

Chương 2. Hình thái và sinh lý tế bào prokaryote

Mục lục

Chương 2. Hình thái và sinh lý tế bào prokaryote.....	1
2.1. Giới thiệu	3
2.2. Kính hiển vi	5
2.2.1. Kính hiển vi quang học.....	5
2.2.2. Kính hiển vi huỳnh quang.....	8
2.2.3. Kính hiển vi điện tử	9
2.3. Nghiên cứu vi khuẩn.....	12
2.3.1. Phương pháp nhuộm	12
2.3.2. Các chất nhuộm khác nhau	12
2.4. Hình thái tế bào	14
2.4.1. Đặc điểm hình thái và đặc điểm sinh học	15
2.4.2. Tầm quan trọng của kích thước tế bào	17
2.4.3. Tỷ lệ bề mặt với thể tích, tỷ lệ tăng trưởng và sự tiến hóa	19
2.4.4. Giới hạn dưới của kích thước tế bào.....	20
2.5. Cấu trúc và chức năng cơ bản của các đại phân tử sinh học	21
2.6. Kiến trúc của tế bào prokaryote.....	21
2.6.1. Phụ bộ: tiên mao, thể tua và sợi tơ.....	22
2.6.2. Cấu trúc phụ bộ của cổ khuẩn.....	28
2.6.3. Phát hiện tính di động	30
2.6.4. Vùng bao xung quanh tế bào: capsule, thành tế bào và màng tế bào	30
2.6.6. Màng ngoài của vi khuẩn Gram âm.....	42
2.6.7. Lớp S.....	45
2.6.8. Vòng bao tế bào cổ khuẩn.....	46
2.6.9. Thành tế bào cổ khuẩn	47

2.6.10.	Màng Plasma.....	48
2.6.11.	Màng plasma của cổ khuẩn.....	49
2.6.12.	Chức năng của màng sinh chất.....	51
2.6.13.	Chu chất	58
2.6.14.	Tế bào chất.....	59
2.6.15.	Thể vùi	62
2.6.16.	Carbon dự trữ dạng cao phân tử	62
2.6.17.	Thể vùi dự trữ có từ tính.....	64
2.6.18.	Túi khí.....	66
2.6.19.	Nội bào tử	69

2.1. Giới thiệu

Prokaryote (sinh vật tiền nhân) là nhóm sinh vật đơn bào, nhân không có màng bao nhưng vùng nhân nằm trong nguyên sinh chất, vật liệu di truyền thường là một phân tử DNA dạng vòng. Prokaryote thường có kích thước nhỏ, nên tỷ lệ giữa diện tích bề mặt với thể tích lớn. Vì vậy tốc độ trao đổi chất và tăng trưởng cao. Chúng thường sinh sản vô tính bằng cách trực phân hay nảy chồi.

Với những thành tựu khoa học hiện nay con người chúng ta chỉ khám phá được vi khuẩn là kiểu tế bào prokaryote và sự nghiên cứu về những quy tắc sinh học liên quan đến prokaryote được gọi là vi khuẩn học. Vào những năm thập niên 1980, sự bùng nổ về các kỹ thuật phân tử được áp dụng để nghiên cứu về phát sinh chủng loài của sự sống cho thấy có một nhóm thuộc prokaryote được xác định và tách ra gọi là Cổ khuẩn. Nhóm vi khuẩn này được xếp vào Lĩnh giới Cổ khuẩn, cùng cấp với Vi khuẩn và Sinh vật Nhân thật. Khoa học hiện tại về vi khuẩn học nghiên cứu cả hai lĩnh giới Cổ khuẩn và Vi khuẩn thuộc Prokaryote. Trong đó ngày càng có nhiều nhiều nghiên cứu về cổ khuẩn được công bố.

Vi khuẩn là sinh vật đơn bào có cấu hình tế bào thuộc nhóm prokaryote. Vật liệu di truyền của chúng tồn tại trong tế bào chất ở dạng không có màng bao. Không có màng nhân là đặc điểm để xác định giữa prokaryote với tế bào nhân thật eukaryote như: nấm, protista gồm protozoa và tảo đơn bào, thực vật và động vật.

Cổ khuẩn là nhóm sinh vật thuộc prokaryote, tiến hóa tách biệt với Vi khuẩn và tế bào Nhân thực. Chúng tương tự với vi khuẩn thuộc prokaryote. Nhưng Cổ khuẩn lại khác với vi khuẩn về cấu trúc ribosome, cấu trúc hoặc thành phần màng và intron ở một số loài. Chúng tương tự như eukaryote trong nhiều trường hợp như có một số gen và một số con đường biến dưỡng có quan hệ gần hơn với một số gen và cách biến dưỡng của eukaryote: đáng chú ý là enzyme liên quan đến phiên mã và dịch mã. Cổ khuẩn được xem là hóa thạch sống, là những sinh vật cổ xưa còn sót lại. Trong một chừng mực nào đó chúng được xem như là cầu nối tiến hóa giữa vi khuẩn và nhân thực. Về hình thái tế bào cổ khuẩn và vi khuẩn tương đối giống nhau và đều cùng thuộc prokaryote. Nhưng về

phương diện tiến hóa, cổ khuẩn có mối quan hệ gần với nhân thực hơn so với vi khuẩn.

Bảng 2.1. Sự khác nhau giữa tế bào prokaryote và eukaryote.

Cấu trúc	Prokaryote	Eukaryote
Nhân		
Màng nhân	Không có	Có
Nhân	Không có	Có
Nhiễm sắc thể	Có một, dạng vòng	Nhiều hơn một, dạng thẳng
Vị trí	Tự do trong nguyên sinh chất, bám vào mesosome	Trong cấu trúc màng bao
Sao chép	Trực phân	Nguyên phân
DNA ngoài nhiễm sắc thể	Plasmid	Trong ty thể
Nguyên sinh chất		
Cơ quan tử trong nguyên sinh chất giống như ty thể, Golgi và mạng lưới nội chất	Không có	Có
Dòng chảy trong nguyên sinh chất	Không có	Có
Lysosome	Không có	Có
Ribosome - vị trí sản sinh protein	70S (50S + 30S), tự do trong nguyên sinh chất hay bị bao trong màng tế bào	80S (60S + 40S), bám vào mạng lưới nội chất ráp
Thành phần hoá học		
Thành tế bào	Có	Không có, ngoại trừ nấm có thành tế bào chitin
Sterol	Không có	Có
Muramic acid	Có	Không có
Vị trí sinh năng lượng	Chuỗi chuyển điện tử trong màng tế bào	Trong màng ty thể

Eukaryote hay còn gọi là sinh vật Nhân thực gồm những sinh vật như động vật, thực vật, nấm và protist là những ví dụ điển hình về eukaryote bởi vì tế bào của chúng

được cấu tạo có các cấu trúc khoang bên trong gọi là cơ quan tử, nhân được bao trong màng nhân, khác biệt với prokaryote. Eukaryote có các cơ quan tử chứa nguyên sinh chất như ty thể, lục thể và thể Golgi ngoại trừ nhân. Eukaryote thường có tiên mao duy nhất có cấu trúc hình ống, có kiểu sắp xếp 9+2.

Sự khác nhau giữa prokaryote và eukaryote được tóm tắt trong Bảng 2.1.

2.2. Kính hiển vi

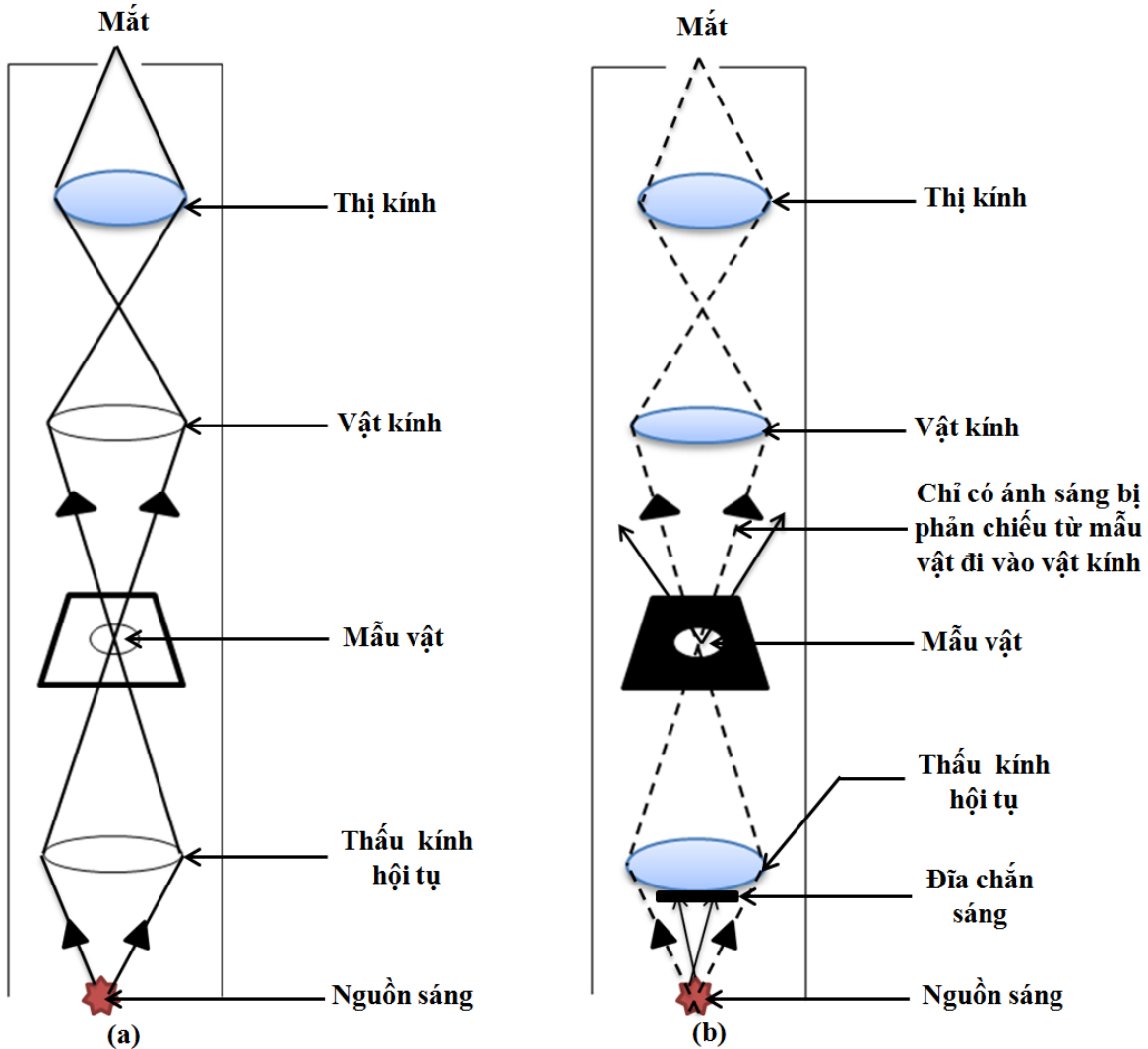
Vi khuẩn thường có kích thước rất nhỏ nên không thể thấy được bằng mắt thường vì vậy khi nghiên cứu vi sinh vật cần sử dụng kính hiển vi. Kính hiển vi là một công cụ quan trọng để nghiên cứu, quan sát về hình dạng tế bào cũng như dùng để xác định, phát hiện và chẩn đoán vi sinh vật. Kính hiển vi là một thiết bị có lắp đặt một hoặc nhiều thấu kính để tạo ra hình ảnh phóng đại của một vật mà không thể thấy được bằng mắt thường.

Các loại kính hiển vi sau đây được sử dụng để nghiên cứu vi sinh vật như sau: (1). Kính hiển vi quang học; (2). Kính hiển vi huỳnh quang; (3). Kính hiển vi điện tử.

2.2.1. Kính hiển vi quang học

Kính hiển vi quang học sử dụng nguồn sáng tự nhiên hoặc nhân tạo. Độ phân giải của kính hiển vi là một yếu tố quan trọng của kính hiển vi quang học. Đó là khả năng của hệ thống thấu kính để phân biệt giữa hai vật đặt gần nhau theo tiêu chí khác biệt và tách biệt hoàn toàn. Nó phụ thuộc vào bước sóng được sử dụng để chiếu sáng vật thể và khẩu độ của kính. Chỉ có khoảng một nửa bước sóng ánh sáng được sử dụng. Ví dụ các hạt nhỏ nhất có thể được phân giải ở ánh sáng vàng có bước sóng là 0,4 μm thì bước sóng ánh sáng sử dụng chỉ khoảng 0,2 μm . Sử dụng thiết bị hội tụ thích hợp để tập trung ánh sáng trên mặt phẳng của vật thể nhằm tạo điều kiện tối ưu hóa độ phân giải của kính hiển vi. Độ phân giải của kính hiển vi được tăng cường hơn nữa bằng cách điều chỉnh môi trường thông qua ánh sáng đi qua giữa mẫu vật (mục tiêu) và vật kính. Khi sử dụng dầu nhúng chìm, hệ số khúc xạ của chúng sẽ tương tự với chỉ số khúc xạ của ống kính, nên cải thiện được sự phân giải của kính hiển vi. Khẩu độ của kính hiển vi được xác định chính là độ thu nhận ánh sáng của kính hiển vi. Các kiểu kính hiển vi quang học khác nhau hiện nay được sử dụng gồm (a) kính hiển vi trường sáng, (b) kính hiển vi nền tối, (c) kính hiển vi

pha đảo và (d) kính hiển vi giao thoa.

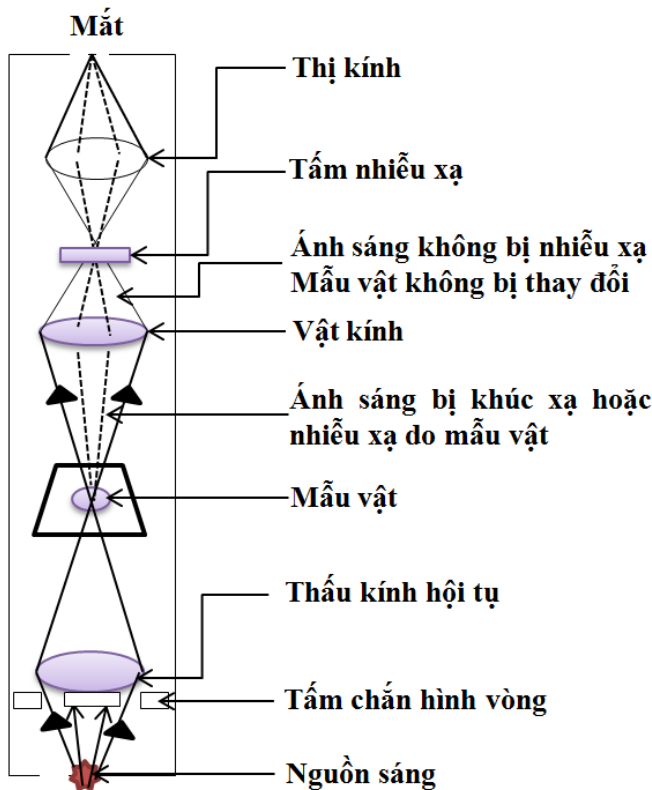


Hình 2.1. Sơ đồ minh họa nguyên tắc hoạt động của (a). Kính hiển vi trường sáng và (b). Kính hiển vi nền tối.

(a). Kính hiển vi trường sáng: kính hiển vi trường sáng là dạng phổ biến nhất của kính hiển vi quang học. Cấu trúc của kính hiển vi quang học chủ yếu gồm hệ các thấu kính có nhiều vật kính như thấu kính có độ phóng đại thấp (10X), thấu kính có độ phóng đại cao (40X) và thấu kính dùng để nhúng chìm trong dầu (100X). Hệ này cũng có thị kính cố định, thường là 10X hay 5X. Độ phóng đại cuối cùng của mẫu vật là số nhân giữa độ phóng đại của thấu kính với thị kính (Hình 2.1a). Kính hiển vi trường sáng được sử dụng trong nhiều trường hợp: (i) dùng để soi mẫu ướt dạng trên lam kính hoặc dạng giọt

treo để quan sát tính di động của vi khuẩn có tiên mao như *Escherichia coli*, nhóm virio, *Pseudomonas aeruginosa* ...; (ii) dùng để xác định vi khuẩn Gram dương, Gram âm, hình dạng vi khuẩn, và (iii) cũng được sử dụng để đo kích thước tương đối của vi khuẩn, nấm, sinh vật đơn bào trong các mẫu qua nhuộm.

(b). Kính hiển vi nền tối: kính hiển vi nền tối là một loại đặc biệt của kính của kính hiển vi quang học. Thiết bị hội tụ trường tối cùng với đĩa chắn sáng ở giữa, được sử dụng để chiếu sáng mẫu vật qua ánh sáng nón, đây là bộ phận thiết yếu nhất của kính hiển vi nền tối. Kính hiển vi này sử dụng ánh sáng phản chiếu thay vì ánh sáng truyền tới như trong kính hiển vi quang học thông thường. Cấu trúc của dạng kính hiển vi này ngăn chặn ánh sáng đi trực tiếp lên vật kính. Các tia sáng đi lên mẫu vật được phản chiếu hoặc phân tán lên vật kính làm cho vi sinh vật xuất hiện có màu sáng, đối nghịch với nền



tối. Kính hiển vi nền sáng được sử dụng như sau: (i) chứng minh độ mỏng của tế bào như xoắn khuẩn không thể thấy được bằng chiếu sáng thông thường, do sự phản xạ ánh sáng làm cho mẫu vật lớn hơn. Đây là phương pháp thường được sử dụng để chứng minh *Treponema pallidum* trong mẫu bệnh phẩm; (ii) kính hiển vi nền tối cũng được sử dụng để chứng minh tính di động của vi khuẩn có tiên mao và protozoa. Nguyên tắc hoạt động của kính hiển vi trường sáng và nền tối được minh họa tại Hình 2.1b.

