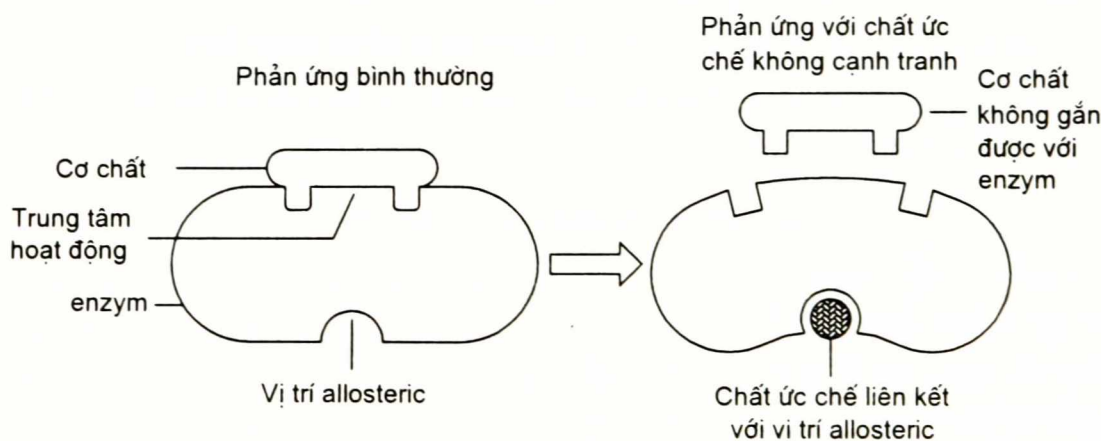
khiến cho enzym không được giải phóng ra để tái sử dụng. Vì thế nên chỉ một lượng nhỏ chất ức chế cạnh tranh cũng có thể làm tốc độ phản ứng giảm đáng kể.

Một ví dụ về sự ức chế cạnh tranh là trường hợp của enzym succinic dehydrogenase. Enzym này biến acid succinic thành sản phẩm là acid fumaric. Acid malonic là một chất có cấu tạo gần giống với acid succinic. Khi có mặt chất này, chúng sẽ cạnh tranh với succinic để bám vào TTHĐ, khiến cho enzym bị mất tác dụng.



Hình 2.7. Sự ức chế của malonic đối với enzym succinic dehydrogenase

- Chất ức chế không cạnh tranh



Hình 2.8. Mô hình cơ chế tác động của chất ức chế không cạnh tranh

Quá trình ức chế không cạnh tranh chỉ diễn ra ở các enzym có trung tâm điều hoà. Chất ức chế không cạnh tranh khác với chất ức chế cạnh tranh ở chỗ không gắn vào TTHĐ của enzym. Thay vào đó, chúng sẽ gắn vào trung tâm điều hoà, làm thay đổi cấu trúc của phân tử enzym, tạo nên hiệu ứng dị lập thể (allosteric). Sự thay đổi đó khiến cho enzym trở nên khó khăn trong việc gắn với cơ chất và khả năng thực hiện xúc tác bị giảm xuống. Các chất ức chế không cạnh tranh phổ biến

của enzym là các ion kim loại nặng như Hg^{2+} , Ag^+ . Một số chất độc như asen hay cyanid cũng tác động lên enzym theo cách này. Tuy nhiên, cũng cần phải lưu ý rằng, không phải toàn bộ các chất gắn vào trung tâm điều hoà đều có tác dụng ức chế. Nhiều chất có thể có tác dụng ngược lại là làm tăng hoạt tính của enzym, được gọi là chất hoạt hoá. Tác động vào trung tâm điều hoà của enzym là một trong những cách quan trọng để tế bào điều chỉnh sự trao đổi chất của mình.

3.5. Cách gọi tên và phân loại enzym

Theo quy ước quốc tế, tên gọi của enzym được cấu tạo từ ba phần: tên cơ chất đặc hiệu, tên loại phản ứng và đuôi – *ase*. Ví dụ, glyceraldehyd – 3 – phosphat dehydrogenase; pyruvatkinase; triosephosphat isomerase v.v...

Dựa vào tính đặc hiệu phản ứng của enzym, từ năm 1960, Hội Hoá sinh quốc tế (IUB) đã thống nhất phân loại enzym thành 6 lớp, đánh số từ 1 đến 6. Các số thứ tự này là cố định cho mỗi lớp:

- (1) Oxydoreductase: các enzym xúc tác cho phản ứng oxy hoá khử.
- (2) Transferase: các enzym xúc tác cho phản ứng chuyển vị.
- (3) Hydrolase: các enzym xúc tác cho phản ứng thuỷ phân.
- (4) Lyase: các enzym xúc tác cho phản ứng phân cắt không cần nước, loại nước tạo thành nối đôi hoặc kết hợp phân tử nước vào nối đôi.
- (5) Isomerase: các enzym xúc tác cho phản ứng đồng phân hoá.
- (6) Ligase: các enzym xúc tác cho phản ứng tổng hợp có sử dụng liên kết giàu năng lượng của ATP v.v...

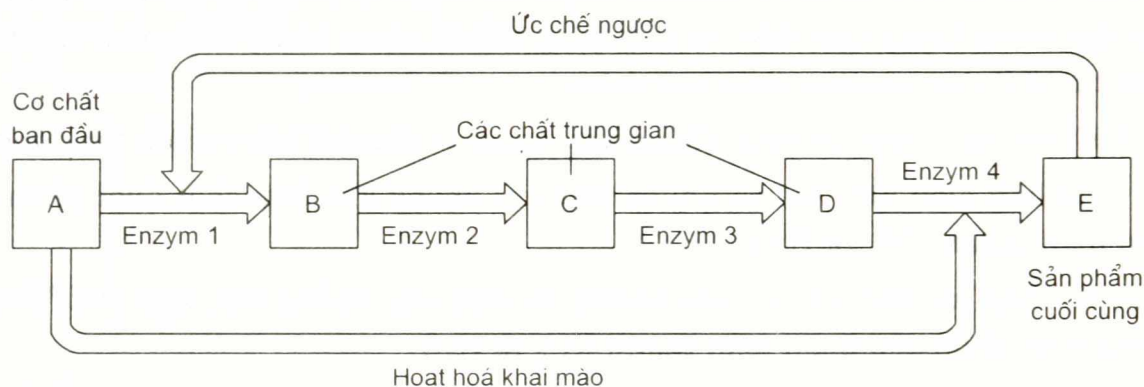
3.6. Sự điều hoà trao đổi chất thông qua enzym

Trong tế bào, các enzym thường không phân bố một cách tự do trong dịch tế bào chất. Thay vào đó, chúng được gắn trên màng theo một trình tự nhất định, phù hợp với chuỗi phản ứng trao đổi chất. Các hợp chất hữu cơ sẽ lần lượt đi qua các enzym trong chuỗi, từng bước được biến đổi để trở thành sản phẩm hoàn chỉnh.

Do đại đa số các phản ứng trong cơ thể đều diễn ra với sự xúc tác của enzym nên sự điều hoà quá trình trao đổi chất được thực hiện thông qua hệ thống enzym này.

Khi một sản phẩm được tích lũy quá nhiều trong tế bào, sản phẩm đó có thể trở thành chất ức chế không cạnh tranh và bám vào các enzym đầu tiên của chuỗi phản ứng, qua đó, làm ngừng quá trình chuyển hoá lại. Hiện tượng này được gọi là sự ức chế liên hệ ngược. Phương thức điều chỉnh thứ hai được gọi là sự hoạt hoá khai mào. Hiện tượng này xảy ra khi trong tế bào có thừa cơ chất. Những cơ chất này sẽ đóng vai trò hoạt hoá các enzym và khởi động chuỗi chuyển hoá. Một

phương thức điều hoà trao đổi chất khác là thông qua điều chỉnh nồng độ enzym trong tế bào. Theo đó, enzym sẽ được tổng hợp với số lượng và thời gian thích hợp, qua đó xác định giới hạn của sự trao đổi chất trong tế bào.



Hình 2.9. Mô hình điều hoà trao đổi chất thông qua enzym

4. HÔ HẤP TẾ BÀO

4.1. Đại cương về hô hấp

Hô hấp là quá trình phân giải các hợp chất hữu cơ để giải phóng ra năng lượng cho tế bào hoạt động. Phần lớn năng lượng này được chuyển hoá thành ATP, “tiền tệ năng lượng của tế bào”. Đối với phần lớn cơ thể, hợp chất hữu cơ chính được sử dụng trong hô hấp là glucose. Phương trình tổng quát như sau:



Nếu xét về phương trình tổng quát, có thể thấy rằng sự phân giải glucose trong hô hấp không khác so với phản ứng đốt cháy glucose nhưng về diễn biến lại khác hẳn nhau. Quá trình đốt cháy glucose diễn ra mau chóng, nhiệt lượng được giải phóng ra phần lớn dưới dạng nhiệt. Trong khi đó, sự phân giải glucose trong hô hấp lại là một chuỗi gồm nhiều phản ứng. Qua chuỗi phản ứng này, năng lượng sẽ được giải phóng từ từ và phần lớn tích lũy trong các liên kết hoá học của ATP.

Sự kiện đóng vai trò mấu chốt trong việc chiết rút năng lượng từ hợp chất hữu cơ là chuỗi phản ứng oxy hoá – khử. Trong một số bước của quá trình hô hấp, hợp chất hữu cơ sẽ được oxy hoá mà qua đó năng lượng được giải phóng ra dưới dạng điện tử cao năng (e^-) đi cùng với H^+ . Ngay tiếp oxy hoá là sự khử, trong đó chất nhận điện tử và H^+ phổ biến của tế bào là phân tử NAD^+ (nicotinamid adenindinucleotid). Người ta gọi quá trình này là phản ứng đi kèm hay phản ứng cặp đôi (couple reaction).



NADH chưa phải là sản phẩm cuối cùng của hô hấp. Chúng sẽ thực hiện vai trò vận chuyển điện tử và H^+ đến cho chuỗi hô hấp ở ty thể. Tại đây mới tiến hành biến đổi năng lượng của điện tử cao năng thành năng lượng được tích lũy trong phân tử ATP theo phương thức hoá thắm.

Tuỳ vào sự có mặt của oxy không khí, người ta chia hô hấp ra làm hai dạng:

– Hô hấp hiếu khí: xảy ra khi có mặt oxy không khí, hợp chất được phân giải hoàn toàn thành CO_2 và H_2O .

– Hô hấp kỵ khí: xảy ra khi không có mặt oxy không khí, hợp chất hữu cơ không được phân giải hoàn toàn thành CO_2 và H_2O .

Trong chương này chủ yếu đề cập tới quá trình hô hấp hiếu khí.

4.2. Hô hấp hiếu khí

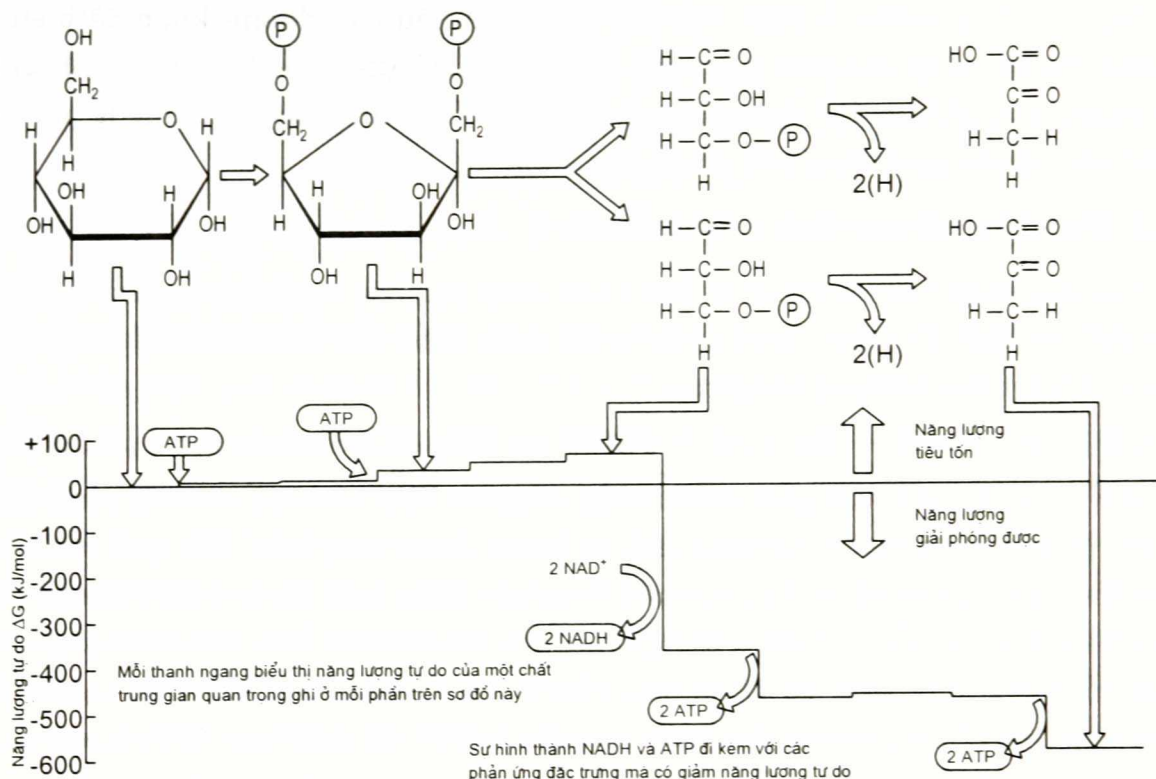
Đây là quá trình có ở mọi sinh vật Eukaryota. Bào quan chuyên trách cho hô hấp hiếu khí là ty thể. Quá trình hô hấp hiếu khí bao gồm 4 giai đoạn chính là đường phân, decarboxyl-oxy hoá acid pyruvic, chu trình Krebs và dẫn truyền điện tử tạo ATP.

4.2.1. Đường phân

Quá trình đường phân gồm 10 phản ứng với hợp chất đầu vào là 1 phân tử glucose và sản phẩm là 2 phân tử pyruvat, 2ATP và 2NADH. Diễn biến của quá trình đường phân được thể hiện ở hình 2.10.

Mười phản ứng của quá trình đường phân được chia làm hai phần: 5 phản ứng đầu tiên được gọi là giai đoạn đầu tư năng lượng, 5 phản ứng còn lại gọi là pha giải phóng năng lượng.

Trong pha đầu tư năng lượng, tế bào biến đổi glucose thành phân tử fructose-1,6-diphosphat. Quá trình này tiêu tốn 2ATP. Phân tử fructose-1,6-diphosphat tiếp đó sẽ được phân tách thành 2 phân tử có 3 carbon là glyceraldehyd-3-phosphat (G3P). Đến đây kết thúc giai đoạn đầu tiên của đường phân. Nếu quan sát biểu đồ biến đổi năng lượng của chuỗi phản ứng, có thể thấy rằng tổng mức năng lượng tự do của sản phẩm đã được đẩy lên cao hơn của glucose. Điều này đạt được chính nhờ việc sử dụng 2 phân tử ATP. Với hai nhóm phosphat, phân tử fructose-1,6-diphosphat có hoạt tính mạnh mẽ hơn so với glucose. Đồng thời nó có cấu trúc gần như đối xứng nên việc phân tách trở nên dễ dàng và sản phẩm có tính đồng nhất.



Hình 2.10. Sự biến đổi năng lượng trong chuỗi đường phân

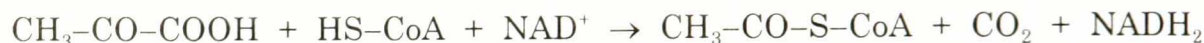
Đến pha giải phóng năng lượng, mỗi phân tử G3P được biến đổi thành một phân tử acid pyruvic. Ở giai đoạn này, ba trong số năm phản ứng là giải phóng năng lượng. Trong hai phản ứng, năng lượng được sử dụng để tổng hợp ATP theo phương thức phosphoryl hoá mức cơ chất. Một phản ứng còn lại có sự tách điện tử, H^+ từ cơ chất và kết hợp với NAD^+ để tạo ra NADH. Ở giai đoạn đầu, mỗi một phân tử glucose phân tách thành 2 phân tử G3P nên sản phẩm thu được gồm 2 phân tử acid pyruvic, 2 phân tử NADH và 4 phân tử ATP. Do đã sử dụng 2 ATP cho pha đầu tư năng lượng nên kết thúc đường phân, lượng ATP còn lại là 2 phân tử.

Nếu quan sát chuỗi phản ứng có thể thấy rằng, O_2 không có vai trò gì trong quá trình đường phân này. Bởi vậy mà đường phân có thể diễn ra ở cả quá trình hô hấp hiếu khí lẫn hô hấp kỵ khí. Quá trình đường phân không phụ thuộc vào việc có mặt ty thể trong tế bào hay không vì nó diễn ra trong tế bào chất. Vì vậy nên nó có ở cả sinh vật nhân nguyên thủy và nhân thật. Người ta thấy rằng quá trình đường phân có ở những vi khuẩn cổ xưa tồn tại trên Trái Đất từ 3,5 tỷ năm trước và đến nay quá trình này vẫn còn tồn tại trong các cơ thể sống. Sự khác nhau giữa hô hấp hiếu khí và kỵ khí nằm ở những giai đoạn sau. Với sự có mặt của oxy không khí, acid pyruvic được phân giải tiếp thành CO_2 , H_2O và sinh ATP. Còn nếu không có oxy, acid pyruvic sẽ được chuyển hoá thành các chất hữu cơ khác. Lượng ATP thu được trong hô hấp kỵ khí chủ yếu nằm ở quá trình đường phân.

Ngoài đường phân, ở sinh vật còn tồn tại nhiều con đường khác để biến đổi glucose thành acid pyruvic như con đường KDPG (2-keto-3 deoxy-6-phosphat gluconat), con đường PP (pentose-phosphat). Việc sử dụng con đường nào tùy thuộc vào nguồn hydratcarbon mà tế bào sử dụng.

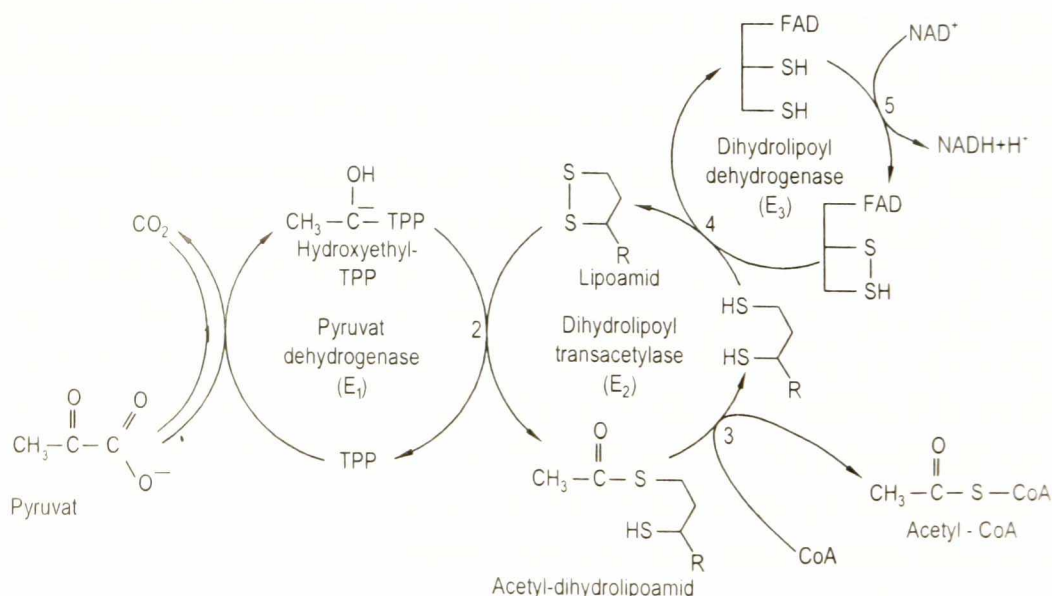
4.2.2. Decarboxyl-oxy hoá acid pyruvic

Sau khi được tạo ra trong tế bào chất, acid pyruvic sẽ được chuyển vào trong chất nền ty thể. Tại đây, acid pyruvic sẽ được biến đổi thành acetyl coenzym A (acetyl-CoA) theo phương trình sau:



Đây là một quá trình gồm nhiều công đoạn và được xúc tác bởi một phức hệ đa enzym có tên là pyruvat-oxydase hay pyruvat-decarboxylase. Kết quả của chuỗi phản ứng là từ phân tử acid pyruvic có 3 carbon, kém hoạt động đã trở thành phân tử có 2 carbon là acetyl-CoA ở dạng hoạt hoá do có chứa liên kết cao năng trong phân tử. Chất này tiếp đó sẽ đi vào chu trình Krebs. Bên cạnh đó, quá trình decarboxyl-oxy hoá pyruvat còn giúp tạo nên NADH để tổng hợp ATP về sau.

Acetyl-CoA là hợp chất có vai trò quan trọng trong tế bào. Nó là điểm trung gian nối nhiều con đường trao đổi chất khác nhau. Trong trường hợp thiếu năng lượng, tế bào có thể phân giải các acid amin hay các acid béo thành acetyl-CoA rồi từ đó đi vào chu trình Krebs để tiếp tục thực hiện quá trình biến đổi tạo ra ATP. Acetyl-CoA cũng có vai trò như là một đơn vị cấu trúc để từ đó xây dựng nên rất nhiều hợp chất phức tạp cần thiết cho tế bào như tổng hợp các acid béo, steroid, aceto acetat v.v...



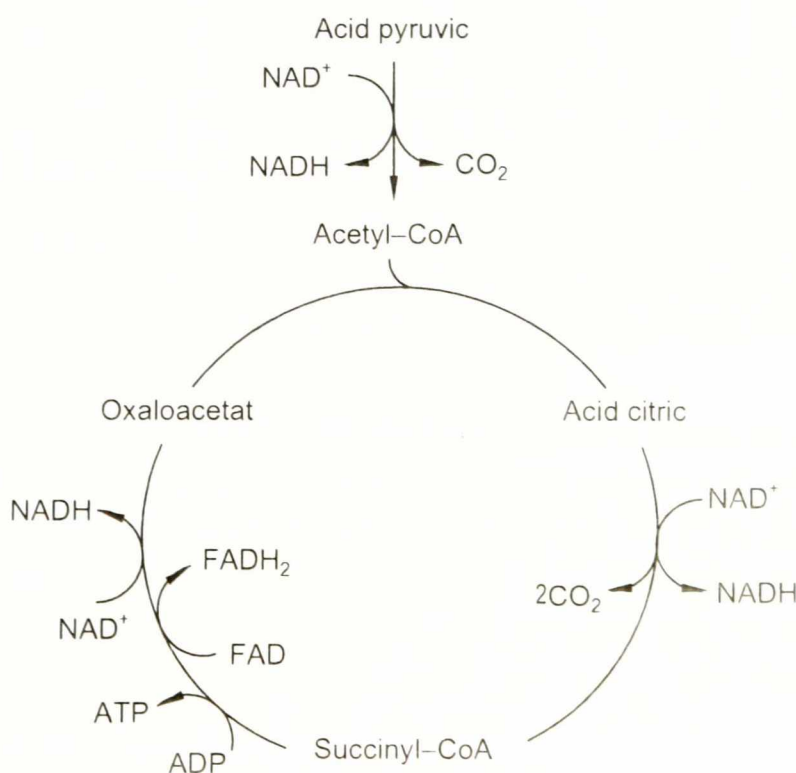
Hình 2.11. Quá trình biến đổi pyruvat thành acetyl - CoA

4.2.3. Chu trình Krebs

Tiếp sau của quá trình decarboxyl-oxy hoá acid pyruvic, phân tử acetyl-CoA sẽ đi vào một chu trình khép kín. Chu trình này do một nhà khoa học người Anh là Hans Adolf Krebs (1900–1981) đề xướng. Ông đã đạt giải thưởng Nobel năm 1953 với chu trình về sau mang tên mình, chu trình Krebs (hay còn gọi là chu trình acid tricarboxylic).

Chu trình Krebs gồm 9 phản ứng chia làm hai giai đoạn: giai đoạn chuẩn bị gồm 3 phản ứng, giai đoạn chiết rút năng lượng gồm 6 phản ứng còn lại.

Khởi đầu của chu trình, acetyl-CoA sẽ kết hợp với acid oxaloacetic để tạo nên acid citric dưới sự xúc tác bởi enzym citrat synthetase. Trong phản ứng này, coenzym A có vai trò quan trọng bởi nó tham gia vào thành phần cấu tạo trung tâm hoạt động của enzym. Nhờ có chứa coenzym A, gốc acetyl trong phân tử acetyl-CoA có thể dễ dàng gắn với enzym để thực hiện kết hợp với acid oxaloacetic. Tiếp đó, sau hai bước loại và thêm nước, acid citric được biến đổi thành acid isocitric. Đến đây kết thúc giai đoạn chuẩn bị. Trong các phản ứng còn lại, acid isocitric từng bước được phân giải và tái tạo lại acid oxaloacetic. Mỗi một phân tử acetyl-CoA khi đi qua chu trình Krebs sẽ thu được 2CO_2 , 3NADH_2 , 1FADH_2 và 1ATP .

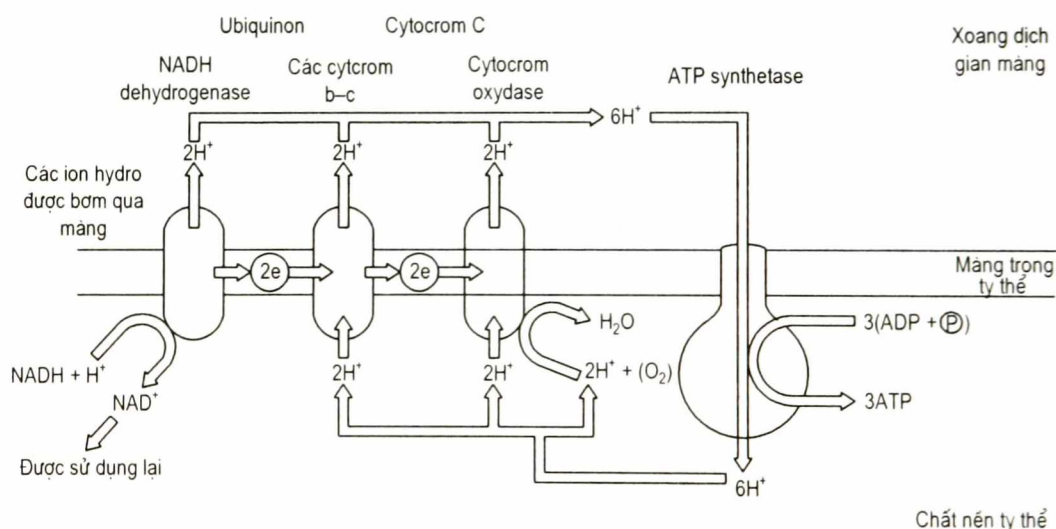


Hình 2.12. Chu trình Krebs

Như vậy, tính đến thời điểm này, toàn bộ phân tử glucose đã được phân giải hoàn toàn thành CO_2 . Năng lượng giải phóng ra trong quá trình phân giải glucose, phần nhỏ ở dưới dạng nhiệt để sưởi ấm tế bào, còn lại phần lớn được tích trữ trong các liên kết hóa học. Trong các sản phẩm quan trọng của chu trình Krebs, ATP chỉ chiếm một lượng nhỏ, còn phần lớn là NADH_2 và FADH_2 . Về sau, các hợp chất này cũng sẽ được sử dụng để biến đổi thành ATP, sản phẩm cuối cùng của hô hấp.

Không chỉ thực hiện phân giải glucose, chu trình Krebs còn là điểm đến của quá trình phân giải các acid amin, acid béo. Bên cạnh đó, chu trình còn cung cấp tiền chất để tế bào tổng hợp các chất hữu cơ cần thiết. Ví dụ, α -ketoglutarat và oxaloacetat thường là nguyên liệu để tổng hợp các acid amin glutamat và aspartat; NADH_2 ngoài việc sử dụng để tổng hợp ATP còn được dùng để khử các liên kết kép, các nhóm carbonyl, amin trong các phản ứng của quá trình trao đổi chất v.v... Có thể nói rằng, chu trình Krebs là đường hướng chính để phân giải các hợp chất hữu cơ và cũng là điểm giao lưu của nhiều con đường trao đổi chất trong tế bào.

4.2.4. Chuỗi truyền điện tử của ty thể



Hình 2.13. Chuỗi truyền điện tử ở ty thể

Chuỗi truyền điện tử được định vị tại màng trong của ty thể. Chúng thực hiện tiếp nhận điện tử và H^+ từ NADH_2 và FADH_2 đã được sản sinh ra trong các giai đoạn trước để tổng hợp ATP. Tuy nhiên, năng lượng của quá trình tiếp nhận này không được dùng để tổng hợp trực tiếp ATP ngay mà được dùng để bơm chủ động các ion H^+ từ chất nền ty thể vào xoang gian màng. Quá trình này tạo nên sự chênh lệch lớn về nồng độ ion H^+ cũng như điện tích giữa hai bên màng trong ty thể. Những chênh lệch về nồng độ và điện tích sẽ khiến cho các ion H^+ có xu hướng khuếch tán ngược trở lại chất nền thông qua các kênh đặc biệt có dạng hạt hình

nấm (có cuống) cũng được định vị ở màng trong ty thể. Trong các hạt này có chứa phức hệ enzym ATP synthetase. Mỗi khi các ion H^+ đi qua hạt, phức hệ enzym sẽ được kích hoạt để lắp ráp ADP và gốc phosphat tạo nên phân tử ATP. Cứ 2 ion H^+ qua màng thì tổng hợp được 1 phân tử ATP. Đây chính là sự tổng hợp ATP theo phương thức hóa thẩm.

Nằm đầu tiên của chuỗi truyền điện tử là phức hệ enzym $NADH_2$ dehydrogenase. Enzym này tiến hành tiếp nhận điện tử và H^+ của $NADH_2$, NAD^+ giải phóng ra được tái sử dụng lại trong chuỗi trao đổi chất. Sau khi tiếp nhận, $NADH_2$ dehydrogenase sẽ đưa H^+ vào xoang gian màng, còn điện tử sẽ được chuyển đến cho một chất mang gọi là ubiquinon. Đến lượt ubiquinon sẽ chuyển điện tử cho một phức hệ protein quan trọng gọi là cytocrom b-c. Các cytocrom trong phức hệ sẽ lần lượt truyền điện tử cho nhau. Bên trong cấu trúc của mỗi cytocrom là nhân hem chứa ion Fe^{3+} . Việc cho và nhận điện tử sẽ khiến cho các nhân hem luân phiên bị khử và oxy hóa.



Một số bước trong chuỗi oxy hóa khử sẽ giải phóng năng lượng và được dùng để bơm ion H^+ qua màng. Sau khi đi qua cytocrom b-c, điện tử sẽ được chuyển đến một chất mang khác là cytocrom C. Chất này sẽ đem điện tử đến cho phức hệ cytocrom oxidase. Tại đây cũng xảy ra chuỗi oxy hóa khử dẫn đến bơm ion H^+ qua màng như ở cytocrom b-c. Tuy nhiên, chuỗi oxy hóa khử sẽ kết thúc bằng phản ứng kết hợp điện tử với O_2 và H^+ để tạo nên H_2O . Ở đây, O_2 đóng vai trò là chất nhận điện tử cuối cùng. Trong trường hợp thiếu O_2 , chuỗi truyền điện tử và chu trình Krebs sẽ bị ức chế và tế bào không thể thực hiện hô hấp hiếu khí.

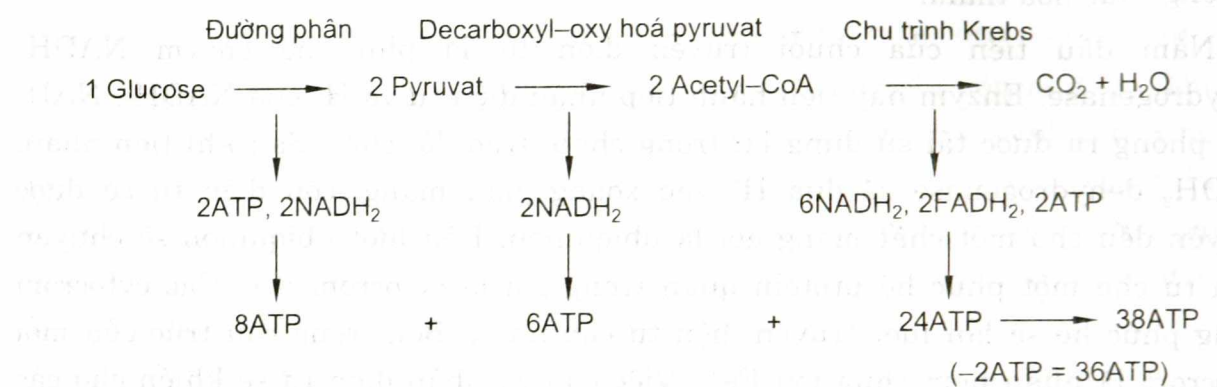
Như vậy, kết quả của sự dẫn truyền điện tử là việc bơm ion H^+ qua màng và dẫn đến tổng hợp ATP. Khi chất cho điện tử và H^+ là $NADH_2$, mỗi phân tử $NADH_2$ sẽ giúp tổng hợp nên 3 ATP. Còn khi chất cho là $FADH_2$, lượng ATP tổng hợp được chỉ là 2.

4.2.5. Tổng kết năng lượng khi oxy hóa hoàn toàn 1 phân tử glucose

Hình 2.14 là sơ đồ biểu diễn sản phẩm tạo thành qua các giai đoạn phân giải một phân tử glucose của hô hấp hiếu khí. Về tổng cộng, lượng ATP được tạo thành là 40 phân tử. Trong quá trình đường phân đã sử dụng 2ATP để hoạt hóa. Ngoài ra, có tài liệu cho rằng, khi acid pyruvic được chuyển từ tế bào chất vào chất nền ty thể, quá trình này đã tiêu tốn thêm 2 ATP nữa. Vì vậy mà số ATP thu được còn 36 phân tử.

Ta biết rằng, khi oxy hóa hoàn toàn 1 mol glucose sẽ thu được 2870kJ, tương đương với 686kcal (1cal = 4,184J). Để tổng hợp ATP từ ADP và gốc phosphat cần

8 → 10kcal/mol. Vậy tính về mặt lý thuyết, khi oxy hóa hoàn toàn 1 mol glucose sẽ thu được khoảng 76 mol ATP. Trong khi đó, thực tế thu được 36 ATP. Như vậy, hiệu suất của hô hấp hiếu khí là gần 50%. Hơn 50% năng lượng còn lại được giải phóng ra dưới dạng nhiệt.



Hình 2.14. Lượng ATP sinh ra khi oxy hóa hoàn toàn một phân tử glucose trong hô hấp hiếu khí

4.2.6. Sự điều hòa hô hấp hiếu khí trong tế bào

Cũng giống như nhiều quá trình khác, hô hấp chịu sự điều hòa của tế bào để sao cho lượng ATP được sản sinh ra ở mức vừa đủ cho các hoạt động sống, không thừa mà cũng không thiếu. Theo Atkinson (1970), nhân tố điều hòa quá trình hô hấp là tỷ lệ của 3 thành phần ATP, ADP và AMP trong tế bào. Ông đưa ra khái niệm về tỷ số điện tích năng lượng, viết tắt là EC (EC – energy charge). EC được tính theo công thức:

$$EC = \frac{ATP + (1/2)ADP}{ATP + ADP + AMP}$$

Khi tế bào ở trạng thái cân bằng, ta có EC = 0,85. Với EC < 0,85, ta có lượng ATP sản sinh ra thấp hơn lượng ATP tiêu thụ, tế bào ở trạng thái thiếu năng lượng. Còn ngược lại, với EC > 0,85, tế bào tổng hợp ra nhiều ATP hơn là sử dụng. Do ATP được tạo nên từ ADP và AMP nên nếu coi tổng 3 thành phần này là một số không đổi, ta có thể thấy rằng khi tế bào hoạt động mạnh, lượng ATP sẽ bị giảm đi trong khi ADP và AMP tăng lên. Ngược lại, khi ATP được tổng hợp mạnh, lượng ADP và AMP lại giảm đi. Trong mỗi trường hợp, nồng độ của ba thành phần trên sẽ làm thay đổi cường độ quá trình hô hấp theo những chiều hướng khác nhau.

Nồng độ ATP quá cao sẽ ức chế một số enzyme của quá trình đường phân và chu trình Krebs, ví dụ enzyme phospho fructo kinase xúc tác cho phản ứng biến đổi fructose-6-phosphat thành fructose-1,6-diphosphat. ATP lúc này đóng vai trò là chất ức chế không cạnh tranh và làm giảm hoạt tính của các enzyme mà nó tác động. Kết quả của sự ức chế là làm giảm hô hấp và lượng ATP được tạo thành ít đi.

Sự ức chế do sản phẩm cuối này được gọi là ức chế liên hệ ngược, một trong những hình thức điều hòa phổ biến của tế bào. Trong trường hợp lượng ADP và AMP cao, chúng lại trở thành chất hoạt hóa làm tăng cường quá trình hô hấp để bù vào lượng ATP bị thiếu hụt. Bên cạnh đó, nồng độ AMP cao còn kích thích sự biến đổi glycogen thành glucose, nguồn nguyên liệu quan trọng để sản sinh ra ATP.

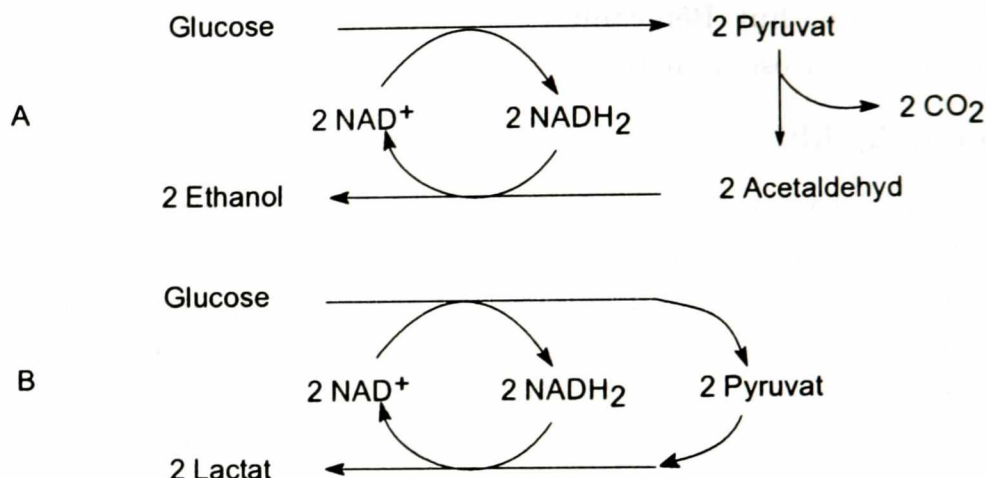
4.3. Hô hấp kỵ khí

Đây là hình thức phân giải các hợp chất hữu cơ để sinh năng lượng mà không có sự tham gia của oxy không khí. Trong quá trình này, các hợp chất hữu cơ không được oxy hóa hoàn toàn thành CO_2 và H_2O như ở hô hấp hiếu khí mà thay vào đó là các sản phẩm hữu cơ như acid lactic, ethanol. Về phương diện hiệu quả sinh năng lượng, lượng ATP thu được trong hô hấp kỵ khí kém hơn so với hô hấp hiếu khí. Bởi vậy, đối với nhiều sinh vật hiếu khí, hô hấp kỵ khí chỉ là một giải pháp tạm thời trong những trường hợp cấp bách. Ví dụ, ở các tế bào cơ, khi phải hoạt động mạnh mà lượng O_2 không đủ, tế bào sẽ chuyển sang hình thức hô hấp kỵ khí để sản sinh năng lượng. Lúc này, sản phẩm phân giải không còn là CO_2 và H_2O nữa mà thay vào đó là acid L-lactic. Tuy nhiên, trong tự nhiên có rất nhiều sinh vật sống trong các điều kiện rất nghèo hoặc không có O_2 như dưới vùng nước sâu, trong bùn hay trong lòng đất v.v... Hầu hết chúng là các vi sinh vật có cấu tạo đơn bào. Ở những sinh vật này thì hô hấp kỵ khí là phương thức sản sinh năng lượng duy nhất.

Hô hấp kỵ khí có giai đoạn đầu giống với hô hấp hiếu khí. Glucose sẽ đi qua chuỗi phản ứng đường phân, hoặc các con đường phân giải khác tùy loài, để biến đổi thành acid pyruvic. Tuy nhiên, ở giai đoạn sau, acid pyruvic sẽ không đi vào chu trình Krebs mà tham gia vào các phản ứng để tạo sản phẩm hữu cơ, ví dụ lactic, propionic, acetic, ethanol v.v... Sự tạo thành ATP chỉ có ở giai đoạn đầu của hô hấp kỵ khí với số lượng ít ỏi. Nếu trải qua đường phân, sản phẩm thu được chỉ có 2 ATP. Có thể thấy rằng, hiệu suất sinh năng lượng của hô hấp kỵ khí rất thấp.

Từ nguồn carbon ban đầu là glucose, qua quá trình hô hấp kỵ khí, tế bào sản sinh ra rất nhiều các dạng hợp chất hữu cơ khác. Điều này có ý nghĩa vô cùng quan trọng trong lĩnh vực sản xuất. Thay vì phải thực hiện các phản ứng tổng hợp phức tạp, người ta có thể lợi dụng quá trình phân giải kỵ khí để thu được các sản phẩm mong muốn. Trong đó acid lactic và ethanol là hai ví dụ nổi bật. Trong sản xuất, người ta gọi hai quá trình này là lên men lactic và lên men ethanol. Lên men ethanol có ý nghĩa trong công nghiệp sản xuất cồn, sản xuất rượu, bia v.v... Còn lên men lactic được sử dụng trong sản xuất phomat, sữa chua và quá trình muối chua của nhiều loại thực phẩm. Cả hai quá trình lên men đều có chung công đoạn

đường phân, biến đổi glucose thành acid pyruvic. Tiếp đó, acid pyruvic sẽ được biến đổi để trở thành chất nhận điện tử từ NADH , qua đó giúp quay vòng NAD^+ . Tóm tắt quá trình lên men ethanol và lên men lactic được thể hiện trên hình 2.15.



Hình 2.15. Quá trình lên men ethanol và lactat

5. QUANG HỢP

5.1. Đại cương về quang hợp

Trái Đất là ngôi nhà chung của vô vàn sinh vật khác nhau. Các sinh vật đó đều có mối quan hệ mật thiết với nhau về mặt dinh dưỡng, tạo nên một mạng lưới thức ăn khổng lồ. Trong mạng lưới này, mỗi sinh vật vừa là kẻ săn mồi, vừa là con mồi. Thức ăn được phân giải không chỉ cung cấp cho sinh vật các thành phần cấu trúc mà còn là nguồn cung cấp năng lượng để vận hành cỗ máy cơ thể sinh vật. Năng lượng ở đây là năng lượng tự do được giải phóng ra khi phá vỡ các liên kết hóa học.

Nếu chúng ta xếp các sinh vật theo một chuỗi mà trong đó sinh vật đứng sau sẽ ăn sinh vật đứng trước thì sinh vật nào sẽ đứng ở đầu tiên? Đó là các sinh vật tự dưỡng. Chúng thu nhận năng lượng không chỉ từ việc ăn các sinh vật khác mà từ hai nguồn. Thứ nhất là năng lượng hóa học của các hợp chất vô cơ. Các sinh vật sử dụng nguồn năng lượng này là các loại vi khuẩn như vi khuẩn sắt, vi khuẩn lưu huỳnh và một số loại vi khuẩn khác. Thế nhưng sinh khối của các loại vi khuẩn này quá nhỏ và không đủ để cung cấp cho chuỗi thức ăn khổng lồ. Thay vào đây, đảm nhiệm vai trò này là các loại thực vật. Chúng sử dụng nguồn năng lượng thứ hai, đó là năng lượng ánh sáng Mặt Trời. Thực vật sử dụng năng lượng ánh sáng Mặt Trời để tạo nên sinh khối từ các hợp chất vô cơ đơn giản. Như vậy, có thể nói rằng, ánh sáng Mặt Trời chính là khởi nguồn năng lượng cho mọi hoạt động sống

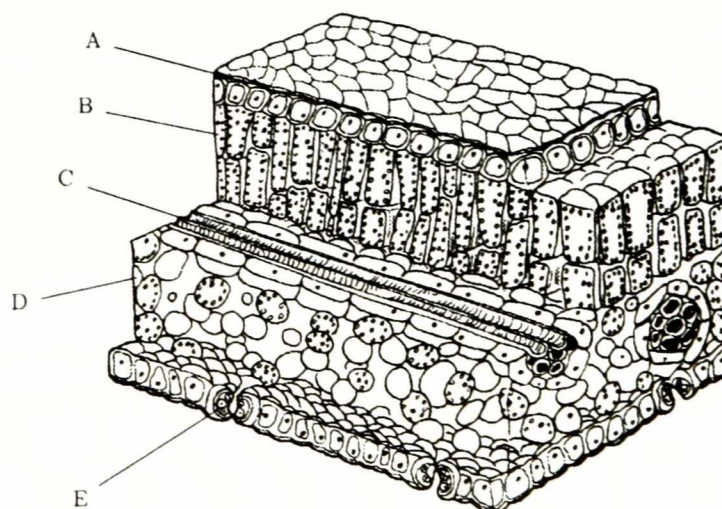
của các sinh vật trên Trái Đất. Đối với con người, ánh sáng Mặt Trời còn là nguồn gốc của các loại nhiên liệu được sử dụng hằng ngày như dầu mỏ, than đá,... Người ta ước tính rằng, ánh sáng Mặt Trời đã cung cấp tới hơn 90% toàn bộ năng lượng mà con người sử dụng hiện nay.

Quá trình hấp thụ năng lượng từ ánh sáng Mặt Trời và tích lũy chúng trong các hợp chất hữu cơ diễn ra ở thực vật được gọi là quang hợp (photosynthesis). Việc nghiên cứu về quá trình quang hợp và bộ máy quang hợp có một ý nghĩa hết sức to lớn. Trong sản xuất, từ những hiểu biết cận kề về quá trình quang hợp, trước mắt, người ta có thể tối ưu hóa làm tăng năng suất cây trồng. Xa hơn nữa, điều gì sẽ xảy ra nếu như chúng ta tạo ra được một hệ thống quang hợp nhân tạo? Khi đó, chúng ta sẽ nắm được trong tay mắt xích cơ bản để duy trì sự sống.

5.2. Lá – Cơ quan làm nhiệm vụ quang hợp ở thực vật

Quá trình quang hợp ở thực vật được thực hiện chủ yếu ở lá. Lá có những đặc điểm về hình thái cũng như cấu tạo giải phẫu thích nghi với chức năng này.

Về hình thái: lá thường có dạng bản mỏng và ngửa bề mặt về phía có ánh sáng Mặt Trời. Các lá trong một cành được sắp xếp sao cho không che khuất lẫn nhau. Những đặc điểm này cho phép lá tiếp nhận được ánh sáng nhiều nhất.



Hình 2.16. Mô hình cấu trúc của lá cây

A. Lớp biểu bì; B. Lớp tế bào mô giậu; C. Bó mạch; D. Lớp tế bào mô xốp; E. Khí khổng.

Về cấu tạo giải phẫu: bao bọc hai bề mặt ngoài của lá là một lớp biểu bì mỏng. Dưới biểu bì là lớp tế bào mô giậu, nơi diễn ra phần lớn hoạt động quang hợp của lá. Đặc điểm của các tế bào mô giậu là xếp sát nhau theo từng lớp nhằm hấp thụ được nhiều năng lượng ánh sáng. Phía dưới của mô giậu là các tế bào mô xốp. Các

tế bào của mô này xếp thưa thớt có nhiều khoảng gian bào giúp cho việc lưu thông khí (CO_2 , O_2) và hơi nước diễn ra dễ dàng. Trong lá có một hệ thống các bó mạch là nơi dẫn nước và muối khoáng phục vụ cho quang hợp và vận chuyển sản phẩm của quang hợp đến các bộ phận khác của cây. Nằm rải rác trong lớp biểu bì là các khí khổng với vai trò như các cánh cửa cho CO_2 , O_2 và hơi nước lưu thông qua lại giữa các tế bào bên trong lá và môi trường bên ngoài. Các khí khổng này có khả năng đóng, mở tùy theo điều kiện môi trường.

Ở cấp độ cơ thể thực vật, lá là cơ quan làm nhiệm vụ quang hợp. Còn ở cấp độ tế bào, đó là các lục lạp. Trong bào quan này chứa một hệ thống sinh học cho phép biến đổi năng lượng từ photon ánh sáng thành năng lượng tích trữ trong các hợp chất hữu cơ.

5.3. Bộ máy quang hợp

5.3.1. Các sắc tố quang hợp

Sắc tố là các phân tử hữu cơ hấp thụ ánh sáng, thành phần đầu tiên của bộ máy quang hợp. Hiện nay, người ta đã xác định được 4 nhóm sắc tố chính có mặt trong lá cây: chlorophyll, carotenoid, phycobilin và sắc tố của dịch tế bào (antoxyan).

5.3.1.1. Chlorophyll

Chlorophyll hay còn gọi là nhóm sắc tố lục là nhóm sắc tố quan trọng nhất của quá trình quang hợp. Các sắc tố thuộc nhóm chlorophyll có cấu tạo chung gồm 4 nhân pyron nối với nhau bằng các cầu nối metylen ($-\text{CH}=\text{}$) tạo nên vòng porphyrin. Ở giữa vòng porphyrin là một nhân Mg^{2+} . Gắn với vòng porphyrin còn có rượu phyton và vòng cyclopentan. Công thức tổng quát và công thức cấu tạo của hai loại chlorophyll chính được thể hiện ở hình 2.17.

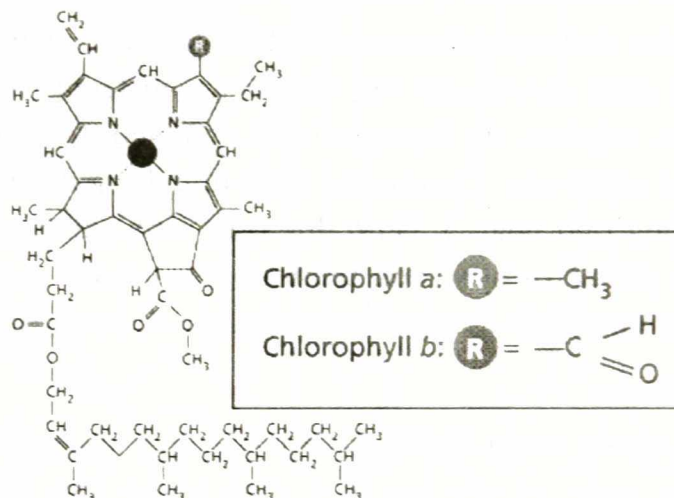
Quang phổ hấp thụ của chlorophyll nằm trong vùng bước sóng ánh sáng nhìn thấy được (400 – 700nm). Chlorophyll có đỉnh hấp thụ ở hai bước sóng:

- Chlorophyll a là 420 và 662nm.
- Chlorophyll b là 435 và 643nm.

Do đỉnh hấp thụ của chlorophyll là vùng quang phổ ánh sáng xanh lam và đỏ nên vùng quang phổ còn lại không được hấp thụ tạo cho chlorophyll có màu xanh, màu đặc trưng của thực vật.

Chlorophyll chiếm khoảng 4% trọng lượng của lục lạp. Trong đó, chủ yếu là chlorophyll a, còn lại là chlorophyll b có hàm lượng bằng khoảng 1/3 chlorophyll a. Chlorophyll a có mặt trong mọi cơ thể quang hợp giải phóng oxy.

Theo một số nhà khoa học, chlorophyll có những đặc tính chống viêm, chống oxy hóa, chữa lành vết thương. Một số khảo sát sơ bộ còn cho thấy, chlorophyll còn giúp làm giảm các chất gây ung thư trong cơ thể.

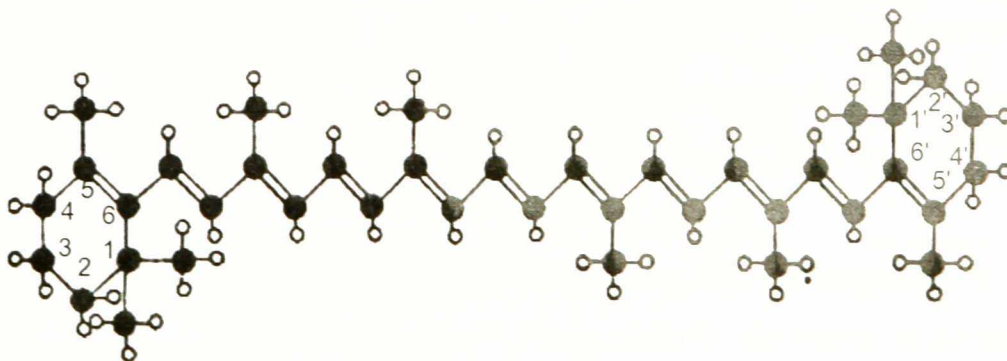


Hình 2.17. Cấu tạo phân tử chlorophyll

5.3.1.2. Carotenoid

Carotenoid hay còn gọi là sắc tố vàng. Dựa theo cấu trúc hóa học caroten được chia làm hai nhóm nhỏ:

- Caroten ($C_{40}H_{56}$): trong thực vật thường có 3 loại caroten α , β , γ . Phổ hấp thụ của caroten nằm trong khoảng 446 – 476nm.
- Xanthophyll ($C_{40}H_{56}O_n$, trong đó $n = 1 - 6$): xanthophyll là dẫn xuất của caroten và gồm nhiều loại khác nhau tùy theo trị số n . Quang phổ hấp thụ của xanthophyll nằm trong khoảng 451 – 481nm.



Hình 2.18. Mô hình phân tử β -caroten

Carotenoid có nhiều trong hoa quả hoặc cơ quan già yếu của thực vật. Hiện nay người ta đã biết đến một số vai trò của carotenoid trong thực vật như sau:

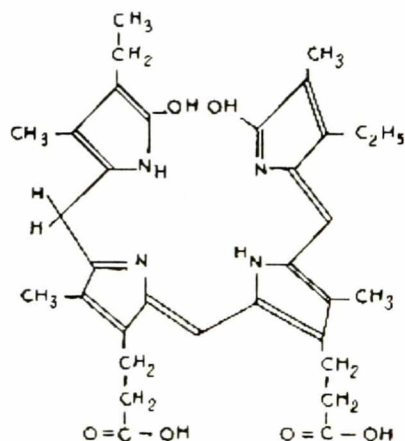
- Lọc ánh sáng, bảo vệ chlorophyll.

- Tham gia vào quá trình quang phân ly nước và thải O_2 (xanthophyll).
- Tham gia vào quá trình quang hợp thông qua việc hấp thụ năng lượng ánh sáng và truyền cho chlorophyll. Carotenoid có mặt nhiều trong quang hệ II.

Cũng giống như chlorophyll, carotenoid có đặc tính chống oxy hóa rất mạnh. Ngoài ra, một số chất carotenoid khi hấp thụ vào trong cơ thể người còn được chuyển hóa thành vitamin A. Trong số 600 chất carotenoid đã biết thì khoảng 30 – 50 loại có khả năng này. Carotenoid được ứng dụng để chữa các bệnh như ung thư (phổi, da, đường tiêu hóa,...), bệnh đục thủy tinh thể hay các trạng thái bệnh lý gây nên do tia phóng xạ hoặc quá trình oxy hóa mạnh v.v... Trong số các chất thuộc nhóm carotenoid thì β -caroten và α -caroten được nghiên cứu nhiều nhất.

5.3.1.3. Phycobilin

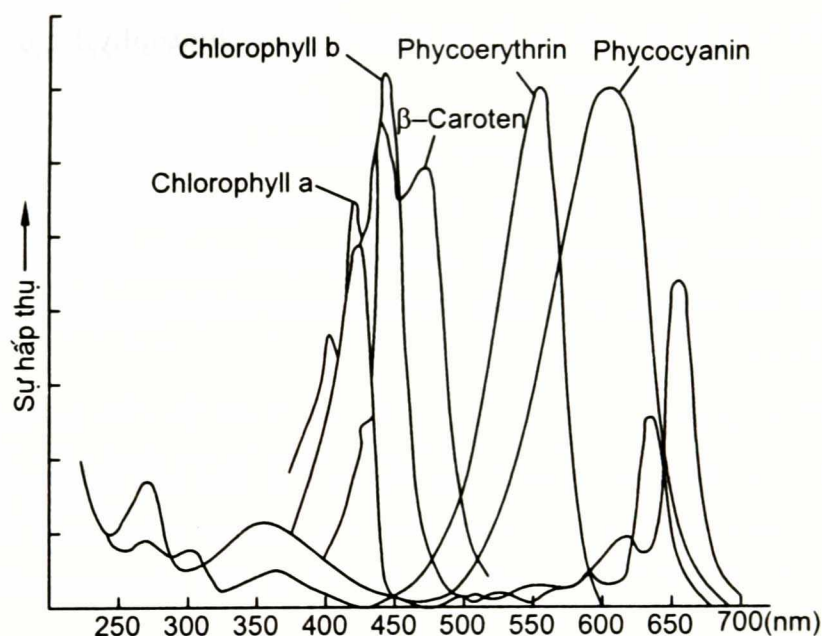
Phycobilin có nhiều trong tảo và các thực vật bậc thấp sống dưới nước. Đây là một loại sắc tố ưa nước, có cấu tạo từ 4 vòng pyron liên kết với nhau bằng cầu metylen ($=CH-$) thành một mạch không khép kín như ở chlorophyll. Quang phổ hấp thụ của phycobilin nằm trong vùng ánh sáng lục và vàng. Cũng giống như carotenoid, phycobilin sau khi hấp thụ năng lượng ánh sáng sẽ truyền đến cho chlorophyll, qua đó hỗ trợ cho quá trình quang hợp.



Hình 2.19. Công thức cấu tạo của phycobilin

5.3.1.4. Antoxyan

Antoxyan là nhóm sắc tố chứa nhiều trong dịch tế bào với nhiều màu sắc khác nhau như đỏ, xanh, tím,... Quang phổ của hấp thụ antoxyan bổ sung cho quang phổ hấp thụ của chlorophyll. Nhóm sắc tố này không tham gia vào quá trình quang hợp. Năng lượng ánh sáng mà các sắc tố nhóm antoxyan hấp thụ sẽ được chuyển thành dạng nhiệt năng để sưởi ấm cho cây. Chính bởi vậy, antoxyan có nhiều trong các thực vật sống ở vùng có khí hậu lạnh.

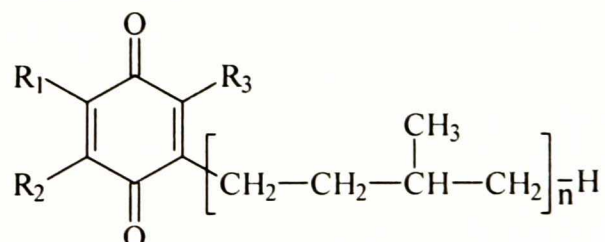


Hình 2.20. Quang phổ hấp thụ ánh sáng của các sắc tố quang hợp

5.3.2. Các thành phần của chuỗi truyền điện tử

5.3.2.1. Quinon

Công thức chung:



Nhóm quinon	R ₁	R ₂	R ₃	n
Ubiquinon (Coenzym Q)	-OCH ₃	-OCH ₃	-CH ₃	6-10
Plastoquinon	-CH ₃	-CH ₃	H	9

Các quinon có quang phổ hấp thụ ở vùng tử ngoại 260-300nm.

5.3.2.2. Các cytocrom

Cytocrom (Cyt) có cấu tạo gần giống chlorophyll nhưng khác ở chỗ nhân Mg được thay thế bằng Fe²⁺ và không có vòng xiclopentan. Các Cyt có quang phổ hấp thụ trong khoảng 500 - 600nm. Các Cyt quan trọng trong bộ máy quang hợp là Cyt b (gồm Cyt b₆ và b₃) và Cyt c (gồm Cyt f). Thế năng oxy hóa của Cyt f

là +0,36V, của Cyt b_6 là 0,06V. Tỷ lệ giữa Cyt và chlorophyll trong bộ máy quang hợp vào khoảng 1/300 – 1/400.

5.3.2.3. Ferredoxin và ferredoxin–NADP–reductase

Ferredoxin (Fd) là các protein có thể hòa tan trong nước, thành phần chứa Fe và nhóm sulfit vô cơ. Tỷ lệ giữa Fd và chlorophyll trong bộ máy quang hợp khoảng 1/400. Fd–NADP–reductase là một flavoprotein có quang phổ hấp thụ cực đại ở 275, 385 và 456nm.

5.3.2.4. Plastocyanin

Là một loại protein có chứa 2 nguyên tử Cu, liên kết chặt chẽ trong cấu trúc của lục lạp. Plastocyanin khi ở trạng thái oxy hóa có màu xanh tím, phổ hấp thụ cực đại là 597nm, dạng khử không có màu. Tỷ lệ giữa plastocyanin và chlorophyll là 1/400.

