

Chương 17.

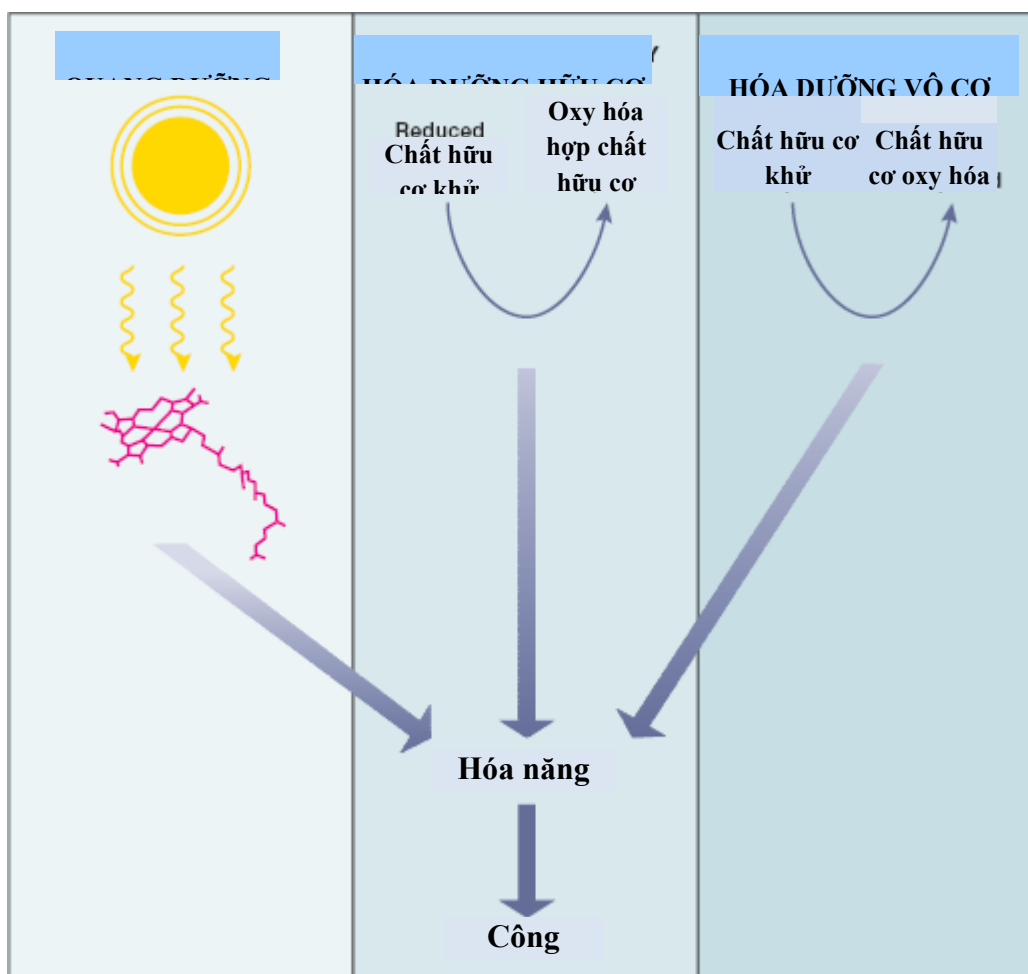
GIẢI PHÓNG VÀ BẢO TOÀN NĂNG LƯỢNG Ở VI SINH VẬT

Biên soạn: Nguyễn Đình Quyến, Nguyễn Lâm Dũng

17.1. ĐẠI CƯƠNG VỀ TRAO ĐỔI CHẤT

Sau khi đã đề cập đến các nguyên tắc cơ bản của nhiệt động học, chu trình năng lượng và vai trò của ATP như đồng tiền năng lượng, bản chất và chức năng của các enzyme cũng như việc điều chỉnh hoạt tính enzyme trong chương này chúng ta sẽ bàn về trao đổi chất. Trao đổi chất là tổng số các phản ứng hóa học diễn ra bên trong tế bào nhờ có dòng năng lượng và sự tham gia của các enzyme. Trao đổi chất có thể được chia thành hai phần chủ yếu: dị hoá (catabolism) và đồng hoá (anabolism). Trong dị hoá các phân tử lớn hơn và phức tạp hơn bị bẻ vỡ thành các phân tử nhỏ hơn và đơn giản hơn đồng thời năng lượng được giải phóng. Một phần năng lượng này được giữ lại và tạo thành công, phần còn lại thoát ra ở dạng nhiệt. Sau đó, năng lượng giữ lại có thể được dùng trong đồng hoá là giai đoạn sau của trao đổi chất. Đồng hoá là việc tổng hợp các phân tử phức tạp từ các phân tử đơn giản hơn và cần năng lượng. Quá trình đồng hoá sử dụng năng lượng để làm tăng trật tự của một hệ thống.

Mặc dù việc phân chia trao đổi chất thành hai phần chủ yếu là tiện lợi và được sử dụng phổ biến, tuy nhiên, cần nhớ rằng, không phải tất cả các quá trình sản sinh năng lượng đều phù hợp với định nghĩa nói trên về sự dị hoá nếu như định nghĩa này không được mở rộng bao gồm cả các quá trình không có sự phân giải các phân tử hữu cơ phức tạp. Theo nghĩa rộng hơn các vi sinh vật thường sử dụng một trong ba nguồn năng lượng. Vi sinh vật quang dưỡng thu nhận năng lượng bức xạ từ mặt trời (*Hình 17.1*). Vi sinh vật hoá dưỡng hữu cơ oxy hoá các phân tử hữu cơ để giải phóng năng lượng, trái lại các vi sinh vật hoá dưỡng vô cơ lại sử dụng các chất dinh dưỡng vô cơ làm nguồn năng lượng.



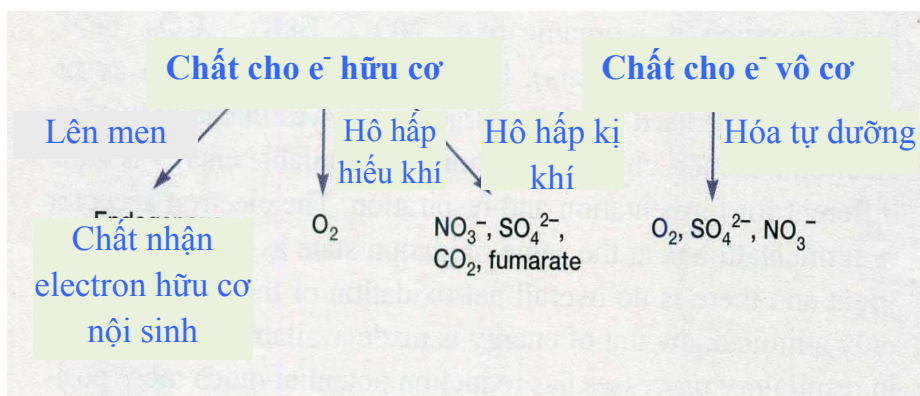
Hình 17.1: Các nguồn năng lượng được sử dụng bởi vi sinh vật

Hầu hết vi sinh vật sử dụng 1 trong 3 nguồn năng lượng. Các vi sinh vật quang dưỡng thu nhận năng lượng bức xạ từ mặt trời nhờ các sắc tố như bacteriochlorophyll và chlorophyll. Các vi sinh vật hóa dưỡng oxy hóa các chất dinh dưỡng hữu cơ và vô cơ khử để giải phóng và thu nhận năng lượng. Hóa năng dẫn xuất từ 3 nguồn này sẽ được dùng để sản ra công. (Theo: Prescott và cs, 2005)

Vi sinh vật không chỉ khác nhau về nguồn năng lượng mà còn khác nhau về các chất nhận electron được sử dụng ở các cơ thể hoá dưỡng (Hình 17.2).

Các chất nhận electron gồm ba loại chính. Trong lên men cơ chất mang năng lượng bị oxy hoá và phân giải không có sự tham gia của một chất nhận electron từ bên ngoài hoặc có nguồn gốc từ bên ngoài. Thông thường con đường dị hoá sản ra một chất trung gian như Pyruvate tác dụng như chất nhận electron. Nói chung, lên men diễn ra trong điều kiện kỵ khí nhưng đôi khi cũng được thực hiện ngay khi có mặt oxy. Dĩ nhiên, trao đổi

chất sản sinh năng lượng cũng có thể sử dụng các chất nhận electron từ bên ngoài hoặc có nguồn gốc từ bên ngoài. Quá trình trao đổi chất này được gọi là hô hấp (respiration) và được chia làm hai loại khác nhau: 1. Hô hấp hiếu khí: chất nhận electron cuối cùng là oxy; 2. Hô hấp kỵ khí: chất nhận electron có nguồn gốc khác nhau từ bên ngoài. Chất nhận electron trong hô hấp kỵ khí phổ biến nhất là chất vô cơ (chẳng hạn, NO_3^- , SO_4^{2-} , CO_2 , Fe^{3+} , SeO_4^{2-} ...) nhưng đôi khi cũng là chất hữu cơ (như fumarat). Trong hô hấp thường có sự tham gia của một chuỗi vận chuyển electron. Năng lượng thu được trong lên men và hô hấp rất khác nhau. Chất nhận electron trong lên men có cùng trạng thái oxy hoá như chất dinh dưỡng ban đầu và không có sự oxy hoá hoàn toàn chất dinh dưỡng. Do đó chỉ một lượng nhỏ năng lượng được tạo thành. Chất nhận electron trong các quá trình hô hấp có thể khử dương hơn nhiều so với cơ chất, do đó trong hô hấp năng lượng được giải phóng nhiều hơn đáng kể. Trong hô hấp hiếu khí cũng như kỵ khí ATP được tạo thành nhờ hoạt động của chuỗi vận chuyển electron. Các electron tham gia trong chuỗi có thể thu được từ các chất dinh dưỡng vô cơ và năng lượng có thể bắt nguồn từ sự oxy hoá các phân tử vô cơ hơn là từ các chất dinh dưỡng hữu cơ. Khả năng này gặp ở một số vi sinh vật nhân nguyên thủy gọi là vi sinh vật hoá dưỡng vô cơ.

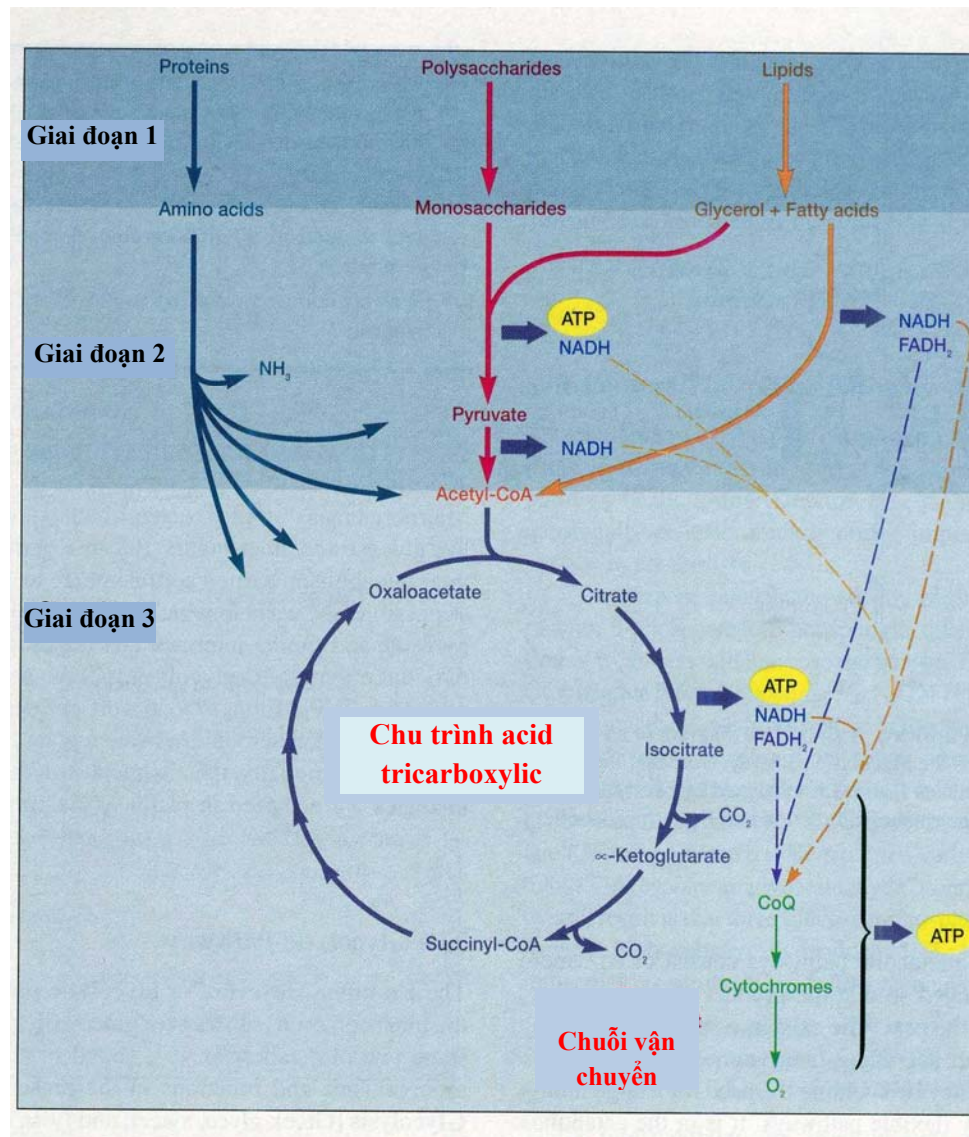


Hình 17.2: Các kiểu giải phóng năng lượng

Lên men là quá trình giải phóng năng lượng trong đó một chất cho electron hữu cơ chuyển các electron cho một chất nhận nội sinh thường là một chất trung gian bắt nguồn từ sự phân giải chất dinh dưỡng. Trong hô hấp, các electron được chuyển cho một chất nhận từ bên ngoài (ngoại sinh) như O_2 (hô hấp hiếu khí) hay NO_3^- , SO_4^{2-} (hô hấp kỵ khí). Các hợp chất khử vô cơ cũng có thể được dùng như các chất cho electron trong việc tạo thành năng lượng (sự hóa dưỡng vô cơ). (Theo: Prescott và cs, 2005)

Cũng cần nhớ rằng những định nghĩa về lên men, hô hấp hiếu khí và hô hấp kỵ khí nói trên hơi khác với những định nghĩa dùng bởi các nhà sinh học và sinh hoá học. Lên men cũng có thể được định nghĩa như là một quá trình sinh năng lượng trong đó các phân

tử hữu cơ được đồng thời dùng làm chất cho và chất nhận electron. Hô hấp là một quá trình sinh năng lượng trong đó chất nhận là một phân tử vô cơ như oxy (hô hấp hiếu khí) hay một chất vô cơ (hô hấp kỵ khí). Vì vi sinh vật rất linh hoạt và thay đổi trong trao đổi năng lượng nên những định nghĩa nói trên chừng nào rộng hơn sẽ được dùng ở đây.



Hình 17.3: Ba giai đoạn của sự dị hóa

Sơ đồ tổng quát của sự dị hóa hiếu khí trong 1 vi sinh vật hóa dị dưỡng hữu cơ chỉ ra 3 giai đoạn trong quá trình này và vị trí trung tâm của chu trình acid tricarboxylic. Mặc dù có nhiều protein, polisaccarid và lipit nhưng chúng bị phân giải chỉ qua hoạt tính của 1 vài con đường trao đổi chất phổ biến. Chú ý, các đường ... ở đây chỉ dòng các electron mang bởi NADH và FADH_2 tới chuỗi vận chuyển electron. (Theo: Prescott và cs, 2005)

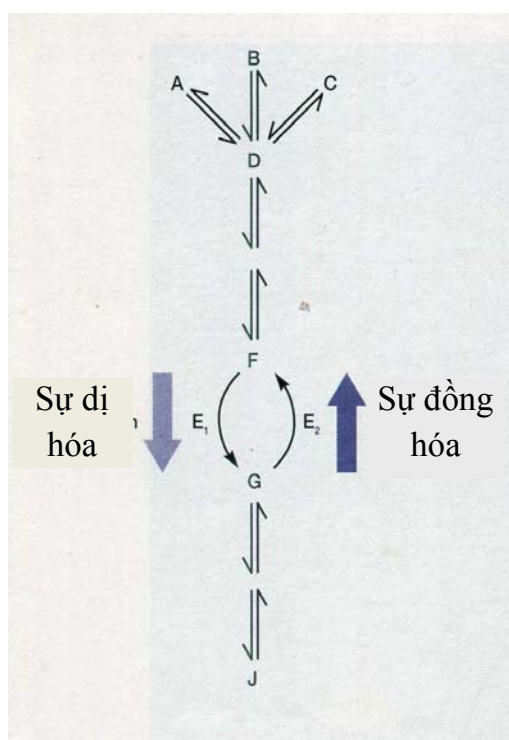
Trao đổi chất trong điều kiện hiếu khí có thể được chia thành 3 giai đoạn (*Hình 17.3*). Trong giai đoạn thứ nhất của sự dị hoá các phân tử chất dinh dưỡng lớn hơn (protein, polisaccarid và lipid) bị thủy phân hoặc bị phân giải theo kiểu khác thành các phần nhỏ hơn. Các phản ứng hoá học diễn ra trong giai đoạn này không sản sinh nhiều năng lượng. Các acid amin, monosaccarid, acid béo, glycerol và các sản phẩm khác của giai đoạn này bị phân giải theo kiểu khác thành một số phân tử đơn giản hơn trong giai đoạn hai như Acetyl-coenzyme A, Pyruvate và các chất trung gian của chu trình acid tricarboxylic. Giai đoạn thứ hai có thể hoạt động trong điều kiện hiếu khí cũng như kỵ khí và thường tạo thành một số ATP cũng như NADH và/hoặc FADH_2 . Cuối cùng carbon trong chất dinh dưỡng được chuyển vào chu trình acid tricarboxylic trong giai đoạn ba của sự dị hoá và các phân tử được oxy hoá hoàn toàn thành CO_2 đồng thời với sự tạo thành ATP, NADH và FADH_2 . Chu trình hoạt động hiếu khí và giải phóng nhiều năng lượng. Phần lớn ATP bắt nguồn từ chu trình acid tricarboxylic (và các phản ứng của giai đoạn 2) là do sự oxy hoá của NADH và FADH_2 nhờ chuỗi vận chuyển electron. Oxy hoặc đôi khi, một phân tử vô cơ khác là chất nhận electron cuối cùng.

Mặc dù sơ đồ trình bày trên đã được đơn giản hoá đi nhiều nhưng vẫn thuận tiện cho việc phân tích mô hình tổng quát của sự dị hoá. Cần chú ý rằng, vi sinh vật bắt đầu với rất nhiều phân tử và ở mỗi giai đoạn số lượng và sự đa dạng của chúng bị giảm đi. Nghĩa là, các phân tử chất dinh dưỡng được chuyển thành các chất trung gian trao đổi chất với số lượng liên tục nhỏ hơn cho tới khi, cuối cùng, chúng đi vào chu trình acid tricarboxylic một con đường chung thường phân giải nhiều phân tử tương tự, chẳng hạn nhiều loại đường khác nhau. Các con đường trao đổi chất này bao gồm các phản ứng do enzyme xúc tác được sắp xếp sao cho sản phẩm của phản ứng này sẽ dùng làm cơ chất cho phản ứng sau. Sự tồn tại của một số con đường dị hoá chung, mỗi con đường phân giải nhiều chất dinh dưỡng, sẽ tăng rõ rệt hiệu quả trao đổi chất nhờ tránh được nhu cầu đối với một số lượng lớn các con đường kém linh hoạt về trao đổi chất. Các vi sinh vật thể hiện tính đa dạng về dinh dưỡng chính là trong pha dị hoá. Hầu hết các con đường sinh tổng hợp ở vi sinh vật và ở các sinh vật bậc cao là khá chi nhau. Tính độc đáo của trao đổi chất ở vi sinh vật là sự đa dạng các nguồn tạo thành ATP và NADH (*Hình 17.1 và 17.2*).

Các hidrat carbon và các chất dinh dưỡng khác đảm nhiệm hai chức năng trong trao đổi chất của các vi sinh vật dị dưỡng:

1. Bị oxy hoá để giải phóng năng lượng.
2. Cung cấp các khối carbon hoặc khối xây dựng dùng cho tổng hợp các thành phần của tế bào mới.

Mặc dù nhiều con đường đồng hoá và dị hoá tách riêng nhau nhưng có một số con đường là lưỡng hoá (amphibolic) hoạt động cả trong đồng hoá và dị hoá. Hai trong số các con đường quan trọng nhất là đường phân và chu trình acid tricarboxylic. Hầu hết các phản ứng trong hai con đường này đều thuận nghịch dễ dàng và có thể được dùng để tổng hợp và phân giải các phân tử. Một số bước dị hoá một chiều được đi vòng trong sinh tổng hợp với các enzyme đặc biệt xúc tác phản ứng ngược lại (Hình 17.4).



Hình 17.4: Con đường lưỡng hoá

Đây là sơ đồ của 1 con đường lưỡng hoá, chẳng hạn đường phân. Cần chú ý, sự chuyển hóa qua lại của các chất trung gian F và G được xúc tác bởi 2 enzyme riêng biệt: E_1 hoạt động theo hướng phân giải và E_2 theo hướng tổng hợp. (Theo: Prescott và cs, 2005)

Chẳng hạn, enzyme fructo-bisphosphatease xúc tác ngược chiều với bước phosphorusfructokinase khi glucose được tổng hợp từ Pyruvate. Sự tồn tại của hai enzyme riêng rẽ, enzyme này xúc tác phản ứng ngược chiều với enzyme kia cho phép chức năng dị hoá và đồng hoá của các con đường nói trên được điều chỉnh độc lập.