Hình 2. 2. Sơ đồ minh họa nguyên tắc hoạt động của kính hiển vi pha đảo.

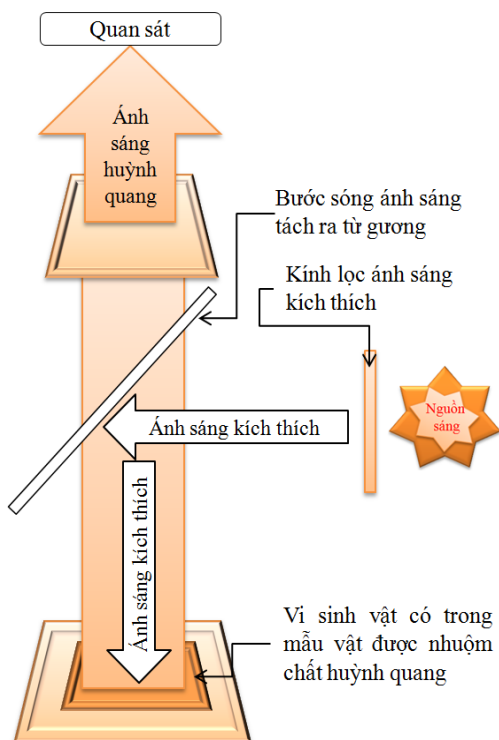
(c). Kính hiển vi pha đảo: kính hiển vi pha đảo sử dụng hệ quang học đặc biệt, biến đổi sự khác nhau trong pha có sinh vật thành sự khác nhau về cường độ ánh sáng vì

vậy tạo ra ánh sáng và độ phản tối trong hình ảnh. Hệ quang học gồm thiết bị hội tụ đặc biệt và vật kính có thể được gắn vào kính hiển vi quang học bình thường để chuyển đổi thành kính hiển vi đảo pha. Kính hiển vi pha đảo có những ứng dụng sau: (i) dùng để quan sát vi sinh vật còn sống nhất là tảo đơn bào, protozoa, ...; (ii) dùng để quan sát cấu trúc bên trong tế bào còn sống nhờ cải thiện độ tương phản và cấu trúc khác biệt trong tế bào do khác nhau về độ dày và chỉ số khúc xạ. Nguyên tắc hoạt động của kính hiển vi đảo pha được minh hoạ ở Hình 2.2.

(d). Kính hiển vi giao thoa: đây là ứng dụng chuyên biệt của kính hiển vi quang học được sử dụng để chứng minh các cơ quan tử. Kính hiển vi này cũng được sử dụng để định lượng các thành phần hoá học của tế bào như protein, lipid và nucleic acid.

2.2.2. Kính hiển vi huỳnh quang

Kính hiển vi huỳnh quang dựa trên nguyên tắc mẫu vật được nhuộm bằng chất phát huỳnh quang khi phơi nhiễm với tia cực tím (UV) làm phát ra ánh sáng có bước



sóng dài hơn (ví dụ như ánh sáng khả kiến). Khi vi khuẩn được nhuộm với chất nhuộm huỳnh quang chúng sẽ phát ra ánh sáng đối ngược với nền mẫu tối còn lại (Hình 2.3). Kính hiển vi huỳnh quang cần một kính huỳnh quang có gắn nguồn ánh sáng tử ngoại (UV). Chất vàng O (Auramine O), acridine cam và rhodamine là những chất màu huỳnh quang được sử dụng để thấy được vi khuẩn. Độ phân giải của kính hiển vi huỳnh quang được cải thiện tăng lên là nhờ bước sóng ngắn của ánh sáng tử ngoại.

Hình 2.3. Sơ đồ minh họa nguyên tắc hoạt động của kính hiển vi huỳnh quang.

Kính hiển vi huỳnh quang được sử dụng rộng rãi trong chẩn đoán, phát hiện vi sinh vật theo các cách sau: (i) được sử dụng để chứng minh vi sinh vật gây bệnh có trong

mẫu thử bằng cách thử nghiệm trực tiếp kháng thể phát huỳnh quang, ví dụ phát hiện *Bacillus anthracis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Corynebacterium diphtheriae*, ... có trong mẫu thử; (ii) được sử dụng để ước lượng kháng thể trong huyết thanh bằng thử nghiệm kháng thể phát huỳnh quang bán trực tiếp (IFA), ví dụ thử nghiệm IFA dùng để phát hiện bệnh do xoắn khuẩn, vi khuẩn gây bệnh giang mai, bệnh do brucella

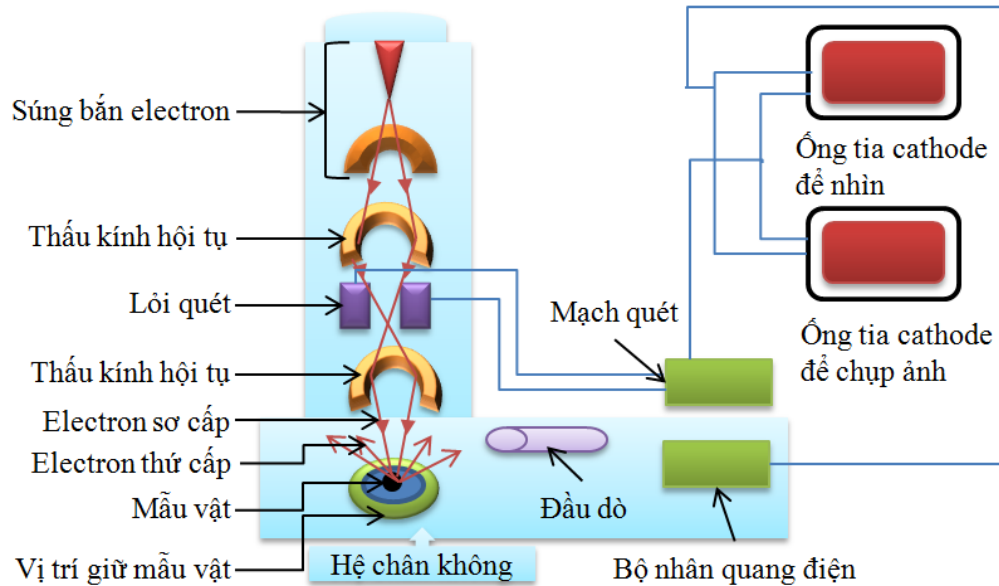
2.2.3. Kính hiển vi điện tử

Kính hiển vi điện tử sử dụng chùm điện tử (electron) thay cho chùm ánh sáng được sử dụng trong kính hiển vi quang học. Chùm electron được tập trung nhờ điện từ, các thấu kính tương tự như thấu kính được sử dụng trong kính hiển vi quang học. Mẫu vật cần kiểm tra được giữ trên đường đi của chùm làm phân tán các electron và tạo ra một hình ảnh tập trung trên màn hình (Hình 2.4). Độ phân giải của kính hiển vi điện tử thì cực kỳ lớn, về mặt lý thuyết gấp hơn 100.000 lần so với kính hiển vi quang học. Điều này là do bước sóng của kính hiển vi điện tử chỉ khoảng 0,005 nm trong khi đó bước sóng của ánh sáng khả kiến là 5000 nm. Như đã đề cập ở trên độ phân giải chỉ bằng một nửa bước sóng. Tuy nhiên trong thực tế, độ phân giải của kính hiển vi điện tử khoảng 0,1 nm. Hiện nay dòng kính hiển vi điện tử đã phát triển thành nhiều chủng loại gồm (a) kính hiển vi điện tử quét, (b) kính hiển vi điện tử truyền suốt và (c) kính hiển vi điện tử miễn dịch

(a). Kính hiển vi điện tử quét (SEM): là một loại kính hiển vi điện tử hoạt động bằng cách quét bề mặt mục tiêu bằng chùm electron tập trung. Các điện tử tương tác với các phân tử có trong mẫu, sinh ra nhiều tín hiệu chứa thông tin về hình học bề mặt và cấu thành của mẫu. Chùm điện tử được quét theo kiểu quét dòng và vị trí chùm được kết hợp với tín hiệu phát hiện để tạo ra hình ảnh. SEM có thể đạt độ phân giải hơn 1 nanometer. Có thể quan sát mẫu vật trong điều kiện chân không cao hoặc trong điều kiện chân không thấp hoặc điều kiện ướt có áp suất dao động và ở khoảng rộng về nhiệt lạnh hoặc nhiệt cao có sự kiểm soát bằng thiết bị chuyên dùng.

Kiểu SEM phổ biến nhất là phát hiện electron thứ cấp được phát ra từ phân tử bị kích thích bởi chùm electron. Số lượng electron thứ cấp này được phát hiện phụ thuộc vào các vật khác, phụ thuộc vào hình học của mẫu. Điện tử thứ cấp phát ra này được một

đầu dò chuyên biệt quét và thu thập để tạo ra hình học bề mặt của ảnh mục tiêu.

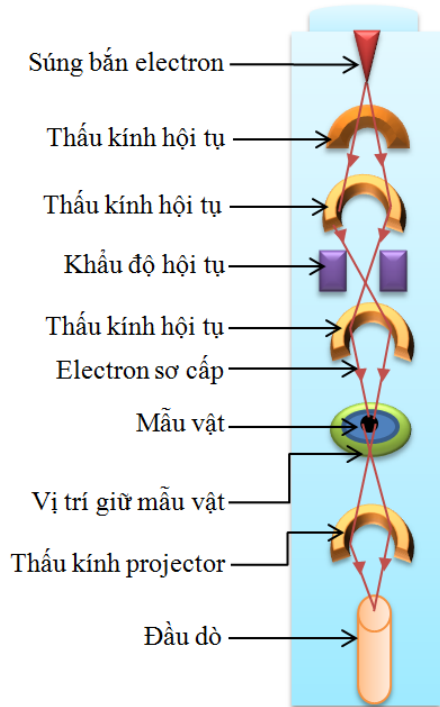


Hình 2.4. Sơ đồ minh họa nguyên tắc hoạt động của kính hiển vi điện tử quét (SEM).

(b). Kính hiển vi điện tử truyền suốt (TEM) là một công cụ rất mạnh của khoa học vật liệu. Chùm năng lượng cao electron soi sáng xuyên qua mẫu vật rất mỏng và sự tương tác giữa electron và nguyên tử có thể được sử dụng để quan sát các đặc điểm như cấu trúc tinh thể. TEM vận hành dựa trên nguyên tắc tương tự như kính hiển vi quang học nhưng sử dụng các electron thay cho ánh sáng. Do bước sóng của các electron nhỏ hơn nhiều so với ánh sáng nên độ phân giải tối thích có thể đạt được đối với các hình ảnh chụp qua TEM thì tốt hơn nhiều so với hình ảnh thu được từ kính hiển vi quang học. Vì vậy TEM làm lộ ra các chi tiết nhỏ nhất về cấu trúc bên trong, một số trường hợp có thể thấy được các phân tử riêng lẻ.

Chùm electron từ súng bắn electron được tập trung thành chùm nhỏ, mỏng, kết dính lại với nhau nhờ sử dụng thấu kính hội tụ. Chùm này được giới hạn nhờ khẩu độ hội tụ, làm tổng khứ ra các electron có góc cạnh cao. Sau đó chùm này chiếu vào mẫu vật và phần được truyền qua phụ thuộc vào độ dày và sự trong suốt của mẫu vật. Phần truyền qua này được tập trung nhờ vật kính để thành hình ảnh trên màn hình phosphorus hoặc được chụp lại nhờ camera cảm biến (CCD). Khẩu độ của vật kính quang học có thể được

sử dụng để tăng cường độ tương phản nhờ ngăn chặn các electron bị nhiễu xạ có góc cạnh cao. Sau đó hình ảnh được chuyển xuống cột thông qua các thấu kính trung gian và



máy chiếu projector để được phóng đại hoàn toàn.

Hình ảnh chiếu lên màn hình phosphorus và ánh sáng được tạo ra cho phép người dùng thấy được. Các vùng tối hơn của hình ảnh biểu thị cho vùng hình ảnh của mẫu có ít các electron được truyền qua, ngược lại các vùng sáng hơn của hình ảnh biểu thị cho vùng hình ảnh của mẫu có nhiều electron được truyền qua.

Hình 2.5. Sơ đồ minh họa nguyên tắc hoạt động của kính hiển vi điện tử truyền suốt (TEM).

(c). **Kính hiển vi điện tử miễn dịch** (*Immunoelectron microscopy*) là kính hiển vi điện tử có sử dụng phương pháp làm tăng độ nhạy và độ đặc

hiệu. Theo đó cho mẫu được cho phản ứng với kháng thể kháng virus đặc hiệu dẫn đến làm đông tụ các hạt virus. Trong phương pháp này kháng thể được liên kết với vàng, vàng là yếu tố sẽ làm cho kháng thể gắn dày đặc electron, nhờ đó thấy được và xác định được vị trí của các yếu tố quyết định kháng nguyên chuyên biệt có trong mẫu thử.

Bảng 2.2. Sự khác nhau giữa kính hiển vi quang học và kính hiển vi điện tử.

Đặc điểm	Kính hiển vi quang học	Kính hiển vi điện tử
Nguồn	Ánh sáng khả kiến	Chùm electron
Môi trường truyền	Không khí	Chân không cao
Đặc điểm của thấu kính	Thủy tinh	Nam châm điện
Điều chỉnh trọng tâm	Vị trí thấu kính được chỉnh một cách cơ học	Dòng đến thấu kính từ tính được điều chỉnh
Thay đổi sự phóng đại	Xoay vật kính	Điều chỉnh dòng đến thấu kính có từ tính
Nguồn phản chiếu	Hấp thu ánh sáng khác nhau	Phân tán electron
Mẫu trang bị	Trên lam kính thủy tinh	Trên kim loại chuyên dùng

Độ phân giải tốt nhất trong thực nghiệm	0,2 μm	0,5 nm
Độ phóng đại	1000 - 1500	Trên 100.000
Tính kính tế	Rẻ hơn	Đắt đỏ

Trong lĩnh vực nghiên cứu vi sinh vật học, kính hiển vi điện tử được sử dụng rộng rãi để (a). Phát hiện nhanh trực tiếp virus trong mẫu mẫu, nhất là phát hiện virus không thể nuôi cấy được và (b). Dùng để nghiên cứu siêu cấu trúc của nhiều vi sinh vật. Sự khác nhau giữa kính hiển vi điện tử và kính hiển vi quang học được tóm tắt ở Bảng 2.

2.3. Nghiên cứu vi khuẩn

Thông thường để nghiên cứu về hình dạng và cấu trúc vi khuẩn có thể soi ướn trực tiếp mẫu vật hoặc có thể chuẩn bị các tiêu bản nhuộm để quan sát chúng. Soi tiêu bản ướn thường được sử dụng để quan sát tính di động của vi khuẩn bằng kính hiển vi quang học hoặc chứng minh có vi khuẩn xoắn dưới kính hiển vi nền tối. Chuẩn bị mẫu nhuộm được sử dụng để quan sát chi tiết cấu trúc vi khuẩn nhờ tạo ra sự tương phản về màu sắc.

2.3.1. Phương pháp nhuộm

Các kỹ thuật nhuộm phổ biến được sử dụng để quan sát vi sinh vật như sau:

(a). Các chất nhuộm đơn giản: xanh methylene, crystal violet và fuchsin kiềm là những chất nhuộm đơn giản biểu hiện sự tương phản màu sắc nhưng làm cho tất cả các vi khuẩn trên kính phết có cùng màu sắc.

(b). Nhuộm âm: vi khuẩn được trộn với chất nhuộm như mực tàu tạo ra nền có màu tối đồng nhất đối ngược với vi khuẩn không ăn chất nhuộm nên không tương phản màu. Kiểu nhuộm này thường sử dụng để chứng minh capsule của vi khuẩn mà cách nhuộm thông thường bằng chất nhuộm đơn giản không phát hiện được.

(c). Chất nhuộm tẩm: tế bào và cấu trúc của chúng thì quá mỏng để thấy được bằng kính hiển vi quang học. Để có thể thấy được cần phải nhuộm tẩm bạc. Phương pháp nhuộm tẩm bạc là phương pháp phổ biến được sử dụng để nhuộm xoắn khuẩn gây bệnh như *Treponema pallidum*, *Leptospira*, *Borrelia*,

2.3.2. Các chất nhuộm khác nhau

Các chất nhuộm khác nhau làm cho vi khuẩn khác nhau hay cấu trúc khác nhau sẽ

có màu sắc không giống nhau. Các phương pháp nhuộm khác nhau thường được sử dụng gồm nhuộm Gram, nhuộm acid-fast và nhuộm Albert.

(a). Nhuộm Gram: nhuộm Gram được nhà vi sinh vật học người Đan Mạch tên là Christian Gram nghĩ ra vào năm 1884. Đây là phương pháp tiện lợi để phân loại vi khuẩn. Phương pháp nhuộm Gram gồm bốn bước chính: (i) nhuộm ban đầu với các chất nhuộm có tính kiềm như methyl violet, crystal violet, ... (ii) cho vi khuẩn ăn màu trong dung dịch iodine loãng. (iii) khử màu bằng ethanol, acetone hay aniline. (iv) nhuộm tương phản bằng chất nhuộm có tính acid như carbol fuchsin, safranin hay neutral red. Nhuộm Gram là quy trình thiết yếu được sử dụng để định danh vi khuẩn. Nhuộm để phân biệt vi khuẩn thành hai nhóm lớn do cấu trúc thành tế bào khác nhau:

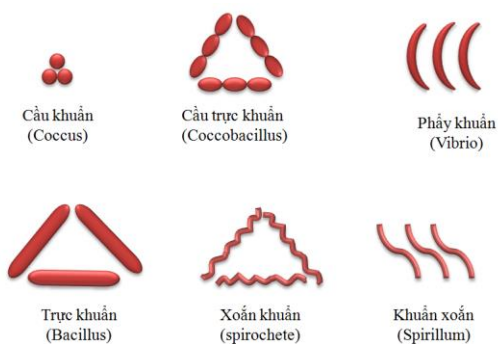
Một là, nhóm vi khuẩn Gram dương là những vi khuẩn có khả năng kháng được màu và lưu giữ phức hợp iodine và màu nhuộm ban đầu, tế bào sẽ xuất hiện màu tím. Vi khuẩn Gram dương có thành tế bào tương đối và nguyên sinh chất có tính acid, được cho là lưu giữ phức hợp chất màu violet có tính kiềm và iodine ở thành tế bào.