5.3.3. Đơn vị quang hợp

Các sắc tố chỉ có thể thực hiện được các phản ứng quang hợp hoàn chỉnh khi chúng nằm trong tế bào, nói cách khác là trong sự liên kết chặt chẽ với các thành phần khác của bộ máy quang hợp. Đơn vị quang hợp có thể hiểu là cấu trúc nhỏ nhất có khả năng thực hiện biến đổi năng lượng từ photon ánh sáng thành năng lượng trong các liên kết hóa học. Một cách chi tiết, một hệ thống được gọi là đơn vị quang hợp khi nó thực hiện được 3 chức năng:

- Tiếp nhận một phân tử CO_2 (hay giải phóng một phân tử O_2);
- Chuyển một điện tử;
- Biến đổi năng lượng một quang tử thành dạng năng lượng hóa học.

Vậy một đơn vị quang hợp có tổ chức ra sao và số lượng từng thành phần như thế nào ? Người ta thấy rằng, trong một đơn vị quang hợp luôn có hai thành phần chính là phức hệ sắc tố và chuỗi truyền điện tử. Từ năm 1932, Emerson và Arnold khi làm thí nghiệm với tảo *Chlorella* đã thấy rằng, trong điều kiện tối ưu, để cố định một phân tử CO_2 cần có sự tham gia của 2500 phân tử chlorophyll. Các nghiên cứu về sau của các tác giả khác cũng cho kết quả tương tự, số lượng phân tử chlorophyll cần thiết là khoảng 2500 – 4200 phân tử. Dựa vào kết quả nghiên cứu của Emerson, Arnold cùng các tác giả khác, năm 1969, Avron đã đề nghị rằng một đơn vị quang hợp sẽ gồm 2400 phân tử chlorophyll được sắp xếp theo 4 tiểu đơn vị nhỏ. Mỗi đơn vị nhỏ gồm 600 phân tử chlorophyll (trong đó 300 thuộc hệ quang hóa I, 300 thuộc hệ quang hóa II) và 1 phân tử P700.

5.4. Quá trình quang hợp

Quang hợp là một quá trình phức tạp. Trong đó bao gồm cả các phản ứng cần sự có mặt của ánh sáng lẫn phản ứng enzym thông thường. Hiện nay, người ta chia quang hợp ra thành hai giai đoạn:

- Pha sáng: cần sự tham gia của ánh sáng, thực hiện biến đổi năng lượng chứa trong photon ánh sáng thành dạng năng lượng hóa học chứa trong ATP và NADPH_2 .

- Pha tối: không cần sự tham gia trực tiếp của ánh sáng, pha này sử dụng ATP và NADPH_2 sản sinh ra từ pha sáng để thực hiện các phản ứng cố định CO_2 thành sản phẩm hữu cơ.

5.4.1. Pha sáng

Các phản ứng sáng xảy ra trên màng được gọi là màng quang hợp. Ở vi khuẩn quang hợp, đó là màng tế bào. Còn ở tế bào thực vật, đó là màng thylacoit. Hệ thống thực hiện pha sáng chính là các đơn vị quang hợp. Có thể chia các phản ứng sáng thành ba giai đoạn:

- Hệ sắc tố hấp thụ photon ánh sáng và làm bật ra các điện tử ở trạng thái kích thích.

- Điện tử từ hệ sắc tố sẽ đi qua chuỗi truyền điện tử, hoạt hóa các bơm H^+ tạo nên sự chênh lệch nồng độ H^+ giữa hai bên màng quang hợp. Sau khi kết thúc chuỗi, điện tử sẽ được quay vòng hoặc được tiếp nhận bởi NADP^+ để tạo thành NADPH_2 .

- Sự chênh lệch nồng độ H^+ sẽ dẫn đến tổng hợp ATP theo phương thức hóa thẩm.

5.4.1.1. Sự hấp thụ ánh sáng

Các sắc tố trong đơn vị quang hợp được tổ chức thành cụm gọi là phức hệ anten. Phức hệ này gồm các sắc tố nằm xung quanh một sắc tố trung tâm là một phân tử chlorophyll đặc biệt. Toàn bộ năng lượng photon do phân tử sắc tố bên ngoài hấp thụ sẽ được tập trung lại cho sắc tố trung tâm.

Khi các phân tử sắc tố hấp thụ năng lượng từ photon ánh sáng, điện tử của sắc tố sẽ chuyển từ trạng thái năng lượng cơ bản sang trạng thái năng lượng kích thích. Tuy nhiên, trạng thái này không bền vững, điện tử sẽ nhanh chóng trở về trạng thái ban đầu và giải phóng ra năng lượng dư thừa. Năng lượng này sẽ được phân tử sắc tố bên cạnh hấp thụ và khiến chúng chuyển sang trạng thái kích thích. Người ta gọi đây là phương thức truyền năng lượng theo kiểu cộng hưởng.

Quá trình dẫn truyền như vậy diễn ra liên tục cho tới khi năng lượng được chuyển cho phân tử sắc tố trung tâm.

Người ta thấy rằng, trong thực vật tồn tại hai hệ quang hóa, được gọi là hệ quang hóa I và II. Mỗi hệ quang hóa có một trung tâm phản ứng và bước sóng hấp thụ hiệu quả riêng. Hệ quang hóa I, với trung tâm phản ứng P700, hấp thụ hiệu quả ánh sáng có bước sóng dài khoảng 700nm. Còn hệ quang hóa II, với trung tâm phản ứng P680, lại hấp thụ hiệu quả ánh sáng có bước sóng ngắn hơn, khoảng 680nm.

Hai hệ quang hóa I và II không hoạt động độc lập mà có sự kết hợp với nhau. Năm 1940, Emerson tiến hành thí nghiệm đo cường độ quang hợp của tảo *Chlorella* khi chiếu ánh sáng có bước sóng 650 và 680nm. Ông đã thấy rằng, cường độ quang hợp khi chiếu hỗn hợp cả hai ánh sáng lớn hơn so với tổng cường độ quang hợp khi chiếu hai ánh sáng đơn sắc cộng lại. Như vậy, hai hệ quang hóa đã kết hợp với nhau làm tăng hiệu quả quang hợp. Người ta gọi hiện tượng này là hiệu ứng tăng cường Emerson. Quan niệm chung cho rằng, sự tồn tại và kết hợp giữa hai hệ quang hóa I và II có ở tảo và tất cả các thực vật bậc cao.

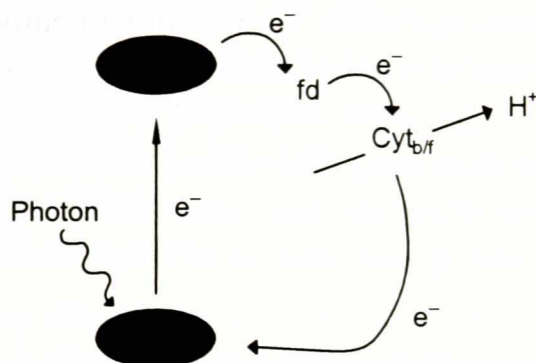
Để giải thích sự kết hợp giữa hai hệ quang hóa, vào năm 1960, Hill và Bendal đã đề xuất một mô hình được gọi là sơ đồ Z. Theo sơ đồ này, hai hệ quang hóa không hoạt động song song mà được nối với nhau thông qua chuỗi truyền điện tử. Cho đến nay, sơ đồ Z vẫn là mô hình được thừa nhận rộng rãi, được nghiên cứu ngày càng sâu sắc và hoàn thiện.

5.4.1.2. Sự dẫn truyền điện tử

Sau khi toàn bộ năng lượng do phức hệ anten hấp thụ được tập trung lại ở trung tâm phản ứng, tại đây, điện tử của trung tâm phản ứng sẽ đạt mức năng lượng cao và bật ra ngoài. Điện tử này sẽ được tiếp nhận và đi qua một hệ thống các chất dẫn truyền điện tử. Kết quả của sự dẫn truyền này là năng lượng trong điện tử sẽ được chiết rút một cách từ từ và được sử dụng để hoạt hóa các bơm H^+ nằm trên màng quang hợp. Quá trình dẫn truyền điện tử trong quang hợp ở thực vật diễn ra theo hai phương thức là dẫn truyền theo vòng và dẫn truyền không theo vòng.

• Dẫn truyền điện tử theo vòng

Vận chuyển điện tử theo vòng được thực hiện bởi hệ quang hóa I với trung tâm phản ứng P700 và bước sóng hấp thụ cực đại $\lambda = 680 - 700\text{nm}$. Thành phần của chu trình bao gồm ferredoxin (Fd); cytochrom b_6-f (Cyt). Quá trình vận chuyển được thể hiện ở hình 2.21.



Hình 2.21. Quá trình dẫn truyền điện tử theo vòng

Sau khi tiếp nhận năng lượng, điện tử của trung tâm phản ứng P700 sẽ chuyển sang trạng thái kích thích và bật ra ngoài. Chúng được tiếp nhận bởi Fd rồi đi qua Cyt và cuối cùng quay trở lại P700. Như vậy, con đường di chuyển điện tử là một chu trình khép kín.

Điểm mấu chốt của chu trình nằm ở sự biến đổi mức năng lượng của điện tử khi đi qua các chất. Từ mức năng lượng cơ bản, photon ánh sáng sẽ đẩy điện tử của trung tâm P700 lên mức năng lượng kích thích. Năng lượng này sẽ giảm dần khi điện tử lần lượt đi qua Fd, Cyt và trở về trạng thái cơ bản khi quay trở lại trung tâm P700. Tại phức hệ cytochrom b₆-f, năng lượng chiết rút từ điện tử cao năng sẽ thúc đẩy quá trình bơm ion H⁺ vào bên trong túi màng thylacoit. Khi nồng độ trong túi thylacoit tăng cao, H⁺ sẽ khuếch tán ra chất nền lục lạp qua các phức hệ ATP synthetase và dẫn đến tổng hợp ATP. Quá trình tổng hợp ATP như vậy gọi là quang phosphoryl hóa.

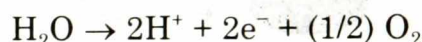
Quá trình phosphoryl hóa quang hóa ở lục lạp và phosphoryl hóa oxy hóa ở ty thể giống nhau về cơ chế hình thành ATP từ ADP và phosphat vô cơ. Chúng chỉ khác nhau là phosphoryl hóa quang hóa thực hiện được nhờ năng lượng photon ánh sáng, còn ở phosphoryl hóa oxy hóa thực hiện được nhờ năng lượng giải phóng ra từ quá trình oxy hóa các hợp chất hữu cơ. Một số công trình nghiên cứu cho rằng cứ một photon được hấp thụ có khả năng hình thành được từ 1 đến 3 ATP và có thể có hai điểm tạo ra ATP trong chuỗi truyền điện tử. Đó là điểm từ Fd đến Cyt_{b₆} và điểm từ Cyt_{b₆} đến Cyt f. Tại hai điểm này, sự chênh lệch thế năng oxy hóa khử giữa các chất truyền e trung gian là khá lớn (0,4 và 0,39V).

Như vậy, từ nguyên liệu đầu vào là các photon ánh sáng, thông qua dẫn truyền điện tử theo vòng, ta có sản phẩm đầu ra là ATP.

• Dẫn truyền điện tử không theo vòng

Vận chuyển điện tử không theo vòng được thực hiện bởi cả hai hệ quang hóa I và II. Thành phần của chuỗi truyền điện tử gồm: quinon (Q); plastoquinon (PQ);

plastocyanin (PC); cytocrom b_6-f (Cyt). Quá trình vận chuyển điện tử không theo vòng được khởi đầu từ trung tâm phản ứng P680. Điện tử sau khi ra khỏi P680 sẽ lần lượt đi qua $Q \rightarrow PQ \rightarrow Cyt \rightarrow PC \rightarrow P700$. Tại P700, điện tử sau khi bật ra sẽ đến Fd giống vận chuyển theo vòng. Thế nhưng điểm khác biệt ở chỗ, điện tử sẽ không tới Cyt mà được dùng để sản sinh $NADPH_2$ nhờ phức hệ enzym Fd-reductase. P680 sau khi bị mất điện tử sẽ được bổ sung từ quá trình quang phân ly nước:



Bằng phương pháp đồng vị phóng xạ (O^{18}), ngày nay người ta đã xác định được rằng O_2 giải phóng ra trong quá trình quang hợp ở cây xanh là O_2 từ H_2O chứ không phải từ CO_2 như trước đây quan niệm. Cơ chế của quá trình quang phân ly nước nhờ tác dụng của ánh sáng được hấp thụ bởi chlorophyll được biểu diễn như sau:

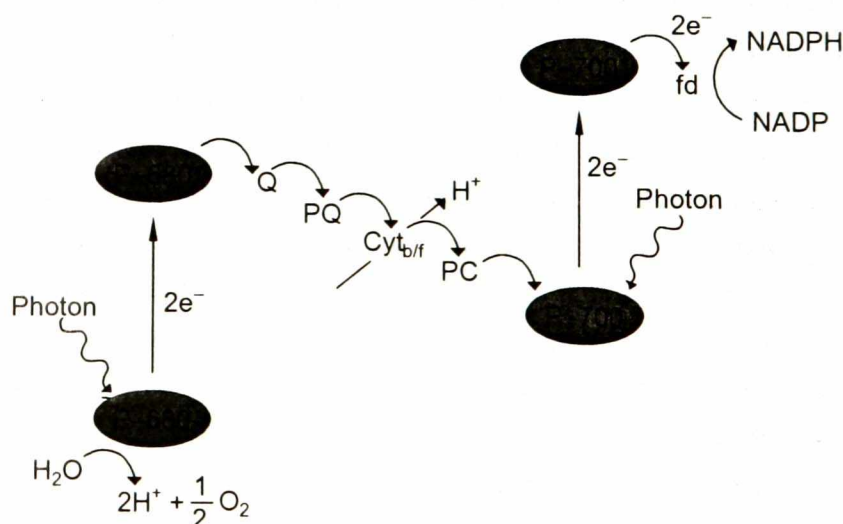
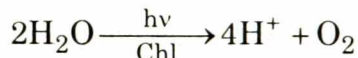
- Chlorophyll hấp thụ 4 photon ánh sáng để trở thành trạng thái kích thích:



- Chlorophyll ở trạng thái kích thích sẽ tham gia vào quang phân ly nước:



Có thể tóm tắt quá trình như sau:

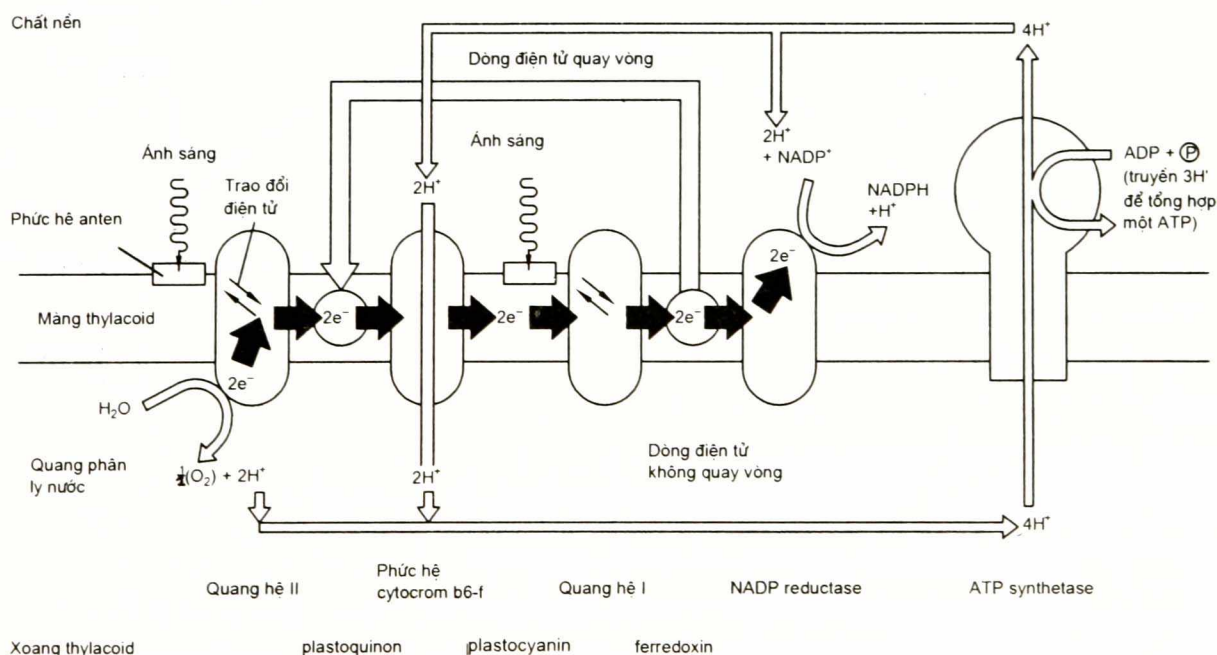


Hình 2.22. Quá trình dẫn truyền điện tử không theo vòng

Dẫn truyền điện tử không vòng chính là sơ đồ Z mà đã Hill và Bendal đã đề xuất để giải thích sự kết hợp của hai hệ quang hóa. Trong sơ đồ này, điện tử cao năng sau khi bật ra từ hệ quang hóa II (P680) sẽ đi qua chuỗi truyền điện tử và

được sử dụng để hoạt hóa các bơm H^+ dẫn đến tổng hợp ATP theo quang phosphoryl hóa. Sau khi chiết rút hết năng lượng, điện tử này được nhập vào hệ quang hóa I (P700) và tiếp tục được hoạt hóa lần hai. Lúc này, điện tử cao năng sẽ được sử dụng để tổng hợp $NADPH_2$. Như vậy, qua hai lần hoạt hóa nhờ năng lượng của photon ánh sáng, sự vận động của điện tử cao năng trong sơ đồ Z sẽ giúp tạo ra hai sản phẩm là ATP và $NADPH_2$.

Trong hai con đường, dẫn truyền điện tử không theo vòng là cơ chế hình thành năng lượng quan trọng ở thực vật. Nói cách khác, con đường này tiến hóa hơn dẫn truyền điện tử theo vòng và chỉ có thể thấy ở thực vật bậc cao. Tuy nhiên, nếu chỉ diễn ra dẫn truyền điện tử không vòng, cây xanh sẽ thiếu hụt ATP và quá trình hình thành glucose bị ảnh hưởng, sản phẩm chủ yếu của quang hợp lúc này sẽ là các acid hữu cơ, acid béo. Bởi vậy, thông thường hai con đường dẫn truyền điện tử theo vòng và không theo vòng diễn ra trong sự phối hợp nhịp nhàng với nhau.



Hình 2.23. Mô hình chuỗi truyền điện tử trong quang hợp

5.4.2. Pha tối

Các sản phẩm của pha sáng, bao gồm ATP và $NADPH_2$, sẽ được pha tối sử dụng để cố định CO_2 thành các phân tử hữu cơ. Đó là chất dinh dưỡng và nguyên liệu để xây dựng các cấu trúc tế bào.

Vào năm 1946, bằng việc sử dụng đồng vị phóng xạ C^{14} , Melvin Calvin và cộng sự đã chứng minh một cách toàn diện về cơ chế của phản ứng tối – con đường carbon trong quang hợp. Với công trình nghiên cứu có tính đột phá này, năm 1961,

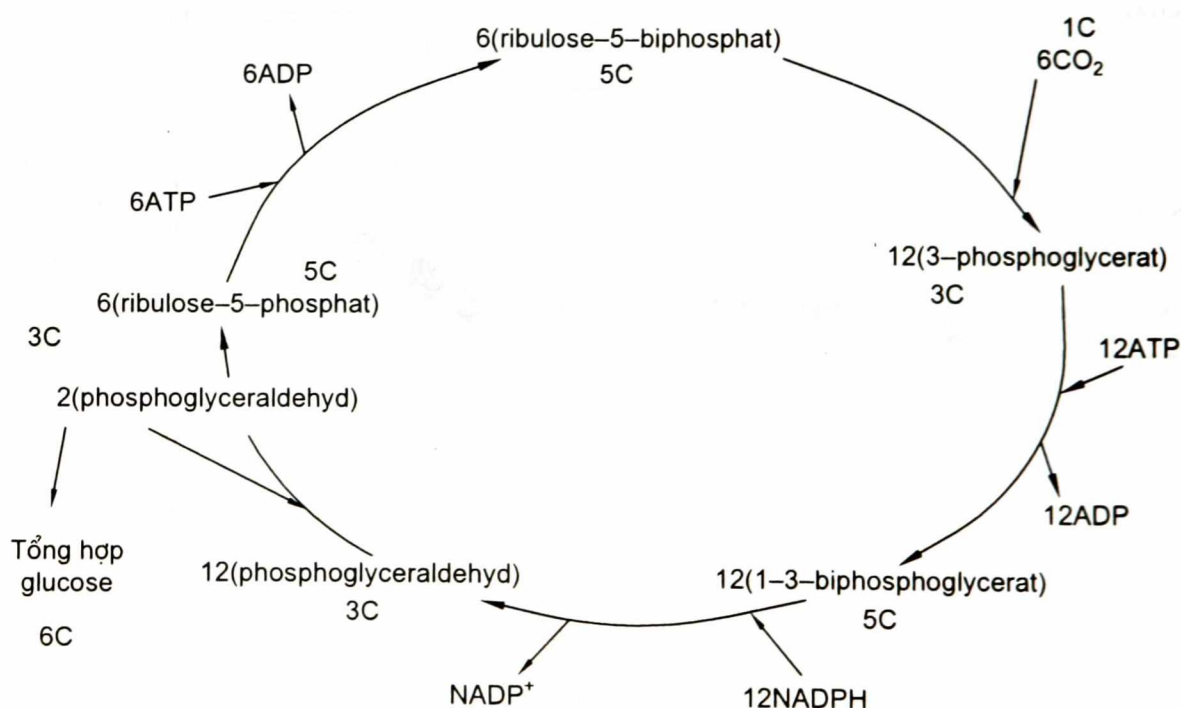
Calvin đã được nhận giải thưởng Nobel hóa học và chu trình carbon trong pha tối về sau được mang tên ông – chu trình Calvin.

Các nghiên cứu cho thấy rằng, pha tối ở phần lớn các loại thực vật bậc cao và ở các vi khuẩn quang hợp đều diễn ra theo chu trình Calvin (còn gọi là chu trình C_3). Ngoài ra, ở một số thực vật sống trong các điều kiện đặc biệt còn có thêm chu trình C_4 và chu trình CAM.

5.4.2.1. Chu trình C_3 (chu trình Calvin)

Chu trình C_3 diễn ra tại chất nền của lục lạp. Nó bao gồm một loạt các phản ứng enzym nối thành vòng khép kín, nguyên liệu đầu vào là CO_2 , ATP, $NADPH_2$; còn sản phẩm đầu ra là hydratcarbon. Có thể chia chu trình C_3 thành hai giai đoạn:

- Cố định carbon dẫn đến tổng hợp đường.
- Tái sinh chất nhận.



Hình 2.24. Chu trình Calvin

• Cố định carbon dẫn đến tổng hợp đường

Khởi đầu của chu trình là việc CO_2 kết hợp với một phân tử đường 5C là ribulose biphosphat (RuBP) để tạo ra sản phẩm là 2 phân tử acid có 3C là acid phosphoglyceric (AGP). Phản ứng này được xúc tác bởi enzym ribulose biphosphat carboxylase.

Sau khi tạo ra AGP, tế bào sẽ sử dụng ATP để biến chúng thành 1,3 biphospho glycerat. Tiếp đó, 1,3 – biphospho glycerat sẽ tác dụng với NADPH_2 trở thành glyceraldehyd – 3 – phosphat (G3P).

G3P là một sản phẩm trung gian quan trọng của chu trình C_3 vì từ đó có thể tổng hợp glucose theo con đường ngược với chuỗi đường phân trong hô hấp. Ngoài ra, tế bào có thể chuyển hóa G3P thành các chất béo hay acid amin hoặc phân giải tạo thành acid pyruvic và sử dụng cho hô hấp để sinh năng lượng. Từ G3P, tế bào tạo ra sản phẩm nào phụ thuộc nhiều vào điều kiện ánh sáng, nồng độ CO_2 và O_2 .

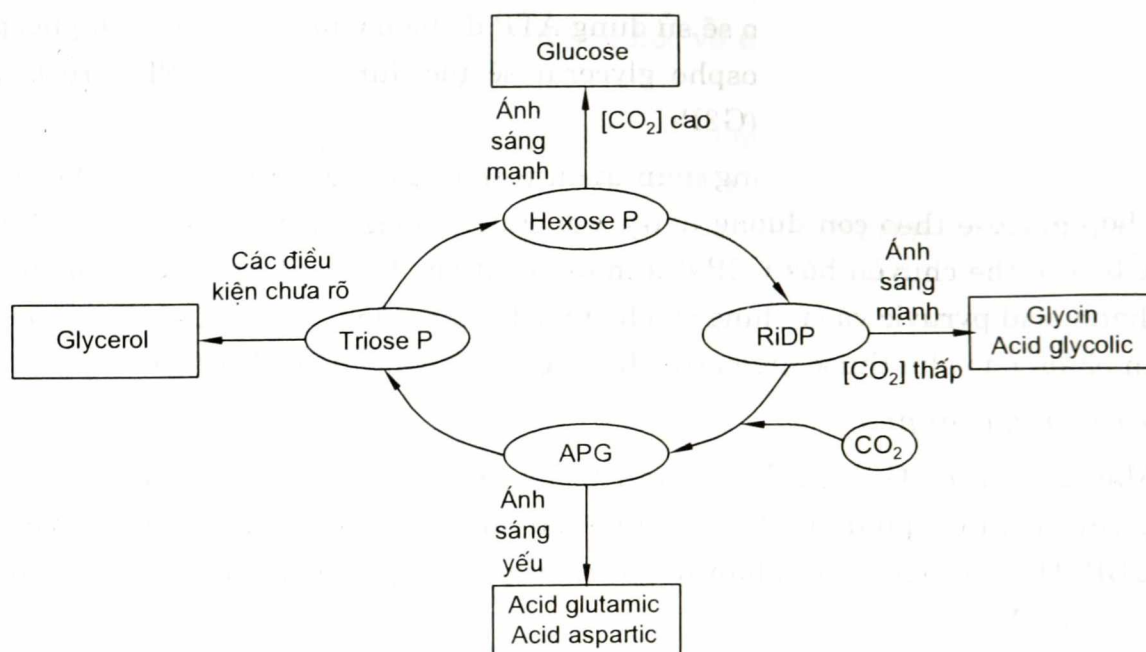
- *Tái sinh chất nhận*

Mặc dù tạo ra G3P là điểm quan trọng để tổng hợp các hydratcarbon song trong chu trình C_3 , phần lớn G3P lại được sử dụng cho việc tái sinh chất nhận CO_2 là RuBP. Đây là một chuỗi phản ứng enzym phức tạp và cần sử dụng năng lượng cung cấp từ ATP.

- *Điểm bù và hô hấp sáng*

Xét về nhiều mặt, quang hợp và hô hấp là hai quá trình ngược nhau. Trong cùng một tế bào thực vật, khi lục lạp đang thực hiện quang hợp, lấy CO_2 vào và nhả O_2 ra thì tại ty thể đồng thời diễn ra sự hấp thụ O_2 và giải phóng CO_2 . Khi tăng dần cường độ quang hợp sẽ dẫn đến một thời điểm thực vật không có sự trao đổi khí giữa tế bào và môi trường nữa. Lượng CO_2 và O_2 của quá trình quang hợp và hô hấp lúc này cân bằng nhau. Người ta gọi đây là điểm bù. Đối với nhiều thực vật, điểm bù thấy ở cường độ ánh sáng khoảng 2% ánh sáng Mặt Trời toàn phần. Điểm bù thay đổi tùy theo loài và chịu ảnh hưởng bởi nhiệt độ và nồng độ CO_2 trong môi trường. Quá trình quang hợp chỉ xảy ra hiệu quả khi cường độ ánh sáng ở trên điểm bù.

Trong trường hợp cường độ ánh sáng nằm dưới điểm bù, ở thực vật sẽ xảy ra một hiện tượng được gọi là hô hấp sáng. Enzym đầu tiên của chu trình Calvin, enzym ribulose biphosphat carboxylase ngoài khả năng xúc tác cho phản ứng gắn CO_2 vào RuBP để tạo ra AGP, nó còn có khả năng xúc tác cho phản ứng gắn O_2 với RuBP để tạo ra phosphoglycolat, một sản phẩm không có ích lợi cho thực vật. RuBP sẽ tham gia phản ứng với CO_2 hay O_2 phụ thuộc rất nhiều vào nồng độ của hai thành phần này trong môi trường. Khi quang hợp diễn ra mạnh, lượng O_2 sản sinh ra nhiều trong khi CO_2 trong môi trường không đủ cung cấp, O_2 sẽ cạnh tranh với CO_2 để kết hợp với RuBP và gây nên hiện tượng hô hấp sáng. Người ta tính rằng, hô hấp sáng có thể làm giảm năng suất của quang hợp đến 30–40%. Bởi vậy, khi sống trong những điều kiện đặc biệt, thực vật phải có những cơ chế thích nghi để quá trình quang hợp diễn ra một cách bình thường.



Hình 2.25. Sản phẩm tạo thành khi quang hợp diễn ra trong các điều kiện ánh sáng và nồng độ O_2 , CO_2 khác nhau

5.4.2.2. Chu trình C_4 (chu trình Hatch & Slack)

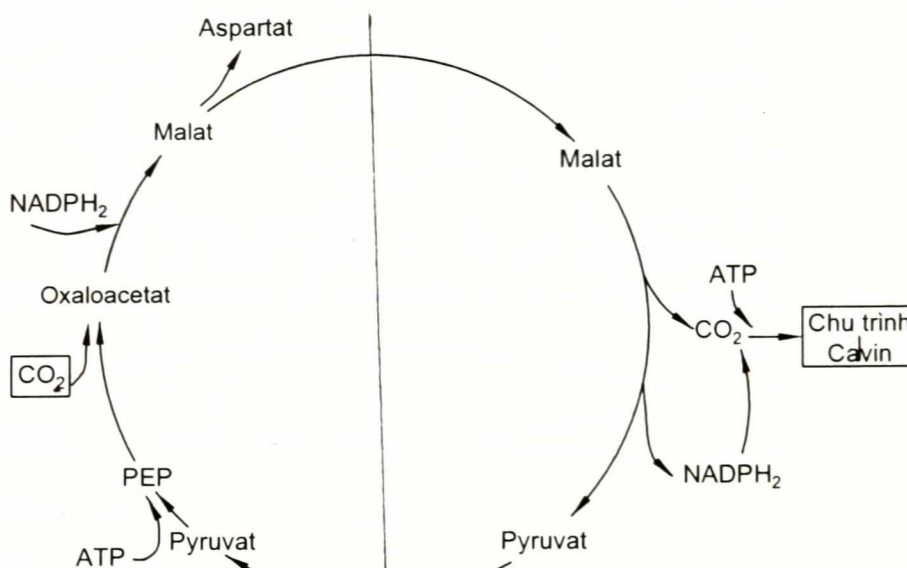
Từ khi phát hiện ra chu trình Calvin, người ta coi đây là chu trình độc nhất về con đường carbon trong quang hợp ở thực vật. Tuy nhiên, đến năm 1965, Hatch và Slack là hai nhà khoa học người Australia đã nhận thấy rằng, ở một số loài thực vật nhiệt đới như mía, ngô, cỏ lồng vệt, cỏ gấu, rau dền v.v..., con đường cố định CO_2 không diễn ra theo chu trình Calvin mà theo một con đường khác. Ở trong lục lạp của những thực vật này, enzym ribulose biphosphat carboxylase (enzym của phản ứng đầu tiên trong chu trình Calvin) hoạt động rất yếu hoặc không hoạt động. Thay vào đó là một enzym khác có tên là phosphoenolpyruvat carboxylase hoạt động rất mạnh. Vì vậy, sản phẩm đầu tiên của chu trình này không phải là AGP mà là các acid oxaloacetic, malic, aspartic. Cấu tạo phân tử của các acid này gồm 4 nguyên tử carbon, vì vậy chu trình ở những thực vật này được gọi là chu trình C_4 .

Quá trình cố định CO_2 ở thực vật C_4 diễn ra theo hai giai đoạn ở hai phần khác nhau trong lá. Đầu tiên, CO_2 từ khí quyển đi qua lỗ khí vào tế bào chất của tế bào thịt lá và phản ứng với PEP (phosphoenolpyruvat) để tạo thành oxaloacetat. Phản ứng diễn ra với sự xúc tác của enzym PEP carboxylase. Do nồng độ PEP trong tế bào thịt lá khá cao nên sự tạo thành oxaloacetat có thể diễn ra ở điều kiện nồng độ CO_2 thấp. Tiếp đó, nhờ có $NADPH_2$, oxaloacetat sẽ được khử thành malat. Ở giai đoạn thứ hai, malat được chuyển từ tế bào thịt lá vào tế bào bao bó mạch. Tại đây

xảy ra quá trình decarboxyl hóa biến malat thành pyruvat và giải phóng ra CO_2 . Lúc này, CO_2 sẽ được cố định thành các hydratcarbon thông qua chu trình Calvin.

1. Tế bào mô giậu

2. Tế bào bao bó mạch

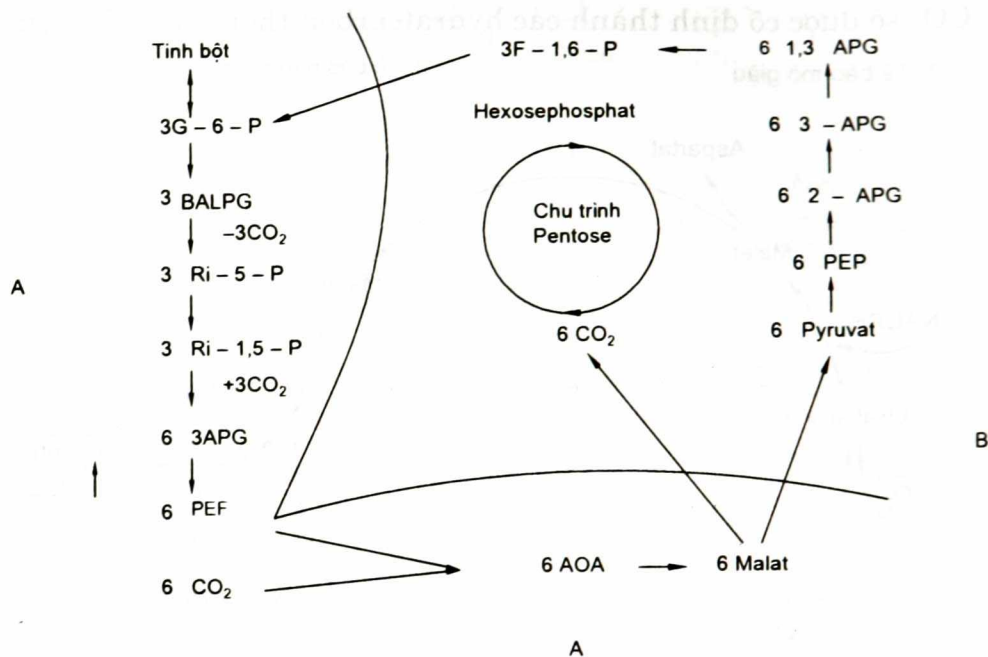


Hình 2.26. Chu trình C_4

Như vậy, có thể thấy rằng, quá trình cố định CO_2 của thực vật C_3 và C_4 khác nhau ở chỗ thực vật C_4 có thêm chu trình tích lũy CO_2 dưới dạng malat. Đặc điểm này giúp cho thực vật C_4 có thể sinh trưởng trong môi trường khô mặn, nơi mà thực vật C_3 gặp rất nhiều khó khăn. So với thực vật C_3 , thực vật C_4 cần thêm một số ATP để vận động chu trình tích lũy CO_2 . Tuy nhiên, để bù lại, chúng lại có cường độ quang hợp cao. Quá trình đồng hóa CO_2 không bị bão hòa mặc dù cường độ chiếu sáng mạnh.

5.4.2.3. Chu trình CAM (Crassulacean acid metabolism)

Chu trình CAM tồn tại ở các thực vật thích nghi với môi trường sống khô hạn kéo dài, ví dụ dứa, xương rồng,... Những thực vật này thường mọc nước và cơ thể có xu hướng cấu tạo để tiếp xúc với môi trường ở một bề mặt nhỏ nhất. Các lỗ khí trên cơ thể thường đóng vào ban ngày và mở vào ban đêm. Các đặc điểm như vậy sẽ giúp thực vật CAM giảm thiểu sự mất nước. Song đồng thời chúng cũng làm giảm cả sự trao đổi khí giữa thực vật và môi trường. Để giải quyết mâu thuẫn này, ngoài chu trình Calvin, ở thực vật CAM còn có thêm một chu trình tích lũy CO_2 giống như ở thực vật C_4 . Tuy nhiên, khác ở chỗ, nếu như ở thực vật C_4 , con đường cố định CO_2 được phân biệt về mặt không gian thì ở thực vật CAM lại phân biệt về mặt thời gian. Chu trình tích lũy CO_2 dưới dạng malat xảy ra vào ban đêm, khi các lỗ khí mở, còn quá trình tổng hợp đường (chu trình Calvin) lại xảy ra vào ban ngày.



Hình 2.27. Chu trình CAM: A. Ban đêm, B. Ban ngày.

CÂU HỎI LƯỢNG GIÁ

1. ΔG là gì? ΔG có ảnh hưởng như thế nào đến diễn biến phản ứng hóa học?
2. Năng lượng hoạt hóa có ảnh hưởng như thế nào đến tốc độ phản ứng?
3. ATP có vai trò như thế nào trong tế bào? Trình bày mô hình phân tử và các phương phức tổng hợp ATP trong tế bào.
4. Enzym là gì? Trình bày đặc điểm cấu tạo của enzym.
5. Trình bày cơ chế hoạt động của enzym. Giải thích tính đặc hiệu của enzym.
6. Trình bày ảnh hưởng của các nhân tố nhiệt độ, pH, nồng độ enzym/cơ chất, các chất ức chế lên tốc độ phản ứng do enzym xúc tác.
7. Trình bày khái niệm về hô hấp. Những điểm khác nhau cơ bản giữa hô hấp hiếu khí và kỵ khí?
8. Trình bày các quá trình hô hấp hiếu khí.
9. Trình bày khái niệm về quang hợp. Mối quan hệ giữa pha sáng và pha tối?
10. Trình bày các diễn biến của pha sáng.
11. Trình bày các giai đoạn chính của pha tối. Quá trình cố định CO₂ ở thực vật C₃, C₄ và CAM khác nhau như thế nào?

Chương 3

DI TRUYỀN VÀ BIẾN DỊ

MỤC TIÊU

1. Trình bày được cấu trúc của chất liệu di truyền.
2. Mô tả được cấu trúc nhiễm sắc thể ở Eukaryota và Prokaryota.
3. Trình bày được sao chép ADN ở Eukaryota và Prokaryota.
4. Trình bày được chu trình tế bào.
5. Trình bày được các kiểu phân bào.
6. Trình bày được di truyền nhiễm sắc thể và di truyền ngoài nhiễm sắc thể.
7. Trình bày được biến dị.
8. Trình bày được các kiểu đột biến.

1. CƠ SỞ PHÂN TỬ CỦA CHẤT LIỆU DI TRUYỀN

1.1. Acid nucleic – vật liệu di truyền

Vật liệu di truyền đóng vai trò hết sức quan trọng trong sinh giới với các đặc tính đặc biệt mà thiên nhiên ban tặng như:

- Hàm chứa các thông tin cần thiết đối với cấu tạo, hoạt động, sinh sản của tế bào trong dạng bền vững lâu dài.
- Tự sao chép được một cách chính xác để thông tin di truyền của thế hệ sau giống như của thế hệ trước.
- Thông tin trong chất liệu di truyền được sử dụng để tạo ra các hợp chất cần cho cấu trúc và hoạt động của tế bào.
- Chất liệu di truyền có khả năng biến đổi được.

Trong số các polyme sinh học hiện hữu chỉ có các acid deoxyribonucleic (ADN) và acid ribonucleic (ARN) có đặc tính phù hợp với các đặc tính trên.

1.2. Các thí nghiệm minh chứng acid nucleic là chất liệu di truyền

Có rất nhiều bằng chứng, thí nghiệm chứng minh chắc chắn rằng các acid nucleic là chất liệu di truyền. Dưới đây là một số ví dụ:

- Acid nucleic hấp phụ cực đại ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 260nm, và đây là bước sóng mà ánh sáng tử ngoại có thể gây đột biến tối đa cho các tế bào. Ngoài ra, acid nucleic còn hấp phụ cực đại ánh sáng tử ngoại của protein ở bước sóng 280nm.

- Năm 1928, F. Griffith phát hiện thấy nòi S của *Diplococcus pneumoniae* (khuẩn lạc nhẵn do có vỏ bọc bên ngoài) làm chết chuột khi đem tiêm vào chuột. Trong khi đó, nòi R (khuẩn lạc ráp do không có vỏ bọc bên ngoài) lại không gây hại gì đối với chuột được tiêm nòi này vào cơ thể. Tuy nhiên, khi tiêm hỗn hợp các vi khuẩn R còn sống với các vi khuẩn S đã bị chết do xử lý nhiệt vào chuột thì chuột bị chết và từ máu của các con chuột bị chết ấy người ta đã phân lập được các chủng S sống. Như vậy, có tác nhân nhất định (tác nhân biến nạp) từ vi khuẩn S chết đã biến nạp vào vi khuẩn R biến đổi vi khuẩn R thành vi khuẩn S. Quá trình này gọi là quá trình biến nạp.

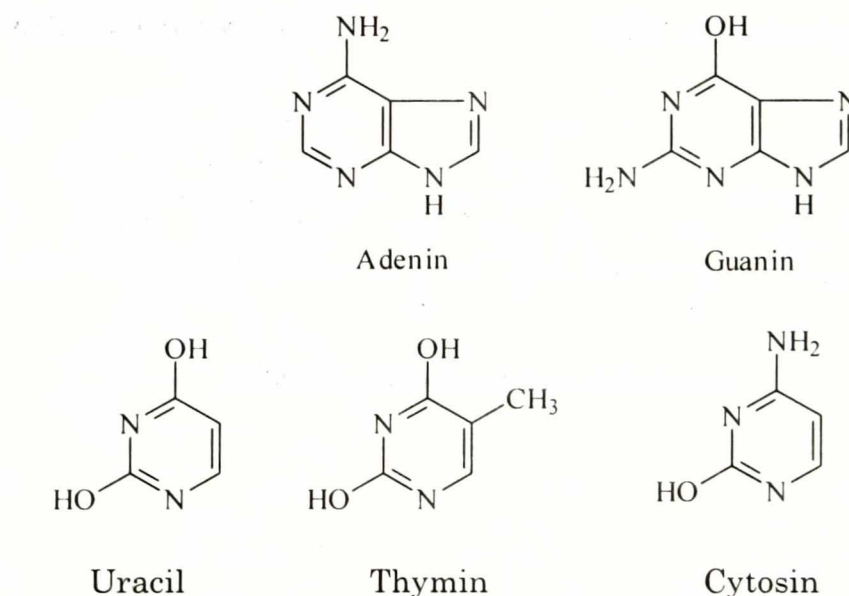
Năm 1944, O.T. Avery, C.M Macleod và M. McCarty đã chứng minh được tác nhân biến nạp là ADN vì hiện tượng biến nạp vi khuẩn R thành vi khuẩn S đã nêu chỉ mất đi khi xử lý tác nhân biến nạp tách ra được từ vi khuẩn S với deoxyribonuclease – enzym phân huỷ ADN.

- Năm 1957, H. Fraenkel-Conrat và B. Singer đã công bố thí nghiệm lắp ráp virus khảm thuốc lá TMV (tobacco mosaic virus) là virus chứa lõi ARN và vỏ protein. Virus này có hai dạng A và B. Các nhà khoa học đã lắp được lõi ARN của dạng này với vỏ protein của dạng kia và ngược lại, tạo nên các virus có vỏ và lõi thuộc hai dạng khác nhau, rồi đem nhiễm từng loại virus vào thuốc lá để gây đốm khảm. Kết quả phân lập sau thí nghiệm cho thấy, tất cả các thế hệ virus con phân lập được từ các đốm khảm đều mang cùng một dạng của lõi ARN và vỏ protein – dạng của ARN đem nhiễm chứ không phải dạng của vỏ protein. Như vậy, thông tin di truyền trong TMV được chứa trong ARN chứ không phải trong protein.

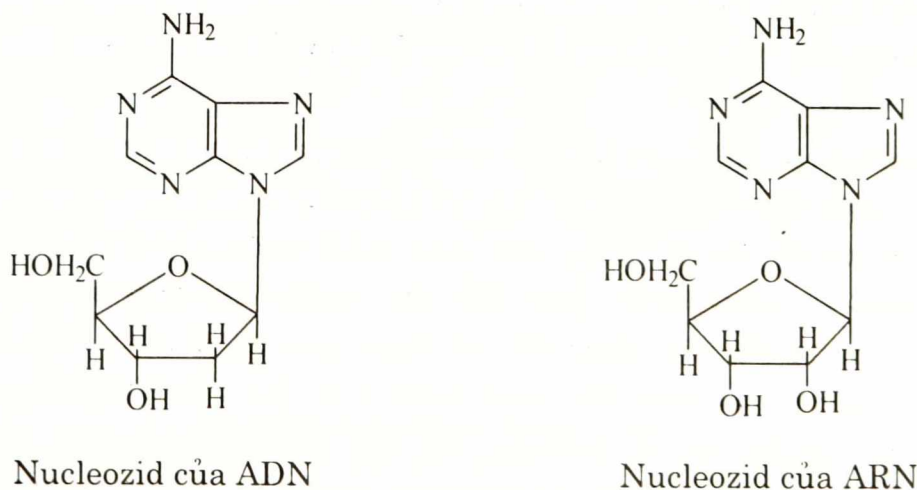
Ngày nay, chúng ta biết rằng ở phần lớn sinh vật chất liệu di truyền là ADN và ở một số virus là ARN.

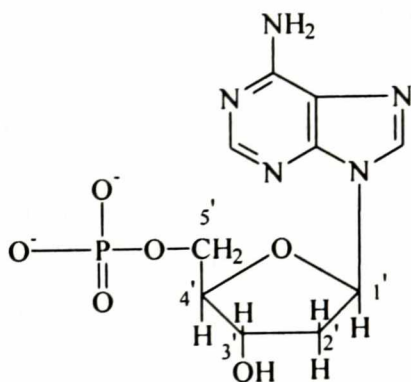
1.3. Thành phần và cấu trúc của acid nucleic

Các acid nucleotid là các acid 2'-deoxyribonucleic (ADN) và acid ribonucleic (ARN). Đây là các polyme mạch dài được tạo bởi các monome là các nucleotid. Mỗi nucleotid gồm ba thành phần là các base dẫn xuất purin hoặc pyrimidin, đường 2'-deoxyribose (trong ADN) hoặc ribose (trong ARN) và gốc phosphat. Các dẫn xuất base purin là adenin (A) và guanin (G) đối với cả hai ADN và ARN, còn các dẫn xuất pyrimidin bao gồm thymin (T) và cytosin (C) là các thành phần của ADN, trong khi ARN chứa cytosin (C) và uracil (U).

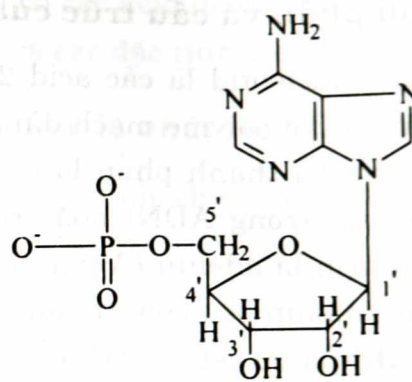


Base purin hoặc pyrimidin gắn với đường ribose tạo thành nucleozid. Nucleozid gắn với gốc phosphat tạo ra nucleotid (3'- và 5'- nucleotid) và polyme hoá các nucleotid tạo ra mạch polynucleotid của các acid nucleic.

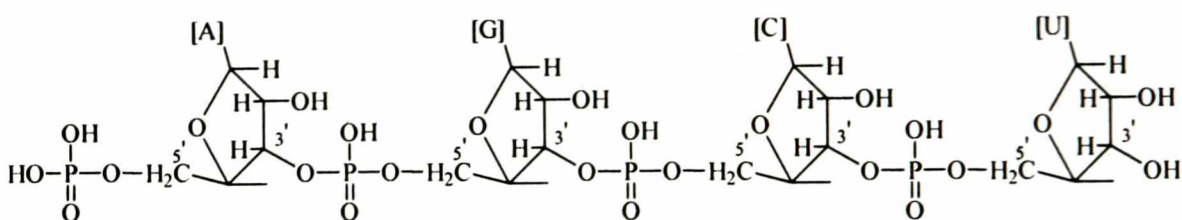




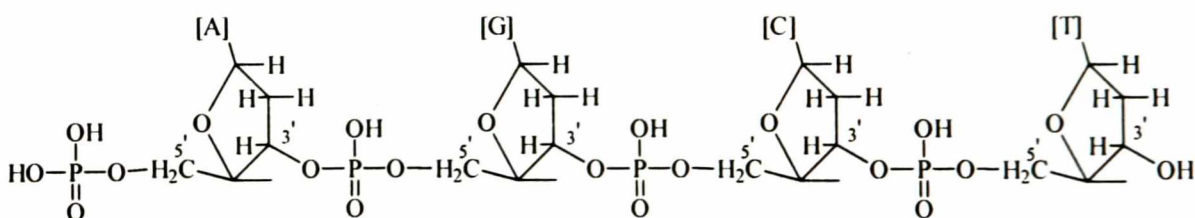
Nucleotid của ADN



Nucleotid của ARN



Mạch đơn polynucleotid của ARN

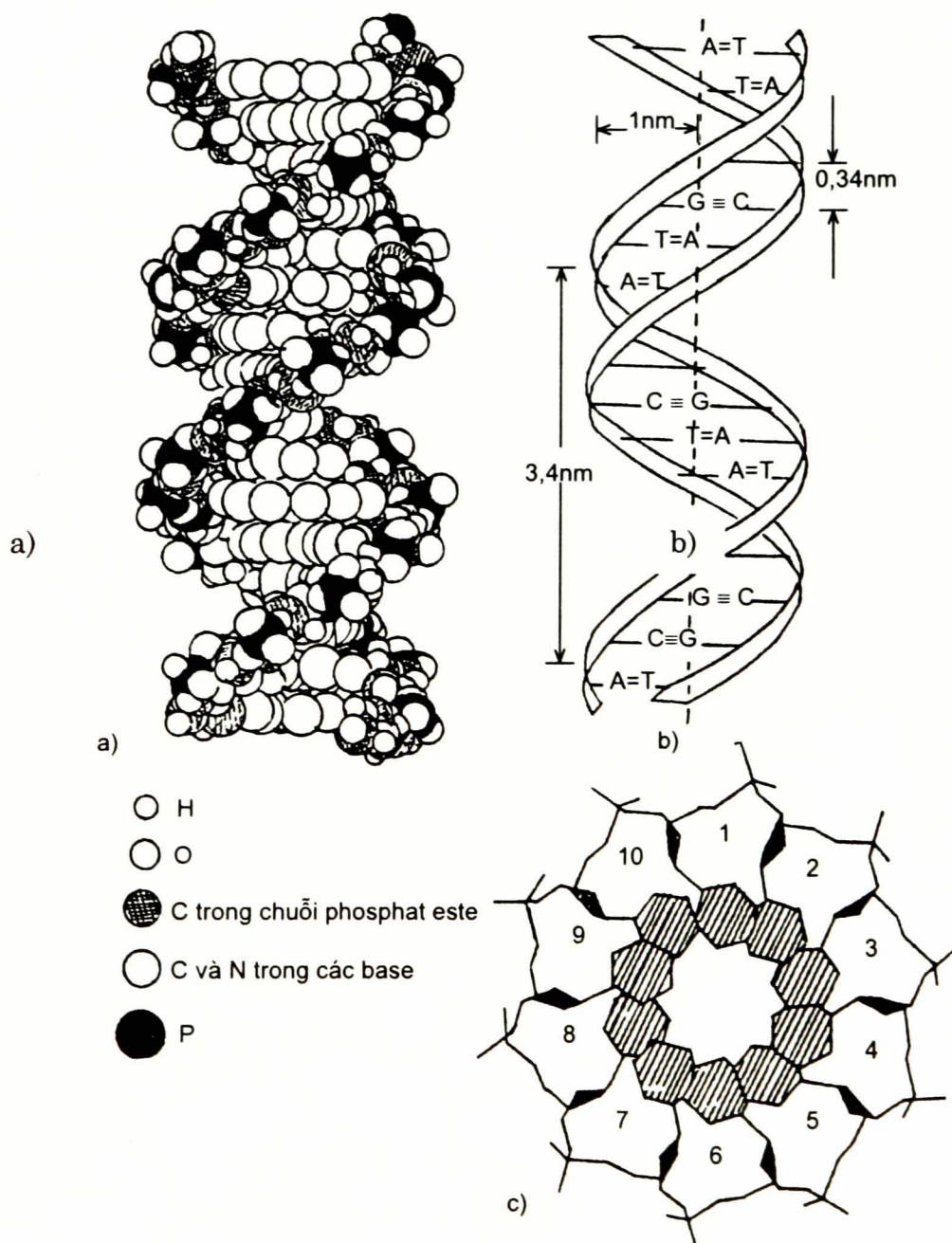


Mạch đơn polynucleotid của ADN

Phân tử polynucleotid mang tính phân cực: đường pentose ở một đầu mang nhóm phosphoryl hoặc hydroxyl ở vị trí 5' (đầu 5'), còn ở đầu kia mang nhóm hydroxyl ở vị trí 3' (đầu 3').

Tuy nhiên, các ADN trong tế bào sinh vật qua liên kết các base với nhau mà tạo thành mạch kép – chuỗi xoắn kép. Hình 3.1 giới thiệu mô hình chuỗi xoắn kép ADN của Watson – Crick. Trong cấu hình chuỗi xoắn kép của ADN mạch khung polyphosphat-2'-deoxyribose chạy bao bên ngoài, các base purin và pyrimidin chạy bên trong và bắt cặp (sóng đôi) với nhau qua các cầu liên kết hydro tạo ra sự gắn kết tương hợp của mạch kép ADN (hình 3.2). Chỉ các cặp base tương hợp A – T và G – C mới có thể tạo ra được các cầu liên kết bền vững trong cấu trúc chuỗi xoắn kép. Mỗi vòng xoắn chứa 10 cặp base, có chiều dài 3,4nm; mỗi cặp base cách

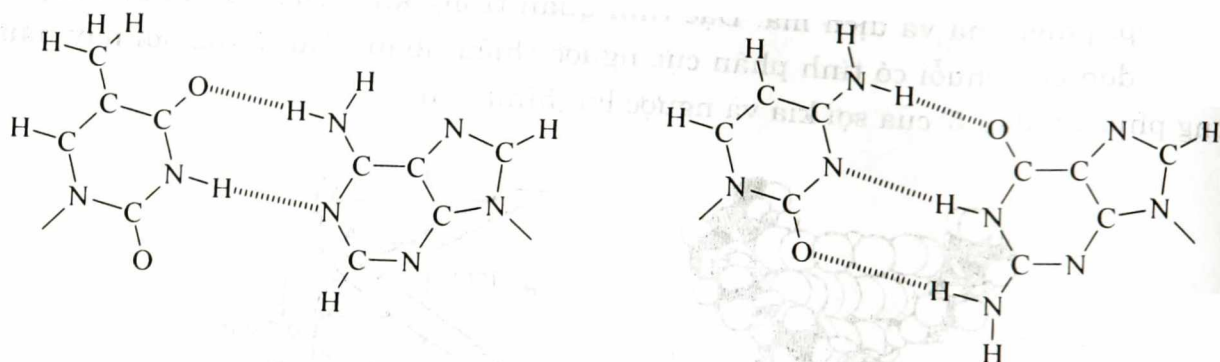
nhau là 0,34nm. Nhờ tính chất bắt cặp tương hợp này mà kết quả là hai sợi đơn trong chuỗi xoắn kép có trình tự tương hợp với nhau. Tính tương hợp đặc thù này trong liên kết cặp base có tầm quan trọng đặc biệt đối với chức năng của ADN như sao chép, phiên mã và dịch mã. Đặc tính quan trọng khác của chuỗi xoắn kép là hai sợi đơn của chuỗi có tính phân cực ngược chiều nhau: đầu 3' của sợi này nằm cùng phía với đầu 5' của sợi kia và ngược lại (hình 3.3).



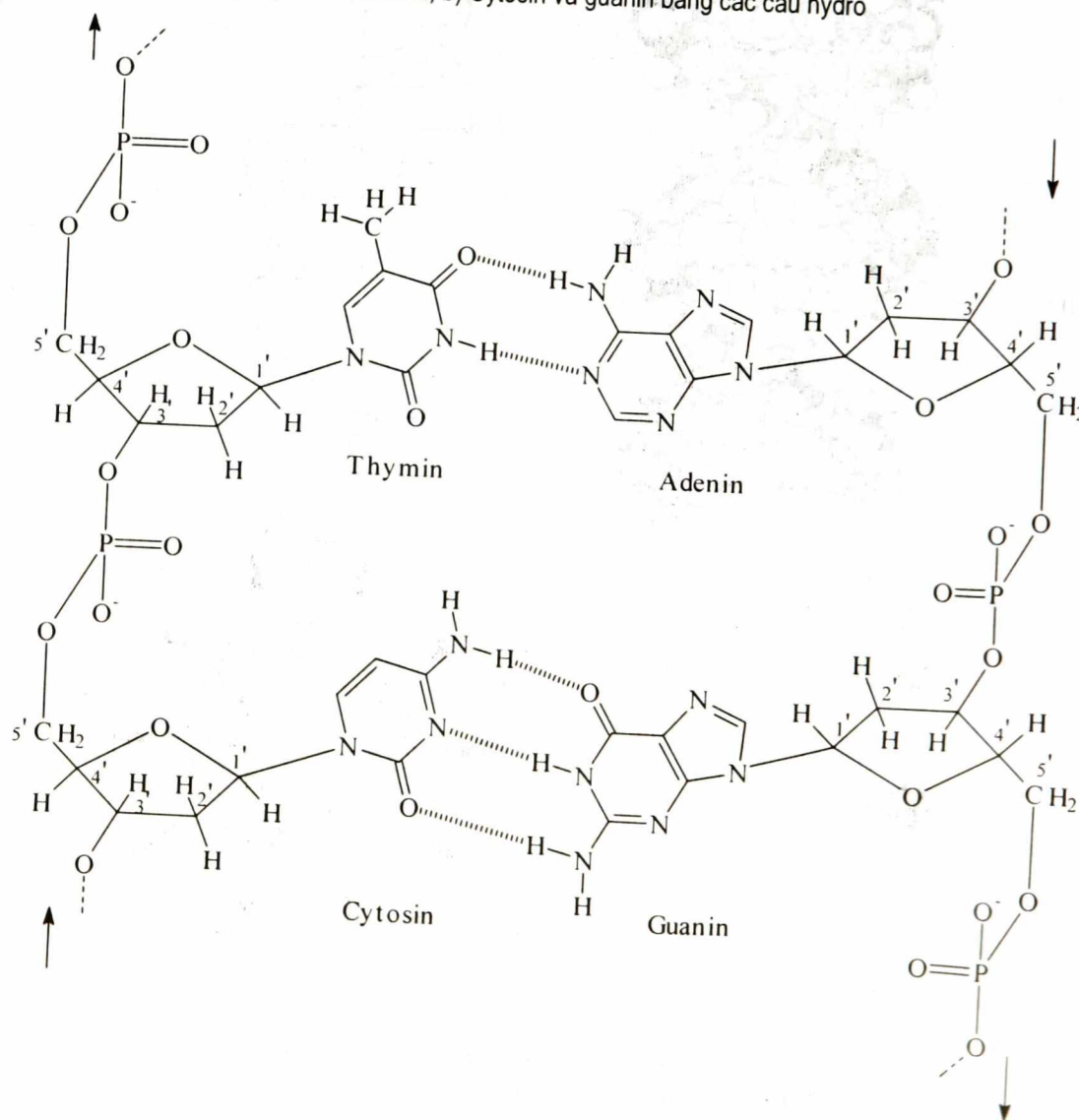
Hình 3.1. Mô hình ADN của Watson–Crick

a) Mô hình phân tử chuỗi xoắn kép ADN; b) Sơ đồ chuỗi xoắn kép ADN; c) Sơ đồ cắt ngang một sợi của chuỗi nhìn dọc theo trung tâm: khung polyme đường phosphat nằm phía ngoài, các base nằm phía trong.

Trong ADN, tỷ lệ $(A + G)/(C + T) = 1$. Tuy nhiên, tỷ số base $(G + C)/(A + T + G + C)$ được gọi là tỷ số phần trăm; các base G + C thường khác nhau ở các sinh vật khác nhau, nhưng giống nhau ở mỗi loài.