17.2. SỰ PHÂN GIẢI GLUCOSE THÀNH PYRUVATE

Vì sinh vật sử dụng một số con đường trao đổi chất để chuyển hoá glucose và các đường khác. Do tính đa dạng về trao đổi chất như vậy mà trao đổi chất của chúng thường rắc rối. Để tránh những rắc rối có thể xảy ra các con đường vì sinh vật phân giải đường thành Pyruvate và các chất trung gian tương tự sẽ được tập trung vào ba con đường:

đường phân, con đường pentose-phosphate và con đường Entner - Doudoroff. Tiếp theo đó, các con đường phân giải Pyruvate hiếu khí và kỵ khí sẽ được đề cập. Để đơn giản, cấu trúc hoá học của các chất trung gian trong trao đổi chất sẽ không được dùng trong sơ đồ của con đường.

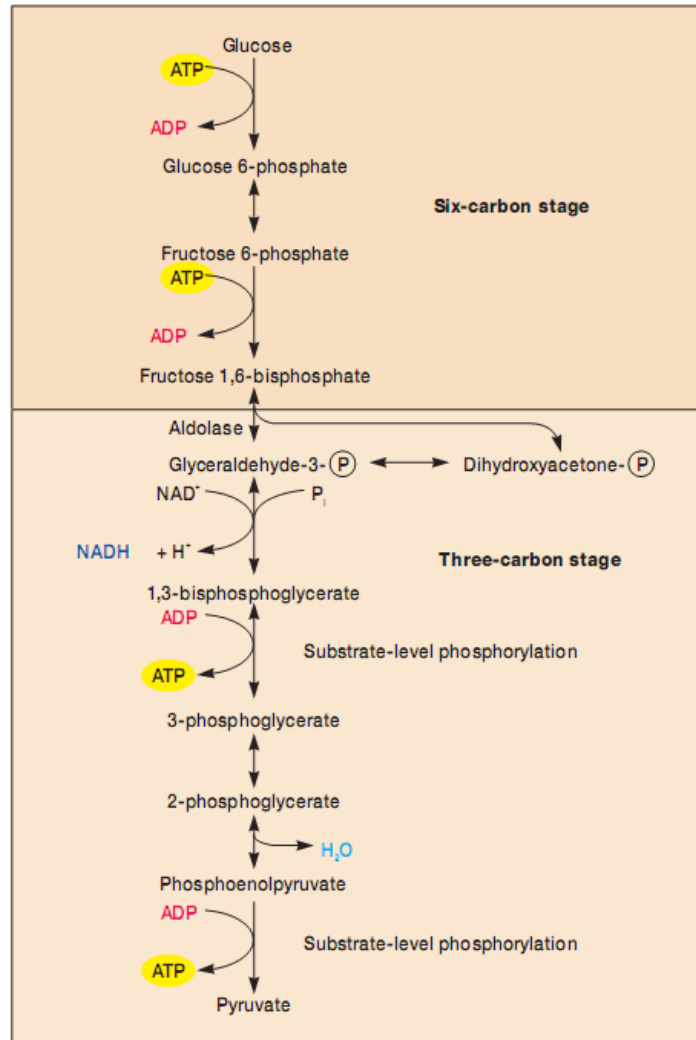
17.2.1. Con đường đường phân (con đường Embden-Meyerhof)

Đây là con đường phổ biến nhất dùng phân giải glucose thành pyruvate trong giai đoạn hai của dị hoá. Đường phân gặp ở tất cả các nhóm chủ yếu của vi sinh vật và hoạt động trong sự có mặt cũng như vắng mặt của oxy. Quá trình này diễn ra trong phần nền tế bào chất của cơ thể nhận nguyên thủy và nhân thật

Đường phân có thể được chia thành hai phần (*Hình 17.5*). Trong chặng mở đầu 6-carbon glucose được phosphoryl hoá hai lần, cuối cùng được chuyển thành fructo-1,6-bisphosphate. Các đường khác thường nhập vào con đường đường phân thông qua việc chuyển hoá thành gluco-6-phosphate hoặc fructo-6-phosphate. Chặng mở đầu này không sinh năng lượng, trái lại phải tiêu thụ hai phân tử ATP cho một phân tử glucose. Tuy nhiên, nhờ việc gắn phosphate vào mỗi đầu của đường mà các phosphate này sẽ được dùng để tạo thành ATP.

Chặng 3-carbon của đường phân bắt đầu khi enzyme fructo-1,6-bisphosphate aldolase xúc tác phân giải fructo-1,6-bisphosphate thành hai nửa, mỗi nửa đều chứa nhóm phosphate. Một trong các sản phẩm là glyceraldehyde-3-phosphate được chuyển trực tiếp thành Pyruvate trong quá trình gồm 5 bước. Sản phẩm thứ hai là dihydroxyacetone-phosphate có thể dễ dàng chuyển thành glyceraldehyde-3-phosphate, do đó cả hai nửa của fructo-1,6-bisphosphate đều được sử dụng trong chặng 3-carbon. Trước hết, glyceraldehyde-3-phosphate bị oxy hoá nhờ AD^+ là chất nhận electron, đồng thời một nhóm phosphate được gắn vào để tạo thành 1,3-bisphosphate glycerate là một phân tử cao năng. Sau đó phosphate cao năng ở carbon 1 được chuyển cho ADP và xuất hiện ATP. Việc tổng hợp ATP nói trên được gọi là phosphoryl hoá ở mức độ cơ chất vì quá trình phosphoryl hoá ADP liên kết với sự phân giải ngoại năng của một phân tử cơ chất cao năng.

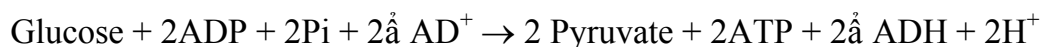
Một quá trình tương tự tạo thành một phân tử ATP thứ hai cũng nhờ phosphoryl hoá ở mức độ cơ chất. Nhóm phosphate trên 3-phosphoglycerate được chuyển sang carbon 2 và 2-phosphoglycerate bị loại nước để tạo thành một phân tử cao năng thứ hai là phosphoenolpyruvate. Phân tử này chuyển nhóm phosphate sang ADP tạo thành một ATP thứ hai và pyruvate là sản phẩm cuối cùng của con đường.



Hình 17.5: Con đường đường phân

Trong hình là con đường đường phân phân giải glucose thành Pyruvate. 2 giai đoạn của con đường và các sản phẩm được trình bày ở đây. (Theo: Prescott và cs, 2005)

Con đường đường phân phân giải một glucose thành 2 pyruvate qua chuỗi phản ứng mô tả như trên. ATP và ă ADH cũng được tạo thành. Sản lượng của ATP và ă ADH có thể tính được khi xem xét hai chặng riêng rẽ. Trong chặng 6-carbon hai ATP được dùng để tạo thành fructo-1,6-bisphosphate. Vì 2 glyceraldehyde-3-phosphate xuất hiện từ một glucose (1 từ dihydroxyacetone-phosphate) chặng 3-carbon tạo thành 4 ATP và 2 ă ADH từ 1 glucose. ă ếu trừ ATP dùng trong chặng 6-carbon ta sẽ được sản lượng thực là 2 ATP/glucose. Do đó sự phân giải glucose thành pyruvate trong đường phân có thể được biểu thị trong phương trình đơn giản sau:

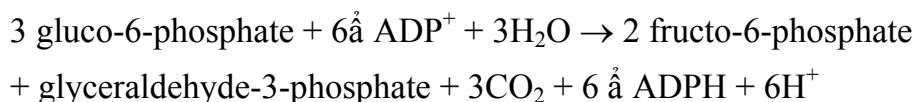


17.2.2. Con đường pentose-phosphate (con đường hexo-monophosphate)

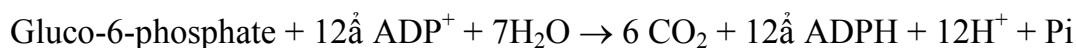
Con đường này có thể được dùng đồng thời với con đường đường phân và con đường Entner - Doudoroff, diễn ra trong điều kiện hiếu khí cũng như kỵ khí và có vai trò quan trọng trong sinh tổng hợp cũng như trong phân giải.

Con đường pentose-phosphate bắt đầu với việc oxy hoá gluco-6-phosphate thành 6-phosphorus-gluconat, tiếp theo là oxy hoá 6-phosphorusgluconat thành ribulo-5-phosphate và CO₂ (Hình 17.6).

Ả ADPH được tạo thành trong các phản ứng oxy hoá nói trên. Sau đó ribulo-5-phosphate được chuyển thành một hỗn hợp gồm các đường phosphate 3 đến 7-carbon. Hai enzyme đặc trưng của con đường đóng vai trò trung tâm trong những sự chuyển hoá này là: 1) Transketolase xúc tác chuyển nhóm ketol 2 carbon và 2) Transaldolase xúc tác chuyển nhóm 3-carbon từ sedoheptulo - 7 - phosphate với glyceraldehyde-3-phosphate (Hình 17.7). Kết quả chung là 3 gluco-6-phosphate được chuyển thành 2 fructo-6-phosphate, glyceraldehyde-3-phosphate và 3 phân tử CO₂ theo phương trình sau:



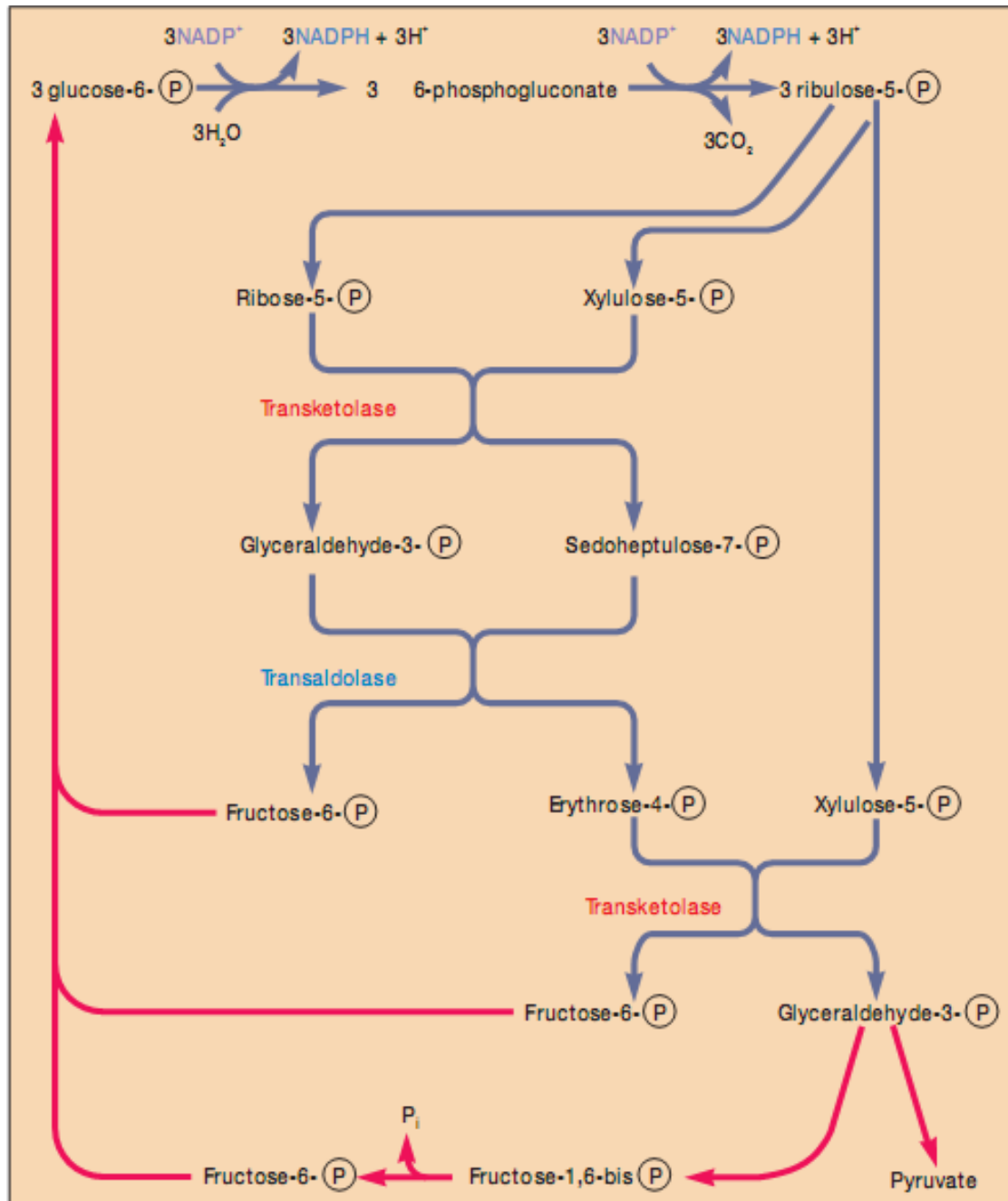
Các chất trung gian nói trên được sử dụng trong hai con đường. Fructo-6-phosphate có thể được chuyển trở lại thành gluco-6-phosphate, còn glyceraldehyde-3-phosphate được chuyển thành Pyruvate bởi các enzyme của đường phân. Glyceraldehyde-3-phosphate cũng có thể trở lại con đường pentose-phosphate qua việc tạo thành gluco-6-phosphate. Điều này dẫn đến sự phân giải hoàn toàn gluco-6-phosphate thành CO₂ và tạo thành một lượng lớn ả ADPH:



Con đường pentose-phosphate có một số chức năng dị hoá và đồng hoá, chẳng hạn:

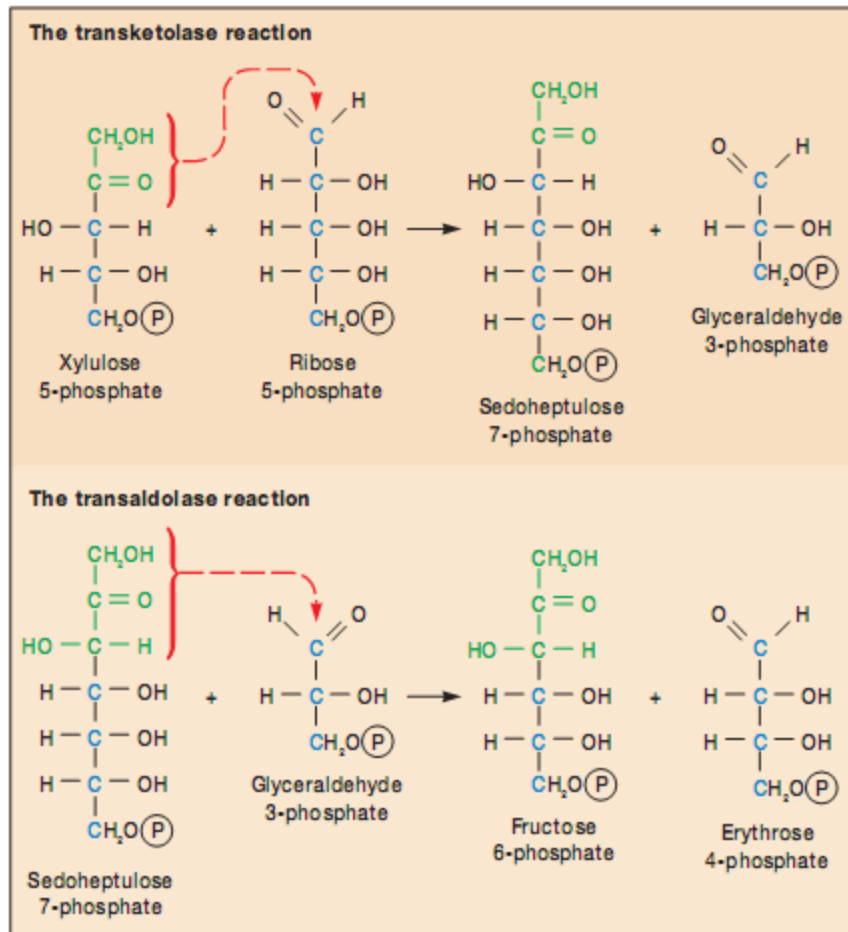
1. ả ADPH từ con đường pentose-phosphate được dùng làm nguồn electron cho việc khử các phân tử trong sinh tổng hợp.

2. Con đường tổng hợp các đường 4-carbon và 5-carbon dùng vào một số mục đích. Đường 4-carbon erytro-4-phosphate được dùng để tổng hợp các acid amin thơm và vitamin B6 (piridoxal). Ribo-5-phosphate là thành phần chủ yếu của các acid nucleic và ribulo-1,5-diphosphate là chất nhận CO₂ đầu tiên trong quang hợp. Tuy nhiên, khi một vi sinh vật đang sinh trưởng trên một nguồn carbon là pentose, con đường cũng có thể cung cấp carbon cho việc tổng hợp hexose (glucose cần cho việc tổng hợp peptidoglycan).



Hình 17.6: Con đường pentose-phosphate

Ở đây, 3 phân tử gluco-6-phosphate được chuyển hóa thành 2 fructo-6-phosphate và glyceraldehyde-3-phosphate. Fructo 6-phosphate được chuyển hóa trở lại thành gluco-6-phosphate. Glyceraldehyde-3-phosphate có thể được chuyển thành Pyruvate hay kết hợp với 1 phân tử dihydroxyacetone-phosphate (từ glyceraldehyde-3-phosphate tạo thành ở vòng thứ 2 của con đường) để sản ra fructo-6-phosphate. (Theo: Prescott và cs, 2005)



Hình 17.7. Transketolase và transaldolase

Trong hình là các phản ứng xúc tác bởi 2 enzyme này. (Theo: Prescott và cs, 2005)

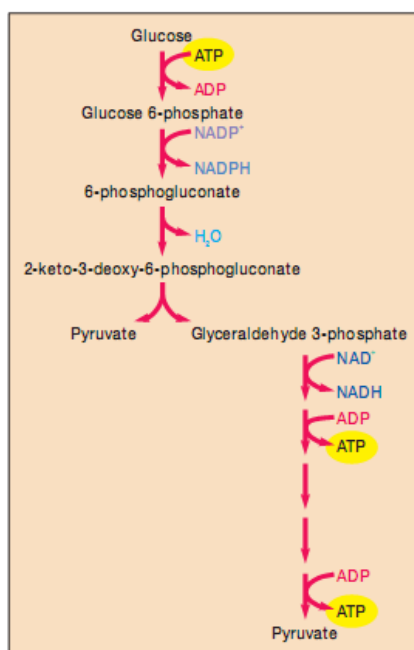
3. Các chất trung gian trong con đường pentose-phosphate có thể được dùng để tạo thành ATP. Glyceraldehyde-3-phosphate từ con đường có thể đi vào chặng 3-carbon của con đường đường phân và được chuyển thành ATP và Pyruvate. Pyruvate có thể bị oxy hoá trong chu trình acid tricarboxylic để cung cấp nhiều năng lượng hơn. Ngoài ra, một phần của ADPH có thể được chuyển thành ADH để sản ra ATP khi ADH bị oxy hoá trong chuỗi vận chuyển electron. Vì các đường 5-carbon là những chất trung gian trong con đường do đó con đường pentose-phosphate có thể được dùng để chuyển hoá pentose cũng như hexose.

Mặc dù có thể là nguồn năng lượng đối với nhiều vi sinh vật nhưng con đường pentose-phosphate thường có vai trò quan trọng hơn trong sinh tổng hợp. Hơn nữa, tuy cả hai con đường đường phân và pentose-phosphate đều sử dụng gluco-6-P nhưng mức độ

hoạt động của mỗi con đường tùy thuộc vào trạng thái sinh trưởng của tế bào. Trong giai đoạn sinh trưởng mạnh mẽ nhất 2 con đường được sử dụng với tỉ lệ 2:1 (EM: pentose-P). Tuy nhiên khi sinh trưởng chậm lại năng lực sinh tổng hợp cũng giảm theo, đồng thời ả ADPH cũng như các phosphate đường C₅ và C₄ cần ít hơn khiến cho tỉ lệ giữa hai con đường bây giờ trở thành 10:1 thậm chí 20:1.

17.2.3. Con đường Entner-Doudoroff

Mặc dù đường phân là con đường phổ biến nhất dùng chuyển hoá các hexose thành pyruvate nhưng một con đường khác, tương tự cũng đã được phát hiện. Con đường Entner-Doudoroff mở đầu với các phản ứng chỉ như con đường pentose-phosphate tức là tạo thành gluco-6-phosphate và 6-phosphorus-gluconat (Hình 17.8).



Hình 17.8: Con đường Entner-Doudoroff

Thứ tự từ glyceraldehyde-3-phosphate tới Pyruvate được xúc tác bởi các enzyme chung cho con đường đường phân. (Theo: Prescott và cs, 2005)

Tuy nhiên, sau đó 6-phosphorus-gluconat không bị oxy tiếp mà bị loại nước tạo thành 2-keto-3-deoxy-6-phosphorusgluconat (KDPG) là chất trung gian chủ yếu trong con đường này. KDPG sẽ bị phân giải bởi KDPG aldolase thành Pyruvate và glyceraldehyde-3-phosphate. Glyceraldehyde-3-phosphate được chuyển thành pyruvate ở phần cuối của con đường đường phân. Con đường Entner-Doudoroff phân giải glucose thành pyruvate, 1 ATP, 1 ả ADH và 1 ả ADPH.

Hầu hết vi khuẩn sử dụng các con đường đường phân và pentose-phosphate nhưng một số lại sử dụng con đường Entner-Doudoroff thay cho đường phân. Con đường

Entner-Doudoroff thường gặp ở các chi *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Azotobacter*, *Agrobacterium* và một vài chi vi khuẩn gram âm khác. Trong số các vi khuẩn gram dương mới chỉ phát hiện *Enterococcus faecalis* sử dụng con đường nói trên.

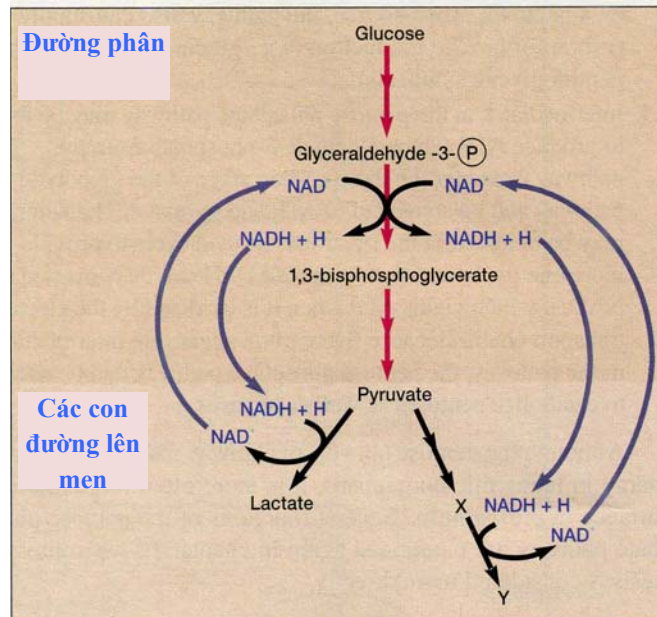
Do con đường Entner-Doudoroff không tạo thành các phosphate đường C_5 và C_4 nên tế bào vẫn cần sự hoạt động đồng thời của cả con đường pentose-P.