Hai là, nhóm vi khuẩn Gram âm bị khử màu do các dung môi hữu cơ và ăn màu khi nhuộm lần thứ hai nên tế bào xuất hiện dạng màu đỏ. Các yếu tố khử màu như acetone hay ethanol được sử dụng trong quá trình nhuộm sẽ phá hủy vùng bao tế bào và phức hợp chất nhuộm và iodine được rửa khỏi vi khuẩn Gram âm. Một số nhóm vi khuẩn như *Mycobacterium tuberculosis* và *Mycobacterium leprae* có thể không được xem như là các vi khuẩn Gram dương hay Gram âm điển hình. Điều này là do các vi khuẩn này hoặc không hấp thu được chất nhuộm Gram hoặc có vùng bao tế bào khác nhau. Các mycobacteria này sở hữu vùng bao dạng sáp chứa phức hợp glycolipid không thấm với chất nhuộm Gram. Nhuộm Gram cũng cung cấp thông tin về cấu trúc của vùng bao tế bào.

(b). Nhuộm acid-fast: nhuộm acid-fast được Ehrlich khám phá ra sau khi nhuộm bằng chất nhuộm aniline, trực khuẩn lao kháng được sự mất màu bằng acid. Sau đó Ziehl và Neelsen đã cải biên phương pháp nhuộm này nên nhuộm acid-fast được biết rộng rãi với tên gọi là phương pháp nhuộm Ziehl– Neelsen (ZN). Nhuộm acid fast gồm các

phương pháp sau: (a). Mẫu kính phết cố định được nhuộm lần đầu bằng carbol fuchsin trong điều kiện gia nhiệt. Gia nhiệt nhằm tạo thuận lợi để chất nhuộm phenolic carbol fuchsin xâm nhập vào tế bào vi khuẩn. (b). Kế đó khử màu bằng 5 - 20% sulfuric acid, phụ thuộc vào vi khuẩn được nhuộm. (c). Sau đó nhuộm phản màu bằng chất nhuộm tương phản như xanh methylene. Trục khuẩn acid-fast (AFB) lưu giữ màu đỏ của carbol fuchsin nên xuất hiện màu đỏ sáng. Mặc khác tế bào mũ xanh và tế bào biểu bì có trong mẫu kính phết hấp thu màu xanh khi nhuộm tương phản màu nên các tế bào này có màu xanh da trời. Khả năng không làm mất màu nhuộm do acid hay gọi là acid fast là do tế bào có (a) hàm lượng cao các chất như lipid, acid béo, thành phần mycolic acid và (b) hàm lượng alcohol cao hơn được phát hiện trong thành tế bào vi khuẩn *Mycobacterium*. Khả năng không làm mất màu nhuộm do acid còn phụ thuộc vào tính toàn vẹn của thành tế bào. Phương pháp nhuộm ZN trên kính được sử dụng để nhuộm: *M. tuberculosis*, *M. leprae*, *Nocardia*, *Actinomyces* và kén hợp tử của ký sinh trùng coccidia đường ruột như *Cryptosporidium*, *Cyclospora*, *Isospora*, ...

(c). Nhuộm Albert: nhuộm Albert được sử dụng để nhuộm các hạt volutin của vi



khuẩn *C. diphtheriae*. Các hạt này ưa chất nhuộm có tính kiềm và được gọi là hạt dị sắc. Khi nhuộm bằng Albert, hạt được nhuộm có màu đen - xanh da trời nhạt đối ngược với nguyên sinh chất có màu xanh lá cây.

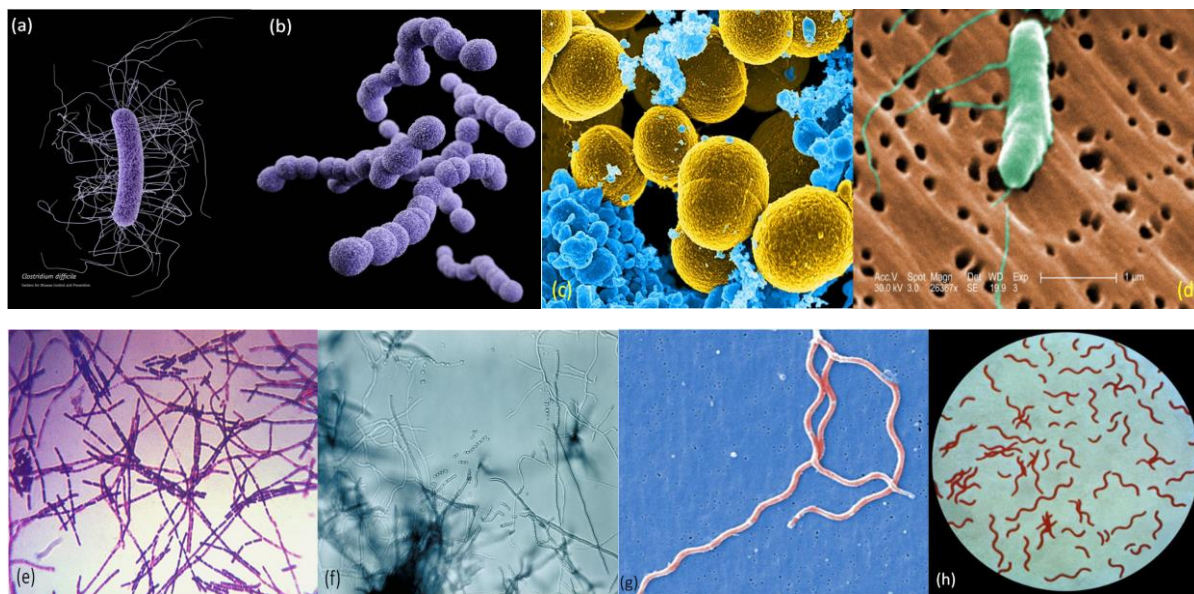
Hình 2.6. Ví dụ minh họa về hình dạng chủ yếu của tế bào vi khuẩn.

2.4. Hình thái tế bào

Trong vi sinh vật học thuật ngữ hình thái nghĩa là hình dạng tế bào. Một số hình thái của prokaryote đã được xác định về hình dạng và kích thước cũng như đã được đặt tên. Một số ví dụ về hình dạng của vi khuẩn được thể hiện ở Hình 2. 6, 2.7 và 2.8.

Hình dạng của tế bào vi khuẩn có thể là hình cầu hoặc hình ovan được gọi là cầu khuẩn. Vi khuẩn có dạng hình trụ gọi là vi khuẩn hình que hay trục khuẩn. Một số vi

khuẩn hình que xoắn lại thành dạng hình xoắn được gọi là xoắn khuẩn. Nhiều tế bào của nhiều loài vi khuẩn prokaryote sau khi phân chia, chúng có xu hướng tập kết lại với nhau thành nhóm hoặc chùm và sự sắp xếp này là đặc tính của một số giống vi khuẩn. Chẳng hạn như một số vi khuẩn hình cầu tạo thành chuỗi dài như *Streptococcus*, các vi khuẩn khác tạo thành hình khối ba chiều như *Sarcina*, số khác lại tạo thành chùm giống như chùm nho như *Staphylococcus*. Một số nhóm vi khuẩn có thể được nhận dạng ra ngay do tế bào của chúng có kiểu dáng không bình thường. Ví dụ khuẩn xoắn là những vi khuẩn cuộn chặt theo hình xoắn; vi khuẩn có phụ bộ là những vi khuẩn có phần phụ thêm của tế bào có dạng ống dài hay sợi; vi khuẩn dạng sợi là vi khuẩn có tế bào mỏng, dài hoặc kết thành chuỗi dài (Hình 2.7).

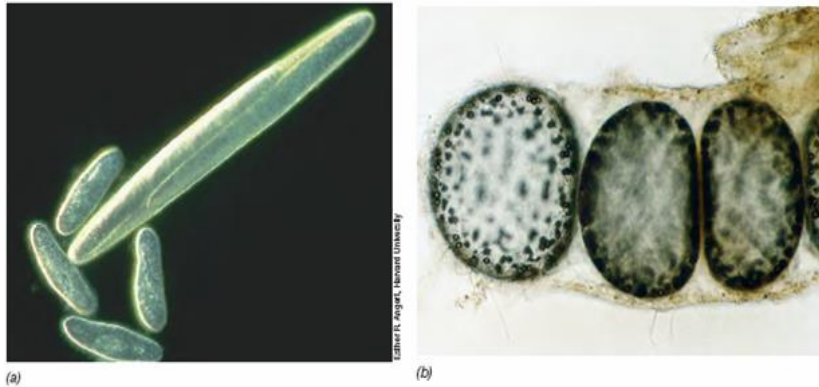


Hình 2.7. Một số ví dụ hình dạng vi khuẩn. (a). *Clostridium difficile* - trực khuẩn, (b). Nhóm B *Streptococcus* - liên cầu khuẩn, (c). *S.aureus* - tụ cầu khuẩn, (d). *V. vulnificus* - phẩy khuẩn, (e). *Bacillus anthracis* - trực khuẩn chuỗi, (f). *Streptomyces* – xạ khuẩn, (g). *Borrelia burgdorferi* - xoắn khuẩn, (h). *Rhodospirillum rubrum* - khuẩn xoắn (Nguồn CDC).

2.4.1. Đặc điểm hình thái và đặc điểm sinh học

Trên đây chỉ là đại diện cho một số kiểu hình của vi khuẩn. Ngày nay nhiều biến

thể về hình thái của vi khuẩn đã được phát hiện. Ví dụ, đó là các kiểu hình que mỏng, hình que ngắn, hình que dài,... . Thậm chí chúng ta có thể thấy vi khuẩn hình vuông và vi khuẩn hình dạng ngôi sao (Hình 2. 9).



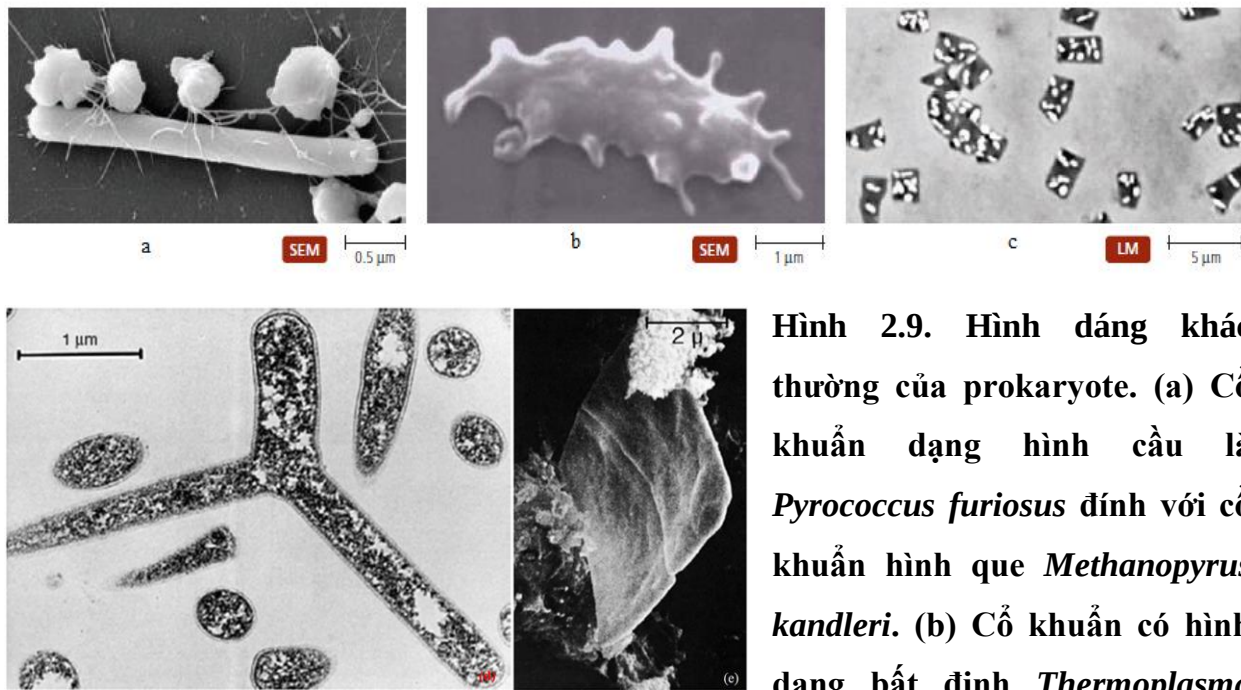
Hình 2.8. Một số tế bào prokaryote có kích thước rất lớn. (a) Ảnh dưới kính hiển vi pha tối của tế bào *Epulopiscium fishelsoni* (prokaryote) có kích thước lớn. Tế bào này có

dạng hình que nhọn, kích thước dài khoảng 600 μm (0,6 mm) và rộng 75 μm và 4 tế bào protist (eukaryote) *Paramecium*, mỗi tế bào dài 150 μm . *Epulopiscium fishelsoni* là một loài vi khuẩn, về mặt tiến hóa loài này có liên quan đến *Clostridium*. (b) *Thiomargarita namibiensis*, thuộc nhóm vô cơ dưỡng sulfur (ngành *Proteobacteria*) và hiện là nhóm prokaryote lớn nhất. Độ rộng của các tế bào dao động trong khoảng từ 400 tới 750 μm .

Vấn đề đặt ra là kiểu hình thái nào thì cụ thể cho loài (?) Mặc dù chúng ta biết một số thông tin về hình dạng tế bào nhưng chúng ta lại biết rất ít tại sao một tế bào cụ thể lại tiến hóa về hình thái của chúng. Dường như có một số quy luật chọn lọc đóng vai trò trong hình thành kiểu hình ở các loài. Các quy luật này bao gồm sự tối thích về lượng dinh dưỡng nhập vào, tính di động để vi khuẩn bơi trong môi trường lỏng, sự di chuyển trượt và một số yếu tố khác. Như vậy hình thái không phải là đặc điểm thông thường của tế bào vi khuẩn mà hình thái của một tế bào là đặc tính có tính di truyền trực tiếp và được tiến hóa tối đa để các loài có thể thích nghi trong môi trường sống cụ thể.

Mặc dù hình thái tế bào dễ dàng được nhận biết, nhưng những thuộc tính của tế bào không dễ dàng đoán được. Ví dụ dưới kính hiển vi, nhiều cổ khuẩn dạng hình que được xác định là vi khuẩn hình que. Tuy nhiên các cổ khuẩn này lại khác biệt về tiến hóa. Vì vậy nếu như chỉ dựa vào hình thái thì không thể đoán được sinh lý, sinh thái, tiến hóa

hay bất kỳ đặc tính nào của tế bào prokaryote.



Hình 2.9. Hình dáng khác thường của prokaryote. (a) Cổ khuẩn dạng hình cầu là *Pyrococcus furiosus* đính với cổ khuẩn hình que *Methanopyrus kandleri*. (b) Cổ khuẩn có hình dạng bất định *Thermoplasma*

***acidophilum*. (c) Cổ khuẩn *Haloquadra walsbyi* có dạng hình vuông. (d) Cổ khuẩn *Thermoproteus tenax* có dạng phân nhánh; (e) Cổ khuẩn *Haloquadratum walsbyi* có dạng hình bình hành (Nguồn Đại học Nam Carolina, Hoa Kỳ).**

2.4.2. Tầm quan trọng của kích thước tế bào

Kích thước tế bào prokaryote rất đa dạng. Trong tự nhiên kích thước của chúng có thể dao động trong khoảng đường kính từ 0,2 μm đến trên 700 μm (Bảng 2.2). Trong điều kiện phòng thí nghiệm, *Epulopiscium fishelsoni* thuộc prokaryote có hình que, kích thước rộng 0,5 và 4 μm dài ngắn hơn 15 μm . Về mặt tiến hóa, vi khuẩn này có liên quan với vi khuẩn *Clostridium* và được tìm thấy trong đường ruột của loài cá đuôi gai. Điều thú vị ở chỗ là không chỉ tế bào của chúng có kích thước quá lớn mà còn là hình thức phân chia của nó. Chúng có hình thức phân đôi không bình thường và trong tế bào chứa nhiều bản sao bộ gen. Nhiều tế bào con được hình thành và sau đó được phóng thích từ một tế bào mẹ *Epulopiscium*. Một tế bào mẹ *Epulopiscium* chứa vài nghìn bản sao bộ gen, mỗi bản sao có cùng kích thước như bộ gen của *Escherichia coli* (4,6 triệu cặp base). Hình như chúng cần nhiều bản sao vì thể tích tế bào *Epulopiscium* quá lớn và vì vậy chỉ

một bản sao bộ gen sẽ không đủ để hỗ trợ cho phiên mã và giải mã của tế bào.

Bảng 2.3. Hình dạng và kích thước của một số tế bào vi khuẩn.

