

GIÁO TRÌNH SINH HỌC ĐẠI CƯƠNG

4 ĐVHT

MỞ ĐẦU

Chương I **SINH HỌC - KHOA HỌC VỀ SỰ SỐNG**

1.1. **CÁC KHÁI NIỆM CƠ BẢN VỀ SINH HỌC**

Sinh học có thể nói đó là khoa học về sự sống. Trong sinh học bao gồm nhiều lĩnh vực nghiên cứu như thực vật học, động vật học, vi sinh vật học, tế bào học, sinh lý học, di truyền học, ... Sự phát triển ngày càng mạnh của ngành khoa học này xuất hiện thêm nhiều bộ môn mới của sinh học như sinh học phân tử, công nghệ gen, công nghệ sinh học, ... Sinh học tập hợp những kiến thức không lồ về sự sống.

Sinh học đại cương cung cấp cho sinh viên những kiến thức về cấu tạo và hoạt động của tế bào sống. Là những liên thức cơ sở quan trọng về sự sống, về cấu tạo tế bào, về sự phân chia tế bào để tạo nên một thể hệ mới, về quá trình chuyển hoá và tích lũy năng lượng cũng như cơ sở khoa học về các quá trình vận động sinh học và quá trình tiến hoá.

Sinh học nghiên cứu sự đa dạng của các cơ thể sống, cấu tạo chức năng, tiến hoá, phát triển cá thể và những mối tương quan với môi trường chung quanh của chúng [1].

Sinh học là một tập hợp khổng lồ về các học thuyết về cơ thể sống. Trong ngành khoa học này người ta thường phân chia ra thành các lĩnh vực như thực vật học, động vật học, vi sinh vật học - đó là kiểu phân chia theo đặc điểm loài của sinh giới, ngoài ra để nghiên cứu về cấu tạo bên trong cơ thể, chức năng và sự phát triển, các nhà nghiên cứu còn phân chia thành các bộ môn như giải phẫu học, sinh lý học, phôi sinh học, di truyền học, ... Tuy vậy toàn bộ các sinh vật trên trái đất, dù là động vật, thực vật hay vi sinh vật thì mỗi cơ thể đều được tạo thành từ đơn vị cấu tạo của sự sống đó là tế bào.

Tế bào mới được hình thành bằng cách phân chia từ các tế bào ban đầu. Có nhiều loại tế bào, tuy nhiên các tế bào đều có những đặc điểm cấu tạo và thành phần hoá học cơ bản giống nhau như màng tế bào, tế bào chất và các bào quan.

Các sinh vật trên trái đất đều tuân theo các định luật vật lý và hoá học. Mặc dù các quá trình hoá học xảy ra trong cơ thể sống rất phức tạp tuy nhiên các kết quả nghiên cứu đều chứng minh rằng nhiều quá trình phức tạp xảy ra trong tế bào sống cũng có thể thực hiện được bên ngoài cơ thể trong những điều kiện thích hợp. Điều đó khẳng định rằng khi con người hiểu biết một cách đầy đủ về các hệ thống sống và cách vận hành của chúng thì con người có thể tái tạo được sự sống từ vật liệu không sống.

Tế bào làm nhiệm vụ chuyển hoá năng lượng, chúng biến đổi năng lượng hoá học của thức ăn thành năng lượng có thể sử dụng cho hoạt động sống của cơ thể. Chỉ có cây xanh có chứa diệp lục là có thể thu năng lượng ánh sáng, chúng sử dụng năng lượng mặt trời cùng với các chất vô cơ như nước, khí CO_2 tổng hợp nên hợp chất hữu cơ như đường, tinh bột, xenlulo, ... thông qua quá trình quang hợp. Cây xanh là những sinh vật tự dưỡng có khả năng chuyển năng lượng ánh sáng thành năng lượng hoá học tích lũy trong các hợp chất hữu cơ. Tất cả các sinh vật dị dưỡng khác như động vật, vi sinh vật sử dụng các chất hữu cơ do cây xanh tổng hợp làm nguồn thức ăn và tế bào làm nhiệm vụ biến đổi năng lượng hoá học có mặt trong thực phẩm thành các dạng năng lượng cần thiết cho cơ thể sống.

Động vật, thực vật và vi sinh vật, mỗi loại có những đặc điểm khác biệt về cấu tạo của cơ thể sống tuy nhiên trong cấu tạo tế bào giữa chúng cũng có nhiều điểm chung giống nhau, đôi khi khó có thể tách biệt được, cả về cấu tạo và chức năng.

Sự tiến hoá của các sinh vật trên trái đất như thế nào cũng là một trong những nhiệm vụ nghiên cứu của sinh học. Nhiều nhà nghiên cứu triết học và tự nhiên đã nêu ra các quan niệm về sự tiến hoá của sinh vật, nhưng chỉ sau khi S. Darwin xuất bản cuốn sách "Nguồn gốc các loài bằng con đường chọn lọc tự nhiên" vào năm 1859 thì học thuyết tiến hoá mới được chú ý tới. Trong quyển sách này Darwin đã giải thích về sự tiến hoá của các loài thông qua chọn lọc tự nhiên.

Một khái niệm quan trọng đó là sự tương quan giữa cơ thể sống và môi trường xung quanh. Từ những nghiên cứu tỉ mỉ về các quần xã thực vật, động vật trên trái đất người ta đã rút ra được rằng các cơ thể sống phân bố ở một vùng nhất định đều nằm trong mối tương quan chặt chẽ lẫn nhau và với môi trường chung quanh. Khái quát này cho thấy các dạng các dạng động vật và thực vật khác nhau không phân bố trên trái đất một cách ngẫu nhiên mà

chúng có tác động qua lại với nhau và với môi trường sống bên ngoài. Giữa sinh vật sống và môi trường sống luôn có mối quan hệ khấn khít với nhau. Vì thế nên khi ta nghiên cứu một cơ thể sống ở một nơi nào đó thì chúng ta phải quan tâm đến môi trường sống ở đó và phân tích mối quan hệ qua lại giữa chúng. Nghiên cứu về mối quan hệ qua lại giữa môi trường và cơ thể sống là đặc biệt quan trọng. Con người cũng có một vị trí quan trọng trong thế giới sinh vật, vai trò của con người trong quá trình chọn lọc nhân tạo, góp phần định hướng sự phát triển của một số loài, vì vậy nên chúng ta nên quan tâm đến vai trò của con người trong sự phát triển của sinh học, đặc biệt là hiện nay với sự hiểu biết sâu sắc về di truyền học con người đã tạo ra nhiều loại sinh vật có những tính chất mới mà thiên nhiên chưa có.

1.2. LỊCH SỬ PHÁT TRIỂN CỦA SINH HỌC

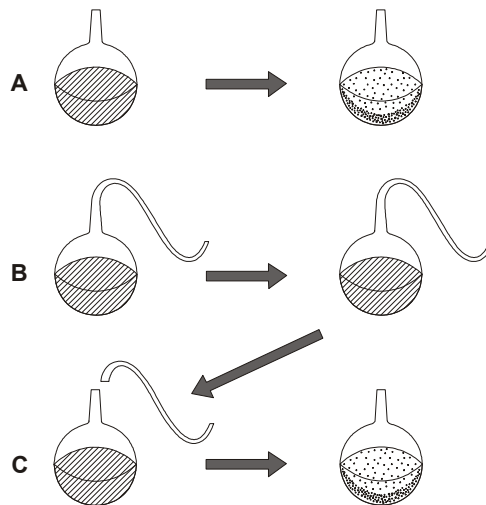
Sinh học là một ngành khoa học xuất hiện rất sớm, từ thời cổ xưa con người đã có thể xác định được loài động vật nào có thể ăn được, loài nào nguy hiểm cho con người. Đối với thực vật cũng vậy, con người đã tìm những cây thuốc để chữa bệnh. Aristos (384-322 trước công nguyên) là một trong những nhà triết học Hy Lạp vĩ đại nhất. Trong cuốn sách "Historia animalium" đã mô tả nhiều loài động vật, ông đã nghiên cứu khá tỉ mỉ về sự phát triển của một số loài như sự phát triển của gà con, sự sinh sản của cá mập, của ong.

Nhìn chung sinh học mô tả chiếm ưu thế trong thời gian phát triển ban đầu. Các nhà nghiên cứu về động, thực vật học thì mô tả các loài, Các nhà giải phẫu học thì mô tả cấu tạo của các cơ quan trong cơ thể...

Một số nét cơ bản về sự phát triển của sinh học có thể mô tả như sau:

- Giai đoạn trước thế kỷ 17, quan niệm các tế bào sống được hình thành bằng con đường tự sinh. Năm 1680 Redi đã đánh đổ quan niệm trên bằng một thí nghiệm đơn giản sau đây: Ông đã dùng 3 cái bình sau đó cho thịt vào, bình thứ nhất ông để hở, bình thứ hai ông dùng vải màn mỏng bịt lại, còn bình thứ ba ông dùng miếng da thuộc bịt chặt lại. Sau khi để một thời gian thịt trong cả ba bình đều bị thối nhưng dòi chỉ xuất hiện trong thịt ở bình để hở, bình thứ hai thì có xuất hiện một ít dòi phía trên vải màn bịt, nhưng thịt ở bình thứ hai và bình thứ 3 thì không có dòi. Như vậy Redi đã chứng minh rằng "con dòi" không thể tự sinh ra trong thịt thối được mà chúng đã nở ra từ trứng của do ruồi đẻ ra trên thịt. Sau này L. Pasteur cũng

bằng một thí nghiệm đơn giản đã chứng minh rằng các vi sinh vật cũng không thể xuất hiện được bằng con đường tự sinh từ vật chất không sống. Ông dùng hai bình cầu tròn có cổ, rót vào hai bình môi trường dinh dưỡng, bình thứ nhất cổ thẳng hở, bình thứ hai ông kéo cong cổ bình thành hình chữ S. Môi trường dinh dưỡng trong hai bình được đun sôi để diệt các vi sinh vật có mặt trong đó. Sau khi để một thời gian thấy rằng trong bình cổ thẳng xuất hiện các vi sinh vật, những vi sinh vật này rơi từ bên ngoài vào, trong khi đó ở bình có cổ hình chữ S không xuất hiện vi sinh vật, mặc dù môi trường dinh dưỡng cũng không tách biệt với không khí bên ngoài nhưng chúng không xâm nhập được là do chúng bị giữ lại ở ống cong. Tiếp theo Pasteur cũng chứng minh rằng nếu bẻ gãy ống cong thì vi khuẩn nhanh chóng xuất hiện còn nếu giữ nguyên thì có thể để lâu dài mà không có vi khuẩn. Qua đó cho thấy các vi khuẩn không xuất hiện bằng con đường tự sinh mà chúng có trong không khí và rơi vào môi trường dinh dưỡng cùng với các hạt bụi.



Hình 1-1: Các thí nghiệm của Pasteur

Chúng ta đều biết rằng hiện nay không có sự tự sinh của sự sống, nhưng chắc chắn rằng hiện tượng tự sinh đã diễn ra hàng tỉ năm trước đây khi sự sống xuất hiện lần đầu tiên trên hành tinh chúng ta.

Cùng với sự phát triển của vật lý học kính hiển vi được sáng chế và hoàn thiện, cho phép các nhà sinh học quan sát được những vật thể nhỏ, phát hiện tế bào, vi khuẩn, virus, ... Trong thế kỷ 19 sinh học tế bào phát triển một cách mạnh mẽ nhờ kính hiển vi ngày một hoàn thiện với độ phóng đại ngày càng cao. Năm 1833, Brao đã mô tả nhân của tế bào thực vật. Năm 1880,

Flemin đã mô tả nhiễm sắc thể. Những phát hiện này là nền móng cho các nghiên cứu phát hiện ra các giai đoạn của quá trình phân bào nguyên phân và tiếp theo là giảm phân. Các lĩnh vực khác như thực vật học, động vật học, phôi sinh học, vi sinh vật học cũng phát triển mạnh mẽ trong giai đoạn này.

Sự phát triển mạnh mẽ của vật lý, hoá học, toán học đã tạo điều kiện thuận lợi cho các nhà nghiên cứu sinh học. Trong thế kỷ 20, sinh học đã phát triển với một nhịp điệu phi thường, với nhiều phát minh quan trọng như cấu tạo của protein, axit nucleic. Một số ngành sinh học mới như di truyền học, công nghệ sinh học xuất hiện.

1.3. CÁC ỨNG DỤNG THỰC TIỄN CỦA SINH HỌC

Ngày nay, những kết quả nghiên cứu và lý luận sinh học đã được ứng dụng vào nhiều lĩnh vực như y, dược, nông nghiệp, công nghiệp thực phẩm, bảo vệ môi trường, ... Ngành công nghệ sinh học đóng vai trò quan trọng trong nghiên cứu ứng dụng tiến bộ sinh học trong đời sống và phát triển kinh tế.

1.3.1. Ứng dụng trong nông nghiệp

Sử dụng các kiến thức sinh học về cấu tạo tế bào, sinh lý thực vật, di truyền, ... ngày nay, con người đã tạo ra được nhiều giống mới, xây dựng các phương pháp chọn giống cây trồng vật nuôi: nhờ vậy mà đã tăng năng suất cây trồng, tạo ra những sản phẩm mới góp phần phát triển kinh tế.

1.3.2. Ứng dụng trong sản xuất

Một số chất hữu cơ như axit xitric, axit axetic, axit glutamic và một số vitamin đã được sản xuất bằng con đường sinh học thông qua sử dụng các chủng vi sinh vật có khả năng lên men.

1.3.3. Ứng dụng trong y, dược

Kháng sinh để chữa bệnh hoàn toàn được sản xuất bằng con đường sinh học. Những hiểu biết về cấu tạo và sinh lý của con người đã giúp các bác sĩ chuẩn đoán bệnh cho bệnh nhân và chữa bệnh. Ứng dụng có giá trị đầu tiên của sinh học trong y tế là tiêm vaccine - kết quả nghiên cứu của Pasteur. Ngày nay, việc chuẩn đoán bệnh thông qua sử dụng kỹ thuật ADN cho kết quả rất đáng tin cậy. Việc sử dụng công nghệ gen trong y học mở ra một khả năng chữa bệnh bằng liệu pháp gen, nghĩa là sửa chữa những gen bị hư gây bệnh thành gen lành.

1.3.4. Ứng dụng trong công nghệ thực phẩm

Những nghiên cứu về hoàn thiện các qui trình lên men dựa vào việc sử dụng các chủng mới, chọn lọc bằng con đường sinh học giúp tăng năng suất và hoàn thiện sản phẩm được thực hiện trong sản xuất thực phẩm, đặc biệt là sản xuất các sản phẩm sữa lên men như fomat, sữa chua. Trước 1950 tinh bột được thủy phân chủ yếu bằng axit, nhưng hiện nay chủ yếu được thủy phân bằng enzyme. Trong công nghệ sản xuất rượu, còn và nước uống lên men hiện nay cũng ngày càng hoàn thiện với việc sử dụng các giống mới có năng suất cao và hoàn thiện qui trình. Nhờ những kết quả nghiên cứu chọn giống có hiệu quả lên men cao bằng các con đường sinh học đã giúp các nhà sản xuất thực phẩm tạo ra các sản phẩm có năng suất và chất lượng cao.

Chương II

SINH HỌC TẾ BÀO

Sinh học là một tập hợp khổng lồ các sự kiện và lý luận (học thuyết) về các cơ thể sống. Để sắp xếp khối tài liệu khổng lồ ấy, thường người ta tách biệt sự nghiên cứu thực vật (thực vật học) với sự nghiên cứu động vật (động vật học), tách biệt sự nghiên cứu cấu trúc của cơ thể (hình thái học hoặc giải phẫu học) với sự nghiên cứu chức năng của cơ thể (sinh lý học). Tất cả sự sắp xếp và phân chia như vậy đều là tương đối - bởi vì, mặc dù có những sự khác biệt giữa chúng, vẫn có rất nhiều những cái chung đôi khi không thể nào tách biệt, như khi nghiên cứu chức năng của một cơ quan nào đó điều cần thiết là phải biết cấu trúc của cơ quan đó. Vì thế, có lẽ tốt hơn cả là phân chia sinh học phù hợp với mức độ khác nhau của tổ chức sinh vật.

Sự sáng chế ra kính hiển vi và việc áp dụng nó vào đầu thế kỷ thứ 17 để nghiên cứu các cơ thể sống đã tạo ra mảnh đất cho việc xuất hiện học thuyết tế bào - học thuyết do Matriaxa Slâyden và Teodo Soan đề xướng vào năm 1838. Học thuyết này phát triển một cách mạnh mẽ với sự hoàn thiện của kính hiển vi. *Tế bào là một đơn vị cơ bản về cấu trúc và chức năng của vật chất sống.*

Sự hoàn thiện kính hiển vi và sự phát minh kính hiển vi điện tử tạo điều kiện cho việc phát hiện ra những tổ chức mới - tổ chức dưới tế bào như riboxom, mitochondri và các bào quan khác của bào chất. Nhờ có kính hiển vi điện tử, cùng với việc phân tích các cấu trúc bằng tia Rongen, bằng cộng hưởng điện từ hạt nhân, ... cho phép thu nhận được ngày càng rõ hơn về hình dạng các phân tử cấu tạo nên cơ thể sống, kết hợp chúng lại thành những hợp phần cấu trúc lớn hơn, ví dụ như màng. Sự phát triển một cách nhanh chóng các phương pháp hóa học và vật lý cho phép xác định trình tự sắp xếp các axit amin trong protein, các nucleotit trong ADN và ARN, ...

Ngày nay sinh học phân tử đã làm sáng tỏ những biến đổi vật chất và biến đổi năng lượng - là những biến đổi đặc trưng cho các hiện tượng sống.

Trong chương này chúng ta sẽ đi sâu nghiên cứu về cấu trúc tế bào qua cấu trúc của một loại đơn bào là vi khuẩn, sự sinh sản và phát triển của chúng, sự quan hệ qua lại giữa tế bào sống và môi trường xung quanh.

2.1. CẤU TRÚC TẾ BÀO

2.1.1. Đại cương về tế bào

Người ta thường định nghĩa sinh học là "khoa học về cơ thể sống" nhưng trước hết chúng ta cần phân biệt cái "sống" và cái "không sống". Rất dễ dàng thấy rằng, con người, cây tre, bụi hồng, con giun, con cá, ... là những vật sống - còn tảng đá, hòn sỏi là vật không sống.

Hầu hết tất cả các cơ thể đều cấu tạo từ những đơn vị riêng biệt gọi là *tế bào*. *Tế bào là một đơn vị cơ bản về cấu trúc và chức năng của vật chất sống*. Mỗi một tế bào là một đơn vị độc lập, còn những quá trình diễn ra trong cơ thể là một sự tổ hợp các chức năng được điều chỉnh của các tế bào. Các tế bào có thể rất khác nhau về kích thước, hình dạng và chức năng. Cơ thể của một số động vật nhỏ nhất chỉ gồm một tế bào. Các cơ thể khác ví dụ con người được cấu tạo từ nhiều tỉ tế bào liên kết lại với nhau.

Ở các thực vật và động vật khác nhau và ở các cơ quan khác nhau của cùng một động vật hay thực vật, các tế bào đa dạng về kích thước, hình dạng, màu sắc và về cấu tạo bên trong. Ví dụ như ở cây xanh, tế bào rễ cây hoàn toàn khác với tế bào của lá, tế bào rễ không có màu xanh vì nó không chứa các hạt sắc tố như diệp lục - còn tế bào lá, ngược lại, chứa các hạt sắc tố đặc biệt là diệp lục để làm nhiệm vụ quang hợp tạo nên các chất hữu cơ để nuôi cây; hay ở cơ thể người tế bào gan khác với tế bào của cơ bắp và khác với tế bào của mắt, ... Bởi vì, đối với các cơ thể sống đa bào như cây xanh, con người, ... thì các tế bào ở mỗi cơ quan có nhiệm vụ và chức năng khác nhau nên về đặc điểm cấu tạo có những điểm không giống nhau.

Tuy vậy, tất cả các tế bào đều có một số các đặc điểm chung giống nhau như: mỗi tế bào đều có *màng tế bào* (là bộ phận tiếp xúc với môi trường sống xung quanh), bên trong màng tế bào là *chất nguyên sinh, nhân tế bào và các bào quan khác nhau* như ti thể, mạng lưới nội chất, phức hệ Gôngi, lizoxom, trung thể, ...

Dựa vào mức độ tổ chức của tế bào - đặc biệt là nhân, người ta phân biệt hai loại sinh vật:

- Prokaryot - gồm vi khuẩn, vi rut (nhân sơ),
- Eukaryot - gồm nấm men, nấm mốc, các loại tảo và tất cả các sinh vật đa bào bậc cao (nhân chuẩn).

2.1.2. Cấu trúc của các tế bào đơn giản (prokaryot)

Đặc điểm chính để phân biệt các tế bào prokaryot là chúng chưa có màng nhân rõ ràng ngăn cách với tế bào chất, vị trí mà ở đó, định vị nhiễm

sắc thể (ADN) người ta gọi là thể nhân, tế bào vi khuẩn thường có một nhiễm sắc thể chính.

2.1.2.1. Tế bào vi khuẩn

Theo đặc điểm hình thái thì nhóm vi khuẩn có ba loại là cầu khuẩn, trực khuẩn và xoắn khuẩn. Trong phạm vi của giáo trình này chúng ta chỉ đi sâu nghiên cứu cấu trúc của tế bào vi khuẩn như một ví dụ tiêu biểu, đại diện cho kiểu tế bào nhân sơ (prokaryot).

Người ta có thể tìm thấy vi khuẩn ở khắp mọi nơi trên trái đất, ngay cả ở chiều sâu 5m trong đất, trong nước, trong không khí, ...

Việc phân biệt ra hai loại vi khuẩn gram dương và vi khuẩn gram âm được đề xuất từ năm 1884 bởi nhà vi khuẩn học Đan mạch Christian Gram. Muốn nhuộm gram trước hết người ta nhuộm tiêu bản vi khuẩn bằng tím kết tinh (Cristal Violet), sau đó xử lý bằng hỗn hợp I_2 -KI, rồi tẩy màu bằng cồn hoặc axeton. Cuối cùng nhuộm lại bằng Fuchsin hay Salranin. Vi khuẩn được gọi là gram dương nếu không bị tẩy mất màu bằng cồn hoặc axeton (màu tím). Vi khuẩn được coi là gram âm nếu khi tẩy bị mất màu của thuốc nhuộm thứ nhất và sau đó bắt màu của thuốc nhuộm thứ hai (màu hồng). Chỉ một số ít loài vi khuẩn là không cho phản ứng màu ổn định khi nhuộm gram. Vi khuẩn gram âm và gram dương có nhiều đặc điểm khác nhau:

1,- *Kích thước*

Tế bào vi khuẩn rất nhỏ bé, chiều dài thường nhỏ hơn 1 tới 10 micron, chiều rộng từ 0,2 đến 1 micron. Phần lớn vi khuẩn có dạng đơn bào, nhưng ở một số loài các tế bào có thể kết với nhau thành chuỗi.

2,- *Vách tế bào*

Tế bào vi khuẩn được bao bọc bởi một lớp *vỏ nhầy* (capsule), dưới lớp vỏ nhầy là lớp *thành tế bào* (cell wall), hay còn gọi là màng tế bào, lớp trong cùng, tiếp xúc với tế bào chất là *màng nguyên sinh chất* (cytoplasmic membrane).

- *Lớp vỏ nhầy* có chiều dày thay đổi, với chiều dày lớn hơn 0,2 micron thì có thể nhìn thấy dưới kính hiển vi, còn nếu nhỏ hơn 0,2 micron thì không thấy được dưới kính hiển vi thường mà chỉ thấy dưới kính hiển vi điện tử. Chiều dày của lớp vỏ nhầy thay đổi phụ thuộc vào điều kiện môi trường sống và phụ thuộc vào chủng loại. Ví dụ như vi khuẩn *Azotobacter chroococcum* khi nuôi cấy trên môi trường chứa nhiều nitơ thì lớp vỏ nhầy mỏng còn nuôi cấy trên môi trường chứa ít nitơ thì lớp vỏ nhầy dày. Có vi khuẩn (trực khuẩn

than) chỉ hình thành vỏ nhầy sau khi đã xâm nhập vào cơ thể người và động vật, ...

Vỏ nhầy có tác dụng góp phần bảo vệ tế bào vi khuẩn - ví dụ: phế cầu khuẩn (*Streptococcus pneumoniae*) khi có vỏ nhầy sẽ tránh được tác dụng thực bào của bạch cầu do đó có khả năng gây bệnh, còn khi mất khả năng hình thành vỏ nhầy thì sẽ nhanh chóng bị bạch cầu tiêu diệt. Vỏ nhầy còn là nơi tích lũy chất dinh dưỡng, trong trường hợp ngoài môi trường cạn kiệt chất dinh dưỡng thì vi khuẩn sử dụng vỏ nhầy thay cho nguồn dinh dưỡng và vì vậy vỏ nhầy bị tiêu biến dần đi. Vi khuẩn có vỏ nhầy sẽ tạo thành những khuẩn lạc trơn, ướt, bóng. Loại không có vỏ nhầy thì khuẩn lạc xù xì, khô, còn những vi khuẩn có lớp dịch nhầy rất dày thì khuẩn lạc sẽ nhầy nhót.

Thành phần hóa học của vỏ nhầy là nước và polysaccharid, nước chiếm một tỉ lệ cao, có thể lên tới trên 90%. Thành phần và cấu tạo của polysaccharid thay đổi theo từng chủng loại vi khuẩn và phụ thuộc vào điều kiện dinh dưỡng của chúng. Polysaccharid có thể là homo- hay heteropolysaccharid chủ yếu là glucan, mannan, phân tử có phân nhánh chứa chủ yếu các liên kết (có thể α , β) 1-3, 1-4, 1-6.

Ở nhiều vi khuẩn gây bệnh, tính chất của các thành phần polysaccharid khác nhau trong vỏ nhầy có liên quan trực tiếp đối với tính kháng nguyên và tính gây bệnh của chúng.

- *Thành tế bào*: Thành tế bào vi khuẩn có kích thước khác nhau tùy chủng loại. Nói chung vi khuẩn gram dương có thành tế bào dày hơn vi khuẩn gram âm. Thành tế bào có tác dụng bao bọc, che chở cho tế bào vi khuẩn và làm cho vi khuẩn có những hình dạng nhất định.

Thành phần cấu tạo của thành tế bào gồm: *Glycopeptit* (hàm lượng của nó biến đổi trong một phạm vi rộng từ trên 90% ở một số vi khuẩn gram dương đến 5÷10% ở một số vi khuẩn gram âm) - đặc biệt, thành tế bào vi khuẩn gram dương có axit teichoic (teichos nghĩa là màng).

Axit teichoic được liên kết với glycopeptit nhờ liên kết phosphodiester giữa gốc phosphat của axit với gốc axit muramic của glycopeptit. Màng tế bào còn có phospholipit. Thành tế bào vi khuẩn gram âm thành phần hóa học phức tạp hơn. Chúng chứa ít glycopeptit nhưng nhiều lipid hơn và khi thủy phân thì thu được đủ các loại axit amin có trong thành phần protein.

- *Màng nguyên sinh chất* (cytoplasmic membrane) hay còn gọi là màng nguyên sinh chất - Màng nguyên sinh chất đảm nhiệm bốn chức năng sau:

- Duy trì áp suất thẩm thấu của tế bào,

- Đảm bảo sự vận chuyển các chất dinh dưỡng cho tế bào và đào thải các sản phẩm trao đổi chất ra ngoài tế bào,
- Là nơi xảy ra các quá trình tổng hợp một số thành phần của tế bào, nhất là các thành phần của thành tế bào và vỏ nhầy,
- Là nơi chứa các enzyme đảm bảo cho quá trình vận chuyển và tổng hợp.

3,- *Các tổ chức bên trong tế bào*

Phía trong màng là tế bào chất - là thành phần chính của tế bào vi khuẩn. Đó là một khối chất keo bán lỏng, chứa từ 80 đến 90% nước. Thành phần hữu cơ của tế bào chất chủ yếu là lipoprotein. Độ nhớt của tế bào chất vi khuẩn cũng thay đổi tùy thuộc vào điều kiện bên trong và bên ngoài tế bào. Khi tăng nhiệt độ hoặc khi nâng cao nồng độ các ion Ca^{+2} ; Mg^{+2} ; Al^{+3} trong môi trường có thể làm tăng độ nhớt của tế bào chất. Khi còn non, tế bào chất có cấu tạo đồng nhất, bắt màu giống nhau khi nhuộm màu. Khi già, do xuất hiện không bào và các thể ẩn nhập (thể vùi, granula inclusion) mà tế bào chất trở nên có dạng lộn nhon, bắt màu không đồng đều.

Trong tế bào chất của các vi khuẩn trưởng thành, người ta quan sát thấy có nhiều cơ quan con khác nhau như: riboxom, mezoxom, không bào, các hạt sắc tố (ở một số vi khuẩn), các hạt dự trữ nội bào và các cấu trúc của nhân. Khác với tế bào các sinh vật bậc cao ở chỗ là không có ti thể và mạng lưới nội chất.

- **Riboxom**: Thành phần hóa học của riboxom tương tự như ở các sinh vật khác. Riboxom của vi khuẩn có chứa khoảng 40÷60% ARN và phần còn lại là protein và một phần nhỏ lipid và các enzyme như ribonucleaza. Trong tế bào vi khuẩn phần lớn riboxom nằm tự do trong tế bào chất, còn một phần nhỏ bám trên màng nguyên sinh chất (trong tế bào động thực vật, riboxom thường liên kết với mạng lưới nội chất). Riboxom tồn tại dưới dạng những hạt gồm hai tiểu thể dưới đơn vị có kích thước khác nhau.

Tiểu thể lớn của riboxom có hằng số lắng là 50S (S là đơn vị Svedberg, $1\text{S} = 10^{-12} \text{ cm/giây}$) còn tiểu thể nhỏ có hằng số lắng là 30S. Riboxom gồm cả hai tiểu thể có hằng số lắng là 70S, còn khi hai riboxom dính liền nhau (gồm 4 tiểu thể) thì có hằng số lắng là 100S. Mỗi tế bào vi khuẩn có trên 1.000 riboxom. Trong mỗi tế bào vi khuẩn đang phát triển mạnh mẽ có thể có đến 15.000 riboxom. Riboxom là trung tâm tổng hợp protein của tế bào.

Nhưng không phải mọi riboxom đều có khả năng tổng hợp protein như nhau. Trong tế bào chỉ khoảng 5÷10% riboxom trên toàn bộ riboxom của tế bào là trực tiếp tham gia tổng hợp protein (riboxom hoạt động).

- **Mezoxom**: Là thể hình cầu, nằm ở vách ngăn ngang và chỉ xuất hiện ở vi khuẩn khi phân chia tế bào. Mezoxom có vai trò quan trọng trong quá trình phân chia tế bào.

- **Các hạt dự trữ nội bào**: Trong tế bào vi khuẩn thường gặp một số hạt có hình dạng và kích thước không giống nhau. Các hạt này đối với chúng như là các hạt dự trữ, vì các hạt này thường hình thành khi môi trường dinh dưỡng dồi dào, tế bào tổng hợp thừa các chất hữu cơ. Ngược lại các hạt này được sử dụng khi nguồn dinh dưỡng thiếu.

Các hạt thường gặp là:

- **Hydrat carbon** (hạt tinh bột, glycogen) - khi tác dụng với iot thì cho màu xanh, đỏ hoặc nâu,
- **Giọt mỡ**: một số vi khuẩn có khả năng tích lũy các giọt mỡ trong tế bào. Các giọt mỡ này xuất hiện nhiều khi nuôi cấy vi khuẩn trên môi trường chứa nhiều đường, glixerin hay các hợp chất carbon dễ đồng hóa,
- **Giọt lưu huỳnh**: loại này thường có trong các tế bào vi khuẩn chứa lưu huỳnh. Những giọt lưu huỳnh được vi khuẩn lưu huỳnh sử dụng làm nguồn năng lượng khi đã sử dụng hết H_2S trong môi trường xung quanh (vì khi oxy hóa, H_2S sẽ giải phóng năng lượng).
- **Volutin**: trừ một số loại vi khuẩn (như *Mycobacterium*) là thường xuyên chứa hạt volutin trong tế bào ở giai đoạn sinh trưởng cuối còn nói chung, vi khuẩn chỉ tích lũy volutin trong điều kiện dinh dưỡng bất thường. Thành phần của hạt volutin gồm có lipoprotein, ARN, polyphosphat và ion magie.

Ngoài các hạt kể trên trong tế bào của một số vi khuẩn còn có "tinh thể giết côn trùng".

4,- Nhân

Nhân của tế bào vi khuẩn không phân hóa thành khối rõ rệt như ở các tế bào bậc cao. Ngày nay sự hiểu biết về nhân vi khuẩn gắn liền với những thành tựu khoa học trong lĩnh vực di truyền, và kính hiển vi điện tử. Người ta đã xác định rằng cấu trúc chứa ADN của vi khuẩn chưa phải là nhân thật sự mà là thể nhân. Thể nhân được coi như nhiễm sắc thể cấu tạo bởi sợi ADN xoắn kép rất dài. Nhiễm sắc thể của vi khuẩn có dạng hình tròn. Ở cầu khuẩn thường có một nhân còn ở trực khuẩn có thể có hai hay nhiều thể nhân. Thể nhân ở vi khuẩn khác với nhân thật ở chỗ chưa có màng nhân, thể nhân của vi khuẩn tiếp xúc trực tiếp với tế bào chất. Nhiễm sắc thể đảm nhận mọi chức

năng như của nhân ở các tế bào bậc cao. Ở *E. coli* chứa một phân tử ADN (một nhiễm sắc thể) có dạng vòng tròn.

Một số vi khuẩn có khả năng di động, cơ quan để di động là tiêm mao. Tiêm mao là những sợi nguyên sinh chất rất mảnh, chiều rộng chỉ khoảng 0,01 đến 0,05 micron, con chiều dài thì thay đổi tùy theo từng chủng loại.

2.1.2.2. Sự sinh sản của vi khuẩn

Vi khuẩn thường sinh sản bằng con đường vô tính: nhân đôi tế bào. Sự nhân đôi tế bào có nhiều điểm giống sự phân bào nguyên nhiễm, nhưng ở vi khuẩn cấu trúc nhân chưa hoàn chỉnh nên trong quá trình phân bào cũng không xảy ra một cách hoàn thiện như ở sinh vật bậc cao. Quá trình phân bào cũng tiến hành nhân đôi nhiễm sắc thể, phân chia thể nhân, phân chia tế bào chất. Tuy nhiên sự nhân đôi nhiễm sắc thể và phân chia miền nhân không phải luôn lúc nào cũng xảy ra một cách đồng thời với sự phân chia các phần còn lại của tế bào. Vì vậy có thể gặp một số trường hợp trong một tế bào có 1 hoặc nhiều thể nhân. Sự hình thành vách ngăn phân chia tế bào làm đôi thì ở vi khuẩn hình que và hình xoắn vách ngăn hình thành theo bề ngang của tế bào, còn ở cầu khuẩn thì vách ngăn được tạo nên theo bất kỳ một đường kính nào.

Phần lớn vi khuẩn sau khi phân chia các tế bào con tách khỏi nhau, nhưng ở một số khác tế bào con không lìa nhau mà xếp thành chuỗi. Sự phân chia tế bào ở vi khuẩn xảy ra rất nhanh chóng - đối với một số vi khuẩn cứ 20÷30 phút chúng lại phân chia một lần. Với tốc độ sinh sản như vậy, nếu trong điều kiện rất thuận lợi cho chúng trong khoảng thời gian 6 giờ thì từ một tế bào vi khuẩn có thể tạo thành 250.000 tế bào. Với tốc độ sinh sản như vậy cho nên chúng ta dễ dàng hiểu vì sao chỉ có một số lượng nhỏ vi khuẩn gây bệnh xâm nhập vào cơ thể mà chẳng bao lâu sau có thể xuất hiện triệu chứng bệnh tật. Tương tự vậy nếu sản phẩm thực phẩm bị nhiễm khuẩn thì cũng sẽ nhanh chóng bị hư.

Một số nghiên cứu cho thấy thỉnh thoảng ở vi khuẩn có thể có hiện tượng giống như sinh sản hữu tính. Khi đó xảy ra sự liên kết giữa hai tế bào và trao đổi các nhân tố di truyền. Các tế bào vi khuẩn bình thường đều là đơn bội. Khi sinh sản hữu tính thì nhiễm sắc thể từ tế bào đực một phần hoặc toàn bộ chuyển sang tế bào cái và kết quả là hình thành nên tế bào lưỡng bội. Sự phân li nhiễm sắc thể tiếp theo sẽ dẫn tới sự hình thành các tế bào đơn bội ở thế hệ con.

2.1.2.3. Phản ứng của vi khuẩn đối với sự thay đổi của môi trường

Sự hình thành bào tử ở vi khuẩn được nhiều nhà nghiên cứu quan tâm. Đa số các nhà nghiên cứu cho rằng trong điều kiện bất lợi như môi trường dinh dưỡng cạn kiệt, nhiệt độ, pH không thích hợp, môi trường tích lũy nhiều sản phẩm có hại, ... vi khuẩn có khả năng hình thành bào tử.

Khi hình thành bào tử, vi khuẩn sử dụng một phần lớn nguyên sinh chất trong tế bào. Lúc đầu tế bào chất và chất nhân tập trung lại ở một vị trí nhất định trong tế bào. Vị trí này gọi là vùng bào sinh, ở đó tế bào chất bị mất nước tự do và đặc lại tạo thành tiền bào tử. Tiền bào tử sau đó được bao bọc bởi các lớp màng và bắt đầu khác tế bào dinh dưỡng. Tiền bào tử phát triển dần và trở thành bào tử. Mỗi tế bào vi khuẩn chỉ có một bào tử. Trong rất ít trường hợp (như ở xoắn khuẩn *Spirillum volutans*) có thể thấy trong tế bào có tới hai hoặc nhiều bào tử. Bào tử của vi khuẩn không bao giờ có chức năng của cơ quan sinh sản như của nhiều loại vi sinh vật khác.

Bào tử của vi khuẩn có thể giữ được sức sống rất lâu, năm 1911 một nhà sinh học Liên xô (Omelianski) đã tìm thấy bào tử vi khuẩn ở xác một con voi mamut vùi sâu trong băng tuyết hàng nghìn năm. Bào tử cũng có thể chịu đựng được khá cao các điều kiện bất lợi của ngoại cảnh. Khả năng này không giống nhau đối với từng loài vi khuẩn.

Ví dụ: bào tử vi khuẩn gây ngộ độc thức ăn (*clostridium botulinum*) có thể chịu được nhiệt ở 180°C trong thời gian 10 phút, còn bào tử *Bac. subtilis* ở nhiệt độ 100°C có thể chịu được 180 phút. Muốn tiêu diệt bào tử vi khuẩn phải khử trùng ở nhiệt độ 121°C trong 20 phút (sức nóng ướt).

Các bào tử khi gặp điều kiện thuận lợi sẽ nảy mầm và phát triển thành một tế bào dinh dưỡng mới.

Ngày nay, có một số tác giả cho rằng không thể nói vì điều kiện bất lợi mà tế bào vi khuẩn sinh bào tử vì người ta tìm thấy có một số vi khuẩn cho bào tử nhiều hơn trong điều kiện dinh dưỡng thuận lợi so với điều kiện bất lợi, cũng như tác động của độ thoáng khí, pH, nhiệt độ, chất độc, ... đều không phải là nguyên nhân trực tiếp. Do đó vấn đề nguyên nhân và ý nghĩa của việc hình thành bào tử vẫn còn là vấn đề tranh luận.

2.1.2.4. Các vi khuẩn có lợi và có hại cho con người

Vi sinh vật được đặc trưng bởi sự phổ biến rộng rãi và khả năng trao đổi chất đặc biệt có hiệu suất cao. Việc ứng dụng vi sinh vật nói chung, vi khuẩn nói riêng đã có từ rất lâu. ở đây chúng ta đề cập chủ yếu là vi khuẩn, còn phạm vi ứng dụng của vi sinh vật thì rất rộng lớn.

1,- *Một số vi khuẩn có lợi cho con người*

Vi khuẩn được ứng dụng rộng rãi trong ngành thực phẩm, trong y-dược và một số ngành sản xuất công nghiệp, sau đây là một số dẫn chứng cụ thể nêu lên những ứng dụng của vi khuẩn:

Để lên men lactic người ta sử dụng một số chủng như: *Lactobacillus bulgaricus*; *L. delbruckii*; *L. brevis*; *Leuconostos mesenteroides*, ... lên men lactic được sử dụng trong việc sản xuất các sản phẩm từ sữa (sữa chua, váng sữa, phomai) hay trong sản xuất các loại thực phẩm muối chua. Để sản xuất dấm (axit axetic) người ta dùng vi khuẩn *Acetobacter suboxydans*

Đối với y học các sản phẩm lên men cũng đóng vai trò quan trọng, đặc biệt là trong kỹ nghệ dược. Vi khuẩn cũng được sử dụng để sản xuất một số chế phẩm như *E. coli* được sử dụng để sản xuất Asparaginaza là một enzyme được sử dụng để kìm hãm một số khối u và bệnh bạch cầu. *Leuconostos mesenteroides* sử dụng để sản xuất chất thay thế huyết tương (dextran).