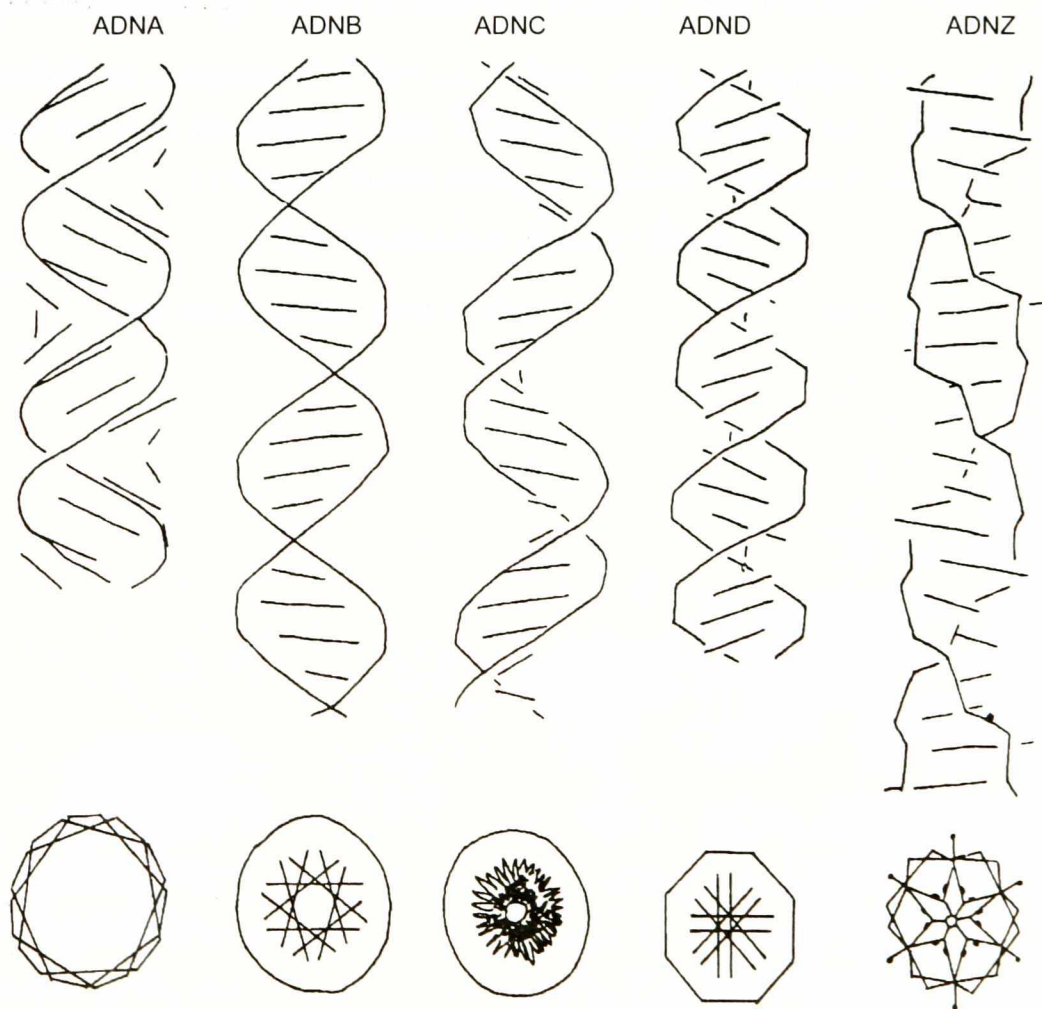


Hình 3.2. Sóng đôi giữa các cặp base trong ADN
a) Thymin và adenin; b) Cytosin và guanin bằng các cầu hydro



Hình 3.3. Cấu trúc chi tiết một phân đoạn ADN

ADN còn có nhiều dạng cấu tạo khác nhau. Dạng chuỗi xoắn kép theo mô hình Watson – Crick là ADN dạng B, dạng phổ biến của ADN – mỗi vòng xoắn chứa 10 cặp base thẳng góc với trục của chuỗi xoắn. Bên cạnh đó còn cần kể đến các dạng A, dạng C, dạng D và dạng Z. Ở dạng A, các cặp base nằm bên ngoài và nghiêng góc 19° so với trục của chuỗi, có 11 cặp trong mỗi vòng xoắn. Ở dạng C, các cặp base nằm tập trung ở bên trong chuỗi xoắn, nhưng nghiêng góc với trục chuỗi xoắn giống dạng A, tuy nhiên với góc bé hơn, mỗi vòng xoắn có 7,9–9,6 cặp base. ADN dạng D có thiết diện là hình bát giác, các cặp base nằm bên trong chuỗi xoắn và cũng nghiêng góc với trục xoắn, mỗi vòng xoắn có 8 cặp base. ADN dạng Z (dạng zigzag) có khung xoắn trái, mỗi vòng xoắn chứa 12 cặp base nằm bên ngoài chuỗi xoắn. Dạng Z này tìm thấy ở một số sinh vật nhân chuẩn hoặc ở một số đoạn ADN mà gen chịu sự điều hoà (hình 3.4).



Hình 3.4. Các dạng khác nhau của chuỗi xoắn kép ADN

1.4. Đặc điểm vật liệu di truyền ở Prokaryota và Eukaryota

Vật liệu di truyền ở sinh vật Prokaryota là ADN chuỗi xoắn kép, mỗi gen được gắn trên một đoạn của ADN và tất cả các phân đoạn trên ADN của các Prokaryota đều có chứa ý nghĩa di truyền nhất định. Mạch ADN được sử dụng tối đa để chuyển tải thông tin di truyền.

Ngược lại, ADN của các Eukaryota, nhất là của các sinh vật bậc cao chứa luân phiên các phân đoạn exon và intron, trong đó, các phân đoạn exon mã hoá các tính trạng di truyền của cơ thể, còn các phân đoạn intron là các phân đoạn không mã hoá (non-sense). Ngày nay, vai trò của các intron vẫn còn là bí ẩn đối với các nhà nghiên cứu, có thể vai trò của các intron này nằm trong việc ổn định các gen của ADN.

2. CẤU TRÚC NHIỄM SẮC THỂ Ở PROKARYOTA VÀ EUKARYOTA

Đến nay, các nghiên cứu cho thấy nhiễm sắc thể ở Prokaryota và Eukaryota là ADN mạch kép. Các virus có bộ gen là ADN hoặc ARN mạch đơn hay mạch kép. Bộ gen của các sinh vật khác nhau là rất khác nhau (bảng 3.1).

Bảng 3.1. Chiều dài bộ gen các sinh vật

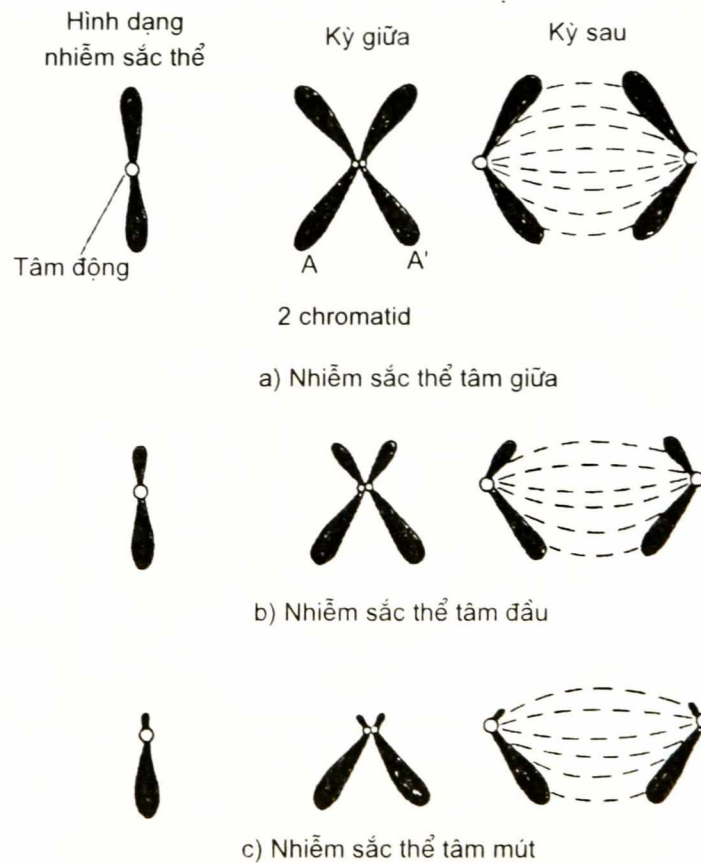
Sinh vật	Chiều dài bộ gen đơn bội (số cặp base)
Virus	$10^3 - 10^5$
<i>E. coli</i>	$4,5 \cdot 10^6$
Nấm men	$5 \cdot 10^7$
<i>Drosophila</i>	$1,5 \cdot 10^8$
Động vật có xương sống	$10^8 - 10^{10}$
Người	$3 \cdot 10^9$
Thực vật	$10^{10} - 10^{11}$

2.1. Hình thái nhiễm sắc thể

Khi nhuộm tế bào đang phân chia bằng một số chất màu base, có thể nhìn thấy dưới kính hiển vi quang học các cấu trúc hình que **nhuộm màu đậm**, nên được gọi là nhiễm sắc thể (chromosome), có nghĩa là thể nhuộm màu. Mỗi nhiễm sắc thể có hình dạng đặc trưng, rõ nhất ở kỳ giữa (metaphase) của nguyên phân. Tâm động (centromere) là điểm thắt eo chia nhiễm sắc thể thành hai vai với

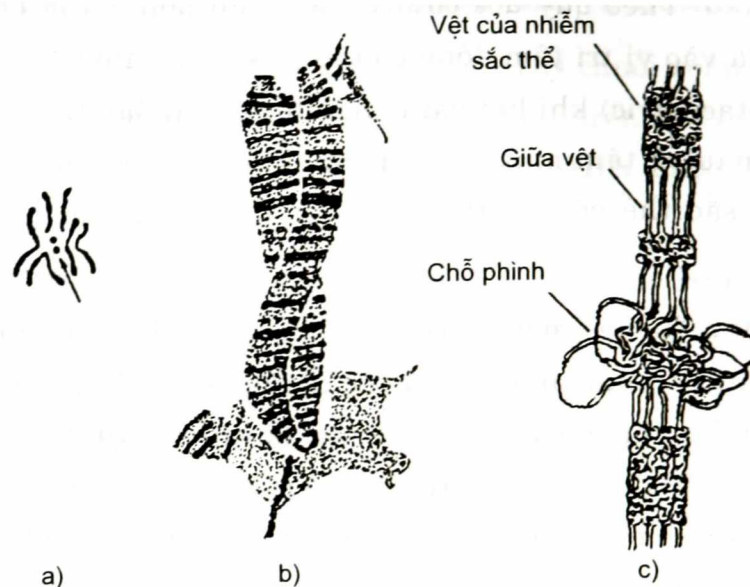
chiều dài khác nhau. Theo quy ước chung, vai ngắn hơn gọi là **vai p** và vai dài hơn gọi **vai q**. Dựa vào vị trí tâm động có thể phân biệt hình thái các nhiễm sắc thể: tâm giữa (metacentric) khi hai vai bằng nhau, tâm đầu (acrocentric) khi hai vai không bằng nhau và tâm mút (telocentric) khi tâm động nằm gần cuối (hình 3.5). Trên nhiễm sắc thể có thể thấy các vệt đậm hơn, gọi là vệt nhiễm sắc (chromomere).

Ở các tế bào dinh dưỡng (somatic cell – tế bào thân thể), mỗi nhiễm sắc thể có một cặp giống nhau về hình thái, gọi là các nhiễm sắc thể tương đồng hay đồng đẳng (homologous). Bộ nhiễm sắc thể có cặp gọi là **lưỡng bội** ($2n$) và bộ nhiễm sắc thể là **đơn bội** (n) khi mỗi nhiễm sắc thể chỉ có một bản, không có cặp. Ngoài ra, ở nhiều động vật có sự khác nhau giữa thể đực và cái ở một cặp nhiễm sắc thể giới tính (sexual chromosme).

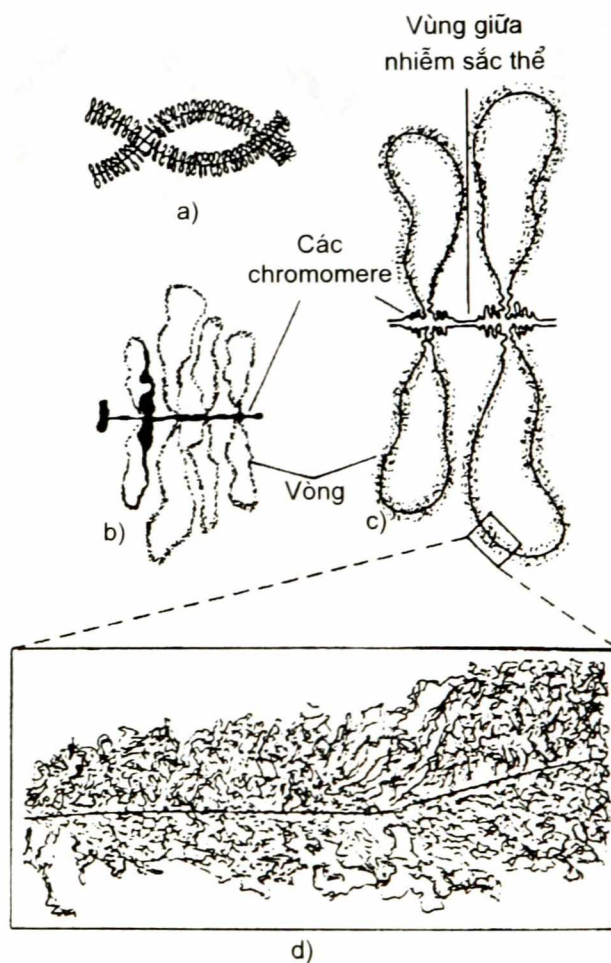


Hình 3.5. Sơ đồ các nhiễm sắc thể ở kỳ giữa và kỳ sau

Tế bào một số mô có các nhiễm sắc thể khổng lồ như ở tuyến nước bọt của ruồi giấm (hình 3.6) và nhiễm sắc thể chổi đèn (lampbrush chromosome) ở một số tế bào trứng của một loài lưỡng cư (hình 3.7).



Hình 3.6. Nhiễm sắc thể khổng lồ ở tuyến nước bọt của *Drosophila*
a) Nguyên dạng; b) Phóng to chỗ mũi tên của a; c) Phóng to một đoạn của b.



Hình 3.7. Nhiễm sắc thể chỗi đèn ở *Triturus viridescens*
a) Nguyên dạng; b) Phóng to một đoạn của a; c) Phóng to một đoạn của b; d) Phóng to một đoạn của c.

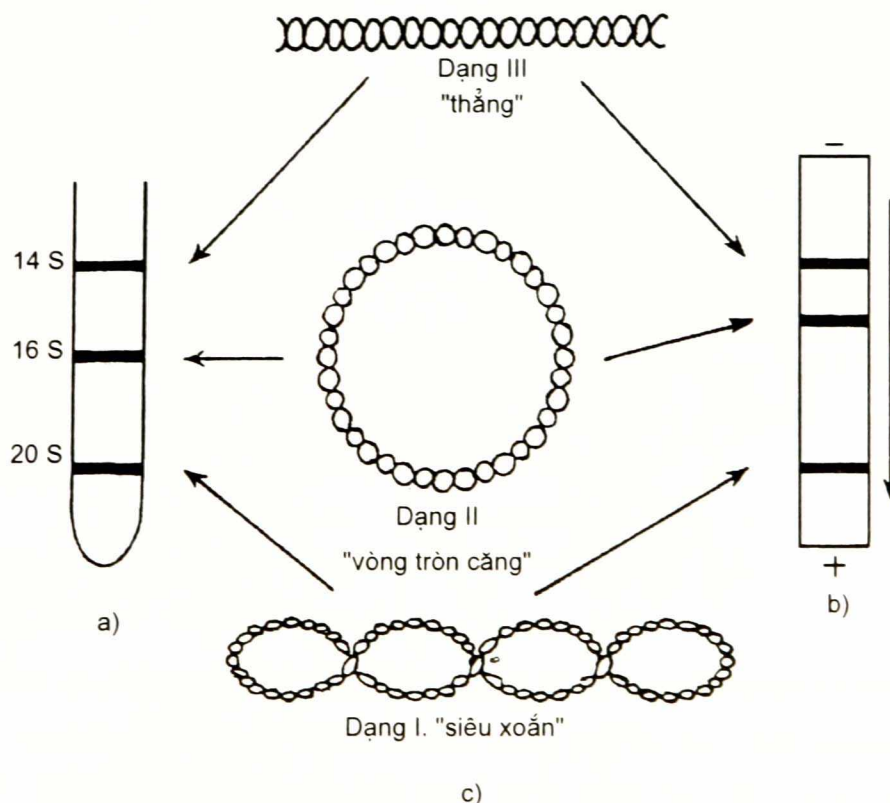
Tất cả tế bào của một loài nói chung có số lượng nhiễm sắc thể đặc trưng cho loài đó. Ví dụ, tế bào ruồi giấm *Drosophila melanogaster* có 8 nhiễm sắc thể, tế bào ngô có 20 nhiễm sắc thể, tế bào người có 46. Mỗi loại nhiễm sắc thể có hình dạng đặc trưng. Sự mô tả hình thái của nhiễm sắc thể được gọi là **kiểu nhân** (caryotype) đặc trưng cho mỗi loài. Kiểu nhân có thể được trình diễn dưới dạng **nhiễm sắc đồ** khi các nhiễm sắc thể được sắp xếp theo thứ tự bắt đầu từ dài nhất đến ngắn nhất.

2.2. Cấu trúc nhiễm sắc thể ở Prokaryota

ADN của *E. coli* nếu kéo dài thẳng ra sẽ dài 1,35mm, gấp 1.000 lần chiều dài tế bào của chính *E. coli*. Vì thế, trong tế bào ADN phải được xoắn chặt và gói gọn rất tinh vi sao cho gen vẫn biểu hiện được khi có nhu cầu.

2.2.1. Dạng siêu xoắn tự nhiên của ADN

Genom của *E. coli* cũng như của phần lớn các sinh vật tiến nhân là phân tử ADN dạng vòng, không gắn với protein để tạo phức hợp như nhiễm sắc thể của Eukaryota. **Nhiễm sắc thể** được hiểu là sợi ADN, được dùng cho cả các vi khuẩn. ADN có thể ở trong 3 dạng cấu trúc tô-pô (topological structure):



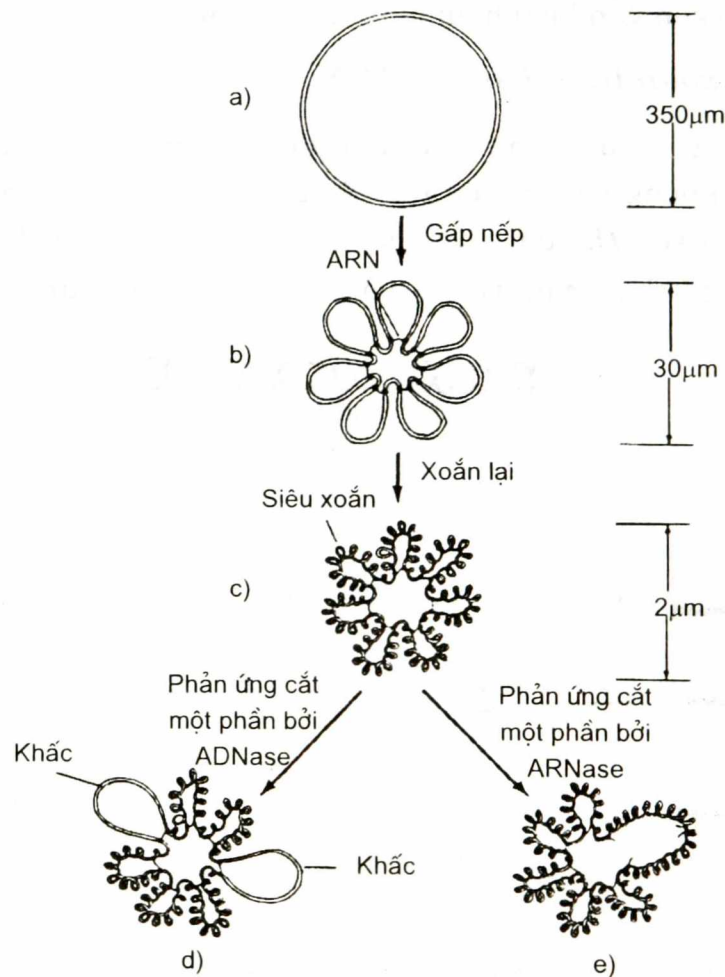
Hình 3.8. Các dạng thẳng, vòng tròn và siêu xoắn của ADN

a) Ly tâm siêu tốc; b) Điện di trên agarose gel; c) Nhìn dưới kính hiển vi điện tử.

- Dạng **siêu xoắn**, khi chuỗi kép vặn xoắn hình số 8. Đây là dạng tự nhiên (native) trong tế bào vi khuẩn của ADN. Dạng **siêu xoắn** của ADN là dạng phổ biến trong tế bào Prokaryota.
- Dạng **vòng tròn**, khi chuỗi ADN căng tròn. Dạng này xuất hiện khi ADN siêu xoắn bị cắt đứt một trong hai mạch kép.
- Dạng **thẳng**, khi ADN bị đứt cả hai sợi (hình 3.8).

2.2.2. Mô hình genom *E. coli*

Một số mô hình được xây dựng để mô tả các dạng biến đổi của genom *E. coli* trong tế bào. Hình 3.9 trình bày một số dạng trong số đó.



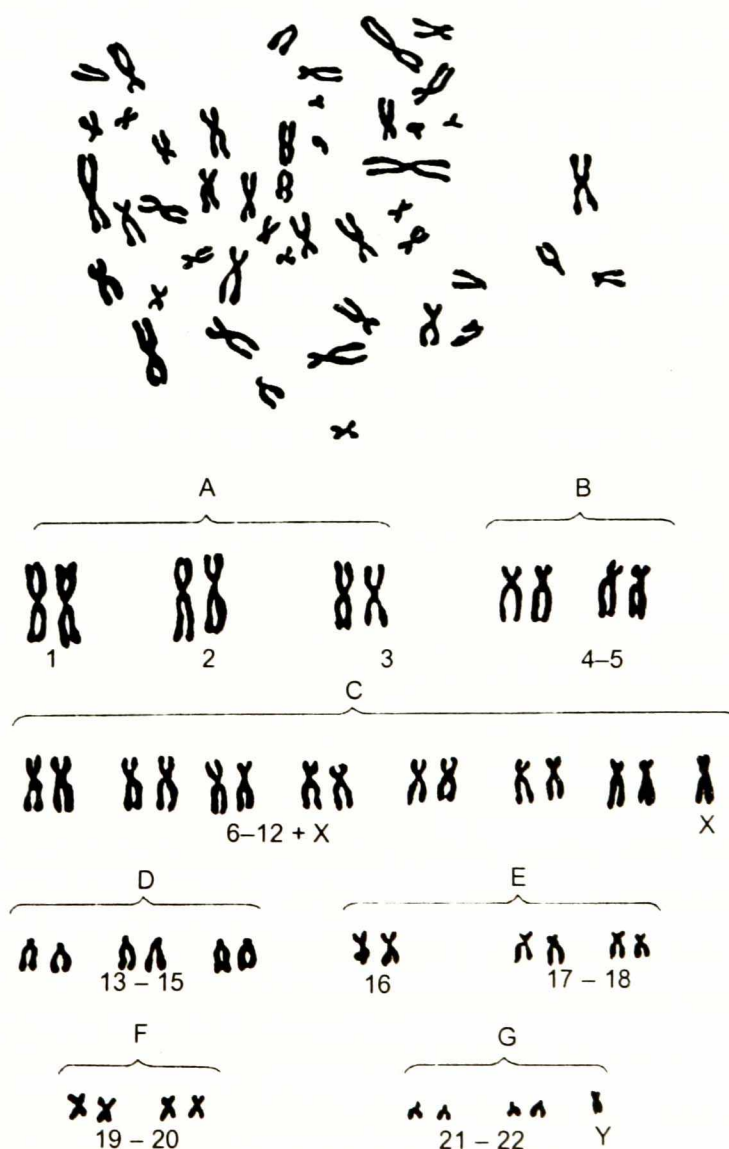
Hình 3.9. Genom *E. coli* thay đổi hình dạng trong tế bào (Pettijohn và Hecht, 1974)

Có thể nhận thấy sự co rút kích thước ADN mạnh (từ đường kính 350μm xuống còn 2μm), sự cuộn lại được thực hiện nhờ các ARN nối (linker). Khi các ARN linker bị cắt, mạch ADN bung dài ra thuận tiện cho sao chép ADN. Nếu ADNase cắt một sợi, chuỗi ADN tháo xoắn căng ra để tổng hợp protein.

2.3. Cấu trúc nhiễm sắc thể ở Eukaryota

2.3.1. Kiểu nhân

Đa số ADN của Eukaryota được tổ chức thành nhiều nhiễm sắc thể trong nhân tế bào. Mỗi nhiễm sắc thể chứa 1 phân tử ADN mạch thẳng xoắn kép. Tổ chức genom như vậy gọi là kiểu nhân bao gồm các nhiễm sắc thể có số lượng và hình dạng đặc trưng cho tế bào của mỗi loài sinh vật, đặc biệt là vị trí của tâm động. Ở động vật, kiểu nhân ở giới tính cái và đực thường khác nhau do có các nhiễm sắc thể giới tính X và Y. Đối với các nhiễm sắc thể còn lại, kiểu nhân của tất cả các sinh vật trong cùng loài đều giống nhau. Những loài khác nhau có kiểu nhân khác nhau.



Hình 3.10. Kiểu nhân người

Phía trên: các nhiễm sắc thể trong nguyên phân của người đàn ông bình thường.
Phía dưới: các nhiễm sắc thể được sắp xếp thành cặp tương đồng.

Hình 3.10 giới thiệu kiểu nhân người nam giới, trong đó có 46 nhiễm sắc thể bao gồm 22 cặp nhiễm sắc thể thường và hai nhiễm sắc thể giới tính X và Y rất khác nhau. Các nhiễm sắc thể người được phân thành 7 nhóm từ A đến G dựa trên hình dạng và kích thước của chúng. Nhờ kỹ thuật nhuộm băng (banding techniques) có thể làm hiện lên những vạch nang (băng) đặc thù nằm dọc theo mỗi nhiễm sắc thể, nhờ vậy có thể dễ dàng phân biệt được từng nhiễm sắc thể trong kiểu nhân.

2.3.2. Cấu tạo của nhiễm sắc thể

Nhiễm sắc thể của Eukaryota có tổ chức phức tạp, bao gồm ADN và nhiều loại protein gắn vào. Trong số các protein gắn vào đó, histon đóng vai trò quan trọng trong việc cuộn ADN lại và điều chỉnh hoạt tính của ADN. Các histon là những protein nhỏ chứa nhiều acid amin mang điện tích dương (lysine và arginine) nên có thể gắn chặt với ADN điện tích âm.

Sự hình thành nhiễm sắc thể ở kỳ giữa từ chuỗi xoắn kép ADN qua hệ thống các bậc cấu trúc như sau (hình 3.11):

- **Nucleosom** là **đơn vị cấu trúc** của nhiễm sắc thể được tạo nên do sợi ADN dài quấn quanh các protein histon, hình thành sợi 11nm. Đơn vị nucleosom là phức hợp gồm 146 cặp base của ADN quấn quanh 8 phân tử histon (2 H2A, 2 H2B, 2 H3 và 2 H4). Các nucleosom kề nhau được nối qua một phân tử nucleosom trung gian (H₁, hình 3.11b).

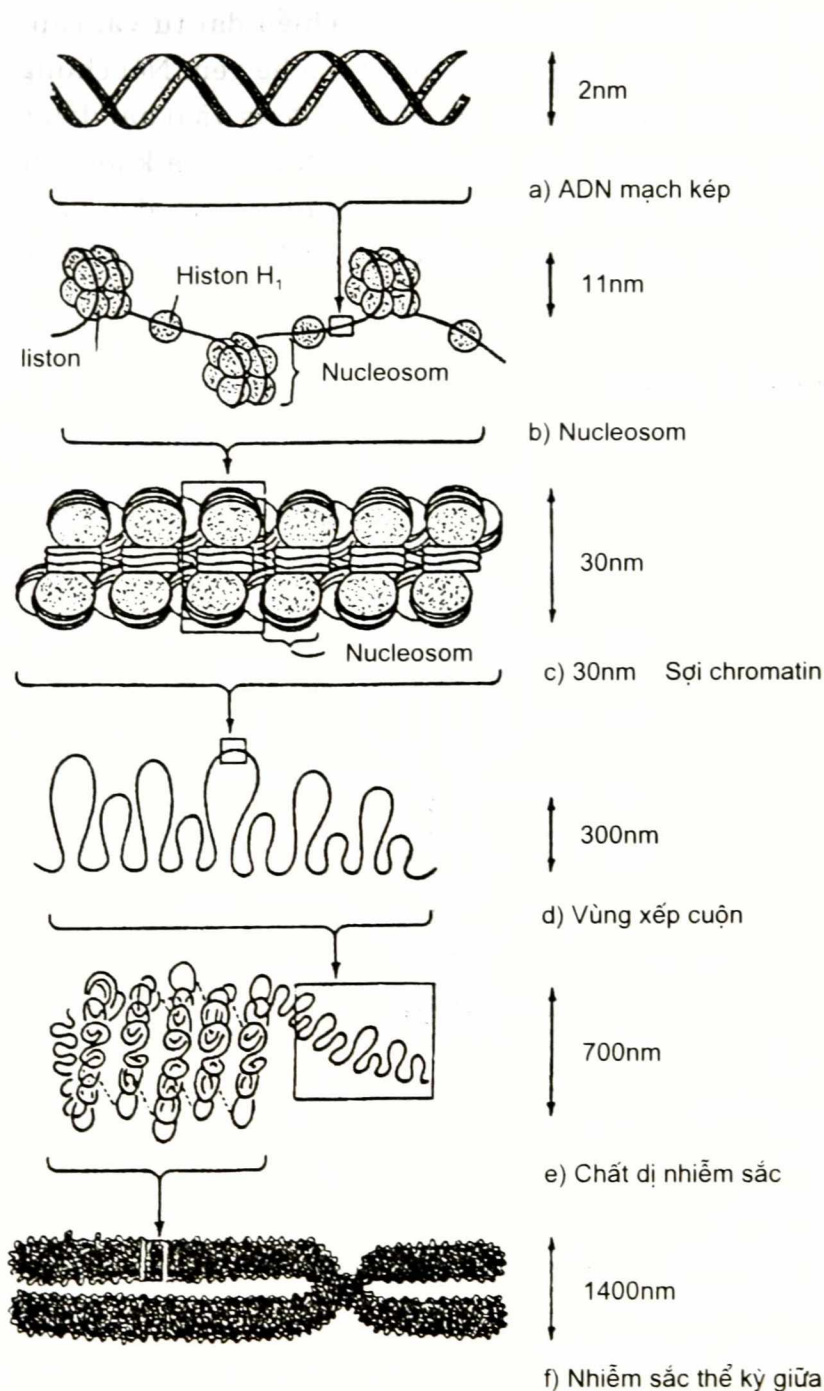
- **Sợi chromatin** dày 30nm: Các nucleosom xếp khít nhau tạo thành phức hợp nucleoprotein.

- **Vùng xếp cuộn** dày 300nm do sợi chromatin sau nhiều lần xoắn uốn khúc tạo nên (hình 3.11d).

- **Chất dị nhiễm sắc** dày 700nm (hình 3.11e): Chất dị nhiễm sắc là trạng thái cuộn xoắn cao của chất nhiễm sắc. Ở những sinh vật khác nhau thì chất dị nhiễm sắc phân bố khác nhau, có trường hợp từng phần hoặc toàn bộ nhiễm sắc thể là chất dị nhiễm sắc.

- **Nhiễm sắc thể kỳ giữa** dày 1400 nm (H. 3.11.f): Dạng phổ biến của nhiễm sắc thể ở trạng thái dẫn xoắn, còn gọi là chất nguyên nhiễm sắc. Có thể có trường hợp chất dị nhiễm sắc nằm xen kẽ với chất nguyên nhiễm sắc và bọc quanh các tâm động.

Về chức năng, chất nguyên nhiễm sắc chứa ADN ở trạng thái hoạt động có thể phiên mã được, còn chất dị nhiễm sắc thì mang ADN ở dạng không phiên mã được. Chất dị nhiễm sắc sao chép muộn hơn chất nguyên nhiễm sắc trong chu trình tế bào.



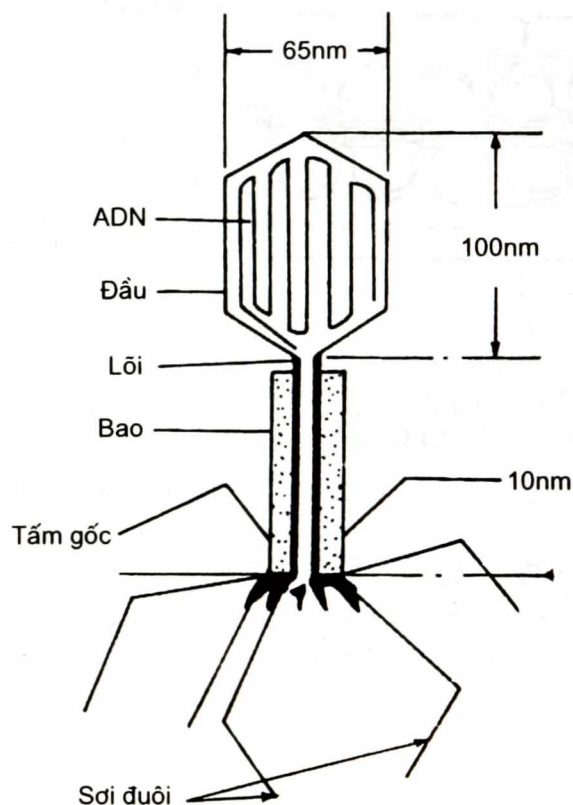
Hình 3.11. Phức hợp nucleoprotein cuộn lại thành nhiễm sắc thể

2.3.3. Các trình tự lặp lại của ADN

Các thí nghiệm về biến tính (denaturation) và hồi tính (renaturation) ADN ở các sinh vật khác nhau cho thấy nhiễm sắc ở các sinh vật nhân nguyên thủy hầu như chỉ mang một trình tự ADN duy nhất, trong khi đó nhiễm sắc thể ở sinh vật nhân thật lại có nhiều đoạn lặp lại. Những sinh vật nhân thật khác nhau có tần số

các đoạn ADN lặp khác nhau. Có những đoạn (chiều dài từ vài cặp đến vài trăm cặp base) có tần số lặp lại đến hàng triệu lần trong hệ gen. Nói chung, những đoạn ADN có tần số lặp lại cao thường nằm quanh tâm động và ở hai đầu của nhiễm sắc thể, chúng được sao chép muộn hơn các đoạn ADN khác và không được phiên mã, trong khi các đoạn có tần suất lặp trung bình (từ vài chục đến vài nghìn lần) thì được phiên mã. Các gen mã hoá các rARN và tARN và các histon nằm trong các đoạn này.

2.4. Nhiễm sắc thể ở phage



Hình 3.12. Phage T4 của vi khuẩn *E. coli*

Như đã được đề cập, genom của phage có thể là ADN sợi đơn hoặc sợi kép, hay ARN sợi đơn hoặc sợi kép, mạch thẳng, đóng vòng hay chồng lớp. Hiện nay, các phage T xâm nhiễm *E. coli* được nghiên cứu kỹ nhất về mặt di truyền (hình 3.12). Nhiễm sắc thể của chúng là ADN trần, mạch kép, không có protein. Cả phage T2 và T4 đều có nhiễm sắc thể dài hơn hệ gen hoàn chỉnh của chúng. Đó là kết quả của sự lặp lại dư thừa ở hai đầu và hiện tượng đối chỗ do quay vòng đối đầu, giống như mỗi phage đều chứa những phân đoạn ADN có chiều dài bằng nhau được cắt ra một cách ngẫu nhiên từ một vòng tròn nhiễm sắc thể lớn. Trong khi đó, các phage T lẻ như phage T3, T5, T7 lại chỉ có nhiễm sắc thể lặp lại dư thừa ở hai đầu. Các kiểu nhiễm sắc thể này có các dạng như sau:

1 2 3 4 5 6

Hệ gen hoàn chỉnh.

1 2 3 4 5 6 1 2

Nhiễm sắc thể lặp lại dư thừa ở hai đầu.

4 5 6 1 2 3

Các nhiễm sắc thể đổi chỗ do mạch vòng.

3 4 5 6 1 2

1 2 3 4 5 6 1 2

3 4 5 6 1 2 3 4

Các nhiễm sắc thể lặp lại dư thừa ở hai đầu

6 1 2 3 4 5 6 1

và đổi chỗ do quay vòng đổi đầu.

Bằng chứng về sự tồn tại các kiểu nhiễm sắc thể nói trên ở phage thu được trong các thí nghiệm xử lý ADN phage với enzym giới hạn.

2.5. Các yếu tố di truyền vận động – gen nhảy

Ngoài các gen chiếm vị trí cố định trên nhiễm sắc thể ở các sinh vật tiến nhân hay nhân chuẩn đều thấy tồn tại các yếu tố di truyền đặc biệt có khả năng vận động từ một vị trí đến các vị trí khác trong hệ gen. Các gen di động này được đặt tên là các yếu tố di truyền vận động (transposable genetic elements – TGE). Các TGE là những đoạn ADN đặc biệt có khả năng chèn (xen) vào một hoặc một số vị trí trong hệ gen và cũng có thể được cắt rời khỏi hệ gen. Chúng có thể tạo nên những biến đổi di truyền khi xen vào gen hoặc vào đoạn kế tiếp với gen và những biến đổi này sẽ mất đi nếu các TGE rời chuyển khỏi vị trí mà chúng đã chèn vào. Yếu tố di truyền động như vậy còn được gọi là gen nhảy.

2.6. Cấu trúc exon – intron của gen

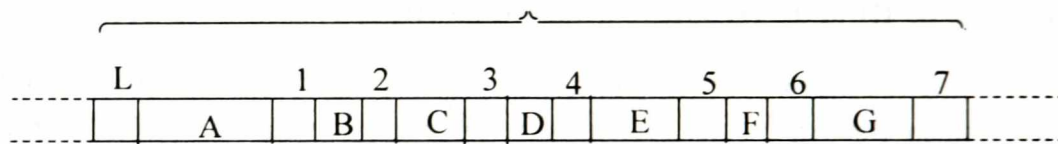
Các gen của động vật có vú, đôi khi của cả thực vật bậc cao và nấm men có các đoạn không mã hoá acid amin (non-coding sequences) được gọi là các intron, phân biệt với các đoạn mã hoá (coding sequences) được gọi là exon. Cả các đoạn intron và exon đều được phiên mã để tạo ra tiền mARN (pre-mARN) và từ phân tử này qua quá trình tách ghép (splicing) cắt đi các intron, rồi gắn các exon lại để tổng hợp nên các phân tử mARN dùng cho quá trình dịch mã diễn ra trong ribosom ở tế bào chất.

Các intron đầu tiên phát hiện thấy ở *adenovirus* (1977), sau đó tìm thấy ở *viru^s SV40* và rất nhanh sau đó người ta đã thấy sự tồn tại phổ biến các intron ở các sinh vật nhân chuẩn.

Pierre Chambon và cs. ở Trường Đại học Tổng hợp Strasbourg (Pháp) là những người đầu tiên phát hiện các đoạn intron khi nghiên cứu điều hoà di truyền trong

sinh tổng hợp ovalbumin – protein trong lòng trắng trứng gà, chứa 386 acid amin. Các nhà nghiên cứu đã tách mRNA của gen ovalbumin, sau đó cho phiên mã ngược để tạo ra cADN và đã phát hiện thấy các phân tử mRNA đầu tiên trong nhân là những phân tử mRNA dài hơn mRNA bình thường có trong tế bào chất. So sánh ADN của gen với cADN được tạo ra từ mRNA lấy từ tế bào chất và giải trình tự cả hai loại phân tử, các tác giả nhận thấy có các đoạn polynucleotid có trong ADN của gen gốc nhưng lại không có trong cADN được tổng hợp từ mRNA lấy từ tế bào chất. Các tác giả còn phát hiện thấy các đoạn polynucleotid nói trên (intron) không được dịch mã, chúng nằm xen kẽ với các đoạn có mang thông tin được dịch mã (exon). Gen ovalbumin có 7 intron xen kẽ giữa 8 exon theo sơ đồ dưới đây:

77.000 cặp base



7 intron: A, B, C, D, E, F, G.

8 exon: L, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7.

Exon L là đoạn dẫn đầu 5' của mRNA trong gen ovalbumin.

Các exon 1–7 mã hoá các acid amin trong ovalbumin.

Intron đầu tiên phát hiện thấy ở thực vật là ở gen phaseolin trong cây họ Đậu mang 3 intron. Nói chung, các gen thực vật bậc cao đều mang nhiều intron và exon. Người ta cũng nhận thấy không phải tất cả các gen nhân chuẩn đều mang intron. Ví dụ, gen histon nhím biển và 4 gen sock nhiệt ở *Drosophila* không mang intron.

Nói chung, các intron đã phát hiện có kích thước rất khác nhau từ vài cặp đến hàng nghìn cặp base.

Trong nhiều trường hợp, mỗi exon mã hoá một chức năng xác định của protein. Ví dụ, ở các gen globin, exon nằm giữa mã hoá điểm gắn hema. Ở nấm men, trong gen cytochrom b, intron lại là một phần của exon thuộc các gen mã hoá các enzym cần thiết cho quá trình phiên mã. Theo quan niệm mới, các intron không phải là các đoạn ADN dư thừa như được chỉ ra trước đây, chúng đóng vai trò quan trọng trong quá trình biệt hoá của sinh vật nhân chuẩn đa bào, và vì vậy chúng là sản phẩm của quá trình tiến hoá. Nghiên cứu sâu hơn về chức năng của các intron có thể thấy rõ sự tồn tại của các intron là cần thiết cho hoạt động và biểu hiện của gen, đặc biệt là ở các sinh vật bậc cao.

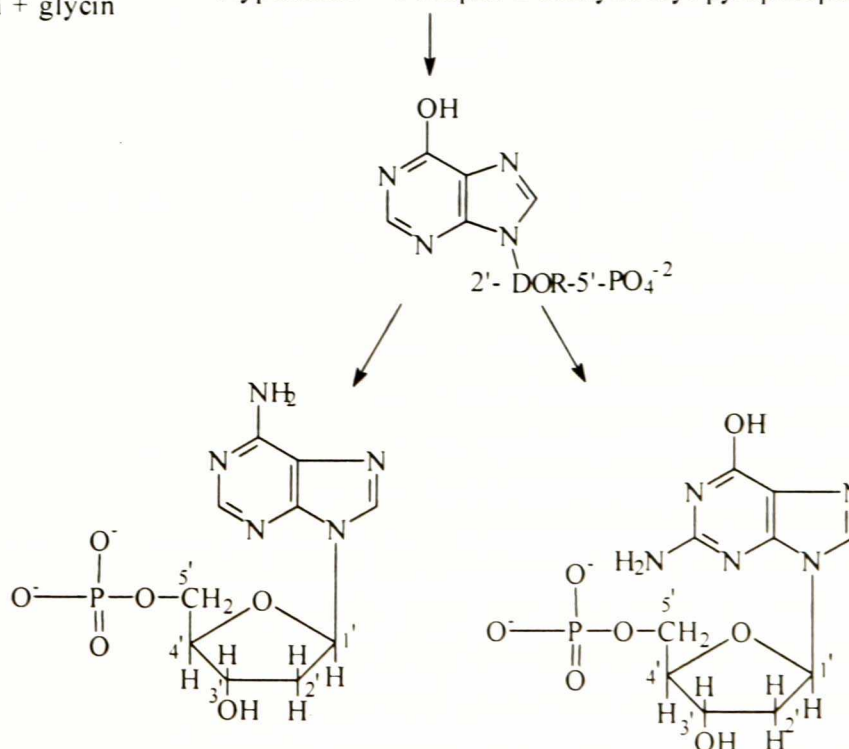
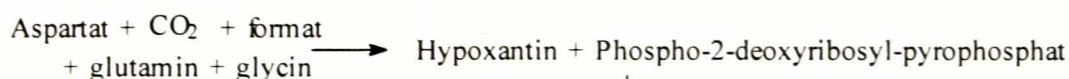
3. SAO CHÉP ADN Ở PROKARYOTA VÀ EUKARYOTA

3.1. Sao chép ADN ở sinh vật nhân nguyên thủy

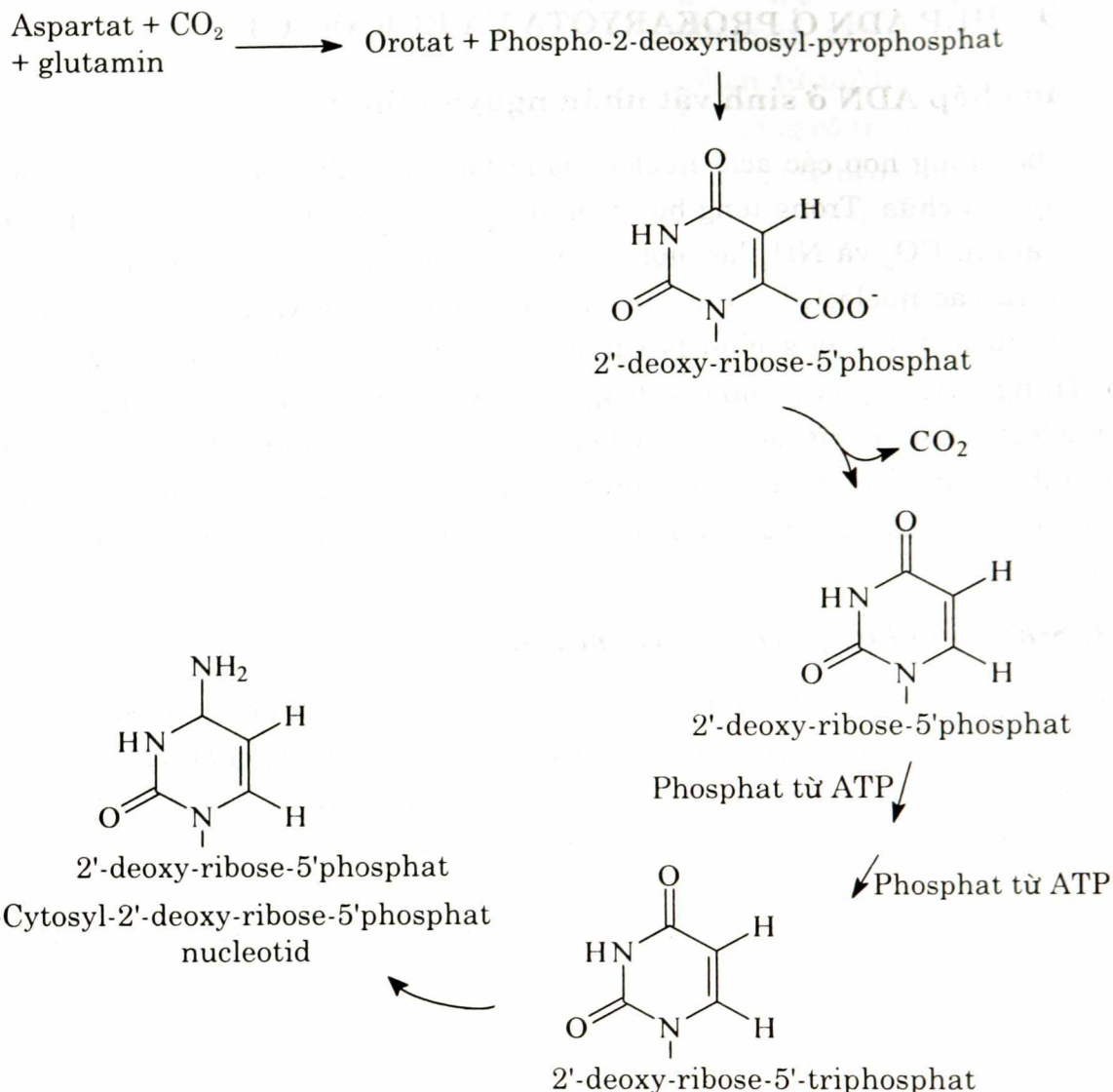
Tế bào tổng hợp các acid nucleic bằng hai cách khác nhau: tổng hợp mới và tổng hợp cứu chữa. Trong tổng hợp mới (de novo pathway) đường deoxyribose, một số acid amin, CO_2 và NH_3 kết hợp với nhau trong một loạt các phản ứng để trực tiếp tạo ra các nucleotid. Trong trường hợp này, purin và pyrimidin tự do cũng như các nucleotid không phải là các chất trung gian trong con đường sinh tổng hợp. Trong tổng hợp cứu chữa (salvage pathway) các purin, pyrimidin, cũng như các nucleotid sinh ra từ các acid nucleic bị phân huỷ lại có thể được chuyển hoá trở lại thành các nucleotid cần thiết cho tổng hợp acid nucleic. Cả hai cách đều quan trọng đối với tế bào và mức độ quan trọng của chúng tùy thuộc vào điều kiện tồn tại của tế bào.

3.1.1. Sinh tổng hợp purin và pyrimidin

Con đường sinh tổng hợp purin về cơ bản là giống nhau ở nhiều sinh vật khác nhau, ví dụ, vi khuẩn *E. coli*, nấm men và người. Nhiều hợp chất được sử dụng để tạo nên vòng purin: aspartat, CO_2 , format, glutamin, glycin. Còn các chất được sử dụng để tạo thành vòng pyrimidin là aspartat, CO_2 , glutamin.



Hình 3.13. Sơ đồ sinh tổng hợp các purin nucleotid của ADN

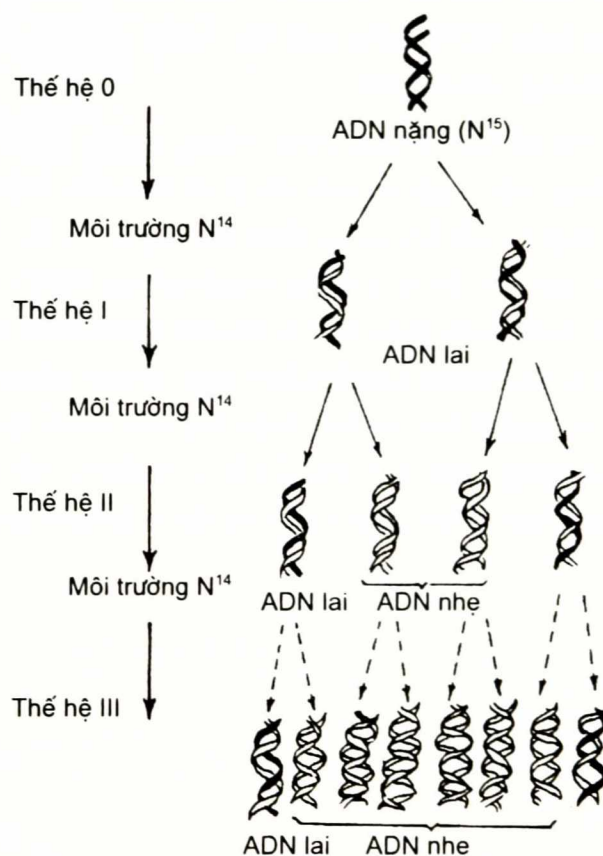


Hình 3.14. Sơ đồ sinh tổng hợp pyrimidin nucleotid của ADN

3.1.2. Sao chép theo khuôn

Trong chuỗi xoắn kép ADN, adenin phải bắt cặp với thymin và guanin phải bắt cặp với cytosin nên trình tự các nucleotid trên một mạch sẽ xác định chính xác trình tự đặc hiệu các nucleotid trên mạch bổ sung của nó. Như vậy, trong tổng hợp ADN nếu tách rời hai mạch của phân tử ADN ra, chúng có thể sắp xếp các nucleotid của mạch mới thành hàng theo trình tự bổ sung với các nucleotid trên mạch cũ và sau đó gắn các nucleotid lại thành mạch mới bổ sung. Tức là, hai mạch gốc của phân tử ADN ban đầu được tách ra mỗi mạch làm khuôn để tổng hợp mạch mới. Kết quả mỗi phân tử ADN ban đầu tạo ra hai phân tử con giống hệt nhau. Mỗi phân tử con đều mang một mạch gốc và một mạch mới. Kiểu sao chép này được gọi là sao chép bán bảo tồn (semi-conservative). Thí nghiệm của Meselson và Stahl được trình bày trong hình 3.15. Năm 1958, M. Meselson và

Stahl đã chứng minh kiểu sao chép bán bảo tồn. Hai ông đã nuôi cấy *E. coli* nhiều thế hệ trên môi trường có nguồn nitơ đồng vị nặng N^{15} . Như vậy, tất cả ADN của vi khuẩn đều mang đồng vị nặng N^{15} thay cho N^{14} bình thường. Sau đó, tế bào được chuyển sang môi trường chỉ chứa N^{14} nhẹ, lấy mẫu tế bào sau những khoảng thời gian đều đặn và chiết tách ADN. Bằng phương pháp ly tâm siêu tốc trên gradient nồng độ $CsCl$, các loại ADN nặng, nhẹ và lai được tách ra.



Hình 3.15. Thí nghiệm của Meselson và Stahl

Kết quả cho thấy, ADN nặng ban đầu (thế hệ 0) chứa N^{15} , sau một lần phân chia cho thế hệ I *E. coli* với ADN lai có tỷ trọng nằm giữa ADN nặng N^{15} và ADN nhẹ N^{14} . Như vậy, sau một lần sao chép phân tử ADN mới chứa một sợi mang N^{15} và một sợi mang N^{14} . Ở thế hệ II có một nửa số phân tử ADN là lai, số còn lại là ADN nhẹ với N^{14} . Như vậy, giả thuyết của Watson – Crick là đúng, tức là hai mạch ADN mẹ tách ra, mỗi mạch làm khuôn để tổng hợp nên mạch mới bổ sung.

3.1.3. Quá trình sao chép ADN

Các nghiên cứu tiếp theo đã phát hiện ra cơ chế phân tử của quá trình sao chép ADN. Đây là quá trình phức tạp và phải trải qua các cơ chế chung như sau:

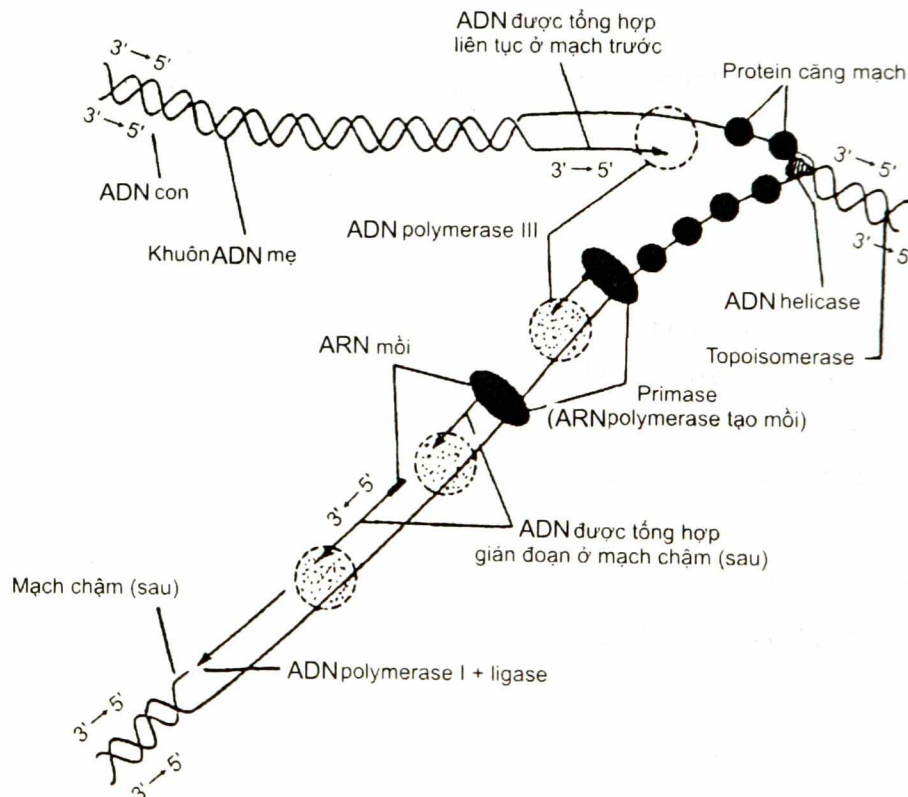
- Các liên kết hydro gắn hai sợi của mạch kép ADN và ổn định cấu trúc xoắn phải bị đứt ra và tách rời hai sợi đơn;

- Phải có đoạn mồi (primer), tức đoạn ADN hay ARN mạch đơn ngắn bắt cặp với mạch khuôn;
- Đủ 4 loại nucleotid triphosphat (dATP, dGTP, dTTP và dCTP) bắt cặp bổ sung với các nucleotid mạch khuôn;
- Mạch mới tổng hợp theo hướng $5'P \rightarrow 3'OH$;
- Các nucleotid mới được gắn lại với nhau bằng liên kết cộng trị để tạo mạch mới.

Mỗi bước sinh tổng hợp ADN được xúc tác bằng enzym đặc hiệu và được thực hiện một cách nhanh chóng, chính xác.

Ở các Prokaryota và cả các Eukaryota, từng mạch ADN riêng biệt được sao chép chỉ theo một hướng: các enzym sao chép di chuyển trên mạch mẹ từ đầu 3' đến đầu 5' để tạo nên mạch mới bổ sung theo hướng $5' \rightarrow 3'$. Khi tách ADN ở một đầu ra để sao chép tạo ra chẽ ba sao chép (replication fork). Mạch mới được tổng hợp theo hướng $5' \rightarrow 3'$ nên trên một mạch khuôn quá trình tổng hợp sẽ hướng từ ngoài vào chẽ ba, còn trên mạch khuôn kia quá trình tổng hợp sẽ diễn ra theo chiều từ chẽ ba hướng ra ngoài tạo ra các đoạn ngắn rồi nối lại với nhau. Quá trình sao chép nhiễm sắc thể vòng tròn ở vi khuẩn *E. coli* được mô tả trên hình 3.16 bao gồm hai giai đoạn: khởi phát (initiation) và kéo dài (elongation).

3.1.3.1. Khởi phát



Hình 3.16. Sao chép ADN ở vi khuẩn *E. coli*

Ở vi khuẩn *E. coli*, quá trình sao chép bắt đầu khi protein B đặc hiệu nhận biết điểm khởi phát sao chép (replication origin – viết tắt là ori) và gắn vào trình tự base đặc biệt đó. Tiếp theo enzym gyrase (một loại topoisomerase) cắt ADN làm tháo xoắn ở cả hai phía của protein B. Trong khi hai enzym gyrase chuyển động ngược chiều nhau so với điểm ori thì hai phân tử của enzym helicase (còn gọi là rep) tham gia tách mạch tạo chẽ ba sao chép. Helicase sử dụng năng lượng của ATP làm đứt các hydro giữa hai base bắt cặp với nhau. Các protein liên kết mạch đơn làm căng mạch SSB (single strand binding protein) gắn vào các mạch đơn ADN làm chúng tách nhau thẳng ra và ngăn không cho chúng chập lại ngẫu nhiên hoặc xoắn lại để sao chép được dễ dàng.

3.1.3.2. Kéo dài

ADN-polymerase III là phức hợp gồm nhiều enzym gắn với nhau bắt đầu sao chép một trong hai mạch bằng cách gắn vào mạch khuôn và lắp các nucleotid bổ sung vào vị trí tương ứng. Tính phức hợp của enzym là cần thiết vì ADN-polymerase phải xúc tác nhiều bước phản ứng khác nhau và phải có khả năng sử dụng 4 loại nucleotid như tác nhân phản ứng phụ thuộc vào vị trí được “đọc” trên mạch khuôn. Ít nhất enzym này phải có 4 trung tâm hoạt động rất linh động, mỗi trung tâm ứng với một loại nucleotid (A, T, G, C). Ngoài chức năng polyme hoá theo hướng $5' \rightarrow 3'$, ADN-polymerase III còn có khả năng sửa sai nhờ hoạt tính exonuclease (exonuclease là enzym cắt ADN từ đầu mút một mạch theo chiều $5' \rightarrow 3'$ và ngược lại $3' \rightarrow 5'$).

Khi phức hợp ADN-polymerase đọc theo mạch khuôn và kéo các nucleotid bổ sung vào đúng vị trí nó liền gắn các nucleotid lại làm mạch mới bổ sung kéo dài thêm ra. Trên đường di chuyển để tổng hợp ADN nếu ADN-polymerase III bắt gặp vị trí mà nucleotid mới được lắp vào bị sai, hoạt tính exonuclease $3' \rightarrow 5'$ liền cắt lùi lại loại bỏ nucleotid bị sai, rồi lập tức gắn nucleotid đúng vào tiếp tục sao chép. Các nucleotid trước khi gắn vào đầu $3'OH$ đã được hoạt hoá trở thành nucleosid triphosphat có mang năng lượng. ADN-polymerase có tính đặc hiệu cao, và chỉ thêm nucleotid vào đầu $3'OH$ của mạch đang được tổng hợp.

Mạch khuôn ADN có đầu $3'$ được ADN-polymerase III gắn vào và tổng hợp ngay mạch bổ sung $5' \rightarrow 3'$ hướng vào chẽ ba sao chép. Mạch khuôn này được gọi là mạch khuôn trước, còn mạch mới được tổng hợp gọi là mạch trước (leading strand).