Tên vi khuẩn	Đặc tính	Hình thái	Kích thước (µm)	Thể tích tế bào (µm ³)
<i>Thiomargarita namibiensis</i>	Vô cơ dưỡng sulfur	Liên cầu khuẩn	750	200.000.000
<i>Epulopiscium fishelsonia</i>	Hữu cơ hóa dưỡng	Hình que có đầu cuối nhọn	80x600	3.000.000
<i>Beggiatoa speciesa</i>	Vô cơ dưỡng sulfur	Dạng sợi	50x 160	1.000.000
<i>Achromatium oxaliferum</i>	Vô cơ dưỡng sulfur	Cầu khuẩn	35 x 95	80.000
<i>Thiovulum majus</i>	Vô cơ dưỡng sulfur	Cầu khuẩn	18	3.000
<i>Staphylothermus marinus</i>	Vi khuẩn ưa nhiệt cao	Cầu khuẩn dạng chùm bất định	15	1.800
<i>Magnetobacterium bavaricum</i>	Vi khuẩn từ tính	Hình que	2 x10	30
<i>Escherichia coli</i>	Hữu cơ hóa dưỡng	Hình que	1 x2	2
<i>Pelagibacter ubiquea</i>	Hữu cơ hóa dưỡng ở biển	Hình que	0,2x 0,5	0,014
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	Vi khuẩn gây bệnh	Pleomorphicb	0,2	0,005

Nguồn: Schulz, H.N. và B.B. Jørgensen. 2001. *Ann. Rev. Microbiol.* 55: 105–137.

Tế bào prokaryote có kích thước lớn nhất được biết là *Thiomargarita* có đường kính là 750 µm thuộc nhóm vô cơ hóa dưỡng sulfur (Hình 9) và gần như thấy được bằng mắt thường. Tại sao tế bào lại có kích thước lớn như vậy mà không được chúng ta hiểu rõ, mặc dù như đã biết kích thước lớn của tế bào vi khuẩn sulfur là nhằm dự trữ sulfur để

làm năng lượng. Giả thuyết cho rằng các vấn đề nằm ở chỗ lượng dinh dưỡng nhập vào lớn hơn giới hạn kích thước của tế bào prokaryote. Do tốc độ biến dưỡng của tế bào biến thiên ngược với căn bậc hai kích thước tế bào, vì vậy đối với tế bào có lượng dinh dưỡng nhập vào rất lớn sẽ giới hạn sự biến dưỡng và rốt cuộc tế bào này không thể cạnh tranh lớn hơn so với các tế bào có kích thước nhỏ hơn.

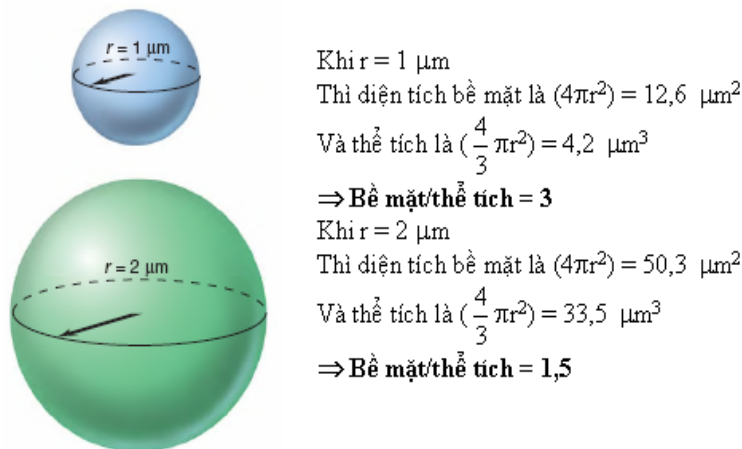
Tế bào có kích thước rất lớn không phải phổ biến trong thế giới prokaryote. Tương phản với *Thiomargarita* hay *Epulopiscium* (Hình 2.8), kích thước trung bình của prokaryote có dạng hình que như *E. coli* thì khoảng $1 \times 2 \mu\text{m}$; đây là kích thước điển hình cho hầu hết prokaryote. Để so sánh, trung bình tế bào eukaryote có đường kính từ 10 đến trên $200 \mu\text{m}$. Nhìn chung có thể nói kích thước tế bào prokaryote thì nhỏ hơn rất nhiều so với tế bào eukaryote.

2.4.3. Tỷ lệ bề mặt với thể tích, tỷ lệ tăng trưởng và sự tiến hóa

Tế bào có kích thước nhỏ sẽ có nhiều điểm thuận lợi quan trọng. Khi kích thước tế bào nhỏ thì diện tích bề mặt sẽ lớn hơn so với tế bào có kích thước lớn. Khi đó tỷ số giữa bề mặt với thể tích sẽ lớn hơn. Xem xét trong trường hợp cầu khuẩn. Thể tích của tế bào sẽ là một hàm lập phương của bán kính $V = \frac{4}{3}\pi r^3$. Trong khi bề mặt của chúng là hàm bình phương của bán kính $S = 4\pi r^2$. Cho nên tỷ lệ S/V của cầu khuẩn sẽ là $3/r$ (Hình 10). Như vậy khi kích thước tế bào tăng thì tỷ lệ S/V sẽ giảm. Để chứng minh điều này cần xem xét tỷ lệ S/V ở một số tế bào khác nhau về kích thước được liệt kê tại Bảng 2.3.

Tỷ lệ S/V của tế bào sẽ ảnh hưởng đến một số khía cạnh sinh học của chúng, bao gồm cả sự tiến hóa. Chẳng hạn do tốc độ tăng trưởng của một tế bào phụ thuộc vào tốc độ trao đổi chất, phụ thuộc vào những yếu tố khác, những tế bào có kích thước nhỏ hơn thì tỷ lệ S/V sẽ cao hơn sẽ hỗ trợ cho tốc độ trao đổi dinh dưỡng nhanh hơn trên một đơn vị thể tích tế bào khi so sánh với các tế bào lớn hơn. Chính vì điều này nên nhìn chung, tế bào nhỏ hơn thì tăng trưởng sẽ nhanh hơn và nguồn dinh dưỡng sẵn có trong môi trường sẽ hỗ trợ cho sự tăng trưởng của tế bào nhỏ lớn hơn so với tế bào có kích thước lớn.

Mỗi khi tế bào phân đôi thì nhiễm sắc thể của chúng sẽ nhân đôi. Khi DNA được nhân đôi thỉnh thoảng sẽ xuất hiện các lỗi được gọi là đột biến. Do tỷ lệ đột biến xảy ra ở mọi tế bào là như nhau dù lớn hay nhỏ, càng nhiều nhiễm sắc thể được sao chép thì số lượng đột biến càng tăng trong quần thể. Các đột biến này là chất liệu di truyền của tiến hóa; nhóm đột biến càng lớn thì khả năng tiến hóa càng cao, do kích thước các tế bào prokaryote quá nhỏ và vật liệu di truyền là đơn bội nên cho phép thể đột biến biểu hiện nhanh. Vì vậy khi có đột biến xảy ra thì khả năng tăng trưởng và tiến hóa sẽ nhanh hơn so với các tế bào lưỡng bội có kích thước lớn hơn. Sau cùng, không chỉ có tỷ lệ S/V nhỏ hơn mà còn những ảnh hưởng của đột biến trong một gen có thể bị che giấu bởi một gen sao chép không bị đột biến. Những khác nhau cơ bản về kích thước và di truyền giữa tế



bào prokaryote và eukaryote tồn tại dưới thực tế là các tế bào prokaryote có thể thích nghi khá nhanh với sự thay đổi về điều kiện môi trường. Chúng có thể dễ dàng khai thác môi trường mới này nhanh hơn so với tế bào eukaryote.

Hình 2.10. Minh họa tỷ lệ bề mặt với thể tích.

2.4.4. Giới hạn dưới của kích thước tế bào

Như đã đề cập ở phần trước chúng ta có thể dự đoán rằng tế bào có kích thước nhỏ hơn sẽ có lợi thế về sự chọn lọc lớn hơn trong tự nhiên. Tuy nhiên, điều này thì không hẳn là hoàn toàn chính xác, vì tế bào sẽ có những giới hạn dưới về kích thước của chúng. Nếu chúng ta xem thể tích ngôi nhà cần thiết có đường kính $\leq 0,1 \mu\text{m}$, đường kính ngoại biên là $0,15 \mu\text{m}$ để chứa các thành phần thiết yếu của tế bào sống như các protein, acid nucleic, ribosome và các thành phần khác, thể tích này dường như không đủ để các thành phần này thực hiện công việc của chúng. Như vậy thông thường các cấu trúc quan sát được trong tự nhiên có kích thước $0,1 \mu\text{m}$ hoặc nhỏ hơn trông giống như tế bào vi khuẩn

hầu hết thì không phải là tế bào vi khuẩn. Mặc dù vậy như đã biết nhiều tế bào prokaryote có kích thước rất nhỏ phát triển trong phòng thí nghiệm. Ví dụ ở biển khơi, mỗi ml nước biển có 10^4 – 10^5 tế bào có kích thước rất nhỏ, đường kính từ 0,2 - 0,4 μm . Nhiều vi khuẩn gây bệnh cũng có kích thước rất nhỏ. Khi kiểm tra các bộ gen của các vi khuẩn này, chúng được sắp xếp có tính hợp lý cao và thiếu nhiều gen chức năng, các chức năng này chủ yếu được cung cấp nhờ vật chủ.

2.5. Cấu trúc và chức năng cơ bản của các đại phân tử sinh học

Các thành phần cấu trúc ở prokaryote gồm có các đại phân tử như: DNA, RNA, protein, polysaccharide, phospholipid, hoặc các đại phân tử do sự kết hợp giữa chúng.

Bảng 2.3. Các đại phân tử cấu tạo nên vật chất tế bào.

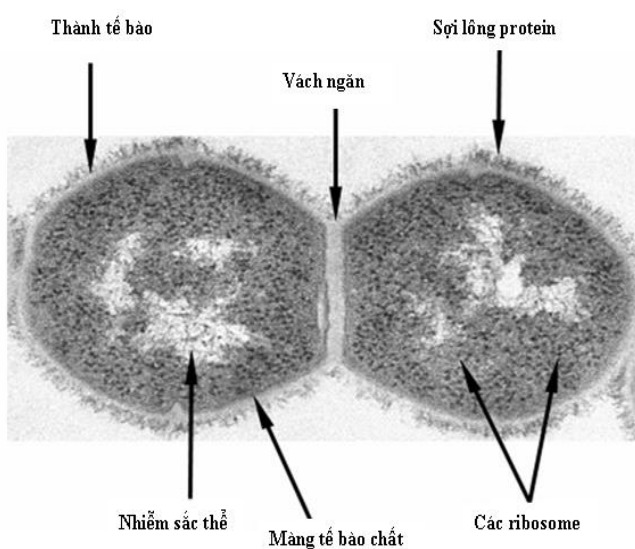
Đại phân tử	Các tiểu đơn vị bậc 1	Vị trí tìm thấy trong tế bào
Protein	Amino acid	Tiền mao, sợi tơ (pili), thành tế bào, màng tế bào chất, ribosome, tế bào chất.
Polysaccharide	Carbohydrate	Capsule, thể vùi, thành tế bào
Phospholipid	Acid béo	Các màng của tế bào.
Nucleic acid (DNA/RNA)	Nucleotide	DNA: nhân (nhiễm sắc thể), plasmid; rRNA: ribosome, mRNA, tRNA; tế bào chất

Các đại phân tử này được hình thành từ các tiểu đơn vị ban đầu là nucleotide, amino acid và các phân tử đường (Bảng 2.4). Trình tự cấu tử của các tiểu đơn vị này kết hợp với nhau hình thành đại phân tử. Cấu trúc của đại phân tử được gọi là cấu trúc bậc một (sơ cấp), đây là cấu trúc xác định được nhiều đặc tính của đại phân tử như mã di truyền là những trình tự base đặc trưng ở DNA; trình tự amino acid sẽ quy định đặc tính và chức năng của protein; trình tự đường ở các phân tử lipopolysaccharide trong vi khuẩn sẽ xác định đặc tính gây bệnh chuyên biệt của thành tế bào. Cấu trúc bậc một của đại phân tử có liên quan đến chức năng của chúng, sự khác nhau trong cấu trúc bậc một của các đại phân tử sinh học là sự phong phú đa dạng của sự sống.

2.6. Kiến trúc của tế bào prokaryote

Ở một thời điểm nào đó trước đây, có suy nghĩ cho rằng vi khuẩn và các

prokaryote khác chỉ là những chiếc túi quan trọng dùng để chứa các enzyme nên gọi là "túi enzyme" và vốn dĩ chúng không có kiến trúc tế bào. Vào những năm của thập niên 1950, khi có sự phát triển về kính hiển vi điện tử đã giúp thấy được những đặc điểm cấu trúc khác biệt của vi khuẩn và khẳng định rằng vi khuẩn không có màng nhân là hoàn toàn chính xác. Prokaryote là những tế bào có cấu trúc tương đối đơn giản, nhất là khi so sánh với eukaryote. Trong khi các tế bào eukaryote nổi trội về các cơ quan tử tách biệt có chức năng tế bào, thì các tế bào prokaryote thực hiện tất cả các chức năng tế bào như là đơn vị độc lập.



Hình 2.11. Lớp cắt siêu mỏng tế bào vi khuẩn *Streptococcus pyogenes* đang phân đôi dưới kính hiển vi điện tử (20.000X). Bề mặt là các sợi tơ. Thành tế bào là vùng nhuộm sáng giữa sợi tơ và vùng nhuộm tối bên trong tế bào. Tiến trình phân đôi được biểu thị bằng vách ngăn mới, hình thành giữa hai tế bào. Kích thước tế bào khoảng 1µm (Nguồn:

Maria Fazio và Vincent A. Fischett).

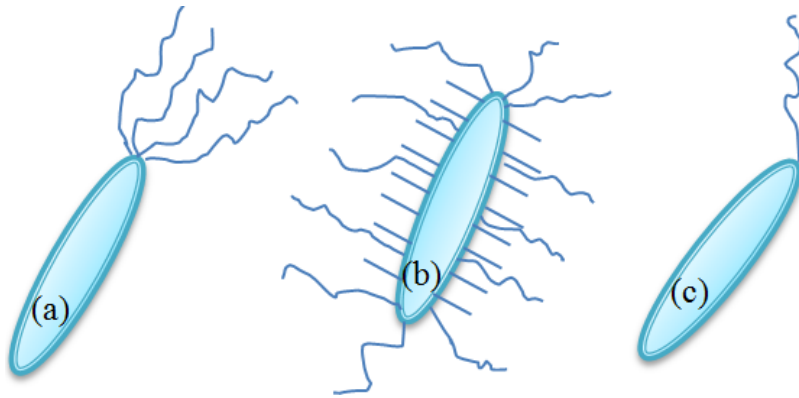
Tế bào prokaryote có năm thành phần cấu trúc chính: nhân (DNA), ribosome, màng tế bào, thành tế bào và một số lớp bề mặt có thể có hoặc không là một phần cố hữu của thành tế bào.

Về mặt cấu trúc, có ba vùng kiến trúc chính như sau: phụ bộ đính trên bề mặt tế bào tồn tại ở dạng tiên mao và sợi tơ; vòng bao tế bào gồm capsule, thành tế bào và màng sinh chất; vùng chứa tế bào chất có nhiễm sắc thể (DNA) và các ribosome và nhiều loại thể vùi (Hình 2.11).

2.6.1. Phụ bộ: tiên mao, thể tua và sợi tơ

(a). **Tiên mao:** là cấu trúc protein dạng sợi đính trên bề mặt tế bào nhờ đó mà hầu

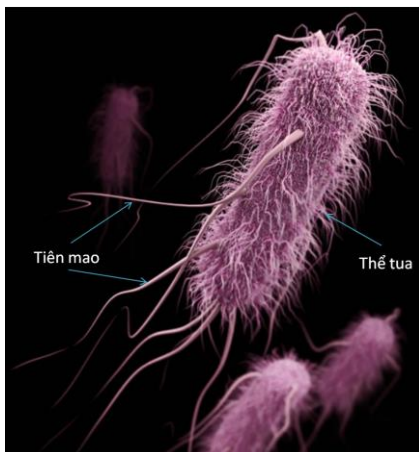
hết prokaryote có tính di động, có thể di chuyển được bằng cách bơi. Tiên mao prokaryote mỏng hơn nhiều và không có kiểu sắp xếp kiểu điển hình "9 + 2" của các vi ống như tiên mao tế bào eukaryote. Kích thước tiên mao tế bào prokaryote khoảng 20 nm. Sợi tiên mao xoay quanh nhờ dụng cụ motor trong màng sinh chất, cho phép tế bào bơi trong môi trường lỏng. Tiên mao vi khuẩn được cung cấp nguồn năng lượng bằng lực động proton còn gọi là thế thẩm thấu hóa học được thiết lập trên màng vi khuẩn.



Hình 2.12. Minh họa dạng tiên mao của vi khuẩn (a). Tiên mao bó ở đỉnh (Lophotrichous), (b). Tiên mao xung quanh tế bào (Peritrichous), (c). Tiên mao đỉnh (monotrichous).

Khoảng một nửa vi khuẩn hình que và tất cả vi khuẩn xoắn và cong di động nhờ tiên mao. Ngược lại rất ít vi khuẩn hình cầu có thể di động được. Điều này phản ánh sự thích nghi của vi khuẩn hình cầu đối với môi trường khô và không có thiết kế về thủy động lực.