Thử nghiệm đối với khả năng oxy hóa glucose bởi con đường Entner-Doudoroff đôi khi được sử dụng để xác định *Pseudomonas* trong phòng thí nghiệm lâm sàng.

17.3. LÊN MEN

Khi vắng mặt hô hấp hiếu khí hoặc kỵ khí ADH không bị oxy hoá bởi chuỗi vận chuyển electron do thiếu chất nhận electron từ bên ngoài. Tuy nhiên, ADH tạo thành trong con đường đường phân vẫn cần phải được oxy hoá trở lại thành AD^+ . Nếu AD^+ không được tái tạo việc oxy hoá glyceraldehyde-3-phosphate sẽ không diễn ra và đường phân sẽ ngừng hoạt động. Vì vậy chức năng chủ yếu của lên men là tái sản AD^+ cho đường phân. Để khắc phục tình trạng trên nhiều vi sinh vật đã giảm hoặc làm ngừng hoạt tính của enzyme pyruvate dehydrogenase và sử dụng pyruvate hay một trong các chất dẫn xuất của pyruvate như chất nhận electron và hydro nhằm tái oxy hoá ADH trong một quá trình lên men (Hình 17.9). Ở đây chỉ giới thiệu một số quá trình lên men thường gặp nhất. Trong lên men vi sinh vật cần chú ý hai điểm: 1) ADH được oxy hoá thành AD^+ và 2) chất nhận electron thường là pyruvate hoặc một chất dẫn xuất từ pyruvate. Trong lên men cơ chất bị oxy hoá một phần, ATP chỉ được tạo thành bởi phosphoryl hoá ở mức độ cơ chất và O_2 là không cần thiết.

Ấu nấm và một số vi khuẩn, tảo và động vật nguyên sinh lên men đường thành ethanol và CO_2 trong một quá trình gọi là lên men etylic. Pyruvate bị loại CO_2 thành Acetaldehyd, sau đó Acetaldehyd bị khử thành ethanol nhờ sự xúc tác của alcohol-dehydrogenase với ADH là chất cho electron (Hình 17.10, số 2). Quá trình lên men thứ hai gọi là lên men lactic còn gặp phổ biến hơn. Đây là sự khử Pyruvate thành lactat (Hình 17.10, số 1). Lên men lactic diễn ra ở vi khuẩn (vi khuẩn lactic, *Bacillus*), tảo (*Chlorella*), một số mốc nước, động vật nguyên sinh thậm chí ở cả cơ xương của động vật. Các vi sinh vật lên men lactic có thể được chia thành hai nhóm: nhóm lên men lactic đồng hình sử dụng con đường đường phân và trực tiếp khử hầu hết pyruvate thành lactat nhờ sự xúc tác của enzyme lactat dehydrogenase; nhóm lên men lactic dị hình tạo thành một lượng lớn các sản phẩm không phải lactat, trong đó nhiều loài tạo thành lactat, ethanol và CO_2 qua con đường phosphoroketolase.

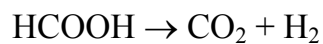


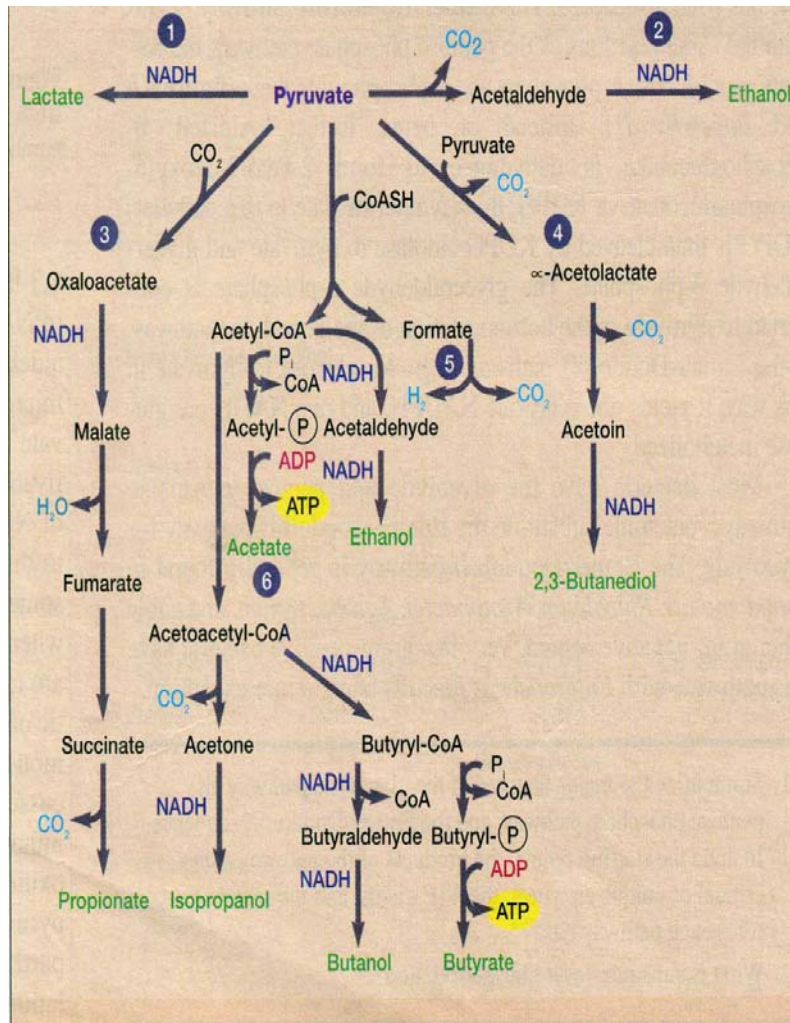
Hình 17.9: Oxy hóa lại NADH trong lên men

NADH từ đường phân được oxy hóa lại nhờ được dùng để khử pyruvate hay 1 chất dẫn xuất của pyruvate (X). Kết quả là xuất hiện lactat hoặc sản phẩm khử Y. (Theo: Prescott và cs, 2005)

Lên men etylic và lên men lactic là hai quá trình lên men rất có ích cho con người. Lên men etylic do nấm men được dùng để sản xuất các loại đồ uống có chứa cồn; CO₂ thoát ra từ quá trình lên men này có tác dụng làm nở bột mì. Mặc dù có thể gây hư hỏng thực phẩm nhưng lên men lactic được dùng phổ biến để muối dưa, cà, sản xuất sữa chua, nem chua, ủ chua thức ăn cho gia súc.

Ải hiệu vi khuẩn, đặc biệt là các cá thể trong họ *Enterobacteriaceae* có thể chuyển hoá Pyruvate thành acid formic và các sản phẩm khác trong một quá trình đôi khi được gọi là lên men formic (Hình 17.10, số 5). ả hờ formic - hydroliase (là phức hợp gồm ít nhất hai enzyme) acid formic có thể bị phân giải thành H₂ và CO₂:





Hình 17.10: Một số quá trình lên men phổ biến ở vi sinh vật

Để cho đơn giản ở đây chỉ giới thiệu các quá trình lên men Pyruvate; trên thực tế nhiều phân tử hữu cơ khác cũng có thể được lên men. Hầu hết các quá trình lên men này đã được đơn giản hóa bằng cách loại bỏ 1 hoặc nhiều bước và các chất trung gian. (Theo: Prescott và cs, 2005)

1. Vi khuẩn acid lactic (*Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Bacillus*)
2. Nấm men, *Zymomonas*
3. Vi khuẩn acid propionic (*Propionibacterium*)
4. *Enterobacter*, *Serratia*, *Bacillus*
5. Vi khuẩn đường ruột (*Escherichia*, *Enterobacter*, *Salmonella*, *Proteus*).
6. *Clostridium*

Có hai loại lên men formic. Lên men acid hỗn hợp cho sản phẩm là ethanol và một hỗn hợp các acid đặc biệt là acetic, lactic, succinic và formic (bảng 17.2). Hầu hết formic hydrolyase có mặt acid formic sẽ bị phân giải thành H_2 và CO_2 . Dạng lên men này gặp ở

Escherichia, *Salmonella*, *Proteus* và một số chi khác. Lên men butandiol đặc trưng ở các chi *Enterobacter*, *Serratia*, *Erwinia* và một số loài của *Bacillus* (Hình 17.10, số 4). Pyruvate được chuyển hoá thành acetoin, sau đó acetoin bị khử thành 2,3-butandiol với ắc ADH. Một lượng lớn etanol cũng được tạo thành cùng với những lượng nhỏ các acid gặp trong lên men acid hỗn hợp.

Bảng 17.1: Các sản phẩm lên men acid hỗn hợp ở E. coli. (Theo: Prescott và cs, 2005)

Lên men	Cân bằng lên men (μM sản phẩm/ $100\mu\text{M}$ glucose)	
	Sinh trưởng acid (pH6)	Sinh trưởng kiềm (pH8)
Ethanol	50	50
Acid formic	2	86
Acid acetic	36	39
Acid lactic	80	70
Acid succinic	11	15
CO ₂	88	2
H ₂	75	0,5
Butandiol	0	0

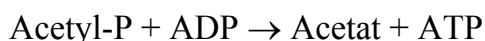
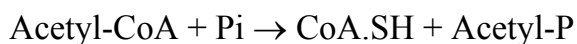
Lên men formic rất có ích trong việc xác định các cá thể của họ *Enterobacteriaceae*. Các vi khuẩn lên men butandiol có thể được phân biệt với các vi khuẩn lên men acid hỗn hợp ở ba điểm sau:

1. Thử nghiệm (test) Voges-Proskauer là một phương pháp so màu dùng phát hiện tiền chất acetoin của butandiol (Hình 17.10). Thử nghiệm này chỉ dương tính với các vi khuẩn lên men butandiol.

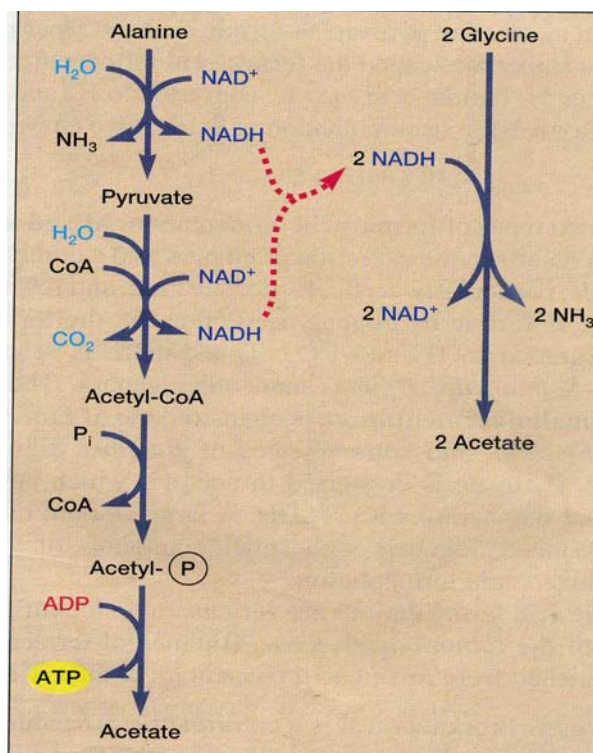
2. Các vi khuẩn lên men acid hỗn hợp tạo thành các sản phẩm acid nhiều hơn 4 lần các sản phẩm trung tính, trong khi các vi khuẩn lên men butandiol tạo thành các sản phẩm trung tính là chủ yếu. Do đó các vi khuẩn lên men acid hỗn hợp acid hoá rất rõ rệt môi trường nuôi cấy. Đây là cơ sở của thử nghiệm đỏ metil (methyl red). Thử nghiệm là dương tính chỉ với lên men acid hỗn hợp vì pH giảm xuống dưới 4,4 và màu của chất chỉ thị chuyển từ vàng sang đỏ.

3. CO₂ và H₂ xuất hiện đẳng lượng do hoạt tính của formic-hydroliase trong lên men acid hỗn hợp. Các vi khuẩn lên men butandiol tạo thành dư thừa CO₂ và tỉ lệ CO₂/H₂ xấp xỉ 5:1.

Các vi khuẩn lên men formic đôi khi tạo thành ATP trong việc tái oxy hoá ẩ ADH. Chúng sử dụng Acetyl-CoA để tổng hợp Acetyl-phosphate sau đó nhóm phosphate này được chuyển đến ADP.



Các vi sinh vật tiến hành các quá trình lên men khác với các quá trình nói trên. Động vật nguyên sinh và nấm thường lên men đường thành lactat, etanol, glycerol, succinat, format, acetat, butandiol và các sản phẩm bổ sung.



Hình 17.11: Phản ứng Stickland

Alanin bị oxy hóa thành acetat và glixin được dùng để oxy hóa lại NADH sản ra trong sự phân giải alanin. Lên men cũng tạo thành ATP. (Theo: Prescott và cs, 2005)

Các chất không phải đường cũng được lên men bởi vi sinh vật. Chẳng hạn, một số loài của chi *Clostridium* thường lên men các hỗn hợp acid amin. Các clostridia phân giải protein như các vi khuẩn gây bệnh. *C. sporogenes* và *C. botulinum* thực hiện phản ứng Stickland trong đó một acid amin bị oxy hoá trong khi một acid amin thứ hai tác dụng như chất nhận electron. Phản ứng Stickland điển hình là phản ứng trong đó alanin bị oxy hoá và glixin bị khử để tạo thành acetat, CO₂ và ẩ H₃. ATP được sản ra từ Acetyl-P nhờ phosphoryl hoá ở mức độ cơ chất và kiểu lên men này rất thích hợp cho các vi khuẩn khi

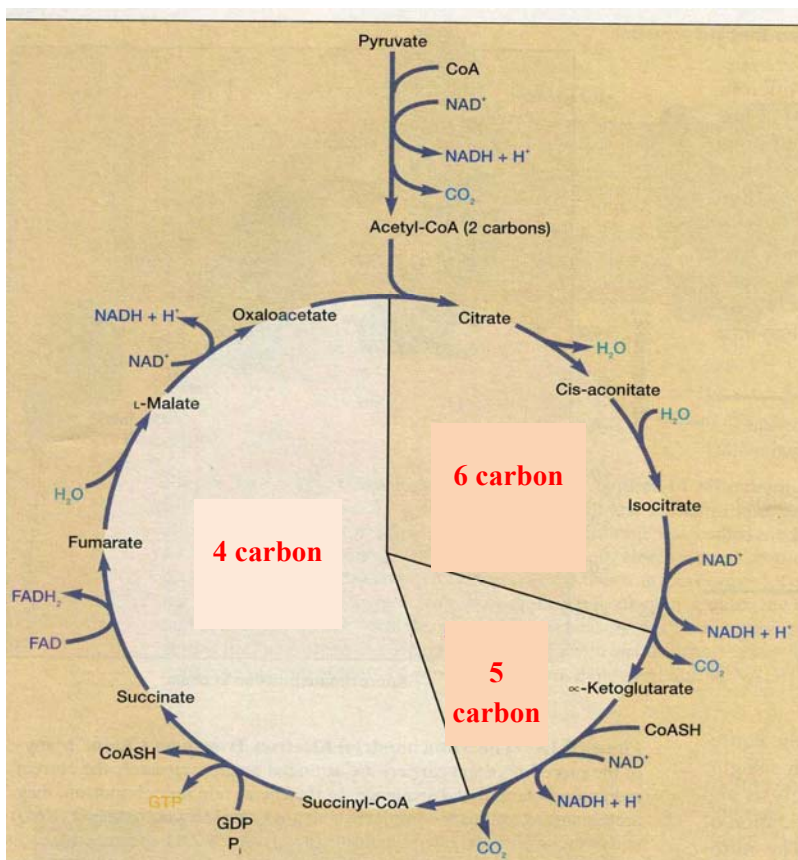
sinh trưởng trong môi trường kỵ khí giàu protein. Phản ứng Stickland được dùng để oxy hoá một số acid amin như: alanin, leucin, isoleucin, valin, phenylalanin, tryptophan và histamin. Các acid amin khác như glicin, glutamate, threonine, arginin và cả alanin cũng được vi khuẩn lên men nhưng theo cơ chế khác. Ắ goài đường và acid amin các acid hữu cơ như acetat, lactat, propionat và citrat cũng được lên men. Một số quá trình lên men nói trên có ý nghĩa rất quan trọng trong thực tế chẳng hạn citrat có thể được chuyển thành diacetyl tạo cho sữa lên men hương vị thơm ngon.

17.4. CHU TRÌNH ACID TRICARBOXYLIC

Mặc dù một phần năng lượng có thể thu được từ sự phân giải glucose thành pyruvate qua các con đường nói trên nhưng phần lớn năng lượng lại được giải phóng khi pyruvate bị phân giải hiếu khí thành CO_2 trong giai đoạn 3 của sự dị hoá.

Phức hợp đa enzyme pyruvate dehydrogenase trước hết oxy hoá pyruvate thành CO_2 và acetyl - CoA cũng là một phân tử cao năng bao gồm coenzyme A và acid acetic nối với nhau qua liên kết cao năng thiol este (*Hình 17.12*).

Acetyl-CoA xuất hiện từ sự phân giải của nhiều hidrat carbon, lipid và các acid amin (*hình 17.3*) có thể bị phân giải tiếp trong chu trình Acid tricarboxylic (TCA) hoặc cũng gọi là chu trình Krebs. Cơ chất đối với chu trình TCA là Acetyl-CoA (*Hình 17.12*). Khi xem xét chu trình này ta cần chú ý đến các chất trung gian, các sản phẩm và hoá học của mỗi chặng. Trong phản ứng thứ nhất Acetyl-CoA kết hợp với Oxaloacetate (chất trung gian 4C) thành citrat và mở đầu chặng 6C. Citrat (chứa 3 gốc COOH) được sắp xếp lại tạo thành izocitrat. Sau đó izocitrat bị oxy hoá và loại carboxyl hai lần sản ra α -ketoglutarat rồi succinyl-CoA. Ở chặng này 2 Ắ ADH được tạo thành và 2C bị tách khỏi chu trình như CO_2 (Chú ý: Ở vi khuẩn phản ứng izocitrat $\rightarrow \alpha$ -ketoglutarat sử dụng Ắ ADP^+). Vì 2C được bổ sung ở dạng Acetyl-CoA lúc ban đầu nên cân bằng được duy trì và không có carbon nào bị mất. Bây giờ chu trình đi vào giai đoạn 4C trong đó qua hai bước oxy hoá xuất hiện một FADH_2 và một Ắ ADH. Ắ goài ra, GTP (một phân tử cao năng tương đương ATP) được tạo thành từ succinyl-CoA nhờ phosphoryl hoá ở mức độ cơ chất. Cuối cùng Oxaloacetat được tái tạo và sẵn sàng kết hợp với một phân tử acetyl-CoA khác. Từ *hình 5.12* nhận thấy chu trình TCA sản ra 2 CO_2 , 3 Ắ ADH, 1 FADH_2 và 1GTP đối với mỗi phân tử Acetyl-CoA bị oxy hoá.



Hình 17.12: Chu trình acid tricarboxylic

Chu trình có thể được chia thành 3 giai đoạn dựa vào số lượng các chất trung gian. 3 giai đoạn được tách riêng bởi 2 phản ứng loại carboxyl. (phản ứng trong đó nhóm carboxyl bị mất đi ở dạng CO_2). Phức hệ Pyruvate-dehydrogenase tạo thành Acetyl-CoA qua oxy hóa Pyruvate. (Theo: Prescott và cs, 2005)

Đứng về mặt chức năng có thể xem chu trình TCA là con đường oxy hoá Acetyl-CoA thành CO_2 . Ở đây, bước đầu tiên là việc gắn nhóm acetyl vào chất mang acetyl tức là oxaloacetate để tạo thành citrat. Bước thứ hai bắt đầu với citrat và kết thúc với việc tạo thành succinyl-CoA. Ở đây, phần mang acetyl của citrat mất đi 2C khi bị oxy hoá để cho 2CO_2 . Bước thứ ba và bước cuối cùng chuyển succinyl-CoA trở lại oxal-acetat (chất mang acetyl) rồi chất này lại kết hợp với một nhóm acetyl khác.

Các enzyme của chu trình TCA gặp phổ biến trong vi sinh vật. Chu trình hoàn toàn hoạt động ở nhiều vi khuẩn hiếu khí, động vật nguyên sinh sống tự do, hầu hết tảo và nấm. Điều này là dễ hiểu vì chu trình là nguồn năng lượng rất quan trọng. Tuy nhiên, *E. coli* kỵ khí không bắt buộc không sử dụng chu trình đầy đủ trong điều kiện kỵ khí hay khi nồng độ glucose cao nhưng sử dụng chu trình đầy đủ trong những trường hợp khác.

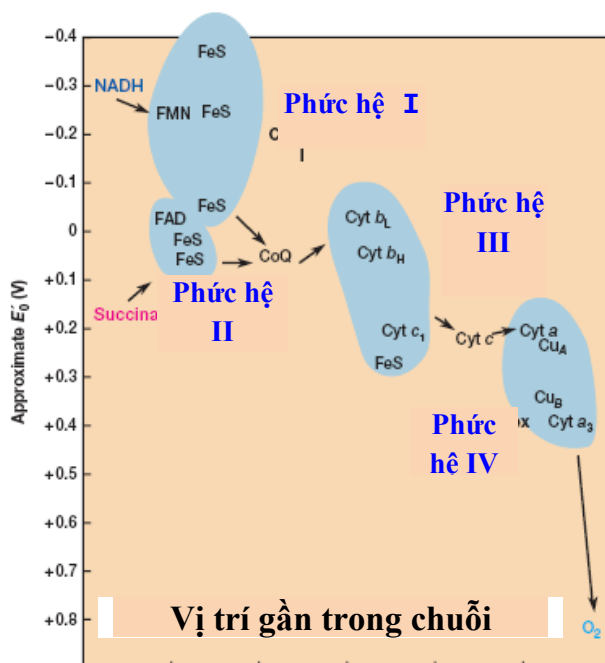
Mặc dù thiếu chu trình hoàn chỉnh nhưng *E. coli* thường vẫn có hầu hết các enzyme của TCA vì một trong các chức năng chủ yếu của chu trình này là cung cấp bộ khung carbon dùng cho sinh tổng hợp.