Trong khi đó, ở mạch khuôn sau có đầu $5'$ quá trình tổng hợp phức tạp hơn và được thực hiện từ chẽ ba sao chép hướng ra ngoài duy trì đúng hướng $5' \rightarrow 3'$. Khi mạch kép tách ra, ở gần chẽ ba sao chép enzym primase gắn mồi (primer) ARN chứa khoảng 10 nucleotid có trình tự bổ sung với mạch khuôn vào.

ADN-polymerase III nối nucleotid tiếp theo mỗi ARN theo hướng ngược chiều với chẻ ba sao chép, tổng hợp các đoạn ngắn khoảng 1.000 – 2.000 nucleotid, được gọi là các đoạn Okazaki. ADN-polymerase tiếp tục kéo dài đoạn Okazaki đến khi gặp đoạn mỗi ARN phía trước thì dừng lại, rồi lùi ra sau tiếp tục tổng hợp từ ARN mỗi mới được gắn vào gần chẻ ba sao chép. Tiếp theo, ADN-polymerase I nhờ hoạt tính exonuclease 5' → 3' cắt bỏ mỗi ARN, gắn các nucleotid của ADN vào chỗ trống thực hiện polyme hoá hướng 5' → 3'. Đoạn ADN ngắn 10 nucleotid này còn hở hai đầu được nối liền chỗ hở nhờ enzym ADN ligase. Mạch được tổng hợp từ ngã ba sao chép hướng ra ngoài được tổng hợp chậm hơn nên gọi là mạch sau (lagging strand). Quá trình sao chép ADN ở *E. coli* diễn ra rất nhanh, có thể đạt đến hơn 50.000 nucleotid/phút.

3.2. Các nhân tố tham gia sao chép ADN

Các nghiên cứu đến nay đã xác định thêm chi tiết về các protein và các gen tương ứng tham gia vào sao chép ADN (bảng 3.2).

Bảng 3.2. Các protein và các gen tương ứng tham gia vào sao chép ADN

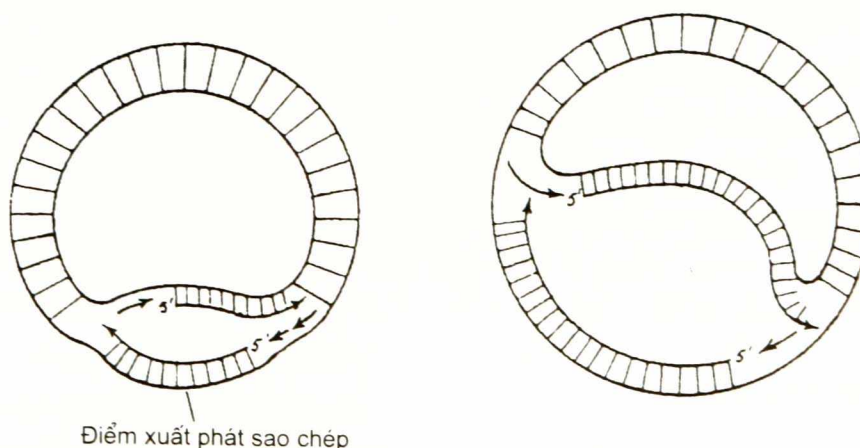
Protein	M (kDa)	Gen	Chức năng	Số bản sao/tế bào
Rep	65	Rep	Tách mạch	50
Helicase III	75		Tách mạch	
SSB protein	74	Ssb	Ổn định mạch đơn	300
Protein i	66	dnaT		50
Protein n	28		Tham gia vào cấu trúc của prisma	80
Protein n'	76			70
Protein n"	17			–
Protein dna B	29	dnaB		100
Protein dna C	300	dnaC		20
Primase	60	dnaG	Tổng hợp mỗi (primer) ARN	50
ADN-polymerase III	760		Kéo dài mạch ADN đang tổng hợp và kiểm soát sự chính xác	20
Tiểu đơn vị	140	polC		
Tiểu đơn vị	37	dnaN		

Protein	M (kDa)	Gen	Chức năng	Số bản sao/tế bào
Tiểu đơn vị	52	dnaZ		
Tiểu đơn vị	32	dnaX		
Tiểu đơn vị	25	dnaQ		
Tiểu đơn vị	10			
Tiểu đơn vị	83			
ADN-polymerase I	102	polA	Cắt môi tổng hợp ADN ngắn ở kẽ hở	300
Ligase	75	lig	Hàn kín mạch	
ADN topoisomerase I			Cắt hở một mạch	
ADN topoisomerase II			Cắt hở hai mạch	

3.3. Sao chép nhiễm sắc thể ở Prokaryota

Để theo dõi sao chép ADN, dẫn chất đồng vị phóng xạ thymidin được sử dụng. Quá trình sao chép được khởi phát từ **điểm ori** (origine) gọi là **điểm khởi phát** và tiến triển ra cả hai phía (hình 3.17). Khi ADN vòng đang sao chép quan sát thấy dạng ADN hình “con mắt” (eye replication). Chẽ ba sao chép lan dần, cuối cùng tạo ra hai phân tử ADN lai: một mạch có mang chất đánh dấu phóng xạ T-H³ (thymidin H³). Có trường hợp sao chép chỉ xảy ra về một phía.

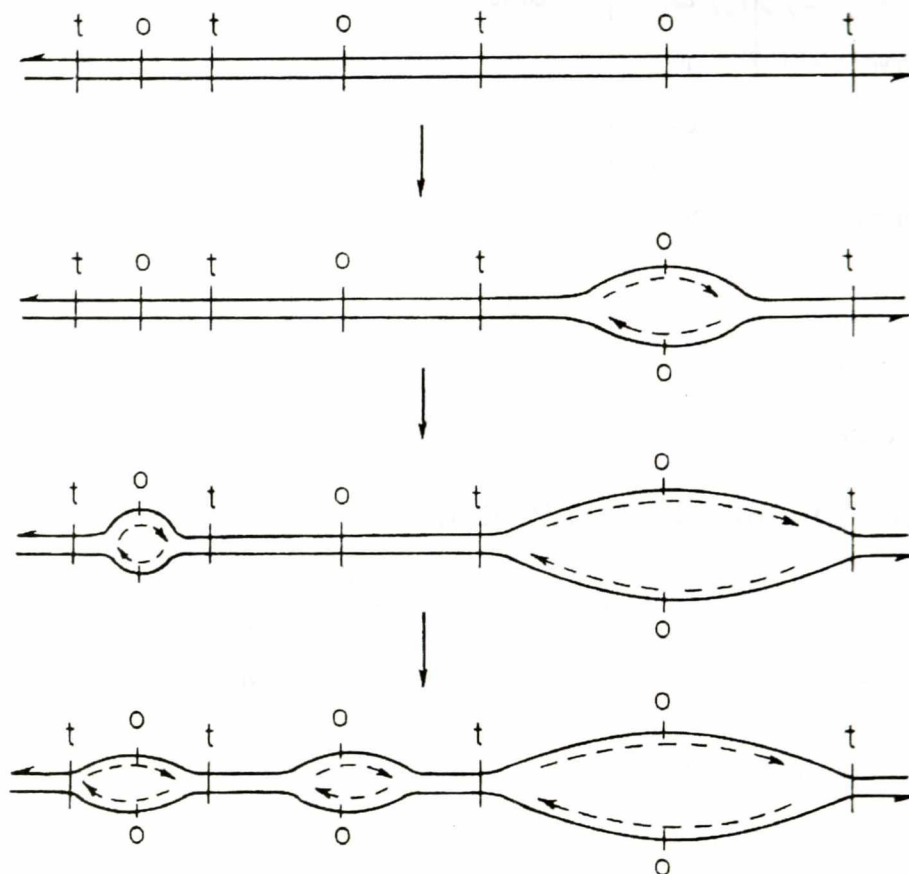
Vì khuẩn *E. coli* chỉ có một điểm xuất phát sao chép ori nên cả ADN thành một đơn vị sao chép thống nhất được gọi là replicon. Như vậy, replicon có nghĩa là đơn vị sao chép. Genom của các tế bào tiền nhân thường chỉ có một replicon.



Hình 3.17. Sao chép replicon ở tế bào vi khuẩn

3.4. Sao chép nhiễm sắc thể ở Eukaryota

Tế bào nhân thực có số lượng ADN lớn hơn nhiều so với tế bào tiền nhân, tạo nên nhiều nhiễm sắc thể, mà mỗi nhiễm sắc thể bao gồm sợi ADN thẳng có kết hợp với protein. Do đó, sao chép ADN của tế bào nhân thực phức tạp hơn.



Hình 3.18. Sao chép nhiều replicon

Điểm khác căn bản trong sao chép ADN tế bào nhân thực và tế bào tiền nhân là ADN của tế bào nhân thực có **nhiều replicon**. Ví dụ, tế bào nấm men bánh mì *Saccharomyces cerevisiae* có tới 500 replicon, tức là có **500 điểm ori** khởi phát sao chép. Quá trình sao chép cũng bắt đầu từ ori rồi lan về hai phía như trình bày trong hình 3.17. Tế bào có cơ chế kiểm soát nghiêm ngặt quá trình sao chép, điểm ori nào đã sao chép qua một lần thì sẽ không sao chép lại trước khi toàn bộ ADN được sao chép hoàn toàn (hình 3.18). Sau khi sao chép xong, tế bào có cơ chế phân chia đều ADN vào các tế bào con.

3.5. Sửa chữa sao chép

Sự sao chép chính xác ADN có ý nghĩa sống còn đối với hoạt động bình thường của tế bào. Nhiễm sắc thể là nơi lưu giữ các thông tin cần thiết cho việc xây dựng

và điều khiển toàn bộ hoạt động của tế bào. Vì thông tin cho sự lắp ráp chính xác hàng ngàn protein khác nhau, có chiều dài hàng trăm hoặc hàng ngàn base, sự sai lệch một vài base trong số đó có thể dễ xảy ra và có thể sẽ dẫn đến những hậu quả nghiêm trọng. Bản thân ADN dài, mỏng manh, trong quá trình sống thường xuyên chịu tác động của các nhân tố bên trong và bên ngoài tế bào cho thấy chỉ riêng cơ chế sao chép chính xác chưa đủ mà cần thiết phải ổn định cấu trúc ADN qua nhiều thế hệ tế bào.

3.5.1. Sửa sai trong sao chép

Sử dụng các nucleotid và ADN-polymerase để tổng hợp ADN *in vitro* sai sót được phát hiện là 1.10^{-5} , tức là trong số 100.000 nucleotid có một nucleotid bị sai. Tuy nhiên, mức sai sót này cho thấy sao chép ADN *in vitro* có độ chính xác cao, nhưng nếu đem so sánh với sao chép ADN trong các sinh vật thì mức sai sót này vẫn còn quá lớn. Ví dụ, *E. coli* có 3.10^6 cặp base, vậy mỗi lần sao chép có 30 sai sót, có thể dẫn đến nhiều đột biến, nhưng trong thực tế không có nhiều đột biến đến như vậy qua mỗi lần sao chép.

Ở người, ADN của một tế bào có 3.10^9 cặp base. Với sai sót 1.10^{-5} sẽ có 30.000 sai sót trong một lần sao chép. So với thực tế, mức sai sót như vậy là quá lớn. Động vật có vú xuất hiện cách đây 300 triệu năm (3.10^8 năm), nếu sai sót khi sao chép ADN lớn đến như vậy thì khó mà có sự giống nhau giữa protein người và các protein cá voi. Nhưng thực tế cho thấy có những protein giống nhau giữa người và cá voi.

Bằng cách đánh giá tần số các đột biến mới xuất hiện trong quần thể lớn và theo dõi biến đổi enzym trong nuôi cấy mô tế bào có thể tính được rằng trong cơ thể sinh vật sai sót khi sao chép ADN (*in vivo*) là 1.10^{-9} , tức 1 sai sót trên 1 tỷ base. Như vậy, tế bào người có 3.10^9 cặp nucleotid mỗi lần sao chép có thể có 3 sai sót.

Đánh giá mức độ biến đổi trong tiến hoá cũng khẳng định mức độ chính xác rất cao trong sao chép *in vivo* ADN. Mức độ chính xác cao trong sao chép ADN của cơ thể sinh vật có được nhờ các cơ chế sửa sai sau:

- Hướng sao chép bao giờ cũng từ đầu $5' \rightarrow 3'$ để việc sửa sai được chính xác.
- Các ADN-polymerase I và III vừa polyme hoá, vừa có hoạt tính exonuclease $5' \rightarrow 3'$ và $3' \rightarrow 5'$, nếu trên đường di chuyển polyme hoá bắt gặp nucleotid bị lắp sai, ADN-polymerase sẽ lùi lại cắt bỏ theo hướng $3' \rightarrow 5'$ (hoạt tính exonuclease $3' \rightarrow 5'$).

3.5.2. Sửa sai khi không sao chép

Phân tử ADN có thể bị biến đổi ngay cả khi không sao chép. Các biến đổi đột biến này xảy ra với xác suất khá cao. Nhờ cơ chế sửa sai nên tần số đột biến được duy trì ở mức thấp.

Chiến lược sửa sai trên nhiễm sắc thể về cơ bản giống nhau khi sửa sai trong sao chép và khi bị đột biến: các enzym nhận biết gắn vào các trình tự sai và cắt rời các đoạn sai, rồi sử dụng mạch đơn đúng làm khuôn để tổng hợp lại đoạn bị cắt cho đúng. Hàng loạt enzym đặc hiệu làm nhiệm vụ dò tìm và sửa sai. Có khoảng 20 enzym rà soát dọc nhiễm sắc thể dò tìm các base có biến đổi hoá học, mỗi enzym có chức năng chuyên biệt cho một loại sai lệch. Khoảng 5 enzym khác đặc hiệu cho các liên kết cộng trị sai giữa base với các hợp chất khác hoặc giữa các base kề nhau trên một mạch. Một số enzym khác phát hiện sự bất cặp sai, như trường hợp mất purin. Tổng cộng có khoảng 50 enzym chuyên phát hiện và sửa chữa các sai lệch trên phân tử ADN.

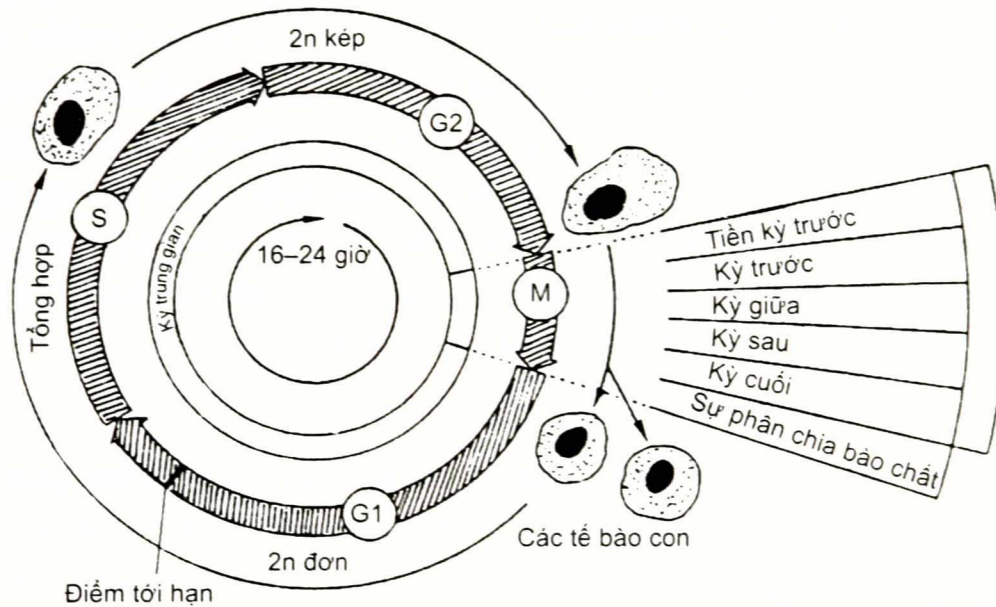
4. CHU TRÌNH TẾ BÀO

Phân chia tế bào là đặc tính cơ bản của tất cả các sinh vật. Ở các tế bào nhân nguyên thủy, quá trình sao chép ADN được biết khá tường tận. Ví dụ, khi nuôi cấy trong môi trường dinh dưỡng, các vi khuẩn tổng hợp ADN trong một chu trình tế bào và sau đó hai tế bào con được sinh ra nhờ thành tế bào mới hình thành và cắt ngang tế bào. Ngược lại, chu trình tế bào của các sinh vật nhân thật phức tạp hơn rất nhiều. Sự sinh sản vô tính và tăng trưởng của các mô cơ thể nhờ nguyên phân (mitosis) là kiểu phân bào tạo ra các tế bào con có kiểu gen giống y như tế bào mẹ. Sinh sản hữu tính nhờ giảm phân là kiểu phân bào tạo các tế bào sinh dục hay giao tử có số nhiễm sắc thể giảm một nửa với kiểu gen đa dạng.

4.1. Chu trình tế bào nhân thật

Ở các sinh vật nhân thật đơn bào cũng như đa bào, sự sinh sản của tế bào là một quá trình sinh trưởng, phân nhân và phân bào mang tính chu kỳ. Quá trình đó gọi là **chu trình tế bào** (cell cycle). Ở phần lớn các tế bào soma của thực vật bậc cao và động vật, chu trình tế bào gồm 4 pha (hình 3.19) bao gồm: G1 (gap 1), S (synthesis), G2 (gap 2) và M (mitosis). Ba pha đầu gộp lại gọi là giai đoạn nghỉ hay kỳ trung gian (interphase). Tiếp sau G2, tế bào phân chia nguyên phân cho hai tế bào con. Sau đó, mỗi tế bào con lại bắt đầu một chu trình tế bào mới. Ở các tế bào

động vật khi nuôi cấy, một chu trình tế bào kéo dài khoảng 24 giờ. Đối với các tế bào nhân thật, thời gian của mỗi pha cũng như của chu trình tế bào ở những sinh vật khác nhau có khác nhau (bảng 3.3).



Hình 3.19. Sơ đồ chu trình tế bào

Bảng 3.3. Thời gian chu trình tế bào và tỷ lệ các pha

Sinh vật	Tế bào	Thời gian chu trình (giờ)	G1 (%)	S (%)	G2 (%)	M (%)
Đậu Vicia faba	Rễ	19,3	25,4	38,8	25,4	10,4
Chuột	Nguyên bào sợi	20,0	41,4	44,9	10,5	3,2
Chuột túi	Nguyên bào sợi	11,0	24,5	52,8	19,1	3,6

4.2. Pha G1

Pha G1 diễn ra tiếp sau nguyên phân, nhiễm sắc thể biến đổi từ trạng thái kết đặc trong nguyên phân sang trạng thái kéo dài của pha nghỉ, đồng thời diễn ra hàng loạt những biến đổi dẫn đến sự khởi đầu sao chép ADN. Độ dài của G1 thay đổi phụ thuộc vào hàm lượng protein trong tế bào, và có sự khác biệt giữa các tế bào cùng thể hệ, cũng như có ảnh hưởng lớn đến thời gian chu trình chung. Nhiễm sắc thể trong G1 ít xoắn vặn và hoạt tính phiên mã tăng lên. Một phần hoạt động phiên mã này dẫn đến việc sinh tổng hợp hàng loạt phân tử cần thiết để khởi đầu tổng hợp ADN. Tuy nhiên, vẫn có một số sinh vật không có G1 rõ rệt, ví dụ, mốc nhày *Physarum polycephalum*, nấm men *Schizosaccharomyces pombe*, phôi của

Xenopus và phôi chuột. Sự tích lũy vật chất nội bào đạt đến điểm tới hạn (restriction site) thì tế bào bắt đầu tổng hợp ADN.

4.3. Pha S

4.3.1. Tổng hợp ADN không liên tục

Trong pha S, vật chất di truyền của nhiễm sắc thể được nhân đôi. Trong khi mô nuôi cấy của các tế bào động vật, pha S kéo dài từ 6 đến 10 giờ thì ở tế bào nấm men *in vivo* *Schizosaccharomyces pombe* là 10 phút, hoặc có thể kéo dài tới 35 giờ ở tế bào da tai chuột. Sự sao chép ADN diễn ra theo kiểu nửa gián đoạn: các nucleotid gắn với nhau tạo thành các đoạn ngắn (khoảng 100 nucleotid) rồi các đoạn đó gắn lại với nhau tạo thành những sợi dài hơn.

4.3.2. Các ADN polymerase

Ở các sinh vật nhân thật, quá trình tổng hợp ADN được khởi phát bởi các đoạn mồi ARN dài 9–10 nucleotid, sau đó các đoạn mồi bị cắt bỏ. Ở các sinh vật nhân chuẩn bậc cao có 3 ADN polymerase: ADN polymerase alpha (α), beta (β) và gamma (γ), chúng khác nhau về khối lượng phân tử, tính miễn cảm với chất ức chế N-ethylmaleimid, tính miễn cảm với muối và khả năng sao chép những khuôn khác nhau (bảng 3.4). Cả polymerase α và β đều ở trong nhân, trong khi enzym polymerase γ lại ở trong ty thể. Các enzym polymerase α và polymerase β thường dính với các protein khác trong phức hợp sao chép. Nói chung là chúng rất khác nhau trong các sinh vật nhân thật. Một số sinh vật có nhiều dạng enzym khác nhau trong khi một số lại thiếu. Thực vật, protozoa, nấm thiếu ADN polymerase β , còn các vi sinh vật nhân thật nói chung lại có polymerase α , mặc dù ADN polymerase α này rất khác ADN polymerase α của các động vật có vú.

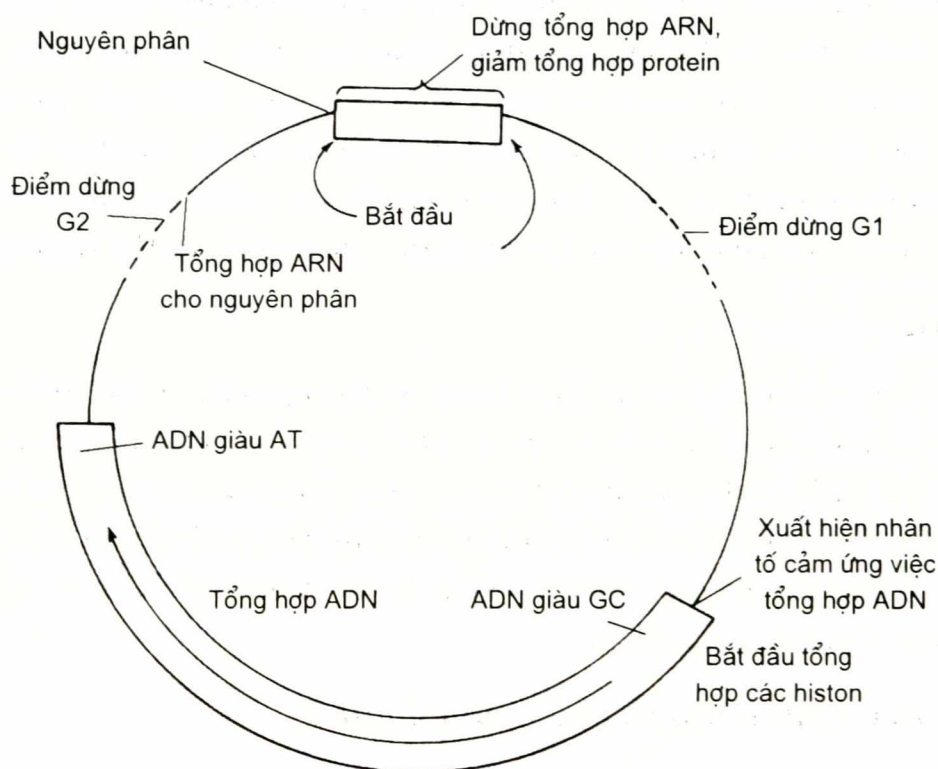
Bảng 3.4. Tính chất của các ADN polymerase của động vật có vú

Loại enzym	Phân tử lượng	Bị ức chế bởi N-ethylmaleimid	Tác dụng với muối
α	120.000 – 300.000	Có	Bị ức chế bởi NaCl 25mM
β	30.000 – 50.000	Không	Được kích thích bởi NaCl 100 – 200 mM. Bị ức chế bởi phosphat 50mM
γ	150.000 – 300.000	Có	Được kích thích bởi KCl 100 – 250mM và phosphat 50mM

Ở các sinh vật nhân thật bậc cao nói chung ADN polymerase α được sử dụng để sao chép ADN của nhân, ADN polymerase β có thể hoạt động như enzyme sửa chữa, còn ADN polymerase γ thì chuyên trách việc sao chép hệ gen ty thể. Không có enzyme nào trong số này có hoạt tính độc sửa. Ngược lại, các sinh vật nhân thật bậc thấp, chẳng hạn như nấm men có các ADN polymerase trong nhân rất giống với các enzyme của các sinh vật nhân nguyên thủy và có hoạt tính độc sửa.

4.3.3. Các đơn vị sao chép

Các nhiễm sắc thể nhân thật có nhiều đơn vị sao chép (replication unit, RU), cũng được gọi là các replicon, mỗi replicon có một điểm khởi đầu và 2 điểm kết thúc sao chép, đây là cấu tạo cần thiết để sinh vật nhân thật có thể sao chép số lượng ADN khổng lồ trong thời gian vừa phải.



Hình 3.20. Khởi đầu và kết thúc sao chép ADN trong các Eukaryota

Quá trình sao chép ADN xuất hiện bằng việc xuất hiện “chiếc vòng” trên ADN gồm hai chạc sao chép. Các chạc này chuyển động ngược chiều nhau trong quá trình tổng hợp ADN cho đến khi chúng đạt đến các điểm kết thúc đặc thù. Các tín hiệu xuất phát và kết thúc tổng hợp ADN là những đoạn ADN đặc hiệu: protein khởi phát đặc hiệu bám vào đoạn ADN khởi phát và nhờ đó hỗ trợ phức hợp sao chép ADN bám vào điểm khởi phát của quá trình sao chép. Khoảng cách

giữa hai điểm khởi phát sao chép thay đổi từ 30.000 – 300.000 cặp base nitơ tùy thuộc vào sinh vật được nghiên cứu. Trên nhiễm sắc thể của tế bào Hela (tế bào ung thư ở người) có 100 đơn vị sao chép. Tốc độ chuyển động của phức hệ sao chép khoảng 1.000 đến 15.000 nucleotid trong một phút ở 37°C. Nhưng tốc độ chuyển động của từng chạc sao chép rất khác nhau ngay trong cùng một hệ thống vì chịu sự kiểm soát di truyền và phụ thuộc vào biến đổi môi trường (hình 3.18). Quá trình bắt đầu từ O chuyển động ngược chiều tạo thành các vòng mở. Quá trình kết thúc khi hai chạc sao chép kề cận hoà nhập vào nhau (đến điểm kết thúc t). ADN giàu GC được sao chép trước, còn đoạn ADN giàu AT được sao chép sau (hình 3.20 trên).

4.3.4. Lắp ghép ADN vào các thể nhân

Khi ADN sao chép thì các thể nhân (nucleosom–bao gồm histon và ADN) cũng phải được nhân đôi, các histon phải được tổng hợp mới. Các gen tổng hợp histon hoạt động trong G1 và S tạo ra số lượng lớn các histon. ADN mới sao chép nhanh chóng kết hợp với các histon mới cần thiết để hình thành các nucleosom. Các histon mới được sử dụng ngay tại các chạc sao chép để tạo thành các nucleosom mới, và 2–15 phút sau chúng được sắp xếp lại tạo thành các nhiễm sắc thể trưởng thành.

4.4. Pha G2

Các nhiễm sắc thể kết chặt lại chuẩn bị cho nguyên phân. Kết chặt là quá trình cuộn xoắn ở mức độ cao hơn của các nhiễm sắc thể. Việc tổng hợp cả ARN và protein là cần thiết để hoàn thành G2. Kết thúc của G2 báo hiệu sự bắt đầu của nguyên phân. Trong G2, protein tubulin được tổng hợp. Tubulin được trùng hợp để tạo ra các vi ống của bộ máy thoi để phân ly các nhiễm sắc thể và các nhân con trong nguyên phân và giảm phân.

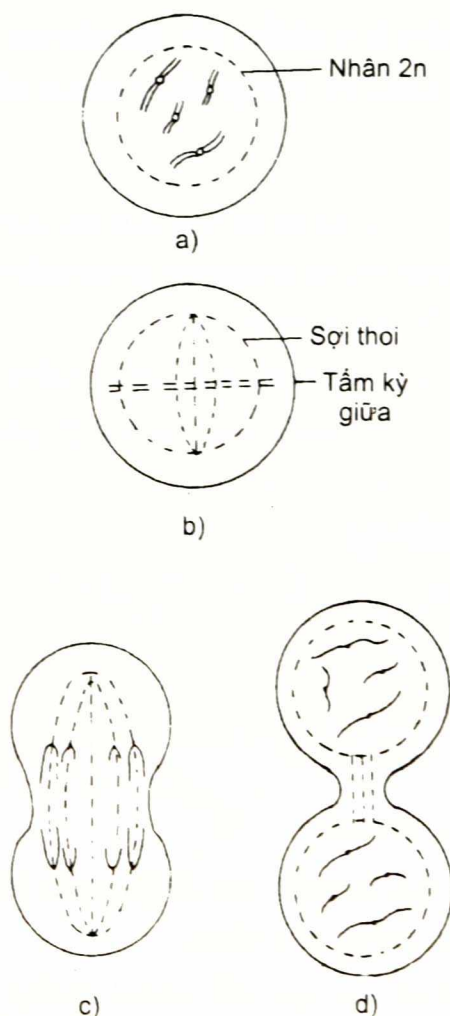
4.5. Các khía cạnh phân tử của nguyên phân

Nguyên phân là sự phân chia một tế bào thành hai tế bào con giống hệt nhau về mặt di truyền. Trước khi nguyên phân, các nhiễm sắc thể được nhân đôi. Đặc điểm của nguyên phân là có những biến đổi lớn về cấu trúc và chức năng của tế bào. Khi bắt đầu nguyên phân, quá trình tổng hợp các chất trong tế bào giảm xuống, rồi dừng lại ở kỳ giữa và lại tiếp tục ở kỳ cuối. Tốc độ tổng hợp protein bị giảm đột ngột khi bắt đầu nguyên phân, sau đó lại tăng lên ở cuối kỳ như tổng hợp ARN. Cùng với việc ức chế các quá trình tổng hợp ARN và protein thì màng nhân và hạch nhân bị vỡ, các cấu trúc này lại hình thành trở lại trong các nhân con cuối kỳ.

5. CÁC KIỂU PHÂN BÀO

Đối với vi khuẩn, quá trình tổng hợp ADN xảy ra liên tục trong suốt chu trình của tế bào. Khi hàm lượng ADN được nhân đôi thì tế bào to lên và bắt đầu tổng hợp thành tế bào ở vùng giữa tế bào. Sự kiện này làm tách hai tế bào con về hai phía của tế bào và khi thành tế bào mới hoàn thiện, vi khuẩn tách thành hai tế bào con riêng biệt. Quá trình lặp lại liên tục khi sinh vật còn trong chu kỳ sinh trưởng. Chu trình tế bào ở sinh vật nhân thật diễn ra với những khác biệt đáng kể. Sự phân chia các tế bào soma (không tạo thành giao tử) trải qua 4 giai đoạn: Pha G1, pha S, pha G2 và pha M (như đã trình bày ở trên). Các nhiễm sắc thể được sao chép trong pha S (đơn bội hoặc lưỡng bội) và trong quá trình nguyên phân (pha M) phân ly về hai tế bào con.

5.1. Nguyên phân



Hình 3.21. Sơ đồ nguyên phân ở tế bào động vật

a) Kỳ đầu; b) Kỳ giữa; c) Kỳ sau; d) Kỳ cuối.

Nguyên phân là cơ chế duy trì số lượng các nhiễm sắc thể trong các tế bào soma (đơn bội hoặc lưỡng bội) trong quá trình phân bào bình thường. Khi tế bào pha nghỉ được nhuộm nhân tế bào có thể quan sát được dưới kính hiển vi, được bao bọc bởi màng nhân. Trong nhân có một hoặc hai vùng chứa nhiều ARN gọi là hạch nhân. Trong pha S, mỗi nhiễm sắc thể được sao chép nhưng tâm động không phân chia. Thực ra ADN của tâm động đã được nhân đôi, nhưng chỉ một cấu trúc nhìn thấy được. Sản phẩm sao chép của hai nhiễm sắc thể là hai bản sao chính xác gọi là các *nhiễm sắc tử chị em* (sister chromatids), vẫn dính với nhau bởi tâm động chưa phân chia. Nguyên phân được chia thành 4 giai đoạn gọi là kỳ đầu, kỳ giữa, kỳ sau và kỳ cuối (hình 3.21). Tế bào trong hình 3.21 là tế bào lưỡng bội, đối với tế bào đơn bội nguyên phân cũng diễn ra tương tự.

5.1.1. Kỳ đầu

- Các nhiễm sắc thể hiện rõ dần lên do bị xoắn lại.
- Mỗi nhiễm sắc thể gồm hai nhiễm sắc thể chị em.
- Cuối pha đầu, hạch nhân và màng nhân bị tan vỡ.

5.1.2. Kỳ giữa

- Các sợi thoi xuất hiện và toả ra từ hai cực đối diện của tế bào. Ở động vật các sợi thoi dính với các cấu trúc gọi là trung tử (centriole) nằm ở hai cực; các cấu trúc như thế không thấy có ở các tế bào thực vật.
- Các sợi thoi lần lượt gắn với tâm động của nhiễm sắc thể.
- Các nhiễm sắc tử chị em tập trung trên mặt phẳng cắt ngang tế bào ở một vùng gọi là tấm kỳ giữa (metaphase plate).

5.1.3. Kỳ sau

Giai đoạn này bắt đầu khi tâm động được phân đôi, các nhiễm sắc tử chị em tách rời nhau ra thành các nhiễm sắc tử con và tiến về hai cực đối diện của tế bào. Như vậy, hai bản sao giống hệt nhau của nhiễm sắc thể được tách về hai cực khác nhau.

5.1.4. Kỳ cuối

- Kết thúc quá trình vận chuyển các nhiễm sắc thể con về hai cực của tế bào, với số lượng và thành phần giống hệt nhau.
- Màng nhân hình thành bao bọc mỗi nhóm nhiễm sắc thể.
- Tái tạo lại các hạch nhân.
- Các sợi thoi biến mất.

– Các nhiễm sắc thể dẫn xoắn và trở nên không quan sát được dưới kính hiển vi được nữa. Lúc này thấy rõ hai nhân ở pha nghỉ điển hình.

– Trong phần lớn trường hợp, tiếp theo kỳ cuối là quá trình phân chia tế bào chất (cytokinesis), tách hai nhân mới về hai tế bào con riêng biệt. Ở các tế bào động vật, quá trình phân chia tế bào chất diễn ra với việc tạo thành một eo ở giữa tế bào, eo thắt dần lại cho đến khi hai tế bào con được hình thành. Ngược lại, các tế bào thực vật phân chia bằng cách tạo ra màng và thành tế bào mới giữa hai nhân mới mà sinh ra hai tế bào mới.

Như vậy, từ quan điểm di truyền học những điểm mấu chốt của nguyên phân là:

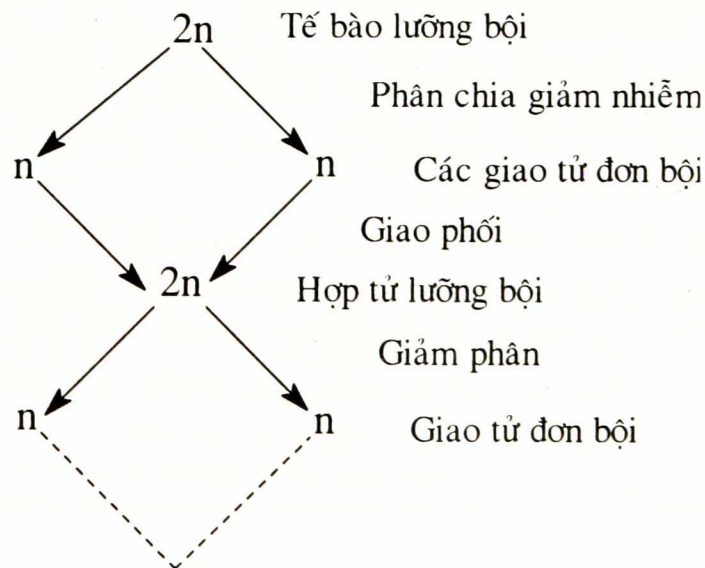
– Mỗi nhiễm sắc thể phân chia để cho hai nhiễm sắc tử giống hệt nhau trong pha S của chu trình tế bào.

– Các nhiễm sắc thể gồm hai nhiễm sắc tử sắp xếp một cách ngẫu nhiên trên tấm kỳ giữa.

– Nguyên phân duy trì thông tin di truyền của tế bào từ thế hệ này sang thế hệ sau.

5.2. Giảm phân

Chu trình hữu tính của một sinh vật lưỡng bội bao gồm sự luân phiên của các trạng thái đơn bội và lưỡng bội:



Giảm phân là quá trình sinh ra các giao tử hoặc bào tử đơn bội từ tế bào lưỡng bội sau hai lần phân chia. Trong quá trình giảm phân, các cặp nhiễm sắc thể tương đồng sau sao chép tham gia vào quá trình sắp xếp lại sao cho mỗi sản phẩm

trong số 4 sản phẩm của giảm phân nhận được một đại diện của mỗi nhiễm sắc thể. Hai lần phân chia nhân gọi là giảm phân I và giảm phân II.

5.2.1. Giảm phân I

Trong giảm phân I lượng nhiễm sắc thể giảm đi một nửa, từ lưỡng bội xuống đơn bội.

5.2.1.1. Kỳ đầu I

- Số lượng nhiễm sắc thể lưỡng bội hiện rõ dần theo quá trình cuộn xoắn. Khác với pha đầu của nguyên phân, mỗi nhiễm sắc thể ở đây xuất hiện đơn lẻ.
- Các nhiễm sắc thể tương đồng kết hợp với nhau thành từng cặp.
- Mỗi nhiễm sắc thể phân đôi thành hai nhiễm sắc thể chị em.
- Hình thành các thể lưỡng trị và diễn ra trao đổi chéo giữa các nhiễm sắc thể bắt nguồn từ cha và mẹ. Ở cuối kỳ đầu I, do trao đổi chéo đã xuất hiện các cấu trúc hình dấu nhân gọi là *thể vắt chéo* (chiasma).

5.2.1.2. Kỳ giữa I

Vào thời điểm bắt đầu pha giữa I, hạch nhân và màng nhân biến mất. Các tâm động không phân chia dính với các sợi thoi và các nhiễm sắc tử còn gắn kết với nhau nằm trong vùng của tấm pha giữa.

5.2.1.3. Kỳ sau I

Các nhiễm sắc thể của mỗi thể lưỡng trị, tức là các cặp nhiễm sắc thể tương đồng, tách nhau ra và tiến về hai cực đối diện, hình thành các tổ hợp mới của nhiễm sắc thể có nguồn gốc từ cha và mẹ.

5.2.1.4. Kỳ cuối I và pha nghỉ

Sự phân chia tế bào chất diễn ra để tạo thành hai tế bào con, mỗi tế bào chỉ có một bộ nhiễm sắc thể đơn bội hoàn chỉnh (mỗi nhiễm sắc thể có hai nhiễm sắc tử dính với nhau qua tâm động) và mỗi nhiễm sắc thể có thể xuất xứ từ cha hoặc mẹ với xác suất bằng nhau. Trong kỳ nghỉ, các nhiễm sắc thể kéo dài ra và màng nhân hình thành trở lại.

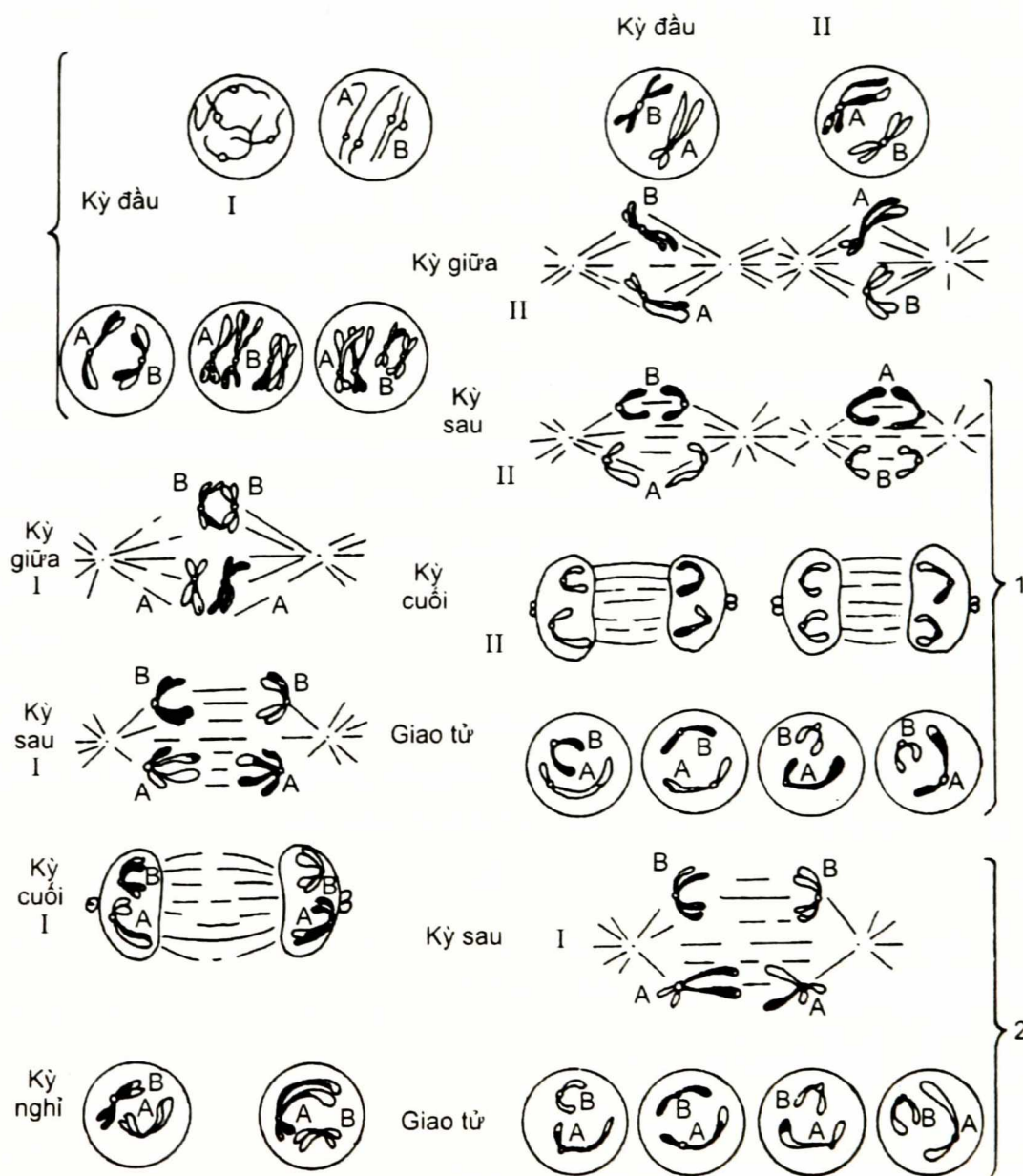
5.2.2. Giảm phân II

5.2.2.1. Kỳ đầu II và kỳ giữa II (hình 3.22)

Các nhiễm sắc thể đậm dần lên và các tâm động bắt đầu phân chia trong kỳ giữa II. Bộ máy hình thoi hình thành, các sợi thoi dính vào tâm động, các nhiễm sắc thể nằm trên mặt phẳng phân chia.

5.2.2.2. Kỳ sau II

Các tâm động chuyển dịch về hai cực đối diện của thoi, kéo theo các nhiễm sắc tử mà lúc này đã trở thành các nhiễm sắc thể con.



Hình 3.22. Sơ đồ giảm phân

A và B là hai cặp nhiễm sắc thể tương đồng khác nhau;
1 và 2 là hai kiểu tổ hợp của các nhiễm sắc thể không tương đồng khi tạo thành giao tử.

5.2.2.3. Kỳ cuối II

- Mỗi tế bào sinh ra sau giảm phân I bây giờ phân chia. Do vậy sinh ra 4 tế bào đơn bội bắt đầu từ một tế bào lưỡng bội ban đầu trước giảm phân.
- Các nhiễm sắc thể nhật dần và màng nhân hình thành.

Như vậy, mỗi tế bào trong số 4 tế bào đơn bội mới được sinh ra mang một nửa số nhiễm sắc thể của tế bào lưỡng bội bình thường, tức là mang một nhiễm sắc thể của mỗi cặp tương đồng. Và mỗi tế bào đơn bội như thế có chứa rất ngẫu nhiên các nhiễm sắc thể có nguồn gốc khác nhau (từ cha hoặc mẹ).

Hoạt động của nhiễm sắc thể trong giảm phân liên quan trực tiếp đến phân ly của các gen. Có hai chi tiết cần chú ý liên quan đến việc hình thành các tổ hợp nhiễm sắc thể mới trong giảm phân I. Đó là hai nhiễm sắc thể tương đồng (cùng cặp nhưng khác nguồn gốc) phải tách nhau để đi về hai cực. Trong khi hai nhiễm sắc thể không tương đồng (khác cặp) thì lại có thể cùng đi về một cực, hoặc đi về hai cực khác nhau; xác suất diễn ra hai sự kiện nói trên là bằng nhau.

5.3. Cấu trúc phân tử của tâm động và điểm nút

Tâm động đóng vai trò rất quan trọng trong nguyên phân và giảm phân, do đó chúng ta quan tâm đến cấu trúc phân tử của tâm động, điểm đính của các nhiễm sắc thể với các sợi thoi, và của điểm nút (telomere) tức là đầu mút của nhiễm sắc thể.

5.3.1. Tâm động

Trình tự của một số tâm động được tách ra từ một số sinh vật nhân thật bậc thấp đã được xác định. Trình tự của các vùng lõi (core region) I, II và III của ba tâm động của nấm men CEN3, CEN4 và CEN11 như sau:

	I	II	III
CEN3	ATAAGTCACATGAT...88 cặp base, 93%AT,...TGATTTCCGAA		
CEN4	AAAGGTCACATGAT...82 cặp base, 93%AT,...TGATTACCGAA		
CEN11	ATAAGTCACATGAT...89 cặp base, 94%AT,...TGATTTCCGAA		

Như vậy, mặc dù các tâm động khác nhau nhưng có chung một chức năng trong tế bào, các trình tự của chúng tương tự nhau nhưng không giống nhau hoàn toàn: vùng I có trình tự tương đối giống nhau ở những tâm động nấm men đã nghiên cứu, vùng II là vùng rất nhiều AT nhưng không có trình tự giống nhau, còn vùng III tuy ngắn nhưng có độ giống nhau rất cao. Vùng I ít quan trọng hơn đối với chức năng của tâm động so với vùng II và III.

Khi xử lý thể nhân (nucleosom) của tâm động với nuclease cho thấy, vùng lõi I, II và III của tâm động không chịu tác dụng của ADNase I và nuclease của cầu

khuẩn. ADN bao quanh tâm động được bọc gói thành các thể nhân theo một kiểu nhất quán hơn so với cách gói của phần ADN còn lại của hệ gen.

5.3.2. Điểm nút

Điểm nút là vùng ADN ở đầu mút của phân tử trong ADN mạch thẳng, cần thiết cho sao chép và ổn định của nhiễm sắc thể. Phần lớn điểm nút nằm ngay dưới màng nhân và chúng thường kết với nhau cũng như dính với màng nhân. Các số liệu cho thấy tất cả các điểm nút có chung một trình tự nucleotid. Các trình tự đó có thể chia làm hai loại:

(1) Những vùng gần với đầu mút của nhiễm sắc thể thường chứa những đoạn trình tự lặp lại của ADN, nhưng những vùng này rất phức tạp, bao gồm hàng nghìn cặp base tính từ đầu ADN. Các đoạn này là các đoạn liên kết điểm nút (telomere associated), có thể đóng vai trò trung gian trong nhiều mối quan hệ đặc hiệu của các điểm nút, như quan hệ giữa các điểm nút với nhau và giữa các điểm nút với màng nhân.

(2) Những đoạn trình tự ở ngay sát đầu của phân tử ADN nhiễm sắc thể gồm những đoạn trình tự đơn giản, lặp lại hai nucleotid một, gọi là các đoạn đầu mút đơn giản, thực hiện những chức năng quan trọng của đầu mút, cụ thể là tạo cho đầu nhiễm sắc thể tính ổn định. Ví dụ, ở *Tetrahymena* đoạn lặp lại gồm 5'-CCCCAA-3' và ở *Trypanosoma* đoạn lặp lại là CCTAA.

6. DI TRUYỀN NHIỄM SẮC THỂ VÀ DI TRUYỀN NGOÀI NHÂN

6.1. Các định luật Mendel

Đặc điểm vận động của nhiễm sắc thể trong nguyên phân và đặc biệt là giảm phân đã được trình bày trong các phần trước. Giờ đây chúng ta cần xem xét mối quan hệ giữa quy luật phân ly của các gen và quy luật vận động của nhiễm sắc thể trong giảm phân mà lần đầu tiên đã được Gregor Mendel nghiên cứu và công bố từ thế kỷ XIX, đặt nền móng cho di truyền học nhiễm sắc thể.

6.1.1. Hiện tượng trội – lặn trong sinh giới

Đối tượng nghiên cứu là đậu Hà Lan *Pisum sativum*. Loại đậu này tự thụ phấn, nhưng cũng có thể buộc chúng thụ phấn chéo. Mendel đã nghiên cứu các nòi thuần (đồng hợp tử), quan sát từng tính trạng riêng biệt trong mỗi thí nghiệm và

nhận thấy ở đậu Hà Lan có những kiểu hình tương phản rõ rệt, như hạt trơn và hạt nhăn, hạt vàng và hạt xanh, thân dài và thân ngắn, v.v... Mendel đã thực hiện các phép lai giữa các nòi thuần và nghiên cứu thế hệ con theo các kiểu hình của cha mẹ.

Ví dụ:

P	trơn	×	nhăn
F ₁	trơn		

Vì tất cả các hạt đậu thu được từ F₁ đều giống với một trong hai dạng cha mẹ và đều trơn nên Mendel gọi tính trạng “trơn” là trội, còn tính trạng “nhăn” là lặn. Ngày nay, người ta thấy trội – lặn là hiện tượng phổ biến đối với mọi sinh vật.

Như vậy, tất cả các con lai của thế hệ thứ nhất (F₁) đều giống nhau và đều mang tính trội. Đây là phát hiện hết sức quan trọng của Mendel.

6.1.2. Định luật phân ly

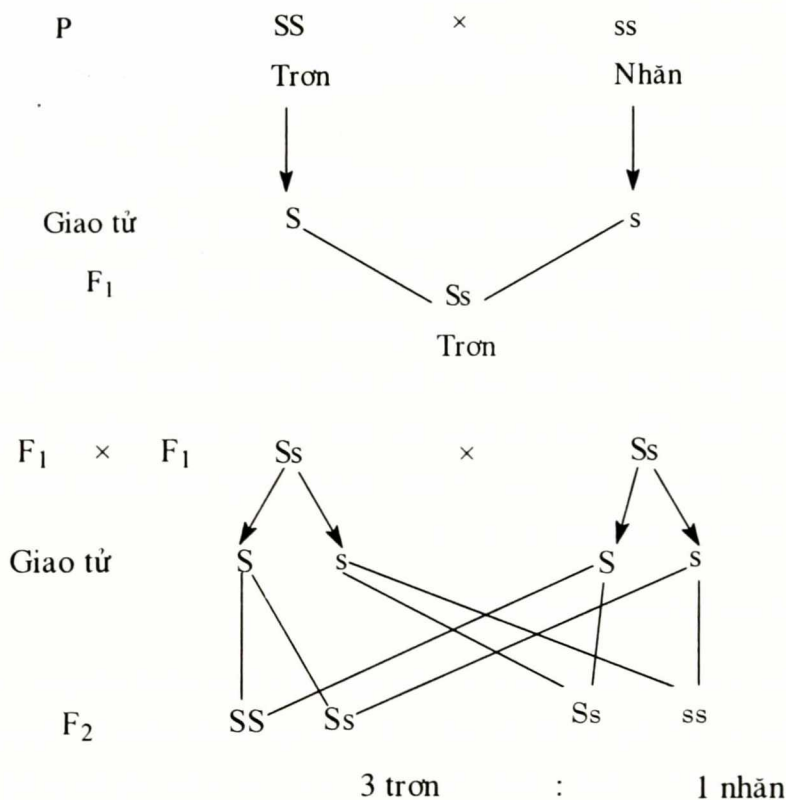
Tiếp theo, Mendel đã gieo các hạt đậu thế hệ F₁ cho phát triển thành cây lai và cho tự thụ phấn, thu được các kết quả sau:

F ₁	×	F ₁	trơn	×	trơn
	↓			↓	
F ₂		5474	trơn	:	1850
					nhăn

Tỷ lệ các kiểu hình ở F₂ là 2,96 : 1 hoặc nói chung là 3 : 1 giữa trơn và nhăn.

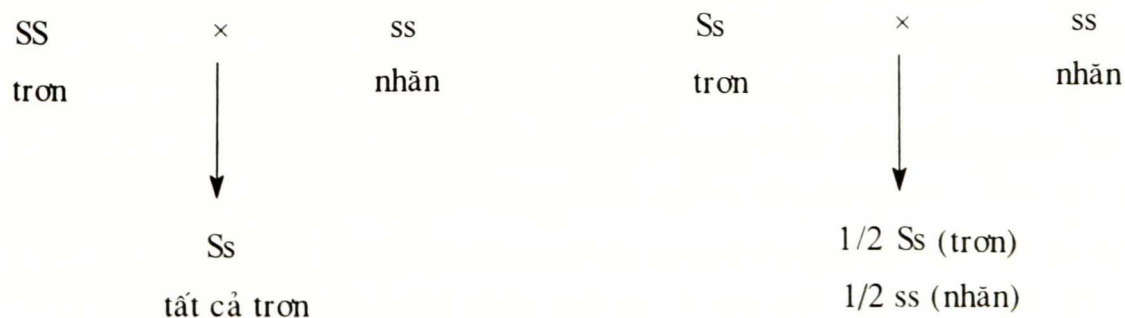
Từ những kết quả thí nghiệm trên, Mendel đã rút kết luận đáng chú ý sau: để nhận được các dòng thuần như dạng cha mẹ thì cả tế bào trứng và phấn hoa đều phải có cùng một cấu trúc di truyền. Khi các cây đậu F₁ chỉ mang tính trạng của một dạng cha – mẹ được tự thụ phấn, ở F₂ đã xuất hiện các tính trạng của cả hai dạng cha mẹ, chứng tỏ rằng các cây đậu thế hệ F₁ phải mang cả hai bản sao khác nhau, mỗi bản sao có nguồn gốc tính trạng khác nhau; tỷ lệ 3 : 1 thu được trong F₂ là do các loại giao tử khác nhau đã được sinh ra với xác suất như nhau và sự kết hợp các giao tử đực và cái diễn ra một cách ngẫu nhiên. Theo quan niệm ngày nay, các tế bào soma lưỡng bội mang một bộ nhiễm sắc thể của cha (bộ đơn bội) và một của mẹ. Suy rộng ra, cứ mỗi cặp nhiễm sắc thể tương đồng trong tế bào lưỡng bội thì một là của cha và một là của mẹ. Còn các giao tử là các tế bào đơn bội do giảm phân sinh ra, chỉ mang một nhiễm sắc thể của mỗi cặp tương đồng. Các gen nằm

trên nhiễm sắc thể. Và phép lai trơn – nhăn có thể minh họa được bằng các ký hiệu di truyền sau:



Các con lai F₁ là dị hợp tử và có kiểu hình trơn vì alen S trội so với alen s, còn các cây F₂ sinh ra do F₁ tự thụ phấn có tỷ lệ kiểu hình 3 trơn : 1 nhăn.

Các cây đồng hợp tử trội SS và dị hợp tử Ss có kiểu hình giống nhau. Để phân biệt SS và Ss ta sử dụng phép lai phân tích, nghĩa là lai hai dạng trội nói trên với dạng cha mẹ đồng hợp tử lặn:



Kết quả là: 1/3 số cá thể F₂ trơn cho tất cả các cá thể thế hệ sau trơn, 2/3 số cá thể trơn của F₂ cho 1/2 cá thể của thế hệ sau trơn, còn 1/2 là nhăn. Từ tất cả các số liệu này, Mendel đã phát biểu định luật phân ly như sau (theo văn phạm hiện đại):

Các giao tử là thuần khiết, tách biệt nhau, chúng chỉ mang một trong hai bản sao của mỗi gen, và thế hệ mới được sinh ra do tổ hợp ngẫu nhiên của các giao tử bắt nguồn từ hai cha mẹ.

Về bản chất, Mendel đã phân biệt được các nhân tố tạo nên tính trạng (tức là gen) và bản thân các tính trạng.

Trội không hoàn toàn. Trong các thí nghiệm của Mendel nêu trên, một tính trạng là trội hoàn toàn so với tính trạng kia nên các cá thể dị hợp tử về kiểu hình không phân biệt được với các cá thể đồng hợp tử trội. Nhưng không phải bao giờ cũng như vậy. Đối với nhiều tính trạng quan sát thấy hiện tượng trội không hoàn toàn, nghĩa là các gen AA, Aa và aa có ba kiểu hình khác nhau. Ví dụ về màu hoa của cây *Antirrhinum*. Cây AA có hoa đỏ, cây aa có hoa trắng, còn cây Aa có hoa màu hồng. Vì vậy, khi lai hai cây có hoa màu hồng với nhau cho các cây hoa đỏ, hồng, trắng với tỷ lệ tương ứng 1 : 2 : 1.

6.1.3. Cơ chế phân tử của tính trội

Trong trường hợp trội hoàn toàn, nếu gen mã hoá một enzym, còn alen lặn chỉ sinh ra một protein không có hoặc có rất ít hoạt tính enzym. Qua ngăn cản quá trình điều chỉnh tốc độ phiên mã và dịch mã, các thể dị hợp tử sẽ chỉ sinh ra khoảng một nửa số lượng enzym có hoạt tính so với các thể đồng hợp tử kiểu dại. Nếu số lượng đó là đủ để cơ thể thực hiện các chức năng hoá sinh một cách bình thường, thì sẽ xuất hiện kiểu hình bình thường.

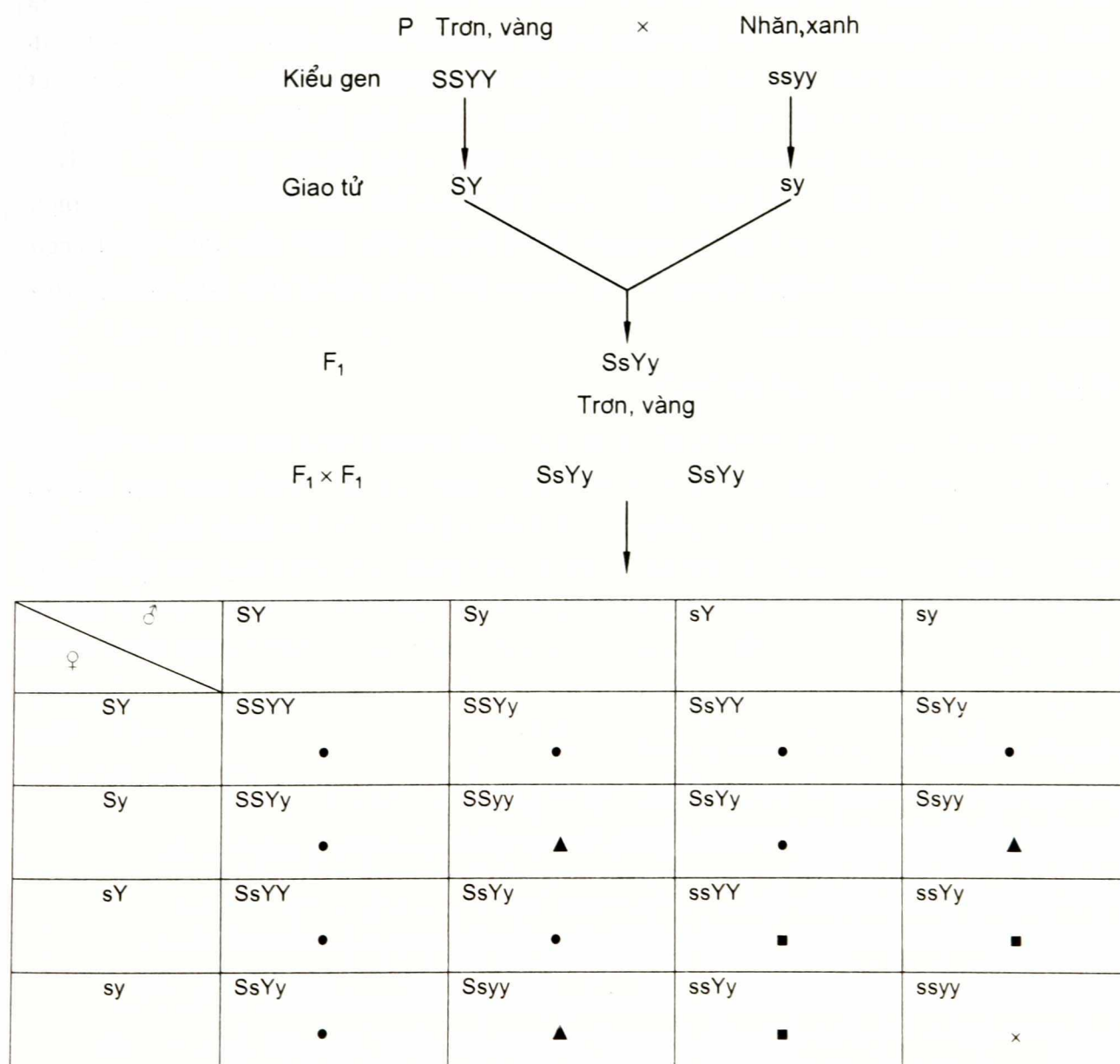
6.1.4. Định luật di truyền độc lập

Sau khi chứng minh rằng các cặp tính trạng tương phản đều di truyền giống như cặp trơn–nhăn, Mendel bắt đầu nghiên cứu sự phân ly của hai cặp gen trong cùng một phép lai. Ông đã chọn những cặp gen không liên kết, tức mỗi cặp nằm trên một cặp nhiễm sắc thể tương đồng riêng biệt, ông đã tiến hành phép lai giữa cây có hạt trơn – vàng với cây có hạt nhăn – xanh (hình 3.23).