2,- Một số vi khuẩn có hại

Vi khuẩn khi xâm nhập vào thực phẩm của người và động vật sẽ làm cho thực phẩm nhanh chóng bị hỏng, vì như chúng ta đã biết vi khuẩn có một tốc độ sinh sản rất nhanh chóng, điều đó chứng tỏ rằng vi khuẩn sử dụng nguồn dinh dưỡng trong môi trường rất mạnh, cho nên nếu thực phẩm bị nhiễm khuẩn thì sẽ bị phá hủy nhanh chóng.

Ví dụ: vi khuẩn *Bacillus stearothermophilus* là loại thường làm hỏng đồ hộp. Bào tử của chúng có khả năng chịu nhiệt cao nên nếu khử trùng đồ hộp không kỹ thì bào tử tồn tại trong hộp và sau đó phát triển làm đồ hộp bị hư hỏng. Vì vậy trong bảo quản lương thực và thực phẩm người ta thường tìm các biện pháp để tránh sự phá hủy của vi sinh vật nói chung và vi khuẩn nói riêng.

Ngoài ra, một số vi khuẩn là nguyên nhân gây ra một số bệnh cho người và động vật khi chúng xâm nhập vào cơ thể. Dưới đây là một số thí dụ cụ thể về một số vi khuẩn gây bệnh:

Bệnh bạch hầu do vi khuẩn *Corynebacterium diphtheriae*; bệnh uốn ván do trực khuẩn *Clostridium tetani*; trực khuẩn *Cl. botulinum* thường gây ngộ độc thức ăn, ngoài ra một số vi khuẩn như *Staphylococcus aureus*, *Staph. emidermidis* cũng là những vi khuẩn gây ngộ độc thức ăn; bệnh tả do vi khuẩn *Vibrio cholera*; bệnh thương hàn do *Salmonella*, ...

2.1.3. Cấu trúc của tế bào eukaryot

2.1.3.1. Cấu trúc

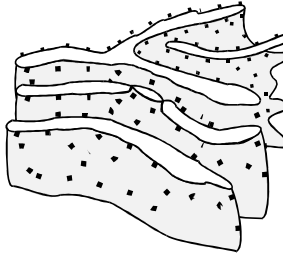
1,- Màng sinh chất

Mỗi tế bào đều được bao bọc bởi một lớp màng mỏng, đàn hồi, lớp màng này tiếp xúc với chất nguyên sinh ở phía trong tế bào. Giống như ở phần vi khuẩn chúng ta đã đề cập đến các chức năng của màng sinh chất. Nói chung về chức năng thì màng sinh chất của tế bào prokaryot cũng giống như ở tế bào eukaryot. Màng tế bào đóng vai trò cực kỳ quan trọng trong việc điều chỉnh thành phần của dịch nội bào, bởi vì các chất dinh dưỡng cũng như các chất thải đi vào và đi ra đều qua màng tế bào.

2,- Các tổ chức bên trong tế bào

Trong màng tế bào là chất nguyên sinh. Đó là một khối chất keo bán lỏng chứa 80 đến 90% nước. Trong tế bào chất có những cơ quan chức năng như:

* *Mạng lưới nội chất*



Hình 2-1: Lưới nội chất và các vi thể

Là một hệ thống màng, những màng của lưới nội chất gắn chặt vào nhau tạo thành các kênh phức tạp đường kính gần $50\div 100$ nm. Mạng lưới nội chất thường có hai loại là loại *trơn* và loại *hạt*. Loại *trơn* chỉ gồm có một loại màng còn loại *hạt* màng của chúng có nhiều riboxom là nơi tổng hợp protein. Cùng một tế bào có thể chứa mạng lưới nội chất *trơn* hoặc *hạt*. Chức năng của mạng lưới *trơn* chưa được biết rõ, có thể chúng tham gia vào quá trình tổng hợp một số chất đặc trưng của tế bào.

* *Riboxom*

Về cấu tạo của Riboxom giống như ở vi khuẩn mà chúng ta đã đề cập đến gồm hai tiểu đơn vị có hằng số lắng khác nhau. Riboxom chứa ARN-Riboxom, protein, enzyme. Điểm khác nhau giữa tế bào prokaryot và eukaryot ở chỗ Riboxom ở tế bào prokaryot thường nằm trong tế bào chất chứ không gắn vào màng như ở tế bào eukaryot. Riboxom được tổng hợp trong nhân và được chuyển ra bào chất, ở đây, chúng thực hiện chức năng của mình.

* *Nhân*

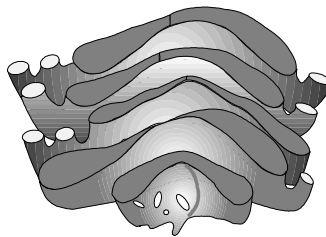
Mỗi tế bào thường có một nhân, nhân có thể hình cầu hoặc hình trứng. Trong một số tế bào nhân thường có vị trí nhất định ở giữa tế bào, nhưng cũng có trường hợp nhân không định vị nhất định ở một chỗ mà có thể di động nên có thể tìm thấy ở những vị trí khác nhau. Ở tế bào eukaryot, nhân tách biệt với tế bào chất bằng màng nhân. Màng nhân điều hòa sự chuyển vận các chất từ nhân đi ra tế bào chất và ngược lại. Màng nhân được cấu tạo từ hai lớp và có các lỗ, qua đó các chất có thể vận chuyển qua.

Thành phần chính của nhân là các nhiễm sắc thể - chúng được cấu tạo từ ADN, protein. Số lượng nhiễm sắc thể cố định đối với từng loài sinh vật - ví dụ: như ở ruồi dấm có 8 nhiễm sắc thể (bốn cặp), ở người có 46 nhiễm sắc thể (23 cặp), ở ngô 20 nhiễm sắc thể (10 cặp).

Tế bào có hai bộ nhiễm sắc thể hoàn chỉnh gọi là tế bào lưỡng bội (tức mỗi loại có hai nhiễm sắc thể giống nhau). Tế bào chỉ có một bộ nhiễm sắc thể (mỗi loại chỉ có một nhiễm sắc thể) gọi là tế bào đơn bội. Tế bào đơn bội thường là tế bào giới tính như tinh trùng, trứng; ở thực vật như: phấn hoa, noãn hoa. Trong nhân có một thể hình tròn gọi là hạch nhân (nhân con). Ở phần lớn tế bào, hạch nhân rất dao động, nó thay đổi hình dạng, lúc xuất hiện, lúc biến đi (khi tế bào chuẩn bị phân chia).

Trong nhân có thể có một số hạch nhân, nhưng thường thì tế bào mỗi loài động vật, thực vật có số lượng nhân con nhất định. Nhân con tham gia vào quá trình tổng hợp axit nucleic. Nếu phá hủy hạch nhân bằng tia Rơngơ hoặc tia tử ngoại thì sự phân chia tế bào bị ức chế.

* *Thể Golgi*

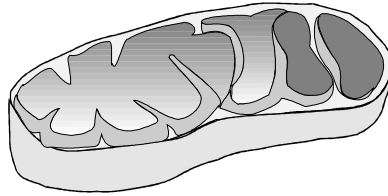


Hình 2-2: Bộ máy Golgi

Là một thành phần của tế bào chất, có trong hầu hết các loại tế bào (trừ tinh trùng và hồng cầu) chúng có cấu trúc một hệ mạng lưới những kênh được lót bởi các màng. Chúng thường nằm cạnh nhân và bao quanh trung tử. Dưới kính hiển vi điện tử, phức hệ Golgi được cấu tạo từ các nhóm màng song song với nhau, không có hạt, ở những phần riêng biệt các khoảng giữa các màng có thể được kéo dài ra tạo thành những bóng nhỏ. Theo một số nhà nghiên cứu thì phức hệ Golgi dùng để bảo quản tạm thời các chất được sản

xuất ra trong mạng lưới nội chất, còn các kênh của nó nối liền với màng sinh chất - điều đó làm cho việc tiết những sản phẩm được dễ dàng.

* ***Ty thể*** (Mitochondrie)



Hình 2-3: Cấu tạo ty thể

Ty thể có kích thước từ 0,2 đến 5 micron, hình dạng của chúng dao động từ hình cầu, hình que, hình sợi. Số lượng ty thể trong tế bào có thể khác nhau từ vài ty thể tới hàng nghìn. Ty thể thường tập trung ở phần tế bào mà ở đó sự trao đổi chất diễn ra tích cực nhất. Ty thể được bao bọc bởi lớp màng kép, lớp ngoài màng tạo thành bề mặt nhẵn, còn lớp trong có nhiều phần lồi ra chạy song song ăn sâu vào trung tâm ty thể, đôi khi phần lồi xuất phát từ hai hướng ngược nhau kết hợp với nhau. Các nếp lồi gọi là mao răng lược, có chứa các enzyme tham gia vào hệ thống chuyển vận điện tử.

Chất lỏng ở bên trong ty thể là chất nền - chứa các enzyme của chu trình Crebs. Chức năng của ty thể là chuyển hóa năng lượng thành dạng sinh học có ích nên người ta đôi khi gọi chúng là trạm năng lượng của tế bào. Trong ty thể còn có ADN của ty thể- là ADN ngoài nhân.

* ***Lạp thể***

Là một thể nhỏ ở tế bào thực vật, ở đó diễn ra sự tổng hợp hoặc tích lũy các chất hữu cơ. Lạp thể quan trọng nhất là lục lạp có chứa clorofil làm cho cây có màu xanh và có vai trò quan trọng trong quá trình quang hợp. Dưới kính hiển vi điện tử, lục lạp được cấu tạo từ các màng xếp song song khít chặt vào nhau. Lục lạp có thể phân chia và lớn lên thành các lục lạp con. Lục lạp cũng là cơ quan có chứa ADN ngoài nhân. Ngoài lục lạp ra còn có bạch lạp là lạp thể không màu chứa tinh bột và các chất khác; sắc lạp là lạp thể có chứa các sắc tố khác nhau làm cho hoa quả có màu sắc.

* ***Lisoxom***

Nhóm các bào quan có ở tế bào động vật, có kích thước gần như ty thể nhưng kém vững chắc hơn. Lisoxom được giới hạn bởi các màng, nó chứa nhiều loại enzyme khác nhau có khả năng thủy phân các thành phần đại phân tử của tế bào như polysaccharid, protein, axit nucleic. Khi tế bào còn sống,

các enzyme đó được điều tiết qua màng, ngược lại khi tế bào bị chết, màng Lisoxom bị phá hủy, những enzyme đó được giải phóng ra nên nó thủy phân nhanh chóng các protein, polysaccharid làm tế bào dễ bị tiêu hủy.

*** Trung tử**

Trong tế bào động vật và một số thực vật bậc thấp có hai thể nhỏ nhuộm màu mạnh nằm gần nhân gọi là trung tử. Trung tử có vai trò mạnh trong sự phân chia tế bào: khi bắt đầu phân chia hai trung tử tách khỏi nhau và chuyển về hai cực đối nhau của tế bào và giữa chúng hình thành thoi phân bào. Trung tử có dạng hình trụ, ở thành hình trụ có xếp 9 nhóm ống dọc, mỗi nhóm gồm 3 ống. Trong trường hợp điển hình, hai trung tử thường xếp thẳng góc với nhau theo trục trụ dọc.

*** Lông và roi**

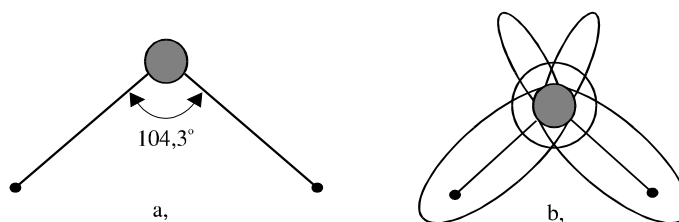
Tương tự như ở phần vi khuẩn mà chúng ta đã đề cập tới, ở một số động vật nguyên sinh (như trùng roi) cũng di chuyển nhờ tiêm mao. Ở một số sinh vật, tiêm mao còn có chức năng nữa là giúp cho cơ thể bám được tốt trên bề mặt cơ chất. Động vật bậc cao có khuynh hướng hình thành các mô (là một nhóm hay một lớp tế bào chuyển hóa như nhau cùng thực hiện một chức năng này hay khác), và ta cũng gặp các biểu mô lông (biểu mô là mô là mô xếp thành từng lớp phủ ngoài thân thể hoặc mặt trong xoang thân thể). Trên bề mặt tự do của biểu mô lông có rất nhiều lông bằng chất nguyên sinh cực nhỏ gọi là tiêm mao, sự chuyển động nhịp nhàng của chúng làm cho các chất trên bề mặt tế bào chuyển động theo một hướng. Ở người và động vật, phần lớn ống hô hấp có loại biểu mô lông này, những lông của nó dùng để loại trừ các hạt bụi và các vật lạ khác.

2.1.3.2. Nước, hàm lượng và trạng thái của nước

Nước là thành phần quan trọng không thể thiếu được của tế bào. Trong tế bào, hàm lượng của nước thường trên 60% - ở một số loại lên tới 90% nước trong tế bào như: ở người 58÷60% ; sữa 96÷99% ; rau quả 80÷94% ; nấm men 54÷83% ; vi khuẩn 75÷88%. Nước đóng vai trò quan trọng trong tế bào - nước đóng vai trò là chất phản ứng vì nó tham gia hàng loạt các phản ứng sinh hóa như phản ứng thủy phân, phản ứng tổng hợp, phản ứng oxy hóa khử, ... Nước vừa là dung môi, môi trường mà ở đó diễn ra vô vàn phản ứng sinh hóa, ...

Nước tham gia hàng loạt những quá trình sống căn bản như tiêu hóa, hô hấp, bài tiết, quang hợp, ...

*** Cấu tạo phân tử nước**



a, - Góc giữa 2 liên kết OH

b, - Cấu trúc của đám mây điện tử của phân tử nước

Hình 2-4: Sơ đồ cấu trúc đám mây điện tử

Cấu tạo phân tử nước đơn phân là một tam giác cân, đỉnh là nguyên tử oxy, ở hai góc của đáy là hai proton, góc giữa hai liên kết O–H bằng $104,5^\circ$. Độ dài giữa hạt nhân của nguyên tử oxy và hydro trong liên kết OH bằng $0,96\text{\AA}$ ($0,96 \times 10^{-7} \text{ mm}$).

Trong nước, ngoài các phân tử nước đơn giản còn chứa các phân tử nước liên hợp, được biểu diễn bằng công thức tổng quát $[\text{H}_2\text{O}]_x$ - giá trị x luôn luôn thay đổi tùy thuộc vào trạng thái của nước. Khi đun nóng sự liên hợp của các phân tử nước bị phá hủy và khi nhiệt độ đạt 100°C thì hầu hết các phân tử nước tồn tại dưới dạng đơn phân. Nguyên nhân cơ bản của sự hình thành những liên hợp phân tử nước là do liên kết hydro tạo thành giữa hai phân tử nước.

* *Trạng thái của nước trong tế bào*

Nước trong tế bào tồn tại dưới hai dạng chính là nước tự do và nước liên kết. Trong nhóm nước liên kết thì người ta thấy cách thức và mức độ liên kết của chúng cũng khác nhau. Có thể phân chia các trạng thái của nước như sau:

1,- *Nước cấu trúc*

Nước liên kết với các hợp phần hữu cơ của tế bào bởi các cầu hydrogen. Loại nước này không đóng vai trò như dung môi hoặc tác nhân phản ứng. Số lượng của loại nước này bé và không thể tách ra mà không làm thay đổi cấu hình của hợp chất hữu cơ (ví dụ như protein).

2,- *Lớp nước đơn phân tử*

Nước này bị hấp phụ trên bề mặt của các phân tử mang điện tích (ví dụ như protein)- vì, như chúng ta đã biết: phân tử nước là một phân tử lưỡng cực. Nước này thường không có khả năng hoặc rất ít khả năng đóng vai trò như là dung môi.

Nước cấu trúc và nước đơn phân tử thường không đông đặc khi hạ nhiệt độ thấp.

3,- *Nước mao quản*

Loại này nằm trong các mao quản hay giữa các phân tử protein gần nhau trong tế bào. nước này có khả năng đóng vai trò như dung môi và chất phản ứng, nước này có thể tách ra khỏi các mao quản của chúng, nhưng cần có năng lượng lớn.

4,- *Nước hydrat hóa*

Loại này góp phần tạo cấu hình protein, loại này khó xác định hàm lượng của chúng vì nó nằm trong phần cấu trúc.

5,- *Nước hydrat hóa thủy động học*

Bao bọc xung quanh các phân tử hữu cơ, nước này được xem như nước tự do.

Tuy nhiên, sự phân chia như trên cũng chỉ là tương đối vì ranh giới của các trạng thái nước khác nhau không thể cố định một cách chính xác và phụ thuộc nhiều vào điều kiện ngoại cảnh của môi trường và trạng thái của tế bào.

2.2. MÀNG TẾ BÀO

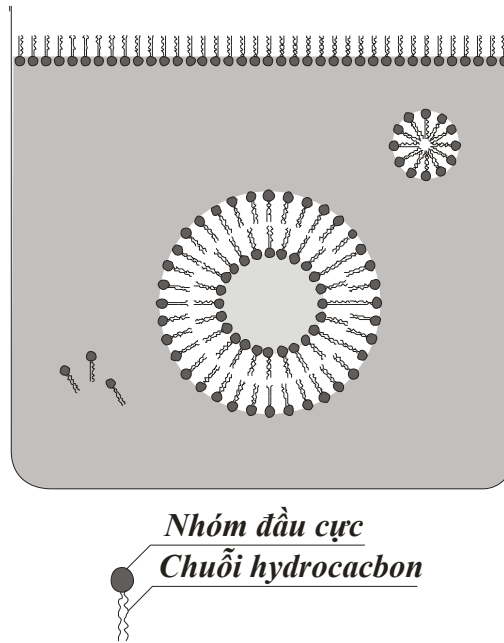
Màng tế bào có tác dụng bao bọc, che chở cho tế bào và làm cho tế bào có hình dạng nhất định. Ở các loại sinh vật đơn bào thì màng tế bào là ranh giới giữa tế bào với môi trường bên ngoài, nó tiếp xúc trực tiếp với môi trường. Màng tế bào đóng vai trò quan trọng trong quá trình trao đổi chất giữa tế bào với môi trường. Phần lớn tế bào eukaryot có các cấu trúc dưới tế bào như lysosom, thể Golgi, ty thể, ... mỗi một tiểu thể như vậy đều có một màng riêng ngăn cách, còn ở tế bào prokaryot hệ thống màng chủ yếu là màng tế bào và màng sinh chất.

Thành phần chính của màng tế bào là lipid, protein và polysaccharid. Tỷ lệ giữa chúng thay đổi tùy thuộc vào chủng loại màng và chủng loại vi sinh vật. Polysaccharid thường liên kết với protein tạo thành *glycoprotein* hoặc liên kết đồng hóa trị với lipid tạo thành *lipopolysaccharid*.

2.2.1. Nền tảng lipid của màng

Lipid có trong thành phần màng tế bào chủ yếu là phospholipit, ngoài ra còn có lipid trung tính, glycolipit và đặc biệt là trong màng tế bào động vật còn có cholesterol.

* *Phospholipit*

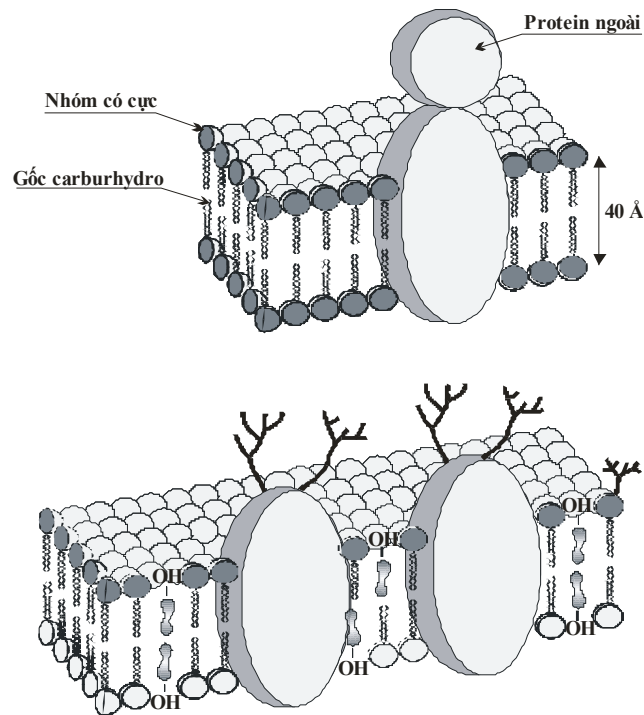


Hình 2-5: Phospholipit

Phospholipit là loại hợp chất có phân tử lưỡng cực. ở đầu có nhóm phosphat và các gốc đính phụ khác là đầu cực hóa và ưa nước còn đầu chứa gốc carburhydro không phân cực và kỵ nước. Chính cấu trúc phân tử đặc biệt như vậy nên khi cho phospholipit vào trong nước thì ta thấy chỉ có một phần rất nhỏ phospholipit tồn tại ở dạng đơn phân tử, còn phần còn lại chúng tạo thành lớp phospholipit đơn phân tử trên bề mặt của nước với đầu ưa nước hướng vào nước, tạo thành các micelle và đặc biệt là chúng tạo thành các "bong bóng" với lớp màng phospholipit hai lớp.

*** Tấm phospholipit 2 lớp [Hình 2-6]**

Tấm phospholipit hai lớp gồm hai lớp phân tử, đầu không phân cực của hai lớp phân tử phospholipit hướng vào nhau còn đầu phân cực của hai lớp quay ra ngoài. Sự hình thành tấm phospholipit là một đặc tính của phospholipit mà chúng ta đã đề cập trên đây. Sự có mặt của tấm phospholipit 2 lớp là một điểm đặc trưng của màng tế bào. Thực ra thì màng không có cấu trúc đồng bộ như vậy, ngày nay người ta đã chứng minh rằng trên màng còn chứa protein, enzyme và một số chất làm chức năng vận chuyển.



Hình 2-6: Tấm Phospholipid 2 lớp

2.2.2. Cấu trúc của màng sinh chất

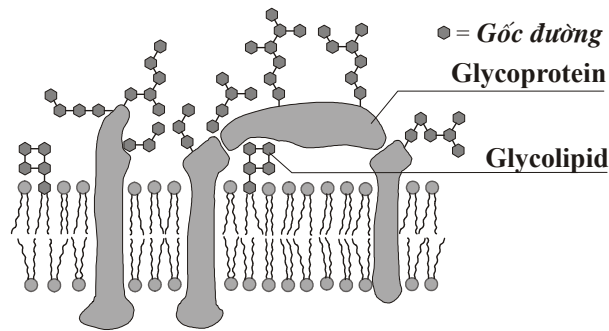
Màng sinh chất có cấu tạo ba lớp, ngoài cùng và trong cùng là hai lớp protein còn ở giữa là tấm *phospholipid hai lớp*. Hiện nay nhiều nhà nghiên cứu cho rằng màng sinh chất có cấu tạo khảm, các *khối protein nằm xen vào giữa màng phospholipid hai lớp*.

Đặc biệt trên màng sinh chất có loại protein-enzyme có tác dụng chủ động vận chuyển các chất qua màng tế bào gọi là permease. Theo giả thuyết của một số tác giả thì tại vị trí có phân tử permease, các phân tử phospholipid sẽ hướng đầu ưa nước vào nhau để tạo thành lỗ hổng chứa phân tử permease này.

Ở màng sinh chất còn có *hệ thống sợi nâng đỡ*. Các sợi này có cấu trúc rất mảnh với đường kính khoảng 50Å, các sợi này được cấu tạo từ những tế bào sợi tương tự như actin trong các cơ bắp ở động vật. Hệ sợi nâng đỡ này có hai dạng: dạng lưới - các sợi liên kết với nhau tạo thành dạng mạng như lưới nối với miosin và tropomiosin của sinh chất; dạng bó - tồn tại từng nhóm chạy sát phía dưới thành sinh chất. Cả hai dạng này đều làm chức năng nâng đỡ của màng sinh chất và đóng vai trò quan trọng trong quá trình co, giãn (khả năng biến dạng) của màng tế bào.

Ở tế bào eukaryot (ví dụ như tế bào nấm men) còn có màng tế bào. Màng tế bào vi khuẩn chúng ta đã xét ở phần trên, ở đây chúng ta xét cấu trúc màng của tế bào eukaryot.

Hình 2-8 biểu diễn mô hình cấu tạo màng của tế bào eukaryot. Mặt ngoài cùng nơi tiếp xúc với môi trường là *lớp oligo- hoặc polysaccharid*, polysaccharid này liên kết với protein hoặc lipid màng tạo thành glycoprotein và glycolipid, nên chú ý là phần *polysaccharid* *luôn luôn hướng ra ngoài* môi trường chứ không phải ở mặt tiếp xúc với nguyên sinh chất.



Hình 2-7: Mô hình cấu tạo màng của tế bào eukaryot

Khi thủy phân glycoprotein và glycolipid của màng tế bào eukaryot người ta nhận được một số loại đường đơn giản sau: mannose, galactose, glucose, glucosamin, galactosamin và axit sialic. Lớp tiếp theo là tấm lipid hai lớp, trong đó có các phân tử protein.

2.2.3. Tương tác giữa tế bào với môi trường qua màng tế bào

Màng tế bào là bộ phận liên hệ trực tiếp giữa tế bào với môi trường xung quanh (đối với các thể đơn bào). Mọi thông tin như sự thay đổi pH, nhiệt độ, sự thay đổi thành phần dinh dưỡng, ... tế bào tiếp nhận được đều qua màng tế bào. Trong sự trao đổi vật chất giữa tế bào và môi trường, màng tế bào có khả năng hấp thụ chọn lọc, nghĩa là nó có thể cho hoặc không cho một số chất đi vào tế bào và đi ra khỏi tế bào. Các chất dinh dưỡng, nước đi từ môi trường vào tế bào và các chất thải được đưa ra khỏi tế bào. Ngoài ra giữa tế bào với môi trường còn có sự trao đổi khí, sự trao đổi này cũng thông qua màng tế bào. *Ví dụ:* tế bào da ếch có khả năng hấp thụ O_2 và thải CO_2 , khi gặp tiết trời nóng, da khô lại và sự hô hấp cũng dừng lại; hay tế bào phổi cũng làm chức năng hô hấp tức trao đổi khí với môi trường.

2.2.4. Sự vận chuyển của các phân tử đi ra và vào tế bào

2.2.4.1. Sự thẩm thấu và áp suất thẩm thấu

Những chất trao đổi giữa tế bào và môi trường thường hòa tan trong nước. Do sự chênh lệch về nồng độ mà nước có thể và các chất hòa tan có thể thấm qua màng tế bào. Hiện tượng này xảy ra nhờ áp xuất thẩm thấu. Để hiểu rõ hơn ta xét ví dụ sau đây:

1,- *Phân biệt các loại màng*

- Màng thấm: Màng có hệ thống lỗ mà bất kỳ chất nào cũng qua được.
- Màng không thấm: Không cho bất kỳ chất nào đi qua.
- Màng bán thấm: Chỉ cho một số chất chứ không phải tất cả. Màng tế bào thuộc vào loại màng bán thấm.

2,- *Chuẩn bị thí nghiệm*

Lấy một cái túi colodion (có các lỗ màng không quá nhỏ để phân tử đường và nước có thể đi qua được) đựng đầy dung dịch đường 5% và để vào cốc nước, sau một thời gian đường trong nước bao quanh túi sẽ bằng nồng độ đường trong túi. Điều đó chứng tỏ đường trong túi đi qua màng túi vào cốc và nước từ cốc đi vào trong túi. Nếu lấy một túi khác có kích thước lỗ nhỏ chỉ cho nước đi qua mà không cho phân tử đường qua được sau đó ta cũng đổ dung dịch đường 5% vào và cột miệng túi vào một ống thủy tinh và cho vào cốc nước. Sau một thời gian ta thấy nước dâng lên cột thủy tinh (Hình 2-8).

Sự khuếch tán như vậy của các phân tử nước hay của dung môi nào khác qua màng gọi là thẩm thấu. Mực nước trong ống thủy tinh sẽ dâng lên cao để sao cho áp suất do cột nước trong ống gây ra bằng với lực bắt nước đi vào trong túi. Áp xuất của cột nước được dùng làm mức đo áp suất thẩm thấu. Sự thẩm thấu xảy ra khi có sự chênh lệch về nồng độ giữa dung dịch trong và ngoài màng. Sự khuếch tán của các phân tử chất hòa tan qua màng bán thấm còn gọi là sự *thấm tích*; còn sự khuếch tán của các phân tử dung môi qua màng bán thấm gọi là *thấm thấu*.

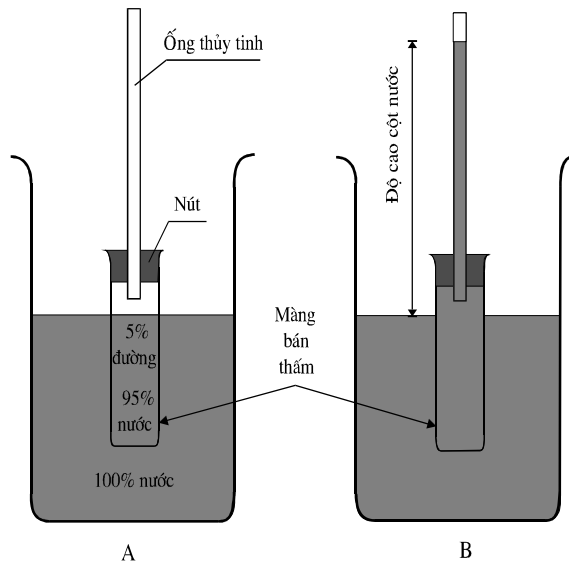
Màng tế bào hoạt động như một màng bán thấm. Khi cho tế bào vào chất lỏng có cùng áp suất thẩm thấu như trong tế bào thì nước không đi vào và đi ra khỏi tế bào vì vậy tế bào không bị phồng lên mà cũng không bị co lại, chất lỏng như vậy gọi là chất lỏng đẳng trương. Dung dịch muối ăn 0,85% là đẳng trương so với tế bào của người và một số động vật (dung dịch sinh lý).

3,- *Thí nghiệm biểu diễn áp suất thẩm thấu*

A - Đổ dung dịch đường 5% vào túi làm bằng màng bán thấm (xenlofan) treo trong nước. Các phân tử nước khuếch tán vào túi làm cho cột nước trong

ống thủy tinh dâng lên cao. Các phân tử đường lớn hơn, và vì vậy, không thể đi qua màng xenlofan.

B - Khi đạt cân bằng, áp suất của cột nước trong ống bằng đúng với áp suất thẩm thấu của dung dịch đường và dùng làm mức đo áp suất ấy.



Hình 2-8: Mô hình biểu diễn áp suất thẩm thấu

4,- Sự khuếch tán

Chúng ta đều biết các phân tử chất lỏng, rắn, khí đều luôn chuyển động. Sự sai khác nhau giữa ba trạng thái rắn, lỏng, khí được xác định bởi bậc tự do chuyển động giữa các phân tử. Các phân tử chất lỏng và khí chuyển động mạnh hơn so với chất rắn, do sự chuyển động như vậy mà sự phân bố của các chất trong chất lỏng và chất khí sau một thời gian sẽ đạt trạng thái cân bằng. Sự khuếch tán có nghĩa là sự chuyển dịch của các phân tử theo tất cả các hướng, nếu dung dịch có sự chênh lệch nồng độ thì sau một thời gian sẽ được phân bố đều. Có thể hiểu nôm na sự khuếch tán là sự phân bố các phân tử từ nơi có nồng độ cao đến nơi có nồng độ thấp hơn, do chuyển động nhiệt của chúng gây ra. Các chất khác nhau ở cùng trong một dung dịch khuếch tán không phụ thuộc vào nhau.

Thẩm tích và thẩm thấu chỉ là hai dạng đặc biệt của khuếch tán.

2.2.5. Sự vận chuyển có chọn lọc của các phân tử

2.2.5.1. Sự khuếch tán có chọn lọc

Như chúng ta đã đề cập ở phần trên đây rằng tế bào có khả năng tiếp nhận và đào thải một cách có chọn lọc các chất. Đặc tính chọn lọc này chính

là của màng tế bào, vì tất cả sự trao đổi đều qua màng. Ngày nay người ta cho rằng sự chọn lọc này là do:

1,- *Kích thước đường kính lỗ của màng*

Những chất đi qua màng được là những chất có đường kính các phân tử tương quan với đường kính lỗ của màng. Ví dụ tế bào quần cầu thận của các loài thú có đường kính lỗ từ $18\div 50\text{\AA}$ nên nó không để lọt từ máu vào nước tiểu các phân tử protein có khối lượng quá 40.000 Dalton. Nhưng lỗ màng của quần cầu thận của chuột đồng là $60\div 70\text{\AA}$ nên nó cho qua các phân tử protein có khối lượng 60.000 Dalton.

2,- *Chất vận chuyển*

Trên màng có chứa các chất làm nhiệm vụ vận chuyển. Các chất này có khả năng tiếp nhận một cách có chọn lọc.

3,- *Sự vận chuyển tích cực*

Sự khuếch tán lý học, các chất hòa tan đi từ nơi có nồng độ cao đến nơi có nồng độ thấp. Đối với các tế bào sống sự hấp thụ và thải một số chất có thể ngược lại với dốc nồng độ, tức là các chất có thể đi từ nơi có nồng độ cao sang nơi có nồng độ thấp ví dụ ở thận nồng độ urê trong nước tiểu đậm đặc gấp 65 lần trong máu, nồng độ phosphat gấp 16 lần trong máu, nhưng các chất ấy vẫn thấm từ máu vào qua màng tế bào vào nước tiểu; còn tại ống thận tuy nồng độ glucose thấp hơn máu, nhưng glucose vẫn được thu hồi lại, tức là thấm qua màng tế bào để vào máu.

Như vậy màng tế bào sống có thể chủ động vận chuyển một số chất ngược chiều với sự khuếch tán lý học. Đó là khả năng *hoạt tải của màng tế bào*.

Màng tế bào còn có thể thực hiện sự trao đổi chất nhờ *sự biến dạng tích cực* của nó. Đối với một số chất (thức ăn) có kích thước lớn không lọt qua các lỗ màng được thì tại nơi tiếp xúc với chúng thì màng tế bào lõm vào tạo thành túi bọc lấy chúng và sau đó khép lại tạo thành không bào chứa chất lấy vào. Tế bào sẽ tiết enzyme để phân hủy chất lấy vào thành phần nhỏ và hấp thụ qua màng.

2.2.6. *Sự tiếp nhận thông tin qua màng tế bào*

Những sinh vật đơn bào như vi khuẩn, nấm men, ... thì tế bào liên hệ trực tiếp với môi trường, mọi thông tin được tiếp nhận qua màng tế bào, nhưng sự phản ứng của chúng đối với những biến đổi yếu ớt, thụ động vì chưa có sự phân hóa về chức năng như ở những sinh vật đa bào. Ở sinh vật đa bào sự liên hệ giữa tế bào với môi trường xung quanh và với những tế bào

khác trong cơ thể cần thiết có những mô chuyên hóa để tiếp nhận và dẫn truyền các tín hiệu thông tin (mô thần kinh). Những kích thích được các tế bào thần kinh tiếp nhận và truyền về hệ thần kinh trung ương, đồng thời tế bào thần kinh cũng dẫn truyền những tín hiệu phản xạ của hệ thần kinh trung ương. Quá trình tiếp nhận và dẫn truyền các tín hiệu thông tin đều có sự tham gia trực tiếp của màng sinh chất của tế bào thần kinh. Màng tế bào thần kinh có tính thấm chọn lọc đối với ion K^+ và Na^+ (màng tế bào dễ cho ion kali đi qua hơn Na). Khi có sự chênh lệch về nồng độ ion giữa trong và ngoài màng thì sẽ có một thế năng điện hóa. (Cơ chế của quá trình tiếp nhận và dẫn truyền các xung động dưới dạng sóng của một chuỗi quá trình cực hóa của màng).

2.3. PROTEIN VÀ VAI TRÒ CỦA PROTEIN ĐỐI VỚI SỰ SỐNG

- Protein là những chất có trong cơ thể sống, có trọng lượng phân tử lớn, chúng được tạo thành từ axit amin và không hòa tan trong dung dịch axit Tricloaxetic 10%.
- Là vật chất cơ bản nhất của tế bào.
- Làm nhiệm vụ xúc tác đặc biệt cho cơ thể sống.
- Protein là những cấu tử quan trọng nhất về mặt số lượng của tất cả các cơ thể sống, đặc biệt là cơ thể có tổ chức cao. Trong các mô của động vật có vú, Protein chiếm 10÷20% còn Gluxit và Lipit chỉ chiếm 1÷5%.

Protein có nhiều đặc tính không có ở bất kỳ hợp chất hữu cơ nào như *tính đa dạng về mặt cấu trúc, tính đặc hiệu loại rất cao, khả năng phản ứng lớn, khả năng thích ứng đối với tác dụng của môi trường ngoài và tái lập trạng thái ban đầu khi ngừng tác dụng* → Chính những đặc tính này đảm bảo chức năng "cơ sở sự sống" của Protein.

- Protein rất khác nhau về cấu trúc, tính chất và đặc biệt là vai trò sinh lý, trong cơ thể Protein là:

- 1- *chất tạo hình* để tạo thành các mô,
- 2- là *chất xúc tác* (enzyme),
- 3- là *kháng thể*, tham gia tạo thành các *hocmôn*, điều hòa quá trình sống.

- Trong tất cả các Protein đều có chứa 4 nguyên tố *C, H, O, N* ngoài ra còn một số lượng rất ít S, Fe, Cu,

2.3.1. Cấu tạo của phân tử Protein

Khi thủy phân Protein - ví dụ như đun sôi chúng với axit hoặc kiềm hoặc cho thủy phân bằng các Enzyme - chủ yếu là 20 axit amin (có 80 axit amin trong tự nhiên) và 2 amit. Thủy phân bằng axit, ví dụ: HCl 6N, H₂SO₄ ... sẽ làm phân hủy một số axit amin, chủ yếu là Triprophan. Đặc biệt, khi thủy phân các Protein có chứa Gluxit sẽ tạo thành sản phẩm phụ có màu nâu đậm gọi là Humin là chất có thể liên kết 1 phần với các axit amin.

Thủy phân bằng kiềm, giữ được Triprophan nhưng nhiều axit amin bị racemic hóa tức là sự chuyển từ dạng L sang dạng D, vì vậy, thủy phân bằng Enzymin là ưu việt nhất.

Axit amin là dẫn xuất của axit caboxylic trong đó 1 hoặc 2 nguyên tử hydro của gốc Alcy l được thay thế mỗi nhóm amin- Công thức tổng quát:



Trong phân tử của một số axit amin, ngoài nhóm –NH₂ và –COOH còn có chứa các gốc *Hydroxil* (–OH), gốc *Phenil* (C₆H₅), gốc *Thiol* (–SH). Trong 20 axit amin và 2 amit thường gặp trong thành phần của Protein có 10 axit amin *không thay thế*:

Leucine (Leu.); Izoleucine (Ileu.); Methionine (Met.); Valin (Val.);

Lysine (Lys); Threonine (Thr.); Phenylalanine (Phe.); Tryptophan (Try.),

- Các axit amin này trong cơ thể người và động vật không tự tổng hợp được mà phải thu nhận qua đường thức ăn - đối với các cơ thể trẻ đang phát triển còn có Arginine (Arg) và Histidine (His),
- Số còn lại là các axit amin có thể thay thế; tức là cơ thể người và động vật có thể tự tổng hợp được: *Glycine (Gly.); Alanine (Ala.); Serine (Ser.); Cysteine (Cys.); Glutamine (Glu.) - Aspartic (Asp.); Tyrosine (Tyr.); Proline (Pro.); Cystine; Hydroxy proline; Asparagin (Asp–NH₂ hay Asn.); Glutamine (Glu–NH₂ hay Gln.).*

2.3.2. Cấu trúc phân tử Protein

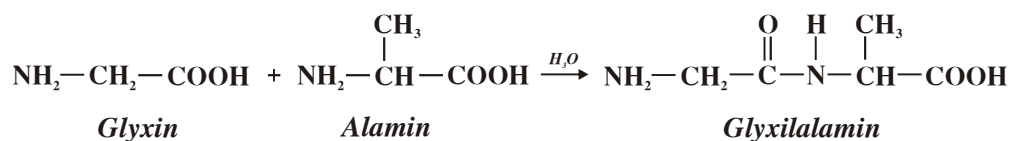
Hiện nay người ta phân biệt 4 bậc cấu trúc của phân tử Protein khác nhau bởi mức độ phức tạp và dạng liên kết trong nội tại phân tử của chúng.

2.3.2.1. Cấu trúc bậc 1

Những công trình nghiên cứu cho thấy rằng, *một Protein nhất định* của cùng một loại thể sống *được tạo nên từ những axit amin như nhau* và trong phân tử của Protein, đó trình tự kết hợp của các axit amin là *hoàn toàn xác định*.

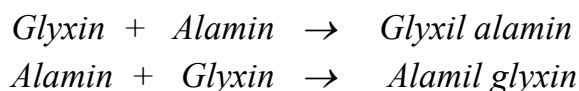
- Các phân tử Protein đều là các Polypeptit do hàng chục, có khi hàng trăm phân tử axit amin kết hợp với nhau bằng liên kết Peptit.
- Liên kết Peptit được tạo thành do kết quả tác dụng của nhóm cacboxyl của axit amin này với nhóm amin của axit amin khác.