17.5. SỰ VẬN CHUYỂN ELECTRON VÀ PHOSPHORYL HÓA OXY HÓA

Khi một phân tử glucose bị oxy hoá thành 6 phân tử CO_2 qua con đường đường phân và chu trình TCA chỉ khoảng 4 phân tử ATP được tạo thành, còn hầu hết ATP thu được là từ sự oxy hoá của ADH và FADH_2 trong chuỗi vận chuyển electron.

17.5.1. Chuỗi vận chuyển electron

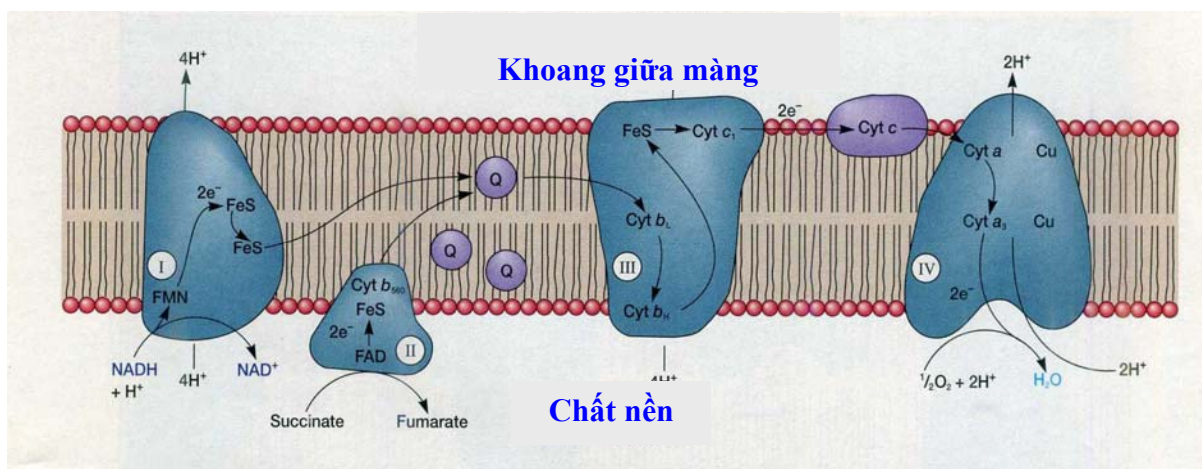
Chuỗi vận chuyển electron được nghiên cứu kỹ nhất là chuỗi ở ti thể. Chuỗi bao gồm một dãy các chất mang electron hoạt động phối hợp với nhau để vận chuyển electron từ các chất cho như ADH và FADH_2 tới các chất nhận như O_2 (Hình 17.13).



Hình 17.13: Chuỗi vận chuyển electron ti thể

Các chất mang quan trọng hơn được sắp xếp theo thế khử và thứ tự tương đối chính xác. Trong ti thể chúng được tổ chức thành 4 phức hợp liên kết với nhau bởi CoQ và Cytochrome c. Các electron di chuyển từ NADH và succinat xuôi theo gradien thế khử tới oxy. (Theo: Prescott và cs, 2005)

Các electron di chuyển từ các chất mang với thế khử âm hơn tới các chất mang với thế khử dương hơn, cuối cùng kết hợp với O_2 và H^+ tạo thành nước. Các electron vận chuyển xuôi theo gradien thế năng tương tự như nước chảy xuôi qua một dãy thác ghềnh. Sự khác nhau trong thế khử giữa O_2 và ADH là lớn, khoảng 1,14V giúp cho việc giải phóng một lượng lớn năng lượng. Sự thay đổi thế năng ở một số điểm trong chuỗi đủ lớn để cung cấp năng lượng cho việc tạo thành ATP tương tự như năng lượng từ thác nước chảy xuống các bánh xe dùng để sản xuất điện. Chuỗi vận chuyển electron đã phân tách toàn bộ năng lượng thoát ra thành các bước nhỏ. Một phần năng lượng giải phóng được bảo tồn ở dạng ATP. Việc vận chuyển electron ở những bước này có thể tạo ra các gradien proton và gradien điện tích. Sau đó các gradien này có thể hướng dẫn tổng hợp ATP.



Hình 17.14: Giả thuyết hóa thẩm thấu áp dụng vào ti thể

Trong sơ đồ các chất mang được tổ chức không đối xứng bên trong màng trong sao cho các proton di chuyển qua màng trong khi các electron được chuyển dọc theo chuỗi. Việc giải phóng proton vào khoang giữa các màng diễn ra khi các electron được chuyển từ các chất mang như FMN và CoQ (vận chuyển cả electron và proton) tới các thành phần như các protein sắt không-hem (các protein FeS) và các Cytochrome a tới O_2 . CoQ vận chuyển các electron từ các phức hợp I và II đến phức hợp III. Cytochrome c vận chuyển các electron giữa các phức hợp III và IV. Số lượng proton di chuyển qua màng ở mỗi vị trí đối với một cặp electron được vận chuyển vẫn còn chưa chắc chắn nhưng có lẽ ít nhất 10 proton phải di chuyển ra phía ngoài trong quá trình oxy hóa NADH. (Theo: Prescott và cs, 2005)

Các chất mang trong chuỗi vận chuyển electron nằm bên trong màng trong của ti thể hoặc màng sinh chất ở vi khuẩn. Sở dĩ vậy vì: (1) Các chất này cần ở sát gần nhau để thuận tiện cho việc chuyển các electron cho nhau; (2) Mục đích của chuỗi là bơm H^+ qua màng để tạo thành gradien H^+ , do đó nếu không có màng cũng sẽ không có gradien. Hệ

thống ti thể được sắp xếp thành 4 phức hợp các chất mang, mỗi phức hợp có thể vận chuyển một phần của các electron của con đường tới O_2 (Hình 17.14). Coenzyme Q và Cytochrome c liên kết các phức hợp với nhau.

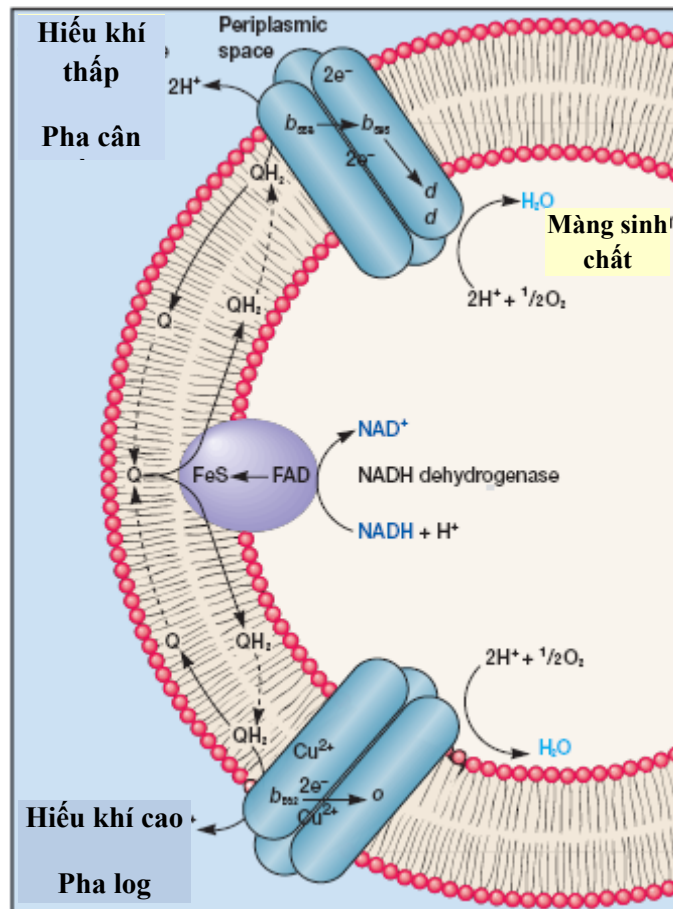
Quá trình nhờ đó năng lượng từ sự vận chuyển electron được dùng để tổng hợp ATP được gọi là phosphoryl hoá oxy hoá. Do đó cứ 3 phân tử ATP có thể được tạo thành từ ADP và Pi mỗi khi một cặp electron chuyển từ α ADH tới một nguyên tử của O_2 . Điều này cũng chỉ như nói tỉ lệ của phosphorus đối với oxy (P/O) là bằng 3. Vì các electron từ $FADH_2$ chỉ đi qua hai điểm phosphoryl hoá oxy hoá nên tỉ lệ P/O cực đại đối với $FADH_2$ là 2. Ở ti thể tỉ lệ P/O thực sự có thể nhỏ hơn 3 và 2.

Mặc dù một số chuỗi hô hấp ở vi khuẩn tương tự như ở ti thể nhưng nói chung chúng rất khác. Chẳng hạn các chất mang electron (ví dụ các Cytochrome) thường không chi nhau và các chuỗi ở vi khuẩn có thể phân nhánh mạnh mẽ. Các electron thường có thể đi vào chuỗi ở một số điểm và rời khỏi chuỗi qua một số oxydase tận cùng. Các chuỗi ở vi khuẩn cũng có thể ngắn hơn và có tỉ lệ P/O thấp hơn các chuỗi ở ti thể. α hư vậy, các chuỗi vận chuyển electron ở sinh vật nhân nguyên thủy và sinh vật nhân thật khác nhau trong chi tiết về cấu trúc mặc dù chúng đều hoạt động theo các nguyên tắc cơ bản chi nhau.

α hững sự khác nhau trong chuỗi vận chuyển electron thể hiện rõ rệt ở *E. coli* và *Paracoccus denitrificans*. Hình 17.15 là sơ đồ đơn giản chuỗi vận chuyển electron ở *E. coli*. Mặc dù vi khuẩn này vận chuyển các electron từ α ADH tới các chất nhận và vận chuyển các proton qua màng sinh chất nhưng chuỗi vận chuyển ở *E. coli* hoàn toàn khác với ở ti thể. Chẳng hạn, chuỗi ở *E. coli* phân nhánh và chứa các Cytochrome rất khác nhau. CoQ hoặc ubiquinol cung cấp các electron cho cả hai nhánh nhưng chúng hoạt động dưới các điều kiện sinh trưởng khác nhau. α hánh Cytochrome d có ái lực rất cao đối với oxy và hoạt động ở nồng độ oxy thấp. α hánh này hoạt động kém hiệu quả hơn nhánh Cytochrome o vì không chủ động bơm proton. α hánh Cytochrome o có ái lực cao trung bình đối với oxy, là một bơm proton và hoạt động ở nồng độ oxy cao hơn.

Paracoccus denitrificans là một vi khuẩn đất, gram âm, kỵ khí không bắt buộc, có thể sinh trưởng dị dưỡng với hàng loạt chất dinh dưỡng hoặc tự dưỡng với H_2 và CO_2 nhờ α O_3^- là chất nhận electron. Chuỗi vận chuyển electron hiếu khí gồm 4 phức hợp chi như ở ti thể (hình 17.16a). α goài các chất cho như α ADH, succinat vi khuẩn nói trên còn oxy hoá metanol, metylamin như nguồn carbon duy nhất cho sinh trưởng. Các electron đi vào chuỗi ở vị trí Cytochrome c. Metanol bị oxy hoá thành formaldehit, chất này được

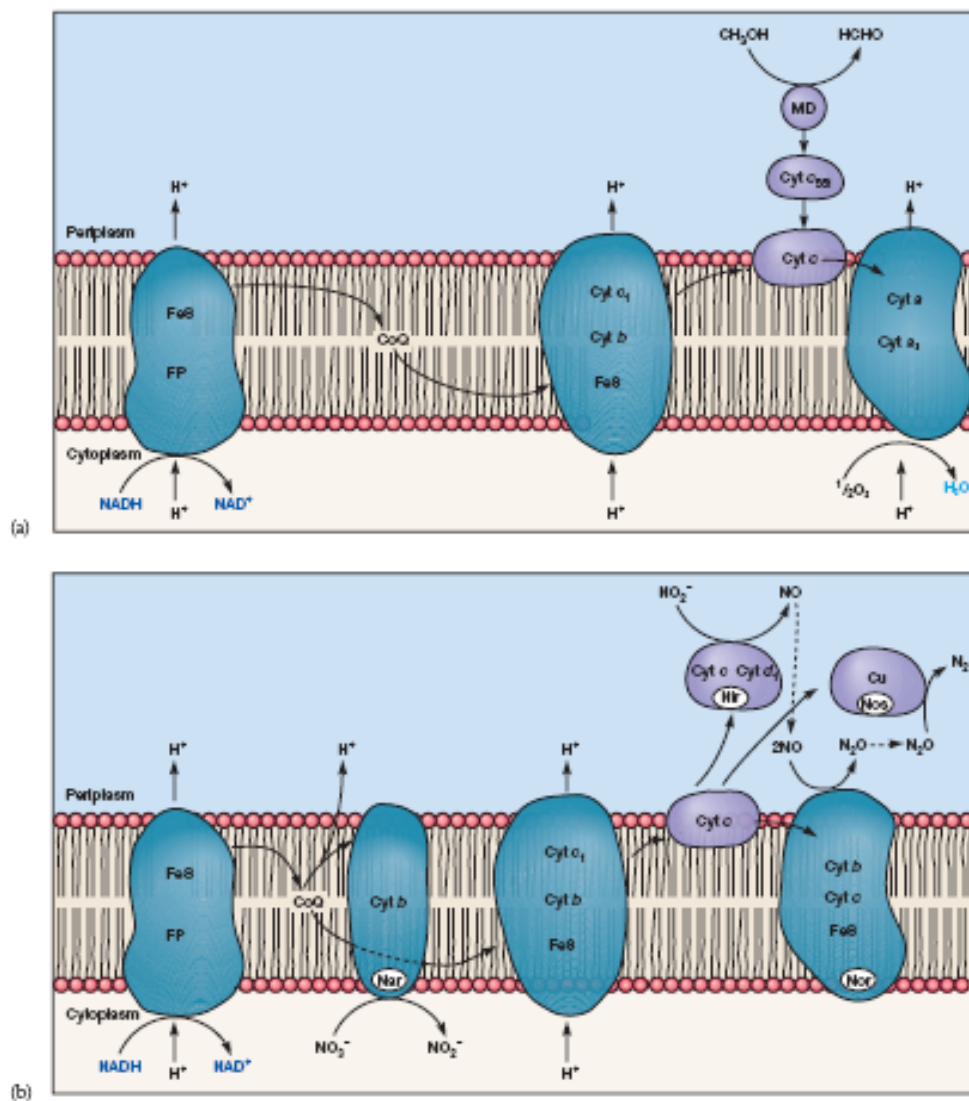
chuyển thành CO_2 và đi vào chu trình Calvin. Khi vi khuẩn sinh trưởng kỵ khí với O_3^- là chất nhận electron chuỗi sẽ được sắp xếp hoàn toàn khác (Hình 17.16b).



Hình 17.15: Hệ thống hô hấp hiếu khí ở *E. coli*.

NADH là nguồn electron. Ubiquinone-8 (*Q*) liên kết *NADH*-dehydrogenaza với 2 hệ thống oxydaza tận cùng. Nhánh phía trên hoạt động khi vi khuẩn ở pha ổn định và chứa ít oxy. Ít nhất 5 Cytochrome tham gia vào đây là *b₅₅₈*, *b₅₅₉*, *b₅₆₂*, *d* và *o*. Nhánh phía dưới hoạt động khi *E. coli* sinh trưởng nhanh và nồng độ oxy cao. (Theo: Prescott và cs, 2005).

Phức hợp Cytochrome aa3 không hoạt động. Các electron từ Cytochrome c của chuỗi được chuyển tới nitrite -, oxyd nitric - và oxyd nitro reductase. ẩ itrate reductase nhận electron từ CoQ. Số lượng proton tách khỏi màng sắp xếp theo kiểu này là không lớn nhưng nhờ vậy vi khuẩn có khả năng sinh trưởng kỵ khí.



Hình 17.16: Các chuỗi vận chuyển electron ở *Paracoccus denitrificans*

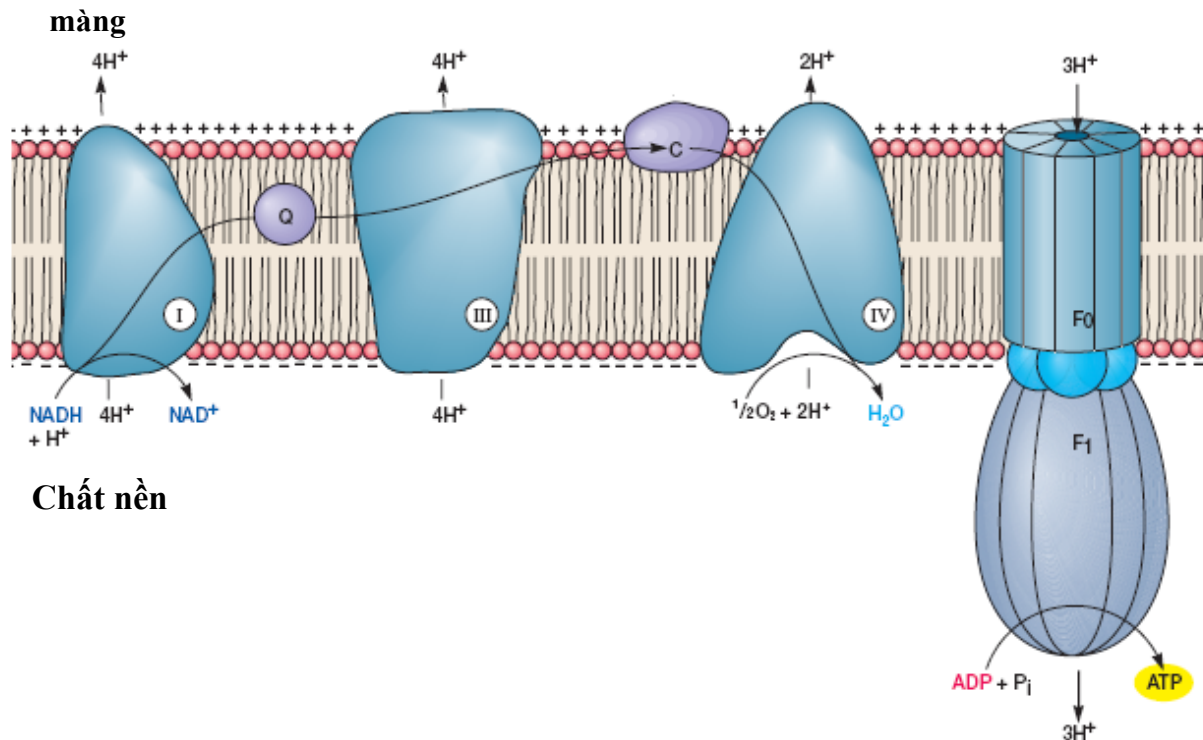
(a) Chuỗi vận chuyển hiếu khí chỉ với chuỗi vận chuyển electron ở ti thể và sử dụng oxy là chất nhận electron. Metanol và metilamin cũng có thể chuyển electron cho Cytochrome c. (b) Chuỗi vận chuyển kỵ khí phân nhánh mạnh mẽ được thực hiện bởi cả các protein của màng và các protein chu chất. Nitrate bị khử thành nitơ phân tử nhờ tác dụng phối hợp của 4 reductase khác nhau tiếp nhận các electron từ CoQ và xit.c. Vị trí di chuyển của proton được chỉ rõ nhưng số lượng proton bao gồm thì còn chưa chắc chắn. Ghi chú: FP= flavoprotein; MD = metanol-

dehydrogenase; Nar = nitrate reductase; Nir = nitrite reductase; Nor = oxyt nitric reductase; Nos = oxyt nitro reductase. (Theo: Prescott và cs, 2005)

17.5.2. Phosphoryl hoá oxy hoá

Mặc dù đã được nghiên cứu tích cực trong nhiều năm nhưng chỉ gần đây cơ chế của phosphoryl hoá oxy hoá mới được chấp nhận rộng rãi theo giả thuyết hoá thẩm thấu (chemiosmosis) do nhà sinh hoá người Anh Peter Mitchell đề xuất đầu tiên vào năm 1951. Theo giả thuyết này chuỗi vận chuyển electron được sắp xếp sao cho các proton được đẩy từ chất nền ti thể ra phía ngoài, còn các electron thì được vận chuyển bên trong chuỗi (hình 17.17). Sự di chuyển của proton có thể xuất phát từ các núm (loop) của chất mang (hình 17.14) hay từ tác dụng của các bơm proton đặc biệt thu được năng lượng nhờ sự vận chuyển electron. Kết quả là xuất hiện một động lực proton (proton motive force, PMF) bao gồm một gradien proton và một thế hiệu màng do sự phân bố không đều của điện tích. Khi các proton di chuyển trở lại chất nền ti thể nhờ PMF ATP sẽ được tổng hợp ngược chiều với phản ứng thủy phân ATP (hình 17.17).