Các cá thể F_1 là dị hợp tử kép và vì vậy sinh ra 4 loại giao tử với số lượng bằng nhau: SY, Sy, sY và ss. Khi cho F_1 tự thụ phấn thì 4 cặp giao tử này kết hợp với nhau một cách ngẫu nhiên trong tất cả các tổ hợp có thể có để sinh ra thế hệ con lưỡng bội. Trong bảng Punnett trên hình 3.23 có 16 ô tổ hợp giao tử. Do tác dụng của tính trội chỉ có 4 loại kiểu hình xuất hiện: trơn–vàng, trơn–xanh, nhăn–vàng và nhăn–xanh. Các kiểu hình này phải xuất hiện với tỷ số 9 : 3 : 3 : 1, vì đó là kết

hợp ngẫu nhiên các giao tử và sự phân ly độc lập của hai cặp gen cùng với nhiễm sắc thể mang chúng trong quá trình giảm phân.

Trong thí nghiệm của mình, Mendel đã nhận được các kết quả cụ thể như sau: 315 hạt trơn-vàng:108 hạt trơn-xanh: 101 hạt nhăn vàng : 32 hạt nhăn xanh. Tỷ lệ này rất sát với tỷ lệ 9 : 3 : 3 : 1 dự đoán theo lý thuyết.



Các kiểu hình ở F₂:

● 9 trơn, vàng: ▲ 3 trơn, xanh: ■ 3 nhăn, vàng: × 1 nhăn, xanh

Hình 3.23. Nguyên tắc phân ly độc lập

Tỷ lệ phân ly kiểu hình ở F₂: 9 : 3 : 3 : 1 đối với hai cặp gen không liên kết (sử dụng bảng Punnett).

Như vậy, công thức phân ly theo kiểu hình F_2 khi lai hai cặp tính trạng trong các thí nghiệm của Mendel là: $9A - B - : 3A - bb : 3aaB - : 1aabb$.

Ở đây, Aa và Bb là hai cặp gen nằm trên hai cặp nhiễm sắc thể tương đồng khác nhau.

Từ các kết quả nhận được trong các phép lai hai tính trạng nêu trên, Mendel có nhận xét rằng, tỷ lệ phân ly $9 : 3 : 3 : 1$ khi xem xét đồng thời hai tính trạng trong một phép lai chính là sự kết hợp của hai tỷ lệ phân ly $3 : 1$ khi xem xét từng cặp tính trạng riêng biệt. Cụ thể là từ công thức tổng quát nói trên, nếu chỉ xem xét cặp tính trạng Aa ta sẽ có: $9A - + 3A - : 3aa + 1aa$, tức là $12A - : 4aa$ hay $3A - : 1aa$. Tương tự như vậy, nếu chỉ xem xét cặp tính trạng Bb ta sẽ có: $9B - + 3B - : 3bb + 1bb$ tức là $12B - : 4bb$ hay $3B - : 1bb$. Từ nhận xét này, Mendel đã phát biểu định luật thứ 2 của mình gọi là *nguyên lý di truyền độc lập: các gen nằm trên các nhiễm sắc thể tương đồng khác nhau thì vận động độc lập trong quá trình tạo thành giao tử*.

6.1.5. Các công thức lai đa tính

Việc phân tích sự di truyền của một cặp tính trạng trong lai đơn tính đã giúp Mendel và các nhà nghiên cứu sau này hiểu được sự di truyền của hai cặp và nhiều cặp tính trạng trong các phép lai hai tính và đa tính. Và ngày nay, chúng ta hiểu rõ rằng các quy luật di truyền đó là do quy luật vận động của các nhiễm sắc thể trong giảm phân quy định. Tỷ lệ phân ly kiểu hình ở F_2 của mỗi tính trạng là $3 : 1$. Đây là tỷ lệ phân ly chính xác của một cặp nhiễm sắc thể tương đồng trong giảm phân. Với hai cặp tính trạng, tỷ lệ đó là $9 : 3 : 3 : 1$, tức là $(3 + 1)^2$, và với n cặp tính trạng thì công thức phân ly về kiểu hình ở F_2 sẽ là $(3 + 1)^n$. Với lý luận tương tự, các công thức cơ bản trong trường hợp lai đa tính (n tính trạng) có thể được xác định như trong bảng 3.5 sau đây:

Bảng 3.5. Các công thức cơ bản lai đa tính trạng

Tên công thức	Kiểu lai		
	Đơn tính	Hai tính	Đa tính
Số kiểu giao tử do F_1 tạo ra	2	2^2	2^n
Số tổ hợp giao tử sinh ra F_2	4	4^2	4^n
Số loại kiểu hình ở F_2	2	2^2	2^n
Số loại kiểu gen ở F_2	3	3^2	3^n
Phân ly theo kiểu hình ở F_2	$3 + 1$	$(3 + 1)^2$	$(3 + 1)^n$
Phân ly theo kiểu gen ở F_2	$1 + 2 + 1$	$(1 + 2 + 1)^2$	$(1 + 2 + 1)^n$

6.1.6. Các khái niệm bắt nguồn từ các định luật Mendel

Đa alen: Đối với một gen cụ thể không phải chỉ có hai mà có thể có nhiều alen, quan hệ trội – lặn giữa các alen rất khác nhau. Ví dụ, ba alen xác định hệ thống nhóm máu ABO của người có quan hệ trội lặn như sau:

$$I^A = I^B, I^A > I^O, \text{ và } I^B > I^O.$$

Đồng trội: Các thể dị hợp tử biểu hiện các kiểu hình của cả hai dạng đồng hợp tử trội và lặn. Ví dụ, các alen I^A và I^B là đồng trội vì các cá thể $I^A I^B$ mang nhóm máu khác với hai nhóm kia.

Tương tác gen: Các gen không alen có thể hoạt động không độc lập, mà phụ thuộc vào nhau để xác định tính trạng của cơ thể. Có nhiều kiểu tương tác như: bổ trợ, ức chế, đa phân, v.v...

Alen gây chết: Khi biểu hiện làm cá thể bị chết, có cả lặn và trội: chứng múa giật Huntington ở người là ví dụ về gen gây chết trội chỉ biểu hiện ở tuổi trưởng thành.

Mức ngoại hiện (penetrance): Tỷ lệ mà một gen trội hoặc một gen lặn được biểu hiện kiểu hình của nó ở các cá thể được gọi là mức ngoại hiện của gen.

Độ biểu hiện (expressivity): là mức độ biểu hiện kiểu hình của một gen hoặc kiểu gen ngoại hiện. Độ biểu hiện có thể nhẹ, trung bình hoặc mạnh.

Tính trạng số lượng: Các tính trạng mà Mendel nghiên cứu đều là các tính trạng không liên tục. Nhưng trong thực tế có nhiều tính trạng biểu hiện tính liên tục rõ rệt như chiều cao, màu mắt hoặc màu tóc ở người, chiều cao, sản lượng của các cây trồng. Các tính trạng này thay đổi về số lượng và được gọi là các tính trạng số lượng, hoặc các tính trạng liên tục. Đặc điểm như sau:

– Các cá thể F_1 nhận được từ phép lai hai dạng cha mẹ thuần chủng khác biệt nhau rõ rệt về kiểu hình trung gian nằm giữa hai kiểu hình cha mẹ. Các cá thể F_2 có độ biến dị nhiều hơn so với F_1 .

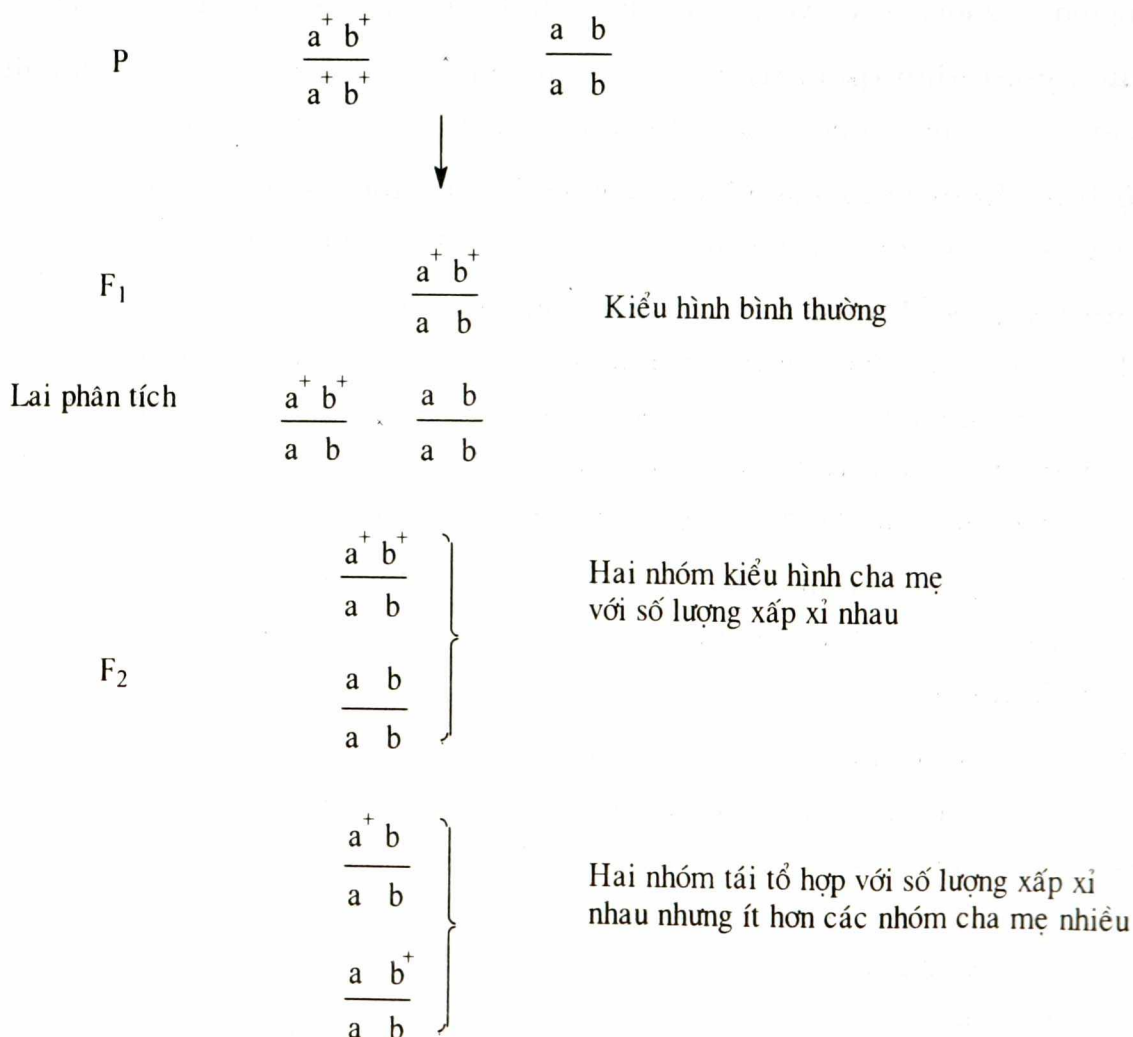
– Như vậy, cơ sở của các tính trạng số lượng là hàng loạt gen gọi là những gen phức (multiple gen), hoặc các dãy đa gen (polygenic series). Có thể có những alen đóng góp hiệu quả và có những alen không đóng góp trong dãy đa gen, hoạt động theo cách: khi số alen đóng góp tăng lên thì hiệu quả kiểu hình tăng lên. Tùy thuộc vào số lượng gen có trong dãy đa gen mà các nhóm kiểu hình có thể gián đoạn hoặc liên tục.

6.2. Phân tích di truyền ở sinh vật lưỡng bội

Sự tổ hợp độc lập của các gen trong quá trình giảm phân là một trong những nguyên lý cơ bản của di truyền học. Tuy nhiên, có nhiều gen thường di truyền cùng với nhau vì cùng nằm trên một nhiễm sắc thể; các gen như thế gọi là các *gen liên kết* và được coi rằng chúng thuộc về một *nhóm liên kết*. Bằng các phép lai phân tích có thể xác định được sự liên kết của các gen.

6.2.1. Lai phân tích và liên kết gen

Tổ hợp độc lập gen chúng ta đã nghiên cứu ở trên. Trong phép lai phân tích $AaBb \times aabb$ thì tỷ lệ kiểu hình ở thế hệ sau sẽ là $1AB : 1Ab : 1aB : 1aa$. Lai phân tích là phép lai hữu ích để xác định sự liên kết hay không giữa hai gen, vì nếu có sự sai lệch đáng kể so với tỷ lệ $1 : 1 : 1 : 1$ do có quá nhiều kiểu gen cha mẹ và có quá ít các kiểu gen tái tổ hợp thì hai gen đang khảo sát được coi là liên kết với nhau, như minh họa dưới đây:

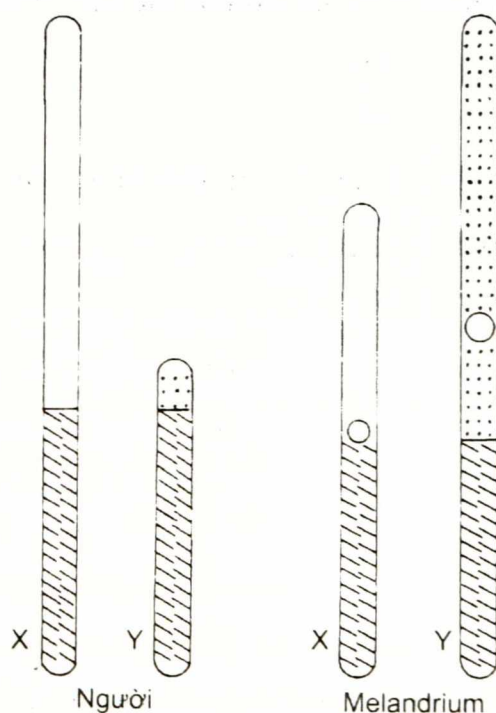


Trong sơ đồ trên, các nhóm tái tổ hợp chỉ có thể sinh ra do trao đổi chéo giữa hai gen trong quá trình giảm phân của cá thể F_1 dị hợp tử kép. Vì trao đổi chéo là sự kiện ngẫu nhiên diễn ra dọc theo nhiễm sắc thể nên tần số trao đổi chéo, tức là tỷ lệ các cá thể tái tổ hợp trong tổng số thế hệ con, liên quan trực tiếp đến 2 gen khảo sát. Hai gen càng xa nhau thì tần số trao đổi chéo càng lớn. Do vậy, có thể dùng tần số này để lập bản đồ di truyền.

T.H. Morgan là người đầu tiên nghiên cứu trên đối tượng ruồi giấm *Drosophila melanogaster* đã tìm ra nhiều gen không phân ly độc lập với các gen khác trong giảm phân. Trên thực tế, một số gen đã kết thành nhóm trong các thí nghiệm phân tích lai như đã nói ở trên. Ông đã xác định được 4 nhóm liên kết ở ruồi giấm phù hợp với 4 nhiễm sắc thể có trong bộ đơn bội của sinh vật này.

6.2.2. Nhiễm sắc thể giới tính và liên kết giới tính

Bộ nhiễm sắc thể của các tế bào động vật bao gồm các nhiễm sắc thể thường và các nhiễm sắc thể giới tính. Trong phần lớn các trường hợp, cá thể đực có hai nhiễm sắc thể khác nhau ký hiệu là XY, còn cá thể cái mang hai nhiễm sắc thể giới tính giống nhau, ký hiệu là XX. X và Y là hai nhiễm sắc thể không tương đồng, một số gen ở bên X không có alen tương đồng ở bên Y, ngược lại, một số gen bên Y lại không có alen tương đồng ở bên X. Những gen còn lại thì có cả ở bên X và bên Y. Hình 3.24 là sơ đồ cấu trúc nhiễm sắc thể giới tính ở người và *Melandrium*.



Hình 3.24. Sơ đồ cấu trúc nhiễm sắc thể giới tính người và *Melandrium*

Sự di truyền của những tính trạng mà gen quy định chúng nằm trên các nhiễm sắc thể giới tính gọi là sự di truyền liên kết với giới tính, mặc dù các tính trạng đó có thể không liên quan với giới tính. Tùy thuộc vào vị trí của gen nằm ở phần nào trong ba phần nói trên của nhiễm sắc thể giới tính mà tính chất liên kết với giới tính có thể khác nhau.

6.2.3. Tái tổ hợp và trao đổi chéo

6.2.3.1. Tái tổ hợp

Khi các gen **liên kết không hoàn toàn** xuất hiện các giao tử dạng mới không giống của cha mẹ, có sự **sắp xếp lại các gen**, gọi là **tái tổ hợp** (recombination) và các dạng mới xuất hiện gọi là **dạng tái tổ hợp** (recombinant). Để đánh giá mức độ liên kết, Morgan et al. đưa ra khái niệm tần số tái tổ hợp, là phần trăm cá thể tái tổ hợp so với tổng số cá thể trong thí nghiệm. Ví dụ, trong thí nghiệm lai ruồi giấm, trong tổng số 1000 cá thể có 170 cá thể dạng tái tổ hợp, tức 17% (1% là đơn vị đo tái tổ hợp). Tần số tái tổ hợp được tính theo công thức:

$$\frac{N_{tth}}{N_{ts}} \times 100 = \% \text{ tái tổ hợp}$$

Tần số tái tổ hợp giữa 2 gen khá ổn định từ lần lai này qua lần lai khác, không phụ thuộc vào sự sắp xếp, như hai alen trội cùng phía trên 1 nhiễm sắc thể (gọi là vị trí *cis*) AB/ab hay chéo nhau trên hai nhiễm sắc thể (*trans*) Ab/aB

$$\frac{Ab}{aB} \quad \text{hoặc} \quad \frac{AB}{ab}$$

Tuy nhiên, tần số tái tổ hợp giữa các cặp gen khác nhau thì thay đổi đáng kể.

Ví dụ, trong lai phân tích giữa 2 gen *pr* (*purple* – *mắt đỏ thẫm*) và *vg* (*vestigial* – *cánh ngắn*), sẽ nhận được kết quả:

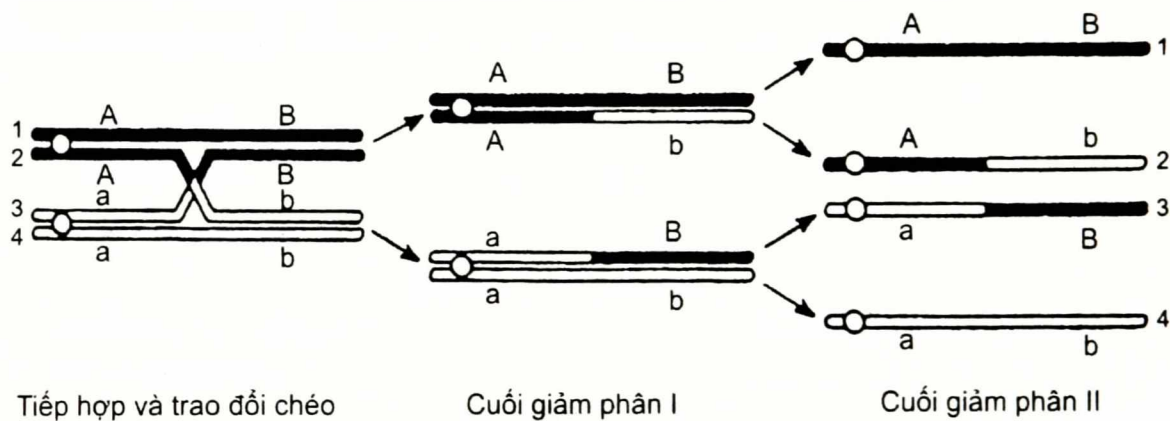
<i>pr vg</i> / <i>pr vg</i>	165	}	Kiểu cha mẹ
+ + / <i>pr vg</i>	191		(không tái tổ hợp)
<i>pr</i> + / <i>pr vg</i>	23	}	Kiểu biến thể
+ <i>vg</i> / <i>pr vg</i>	21		(tái tổ hợp)
	400		

Và có thể sử dụng phần trăm tái tổ hợp để xác định khoảng cách theo đường thẳng giữa hai gen trên bản đồ di truyền, hay còn gọi là bản đồ liên kết gen.

6.2.3.2. Trao đổi chéo

Hiện tượng tái tổ hợp chính là kết quả của quá trình trao đổi chéo (crossing – over), mà trong đó hai nhiễm sắc thể tương đồng hoán vị hay trao đổi chéo cho nhau ở những điểm nhất định.

Trong giảm phân mỗi nhiễm sắc thể đôi có hai nhiễm sắc thể chị em tương tự nhau. Các nhiễm sắc thể tương đồng bắt cặp hay tiếp hợp với nhau và trao đổi chéo xảy ra giữa các chromatid không chị em. Sơ đồ sau mô tả trao đổi chéo giữa 2 gen A và B, giữa chromatid 2 và 3.



Hình 3.25. Trao đổi chéo giữa các chromatid

Các nhiễm sắc thể từ các chromatid 1 và 4 không có trao đổi, nên chúng được gọi là kiểu cha mẹ (parental) và các giao tử nhận chúng cũng được gọi là các kiểu cha mẹ. Còn ở hai chromatid khác có xảy ra trao đổi chéo gọi là kiểu tái tổ hợp và giao tử tái tổ hợp.

Ví dụ: Cha mẹ *cis*: AB / ab

Các giao tử: cha mẹ: AB và ab

con tái tổ hợp: Ab và aB

Cha mẹ *trans*: Ab / aB

Các giao tử: cha mẹ: Ab và aB

con tái tổ hợp: AB và ab.

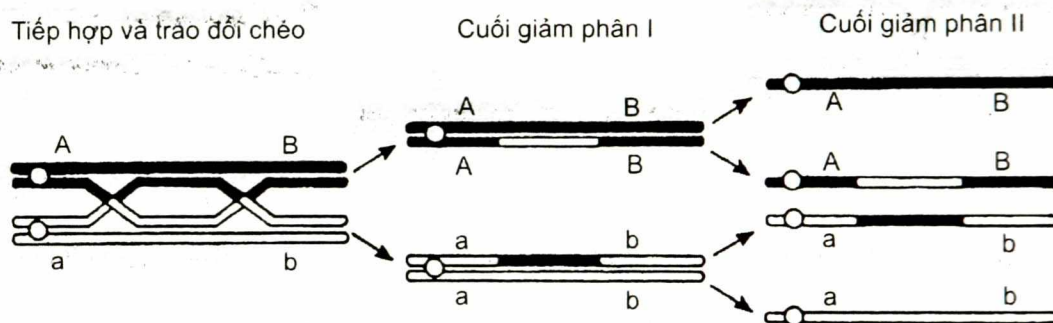
6.2.3.3. Các tần số hình chéo (chiasma)

Một cặp nhiễm sắc thể tương đồng bắt cặp có 4 chromatid nên gọi là bộ bốn (tetrad). Trong mỗi bộ bốn có ít nhất một hình chéo, biểu hiện nhìn thấy được của trao đổi chéo.

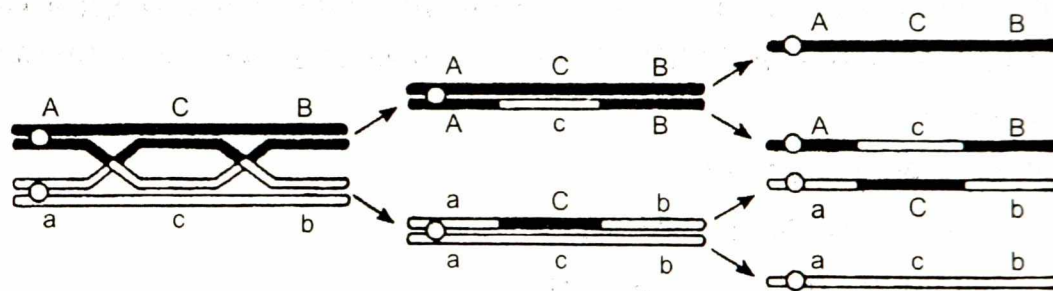
Khi một hình chéo xuất hiện giữa hai gen đánh dấu, chỉ một nửa sản phẩm của phân chia giảm nhiễm là tái tổ hợp (trong số 4 chromatid chỉ có 2 tái tổ hợp). Tần số tương đối của các hình chéo gấp đôi tần số tương đối của các sản phẩm tái tổ hợp.

6.2.3.4. Đa trao đổi chéo (multiple crossing over)

Trao đổi chéo giữa hai chromatid có thể xảy ra nhiều hơn một lần, tức là 2, 3, 4 lần,... (hình 3.26). Nếu hai trao đổi chéo xảy ra trên cùng hai chromatid ở đoạn giữa hai gen đánh dấu thì sản phẩm cuối cùng đều có kiểu cha mẹ (tức không phát hiện được). Kiểu trao đổi chéo này chỉ có thể phát hiện được khi sử dụng thêm một gen đánh dấu thứ ba nằm giữa A và B. Nếu xác suất trao đổi chéo giữa A và C và giữa C và B tương ứng với x và y thì xác suất xảy ra trao đổi chéo đôi bằng xy (tích của hai xác suất).



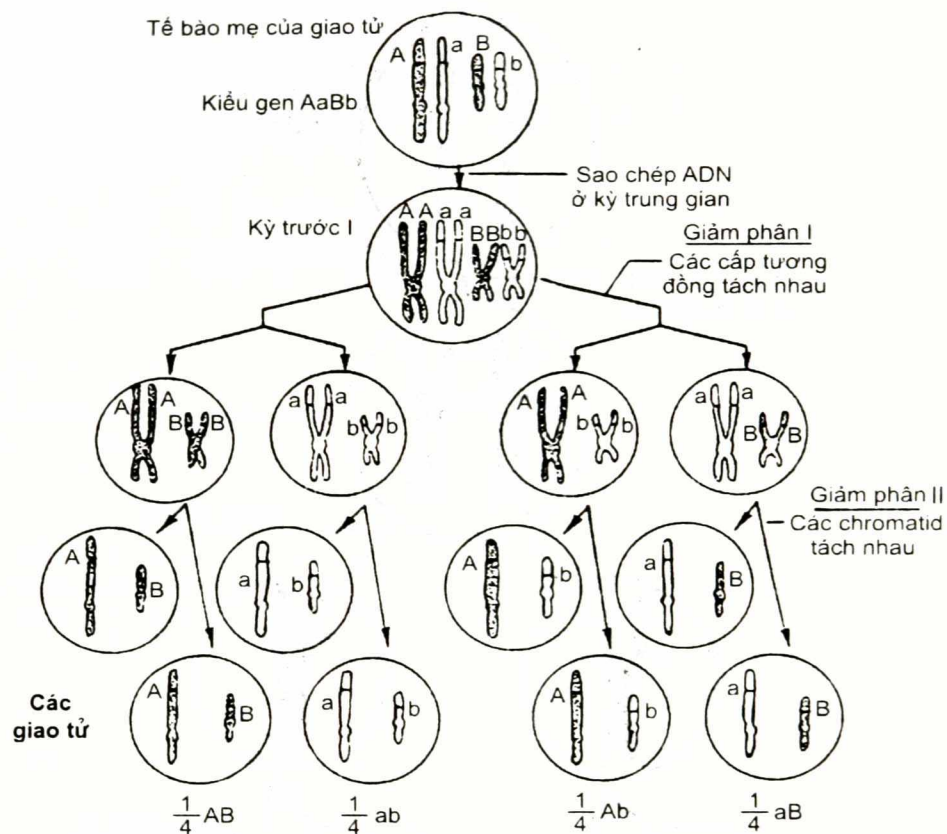
Để phát hiện trao đổi chéo đôi, cần có locus thứ ba (C) giữa 2 gen A và B



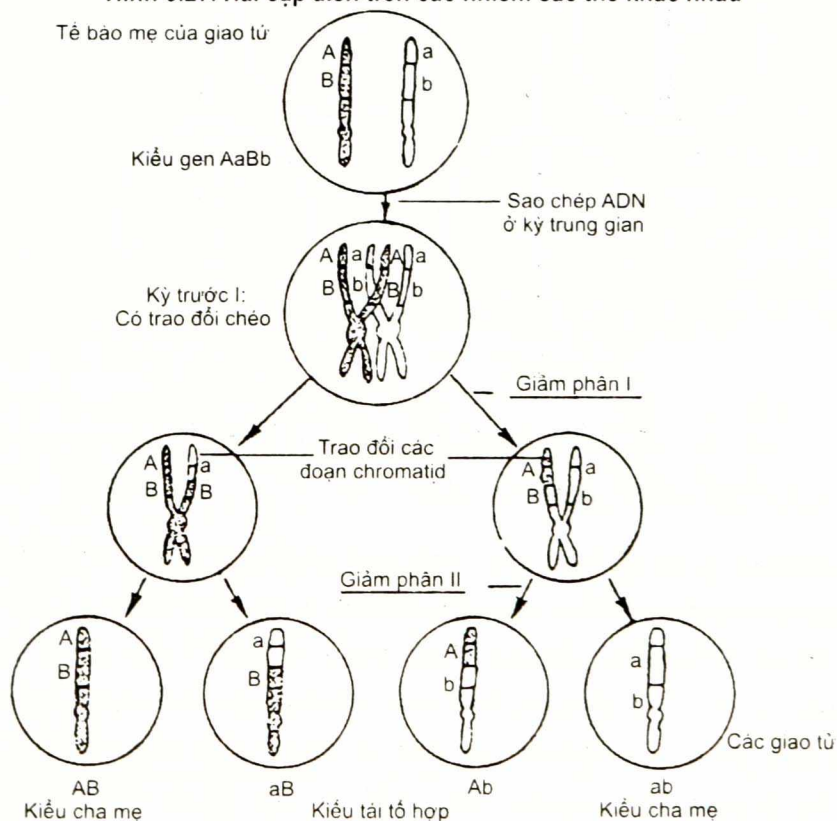
Hình 3.26. Đa trao đổi chéo

6.2.3.5. Tương quan đồng hành giữa gen và nhiễm sắc thể

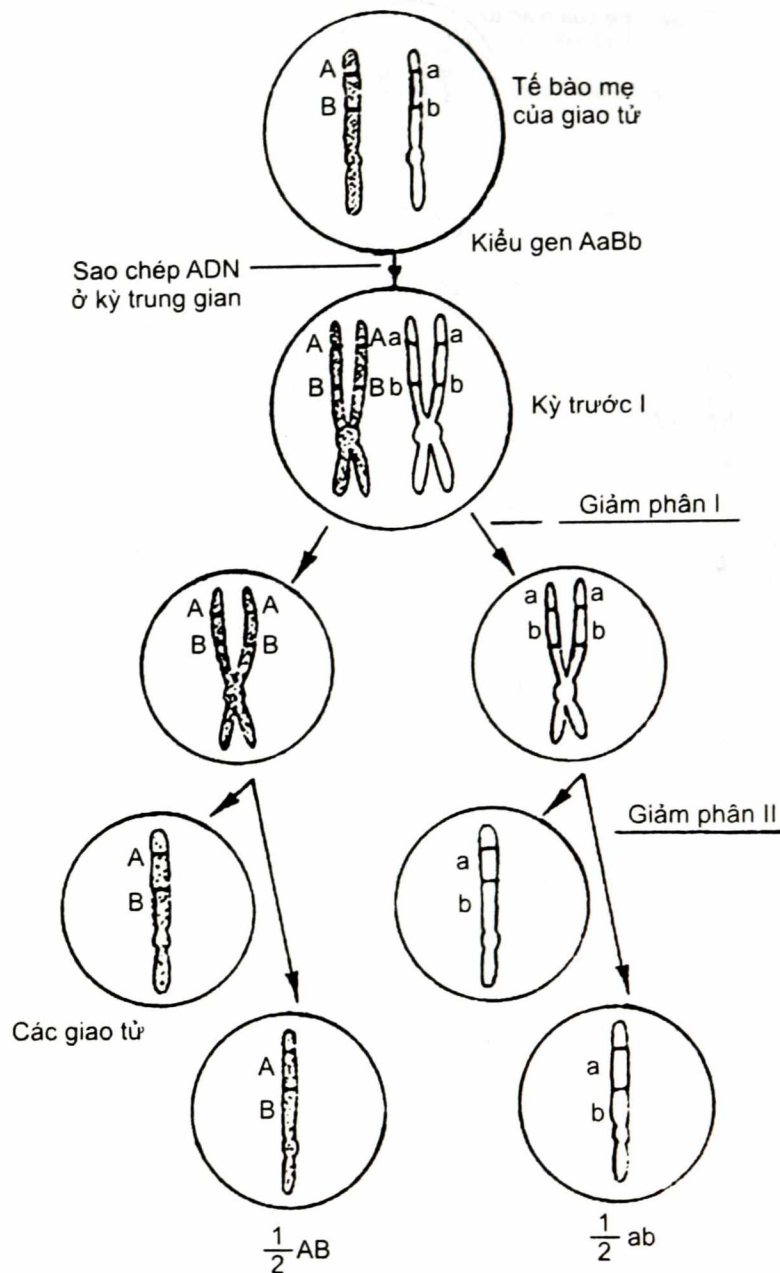
Tổng quát, các cơ chế di truyền đều gắn chặt với các nhiễm sắc thể và các hoạt động của chúng trong giảm phân. Khi hai gen A và B nằm trên hai cặp nhiễm sắc thể khác nhau thì chúng có kiểu tổ hợp tự do theo Mendel (hình 3.27). Nếu chúng nằm trên 1 nhiễm sắc thể, sẽ có sự di truyền liên kết hoàn toàn (hình 3.28) hay không hoàn toàn khi có trao đổi chéo (hình 3.29).



Hình 3.27. Hai cặp alen trên các nhiễm sắc thể khác nhau



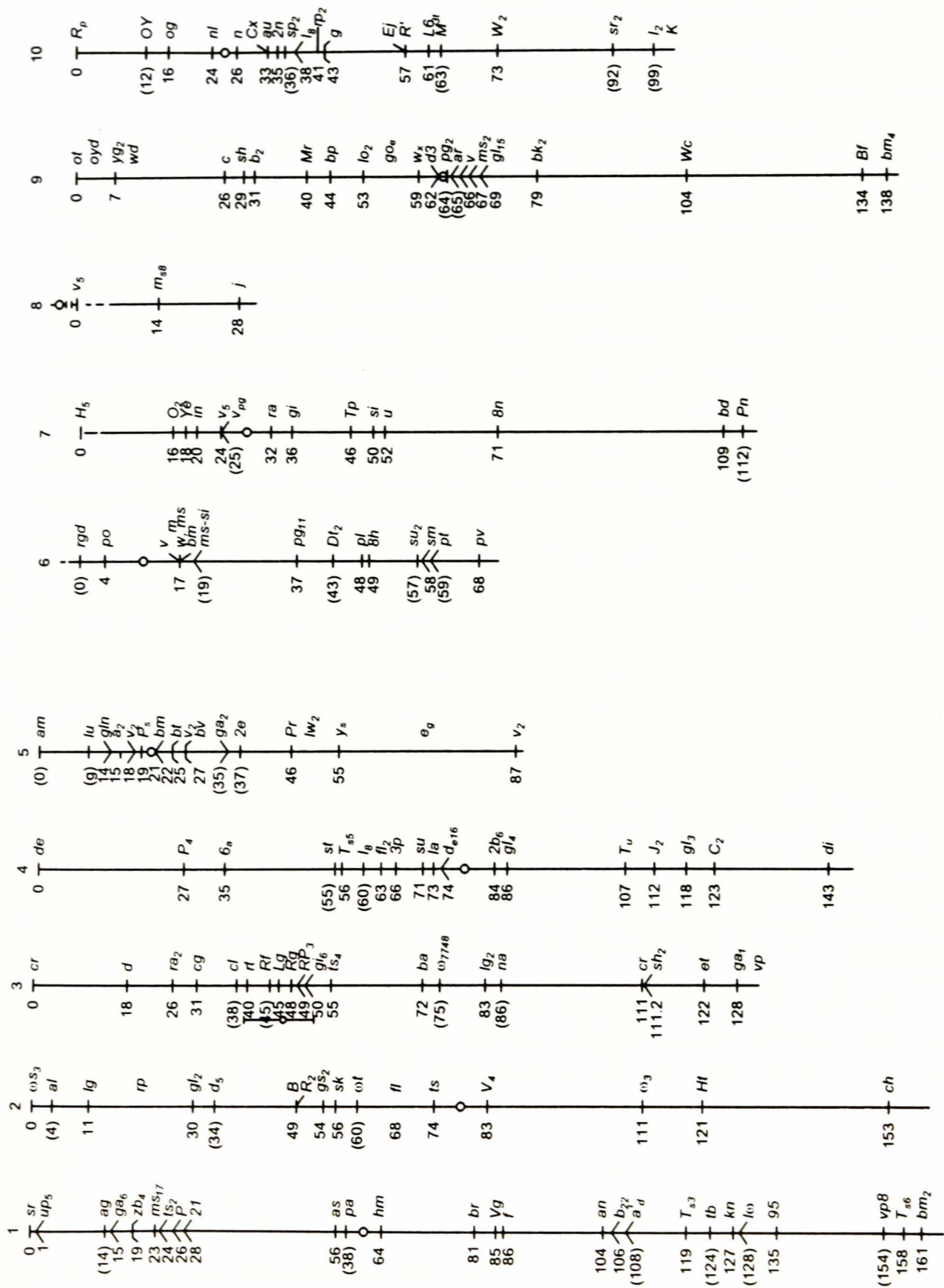
Hình 3.28. Liên kết có trao đổi chéo



Hình 3.29. Liên kết không có trao đổi chéo

6.2.4. Nguyên tắc lập bản đồ di truyền

Bản đồ di truyền là sơ đồ bao gồm toàn bộ nhiễm sắc thể đơn bội của một sinh vật và vị trí các gen trên nhiễm sắc thể. Hình 3.30 giới thiệu bản đồ di truyền ở ngô. Trên bản đồ có 10 nhiễm sắc thể được đánh dấu từ I đến X và khoảng 100 gen đã được xác định vị trí. Các số nằm bên trái nhiễm sắc thể chỉ khoảng cách từ gen tương ứng đến đầu trên của nhiễm sắc thể có đánh dấu bằng số 0. Hai việc chính cần xác định đó là xác định nhóm liên kết và xác định vị trí của các gen trên nhiễm sắc thể.



Hình 3.30. Bản đồ di truyền của ngô

6.2.4.1. Xác định nhóm liên kết

Nhóm liên kết là nhóm các gen nằm trên cùng một nhiễm sắc thể. Xác định nhóm liên kết là công việc định rõ gen nào nằm trên nhiễm sắc thể nào. Cụ thể là xác định xem hai gen nào đó nằm trên một nhiễm sắc thể hay nằm trên hai nhiễm sắc thể khác nhau. Cứ như vậy, cuối cùng sẽ xác định được có bao nhiêu nhiễm sắc thể (tức nhóm liên kết) trong bộ gen đơn bội của một sinh vật và những gen nào nằm trên nhiễm sắc thể nào.

Bước đầu tiên cần tiến hành là thực hiện phép lai hai tính trạng như trong các thí nghiệm của Mendel và Morgan. Nếu tỷ lệ phân ly nhận được ở F_2 là 9:3:3:1 thì hai gen đang khảo sát nằm trên 2 nhiễm sắc thể khác nhau. Ngược lại, nếu tỷ lệ đó là 3 : 1, hoặc gần giống với 3 : 1 thì có thể kết luận 2 gen khảo sát cùng nằm trên một nhiễm sắc thể.

Trong thực tế thực nghiệm, thay vì các phép lai nêu trên, các nhà nghiên cứu thường dùng phép lai phân tích, như đã được mô tả ở trên để thực hiện mục đích đã đề ra. Các cá thể F_1 nhận được từ phép lai hai tính đem lai với cá thể đồng hợp tử lặn về hai gen khảo sát. Nếu ở thế hệ tiếp theo thu được tỷ số phân ly kiểu hình là 1 : 1 : 1 : 1 thì hai gen khảo sát nằm trên 2 nhiễm sắc thể khác nhau. Còn nếu tỷ lệ phân ly nói trên là 1: 1 thì hai gen quan tâm nằm trên cùng một nhiễm sắc thể.

6.2.4.2. Xác định vị trí của gen trên nhiễm sắc thể

Có thể xác định được vị trí của các gen trên nhiễm sắc thể nếu biết khoảng cách giữa chúng. Như đã biết, khoảng cách giữa hai gen tỷ lệ thuận với tần số trao đổi chéo, và thực tế tần số trao đổi chéo đã được sử dụng để đo khoảng cách giữa các gen. Một phần trăm trao đổi chéo được coi là một đơn vị chiều dài của bản đồ di truyền và được gọi là centiMorgan (cM) để tỏ lòng kính trọng đối với T. H. Morgan, người đã chứng minh thuyết di truyền học nhiễm sắc thể nói chung và hoàn thiện phương pháp lập bản đồ di truyền đối với các sinh vật lưỡng bội bậc cao nói riêng.

Hãy làm thí nghiệm xác định khoảng cách giữa ba gen của ngô. Người ta lai hai dạng ngô khác nhau về ba cặp gen liên kết: một dạng có mầm vàng (v) và bóng (gl), lá bị cứa (sl), còn dạng kia có mầm xanh (v^+) và mờ (gl^+), lá bình thường (sl^+). Cây lai F_1 có kiểu gen

$$\frac{v^+ \ gl^+ \ sl^+}{v \ gl \ sl}$$

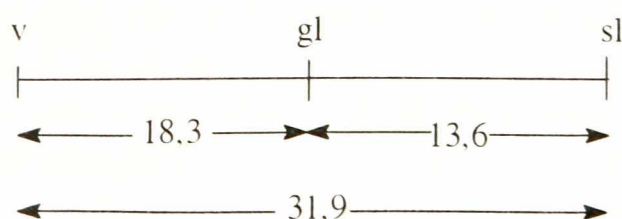
và có mầm xanh và mờ, lá bình thường. Khi lai phân tích cây lai này với cây hoàn toàn lặn thì ở F_B (thế hệ nhận được sau lai phân tích) nhận được các cây có

tám kiểu hình phù hợp với số loại giao tử được tạo ra bởi một cá thể ba dị hợp tử. Các loại giao tử của cây lai F_1 , các kiểu gen của các cây F_2 và tỷ lệ giữa chúng được nêu ở bảng 3.6 dưới đây.

Bảng 3.6. Kết quả thí nghiệm lai phân tích

Giao tử của F_1	Kiểu gen của F_2	Số cá thể	Phần trăm số cá thể
Không trao đổi chéo $\frac{v^+ \text{ gl}^+ \text{ sl}^+}{v \text{ gl sl}}$	$\frac{v^+ \text{ gl}^+ \text{ sl}^+}{v \text{ gl sl}}$ $\frac{v \text{ gl sl}}{v \text{ gl sl}}$	$\left. \begin{matrix} 235 \\ 270 \end{matrix} \right\} 505$	69,6%
Trao đổi chéo đơn ở đoạn I $\frac{v^+ \text{ gl sl}}{v \text{ gl}^+ \text{ sl}^+}$	$\frac{v^+ \text{ gl sl}}{v \text{ gl sl}}$ $\frac{v \text{ gl}^+ \text{ sl}^+}{v \text{ gl sl}}$	$\left. \begin{matrix} 62 \\ 60 \end{matrix} \right\} 122$	16,8%
Trao đổi chéo đơn ở đoạn II $\frac{v^+ \text{ gl}^+ \text{ sl}}{v \text{ gl sl}^+}$	$\frac{v^+ \text{ gl}^+ \text{ sl}}{v \text{ gl sl}}$ $\frac{v \text{ gl sl}^+}{v \text{ gl sl}}$	$\left. \begin{matrix} 40 \\ 48 \end{matrix} \right\} 88$	12,1%
Trao đổi chéo kép ở I và II $\frac{v^+ \text{ gl sl}^+}{v \text{ gl}^+ \text{ sl}}$	$\frac{v^+ \text{ gl sl}^+}{v \text{ gl sl}}$ $\frac{v \text{ gl}^+ \text{ sl}}{v \text{ gl sl}}$	$\left. \begin{matrix} 7 \\ 4 \end{matrix} \right\} 11$	1,5%
Tổng cộng		726	100%

Từ bảng trên cho thấy, phần lớn số cá thể (69,6%) có tổ hợp các tính trạng cha mẹ. Các cá thể nhận được do trao đổi chéo giữa các gen v và gl chiếm 18,3% (16,8 + 1,5) tần số trao đổi chéo giữa các gen gl và sl là 12,1 + 1,5 = 13,6%, còn tần số trao đổi chéo giữa v và sl là 16,8 + 12,1 + (2 × 1,5) = 31,9%. Như vậy, trình tự sắp xếp của 3 gen nói trên sẽ là:



Bằng cách tiến hành các phép lai ba tính (lai theo ba điểm) với tất cả các gen có trên nhiễm sắc thể theo từng tổ hợp tích hợp ba gen một, người ta đã sắp xếp được trình tự của các gen trên nhiễm sắc thể.

6.2.5. Nhiễu (interference)

Nhiễu là hiện tượng trao đổi chéo diễn ra tại một điểm trên nhiễm sắc thể ngăn cản trao đổi chéo diễn ra ở các điểm lân cận. Bởi vậy mà khả năng diễn ra trao đổi chéo kép trong một đoạn ngắn của nhiễm sắc thể sẽ rất nhỏ. Hiệu quả nhiễu được đo bằng tỷ lệ giữa số trao đổi chéo kép quan sát được với số trao đổi chéo kép tính toán theo lý thuyết.

Số liệu trên bảng 3.6 cho thấy, khoảng cách giữa hai gen v và gl là 18,3%, còn khoảng cách giữa gl và sl là 13,6%. Nếu không có nhiễu, nghĩa là trao đổi chéo diễn ra trong các đoạn v – gl và gl – sl không ảnh hưởng lẫn nhau, thì tần số trao đổi chéo kép giữa các gen v và sl phải bằng tích số của các tần số trao đổi chéo đơn diễn ra ở hai đoạn nói trên (vì xác suất diễn ra cùng một lúc hai sự kiện độc lập bằng tích số của các xác suất diễn ra mỗi sự kiện riêng lẻ), có nghĩa là:

$$18,3 \% \times 13,6\% = 2,5\%.$$

Nhưng trong thí nghiệm chỉ nhận được 1,5% trao đổi chéo kép, thấp hơn so với tính toán 1%, như vậy ở đây rõ ràng có hiện tượng nhiễu. Như đã nêu trên, đại lượng nhiễu được đo bằng tỷ số giữa số trao đổi chéo kép quan sát được trong thí nghiệm và số trao đổi chéo kép mong đợi theo lý thuyết. Tỷ số này được gọi là *hệ số trùng lặp* (coincidence) được đo bằng số thập phân hay phần trăm. Trong ví dụ nêu trên, đại lượng đó bằng $1,5 : 2,5$, tức là 0,6 hoặc 60%.

Trên các đoạn ngắn của nhiễm sắc thể, nơi mà mỗi trao đổi chéo diễn ra đều ảnh hưởng đến các trao đổi chéo ở các điểm lân cận thì đại lượng trùng lặp sẽ nhỏ hơn 1. Ảnh hưởng này chỉ tồn tại trong một khoảng cách nhất định, càng xa càng giảm dần và cuối cùng biến mất, khi đó đại lượng trùng lặp bằng 1 hay 100%.

6.3. Sự đa dạng của cơ chế di truyền

Các nghiên cứu của Mendel và Morgan được tiến hành và xác nhận sự đúng đắn của các quy luật di truyền ở các sinh vật bậc cao mà trong chu trình sống có giảm phân, chu trình sống phần lớn là lưỡng bội. Xu hướng tiến hoá của sinh giới là lưỡng bội hoá. Tuy nhiên, chiếm phần lớn sinh khối trên Trái Đất lại là các loài nấm và tảo, mà chu trình sống dạng đơn bội chiếm ưu thế.

Các cơ chế di truyền liên quan chặt chẽ với sinh sản mà trong đó, hoạt động của các nhiễm sắc thể đóng vai trò chủ yếu, hết sức đa dạng.

6.3.1. Sinh sản vô tính

Sinh sản vô tính là từ một tế bào hay nhóm tế bào mẹ chỉ qua nguyên phân để tạo ra các cá thể con, giữ nguyên các đặc tính di truyền của cá thể mẹ ban đầu ở cơ thể con. Nguyên phân là cơ sở của tăng trưởng ở các sinh vật đa bào và sinh sản vô tính ở các sinh vật nói chung. Sinh sản vô tính có ở các sinh vật đơn bội và lưỡng bội, là cơ sở để ổn định bộ gen qua nhiều thế hệ.

Ở sinh vật đa bào, nhờ nguyên phân mà gia tăng số lượng tế bào. Ở người, hợp tử sau nhiều lần phân chia nguyên nhiễm hình thành cơ thể gồm nhiều tỷ tế bào, nhờ vậy mà các tế bào của cơ thể đều có bộ nhiễm sắc thể như nhau trừ tế bào sinh dục. Sinh sản vô tính được ứng dụng rộng rãi trong nhân giống và nuôi cấy mô tế bào thực vật và động vật.

6.3.2. Sinh sản hữu tính

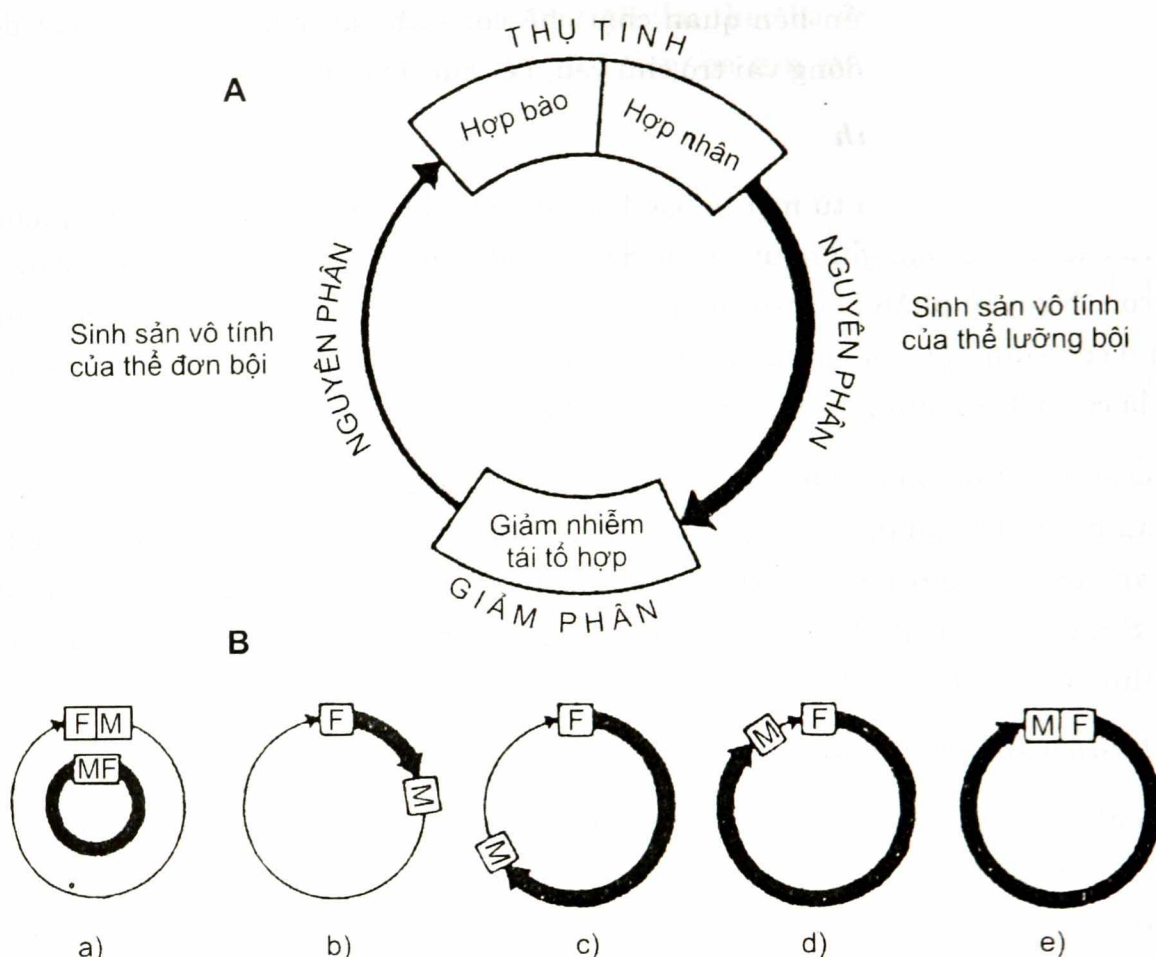
Sinh sản hữu tính là kiểu sinh sản kết hợp các tế bào sinh dục của hai cá thể khác nhau. Sinh sản hữu tính tạo ra sự đa dạng di truyền, làm nguồn nguyên liệu cho tiến hoá. Một trong những xu hướng tiến hoá của sinh giới là sinh sản hữu tính. Sự đa dạng của các kiểu sinh sản hữu tính thể hiện một phần ở các kiểu xác định giới tính. Tiến hoá đã tạo nhiều cơ chế để duy trì sự đa dạng.

6.4. Chu trình sống hay vòng đời

Nhiều sinh vật có sự thay đổi thế hệ đơn bội và lưỡng bội nối tiếp nhau thành chu kỳ gọi là **chu kỳ sống** (hình 3.31). Vòng đời điển hình ở Eukaryota bao gồm: thụ tinh có hợp tế bào chất và hợp nhân; sinh sản vô tính của tế bào $2n$ nhờ nguyên phân; giảm phân có giảm nhiễm và tái tổ hợp; các tế bào n sinh sản vô tính hoặc kết hợp với nhau (thụ tinh).

Những thay đổi trong chu trình sống có liên quan chặt chẽ với thay đổi nhiễm sắc thể, có cơ sở vật chất là các gen, dẫn đến sự đa dạng các cơ chế di truyền liên quan đến đặc điểm sinh sản của các loài.

Sự đa dạng các chu trình sống ở các nhóm phân loại khác nhau có thể do chiếm khoảng thời gian dài, ngắn khác nhau của các pha đơn bội và lưỡng bội luân phiên.



Hình 3.31. Chu trình sống hay vòng đời

A. Chu trình tổng quát ; B. Chu trình riêng của các sinh vật chủ yếu:

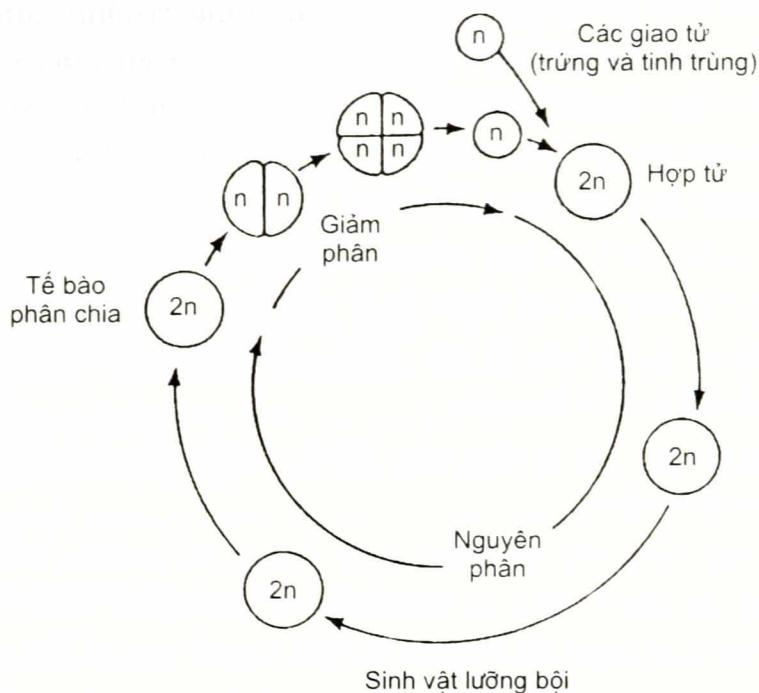
a) Các Eukaryota đơn bào (vi tảo, vi nấm); b) Rêu; c) Dương xỉ; d) Thực vật bậc cao; e) Động vật bậc cao.

6.4.1. Các Eukaryota đơn bào

Chu trình sống của tảo (*Chlamydomonas reinhardtii*) đã được nghiên cứu. Điểm đặc biệt là các giai đoạn đơn bội và lưỡng bội có thể tồn tại một thời gian dài.

6.4.2. Các động vật bậc cao

Các động vật bậc cao là lưỡng bội. Trong quá trình sinh sản phân bào giảm nhiễm tạo các giao tử đơn bội, mà sự hợp nhất của chúng tạo thành hợp tử. Các giao tử là các tế bào đơn bội được chuyên hoá cho sinh sản hữu tính. Ở con đực, quá trình sinh tinh (spermatogenesis) tạo ra 4 tế bào tinh tử từ mỗi tế bào lưỡng bội. Ở con cái, quá trình sinh trứng (oogenesis) chỉ sản sinh ra một tế bào trứng trưởng thành.



Hình 3.32. Chu trình sống điển hình của các động vật bậc cao

6.4.3. Các thực vật bậc cao

Phần lớn thực vật đa bào có năm giai đoạn trong chu kỳ sinh sống. Nói chung, giai đoạn đơn bội chiếm ưu thế ở thực vật bậc thấp, còn giai đoạn lưỡng bội lại chiếm ưu thế ở thực vật bậc cao. Khả năng giao tử được sinh sản ra do một cây kết hợp với nhau tạo ra thế hệ con có sức sống và hữu thụ là đặc tính chung của nhiều loại cây có hoa (đậu, ngô, đại mạch, đậu nành, thuốc lá, cà chua,...). Tuy nhiên, ở một số loài, tự thụ phấn và thụ phấn chéo xảy ra đồng thời ở mức độ khác nhau như cây bông vải và bo bo (Sorgum) hơn 10%.

6.5. Phân tích bộ gen người

Đây là vấn đề thời sự của khoa học thế giới thế kỷ XXI. Sự phân tích bộ gen người đã tiến những bước rất dài và con người đã công bố xác định được chi tiết trình tự 3 tỷ nucleotid của bộ gen người. Phân tích bộ gen người trải qua nhiều bước phát triển: lập bản đồ liên kết gen, xây dựng bản đồ vật lý của bộ gen người và cuối cùng là chương trình xác định trình tự nucleotid của bộ gen người. Phần này trình bày khái quát chương trình xác định trình tự nucleotid của bộ gen người, thành tựu khoa học nổi bật đầu thế kỷ XXI mà thôi.

Giải mã chi tiết về bộ gen của người (human genome) là mơ ước từ lâu của các nhà sinh học, nhưng là công việc có khối lượng đồ sộ tưởng chừng không thể thực hiện được. Nhờ sự ra đời của kỹ thuật di truyền cùng những thành tựu mới như

tạo được nhiễm sắc thể nhân tạo, hay điện di trong trường xung (pulse field electrophoresis) cho phép tách các đoạn ADN dài cả triệu nucleotid. Cuối năm 1989, ở Mỹ chương trình xác định trình tự nucleotid bộ gen người với kinh phí 3 tỷ USD được chấp nhận gọi là **chương trình bộ gen người** (Human Genome Project). Chương trình dự kiến trong 15 năm:

- Năm năm đầu lập bản đồ gen trên nhiễm sắc thể được 50%, xác định trình tự nucleotid 1% bộ gen, cải tiến kỹ thuật từ 5 – 10 lần.

- Năm năm tiếp theo lập bản đồ gen 100%, xác định trình tự nucleotid 10% bộ gen và cải tiến kỹ thuật 5 – 10 lần nữa.

- Năm năm cuối cùng, tức là đến năm 2003 – 2004, đã xác định được trình tự nucleotid toàn bộ bộ gen người.