Ví dụ:



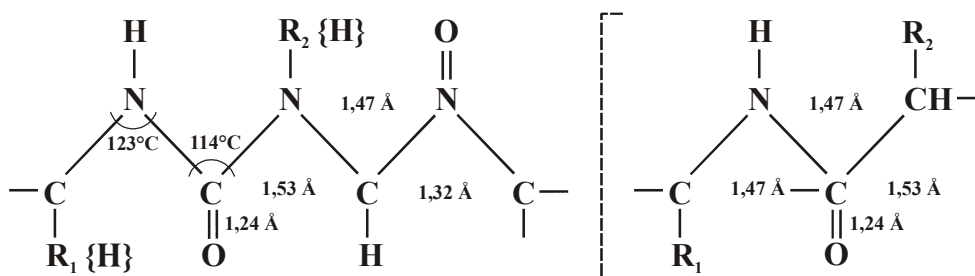
Dipeptit này có thể tác dụng với 1 axit amin thứ 3 nữa tạo thành một Tripeptit, sau đó với axit amin thứ 4, thứ 5, ... để tạo thành các Peptit tương ứng: Tetrapeptit pentapeptit, ... - gọi là Polypeptit.

- Về nguyên tắc gọi tên như sau: Tên các axit amin có nhóm Cacboxyl tham gia phản ứng ở vắn cuối đều được đổi thành " il ", còn axit amin có nhóm Cacboxyl không tham gia phản ứng giữ nguyên tên gọi:



- Ta thấy axit amin có thể kết hợp theo nhiều cách để tạo thành các peptit.
- Trên nguyên tắc: nếu có n -axit amin sẽ có n -cách kết hợp và dẫn đến ta có n -đồng phân. Mạch polypeptit là dạng cấu trúc đầu tiên và được gọi là cấu trúc bậc I của phân tử protein.
- Qua kết quả của nhiều nghiên cứu cho thấy rằng: những axit amin có 2 nhóm $\text{NH}_2 \rightarrow$ thì chỉ có nhóm NH_2 trong liên kết peptit là nhóm α -amin.
- Thành phần của protein và trình tự các axit amin kết hợp với nhau bằng liên kết peptit trong nó được gọi là cấu trúc bậc I.
- Để xác định cấu trúc bậc I của một protein, người ta dùng triptxin để thủy phân (vì nó phân giải các liên kết peptit nhất định) sau đó \rightarrow sắc ký và điện di để có được các vệt phân bố một cách đặc trưng cho một protein (fingerprint).
- Vì liên kết peptit luôn luôn được tạo nên giữa nhóm α -amin và nhóm cacboxil đứng cạnh nên trong mỗi chuỗi polypeptit có trục cốt như nhau trong protein.

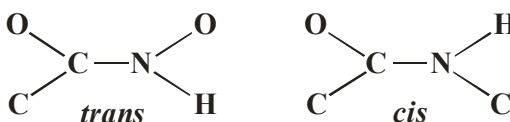
- Các chuỗi polypeptit của những protein khác nhau chỉ khác nhau ở tính chất của gốc R gắn với trục cốt của chuỗi polypeptit.
- Khi nghiên cứu cấu trúc, tinh thể của các axit amin và peptit cho thấy kích thước của nhóm peptit chứa một số α -amin như nhau thì gần như bằng nhau - không kể là nó được tạo thành bởi các axit amin nào. Kết quả xác định khoảng cách giữa các gốc hóa trị giữa các nguyên tử C, H, O, N như sau:



- Độ dài 1,24 Å giữa —C—O— \rightarrow lớn hơn bình thường (1,21 Å)
- Độ dài 1,32 Å giữa —N—C— \rightarrow nhỏ hơn bình thường (1,47 Å)
- Đó là kết quả của hiện tượng hỗ biến dẫn tới thành dạng enol (khoảng 40%) của liên kết peptit:



- Nhóm peptit có thể tồn tại dưới 2 dạng đồng phân "cis" và "trans":



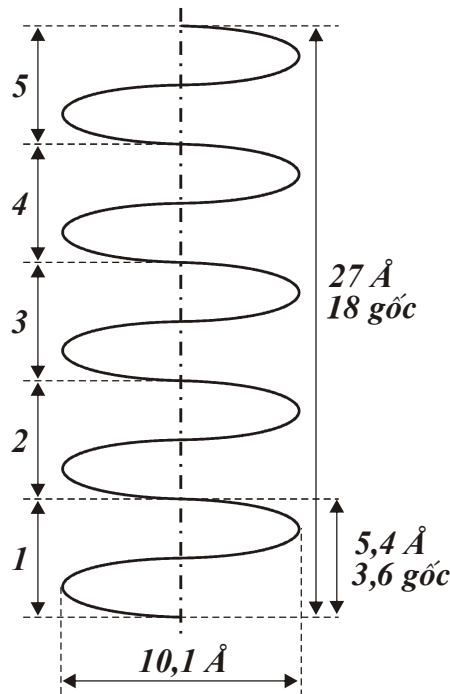
- Vì vậy, trong protein thường chỉ tồn tại ở dạng "trans" (bền).

2.3.2.2. Cấu trúc bậc II

- Hầu như tất cả các axit amin đều chứa nguyên tố cacbon bất đối - nên các gốc axit amin có khả năng quay tự do quanh mỗi liên kết ở vị trí α . Kết quả làm cho mạch polypeptit có khuynh hướng hình thành cấu trúc xoắn.
- Trong việc hình thành cấu tạo xoắn của mạch polypeptit thì liên kết hydro giữ một vai trò quan trọng giữa hai nhóm:



- Từ những nghiên cứu trên, Pauling và Kory (1955) đã đề xuất ra một mô hình cấu tạo xoắn α của các mạch polypeptit. Lý thuyết này được chứng minh trực tiếp và được thừa nhận rộng rãi.



Theo thuyết đó thì:

- Mỗi vòng xoắn gồm 3,6 gốc axit amin;
- 5 vòng xoắn bao gồm 18 gốc axit amin;
- Khoảng cách giữa 2 vòng xoắn là 5,4Å (1,5Å cho mỗi axit amin);
- Đường kính trong là: 10,1Å;

Các góc bên của các axit amin không tham gia trực tiếp và việc tạo thành mạch polypeptit đều hướng ra ngoài.

Chứng minh cho sự tồn tại của liên kết hydro: Đun nhẹ \rightarrow dẫn đến mất những tính chất sinh học ban đầu - mặc dù những tác động này không gây những biến đổi trong liên kết peptit hay trong cầu disulfit (do làm đứt liên kết hydro).

Sự tồn tại của liên kết hydro được xác nhận nhờ người ta phát hiện được rằng: protein có thể bị biến tính bằng những chất mà bản thân chúng rất dễ dàng tạo nên liên kết hydro. Ngay ở nhiệt độ rất thấp đã có thể làm biến tính nhiều protein mà không gây những biến đổi trong các liên kết đồng hóa trị.

1,- Tương tác kỵ nước trong Protein

Trong thời gian gần đây người ta cho rằng các lực liên kết trong lòng protein xuất hiện không những được hình thành bằng liên kết hydro mà còn nhờ sự tương tác của các nhóm kỵ nước.

Người ta tìm thấy rằng các axit amin của phân tử hemoglobin có các gốc kỵ nước như valine, leucine, phenylalanine được phân bố trong lòng

phân tử còn các axit amin phân cực được phân bố trên bề mặt, vì vậy các tương tác kỵ nước chính có vai trò quan trọng trong việc duy trì cấu trúc không gian của phân tử protein.

2,- *Cấu trúc bậc 3*

Khi nghiên cứu cấu trúc phân tử của một số protein dạng hình cầu như albumin của huyết thanh, Hemoglobin, ... người ta thấy nếu chỉ dựa vào thuyết cấu tạo xoắn thôi thì chưa giải thích được.

Ví dụ: Phân tử albumin

→ Được tạo nên bởi 600 gốc axit amin, nếu dựa theo lý thuyết cấu tạo xoắn thì độ dài mỗi axit amin là $1,5\text{\AA}$ → $1,5\text{\AA} \times 600 = 900\text{\AA}$, đường kính trong của cấu tạo xoắn là $10,1\text{\AA}$,

→ Như vậy, số liệu tính theo lý thuyết - tỷ lệ trục lớn trên trục nhỏ sẽ là: $900 / 10,1 = 90$ → nhưng trên thực tế chỉ có 4, điều đó cho thấy phân tử có cấu trúc dạng cầu

Như vậy:

Sự sắp xếp không gian của những phần xoắn và vô định hình của mạch polypeptin theo một trật tự nhất định để tạo thành dạng cầu được gọi là cấu trúc bậc III của phân tử protein.

Các phân tử có cấu trúc bậc III: Albumin, Mioglobin, Kimotripxinogen, Ribonucleaza.

3,- *Cấu trúc bậc 4*

Kết quả nghiên cứu của những năm gần đây cho thấy, ngoài cấu trúc bậc 3, nhiều Protein còn có cả cấu trúc bậc 4.

- ***Cấu trúc bậc 4 của phân tử Protein là do hai hay nhiều tiểu đơn vị có cấu trúc bậc 3 kết hợp tạo thành.***
- Ví dụ: Hemoglobin, phân tử của nó được hình thành từ 4 tiểu đơn vị, 2 mạch α và 2 mạch β hay insulin (2 tiểu đơn vị), pepxin, aminlaza (12 tiểu đơn vị).
- Cấu trúc bậc 4 được hình thành và ổn định nhờ các lực tương tác giữa các nhóm bên phân bố trên bề mặt của các tiểu đơn vị protein hình cầu, như các liên kết hydro, liên kết "Van-der-walls", tĩnh điện,

Cấu trúc bậc cao là một trong những đặc điểm phân biệt protein với các hữu chất hữu cơ khác.

2.3.2. Một số tính chất đặc trưng của axit amin

2.3.2.1. Tính chất

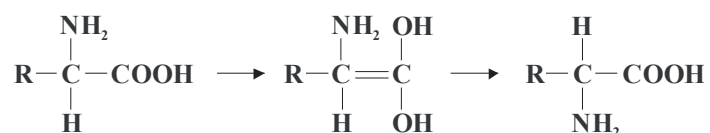
1,- *Khi kết tinh* cho tinh thể màu trắng, bền ở nhiệt độ 20÷25°C.

2,- *Tính tan trong nước* của chúng rất khác nhau, tan tốt nhất là *Proline* kém nhất là *Tyrosine* và *Cysteine*. Sự có mặt của muối ảnh hưởng đến tính tan của axit amin trong nước. Nhiều axit amin tan tốt hơn khi thêm 1 lượng nhỏ muối, nhưng kết tủa khi tăng mạnh lực ion của dạng dung dịch.

3,- Đa số các axit amin *bền trong dung dịch axit mạnh* - trừ *Tryptophan* bị phân hủy hoàn toàn và các axit amin có chứa lưu huỳnh như *Cysteine* *Cystin* và chứa nhóm -OH như *Serine*, *Threonine* sẽ bị oxy hóa từ 10÷30%.

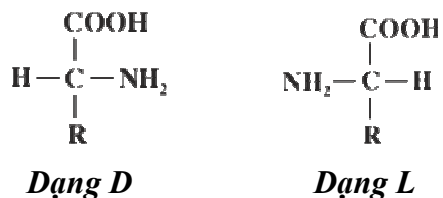
- Trong *dung dịch kiềm mạnh* (NaOH : 4 - 8N) thì các axit amin chứa nhóm OH (*Serine*, *Treonine*) bị deamin hóa, các axit amin chứa nhóm lưu huỳnh như *Cysteine*, *Cistin* bị phá hỏng, *Arginine* bị phân hủy và đa số các axit amin bị Raxemic hóa, nghĩa là chuyển từ dạng L sang dạng D.

- Dưới tác dụng của kiềm xảy ra sự chuyển biến thuận nghịch của nhóm Caboxyl thành dạng enol dẫn tới làm mất tính bất đối của nguyên tử Cabon-α quá trình đi có thể biểu diễn như sau:



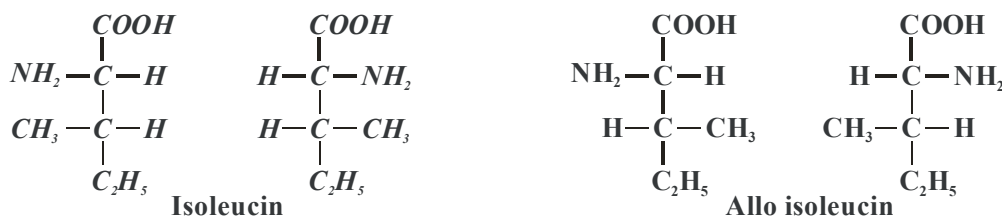
4,- *Tính hoạt quang*: Trừ *Glycine*, còn tất cả các axit amin khác đều là chất hoạt quang, có thể tồn tại dưới 2 dạng hoạt động quang học - dạng D và dạng L.

Chất chính dùng để xác định dạng của các phân tử là L-serine, có cấu trúc không gian giống cấu trúc không gian của L-aldehyt glyxerinic, dạng D và dạng L được biểu diễn như sau:



Một số các axit amin có 2 nguyên tử Cacbon bất đối, chúng có 4 đồng phân quang học, trong trường hợp này ký hiệu L và D được dùng chỉ các dạng đồng phân gặp trong thành phần của protein, 2 dạng đồng phân còn lại

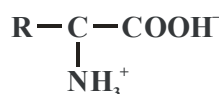
chỉ thu được bằng phương pháp tổng hợp hóa học, được ký hiệu là D-allo và L-allo axit amin - *Ví dụ* như Isoleucin:



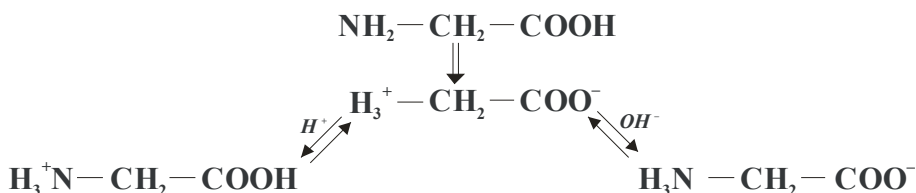
- Tất cả các axit amin có trong thành phần của Protein đều thuộc dạng L; động và thực vật không có khả năng hấp thu axit amin dạng D; không những thế, đôi khi còn có ảnh hưởng xấu đến quá trình trao đổi chất.

5,- Tính điện ly lưỡng tính

- Axit amin có tính điện ly lưỡng tính vì do trong phân tử có chứa đồng thời nhóm -COOH (cacboxyl) và nhóm -NH_2 .
- Trong dung dịch nước nó có thể tồn tại đồng thời dưới hai dạng: dạng phân tử và chủ yếu dưới dạng ion lưỡng cực.



- Sự phân ly trong môi trường axit và kiềm xảy ra như sau:



Như vậy trong các dung dịch axit mạnh của axit amin tồn tại ở dạng ion dương và ngược lại trong kiềm mạnh thì ở dạng ion âm, tại miền trung tính, phân tử không có điện tích nhưng tất nhiên nó vẫn phân cực mạnh.

pI - gọi là điểm đẳng điện của phân tử axit amin, vậy:

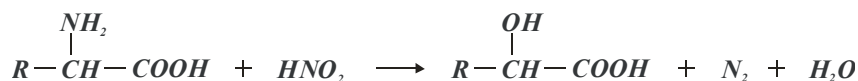
Giá trị pH, tại đó phân tử trung hòa điện, được gọi là điểm đẳng điện pI.

Ta thấy giá trị pI của các axit amin khác nhau thì không giống nhau, vì vậy ở một giá trị pH thích hợp, các axit amin sẽ chuyển về cực âm hay cực dương với những vận tốc khác nhau → phương pháp điện di → dùng để phân tích hỗn hợp axit amin.

2.3.2.2. Các phản ứng đặc trưng quan trọng

1,- Phản ứng với axit nitro

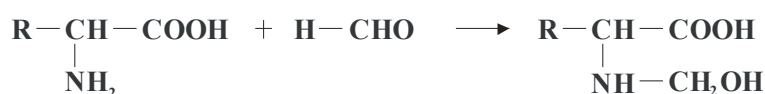
- Các axit amin (trừ Prolin và Oxyprolin) đều phản ứng với axit nitơ để giải phóng khí nitơ và tạo thành Oxyaxit tương ứng:



- Phản ứng này được Van-Slyke dùng để định lượng axit amin bằng cách xác định lượng N_2 tạo thành.

2,- *Phản ứng với formalin* (Phản ứng Sorensen)

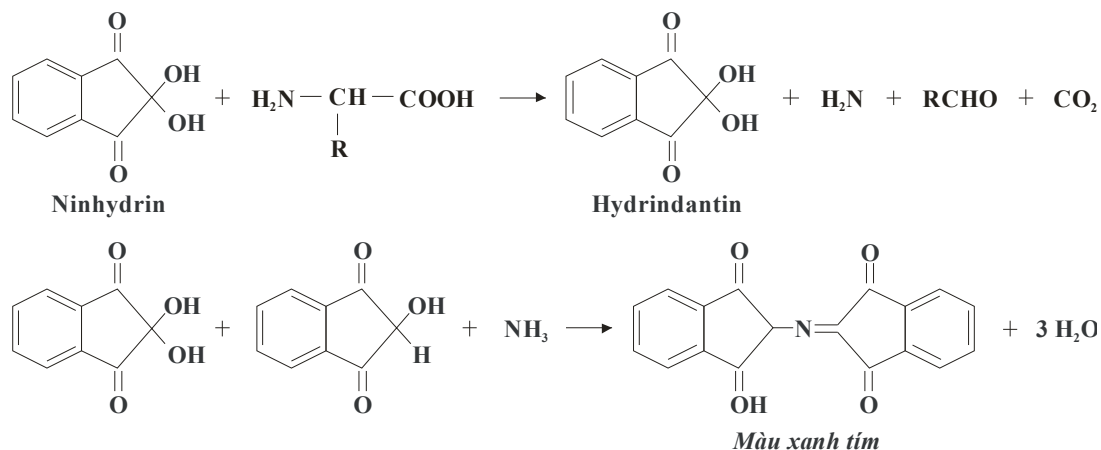
- Khi thêm một lượng dư formalin trung tính vào dung dịch axit amin, formalin sẽ tác dụng với nhóm $-\text{NH}_2$ của axit amin:



Đây là cơ sở của phương pháp định lượng Sorensen cho các α -amin. Định lượng bằng phương pháp chuẩn độ nhóm $-\text{COOH}$ bằng NaOH -0,1N

3,- *Phản ứng với ninhydrin*

- Khi đun nóng, đa số axit amin tác dụng với Ninhydrin để tạo thành CO_2 , NH_3 và andehyt tương ứng:



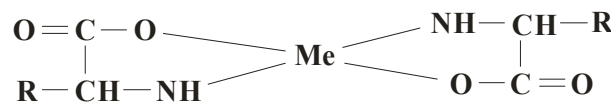
- Ta có thể định lượng amin tham gia phản ứng thông qua xác định lượng khí CO_2 , NH_3 hoặc Aldehyd tạo thành.
- Khi PH của môi trường phản ứng lớn hơn 4 sẽ xảy ra phản ứng ngưng tụ tiếp theo với NH_3 mới tạo thành, để tạo thành một hợp chất có màu tím xanh - phản ứng này được dùng nhiều trong phản ứng định tính và định lượng axit amin trong các phương pháp sắc ký và điện di trên giấy
- trừ 3 axit amin:

• Axit aspactic + Ninhydrin cho 2 phân tử CO_2 ,

- Prolin và oxy prolin khi tác dụng cho hợp chất màu vàng và không tạo thành NH_3 .

4,- *Phản ứng tạo phức với các kim loại*

- Hầu hết các axit amin đều có khả năng tạo phức với các ion kim loại hóa trị 2:



- Độ bền của các phản ứng tăng theo trật tự:



Chương III

NĂNG LƯỢNG HỌC

3.1. NĂNG LƯỢNG VÀ SỰ TRAO ĐỔI CHẤT

3.1.1. Năng lượng tự do

Vật chất và năng lượng trong vũ trụ liên quan với nhau theo phương trình nổi tiếng của Anhtanh: $E = mc^2$ (E là năng lượng m là khối lượng và c là tốc độ của ánh sáng - là một đại lượng không đổi). Trong cuộc sống thì hai khái niệm năng lượng và vật chất tách biệt nhau. Vật chất chiếm một khoảng không gian nhất định và có trọng lượng - còn năng lượng, đó là khả năng gây ra những biến đổi vật chất, hoặc làm cho vật chất chuyển động, nghĩa là có khả năng sinh ra công. Năng lượng được xác định như khả năng sinh ra công có thể là *hiệt năng, năng lượng ánh sáng, điện năng, cơ năng hoặc hóa năng*. Các nhà vật lý còn phân biệt *động năng và thế năng*. Thế năng là khả năng sinh ra công được xác định bởi vị trí hoặc trạng thái của một vật thể. Động năng là năng lượng chuyển động. Một hòn đá nằm trên dốc nó có một thế năng được xác định bởi vị trí của nó, khi nó rơi xuống thì thế năng chuyển thành động năng.

Người ta còn phân biệt ra *năng lượng tự do*, tức là năng lượng có khả năng sinh ra công trong điều kiện đẳng nhiệt và năng lượng không có khả năng sản ra công trong điều kiện đẳng nhiệt đó là entropi - trạng thái hỗn độn của năng lượng bên trong. Theo định luật bảo toàn năng lượng thì khối lượng chung của năng lượng trong bất kỳ một hệ thống cách ly nào là không đổi. Như vậy năng lượng tự do và entropi phụ thuộc lẫn nhau; tăng entropi trong quá trình không thuận nghịch kèm theo việc giảm năng lượng tự do. Năng lượng tự do là năng lượng có lợi - còn entropi là thước đo năng lượng không dùng được. Tất cả những quá trình vật lý và hóa học xảy ra với sự giảm năng lượng tự do cho tới khi mà chúng chưa đạt tới trạng thái cân bằng, trong đó năng lượng tự do của hệ thống là cực tiểu còn entropi là cực đại.

3.1.2. Oxy hóa khử

Theo quan niệm hiện đại, quá trình mất điện tử hoặc proton (H) của phân tử chất nào đó gọi là sự oxy hóa, còn ngược lại: quá trình nạp điện tử hoặc proton của một phân tử chất nào đó gọi là sự khử.

Chất nhường điện tử và proton gọi là chất bị oxy hóa, chất nhận điện tử và proton gọi là chất oxy hóa.

Sự oxy hóa và sự khử luôn luôn xảy ra đồng thời và liên hệ chặt chẽ với nhau thành một phản ứng oxy hóa khử thống nhất.

3.1.2.1. Phản ứng oxy hóa khử sinh học

Cơ thể sinh vật oxy hóa các sản phẩm dinh dưỡng bằng oxy, chuyển hóa chúng thành CO_2 và H_2O đồng thời sử dụng năng lượng giải phóng ra để đáp ứng nhu cầu hoạt động sống. Khi đó, hydro được giải phóng khỏi hợp chất hữu cơ và kết hợp với oxy kèm theo sự tỏa năng lượng.

Phản ứng oxy hóa khử được tiến hành trong cơ thể sống với sự tham gia của những hệ enzyme đặc biệt - đó là phản ứng oxy hóa khử sinh học.

Các quá trình oxy hóa khử sinh học thuộc loại các phản ứng dị hóa không những chỉ là nguồn năng lượng quan trọng dùng để thực hiện các phản ứng tổng hợp khác nhau, mà còn là nguồn cung cấp các hợp chất trung gian làm nguyên liệu cho các phản ứng tổng hợp và đóng vai trò hết sức quan trọng trong việc liên hợp các quá trình trao đổi chất.

**** Sự khác nhau giữa oxy hóa khử sinh học và oxy hóa khử thông thường:***

- Sự oxy hóa sinh học không phải là phản ứng phát nhiệt một giai đoạn như sự cháy mà là một chuỗi phản ứng - trong đó, năng lượng được giải phóng ra một phần dưới dạng nhiệt, còn phần lớn được tích lũy dưới dạng liên kết cao năng.

- Quá trình oxy hóa sinh học luôn có enzyme xúc tác.

- Khi đốt cháy các chất hữu cơ ở ngoài cơ thể, năng lượng giải thoát ra nhờ sự oxy hóa carbon đến CO_2 . Trong lúc đó, phản ứng oxy hóa từng bậc hydro đến H_2O xảy ra trong quá trình oxy hóa sinh học ở cơ thể lại là phản ứng cung cấp năng lượng. Phản ứng oxy hóa này ở điều kiện thường là phản ứng nổ.

3.1.2.2. Thế oxy hóa khử

Sự chuyển dịch điện tử có thể thực hiện được khi trong tế bào cơ chất có khả năng thu nhận điện tử, nghĩa là có ái lực đối với điện tử. Trong phản ứng oxy hóa khử, các chất tham gia phản ứng có ái lực đối với điện tử khác nhau. Chất nào có ái lực đối với điện tử lớn hơn thì chất đó là chất nhận.

Người ta đo ái lực đối với điện tử cho từng chất trong mạch điện thế kể với điện cực chuẩn hydro có điện thế bằng không. Đại lượng này phản ánh khả năng thu hay nhường điện tử, tức là khả năng oxy hóa khử của chất và được gọi là thế oxy hóa khử.

Thế oxy hóa khử có thể tính được theo phương trình sau:

$$E = E_o + \frac{RT}{nF} \ln \frac{[\text{dạng oxy hóa}]}{[\text{dạng khử}]}$$

Trong đó:

- **E** : Thế oxy hóa khử của một chất nhất định trong những điều kiện xác định
- **E_o**: Thế oxy hóa khử ở các điều kiện tiêu chuẩn (nồng độ của hai dạng bằng nhau)
- **R** : Hằng số khí (1,98 calo/ mol. °C)
- **T** : Nhiệt độ tuyệt đối
- **n** : Số điện tử được di chuyển
- **F** : Số Faraday (95.500 culong/ptg hay 23,066 Kcalo/mol)

Thế oxy hóa khử còn có thể dùng để tính năng lượng tự do được giải phóng ra trong quá trình oxy hóa khử bằng phương trình sau:

$$\Delta G = nF \cdot \Delta E$$

Trong đó: **ΔG** : Năng lượng tự do

ΔE : Hiệu thế oxy hóa khử của hai hệ

3.1.3. Năng lượng hoạt hoá

Đối với bất kỳ một phản ứng hóa học nào, thậm chí đối với phản ứng tỏa nhiệt với ΔG âm cũng có hàng rào năng lượng phải vượt qua trước khi phản ứng bắt đầu. Hàng rào năng lượng ấy gọi là năng lượng hoạt hóa.

Để làm tăng tốc độ phản ứng cần phải làm tăng năng lượng của phân lớn số phân tử trong quần thể để vượt qua hàng rào năng lượng. Năng lượng hoạt hóa càng cao, phản ứng càng khó thực hiện (tốc độ phản ứng càng nhỏ), ngược lại năng lượng hoạt hóa nhỏ, phản ứng dễ thực hiện (tốc độ phản ứng lớn). Các chất xúc tác có tác dụng làm tăng vận tốc phản ứng, như vậy chất xúc tác bằng con đường nào đó làm giảm năng lượng hoạt hóa của phản ứng. Chất xúc tác thực hiện được điều ấy bằng cách tạo thành phức hợp trung gian không bền vững với cơ chất, gây những biến đổi trong nội phân tử cơ chất làm cho cơ chất dễ dàng tham gia vào phản ứng và sau đó phức hợp ấy phân hủy thành sản phẩm của phản ứng và giải phóng chất xúc tác tự do

3.1.4. Enzyme

3.1.4.1. Đại cương về enzyme

Enzyme là hợp chất protein có khả năng xúc tác đặc hiệu các phản ứng hóa học. Chúng có trong tất cả các tế bào của động thực vật và vi sinh vật, và thường được gọi là chất xúc tác sinh học.

3.1.4.2. Bản chất của enzyme

Bản chất hóa học của enzyme là protein hay nói cách khác enzyme là những protein đặc hiệu làm nhiệm vụ xúc tác các phản ứng hóa sinh học trong cơ thể sống.

1, - *Enzyme có đầy đủ mọi tính chất của protein:*

- Tính tan: Đa số tan trong H_2O , dung dịch muối lỏng,
- Không bền đối với tác dụng của nhiệt độ,
- Mất khả năng hoạt động nếu protein bị biến tính dưới tác dụng lý, hóa khác nhau,
- Tính lưỡng tính - có thể phân tách bằng phương pháp điện di.

2,- **Cấu trúc:** Dựa vào cấu tạo phân tử enzyme người ta chia enzyme thành 2 nhóm:

- Enzyme một cấu tử là những enzyme mà trong phân tử chỉ chứa protein.
- Enzyme hai cấu tử: Là những enzyme mà ngoài protein, trong phân tử còn có chứa một nhóm ngoại không có bản chất của protein. Phần protein được gọi là *Apoenzyme* còn phần không phải protein được gọi là *Coenzyme* hay còn gọi là nhóm ngoại. Trong phân tử enzyme, phần protein và phần Coenzyme được liên kết chặt chẽ với nhau - Ví dụ: Enzyme 1 cấu tử như Pepxin, Amilaza, Ureaza, ...

Đối với các enzyme 2 cấu tử thì coenzyme trực tiếp tham gia phản ứng xúc tác, giữ vai trò quyết định kiểu phản ứng mà enzyme xúc tác còn apoenzyme có tác dụng nâng cao lực xúc tác của coenzyme và quyết định tính đặc hiệu của enzyme - Ví dụ enzyme 2 cấu tử như: Catalase, Peroxydase (2 enzyme này có nhóm ngoại giống nhau - nhân Hem.Fe) nhưng phần apoenzyme khác nhau nên xúc tác 2 phản ứng hóa học khác nhau:



Trong nhóm enzyme 2 cấu tử, nhiều enzyme có coenzyme là những vitamin:

- Coenzyme của aminotransferase là vitamin B₆
- Dehydrogenase hiếu khí chứa vitamin B₂

- Dehydrogenase kỵ khí chứa vitamin PP

3,- *Cấu trúc trung tâm hoạt động của enzyme:*

Trong quá trình xúc tác của enzyme có giai đoạn tạo thành phức enzyme cơ chất.

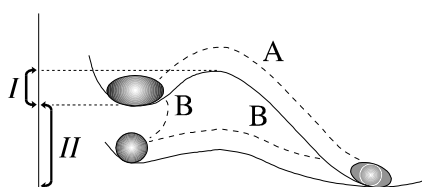
Sự kết hợp đặc hiệu giữa enzyme và cơ chất chỉ xảy ra trên một phần xác định của phân tử enzyme. Phần của enzyme tham gia trực tiếp vào phản ứng để kết hợp vào cơ chất được gọi là trung tâm hoạt động của enzyme.

- Ở các enzyme 1 cấu tử, trung tâm hoạt động của enzyme do 1 số nhóm chức của axit amin trong thành phần phân tử của enzyme phối hợp tạo thành (thông qua các cấu trúc bậc 2, 3, 4 mà các nhóm chức có điều kiện nằm kề nhau), các nhóm đó như : $-OH$, $-SH$, $-COOH$, $\epsilon-NH_2$, ...
- Ở các enzyme 2 cấu tử, ngoài phần mạch polypeptit thực hiện nhiệm vụ kết hợp, đặc biệt tham gia vào việc tạo thành trung tâm hoạt động, còn có các nhóm chức của coenzyme hoặc nhóm ngoại của phân tử enzyme.
- Ở một số enzyme, trong phân tử có thể chứa 2 hoặc nhiều trung tâm hoạt động - Ví dụ: Alcoldehydrogenase của nấm men có 4, của gan có 2 (tthđ).
- Giữa các nhóm chức tham gia tạo thành tâm hoạt động của enzyme thường phân biệt các nhóm của "tâm xúc tác" tham gia trực tiếp vào hoạt động xúc tác của enzyme và các nhóm của "miền tiếp xúc" làm nhiệm vụ đảm bảo tính đặc hiệu của enzyme, nghĩa là sự kết hợp đặc hiệu để tạo thành phức E-S. Sự phân biệt này chỉ là tương đối vì lúc nào cũng có tác dụng tương hỗ.
- Ngoài ra, ở một số enzyme còn có "*tâm dị không gian*"- là phần của enzyme, khi kết hợp với các chất có phân tử nhỏ nào đó thì cấu trúc bậc 3 của toàn bộ phân tử enzyme sẽ bị biến đổi dẫn đến làm biến đổi cấu trúc của tâm hoạt động, do đó kèm theo sự biến đổi hoạt tính của enzyme.
- Ở một số loại enzyme còn tồn tại dưới dạng *tiền enzyme* (dạng không hoạt động được) gọi là các Zimogen, ví dụ: *Pepxinogen*, *Tripxinnogen*, *Kimo tripxinogen*, ...

Để chuyển chúng sang dạng hoạt động, phải qua quá trình hoạt hóa: quá trình này thường xảy ra sự đứt một số liên kết peptit trong phân tử zimogen. Loại bỏ đi đoạn peptit có tác dụng kìm hãm hoặc bao vây các nhóm hoạt động của enzyme - khi cắt bỏ đoạn peptit kìm hãm đi dẫn đến sự sắp xếp lại nội tại phân tử, hình thành trung tâm hoạt động.

3.1.4.3. Cường lực xúc tác của enzyme

Tốc độ của một phản ứng hóa học được xác định bởi giá trị của năng lượng hóa học (năng lượng dư thừa) mà các phản ứng phải có trên mức độ năng lượng tế bào của các phân tử để có thể phá vỡ các liên kết có trong chúng và sau đó có thể xuất hiện các loại mới. Năng lượng hóa học của phản ứng nào đó càng lớn, tốc độ của phản ứng sẽ càng nhỏ và ngược lại năng lượng hóa học càng nhỏ, tốc độ phản ứng hóa học sẽ càng lớn - như vậy, chất xúc tác bằng con đường nào đó làm giảm năng lượng hóa học của phản ứng hóa học. Để có thể hình dung được cụ thể về sự sai khác của năng lượng giữa năng lượng tự do ở đầu và cuối phản ứng, chúng ta so sánh với thế năng của một vật nặng bất kỳ nào đó: nếu vật nặng này nằm ở sườn núi trong các hồ thì lúc đầu phải nâng nó lên tới miệng hồ để rồi sau đó khi lăn xuống thấp nó sẽ chuyển vào một hồ khác đạt tới trạng thái ổn định.



I - Năng lượng hoạt hóa

II - Sự thay đổi năng lượng tự do

A - Phản ứng không có xúc tác

B - Phản ứng có xúc tác

- Chất xúc tác có tác dụng hạ thấp năng lượng hóa học → làm tăng vận tốc phản ứng (các chất xúc tác không ảnh hưởng đến trạng thái cân bằng của phản ứng).
- Trong các phản ứng sinh học thì enzyme là những chất xúc tác. So với các chất xúc tác vô cơ thì enzyme có cường lực xúc tác mạnh hơn nhiều lần. Ví dụ như sự *thủy phân đường mía*:

Bằng ion H^+ thì năng lượng hoạt hóa là $25.600 \text{ kcal/phân tử}$

Bằng β -fructofuranolidase của nấm men : $9.400 \text{ kcal/phân tử}$

Bằng β -fructofuranolidase của đại mạch: $13.000 \text{ kcal/phân tử}$

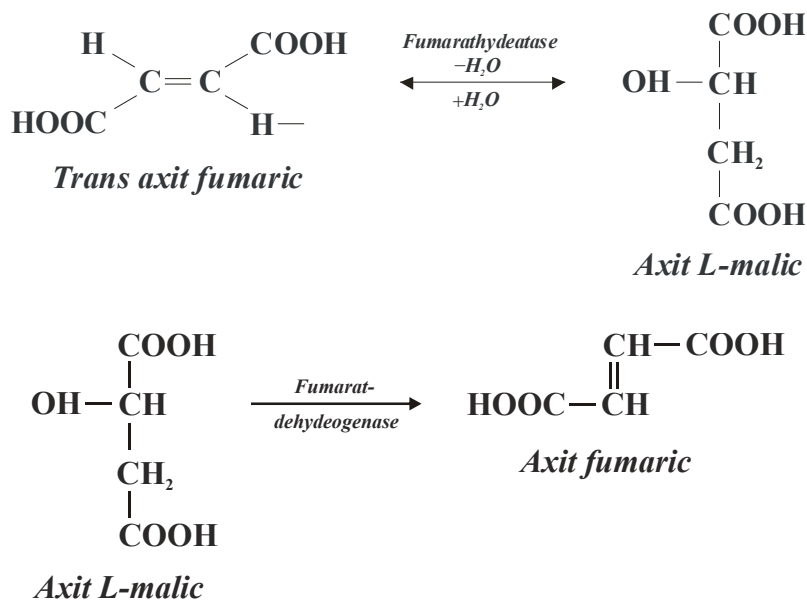
3.1.4.4. Tính tác dụng đặc hiệu của enzyme

Khác với chất xúc tác vô cơ, enzyme chỉ tác dụng lên một cơ chất và kiểu nối hóa học nhất định trong phân tử: tính chất đó được gọi là *tính đặc hiệu*.

Người ta phân biệt các dạng đặc hiệu sau:

1,- *Đặc hiệu quang học*

Enzyme chỉ có khả năng tác dụng lên một dạng đồng phân quang học nhất định (hoặc là dạng D hoặc là dạng L, có thể là dạng Cis hoặc dạng Trans, ...). Ví dụ:

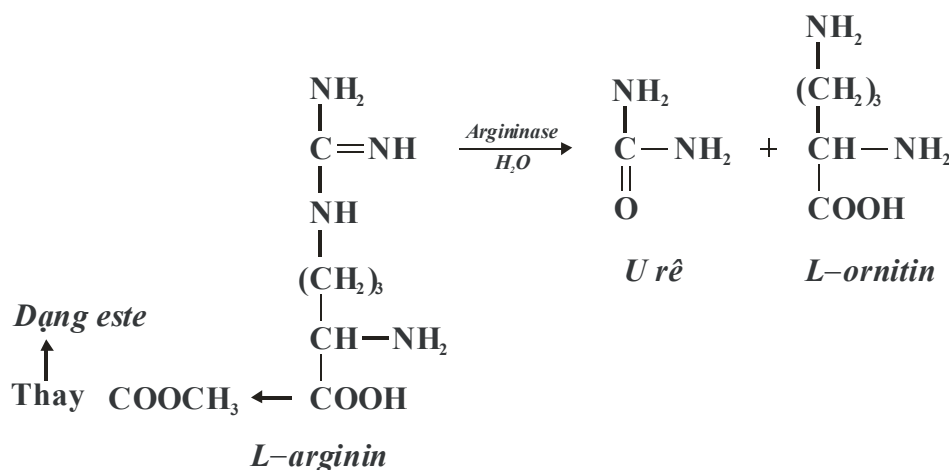


Enzyme này không tác dụng lên dạng D của axit malic - vì trung tâm hoạt động của enzyme có cấu trúc tương ứng với cơ chất dạng đồng phân L (tạo E-S).

Theo thuyết đa ái lực của Berman và Fruton trong cơ chế đặc hiệu quang học là E phải kết hợp với cơ chất ít nhất ở 3 điểm.

2,- Đặc hiệu tuyệt đối

Enzyme chỉ có khả năng tác dụng lên một cơ chất nhất định:



Trong trường hợp này thì cấu trúc trung tâm hoạt động của enzyme tương ứng chặt chẽ với cơ chất, nếu có một sự sai khác nhỏ nào đó thì cũng đủ làm cho enzyme không thể sai khác được.

Nếu ta thay đổi bất kỳ nhóm nào trong phân tử thì cũng đủ làm cho phân tử enzyme không hoạt động được như dạng este metylic của arginin.

3,- Đặc hiệu tương đối

Là trường hợp enzyme có khả năng tác dụng lên một *kiểu nối hóa học nhất định* mà không phụ thuộc vào bản chất hóa học của các cấu tử tham gia tạo thành mối liên kết đó.

Ví dụ: **lipase** → *thủy phân tất cả các liên kết este*
 aminopeptidase → *thủy phân nhiều liên kết peptit*

4,- Đặc hiệu nhóm

Enzyme có khả năng tác dụng lên một kiểu nối hóa học nhất định với điều kiện một trong hai cấu tử tham gia tạo thành liên kết phải có cấu tạo xác định.

Ví dụ: Enzyme protease cắt đầu hoặc cuối chuỗi protit:

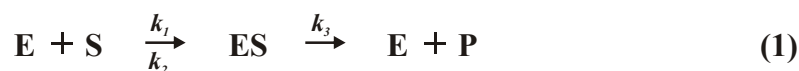


3.1.4.5. Các yếu tố ảnh hưởng đến hoạt tính của enzyme

1,- Ảnh hưởng của nồng độ cơ chất

Nếu làm thay đổi nồng độ của cơ chất và xác định xem điều đó ảnh hưởng thế nào tới tốc độ của phản ứng enzyme thì nói chung sẽ thấy rằng, với một lượng E không đổi, ở pH không đổi, lực ion không đổi, để đạt được tốc độ ban đầu cực đại cần phải có một lượng tương đối lớn cơ chất. Đối với nhiều enzyme, nồng độ nâng cao hơn so với nồng độ của các chất nhất định của cơ thể. Tình trạng này rất quan trọng vì nó chứng tỏ rằng: Enzyme trong điều kiện của cơ thể thường tác dụng ít hiệu quả hơn so với trường hợp có những điều kiện nhân tạo, ở đó, enzyme được bão hòa bởi một lượng cơ chất lớn.