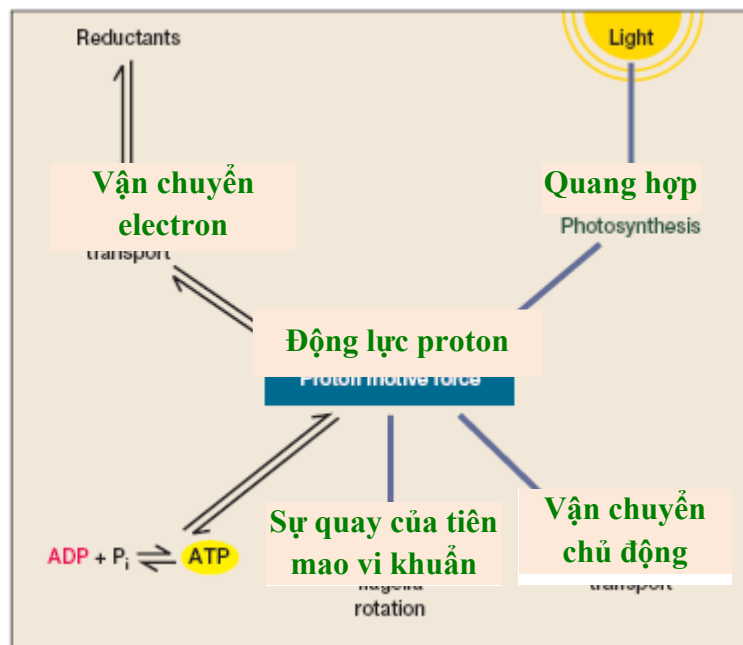
Khoang trong màng



Hình 17.17: Hóa thẩm thấu

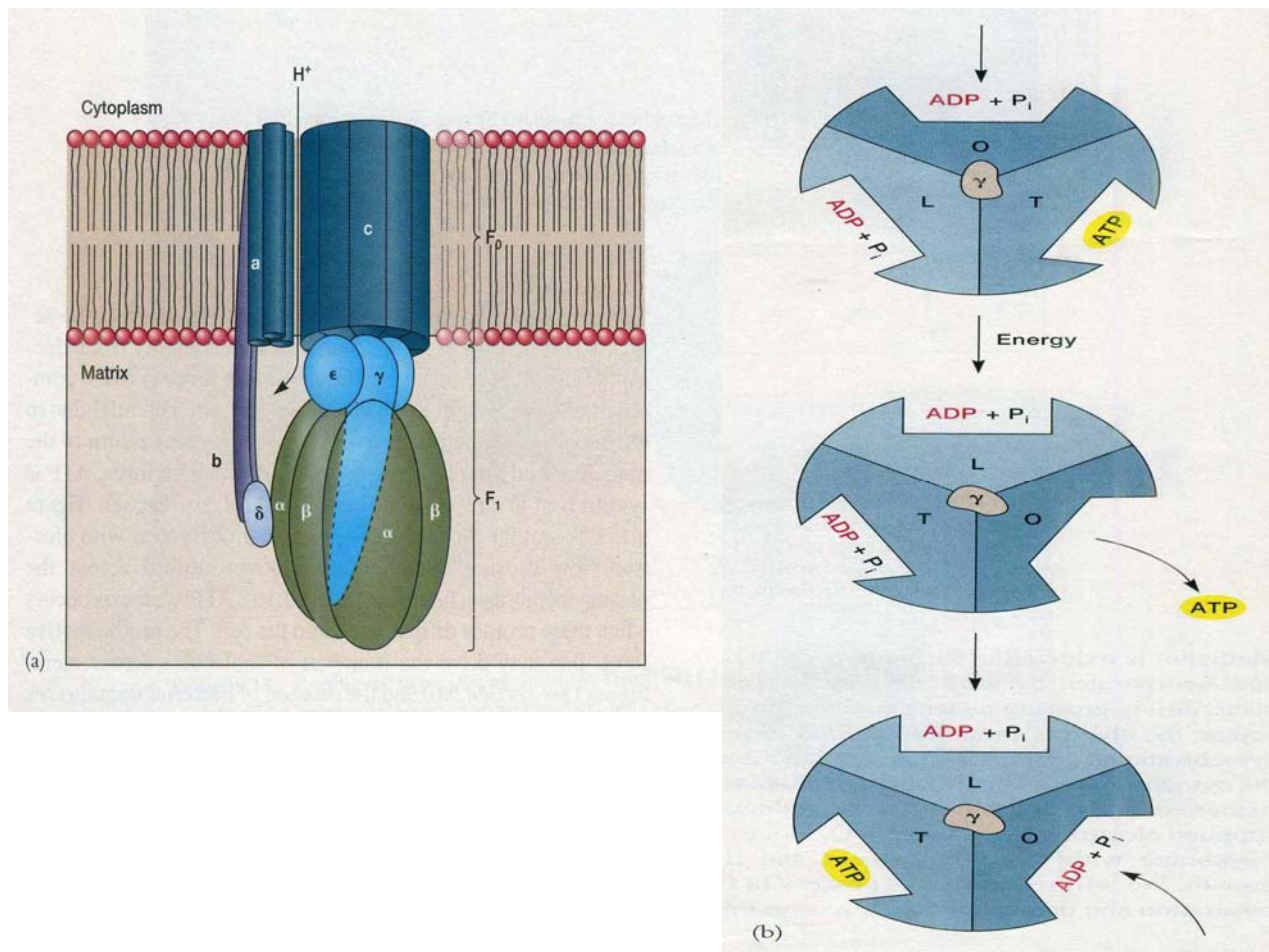
Sơ đồ giả thuyết hóa thẩm thấu áp dụng cho chức năng của ti thể. Dòng electron từ NADH tới oxy tạo điều kiện cho các proton di chuyển từ chất nền (matrix) ti thể tới khoang giữa các màng. Kết quả là sự xuất hiện của các gradien proton và gradien điện tích. Khi các proton chuyển trở lại chất nền qua phức hợp F_1F_0 , F_1 sẽ tổng hợp ATP. Ở vi khuẩn quá trình diễn ra tương tự nhưng các proton di chuyển từ tế bào chất đến chu chất. (Theo: Prescott và cs, 2005)

Ở vi khuẩn cũng diễn ra quá trình tương tự: dòng electron tạo điều kiện cho các proton di chuyển ra phía ngoài qua màng sinh chất (Hình 17.15 và 17.16) sau đó ATP được tổng hợp khi các proton này khuếch tán trở lại tế bào. PMF cũng có thể hướng dẫn vận chuyển các phân tử qua màng cũng như sự quay của tiên mao nghĩa là đóng vai trò trung tâm trong sinh lý học của vi khuẩn (Hình 17.18). Giả thuyết hoá thẩm thấu được chấp nhận bởi hầu hết các nhà vi sinh vật học. Việc tạo thành gradien proton và gradien điện tích qua màng đã được chứng minh rõ rệt. Tuy nhiên, chứng cứ gradien proton là động lực trực tiếp của phosphoryl hoá oxy hoá vẫn chưa được khẳng định. Ở một số vi khuẩn biển ưa mặn các ion natri có thể được dùng để hướng dẫn tổng hợp ATP.



Hình 17.18: Vai trò trung tâm của động lực proton (Proton Motive Force)

Cần chú ý rằng việc vận chuyển chủ động không phải bao giờ cũng được hướng dẫn bởi PMF. (Theo: Prescott và cs, 2005)



Hình 17.19: Cấu trúc và chức năng của ATP-synthase

(a) Các đặc tính cấu trúc chủ yếu của ATP-synthase. F_1 là cấu trúc hình cầu bao gồm chủ yếu là các dưới-đơn vị luân phiên α và β ; 3 vị trí hoạt động nằm trên các dưới-đơn vị β . Dưới đơn vị γ kéo dài lên trên qua trung tâm của cấu trúc hình cầu và có thể quay. Phần cuống (các dưới đơn vị γ và ϵ) nối hình cầu với F_0 ; F_0 là phức hợp bên trong màng đóng vai trò như 1 kênh proton. F_0 chứa 1 dưới đơn vị a , 2 dưới đơn vị b và 9-12 dưới đơn vị c . Nhánh stato bao gồm dưới đơn vị a , 2 dưới đơn vị b và dưới đơn vị δ ; nhánh stato nằm trong màng và gắn với F_1 . Một vòng các dưới đơn vị c trong F_0 được nối với cuống và có thể tác dụng như 1 roto và chuyển động qua 1 dưới đơn vị của stato. Khi vòng dưới đơn vị c quay nó sẽ làm quay trục (các dưới đơn vị γ và ϵ). (b) Sơ đồ tổng hợp ATP theo cơ chế liên kết thay đổi trong đó thể cầu F_1 được nhìn từ phía màng. 3 vị trí hoạt động có thể tồn tại ở 3 hình thể khác nhau: 1 hình thể mở, bất hoạt (O) với ái lực thấp đối với cơ chất và 1 hình thể L bất hoạt có ái lực khá lỏng lẻo đối với cơ chất và 1 hình thể chặt hoạt động (T) có ái lực cao đối với cơ chất. Trong bước đầu tiên ADP và P_i gắn vào vị trí O. Tiếp theo dưới đơn vị γ quay 120° nhờ năng lượng có lẽ từ dòng proton di chuyển qua F_0 . Sự quay này gây ra những thay đổi hình thể trong tất cả 3 dưới đơn vị dẫn đến việc giải phóng ra ATP mới được tổng hợp và việc chuyển hóa vị trí L thành 1 hình thể T hoạt động. Cuối cùng ATP được tổng hợp ở vị trí T mới trong khi ADP và P_i lại được liên kết vào vị trí O còn trống và

mọi việc lại sẵn sàng cho sự quay tiếp của dưới đơn vị γ hướng dẫn nhờ năng lượng. (Theo: Prescott và cs, 2005)

Dù cơ chế nào là chính xác, việc tổng hợp ATP đều diễn ra trên F_1F_0 ATPase hoặc ATP-synthase (Hình 17.19). Thành phần F_1 ở ti thể có cấu trúc hình cầu gắn vào bề mặt màng bên trong ti thể bởi một cuống, còn thành phần F_0 được lắp vào màng. F_1F_0 - ATPase ở vi khuẩn lại nằm ở bề mặt bên trong của màng sinh chất. F_0 tham gia vào việc di chuyển của proton qua màng và việc di chuyển này qua một rãnh trong F_0 có thể dùng để hướng dẫn phosphoryl hoá oxy hoá. F_1 là một phức hợp lớn chứa 3 dưới - đơn vị α luân phiên với 3 dưới - đơn vị β . Dưới - đơn vị γ kéo dài từ phức hợp $\alpha_3\beta_3$ xuống phía dưới. Dưới - đơn vị này bao gồm một phần của cuống và tương tác với F_0 . Dưới - đơn vị δ cũng nằm ở phần cuống. Phần lớn dưới - đơn vị γ gấp ở trung tâm của F_1 được bao quanh bởi các dưới - đơn vị α và β . Dưới - đơn vị γ quay nhanh theo hướng trái chiều kim đồng hồ bên trong phức hợp $\alpha_3\beta_3$ tựa như trục quay ô tô và gây ra những thay đổi hình thể hướng dẫn tổng hợp ATP ở các vị trí hoạt động trên các dưới - đơn vị β (Hình 17.19b). Do đó ATP - synthase là một động cơ quay nhỏ nhất hiện biết, nhỏ hơn nhiều so với tiên mao vi khuẩn.

Ở nồng độ đủ cao nhiều hoá chất kìm hãm tổng hợp ATP trong điều kiện hiếu khí và thậm chí có thể giết chết tế bào. Các chất kìm hãm này, nói chung, có thể được phân thành hai loại. Một số ngăn cản trực tiếp việc vận chuyển electron. Chất kháng sinh pierixidin cạnh tranh với CoQ; chất kháng sinh antimixin A cản trở việc vận chuyển electron giữa các Cytochrome b và c; xianit và azit làm ngừng việc vận chuyển electron giữa Cytochrome a và O_2 do chúng có cấu trúc tương tự với O_2 .

Một nhóm chất kìm hãm khác gọi là chất cách li (uncoupler) có tác dụng đình chỉ tổng hợp ATP nhưng không ức chế việc vận chuyển electron. Trên thực tế, các chất cách li cũng có thể nâng cao tốc độ di chuyển của electron. Thông thường, sự vận chuyển electron liên kết chặt chẽ với phosphoryl hoá oxy hoá sao cho tốc độ tổng hợp ATP điều hoà tốc độ vận chuyển electron. Tổng hợp ATP trong phosphoryl hoá oxy hoá diễn ra càng nhanh thì chuỗi vận chuyển electron hoạt động để cung cấp năng lượng cần thiết cũng càng nhanh. Các chất cách li tách riêng phosphoryl hoá oxy hoá khỏi vận chuyển electron. Vì vậy, năng lượng do chuỗi thải ra sẽ ở dạng nhiệt chứ không phải ATP. ả hiệu chất cách li như dinitrophenol và valinomixin có thể cho phép các ion H^+ , K^+ và các ion khác qua màng mà không hoạt hoá F_1F_0 -ATPase. Kết quả là các gradien pH và ion bị phá huỷ. Valinomixin cũng có thể liên kết trực tiếp với F_1F_0 -ATPase và kìm hãm hoạt tính của enzyme này.

17.5.3. Sản lượng của ATP trong đường phân và hô hấp hiếu khí

Sản lượng cực đại của ATP ở các sinh vật nhân thật trong quá trình đường phân, chu trình TCA và vận chuyển electron có thể được tính toán dễ dàng. Sự chuyển hoá glucose thành 2 pyruvate trong đường phân cho 2 H^+ ADH và 2 ATP. Vì 1 H^+ ADH ở tế bào chất có thể sản ra cực đại 2-3 ATP trong vận chuyển electron và phosphoryl hoá oxy hoá (tỉ lệ P/O = 2 hoặc 3), tổng sản lượng ATP khi có mặt O_2 của con đường phân là 6-8 phân tử.

Bảng 17.2: Sản lượng ATP từ sự oxy hóa glucose ở tế bào nhân thật.

(Theo: Prescott và cs, 2005)

<i>Con đường đường phân</i>	
Phosphoryl hóa ở mức độ cơ chất (ATP)	2ATP
Phosphoryl hóa oxy hóa với 2 H^+ ADH	4-6ATP
<i>2Pyruvate thành 2Acetyl-CoA</i>	
Phosphoryl hóa oxy hóa với 2 H^+ ADH	6ATP
<i>Chu trình TCA</i>	
Phosphoryl hóa ở mức độ cơ chất (GTP)	2ATP
Phosphoryl hóa oxy hóa với 6 H^+ ADH	18ATP
Phosphoryl hóa oxy hóa với 2FADH ₂	4ATP
<i>Tổng sản lượng hiếu khí</i>	36-38ATP
a/ Sản lượng ATP được tính với tỉ lệ P/O được thừa nhận là 3 đối với H^+ ADH và 2 đối với FADH ₂	
b/ Sản lượng ATP được tính tùy thuộc vào việc các electron của H^+ ADH đi vào tỉ lệ như thế nào.	

Khi O_2 có mặt và chuỗi vận chuyển electron hoạt động pyruvate sẽ bị oxy hoá tiếp thành Acetyl-CoA tức cơ chất cho chu trình TCA. Phản ứng này sản ra 2 H^+ ADH và 2 pyruvate xuất hiện từ một glucose, do đó 6ATP nữa được tạo thành. Việc oxy hoá một phân tử Acetyl-CoA trong chu trình TCA sản ra 1GTP (hoặc ATP), 3 H^+ ADH và 1FADH₂

nghĩa là nếu 2 phân tử Acetyl - CoA bị oxy hoá trong chu trình trên thì sẽ xuất hiện 2GTP (ATP), 6 H^+ ADH và 2FADH₂. Theo bảng 9.2 việc oxy hoá H^+ ADH và FADH₂ trong chu trình thông qua chuỗi vận chuyển electron sẽ cung cấp tối đa là 38ATP. Tuy nhiên, những tính toán được tóm tắt và trình bày ở bảng 9.2 chỉ là lý thuyết và dựa vào tỉ lệ P/O (số lượng ATP tạo thành khi một nguyên tử oxy bị khử bởi 2 electron trong sự vận chuyển electron) là 3 đối với việc oxy hoá H^+ ADH và 2 đối với việc oxy hoá FADH₂. Trên thực tế tỉ lệ P/O có lẽ vào khoảng 2,5 đối với H^+ ADH và 1,5 đối với FADH₂. H^+ vậy tổng sản lượng ATP trong điều kiện hiếu khí có thể xấp xỉ chỉ 30 hơn là 38ATP.

Vì các hệ thống vận chuyển electron ở vi khuẩn thường có tỉ lệ P/O thấp hơn hệ thống ở ti thể nên sản lượng ATP ở vi khuẩn trong điều kiện hiếu khí có thể ít hơn. Chẳng hạn, *E. coli* với chuỗi vận chuyển electron ngắn có tỉ lệ P/O khoảng 1,3 khi sử dụng nhánh cytochrome bo ở nồng độ oxy cao và chỉ 0,67 khi sử dụng nhánh Cytochrome bd (Hình 17.15) ở nồng độ oxy thấp. Trong trường hợp này việc tạo thành ATP thay đổi tùy theo điều kiện môi trường. Có lẽ vì thường sống ở những nơi như đường ruột rất giàu chất dinh dưỡng mà *E. coli* không cần phải tổng hợp ATP thật hiệu quả. Chuỗi vận chuyển electron chỉ hoạt động khi *E. coli* sống trong môi trường nước ngọt, hiếu khí giữa các vật chủ.

Rõ ràng, hô hấp hiếu khí hiệu quả hơn rất nhiều so với các quá trình kỵ khí không bao gồm sự vận chuyển electron và phosphoryl hoá oxy hoá. Chẳng hạn, dưới điều kiện kỵ khí khi H^+ ADH không bị oxy hoá bởi chuỗi vận chuyển electron chỉ 2ATP được tạo thành trong sự phân giải glucose thành pyruvate. Khi chuyển từ điều kiện kỵ khí sang điều kiện hiếu khí nhiều vi sinh vật giảm mạnh mẽ tốc độ phân giải đường và chuyển sang hô hấp hiếu khí. Đây là một hiện tượng điều chỉnh được gọi là hiệu ứng Pasteur. Hiệu ứng này có lợi rõ ràng cho vi sinh vật vì chỉ cần phân giải một lượng đường ít hơn mà vẫn thu được sản lượng ATP như nhau do quá trình hiếu khí đem lại hiệu quả hơn.

17.6. HÔ HẤP KỶ KHÍ

Các electron dẫn xuất từ đường và các phân tử hữu cơ khác thường được chuyển cho các chất nhận electron hữu cơ nội sinh hoặc cho O₂ thông qua chuỗi vận chuyển electron (hình 17.2). Tuy nhiên nhiều vi khuẩn có các chuỗi vận chuyển hoạt động với các chất nhận electron từ bên ngoài khác O₂. Quá trình sản sinh năng lượng này được gọi là hô hấp kỵ khí. Các chất nhận electron chủ yếu là nitrate, sulfate và CO₂ nhưng các kim loại và một số phân tử hữu cơ cũng có thể bị khử (bảng 17.3).

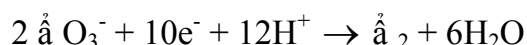
Một số vi khuẩn có thể sử dụng nitrate làm chất nhận electron và tổng hợp ATP. Quá trình này thường được gọi là sự khử nitrate dị hoá (dissimilatory nitrate reduction).

nitrate có thể bị khử thành nitrite bởi nitrate - reductase là enzyme thay thế Cytochrome-oxydase.

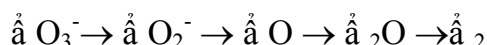
!



Tuy nhiên sự khử nitrate thành nitrite không phải là con đường thu nhận ATP có hiệu lực vì để sinh trưởng vi khuẩn cần một lượng lớn nitrate (1 phân tử nitrate chỉ nhận 2 electron). Nitrite tạo thành lại rất độc. Vì vậy nitrate thường bị khử tiếp thành N_2 trong quá trình gọi là phản nitrate hóa (denitrification). Mỗi nitrate sẽ nhận 5e và sản phẩm sẽ là không độc.



Phản nitrate hoá là một quá trình nhiều bước bao gồm 4 enzyme tham gia: nitrate-, nitrite-, oxyt nitric- và oxyt nitơ-reductase.



Đáng chú ý, một trong các chất trung gian là oxyt nitric (NO). Ở động vật có vú NO tác dụng như một chất dẫn truyền thần kinh đóng vai trò điều chỉnh huyết áp và được các đại thực bào sử dụng để tiêu diệt vi khuẩn cũng như các tế bào u. Ở vi khuẩn có hai loại nitrite reductase xúc tác sự tạo thành NO : một loại chứa các Cytochrome c và d_1 (ở *Paracoccus* và *Pseudomonas aeruginosa*) và một loại là protein chứa đồng (ở *Alcaligenes*). Ở vi khuẩn gram âm nitrite reductase có lẽ nằm trong chu chất. Oxyt nitric reductase xúc tác việc tạo thành oxyt nitơ từ NO và là một phức hợp Cytochrome bc gắn vào màng. Phản nitrate được nghiên cứu kỹ ở vi khuẩn đất, gram âm *Paracoccus denitrificans*; vi khuẩn này có khả năng khử nitrate thành N_2 trong điều kiện kỵ khí. Chuỗi vận chuyển electron ở chúng chứa nitrate - reductase và oxyt nitric - reductase gắn vào màng còn nitrite reductase và oxyt nitơ - reductase thì tồn tại trong chu chất (Hình 17.16b). 4 enzyme sử dụng các electron từ CoQ và các Cytochrome typ c để khử nitrate và sản ra PMF.

Phản nitrate hoá gặp ở một số loài thuộc các chi *Pseudomonas*, *Paracoccus* và *Bacillus*. Chúng sử dụng con đường này thay cho hô hấp hiếu khí bình thường và có thể được xem là các vi khuẩn kỵ khí tùy tiện. Khi O_2 có mặt chúng thực hiện hô hấp hiếu khí (tổng hợp nitrate reductase bị kiểm chế bởi O_2). Trong đất kỵ khí phản ứng nitrate hoá dẫn đến sự mất (tồn thất) nitơ của đất và ảnh hưởng xấu đến độ phì của đất.

Hai nhóm vi khuẩn chủ yếu khác sử dụng hô hấp kỵ khí là các vi khuẩn kỵ khí bắt buộc. Bọn sử dụng CO_2 hoặc carbonat làm chất nhận electron tận cùng được gọi là các vi khuẩn sinh metan vì chúng khử CO_2 thành metan (CH_4). Sulfate cũng có thể đóng vai trò

như chất nhận electron tận cùng ở vi khuẩn *Desulfovibrio*. Sulfate bị khử thành sulfua (S^{2-} hoặc H_2S) và 8 electron được tiếp nhận.



Bảng 17.3: Một số chất nhận electron được dùng trong hô hấp.