Cấu trúc tiên mao *E. coli* được minh họa ở Hình 2.15. Có khoảng 50 gen được sử

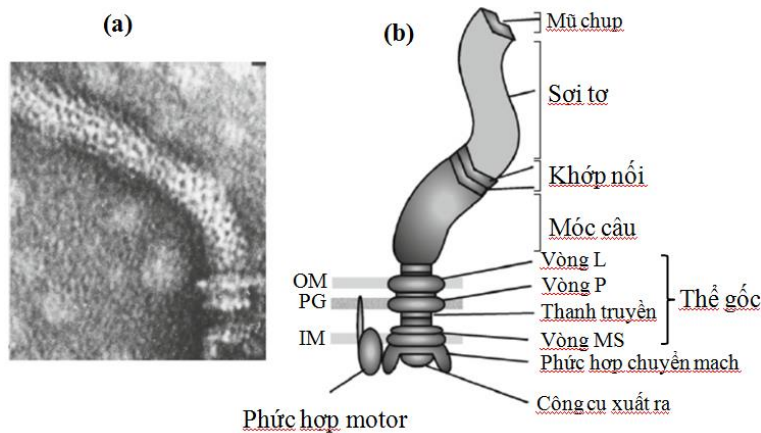


dụng để tổng hợp và điều hòa chức năng của tiên mao. Dụng cụ của tiên mao bao gồm một số protein chuyên biệt. Đó là hệ thống các vòng được đúc trong thành tế bào còn gọi là thể gốc, cấu trúc giống như móc câu nằm gần bề mặt tế bào và sợi tiên mao.

Hình 2.13. Tiên mao xung quanh thân tế bào và sợi tơ thể tua của *Escherichia coli* dưới kính hiển vi điện tử (CDC).

Trong cùng là vòng M và S định vị trên màng tế bào chất, bao gồm cả thiết bị motor. Ngoài cùng là vòng P và L, định vị ở chu chất và màng ngoài tương ứng. Chức

năng của các vòng này như là những ống lót (đệm) hỗ trợ cho cần trục ở vị trí liên kết với móc câu của sợi tiên mao trên bề mặt tế bào. Khi vòng M quay, tạo ra lực nhờ dòng chảy proton, chuyển động tròn được chuyển tới sợi tơ để mở đường cho vi khuẩn di chuyển.



Hình 2.14. Hình ảnh và sơ đồ minh họa cấu trúc của tiên mao (a). Ảnh điện tử của tiên mao vi khuẩn *Salmonella typhimurium*. (b). Sơ đồ minh họa cấu trúc của tiên mao vi khuẩn Gram âm (Hiroyuki Terashima và cộng sự).

Có thể có nhiều cách phân bố khác nhau của tiên mao trên bề mặt tế bào vi khuẩn, nhưng tựu chung lại gồm các kiểu cơ bản sau: gắn trên đỉnh tế bào gồm dạng có một hoặc nhiều tiên mao gắn trên một đỉnh hoặc cả hai đỉnh tế bào hoặc phân bố xung quanh khắp bề mặt tế bào. Sự phân bố của tiên mao là do đặc điểm di truyền quy định. Đặc điểm của tiên mao đôi khi dùng để mô tả hoặc phân biệt vi khuẩn. Ví dụ, trong số vi khuẩn hình que Gram âm như *Pseudomonas* có tiên mao đỉnh, là đặc điểm để phân biệt với các vi khuẩn gây bệnh khác có tiên mao xung quanh (Hình 2.13 & 2.14).

Bảng 2.4. Tóm tắt các đặc điểm cấu trúc tế bào điển hình.

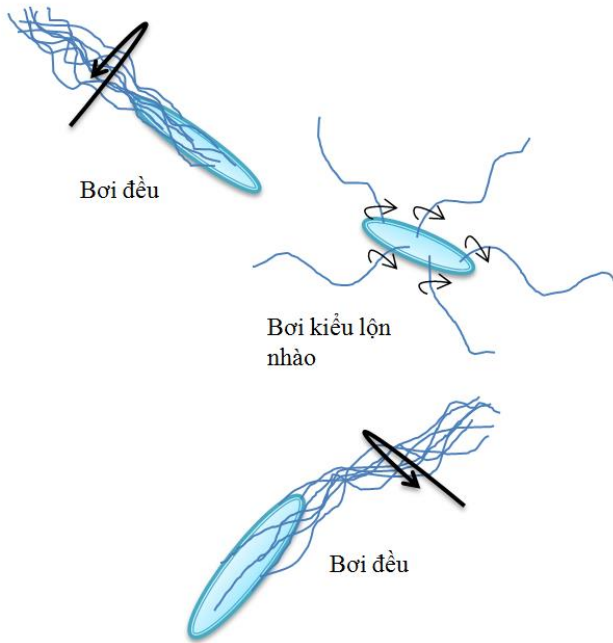
Cấu trúc	Chức năng	Thành phần hóa học chiếm ưu thế
Tiên mao	Giúp tế bào di chuyển theo cách bơi	Protein
Sợi tơ		
Sợi tơ giới tính	Lắp vào vi khuẩn đang giao phối để chuyển DNA thông qua sự tiếp hợp	Protein
Sợi tơ hay thể tua	Đính trên các bề mặt; bảo vệ tế bào nhằm chống lại sự nhúng chìm do thực bào	Protein
Màng bao ngoài - Capsule (gồm các	Đính trên các bề mặt tế bào; bảo vệ tế bào nhằm chống lại sự nhúng chìm, tiêu diệt	Thường là polysaccharide; đôi khi

lớp mỏng và glycocalyx)	hoặc nuốt vào do thực bào; dự trữ các chất dinh dưỡng hoặc bảo vệ tế bào khỏi quá trình làm khô	là polypeptide
Thành tế bào		
Vi khuẩn Gram dương	Ngăn chặn sự phân giải do thẩm thấu của thể nguyên sinh chất và giúp ổn định độ cứng và hình dạng của tế bào	Phức hợp peptidoglycan (murein) với các acid teichoic
Vi khuẩn Gram âm	Peptidoglycan ngăn chặn sự phân giải do thẩm thấu và giúp ổn định độ cứng và hình dạng; Màng ngoài là lớp bảo vệ thẩm được; LPS và các protein có nhiều chức năng	Peptidoglycan (murein) bao xung quanh là phospholipid protein-lipopolysaccharide "màng ngoài"
Màng sinh chất/màng plasma	Lớp bảo vệ thẩm được; vận chuyển các chất tan được; tạo năng lượng; nơi có nhiều hệ enzyme	Phospholipid và protein
Ribosome	Địa điểm vận chuyển (tổng hợp protein)	RNA và protein
Thể vùi	Thường dự trữ các chất dinh dưỡng; có thêm nhiều chức năng chuyên biệt	Dao động cao; carbohydrate, lipid, protein hoặc chất vô cơ
Nhiễm sắc thể	Vật liệu di truyền của tế bào	DNA
Plasmid	Vật liệu di truyền nằm ngoài nhiễm sắc thể	DNA

Tiên mao là cơ quan tử của vi khuẩn di động. Nhận định này được chứng minh bằng cách xén các sợi tơ của chúng (hỗn hợp tế bào trong máy trộn), quan sát thấy các tế bào này không thể di động lâu hơn mặc dù chúng vẫn còn sống. Như vậy tiên mao có khả năng tự mọc lại và đạt đến chiều dài nhất định để khôi phục sự di chuyển cho tế bào. Tiên mao phát triển tại vị trí đỉnh đầu của chúng, ngược lại tóc hoặc lông ở động vật phát triển từ gốc ra.

Prokaryote có nhiều kiểu di động. Chúng có khả năng di chuyển bằng hình thức bơi để phản ứng lại sự kích thích từ môi trường. Cụ thể các phản ứng lại sự kích thích từ

môi trường như sau: (i). Hóa hướng động, vi khuẩn có thể cảm nhận được về chất lượng và số lượng của một số chất hóa học có trong môi trường và chúng sẽ bơi về hướng có chất dinh dưỡng và ngược lại. (ii). Quang hướng động (phototaxis), là một kiểu hướng động khi vi khuẩn di động theo hướng kích thích của ánh sáng. Điều này sẽ thuận lợi cho



những sinh vật quang dưỡng, chúng có thể tiếp nhận một cách hiệu quả nhất nguồn sáng cho quang tổng hợp. Quang hướng động tích cực khi sinh vật di chuyển về hướng có cường độ ánh sáng tăng và ngược lại. (iii). Khí hướng động (aerotaxis), sự di chuyển của vi khuẩn hoặc theo hướng hoặc theo vùng có hàm lượng oxygen cao hơn. (iv). Từ hướng động (magnetotaxis), đó là khả năng di chuyển của vi khuẩn để phản ứng lại từ trường.

Hình 2.15. Minh họa các hình thức di động của vi khuẩn.

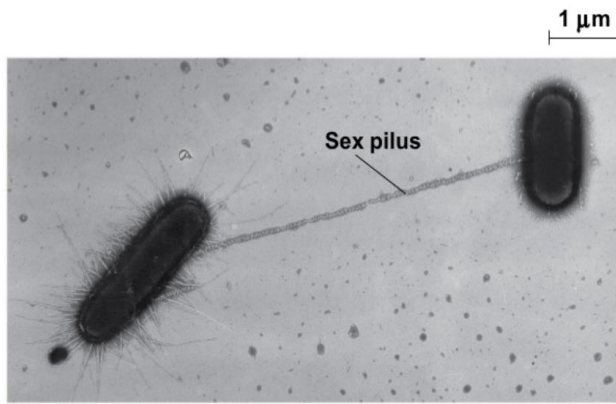
Sự xuất hiện di động do kích thích là bằng chứng cho thấy môi trường thuận lợi cho tiên mao của vi khuẩn cũng như các prokaryote khác hoạt động và tồn tại.

(b). Thể tua và sợi tơ: sợi tơ và thể tua (Hình 2.13) là những thuật ngữ có thể thay thế lẫn nhau, được dùng để chỉ các cấu trúc ngắn, dạng sợi trên bề mặt các tế bào prokaryote. Nhìn chung thể tua không giúp vi khuẩn di chuyển ngoại trừ một số trường hợp như ở *Pseudomonas*, thể tua dùng để co giật. Thể tua rất phổ biến ở vi khuẩn Gram âm, nhưng chỉ xuất hiện ở một số cổ khuẩn và vi khuẩn Gram dương. Thể tua thường liên quan đến sự bám dính của vi khuẩn lên các bề mặt và cơ chất, giúp vi khuẩn bám lên tế bào hoặc các mô khác trong tự nhiên.

Về mặt cấu trúc, sợi tơ thường ngắn, cứng và thẳng hơn so với tiên mao, mặc dù cấu trúc của cả hai thì tương tự nhau. Sợi tơ giống tiên mao ở chỗ chúng gồm các protein

xoắn gọi là *pilin*, sắp xếp xung quanh một lõi rỗng nhưng không có motor. Sợi tơ có kích thước dài 0,5 μm và dày 10 nm. Chúng có tính kháng nguyên. Sợi tơ ngưng kết các tế bào máu đỏ của chuột lang và bị mannose ức chế một cách chuyên biệt. Về cơ bản sợi tơ được phân thành bốn kiểu sau: (i). Kiểu 1 là kiểu nhạy cảm với mannose, xuất hiện ở các vi khuẩn *E. coli*, *Klebsiella*, *Shigella* và *Salmonella*; (ii). Kiểu 2 là kiểu sợi tơ có trên *Salmonella Gallinarum* và *Salmonella Pullorum*, không có bất kỳ sự ngưng kết hay đặc điểm bám dính nào; (iii). Kiểu 3 là kiểu sợi tơ xuất hiện ở một số chủng *Klebsiella*, *S. erratia*,.... Các sợi tơ dạng này chỉ ngưng kết với tế bào máu đỏ sau khi được gia nhiệt và có khả năng kháng mannose; (iv). Kiểu 4 là kiểu sợi tơ kháng được mannose và xuất hiện ở *Proteus*.

Sợi tơ hay thể tua thường có liên quan đến sự bám dính chuyên biệt của prokaryote lên các bề mặt trong tự nhiên. Các sợi tơ này là yếu tố quan trọng dùng để xác định tính gây bệnh của vi khuẩn vì chúng cho phép vi khuẩn gây bệnh dính lên mô và/hoặc kháng lại sự tấn công của các tế bào máu trắng. Ví dụ vi khuẩn gây bệnh lậu *Neisseria gonorrhoeae* dính một cách chuyên biệt lên biểu mô cổ tử cung hoặc niệu đạo nhờ các sợi tơ của nó. Các chủng sinh ngoại độc tố *E. coli* dính lên biểu mô niêm mạc



ruột nhờ các sợi tơ chuyên biệt. Protein M và các sợi tơ của *Streptococcus pyogenes* có liên quan đến sự bám dính và khả năng kháng lại sự nhấn chìm của các thực bào.

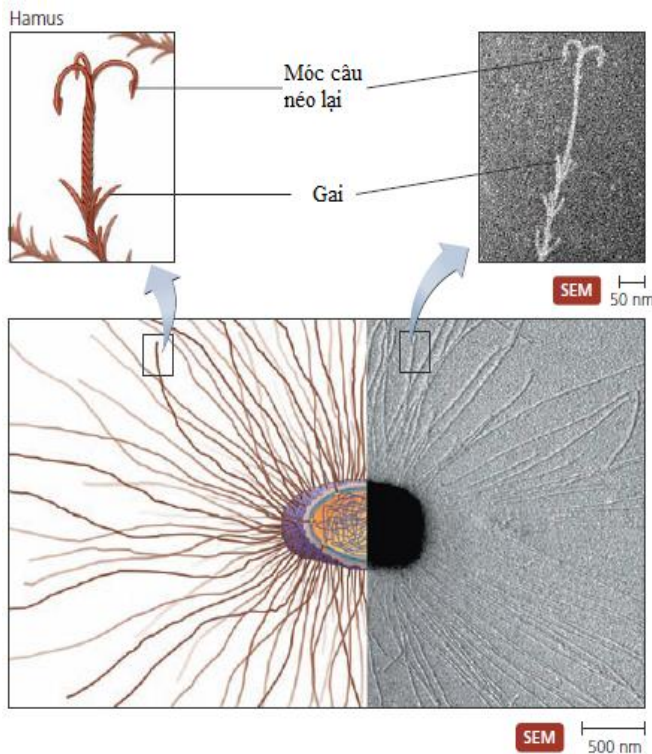
Hình 2.16. Sợi tơ giới tính. Một số tế bào *E. coli* nối với nhau thông qua sự tiếp hợp của sợi tơ giới tính.

Sợi tơ giới tính: ở prokaryote có một sợi tơ đặc biệt gọi là sợi tơ giới tính, sợi tơ này gắn vào vi khuẩn đang giao phối trong suốt quá trình tiếp hợp. Sợi tơ giới tính có kích thước từ 10 - 20 μm dài hơn sợi tơ thường và mỗi tế bào có từ 1 - 4 sợi, ví dụ ở *E. coli* (Hình 17). Sợi tơ giới tính có hai kiểu: (i) Sợi tơ kiểu F, chúng hấp thu một cách

chuyên biệt RNA của thực khuẩn thể (bacteriophage) và DNA của con cái. Sợi tơ này được yếu tố giới tính F mã hóa và ức chế sự sinh sản - yếu tố kháng dương (yếu tố fi - R).
(ii) Sợi tơ kiểu I: chúng hấp thu các phage DNA sợi chuyên biệt của con đực, được yếu tố col và fi - R mã hóa.

2.6.2. Cấu trúc phụ bộ của cổ khuẩn

Cấu trúc phụ bộ của cổ khuẩn thì tương tự như của vi khuẩn. Các cấu trúc này gồm glycocalyx, tiên mao và thể tua. Một số cổ khuẩn có cấu trúc khác gọi là *hamus*.



Tiên mao cổ khuẩn cũng được sử dụng để di chuyển trong môi trường mặc dù có vận tốc chậm hơn so với vi khuẩn. Tiên mao của cổ khuẩn giống tiên mao của vi khuẩn đó là chúng cấu tạo từ protein gồm thể gốc, móc câu và sợi tơ.

Hình 2.17. Cấu trúc hamus của cổ khuẩn (Mindy Miller-Kittrell, Đại Học Nam Carolina, Hoa Kỳ). Hamus có cấu trúc giống như móc câu neo lại trên sợi gai thép, cấu trúc này cho phép cổ khuẩn đính vào môi trường.

Mặc dù vậy, tiên mao cổ khuẩn cũng có một số điểm khác biệt so với tiên mao vi khuẩn như sau: Tiên mao cổ khuẩn có đường kính từ 10 - 14 nm, độ dày chỉ bằng khoảng một nửa so với tiên mao vi khuẩn và thiếu kênh trung tâm. Vì vậy tiên mao cổ khuẩn phát triển thêm một số tiểu đơn vị tại đáy của sợi tơ. Protein cấu tạo nên tiên mao cổ khuẩn cũng chia sẻ chung với các trình tự amino acid chéo với các loài cổ khuẩn. Điều này rất khác với các trình tự amino acid chung của tiên mao vi khuẩn. Các phân tử đường dính lên sợi tơ của nhiều cổ khuẩn, điều này hiếm thấy trên vi khuẩn. Hoạt động của tiên mao cổ khuẩn lấy năng lượng từ ATP, ngược lại tiên mao vi khuẩn lấy năng lượng từ động lực

proton xuyên màng. Tiên mao cổ khuẩn chuyển động tròn với nhau làm thành một bó khi chúng quay tròn theo chiều kim đồng hồ hoặc ngược chiều kim đồng hồ. Ngược lại, tiên mao vi khuẩn hoạt động một cách độc lập khi chúng quay tròn theo kim đồng hồ.

Những khác biệt này cho thấy sự xuất hiện của tiên mao cổ khuẩn không phụ thuộc vào tiên mao vi khuẩn. Tiên mao cổ khuẩn và vi khuẩn có cấu trúc tương tự nhưng lại không cùng tổ tiên chung.

Bảng 2.6. Một số đặc tính của sợi tơ.