Sự phụ thuộc giữa tốc độ của phản ứng enzyme và nồng độ của cơ chất được giải thích như thuyết của *Michaelis* và *Menten*:



Trong đó:

$k_1 \rightarrow$ hằng số vận tốc của phản ứng tạo phức " ES "

$k_2 \rightarrow$ hằng số vận tốc của phản ứng phân ly phức " ES "

$k_3 \rightarrow$ hằng số vận tốc của phản ứng phân ly phức " ES " để tạo thành sản phẩm

Gọi: v_1 là vận tốc của phản ứng tạo thành phức " ES ",

v_2 là vận tốc của phản ứng phân ly phức " ES ",

v_3 là vận tốc của phản ứng phân ly tạo thành sản phẩm,

Ta có: $v_1 = k_1 [E] [S]$

$v_2 = k_2 [ES]$

$v_3 = k_3 [ES]$

Khi hệ đạt tới trạng thái cân bằng, nghĩa là sự phân ly của phức " ES " theo phản ứng (3) và (2) cân bằng với sự tạo thành phức chất đó theo phản ứng (1), ta có:

$$k_2 [ES] + k_3 [ES] = k_1 [E] [S] \quad (2)$$

$$\rightarrow [ES] (k_2 + k_3) = k_1 [E] [S]$$

Gọi nồng độ của enzyme khi bắt đầu phản ứng là E_o , ta có:

$$[E_o] = [E] + [ES] \quad (3)$$

$$[E] = [E_o] - [ES]$$

Thay E của phương trình (3) vào phương trình (2), ta có:

$$[ES] (k_2 + k_3) = k_1 ([E_o] - [ES]) [S]$$

$$[ES] = \frac{k_1 [E_o] [S]}{k_2 + k_3 + k_1 [S]} \rightarrow \text{đặt: } \frac{k_2 + k_3}{k_1} = k_m, \text{ ta có:}$$

$$\frac{1}{[ES]} = \frac{k_2 + k_3 + k_1 [S]}{k_1 [E_o] [S]} = \frac{k_m}{[E_o] [S]} + \frac{1}{[E_o]}$$

$$[ES] = \frac{[E_o] [S]}{k_m + [S]}$$

Mặt khác, vận tốc của phản ứng enzyme tính theo sự tạo thành sản phẩm, ta có:

$$v = k_3 [E S] \quad \text{và} \quad v = k_3 \times \frac{[E_0 S]}{k_m + [S]} \quad (4)$$

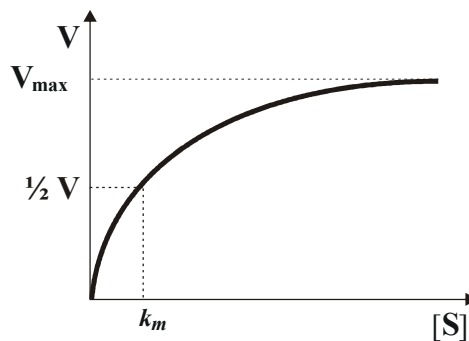
Nồng độ của phản ứng càng cao kém nồng độ của ES càng lớn và độ lớn cực đại sẽ bằng nồng độ của enzyme ban đầu là E_0 :

$$v_{\max} = k_2 [E_0] \quad (5)$$

Thay (5) vào (4) ta có:

$$v = \frac{v_{\max} [S]}{k_m + [S]} \quad (6)$$

Phương trình (6) biểu diễn sự phụ thuộc của vận tốc phản ứng E vào nồng độ của cơ chất \rightarrow Đường biểu diễn có dạng hyperbol:



- k_m : gọi là hằng số Michalic và đặc trưng cho mỗi enzyme, nó đặc trưng cho ái lực của enzyme với cơ chất
- k_m có trị càng nhỏ thì ái lực của enzyme đối với cơ chất càng lớn, nghĩa là vận tốc của phản ứng enzyme càng lớn

Từ phương trình (6), ta thấy khi: $v = \frac{v_{\max}}{2}$ thì $k_m = [S]$

Vậy hằng số Michalis có trị số bằng nồng độ của cơ chất khi vận tốc phản ứng bằng một nửa vận tốc cực đại.

* k_m : không phụ thuộc vào nồng độ E

Ý nghĩa của hằng số Michalis là:

- Đánh giá đặc điểm của E,

- Cho phép tính được tác dụng của E trong những trường hợp khi ta không thể xác lập được bằng phương pháp thực nghiệm.

Giả thiết của Michaelis-Menten:

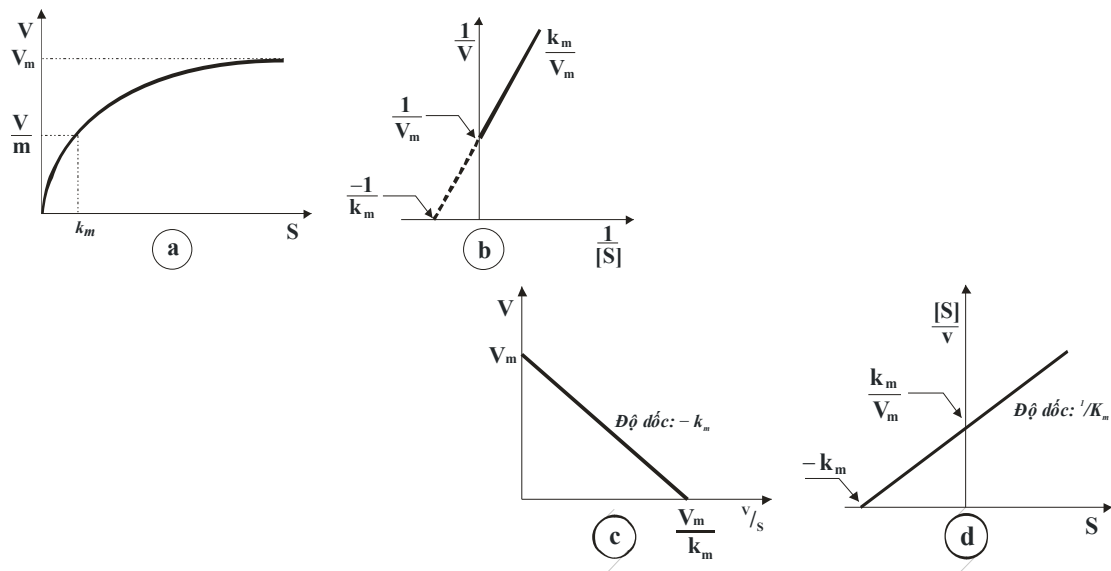
- Nếu $k_2 \gg k_3$ thì $k_m = k_2 / k_1$
- Khi $[E] + [S]$ và $[ES]$ ở trạng thái cân bằng - thì sự tạo thành sản phẩm sẽ ít và giá trị k_m sẽ tỷ lệ nghịch với ái lực của enzyme với cơ chất - Nghĩa là k_m càng nhỏ thì ái lực của enzyme với cơ chất càng lớn.
- Nếu $k_2 \ll k_3$ - thì giả thiết của Michaelis-Menten không đúng nữa và k_m không còn tỷ lệ với ái lực của enzyme với cơ chất nữa - Mà lúc này, phải coi k_m như một số và bằng nồng độ của cơ chất khi vận tốc phản ứng bằng $V_{\max} / 2$ trong điều kiện thí nghiệm xác định.

Phương trình Michaelis-Menten cũng có thể viết dưới dạng phương trình đường thẳng:

$$\frac{1}{V} = \frac{k_m}{V_{\max}} \times \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{\max}}$$

*** Cách biểu diễn đồ thị**

Có một số cách biểu diễn đồ thị phụ thuộc của vận tốc phản ứng enzyme vào nồng độ của cơ chất:



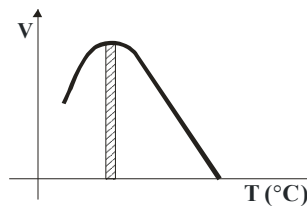
- Hình 2-1-a: Theo Michaelis-Menten - dưới dạng sự phụ thuộc của vận tốc phản ứng vào nồng độ cơ chất
- Hình 2-1-b: Theo Lineweaver và Burk - dưới dạng đường thẳng
- Hình 2-1-c: Theo Eadie - dưới dạng đường thẳng: $V = f(v/s)$
- Hình 2-1-d: Theo Dixon - dưới dạng đường thẳng: $s/v = f(s)$

2,- Ảnh hưởng của nhiệt độ

Cũng như các phản ứng hóa học, thường vận tốc của phản ứng tăng khi tăng nhiệt độ. Tuy nhiên, do enzyme có bản chất protein nên nó không bền đối với tác dụng của nhiệt, đa số enzyme bị mất khả năng hoạt động ở nhiệt độ trên 70°C .

Trong trường hợp phản ứng enzyme, khi tăng nhiệt độ: một mặt, vận tốc phản ứng tăng theo quy luật thông thường; mặt khác, tăng nhiệt độ tới một mức nào đó cũng đồng thời có tác dụng ngược lại, làm giảm vận tốc phản ứng do sự biến tính của enzyme do nhiệt độ gây ra.

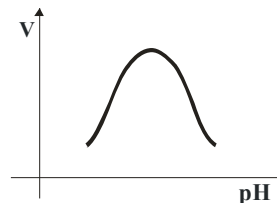
Đường biểu diễn sự phụ thuộc của vận tốc phản ứng và nhiệt độ như sau:



Nhiệt độ tối thích của các enzyme không giống nhau nhưng đa số nằm trong khoảng $35^{\circ}\text{C} \div 60^{\circ}\text{C}$ (động vật là $35 \div 50^{\circ}\text{C}$, thực vật là $45 \div 60^{\circ}\text{C}$).

* Nhiệt độ tối thích của mỗi enzyme không phải là một hằng số mà phụ thuộc vào nhiều yếu tố khác, đặc biệt là thời gian tác dụng. Thời gian tác dụng càng dài, nhiệt độ tối thích của enzyme càng thấp. Ngoài ra, nồng độ enzyme, nồng độ cơ chất, dạng tồn tại của enzyme cũng ảnh hưởng đến nhiệt độ tối thích của enzyme.

3,- Ảnh hưởng của pH




Mỗi enzyme chỉ hoạt động mạnh nhất ở một vùng pH xác định gọi là pH tối thích (pH optimum). Hình trên là đường biểu diễn ảnh hưởng của pH đến hoạt động của enzyme.

Cũng như nhiệt độ, pH tối thích của mỗi enzyme không cố định, có thể thay đổi tùy theo tính chất và nồng độ của cơ chất.

Khi thay đổi pH \rightarrow thay đổi trạng thái ion hóa của các nhóm chức trong trung tâm hoạt động và đồng thời nó cũng làm thay đổi trạng thái ion hóa của cơ chất và vì vậy, làm thay đổi hoạt động của enzyme.

Vì các nhóm chức của trung tâm hoạt động của enzyme chỉ có thể hoàn thành chức năng xúc tác khi ở trạng thái ion hóa thích hợp nhất định nên bằng cách xác định hằng số ion hóa của các nhóm đó có thể nhận biết được sự có mặt của nhóm này hoặc nhóm khác trong trung tâm hoạt động của enzyme.

Ví dụ:

pepxin		cơ chất là casein	→ pH opitimum = 1,8
		cơ chất là hemoglobin	→ pH opitimum = 2,2

Thông qua nghiên cứu sự phụ thuộc của vận tốc phản ứng enzyme và pH môi trường, có thể xác định được nhóm chức nào của phân tử enzyme đã tham gia quá trình xúc tác.

4.- Ảnh hưởng của các chất hoạt hoá

Chất hoạt hóa là những chất có tác dụng làm cho enzyme từ trạng thái không hoạt động trở thành hoạt động hoặc từ trạng thái hoạt động yếu trở thành hoạt động mạnh hơn.

Chất hoạt hóa có bản chất rất khác nhau, có thể là:

- Các chất hữu cơ phức tạp làm nhiệm vụ vận chuyển một nhóm nào đó trong quá trình phản ứng, ví dụ: NAD, NADP (chuyển H_2).
- Những chất có khả năng phá vỡ một số liên kết trong phân tử tiền enzyme (zimogen) \rightarrow loại bỏ một số liên kết \rightarrow phá vỡ bị bao vây của các nhóm hoạt động trong trung tâm hoạt động của enzyme \rightarrow trở lại dạng hoạt động.
- Các chất có tác dụng làm phục hồi những nhóm chức hoạt động của trung tâm hoạt động của enzyme.

Ví dụ: Trung tâm hoạt động của enzyme papain có chứa nhóm $-SH$:

Dưới tác dụng của nhóm oxy hóa, nhóm $-SH$ sẽ chuyển thành $-S-S-$.

→ Enzyme mất khả năng hoạt động. Nếu thêm vào môi trường các chất hoạt hóa có tính khử, nhóm $-SH$ được phục hồi và enzyme sẽ hoạt động trở lại.

5.- Ảnh hưởng của các chất kìm hãm

Chất kìm hãm là chất có khả năng làm yếu hoặc làm chấm dứt hoàn toàn tác dụng của enzyme.

Các chất kìm hãm có bản chất hóa học khác nhau có thể là các ion kim loại, các anion, các hợp chất hữu cơ phân tử nhỏ hoặc là protein.

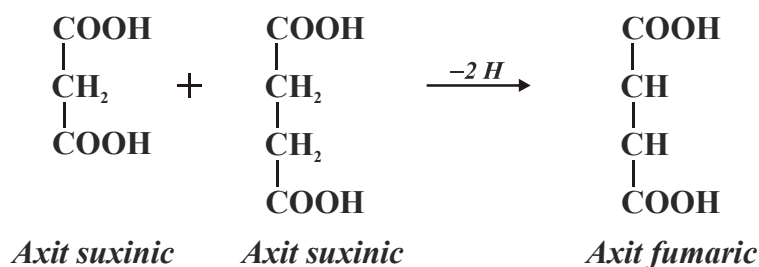
Chất kìm hãm có thể phản ứng thuận nghịch (kìm hãm thuận nghịch) hoặc không thuận nghịch (kìm hãm không thuận nghịch) với enzyme.

Thường phân biệt 2 loại kìm hãm thuận nghịch là kìm hãm thuận nghịch cạnh tranh và thuận nghịch không cạnh tranh.

a, - Kìm hãm thuận nghịch cạnh tranh

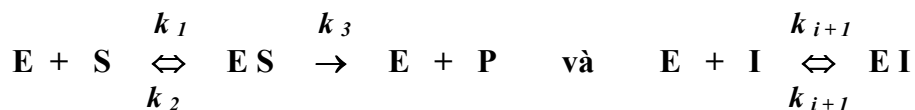
Xảy ra khi enzyme thiếu tính đặc hiệu tuyệt đối. Trong trường hợp này, chất kim loại có cấu tạo rất giống cấu tạo của cơ chất. Nó kết hợp với phân tử enzyme cũng tại trung tâm hoạt động mà enzyme dùng để kết hợp tới cơ chất.

Ví dụ: Axit malonic là chất kìm hãm cạnh tranh của enzyme succinat dehydrogenase, là enzyme xúc tác quá trình oxy hóa axit succinic thành axit fumaric, nó có cấu tạo gần giống cấu tạo của axit succinic:



Đối với trường hợp trong phản ứng có mặt của các chất kìm hãm, việc tính toán vận tốc phản ứng enzyme phức tạp hơn nhiều.

Chất kìm hãm và cơ chất cũng có khả năng kết hợp với trung tâm hoạt động - ta có 2 phương trình:



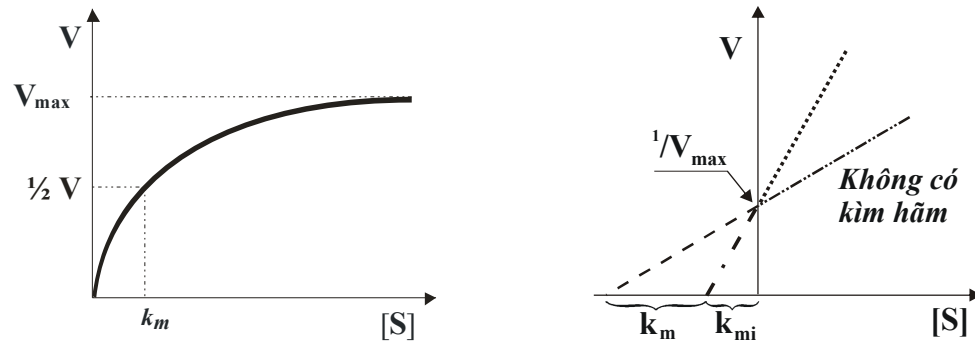
Bằng cách tính toán như phần trước người ta rút ra:

$$V_i = \frac{V_{\max} \times [S]}{k_m (1 + [I]/k_i) + [S]}$$

→ Viết dưới dạng phương trình đường thẳng:

$$\frac{1}{V_i} = \frac{k_m}{V_{\max}} \times \frac{1}{[S]} \times \left(1 + \frac{[I]}{k_i}\right) + \frac{1}{V_{\max} [I]}$$

Như vậy khi có chất kìm hãm cạnh tranh, giá trị của K_m tăng lên $\left(1 + \frac{[I]}{k_i}\right)$ lần, có nghĩa là khi đó, ái lực giữa enzyme và cơ chất giảm, kết quả vận tốc của phản ứng enzyme giảm. Đường biểu diễn vận tốc:

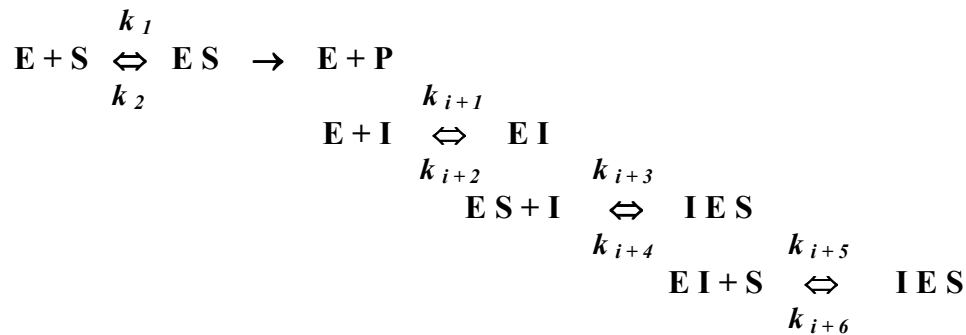


$$V_{\max} = V_{i \max}$$

$$\frac{V_0}{V_i} = 1 + \frac{k_m / k_{mi}}{k_m + [S]} \times [I]$$

b,- Trong trường hợp kìm hãm không cạnh tranh

Trong trường hợp này, chất kìm hãm có thể gắn cả vào enzyme tự do cũng như vào phức hợp enzyme - cơ chất theo phản ứng sau:



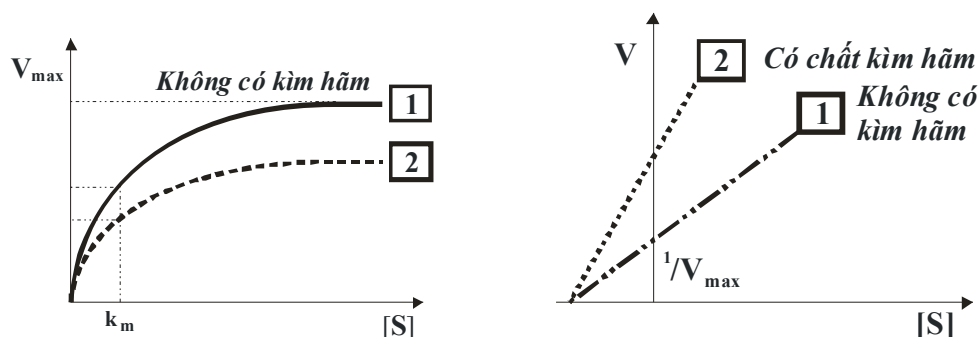
Giả thiết rằng k_{+3} rất nhỏ so với k_{+1} và k_{+2} , phức "E S" không tạo thành sản phẩm \rightarrow bằng cách tính toán, người ta rút ra:

$$V_i = \frac{V_{\max} [S]}{(k_m + [S]) (1 + [I] / k_i)}$$

Cũng có thể viết ra dưới dạng đường thẳng:

$$\frac{1}{V_i} = \frac{k_m}{V_{\max}} \times \frac{1}{[S]} \left(1 + \frac{[I]}{k_i}\right) + \frac{1}{V_{\max}} \left(1 + \frac{[I]}{k_i}\right)$$

Đồ thị biểu diễn trong trường hợp này có dạng:



So sánh vận tốc khi không có chất kìm hãm với vận tốc phản ứng khi có chất kìm hãm, ta có:

<i>Kìm hãm cạnh tranh</i>	<i>Kìm hãm không cạnh tranh</i>
$\frac{V_o}{V_i} = 1 + \frac{k_m / k_i}{k_m + [S]}$	$\frac{V_o}{V_i} = 1 + \frac{[I]}{k_i}$
→ Sự biến đổi hoạt tính phụ thuộc vào nồng độ cơ chất và nồng độ chất kìm hãm	→ Không phụ thuộc vào nồng độ cơ chất và phụ thuộc vào nồng độ chất kìm hãm

3.2. HÔ HẤP TẾ BÀO

3.2.1. Đại cương về hô hấp tế bào

Hô hấp tế bào là một tập hợp những quá trình xảy ra trong từng tế bào do enzyme xúc tác, kết quả của những quá trình ấy là các phân tử glucit, axit béo và axit amin cuối cùng bị phân hủy đến khí cacbonic và nước, còn năng lượng sinh học giải phóng ra một phần được sử dụng cho các hoạt động sống của tế bào, phần còn lại được tế bào tích lũy lại dưới dạng các liên kết cao năng.

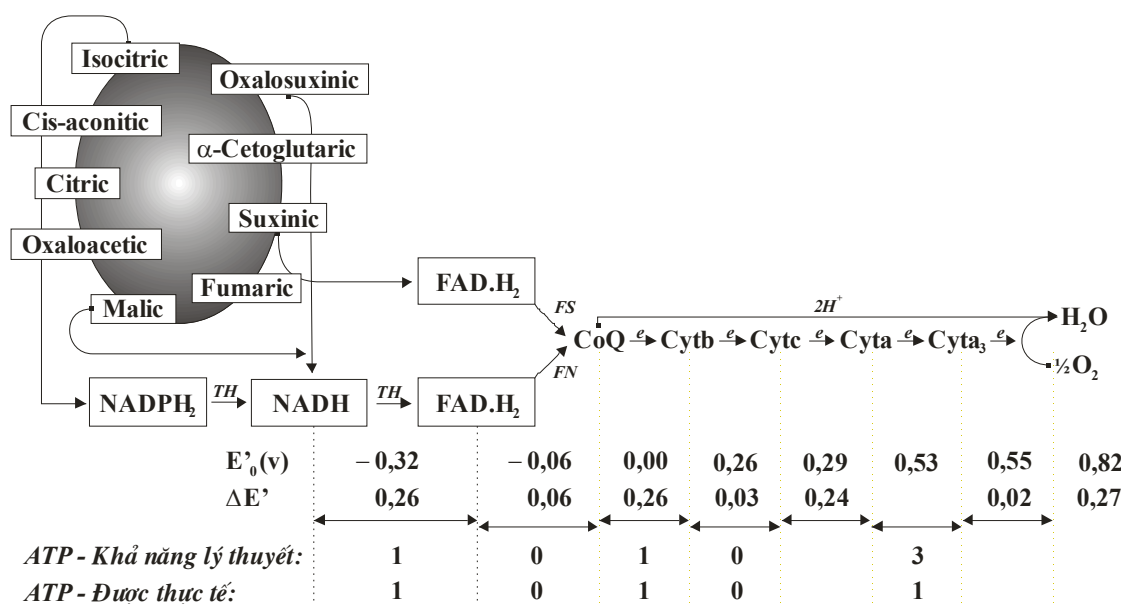
Tất cả các hoạt động sống: vận động, cảm ứng, sinh trưởng, sinh sản vv... đều cần đến năng lượng. Năng lượng cần thiết đó tế bào lấy từ các liên kết phosphat cao năng trong phân tử ATP (các liên kết ấy có năng lượng tự do thủy phân tương đối cao). Quá trình hô hấp tế bào hay quá trình phân giải các hợp chất hữu cơ trong tế bào có thể tóm tắt như sau:

- Ở cơ thể động vật và vi sinh vật glucit, lipid, protein bị phân giải thành các cấu tử hợp phần dưới tác dụng của các hệ enzyme nội và ngoại bào. Tiếp đó các đơn cấu tử được thẩm vào tế bào nhờ các cơ chế đặc biệt. Các hợp phần của protein, glucit, lipid như glucose, axit amin và axit béo dưới tác dụng của các enzyme đặc hiệu đều tạo thành một sản phẩm chuyển hóa như nhau đó là axetylcoenzyme A.

- Acetylcoenzyme A được tiếp tục oxy hóa trong chu trình kín gọi là chu trình xitrat (chu trình Krebs hay chu trình axit xitric). Trong chu trình Krebs, acetylcoenzyme A bị oxy hóa hoàn toàn, giải phóng ra CO_2 còn các nguyên tử hydro giải phóng ra nằm trong các coenzyme khử NAD.H_2 , NADP.H_2 và coenzyme flavin khử.

- Sản phẩm cuối cùng thứ hai là H_2O được hình thành do sự oxy hóa các coenzyme khử trên. Sự oxy hóa này kèm theo sự giải phóng năng lượng và quá trình này xảy ra qua hệ chuyển vận điện tử và proton gọi là chuỗi hô hấp. Trong giai đoạn này xảy ra sự tổng hợp ATP hợp chất chứa liên kết cao năng. Quá trình giải phóng năng lượng trong giai đoạn này là do sự khử hóa hydro trong chuỗi hô hấp. Sản phẩm cuối cùng là H_2O .

Sơ đồ 3-1 minh họa chuỗi các phản ứng trao đổi chất, trong quá trình của các phản ứng đó điện tử được chuyển từ cơ chất đến oxy và năng lượng được tích lũy dưới dạng liên kết cao năng trong phân tử ATP.



Ghi chú: b, c, a, a3: Là những xitocrôm

Hình 3-1: Sơ đồ chuỗi các phản ứng trao đổi chất

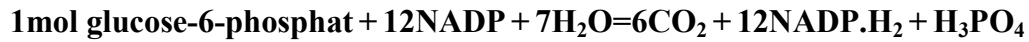
3.2.2. Glicolis - Chu trình đường phân

Glicolis là quá trình phân giải đường trong tế bào. Sự đường phân nằm trong quá trình dị hóa. Các phân tử đường, dưới tác dụng của các enzyme bị oxy hóa trong tế bào. Quá trình biến đổi này có sự tham gia của phân tử ATP đồng thời cũng có sự tổng hợp ATP.

Sự phân giải đường trong tế bào có thể theo con đường Pentoso-phosphat hay theo sơ đồ Embden-Meyerhof để tạo thành axit piruvic.

3.2.2.1. Sự oxy hóa trực tiếp glucose - Chu trình Pentosophosphat

Ở cơ thể sinh vật còn tồn tại một kiểu chuyển hóa glucose tới CO_2 và H_2O không theo sơ đồ Embden-Meyerhof và chu trình Krebs. Người ta gọi con đường này là kiểu phân giải Hexosomonophosphat, và chu trình qua đó xảy ra sự chuyển hóa gọi là chu trình Pentosophosphat. Sơ đồ rút gọn của chu trình này có thể biểu diễn như sau:



Trong quá trình biến đổi của chu trình này không có phản ứng nào tổng hợp trực tiếp ra phân tử ATP. Các phân tử ATP sẽ được tổng hợp nhờ sự chuyển hóa tiếp tục của NADP.H_2 qua chuỗi oxy hóa khử.

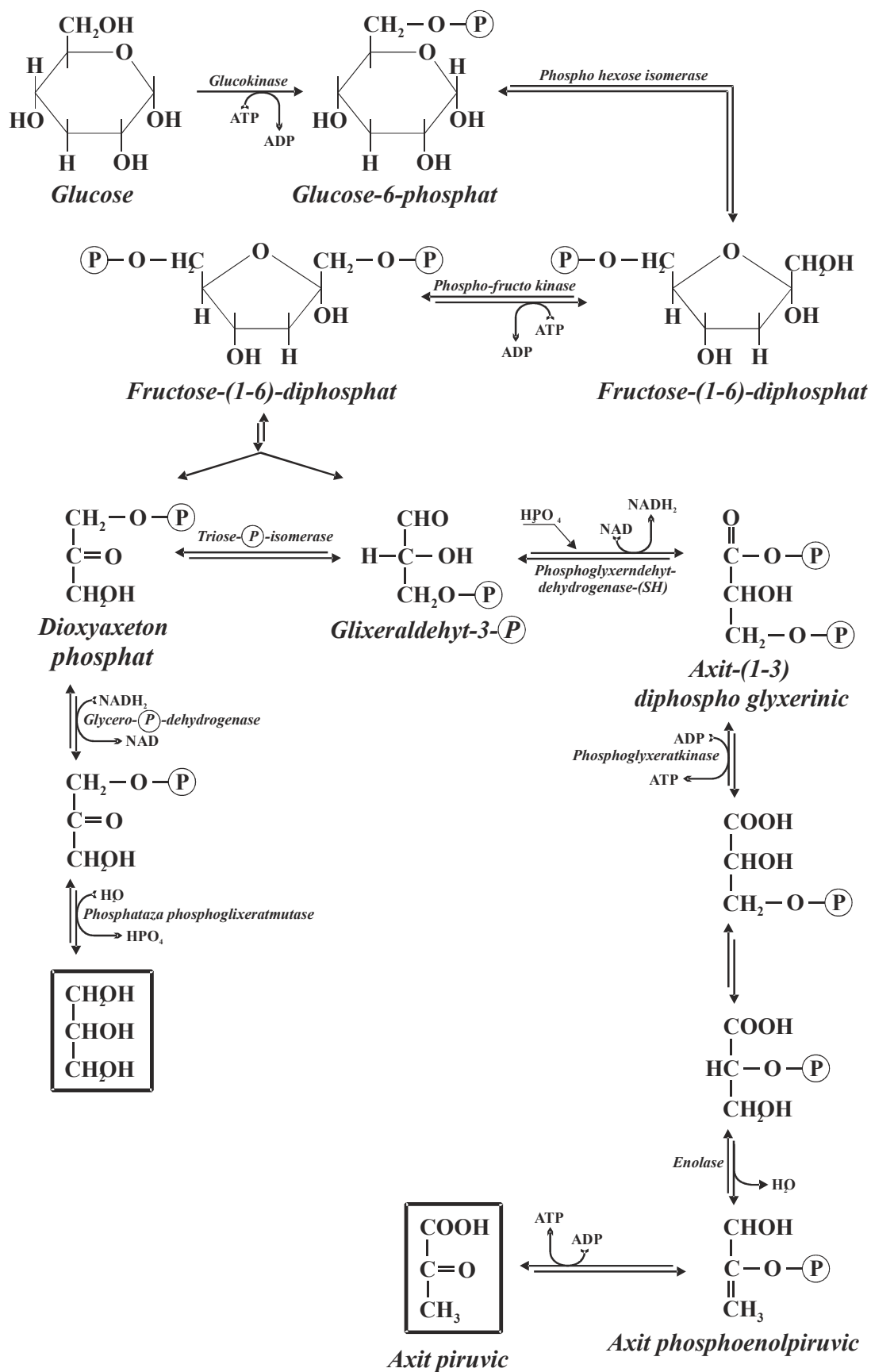
3.2.2.1. Sơ đồ Embden-Meyerhof - Quá trình chuyển hóa được biểu diễn trên sơ đồ 3-2.

Ta nhận thấy:

Cứ một phân tử NADP.H_2 chuyển hóa qua chuỗi oxy hóa khử sẽ tổng hợp được 3 phân tử ATP. Như vậy toàn bộ chu trình sẽ tổng hợp được 36 phân tử ATP.

Qua quá trình biến đổi ta thấy:

Từ một phân tử đường glucose sẽ tạo ra hai phân tử 3-phosphoglyxeraldehyd (phân tử thứ hai có được do sự chuyển hóa từ dioxyaxetophosphat), từ đó tạo thành hai phân tử axit piruvic. Trong quá trình biến đổi từ glucose đến axit piruvic hình thành 4 phân tử ATP, tuy nhiên hai trong số đó được sử dụng lại ngay trong quá trình đó. Như vậy cuối cùng còn lại hai phân tử ATP. Axit piruvic sau đó sẽ kết hợp với axetilcoenzyme-A tạo thành mạch hai carbon để đi vào chu trình Krebs.



Hình 3-2: Sơ đồ Embden-Meyerhof

3.2.3. Sự lên men

Sự lên men theo nghĩa rộng là quá trình trao đổi chất, qua đó các chất hữu cơ mà trước tiên là đường bị biến đổi dưới tác dụng của vi sinh vật. Về bản chất thì lên men chính là quá trình oxy hóa khử sinh học cung cấp năng lượng và các hợp chất trung gian - như hô hấp. Trong quá trình đó, các nguyên tử carbon của cơ chất bị khử đến CO_2 còn các nguyên tử hydro được chuyển cho các hợp chất trung gian và sau đó được đưa đến chất tiếp nhận cuối cùng.

Điểm khác nhau cơ bản giữa lên men và hô hấp ở chỗ chất tiếp nhận hydro cuối cùng. Chất tiếp nhận hydro cuối cùng trong quá trình lên men thường là một hợp chất hữu cơ, hợp chất hữu cơ này sau khi tiếp nhận hydro không thể tiếp tục chuyển hóa tiếp và nếu tích tụ lại trong tế bào với nồng độ cao sẽ ảnh hưởng xấu đến quá trình sống của chúng nên và sau đó khuếch tán ra ngoài môi trường và tích tụ lại trong môi trường. Chất tiếp nhận hydro cuối cùng của quá trình hô hấp là oxy. Như vậy sự lên men và hô hấp đều là những quá trình oxy hóa khử sinh học qua đó tế bào vi sinh vật thu được năng lượng.

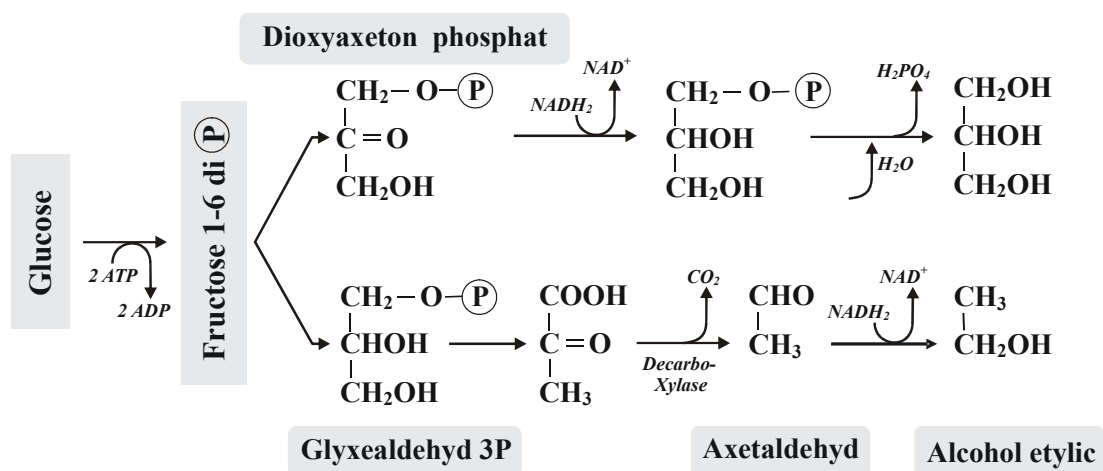
Sự lên men cũng như hô hấp quá trình biến đổi các hợp chất hữu cơ như đường, protein, lipid trong giai đoạn dị hóa là đặc biệt quan trọng. Các chu trình Embden-Meyerhof, chu trình Krebs, chu trình Pentosophosphat đóng vai trò quan trọng và là trung tâm của các quá trình lên men.

Ví dụ lên men rượu: Các phân tử đường dưới tác dụng của hệ enzyme trong tế bào vi sinh vật biến đổi theo chu trình Embden-Meyerhof cho đến aldehydphosphoglycerinic, sau đó quá trình biến đổi tiếp cho đến rượu. Trong quá trình đó có sự tạo thành sản phẩm phụ là glyxerin.

Như vậy aldehydphosphoglycerinic trong trường hợp này không chuyển thành axit piruvic như trong sơ đồ Embden-Meyerhof như chúng ta đã khảo sát trên đây. Điều đó xảy ra được là do hệ enzyme của chính vi sinh vật đóng vai trò quyết định trong quá trình lên men và trong những điều kiện xác định.

Quá trình đó được biểu diễn qua mô hình 3-3.

Vi sinh vật thường hay được sử dụng trong quá trình lên men rượu và sản xuất bia là *Sacharomyces cereviceae*. Nếu nuôi chúng trong điều kiện đầy đủ oxy thì sự tích tụ rượu trong môi trường là hầu như không đáng kể. Vì trong điều kiện đó, quá trình hô hấp xảy ra mạnh mẽ, vi sinh vật phát triển sinh khối mạnh. Khi nuôi chúng trong điều kiện yếm khí, không đủ oxy thì chúng sẽ kém hoặc không phát triển.



Hình 3-3: Sự chuyển hoá hoá học trong quá trình lên men rượu

Chương IV CƠ SỞ PHÂN TỬ CỦA DI TRUYỀN HỌC

Sự phát triển của di truyền học có một ý nghĩa quan trọng đối với việc nhận thức hiện tượng của sự sống, đối với tiến bộ của nông nghiệp và y học. Di truyền là ngành khoa học nghiên cứu tính di truyền và biến dị của cơ thể. Lịch sử di truyền học bắt đầu từ phát minh của G. Menden, qua thí nghiệm với đậu Hà lan, đã phát hiện và xây dựng nên những qui luật di truyền, đặt cơ sở cho lý thuyết gen. Ngày nay di truyền học đang chuyển sang thời kỳ phát triển mới, đã và đang bước vào thời kỳ nghiên cứu tổng hợp các vấn đề di truyền phân tử, di truyền tiến hóa và di truyền người.

Trong thế kỷ XX di truyền học phát triển gắn liền với sự chọn giống và được xem là cơ sở của việc chọn giống. Với việc nghiên cứu vấn đề về ưu thế lai, đột biến thực nghiệm, đa bội, ... di truyền học đã mở ra các triển vọng mới cho thực tiễn chọn lọc. Bắt đầu từ 1953, khi khám phá ra cấu trúc của ADN thì sự phát triển của di truyền sinh hóa, di truyền tiến hóa, di truyền người và nhiều ngành khác của di truyền được nâng lên một mức.

Cơ sở phân tử trong cấu trúc gen ở hầu hết mọi sinh vật là các phân tử ADN, còn ở một số các virus lại là các phân tử ARN. Sau đây chúng ta lần lượt nghiên cứu cụ thể cấu trúc và chức năng của ADN và ARN.

4.1. NUCLEOTIT VÀ AXIT NUCLEIC

Axit nucleic là những hợp chất cao phân tử, chúng tham gia vào các quá trình cơ bản của sự sống như sinh tổng hợp protein, sinh trưởng, sinh sản và di truyền, ... Axit nucleic được nhà bác học Đức F. Miescher tìm ra năm 1868 từ hạch tế bào. Đầu tiên chúng được gọi là Nuclein (nucleus - hạch), đến 1889 mới được gọi chính thức là axit nucleic. Trước khi đi sâu vào chức năng sinh học của axit nucleic, chúng ta hãy nghiên cứu thành phần và cấu trúc của chúng. Điều này rất quan trọng- vì các chức năng sinh học của chúng trước hết bắt nguồn từ thành phần hóa học và cấu trúc đặc biệt của chúng.

4.1.1. Thành phần hóa học của axit nucleic

Axit nucleic có chứa C, O, H, N, P. Điểm đặc trưng của nó là hàm lượng phospho (8÷10%) và hàm lượng nitơ (15÷16%) rất ổn định. Khi hủy phân hoàn toàn axit nucleic thì được:

- Các bazơ hữu cơ Purin (Adenin và Guanin) và Pirimidin (Cytosin, Uracil, Thymin),
- Đường Ribose và Desoxyribose (pentose),

- Axit Phosphoric,
- Tỷ lệ giữa bazơ nitơ : pentose : axit phosphoric là 1:1:1.

Chúng ta lần lượt khảo sát cấu tạo của các thành phần trên:

4.1.1.1. Công thức cấu tạo của các bazơ nitơ

- *Bazơ pirimidin*: là dẫn xuất của pirimidin. Trong thành phần của axit nucleic chứa chủ yếu là 3 bazơ pirimidin là: Cytosin, Uracil, Thymin - ngoài ra còn có 5-metylcytosin và 5-hydroxymetylcytosin với hàm lượng nhỏ và không phải bao giờ cũng có, vì thế chúng là những bazơ thứ yếu.
- *Bazơ purin*: là dẫn xuất của purin. Trong thành phần của axit nucleic chứa chủ yếu là 2 bazơ purin là: Adenin và Guanin - ngoài ra, người ta còn tìm thấy các bazơ purin thứ yếu là các dẫn xuất của adenin và guanin như: 1-metylادين, 1- metylguanin, 7- metylguanin, ...