(Theo: Prescott và cs, 2005)

	Chất nhận electron	Các sản phẩm khử	Các vi sinh vật dùng làm ví dụ
Hiếu khí	O_2	H_2O	Tất cả các vi khuẩn hiếu khí, nấm, động vật nguyên sinh và tảo
Kỵ khí	$\text{a } O_3^-$	$\text{a } O_2^-$	Vi khuẩn đường ruột
	$\text{a } O_3^-$	$\text{a } O_2^-$, $\text{a } _2O$, $\text{a } _2$	<i>Pseudomonas</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Paracoccus</i>
	SO_4^{2-}	H_2S	<i>Desulfovibrio</i> và <i>Desulfotomaculum</i>
	CO_2	CH_4	Tất cả các vi khuẩn sinh mêtan
	S^0	H_2S	<i>Desulfuromonas</i> và <i>Thermoproteus</i>
	Fe^{3+}	Fe^{2+}	<i>Pseudomonas</i> , <i>Bacillus</i> , và <i>Geobacter</i>
	$HAsO_4^{2-}$	$HAsO_2$	<i>Bacillus</i> , <i>Desulfotomaculum</i> , <i>Sulfurospirillum</i>
	SeO_4^{2-}	Se , $HSeO_2^{3-}$	
	Fumarat	Succinat	<i>Aeromonas</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Thauera</i> <i>Wolinella</i>

So với hô hấp hiếu khí - hô hấp kỵ khí kém hiệu quả hơn trong việc tổng hợp ATP nghĩa là việc phosphoryl hoá oxy hoá với các chất nhận electron tận cùng là nitrate, sulfate hoặc CO_2 cho ít ATP hơn. Sản lượng ATP giảm đi bắt nguồn từ chỗ các chất nhận electron nói trên có thể khử kém dương hơn so với O_2 . Sự khác nhau trong thế khử giữa chất cho như a ADH và nitrate là nhỏ hơn sự khác nhau giữa a ADH và O_2 . Vì sản lượng năng lượng trực tiếp liên quan với độ lớn của sự khác nhau trong thế khử nên ít năng lượng hơn được cung cấp cho việc tạo thành ATP trong hô hấp kỵ khí. Tuy nhiên hô hấp

ky khí là có ích vì có hiệu quả hơn lên men và cho phép tổng hợp ATP nhờ vận chuyển electron và phosphoryl hoá oxy hoá trong điều kiện vắng mặt O_2 . Hô hấp kỵ khí chiếm ưu thế trong các đất và các bùn kỵ khí.

Thường ta quan sát sự kế tiếp của các vi sinh vật trong một môi trường khi có mặt một số chất nhận electron. Chẳng hạn, nếu trong môi trường đặc biệt tồn tại O_2 , nitrate, ion mangan, ion ferric (Fe^{3+}), sulfate và CO_2 ta sẽ thấy diễn ra thứ tự dự đoán của việc sử dụng chất nhận electron khi có mặt một cơ chất có thể oxy hoá thích hợp với chủng quần (population) vi sinh vật. Oxy được sử dụng trước tiên như một chất nhận electron vì nó kìm hãm việc sử dụng nitrate bởi các vi sinh vật có khả năng hô hấp với O_2 cũng như với nitrate. Khi O_2 có mặt các vi khuẩn khử sulfate và vi khuẩn sinh metan bị kìm hãm vì chúng là bọn kỵ khí bắt buộc.

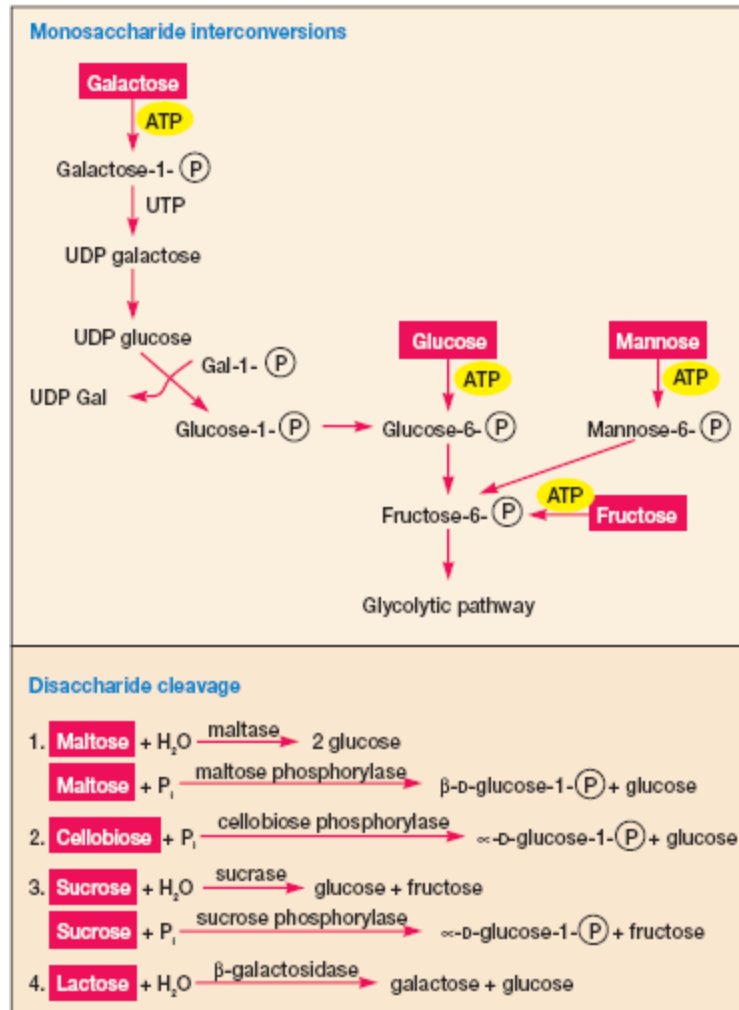
Một khi O_2 và nitrate bị cạn kiệt và các sản phẩm lên men, kể cả hydro, được tích lũy thì sẽ bắt đầu diễn ra sự cạnh tranh sử dụng các chất nhận electron khác. Mangan và sắt sẽ được sử dụng đầu tiên, tiếp theo là sự tranh giành giữa vi khuẩn sử dụng sulfate và vi khuẩn sinh metan. Sự cạnh tranh chịu ảnh hưởng bởi sản lượng năng lượng lớn hơn thu được với sulfate là chất nhận electron. Cũng quan trọng là sự khác nhau trong ái lực của enzyme đối với hydro vì đây là cơ chất phổ biến của cả hai nhóm vi khuẩn. Vi khuẩn khử sulfate *Desulfovibrio* sinh trưởng nhanh và sử dụng hydro sẵn có với tốc độ nhanh hơn *Methanobacterium*. Khi sulfate cạn kiệt *Desulfovibrio* không oxy hoá hydro nữa và nồng độ hydro tăng lên. Cuối cùng vi khuẩn sinh metan chiếm ưu thế và khử CO_2 thành CH_4 .

17.7. SỰ PHÂN GIẢI CÁC HIDRAT CARBON VÀ CÁC POLIME DỰ TRỮ NỘI BÀO

Ảng glucose vi sinh vật có thể phân giải nhiều loại hidrat carbon. Các hidrat carbon có thể bắt nguồn từ bên ngoài tế bào hay từ những nguồn nội bào. Các bước mở đầu trong sự phân giải các hidrat carbon từ bên ngoài thường khác với các bước mở đầu sử dụng với các polime dự trữ nội bào.

17.7.1. Các hidrat carbon

Một số con đường phân giải các monosaccarid (đường đơn) như gluco-, fructo-, manno- và galactose được trình bày ở *Hình 17.20*. Ba đường đơn đầu tiên được phosphoryl hoá nhờ ATP và dễ dàng đi vào con đường đường phân. Trái lại, galactose, sau phản ứng phosphoryl hoá mở đầu phải được chuyển thành uridin diphosphate galactose rồi trong một quá trình 3 bước được chuyển thành gluco-6-phosphate (*hình 17.20*).



Hình 17.20: Sự phân giải hydrate carbon

Trong hình là những ví dụ về các enzyme và các con đường dùng phân giải disaccarid và monosaccarid. (Theo: Prescott và cs, 2005)

Các disaccarid thông thường bị phân giải thành các monosaccarid bởi ít nhất hai cơ chế (Hình 17.20). Malto-, saccaro- và lactose có thể bị thủy phân trực tiếp thành các đường đơn. Ồi hiệu disaccarid như malto-, xenlobio- và saccarose cũng bị phân giải bởi sự tấn công của nhánh phosphate trên liên kết nối giữa hai đường; quá trình này được gọi là phân giải nhờ phosphate hay gọi tắt là lân phân (phosphorolysis). Cũng như các disaccarid các polisaccarid bị phân giải bởi cả thủy phân và lân phân. Vi khuẩn và nấm phân giải các polisaccarid ngoại bào nhờ tiết ra các enzyme thủy phân phân giải các polisaccarid thành các phân tử nhỏ hơn, sau đó các phân tử này được đồng hoá. Tinh bột và glicogen bị thủy phân bởi amilase thành glucose, maltose và các sản phẩm khác.

Cellulose khó bị phân giải hơn; nhiều nấm và một số vi khuẩn (vi khuẩn trượt, clostridia và các xạ khuẩn) tổng hợp xenulase thủy phân cellulose thành cellobiose và glucose.

Một số loại thuộc chi *Cytophaga* phân lập từ biển có khả năng tiết ra enzyme agarase phân giải thạch. ả hiệu vi khuẩn đất và vi khuẩn gây bệnh thực vật tổng hợp enzyme phân giải pectin là polime của acid galacturonic (một dẫn xuất của galactose), acid này là một thành phần quan trọng của mô và thành tế bào thực vật.

Đáng chú ý, vi sinh vật cũng có khả năng phân giải các chất lạ (xenobiotic) rất bền vững. Đây không phải là các chất do sinh vật tổng hợp mà là do con người tạo ra. Chẳng hạn các chất trừ sinh vật hại (pesticides) và các hợp chất thơm khác nhau. ả hờ sử dụng các enzyme và các con đường đặc biệt vi sinh vật chuyển hoá các chất này thành các chất trung gian trao đổi chất bình thường sau đó tiếp tục phân giải theo con đường thông thường. *Phanerochaete chrysosporium* là một loài nấm đặc biệt có khả năng phân giải các chất lạ

17.7.2. Các polime dự trữ

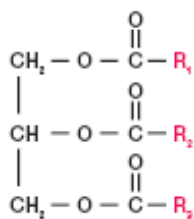
Vi sinh vật thường phải sống từng thời gian dài trong điều kiện thiếu vắng chất dinh dưỡng từ bên ngoài. Trong hoàn cảnh như vậy chúng phải tiến hành phân giải các chất dự trữ nội bào như glicogen, tinh bột, poli-β-hydroxybutyrat... Glycogen và tinh bột bị phân giải nhờ các enzyme phosphorylase. Enzyme này xúc tác phản ứng lân phân dẫn tới làm ngắn chuỗi polisaccarid một glucose và sản ra gluco-1-phosphate.



Glucos-1-phosphate có thể đi vào con đường phân qua con đường gluco-6-phosphate (Hình 17.20). Poli-β-hydroxybutyrate (PHB) là một chất dự trữ quan trọng, phổ biến và sự phân giải PHB đã được nghiên cứu kỹ ở *Azotobacter*. Vi khuẩn này thủy phân PHB thành 3-hydroxybutirat sau đó oxy hoá hydroxybutirat thành acetoacetat. Acetoacetat được chuyển thành Acetyl-CoA và Acetyl-CoA có thể bị oxy hoá trong chu trình TCA.

17.8. PHÂN GIẢI LIPID

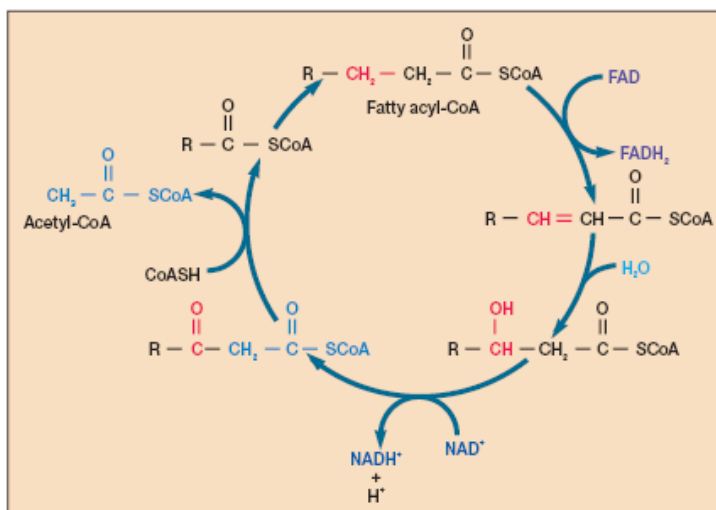
Vi sinh vật thường sử dụng lipid làm nguồn năng lượng. Các triglixerit hoặc triaxilglycerol, các este của glycerol và các acid béo (hình 17.21) là các nguồn năng lượng phổ biến. Chúng có thể bị thủy phân thành glycerol và các acid béo bởi các lipase vi sinh vật. Sau đó glycerol được phosphoryl hoá rồi được oxy hoá thành dihydroxyacetone phosphate và bị phân giải trong con đường phân (hình 17.5).



Hình 17.21: Một triaxilglycerol hoặc triglixerit

Các nhóm R biểu thị các chuỗi bên là acid béo. (Theo: Prescott và cs, 2005)

Các acid béo từ các triaxilglycerol và các lipit khác thường bị oxy hoá trong con đường β -oxy hoá sau khi chuyển thành các este của coenzyme A (Hình 17.22).



Hình 17.22: β -Oxy hóa acid béo. (Theo: Prescott và cs, 2005)

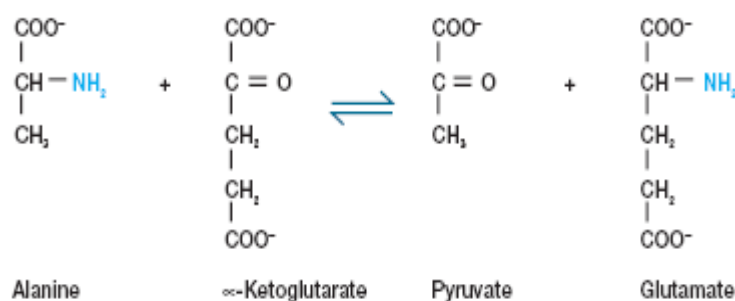
Trong chu trình này các acid béo bị phân giải thành acetyl-CoA; Acetyl-CoA có thể đi vào chu trình TCA hay được sử dụng trong sinh tổng hợp. Mỗi vòng của chu trình sản ra Acetyl-CoA, ADH và FADH_2 . ADH và FADH_2 có thể bị oxy hoá trong chuỗi vận chuyển electron tạo thành nhiều ATP hơn. Acid-CoA ngắn đi 2C lại sẵn sàng đi vào vòng tiếp theo của chu trình. Các acid béo của lipit là nguồn giàu năng lượng đối với sinh trưởng của vi sinh vật. Theo cách tương tự, một số vi sinh vật có khả năng sinh trưởng tốt trên các hydrocarbon của dầu lửa trong điều kiện hiếu khí.

Sự phân giải các axit béo giải phóng năng lượng chủ yếu ở dạng nhiệt hơn là sự tạo thành ATP. Điều này là do sự kết hợp phản ứng tái oxy hóa của FADH_2 với oxy tạo thành H_2O_2 . Sau đó H_2O_2 bị phân giải bởi catalaza cho H_2O và $\frac{1}{2}\text{O}_2$ với sự giải phóng

nhệt là chủ yếu. Vì vậy các vi sinh vật sinh trưởng trên axit béo và các chất có liên quan như các alkan chuỗi dài thường tạo thành lượng lớn nhiệt.

17.9. PHÂN GIẢI PROTEIN VÀ ACID AMINE

Một số vi khuẩn và nấm, đặc biệt là các vi sinh vật gây bệnh, vi sinh vật làm hư hỏng thực phẩm và vi sinh vật đất, có thể sử dụng các protein làm nguồn carbon và năng lượng. ả hiệu vi sinh vật khác phân giải protein và acid amin chỉ khi vắng mặt các nguồn C như glucose và lipid. Chúng tiết ra enzyme protease thuỷ phân các protein và polipeptit thành acid amin; các acid amin được vận chuyển vào tế bào và được phân giải.



Hình 17.23: Sự chuyển amine

Trên đây là 1 ví dụ phổ biến của sự chuyển amine. Nhóm α -amino của alanin được chuyển sang chất nhận α -ketoglutarat tạo thành pyruvate và glutamate. Pyruvate có thể được chuyển hóa trong chu trình acid tricarboxylic hoặc được dùng trong sinh tổng hợp. (Theo: Prescott và cs, 2005)

Bước đầu tiên trong việc sử dụng acid amin là loại amin (deamination) tức là tách nhóm amin khỏi acid amin. Điều này thường được thực hiện bằng sự chuyển amine (transamination): nhóm amin được chuyển từ một acid amin sang một chất nhận là acid- α -keto (Hình 17.23).

Acid hữu cơ xuất phát từ việc loại amin có thể được chuyển thành pyruvate, Acetyl-CoA hay một chất trung gian của chu trình TCA và, cuối cùng, được oxy hoá trong chu trình TCA để giải phóng năng lượng. Acid hữu cơ nói trên có thể được sử dụng làm nguồn C cho việc tổng hợp các thành phần của tế bào. ả ít ư thừa do loại amin có thể được thải ở dạng ion ammonia do đó làm cho môi trường trở nên kiềm. Đáng chú ý, oxit trimetilamin (TMAO) là phế phẩm chứa ả trong trao đổi chất của cá và có công thức $(\text{CH}_3)_3\text{ả}$ O. TMAO đóng vai trò trong việc tạo thành mùi “cá”. Đây là dạng ả ư thừa trong sự phân giải acid amin và bị thải ra. TMAO là chất không mùi do đó không ảnh

hưởng đến mùi, vị và ngoại hình của cá tươi. Tuy nhiên một số vi khuẩn sử dụng TMAO như chất nhận electron tận cùng trong hô hấp kỵ khí và khử TMAO thành trimetilamin (TMA) có mùi “cá” khó chịu thậm chí mũi người chỉ vài phân tử TMAO đã cảm nhận được vì việc phân giải cá do vi khuẩn và việc tạo thành TMA bắt đầu ngay khi cá chết nên khi cá không có mùi là cá tươi hoặc được ướp lạnh ngay khi cá còn tươi.

17.10. OXI HÓA CÁC PHÂN TỬ HỮU CƠ

Ấu hử đã nói ở trên, vi sinh vật có thể oxy hoá các phân tử hữu cơ như hidrat carbon, lipid, protein và tạo thành ATP nhờ năng lượng được giải phóng. Chất nhận electron là: (1) một phân tử hữu cơ khác nội sinh, oxy hoá hơn xuất hiện trong lên men; (2) O_2 trong hô hấp hiếu khí hoặc (3) một phân tử oxy hoá khác O_2 có nguồn gốc từ bên ngoài dùng trong hô hấp kỵ khí (*hình 17.2*). Trong cả hô hấp hiếu khí và kỵ khí ATP đều được tạo thành do kết quả hoạt động của chuỗi vận chuyển electron. Các electron đi vào chuỗi có thể bắt nguồn từ các chất vô cơ và năng lượng có thể thu được từ sự oxy hoá các phân tử vô cơ hơn là từ các chất dinh dưỡng hữu cơ. Khả năng chỉ gặp ở một nhóm vi khuẩn được gọi là hoá dưỡng vô cơ (chemolithotroph). Mỗi loài đều đòi hỏi các chất cho và chất nhận electron đặc trưng (*bảng 17.4*). Chất nhận electron thường là O_2 nhưng cũng có thể là nitrate hoặc sulfate. Các chất cho electron phổ biến nhất là H_2 , các hợp chất nitơ khử, các hợp chất sulfur khử và sắt ferro (Fe^{2+}).

Vi khuẩn hoá dưỡng vô cơ thường là tự dưỡng và sử dụng chu trình Calvin để cố định CO_2 là nguồn carbon. Tuy nhiên một số chúng có thể sinh trưởng như vi khuẩn hoá dị dưỡng khi có mặt các hợp chất hữu cơ khử. Quá trình khử CO_2 thành hidrat carbon tiêu tốn nhiều năng lượng. Việc gắn một phân tử CO_2 vào chu trình Calvin cần 3ATP và 2ADPH.

Tuy nhiên phản ứng oxy hoá các phân tử vô cơ (*bảng 17.5*) cho năng lượng ít hơn nhiều so với oxy hoá hoàn toàn glucose thành CO_2 ; sự oxy hoá hoàn toàn này đi kèm với sự thay đổi năng lượng tự do chuẩn là - 686 kcal/mol. Tỷ lệ P/O đối với phosphoryl hoá oxy hoá ở vi khuẩn hoá dưỡng vô cơ chỉ vào khoảng 1,0 (tỷ lệ này cao hơn nhiều trong phản ứng oxy hoá H_2). Do sản lượng ATP thấp vi khuẩn hoá dưỡng vô cơ phải oxy hoá một lượng lớn chất vô cơ để sinh trưởng và sinh sản, điều này tăng cường tác động sinh thái của chúng.