Tham gia chương trình này có khoảng 80 phòng thí nghiệm lớn trên thế giới. Bước tiến dài trong xác định trình tự nucleotid bộ gen người là việc **sử dụng các EST** (expressed sequence tags) để chuyển mARN thành các cADN nhờ khuếch đại PCR. Nhờ kỹ thuật này, sự biểu hiện gen ở các mô đặc hiệu được ghi nhận. Trình tự cADN được gắn vào vector plasmid để tạo dòng. Sự lựa chọn các dòng để xác định trình tự nucleotid và sự so sánh tiếp theo cho phép đánh giá **mức độ biểu hiện** của gen ở các mô khác nhau. Dò theo các EST giúp xác định phân bố của các gen mã hoá trên các nhiễm sắc thể, xây dựng bản đồ di truyền và vật lý của bộ gen người và định rõ được các gen gây bệnh.

Trong số 87.983 trình tự EST khác nhau, 10.211 trình tự khi đánh giá tiếp là những gen đã biết (căn cứ số liệu thống kê của database), số còn lại là các gen trước đó chưa biết chức năng. Gần 40% các gen được xác định ở người liên quan đến trao đổi chất cơ bản, cấu trúc tế bào, nội cân bằng (homeostasis) và phân bào, 22% với ARN và sinh tổng hợp protein, 12% liên quan đến các tín hiệu và liên lạc giữa các tế bào.

Ngày nay, người ta đã giải mã được hơn 99% bộ gen người và cho rằng số gen người chỉ nằm trong khoảng 30.000 – 40.000 (không phải 100.000 như dự đoán trước đây).

Nhưng theo đa số các đánh giá, trình tự mã hoá cho gen chỉ chiếm 3% của hơn 3 tỷ nucleotid, nên phải tiếp tục giải mã những đoạn khác mới thấu hiểu được hoạt động toàn vẹn của bộ gen chứ không phải từng gen riêng lẻ.

Phân tích chức năng bộ gen

Xác định trình tự nucleotid của bộ gen chỉ là bước đầu, bước thách thức tiếp theo là phải xác định xem mỗi gen tác động như thế nào. **Phân tích chức năng bộ gen** (functional genomic analysis) là mục tiêu sắp tới của các nhà khoa học.

Mặc dù có nhiều kỹ thuật sinh học phân tử được sử dụng cho phân tích chức năng của bộ gen, nhưng các nhà khoa học cho rằng tốc độ hiện nay rất chậm vì khối lượng thông tin quá lớn, vì vậy cần được tăng cường:

- Sử dụng tin sinh: Tin sinh (bioinformatics) là chìa khoá để xử lý các số liệu phân tích bộ gen liên quan giữa mã hoá và hoạt động, phát triển, bệnh lý,... Tiếp theo là xây dựng các mô hình tương tác của bộ gen.

- Sử dụng các hệ thống mô hình động vật như chuột, *Drosophila*, tuyến trùng và nấm men. Ví dụ, *Caenorhabditis elegans* có bộ gen đã được xác định trình tự nucleotid hơn 60% và khoảng 80% của tất cả các gen biết được gây bệnh ở người có tương đồng ở tuyến trùng này. Tất nhiên, việc xác định một gen gây bệnh chỉ có giá trị khi biết được sinh lý bệnh của gen đó mà thôi.

6.6. Di truyền ngoài nhiễm sắc thể

Có những tính trạng trong sinh giới chịu sự kiểm soát của các gen ngoài nhiễm sắc thể. Ở sinh vật nhân thật có nhiều tính trạng di truyền theo kiểu ngoài nhiễm sắc thể, các gen mã hoá chúng nằm ở ty thể và lục thể.

6.6.1. Ty thể và lục thể

Ty thể là thành phần quan trọng của các tế bào động vật và thực vật ưa khí, đây là những cơ quan tử khá phức tạp có màng kép và có chứa các enzym tham gia vào chuỗi vận chuyển điện tử (các cytochrom) do xúc tác các phản ứng tạo thành ATP.

Lục thể chỉ có trong các tế bào thực vật, có loại không màu, có loại có màu. Lục thể là loại lục thể có màu chứa chất diệp lục có ở lá cây xanh tham gia vào quá trình quang hợp. Trung bình mỗi tế bào lá của thực vật bậc cao chứa khoảng 40 – 50 lục thể.

Vật chất di truyền có trong ty thể và lục thể là các ADN chuỗi kép, trần, mạch vòng. ADN này khác với ADN nhân, do đó có thể tách được nhờ ly tâm trong gradient tỷ trọng CsCl. Ngoài ra, các cơ quan này còn chứa ribosom và tổng hợp protein.

6.6.1.1. Các gen của ty thể

ADN của ty thể mã hoá nhiều thành phần của ty thể. Hai rARN tìm thấy trong các ribosom ty thể được mã hoá trong mtADN (ADN của ty thể), trong khi phần lớn protein của ribosom do các gen trong nhân quy định, mtADN cũng mã hoá cho 22–23 loại tARN và 10–12 loại protein có trong thành phần của màng bên trong ty thể.

6.6.1.2. Hệ gen của lap thể

Ở nhiều thực vật hệ gen lap thể (cpADN) có hàm lượng GC khác biệt so với ADN nhân và ADN ty thể, cpADN lớn hơn mtADN động vật tới 8–9 lần, tuy nhiên có tỷ lệ với lượng thông tin di truyền hay không thì còn chưa rõ. Chỉ có một số gen liên quan đến kiểu hình của lap thể. Có nhiều bản sao cpADN trong một lap thể. Ví dụ, trong lá một số thực vật bậc cao có tới 6000 phân tử cpADN trong một tế bào phân bố trong khoảng 40 lap thể, có 4 đến 18 vùng nhân (nucleotid) trong mỗi lap thể và mỗi vùng nhân có tới 4 đến 8 phân tử cpADN.

Hệ gen lap thể có chứa các gen mã hoá rARN lap thể, mã hoá nhiều tARN và có thể cả một số protein của ribosom cũng như mã hoá cho ba tiểu đơn vị của enzym lap thể đa hợp phần, cũng như mã hóa cho một số protein màng lap thể cần thiết cho vận chuyển điện tử trong quá trình quang hợp.

6.6.2. Đặc điểm di truyền ngoài nhiễm sắc thể

Các tính trạng do di truyền ngoài nhân quy định có kiểu di truyền riêng:

- Kết quả lai thuận và lai nghịch khác nhau: các con luôn có kiểu hình của mẹ, còn gọi là kiểu di truyền theo dòng mẹ.
- Các đột biến của gen tế bào chất không thể đưa vào bất cứ nhóm liên kết nào.
- Các tính trạng do gen tế bào chất quy định vẫn sẽ tồn tại khi thay thế nhân tế bào bằng một nhân có cấu trúc di truyền khác.

6.6.3. Một số ví dụ về di truyền ngoài nhân

6.6.3.1. Tính bất thụ được bào chất ở ngô

Có những cây ngô mang bao phấn rỗng hoặc có những hạt phấn bất thụ kém phát triển do các nhân tố tế bào chất. Nếu thụ phấn cho cây bị bất thụ được bằng hạt phấn bình thường của các cây khác thì trong phần lớn trường hợp được các cây thế hệ sau bất thụ được. Khi lặp lại phép lai này thì chúng bất thụ được không bị mất đi mà di truyền theo dòng mẹ. Chúng bất thụ được ký hiệu là cyt^S , còn các tế bào có hạt phấn hữu thụ bình thường thì gọi là cyt^N . Tuy nhiên, các gen trong nhân cũng ảnh hưởng đến tác dụng của tế bào chất bất thụ. Tế bào chất cyt^S chỉ có thể tạo nên hạt phấn bất thụ khi trong kiểu gen của cây gen lặn rfr (không phục hồi) ở trạng thái đồng hợp tử rfr/rfr . Còn nếu gen này là alen trội Rf (phục hồi tính hữu thụ) thì các cây $cyt^S Rf/Rf$ và $cyt^S Rf/rfr$ có hạt phấn bình thường. Từ đó, các cây $cyt^N rfr/rfr$, $cyt^N Rf-$ và $cyt^S Rf$ có hạt phấn hữu thụ, chỉ những cây $cyt^S rfr/rfr$ mới có hạt phấn bất thụ hoàn toàn. Tất cả các phép lai nhiều lần ♀ $cyt^S rfr/rfr \times \text{♂ } cyt^N rfr/rfr$ luôn cho thế hệ sau mang các hạt phấn bị bất thụ hoàn toàn. Chỉ có phép lai $cyt^S rfr/rfr \times cyt^S Rf/Rf$ (hoặc $cyt^N Rf/Rf$) mới có thể cho các cây thế hệ sau với tất cả các hạt phấn

bình thường mặc dù tế bào chất là cyt^S . Rf không làm biến đổi cấu trúc và đặc tính của tế bào chất cyt^S , mà chỉ ức chế sự biểu hiện tác dụng của tế bào chất bất thụ.

6.6.3.2. Tính thiếu năng hô hấp ở nấm men

Trong nuôi cấy *Saccharomyces cerevisiae* tạo nên một số nấm lạc nhỏ với đường kính bằng 1/3 hoặc 1/2 nấm lạc bình thường. Đây là tính trạng theo di truyền ngoài nhân hay tế bào chất, các tế bào bị đột biến petite bị thiếu các cytochrom b, c, a, $+a_3$, và cytochrom oxydase, đây là những enzym màng phía trong ty thể. Các nòi petite có thể lai với các nòi bình thường và bằng cách phân tích kiểu hình của thế hệ con người ta phân biệt được ba loại đột biến petite, trong đó có hai loại là di truyền ngoài nhiễm sắc thể: đột biến petite trong nhân pet^- , đột biến petite ngoài nhiễm sắc thể mang nhân tố $[\text{rho}^-_{(N)}]$ khác với thể bình thường $[\text{rho}^+]$, và đột biến petite ức chế ngoài nhiễm sắc thể với nhân tố ngoài nhiễm sắc thể là $[\text{rho}^-_{(S)}]$.

7. ĐỘT BIẾN VÀ BIẾN DỊ

7.1. Đột biến

7.1.1. Phát sinh đột biến

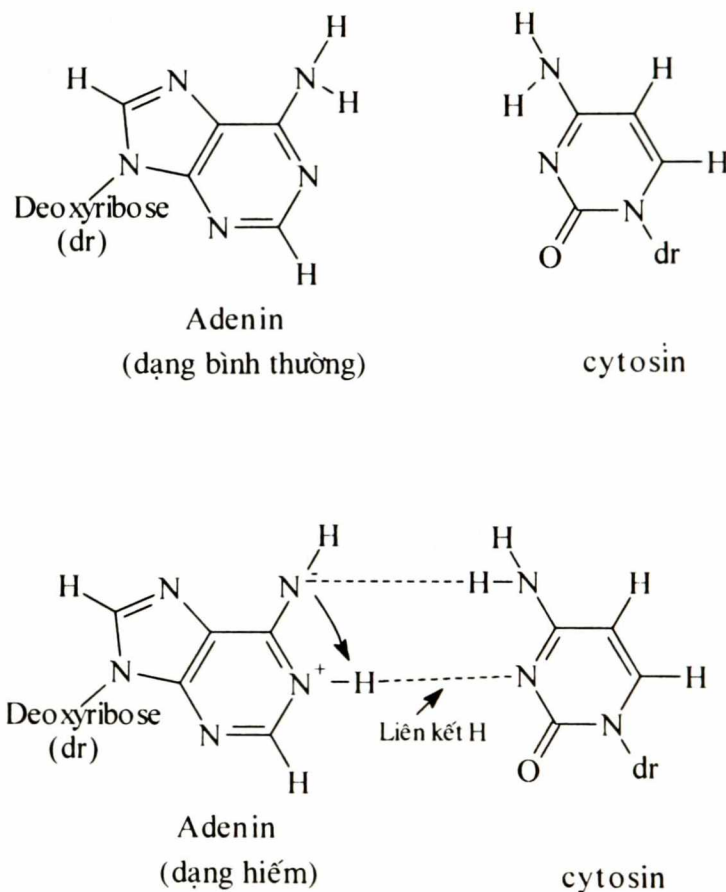
Đột biến là những biến đổi trong kiểu gen hay trong trình tự các cặp base của ADN sinh vật nói chung. Ngày nay có một số phương pháp để thay đổi hệ gen của sinh vật (đột biến, tái tổ hợp). Về tổng thể có hai dạng đột biến: *đột biến hệ gen* (genom) và *đột biến gen*.

Đột biến hệ gen là làm thay đổi số genom của sinh vật (ví dụ, từ đơn bội thành đa bội), có giá trị trong biến đổi giống thực vật.

Đột biến gen là làm thay đổi cấu trúc của gen – thay đổi trình tự các cặp base trong cấu trúc ADN của sinh vật. Đột biến này có hai kiểu chính: đột biến điểm và đột biến chuyển (trượt) khung. **Đột biến điểm** có hai kiểu chính là đột biến đổi dịch (đồng hoán – transition) và đột biến đảo dịch (dị hoán – transversion). **Đột biến trượt khung** về thực chất là thêm vào hoặc mất đi các cặp base nucleotid làm thay đổi khung đọc mã của ADN. Phần lớn những biến đổi chỉ diễn ra với một cặp base riêng lẻ thì có thể dễ bị hồi biến. Hậu quả của đột biến phụ thuộc vào vị trí của nucleotid ở trong gen, và vì vậy, không phải tất cả các đột biến đều dẫn đến kiểu hình bị biến đổi của sinh vật đang nghiên cứu. Sự sinh ra đột biến gọi là *phát sinh đột biến* (mutagenesis), còn tác nhân gây ra đột biến gọi là *tác nhân đột biến*.

7.1.2. Đột biến ngẫu nhiên

Đột biến phát sinh không có sự tham gia của tác nhân đột biến gọi là đột biến ngẫu nhiên. Cả các biến đổi của các cặp base cũng như các sai hình của nhiễm sắc thể đều có thể xảy ra một cách ngẫu nhiên. Ví dụ, phân tử adenin có thể tồn tại ở hai dạng cấu hình. Ở dạng bền vững adenin tạo nên hai liên kết hydro với thymin trên mạch ADN bổ sung, nhưng không thể tạo liên kết hydro với cytosin. Nhưng nếu adenin bị hồ biến làm cho nguyên tử hydro chuyển từ C6-amin sang 1-N thì mỗi liên kết với cytosin có thể hình thành ở hai vị trí (hình 3.33).



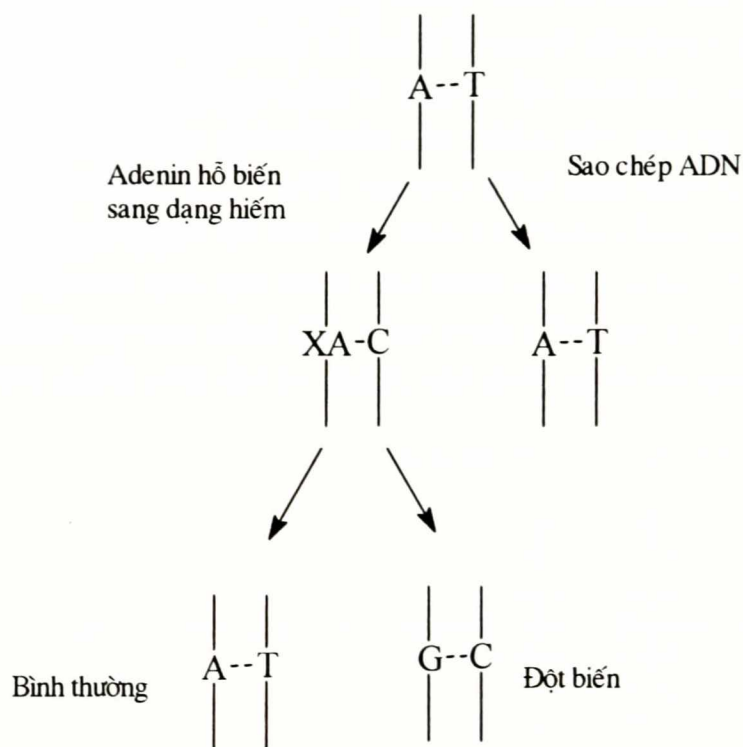
Hình 3.33. Adenin chuyển sang dạng hiếm dẫn đến bắt cặp bất thường adenin–cytosin

Nếu diễn ra sự kết cặp AC trong khi ADN đang sao chép thì sau đó một trong hai chuỗi kép ADN sẽ có cặp GC thay cho AT ở vị trí đó. Đây là ví dụ về đột biến đổi dịch (hình 3.34). Hậu quả của đột biến này đối với tế bào phụ thuộc vào vị trí của cặp base bị thay thế trong gen.

7.1.3. Đột biến gây tạo

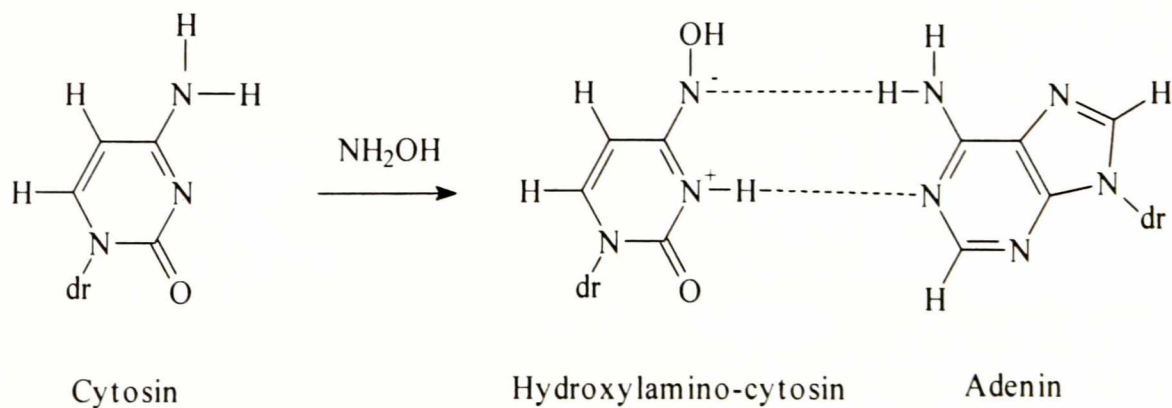
Các đột biến được sinh ra bởi các tác nhân đột biến vật lý hay hoá học được gọi là đột biến gây tạo. Các tác nhân đột biến vật lý thường sử dụng là tia X, tia

gamma và ánh sáng tử ngoại. Hậu quả của việc chiếu tia X hoặc tia gamma là làm gãy nhiễm sắc thể dẫn đến những sai hình nhiễm sắc thể hoặc làm chết tế bào. Còn các tác nhân hoá học có thể tác động theo một số cơ chế khác nhau phụ thuộc vào đặc tính cơ chế phản ứng hoá học của chúng với các base của ADN.



Hình 3.34. Đột biến ngẫu nhiên do adenin hồ biến bất cặp sai trong sao chép

7.1.3.1. Đột biến gây tạo do hydroxylamin

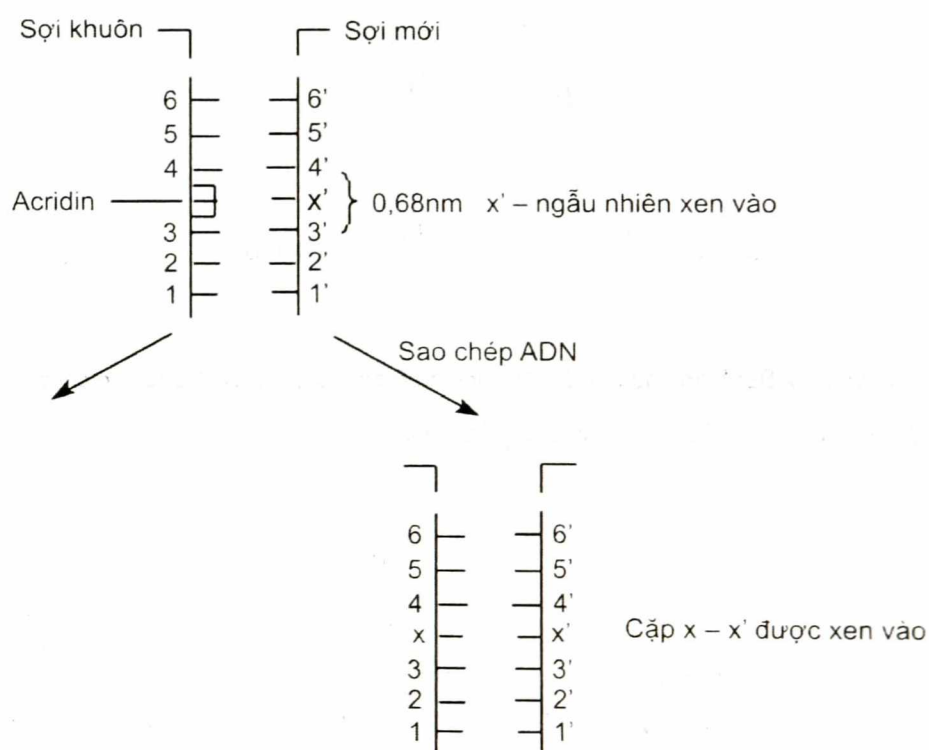


Hydroxylamin (NH_2OH) chỉ tác dụng với cytosin, biến đổi không thuận nghịch cytosin sang dạng bất cặp được với adenin, gây ra đột biến từ GC $\rightarrow$ AT. Các đột biến do hydroxylamin gây ra không thể hồi biến khi xử lý với chính chất này, trong khi các hồi biến có thể sinh ra do xử lý 5-bromouracil, 2-aminopurin, acid

nitơ, vì các tác nhân này có thể thực hiện đổi dịch thuận nghịch từ GC sang AT và ngược lại.

7.1.3.2. Các acridin

Xử lý acridin làm mất đi hoặc thêm vào một cặp base trên ADN. Việc này đưa đến những hậu quả nghiêm trọng vì trình tự acid amin trong protein, do đoạn gen bị biến đổi mã hoá sẽ bị thay đổi cơ bản. Ở nồng độ tương đối thấp, acridin xen vào giữa các cặp base kế cận trên ADN, làm cho khoảng cách giữa hai sợi này dài thêm 0,68nm, gấp đôi khoảng cách bình thường. Nếu vị trí acridin xen vào nằm trên sợi khuôn, thì một base ngẫu nhiên sẽ được xen vào sợi đang được tổng hợp ở vị trí đối diện với phân tử acridin. Ở chu trình tiếp theo một cặp base mới sẽ được bổ sung vào ADN và trở thành đột biến chèn thêm (đột biến xen-insertion mutation). Nếu acridin xen vào trên sợi đang tổng hợp sẽ gây ra hồi biến (hình 3.35).

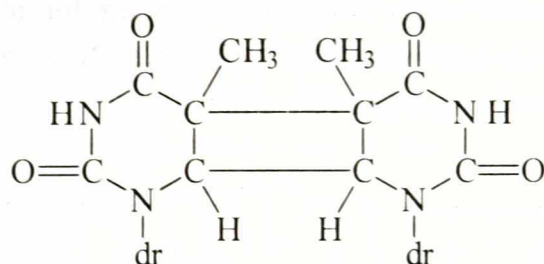


Hình 3.35. Tác dụng gây đột biến của acridin

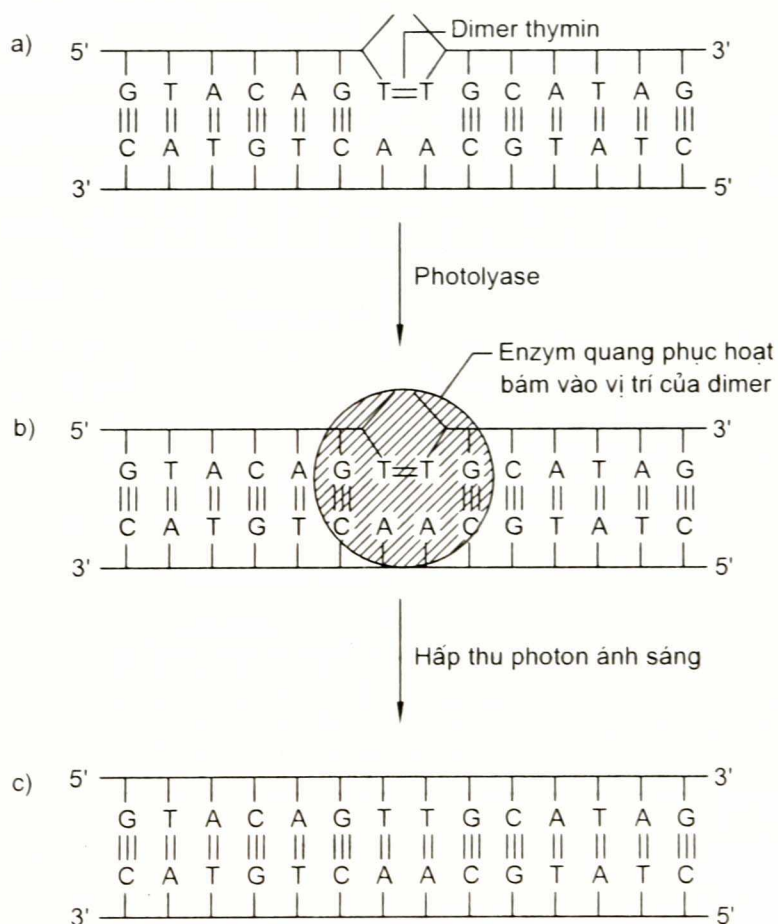
7.1.4. Sửa chữa đột biến

Cơ thể sinh vật chịu nhiều tác động từ môi trường gây tổn hại đến ADN và do đó cần tới nhiều cơ chế sửa chữa đã và đang hoạt động để loại bỏ các đột biến trên ADN. Trên mô hình tác dụng của ánh sáng UV tạo thành dimer thymin-thymin hay cytosin-cytosin ta nghiên cứu cơ chế sửa chữa của cơ thể. Các dimer làm sai lệch ADN đến mức các purin trên sợi đối diện không thể kết hợp được. Nếu không loại bỏ được các dimer thì tế bào có thể bị chết, hoặc nếu các nucleotid sai dính vào

vị trí đối diện các dimer trong quá trình sao chép, có thể dẫn đến đột biến. Hai cơ chế hoạt động ở đây là quang phục hoạt và sửa chữa cắt bỏ.



7.1.4.1. Quang phục hoạt

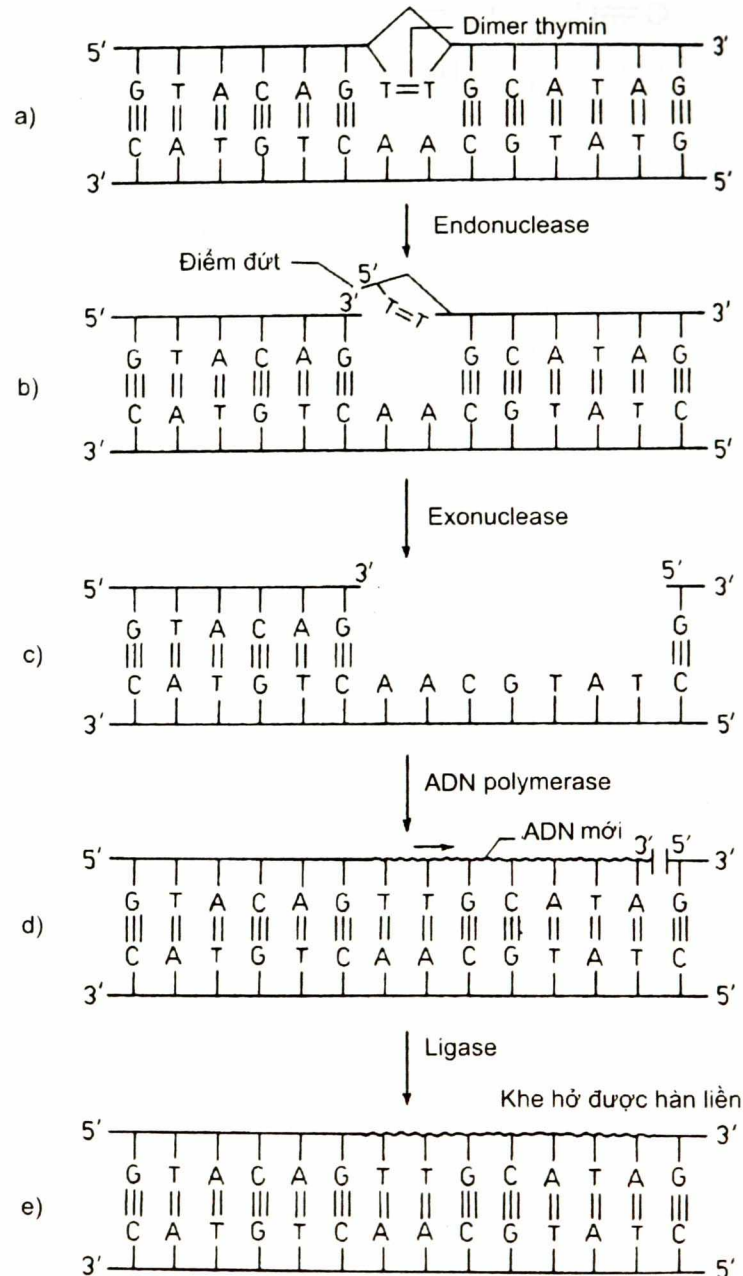


Hình 3.36. Quang phục hoạt đối với dimer thymine do UV tạo ra

Trong quá trình quang phục hoạt các dimer pyrimidin do ánh sáng tử ngoại tạo ra trực tiếp phục hồi trở lại trạng thái ban đầu. Phản ứng này xảy ra nếu ánh sáng thường chiếu vào tế bào mới xử lý tử ngoại, vậy nên phản ứng được gọi là “quang phục hoạt” (hình 3.36). Quá trình hồi biến được xúc tác bởi enzym photolyase, đơn phân hoá các dimer sau khi được hoạt hoá bởi photon ánh sáng có bước sóng 320 – 370nm. Các enzym này có thể là rất phổ biến.

7.1.4.2. Sửa chữa bằng cắt bỏ

Các dimer được cắt rời khỏi ADN nhờ tác dụng của enzym nuclease và ligase (hình 3.37). Đây là “sửa chữa trong bóng tối” vì không đòi hỏi phải có ánh sáng. Cơ chế sửa chữa bằng cắt bỏ rất phức tạp ở *E. coli*. Nói chung có những enzym nuclease hiệu chỉnh đặc thù tham gia sửa chữa.



Hình 3.37. Sửa chữa với cơ chế cắt bỏ đối với dimer thymin trong ADN

Bước đầu tiên là nhận biết dimer trên ADN, tiếp theo là sự hình thành vết đứt trên sợi đơn dưới tác dụng của endonuclease hiệu chỉnh. Các enzym này thường là các protein nhỏ, phân tử lượng khoảng 30.000D. Tất cả các enzym được biết cho tới

nay đều cắt ADN ở vị trí sát cạnh chỗ hỏng. Đầu 5' rời ra và trở thành cơ chất cắt bỏ cho hoạt tính exonuclease 5' sang 3' của ADN polymerase I. Sau khi đoạn ADN có chứa dimer pyrimidin được cắt bỏ, một đoạn mới được trùng hợp theo chiều 5' đến 3' dưới tác dụng của ADN polymerase I. Khe hở còn lại trên sợi đơn ADN được nối lại bằng enzym ligase. Quá trình sửa chữa trong bóng tối là phổ biến trong các sinh vật khác và nhiều enzym liên quan cũng đã được xác định.

7.1.5. Tách các thể đột biến

Các đột biến ngẫu nhiên và kể cả các đột biến gây tạo chỉ xảy ra với một số nhỏ tế bào hoặc cơ thể trong quần thể. Vì vậy, muốn tách các thể đột biến cần phải có những phương pháp thích hợp.

7.1.5.1. Đột biến trông thấy

Là những đột biến mà kiểu hình có thể quan sát bằng mắt thường hoặc kính hiển vi quang học. Trường hợp sinh vật lưỡng bội cần phải chuyển sang đồng hợp tử thì mới phát hiện được đột biến.

7.1.5.2. Đột biến sinh trưởng

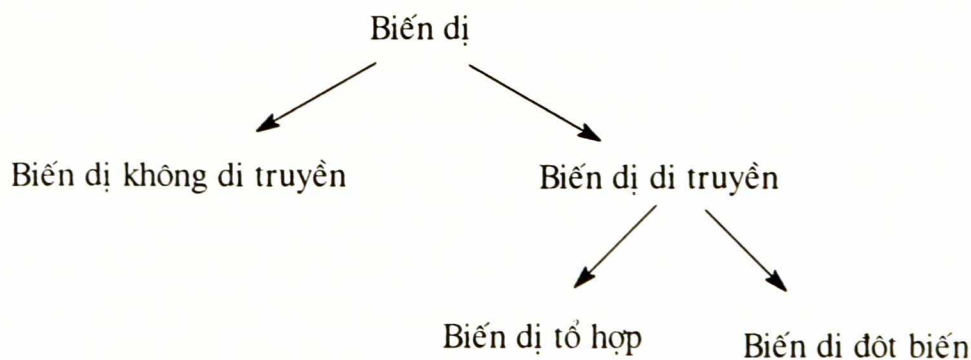
Đột biến sinh trưởng, đột biến khuyết dưỡng, đột biến có điều kiện là những đột biến cần quan tâm.

7.2. Biến dị

Biến dị là đặc tính biến đổi của sinh vật thể hiện khả năng có thêm những tính trạng mới và mất đi những tính trạng đã có, biểu hiện tính đa dạng muôn hình vẻ của thế giới hữu sinh. Cả di truyền và biến dị đều biểu hiện chức năng và quy luật vận động của vật chất di truyền.

7.2.1. Phân loại biến dị

Có thể phân loại biến dị theo sơ đồ như trên hình 3.38.



Hình 3.38. Phân loại biến dị

Nguyên tắc phân loại biến dị ở đây là dựa trên nguyên nhân gây biến dị.

7.2.2. Thường biến (modification)

Thường biến là sự biểu hiện đa dạng của các kiểu gen giống nhau trong những điều kiện môi trường khác nhau. Nói cách khác, cùng một kiểu gen trong những điều kiện ngoại cảnh khác nhau sẽ có những kiểu hình khác nhau, sự đa dạng kiểu hình chính là thường biến.

$$\text{Kiểu gen} + \left. \begin{array}{l} \text{môi trường 1} = \text{kiểu hình 1} \\ \text{môi trường 2} = \text{kiểu hình 2} \\ \text{môi trường 3} = \text{kiểu hình 3} \\ \text{môi trường 4} = \text{kiểu hình 4} \end{array} \right\} \text{Biến dị thường biến}$$

Thường biến có ở khắp nơi trong sinh giới. Ví dụ, giống thỏ Himalaya nuôi ở 35°C thì lông hoàn toàn là màu trắng, nuôi ở 5°C thì bộ lông hoàn toàn là màu đen, còn nuôi ở 20 – 30°C thì có bộ lông Himalaya điển hình: thân trắng, còn mũi, tai, bốn chân thì đen. Ở nấm men *Saccharomyces cerevisiae* đột biến tế bào dài rpm (rough pseudomycelial) có kiểu hình tế bào thay đổi theo độ pH môi trường: pH = 7 thì tế bào rất dài, khi pH = 5 – 6 thì tế bào hình elip. Cây tử dương trồng trên đất chua có hoa màu hồng nhạt, còn trên đất kiềm cho hoa màu xanh lam,...

Không thể dùng thường biến làm nguyên liệu chọn giống. Nhưng có thể dùng sự thay đổi của môi trường để điều chỉnh kiểu hình trong một phạm vi nhất định – phạm vi phản ứng của cơ thể.

7.2.3. Biến dị tổ hợp

Biến dị tổ hợp là sự biểu hiện kiểu hình của các tổ hợp gen và tổ hợp nhiễm sắc thể mới hình thành trên cơ sở hai quá trình:

- Sự phân ly độc lập của các nhiễm sắc thể trong giảm phân và sự kết hợp ngẫu nhiên của chúng khi thụ tinh.
- Sự trao đổi chéo và tái tổ hợp của các gen.

Trong kiểu biến dị này, bản thân các gen không bị biến đổi mà chỉ biến đổi các tổ hợp và tính chất tương tác của chúng trong hệ thống kiểu gen.

Nắm vững quy luật hình thành các tổ hợp gen và tổ hợp nhiễm sắc thể mới, nhà chọn giống có thể tạo ra các tổ hợp gen theo ý muốn bằng cách tiến hành những sơ đồ lai thích hợp. Công trình tạo ra giống lúa mì chịu đông Bezostaia-1 của P.P. Lukianhenco là một ví dụ: giống Bezostaia-1 thừa kế từ giống Klein 33 của Argentina có tính trạng ngắn cây, chín sớm, chống gỉ sét; kế thừa từ giống Effimovka 17 có tính chịu đông,... Đây là giống lúa mì được công nhận là chịu được những khắc nghiệt mùa đông tốt nhất thế giới.

Tế bào người có 23 cặp nhiễm sắc thể, khi giảm phân sẽ tạo ra 2^{23} loại giao tử. Số tổ hợp từng ấy loại giao tử trong thụ tinh ngẫu nhiên là 4^{23} . Thêm vào đó là các biến dị do tái tổ hợp thì con số các biến thiên sẽ vô cùng lớn.

Biến dị tổ hợp giữ vai trò quan trọng nhất trong tiến hoá vì chính nó tạo nên sự đa dạng di truyền đến mức không có hai cá thể hoàn toàn giống nhau. Công tác lai tạo giống chủ yếu tạo ra nhiều biến dị tổ hợp để chọn lựa các dạng tối ưu nhất làm giống.

7.2.4. Biến dị đột biến

Cách phân loại đột biến được thừa nhận rộng rãi là dựa trên nguyên nhân dẫn đến đột biến, nghĩa là theo nguyên nhân dẫn đến biến đổi kiểu gen. Như vậy, có 4 loại đột biến:

1. *Đột biến gen*, còn gọi là *đột biến điểm*, không nhìn thấy được qua kính hiển vi.
2. *Đột biến nhiễm sắc thể* bao gồm:
 - Các biến đổi bên trong mỗi nhiễm sắc thể, như mất đoạn, thêm đoạn, đảo đoạn.
 - Biến đổi diễn ra giữa các nhiễm sắc thể: một đoạn của nhiễm sắc thể có thể bị đứt ra và nối vào một nhiễm sắc thể khác.
3. *Đột biến hệ gen* bao gồm:
 - Tăng hoặc giảm số lượng hệ gen (bộ nhiễm sắc thể đơn bội đầy đủ), còn gọi là đa bội thể và đơn bội thể.
 - Thay đổi số lượng các nhiễm sắc thể trong bộ nhiễm sắc thể lưỡng bội (lệch bội).
4. *Đột biến tế bào chất* là những biến đổi xảy ra trong ADN nằm trong tế bào chất như ty thể, lạp thể, plasmid,...

Các loại đột biến đều đã được đề cập, nên ở phần này chỉ đề cập đến các đột biến hệ gen, tức đa bội thể.

7.3. Đa bội thể

Đa bội thể là sự gia tăng số lượng cả bộ đơn bội của các nhiễm sắc thể. Các tế bào hoặc sinh vật nếu có ba bộ nhiễm sắc thể đơn bội, ký hiệu là $3n$ và gọi là tam bội; nếu có bốn bộ nhiễm sắc thể đơn bội, ký hiệu là $4n$ và gọi là tứ bội, v.v...

Đa bội thể hoá thường làm biến đổi các tình trạng của sinh vật, và vì thế là nguồn biến dị quan trọng trong tiến hoá và trong chọn giống, đặc biệt là ở thực vật. Đặc tính chung của các dạng đa bội thể là có kích thước tế bào lớn. Cùng với sự tăng dung tích chung của tế bào thường diễn ra hàng loạt những biến đổi về sinh lý và hoá sinh của chúng: tăng lượng nước, giảm áp suất thẩm thấu, thay đổi

hàm lượng của nhiều chất như protein, diệp lục tố, vitamin v.v... làm thay đổi tính chống chịu của các dạng đa bội thể đối với biến động của các nhân tố ngoại cảnh.

Các dạng đa bội thường tạo thành dãy gọi là *dãy đa bội*. Ví dụ, chi lúa mì *Triticum* bao gồm một số loài phân thành ba nhóm khác nhau về số lượng nhiễm sắc thể, các đặc tính cũng như tính trạng của cây. Nhóm thứ nhất là *T. monococcum* có trong các tế bào soma, số nhiễm sắc thể lưỡng bội bằng 14. Nhóm thứ hai là lúa mì cứng *T. durum* có 28 nhiễm sắc thể. Nhóm thứ ba là lúa mì mềm *T. aestivum* có 42 nhiễm sắc thể. Số nhiễm sắc thể cơ bản ở lúa mì là 7, thì lúa mì đơn hạt (nhóm đầu) là dạng lưỡng bội ($7 \times 2 = 14$), lúa mì cứng là các dạng tứ bội ($7 \times 4 = 28$), còn lúa mì mềm là thể lục bội ($7 \times 6 = 42$). Đây chính là dãy đa bội. Hiện tượng này phát hiện thấy ở nhiều thực vật khác và mỗi dãy đa bội có từ hai thành phần trở lên.

7.3.1. Tự đa bội

Các dạng đa bội xuất hiện trên cơ sở tăng hệ gen của một loài gọi là tự đa bội. Nếu ký hiệu số nhiễm sắc thể cơ bản là A thì A là thể đơn bội, AA là thể tự lưỡng bội, AAA là thể tự tam bội, AAAA là thể tự tứ bội, v.v... Các thể tự đa bội xuất hiện với các hình thức sinh sản khác nhau. Các thể tự đa bội ở các loài sinh sản vô phôi hoặc sinh dưỡng là có giá trị nhờ tính ổn định lâu dài. Trong sinh sản hữu tính, các dạng tự đa bội sinh ra các cá thể rất đa dạng và vì thế không ổn định.

7.3.2. Dị đa bội

Các dạng đa bội xuất hiện trên cơ sở tăng số lượng gen thuộc các loài khác nhau gọi là các dạng dị đa bội. Ví dụ, ở con lai khác loài kết hợp được các hệ gen A và B thì dạng dị đa bội nhận được sẽ là AABB. Vì vậy, người ta còn gọi dị đa bội là đa bội lai, có giá trị thực tiễn lớn.

Thường các dạng lai xa là bất thụ. Ví dụ, cây lai cải củ – cải bắp mang trong mình hai hệ gen *R* (của cải củ) và *B* (của cải bắp) với tổng số nhiễm sắc thể là 18 (9 của cải củ và 9 của cải bắp). Khi cây lai đó giảm phân, vì các dạng nhiễm sắc thể của một dạng cha mẹ (cải củ hoặc cải bắp) không có các dạng tương đồng thuộc dạng cha mẹ kia, cho nên không hình thành được thể lưỡng trị mà cả 18 nhiễm sắc thể đều ở dạng riêng rẽ, nên các giao tử được sinh ra có số lượng nhiễm sắc thể rất khác nhau từ 0 đến 18, và ở trạng thái bất cân bằng, không có khả năng sống (bất thụ).

Nhưng ở cây lai đó có một số giao tử, cả đực và cái sẽ có 18 nhiễm sắc thể ($9R + 9B$). Khi thụ phấn với nhau, các giao tử như thế sẽ tạo ra hợp tử mang hai

bộ nhiễm sắc thể lưỡng bội của hai loài. Hợp tử này gọi là dạng song nhị bội (amphidiploid) mang cấu trúc nhiễm sắc thể $18R + 18B$ và như thế rất hữu thụ. Việc tạo ra được các thể song nhị bội đã mở ra triển vọng tổ hợp được các giống mới bằng cách lai xa. Cây lai *Raphanobrassia* giữa cải củ *Raphanus sativus* và cải bắp *Brassia oleracea* rất khoẻ và kết hợp được các tính trạng cả của cải củ và cải bắp.

7.3.3. Đa bội thể ở động vật

Ở động vật phân tính rất ít thấy có đa bội thể. Còn ở các loại động vật khác đa bội thể quan sát thấy trong thiên nhiên và tạo ra được trong thực nghiệm như: các cá thể đa bội thể của tầm, triton và oxolotl. Các dạng tứ bội của tầm *Bombix mori* các con cái hữu thụ, còn các con đực bất thụ. Nguyên nhân là do ở các con đực đồng giao tử trong giảm phân tạo thành các thể đa trị, vì vậy các giao tử hình thành có số nhiễm sắc thể lệch bội không có khả năng sống. Ở con cái dị giao tử sự tiếp hợp của các nhiễm sắc thể trong giảm phân bị hạn chế nên các thể đa trị không hình thành được và các giao tử đực được tạo ra có khả năng sống.

Ở những động vật mà sinh sản hữu tính bị thay thế bởi trinh sinh thì đa bội thể xảy ra gần như ở thực vật. Các dây đa bội quan sát thấy ở giun dưa, giun đất, bướm và một số động vật khác. Ở các động vật có vú phát hiện thấy các hợp tử tam bội, nhưng chúng chỉ sống được đến một nửa giai đoạn của phôi và thường phát hiện thấy trong các trường hợp sảy thai hoặc đẻ ra đã chết.

Dạng dị đa bội tầm đầu tiên từ tầm lai khác loài *Bombix mori* và *B. mandarina*. Để tạo ra dạng dị tứ bội người ta đã dùng phương pháp trinh sinh nhân tạo. B. L. Austarov đã chọn ra các dạng cả đực và cái mang hai bộ nhiễm sắc thể của mỗi loài: $2n$ *B. mori* và $2n$ *B. mandarina*, tức là chọn ra được các dạng song nhị bội, hay còn gọi là dị tứ bội.

Trong giới động vật, đa bội thể tương đối phổ biến trong các tế bào soma, tức là trong trường hợp tế bào sinh sản bằng nguyên phân.

7.4. Đa bội thể lệch

Sự thay đổi nhiễm sắc thể chỉ liên quan đến một cặp hoặc một số cặp nhiễm sắc thể được gọi là đa bội thể lệch hay lệch bội lẻ hoặc đa nhiễm (aneuploidy).

7.4.1. Các dạng đa bội thể lệch

7.4.1.1. Thể đơn nhiễm hay thể một (monosomic)

Các sinh vật lưỡng bội bị mất một nhiễm sắc thể của một cặp được gọi là thể đơn nhiễm với công thức bộ gen là $2n - 1$. Nhiễm sắc thể đơn độc không có cặp

tương đồng trong tiếp hợp giảm phân I nên có thể di chuyển về bất kỳ cực nào của tế bào, nhưng có thể bị mất và không nằm ở nhân nào của tế bào con. Thể đơn nhiễm có thể tạo hai loại giao tử: (n) và $(n - 1)$. Ở thực vật mất một nhiễm sắc thể $(2n - 1)$ có thể vẫn sống với một số biến dạng. Ở động vật, việc mất nguyên một nhiễm sắc thể làm mất cân bằng di truyền nên thường bị chết hoặc bất thụ.

7.4.1.2. Thể tam nhiễm hay thể ba (trisomic)

Thể lưỡng bội nếu có dư một nhiễm sắc thể được gọi là thể tam nhiễm với công thức bộ gen là $2n + 1$. Trong giảm phân I, nhiễm sắc thể dư có thể tiếp hợp với hai nhiễm sắc thể kia tạo thành bộ ba (tam trị - trivalent). Nếu hai nhiễm sắc thể về một cực và nhiễm sắc thể lẻ về cực kia sẽ tạo ra hai loại giao tử $(n + 1)$ và (n) tương ứng. Tam nhiễm có thể tạo ra các kiểu hình khác nhau phụ thuộc vào nhiễm sắc thể nào có bộ ba. Ở người, tam nhiễm ở nhiễm sắc thể 21 gây hội chứng Down.

7.4.1.3. Thể tứ nhiễm hay thể bốn (tetrasomic)

Khi một cặp nhiễm sắc thể của sinh vật lưỡng bội có thêm hai nhiễm sắc thể thì gọi là tứ nhiễm, với công thức bộ gen là $2n + 2$. Trong giảm phân I, 4 nhiễm sắc thể tiếp hợp có thể tạo thành bộ bốn, hay tứ tử (quadruvalent) và có sự phân ly về các cực như tự tứ bội.

7.4.1.4. Thể tam nhiễm kép (double trisomic)

Thể này có được khi tam bội ở hai cặp nhiễm sắc thể khác nhau, công thức bộ gen được ký hiệu là $2n + 1 + 1$.

7.4.1.5. Thể vô nhiễm hay thể không (nullosomic)

Sinh vật lưỡng bội mất cả hai nhiễm sắc thể của một cặp thì được gọi là thể vô nhiễm, công thức bộ gen là $2n - 2$. Vô nhiễm thường có hiệu quả gây chết. Một số đa bội thể thực vật có thể sống khi mất một cặp nhiễm sắc thể (ví dụ, dạng lúa mì lục bội).

7.4.2. Một số thể đa bội lệch ở thực vật

7.4.2.1. Các thể tam nhiễm ở *Datura stramonium*

Ở cây *Datura stramonium* cùng chi cà độc dược có $2n = 24$ nhiễm sắc thể đã phát hiện được các đột biến tam nhiễm 25 nhiễm sắc thể tuân tự ở tất cả 12 cặp nhiễm sắc thể, với sự khác nhau chủ yếu là quả và gai liên quan đến nhiễm sắc thể nào là dư thừa.

7.4.2.2. Các thể vô nhiễm ở lúa mì

Lúa mì (*Triticum vulgare*) có $6n = 42$. Mặc dù vô nhiễm thường gây chết, nhưng nhờ ở đa bội thể nên lúa mì đã nhận được tất cả 21 loại vô nhiễm của tất cả 21 cặp nhiễm sắc thể.

Sự nghiên cứu các dạng vô nhiễm giúp hiểu được các nhóm liên kết gen và vai trò của từng cặp nhiễm sắc thể.

7.4.3. Các thể đa bội lệch ở người

Ở người nhiều hội chứng di truyền do các thể đa bội lệch làm thay đổi số lượng cặp nhiễm sắc thể giới tính đưa đến các trạng bệnh: hội chứng Turner (XO), hội chứng Klinefelter (XXY), siêu nữ (XXX – super female), siêu nam (XYY) và YO không sống. Một số bệnh do tam nhiễm ở các cặp nhiễm sắc thể khác của bộ gen người ngày nay cũng được quan tâm.

- Hội chứng Turner do Henry Turner miêu tả lần đầu tiên là do mất một nhiễm sắc thể X (XO) có công thức di truyền $2n - 1 = 45$. Hội chứng có một số biểu hiện đặc trưng như: lùn (chiều cao $< 1,4m$), cơ quan sinh dục kém phát triển (không dậy thì), kém thông minh,...

- Hội chứng Klinefelter được Henry Klinefelter mô tả ở những nam giới có dư một nhiễm sắc thể X (XXY), công thức bộ gen $2n + 1 = 47$. Hội chứng có các biểu hiện đặc trưng như: bất thụ, ngón tay chân dài, phát triển ngực, có tính nữ và suy giảm trí tuệ.

- Người siêu nữ: do dư một nhiễm sắc thể X (XXX), với bộ gen $2n + 1 = 47$, thoái hoá, suy giảm trí tuệ.

- Người siêu nam có XYY, người nam bình thường, nhưng có thể gọi là siêu nam vì tính tình mạnh bạo hơn người thường. Năm 1965, khi nghiên cứu trong số những người phạm tội, những người XYY chiếm tới 3,5%, nên có lúc Y được gọi là “nhiễm sắc thể tội lỗi” (criminal chromosome). Thực tế những người này mạnh bạo hơn người thường nên dễ phạm tội. Tuy nhiên, những nghiên cứu gần đây phủ định nhận xét trên.

- Hội chứng Down do Langdon Down phát hiện, thường là tam nhiễm ở cặp nhiễm sắc thể thứ 21 ($47, +21$) ở người hoặc ít ra là do nhiễm sắc thể 21 nối với một phần nhiễm sắc thể 15. Tỷ lệ xuất hiện 1/700 ở trẻ sơ sinh. Biểu hiện bệnh đặc trưng: thoái hoá trí tuệ, mặt tròn, dẹt. Có mối liên hệ thuận giữa tuổi của bà mẹ và số trẻ sinh ra bị mắc bệnh Down: 1/2500 ở các bà mẹ 20 – 30 tuổi, 1/300 ở các bà mẹ 40 – 45 tuổi và 1/60 đối với các bà mẹ cao tuổi hơn 45. Tuổi cha không ảnh hưởng.

– Dạng tam nhiễm ở cặp nhiễm sắc thể 13 (47, +13) được K. Patau phát hiện năm 1960 với tỷ lệ 1/20.000 trẻ sơ sinh, biểu hiện bởi teo não, mất trí, điếc và nhiều dị hình khác ở nội ngoại tạng, phần lớn trẻ chết ở 3 tháng tuổi, một số ít sống được đến 5 tuổi.

– Thể tam nhiễm ở cặp nhiễm sắc thể 18 (47, +18) được J.H. Edwards et al. mô tả năm 1960, biểu hiện mất trí, dị hình ở tai, thân, đầu v.v..., xảy ra với tỷ lệ 1/8.000 trẻ sơ sinh, hay gặp ở bà mẹ lớn tuổi. Trẻ bị hội chứng này đều chết sớm, 90% chết ở 6 tháng đầu.

Ở người, các đơn nhiễm khó thấy hơn, có thể do mang nhiều gen lặn nguy hiểm nên ở trạng thái bán hợp tử khó sống.

CÂU HỎI LƯỢNG GIÁ

1. Trình bày thành phần và cấu tạo của chất liệu di truyền ADN, cấu trúc nhiễm sắc thể ở Eukaryota và Prokaryota.
2. Trình bày quá trình sao chép ADN ở Eukaryota và Prokaryota.
3. Trình bày chu trình tế bào ở các sinh vật Eukaryota.
4. Trình bày các kiểu phân bào.
5. Nêu sự khác biệt của di truyền nhiễm sắc thể và di truyền tế bào chất.
6. Trình bày đột biến, biến dị, các kiểu đột biến và biến dị.

Chương 4

NGUỒN GỐC SỰ SỐNG VÀ ĐA DẠNG SINH HỌC

MỤC TIÊU

1. Kể được tên và đặc điểm các giới sinh vật trong hệ thống phân loại 5 giới của Whittaker.
2. Trình bày được các hình dạng thường gặp và phân loại vi khuẩn theo phương pháp nhuộm Gram.
3. Trình bày được các đặc tính chung của virus.
4. Trình bày được đặc tính của các nhóm thuộc phân giới Protozoa.
5. Trình bày được đặc tính của các ngành thuộc giới nấm.
6. Kể được tên các sinh vật thường ký sinh gây bệnh ở người của 2 ngành giun dẹp và giun tròn.
7. Trình bày được đặc điểm của các lớp thuộc ngành chân khớp và ý nghĩa y học quan trọng của ngành.

1. NGUỒN GỐC SỰ SỐNG

1.1. Sự hình thành Trái Đất và khí quyển

Vũ trụ có lẽ đã có hàng chục tỷ năm. Mặt Trời và các hành tinh, trong đó có Trái Đất đã được hình thành cách đây khoảng 4,5 đến 5 tỷ năm. Sự ngưng kết bụi vũ trụ tạo thành Trái Đất với các lớp khác nhau. Ban đầu, Trái Đất có nhiệt độ rất cao và ở thể lỏng. Sắt và niken chuyển vào phía tâm, những chất nhẹ hơn ở gần bề mặt. Tuy nhiên, ban đầu trường hấp dẫn của Trái Đất còn rất bé cho nên các khí

cuối cùng đã thoát vào khoảng không vũ trụ và chỉ còn một quả cầu đá, không có biển, cũng không có khí.

Nhưng rồi cùng với thời gian, sức hút của trọng lực cùng với sự phân rã phóng xạ đã tạo nên một lượng nhiệt lớn và trong lòng Trái Đất trở nên nóng chảy. Do đó đã tạo nên một lõi sắt và niken, lớp vỏ dày khoảng 4.700km gồm silicat nặng của sắt, magie và một lớp vỏ ngoài dày từ 8 – 65km gồm chủ yếu là các silicat nhẹ. Do nhiệt trong lòng đất tăng lên làm thoát ra ngoài các khí khác nhau từ hoạt động của núi lửa. Những khí này tạo thành khí quyển của Trái Đất.

Khí quyển ban đầu không có oxy tự do. Có hai mô hình về thành phần khí quyển ban đầu và đều phù hợp với giả thiết hiện nay về nguồn gốc và sự sống.

Theo Oparin, khí quyển ban đầu rất ít ỏi, chủ yếu là H_2 , một ít nitơ ở dạng NH_3 , oxy ở dạng hơi nước và carbon có thể ở dạng CH_4 .

Mô hình thứ hai cho rằng khí quyển ban đầu do núi lửa phun ra như H_2O , CO , CO_2 , N_2 , H_2S và H_2 . Hỗn hợp khí đó dễ hình thành nên hydro cyanid (HCN). Như vậy, cả hai mô hình đều cho rằng khí quyển ban đầu không chứa oxy tự do.

Thoạt đầu, nước của khí quyển ở dạng hơi, rồi ngưng tụ lại tạo nên những trận mưa lớn. Sông suối hình thành, hoà tan và cuốn theo các muối khoáng (như sắt và urani) tích tụ dần trong biển cả. Khí trong khí quyển cũng có thể bị hoà tan trong nước mưa vào đại dương. Oxy tự do có thể được hình thành trong khí quyển do sự hoà tan các ion tự do trong nước biển.

1.2. Sự hình thành các phân tử hữu cơ nhỏ bé đến tế bào

Phóng xạ tia cực tím, chớp và nhiệt đã cung cấp năng lượng để liên kết tổng hợp nên các chất hữu cơ đơn giản. Thực nghiệm của Stanley L. Miller đã xác định giả thiết từng bước phát sinh sự sống trên Trái Đất của Oparin là đúng. Miller đã thực nghiệm với các khí có thể có trong khí quyển ban đầu của Trái Đất với lượng khá lớn. Dùng năng lượng bằng cách phóng tia cực tím tác động lên hỗn hợp khí amoniac, metan, hydro và nước trong một thiết bị hoàn toàn kín, trong thời gian một tuần đã tổng hợp được những chất hữu cơ quan trọng như các acid amin; các chất khác như urê, hydro cyanid, acid acetic, acid lactic. Nguồn năng lượng như thế trong khí quyển ban đầu không thiếu cho nên những chất hữu cơ đơn giản ban đầu đã được tổng hợp. Sự tích lũy các phân tử hữu cơ đó trên Trái Đất mà không bị phân huỷ có thể là do chưa có các vi sinh vật và oxy tự do trong khí quyển. Do vậy, nhiều hợp chất này được tích lũy dần trong biển hàng triệu năm mà không bị phân huỷ do oxy hoá hay bị phân rã.

3.10 Từ sau năm 1955 đã có nhiều nghiên cứu dùng hỗn hợp các khí đặc trưng của núi lửa với hydro cyanid đạt được kết quả dương tính. Đáng chú ý là các acid amin dễ dàng tổng hợp được trong thực nghiệm ở điều kiện vô sinh.

3.11 Từ đó đã hình thành các chất trùng hợp. Các chất trùng hợp đã được hình thành như thế nào trong các đại dương cổ xưa cũng chỉ mới dừng lại ở các giả thiết. Một số nhà nghiên cứu cho rằng, sự phong phú của các chất hữu cơ trong biển là quá đủ để thay đổi các liên kết giữa các phân tử đơn giản và trải qua hàng triệu năm hình thành nên những lượng tương đối các đại phân tử. Một số khác lại cho rằng, các cơ chế làm đông đặc cũng có thể làm tăng tốc độ của các phản ứng hoá học là yếu tố cần thiết để trùng hợp các phân tử thành các chất trùng hợp. Quá trình đó đã hình thành các tổ hợp phân tử và các tế bào nguyên thủy.

Oparin cho rằng, ở những điều kiện thích hợp của nhiệt độ, thành phần các ion, pH, trạng thái keo của các phân tử đưa đến sự hình thành nên các giọt coacexva. Đó là nhân của các phân tử lớn được bao quanh bởi một vỏ bọc các phân tử nước. Các giọt đó có cấu trúc bên trong xác định và có thể hấp thụ vật chất một cách chọn lọc.

Cũng như Oparin, Sydney W. Fox cho rằng, các hệ thống trước sinh vật (prebionts) dẫn tới sự phát triển những tế bào đầu tiên như những tiểu cầu dạng protein mang nhiều tính chất của tế bào sống. Số lượng các hệ thống trước sinh vật có thể đã sinh ra ở biển. Một số có thể chứa những tổ hợp nguyên liệu thích hợp và lớn lên về kích thước. Những giọt nhỏ mới cũng có thể được hình thành từng giai đoạn. Bằng cách nào đó các chuỗi nucleotid trong các acid nucleic được mã hoá thành các chuỗi acid amin trong phân tử protein và sự phiên mã, dịch mã được tiến hành. Hệ thống kiểm tra di truyền tạo khả năng sao chép và kiểm tra chính xác hơn các phản ứng hoá học xảy ra bên trong những giọt nước nhỏ đó. Những giọt đó với các đặc tính riêng đã phát triển thành những acid nucleic trong các tế bào đầu tiên. Những tế bào đầu tiên đó là tự do và có khả năng tự sao chép. Những tế bào đó gọi là *Prokaryota*.