Loài vi khuẩn và vị trí quan sát	Số lượng điển hình trên tế bào	Phân bố trên bề mặt tế bào	Chức năng
<i>Escherichia coli</i> (thể F hoặc sợi tơ giới tính)	1- 4	Phân bố đều	Gắn vào tế bào vi khuẩn để chuyển DNA trong suốt quá trình tiếp hợp
<i>Escherichia coli</i> (sợi tơ thường hoặc Kiểu 1)	100 - 200	Phân bố đều	Dính lên bề mặt tế bào biểu mô của dạ dày ruột
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	100 - 200	Phân bố đều	Dính lên bề mặt tế bào biểu mô của niệu đạo
<i>Streptococcus pyogenes</i> (sợi tơ cộng với protein M)	Chưa biết	Phân bố đều	Dính, kháng lại sự thực bào; đa dạng về kháng nguyên
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10 - 20	Đỉnh tế bào	Dính lên bề mặt
<i>Sulfolobus acidocaldarius</i> (vi khuẩn cổ)	Chưa biết	Chưa biết	Dính lên các phần tử sulfur

Thể tua và Hamus, giống như vi khuẩn, thể tua cổ khuẩn được cấu tạo từ protein và cắm (đúc) vào tế bào. Một số cổ khuẩn có cấu trúc protein độc đáo tương tự như thể tua gọi là hamus. Có hơn 100 hamus trên bề mặt của một tế bào cổ khuẩn. Mỗi hamus là một sợi tơ xoắn ốc có nhiều gai dính vào giống như dây thép gai, đỉnh đầu có cấu trúc giống như móc câu neo lại. Chính cấu trúc này của hamus đảm bảo cho cổ khuẩn dính

vào các bề mặt sinh học và bề mặt khác trong môi trường (Hình 2.17).

2.6.3. Phát hiện tính di động

Do tính di động là một tiêu chí cơ bản để chẩn đoán và xác định vi khuẩn, vì vậy một số kỹ thuật đã được phát triển để phát hiện tính di động một cách trực tiếp hoặc gián tiếp. Một số kỹ thuật phát hiện tính di động của vi khuẩn gồm:

(1). Nhuộm tiên mao để xem hình dạng và kiểu phân bố của chúng. Nếu vi khuẩn có tiên mao chứng tỏ chúng có khả năng di động.

(2). Thử nghiệm tính di động trên môi trường nếu tế bào di động chúng có thể bơi trong môi trường bán rắn. Cấy một đường thẳng vi khuẩn vào môi trường dinh dưỡng bán rắn bằng que cấy thẳng. Sau khi ủ, xuất hiện màu đục là do vi khuẩn tăng trưởng, nếu màu đục lan ra khỏi đường cấy là chứng cứ cho thấy vi khuẩn có thể bơi trong môi trường bán lỏng này.

(3). Quan sát trực tiếp trên kính hiển vi tế bào vi khuẩn sống bằng kỹ thuật soi tươi. Khi cần quan sát tính di động của tế bào vi khuẩn. Hầu hết vi khuẩn là đơn bào, có kích thước nhỏ, tiêu bản soi tươi nên quan sát ở độ phóng đại 400X hoặc 1000X. Lưu ý phân biệt chuyển động Brown do sự va chạm ngẫu nhiên giữa các phân tử nước và tế bào vi khuẩn. Nếu có sự di động thật sự, vi khuẩn sẽ di chuyển từ phía bên này sang phía bên kia của trường kính.

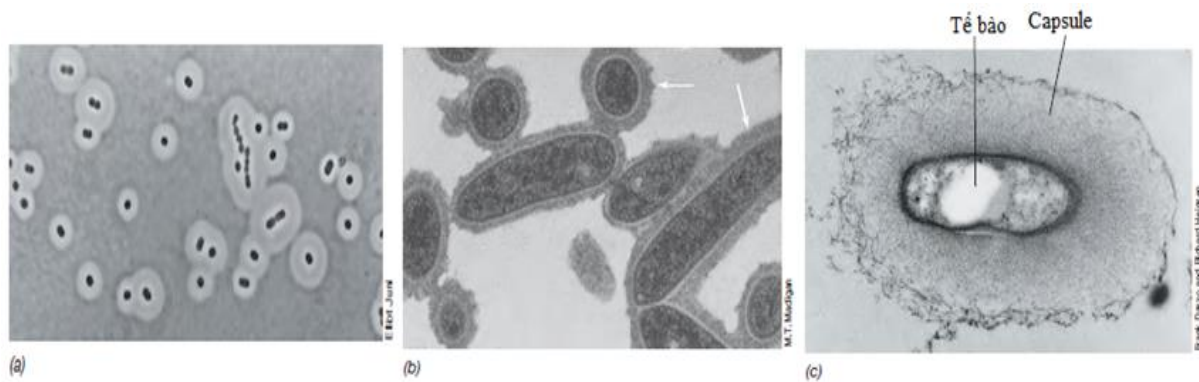
2.6.4. Vùng bao xung quanh tế bào: capsule, thành tế bào và màng tế bào

Vùng bao xung quanh tế bào (envelope) là thuật ngữ mô tả các lớp bao xung quanh tế bào chất. Thành tế bào là lớp cấu trúc ở tế bào vi khuẩn. Tất cả các tế bào đều có màng. Đây là đặc điểm quan trọng để xác định tế bào. Tất cả prokaryote đều có thành tế bào để bảo vệ tế bào chất tránh bị tổn thương. Bên ngoài thành tế bào là cấu trúc bề mặt, có thể là capsule dạng polysaccharide hoặc glycocalyx.

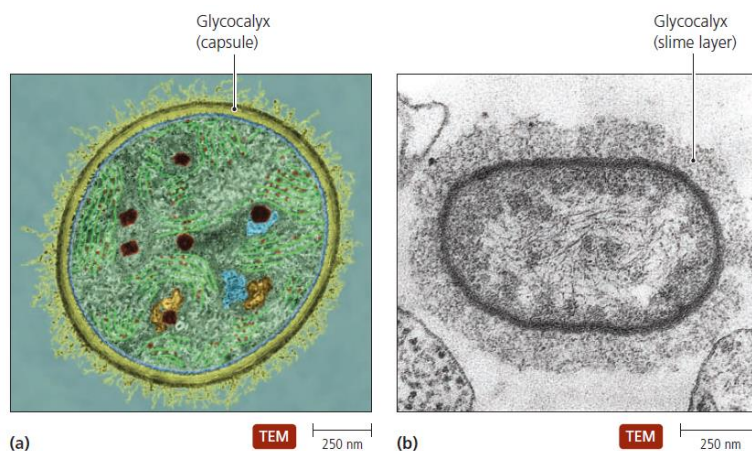
Capsule: hầu hết prokaryote chứa một phần lớp polysaccharide ngoài thành tế bào được gọi là capsule. Capsule là một lớp polysaccharide riêng biệt và nằm ngoài thành tế bào. Một số ít hơn có cấu trúc đúc trong tế bào được gọi là lớp trơn hay là dạng màng sinh học (biofilm). Một dạng bao ngoài được tìm thấy ở vi khuẩn gọi là glycocalyx, là lớp

mỏng của các sợi rối polysaccharide trên bề mặt tế bào đang tăng trưởng trong tự nhiên. Một số nhà vi sinh vật học cho rằng tất cả màng bao ngoài là glycocalyx và không có sự khác biệt với capsule của vi khuẩn.

Capsule thường được cấu tạo từ polysaccharide; hiếm khi chứa các đường amino hoặc các peptide (Bảng 2.7).



Hình 2.18. Capsule của vi khuẩn. (a) Capsule của *Acinetobacter* dưới kính hiển vi pha đảo sau khi nhuộm âm tế bào bằng mực Tàu. Mực Tàu không thấm vào capsule và vì vậy capsule có màu sáng bao xung quanh tế bào, tế bào có màu đen. (b) Ảnh dưới kính hiển vi điện tử truyền suốt (TEM) của lát cắt tế bào *Rhodobacter capsulatus*, capsule là vòng hẹp sáng bao xung quanh tế bào; tế bào rộng khoảng 0,9 μm . (c) Ảnh TEM của *Rhizobium trifolii* nhuộm ruthenium đỏ, biểu lộ capsule. Tế bào rộng khoảng 0,7 μm .



Hình 2.19. Ảnh Capsule của vi khuẩn dưới kính hiển vi điện tử truyền suốt (TEM). (a). Capsule của *Streptococcus pneumoniae*. (b) Lớp nhớt bao xung quanh vi khuẩn *Bacteroides*.

Ở một sinh vật cụ thể, màng bao capsule thường có đa chức năng. Giống như sợi tơ, màng bao capsule là các

lớp mỏng và glycocalyx thường làm trung gian cho quá trình dính tế bào lên các bề mặt. Màng bao capsule cũng bảo vệ vi khuẩn tránh khỏi sự nhúng chìm để ăn thịt của động vật đơn bào hoặc từ các thực bào. Ngoài ra chúng còn giúp vi khuẩn tránh khỏi sự tấn công của các yếu tố kháng khuẩn. Capsule của một số vi khuẩn đất bảo vệ tế bào tránh ảnh hưởng của sự khô hạn hay do làm khô. Khi môi trường vi khuẩn có bổ sung đường, thì chất liệu của capsule (ví dụ dextran) có thể được sản xuất rất nhiều để làm nguồn dự trữ carbohydrat.

Bảng 2.7. Thành phần hóa học của một số màng bao vi khuẩn

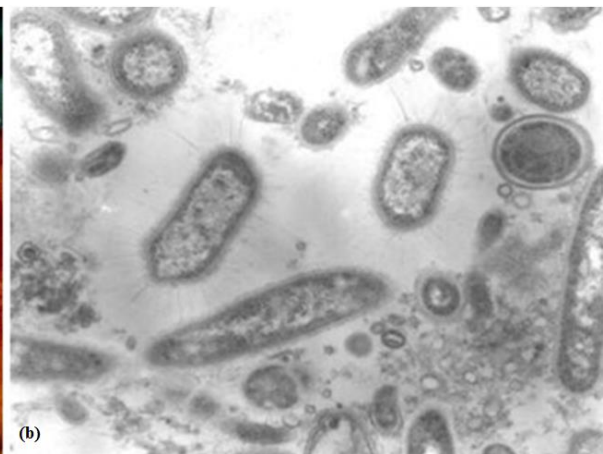
Vi khuẩn	Thành phần capsule	Các tiểu đơn vị cấu trúc
Vi khuẩn Gram dương		
<i>Bacillus anthracis</i>	polypeptide (polyglutamic acid)	D-glutamic acid
<i>Bacillus megaterium</i>	polypeptide polysaccharide	và D-glutamic acid, đường amino, đường
<i>Streptococcus mutans</i>	polysaccharide	(dextran) glucose
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	polysaccharide	Đường, đường amino, uronic acid
<i>Streptococcus pyogenes</i>	polysaccharide (hyaluronic acid)	N-acetyl-glucosamine và glucuronic acid
Vi khuẩn Gram âm		
<i>Acetobacter xylinum</i>	polysaccharide	(cellulose) glucose
<i>Escherichia coli</i>	polysaccharide (colonic acid)	glucose, galactose, fucose glucuronic acid
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	polysaccharide	mannuronic acid
<i>Azotobacter vinelandii</i>	polysaccharide	glucuronic acid
<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	polysaccharide	(glucan) glucose

Một số vi khuẩn có khả năng tạo nhớt (slime) để giúp chúng bám dính, kết khối và nổi lên trong môi trường mà chúng sống. Một số vi khuẩn khác tạo nhớt để dính lên bề

mặt hoặc dính lên cơ chất. Vi khuẩn có thể dính lên bề mặt, tạo nhót, chia đôi và tạo vi khuẩn lạc (microcolony) trong phạm vi lớp nhót này. Vi sinh vật cũng có khả năng hình thành kén sinh học (biofilm), kén này là môi trường giàu chất dinh dưỡng và cũng được sử dụng để bảo vệ chính tế bào vi khuẩn.



← Hình 2.20 (c). Khuẩn lạc *Bacillus anthracis* có dạng nhầy. Thành phần capsule của *B. anthracis* là poly-D-glutamate. Capsule là yếu tố chính được sử dụng để xác định khả năng gây bệnh của vi khuẩn. Ở giai đoạn sớm của quá trình khu trú và xâm nhiễm, capsule bảo vệ vi khuẩn khỏi các cuộc tấn công từ hệ thống miễn dịch và thực bào (CDC).



Hình 2.201. (a). Bệnh nha chu nặng. (b). Bựa răng người dưới kính hiển vi điện tử truyền suốt (Marilee Sellers, Đại học Nam Arizona).

Một ví dụ cổ điển về cấu trúc kén sinh học trong tự nhiên là sự hình thành bựa răng trung gian qua vi khuẩn ở miệng là *Streptococcus mutans*. Vi khuẩn này dính một cách chuyên biệt lên lớp mỏng của răng nhờ protein trên bề mặt tế bào. Vi khuẩn phát triển và tổng hợp màng bao là chất dextran dùng để nối chúng với men răng và hình thành biofilm gồm từ 300-500 tế bào. Vi khuẩn này có khả năng bẻ gãy đường saccharose thành glucose và fructose. Đường fructose được lên men tạo năng lượng cho

sự tăng trưởng của vi khuẩn. Glucose được dùng cho phản ứng trùng hợp để hình thành dextran ngoại bào. Chất này như xi măng được vi khuẩn dính lên men răng và trở thành bựa răng. Chất nhớt dextran có thể bị phân giải thành glucose, được vi khuẩn sử dụng tạo lactic acid trong bựa răng làm hư hỏng men răng và gây bệnh hư răng hoặc bệnh do vi khuẩn khác xâm nhiễm qua răng.

Đặc điểm quan trọng khác của capsule đó là khả năng ngăn chặn một số bước của quá trình thực bào và giúp tế bào vi khuẩn tránh được sự thực bào do nhúng chìm hoặc bị tiêu diệt. Ví dụ yếu tố chính xác định khả năng gây bệnh của vi khuẩn *Streptococcus pneumoniae* chính là màng bao polysaccharide của nó. Màng bao này ngăn chặn vi khuẩn *S. pneumoniae* thoát khỏi sự tấn công của các đại thực bào ở phổi. Trường hợp khác là *Bacillus anthracis* vẫn tồn tại mặc dù chúng đã bị thực bào nhúng chìm. Điều này xảy ra là do các enzyme lysosome của thực bào không thể tấn công màng bao poly-D-glutamate của *Bacillus anthracis*. Khi vi khuẩn như *Pseudomonas aeruginosa* tập kết trên các mô, chúng tạo biofilm được làm từ chất nhớt ngoại bào. Vi khuẩn này cũng có khả năng kháng lại sự thực bào bằng cách không cho thực bào xâm nhập vào biofilm.

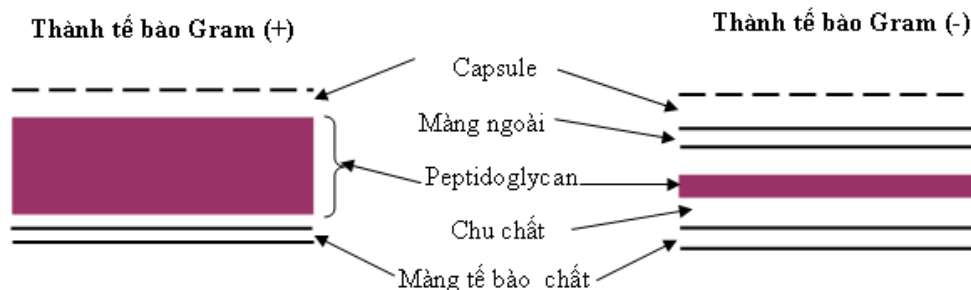
Bảng 2.8. Một số bệnh nhiễm trùng ở người có liên quan đến kén sinh học (Costerton và cộng sự, 1999).

Bệnh	Các loài vi khuẩn tạo kén
Bệnh sâu răng	Cầu khuẩn Gram dương (ví dụ <i>Streptococcus</i>)
Nha chu	Vi khuẩn Gram âm kỵ khí ở miệng
Viêm tai giữa	Các chủng không điển hình <i>Haemophilus influenza</i>
Nhiễm trùng cơ xương	Cầu khuẩn Gram dương (ví dụ <i>Staphylococcus</i>)
Viêm niêm mạc hoại tử	Nhóm A <i>Streptococci</i>
Nhiễm trùng tuyến mật	Vi khuẩn đường ruột (ví dụ <i>Escherichia coli</i>)
Viêm tủy xương	Hỗn hợp nhiều loài vi khuẩn và nấm
Viêm tuyến tiền liệt do vi khuẩn	<i>E. coli</i> và vi khuẩn Gram âm

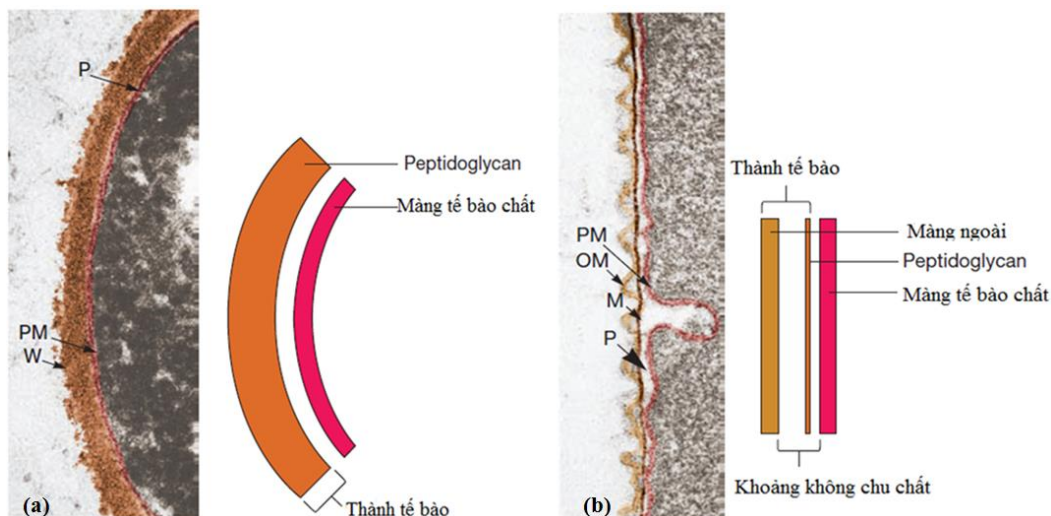
2.6.5. Thành tế bào

Thành tế bào vi khuẩn là đối tượng quan tâm đặc biệt do các lý do sau đây:

- (1). Chúng có cấu trúc thiết yếu cho sự sống.
- (2). Thành tế bào được cấu tạo từ các thành phần độc nhất, không thể tìm thấy ở nơi khác trong tự nhiên.