4.1.1.2. Công thức cấu tạo của đường ribose và desoxyribose

Trong thành phần của axit nucleic có chứa hai đường pentose là D-ribose và D-desoxyribose chúng đều ở dưới dạng β -D-furanose. Dựa vào đặc điểm của cấu tử đường, người ta phân biệt ra hai loại axit nucleic là:

- Axit Desoxyribo Nucleic (ADN) - có chứa đường desoxyribose
- Axit Ribo Nucleic (ARN) - có chứa đường ribose

Khi nghiên cứu sản phẩm thủy phân của axit nucleic đã dẫn đến một kết luận rất quan trọng là:

- Thành phần của axit nucleic tách ra từ các nguồn khác nhau là khác nhau.
- Thành phần các bazơ pirimidin trong ADN và ARN khác nhau, ADN chứa Cytosin và Thymin, không bao giờ có Uracil; ngược lại, ARN chứa Cytosin và Uracil không khi nào có Thymin. Đối với các bazơ thứ yếu thì trong ARN nhiều hơn trong ADN.

4.1.2. Nucleotit

Trong axit nucleic, các hợp phần của chúng liên kết với nhau theo một qui luật nhất định. Đơn vị cơ bản để xây dựng nên phân tử axit nucleic gọi là *nucleotit*. Mỗi nucleotit là một hợp chất được cấu thành từ ba thành phần: 1 bazơ nitơ, một đường ribose hoặc desoxyribose và axit phosphoric liên hợp với nhau. Khi gốc axit phosphoric tách khỏi nucleotit, sẽ tạo ra một hợp chất đơn giản hơn gọi là *nucleozit*. Liên kết giữa đường và bazơ nitơ là liên kết

glucozit. Liên kết này được hình thành giữa N3 của bazơ pirimidin hay N9 của bazơ purin với C1 của đường. Tên gọi của nucleozit được cấu tạo như sau: Nucleozit có bazơ pirimidin thì mang tên gọi của bazơ đó với tận cùng là *-idin*, ví dụ:

- Cytosin kết hợp với ribose thì nucleozit gọi là *Cytidin*,
- Cytosin kết hợp với desoxyribose thì nucleozit sẽ được gọi là Desoxycytidin, tương tự có Uridin, Thymidin, Desoxythymidin, ...
- Nucleotit có bazơ purin thì cũng mang tên gọi của bazơ đó nhưng tận cùng bằng *-ozin*, ví dụ: Adenozin, Desoxyadenozin, Guanozin hay Desoxyguanozin.

Khi các nucleozit kết hợp thêm axit phosphoric sẽ tạo thành nucleotit. Axit phosphoric có thể kết hợp với nhóm $-OH$ của nguyên tử cacbon thứ 3 hay thứ 5 của pentose. Ví dụ ở Adenozin khi gốc axit phosphoric đính vào nguyên tử cacbon thứ 3 của ribose thì sẽ tạo ra Adenozin-3-phosphat, còn khi đính vào carbon thứ 5 của ribose sẽ tạo thành Adenozin-5-phosphat. Như vậy từ một nucleozit có thể tạo thành 2 loại nucleotit.

Nucleotit có vai trò vô cùng lớn đối với sự trao đổi chất của tế bào sống, vì:

- Chúng là những viên gạch để xây dựng nên phân tử axit nucleic,
- Chúng tham gia vào thành phần của một số enzyme quan trọng,
- Một số nucleotit là các chất tích lũy năng lượng cần thiết để thực hiện các quá trình hoạt động sống. Phần tiếp sau đây chúng ta sẽ xét một số các chất đơn giản chứa nucleotit có ý nghĩa quan trọng trong cơ thể sống.

4.1.3. Các chất đơn giản chứa nucleotit

4.1.3.1. Nicotinamid Adenin Dinucleotit (NAD)

Cấu trúc của NAD: NAD thành phần của các enzyme hoạt hóa hydro (dehydrogenase piridin). NAD là coenzyme của các enzyme dehydrogenase piridin. Nhóm enzyme dehydrogenase xúc tác phản ứng oxy hóa khử, các enzyme này tách proton hay electron từ các cơ chất (chất cho hay chất khử) và chuyển chúng cho các chất nhận (chất oxy hóa), ngoại trừ oxy. NAD nhận proton trở thành $NADH_2$.

4.1.3.2. Nicotinamid Adenin Dinucleotit Phosphat (NADP)

- Là thành phần của các enzyme hoạt hóa hydro (Dehydrogenaza Piridin),

- Coenzyme của các dehydrogenase piridin là Nicotinamit Adenin Dinucleotit (NAD) hoặc Nicotinamit Adenin Dinucleotit Phosphat (NADP).

NAD - còn có tên gọi tương ứng là coenzyme I hay codehydrogenase I,

NADP- còn có tên gọi tương ứng là coenzyme II hay codehydrogenase II.

Khi coenzyme nhận proton hay electron từ cơ chất đầu tiên thường gọi là coenzyme I còn khi coenzyme nhận proton hay electron từ cơ chất thứ hai (là chất nhận proton hay electron từ cơ chất đầu) thì thường gọi là coenzyme II.

Cấu tạo của NADP cũng giống như NAD, chỉ khác là trong thành phần của nó có 3 gốc axit phosphoric.

4.1.3.3. Flavin Adenin Dinucleotit (FAD)

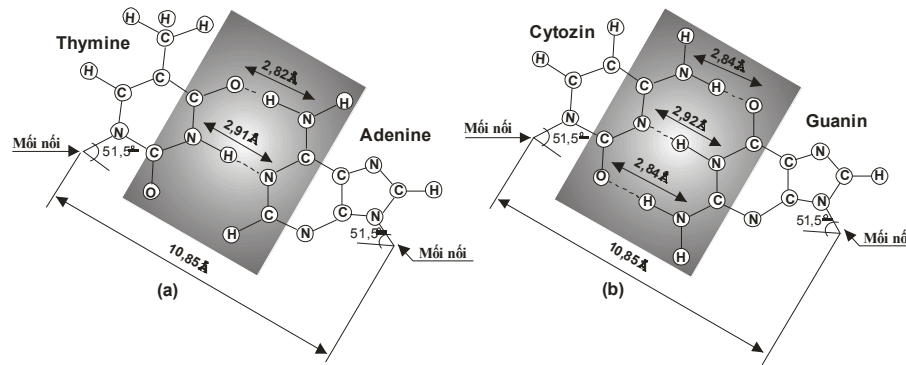
Là thành phần của các enzyme hoạt hóa hydro (Dehydrogenase Flavin) Dạng oxy hóa của flavin có màu vàng khi nó nhận điện tử và proton từ NADH_2 hay NADPH_2 sẽ chuyển thành dạng khử không màu. Trong nhóm này, ngoài Flavin Adenin Dinucleotit (FAD) còn có Flavin Mono Nucleotit (FMN).

4.1.3.4. Adenozin Tri Phosphat (ATP) cũng là một nucleotit

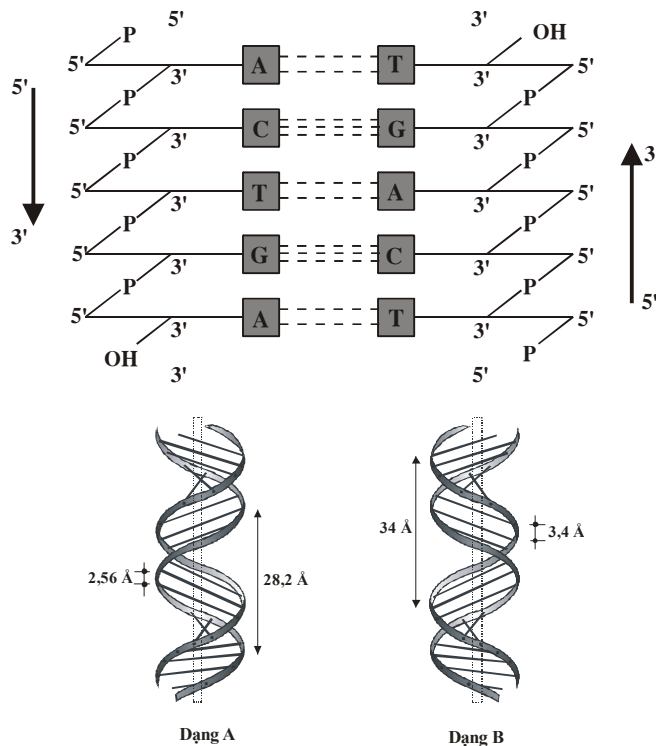
- Trong phân tử ATP có chứa hai liên kết cao năng, trong cơ thể sống nó là chất dự trữ năng lượng quan trọng.

- Những quá trình hóa sinh xảy ra trong cơ thể có giải phóng năng lượng thường liên kết với sự tổng hợp ATP, ngược lại những quá trình hóa sinh xảy ra cần có năng lượng tự do thì thường liên kết với sự thủy phân ATP. Như vậy năng lượng dư được dự trữ trong ATP và khi cơ thể cần năng lượng thì sự thủy phân ATP sẽ giải phóng ra. Phân tử ATP có thể bị thủy phân một hoặc hai liên kết cao năng. Khi một liên kết cao năng bị mất đi, ATP sẽ trở thành ADP (Adenozin Di Phosphat) và khi bị mất đồng thời hai liên kết cao năng thì nó trở thành AMP (Adenozin Mono Phosphat).

4.1.4. Cấu trúc của ADN (mô hình Watson)



Hình 4-1: Liên kết hydro giữa các bazơ nitơ của 2 mạch



Hình 4-2: Cấu trúc ADN

Axit nucleic là một hợp chất cao phân tử mà "viên gạch" xây dựng nên nó là các mononucleotit. Phân tử lượng của ADN đạt từ 4 triệu đến hàng chục triệu và hơn thế nữa. Phân tử lượng của ADN lớn hơn ARN. Cấu tạo của axit nucleic rất phức tạp. Mức độ phức tạp này phụ thuộc vào lượng và chất của các nucleotit tham gia trong thành phần của nó. Người ta phân biệt hai bậc cấu trúc của ADN:

Cấu trúc bậc I: Cấu trúc bậc I xác định số lượng các gốc mononucleotit và trình tự sắp xếp của chúng trong phân tử ADN. Các gốc mononucleotit liên kết với nhau bằng *liên kết phosphodiester* nối gốc axit phosphoric giữa

nguyên tử carbon thứ 5 của gốc đường pentose ở mononucleotit này với carbon thứ 3 của gốc đường pentose ở mononucleotit kia.

Cấu trúc bậc II (mô hình Watson): Những nghiên cứu mới nhất đã chứng minh rằng: chuỗi polynucleotit không nằm duỗi thẳng mà có cấu trúc không gian hình xoắn gọi là cấu trúc bậc II. Dựa trên kết quả nghiên cứu, Watson và Crick đã thiết lập mẫu hình cấu tạo xoắn của phân tử ADN như sau: Phân tử ADN được hình thành từ hai chuỗi polynucleotit với cực trái ngược nhau, cuộn xoắn lấy nhau xung quanh một trục chung tạo nên một vòng xoắn đôi tương tự như một cầu thang xoắn ốc. Mỗi vòng xoắn gồm 10 bậc (tương ứng với 10 cặp nucleotit). Chiều cao mỗi vòng xoắn là 34Å, như vậy chiều cao của mỗi bậc là 3,4Å, đường kính trong của vòng xoắn là 20Å. Trong cấu trúc xoắn này thì gốc đường và gốc phosphat nằm ở phía ngoài còn các bazơ nitơ nằm ở phía trong. Các bazơ purin và pirimidin nằm trong vòng xoắn theo từng cặp xác định hết sức nghiêm ngặt. Bazơ purin trên chuỗi này thì bazơ pirimidin ở trên chuỗi đối diện hoặc ngược lại. Trong đó Thymine (T) đứng đối diện với Adenine (A); Cytosine (C) đứng đối diện với Guanine (G).

Cấu trúc không gian này được giữ vững nhờ các liên kết hydro giữa các bazơ nitơ. Người ta đã xác định được rằng giữa hai bazơ nitơ đứng đối diện A...T tồn tại hai liên kết hydro còn giữa G...C tồn tại ba liên kết hydro. Các nucleotit trong chuỗi có một vị trí nhất định và trật tự sắp xếp các gốc nucleotit của chuỗi này phản ánh chính xác trật tự sắp xếp các gốc nucleotit của chuỗi kia. Đặc điểm cấu tạo này của ADN có ý nghĩa quyết định trong việc thông tin tính di truyền và sinh tổng hợp protein.

Mô hình cấu tạo ADN của Watson và Crick đã được khẳng định. Ngày nay người ta còn phát hiện thêm những dạng tồn tại của cấu tạo xoắn. Có 5 dạng cấu tạo xoắn tương tự của ADN được xác định. Dạng cấu tạo mà Watson và Crick xác định được đó là dạng tồn tại B còn dạng A được xác định với chiều cao của mỗi vòng xoắn là 28Å (ở dạng B là 34Å), mỗi vòng xoắn gồm 11 bậc (tương ứng với 11 nucleotit ở mỗi vòng xoắn, như vậy khoảng cách giữa mỗi bậc là 2,56Å, như vậy chiều dài của phân tử sẽ rút ngắn khoảng 25%). Điểm khác nhau cơ bản giữa dạng A và B là ở chỗ: sự sắp xếp giữa các cặp bazơ nitơ đứng đối diện nhau không vuông góc với đường trục của vòng xoắn. Dạng C rất giống dạng B chỉ khác ở chỗ là chiều cao của một vòng xoắn là 33Å và với 9 bậc (tương ứng với 9 nucleotit ở mỗi vòng xoắn). Ngoài ra còn dạng D và Z. Dạng D với 8 bậc tương ứng với 8 nucleotit ở mỗi vòng xoắn, còn dạng Z có bộ khung xoắn trái, mỗi vòng xoắn mang 12 cặp bazơ, các bazơ được bố trí ở ngoài của trục chuỗi xoắn.

Cấu trúc xoắn đôi của ADN là cấu trúc chung cho các giới hữu sinh. Trong mọi trường hợp không phụ thuộc nguồn gốc, trạng thái sinh lý của cơ thể tế bào, ADN có cấu trúc vòng xoắn đôi như nhau. Tuy nhiên, ngoài các phân tử ADN hai chuỗi còn có thể gặp ADN một chuỗi chẳng hạn như ở virus, vi khuẩn.

4.1.5. ADN và nhiễm sắc thể

Nhiễm sắc thể (chromosome) là thành phần chủ yếu của nhân tế bào. Thuật ngữ "chromosome" đã được gọi từ 1884. Sự phân tích chi tiết qua kính hiển vi đã chứng minh rằng nhiễm sắc thể là những sợi dài, có chiều dài không đều nhau. Đặc điểm này được phát hiện rõ nhất khi nghiên cứu sự phân chia gián phân của tế bào ở giai đoạn đầu. ADN của tế bào phân bố trên các nhiễm sắc thể.

Mỗi nhiễm sắc thể được cấu tạo gồm nhiều sợi gọi là *sợi nhiễm sắc*, dọc theo các sợi này sắp xếp các đốt nhiễm sắc thể (chromomere).

Trong mỗi nhiễm sắc thể ở vị trí xác định có một bộ phận nhỏ, tròn, biểu hiện rõ nét trong thời kỳ phân bào và điều khiển sự vận động của nhiễm sắc thể trong quá trình phân bào gọi là *tâm động* (centromere). Cấu trúc như thế của các nhiễm sắc thể chỉ có thể quan sát thấy được trong thời gian phân bào còn bình thường chúng có dạng sợi mảnh, đậm màu gọi là chất nhiễm sắc (chromatin). Các công trình nghiên cứu cho thấy rằng các nhiễm sắc thể cũng tồn tại riêng lẻ, tách biệt nhau về mặt sinh lý và cấu trúc cả trong khoảng thời gian giữa hai lần phân bào kế tiếp, mặc dù trong thời gian đó người ta không nhìn thấy được chúng. Gen là nhân tố di truyền nằm trong nhiễm sắc thể.

Mỗi nhiễm sắc thể có hình dạng và nội dung di truyền riêng của cá thể. Khi tách nhân ra khỏi tế bào vào thời điểm không phân chia và cho nhân dung giải thì các nhiễm sắc thể được giải phóng ra, mỗi cái chứa một ADN sợi kép nguyên vẹn, ADN này liên kết với protein ở dạng một phức gọi là chất nhiễm sắc thể (chromatin), trong chất này có các protein bazơ (các histon) và protein axit (không có histon) liên kết với ADN và đó là tính đặc trưng của các nhiễm sắc thể nhân chuẩn. Thể nhiễm sắc có chiều dài biến đổi qua các pha khác nhau của chu kỳ tế bào, nhưng vẫn duy trì được tính đặc thù toàn vẹn, được đặc trưng bởi thông tin di truyền của chúng. Trong sự sống của tế bào sự tái sinh của nhiễm sắc thể có vai trò quan trọng nhất. Thông tin di truyền của hai tế bào con, hình thành do sự phân chia của một tế bào mẹ, phải mang tính chất hoàn chỉnh. Điều ấy chỉ có thể đạt được nếu mọi cấu trúc phân tử của thể nhiễm sắc ban đầu được tái tạo lại trong tế bào con. Điều này được thực hiện bằng sự tái sinh của các nhiễm sắc thể. Sự tự tái sinh của thể

nhiễm sắc được tiến hành trong giai đoạn giữa của chu kỳ trung gian gọi là pha tổng hợp ADN.

Số lượng nhiễm sắc thể trong tế bào của mỗi loài là không thay đổi. Ở người, số lượng đó là 46. Trong tế bào của nhiều loài động vật và thực vật khác cũng có thể có số nhiễm sắc thể là 46, như vậy các loài động vật, thực vật khác nhau, phân biệt nhau không phải chỉ ở số lượng nhiễm sắc thể mà chủ yếu là bản chất các nhân tố di truyền chứa trong các nhiễm sắc thể.

Tế bào có một bộ nhiễm sắc thể (n NST) được gọi là tế bào đơn bội. Tế bào có 2 bộ nhiễm sắc thể ($2n$ NST) gọi là tế bào lưỡng bội.

Trong tế bào lưỡng bội nhiễm sắc thể bao giờ cũng tồn tại theo từng cặp. Trong mỗi tế bào có hai nhiễm sắc thể của mỗi kiểu loại. Ví dụ: 46 nhiễm sắc thể của người thuộc vào 23 kiểu loại, mỗi kiểu loại có hai nhiễm sắc thể. Bản chất của tính cặp đôi là một thể nhiễm sắc cùng nguồn trong cặp là từ mẹ còn thể nhiễm sắc kia từ bố.

Khi nhiễm sắc thể trong giai đoạn phát triển của tế bào, khi nhuộm màu và đem quan sát dưới kính hiển vi, người ta quan sát thấy hai kiểu bắt màu khác biệt, một kiểu được nhuộm rất nhạt gọi là chất nguyên nhiễm sắc, kiểu kia được nhuộm rất đậm được gọi là chất dị 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. Nói chung nằm rải rác ở dạng những đoạn ngắn xen kẽ với chất nguyên nhiễm sắc và bọc quanh các tâm động. Về mặt chức năng chất nguyên nhiễm sắc chứa ADN ở trạng thái hoạt động (có thể được phiên mã) còn chất dị nhiễm sắc thì mang ADN ở dạng không phiên mã. Chất dị nhiễm sắc sao chép muộn hơn chất nguyên nhiễm sắc trong chu trình tế bào.

Nhiễm sắc thể của tế bào prokaryote: Nhiễm sắc thể của vi khuẩn là những phân tử ADN trần, chuỗi kép, mạch vòng. Mặc dù vi khuẩn không có nhân nhưng ADN tập trung ở một vùng rõ rệt gọi là vùng nhân, không có màng bao bọc. Ngoài nhiễm sắc thể chính, ở vi khuẩn còn thấy có một loại ADN khác ở dạng vòng kép nhỏ gọi là *plasmid*. Chúng được sao chép (tổng hợp) không phụ thuộc vào nhiễm sắc thể chính. Trong quần thể vi khuẩn tự nhiên ADN plasmid có thể chiếm từ 1÷2% tổng số ADN có trong tế bào.

Nhiễm sắc thể của tế bào eukaryote: Phần lớn ADN tập trung trên các nhiễm sắc thể nằm trong nhân. Tuy nhiên một số ADN cũng thấy ở ty thể và lục lạp ở dạng ADN trần mạch vòng kép. Bộ nhiễm sắc thể của sinh vật nhân chuẩn (eukaryote) gọi là *kiểu nhân*, bao gồm số lượng và hình dạng nhiễm sắc thể (đặc biệt là vị trí của tâm động). Ở động vật, kiểu nhân ở giới tính đực

và cái thường khác nhau do các nhiễm sắc thể giới tính X và Y. Đối với các nhiễm sắc thể thường còn lại thì kiểu nhân của tất cả sinh vật trong cùng loài đều giống nhau. Ví dụ ở người có 23 cặp thì: 22 cặp nhiễm sắc thể thường, còn lại hai nhiễm sắc thể giới tính X và Y rất khác nhau.

Trong chu trình sống của tế bào có sự phân chia một tế bào thành hai tế bào con giống hệt nhau về mặt di truyền, nghĩa là bộ nhiễm sắc thể ở tế bào con hoàn toàn giống tế bào mẹ. Vì vậy trong quá trình phân chia tế bào có quá trình sao chép ADN. Sự sao chép ADN được nghiên cứu kỹ ở tế bào nhân sơ (prokaryot). Mô hình sao chép có thể tóm tắt như sau:

Bước đầu tiên của sự sao chép là chuỗi xoắn kép của ADN biến tính và dẫn xoắn của chuỗi xoắn kép, tạo nên cấu trúc hình chữ Y gọi là chạc sao chép (replication fork). Chuỗi xoắn kép dẫn xoắn sẽ tạo thành những đoạn sợi đơn ADN, các sợi đơn này được giữ bền vững nhờ các protein bám sợi đơn (sing-stranded binding protein viết tắt là SSB). Sau khi dẫn xoắn thì các bazơ phía trong của ADN sẵn sàng hình thành các liên kết dựa vào qui luật bổ sung để hình thành chuỗi mới. Trong quá trình sao chép ADN có sự tham gia của nhiều enzyme, ở *E. coli* người ta đã xác định được có ba loại ADN polymerase (polymerase I, II, III), trong đó ADN-polymerase III có hoạt tính cao nhất và ADN-polymerase II có hoạt tính thấp nhất. Ngoài ra, các enzyme còn tham gia vào các quá trình khác như sửa chữa ADN, tái tổ hợp di truyền, ... Cả ba enzyme ADN-polymerase đều xúc tác quá trình tổng hợp ADN mới theo chiều 5'–3'. Để chuỗi ADN được bắt đầu tổng hợp cần có một *đoạn môi* (primer), ở *E. coli* đoạn môi là một chuỗi ARN ngắn được sinh ra bởi enzyme primase, trình tự các bazơ của đoạn môi được định hướng theo trình tự của các nucleotit của sợi ADN làm khuôn. Để bắt đầu sao chép enzyme primase bám vào ADN sợi đơn trên cả hai nhánh của chạc sao chép và tổng hợp nên đoạn môi, sau khi đoạn môi khởi thảo thì các enzyme ADN-polymerase III tiếp tục tổng hợp ADN bổ trợ với sợi khuôn. Sự tổng hợp chỉ xảy ra theo chiều 5'–3'. Vì sự phân cực ngược chiều nhau của hai sợi ADN khuôn nên chỉ có một trong hai sợi là được tổng hợp liên tục (sợi có chiều thuận 5'–3') còn sợi kia (sợi có chiều ngược 3'–5') quá trình tổng hợp gián đoạn, nghĩa là sự tổng hợp được tiến hành theo từng đoạn một (mỗi đoạn gọi là một Okazaki). Để tổng hợp đoạn Okazaki, enzyme primase bám vào điểm kề sát với điểm hoạt động của quá trình dẫn xoắn, sau đó enzyme ADN-polymerase III tiếp tục tổng hợp đoạn ADN bổ trợ với sợi khuôn theo chiều 5'–3', các đoạn mới tổng hợp này sau đó được nối với nhau để hình thành sợi ADN liên tục. Quá trình nối các đoạn này có sự tham gia của enzyme ADN-polymerase I và enzyme ADN-ligase. Nếu ta xem xét hai đoạn Okazaki nằm kế tiếp nhau thì

đoạn 3' của đoạn vừa tổng hợp sẽ tiếp cận chứ không nối với đoạn mới của đoạn vừa tổng hợp trước đó, enzyme ADN-polymerase III hoàn thành việc tổng hợp và rời khỏi ADN và ADN-polymerase I thế chỗ, nó tiếp tục tổng hợp theo chiều 5'–3' sau đó nó loại bỏ đoạn mới của đoạn Okazaki trước. Khi enzyme polymerase I kết thúc thì vẫn còn một khe hở giữa hai đoạn Okazaki mới hình thành, khe hở này sẽ được nối nhờ tác dụng của enzyme ADN-ligase.

Cách sao chép ADN mà ở đó, một sợi mới được tổng hợp liên tục theo chiều 5'–3' còn sợi thứ hai được tổng hợp không liên tục định hướng theo chiều 3'–5' gọi là kiểu sao chép nửa gián đoạn.

4.1.6. Cấu trúc và chức năng của các loại ARN

ARN: Axit Ribo Nucleic - có cấu trúc khác với ADN như sau:

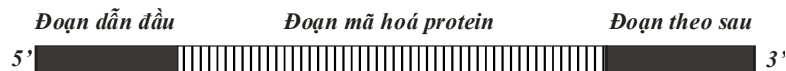
- Gốc đường ribose thay cho desoxyribose trong ADN,
- Trong ARN các bazơ pirimidin là Cytosin và Uracil (không khi nào có Thymin). Đơn vị cơ bản xây dựng nên ARN cũng là các nucleotit, trong ARN, axit phosphoric có thể kết hợp với –OH ở nguyên tử các bon thứ 3 hay thứ 5 của ribose. ARN có cấu trúc mạch đơn chứ không phải xoắn kép như ADN.
- Cấu trúc bậc một của ARN xác định trật tự sắp xếp các gốc nucleotit trong chuỗi polynucleotit.
- Cấu trúc bậc hai của ARN cũng là cấu trúc xoắn nhưng khác với ADN, phân tử ARN thường là một chuỗi polynucleotit liên tục nên cấu tạo xoắn chỉ thực hiện trong phạm vi một phân tử (một chuỗi polyribonucleotit). Khi đó, chuỗi ARN tự cuốn lấy mình bằng cách tạo nên các liên kết hydro giữa Adenine và Uracine, giữa Guanine và Cytosine. Cấu trúc bậc hai của ARN chỉ khoảng 50% chuỗi polynucleotit của phân tử ARN được xoắn lại còn các phần khác thì không. Hơn nữa, cấu hình của các đoạn xoắn cũng chưa hoàn thiện như ở ADN, vì không có sự tương ứng hoàn toàn trong trật tự của các bazơ "bổ sung", nên một số mắt xích nucleotit riêng lẻ có dạng "vòm lồi".

ARN nằm trong bào tương, trong riboxom và cả trong nhân tế bào, nhưng ARN tập trung chủ yếu trong bào tương. Dựa vào chức năng và định khu của ARN, người ta phân biệt các loại ARN sau đây:

- ARN thông tin (m-ARN)
- ARN vận chuyển (t-ARN)

- ARN riboxom (r-ARN)

a,- ARN thông tin (messenger ARN) viết tắt là mARN được tổng hợp trong nhân tế bào trên khuôn của ADN nên chúng chứa lượng thông tin cần thiết cho sự tổng hợp các protein đặc hiệu khác nhau. Độ lớn của m-ARN phụ thuộc vào độ lớn của protein cần tổng hợp, như vậy, các phân tử m-ARN của một tế bào có kích thước rất khác nhau và trình tự nucleotit của các ARN thông tin cũng rất khác nhau. m-ARN sau khi được tổng hợp ở nhân tế bào sẽ chuyển từ nhân đến riboxom, nối các riboxom lại thành những tập hợp polyxom.



Hình 4-3: Sơ đồ cấu trúc chung của các phân tử m-ARN ở sinh vật nhân sơ và nhân chuẩn

Sơ đồ cấu trúc chung của các phân tử m-ARN có thể chia làm ba đoạn:

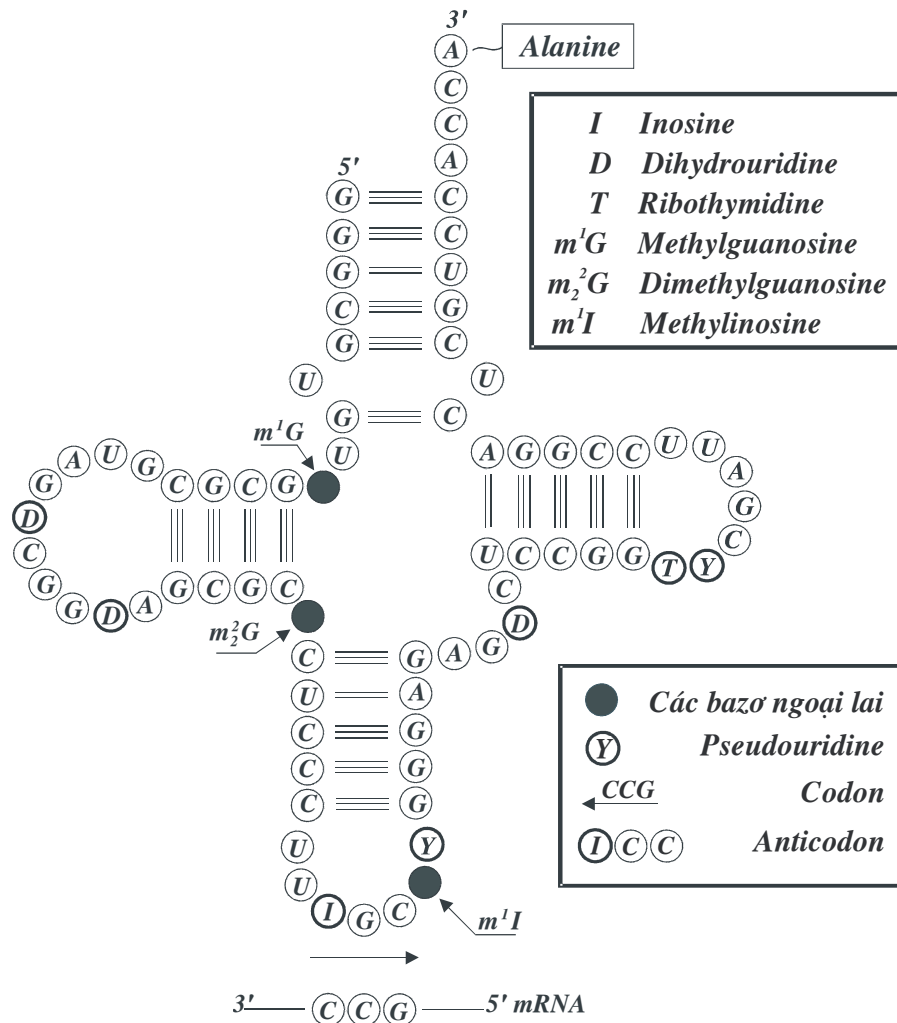
- Ở đầu 5' có đoạn dẫn đầu, tiếp sau đó là đoạn mã hóa protein và đoạn theo sau ở đầu 3' :

b,- ARN vận chuyển (transfer ARN) viết tắt là t-ARN, chúng làm nhiệm vụ vận chuyển các axit amin đã được hoạt hóa đến riboxom là nơi tổng hợp nên phân tử protein. t-ARN chiếm khoảng từ 10% đến 20% tổng lượng ARN của tế bào, và có trọng lượng phân tử không lớn lắm, qua nghiên cứu các t-ARN người ta thấy nó chứa khoảng từ 75 đến 90 nucleotit. Ngày nay người ta đã xác định được thành phần và trật tự sắp xếp của hơn 100 t-ARN.

Mỗi axit amin trong 20 axit amin có thể kết hợp với một hoặc một số dạng t-ARN. Điểm khác trong cấu tạo của t-ARN là ngoài 4 bazơ nitơ thông thường là A, G, C, U nó còn chứa một lượng nhỏ các bazơ bổ sung phụ như 6-methylaminadenin, dimethylguanin, ...

Cấu tạo của phân tử t-ARN có thể tóm tắt trên một số điểm chính sau:

1,- Ở đầu 3' của phân tử luôn luôn kết thúc bằng bộ ba CCA; còn ở đầu 5' - (nhóm monophosphat) thường kết thúc bằng gốc axit guanic (G). Ở mỗi phân tử thường có 4 đoạn có chứa các liên kết hydro giữa các bazơ bổ sung và 4 nút (vùng lồi), tại các nút giữa các nucleotit không có liên kết hydro.



Hình 4-4: Cấu tạo ARN vận chuyển alanine

2,- Đầu 3' kết thúc bằng ba nucleotit CCA-OH. Phân tử aminoaxit luôn luôn gắn ở đầu 3' ở A cuối.

3,- Nút nằm kề đầu 3' (TΨC loop) chứa 7 bazơ không sắp xếp theo qui luật bổ sung nên giữa các bazơ không có các liên kết hydro, hiện nay người ta cho rằng nút này của ARN vận chuyển gắn với bề mặt của riboxom.

4,- Nút kế tiếp (tính từ đầu 3') có độ lớn rất thay đổi, gọi là nút phụ (extra loop).

5,- Nút tiếp theo (nút thứ ba) chứa 7 bazơ không có liên kết hydro (không bổ sung) trong đó có ba bazơ chủ yếu kề nhau - anticodon, bộ ba này sẽ bổ sung cho cordon trên ARN thông tin.

6,- Nút tiếp theo (thứ tư) chứa 8 đến 12 bazơ không bổ sung gọi là nút D (D loop).

c,- **ARN riboxom** (ribosomal RAN) viết tắt là r-ARN, tập trung trong riboxom - "nhà máy" sản xuất protein của tế bào. r-ARN là những phân tử có chuỗi polynucleotit khá dài.

Người ta phân biệt ra hai dạng r-ARN có phân tử lượng khác nhau, một loại có phân tử lượng cao hơn ($1\div 1,2$ triệu dalton) còn loại kia nhỏ hơn (khoảng $500\div 600$ nghìn dalton). rARN cùng với protein và lipit tạo nên các thể riboxom. r-ARN chiếm một tỉ lệ cao hơn cả (trong tế bào của bacteria khoảng 80%) trong tổng số ARN của tế bào.

4.2. TỔNG HỢP PROTEIN

Quá trình tổng hợp proteine có thể chia làm các giai đoạn sau:

- Sự tổng hợp ARN dưới tác dụng của enzyme ARN- polymerase. Thông tin di truyền của ADN được chuyển sang các phân tử t-ARN trong một quá trình gọi là phiên mã (*transcription*). Ba loại ARN được tổng hợp qua quá trình phiên mã: m-ARN – t-ARN – r-ARN.
- Quá trình dịch mã (tổng hợp protein).

Sau đây chúng ta sẽ nghiên cứu chi tiết các giai đoạn:

4.2.1. ADN và mã di truyền

Chúng ta biết rằng trình tự các bazơ nitơ trên ADN quyết định trình tự của các axit amin trên protein tương ứng. Tất cả có 20 axit amin trong protein. Nhưng chỉ có 4 bazơ nitơ trong ADN. Như vậy nếu mỗi bazơ nitơ xác định một axit amin thì chỉ có 4 axit amin được xác định. Nếu cứ hai bazơ nitơ xác định một axit amin thì số các axit amin được xác định chỉ là $4^2 = 16$ còn thiếu 4 axit amin chưa được xác định. Vậy tối thiểu phải 3 bazơ nitơ xác định một axit amin. Như thế số tổ hợp bộ ba có thể có từ 4 bazơ là $4^3 = 64$. Như vậy nếu mã là mã bộ ba thì xảy ra trường hợp nhiều bộ ba xác định một axit amin. Ngày nay, bằng kết quả nhiên cứu thực nghiệm, người ta đã chứng minh rằng bộ ba mã di truyền là đúng.

Mã di truyền có một số đặc tính sau:

- 1,- Mã di truyền không có dấu phẩy, nghĩa là thông tin di truyền được đọc theo từng cụm 3 nucleotit một cách liên tục, không ngắt quãng.
- 2,- Thông tin được đọc theo một chiều, bắt đầu từ một điểm xác định.
- 3,- Mã di truyền mang tính phổ biến, nghĩa là tất cả mọi sinh vật đều dùng chung một loại thông tin.

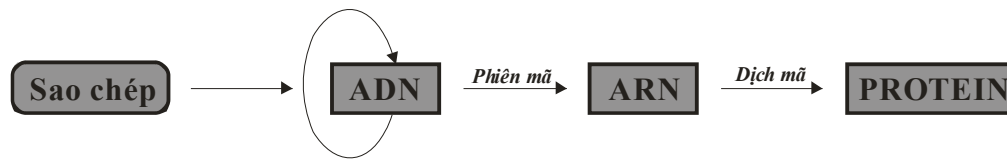
Ví dụ: một gen lấy từ tế bào động vật sẽ sản sinh một loại protein nào đó. Gen đó dù có được dịch mã trong tế bào động vật hay trong tế bào *E. coli* thì từ gen đó cũng chỉ tổng hợp nên protein đó mà thôi.

4,- Mã di truyền mang tính thoái hóa (degenerate) trừ hai ngoại lệ AUG và UGG, nghĩa là nhiều bộ ba cùng xác định một axit amin. Thí dụ, khi hai nucleotit đầu trong bộ ba giống hệt nhau thì nucleotit thứ ba có thể C hoặc U mà bộ ba vẫn mã hóa axit amin đó. Tính chất đó cũng đúng với A và G khi các nucleotit này ở vị trí thứ ba trong codon (bộ ba hay cụm mã).

5,- Mã di truyền có những bộ ba khởi đầu và kết thúc đặc hiệu. AUG là tín hiệu khởi đầu, nếu nó không có ở đầu 5' của ARN thông tin thì quá trình dịch mã không bắt đầu được. Các bộ ba kết thúc là UAG, UAA và UGA.

4.2.2. Quá trình phiên mã

ADN mang thông tin di truyền nhưng bản thân ADN không phải là cái khuôn trực tiếp để tổng hợp protein. Thông tin di truyền của ADN trước hết được chuyển sang các phân tử m-ARN trong một quá trình gọi là phiên mã (transcription). Trong quá trình tổng hợp protein, các axit amin trong protein được sắp xếp theo một trình tự xác định dựa theo trình tự sắp xếp các nucleotit trên khuôn mARN, quá trình đó gọi là dịch mã (translation). Mối quan hệ giữa ADN và protein được khái quát hóa trong thuyết trung tâm được minh họa trên sơ đồ sau:



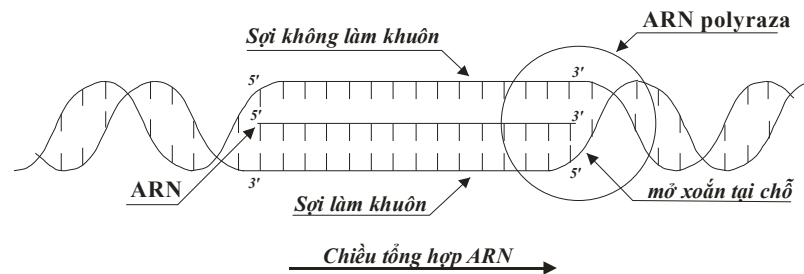
Mối quan hệ giữa ADN và protein

Quá trình phiên mã ở cả prokaryote và eukaryote đều có một số điểm chung sau:

- 1,- Sản phẩm của phiên mã là một sợi đơn ARN.
- 2,- Để quá trình phiên mã có thể diễn ra thì ADN phải dẫn xoắn cục bộ. Đối với mỗi gen chỉ có một trong hai sợi ADN được dùng làm khuôn để tổng hợp ARN, sợi này gọi là sợi có nghĩa.
- 3,- Tiền chất của ARN (các phân tử được trùng hợp hóa để tạo thành chuỗi ARN) là các ribonucleosid triphosphat ATP, GTP, CTP và UTP gọi chung là các NTP. Phản ứng trùng hợp được xúc tác bởi enzyme ARN polymerase.

4,- Phản ứng tổng hợp ARN tương tự như phản ứng tổng hợp AND với sự xúc tác của enzyme ARN-polymerase. Trên sợi khuôn AND, enzyme ARN-polymerase sẽ tổng hợp sợi ARN theo qui luật bổ sung, đối diện với A là U và đối diện với G là C.

ARN được tổng hợp theo chiều 5' sang 3', ví dụ nếu sợi khuôn là 3'-TCGGAT-5' thì chuỗi A RN sẽ là 5'-AGCCUA-3'.



Hình 4-5: Tổng hợp ARN

Ở sinh vật prokaryot (nhân sơ) thường có một loại ARN-polymerase đặc thù riêng còn ở sinh vật eukaryot (nhân chuẩn) hiện nay người ta tìm thấy có ba loại ARN-polymerase trong nhân, chúng có vai trò chuyển hóa khác nhau trong quá trình phiên mã ARN, ở các ty thể và lạp thể của eukaryot có các ARN-polymerase riêng.