1.3. Tiến hoá của sự tự dưỡng

Những cơ thể sống đầu tiên là những cơ thể dị dưỡng, nhận năng lượng từ những chất dinh dưỡng có sẵn trong đại dương do các chất hữu cơ bị oxy hoá. Khi các chất dinh dưỡng cạn dần gây nên sự cạnh tranh giữa các sinh vật tăng. Sự chọn lọc tự nhiên tạo cho bất cứ biến dị nào tăng khả năng tìm kiếm và chế biến thức ăn của sinh vật. Đồng thời, các phản ứng sinh hoá khác nhau tiến triển làm cho sinh vật sử dụng được các thức ăn khác nhau. Dạng đầu tiên của sự chuyển hoá ATP rất có thể là sự lên men.

Vì các sinh vật đã sử dụng hết các chất dinh dưỡng tự do nên một số lớn trong chúng tiến tới khả năng sử dụng nguồn năng lượng khác – năng lượng Mặt Trời. Đầu tiên có thể là quang phosphoryl hoá theo vòng rồi sau đó mới đến quang phosphoryl hoá không vòng. Từ thời điểm này trở đi, sự sống trên Trái Đất phụ thuộc vào hoạt động của các sinh vật tự dưỡng quang hợp. Khí oxy được thải ra do quang hợp đã làm thay đổi khí quyển đến một khí quyển có oxy hoá. O_2 tự do đủ làm cho các sinh vật có thể tiến tới sự hô hấp hiếu khí có hiệu quả. Oxy cũng tạo nên một lớp ozon ở tầng trên của khí quyển, ngăn cản các phóng xạ cực tím xuống bề mặt Trái Đất, tạo điều kiện cho các sinh vật chuyển lên đời sống ở cạn.

1.4. Sự tiến hóa của tế bào nhân thật

Dù cho Eukaryota có cấu trúc phức tạp hơn và xuất hiện muộn hơn nhiều, nhưng cả hai nhóm Eukaryota và Prokaryota giống nhau bởi nhiều hướng sinh hoá quan trọng. Nổi bật nhất là đường phân (glycolysis) và phản ứng ánh sáng của quang hợp. Vì vậy, người ta đưa ra thuyết cộng sinh. Theo thuyết này, các cơ quan nhỏ của tế bào như ty thể, lục lạp, lông, roi và trung tử ở mọi lúc, mọi nơi đều là các cơ thể Prokaryota độc lập mà chúng bị lấn át bởi các tế bào lớn hơn và chúng tiếp tục sống sót bên trong tế bào chất, các tế bào đó như một thành phần quan trọng của chúng. Cũng vì thế mà chúng có hoạt động riêng biệt. Ủng hộ cho lý thuyết đó người ta tìm thấy ty thể giống với vi khuẩn hiếu khí về kích thước và cấu trúc, còn lục lạp rất giống với một vài loại cơ thể Prokaryota quang hợp như vi khuẩn lam. Chẳng hạn, cả ty thể và lục lạp có ADN riêng của chúng và có dạng vòng tròn giống như ở Prokaryota. Thậm chí ở tế bào người, các cơ quan tử đó có ribosom riêng, các ribosom này nhỏ hơn và hoàn toàn tách biệt với phần còn lại của tế bào chất. Các cơ quan tử này đã sinh ra các protein riêng của mình và sinh sản độc lập với tế bào chủ.

Nhiều đặc tính cấu trúc tế bào về sinh học phân tử đã chỉ rõ ty thể và lục lạp có nhiều nét chung với sinh vật không nhân sống tự do và cho rằng lục lạp có thể đã xuất hiện từ khuẩn lam, còn ty thể thì từ các vi khuẩn hiếu khí.

Sau đây là một số điểm vấn tất trong giả thiết trên:

1. Cả ty thể và lục lạp đều có chứa ribosom riêng và nhiễm sắc thể riêng. Nhiễm sắc thể mã hoá ADN ribosom và protein ribosom của chúng và cho một số enzym. Cả ty thể và lục lạp đều có màng riêng.

2. Các nhiễm sắc thể bào quan cũng giống với nhiễm sắc thể của Prokaryota, cuộn vòng và không có màng nhân.

3. Tổ chức bên trong của các gen bào quan cũng giống các gen của Prokaryota nhưng lại rất khác với Eukaryota.

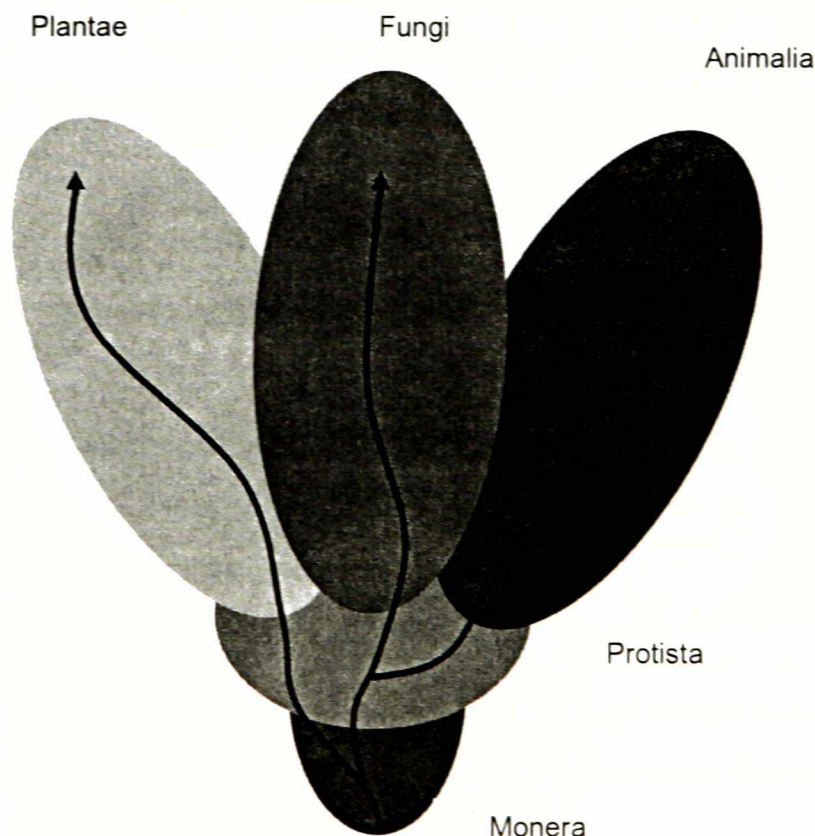
4. Ribosom của ty thể và lục lạp giống với ribosom của Prokaryota hơn là của Eukaryota.

5. Nhiều vi khuẩn quang hợp ngày nay sống trong các vật chủ Eukaryota, cung cấp chất dinh dưỡng cho vật chủ và lại được che chở. Cũng vậy, một số vi khuẩn không quang hợp sống cộng sinh trong các cơ thể Eukaryota, lấy năng lượng từ chất dinh dưỡng mà vật chủ của nó không chuyển hoá được.

Qua những điểm tóm tắt trên ta thấy vi khuẩn hiếu khí đã bị thực bào cách đây 1,5 tỷ năm, chịu đựng sự tiêu hoá, sống chung bên trong cùng vật chủ và phân chia riêng rẽ. Về sau, một số gen của vật cộng sinh đã chuyển vào nhân tế bào chủ. Từ đấy, mọi sinh vật khác đã tiến hoá. Sau đó, vi khuẩn quang hợp (có thể là Cyanobacteria hay vẫn được gọi là “tảo” lam) đã làm như vậy và tạo sự tiến hoá cho giới thực vật.

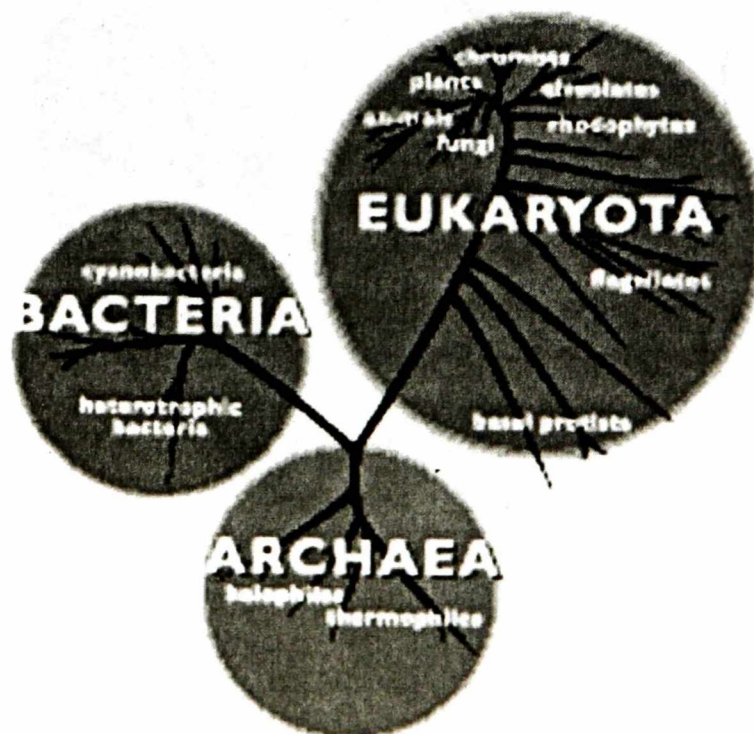
2. ĐA DẠNG SINH HỌC

2.1. Đa dạng giới



Hình 4.1. Hệ thống 5 giới của Whittaker

Sự sống vô cùng phong phú và có mặt ở mọi nơi trên Trái Đất. Chúng ta có thể tìm thấy các sinh vật sống từ hai cực cho đến xích đạo, từ đáy đại dương mênh mông cho tới độ cao hàng nghìn mét trong không trung. Từ các vùng nước đóng băng, các thung lũng khô cằn, các mạch nước nóng dưới đáy biển cho đến các mạch nước ngầm sâu dưới mặt đất chúng ta đều bắt gặp các cơ thể sống. Do sự phong phú và đa dạng của sinh vật đã làm cho việc phân chia sinh giới trở thành một vấn đề rất phức tạp. Mãi tới gần đây (năm 1753), nhà thực vật học người Thụy Điển Carolus Linneus đã chia sinh giới thành hai giới động vật và thực vật. Từ thế kỷ XIX, do sự phát hiện thấy nhiều bất hợp lý của hệ thống 2 giới, nhiều nhà nghiên cứu đã đưa ra các biểu đồ phân loại gồm 3, 4 hay nhiều hơn các giới khác nhau. Tuy nhiên, sơ đồ phân loại được hầu hết các nhà sinh học sử dụng là hệ thống của Whittaker đưa ra năm 1969 (hình 4.1). Hệ thống gồm 5 giới là: vi khuẩn (Monera), Protista, thực vật (Plantae), nấm (Fungi) và giới động vật (Animalia). Đi cùng với hệ thống phân loại này là một sơ đồ chia các sinh vật sống thành 2 nhóm chủ yếu là nhóm sinh vật có nhân nguyên thủy (Prokaryota) gồm chủ yếu là vi khuẩn và nhóm sinh vật nhân thật (Eukaryota) gồm động vật, thực vật, nấm và đơn bào. Các nghiên cứu gần đây đã đưa ra sơ đồ sinh giới gồm 3 nhóm (domain) là *Archaea*, *Bacteria* và *Eukaryota* (hình 4.2).



Hình 4.2. Ba nhóm (domain) của sinh giới

2.2. Giới Monera và Virus

2.2.1. Giới Monera

Giới này gồm các sinh vật tiền nhân, chủ yếu là vi khuẩn, với số lượng cá thể lớn nhất trong sinh giới. Chúng tiến hóa thành nhiều dạng khác nhau và có mặt ở hầu như tất cả các môi trường trên Trái Đất. Các bằng chứng hóa thạch cho thấy, các sinh vật tiền nhân đã xuất hiện cách đây 2,5 tỷ năm. Khác với các nhóm sinh vật khác, vi khuẩn có ít sự khác nhau về đặc điểm hình thái, không thay đổi nhiều về hình dạng và kích thước ở phạm vi rộng. Phương pháp phân loại chủ yếu dựa trên đặc điểm cấu trúc tế bào, đặc điểm sinh lý, đặc điểm cấu trúc phân tử và sự phản ứng với các loại thuốc nhuộm, ít dựa trên mối quan hệ tiến hóa của chúng. So sánh trình tự ARN ribosom các nhà khoa học thấy có 2 nhóm vi khuẩn khác biệt lớn là giới *Eubacteria* gọi đơn giản là *Bacteria*. Nhóm này gồm các vi khuẩn trong các môi trường bình thường xung quanh chúng ta. Nhóm thứ 2 là *Archaeobacteria* hay gọi đơn giản là *Archaea*; nhóm này bao gồm các loại vi khuẩn cổ nhất của giới và chúng có thể thuộc một giới riêng.

Đặc điểm chung của nhóm vi khuẩn là những sinh vật đơn bào, có thành tế bào, không có dạng đa bào và không có các bào quan được bao bọc bởi màng. Hầu hết các sinh vật tiền nhân có kích thước nhỏ hơn sinh vật nhân thật bé nhất.

2.2.1.1. Nhóm vi khuẩn cổ (*Archaeobacteria*)

Là nhóm các vi khuẩn sống ở các môi trường khắc nghiệt, không bình thường. Hiện nay, nhiều nhà khoa học đã xếp vi khuẩn cổ thành một giới riêng do chúng rất khác với các vi khuẩn khác. Thành, màng tế bào và ARN ribosom của vi khuẩn cổ khác với vi khuẩn thật. Ở thành tế bào vi khuẩn cổ không có peptidoglycan như vi khuẩn thật. Nhóm vi khuẩn cổ có thể sống ở những nơi mà không một sinh vật nào khác có thể tồn tại như các suối acid nóng, quanh miệng núi lửa hay các vùng nước cực mặn,... Đó cũng là nguyên nhân tại sao qua một thời gian dài chúng mới được phát hiện bởi môi trường nuôi cấy và phân lập chúng rất khó khăn. Các nhà khoa học cho rằng môi trường khắc nghiệt mà vi khuẩn cổ đang sống tương tự như các điều kiện trên Trái Đất khi các dạng sống đầu tiên xuất hiện và bắt đầu tiến hóa.

Dựa vào môi trường sống người ta chia vi khuẩn cổ thành 3 nhóm sau:

- Nhóm sinh metan (Methanogens): sống ở môi trường không có oxy và sinh khí metan.
- Nhóm ưa nhiệt và acid (Thermoacidophiles): sống ở các suối acid nóng (230°F và $\text{pH} < 2$), quanh miệng núi lửa..., điều kiện này có thể giết chết các sinh vật khác.

– Nhóm ưa muối (Extreme halophiles): gồm các vi khuẩn cổ sống ở các vùng nước cực mặn như Biển Chết (Dead Sea),... Chúng có thể phát triển ở các vùng nước có hàm lượng muối gấp 10 lần lượng muối ở các vùng nước biển bình thường, nơi mà có thể giết chết hầu như tất cả các loại vi khuẩn khác, thì đối với chúng muối lại là nguồn nguyên liệu để tổng hợp ATP.

2.2.1.2. Nhóm vi khuẩn thật (Eubacteria)

Hầu hết các loại vi khuẩn được xếp vào nhóm này. Chúng có nhiều hình dạng, kích thước, các đặc tính sinh hóa và di truyền khác nhau. Tiếp đầu ngữ “EU” có nghĩa là thật, nên nhóm này bao gồm tất cả các vi khuẩn đã được biết bằng các phương pháp truyền thống như các loại vi khuẩn gây bệnh mà chúng ta thường thấy. Hình dạng thường gặp của các tế bào vi khuẩn nhóm này là dạng hình cầu (Coccus), hình que (Bacillus) và hình xoắn (Spirillum) (hình 4.3). Tên của vi khuẩn thường xuất phát từ hình dạng của chúng.



Hình 4.3. Các hình dạng thường gặp của tế bào vi khuẩn.

Theo mối quan hệ tiến hóa Eubacteria có thể chia thành 12 ngành khác nhau. Trong phạm vi cuốn sách này, các tác giả chỉ trình bày những nét chính của 4 ngành đã được đa số các nhà khoa học thừa nhận. Các ngành đó là:

- Vi khuẩn lam (Cyanobacteria).
- Xoắn khuẩn (Spirochetes).
- Vi khuẩn Gram–dương (Gram–positive).
- Proteobacteria.

a) Phân loại theo phương pháp nhuộm Gram

Hầu hết các loài của nhóm vi khuẩn thật có thể được chia thành 2 nhóm giữa trên sự đáp ứng của chúng đối với một kỹ thuật phòng thí nghiệm gọi là phương pháp nhuộm Gram. Bằng phương pháp nhuộm này các vi khuẩn thật được chia thành 2 nhóm là vi khuẩn Gram (–) và nhóm vi khuẩn Gram (+). Tên của các nhóm này xuất phát từ sự đáp ứng khác nhau đối với thuốc nhuộm. Đây là phương pháp do nhà vi sinh học người Đan Mạch Hans Christian Gram đề xuất năm 1884, và là phương pháp phân loại vi khuẩn được ứng dụng rộng rãi trong y học cho đến ngày nay.

b) *Đặc điểm của một số nhóm được phân loại dựa trên mối quan hệ tiến hóa*

– *Nhóm vi khuẩn lam* (Cyanobacteria): là các vi khuẩn Gram âm, có khả năng quang tổng hợp giống thực vật và sản phẩm phụ được giải phóng là oxy. Chúng có kích thước lớn hơn các sinh vật tiền nhân khác. Do khả năng tạo oxy và là nguồn thức ăn của nhiều sinh vật khác nên chúng có vai trò quan trọng trong nhiều hệ sinh thái. Nhóm này trước đây đã được xếp vào nhóm tảo lam (blue-green Algae) do chúng phát triển thành dạng chuỗi giống như tảo. Hiện nay chúng thuộc nhóm Eubacteria vì không có nhân, được bao bọc bởi màng và các lục lạp. Các vi khuẩn thuộc nhóm này có thể có các màu sắc như vàng, đỏ, nâu, xanh lá cây (green), thậm chí là màu đen và màu lam (blue-green). Không giống như các vi khuẩn thật khác, các vi khuẩn lam được bao bọc bởi một chất dạng gel và làm cho chúng có khả năng dính lại với nhau hình thành các quần thể dạng chuỗi. Trong các dạng chuỗi của vi khuẩn lam, hình thành các tế bào được chuyên biệt hóa gọi là dị bào nang (heterocyst) (hình 4.4), các dị bào nang này có chứa các enzym cố định nitơ khí quyển, chuyển thành dạng dễ sử dụng cho các loại thực vật.



Hình 4.4. Hình thái quần thể *Anabaena* sp.

– *Nhóm xoắn khuẩn* (Spirochetes): là các vi khuẩn Gram (–), dị dưỡng và có dạng xoắn. Một số là vi khuẩn hiếu khí và số khác là kỵ khí. Chúng di chuyển bằng cách tự xoay quanh mình như xoay mở nút chai. Các vi khuẩn thuộc nhóm này có thể sống tự do, cộng sinh hay ký sinh. Một loài thuộc nhóm này đã được con người nghiên cứu khá kỹ là *Treponema pallidum*, là tác nhân gây bệnh giang mai (Syphilis) ở người và lan truyền qua đường tình dục.

– *Nhóm vi khuẩn Gram dương (Gram-Positive Bacteria)*: mặc dù tên ngành trùng với tên của nhóm vi khuẩn gram dương (theo cách phân loại của phương pháp nhuộm Gram) nhưng không phải tất cả các vi khuẩn của nhóm này đều là vi khuẩn gram dương. Một số ít loài của nhóm vi khuẩn Gram (-) cũng được xếp trong ngành này, do chúng có những đặc điểm sinh học phân tử tương tự với các vi khuẩn Gram dương. Điển hình thường gặp là các loại liên cầu khuẩn (*Streptococcus*) gây các bệnh ở hầu và họng. Sữa chuyển thành sữa chua (yogurt) khi có một trực khuẩn Gram dương (Gram-positive Bacilli) nào đó phát triển trong sữa và tạo acid lactic. Các trực khuẩn Gram-dương cũng tìm thấy ở khoang miệng, đường ruột, nơi chúng cản trở sự phát triển của các vi khuẩn gây bệnh. Vi khuẩn sinh acid lactic (*Lactobacilli*) là các trực khuẩn Gram dương đã được tìm thấy ở răng. Chúng là căn nguyên gây hỏng men răng do giải phóng acid lactic. Một nhóm vi khuẩn điển hình khác của ngành này là các xạ khuẩn (*Actinomycetes*). Chúng là các vi khuẩn Gram dương, cơ thể có dạng sợi, phân nhánh, phát triển nhiều trong đất. Các vi khuẩn này có khả năng sinh các loại kháng sinh có tác dụng ức chế hoặc giết chết các vi sinh vật khác.

– *Nhóm vi khuẩn Proteobacteria*: đây là ngành lớn nhất và đa dạng nhất trong nhóm vi khuẩn thật. Chúng được chia thành các ngành phụ: vi khuẩn đường ruột (enteric bacteria), vi khuẩn hóa tự dưỡng và vi khuẩn cố định nitơ (nitrogen-fixing bacteria).

- *Nhóm phụ vi khuẩn đường ruột*: bao gồm các vi khuẩn dị dưỡng Gram (-), sống hiếu khí hoặc kỵ khí ở ruột. Loài điển hình và đã được biết khá rõ là *Escherichia coli* (*E. coli*), vi khuẩn này sống ở ruột người. Tại đây, chúng sinh vitamin K trợ giúp các enzym tiêu hóa thức ăn. Một số các vi khuẩn khác có khả năng gây bệnh như *Salmonella* gây bệnh ngộ độc thực phẩm.

- *Nhóm phụ vi khuẩn hóa tự dưỡng*: là các vi khuẩn Gram (-), chúng có thể lấy năng lượng từ các chất khoáng bằng cách oxy hóa các chất hóa học có trong các khoáng này. Một điển hình là các vi khuẩn oxy hóa sắt, chúng sống ở các ao, hồ nước ngọt có hàm lượng muối sắt cao, oxy hóa ion sắt trong muối để thu năng lượng.

- *Nhóm phụ vi khuẩn cố định nitơ*: điển hình là chi *Rhizobium*, đây là các vi khuẩn Gram (-) sống cộng sinh ở các nốt sần cây họ đậu, như cây đậu tương, đậu nành,... Do lượng nitơ tự do (N_2) trong khí quyển chiếm khoảng 80% nhưng động, thực vật không sử dụng được trạng thái khí này, mà phải nhờ vào các vi khuẩn

cố định nitơ chuyển trạng thái khí thành dạng hợp chất như NH_3 và chúng lấy nitơ dạng hợp chất để tổng hợp thành các hợp chất như protein, acid nucleic. Không một giới nào khác có thể cố định nitơ khí quyển thành dạng hợp chất và nhóm *Rhizobium* là nhóm thiết yếu của chu trình nitơ. Không có chúng và các tác nhân cố định nitơ khác thì đa dạng sự sống trên hành tinh chúng ta có thể không tồn tại.

c) Một số nét sinh học cơ bản của vi khuẩn

– Cấu tạo:

- Tế bào vi khuẩn có cấu tạo điển hình, gồm 3 phần là thành tế bào (cell wall), màng tế bào (cell membrane) và tế bào chất (cytoplasm). Một số vi khuẩn có nét đặc trưng riêng như hình thành dạng nội bào tử (endospore), lớp vỏ bọc bên ngoài (capsule) và các màng ngoài (outer membranes). Sự phong phú trong cấu tạo của vi khuẩn là do sự thích ứng với các điều kiện môi trường khác nhau của chúng.

- Thành tế bào: Trừ một số ít ngoại lệ, cả vi khuẩn thật và vi khuẩn cổ đều có thành tế bào. Không giống với thành tế bào thực vật, các vi khuẩn thật có thành tế bào được cấu tạo bởi peptidoglycan. Thành tế bào vi khuẩn cổ được cấu tạo bởi các hợp chất khác không phải peptidoglycan. Ở thành tế bào vi khuẩn Gram (–) có một lớp màng ngoài, đó là một lớp của phức hợp lipid và đường. Màng ngoài có tác dụng bảo vệ vi khuẩn chống lại một số kháng sinh xâm nhập vào tế bào. Chính vì vậy nhiều kháng sinh không có hiệu quả khi điều trị các bệnh do vi khuẩn Gram (–) gây ra.

- Màng tế bào và tế bào chất: Màng tế bào vi khuẩn được cấu tạo bởi một lớp màng lipid kép tương tự màng tế bào sinh vật nhân thật. Ở màng có chứa các enzym thực hiện các phản ứng hô hấp tế bào do vi khuẩn không có ty thể. Các màng tế bào của vi khuẩn quang tổng hợp có các nếp gấp bên trong được gọi là thylakoid giống với thylakoid trong lục lạp. Các thylakoid vi khuẩn có chứa các chất màu quang hợp và thực hiện chức năng quang hợp. Các tế bào vi khuẩn không có các bào quan được bao bọc bởi màng. Tế bào chất của vi khuẩn là một dung dịch đặc, dính của các ribosom và ADN. ADN vi khuẩn được sắp xếp thành một vòng tròn kín. Một số vi khuẩn còn có các plasmid, là các ADN vòng, nhỏ có khả năng tự sao chép trong tế bào chất của chúng.

- Lớp vỏ ngoài và khuẩn mao (capsule & pili): Nhiều loài vi khuẩn tạo ra một lớp vỏ bao bọc ở ngoài có bản chất polysaccharid, lớp vỏ này dính chặt vào bề mặt tế bào và bảo vệ tế bào chống lại các điều kiện bất lợi như khô nóng, các chất hóa học độc hại với tế bào vi khuẩn cũng như sự tiêu diệt của bạch cầu ký chủ. Khi lớp vỏ được cấu tạo bởi một lớp vỏ xộp của các đường dính được gọi là glycocalyx.

Glycocalyx này giúp vi khuẩn bám vào các mô và tế bào vật chủ. Các khuẩn mao (lông nhỏ) giống như tóc, ngắn, có bản chất protein, có trên bề mặt của một số tế bào vi khuẩn. Các lông nhỏ này giúp vi khuẩn bám vào tế bào vật chủ và chuyển các vật liệu di truyền từ vi khuẩn này sang vi khuẩn khác.

- **Nội bào tử (endospore):** Một số vi khuẩn có khả năng hình thành các loại tế bào đặc biệt khi gặp các điều kiện sống bất lợi gọi là nội bào tử, được cấu tạo bởi một lớp vỏ ngoài dày bao bọc lấy ADN của vi khuẩn. Trong khi các tế bào vi khuẩn bình thường có thể bị chết thì dạng nội bào tử của chúng vẫn tồn tại khi gặp các điều kiện bất lợi. Chúng giúp vi khuẩn chịu đựng được nhiệt độ cao, các chất hóa học độc hại, phóng xạ, khô và các điều kiện bất lợi khác.

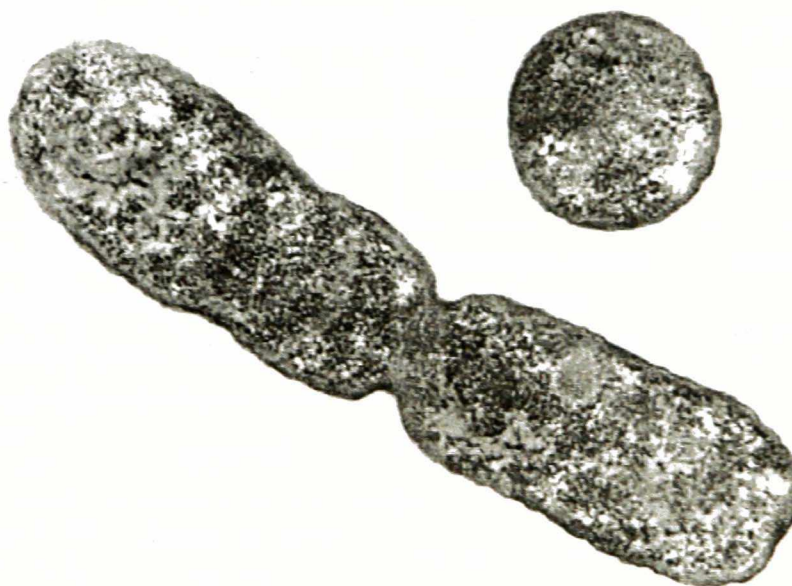
- **Các cấu trúc giúp vi khuẩn chuyển động:** Nhiều vi khuẩn sử dụng các cấu trúc giống roi (flagellum) để di chuyển. Các roi này được dùng để di chuyển các tế bào vi khuẩn trong nước. Với vi khuẩn không có roi có các phương pháp di chuyển khác. Ví dụ: Vi khuẩn nhóm *Myxobacteria* tạo ra một lớp nhày và sau đó di chuyển nhẹ nhàng qua nó. Các xoắn khuẩn di chuyển theo kiểu xoay tròn giống như xoay mở nút chai.

– **Dinh dưỡng và phát triển:**

Có hai khác biệt cơ bản giữa các nhóm vi khuẩn là nguồn năng lượng của chúng và sử dụng hay không sử dụng oxy trong hô hấp tế bào. Hầu hết các vi khuẩn là các sinh vật dị dưỡng. Chúng lấy năng lượng bằng cách sử dụng các vật liệu hữu cơ như một nguồn năng lượng. Vi khuẩn sử dụng các vật liệu chết, sâu mục gọi là các vi khuẩn hoại sinh. Một số vi khuẩn khác là các sinh vật tự dưỡng, chúng có được nguồn năng lượng bằng cách tạo ra thức ăn riêng cho mình từ ánh sáng Mặt Trời hoặc các chất khoáng. Các vi khuẩn quang tự dưỡng là các vi khuẩn sử dụng ánh sáng Mặt Trời như một nguồn năng lượng, trong khi đó các vi khuẩn hóa tự dưỡng có được thức ăn riêng cho chúng bằng cách oxy hóa các hợp chất vô cơ thay cho ánh sáng Mặt Trời. Sự khác biệt về chuyển hóa quan trọng thứ 2 giữa các nhóm vi khuẩn là vấn đề sử dụng oxy trong hô hấp tế bào. Vi khuẩn nào sử dụng oxy trong quá trình hô hấp tế bào được gọi là các vi khuẩn hiếu khí (aerobe), vi khuẩn không sử dụng oxy được gọi là vi khuẩn kỵ khí (anaerobe), điển hình là vi khuẩn lấy năng lượng cho quá trình hô hấp tế bào thông qua sự lên men kỵ khí. Sự có mặt hay không có mặt oxy trong môi trường sống của chúng là điều kiện quyết định sự sống của một số vi khuẩn: các vi khuẩn không thể sống khi không có oxy gọi là vi khuẩn hiếu khí bắt buộc và vi khuẩn không thể sống khi có mặt oxy

gọi là các vi khuẩn kỵ khí bắt buộc. Một số vi khuẩn khác được gọi là vi khuẩn kỵ khí tùy tiện, chúng có thể sử dụng oxy khi thuận lợi hay không sử dụng tùy thuộc vào oxy môi trường. Các vi khuẩn có yêu cầu về nhiệt độ cho sự phát triển với một phạm vi khá rộng: một số phát triển tốt ở nhiệt độ thấp 0 – 20°C, số khác phát triển tốt ở nhiệt độ 20 – 40°C. Một số vi khuẩn ưa nhiệt phát triển tốt ở 40 – 110°C. Hầu hết vi khuẩn phát triển tốt ở pH 6,5 – 7,5.

– Sinh sản và tái tổ hợp gen: Hầu hết vi khuẩn sinh sản bằng quá trình phân đôi (trực phân) (hình 4.5), là quá trình trong đó nhiễm sắc thể (chromosome) được sao chép, sau đó tế bào sẽ phân đôi. Quá trình phân đôi này là một dạng của sinh sản vô tính.



Hình 4.5. Trực phân ở tế bào vi khuẩn *E. coli* (Dennis Kunkel)

Ở điều kiện lý tưởng, các vi khuẩn phân chia nhanh cho số lượng gấp đôi chỉ trong vòng 20 phút. Tất cả các tế bào vi khuẩn đều là thể đơn bội và ADN của hầu hết vi khuẩn là một sợi xoắn kép duy nhất, gắn vào màng tế bào và chỉ nhân lên trước khi tế bào phân chia. Một số loại vi khuẩn còn có các vòng ADN nhỏ hơn được gọi là các plasmid, chúng được sử dụng trong công nghệ gen để mang các gen mới vào các sinh vật khác. Các vi khuẩn có thể vận chuyển các gen bằng một trong ba cách là tiếp hợp (conjugation), biến nạp (transformation) và tải nạp (transduction).

2.2.1.3. Vi khuẩn và con người

a) Các vi khuẩn có hại

Một số vi khuẩn có hại gây ra các bệnh ở người. Chúng ta đã có một môn khoa học chuyên nghiên cứu về các bệnh do các vi sinh vật nói chung và vi khuẩn nói riêng gây ra đó là môn Bệnh học (Pathology). Một số bệnh do vi khuẩn gây ra được tóm tắt như trên bảng 4.1.

Bảng 4.1. Tóm tắt một số bệnh do vi khuẩn gây ra

Bệnh	Tác nhân gây bệnh	Cơ quan bị bệnh	Phương thức lây nhiễm
Bệnh ngộ độc thịt (Botulism)	<i>Clostridium botulinum</i>	Thần kinh	Thực phẩm bảo quản không hợp lý
Bệnh tả (Cholera)	<i>Vibrio cholerae</i>	Đường ruột	Nước bị lây nhiễm
Sâu răng (tooth decay)	<i>Streptococcus mutans</i> , <i>S. sanguis</i> , <i>S. salivarius</i>	Răng	Vi khuẩn từ môi trường vào miệng
Bệnh lậu (Gonorrhoea)	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Niệu đạo, vòi Fallope, mào tinh hoàn	Qua đường sinh dục
Bệnh Lyme (Lyme disease)	<i>Borrelia burgdorferi</i>	Da, khớp, tim	Ve đốt
Sốt chấm núi Rocky (Rocky mountain spotted fever)	<i>Rickettsia rickettsii</i>	Máu, da	Ve đốt
Ngộ độc thực phẩm do Salmonella	<i>Salmonella</i>	Đường ruột	Thực phẩm và nước bị lây nhiễm
Viêm họng do liên cầu (Strep throat)	<i>Streptococcus pyogenes</i>	Đường hô hấp trên, máu, da	Hắt hơi, ho, tiếp xúc trực tiếp
Bệnh uốn ván (Tetanus)	<i>Clostridium tetani</i>	Synap thần kinh	Vết thương bị nhiễm
Bệnh lao (Tuberculosis)	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Phổi, xương và các cơ quan khác	Ho

Một số vi khuẩn gây bệnh bằng cách sinh các độc tố và các độc tố này gồm hai loại: ngoại độc tố (exotoxin) là các độc tố được cấu tạo từ protein, do các vi khuẩn Gram(+) tiết ra môi trường bao quanh chúng. Bệnh uốn ván là bệnh gây ra bởi ngoại độc tố. Loại độc tố thứ hai là nội độc tố (endotoxin) cấu tạo bởi lipid và hydratcarbon, các độc tố này có liên quan tới màng ngoài của vi khuẩn Gram (-) như *E. coli*. Nội độc tố không giải phóng cho đến khi vi khuẩn chết. Nội độc tố gây sốt, đau cơ, kiệt sức và phá hủy các mạch máu của hệ thống tuần hoàn. Các vi

khuẩn cũng gây bệnh bằng cách phá hủy các mô cơ thể như các loại liên cầu khuẩn (*Streptococcus*). Khi các vi khuẩn bám chặt vào các tế bào, chúng tiết ra các enzym tiêu hóa giúp chúng xâm nhập sâu vào các mô.

b) Các vi khuẩn có lợi

Bên cạnh những tác hại vi khuẩn cũng mang đến cho con người nhiều lợi ích cả trong tự nhiên cũng như các ứng dụng trong cuộc sống hằng ngày: nhiều kháng sinh có nguồn gốc từ vi khuẩn, ứng dụng vi khuẩn trong xử lý nước thải. Vi khuẩn là tác nhân tham gia phân hủy xác động, thực vật chết – một mắt xích quan trọng trong chu trình vật chất của tự nhiên. Chúng đóng vai trò như những tác nhân tái chế hoàn trả lại các chất dinh dưỡng cho môi trường. Một số vi khuẩn được ứng dụng trong sản xuất thực phẩm, như vi khuẩn giúp chúng ta làm nước sữa (buttermilk), kem chua (sour cream), sữa chua (yogurt), phomat gầy (cottage cheese), dưa cải bắp (sauerkraut) và các loại đồ chua (pickles). Vi khuẩn cũng được ứng dụng trong sản xuất hóa chất công nghiệp, như sản xuất các nhiên liệu và hợp chất hữu cơ. Các vi khuẩn còn được sử dụng trợ giúp làm sạch các thảm họa môi trường do con người gây ra như các sự cố tràn dầu và hóa chất.

2.2.2. Virus

Hệ thống phân loại 5 giới không phân loại virus do chúng không được xem như một sinh vật. Virus không sinh sản độc lập cũng không sử dụng năng lượng. Ngày nay, người ta định nghĩa virus là những thực thể, sống trong một vật chủ như những ký sinh nội bào bắt buộc, gây bệnh và có kích thước siêu nhỏ.

2.2.2.1. Các đặc tính chung của virus

Qua một số lượng lớn các loại virus mà con người đã biết cho thấy chúng có sự đa dạng về hình thái và khả năng xâm nhiễm các loại sinh vật khác nhau. Mặc dù có sự đa dạng về hình dạng và cấu trúc, nhưng tất cả các loại virus có một số đặc điểm chung sau:

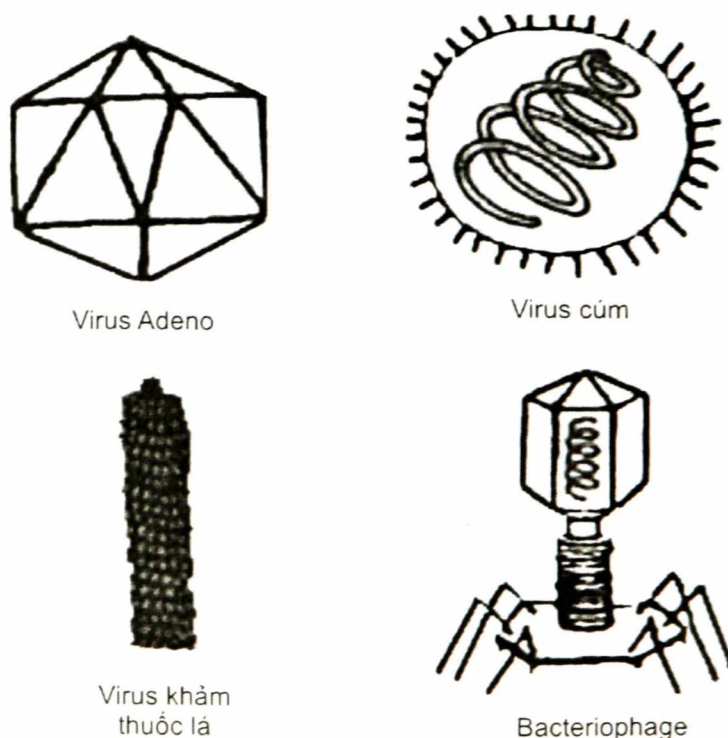
- Là những thực thể gây bệnh và có kích thước siêu nhỏ.
- Không có tổ chức tế bào và cũng không có bộ máy chuyển hóa riêng.
- Có cấu trúc đơn giản với thành phần cơ bản là acid nucleic được bao bọc trong một vỏ bằng protein.
- Acid nucleic chỉ gồm một loại, hoặc ADN hoặc ARN, mà không bao giờ có cả hai.
- Là các ký sinh nội bào bắt buộc do chúng bị bất hoạt hoàn toàn khi ở bên ngoài vật chủ.

- Nhân lên ở trong ký chủ bằng cách sử dụng bộ máy chuyển hóa của tế bào ký chủ.
- Hoạt động có tính đặc hiệu, nghĩa là chúng thường xâm nhiễm các cơ quan và sinh vật thích hợp.
- Không có khả năng phát triển và phân chia cơ thể.
- Có thể được kết tinh và ngay ở dạng này chúng vẫn giữ được khả năng xâm nhiễm.
- Không bị tác động bởi các kháng sinh.
- Có thể trải qua quá trình đột biến.

2.2.2.2. Kích thước và hình dạng

Virus là những thực thể rất nhỏ, nhỏ hơn vi khuẩn có kích thước nhỏ nhất. Chúng chỉ được nhìn thấy qua kính hiển vi điện tử như các vật thể nhỏ được gọi là các virion. Chúng được đo bằng đơn vị nm (10^{-9} m). Nói chung, các virus có kích thước thay đổi từ 10 – 300nm.

Virus có thể có một số hình dạng chính như trên hình 4.6.



Hình 4.6. Một số hình dạng khác nhau của virus

- + Hình khối đa diện hoặc hình cầu như Adeno virus, Herpes virus, ...
- + Hình xoắn ốc hoặc hình que như virus khảm thuốc lá, virus dại, ...
- + Hình dạng phức tạp hoặc không đều như bacteriophage, vaccinia, ...

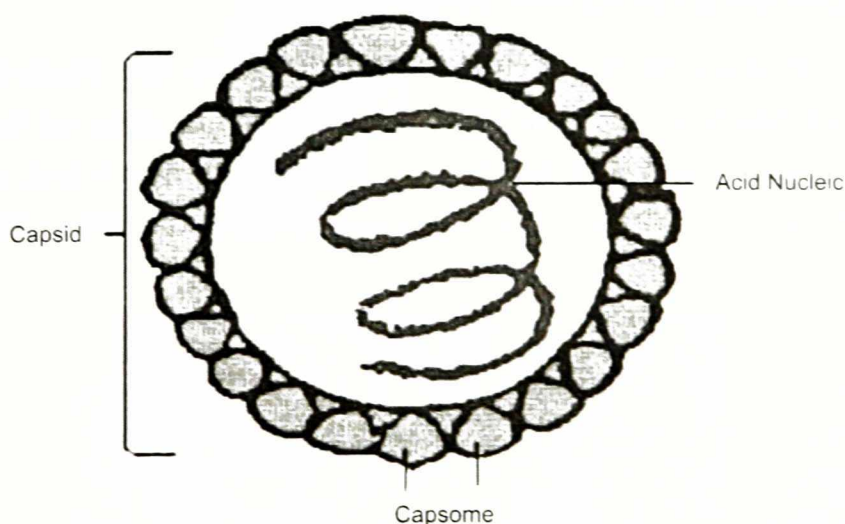
Việc phân loại virus thường dựa vào loại acid nucleic và hình dạng vỏ protein của virus.

2.2.2.3. Cấu tạo của virus

Virus được cấu tạo bởi hai phần chính: vỏ capsid và acid nucleic (hình 4.7).

a) Vỏ capsid

Là lớp vỏ bảo vệ bên ngoài, hầu hết được cấu tạo bởi protein đặc biệt. Nó bảo vệ acid nucleic tránh khỏi tác dụng gây bất hoạt của enzym nuclease trong môi trường. Vỏ này thường được cấu tạo bởi nhiều đơn vị giống nhau và được gọi là capsome. Hình dạng và sự sắp xếp của các capsome quyết định hình dạng của virus. Một số virus rất đặc biệt như virus cúm, virus quai bị còn có một lớp vỏ ngoài cùng được gọi là envelope, lớp vỏ này có chứa màng tế bào ký chủ mà virus nhận được trong quá trình ra khỏi tế bào chủ.



Hình 4.7. Cấu trúc chung của một virus

b) Acid nucleic

Phần này nằm ở bên trong vỏ capsid gọi là lõi (genome), không giống như các sinh vật khác, acid nucleic của virus chỉ có một loại phân tử duy nhất hoặc ADN, hoặc ARN mà không bao giờ có cả hai phân tử này. Phức hợp gồm acid nucleic và capsid gọi là nucleocapsid. Một số virus còn có một lớp vỏ bao quanh capsid được gọi là màng bao (envelope).

2.2.2.4. Các bệnh do virus gây ra

Virus gây ra khá nhiều bệnh cho tất cả các nhóm sinh vật sống. Riêng con người, chúng đã gây ra một số bệnh như cúm (flu), cảm lạnh, herpes, sởi (measle),

bệnh thủy đậu (chicken pox), bệnh đậu mùa (small pox), viêm não (encephalitis) và đặc biệt là các virus đang được con người rất quan tâm như HIV, *Hantavirus* và virus ebola. Các virus này xuất hiện, hoặc là chúng chuyển đổi ký chủ mới (con người) hoặc là các virus mà sự tồn tại và tác động của chúng đến bây giờ các nhà khoa học mới nhận ra.

Kháng sinh không có hiệu quả chống lại virus. Tiêm chủng sẽ là biện pháp bảo vệ đối với các cá thể chưa bị lây nhiễm.

2.3. Giới Protista

Theo phương pháp phân loại truyền thống, giới *Protista* gồm các sinh vật nhân thật, đơn hoặc đa bào đơn giản và được chia thành 2 phân giới là *Protozoa* và *Algae*.

2.3.1. Phân giới động vật nguyên sinh (*Protozoa*)

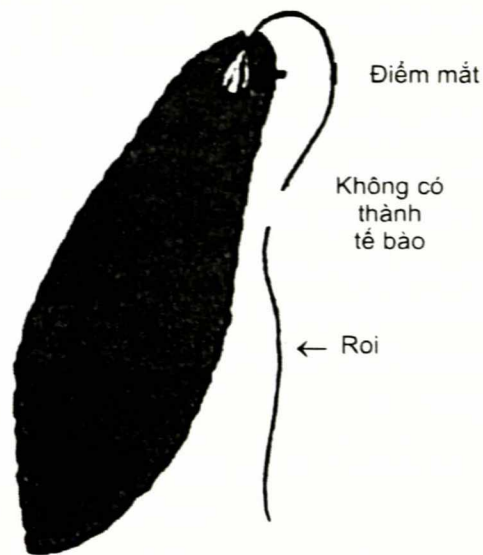
Động vật nguyên sinh là các cơ thể chỉ gồm một tế bào, thường có khả năng di động, có kích thước trung bình từ 50 – 150 μ m. Hình dạng cơ thể hoặc không nhất định như amip (hình 4.8), hoặc tương đối ổn định như trùng roi, trùng lông (hình 4.9 và hình 4.10). Một số loài có vỏ cứng bao bọc như trùng Mặt Trời, trùng phóng xạ.



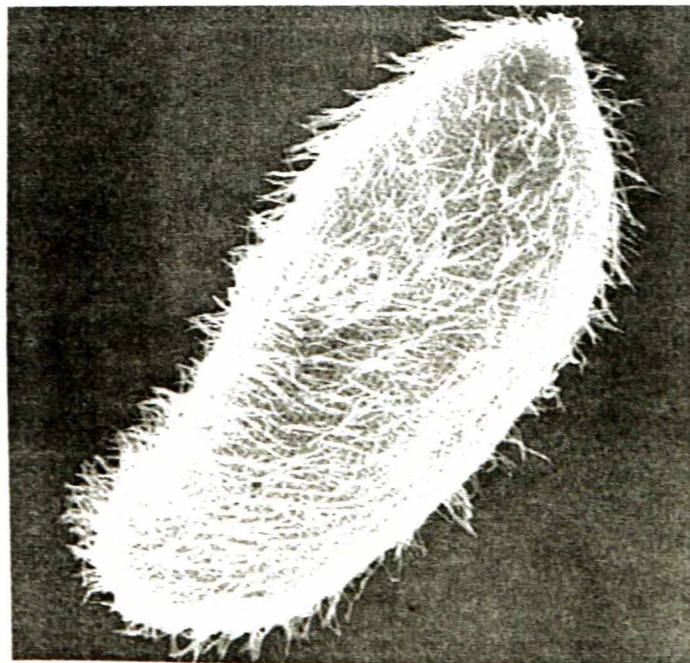
Hình 4.8. Hình thái của *Amoeba* sp.

Dù chỉ là một tế bào nhưng động vật nguyên sinh là những cơ thể độc lập, toàn vẹn. Ba thành phần chính của tế bào là màng, tế bào chất và nhân, không có thành tế bào.

Ở amip trần, màng tế bào còn ở dạng sơ khai, được gọi là màng sinh chất (plasmalemma). Các loại trùng roi, trùng lông có màng tế bào dạng pellicula, màng cellulose chỉ có ở một số loài trùng roi thực vật.



Hình 4.9. Hình thái của trùng roi *Euglena* sp



Hình 4.10. Hình thái của trùng lông *Paramecium* sp.

Tế bào chất thường được chia thành 2 lớp. Lớp ngoài mỏng, quánh và sáng hơn gọi là lớp ngoại chất (ectoplasma hay plasmagel). Lớp trong lỏng, có màu tối hơn gọi là lớp nội chất (endoplasma hay plasmasol).

Trong tế bào chất có nhân, các cơ quan tử và các hạt vật chất khác. Số lượng nhân thay đổi tùy loài (1, 2 nhân hoặc có thể nhiều hơn).

Để đảm bảo mọi hoạt động sống bình thường, trên cơ thể động vật nguyên sinh xuất hiện những cấu trúc nhỏ bé (có chức năng như những cơ quan ở động vật bậc cao) gọi là cơ quan tử (organelles).

Cơ quan tử vận động: chân giả (ở trùng chân giả), roi hoặc màng uốn ở trùng roi, tiêm mao hay lông nhỏ, mịn (ở trùng lông). Cơ quan tử tiêu hoá và hình thức dinh dưỡng: chân giả, roi, ngoài chức năng vận động còn tham gia nhiệm vụ bắt mồi. Sự tiêu hoá xảy ra bên trong tế bào (tiêu hoá nội bào) do các không bào tiêu hoá đảm nhiệm. Tùy loài mà hình thức dinh dưỡng có thể là dị dưỡng (kiểu dinh dưỡng động vật), tự dưỡng (kiểu dinh dưỡng thực vật đối với những loài mà bên trong cơ thể có chứa hạt diệp lục), hoặc hoại sinh (dinh dưỡng theo kiểu thẩm thấu đối với những loài ký sinh).

Cơ quan tử bài tiết và điều hoà áp suất thẩm thấu do các không bào co bóp phụ trách.

Cơ quan tử bảo vệ và tấn công: các bào gai hay túi lông (trichocyst) ở trùng lông.

Cơ quan tử phản xạ: điểm mắt (stigma) ở trùng roi có khả năng cảm quan, ở trùng lông mang sợi “thần kinh nguyên thủy” (thực chất là một hệ thống mạng sợi chất nguyên sinh) điều hoà hoạt động nhịp nhàng của các tiêm mao.

Động vật nguyên sinh có thể có hình thức sinh sản vô tính, hữu tính hoặc xen kẽ giữa hai hình thức sinh sản này.

– Sinh sản vô tính: ở một số loài trùng roi, trùng lông, hình thức sinh sản vô tính xảy ra một cách đơn giản bằng cách phân chia cơ thể ban đầu thành 2 cơ thể mới. Ở một số loài khác (trùng lỗ, trùng bào tử) kết quả của hình thức sinh sản vô tính không phải chỉ là 2 mà là nhiều cá thể mới. Đó là hiện tượng liệt sinh (schizogenesis).

– Sinh sản hữu tính: xuất hiện các giao tử (gametes) và kết hợp với nhau từng đôi tạo thành hợp tử (zygote); từ đó phát triển tiếp tục thành cá thể mới (trùng lỗ, trùng bào tử).

Trong chu trình sinh sản và phát triển của một số loài (chẳng hạn *Plasmodium* spp., *Elphidium* spp....) hai hình thức sinh sản vô tính và hữu tính xuất hiện kế tiếp nhau. Đó là hiện tượng xen kẽ thế hệ (metagenesis).

Với khoảng 30.000 loài, sống trong nhiều môi trường khác nhau, động vật nguyên sinh rất đa dạng về hình thái và sinh học. Chúng được phân thành 4 ngành khác nhau: ngành trùng chân giả (Sarcodina), ngành trùng roi (Mastigophora), ngành trùng bào tử (Sporozoa) và ngành trùng lông hay trùng tiêm mao (Ciliophora). Bảng 4.2 dưới đây giới thiệu tóm tắt các đặc tính của các ngành thuộc phân giới Protozoa.

Bảng 4.2. Đặc tính của các nhóm thuộc phân giới Protozoa

Ngành	Tên thường gọi	Đại diện	Phân bố	Bệnh thường gặp
Trùng roi– Mastigophora	Trùng roi (Flagellates)	<i>Trypanosoma</i> <i>Giardia</i> <i>Trichomonas</i>	Nước ngọt, ký sinh ở động vật	– Bệnh ngủ châu Phi. – Bệnh do Giardia. – Bệnh do <i>Trichomonas</i> .
Trùng chân giả– Sarcodina	Trùng amip (Amebas)	<i>Amoeba</i> <i>Entamoeba</i>	Nước ngọt, mặn, ký sinh ở động vật	Kiết lỵ do amip (amebiasis).
Trùng tiêm mao– Ciliophora	Trùng lông (Ciliates)	<i>Balantidium</i> <i>Paramecium</i>	Nước ngọt, mặn, ký sinh ở động vật.	Kiết lỵ.
Trùng bào tử– Sporozoa	Trùng bào tử (Sporozoans)	<i>Plasmodium</i> <i>Toxoplasma</i>	Ký sinh ở động vật, côn trùng	Sốt rét, bệnh do <i>Toxoplasma</i>

2.3.2. Phân giới tảo (Algae)

Tảo là nhóm sinh vật có cấu tạo đơn bào, tập đoàn hay đa bào đơn giản hoặc phân hóa thành thân, rễ, lá giả và phần lớn sống ở nước. Dinh dưỡng là tự dưỡng nhờ có sắc tố quang hợp, dị dưỡng chỉ có một số sống trong điều kiện đặc biệt. Sinh sản thường là sinh sản hữu tính và có sự luân chuyển thế hệ đơn bội và thế hệ lưỡng bội trong chu trình sống. Cơ quan sinh sản chính là đơn bào ở cơ thể đơn bào, hoặc đa bào ở cơ thể đa bào. Nếu cơ quan sinh sản là đa bào thì tất cả các tế bào đều là tế bào sinh sản (trừ nhóm tảo vòng).

Hiện nay đã phát hiện được khoảng 40.000 loài tảo trên toàn thế giới. Người ta dự đoán số lượng này chỉ chiếm khoảng 11% số loài thực có. Ở Việt Nam, số loài tảo đã được phát hiện khoảng trên 2.000 loài. Việc phân loại tảo là một vấn đề phức tạp do sự đa dạng về sinh học của chúng và thực tế đã có rất nhiều quan điểm khác nhau. Ở đây chỉ trình bày một số ngành tảo dựa theo cấu trúc tế bào, kiểu sống và sự có mặt của các sắc tố quang hợp và chất dự trữ, mặc dù hiện nay một số ngành như tảo đỏ, tảo nâu và tảo lục đã được xếp vào giới thực vật.

2.3.2.1. Tảo giáp (*Pyrrophyta*)

Ngành này có khoảng 1.000 loài. Tảo giáp là những tảo nhỏ thường là đơn bào, có diệp lục a và c, có màu vàng lục đến nâu nhờ có các carotenoid khác và peridinin. Tuy nhiên, có nhiều loài không màu. Dinh dưỡng bằng chất hữu cơ. Chất dự trữ là tinh bột. Màng tế bào là cellulose gồm nhiều mảnh ghép lại với nhau và có hai rãnh: một rãnh ngang và một rãnh dọc. Tại chỗ gặp nhau của hai rãnh có hai roi không bằng nhau đi ra, một nằm trong rãnh ngang và một nằm trong rãnh dọc.

Vi khuẩn lam là loài cộng sinh trong tảo giáp nhiệt đới và tảo giáp cũng là loài cộng sinh trong nhiều động vật không xương sống ở biển.

Một số tảo giáp có khả năng phát sáng, một số khác tiết ra chất màu đỏ rất độc gây ra hiện tượng thủy triều đỏ, giết chết hàng triệu con cá.

2.3.2.2. Tảo vàng (*Chrysophyta*)

Có khoảng 10.000 loài thuộc ngành này. Phần lớn các loài tảo được xếp vào ngành này. Đặc điểm đặc trưng là có màu vàng hoặc nâu do có chất chủ đạo là carotenoid, có diệp lục a và c, không có diệp lục b, có chất dự trữ leucosin thay cho tinh bột. Tảo silic là loại phổ biến nhất, vách tế bào kép và được bao hòa silic, có hai roi không đều nhau, tuy nhiên có một số trường hợp mất roi hoặc hai roi đều nhau.

Phần lớn Chrysophyta là đơn bào hay tập đoàn, chủ yếu sinh sản vô tính còn sinh sản hữu tính hiếm gặp, sống ở cả vùng nước ngọt và nước mặn.

2.3.2.3. Tảo nâu (*Phaeophyta*)

Nhóm này gồm các loại tảo nâu tương tự thực vật, sống cố định ở biển, có cấu trúc đa bào dạng sợi hay dạng bản, có từ 2 đến nhiều lớp tế bào phân hoá thành thân, rễ và lá. Vách tế bào là cellulose và alginic. Thể màu hình đĩa, hình hạt hay hình tán có sắc tố diệp lục a, c, fucoxanthin và các carotenoid khác. Chất dự trữ là laminarin.

Sự sinh sản thường gồm hai quá trình: sinh sản vô tính bằng các bào tử chuyển động 1-2 roi và sinh sản hữu tính bằng các hình thức đẳng giao, dị giao, noãn giao.

Tảo này tạo thành rừng ở biển nên là nguồn thức ăn, nơi trú ẩn và sinh sản của nhiều động vật biển. Tảo chứa hàm lượng iod cao nên được dùng làm thuốc. Chiết acid alginic và chuyển thành alginat làm tá dược dính trong ngành dược. Một số làm thức ăn và phân bón.

2.3.2.4. Tảo đỏ (*Rhodophyta*)

Ngành này gồm các loài tảo sống ở biển, có cấu trúc đa bào, dạng sợi phân nhánh, dạng bản và một số phân thành thân, rễ, lá giả tương tự thực vật. Vách tế bào là cellulose, phía ngoài được bao bởi chất nhày, vôi hay muối silic. Thể màu dạng đĩa, hình sao hay hình sợi. Sắc tố diệp lục là a (chlorophyll a), phycocyanin, các phycobilin và đặc trưng là sắc tố màu đỏ phycoerythrin, chất dự trữ là tinh bột.

Sinh sản vô tính bằng bào tử bất động, còn sinh sản hữu tính bằng noãn giao. Tảo đỏ vừa có dạng có sự chuyển giao thế hệ vừa có dạng không.

Tảo đỏ thường phát triển ở sâu dưới đáy biển và nhờ có sắc tố đỏ mà có khả năng thu nhận ánh sáng Mặt Trời. Nhiều loài trong ngành này dùng làm rau ăn như rau dong (*Hypnea*), rau câu (*Gracillaria*). Ở nước ta có loài phổ biến là *Gracillaria stemispicata*.

2.3.2.5. Tảo lục (*Chlorophyta*)

Là ngành rất đa dạng: đơn bào, tập đoàn, hoặc đa bào hình sợi, hình bản, có khi phân hóa thành thân, rễ và lá giả, một số ở dạng cộng bào. Tảo thường có màu xanh lục do có sắc tố chính là diệp lục và sống phổ biến ở nước ngọt.

Đặc điểm nổi bật trong chu trình sống là có giai đoạn bào tử chuyển động nhờ roi. Tế bào có sắc tố quang hợp giống thực vật là chlorophyll a, b. Ngoài ra còn có các sắc tố carotenoid khác, chất dự trữ là tinh bột. Sinh sản thường gồm hai quá trình: sinh sản vô tính bằng các bào tử chuyển động có hai roi, từ các bào tử chuyển động phát triển thành cơ thể tảo mới; và sinh sản hữu tính là quá trình tạo ra cơ thể mới có sự kết hợp của hai giao tử tạo nên hợp tử $2n$. Ngay trong hợp tử, quá trình phân chia giảm nhiễm xảy ra tạo nên những tế bào đơn bội và cho ra cây mới. Sinh sản hữu tính gồm 3 dạng: nếu hai giao tử chuyển động, có hình dạng giống nhau (đẳng giao tử) thì gọi quá trình đó là đẳng giao; nếu hai giao tử chuyển động, khác nhau về hình dạng (dị giao tử) thì gọi quá trình đó là dị giao. Trường hợp thứ 3, khi có nhiều giao tử bé chuyển động và một ít giao tử lớn không chuyển động (bất động) thì quá trình kết hợp đó gọi là noãn giao. Một số trường hợp hai sợi tảo gần nhau hình thành ống tiếp hợp và khi gặp nhau đổ nội chất cho nhau tạo thành hợp tử gọi là sinh sản bằng tiếp hợp.

2.4. Giới thực vật (*Plantae*)

Thực vật là những sinh vật nhân thực, đa bào, không di chuyển và có khả năng quang hợp. Có tế bào được bao bọc bởi thành tế bào bằng cellulose. Theo quan điểm hiện đại, thực vật bao gồm ba nhóm chính:

– Thực vật ở nước đơn bội–tảo (*Algae*) bao gồm 3 ngành là tảo lục, tảo nâu, tảo đỏ đã được trình bày ở phần giới tảo, thuộc giới *Protista*.

– Thực vật ở cạn không mạch gồm ngành rêu.

– Thực vật ở cạn có mạch gồm ngành dương xỉ, ngành cỏ tháp bút, ngành thông đất, ngành hạt trần và ngành hạt kín.