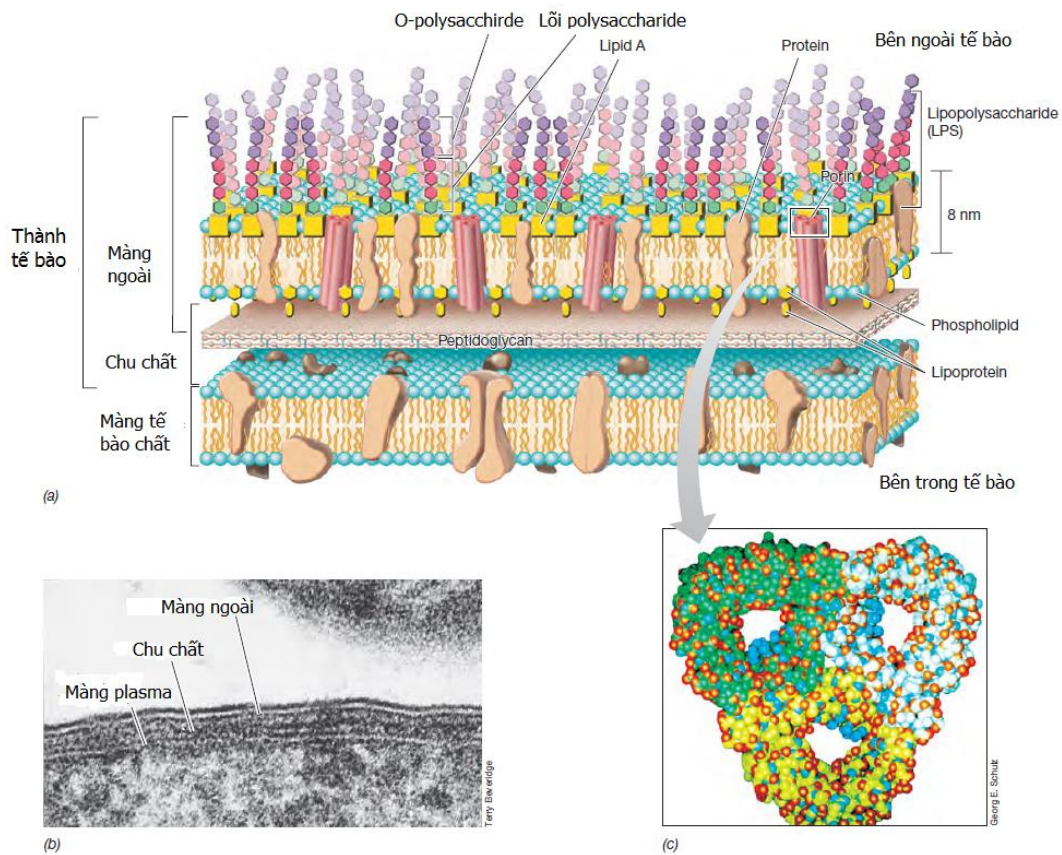


Hình 2.212. Sơ đồ minh họa thành tế bào vi khuẩn Gram dương và Gram âm. Thành tế bào vi khuẩn Gram dương có lớp dày đồng nhất từ ngoài vào đến màng sinh chất. Lớp này được cấu tạo chủ yếu là peptidoglycan (murein). Thành tế bào vi khuẩn Gram âm xuất hiện những lớp mỏng. Lớp này bao gồm phần peptidoglycan tương đối mỏng giữa màng sinh chất và màng ngoài phospholipid-lipopolysaccharide. Không gian giữa màng sinh chất và màng ngoài được gọi là chu chất.



Hình 2.23. Thành tế bào vi khuẩn Gram dương và Gram âm. (a).Vi khuẩn Gram dương *Bacillus licheniformis*; (b).Vi khuẩn gram âm *Aquaspirillum serpens*. M: lớp peptidoglycan hoặc murein; OM: màng ngoài; PM: màng tế bào chất; P: khoảng không chu chất; W: thành tế bào vi khuẩn gram dương (Nguồn internet).

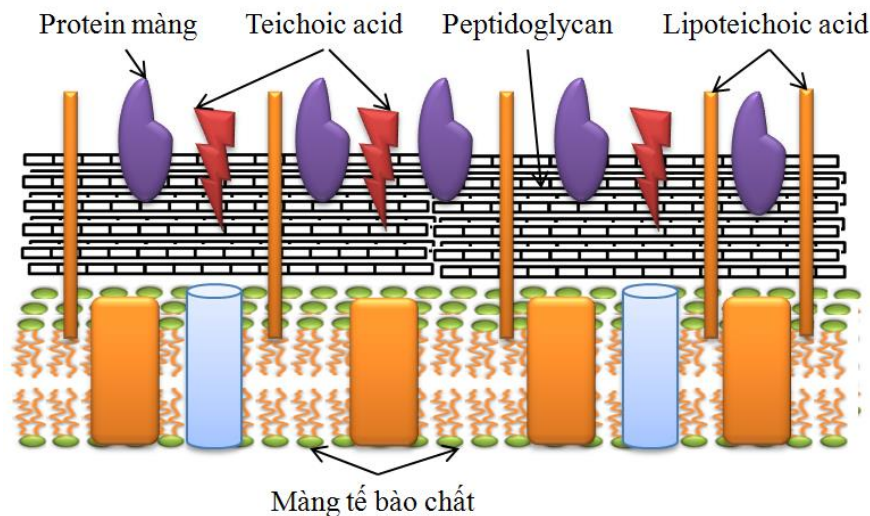
- (3). Là một trong những vị trí quan trọng nhất để kháng sinh tấn công.
- (4). Thành tế bào có các cấu tử đóng vai trò trong quá trình dính và các vị trí thụ quan chuyên biệt cho một số chất hóa học và virus.
- (5). Thành tế bào có thể gây bệnh cho động vật và
- (6). Thành tế bào có khác biệt và đa dạng về miễn dịch trong số các chủng vi khuẩn.



Hình 2.24. Mô phỏng cấu trúc của thành tế bào vi khuẩn Gram âm. (a). Sơ đồ minh họa sắp xếp lipopolysaccharide, lipid A, phospholipid, porin và lipoprotein ở màng ngoài. (b). Thành và màng tế bào chất của *E. coli* dưới kính hiển vi điện tử truyền suốt (TEM). (c). Cấu trúc phân tử porin. Thành tế bào Gram âm tương đối mỏng, có ít peptidoglycan hơn và không có teichoic acid so với thành tế bào Gram dương. Tuy nhiên của thành tế bào tế bào Gram âm có một màng ngoài có lớp peptidoglycan dính vào các phân tử lipoprotein (nguồn internet).

Hầu hết prokaryote có thành tế bào cứng. Thành tế bào là một cấu trúc quan trọng để bảo vệ tế bào chất tránh bị tổn thương cơ học do thẩm thấu hoặc do phân giải. Prokaryote thường sống trong các môi trường pha loãng tương đối nên sự tích lũy các chất hòa tan bên trong tế bào sẽ cao hơn nhiều so với tổng nồng độ các chất hoàn tan bên ngoài tế bào. Chính vì vậy áp suất thẩm thấu hướng vào bên trong màng tế bào chất có thể tương đương 10 - 25 atm. Do màng tế bào chất (màng plasma) có cấu trúc dạng plastic, mỏng manh nhằm hạn chế áp suất tác động vào nên thành tế bào bên ngoài có cấu trúc bằng vật liệu rắn, có lỗ xốp để có sức bền cao. Vật liệu để đáp ứng các yêu cầu như vậy chính là murein, đây là thành phần phổ biến của thành tế bào vi khuẩn.

Murein là một dạng độc đáo của peptidoglycan, một polymer disaccharide (glycan) liên kết chéo bởi các chuỗi amino acid (peptide). Có nhiều kiểu tồn tại của peptidoglycan. Tất cả peptidoglycan của vi khuẩn có N-acetylmuramic acid, được xác định là thành phần của murein. Vách tế bào của Cổ khuẩn có thể được cấu tạo từ protein, polysaccharide hay các phân tử tương tự như peptidoglycan, nhưng không có murein. Đây chính là đặc điểm để phân biệt vi khuẩn và Cổ khuẩn.



Hình 2.225. Sơ đồ minh họa cấu trúc thành tế bào vi khuẩn Gram dương, gồm một số lớp peptidoglycan. Teichoic acid vuông góc với các phiến peptidoglycan. Nhóm này chỉ có ở thành tế bào Gram dương.

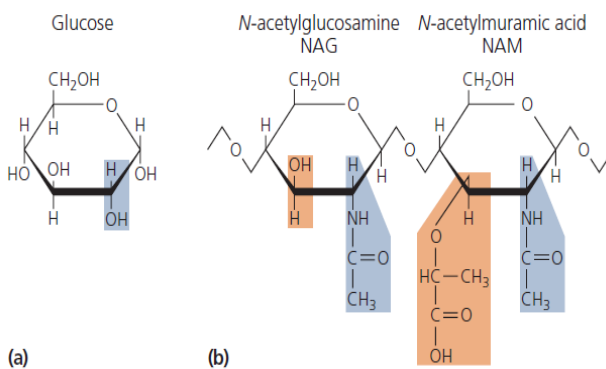
Ở vi khuẩn Gram âm, thành tế bào được cấu tạo từ một lớp peptidoglycan, được

bao xung quanh bởi một cấu trúc màng gọi là màng ngoài. Màng ngoài này của vi khuẩn Gram âm luôn có một thành phần độc nhất đó là LPS -lipopolysaccharide (hay còn gọi là nội độc tố), chất này độc đối với động vật. Màng ngoài thường được cho là thành phần của thành tế bào (Hình 2.24).

Ở vi khuẩn Gram dương, thành tế bào gồm một số lớp peptidoglycan. Vuông góc với các tấm peptidoglycan là một nhóm phân tử gọi là teichoic acid, nhóm này chỉ có ở thành tế bào Gram dương (Hình 2.25).

Thành tế bào vi khuẩn Gram dương dày 15 - 80 nm bao gồm nhiều lớp peptidoglycan, ngược lại thành tế bào vi khuẩn Gram âm tương đối mỏng khoảng 10 nm và được cấu tạo một lớp peptidoglycan được bao xung quanh bởi một màng ngoài.

Cấu trúc và sự sắp xếp của peptidoglycan ở *E. coli* là đại diện cho tất cả các vi khuẩn thuộc Họ *Enterobacteriaceae* cũng như nhiều vi khuẩn Gram âm khác. Khung sườn glycan được cấu tạo từ các phân tử xen kẽ nhau là N-acetylglucosamine (G) và N-acetylmuramic acid (M), nối với nhau nhờ cầu nối beta 1,4-glycoside. Carbon thứ 3 của N-acetylmuramic acid (M) được thay thế bằng nhóm lactyl ether có nguồn gốc từ pyruvate. Lactyl ether này nối khung glycan với chuỗi bên peptide chứa L-alanine, (L-ala), D-glutamate (D-glu), Diaminopimelic acid (DAP) và D-alanine (D-ala). MurNAc chỉ có ở thành tế bào vi khuẩn có cấu trúc là D-glu, DAP và D-ala. Tiểu đơn vị muramic acid của *E. coli* được minh họa ở Hình 2.26.

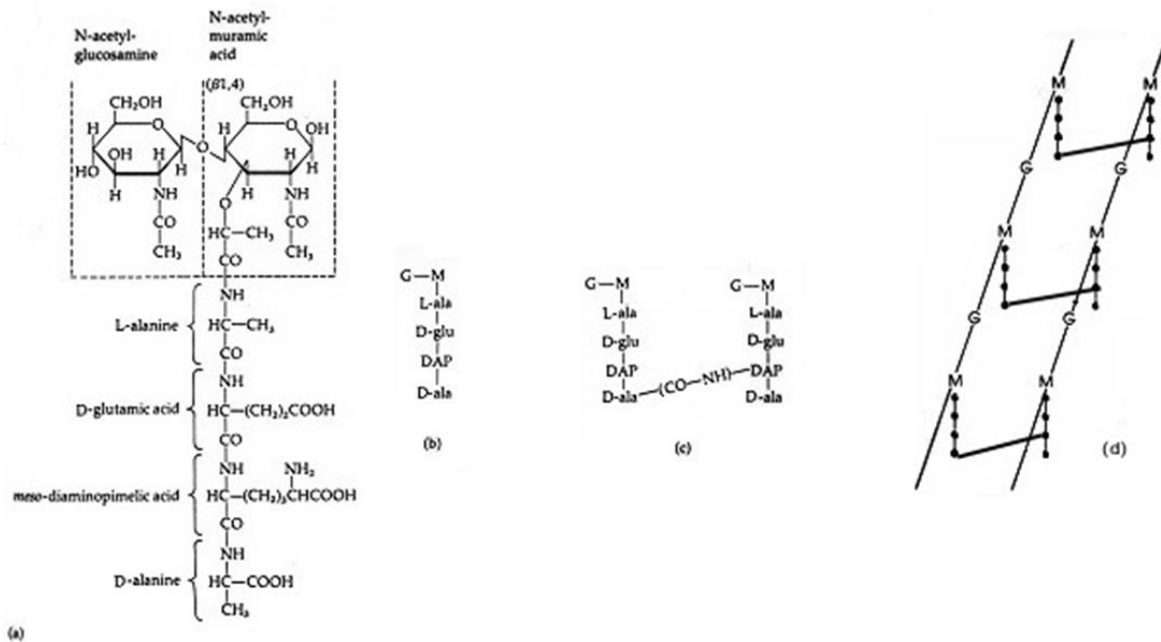


Hình 2.236. So sánh cấu trúc của glucose, NAG và NAM. (a) Glucose. (b) N-acetylglucosamine (NAG) và các phân tử N-acetylmuramic acid (NAM) liên kết với nhau trong peptidoglycan. Màu xanh lam biểu thị khác nhau giữa glucose và hai nhóm đường khác. Màu cam biểu thị cho sự khác nhau giữa NAG và NAM.

Các nhánh của murein được lắp ráp trong chu chất, có khoảng 10 tiểu đơn vị

Các nhánh của murein được lắp ráp trong chu chất, có khoảng 10 tiểu đơn vị

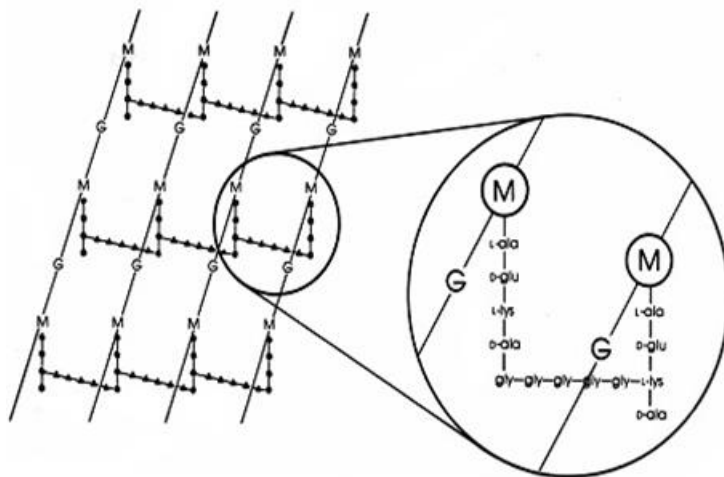
muramic acid. Sau đó các nhánh này nối với nhau để hình thành nên khung glycan bao quanh tế bào. Bất cứ ở đâu khi có cự ly cho phép, các chuỗi tetrapeptide dùng làm sườn glycan có thể liên kết ngang nhờ cầu nối nội peptide (interpeptide bond) giữa một chức amino tự do ở trên DAP với chức carboxyl trên D-ala. Quá trình lắp ráp peptidoglycan trên mặt ngoài của màng plasma nhờ trung gian các nhóm enzyme transglycosylase, transpeptidase và carboxypeptidase ở chu chất. Cơ chế hoạt động của penicillin và các kháng sinh beta-lactam là ngăn chặn các enzyme transpeptidase và carboxypeptidase trong quá trình lắp ráp murein của thành tế bào. Vì vậy có thể nói rằng kháng sinh nhóm beta lactam ngăn chặn sự tổng hợp thành tế bào ở vi khuẩn.



Hình 2.27. Cấu trúc của tiểu đơn vị muramic acid của peptidoglycan thuộc *Escherichia coli*. Đây là kiểu murein được tìm thấy ở hầu hết các vi khuẩn Gram âm. (a). Khung glycan là một polymer của hai đường amino lặp lại là N-acetylglucosamine (G) và N-acetylmuramic acid (M). Đính lên N-acetylmuramic acid là nhóm bốn peptide (tetrapeptide) gồm L-ala-D-glu-DAP-D-ala. (b). Cấu trúc viết tắt của tiểu đơn vị muramic acid. (c). Gần như các chuỗi bên của bốn peptide (tetrapeptide) có thể liên kết với một phân tử khác bằng cầu nối nội peptide (interpeptide bond) giữa DAP trên một chuỗi và D-ala trên chuỗi khác. (d). Dạng

polymer của phân tử.