Các ARN-polymease cần có khuôn ADN ở dạng sợi kép, bốn loại ribonucleotit triphosphat và các ion magie để xúc tác quá trình tổng hợp ARN. ARN-polymerase ở *E. coli* được nghiên cứu kỹ nhất trong các sinh vật nhân sơ. Cấu trúc của nó gồm hai hợp phần: enzyme lõi và nhân tố σ , nhân tố σ có thể tách dễ dàng ra khỏi enzyme lõi, nó là một chuỗi polypeptit 70.000 dalton. Phần enzyme lõi có thể tách tiếp ra thành 5 chuỗi polypeptit tiếp: hai chuỗi α , mỗi chuỗi 36.500 dalton và hai chuỗi β , mỗi chuỗi 151.000 dalton và một chuỗi β' dài 155.000 dalton.

Ngoài ra còn có chuỗi ω (omega) 11.000 dalton còn chưa biết rõ chức năng. Riêng enzyme lõi có thể tạo nên bản sao ARN từ ADN, vai trò của từng phần cấu thành cũng được nghiên cứu kỹ. Chuỗi β' có tác dụng liên kết với ADN (in vitro), chuỗi β có tác dụng xúc tác sự hình thành mối liên kết phosphodiester, còn vai trò của α thì hiện nay chưa biết. Nhân tố σ đóng vai trò quan trọng trong việc tổng hợp ARN, nó giúp cho enzyme lõi có thể có thể khởi đầu quá trình tổng hợp ARN tại những điểm đặc thù nằm dọc theo ADN. Những điểm này gọi là những điểm khởi đầu.

Sau khi quá trình tổng hợp ARN bắt đầu thì nhân tố σ rời khỏi enzyme lõi và enzyme này tiếp tục quá trình phiên mã. Còn nhân tố sigma sau đó có thể kết hợp với một enzyme lõi khác để khởi đầu một sự phiên mã một ARN khác cũng tại đoạn khởi đầu đó hoặc trên một đoạn khởi đầu khác. Như vậy nhân tố sigma đóng vai trò khởi đầu quá trình phiên mã tại những điểm đặc thù.

Khi một gen đã được phiên mã thì ARN-polymerase rời khỏi và ARN mới được tổng hợp cũng rời khỏi ADN, nhường chỗ cho sự tổng hợp lại ADN chuỗi kép.

Quá trình phiên mã dừng lại khi đoạn kết thúc phiên mã được nhận biết. Các quá trình chính của quá trình phiên mã có thể tóm tắt như sau:

- 1,- ARN-polymerase lõi cùng với nhân tố sigma nhận biết và bám vào đoạn khởi đầu.
- 2,- ARN polymerase trượt dọc theo gen và xúc tác sự biến tính cục bộ của hai sợi ADN làm lộ ra sợi khuôn để có thể khởi đầu quá trình tổng hợp ARN.
- 3,- Quá trình tổng hợp ARN bắt đầu và chuỗi ARN được sinh ra theo chiều 5'-3'. Khi một số phản ứng trùng hợp đã được thực hiện thì nhân tố sigma rời khỏi.
- 4,- Đoạn kết thúc phiên mã ra tín hiệu cho ARN-polymerase dừng phiên mã.

Đoạn kết thúc gồm: đoạn có tỉ lệ các cặp bazơ GC cao trên sợi làm khuôn phiên mã, và một loạt các bazơ T trên sợi không dùng làm khuôn ở vùng nhiều AT. Cả hai vùng này đều được phiên mã bởi ARN-polymerase, và sự kết cặp các bazơ giữa hai phần của ARN phiên mã ở vùng này gây nên sự biến đổi trong quan hệ giữa ARN-polymerase và ADN. Kết quả là ARN-polymerase không thể kéo dài thêm nữa chuỗi ARN và nó cũng như chuỗi ARN đều rời khỏi chuỗi ADN. Phản ứng kết thúc có sự tham gia của phức hệ ARN-polymerase và nhân tố protein *nusA* (polypeptit 69.000 dalton làm nhiệm vụ kéo dài và kết thúc trong quá trình phiên mã). Ngoài ra để cho ARN đã phiên mã rời khỏi ADN thì cần có sự tham gia của nhân tố protein rho(ρ) (polypeptit 46.000 dalton làm nhiệm vụ kết thúc quá trình phiên mã).

4.2.3. Quá trình dịch mã

AUG là bộ ba khởi đầu cho quá trình dịch mã – là bộ ba mã hoá cho methionine.

ARN thông tin (m-ARN) hình thành trong quá trình phiên mã sẽ đến riboxom và liên kết với tiểu đơn vị nhỏ (30S) của riboxom sau đó tổ hợp tiểu

đơn vị nhỏ- m-ARM sẽ liên kết với tiểu đơn vị lớn (50S) và quá trình tổng hợp protein bắt đầu.

Như phần trên đã nói: mã di truyền là mã bộ ba. Việc giải mã di truyền là tìm xem bộ ba bazơ nitơ nào xác định cho một axit amin cụ thể và tiến hành cho tất cả 20 axit amin hiện có. Ngày nay toàn bộ mã di truyền đã được giải, kết quả được tổng kết trên Bảng mã di truyền sau:

BẢNG MÃ DI TRUYỀN

Vị trí thứ hai

	U	C	A	G	
<i>Vị trí thứ nhất - Đầu 5'</i>	U UUU] Phe UUC] UUA] Leu UUG]	C UCU] UCC] Ser UCA] UCG]	A UAU] Tyr UAC] UAA* Stop UAG* Stop	G UGU] Cys UGC] UGA* Stop UGG Trp	<i>Vị trí thứ ba - Đầu 3'</i>
C	CUU] CUC] Leu CUA] CUG]	CCU] CCC] Pro CCA] CCG]	CAU] His CAC] CAA] Gln CAG]	CGU] CGC] Arg CGA] CGG]	U C A G
A	AUU] AUC] Ile AUA] AUG* Met	ACU] ACC] Thr ACA] ACG]	AAU] Asn AAC] AAA] Lys AAG]	AGU] Ser AGC] AGA] Arg AGG]	U C A G
G	GUU] GUC] Val GUA] GUG*]	GCU] GCC] Ala GCA] GCG]	GAU] Asp GAC] GAA] Glu GAG]	GGU] GGC] Gly GGA] GGG]	U C A G

Trong số 64 cụm mã có thể có thì AUG là một bộ ba đặc biệt, nó vừa xác định axit amin methionine lại vừa là tín hiệu khởi đầu việc tổng hợp polypeptit. Ba cụm mã khác UAA, UAG và UGA không mã hóa một axit amin nào (các bộ ba vô nghĩa) mà là tín hiệu kết thúc việc tổng hợp chuỗi polypeptit. Trong số có 19 axit amin, mỗi axit amin có thể được đọc mã hóa bởi 1, 2, 3 hoặc 4 cụm mã khác nhau (tính thoái hóa của mã).

Việc đọc và dịch mã từ ARN thông tin phụ thuộc vào các phân tử ARN vận chuyển và các riboxom. ở phần lớn các sinh vật có khoảng 40 loại t-ARN khác nhau, đóng vai trò chủ chốt.

Mỗi phân tử gồm khoảng 80 nucleotit cuộn xoắn lại với nhau thành cấu trúc thứ cấp của các bazơ bổ trợ ngay tên một sợi. Tại một vị trí lộ ra ở

một vòng thắt ở một đầu của phân tử có đoạn gồm ba bazơ (cụm đối mã), nó bổ trợ, và vì vậy có khả năng kết cặp đặc hiệu với một hoặc một vài cụm mã mã hóa một axit amin cụ thể. ở đầu kia của phân tử tARN thông qua nhóm 3'-hydroxyl tự do của nucleotit cuối cùng, mỗi liên kết ester có thể được hình thành với một axit amin đặc hiệu, phản ứng này được xúc tác bởi một enzyme đặc thù gọi là aminoacyl-tARN synthetase.

Mỗi axit amin được đưa đến vị trí để bổ sung vào đầu carboxyl của chuỗi polypeptit đang tổng hợp.

Vai trò của riboxom là ổn định sự kết hợp giữa m-ARN với t-ARN và xúc tác sự hình thành mỗi liên kết peptit. Tiểu đơn vị lớn của riboxom mang hai điểm bám dành cho t-ARN và mỗi điểm đó nằm cùng hàng với điểm bám trên tiểu đơn vị nhỏ dành cho cụm mã trên m-ARN. Methionyl-tARN khởi đầu bám vào điểm P (điểm peptit) đối diện với cụm mã AUG, còn aminoacyl-tARN thứ hai được xác định bởi cụm mã tiếp theo cụm AUG, thì bám vào một điểm khác gọi là A (axit amin). Giả thử rằng axit amin thứ hai là valin tương ứng với cụm mã GUC. Sau đó một phản ứng dịch chuyển (translocation) diễn ra, nhờ vậy methionine được chuyển từ mỗi liên kết với t-ARN sang nhóm amin của valin, tạo thành methionyl-valin-tARN. Cùng lúc đó t-ARN khởi đầu, sau khi mất methionyl thì bị loại khỏi điểm P và Methionyl-valin-tARN tiến tới chiếm chỗ của nó và để trống điểm A; phân tử m-ARN cũng chuyển dịch đi ba bazơ để cho lúc này cụm mã thứ ba nằm trên điểm A của riboxom. Giả thử cụm mã thứ ba là UAU mã hóa tyrosine thì phân tử tyrosyl-tARN giờ đây sẽ bám vào điểm A và sẽ tiếp nhận methionyl-valin để tạo thành Methionyl-valyl-tyrosyl-tARN và chuỗi này dịch chuyển đến điểm P. Quá trình cứ thế tiếp diễn, một cụm mã mới lại được đưa đến điểm A của riboxom mỗi khi một liên kết peptit được hình thành. Sự tăng trưởng của chuỗi polypeptit kết thúc khi một cụm mã "vô nghĩa" (UAA, UAG hoặc UGA) được đưa tới điểm A. Tại thời điểm này thường không có aminoacyl-tARN nào mang gốc axit amin đến nữa, còn chuỗi polypeptit đã hoàn chỉnh thì rời khỏi riboxom.

Để tạo nên các protein chức năng các chuỗi polypeptit sẽ cuộn xoắn lại và hình thành các dạng cấu trúc của chúng (cấu trúc bậc II, III, IV), các dạng cấu trúc này được hình thành nhờ các liên kết thứ cấp (liên kết hydro, disulfua, ...) trong những điều kiện nội bào bình thường như nhiệt độ, pH và lực ion.

4.2.4. Poliriboxom và quá trình gắn của axit amin

Trong quá trình tổng hợp protein, những phân tử ARN thông tin chỉ liên kết với một riboxom thường có mạch ngắn và như vậy mạch protein tổng hợp được sẽ ngắn, trên thực tế nhiều protein có số lượng axit amin trong thành phần phân tử rất lớn. Vì vậy trong quá trình tổng hợp protein phân tử ARN thông tin có thể liên kết với nhiều riboxom. Tập hợp của riboxom liên kết với một ARN thông tin trong quá trình tổng hợp protein gọi là poly-riboxom hay polyxom. Chức năng của riboxom thể hiện ở chỗ đảm bảo mối tương quan về vị trí của mARN, tARN và mạch polypeptit.

Quá trình dịch mã bắt đầu từ đầu 5' của mARN sang đầu 3'. Sợi polypeptit gắn với riboxom dần dần dài ra do các axit amin lần lượt được gắn vào. Mỗi riboxom trong polyxom đảm nhận quá trình phiên mã và tổng hợp một đoạn nhất định trong chuỗi polypeptit. Sợi polypeptit đang được tổng hợp luôn gắn với một riboxom trong polyxom, nhưng trên mạch ARN thông tin cùng một lúc có thể có một số riboxom. Các axit amin được t-ARN đem đến và được gắn tiếp tục tạo nên chuỗi polypeptit, trình tự sắp xếp các axit amin trong chuỗi polypeptit được qui định theo trình tự sắp xếp các nucleotit trên chuỗi mARN. Khi chuỗi polypeptit được tổng hợp xong thì riboxom tách khỏi sợi ARN thông tin và sau đó nó có thể kết hợp với một m-ARN thông tin mới và lại thực hiện một quá trình phiên mã mới.

Độ lớn của polyxom thay đổi phụ thuộc vào độ lớn của ARN thông tin và của riboxom, nghĩa là mạch m-ARN lớn thì khả năng kết với nhiều riboxom và mạch m-ARN nhỏ thì nó liên kết ít riboxom, điểm thứ hai, tất nhiên là phụ thuộc vào vấn đề là khả năng của riboxom có thể bắt đầu phiên mã ở đoạn cho trước của những gen riêng biệt hay không.

Ngày nay, người ta đã xác định được rằng: polyxom của quá trình tổng hợp phân tử hemoglobin gồm 4 đến 6 và nếu tổng hợp một protein có phân tử lượng từ 30.000 đến 50.000 dalton thì cần một polyxom khoảng từ 12 đến 20 riboxom. Cũng cần nhấn mạnh rằng số lượng riboxom có khả năng làm trung tâm của quá trình tổng hợp protein không lớn, không quá 5÷10% tổng số riboxom có trong tế bào.

4.2.5. Sự điều hòa sinh tổng hợp protein

Sự điều hòa sinh tổng hợp protein chính là sự điều hòa hoạt động của gen. Vậy gen là gì ?

Theo quan điểm của Morgan (1926) thì gen là đơn vị không chia nhỏ được, nằm trên nhiễm sắc thể. Các đơn vị này là:

1,- Đơn vị đột biến, nghĩa là gen bị biến đổi như một tổng thể hoàn chỉnh;

- 2,- Đơn vị tái tổ hợp, nghĩa là trao đổi chéo không bao giờ diễn ra bên trong một gen;
- 3,- Đơn vị chức năng, nghĩa là tất cả các đột biến của một gen cùng làm biến đổi một chức năng di truyền.

Ngày nay chúng ta đều biết rằng gen không phải là đơn vị tái tổ hợp, *gen là đơn vị cấu trúc của thông tin di truyền không thể phân nhỏ hơn thế nữa về phương diện chức năng.*

Trong quá trình phát triển của cá thể không phải tất cả các gen đều hoạt động đồng thời và với cường độ không đổi.

Qua kết quả thu được bằng thực nghiệm, người ta thấy trong những điều kiện bình thường, sự hoạt động của mỗi gen có lẽ ở mức độ nhiều hoặc ít đều bị kìm hãm; trong điều kiện nhất định nào đó xuất hiện nhu cầu về một protein (là một enzyme chẳng hạn) thì sẽ xảy ra sự giải kìm hãm gen và sự tăng cường tổng hợp protein cần thiết. Như vậy sự kìm hãm và giải kìm hãm các gen có lẽ là cần thiết để đảm bảo việc tăng cường hoặc giảm bớt sự tổng hợp một protein này hoặc khác đáp ứng cho nhu cầu trao đổi chất của tế bào. Tốc độ tổng hợp protein được kiểm soát một phần do bộ máy di truyền, một phần do các yếu tố của môi trường ngoài.

Phần lớn các dẫn liệu về sự điều hòa sinh tổng hợp protein được nghiên cứu kỹ trên *E. coli*.

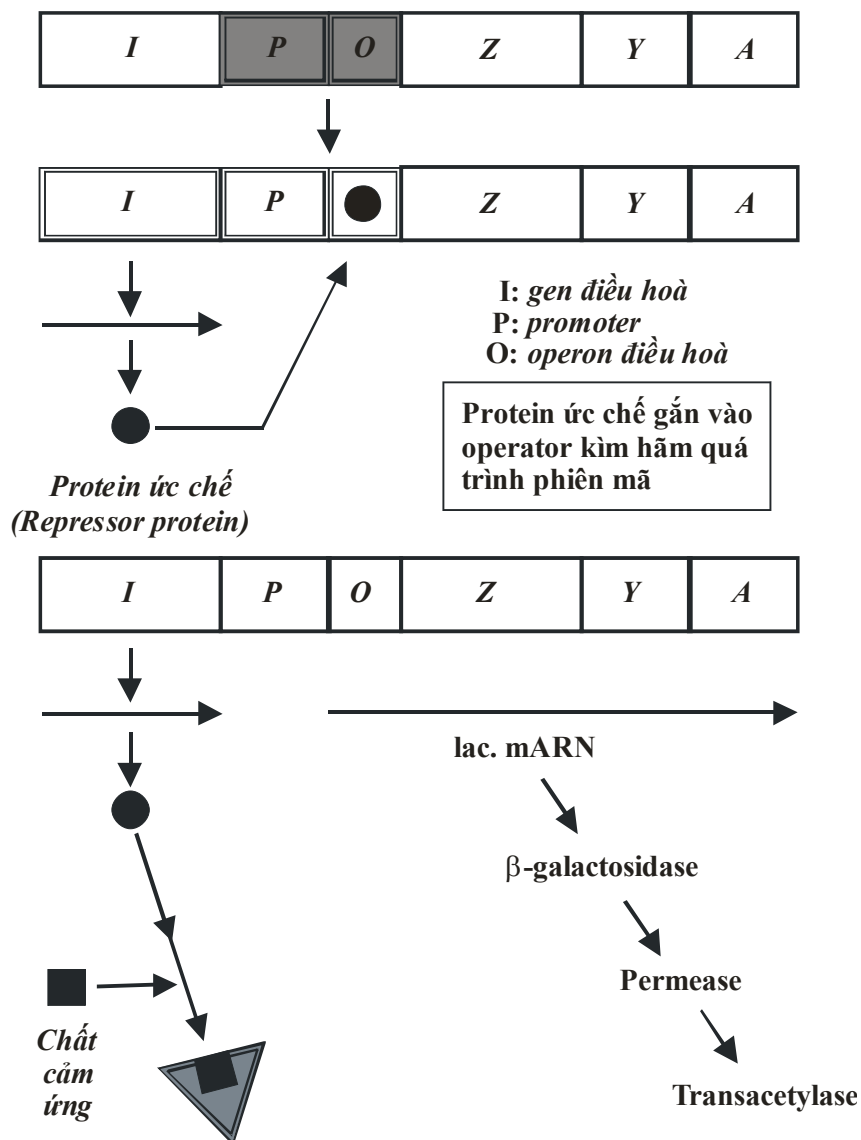
Khi nuôi *E. coli* trên môi trường có nguồn carbon là glucose thì vi khuẩn bắt đầu hấp thụ nó và phân chia nhanh chóng, và trong tế bào của chúng chứa rất ít β -galactosidase. Ngược lại, khi nuôi chúng trong môi trường chứa lactose là nguồn carbon thì phải có một thời gian để vi khuẩn thích ứng rồi sau đó chúng mới có thể phân chia tế bào. Trong thời gian thích ứng đó, diễn ra sự cảm ứng đồng thời của 3 enzyme là β -galactosidase có tác dụng thủy phân lactose thành glucose và galactose; enzyme permease có tác dụng vận chuyển galactose vào tế bào và enzyme galactosyltransferase. Như vậy lactose là chất cảm ứng, làm gia tăng sự tổng hợp các enzyme trên.

Trên cơ sở đó, F. Jacob và J. Monod (1961) xây dựng thuyết về operon. Một nhóm gen phiên mã cho một phân tử ARN thông tin và chịu sự kiểm soát của một chất kìm hãm chung mà họ gọi là operon. Trong một operon gồm có gen chỉ huy và những gen cấu trúc liên kết chặt chẽ với nó. Khi chất kìm hãm (chất ức chế) kết hợp với gen chỉ huy thì quá trình phiên mã bị ức chế, nghĩa là protein không thể tổng hợp được, nhưng khi có mặt của một chất cảm ứng, ví dụ như lactose trong trường hợp *E. coli* thì chất cảm

ứng sẽ tác dụng với chất ức chế và do đó, nó không có thể kết hợp với gen chỉ huy nữa. Gen chỉ huy được tự do, lại bắt đầu quá trình phiên mã của cả operon, và như vậy m-ARN được tổng hợp và các protein cũng được tổng hợp. Protein ức chế gen chỉ huy được mã hóa trong gen điều hòa.

Sự cảm ứng cũng như sự ức chế trong quá trình tổng hợp protein là những hiện tượng thích nghi. Nếu như tế bào tổng hợp hàng loạt protein không cần thiết ở một thời điểm nào đó thì chỉ là sự tiêu tốn năng lượng và vật liệu một cách vô ích. Mô hình của operon cảm ứng và operon kìm hãm như sau:

4.2.5.1. Operon cảm ứng - Operon lactose ở E. Coli



Hình 4-6: Mô hình hoạt động của operon lactose

Từ kết quả thí nghiệm trên, cùng với những kết quả thu được về đột biến gen, F. Jacob và J. Monod đã đưa ra mô hình điều khiển operon lactose như Hình 4-6.

Cấu trúc của operon lactose gồm: gen điều hoà (R), promoter (P), operator (O) và ba gen cấu trúc là lacZ mã hóa cho enzyme β -galactosidase, lacY mã hóa cho enzyme permease và lacA mã hóa cho enzyme transacetylase.

Khi không có mặt lactose trong môi trường, gen điều hoà thường xuyên tổng hợp protein ức chế. Protein ức chế có ái lực với điểm điều hành (operator) nên nó gắn vào điểm điều hành, ngăn cản không cho enzyme RNA-polymerase thực hiện phiên mã, mRNA không thể tổng hợp được, operon đóng.

Khi có mặt lactose trong môi trường, nhờ enzyme permease có sẵn ở màng tế bào chuyển một lượng rất ít vào trong tế bào. Khi đã vào trong tế bào, lactose chuyển thành allolactose (có chứa liên kết β -1,6). Allolactose là chất cảm ứng, nó liên kết với protein kìm hãm. Phức hợp này không có ái lực với operator, nên không gắn lên operator được, lúc này, operon mở. RNA-polymerase thực hiện phiên mã các gen cấu trúc.

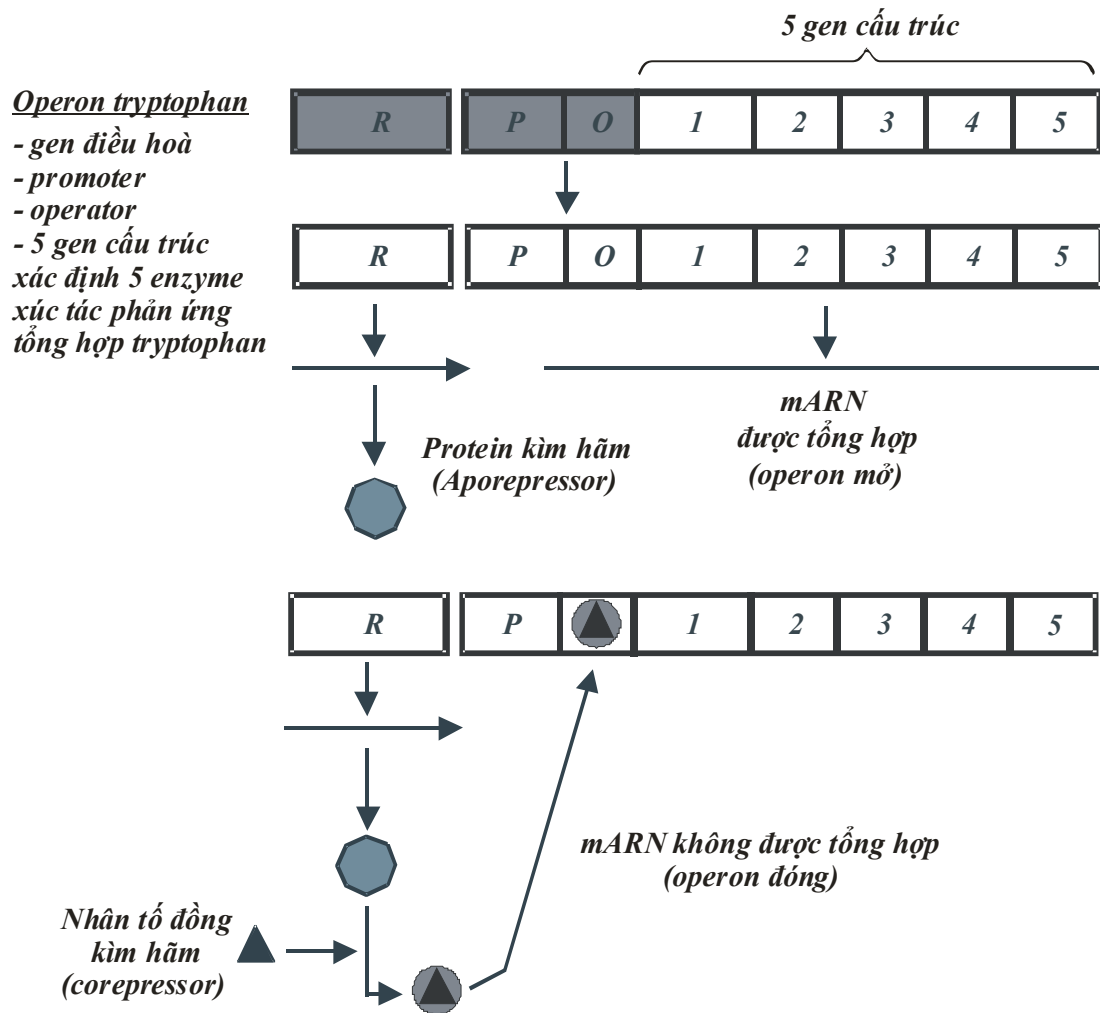
Phần lớn sự tổng hợp các enzyme hoạt động trong các quá trình phân giải ở tế bào được sự kiểm soát theo cơ chế của operon cảm ứng.

4.2.5.1. Operon kìm hãm - Operon tryptophan ở E. Coli

Operon tryptophan cũng có cấu trúc tương tự như operon lactose, nghĩa là, bao gồm gen điều hoà (R), promoter (P), operator (O) và 5 gen cấu trúc. Mỗi gen cấu trúc mã hóa cho một enzyme, xúc tác phản ứng tổng hợp tryptophan. Trong tế bào, tryptophan được tổng hợp bằng một chuỗi 5 phản ứng, mỗi phản ứng được xúc tác bằng một enzyme mã hóa trong operon. Năm gen cấu trúc mã hóa cho 5 enzyme, lần lượt được ký hiệu là trpE, trpD, trpC, trpB và trpA. Gen trpE nằm ngay sau vùng điều hoà, được phiên mã đầu tiên.

Hoạt động của operon tryptophan khác với operon lactose ở chỗ là protein kìm hãm, bản thân nó không có ái lực với operator nên khi đứng riêng một mình, nó không thể gắn vào điểm điều hành, nên operon mở. Ngược lại, khi protein kìm hãm kết hợp với chất đồng kìm hãm (corepressor), thì sẽ có ái lực với operator nên dễ dàng gắn vào đó, làm operon đóng. Hoạt động của operon có thể mô tả như Hình 4-7.

Như vậy, khi lượng tryptophan dư, operon đóng, còn khi thiếu tryptophan thì operon mở.



Hình 4-7: Mô hình hoạt động của operon tryptophan

Nhìn chung, cách điều hoà biểu hiện gen ở sinh vật procaryote chủ yếu được thực hiện ở giai đoạn phiên mã.

Chương V**DI TRUYỀN HỌC****5.1. NHIỄM SẮC THỂ VÀ SỰ PHÂN BÀO**

Mỗi nhiễm sắc thể, qua mọi pha của chu kỳ tế bào, vẫn bảo toàn đầy đủ đặc tính di truyền và hình thái của nó, bảo đảm sự ổn định về số lượng và toàn bộ đặc điểm cá thể của thể nhiễm sắc của loài. Sự tái sinh vật chất di truyền ở prokaryot (vi khuẩn, virus) được tiến hành ở các phân tử ADN; nhưng ở sinh vật bậc cao, nhiễm sắc thể là một phức hợp protein với ADN - như vậy, trong quá trình phân bào, nhiễm sắc thể cũng được tái sinh - tất nhiên, sự tái sinh của nhiễm sắc thể có liên quan với sự tái sinh của ADN.

Ở chương trước, chúng ta đã biết cấu tạo của nhiễm sắc thể: Mỗi nhiễm sắc thể chứa một ADN sợi kép nguyên vẹn, ADN này liên kết với protein ở dạng một phức hợp gọi là chất nhiễm sắc thể (chromatin). Trong nhiễm sắc thể có cả các protein bazơ (các histon) và protein axit (không có histon) liên kết với ADN, và đó chính là điểm đặc trưng của nhiễm sắc thể nhân chuẩn. Ngày nay người ta đã chứng minh rằng sự tái sinh của nhiễm sắc thể phù hợp với các định luật về sự tái sinh của ADN.

Trong các tế bào sinh vật tồn tại hai kiểu phân bào là nguyên phân và giảm phân:

- Nguyên phân là sự phân chia tế bào thành hai tế bào con giống hệt nhau về mặt di truyền. Trước khi bắt đầu nguyên phân, các nhiễm sắc thể được nhân đôi và sau đó chúng được phân bố về các tế bào con bằng quá trình phân chia.
- Giảm phân là sự phân chia tế bào thành các tế bào con, mỗi tế bào con có số lượng nhiễm sắc thể giảm đi một nửa. Sự giảm này phải tuân theo qui luật: nghĩa là trong sự giảm phân, các thành viên của mỗi cặp nhiễm sắc thể phân li nhau và đi vào các tế bào con khác nhau. Kết quả là trong mỗi tế bào con có một và chỉ một nhiễm sắc thể của mỗi cặp, tức là có một bộ đầy đủ các nhiễm sắc thể. Kiểu phân chia này xảy ra trong thời kỳ chín của các giao tử (các tế bào trứng và tinh trùng).

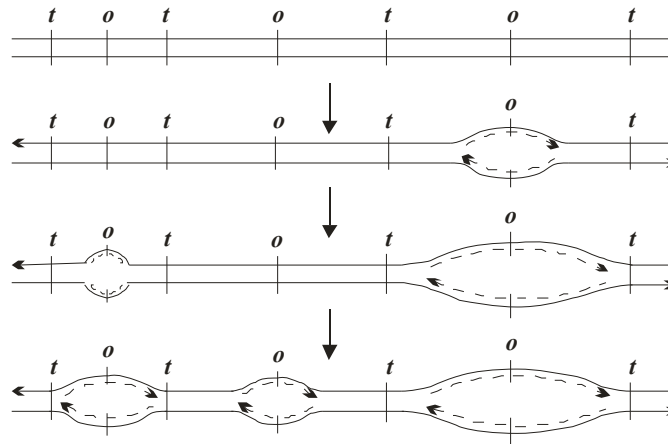
5.1.1. Chu trình tế bào - nguyên phân**5.1.1.1. Chu trình tế bào**

a,- Chu trình tế bào prokaryot đơn giản, đó là thời gian giữa lần phân chia này đến lần phân chia khác.

Chẳng hạn, khi nuôi cấy trên môi trường dinh dưỡng, các vi khuẩn tổng hợp ADN trong một chu trình tế bào, sau đó, hai tế bào con được sinh ra do thành tế bào mới được hình thành cắt ngang tế bào mẹ.

b,- Chu trình tế bào eukariot (nhân chuẩn) được chia ra làm bốn pha. Trình tự của các pha như sau:

- Pha G1; pha S (synthesis): pha G2 và pha M (nguyên phân: mitosis).
- Ba pha đầu gộp lại gọi là giai đoạn nghỉ hay *kỳ trung gian* (interphase). Thời gian của mỗi chu trình tế bào ở những sinh vật khác nhau có khác nhau.
- Pha G1 diễn ra tiếp theo nguyên phân. Trong pha này các nhiễm sắc thể biến đổi từ trạng thái kết đặc (xoắn mạnh) sang trạng thái kéo dài (ít xoắn vặn hơn và có hoạt tính phiên mã tăng lên). Thời gian của pha này dao động nhiều nhất giữa các tế bào cùng loại, người ta cho rằng sự dao động này tương quan với hàm lượng protein có trong tế bào. G1 là pha quan trọng đối với toàn bộ chu trình tế bào - vì những biến đổi về tốc độ sinh sản của các tế bào liên quan mật thiết với những biến đổi diễn ra trong pha G1. Ở một số sinh vật không có pha G1 rõ rệt (mốc nhầy, nấm men, ...).
- Pha S tiếp theo pha G1, trong pha này vật liệu di truyền của nhiễm sắc thể được nhân đôi. Sự sao chép ADN diễn ra theo kiểu nửa gián đoạn. ở prokariot (*E. coli*) có một điểm khởi đầu duy nhất trên nhiễm sắc thể. Nhưng ở tế bào eukariot, qua nghiên cứu người ta thấy rằng: ở mỗi nhiễm sắc thể có nhiều đơn vị sao chép (replication unit), còn gọi là các replicon. Mỗi replicon có một điểm khởi đầu và hai điểm kết thúc quá trình sao chép. Cách sao chép với nhiều đơn vị sao chép như vậy cần thiết cho số lượng ADN khổng lồ của sinh vật nhân chuẩn để có thể sao chép trong một đơn vị thời gian vừa phải.
- Quá trình sao chép bắt đầu từ điểm O, chuyển động theo hai chiều ngược nhau, tạo thành các vòng mở trên ADN. Quá trình này kết thúc khi các chạc sao chép kế cận hòa nhập vào nhau. Rõ ràng là trình tự chuyển động của các phức hệ sao chép mang tính đặc thù loài và nó được lặp lại ở mỗi thế hệ. Có bằng chứng cho thấy rằng ADN giàu GC được sao chép trước còn ADN giàu AT được sao chép sau trong pha S.
- Pha G2: trong pha này, các nhiễm sắc thể kết đặc lại chuẩn bị cho nguyên phân.



o : điểm khởi đầu sao chép trong đơn vị sao chép

t : điểm kết thúc

— : khuôn

- - : ADN mới tổng hợp

Hình 5-1: Trình tự thời gian trong việc khởi đầu sao chép ADN trong các đơn vị sao chép nhiễm sắc thể nhân chuẩn

Sự kết thúc của pha G2 báo hiệu sự bắt đầu của nguyên phân:

Xét theo ý nghĩa của từ ngữ thì "nguyên phân" (mitose) là sự phân chia nhân thành hai nhân con, còn phân bào chất là sự phân chia tế bào chất với sự hình thành hai tế bào con, mỗi tế bào con này chứa một nhân con. Mặc dù sự phân chia nhân và sự phân chia tế bào chất hầu như luôn luôn khá đồng thời và phối hợp với nhau nhưng đó vẫn là hai quá trình độc lập và khác biệt nhau. Nguyên phân là một quá trình liên tục, nhưng để tiện việc mô tả quá trình, các nhà sinh học phân chia một cách nhân tạo sự phân bào ra làm bốn giai đoạn hay là bốn kỳ - Kỳ trước - Kỳ giữa - Kỳ sau - Kỳ cuối (một số sách gọi là tiền kỳ, trung kỳ, hậu kỳ và mạt kỳ) còn giữa hai lần phân bào là kỳ trung gian:

1,- Kỳ trước:

Ở trong nhân, các nhiễm sắc thể bắt đầu co ngắn lại, mỗi nhiễm sắc thể đã được nhân đôi lên trong thời gian trước khi bắt đầu của kỳ trước. Mỗi nhiễm sắc thể mang cấu tạo đôi, liên kết với nhau ở vùng tâm động, tâm động này vẫn chỉ có một cái cho đến kỳ giữa.

Trong tế bào chất có một thể không lớn, có cấu tạo hạt gọi là trung tử. ở đầu kỳ, trung tử phân chia và các trung tử con đi về các mút đối diện của tế bào. Từ mỗi trung tử đó tỏa đi những sợi mảnh ở dạng tia, tạo thành hình

ngôi sao; giữa các trung tử phát sinh ra thoi phân bào gồm nhiều sợi chất nguyên sinh, được gọi là sợi thoi.

Những sợi thoi này được cấu tạo từ loại protein - mà về đặc tính thì giống các protein co rút của các sợi cơ. Các sợi thoi này sắp xếp theo dạng hình chóp, đỉnh là các cực gần chỗ trung tử và rộng ở phía giữa hay xích đạo. Trong thời gian các trung tử phân li nhau và các trung tử được hình thành thì các nhiễm sắc thể trong nhân co ngắn lại, trở nên ngắn và dày hơn. Nếu trước đó không thấy rõ là chúng gồm hai yếu tố thì bây giờ điều này được nhận thấy rõ rệt. Khi nhiễm sắc thể co ngắn tối đa và chúng trở thành những thể hình que ngắn, nhuộm màu đậm thì màng nhân biến mất và các nhiễm sắc thể đến sắp xếp ở mặt phẳng xích đạo của thoi được tạo thành, đến lúc này kết thúc kỳ trước.

2,- Kỳ giữa:

Kỳ giữa bắt đầu khi các nhiễm sắc thể đã nằm ở xích đạo của tế bào. Tâm động của nhiễm sắc thể phân chia và tạo thành hai nhiễm sắc thể con hoàn toàn riêng biệt. Sự phân chia các tâm động này xảy ra đồng thời trong tất cả các nhiễm sắc thể. Các trung tử con bắt đầu phân ly nhau.

3,- Kỳ sau:

Các nhiễm sắc thể bắt đầu phân ly nhau, cứ mỗi thành viên của mỗi cặp, tức là một nhiễm sắc thể con trong cặp đó thì đi về một cực của tế bào. Trong thời gian chuyển động về các cực thì các nhiễm sắc thể thường có dạng hình chữ V, đỉnh hướng về phía cực, tâm động sắp xếp ở đỉnh và hình như lực buộc nhiễm sắc thể chuyển động tới cực được qui tụ ở tâm động - vì chính ở tâm động, sợi thoi được giữ chặt. Trong trường hợp nhiễm sắc thể mất tâm động (ví dụ: dưới tác động của các tia rơngơn) thì hoàn toàn không thể chuyển động được trong thời gian phân bào.

4,- Kỳ cuối:

Khi các nhiễm sắc thể đạt đến các cực thì bắt đầu kỳ cuối. Sau khi đạt đến các cực thì các nhiễm sắc thể giãn ra, mất khả năng bắt màu mạnh và trở lại trạng thái của kỳ trung gian, xung quanh mỗi nhân con hình thành một màng nhân. Tiếp sau đó là sự phân chia tế bào chất. Trong tế bào động vật thì trên bề mặt của chúng - ở mặt xích đạo, xuất hiện một cái rãnh. Rãnh này ăn sâu dần và phân chia tế bào thành hai nửa - hai tế bào con mà mỗi tế bào con có một nhân. Trong tế bào thực vật sự phân chia tế bào chất xảy ra theo cách tạo thành vách tế bào, nó phát sinh ở vùng xích đạo của thoi và sau đó phát triển về mọi phía đạt đến thành tế bào. Tiếp đó mỗi tế bào con tạo nên ở về

phía vách tế bào của mình một màng bào chất, và cuối cùng ở cả hai phía của vách tế bào hình thành các thành xenlulose của tế bào.

5.1.2. Giảm phân

Giảm phân hay trước đây còn gọi là sự phân bào giảm nhiễm. Sự giảm phân - về thực chất, bao gồm hai lượt phân chia tế bào, trong đó, số lượng nhiễm sắc thể giảm đi một nửa. Quá trình này thường xảy ra trong quá trình hình thành các tế bào giới tính như tế bào trứng, tinh trùng hay trong quá trình hình thành các bào tử của thực vật. Ở các tế bào loại này có số nhiễm sắc thể bằng một nửa so với các tế bào khác trong cơ thể. Ví dụ: ở người có 46 nhiễm sắc thể, gồm 23 cặp, mỗi cặp có hai nhiễm sắc thể giống nhau, một cái từ bố và một cái từ mẹ, thì ở các tế bào giới tính chỉ có 23 nhiễm sắc thể, mỗi cái một kiểu loại, không lặp lại. Trước khi đi sâu vào các giai đoạn của sự giảm phân chúng ta cần biết một số thuật ngữ thường dùng với những khái niệm về chúng như:

- *Sự tiếp hợp của nhiễm sắc thể* là sự liên hợp các nhiễm sắc thể giống nhau theo từng cặp. Các nhiễm sắc thể giống nhau (tiếp hợp nhau trong quá trình giảm phân) gọi là *nhiễm sắc thể tương đồng*.
- Bộ nhiễm sắc thể chứa cứ mỗi chiếc mỗi kiểu loại gọi là *bộ đơn bội* (bộ đơn bội ở người là 23).
- Bộ nhiễm sắc thể chứa cứ hai chiếc mỗi kiểu loại gọi là *bộ lưỡng bội* (bộ lưỡng bội ở người là 46).