Thực vật được chia thành các ngành khác nhau căn cứ vào hai cơ quan chính là cơ quan dinh dưỡng và cơ quan sinh sản.

Đối với cơ quan dinh dưỡng, căn cứ vào hai dạng chính là cơ thể dạng tản hay cơ thể dạng chồi. Cơ thể dạng tản căn cứ vào hình dạng tản, cấu trúc tế bào, các chất màu quang hợp và chất dự trữ trong tản để phân chia ra các ngành như phân giới tảo đã được trình bày ở phần trên trong giới *Protista*. Loại cơ thể dạng chồi căn cứ vào sự phức tạp hóa dần của chồi mà phân loại:

– Chồi có thân và lá nhưng chưa có rễ thật.

– Chồi có thân, lá và rễ thật, tức bên trong các cơ quan đó đã hình thành các mạch dẫn truyền chính.

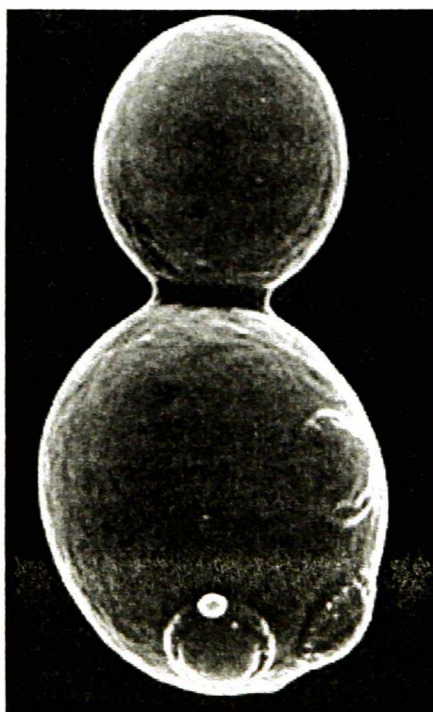
Đối với cơ quan sinh sản, căn cứ vào hai dạng chính là sinh sản bằng bào tử và sinh sản bằng hạt. Với bào tử có hai loại chính là bào tử vô tính và bào tử hữu tính. Với hạt: thực vật có hạt có thể có hoa chưa hoàn chỉnh, tức chưa hình thành nhụy và hạt còn trần, được gọi là thực vật hạt trần. Thực vật có hạt lại có thể có hoa hoàn chỉnh, tức hoa đã hình thành nhụy và hạt được bọc kín, được gọi là thực vật hạt kín. Thực vật hạt kín lại có hai loại: loại một lá mầm nếu trong hạt có một lá mầm và hai lá mầm nếu trong hạt có hai lá mầm. Người ta chia các ngành thực vật thành các đơn vị phân loại nhỏ hơn như lớp, bộ, họ căn cứ vào cách sắp xếp các bộ phận của hoa, cụm hoa, bầu, nhị và nhụy. Trong hai cơ quan dinh dưỡng và sinh sản thì cơ quan sinh sản là đặc điểm ít bị môi trường chi phối hơn và là đặc điểm phân loại quan trọng nhất của thực vật. Như ngành rêu là các thực vật ở cạn có cơ thể cấu tạo chồi gồm thân, lá, rễ nhưng là rễ giả và trong thân, lá chưa có mạch. Ngành dương xỉ đã có rễ thật, trong thân và lá đã có mạch, sinh sản bằng bào tử. Ngành hạt trần gồm các loại thực vật sinh sản bằng hạt nhưng lá noãn chưa khép kín để che hạt. Ngành hạt kín sinh sản bằng hạt và lá noãn đã khép kín để che hạt.

Thực vật là nguồn cung cấp oxy, thực phẩm, vải, vật liệu xây dựng, các chất màu, gia vị, thuốc nhuộm và dược liệu.

2.5. Giới nấm (Fungi)

2.5.1. Đặc điểm chung của nấm

Nấm là nhóm sinh vật có nhân thật (*Eucaryotae*), cơ thể nấm không có mạch. Nấm sinh sản bằng bào tử và thường phát tán vào môi trường nhờ gió. Riêng các loại nấm đơn bào thường sinh sản theo kiểu nảy chồi và một số ít loài sinh sản theo kiểu trực phân. Bào tử của nấm gồm 2 loại: bào tử hữu tính và bào tử vô tính. Các loại bào tử này được sinh ra tùy thuộc vào loài và các điều kiện ngoại cảnh. Nấm giống thực vật, đều có sự thay đổi thế hệ. Nấm không có khả năng di động ngoại trừ một số rất ít thuộc bộ nấm roi (*Chytridiales*) có pha di động. Dạng sinh dưỡng của nấm có thể là đơn bào (nấm men) (hình 4.11) hoặc dạng sợi (nấm mốc). Dạng sợi có thành phần sợi đơn được gọi là hypha, nhiều sợi gọi là hyphae. Các sợi có thể có vách ngăn (septate hyphae) hoặc không có vách ngăn, được gọi là các sợi cộng bào (coenocytic hyphae) và một hệ sợi được gọi là mycelium và nhiều hệ sợi là mycelia.



Hình 4.11. Hình thái tế bào nấm men

Đối với nấm men, các tế bào thường tách rời nhau ra nhưng cũng có trường hợp các tế bào dính lại với nhau tạo thành sợi, nhưng không có sự trao đổi chất giữa các tế bào được gọi là sợi giả (pseudomycelium). Một điển hình thường gặp là các sợi giả của nấm *Candida albicans*, một đặc điểm quan trọng trong chẩn đoán xác định loài nấm thường gây bệnh này.

Thành tế bào của nấm có cấu trúc tương tự thành tế bào thực vật nhưng khác nhau về hợp phần hóa học: thành tế bào nấm cấu tạo chủ yếu là chất chitin, thành tế bào thực vật cấu tạo chủ yếu là cellulose. Nấm không phải là các sinh vật tự dưỡng mà là các sinh vật dị dưỡng. Cũng là sinh vật dị dưỡng nhưng nấm khác với động vật: động vật nuốt thức ăn vào dạ dày rồi mới tiêu hóa còn nấm thì ngược lại, tiết ra các enzym vào cơ chất để tiêu hóa rồi mới hấp thu vào cơ thể nấm.

Nấm tích trữ năng lượng dưới dạng glycogen như động vật và khác với thực vật tích trữ năng lượng dưới dạng tinh bột. Các màng tế bào nấm cấu tạo bởi sterol duy nhất là ergosterol, chất thay thế cho cholesterol ở màng tế bào động vật có vú. Hầu hết nấm có nhân tế bào rất nhỏ và với ADN ít trùng lặp. Quá trình nguyên phân nói chung được kết thúc mà không có sự phân hủy màng nhân.

Tùy thuộc vào loài và điều kiện ngoại cảnh, nấm có thể có các trạng thái dinh dưỡng: hoại sinh, ký sinh và cộng sinh.

2.5.2. Phân loại nấm

Dựa vào phương thức sinh sản bào tử hữu tính, các nhà nấm học đã chia giới nấm thành 4 ngành và một nhóm sau đây:

2.5.2.1. Ngành nấm roi (*Chytridiomycota*)

Hầu hết các loài thuộc ngành này là nấm thủy sinh và sống dị dưỡng. Một số có thể ký sinh gây các bệnh ở thực vật. Các bào tử hữu tính và cả bào tử vô tính đều có roi và có khả năng di động.

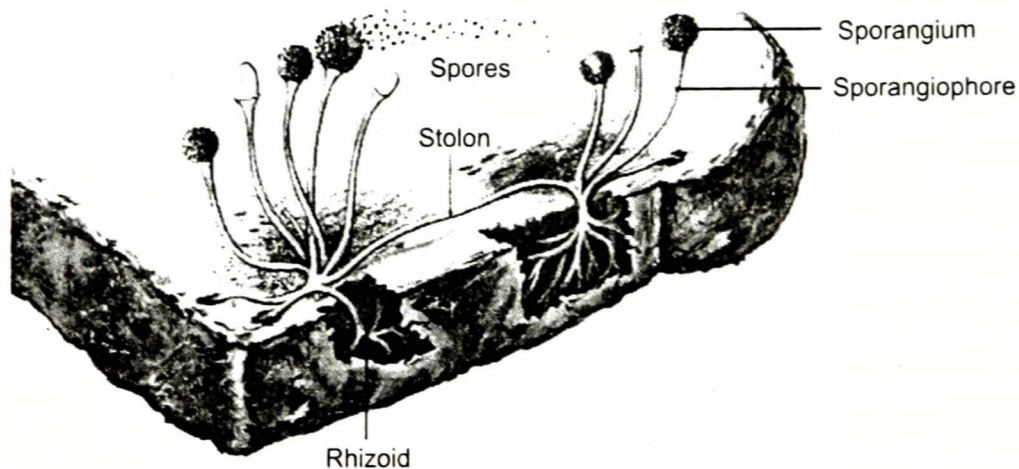
2.5.2.2. Ngành nấm tiếp hợp (*Zygomycota*)

Là ngành rất phổ biến và thường được gọi là mốc bánh mỳ. Hầu hết sống hoại sinh, nhưng cũng có khá nhiều loài sống ký sinh gây bệnh ở người và thực vật. Ngoài ra trong ngành này có bộ *Glomales* sống cộng sinh khá phổ biến với khoảng 70% thực vật trên thế giới. Các bào tử hữu tính là dạng bào tử nghỉ, có thành dày được gọi là bào tử tiếp hợp (Zygospore). Các bào tử vô tính được sinh ra trong một nang gọi là nang bào tử (sporangium).

Đặc điểm khác của ngành này là sợi nấm không có vách ngăn, chứa nhiều nhân đơn bội. Bào tử và cả giao tử không chuyển động. Sinh sản hữu tính bằng sự tiếp hợp của hai sợi nấm có giới tính khác nhau.

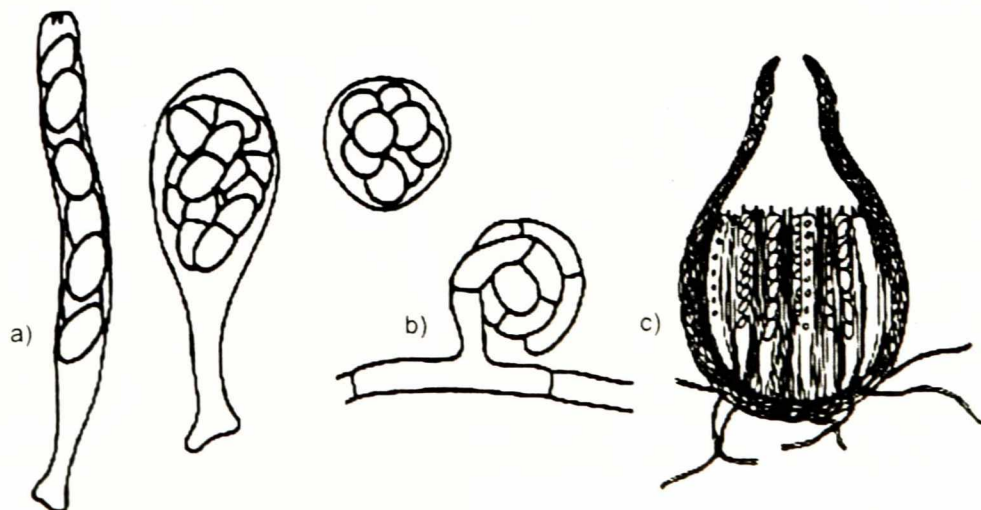
Đại diện điển hình là mốc bánh mỳ *Mucor*, *Rhizopus*. Chúng có cấu tạo gồm ba loại sợi nấm làm thành mạng trên bề mặt bánh: sợi hình rễ (Rhizoid) xuyên sâu vào bánh mỳ hấp thụ thức ăn, sợi khí sinh đặc biệt hình thành nang (Sporangium) chứa các bào tử ở đỉnh sợi và các sợi đặc biệt nằm trên bề mặt được gọi là Stolons sinh các cuống nang bào tử (Sporangiophore) (hình 4.12). Khi các bào tử chín phát

tán gặp điều kiện ẩm, bào tử nảy mầm cho ra sợi nấm mới, kết thúc chu trình vô tính. Sinh sản hữu tính do sự kết hợp hai sợi nấm: thành tế bào ở hai sợi biến đổi thành túi sinh giao tử. Hai túi giao tử kết hợp với nhau tạo thành hợp tử, các nhân bố mẹ kết hợp với nhau từng đôi một tạo thành nhân lưỡng bội. Các nhân bên trong tiêu biến chỉ còn lại một nhân. Nhân này tiếp tục phân chia giảm nhiễm tạo thành 4 nhân đơn bội, 3 trong số chúng mất đi còn lại một nhân. Cấu trúc đó được gọi là bào tử tiếp hợp, được bảo vệ bởi một màng dày thấm các thể canxi oxalat và sau đó ngủ trong một thời kỳ dài. Khi bào tử tiếp hợp nảy mầm sinh ra túi bào tử. Túi lúc chín giải phóng hàng ngàn bào tử đơn bội và gặp điều kiện ẩm, mỗi bào tử sinh ra một cơ thể nấm mới.



Hình 4.12. Hình thái nấm mốc bánh mỳ *Mucor* sp.

2.5.2.3. Ngành nấm túi (*Ascomycota*)



Hình 4.13. Nhóm nấm *Ascomycetes*

- a) Các loại túi (ascus): hình trụ, hình chùy, hình cầu; b) Pha đầu của sinh sản hữu tính;
c) Mặt cắt ngang của thể quả hình quả lê có các túi bào tử hình trụ.

Ngành này bao gồm các loại nấm chén, nấm morel và hầu hết nấm men. Đa số các tác nhân gây bệnh thực vật đều thuộc ngành này. Các bào tử hữu tính được sinh ra trong một túi gọi là Ascus (hình 4.13). Các bào tử vô tính được sinh ra bên ngoài (bào tử trần) được gọi là conidi.

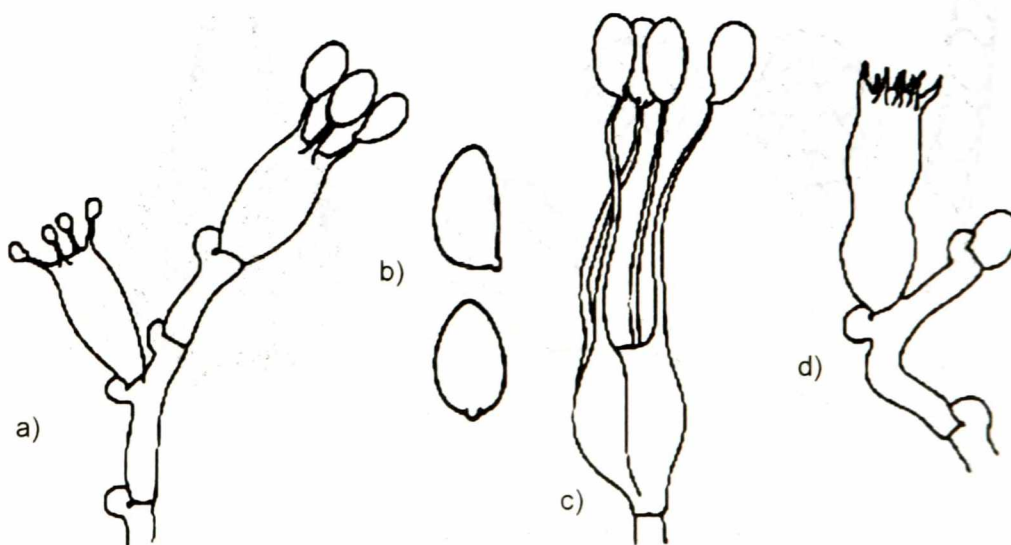
Khác với các ngành khác, ngành này sợi nấm có cấu trúc vách ngăn. Kết quả của quá trình sinh sản hữu tính, hình thành túi trong đó chứa các bào tử túi (ascospore), tức là các nhân kết hợp lưỡng bội được bao bọc trong chất nguyên sinh. Kết quả của sinh sản vô tính là bào tử đính (conidium) được sinh ra ở đỉnh các sợi nấm chuyên hoá. Mỗi một bào tử đính sẽ sinh ra một cây nấm mới khi gặp điều kiện thuận lợi.

Nấm túi có thể không có thể quả như nấm men. Đây là nấm đơn bào sinh sản sinh dưỡng bằng nảy chồi, sinh sản hữu tính bằng cách kết hợp hai tế bào lại thành hợp tử.

Nấm túi có thể quả do các sợi nấm ($1n + 2n$) bện lại, có 3 loại chính: thể quả đóng kín, ví dụ nấm gây bệnh hắc bào, vẩy rồng, bệnh ở cây; thể quả mở lỗ, ví dụ nấm gây bệnh đốm lá chuối, lá lạc và thể quả hình đĩa như nấm tai mèo trông giống như cái chén, nấm gây bệnh ở cải bắp, cà chua, cà rốt.

2.5.2.4. Ngành nấm đảm (Basidiomycota)

Các bào tử hữu tính (Basidiospore) của ngành này được sinh ra bên ngoài, trên một cấu trúc hình chùy được gọi là đảm (Basidium) (hình 4.14). Bào tử vô tính thường không có.



Hình 4.14. Các loại đảm sinh bào tử đảm của nhóm nấm Basidiomycota

a) Đảm dạng chùy; b, c). Quả lê; d) Hình trụ.

Nấm đảm là nhóm phổ biến rộng rãi như nấm rơm, nấm hương, mộc nhĩ, nấm trùn,... Nấm này phân hoá thành thân và mũ (tán) (hình 4.15). Đó là những sợi nấm có vách ngăn và song hạch ken chặt lại. Phần chính của sợi nấm nằm ở dưới mặt đất và sống hoại sinh.



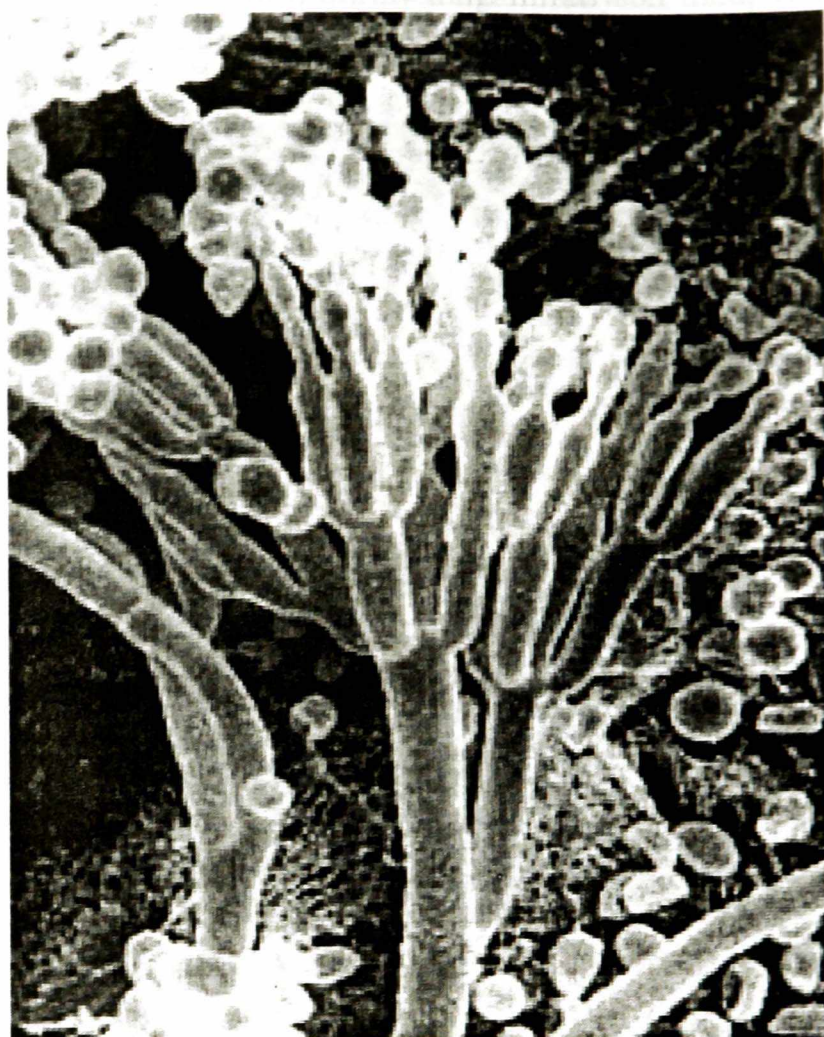
Hình 4.15. Nhóm nấm đảm: thân và tán của *Amanita* sp (Nathan Wilson, 1992)

Nấm đảm có điểm khác cơ bản so với các nấm khác là sợi đa bào và song hạch là chủ yếu, sợi đơn hạch chỉ gặp lúc nảy mầm và sinh sản bằng bào tử đảm hay còn gọi là bào tử ngoại sinh, tức là các bào tử đơn bội được hình thành nằm trên các u lõi tách biệt khỏi đầu của sợi nấm.

Quá trình hình thành bào tử đảm diễn ra như sau: trên các phiến dưới mũ nấm có các đầu sợi nấm hai hạch nhân (1 nhân đơn bội đực và một nhân đơn bội cái đứng cạnh nhau) kết hợp tạo thành nhân hợp tử lưỡng bội. Nhân đó phân chia giảm nhiễm cho 4 nhân con. Bốn u lõi mọc ra ở tận cùng và 4 nhân con đi vào đó. Các vách hình thành tách 4 u lõi tạo thành 4 bào tử đảm. Bào tử đó già tung ra, nảy mầm tạo nên các sợi đơn bội. Hai sợi đơn bội kết hợp với nhau tạo thành sợi song hạch và ken lại thành thể quả nấm.

Nấm này có loại ăn được như nấm rơm, nấm sò, mộc nhĩ. Nấm dùng làm thuốc như linh chi, nhưng cũng có nhiều loại nấm độc như nấm lim, nấm độc đen và nấm độc đỏ thuộc chi *Amanita* có thể gây chết người khi ăn phải.

2.5.2.5. Nhóm nấm bất toàn (*fungi imperfecti* hay *deuteromycetes*)



Hình 4.16. Hình thái vi học của loài *Penicillium notatum*

Nhóm này gồm các loài nấm không biết trạng thái hữu tính. Trạng thái vô tính chính là quá trình hình thành conidi (bào tử đính). Bất kỳ một loài nấm nào không biết trạng thái hữu tính hay quá trình giảm phân trong chu kỳ sống của chúng, để cho tiện lợi người ta đều xếp vào nhóm này. Hầu hết các loài của nhóm này có mối quan hệ thân thuộc với ngành nấm túi và theo Hawksworth (1983), có khoảng 1.680 chi với 17.000 ngàn loài đã được xếp vào nhóm này. Đa số các loài của nhóm này sống ở trên cạn, hoại sinh hoặc ký sinh ở thực vật. Một số ít ký sinh gây bệnh ở động vật, trong đó có con người. Một đại diện điển hình của nhóm này là chi *Penicillium*, với loài nấm nổi tiếng *P. notatum* (hình 4.16) sinh kháng sinh penicilin, mở ra một kỷ nguyên mới cho loài người trong việc chinh phục các loại bệnh do vi khuẩn gây ra.

2.5.3. Vai trò của nấm

– Nấm hoại sinh là một nhân tố quan trọng trong chu trình vật chất của sự sống, nó tham gia phân huỷ xác của thực vật, động vật chết, cũng như các loại rác thải khác.

– Nấm được dùng trong sản xuất bánh mỳ, rượu, bia. Chúng được dùng làm thực phẩm, làm thuốc và là nguồn để sản xuất các chất kháng sinh...

– Nấm ký sinh là tác nhân gây bệnh ở người, động vật và cho cây trồng.

– Nấm hoại sinh gây hư hỏng lương thực, thực phẩm, đặc biệt là các sản phẩm ngũ cốc, đồng thời sinh độc tố (mycotoxin) gây tác hại đến sức khỏe và kinh tế cho con người.

2.6. Giới động vật (Animalia)

Dựa trên những đặc điểm về cấu tạo sinh học hoặc có cùng nguồn gốc, hoặc biểu hiện tính chất phân hoá và có tiến bộ hơn (đặc điểm tổ chức và đối xứng cơ thể; nguồn gốc lỗ miệng; sự hình thành, mức độ phân hoá và phát triển của thể xoang,...) động vật đa bào được sắp xếp theo một hệ thống sau đây:

– Động vật đa bào bậc thấp (*Parazoa*), chỉ có một ngành: *Porifera*.

– Động vật đa bào chính thức (*Eumetazoa*) gồm các ngành còn lại:

+ Động vật có cơ thể đối xứng toả tròn (*Radiata*): ngành *Coelenterata* và *Stenophora*.

+ Động vật nguyên khẩu, chưa có thể xoang (*Protostomia*, *Acoelomata*): ngành *Plathelminthes* và *Nemertini*.

+ Động vật có thể xoang giả (*Pseudocoelomata*): ngành *Nemathelminthes* và *Entoprocta*.

+ Động vật có thể xoang thật, cơ thể không phân đốt (*Coelomata*, *Inarticulata*): ngành *Priapulida*, *Sipunculida*, *Mollusca*, *Echuirida*.

+ Động vật có cơ thể phân đốt (*Articulata*): ngành *Annelida*, *Tardigrada*, *Onychophora*, *Pentastomida*, *Arthropoda*.

+ Động vật hậu khẩu (*Deuterostomia*), gồm tất cả các động vật còn lại: ngành *Phoronida*, *Bryozoa*, *Ectoprocta*, *Brachiopoda*, *Echinodermata*, *Chaetognatha*, *Pogonophora*, *Hemichordata* và *Chordata*.

Sau đây giới thiệu một số ngành có liên quan nhiều tới lĩnh vực y – dược học với những đặc điểm cơ bản nhất.

2.6.1. Ngành giun dẹp (Plathelminthes)

Giun dẹp là nhóm động vật đa bào đầu tiên có đối xứng hai bên (Bilateria), xuất hiện lá phôi thứ ba hay trung bì (mesoderm), chưa có thể xoang (acoelome). Có khoảng 12.700 loài; sống trong nước ngọt, biển, một số sống trong đất ẩm; nhiều loài ký sinh gây bệnh ở động vật và người.

Cơ thể dẹp theo hướng lưng – bụng, hình lá hoặc hình dải dài. Phần lớn các loài sán tiêm mao có kích thước trung bình từ 0,4 – 5mm, trong khi các loại sán dây có chiều dài cơ thể rất lớn như sán mép (*Dyphyllobotrium latum*) dài 15m, thậm chí 20m.

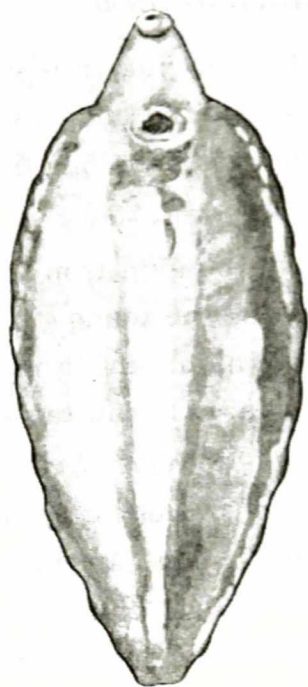
Thành cơ thể là một bao cơ gồm các lớp cơ dọc, cơ vòng và cơ lưng – bụng. Bọc ngoài cơ thể là một lớp biểu mô đơn. Ở các loài giun dẹp sống tự do, trên lớp biểu mô này (ít ở mặt bụng) được phủ một lớp tiêm mao; ở các loài ký sinh, lớp biểu mô tiêm mao được thay bằng lớp cuticun (nhăn, có sức chịu đựng cao trong môi trường ký sinh).

Ống tiêu hoá có cấu tạo đơn giản (có lỗ miệng, ruột, chưa có hậu môn). Ở các loài ký sinh, cơ quan tiêu hoá hoàn toàn tiêu giảm (dinh dưỡng theo lối thẩm thấu); ngược lại, cơ quan bám phát triển (giác bám, mép bám, móc bám). Thuộc về hệ thần kinh – cảm giác có hạch não và các dây thần kinh xuất phát từ đó. Ở sán tiêm mao, cấu tạo hệ thần kinh ít nhiều vẫn mang tính chất đối xứng toả tròn. Thường có các thụ cảm giác, mắt, bình nang trên phần đầu cơ thể ở các loài có đời sống tự do. Chức năng bài tiết do nguyên đơn thận (protonephridium, còn gọi là tế bào “ngọn lửa”), lần đầu tiên xuất hiện ở giun dẹp, chưa có cơ quan tuần hoàn và hô hấp.

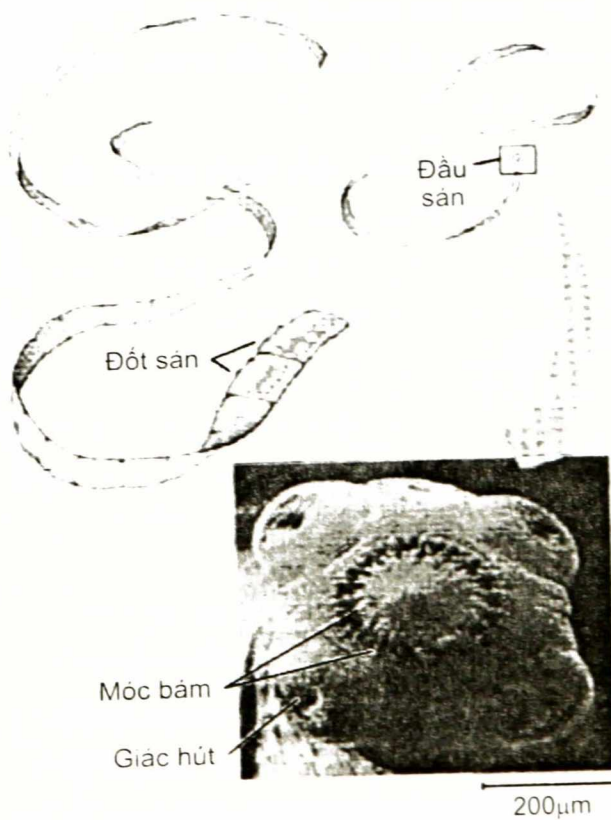
Hầu hết các loài giun dẹp là lưỡng tính và hình thức sinh sản chính là hữu tính: đẻ trứng. Cơ quan sinh sản có cấu trúc phức tạp. Trứng sau khi được thụ tinh, ở một số loài (chủ yếu là ở sán tiêm mao) sẽ phát triển trực tiếp thành sán trưởng thành; ở các loài khác, phải trải qua giai đoạn ấu trùng với một vài dạng cấu tạo khác nhau. Ở nhiều loài sán dây, giai đoạn ấu trùng tồn tại trong cơ thể vật chủ dưới hình thức các nang sán (*Cysticercus*). Trong chu trình sinh sản và phát triển của một số loài giun dẹp (ví dụ sán lá gan) có hiện tượng xen kẽ thế hệ, thay đổi vật chủ với các hình thức sinh sản khác nhau. Hình thức sinh sản vô tính (chủ yếu bằng cách cắt đoạn cơ thể) cũng gặp ở một số ít loài (*Microstomum lineare*).

Ngành này có 3 lớp:

Lớp sán tiêm mao (*Turbellaria*), lớp sán lá (*Trematoda*) đại diện là: sán lá gan (*Fasciola hepatica*) (hình 4.17); lớp sán dây (*Cestoda*) với đại diện là sán dây lợn (*Taenia solium*) (hình 4.18) và sán dây bò (*Taenia saginata*).



Hình 4.17. Sán lá gan *Fasciola hepatica*



Hình 4.18. Sán dây lợn *Taenia solium*

2.6.2. Ngành giun tròn (*Nemathelminthes*)

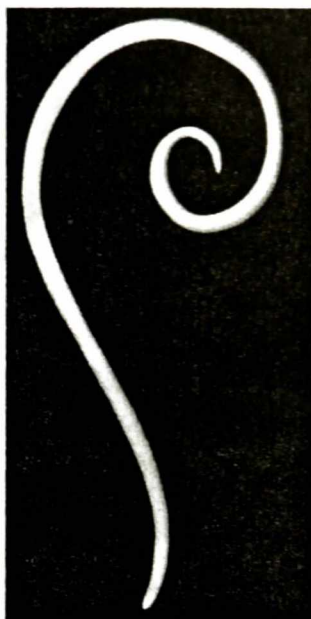
Ngành này có khoảng 12.500 loài, giun tròn sống trong môi trường nước hay đất; nhiều loài sống ký sinh trong cơ thể động vật, thực vật (ở người khoảng 50 loài). Giun tròn có xoang cơ thể nguyên sinh; ống tiêu hoá hoàn chỉnh, nhưng chưa có cơ quan tuần hoàn và hô hấp.

Khác với các loài giun dẹp, cơ thể giun tròn thường kéo dài và có dạng hình dũa, có xoang cơ thể nguyên sinh hay thể xoang giả (Pseudocoelome). Thành cơ thể gồm các lớp: cuticun (là một lớp vỏ nhẵn, không mang tiêm mao), bao bọc toàn bộ mặt ngoài cơ thể; lớp biểu bì (Epidermis), cấu tạo kiểu hợp bào; trong cùng là lớp cơ (được phân thành 4 dải dọc). Ống tiêu hoá có cấu tạo đơn giản, đã có ruột sau và hậu môn. Các loài giun sống tự do có thể thu nhận thức ăn dưới dạng lỏng hoặc rắn; trong khi đó, các loài ký sinh thường hấp thụ chất dinh dưỡng qua bề mặt cơ thể hoặc tiết men để tiêu hoá mô của vật chủ. Một số loài giun không có cơ quan bài tiết; số khác, phát triển dạng tuyến hoặc ống bài tiết. Hệ thần kinh gồm vòng hầu (bao quanh phần trước thực quản) và các ống dây thần kinh chạy dọc cơ thể, trong đó 2 dây lớn hơn nằm trong gờ lưng và gờ bụng của lớp biểu bì. Các giác quan ở giun tròn kém phát triển. Tuyến sinh dục có dạng hình sợi dài và mảnh; sản phẩm sinh dục được thải ra qua lỗ sinh dục. Các loài ký sinh thường có khả năng sinh sản lớn (*Ascaris* có thể đẻ tới 20 triệu trứng). Chưa có cơ quan tuần hoàn và hô hấp chuyên trách.

Hầu hết giun tròn là phân tính, thụ tinh trong, đẻ trứng và chỉ có sinh sản hữu tính; một số ít loài đẻ con (giun chỉ). Trong chu trình sống của một số loài giun ký sinh (giun chỉ, giun xoắn), ấu trùng được phát triển qua vật chủ trung gian; một số loài khác (giun dũa, giun kim) được lây nhiễm trực tiếp (không thông qua vật chủ khác).

Tuổi thọ trung bình của các loài giun sống tự do thường là ngắn; trong khi giun dũa ký sinh ở người có thể sống đến 1 năm, hay 17 năm đối với giun chỉ.

Ngành giun được phân thành 6 lớp (*Rotatoria*, *Gartrotricha*, *Nematoda*, *Nematomorpha*, *Kinorhyncha* và *Acanthocephala*), trong đó lớp giun tròn (*Nematoda*) chiếm hầu hết số lượng loài của ngành (trên 10.000 loài), cũng là lớp có nhiều loài ký sinh ở động vật và người. Đại diện là giun dũa (*Ascaris lumbricoides*) (hình 4.19), giun kim (*Enterobius vermicularis*) (hình 4.20), giun chỉ (*Wuchereria bancrofti*, *Brugia malayi*) gây bệnh chân voi (Elephantiasis) (hình 4.21).



Hình 4.19. Giun đũa *Ascaris lumbricoides*

Giun cái



Giun đực



2mm

1mm

Per Darben

Giun kim (*Enterobius vermicularis*)

Hình 4.20. Giun kim cái và đực



Hình 4.21. Bệnh chân voi do giun chỉ (*Wuchereria bancrofti*) gây ra

2.6.3. Ngành chân khớp (Arthropoda)

Đây là ngành có số lượng loài lớn nhất trong giới động vật (hơn 1 triệu loài, trong đó khoảng 850.000 loài là côn trùng). Động vật chân khớp có thể tìm thấy ở mọi nơi, một nhóm động vật đa dạng về cấu tạo, phong phú trong lối sống, biểu hiện một sự phân hoá và thích nghi cao đối với môi trường. Mặt khác, cùng xếp trong nhóm động vật phân đốt (Articulata), nhiều dấu hiệu cho thấy chân khớp có quan hệ nguồn gốc với giun đốt.

Nét nổi bật ở động vật chân khớp là sự hoàn thiện về mặt tổ chức cơ thể: phân đốt dị hình (Heteronom) với sự hình thành các nhóm đốt để tạo nên các bộ phận khác nhau của cơ thể (thông thường cơ thể được chia làm 3 phần: đầu, ngực và bụng). Trên mỗi đốt cơ thể chủ yếu ở phần đầu và ngực có mang các đôi phần phụ phân đốt (có nguồn gốc từ chi bên của giun đốt). Các phần phụ được biến đổi phù hợp với các chức năng khác nhau: thành các bộ phận của miệng để thu nhận thức ăn, các phần phụ của cơ quan sinh dục, chân để vận động (bò, nhảy, bơi); nhiều loài (côn trùng) còn phát triển thêm (1 hoặc 2 đôi) cánh để bay.

Bọc ngoài cơ thể là lớp vỏ cuticun, còn được gọi là bộ xương ngoài (vừa có tác dụng bảo vệ vừa là nơi bám cho các cơ bên trong). Trong quá trình phát triển, các loài chân khớp có hiện tượng lột xác (thay bằng lớp vỏ mới) để tăng kích thước cơ thể.

Hệ cơ phát triển và phân hoá: hình thành những bó riêng biệt để đảm bảo một sự hoạt động đa dạng và linh hoạt:

Xoang cơ thể ở động vật chân khớp là hỗn hợp giữa xoang nguyên sinh (xoang giả) và xoang thứ sinh (xoang thật), vì thế được gọi là thể xoang hỗn hợp (mixocoelome) hay xoang huyết (haemocoelome, vì có chứa máu) và trở thành một bộ phận của hệ tuần hoàn. Vì vậy, khác với giun đốt, hệ tuần hoàn ở chân khớp là hệ tuần hoàn hở. Tham gia vào hệ tuần hoàn còn có tim lưng (được phân hoá từ mạch lưng của giun đốt) và hệ mạch tới các cơ quan. Chức năng chủ yếu của hệ tuần hoàn là vận chuyển chất dinh dưỡng tới các mô và chất thải đến cơ quan bài tiết.

Việc cung cấp oxy do cơ quan hô hấp đảm nhiệm. Phần lớn các loài ở nước phát triển các lá mang (một số ít có thể hô hấp qua da); các loài ở cạn trao đổi khí qua hệ thống khí quản (côn trùng, nhiều chân) hoặc qua túi phổi (nhện, bọ cạp).

Ngoài các bộ phận chính của ống tiêu hoá (miệng, hầu, thực quản, ruột, hậu môn) các tuyến tiêu hoá cũng phát triển: tuyến ruột giữa (ở giáp xác), tuyến nước bọt (ở nhện và côn trùng). Động vật chân khớp có thể sử dụng thức ăn rắn (từ các động, thực vật) hoặc theo cách hút dịch. Tùy theo cách thu nhận thức ăn khác nhau mà phần phụ miệng được biến đổi phù hợp. Chức năng bài tiết do các tuyến thực hiện: tuyến râu hoặc tuyến hàm ở giáp xác, tuyến háng ở sam, tuyến Malpigi ở nhện và côn trùng. Hai bộ phận chính của hệ thần kinh là não và dây thần kinh bụng. Ở nhiều loài não đã phân hoá thành não trước, não giữa và não sau. Các loài chân khớp có đời sống xã hội (ong, kiến, mối) ở não trước có thể nắm phát triển (là trung khu của bản năng).

Hầu hết các loài chân khớp là động vật đơn tính và sinh sản bằng cách đẻ trứng. Sự phát triển hậu phôi ở nhiều loài là một quá trình biến thái phức tạp (trải qua dạng ấu trùng với nhiều lần lột xác và giai đoạn nhộng).

Là nhóm động vật có số lượng loài phong phú nhất trong giới động vật, ngành chân khớp gồm 4 ngành phụ: trùng ba thùy (ngành phụ *Trilobitomorpha*), có kìm (ngành phụ *Chelicerata*), có mang (ngành phụ *Branchiata*) và có khí quản (ngành phụ *Tracheata*).

2.6.3.1. Một số lớp chính và đại diện thường gặp

- Lớp hình nhện (*Arachnida*): gồm các động vật chân khớp sống ở trên cạn, cơ thể phân thành đầu, ngực và phần thân sau, có 4 đôi chân. Đại diện là nhện nhà (*Heteropoda pressula*), bọ cạp (*Pandinus dictator*).

- Lớp giáp xác (*Crustacea*): gồm các động vật chân khớp sống ở biển, nước ngọt, có 2 đôi râu, hầu hết đều có máu phụ. Đại diện là tôm sông (*Macrobrachium nipponense*), cua đồng (*Somaniathelphusa sinensis*).

- Lớp chân môi (*Chilopoda*): thân dài, có nhiều chân bò. Cá thể trưởng thành mỗi đốt mang chân có một cặp chân. Đại diện là rết (*Scolopendra*).

- Lớp chân kép (*Diplopoda*): gồm các động vật chân khớp có thân dài, có nhiều chân để di chuyển. Cơ thể trưởng thành mỗi đốt mang chân có 2 cặp chân. Đại diện là cuốn chiếu (*Polydesmus*).

- Lớp côn trùng (*insecta* = *Hexapoda*): gồm các loài chân khớp sống ở nước ngọt và trên cạn, có một đôi râu. Cơ thể phân hóa thành đầu, ngực và bụng, có 3 đôi chân. Gồm 2 phân lớp:

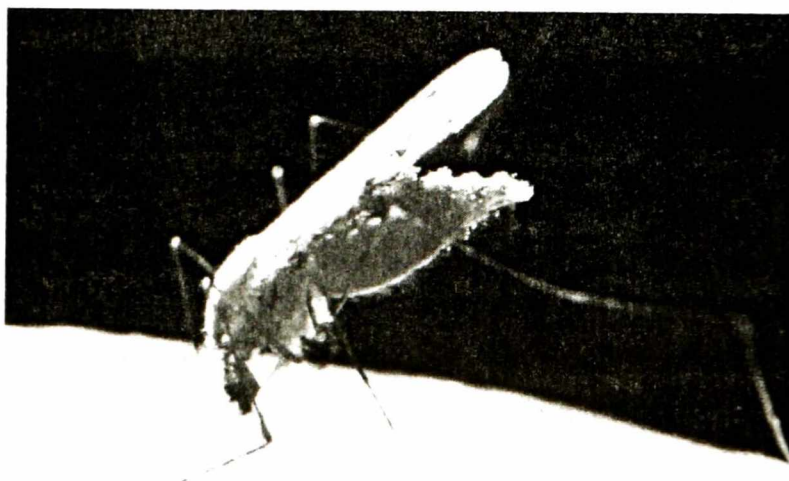
- + Phân lớp không cánh (*Apterygota*) gồm các côn trùng không cánh. Đại diện là bọ đuôi bật (bọ bật) *Lepisma*.

- + Phân lớp có cánh (*Pterygota*). Phân lớp này được chia thành 2 nhóm là nhóm biến thái không hoàn toàn (Cánh ngoài- *Exopterygota*), vòng đời không qua giai đoạn nhộng, giai đoạn sâu non giống với con trưởng thành, cánh phát triển phía bên ngoài; đại diện là chuồn chuồn (*Anax*). Nhóm biến thái hoàn toàn (Cánh trong-*Endopterygota*), vòng đời qua giai đoạn nhộng, các giai đoạn sâu non không giống với con trưởng thành, cánh phát triển bên trong. Đại diện là các loài bướm (*Pieris*).

Lớp côn trùng có khoảng 850.000 loài, thuộc trên 30 bộ khác nhau.

2.6.3.2. Ý nghĩa y học và kinh tế của ngành chân khớp

Nhiều loài có lợi (cho các sản phẩm như mật ong, tơ tằm), nhưng cũng không ít loài có hại như phá hoại cây trồng, đặc biệt là vai trò vật trung gian truyền bệnh (vector) cho người và động vật khác. Điển hình là bệnh sốt rét (malaria) do muỗi cái *Anopheles* gây ra (hình 4.22), bệnh Lyme, bệnh sốt chàm núi Rocky do ve gây ra....



Hình 4.22. Muỗi *Anopheles* sp.

2.6.4. Ngành thân mềm (Mollusca)

Với gần 130.000 loài (trong đó khoảng 35.000 loài hoá thạch), thân mềm là ngành lớn thứ hai trong giới động vật (sau chân khớp). Thân mềm sống trên cạn hoặc dưới nước, đa dạng về tổ chức cơ thể cũng như cấu tạo cơ quan. Có nhiều ý nghĩa kinh tế và thực tiễn: nguồn cung cấp thực phẩm (traí, ốc, mực, sò,...), cho vật liệu quý (xà cừ, ngọc trai),... Tuy nhiên, một số chúng cũng gây hại, phá hại cây trồng hoặc là vật truyền bệnh (ốc tai, sên trần).

Ngành này có 4 lớp chính:

- Lớp song kinh (*Amphineura*);
- Lớp chân bụng (*Gastropoda*) có đại diện là: ốc nhồi (*Pila polita*), bào ngư (*Haliotis diversicolor*), ốc sên (*Achatina fulica*).
- Lớp 2 mảnh vỏ (*Bivalvia*) với đại diện là: trai sông (*Sinanodonta jourdyi*), sò huyết (*Arca granosa*), hến (*Corbicula lamarkiana*), trai ngọc (*Pteria martensi*),...
- Lớp chân đầu (*Cephalopoda*) có đại diện là: mực (*Sepia*, *Loligo*); bạch tuộc (*Octopus*), duốc biển (*Architeuthis*); ốc anh vũ (*Nautilus pompilius*).

2.6.5. Ngành da gai (Echinodermata)

Với khoảng 6.000 loài còn sống (tất cả đều ở biển) và trên 20.000 loài hoá thạch, động vật da gai (gồm các lớp huệ biển, sao biển, đuôi rắn, cầu gai và hải sâm) thuộc nhóm động vật đầu tiên có miệng thứ sinh (Deuteros-tomia). Tổ chức và cấu tạo cơ thể đa dạng. Một số loài được khai thác làm thực phẩm (hải sâm, cầu gai).

Ngành này có 5 lớp chính: lớp cầu gai (*Echinoidea*); lớp sao biển (*Asteroidea*); lớp hải sâm (*Holothuroidea*); lớp đuôi rắn (*Ophiuroidea*) và lớp huệ biển (*Crinoidea*).

2.6.6. Ngành động vật có dây sống (Chordata)

Phân ngành có xương sống (Vertebrata)

Động vật dây sống, ngành động vật cuối cùng của giới động vật, bao gồm những loài gần gũi và quen thuộc với chúng ta: cá, ếch, nhái, bò sát, chim, thú (cả con người cũng thuộc ngành động vật này). Đa dạng về cấu tạo, phong phú trong cách sống, hơn 40.000 loài thuộc ngành động vật này hiện là chủ nhân trên khắp các lục địa và đại dương.

Ngoài một số đặc điểm đã xuất hiện ở một vài ngành động vật khác (cơ thể phân đốt và đối xứng 2 bên, thể xoang và miệng thứ sinh) có thể nêu 3 đặc điểm đặc trưng nhất cho nhóm động vật này như sau:

– Hoặc tồn tại trong suốt cuộc sống (đối với động vật bậc thấp) hay tối thiểu trong giai đoạn phát triển phôi (ở động vật bậc cao); cấu tạo đặc trưng nhất của ngành là dây sống (*Chorda dorsalis*). Dây sống có nguồn gốc nội bì, chạy dọc lưng, cấu trúc mềm dẻo nhưng vững chắc, được coi là trụ cột của bộ xương trong. Ở các động vật bậc cao, dây sống được cốt hoá dần dần ở các mức độ khác nhau để tạo thành cột sống.

– Thần kinh trung ương gồm một ống thần kinh (mà lòng ống là xoang thần kinh) chạy dọc lưng, nằm phía trên dây sống, có nguồn gốc ngoại bì. Về phía trước, ống thần kinh phình to và phát triển thành não bộ (được bọc trong hộp sọ bằng sụn hay bằng xương).

– Ở hầu hết các động vật dây sống (tối thiểu trong giai đoạn phát triển phôi) có hình thành các khe mang; qua đó, khoang hầu (phần đầu của ống tiêu hoá) được thông với bên ngoài. Đối với các động vật ở nước, khe mang tồn tại suốt đời.

Động vật dây sống được phân thành 3 phân ngành: có bao (*Tunicata*), đầu sống (*Cephalochordata*) và có xương sống (*Verebrata*). Trong đó, những động vật quen thuộc sẽ được nói tới thuộc phân ngành thứ 3.

Khái quát một số đặc điểm chính (được xem là những đặc điểm thích nghi và tiến hoá) của những động vật thuộc phân ngành *Vertebrata*:

– Bộ xương trong: Khác với các động vật dây sống bậc thấp, động vật có xương sống có bộ xương trong bằng sụn hay xương, tạo thành một bộ khung vững chắc để nâng đỡ và bảo vệ cơ thể (hộp sọ bảo vệ não bộ, khung xương sườn che chở nội tạng). Ngoài ra, bộ xương còn là nơi bám các cơ, tùy theo mức độ phát triển và tiến hoá của động vật mà bộ xương được cốt hoá (hoá xương) dần dần. Trong khi dây sống (không phân đốt, mềm dẻo) chỉ xuất hiện trong thời kỳ phát triển phôi, ở giai đoạn ấu trùng hoặc ở những động vật bậc thấp thì ở những động vật bậc cao đã được thay thế bằng cột sống (phân đốt và hoá xương). Các bộ phận khác của bộ xương cũng được cốt hoá, nhờ đó mà tính chất cơ học của bộ xương được tăng cường.

– Hệ thần kinh – cảm giác: Hoạt động sống phong phú và đa dạng của động vật có xương sống là kết quả của sự phát triển ngày càng hoàn thiện và mang tính chất tiến hoá thích nghi của hệ thống thần kinh và các cơ quan cảm giác. Ở động vật bậc cao, hệ thần kinh gồm 2 hệ thống chính: hệ thần kinh trung ương và hệ thần kinh ngoại biên. Hệ thần kinh trung ương gồm não bộ và tủy sống. Não bộ từ chỗ là một phần phình đơn giản của đầu ống thần kinh dần dần được phân hoá

thành 5 bộ phận chính: não trước (với sự phát triển của hai bán cầu não), não trung gian, não giữa, hành tuỷ và tiểu não; cùng với sự xuất hiện các trung khu điều hoà hoạt động của cơ thể. Tuỷ sống thực hiện 2 chức năng quan trọng: dẫn truyền các xung động đến não và là trung khu phản xạ. Từ não bộ và tuỷ sống xuất phát từng cặp dây thần kinh đến các thụ quan và giác quan của cơ thể, các dây thần kinh này tập hợp thành thần kinh ngoại biên.

Ngoài ra, các giác quan cũng rất phát triển: cơ quan đường bên (nhận biết các xung động và áp lực của nước, chuyên hoá cho các loài sống trong môi trường nước); cơ quan thính giác, thị giác, khứu giác,... ngày càng phát triển và hoàn thiện ở những động vật bậc cao.

– Hệ tuần hoàn kín gồm tim và hệ mạch. Tim được chia thành các ngăn (tâm thất, tâm nhĩ); hệ mạch gồm 3 loại: động mạch (dẫn máu từ tim đến mô và các cơ quan), tĩnh mạch (dẫn máu về tim) và mao mạch (một hệ thống mạch máu nhỏ bé, thành mạch mỏng, nằm trong các mô, nối liền động mạch và tĩnh mạch, với chức năng cơ bản là thực hiện sự trao đổi khí, chất dinh dưỡng và các sản phẩm trao đổi chất khác giữa máu và các mô). Các loài động vật ở nước tim có 2 ngăn với một vòng tuần hoàn. Các loài ở cạn (chim, thú) tim có 4 ngăn (2 tâm thất, 2 tâm nhĩ) và 2 vòng tuần hoàn (vòng tuần hoàn nhỏ máu qua phổi, vòng tuần hoàn lớn máu đi nuôi cơ thể). Trong khi đó, ở ếch nhái, bò sát có một hệ tuần hoàn trung gian: tim có 3 ngăn (1 tâm thất và 2 tâm nhĩ), 2 vòng tuần hoàn không tách biệt rõ ràng nên máu bị pha trộn.

Ngoài hệ tuần hoàn máu (chứa hồng cầu), ở các động vật còn có một hệ tuần hoàn khác gọi là hệ bạch huyết (chứa bạch cầu). Đây là một hệ tuần hoàn hở (chỉ gồm mao mạch và tĩnh mạch, không có động mạch, dùng để dẫn các chất dịch về tim). Chức năng chủ yếu của hệ bạch huyết là điều chỉnh nồng độ protein giữa dịch mô và hệ mao mạch, ngăn cản và tiêu diệt các vật lạ (chẳng hạn vi khuẩn) xâm nhập vào cơ thể.

Ngoài một số đặc điểm cơ bản (về bộ xương, hệ thần kinh – cảm giác, hệ tuần hoàn), các hệ cơ quan khác của động vật có xương sống (hô hấp, tiêu hoá, bài tiết, sinh dục,...) cũng thể hiện những đặc điểm về cấu tạo và chức năng cao hơn, hoàn thiện hơn so với các động vật khác.

Đây là một phân ngành lớn của ngành dây sống (Chordata), các động vật có xương sống (Vertebrata) được phân thành 8 lớp: *Agnatha*, *Placodermi*, *Chondrichthyes*, *Osteichthyes*, *Amphibia*, *Reptilia*, *Aves*, *Mammalia*. Được đề cập ở đây chỉ là những động vật quen thuộc của 5 lớp cuối.

(1) Lớp cá xương (*Osteichthyes*)

Bộ xương được cốt hoá ở các mức độ khác nhau, da có nhiều tuyến nhầy và phẩy, vây bơi phát triển, thở bằng mang, thường có bong bóng hơi, tim có 2 ngăn và 1 vòng tuần hoàn; khoảng 21.000 loài.

Các loài thường gặp: cá chép, cá mè, cá thu,...

(2) Lớp lưỡng cư (*Amphibia*)

Sống ở nước hoặc trên cạn, biến nhiệt, bộ xương bằng xương, da trần và ẩm. Giai đoạn trưởng thành thở bằng phổi và da, trong khi giai đoạn ấu trùng (nòng nọc, sống ở nước) thở bằng mang; tim 3 ngăn với 2 vòng tuần hoàn. Khoảng 2.500 loài. Thường gặp: ếch, nhái, cóc...

(3) Lớp bò sát (*Reptilia*)

Sống trên cạn, biến nhiệt, bộ xương được cốt hoá toàn thân; thân phủ vảy sừng hay những tấm xương bì (sản phẩm của biểu bì); da khô; hô hấp bằng phổi; tim 3 ngăn với 2 vòng tuần hoàn. Khoảng 6.000 loài.

Thường gặp: rắn, rùa, cá sấu, thằn lằn, tắc kè,...

Bò sát cũng là lớp có nhiều dạng hoá thạch khổng lồ: thằn lằn sấm (dài 20m, nặng 30 tấn), thằn lằn bay, khủng long (dài 15m, cao 6m).

4) Lớp chim (*Aves*)

Bộ xương được cốt hoá hoàn toàn, xốp và có nhiều khoang khí; da mỏng, khô, chứa các tuyến (trừ tuyến phao câu); hàm không có răng, mỏ và vuốt chân bằng sừng; tim 4 ngăn, máu nóng, thân nhiệt tương đối ổn định ($40 - 42^{\circ}\text{C}$). Chim là nhóm động vật duy nhất có cấu tạo thích nghi với hoạt động bay (chi trước biến đổi thành cánh); phân bố rộng, số lượng loài nhiều (khoảng 8.600 loài) là ổ cư trú của nhiều mầm bệnh như các loại virus, nấm.

Thường gặp: bồ câu, chim sẻ, gà, vịt,...

5) Lớp có vú (*Mammalia*)

Gồm các động vật có tổ chức cơ thể cao nhất, đa dạng, phân bố rộng; cơ thể phủ lông mao; vỏ da có nhiều tuyến (mồ hôi, tuyến sữa, tuyến thơm); nuôi con bằng sữa; hệ thần kinh trung ương và tuần hoàn phát triển hoàn chỉnh, máu nóng đẳng nhiệt. Hơn 4.000 loài được chia thành 3 phân lớp.

– Phân lớp nguyên thú (*Prototheria*): thú mỏ vịt, thú lông chim.

– Phân lớp thú thấp (*Metatheria*): kanguru, gấu túi, chuột túi.

– Phân lớp thú cao (*Eutheria*) hay thú có nhau (*Placentalia*): gồm các động vật còn lại (trâu, bò, khỉ, vượn, cá voi,...).

Con người (*Homo sapiens*) dù có “habilis” (khéo léo) hay “sapiens” (khôn ngoan) đến đâu, đứng về mặt phân loại học vẫn được xếp chung cùng bộ với họ hàng nhà khỉ – bộ linh trưởng hay khỉ hầu (*Primates*).

CÂU HỎI LƯỢNG GIÁ

1. Vẽ minh họa cấu trúc của Bacteriophage.
2. Kể tên một số bệnh do virus gây ra.
3. Vẽ minh họa các hình dạng thường gặp của tế bào vi khuẩn.
4. Trình bày sự khác biệt cơ bản của thành tế bào vi khuẩn Gram (–) và Gram (+).
5. Trình bày vai trò và cơ chế của các bước trong phương pháp nhuộm Gram.
6. Trình bày cơ chế chuyển động của amip.
7. Trình bày sự khác biệt của nấm men và nấm mốc.
8. Trình bày các ứng dụng quan trọng của giới nấm trong ngành công nghiệp thực phẩm và ngành dược.
9. Kể tên các dạng bệnh thường gặp do vi nấm gây ra.
10. Kể tên một số vector thường gặp của ngành chân khớp.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Tiếng Việt

1. Bộ môn thực vật học, Đại học Dược Hà Nội (1995); *Sinh học xã hội sinh vật và tính đa dạng của sự sống*, Trung tâm thư viện – thông tin, Đại học Dược Hà Nội.
2. Hoàng Đức Cự (1999), *Sinh học đại cương*, tập 1, NXB Đại học Quốc gia Hà Nội.
3. Hồ Huỳnh Thuỳ Dương (2002), *Sinh học phân tử*, NXB Giáo dục.
4. Nguyễn Như Hiền, Trịnh Xuân Hậu (1997), *Tế bào học*, NXB Đại học Quốc gia Hà Nội.
5. Phạm Thành Hồ (2004), *Di truyền học*, NXB Giáo dục.
6. Lê Đình Lương – Phan Cự Nhân (2003), *Cơ sở di truyền học*, NXB Giáo dục.
7. Nguyễn Nghĩa Thìn, Vũ Trung Tạng, Lê Vũ Khôi, Nguyễn Văn Đình (1995), *Sinh học xã hội sinh vật và tính đa dạng sinh học*, Đại học Khoa học Tự nhiên.
8. Trường Đại học Y Hà nội, Bộ môn Y sinh học – Di truyền (2002), *Các nguyên lý sinh học*, NXB Y học.
9. Vũ Văn Vụ, Vũ Thanh Tâm, Hoàng Minh Tấn (1999), *Sinh lý học thực vật*, NXB Giáo dục.
10. W. D. Phillips, T.J. Chilton (1999), *Sinh học*, tập 1, 2, NXB Giáo dục.

Tiếng Anh

11. David H. Cormack (1997), *Essential histology*, Lippincott Williams & Wilkins.
12. Edward D. Frohlich (1997), *Rypins – Basic science review*, Lippincott Williams & Wilkins.
13. Michael T. Madigan, John M. Martinko, Jack Parker (1995), *Biology of Microorganisms*, Prentice Hall International, Inc.

Chịu trách nhiệm xuất bản:

Chủ tịch Hội đồng Thành viên kiêm Tổng Giám đốc NGUYỄN NGÔ TRẦN ÁI
Phó Tổng Giám đốc kiêm Tổng biên tập GS.TS VŨ VĂN HÙNG

Tổ chức bản thảo và chịu trách nhiệm nội dung:

Phó Tổng biên tập NGUYỄN VĂN TƯ
Giám đốc Công ty CP Sách ĐH-DN NGÔ THỊ THANH BÌNH

Biên tập và sửa bản in:

HOÀNG THỊ QUY

Thiết kế mỹ thuật và trình bày bìa :

ĐÌNH XUÂN DŨNG

Thiết kế sách và chế bản:

HUYỀN TRANG

© Bản quyền thuộc Bộ Y tế (Cục Khoa học công nghệ và Đào tạo)

SINH HỌC ĐẠI CƯƠNG

(Dùng cho đào tạo dược sỹ Đại học)

Mã số: 7K787y4-DAI

Số đăng kí KHXB : 118-2014/CXB/ 160-21/GD.

In 1000 cuốn (QĐ in số : 02), khổ 19 x 27 cm.

In tại Công ty CP in Phúc Yên.

In xong và nộp lưu chiểu tháng 1 năm 2014.



**THƯ VIỆN
HUBT**

TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ



**THƯ VIỆN
HUBT**

TÀI LIỆU PHỤC VỤ THAM KHẢO NỘI BỘ