Bảng 17.4: Các vi khuẩn hóa dưỡng vô cơ tiêu biểu và các nguồn năng lượng của chúng. (Theo: Prescott và cs, 2005)

Vi khuẩn	Chất cho electron	Chất nhận electron	Sản phẩm
<i>Alcaligenes</i> , <i>Hydrogenophaga</i> , và <i>Pseudomonas</i> spp.	H ₂	O ₂	H ₂ O
<i>Nitrobacter</i>	$\frac{1}{2}$ O ₂ ⁻	O ₂	$\frac{1}{2}$ O ₃ ⁻ , H ₂ O
<i>Nitrosomonas</i>	$\frac{1}{2}$ H ₄ ⁺	O ₂	$\frac{1}{2}$ O ₂ ⁻ , H ₂ O
<i>Thiobacillus denitrificans</i>	S ⁰ , H ₂ S	$\frac{1}{2}$ O ₃ ⁻	SO ₄ ²⁻ , $\frac{1}{2}$ H ₂
<i>Thiobacillus ferrooxydans</i>	Fe ³⁺ , S ⁰ , H ₂ S	O ₂	Fe ³⁺ , H ₂ O, H ₂ SO ₄

Bảng 17.5: Sản lượng năng lượng từ những sự oxy hóa sử dụng bởi các vi khuẩn hóa dưỡng vô cơ. (Theo: Prescott và cs, 2005)

Phản ứng	$\Delta G^{\circ'}$ (kcal/mol) ^a
H ₂ + $\frac{1}{2}$ O ₂ $\longrightarrow$ H ₂ O	- 56,6
$\frac{1}{2}$ O ₂ ⁻ + $\frac{1}{2}$ O ₂ $\longrightarrow$ $\frac{1}{2}$ O ₃ ⁻	- 17,4
$\frac{1}{2}$ H ₄ ⁺ + 1 $\frac{1}{2}$ O ₂ $\longrightarrow$ $\frac{1}{2}$ O ₂ ⁻ + H ₂ O + 2H ⁺	- 65,0
S ⁰ + 1 $\frac{1}{2}$ O ₂ + H ₂ O $\longrightarrow$ H ₂ SO ₄	- 118,5
S ₂ O ₃ ²⁻ + 2O ₂ + H ₂ O $\longrightarrow$ 2SO ₄ ²⁻ + 2H ⁺	- 223,7
2Fe ²⁺ + 2H ⁺ + $\frac{1}{2}$ O ₂ $\longrightarrow$ 2Fe ³⁺ + H ₂ O	- 11,2

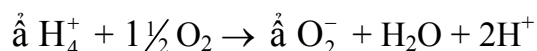
a/ $\Delta G^{\circ'}$ đối với sự oxy hóa hoàn toàn của glucose thành CO₂ là -686 kcal/mol. 1kcal tương đương với 4,184 kJ.

Một số chi vi khuẩn (bảng 17.4) có thể oxy hoá khí hydro để sản ra năng lượng vì chúng có enzyme hydrogenase xúc tác phản ứng oxy hoá hydro:

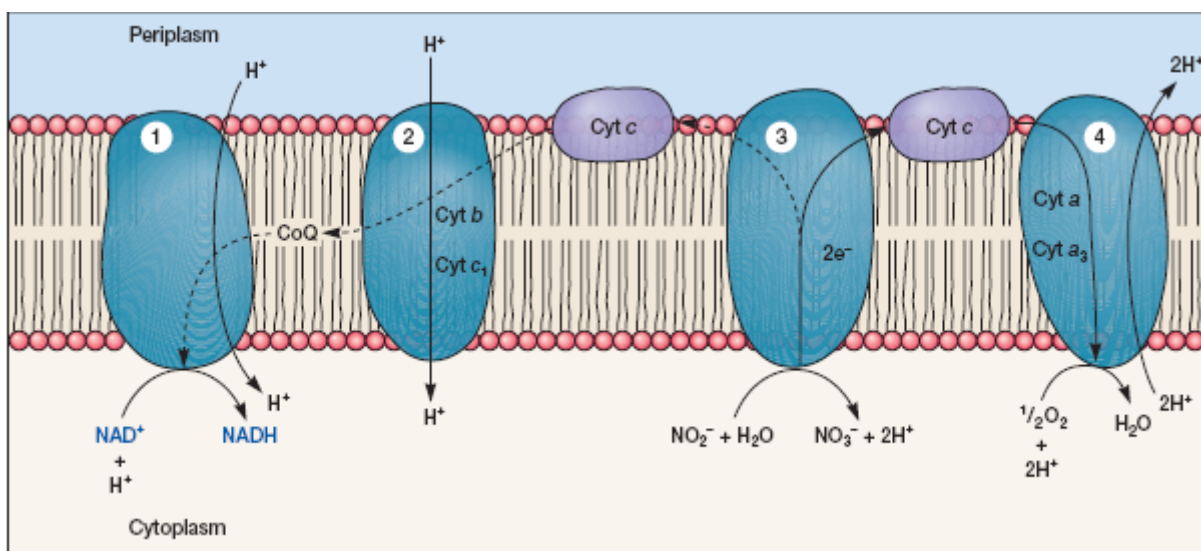


Các electron được chuyển vào chuỗi vận chuyển electron hoặc chuyển đến AD^+ tùy thuộc vào hydrogenase. ấ ếu ấ ADH được tạo thành nó có thể được dùng để tổng hợp ATP nhờ việc vận chuyển electron và phosphoryl hoá oxy hoá với O_2 là chất nhận electron tận cùng. Tuy nhiên khi đầy đủ chất dưỡng các vi khuẩn hydro nói trên lại thường sử dụng chất hữu cơ làm nguồn năng lượng.

Các vi khuẩn hoá dưỡng vô cơ oxy hoá nitơ được nghiên cứu kỹ nhất là vi khuẩn nitrate hoá. Đây là những vi khuẩn đất và vi khuẩn nước có ý nghĩa sinh thái rõ rệt. Sự oxy hoá ammonia thành nitrate phụ thuộc vào hoạt tính của ít nhất hai chi khác nhau. Chẳng hạn, *Nitrosomonas* và *Nitrosospira* oxy hoá ammonia thành nitrite:



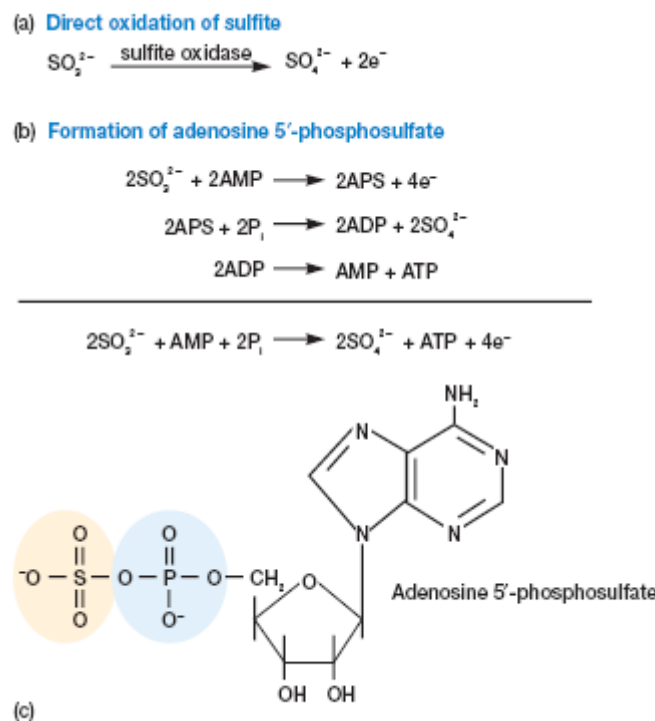
Sau đó nitrite có thể bị oxy hoá tiếp bởi *Nitrobacter* và *Nitrococcus* thành nitrate:
 $\text{O}_2^- + \frac{1}{2}\text{O}_2 \rightarrow \text{O}_3^-$



Hình 17.24. Dòng electron trong chuỗi vận chuyển electron ở *Nitrobacter* oxy hóa nitrite và thực hiện việc vận chuyển electron bình thường để sản ra PMF dùng cho tổng hợp ATP. (Nhánh bên phải của sơ đồ). Một phần PMF cũng được dùng để đẩy các electron di chuyển ngược với thời gradien thế khử từ nitrite đến NAD^+ (nhánh bên trái của sơ đồ). Xit.c và 4 phức hợp tham gia vào đây là: NADH-Ubiquinone oxydoreductase (1), ubiquinol-xit.c oxydoreductase (2), nitrite oxydase (3) và xit.aa₃ oxydase (4). (Theo: Prescott và cs, 2005)

Khi hai chi hoạt động phối hợp ammonia trong đất bị oxy hoá thành nitrate. Quá trình này được gọi là nitrate hoá (nitrification).

ăng lượng thoát ra trong quá trình oxy hoá của cả ammonia và nitrite được dùng để tổng hợp ATP nhờ phosphoryl hoá oxy hoá. Tuy nhiên để khử CO_2 và các phân tử khác vi sinh vật cần một nguồn electron (lực khử) cũng như một nguồn ATP. Vì amon và nitrite có thể khử dương hơn ă AD^+ chúng không thể truyền trực tiếp các electron để tạo thành ă ADH và ă ADPH cần thiết. ă nguyên nhân là vì các electron chuyển động ngẫu nhiên chỉ từ các chất cho với thế khử âm hơn tới các chất nhận với thế khử dương hơn (Hình 17.7). Vi khuẩn oxy hoá sulfur cũng gặp phải khó khăn như trên. Cả hai nhóm vi khuẩn hoá dưỡng vô cơ đã khắc phục trở ngại này bằng cách sử dụng PMF để đảo ngược dòng electron trong chuỗi vận chuyển electron và khử ă AD^+ với các electron từ các chất cho nitơ và sulfur (hình 17.24). Vì năng lượng được dùng để tạo thành ă ADH và ATP nên sản lượng thực của ATP là rất thấp. Vi khuẩn hoá dưỡng vô cơ chịu được sự kém hiệu quả này vì chúng không có các đối thủ cạnh tranh về các nguồn năng lượng đặc trưng.



Hình 17.25: Sự tạo thành năng lượng bởi sự oxy hóa sulfur

(a) Sulfit có thể bị oxy hóa trực tiếp để cung cấp electron cho vận chuyển electron và phosphoryl hóa oxy hóa. (b) Sulfit cũng có thể bị oxy hóa và chuyển thành APS. Con đường này sản ra các electron dùng cho việc vận chuyển electron và sản ra ATP nhờ phosphoryl hóa ở mức độ cơ chất với APS. (c) Cấu trúc của adenosin - 5' - phosphorussulfate. (Theo: Prescott và cs, 2005)

Vi khuẩn oxy hoá sulfur là nhóm quan trọng thứ ba trong số các vi khuẩn hoá dưỡng vô cơ. Trao đổi chất của *Thiobacillus* đã được nghiên cứu chi tiết nhất. Vi khuẩn này oxy hoá sulfur (S^0), sulfua hydro (H_2S), tiosulfate ($S_2O_3^{2-}$) và các hợp chất sulfur khử khác thành acid sulfuric, do đó chúng có ý nghĩa sinh thái rõ rệt. Đáng chú ý *Thiobacillus* tổng hợp ATP nhờ phosphoryl hoá oxy hoá cũng như phosphoryl hoá ở mức độ cơ chất bao gồm adenosin-5-phosphorussulfate (APS) là phân tử cao năng tạo thành từ sulfit và adenosin monophosphate (Hình 17.25).

Một số vi khuẩn oxy hoá sulfur rất linh hoạt trong trao đổi chất. O_2 chúng tiến hành hô hấp kỵ khí và oxy hoá chất hữu cơ với sulfur là chất nhận electron.

Cũng như các vi khuẩn hoá dưỡng vô cơ khác vi khuẩn oxy hoá sulfur có thể sử dụng CO_2 làm nguồn carbon. ả ếu được cung cấp các nguồn carbon hữu cơ khử (glucose hay acid amin) nhiều loài sẽ sinh trưởng dị dưỡng.

17.11. QUANG HỢP

Chẳng hạn, *Sulfolobus brierleyi* và một vài vi khuẩn khác có thể sinh trưởng hiếu khí nhờ oxy hoá sulfur với O_2 là chất nhận electron; khi vắng mặt

Bảng 17.6: Tính đa dạng của các cơ thể quang hợp (Theo: Prescott và cs, 2005)

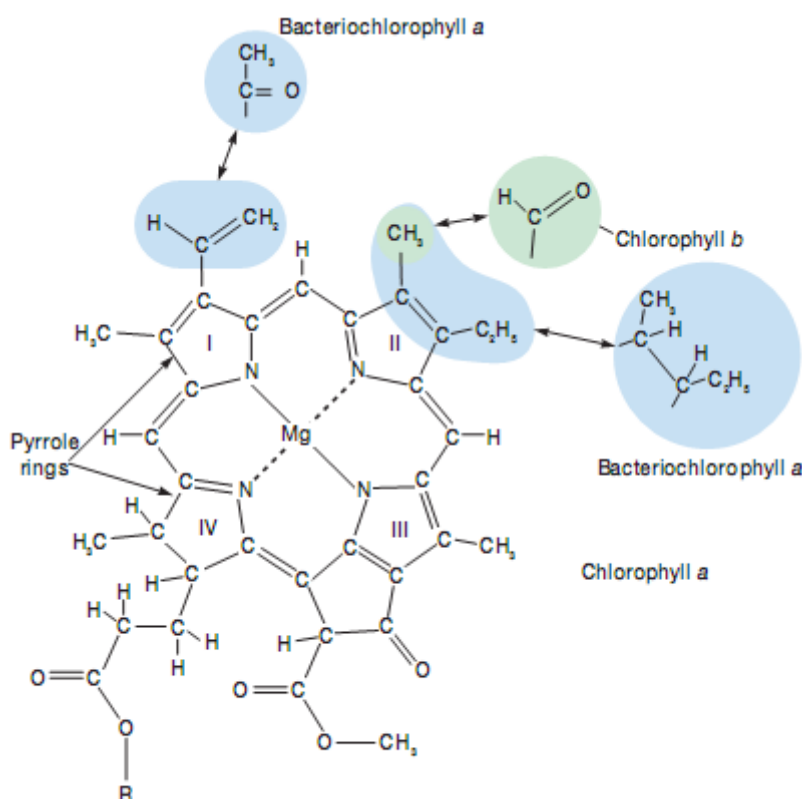
Cơ thể nhân thật	Cơ thể nhân nguyên thủy
Thực vật bậc cao	Vi khuẩn lam
Tảo đa bào màu lục, màu nâu và màu đỏ	Vi khuẩn sulfur màu lục, vi khuẩn không sulfur màu tím, <i>Prochloron</i>
Tảo đơn bào (tảo mắt, tảo giáp, tảo silic)	

Vi sinh vật thu được năng lượng không chỉ từ sự oxy hoá các hợp chất vô cơ và hữu cơ nhưng nhiều trong số chúng có thể thu nhận năng lượng ánh sáng (quang năng) và sử dụng năng lượng này để tổng hợp ATP và ả ADH hoặc ả ADPH (Hình 17.1). Quá trình trong đó quang năng được thu nhận và vận chuyển thành hoá năng gọi là quang hợp. Thường một cơ thể quang hợp khử và cố định CO_2 và đây cũng là các phản ứng nằm trong quá trình trên. Quang hợp là một trong các quá trình trao đổi chất quan trọng nhất trên trái đất vì hầu hết năng lượng của chúng ta tựu trung đều bắt nguồn từ năng lượng mặt trời; năng lượng này cung cấp cho các sinh vật quang hợp ATP và ả ADPH dùng

tổng hợp chất hữu cơ cần cho sinh trưởng. Các sinh vật quang hợp lại là cơ sở cho hầu hết các chuỗi thức ăn trong sinh quyển. Quang hợp cũng có chức năng bổ sung O_2 cho con người, đây là quá trình quan trọng do nhiều cơ thể thực hiện, cả sinh vật nhân thật lẫn nhân nguyên thủy (bảng 17.6). Mặc dù con người thường gán quang hợp cho các thực vật bậc cao nhưng trên thực tế quá nửa quang hợp trên trái đất là do vi sinh vật góp phần.

ở hìn chung, có thể chia quang hợp thành hai phần. Trong các phản ứng sáng quang năng bị thu giữ và được chuyển thành hoá năng. Sau đó năng lượng này được dùng để khử hoặc cố định CO_2 và tổng hợp các thành phần của tế bào trong các phản ứng tối.

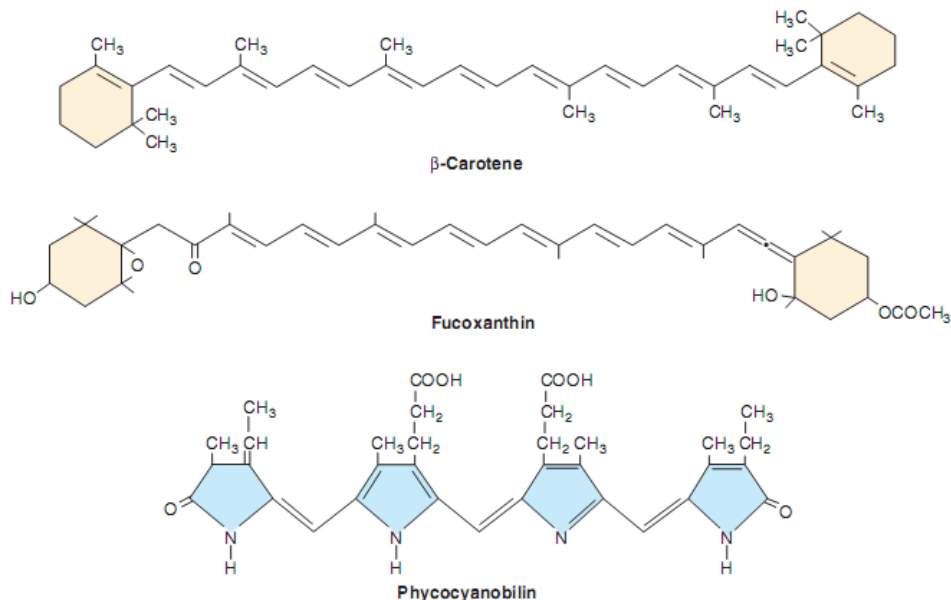
17.11.1. Phản ứng sáng ở các sinh vật nhân thật và vi khuẩn lam



Hình 17.26: Cấu trúc chlorophyll

Trong hình là cấu trúc của chlorophyll a, chlorophyll b và bacteriochlorophyll a. Chỉ 1 nhóm trong chlorophyll a bị thay đổi để sản ra chlorophyll b, trái lại để chuyển chlorophyll a thành bacteriochlorophyll a phải cần 2 sự cải biến trong hệ thống vòng. Chuỗi bên (R) của bacteriochlorophyll a có thể là phytol (1 chuỗi gồm 20C cũng gặp trong các chlorophyll a và b) hay geranylgeranyl (1 chuỗi bên gồm 20C tương tự phytol nhưng nhiều hơn 3 nối đôi). (Theo: Prescott và cs, 2005)

Các sinh vật quang hợp đều có các sắc tố dùng hấp phụ ánh sáng trong đó sắc tố quan trọng nhất là chlorophyll (chất diệp lục). Đây là các vòng phẳng, lớn gồm 4 nhân pirol thay thế bởi 1 nguyên tử magiê phối hợp với 4 nguyên tử nitơ ở trung tâm (hình 17.26). Một số chlorophyll gặp ở sinh vật nhân thật mà quan trọng nhất là chlorophyll a và chlorophyll b (hình 17.26). Hai phân tử chlorophyll này hơi khác nhau về cấu trúc và các đặc tính quang phổ. Khi hoà tan trong axeton chlorophyll a có đỉnh hấp thụ ánh sáng ở 665 nm; còn chlorophyll b có đỉnh hấp thụ ở 645nm. Ngoài đặc tính hấp thụ ánh sáng đỏ các chlorophyll cũng hấp thụ mạnh ánh sáng xanh (đỉnh hấp thụ thứ hai đối với chlorophyll a là ở 430nm). Vì các chlorophyll hấp thụ chủ yếu trong vùng đỏ và xanh do đó ánh sáng lục được truyền qua. Hậu quả là các sinh vật quang hợp có màu lục. Đuôi dài kỵ nước gắn vào vòng chlorophyll giúp cho sắc tố này gắn vào màng là vị trí của các phản ứng quang.



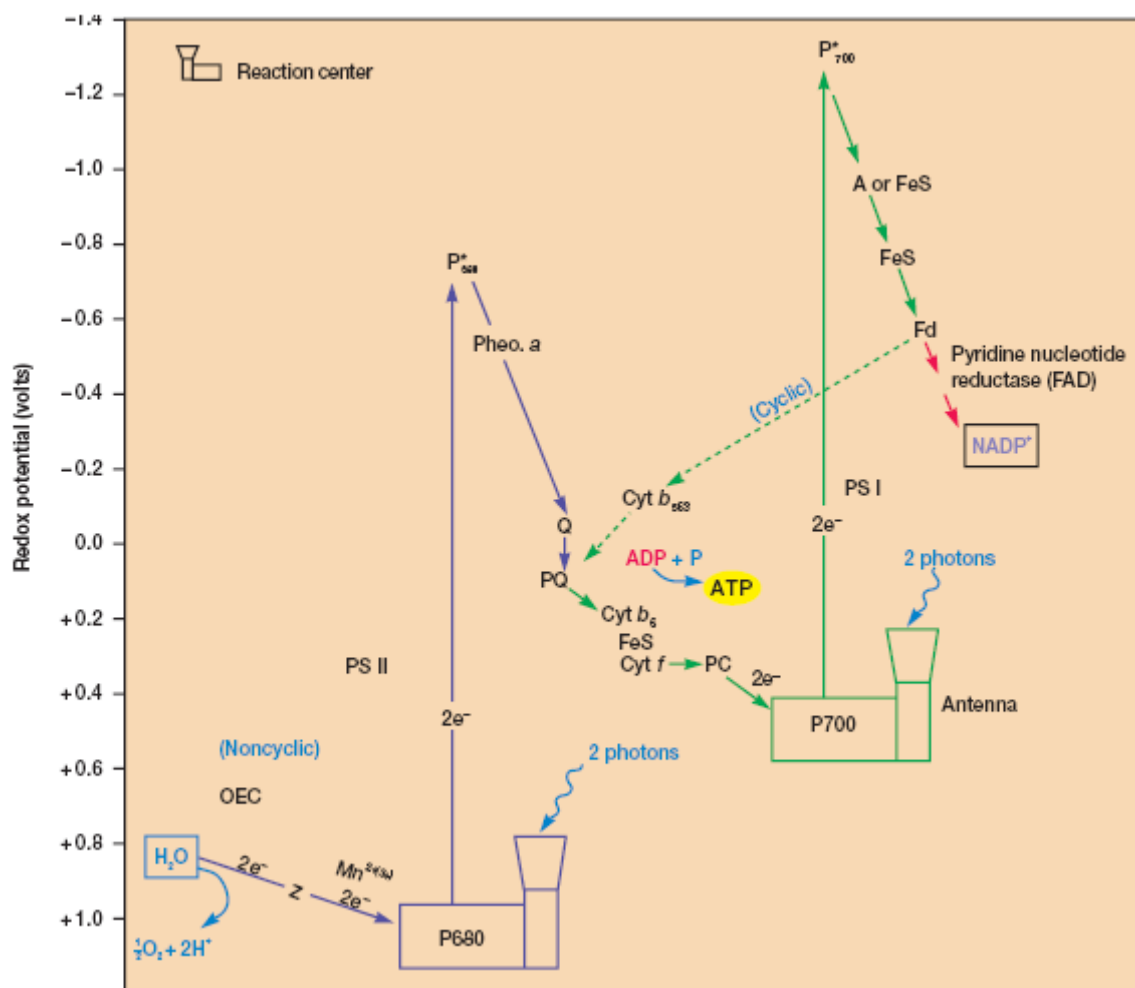
Hình 17.27: Các sắc tố phụ tiêu biểu.