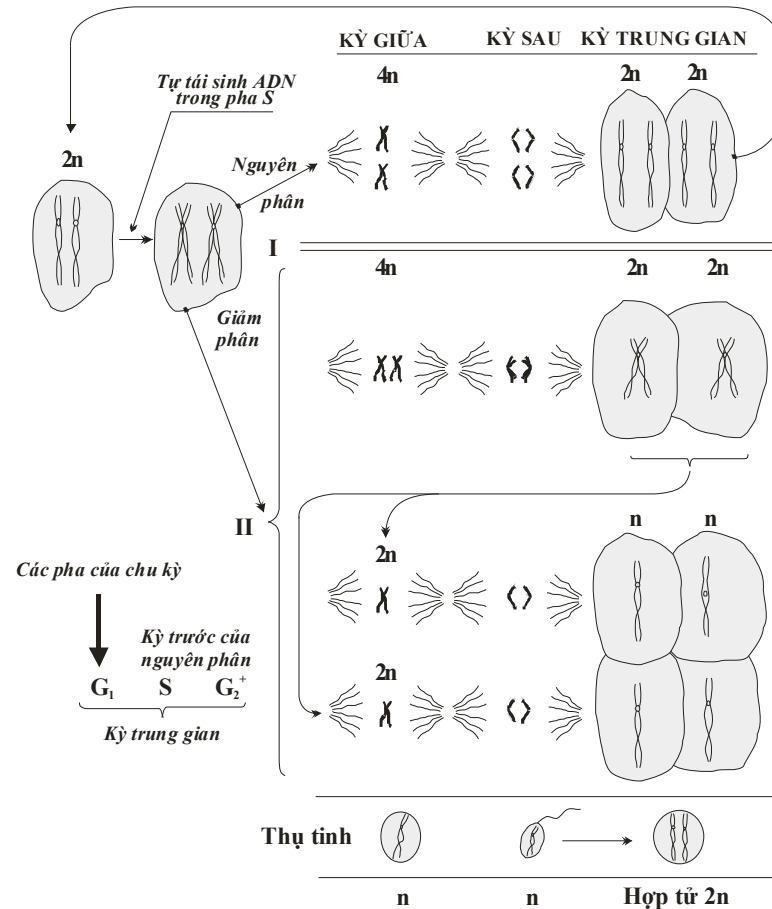
Quá trình giảm phân gồm hai lượt phân bào nhanh chóng kế tiếp nhau gọi là giảm phân thứ nhất và giảm phân thứ hai. Trong mỗi lần phân bào đó đều có bốn giai đoạn như ở phân bào nguyên phân.

Nhưng các giai đoạn ấy, đặc biệt là kỳ trước của lần giảm phân thứ nhất xảy ra rất khác so với kỳ trước của nguyên phân.

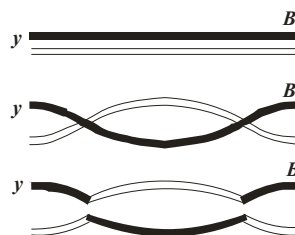
Ở đầu kỳ của kỳ trước, khi các nhiễm sắc thể vẫn còn dài và mảnh, các nhiễm sắc thể tương đồng tiếp hợp nhau, tức là đến gần nhau theo từng cặp, nằm sát nhau theo chiều dọc, cuộn xoắn lẫn nhau. Các nhiễm sắc thể tiếp tục co ngắn lại và dày lên. Lúc này thấy rõ mỗi nhiễm sắc thể có cấu tạo đôi, nghĩa là gồm hai sợi như trong nguyên phân.

Như vậy ở cuối kỳ trước của lần phân chia thứ nhất thì các nhiễm sắc thể được nhân đôi và tiếp hợp với nhau tạo thành từng cụm gồm bốn nhiễm sắc thể con (bốn nhiễm sắc thể tương đồng). Ở tế bào người gồm 23 bộ bốn, như vậy sẽ có tổng thể là 92 nhiễm sắc thể con ở giai đoạn này. Các nhiễm

sắc thể con còn gắn với nhau từng cặp một qua tâm động chưa phân chia (gọi là cromatit).



Hình 5-2: Mô hình so sánh giảm phân với nguyên phân



Hình 5-3: Sơ đồ bắt chéo 2 lần, trong đó, 2 thể nhiễm sắc cùng nguồn trao đổi nhau về các đoạn giữa của thể nhiễm sắc

Ở giai đoạn này, ngoài sự liên kết của các nhiễm sắc thể cùng nguồn còn có một hiện tượng quan trọng của giảm phân là sự trao đổi chéo các nhiễm sắc thể. Sau khi hình thành các bộ bốn, có giai đoạn, các nhiễm sắc thể duỗi xoắn và dài ra và người ta quan sát thấy sự tạo thành các hình chéo giống như X (bắt chéo các cromatit), tức là có sự trao đổi các đoạn cùng

nguồn giữa các cromatit không cùng nguồn trong bộ bốn. Số lượng các trao đổi chéo này có thể khác nhau trong bộ bốn. Chính K. Stec (1931) là người đầu tiên nêu lên những dẫn chứng trực tiếp về tế bào học của hiện tượng bất chéo.

Ngoài những nét đặc trưng riêng đó ra, các quá trình còn lại giống như kỳ trước của nguyên phân, nghĩa là trung tử cũng phân chia và hai trung tử con cũng đi về các cực đối diện của nhân, giữa các trung tử hình thành thoi vô sắc, màng nhân tan biến, các bộ bốn xếp ở xích đạo của thoi vô sắc. Tế bào bước vào kỳ giữa, ở thời gian này các tâm động không phân chia như ở phân bào nguyên nhiễm. Trong kỳ sau của đợt phân chia thứ nhất, các nhiễm sắc thể con được tạo nên từ mỗi nhiễm sắc thể vẫn được nối với tâm động của mình, phân li về các cực đối diện.

Như vậy, trong kỳ sau của đợt phân chia thứ nhất có sự phân li các nhiễm sắc thể tương đồng thuộc mỗi cặp, chứ không phải các nhiễm sắc thể con của mỗi nhiễm sắc thể như ở nguyên phân. Từ đó dẫn đến chỗ là trong kỳ cuối của lần phân chia thứ nhất ở mỗi cực của tế bào nhiễm sắc thể ở dạng đơn bội nhưng với cấu tạo kép đôi.

Ví dụ: ở người, trong phân chia giảm nhiễm ở giai đoạn này sẽ có 23 nhiễm sắc thể với cấu tạo kép đôi. Tiếp đến cũng xảy ra sự phân chia bào chất, nhưng không có tạo thành vách tế bào như ở nguyên phân, và giữa hai lần phân chia không có sự tổng hợp ADN. Giữa kỳ cuối của đợt phân chia thứ nhất và kỳ trước của đợt phân chia thứ hai xảy ra khá ngắn ngủi.

Trong lần phân chia thứ hai không có sự nhân đôi nhiễm sắc thể. Lần phân chia thứ hai bắt đầu bằng sự phân chia trung tử, trong mỗi tế bào tạo thành thoi mới thẳng góc với thoi của lượt chia thứ nhất và ở mặt xích đạo của thoi mới được xếp số đơn bội nhiễm sắc thể kép đôi, tiếp sau đó là các tâm động phân chia và các nhiễm sắc thể con phân li và đi về các cực đối diện. Sau đó thì bào chất phân chia, các nhiễm sắc thể dần dần duỗi ra, trở thành các sợi nhiễm sắc và màng nhân được tạo thành.

Do kết quả của hai lần phân chia liên tiếp của quá trình giảm phân mà tạo thành bốn nhân, trong mỗi nhân chỉ chứa một bộ đơn bội nhiễm sắc thể. Về sau này, trong quá trình thụ tinh từ hai bộ đơn bội sẽ tạo thành một bộ lưỡng bội.

5.2. CÁC ĐỊNH LUẬT DI TRUYỀN MENDEL

Mendel đã đề xướng học thuyết về gen và nêu lên các định luật về sự truyền đạt các tính trạng di truyền từ bố mẹ cho con cái từ năm 1865, nhưng mãi đến 1900 ngành di truyền học mới bắt đầu được chú ý.

Trong các phần trước chúng ta đã tìm hiểu về vật chất của di truyền như ADN, ARN, nhiễm sắc thể, sự phân chia tế bào, ... Trong phần này, chúng ta sẽ xét đến các mối quan hệ giữa qui luật vận động của nhiễm sắc thể và sự phân ly của các gen mà Mendel đã nghiên cứu.

5.2.1. Di truyền trong trường lai với một cặp tính trạng

Để làm thí nghiệm lai, Mendel đã chọn 22 thứ đậu có những sai khác tương phản rõ nét về các tính trạng như: hạt tròn hoặc méo, lá mầm vàng hoặc xanh, vỏ hạt xám hoặc trắng, hạt trơn hoặc nhăn nheo, cây cao hay thấp, ... Qua nhiều năm nghiên cứu bằng phương pháp tự thụ phấn, ông đã thấy những đậu này là những dạng thuần chủng về mặt di truyền.

Khi cho lai giữa các loại khác nhau về những tính trạng tương phản như tròn - méo; đầy đặn hoặc nhăn nheo; xám hoặc trắng, ... ông thấy rằng: những cây lai ở thế hệ thứ nhất (F1) chỉ biểu hiện một tính trạng trong từng cặp tương ứng, Mendel gọi những tính trạng đó là những tính trội, các tính trội trong các cặp tính trạng giới thiệu như: hạt tròn, độ đầy đặn của quả (tròn), màu xám của vỏ hạt. Còn tính trạng tương phản kia (méo, nhăn nheo, màu trắng của vỏ hạt) ông gọi là tính lặn.

Hiện tượng cây lai đời thứ nhất chỉ biểu hiện một tính trạng trội trong cặp tính trạng của bố, mẹ. Mendel gọi là qui luật của tính trội. Tính chất đặc trưng của các cây lai khi cho lai các dạng thuần chủng về mặt di truyền là sự đồng tính ở đời thứ nhất. Mendel biểu thị yếu tố di truyền của tính trội bằng chữ "A" còn tính lặn bằng chữ "a". Quá trình lai đó được mô tả như sau:

$$\begin{array}{ccc}
 \text{Giao tử của bố mẹ:} & \text{A (quả tròn)} & \times & \text{a (quả nhăn nheo)} \\
 & \downarrow & & \\
 \text{Thế hệ thứ nhất (F1):} & & & \text{Aa (tròn)}
 \end{array}$$

Đó là sự phân tích quá trình lai với một cặp tính trạng. Vì các tính trạng trội và lặn biểu hiện ra trong hiện tượng lai như là những đặc tính độc lập, nên Mendel đã nêu lên quan niệm xác đáng cho rằng tính di truyền của chúng bắt nguồn từ sự có mặt của một cặp yếu tố.

Sau khi tạo được thế hệ thứ nhất, trong đó tính trội được biểu hiện còn tính lặn không biểu hiện. Vấn đề đặt ra đối với Mendel là sự không biểu hiện của tính lặn là do nó bị thủ tiêu hay nằm ở trạng thái ẩn.

Để giải quyết vấn đề này, ông cho tự thụ phấn các cây lai đời thứ nhất. Kết quả cho thấy ở thế hệ thứ hai (F2) bên cạnh những cá thể mang tính trội xuất hiện những cây mang tính lặn mà ở thế hệ thứ nhất chưa biểu hiện, nằm dưới dạng ẩn. Do sự lẫn át của tính trạng trội nên những đặc tính đó chịu ẩn bên trong tính di truyền phức tạp của cây lai. Tỷ lệ trung bình của trội so với lặn là 3/1.

Các cây ở thế hệ thứ hai có kiểu hình (phenotyp) giống nhau, để phân biệt kiểu gen (genotyp) có giống nhau không ông đã dùng phép lai phân tích, tức là đem lai chúng với dạng đồng hợp tử lặn (thuần chủng mang tính trạng lặn) tức là :

$$\begin{array}{ccc}
 \text{A A (trơn)} \times \text{aa (nhăn)} & & \text{Aa (trơn)} \times \text{aa (nhăn)} \\
 \downarrow & & \downarrow \\
 \text{F1: Aa (tất cả trơn)} & & \text{F2: } \frac{1}{2} \text{ Aa (trơn)} \\
 & & \frac{1}{2} \text{ aa (nhăn)}
 \end{array}$$

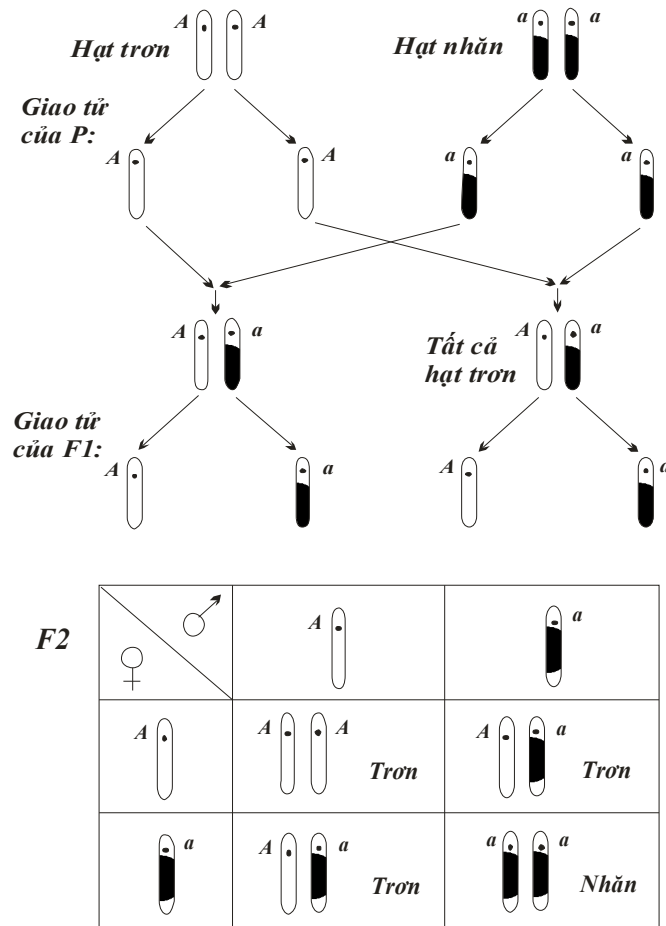
Như vậy: 1/3 số cá thể của F2 mang genotyp là AA còn 2/3 là Aa và 1/3 là aa. Hiện tượng tính trạng lặn tồn tại ở dạng ẩn qua một thế hệ của cây lai rồi sau đó xuất hiện đã dẫn Mendel đến một quan niệm về sự tồn tại của các yếu tố di truyền. Quan niệm này đặt nền móng cho học thuyết gen ngày nay. Mỗi tính trạng biểu hiện là do một gen mã hóa trong ADN. Hai tính trạng tương phản mà Mendel đã chọn như ở trên là biểu hiện của gen nằm trên cùng vị trí của hai nhiễm sắc thể tương đồng. Những cặp tính trạng như vậy người ta gọi là cặp *alen*.

Ngày nay người ta giải thích các định luật của Mendel theo thuyết nhiễm sắc thể. Hai nhiễm sắc thể tương đồng của tế bào bố và mẹ mang các alen AA (trội) và aa (lặn), các alen này nằm ở vị trí tương ứng trên nhiễm sắc thể của bố, mẹ (Hình 5-4).

Từ các số liệu thu được đó Mendel đã phát biểu định luật phân li của ông, định luật đó có thể tóm tắt như sau:

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

Định luật này là định luật phân li tính trạng của Mendel.



Hình 5-4: Mô hình biểu diễn thuyết nhiễm sắc thể

Điều kiện nghiệm đúng của định luật đồng tính và định luật phân li là:

- Các cặp bố, mẹ phải thuần chủng về tính trạng,
- Tính trạng trội phải trội hoàn toàn và số cá thể phân tích phải lớn.

Hiện tượng trội không hoàn toàn

Trong các thí nghiệm của Mendel nói trên, một tính trạng là trội hoàn toàn so với tính kia nên ở thế hệ lai F1 kiểu hình biểu hiện tính trội.

Nhưng không phải bao giờ cũng thế, đối với nhiều tính trạng quan sát thấy hiện tượng trội không hoàn toàn, nghĩa là các kiểu gen AA, Aa và aa mỗi kiểu có một kiểu hình. Ví dụ: màu hoa của cây - người ta thấy, nếu AA cho màu đỏ, aa cho màu trắng thì Aa sẽ cho màu hồng.

Như vậy nếu lai cây hoa màu đỏ (thuần chủng) với cây hoa màu trắng (thuần chủng) ở thế hệ F1 sẽ có hoa màu hồng, nếu tiếp tục lai các cây hoa màu hồng với nhau thì ở thế hệ thứ hai (F2) sẽ cho các cây có hoa màu đỏ,

hồng và trắng với tỉ lệ 1:2:1. Cho đến nay người ta quan sát thấy hiện tượng trội không hoàn toàn ở nhiều sinh vật khác nhau, cả động vật và thực vật.

Hiện tượng đa alen (dãy alen)

Sự khác nhau giữa các alen phát sinh qua con đường đột biến. Ví dụ một alen ban đầu là A đột biến thành alen lặn a, hoặc ngược lại a đột biến thành A thì đó là những đột biến thuận, nghịch. Nhưng quá trình đột biến không phải chỉ giới hạn đơn giản ở sự biến đổi lẫn nhau, mà các đột biến có thể tạo thành một số các trạng thái khác nhau. Do sự đột biến như vậy sẽ dẫn đến tạo thành dãy alen A1, A2, A3, A4, ...

Như vậy dãy đa alen là trường hợp khi các trạng thái bền vững cùng một gen, nằm trong một locut nhất định trong nhiễm sắc thể (bao gồm các alen bình thường cũng như mọi đột biến của chúng).

Hiện tượng này là một trong những hiện tượng quan trọng trong quá trình biến dị di truyền sinh vật. Nó chứng tỏ mỗi gen có thể biến dị đa dạng, ảnh hưởng rất khác nhau đến sự phát triển các tính trạng. Ví dụ màu đỏ của mắt ruồi dấm hoang dại được qui định bởi gen W. Khi gây đột biến gen này người ta nhận được một số gen alen với W qui định nhiều kiểu hình khác nhau như:

- W: đỏ; w: trắng; Wi: màu ngà voi; Wh: màu mật; Wa: mơ; Wch: màu anh đào; Wbl: màu xám, ... (các gen này nằm cùng một locut).
- Thành phần dãy alen có thể có hàng chục trạng thái alen khác nhau cùng một gen.

5.2.2. Di truyền trong trường hợp lai với hai cặp tính trạng

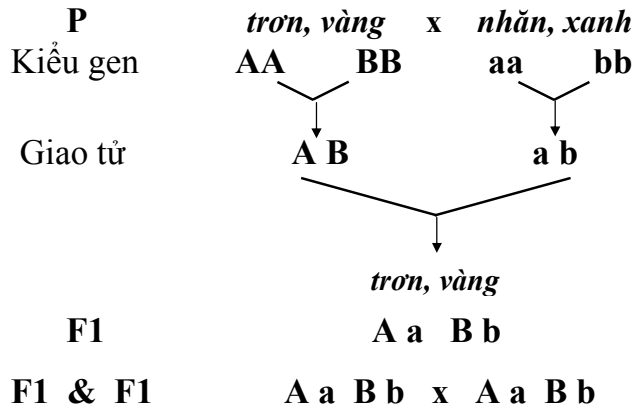
Để nghiên cứu di truyền trong trường hợp lai hai cặp tính trạng Mendel dùng hai loại đậu Hà lan có hạt vàng-trơn với xanh-nhăn thuần chủng.

Ở thế hệ đầu (F1), kết quả nhận được đều đồng tính là hạt trơn màu vàng. Kết quả này phù hợp với định luật đồng tính, và kết quả cho thấy tính trạng hạt trơn, màu vàng đều là tính trội. Ở thế hệ thứ hai (F2), ông thấy các tính trạng phân li và ông thu được bốn kiểu hình là: vàng-trơn; vàng-nhăn; xanh-trơn và xanh-nhăn, với tỉ lệ là 9:3:3:1.

Như vậy, mỗi cặp tính trạng tương phản đều phân ly theo đúng định luật phân li như đã giới thiệu ở phần trên và các tính trạng này không phụ thuộc nhau. Từ đó ông rút ra là:

Khi lai hai cơ thể thuần chủng khác nhau về hai hay nhiều cặp tính trạng tương phản thì sự di truyền của cặp tính trạng này không phụ thuộc vào sự di truyền của cặp tính trạng kia.

Ngày nay định luật về sự phân li độc lập của các cặp tính trạng được giải thích trên cơ sở của gen và nhiễm sắc thể. Để xác định kiểu gen và kiểu hình trong trường hợp lai này có thể xây dựng sơ đồ mà trong đó hai tính trạng trơn-vàng là do các gen trội AA và BB và tính trạng nhăn-xanh do các gen lặn aabb như sau:



$\alpha \backslash -$	AB	Ab	aB	ab
AB	AABB <i>vàng trơn</i>	AABb <i>vàng trơn</i>	AaBB <i>vàng trơn</i>	AaBb <i>vàng trơn</i>
Ab	AABb <i>vàng trơn</i>	Aabb <i>xanh trơn</i>	AaBb <i>vàng trơn</i>	Aabb <i>xanh trơn</i>
aB	AaBB <i>vàng trơn</i>	AaBb <i>vàng trơn</i>	aaBB <i>vàng nhăn</i>	aaBb <i>vàng nhăn</i>
ab	AaBb <i>vàng trơn</i>	Aabb <i>xanh trơn</i>	aaBb <i>vàng nhăn</i>	aabb <i>xanh nhăn</i>

Tổng quát lại, sự phân ly theo kiểu hình là 9 vàng trơn : 3 xanh trơn : 3 vàng nhăn : 1 xanh nhăn. Cần chú ý 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, Mendel có nhận xét rằng tỉ lệ phân li 9: 3:3:1 khi xem xét đồng thời hai tính trạng trong một phép lai chính là sự kết hợp của hai tỉ lệ phân li 3:1 khi xem xét từng cặp tính trạng riêng biệt.

Xét cặp tính trạng Aa trên bảng trên ta có 12A : 4aa hay 3A : 1aa, tương tự như vậy đối với cặp tính trạng Bb là 12B : 4bb. Từ đó Mendel xây dựng định luật thứ ba của mình gọi là định luật *nguyên lý di truyền độc lập*.

Theo nguyên lý này, các gen nằm trên nhiễm sắc thể không tương đồng khác nhau thì vận động độc lập trong quá trình tạo thành giao tử, nghĩa là sự di truyền của các tính trạng độc lập, không phụ thuộc nhau.

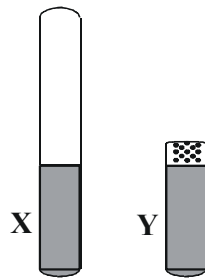
5.3. SỰ DI TRUYỀN KHÔNG THEO CÁC ĐỊNH LUẬT MENDEL

5.3.1. Di truyền giới tính

5.3.1.1. Nhiễm sắc thể giới tính

Bộ nhiễm sắc thể của các tế bào động vật gồm các nhiễm sắc thể thường và nhiễm sắc thể giới tính. Ví dụ ở người có 23 cặp nhiễm sắc thể thì có 22 cặp nhiễm sắc thể thường và một cặp nhiễm sắc thể giới tính. Nhiễm sắc thể thường hoàn toàn giống nhau ở cả thể đực và cả thể cái, còn cặp nhiễm sắc thể giới tính thì khác nhau giữa cá thể đực và cá thể cái. Trong phần lớn các trường hợp cá thể đực có hai nhiễm sắc thể khác nhau ký hiệu là XY còn cá thể cái có hai nhiễm sắc thể giống nhau, ký hiệu là XX.

Nhiễm sắc thể X và Y là hai nhiễm sắc thể không tương đồng, một số gen ở trên nhiễm sắc thể X không có alen ở bên Y, ngược lại một số gen ở trên Y không có alen ở bên X và có một số gen thì có cả ở trên X và trên Y.



Hình 5-5: Biểu diễn cấu trúc của nhiễm sắc thể giới tính ở người

Phần để trắng chứa các gen có ở trên X mà không có alen tương đồng bên Y. Phần chấm đen chứa các gen có trên Y mà không có alen tương đồng trên X. Phần sẫm màu mang các gen có cả trên Y và trên X.

Các gen trên nhiễm sắc thể giới tính không chỉ qui định giới tính (đực, cái) mà còn qui định một số tính trạng khác nhưng liên kết với một giới tính nhất định.

5.3.1.1. Sự xác định giới tính và di truyền giới tính ở ruồi dấm

a,- Sự xác định giới tính

Như chúng ta đã biết ở người có 23 cặp nhiễm sắc thể, trong đó 22 cặp nhiễm sắc thể thường và một cặp nhiễm sắc thể giới tính. Ở nữ có hai nhiễm sắc thể giới tính giống nhau XX.

Phụ nữ chỉ tạo một loại tế bào trứng gồm 22 nhiễm sắc thể thường và 1 nhiễm sắc thể giới tính X (22A + X) nên gọi là **giới đồng giao tử**. Nam giới cũng có 22 cặp nhiễm sắc thể thường và một cặp nhiễm sắc thể giới tính, cặp

nhiễm sắc thể giới tính của nam giới không giống nhau, một X và một Y, nên đàn ông có hai loại tinh trùng, một loại gồm 22 cặp nhiễm sắc thể thường và một nhiễm sắc thể X ($22A + X$) còn loại kia là 22 cặp thường và một nhiễm sắc thể Y ($22A + Y$), vì vậy còn gọi là *giới dị giao tử*.

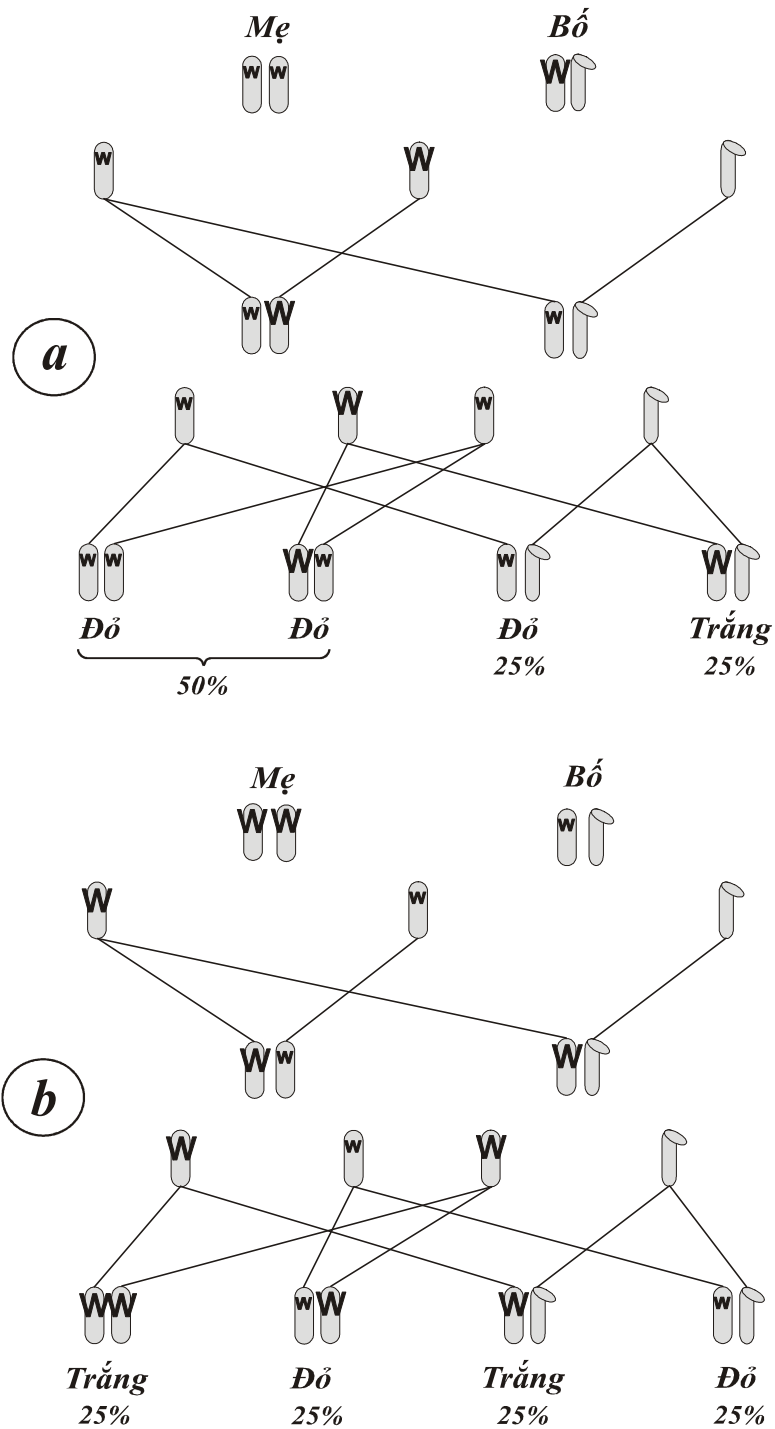
Khi thụ tinh, nếu tinh trùng mang ($22A + X$) phối hợp với tế bào trứng ($22A + X$) thì hợp tử sẽ có cặp nhiễm sắc thể giới tính là XX và sẽ phát triển thành con gái. Nếu tinh trùng mang ($22A + Y$) phối hợp với tế bào trứng ($22A + X$) thì hợp tử sẽ có cặp nhiễm sắc thể giới tính là XY và sẽ phát triển thành con trai.

Ở các loài sinh vật khác nhau thì sự xác định giới tính dựa vào sự phân bố các cặp nhiễm sắc thể XX và XY cũng không giống nhau. Động vật có vú, ruồi dấm, một số thực vật như cây gai, cây chua me, ... thì cá thể cái mang cặp nhiễm sắc thể giới tính XX còn cá thể đực mang cặp XY giống như ở người. Trái lại, ở các loài chim, gà, ếch nhái, giống bò sát, bướm, dâu tây, ... thì cá thể cái mang cặp nhiễm sắc thể giới tính là XY, còn cá thể đực mang cặp XX. Ở một số loài như bọ xít, châu chấu, rệp, cặp nhiễm sắc thể giới tính của con cái là XX, trong khi đó cặp nhiễm sắc thể giới tính của con đực là XO. Vì vậy con đực cho ra hai loại giao tử, một loại mang nhiễm sắc thể giới tính X còn loại kia không mang nhiễm sắc thể giới tính nào. Ngược lại, cũng có loài (bọ nhậy) thì con đực mang cặp nhiễm sắc thể giới tính là XX và con cái mang cặp XO.

b,- *Di truyền của các gen liên kết với nhiễm sắc thể giới tính ở ruồi dấm*

Ruồi dấm có 8 nhiễm sắc thể chia làm bốn cặp, trong đó 3 cặp nhiễm sắc thể thường và một cặp nhiễm sắc thể giới tính. Các gen qui định màu mắt đỏ hay trắng nằm trong nhiễm sắc thể X. Ở ruồi dấm bình thường thì mắt có sắc tố đỏ, nhưng trong một số trường hợp người ta tìm thấy những ruồi đực và ruồi cái có mắt màu trắng.

Nếu đem lai ruồi đực có mắt trắng với ruồi cái mắt đỏ bình thường thì ở thế hệ đầu (F1) chỉ xuất hiện ruồi mắt đỏ, cả ruồi đực và ruồi cái, như vậy gen di truyền màu mắt đỏ là gen trội, còn gen thể hiện màu mắt trắng là gen lặn. Ở F2, mọi ruồi cái đều có mắt đỏ, còn ruồi đực thì một nửa số lượng là mắt đỏ, nửa còn lại mắt trắng (Hình 5-6a). Nếu ta xét di truyền các tính trạng này thì ta thấy sự di truyền các tính trạng này hoàn toàn tuân theo qui luật khi gen qui định màu mắt đỏ nằm trên nhiễm sắc thể X.



Hình 5-6: Các gen liên kết với giới tính

Nếu đem lai ruồi đực có mắt đỏ với ruồi cái có mắt trắng thì ở F₁, mọi ruồi đực đều mang màu mắt của mẹ (mắt trắng) vì ruồi đực nhận nhiễm sắc thể X của mẹ có chứa gen qui định màu mắt trắng, còn mọi ruồi cái đều mang màu mắt của cha (mắt đỏ) vì ruồi cái nhận hai nhiễm sắc thể X một của mẹ và

một của bố, và do gen qui định màu mắt đỏ của bố là gen trội nên kiểu hình của nó màu đỏ.

- Hình 5-6b: Biểu diễn hiện tượng này - gọi là sự di truyền chéo vì con cái tiếp thu tính trạng của bố còn con đực tiếp thu tính trạng của mẹ. Ở thế hệ thứ hai thì thấy 1/2 số ruồi cái có màu mắt trắng, nửa còn lại có màu mắt đỏ (dị hợp thể) và ở ruồi đực cũng vậy 1/2 trắng, 1/2 đỏ. Sự phân ly tính trạng như vậy khẳng định rằng gen W qui định màu mắt của ruồi dấm nằm trên nhiễm sắc thể X.

Cần lưu ý là sự di truyền các tính trạng liên kết với giới tính theo kiểu này có hai đặc điểm quan trọng là kết quả của phép lai thuận khác phép lai nghịch, và có hiện tượng di truyền chéo. Sự di truyền theo kiểu này còn gọi là sự di truyền liên kết giới tính hoàn toàn.

Ngoài ra còn gặp trường hợp gen nằm trên nhiễm sắc thể Y không tương đồng bên X, thì tính trạng chỉ thể hiện ở cá thể đực, nghĩa là cá thể có mang nhiễm sắc thể Y. Cũng có trường hợp gen tồn tại cả ở Y và X, tức là gen nằm ở đoạn tương đồng của hai nhiễm sắc thể. thì ở phép lai xuôi và ngược sẽ như sau:

bố mẹ:	Xa Xa & XA YA	;	XA XA & Xa Ya
F1:	Xa XA ; Xa YA	;	XA Xa ; XA Ya
F2:	Xa Xa ; XA Xa: con cái	;	XA XA ; Xa XA: con cái
	Xa YA ; XA YA: con đực	;	XA YA ; Xa Ya: con đực

Như vậy nếu ở thế hệ đầu, bà mang gen lặn thì 1/2 số cháu gái sẽ thể hiện đặc tính di truyền của bà. Ngược lại nếu bà mang gen trội thì 1/2 số cháu trai sẽ thể hiện đặc tính di truyền của bà.

5.3.2. Những biến đổi của nhiễm sắc thể

5.3.2.1. Sự không phân ly của các nhiễm sắc thể

Khi quan sát thể nhiễm sắc dưới kính hiển vi, người ta thấy có trường hợp hai nhiễm sắc thể X dính vào nhau ở ruồi dấm. Nghĩa là nó không có khả năng phân li trong giảm phân, và khi có đột biến như vậy thì sẽ dẫn đến cả hai nhiễm sắc thể X cùng nằm trong một giao tử. Khi kết hợp với tinh trùng mang nhiễm sắc thể Y trong thụ tinh thì người ta thấy con cái có nhiễm sắc thể giới tính dạng XXY.

Thể nhiễm sắc Y bổ sung vào đây được xem như là thể nhiễm sắc cùng cặp khi liên kết với thể nhiễm sắc X dính nhau. Quá trình đó được biểu diễn bằng sơ đồ sau:

(con cái mắt đỏ) $XXYm$ x (con đực mắt trắng) xYb

F1: XXx (cái, chết) ; $XXYb$ (cái, mắt đỏ, sống)
 xYm (đực, mắt trắng) ; $YmYb$ (đực, chết)

F2: XXx (cái ; chết) ; $XXYm$ (cái, mắt đỏ)
 xYb (đực, mắt trắng) ; $YbYm$ (đực, chết)

Các ruồi cái có ba nhiễm sắc thể X thường không sống được, cũng như ruồi đực mang hai nhiễm sắc thể Y thường chết trong giai đoạn trứng thụ tinh.

Có hai điểm cần chú ý trong trường hợp này là:

- Tất cả các gen nằm trong các nhiễm sắc thể XX dính nhau qua các thể hệ liên tiếp chỉ truyền lại sau theo dòng ruồi cái, còn tất cả các gen nằm trên nhiễm sắc thể X đơn độc thì chỉ truyền lại theo dòng ruồi đực. Ruồi đực mang nhiễm sắc thể X từ bố, ruồi cái mang nhiễm sắc thể dính nhau XX từ mẹ.
- Sự có mặt của nhiễm sắc thể Y ở đây cũng không quyết định sự phát triển thành giống đực. Trong trường hợp này vai trò quyết định là số lượng nhiễm sắc thể X, khi có hai nhiễm sắc thể X thì phát triển thành ruồi cái, ngược lại khi có một nhiễm sắc thể X thì phát triển thành ruồi đực.

Sự dính nhau của các nhiễm sắc thể không phải chỉ xảy ra riêng đối với nhiễm sắc thể X mà cũng có thể xảy ra với nhiễm sắc thể Y. Trong khi nghiên cứu về các biểu hiện giới tính bất bình thường người ta phát hiện ở người có thể có 47 hoặc 45 nhiễm sắc thể, thay vì 46 nhiễm sắc thể bình thường.

Hội chứng **Klinefelter** là trường hợp ở nam giới có 47 nhiễm sắc thể, tức nhiễm sắc thể giới tính có dạng XXY (hai nhiễm sắc thể). Tương tự người ta cũng tìm thấy ở người có thể có nhiễm sắc thể giới tính bất bình thường như XXYY, XXXY, XXXYY và XXXXY. Nhưng cơ thể này vô sinh và phát triển bất bình thường.

Hội chứng **Turner** là trường hợp ở nữ có 45 nhiễm sắc thể, tức nhiễm sắc thể giới tính có dạng XO. Những cơ thể này vô sinh và phát triển bất bình thường.

5.3.2.2. Đột biến cấu trúc nhiễm sắc thể

Đột biến tức là sự thay đổi cấu trúc của nhiễm sắc thể hay của gen làm biến đổi di truyền của chúng. Đột biến tạo nên sự đa dạng của nguyên liệu di truyền. Đột biến nhiễm sắc thể là những biến đổi thấy được trong cấu trúc

nhiễm sắc thể. Những biến đổi ấy có thể là **mất đoạn**, **đảo đoạn**, **lặp đoạn** và **chuyển đoạn**. Sơ đồ minh họa các quá trình đó như sau:

Sự sắp xếp các gen trong một đoạn nhiễm sắc thể bình thường:

A	B	C	D	E	G
----------	----------	----------	----------	----------	----------

1,- **Mất đoạn**

Khi bị mất một đoạn nào đó ví dụ đoạn D thì sự sắp xếp mới là:

A	B	C	E	G
----------	----------	----------	----------	----------

Đoạn bị mất có thể nằm ở đoạn đầu cùng hoặc ở khoảng giữa đầu mút và tâm động. Đột biến mất đoạn thường gây chết hoặc giảm sức sống - ví dụ ở người khi bị đột biến mất đoạn ở nhiễm sắc thể 21 sẽ gây ung thư máu. Nhưng trong một số trường hợp ví dụ ở ngô, ruồi dấm thì hiện tượng mất đoạn nhỏ không làm giảm sức sống đáng kể, vì vậy trong những trường hợp này có thể lợi dụng để loại bỏ những gen không mong muốn.

2,- **Lặp đoạn**

Lặp đoạn là khi một đoạn nào đó lặp lại, ví dụ sự lặp đoạn xảy ra ở B:

A	B	B	C	D	E	G
----------	----------	----------	----------	----------	----------	----------

Một đoạn nào đó của nhiễm sắc thể có thể lặp lại một hay nhiều lần. Sự lặp đoạn của nhiễm sắc thể có thể làm giảm hoặc cũng có thể làm tăng cường độ biểu hiện của tính trạng.

Ví dụ: ở ruồi dấm lặp đoạn hai lần trên nhiễm sắc thể X làm cho mắt lồi thành mắt dẹt, lặp đoạn 3 lần làm cho mắt càng dẹt hơn. ở đại mạch có đột biến lặp đoạn làm tăng hoạt tính của enzyme amilase.

3,- **Đảo đoạn**

Đảo đoạn là một đoạn có thể quay 180 độ nhưng vẫn nằm trong nhiễm sắc thể ấy, đoạn bị đảo có thể chứa hoặc không chứa tâm động. Đột biến đảo đoạn thường ít ảnh hưởng đến sức sống của cá thể. Vì vậy có thể gây đột biến bằng cách đảo đoạn để tăng cường sự sai khác giữa các nhiễm sắc thể tương ứng trong các nòi thuộc cùng loài.

4,- **Chuyển đoạn**

Hiện tượng chuyển đoạn có thể diễn ra:

A	E	C	D	B	G
---	---	---	---	---	---

Sự chuyển đoạn có thể diễn ra trong cùng một nhiễm sắc thể hoặc giữa hai nhiễm sắc thể không tương đồng. Khi có đột biến chuyển đoạn lớn thường gây chết hoặc bị vô sinh. Trong một số trường hợp ví dụ ở đậu, lúa, chuối người ta cũng đã gây chuyển những đoạn ngắn, đó là những nhóm gen mong muốn từ nhiễm sắc thể của loài này sang nhiễm sắc thể của loài khác.

5,- Đột biến gen

Đột biến gen là những biến đổi trong cấu trúc phân tử ADN mà không thể thấy được dưới kính hiển vi. Thường là thay đổi một nucleotit này bằng một nucleotit khác ở codon này hoặc codon khác dưới tác động của các tác nhân lý, hóa, ngoại cảnh hoặc những rối loạn trong các quá trình sinh lý, sinh hóa của tế bào.

Đột biến gen cấu trúc thường biểu hiện thành một biến đổi đột ngột, gián đoạn về một hoặc một số tính trạng nào đó trên một hoặc một số cá thể nào đó. Đột biến gen cấu trúc sẽ gây rối loạn trong quá trình sinh tổng hợp protein (đặc biệt là sinh tổng hợp enzyme). Đột biến gen thường có hại cho cơ thể, song trong một số trường hợp có thể vô hại (trung tính) và trong một số trường hợp lại có lợi (ở lúa có thể đột biến làm tăng số bông trên khóm, có thể đột biến làm tăng số hạt trên bông ở giống Trâu châu lùn).