Beta-caroten là 1 carotenoit gặp ở tảo và các thực vật cao cấp. Sắc tố này chứa 1 chuỗi dài của các nối đôi và nối đơn luân phiên gọi là các nối đôi tiếp hợp. Fucoxantin là 1 sắc tố phụ của carotenoit gặp trong một số ngành tảo (Dấu chấm trong cấu trúc biểu thị 1 nguyên tử C). Phycocyanobilin là một ví dụ của tetrapyrrol đường thẳng liên kết với 1 protein để tạo thành phycobiliprotein. (Theo: Prescott và cs, 2005)

Các sắc tố quang hợp khác cũng thu giữ quang năng mà phổ biến nhất là carotenoit. Đây là các phân tử dài thường có màu vàng nhạt có một hệ thống liên kết kép tiếp hợp (hình 17.27). β-caroten gặp ở *Prochloron* và hầu hết các nhóm tảo; fucoxantin có mặt ở khuê tảo (diatoms), tảo giáp (*Dinoflagellates*) và tảo nâu (*Phaeophyta*). Tảo đỏ

năng lượng tới phân tử chlorophyll a đặc biệt gọi là P700. Thuật ngữ P700 có nghĩa rằng phân tử hấp thu ánh sáng hiệu quả nhất ở chiều dài sóng 700nm. Hệ quang II hấp thu ánh sáng ở các bước sóng ngắn hơn ($\leq 680\text{nm}$) và chuyển năng lượng tới chlorophyll đặc biệt P680.

Khi ăngten của hệ quang I chuyển quang năng tới chlorophyll P700 ở trung tâm phản ứng P700 sẽ hấp thu năng lượng và được kích hoạt khiến thế khử của nó trở nên rất âm. Sau đó P700 chuyển electron được kích hoạt hoặc electron cao năng cho một chất nhận đặc biệt có lẽ là một phân tử chlorophyll a đặc biệt (A) hoặc một protein sắt - sulfur (*hình 17.29*).



Hình 17.29: Quang hợp ở cây xanh

Dòng electron trong quang hợp ở thực vật bậc cao. Vi khuẩn lam và tảo nhân thật cũng tương tự như thực vật bậc cao ở chỗ đều có 2 hệ quang mặc dù giữa chúng có những khác nhau về chi tiết. Các chất mang tham gia trong vận chuyển electron là ferredoxyn (Fd) và các protein FeS

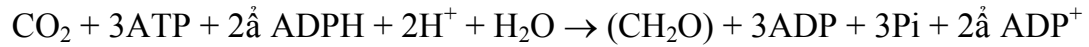
khác; các Cytochrome b_6 , b_{563} và f ; plastoquinon (PQ); plastocyanin chứa đồng; pheophytin a (Pheo a); có thể chlorophyll a (A); và quinon Q chưa rõ có lẽ là plastoquinon. Cả hệ quang I (PS I) và hệ quang II (PS II) để tham gia vào quang phosphoryl hóa không vòng; chỉ PSI tham gia vào quang phosphoryl vòng. Phức hợp giải phóng oxy (OEC = oxygen evolving complex) lấy các electron từ nước chứa các ion mangan và chất Z có chức năng chuyển các electron tới trung tâm phản ứng của PSII. (Theo: Prescott và cs, 2005)

Cuối cùng electron được chuyển cho ferredoxyn, sau đó có thể được di chuyển theo một trong hai hướng. Theo con đường vòng electron di chuyển qua một dãy các chất mang electron và quay trở về P700 bị oxy hoá. Con đường được gọi là vòng vì electron từ P700 lại trở về P700 sau khi đã trải qua chuỗi vận chuyển electron quang hợp. Động lực proton (PMF) được hình thành trong việc vận chuyển electron vòng trong vùng của Cytochrome b_6 và được sử dụng để tổng hợp ATP. Quá trình này được gọi là quang phosphoryl hoá vòng vì các electron di chuyển theo đường vòng và ATP được tạo thành. Chỉ hệ quang I tham gia vào quá trình này.

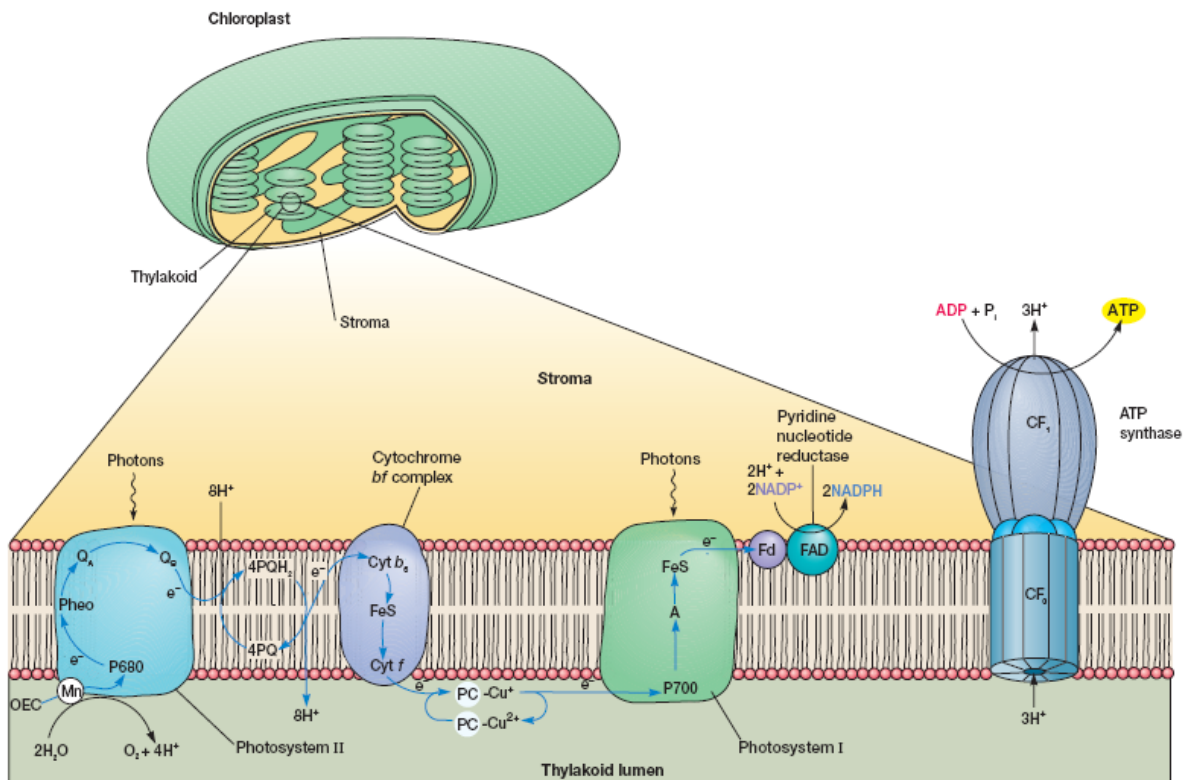
Các electron cũng có thể di chuyển theo đường không vòng với sự tham gia của cả hai hệ quang P700 được kích hoạt và chuyển các electron tới ferredoxyn như đã nói trên. Tuy nhiên trong con đường không vòng ferredoxyn bị khử sẽ khử ADP^+ thành $ADPH$ (Hình 17.29). Vì các electron cung cấp cho ADP^+ không thể dùng để khử P700 bị oxy hoá nên sự tham gia của hệ quang II là cần thiết. Hệ này chuyển các electron cho P700 bị oxy hoá và sản ra ATP trong quá trình. Ăngten của hệ quang II hấp thu quang năng và kích hoạt P680, sau đó P680 khử pheophytin a . Pheophytin a chính là chlorophyll a nhưng ở đây hai nguyên tử hydro đã thay thế magiê ở trung tâm. Các electron chuyển tiếp cho Q (có lẽ là 1 plastoquinon) và xuôi theo chuỗi vận chuyển electron tới P700. Sau đó P680 bị oxy hoá nhận 1 electron từ sự oxy hoá của nước thành O_2 . ADP^+ hấp thụ các electron di chuyển suốt từ nước đến ADP^+ nhờ năng lượng từ hai hệ thống quang và ATP được tổng hợp nhờ quang phosphoryl hoá không vòng. Một ATP và 1 $ADPH$ có thể được tạo thành khi 2 electron di chuyển qua con đường không vòng.

Cũng như sự vận chuyển electron ở ti thể, sự vận chuyển electron trong quang hợp diễn ra bên trong màng. Các màng dạng hạt của lục lạp chứa cả hai hệ thống và các ăngten. Màng tilacoit thực hiện quang phosphoryl hoá không vòng nhờ cơ chế hoá thẩm thấu. Các proton di chuyển vào bên trong tilacoit trong quá trình vận chuyển electron quang hợp và quay trở lại chất đệm (stroma) khi ATP được tạo thành. Các phiến của chất đệm có lẽ chỉ chứa hệ quang I và đơn độc tham gia vào quang phosphoryl hoá vòng. Ở vi khuẩn lam các phản ứng quang trong quang hợp cũng nằm bên trong các màng.

Các phản ứng tối cần 3ATP và 2 $ADPH$ để khử 1 CO_2 và sử dụng CO_2 để tổng hợp hidrat carbon (CH_2O)



Hệ thống không vòng sản ra 1ADP và 1ATP đối với mỗi cặp electron, do đó 4 electron đi qua hệ thống sẽ sản ra 2ADP và 2ATP. Tổng cộng 8 lượng tử (quantum) của quang năng (4 lượng tử cho một hệ quang) là cần để đẩy 4 electron từ nước đến ADP⁺. Vì tỉ lệ của ATP đối với ADP cần cho cố định CO₂ là 3:2 nên ít nhất 1ATP nữa phải được cung cấp. Quang phosphoryl hoá vòng có lẽ hoạt động độc lập với việc sản ra ATP thêm này. Điều này đòi hỏi sự hấp thu 2-4 lượng tử nữa. Ắp vậy khoảng 10-12 lượng tử quang năng là cần để khử và cố định một phân tử CO₂ trong quang hợp.



Hình 17.30: Cơ chế quang hợp

Trên đây là minh họa màng tilacoit của lục lạp chứng minh chức năng của chuỗi vận chuyển electron quang hợp và quang phosphoryl hóa không vòng. Chuỗi bao gồm 3 phức hợp: PSI, phức hợp Cytochrome b₆f và PSII. Dòng electron hướng dẫn bởi ánh sáng bơm các proton qua màng tilacoit và tạo ra 1 gradient điện hóa, sau đó gradient này có thể được dùng để tổng hợp ATP. Nước là nguồn electron và phức hợp giải phóng oxy (OEC) sản ra oxy (Theo Prescott và cs, 2005).

17.11.2. Phản ứng quang ở vi khuẩn lục và vi khuẩn tía

Vi khuẩn lục và vi khuẩn tía quang hợp khác với vi khuẩn lam và các cơ thể quang hợp nhân thật ở một số điểm quan trọng (Bảng 17.7). Đặc biệt, vi khuẩn lục và vi khuẩn tía không sử dụng nước là nguồn electron hoặc tạo thành O_2 trong quang hợp nghĩa là chúng tiến hành quang hợp không thải O_2 . Trái lại, vi khuẩn lam và các sinh vật quang hợp nhân thật hầu như bao giờ cũng thải oxy (một số vi khuẩn lam có thể tiến hành quang hợp không thải oxy). Trong phản ứng sáng của quang hợp ở vi khuẩn tía Δ ADPH không được tạo thành trực tiếp.

Bảng 17.7: Đặc tính của các hệ thống quang hợp vi sinh vật. (Theo: Prescott và cs, 2005)

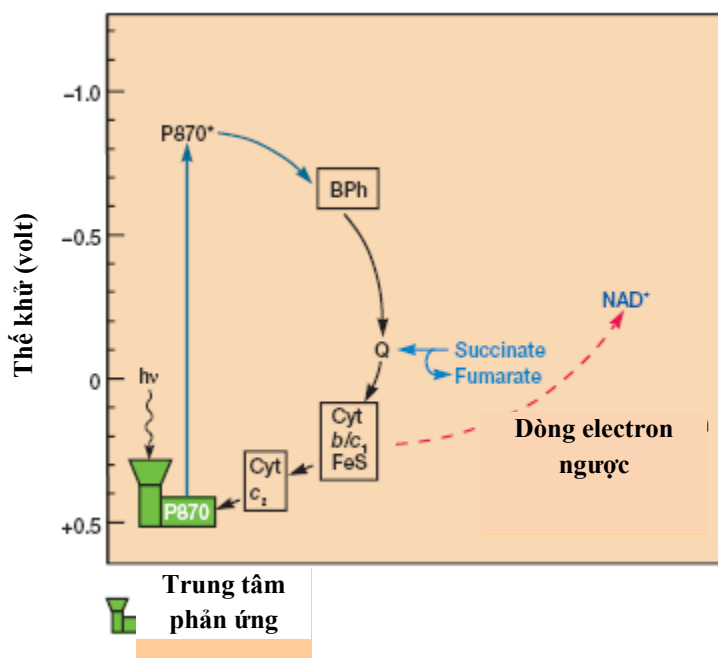
Đặc tính	Sinh vật nhân thật	Vi khuẩn lam	Vi khuẩn màu lục và màu tía
Sắc tố quang hợp	Cholorophyll a	Cholorophyll a	Bacteriocholorophyll
Hệ quang II	Có mặt	Có mặt	Vắng mặt
Các chất cho electron quang hợp	H_2O	H_2O	H_2 , H_2S , S, chất hữu cơ
Kiểu sản sinh O_2	Thải O_2	Thải O_2^*	Không thải O_2
Các sản phẩm sơ cấp của sự chuyển hóa năng lượng	ATP + Δ ADPH	ATP + Δ ADPH	ATP
Δ nguồn carbon	CO_2	CO_2	Carbon hữu cơ và/hoặc CO_2

* Một số vi khuẩn lam có thể hoạt động không thải O_2 dưới 1 số điều kiện, chẳng hạn *Oscillatoria* có thể sử dụng H_2S làm chất cho electron thay cho H_2O .

Tuy nhiên, vi khuẩn lục có thể khử ΔAD^+ trực tiếp trong phản ứng sáng. Để tổng hợp ΔADH và $\Delta ADPH$ vi khuẩn lục và vi khuẩn tía phải sử dụng các chất cho electron như hydro, sulfur hydro, sulfur nguyên tố và các hợp chất hữu cơ là các chất có thể khử âm hơn nước và vì vậy dễ oxy hoá hơn (nghĩa là các chất cho electron tốt hơn). Cuối cùng, vi khuẩn lục và vi khuẩn tía chứa các sắc tố quang hợp hơi khác nhau gọi là bacteriocholorophyll (Hình 17.26), nhiều trong số chúng có điểm cực đại hấp thu ở

những bước sóng dài hơn. Các bacteriochlorophyll a và b có đỉnh cực đại trong ête lần lượt ở 775 và 790 nm. Đỉnh cực đại in vivo của bacteriochlorophyll a là khoảng 830-890 nm và của bacteriochlorophyll b là 1020-1040 nm. Sự chuyển dịch của cực đại hấp thụ vào vùng hồng ngoại như vậy sẽ giúp cho vi khuẩn thích ứng tốt hơn với các ổ sinh thái.

Có 4 nhóm vi khuẩn quang hợp màu lục và màu tía, mỗi nhóm đều chứa một số chi: vi khuẩn sulfur (*Chlorobium*), vi khuẩn không-sulfur màu lục (*Chloroflexus*), vi khuẩn sulfur màu tía (*Chromatium*) và vi khuẩn không-sulfur màu tía (*Rhodospirillum*, *Rhodopseudomonas*).

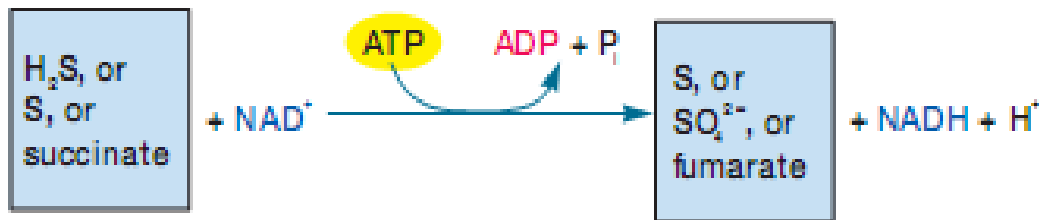


Hình 17.31: Quang hợp ở vi khuẩn không-sulfur màu tía

Hệ thống vận chuyển electron quang hợp ở vi khuẩn không sulfur màu tía, *Rhodobacter sphaeroides*. Sơ đồ trên là chưa hoàn toàn và mới là giả định. Ubiquinone (*Q*) rất giống với CoQ. BPh là bacteriopheophytin, NAD^+ và succinat (nguồn electron) được đánh dấu. (Theo: Prescott và cs, 2005)

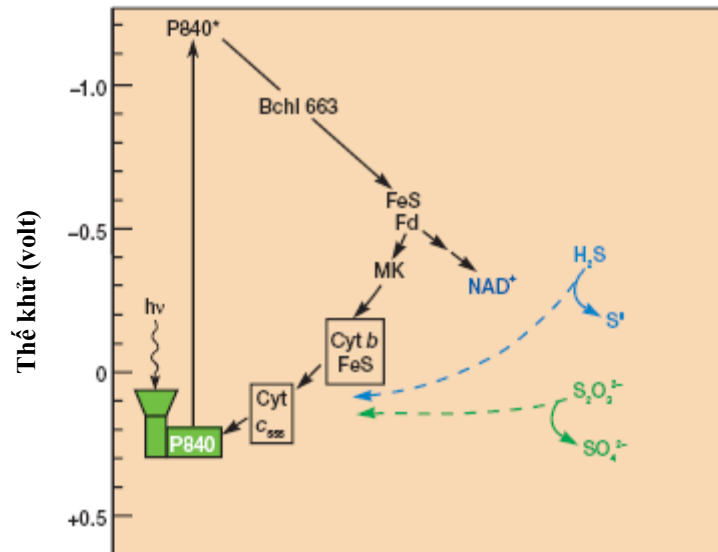
Do thiếu hệ quang II nhiều sự khác biệt gặp ở vi khuẩn màu lục và màu tía. ả hững vi khuẩn này không thể sử dụng nước làm chất cho electron trong sự vận chuyển electron không vòng. Thiếu hệ quang II chúng không thể tạo thành O_2 từ H_2O trong quá trình quang hợp và bị hạn chế ở quang phosphoryl hoá vòng. Trên thực tế hầu như tất cả vi khuẩn sulfur màu tía và vi khuẩn sulfur màu lục là bọn kỵ khí bắt buộc. Trên hình 17.31 là sơ đồ giả định đối với chuỗi vận chuyển electron quang hợp của một vi khuẩn không - sulfur màu tía.

Khi chlorophyll P870 đặc biệt của trung tâm phản ứng bị kích hoạt nó sẽ chuyển một electron cho bacteriopheophytin. Sau đó các electron di chuyển đến các quinon rồi qua một chuỗi vận chuyển electron lại trở về P870 đồng thời ATP được tổng hợp. Mặc dù cả vi khuẩn lục và vi khuẩn tía đều thiếu hai hệ quang nhưng vi khuẩn tía có một bộ máy quang hợp tương tự như hệ quang II, còn vi khuẩn sulfur màu lục có một hệ thống tương tự hệ quang I. Do cũng cần ADH và ADPH để cố định CO_2 nên vi khuẩn lục và vi khuẩn tía còn phải đối mặt với một vấn đề nữa. Chúng có thể tổng hợp ADH theo ít nhất ba con đường. ADH của vi khuẩn đang sinh trưởng trong sự có mặt của H_2 có thể khử âm hơn của AD^+ , hydro có thể được sử dụng trực tiếp để sản ra ADH . Cũng như bạn hoá dưỡng vô cơ nhiều vi khuẩn tía quang hợp sử dụng PMF để đẩy ngược dòng electron trong chuỗi vận chuyển electron và chuyển các electron này từ các chất cho vô cơ hoặc hữu cơ tới AD^+ (Hình 17.31 và 17.32). Các vi khuẩn sulfur màu lục như *Chlorobium* có lẽ khử AD^+ nhờ một dạng đơn giản của dòng electron quang hợp không vòng (Hình 17.33).



Hình 17.32: Sự khử NAD ở vi khuẩn màu lục và vi khuẩn màu tía.

Dòng electron ngược được sử dụng để khử NAD^+ . Mũi tên trong sơ đồ biểu thị 1 chuỗi vận chuyển electron chuyển ngược hướng nhờ động lực proton hoặc ATP, nghĩa là các electron di chuyển từ các chất cho với thế khử dương hơn tới 1 chất nhận (NAD^+) với thế khử âm hơn. (Theo: Prescott và cs, 2005)



Hình 17.33; Quang hợp ở vi khuẩn sulfur màu lục.

Hệ thống vận chuyển electron quang hợp ở vi khuẩn sulfur màu lục *Chlorobium limicola*. Quang năng được dùng để tổng hợp ATP nhờ quang phosphoryl hóa vòng và vận chuyển các electron từ chất cho S tới NAD⁺. Chuỗi vận chuyển electron chứa 1 quinon gọi là menaquinon (MK). (Theo: Prescott và cs, 2005)