5.3.3. Các gen ngoài nhân

Vào đầu thế kỷ 20 người ta phát hiện ra rằng một số tính trạng được di truyền cho con cháu không phải do các gen nằm trong nhân mà chỉ liên quan đến tế bào chất. Những tính trạng như vậy được di truyền theo dòng mẹ vì hợp tử nhận được tế bào chất từ tế bào trứng chứ không phải từ tinh trùng.

Như ở chương trước chúng ta đã biết có những phân tử ADN nằm ngoài nhân như ADN của ti thể, lục thể. Các ti thể chứa ADN-polymerase nên nó có thể thực hiện được sự tái bản ADN của nó và không phụ thuộc vào ADN-polymerase ở nhân. Vì vậy việc tái bản ADN của ti thể hoàn toàn không phụ thuộc vào nhân. ADN của ti thể được tổng hợp và phân giải nhanh hơn ADN nhân. ADN của ti thể chỉ chứa thông tin di truyền một số ít tính trạng nào đó, còn phần lớn do các gen ở nhân kiểm soát.

Hiện nay người ta đã xác định được rằng ADN ti thể chứa khoảng 50 gen. Gần đây bằng cách gây đột biến ADN ti thể người ta đã nhận được những tế bào đột biến (tế bào nhỏ) ở *Sac. cerevisiae*.

Lục thể cũng có chứa ADN và ARN, tương tự như ở ti thể chúng có khả năng sinh trưởng và phân chia độc lập, cũng như có khả năng tổng hợp

các protein đặc trưng. Tảo đơn bào *Euglena* thường có lục lạp, nhưng nó cũng có thể sống không cần lục lạp nếu cung cấp cho nó đầy đủ chất dinh dưỡng. Một khi tảo đã bị mất lục lạp thì lục lạp mới không bao giờ hình thành. Nếu đưa vào tế bào tảo đại lục lạp lấy từ chủng đột biến, khác cấu trúc so với lục lạp bình thường của nó thì chúng vẫn phân chia và truyền lại cho con cháu. Điều đó khẳng định rằng cấu trúc của lục lạp được kiểm soát bởi ADN của chính nó.

Dù sao thì cũng cần nhấn mạnh rằng, sự di truyền ngoài nhân không thể tuân theo các qui luật chắc chắn như di truyền qua nhiễm sắc thể vì khi phân bào thì tế bào chất không chia đều chính xác cho các tế bào con. Vì vậy trong sự di truyền thì nhân vẫn đóng vai trò quyết định.

5.3.4. Biến dị tổ hợp do trao đổi chéo

Trong thời kỳ tiếp hợp của sự giảm phân các nhiễm sắc thể có thể trao đổi với nhau cả từng đoạn, đó là sự bất chéo của các nhiễm sắc thể (hay trao đổi chéo). Sự trao đổi này có tính chất ngẫu nhiên và có thể xảy ra ở bất cứ đoạn nào của nhiễm sắc thể. Số lượng các trao đổi chéo này trong một lần giảm phân có thể một hoặc nhiều chỗ theo suốt chiều dọc của nó. Hiện tượng này được phát hiện ở ruồi dấm.

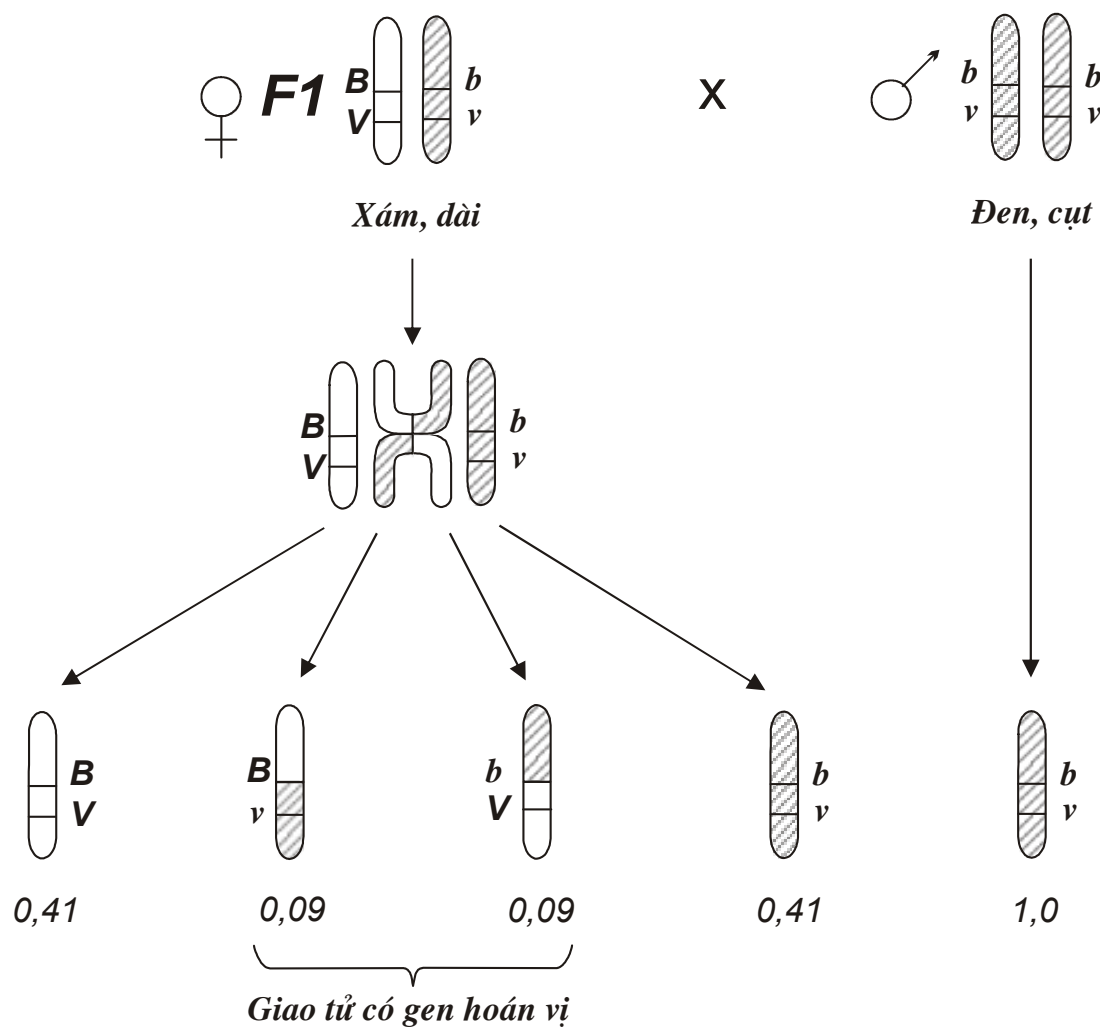
Đáng chú ý là sự trao đổi chéo chỉ xảy ra ở từng đoạn tương ứng giữa hai nhiễm sắc thể trong bộ bốn ở giảm phân. Tỷ lệ % của các loại giao tử phụ thuộc vào tần số hoán vị gen. Tần số hoán vị gen được tính bằng tỷ lệ % của hai loại giao tử có gen hoán vị.

Ví dụ: Khi Morgan lai ruồi dấm thuần chủng có hai tính trạng đối lập nhau là thân xám, cánh dài và thân đen, cánh cụt. ở thế hệ F1 ông thu được toàn ruồi thân xám, cánh dài (tính trạng trội). Ở thế hệ thứ hai ông dùng phép lai phân tích, tức là lấy ruồi cái ở F1 lai với ruồi đực mang tính trạng lặn là thân đen, cánh cụt. Kết quả ông thu được bốn kiểu hình phân phối theo tỷ lệ:

- Thân xám, cánh dài: 0,41
- Thân đen, cánh cụt : 0,41
- Thân xám, cánh cụt: 0,09
- Thân đen, cánh dài : 0,09

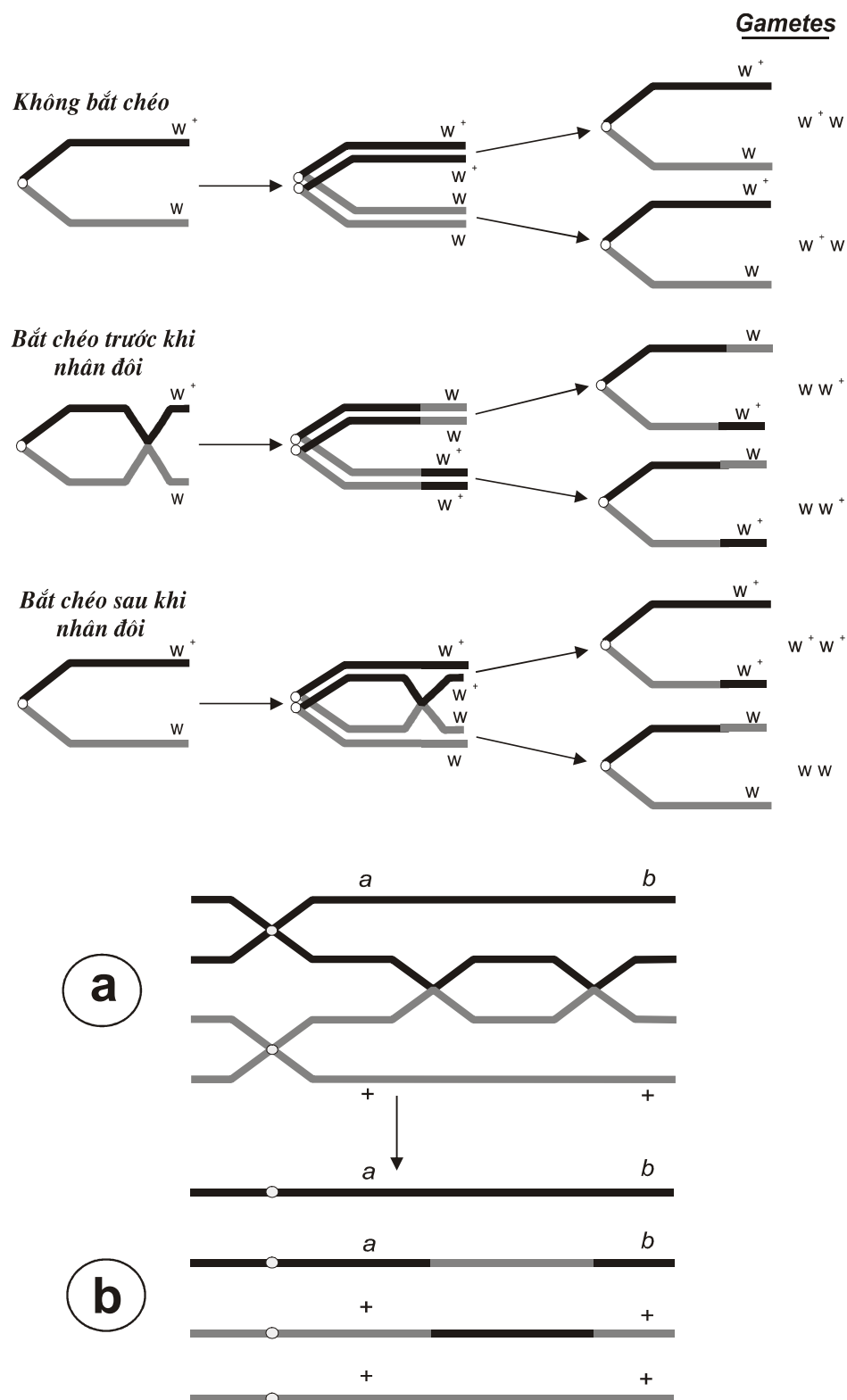
Hình 5-7: Sơ đồ biểu diễn sự trao đổi (tần số hoán vị là 0,18)

Sự trao đổi chéo các nhiễm sắc thể có thể xảy ra trước khi các nhiễm sắc thể nhân đôi trong giảm phân hoặc sau khi đã được nhân đôi rồi.



♀ \ ♂	$\begin{matrix} B \\ V \end{matrix}$ (0,41)	$\begin{matrix} B \\ v \end{matrix}$ (0,09)	$\begin{matrix} b \\ V \end{matrix}$ (0,09)	$\begin{matrix} b \\ v \end{matrix}$ (0,41)
$\begin{matrix} b \\ v \end{matrix}$ (1,0)	$\begin{matrix} B \\ V \end{matrix}$ $\begin{matrix} b \\ v \end{matrix}$ (0,41) <i>Xám, dài</i>	$\begin{matrix} B \\ v \end{matrix}$ $\begin{matrix} b \\ v \end{matrix}$ (0,09) <i>Xám, cụt</i>	$\begin{matrix} b \\ V \end{matrix}$ $\begin{matrix} b \\ v \end{matrix}$ (0,09) <i>Đen, dài</i>	$\begin{matrix} b \\ v \end{matrix}$ $\begin{matrix} b \\ v \end{matrix}$ (0,41) <i>Đen, cụt</i>

Hình 5-7: Cơ sở tế bào học của hoán vị gen



Hình 5-8a: Sơ đồ bắt chéo của các nhiễm sắc thể trong quá trình phân bào giảm nhiễm

Hình 5-8b: Sơ đồ bắt chéo hai lần của nhiễm sắc thể

5.3.5. Di truyền do tương tác gen

Trong một số lớn ví dụ mà chúng ta đã xem xét trên đây phần lớn mối liên hệ giữa gen và tính trạng là đơn giản và tuyến tính, mỗi gen xác định một tính trạng. Trong nhiều trường hợp một tính trạng có thể được qui định bởi sự tương tác của một số cặp gen, ngược lại một cặp gen có thể ảnh hưởng trực tiếp đến một số tính trạng, hoặc có thể một gen có thể làm lệch lạc hay ức chế tác động của một cặp khác. Các điều kiện bên ngoài cũng ảnh hưởng đến hoạt động của gen.

Dưới đây là một số hiện tượng tương tác gen:

5.3.5.1. Tương tác bổ trợ

Tương tác bổ trợ là kiểu tác động qua lại của hai hay nhiều gen thuộc những locut khác nhau làm xuất hiện một tính trạng mới.

Ở gà có một loạt gen qui định độ lớn và hình dạng của mỏ. Gen mỏ hoa hồng (A) trội đối với gen mỏ bình thường (a), một cặp gen khác (thuộc một locut khác) qui định sự khác nhau giữa mỏ hoa đậu (B) và mỏ bình thường (b). Khi đem gà đồng hợp có màu hoa đậu (aaBB) với gà đồng hợp có màu hoa hồng (AAbb), thì ở thế hệ thứ nhất gà con không có mỏ hoa đậu cũng không có mỏ hoa hồng mà có mỏ dạng hồ đào:

$$\begin{array}{ccc}
 \text{(hoa đậu)} & aaBB & \times & AAbb & \text{(hoa hồng)} \\
 & \searrow & & \swarrow & \\
 & \downarrow & & & \\
 \text{F1:} & & & & AaBb & \text{(hồ đào)}
 \end{array}$$

Mỏ dạng hồ đào được qui định bởi sự có mặt đồng thời của hai gen trội A và B. Khi hai gen trội tác động riêng rẽ thì sẽ qui định tính trạng của chúng, còn khi hai gen trội ở cùng một kiểu gen thì chúng tác động bổ trợ, hình thành tính trạng mới (hồ đào). Như vậy gà có mỏ bình thường phải có kiểu gen là aabb, gà với mỏ hoa đậu phải có kiểu gen aaBB hay aaBb, gà có mỏ hoa hồng phải có kiểu gen là AAbb hoặc Aabb. Chúng ta thấy qua phép lai trên nếu hai gen trội A,B không alen nhau thì khi chúng đứng riêng lẻ thì không thể tự mình biểu hiện tính trạng nhưng khi chúng cùng nằm trong một kiểu gen thì chúng tương tác bổ trợ nhau và xuất hiện tính trạng.

5.3.5.2. Tương tác át chế (suppressors)

Át chế là hiện tượng gen này kìm hãm hoạt động của gen khác không alen. Hai gen trội không alen (nằm trong những locut khác nhau) kìm hãm hoạt động của nhau. Hiện tượng này được phát hiện khi nghiên cứu sự di truyền màu xám và màu đen của ngựa. Sơ đồ lai như sau:

(xám) CCBB x cbbb (hung đỏ)

F1:

CcBb (xám)

F2:

	CB	Cb	cB	cb
CB	CCBB (xám)	CCBb (xám)	CcBB (xám)	CcBb (xám)
Cb	CCBb (xám)	CCbb (xám)	CcBb (xám)	Ccbb (xám)
cB	CcBB (xám)	CcBb (xám)	ccBB (đen)	ccBb (đen)
cb	CcBb (xám)	Ccbb (xám)	ccBb (đen)	ccbb (đỏ)

Ở đây ta thấy có hiện tượng át chế: Gen trội C qui định màu lông xám có khả năng đình chỉ hoạt động của gen trội B qui định màu lông đen, và chỉ khi nó đứng tách khỏi A trong kiểu gen thì màu lông đen xuất hiện, chính vì vậy mà ngựa có kiểu gen ccBB, ccBb và ccBb có màu lông đen. Ví dụ trên là khi một gen trội át chế một gen trội khác, nhưng cũng có trường hợp mà ở đó gen lặn lại át chế một gen trội khác không alen với nó. Kiểu di truyền này được nghiên cứu kỹ trên gen lặn qui định bệnh bạch tạng ở chuột.

Khi cho lai chuột đen có kiểu gen CCbb với chuột bạch tạng có kiểu gen ccBB thì kết quả ở F1 cho toàn chuột lông xám và ở F2 người ta nhận được 9 chuột lông xám, 3 chuột lông đen và 4 chuột bạch tạng (9:3:4).

Sơ đồ lai như sau: (đen) CCbb x ccBB (bạch tạng)

F1:

CcBb (xám)

F2:

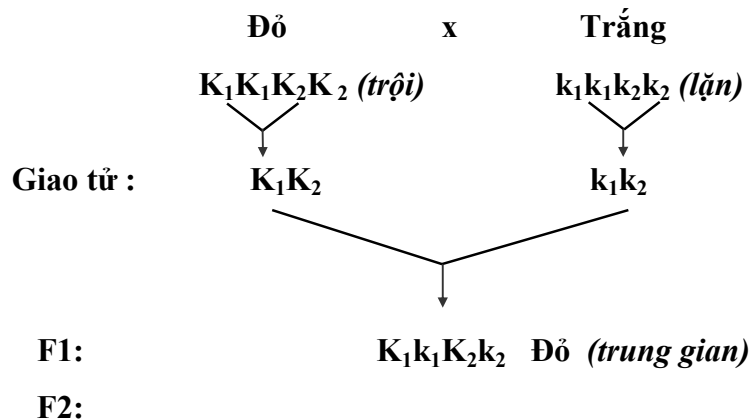
	CB	Cb	cB	cb
CB	CCBB (xám)	CCBb (xám)	CcBB (xám)	CcBb (xám)
Cb	CCBb (xám)	CCbb (đen)	CcBb (xám)	Ccbb (đen)
cB	CcBB (xám)	CcBb (xám)	CcBB (b.t)	ccBb (b.t)
cb	CcBb (xám)	Ccbb (đen)	ccBb (b.t)	ccbb (b.t)

Cần biết rằng gen trội C qui định màu lông đen của chuột, nhưng gen trội B qui định màu lông xám. Chuột xám thường có một phần lông đen, một phần nhỏ có vòng vàng, bụng dưới có màu sáng hơn. Khi cho lai chuột đen có kiểu gen là CCbb với chuột bạch tạng có kiểu gen là ccBB ở F1 có chuột con màu xám.

Sở dĩ như vậy là do gen B khi ở cơ thể chuột bạch tạng bị át chế do gen lặn c (ccBB), khi chuyển sang cơ thể lai được kết hợp với gen gốc về màu sắc, hình thành vòng vàng trên lông, và như vậy ta thu được chuột có lông một phần đen, phần nhỏ có vòng vàng, bụng màu sáng hơn (xám). Ở F2, cơ thể nào có cặp gen lặn cc thì đều bị bạch tạng.

5.3.5.3. Hiện tượng đa gen

Trong trường hợp một tính trạng được hình thành do ảnh hưởng đồng thời của nhiều gen tương đương thì đó là hiện tượng đa gen. Sự di truyền đa gen có ý nghĩa rất quan trọng vì nó qui định sự di truyền qua các thế hệ của các tính trạng. Ví dụ màu đỏ của hạt kiều mạch là do một số gen qui định. Những gen này tác động theo cùng một hướng lên sự phát triển của tính trạng. Các kiểu gen trong trường hợp này có thể biểu diễn như sau:



Giao tử F1	K_1K_2	K_1k_2	k_1K_2	k_1k_2
K_1K_2	$K_1K_1K_2K_2$ (4)	$K_1K_1K_2k_2$ (3)	$K_1k_1K_2K_2$ (3)	$K_1k_1K_2k_2$ (2)
K_1k_2	$K_1K_1K_2k_2$ (3)	$K_1K_1k_2k_2$ (2)	$K_1k_1K_2k_2$ (2)	$K_1k_1k_2k_2$ (1)
k_1K_2	$K_1k_1K_2K_2$ (3)	$K_1k_1K_2k_2$ (2)	$k_1k_1K_2K_2$ (2)	$k_1k_1K_2k_2$ (1)
k_1k_2	$K_1k_1K_2k_2$ (2)	$K_1k_1k_2k_2$ (1)	$k_1k_1K_2k_2$ (1)	$k_1k_1k_2k_2$ (0)

Như vậy màu của hạt kiều mạch là do hai gen qui định. Màu sắc được biểu hiện trong trường hợp có ít nhất một gen trội, do đó sự phân li thành dạng có màu và không màu là 15:1, nhưng mức độ màu sắc phụ thuộc vào số lượng các gen trội, số gen trội càng nhiều thì màu càng mạnh.

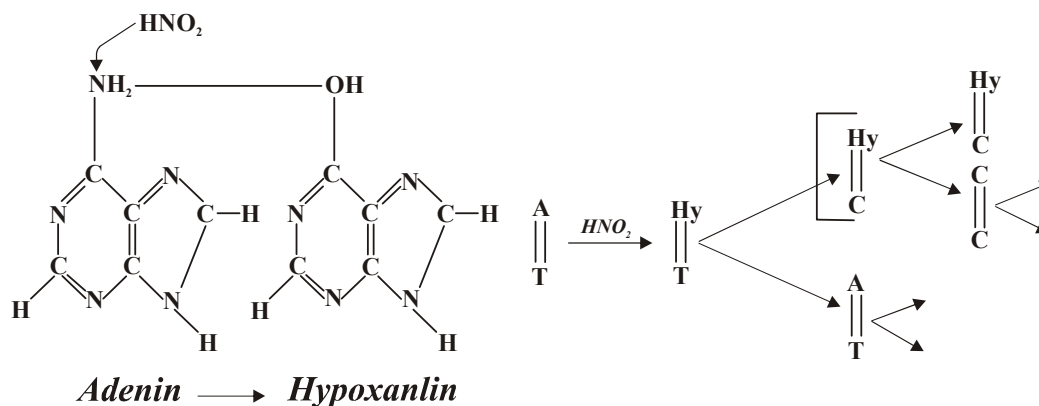
5.3.6. Một số phương pháp nghiên cứu di truyền VSV

Những hiểu biết ngày càng sâu sắc về cấu trúc và chức năng của ADN, ARN - vật liệu thông tin di truyền, đã thúc đẩy mạnh mẽ sự phát triển của nhiều lĩnh vực khoa học như y học, nông nghiệp, vi sinh vật, ... Một trong những lĩnh vực mà ở đó di truyền là cơ sở lý thuyết là chọn giống. Chọn giống có thể là chọn giống cây trồng - ứng dụng trong nông nghiệp; chọn giống cây cảnh (ví dụ phong lan), chọn giống gia súc (bò, heo, cừu, ...) và chọn giống vi sinh vật.

Như chúng ta đã biết ngày nay vi sinh vật ngày càng được sử dụng nhiều hơn trong sản xuất công nghiệp, nông nghiệp và y học. Bởi vậy việc tìm hiểu các phương pháp nghiên cứu di truyền vi sinh vật là đặc biệt cần thiết. Với thời gian có hạn trong phạm vi cho phép của giáo trình này chúng tôi chỉ giới thiệu một số trong rất nhiều phương pháp nghiên cứu di truyền vi sinh vật.

5.3.6.1. Đột biến nhân tạo với tác nhân HNO_2

HNO_2 có tác dụng làm biến đổi về mặt hóa học các bazơ nitơ của ADN. Dưới tác dụng của HNO_2 nhóm amin trên các bazơ của axit nucleic bị thay thế bằng nhóm $-\text{OH}$ hay oxy, nghĩa là xảy ra phản ứng oxy hóa khử amin, do đó adenin trở thành hypoxantin, guanin trở thành xantin, cytosin trở thành uracil. Lấy ví dụ của Adenin:



Hình 5-9: Trong phân tử ADN, cặp bazơ A:T bị thay thế bởi các G:X do adenin bị oxy hoá khử amin và trở thành hypoxantin (phần trong ngoặc là đột biến)

Adenine + HNO_2 trở thành hypoxantin (Hy). Do Hypoxantin xuất hiện ở vị trí adenin nên xảy ra việc thay thế các bazơ trong quá trình sao của ADN. Trong lần sao đầu tiên trên sợi ADN còn có hypoxantin đứng ở chỗ adenin, nhưng ở lần sao thứ hai xuất hiện tổ hợp Hy-C, trong lần sao tiếp theo lại

xuất hiện trên các sợi ADN cháu cả cặp Hy–C và G–C, đó là một thay đổi đột biến vì cặp A–T đã bị thay thế. Sau hai chu trình sao, sợi ADN có chứa cặp A–T sẽ cho hai sợi kép vẫn mang cặp này và hai sợi bị biến đổi. Quá trình biến đổi kết thúc khi cặp A–T được thay thế bằng cặp A–C (Hình 5-9).

Khi Cytosin chuyển thành Uracil trong quá trình khử amin sẽ dẫn đến việc thay thế cặp G–C ban đầu thành cặp A–T vì Uracil kết đôi với Adenin. Trong trường hợp Guanin bị khử amin trở thành Xantin thì không làm rối loạn, bởi vì xantin tương tự như Guanin. Xantin có thể bị loại hoàn toàn khỏi ADN vì nó liên kết với gốc đường kém bền vững.

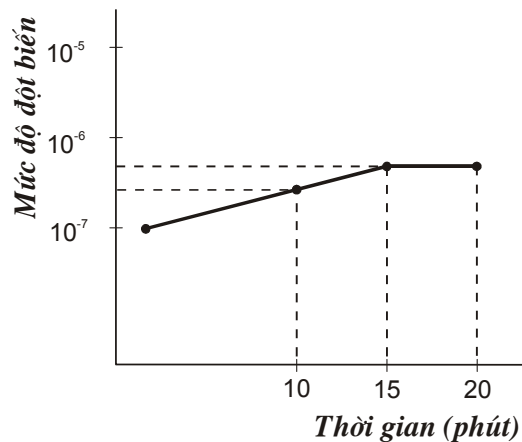
Ngoài ra HNO_2 còn có thể làm đứt mỗi liên kết hydro trong các sợi ADN đang phân chia tạo nên một loại biến đổi khác như kiểu cấu trúc lại nhiễm sắc thể. Thí nghiệm gây đột biến của axit này ở vi sinh vật có thể tiến hành như sau:

5.3.6.1. Gây đột biến bền vững với streptomixin ở *E. coli*

E. coli nuôi trên môi trường nước thịt đến khi nhận được quần thể có nồng độ 10^9 tế bào/ml; sau đó ly tâm, hòa sinh khối với dung dịch đệm axetat pH 4,62 - sao cho nồng độ của dịch huyền phù là 10^{10} tế bào/ml.

Lấy 0,9 ml dịch huyền phù này trộn với 0,1 ml dung dịch NaNO_2 trong ống nghiệm rồi ngâm vào nước 20°C . Sau 10 phút cho tác dụng lấy một phần dịch huyền phù pha loãng 100 lần, sau đó lấy 5 ml trộn với 5 ml nước thịt có độ đậm đặc gấp đôi. Dem nuôi ở 37°C với điều kiện không thông khí cho đến khi nhận được dịch huyền phù có nồng độ 10^9 tế bào/ml. Một phần giống đem pha loãng 10^{-6} lần, lấy 0,1 ml trộn với thạch mềm rồi đổ lên mặt thạch thường trong đĩa Petri. Cũng từ giống ấy phần còn lại pha loãng 10 lần, lấy 0,1 ml trộn với thạch mềm có chứa streptomixin rồi đổ lên mặt thạch cũng chứa streptomixin trong đĩa Petri. Mỗi trường hợp được dùng hai đĩa Petri.

Hình 5-10 Cho thấy tần số đột biến phụ thuộc vào thời gian tác dụng của axit nitơ (Tần số đột biến là tỉ số giữa số lượng tế bào đột biến và tế bào không đột biến).



Hình 5-10: Sự phụ thuộc của mức độ đột biến vào thời gian tác dụng của NaNO_2

5.3.6.1. Gây đột biến bằng tia tử ngoại

Tia tử ngoại là tác nhân gây đột biến vật lý được sử dụng rộng rãi nhất. Dưới tác dụng của tia tử ngoại có bước sóng 260 nm vi sinh vật bị mất hoạt tính nhiều nhất. Ở bước sóng này, ADN cũng bị mất hoạt tính mạnh nhất, nên người ta cho rằng vi sinh vật bị mất hoạt tính là do cấu trúc của ADN bị biến đổi. Một chứng minh nữa cho giả thuyết này là đột biến xuất hiện ở bước sóng 260 nm, tần số đột biến phụ thuộc vào thời gian chiếu tia và cuối cùng đạt đến một số lượng nhất định.

Giai đoạn phát triển của vi sinh vật cũng có ý nghĩa quan trọng trong việc gây đột biến bằng tia tử ngoại. Các thí nghiệm trên *E. coli* cho thấy tế bào ở pha log bị tác dụng mạnh hơn ở pha đầu. Nếu đem chiếu tia tử ngoại *E. coli* (tế bào ở pha log) thì 90% lượng tế bào sẽ bị chết, số 10% còn lại là những tế bào đã ngừng phân chia. Nếu đem chiếu tia tử ngoại những tế bào này một lần nữa thì sẽ nhận được những khuẩn lạc đột biến thuần khiết, bởi vì tất cả nhân của chúng đều bị mất hoạt tính. Mặt khác, việc chiếu tia tử ngoại vào các nòi đột biến có thể đưa chúng trở về trạng thái hoang dại.

Một đặc điểm tác dụng nữa của tia tử ngoại là hiện tượng khôi phục hoạt tính. Nếu sau khi làm mất hoạt tính của vi khuẩn bằng tia tử ngoại rồi đem chúng chiếu ánh sáng bình thường (320÷480nm) thì từ 50 đến 80% tế bào được phục hồi hoạt tính. Người ta cho rằng sở dĩ có hiện tượng phục hồi như vậy là do enzyme, enzyme này trong bóng tối liên kết với những quang sản phẩm nhất định xuất hiện trong ADN dưới tác dụng của tia tử ngoại. Khi đưa ra ánh sáng enzyme này tách khỏi cơ chất và có khả năng tham gia vào phản ứng mới và những rối loạn trong ADN được phục hồi.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. C.Vili và Dethio - *Các nguyên lý và các quá trình sinh học*, NXB Khoa Học và Kỹ Thuật, Hà Nội 1979
2. Emil L. Smith - *Principles of Biochemistry*, Mc. Graw-Hill Book Company, 7th Edition 1983
3. Phan Cự Nhân - *Một số vấn đề về di truyền học hiện đại*, NXB Bộ giáo dục và đào tạo, Hà Nội 1992
4. Lê Ngọc Tú, Phạm Quốc Thắng, La Văn Chứ, ... - *Hóa sinh học công nghiệp*, ĐHBK Hà Nội 1977
5. Lê Ngọc Tú, Đỗ Ngọc liên, Đặng Thị Thu - *Tế bào và các quá trình sinh học*, NXB Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội 2002
5. Lê Đình Lương, Phan Cự Nhân - *Di truyền học*, NXB Khoa học và Kỹ thuật Hà Nội. 1993

MỤC LỤC

1. Chương I - Sinh học - Khoa học về sự sống
 - 1.1. Các khái niệm cơ bản về sinh học
 - 1.2. Lịch sử phát triển của sinh học
 - 1.3. Các ứng dụng thực tiễn của sinh học
 - 1.3.1. Ứng dụng trong nông nghiệp
 - 1.3.2. Ứng dụng trong sản xuất
 - 1.3.3. Ứng dụng trong y, dược
 - 1.3.4. Ứng dụng trong công nghệ thực phẩm
2. Chương II - Sinh học tế bào
 - 2.1. Cấu trúc tế bào
 - 2.1.1. Đại cương về tế bào
 - 2.1.2. Cấu trúc của các tế bào đơn giản (prokaryota)
 - 2.1.2.1. Tế bào vi khuẩn
 - Kích thước
 - Vách tế bào, đặc điểm
 - Các tổ chức bên trong tế bào: Các hạt dự trữ nội bào, mitochondri, riboxom, ADN, ...
 - 2.1.2.2. Sự sinh sản của vi khuẩn
 - 2.1.2.3. Phản ứng của vi khuẩn đối với sự thay đổi của môi trường
 - 2.1.2.4. Các vi khuẩn có lợi và có hại cho con người
 - 2.1.3. Cấu trúc của tế bào eukaryota
 - 2.1.3.1. Cấu trúc
 - Màng sinh chất; mạng lưới nội chất và riboxom; nhân; thể Golgi; ty thể lập thể; lisoxom; sợi tế vi và vi quản; trung tử; lông và roi
 - 2.1.3.2. Nước, hàm lượng và trạng thái của nước
 - Hàm lượng; cấu tạo phân tử nước; trạng thái của nước trong tế bào
 - 2.2. Màng tế bào
 - 2.2.1. Nền tảng lipid của màng tế bào
 - Phospholipit
 - Tấm phospholipit 2 lớp
 - 2.2.2. Cấu trúc của màng sinh chất
 - Tổ chức lipid 2 lớp
 - Protein giữa 2 lớp lipid
 - Hệ thống sợi nâng đỡ
 - Protein và glicolipit bên ngoài
 - 2.2.3. Tương tác giữa tế bào với môi trường qua màng tế bào
 - 2.2.4. Sự vận chuyển của các phân tử đi ra và vào tế bào
 - Sự thẩm thấu và áp suất thẩm thấu

- Sự khuếch tán
- 2.2.5. Sự vận chuyển có chọn lọc của các phân tử
 - Sự khuếch tán có chọn lọc
 - Sự vận chuyển tích cực
- 2.2.6. Sự tiếp nhận thông tin qua màng tế bào
- 2.3. Protein và vai trò của protein đối với sự sống
 - 2.3.1. Đại cương về protein
 - 2.3.2. Cấu trúc phân tử protein
 - Thành phần cấu tạo: Aminoaxit
 - Liên kết peptit và đặc điểm của nó
 - Cấu trúc bậc I, II, III, IV
 - 2.3.3. Tính chất đặc trưng của protein
- 3. Chương III - Năng lượng học (15 tiết)
 - 3.1. Năng lượng và sự trao đổi chất
 - 3.1.1. Năng lượng tự do
 - 3.1.2. Oxyhóa khử
 - Phản ứng oxyhóa khử sinh học
 - Thế oxyhóa khử
 - 3.1.3. Năng lượng hoạt hóa
 - 3.1.4. Enzyme
 - Đại cương về enzyme
 - Bản chất của enzyme
 - Cường lực xúc tác của enzyme
 - Tính tác dụng đặc hiệu của enzyme
 - Các yếu tố ảnh hưởng đến hoạt tính của enzyme
 - 3.2. Hô hấp tế bào
 - 3.2.1. Đại cương về hô hấp tế bào
 - 3.2.2. Glicolis - chu trình đường phân
 - 3.2.3. Sự lên men
 - Định nghĩa
 - Sự khác nhau giữa lên men và hô hấp
 - Ví dụ về quá trình lên men: Lên men rượu, lên men dấm
 - 3.2.4. Hô hấp oxyhóa
 - Oxyhóa pyruvate
 - Oxyhóa acetyl-CoA
 - Các phản ứng của chu kỳ axit citric
 - Các sản phẩm của chu trình axit citric
 - 3.2.5. Sự điều hòa hô hấp tế bào
 - ATP: Nguồn năng lượng của cơ thể - các quá trình sinh hóa trong cơ thể sống

3.3. Quang hợp

3.3.1. Đại cương về quang hợp

- Định nghĩa quang hợp
- Chu trình cacbon trong tự nhiên và vai trò của quang hợp
- Sự hấp thụ năng lượng ánh sáng
- Sự cố định CO₂
- Vai trò của sắc tố trong quang hợp

3.3.2. Các pha trong quang hợp

3.3.3. Pha sáng

- Hệ thống quang hợp I và quang hợp II
- Sự hoạt động của hai hệ thống quang hợp
- Sự so sánh các phản ứng ánh sáng giữa vi khuẩn và thực vật

3.3.4. Pha tối của quang hợp

4. Chương IV - Cơ sở phân tử của di truyền học (10 tiết)

4.1. Nucleotit và axit nucleic

4.1.1. Thành phần hóa học của axit nucleic

- Ribose, Desoxyribose, các base hữu cơ: base purin (Adenin, Guanin) base pirimidin (Cytozin, Uracil, Thymin), axit phosphoric

4.1.2. Nucleotit

4.1.3. Các chất đơn giản chứa nucleotit

- Adenosine TriPhosphate (ATP)
- Nicotinamid Adenin Dinucleotit (NAD)
- Nicotinamid Adenin Dinucleotit Phosphat (NADP)
- Flavín Adenin Dinucleotit (FAD)

4.1.4. Cấu trúc của ADN (mô hình Watson)

4.1.5. ADN và nhiễm sắc thể

4.1.6. Cấu trúc và chức năng của các loại ARN

- ARN thông tin (mARN)
- ARN vận chuyển (tARN)
- ARN riboxom (rARN)

4.2. Tổng hợp Protein

4.2.1. ADN và mã di truyền

4.2.2. Quá trình phiên mã (mARN), sự phiên mã, ARN polimeraza phụ thuộc ARN

4.2.3. Quá trình dịch mã (tARN; rARN; điểm gắn riboxom; điểm gắn tARN; bộ ba đối mã), AUG là bộ ba đối mã sao khởi đầu cho quá trình dịch mã - tương xứng với axit amin được tổng hợp là Methionin

4.2.4. Poliriboxom và quá trình gắn của axit amin

4.2.5. Sự điều hòa sinh tổng hợp Protein

5. Chương V - Di truyền học

5.1. Nhiễm sắc thể và sự phân bào

- 5.1.1. Chu trình tế bào - nguyên phân
 - Kỳ trung gian - Kỳ trước - Kỳ giữa - Kỳ sau - Kỳ cuối
- 5.1.2. Giảm phân
 - Tiếp hợp của nhiễm sắc thể
 - Trao đổi chéo
- 5.2. Các định luật di truyền Mendel
 - 5.2.1. Di truyền trong trường lai với một cặp tính trạng
 - Thí nghiệm trên đậu Hà lan
 - Lai phân tích
 - Hiện tượng trội không hoàn toàn
 - Hiện tượng đa gen
 - 5.2.2. Di truyền trong trường hợp lai với hai cặp tính trạng
- 5.3. Sự di truyền không theo các định luật Mendel
 - 5.3.1. Di truyền giới tính
 - Sự xác định giới tính và di truyền giới tính ở ruồi dấm
 - Các gen liên kết với giới tính
 - 5.3.2. Những biến đổi của nhiễm sắc thể
 - Sự không phân ly của các nhiễm sắc thể
 - Đột biến cấu trúc nhiễm sắc thể
 - 5.3.3. Các gen ngoài nhân
 - 5.3.4. Biến dị tổ hợp do trao đổi chéo
 - 5.3.5. Di truyền do tương tác gen
 - Tương tác bổ trợ - Tương tác át chế
 - Tính đa hiệu của gen
 - Di truyền đa gen
 - 5.3.6. Một số phương pháp nghiên cứu di truyền VSV
 - 5.3.7. Một số phương pháp nghiên cứu di truyền ở người
- 6. Chương VI - Sự tiến hóa, biến dị và chọn lọc tự nhiên
 - 6.1. Sự tiến hóa thích nghi
 - 6.2. Các lý thuyết tiến hóa
 - 6.2.1. Thuyết tiến hóa của Lamac
 - Những quan điểm về thuyết tiến hóa của Lamac
 - Đánh giá học thuyết Lamac
 - 6.2.2. Thuyết tiến hóa của Darwin (chọn lọc tự nhiên)
 - 6.3. Biến dị di truyền - Cơ sở của quá trình tiến hóa
 - 6.4. Tác động của chọn lọc tự nhiên
 - 6.5. Định luật Hardy - Wienberg
 - 6.6. Chọn lọc và sự di truyền đa gen

THÍ NGHIỆM SINH HỌC ĐẠI CƯƠNG - 1 ĐVHT

Bài thí nghiệm 1:

Kỹ thuật cơ bản trong thực hành sinh học

- Phương pháp sử dụng kính hiển vi
- Phương pháp làm tiêu bản và nhuộm tế bào

Bài thí nghiệm 2:

Quan sát tế bào

- Quan sát tế bào vi sinh vật
- Quan sát tế bào thực vật
- Quan sát tế bào động vật

Bài thí nghiệm 3: Sự vận chuyển vật chất qua màng tế bào

Bài thí nghiệm 4: Thí nghiệm và bài tập về di truyền học