Khung glycan của phân tử peptidoglycan có thể bị cắt bởi enzyme lysozyme. Enzyme này có trong huyết thanh động vật, trong các mô, trong dịch tiết và trong tiêu thể của thực bào. Chức năng của tiêu thể (lysozyme) là ly giải tế bào vi khuẩn. Đây được xem như là sự phòng vệ cơ bản để chống lại vi khuẩn gây bệnh. Một số vi khuẩn Gram dương rất nhạy cảm với lysozyme và enzyme này có hoạt tính mạnh mặc dù ở nồng độ thấp. Có thể pha loãng dịch tiết nước mắt 1:40.000 và vẫn còn lưu giữ khả năng ly giải một số tế bào vi khuẩn. Vi khuẩn Gram âm ít bị tổn thương hơn đối với sự tấn công của lysozyme do peptidoglycan của chúng được bảo vệ bởi màng bao ngoài. Vị trí chính xác để lysozyme cắt là cầu nối beta 1,4 giữa N-acetylmuramic acid (M) và N-acetylglucosamine (G).



Hình 2.248. Sơ đồ minh họa peptidoglycan của *S. aureus*. G = N-acetyl-glucosamine; M = N-acetyl-muramic acid; L-ala = L-alanine; D-ala = D-alanine; D-glu = D-glutamic acid; L-lys = L-lysine. Đây chỉ là một kiểu murein được tìm thấy ở vi khuẩn Gram dương. So sánh

với *E. coli* peptidoglycan (Hình 2.27), ở đó là L-lys thay thế DAP (diaminopimelic acid) trong tetrapeptide. Chức amino tự do của L-lys bị thay thế bằng glycine pentapeptide (gly-gly-gly-gly-gly-) chất này sau đó hình thành nội cầu nối peptide liên kết với nhóm carboxy từ D-ala của chuỗi bên tetrapeptide gần kề. Peptidoglycan ở vi khuẩn gram dương thì khác nhau ở những loài khác nhau, chủ yếu là về amino acid ở vị trí thứ ba của chuỗi tetrapeptide bên và thành phần amino acid của cầu nối nội peptide.

Peptidoglycan được cấu tạo bởi các chuỗi NAG và NAM liên kết với nhau qua cầu

nối chéo của bốn peptide và trong một số trường hợp các chuỗi amino acid nối với nhau để hình thành cấu trúc linh động nhưng bền vững. Các amino acid của các cầu nối chéo này khác nhau ở các loài vi khuẩn khác nhau.

Ở vi khuẩn Gram dương có nhiều kiểu sắp xếp peptide khác nhau giữa các peptidoglycan. Murein của *S. aureus* được nghiên cứu kỹ nhất và được mô tả ở hình 2.28. Ở vị trí DAP trong *E. coli* là diamino acid, L-lysine (L-lys) và ở vị trí liên kết nội peptide (interpeptide bond) (ở vi khuẩn Gram âm) là một cầu nối nội peptide (interpeptide bridge) của các amino acids, nối giữa một nhóm chức amino tự do trên lysine với nhóm carboxy tự do trên D-ala của chuỗi bên tetrapeptide gần đó. Rõ ràng kiểu sắp xếp này cho phép nhiều liên kết chéo giữa các chuỗi bên tetrapeptide gần đó. Ở *S. aureus*, cầu nối nội peptide gồm 5 phân tử glycine (được gọi là cầu nối pentaglycine). Kháng sinh beta lactam ức chế sự hình thành cầu nối nội peptide ở murein của vi khuẩn Gram dương và cũng tác động tương tự như ở vi khuẩn Gram âm. Vi khuẩn Gram dương nhạy cảm với penicillin hơn vi khuẩn Gram âm là do peptidoglycan không được màng ngoài bảo vệ và lớp peptidoglycan cũng dày hơn. Ở vi khuẩn Gram dương, tồn tại ít nhất 8 kiểu peptidoglycan khác nhau có thể là do sự khác nhau về vị trí amino acid của DAP hoặc L-lys ở vị trí thứ 3 của tetrapeptide và thành phần chính xác của cầu nối tetrapeptide.

Thành tế bào vi khuẩn Gram âm có thể chứa một lớp đơn phân tử, ngược lại thành tế bào vi khuẩn Gram dương có một số lớp peptidoglycan. Ở vi khuẩn Gram dương, các phân tử teichoic acid có liên quan gần với các lớp peptidoglycan. Teichoic acid là polymer mạch thẳng có cấu tạo từ polyglycerol hay polyribitol được thay với các phosphate và một số amino acid và đường. Các polymer teichoic acid đôi khi được cắm vào màng plasma (gọi là lipoteichoic acid, LTA) hướng ra bên ngoài và thẳng góc với các lớp peptidoglycan. Chức năng của teichoic acid thì chưa biết. Chúng là thiết yếu cho sự sống còn của vi khuẩn Gram dương ở hoang dã. Có ý kiến cho rằng chúng cung cấp kênh điều hòa theo hướng điện tích âm (channel of regularly-oriented negative charges) để phân luồng các chất có điện tích âm qua mạng lưới peptidoglycan phức tạp. Ý kiến khác cho rằng teichoic acid có liên quan đến sự điều hòa và ráp ráp các tiểu đơn vị

muramic acid trên mặt ngoài của màng plasma. Ví dụ trong trường hợp ở *Streptococcus*, teichoic acid liên quan đến sự bám dính của vi khuẩn lên bề mặt mô.

Một số ít vi khuẩn có thể sống và tồn tại mà không có thành tế bào. Mycoplasmas là nhóm vi khuẩn thiếu cấu trúc thành tế bào. Mycoplasmas có các phân tử tương tự như sterol kết hợp với màng và vi khuẩn này thường sống trong môi trường có tính thẩm thấu được bảo vệ. *Mycoplasma pneumoniae* là nguyên nhân chủ yếu gây bệnh viêm phổi do vi khuẩn không điển hình. Rõ ràng khi được sử dụng penicillin để điều trị bệnh viêm phổi sẽ không hiệu quả. Dưới những áp lực của liệu pháp kháng sinh, đôi khi vi khuẩn gây bệnh có thể trở lại thành tế bào - dạng tối thiểu, được gọi là tế bào không có thành (spheroplast) bảo vệ hay gọi là tế bào trần (protoplast) và tồn tại trong các mô có tính thẩm thấu được bảo vệ. Khi liệu pháp điều trị không còn chỉ định kháng sinh, vi khuẩn có thể tái phát triển trở lại thành tế bào và tái nhiễm vào các mô không được bảo vệ.

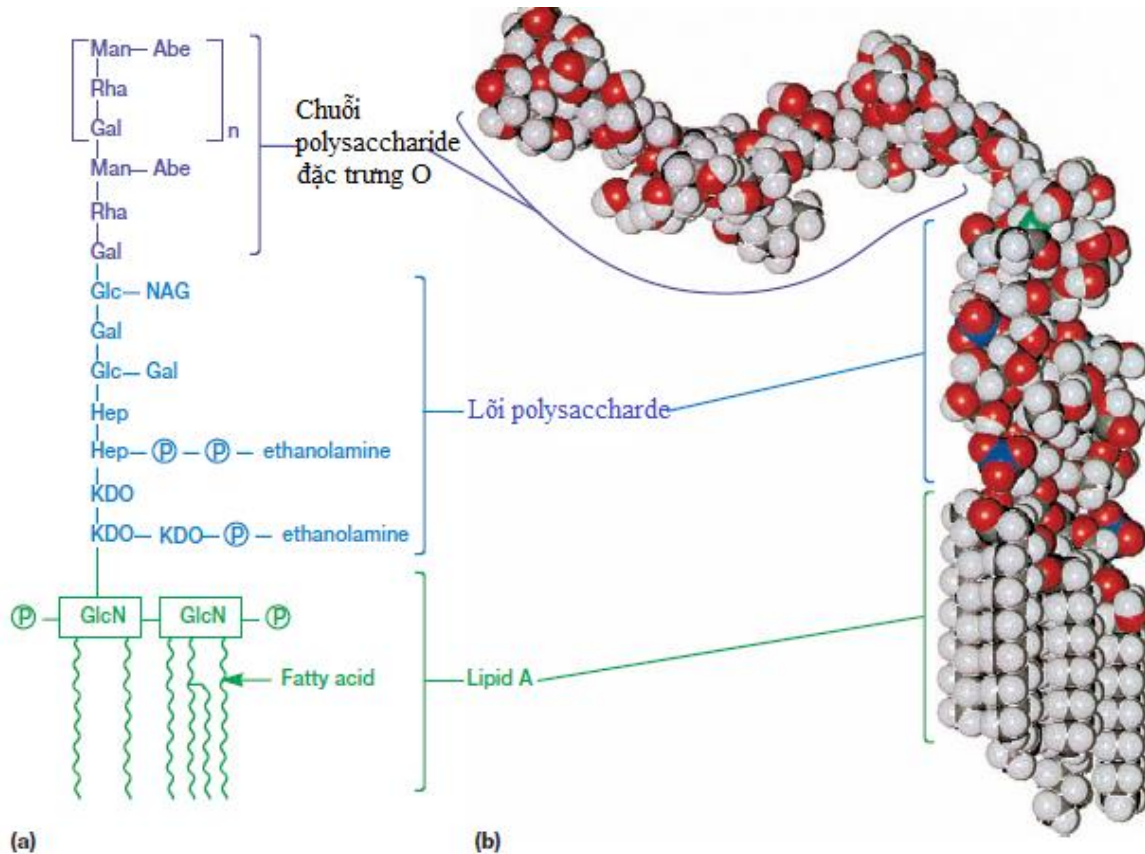
2.6.6. Màng ngoài của vi khuẩn Gram âm

Mối quan tâm đặc biệt như là một thành phần của thành tế bào vi khuẩn Gram âm chính là màng ngoài, một cấu trúc lớp đôi riêng biệt ở mặt ngoài của phiến peptidoglycan (Hình 2.24). Đối với vi khuẩn, trước hết và đầu tiên màng ngoài chính là lớp bảo vệ thẩm thấu được, thành phần của nó chủ yếu là lipopolysaccharide, sở hữu nhiều đặc tính hấp dẫn và quan trọng của vi khuẩn Gram âm. Màng ngoài là lớp đôi lipid xen giữa là các protein, bề mặt tương tự như màng nguyên sinh chất. Mặt trong của màng ngoài được cấu tạo từ phospholipid tương tự như phosphoglyceride cấu tạo nên màng nguyên sinh chất. Mặt ngoài của màng ngoài có thể chứa một số phospholipid, nhưng chủ yếu nó được hình thành bởi phân tử lưỡng cực đó là lipopolysaccharide (LPS). Các protein của màng ngoài thường đi ngang qua màng và đôi khi neo lại ở màng ngoài nằm dưới phiến peptidoglycan.

Phân tử LPS tạo thành mặt ngoài của màng ngoài có cấu tạo là vùng kỵ nước được gọi là Lipid A, chất này đính lên vùng polysaccharide dạng thẳng có tính ưa nước, gồm lõi polysaccharide và polysaccharide chuyên biệt O.

Đầu Lipid A của phân tử chèn vào phía trong màng và đuôi polysaccharide của

phân tử đối mặt với môi trường lỏng. Khi đuôi của phân tử này chèn vào đầu thì sẽ có sự tích lũy điện tích âm như cation magnesium bị kèm kẹp giữa các phân tử LPS lân cận. Điều này sẽ giúp màng ngoài ổn định và lý giải tại sao khi xử lý vi khuẩn Gram âm với yếu tố có tính chất kèm kẹp mạnh như EDTA sẽ làm phân tán các phân tử LPS.



Hình 2.29. Cấu trúc LPS. (a) Lipopolysaccharide từ *Salmonella*. Abe: abequose; Gal: galactose; Glc: glucose; GlcN: glucosamine; Hep: heptulose; KDO: 2-keto-3-deoxyoctonate; Man: mannose; NAG: N-acetylglucosamine; P: phosphate; Rha: L-rhamnose. Lipid A được chèn vào màng ngoài vi khuẩn. (b) Phân tử lipopolysaccharide ở *Escherichia coli*. Lipid A và lõi polysaccharide thì thẳng; Chuỗi O thì cong một góc với phân tử LPS.

Lipopolysaccharide có tính độc đối với động vật. Khi tiêm vào một lượng nhỏ LPS hay nội độc tố sẽ làm hoạt hóa các đại thực bào tạo ra chất gây sốt (pyrogen), hoạt hóa dòng bạch cầu gây ra sự viêm nhiễm và hoạt hóa các yếu tố máu dẫn đến làm đông máu nội mạch và xuất huyết. Ở bất kỳ vi khuẩn Gram âm nào, các nội độc tố cũng có thể đóng

vai trò trong sự xâm nhiễm. Thành phần của nội độc tố (LPS) chính là Lipid A. Polysaccharide đặc trưng O có thể cung cấp phối tử cho quá trình dính của vi khuẩn và trong một số trường hợp phối hợp kháng lại sự thực bào. Sự đa dạng về hàm lượng đường của polysaccharide O (là kháng nguyên O) lý giải tại sao có nhiều kiểu kháng nguyên trong số vi khuẩn Gram âm gây bệnh. Chính vì thế, dù cho Lipid A là thành phần gây độc trong LPS, nhưng polysaccharide vẫn góp phần vào tính gây độc của vi khuẩn Gram âm.

Các protein ở màng ngoài của *Escherichia coli* đã được mô tả kỹ (Bảng 2.9). Có khoảng 400 bản sao của Braun lipoprotein được đính một cách cộng hóa trị lên phiên peptidoglycan tại vị trí đầu cuối và chèn đầu kia vào trong phần kỵ nước của màng. Nhóm protein tam phân (trimeric protein) gọi là porin hình thành các lỗ có kích thước cố định xuyên qua lớp đôi lipid của màng. Các porin omp C và omp F của *E. coli* được thiết kế để cho phép các phân tử ưa nước (hydrophilic molecule) có trọng lượng phân tử khoảng 750 dalton đi qua. Các phân tử lớn hơn hoặc các hợp chất kỵ nước gây hại như muối mật bò trong tuyến tiêu hóa sẽ không được xâm nhập vào. Các porin được thiết kế ở vi khuẩn Gram âm cho phép các phân tử hữu ích (chất dinh dưỡng) qua lớp bảo vệ của màng ngoài, nhưng không cho các chất gây hại từ môi trường vào bên trong tế bào. Protein omp A phân bố rộng khắp trong màng ngoài của *E. coli* có cấu trúc tương tự porin và có thể có chức năng hấp thu các ion đặc trưng nhưng nó cũng là một thụ thể cho sợi tơ F và vị trí dính cho các virus vi khuẩn.

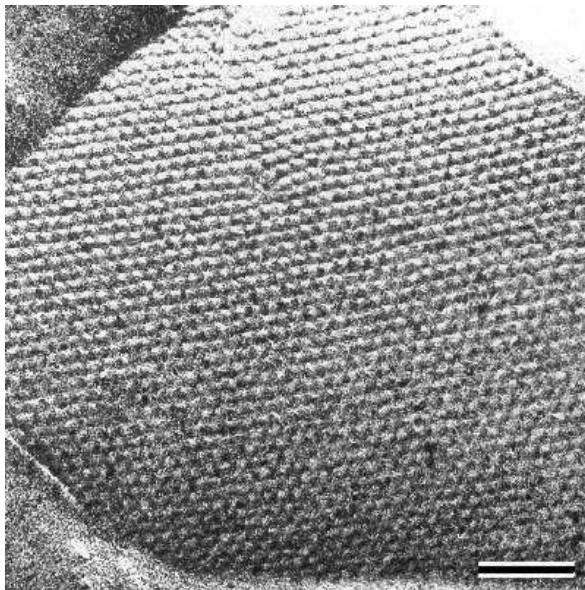
Bảng 2.9. Chức năng các thành phần màng ngoài của *Escherichia coli*.

Thành phần	Chức năng
Lipopolysaccharide (LPS)	Bảo vệ tính thẩm chọn lọc
Các cầu nối Mg^{2+}	Ổn định LPS và thiết yếu đối với đặc tính thấp được
Braun lipoprotein	Neo lên phiên peptidoglycan (murein) ở màng ngoài
Kênh màng (porin) Omp C và Omp F	Protein hình thành các lỗ hoặc kênh xuyên màng màng ngoài cho phép các phân tử ưa nước đi qua
Protein Omp A	Cung cấp thụ quan (receptor) cho một số virus và chất kháng khuẩn (bacteriocin); giúp ổn định các tế bào đang

giao phối (mating cell) trong quá trình tiếp hợp

2.6.7. Lớp S

Các protein lớp S hình thành nên thành phần màng bao ngoài cùng của nhiều vi khuẩn và cổ khuẩn. Lớp S được cấu tạo từ một protein đơn nhất hoặc glycoprotein. có trọng lượng phân tử từ 40 - 200 kDa, có cấu trúc hoặc là xoắn, hình vuông hoặc dạng cấu trúc mạng tứ cạnh đối xứng hoặc lục phương đối xứng với kích thước của mỗi ô đơn vị từ 3 - 30 nm. Độ dày của các lớp S thường là từ 5 đến 10 nm và có các lỗ có kích thước



và kiểu hình xác định có đường kính từ 2 - 8 nm.

Hình 2.30. Nhiều vi khuẩn Gram âm và Gram dương cũng như cổ khuẩn sở hữu lớp có cấu trúc đồng dạng gọi là lớp S, dính vào phần ngoài cùng của thành tế bào. Lớp này được cấu tạo từ protein hoặc glycoprotein. Dưới kính hiển vi điện tử, lớp S có cấu trúc giống như bề mặt ngôi lợp. Thanh ngang = 100 nm (nguồn

internet).

Lớp S có thể có một số chức năng như bảo vệ tế bào khỏi tác động gây hại của enzyme và những thay đổi của pH. Nó có thể góp phần vào tính độc của vi khuẩn bằng cách bảo vệ tế bào chống lại sự tấn công của bổ thể và thực bào. Lớp này bảo vệ tế bào *E. coli* khỏi sự ăn thịt của vi khuẩn *Bdellovibrio*.

Lớp S có thể có chức năng tương tự như yếu tố dính, nó giúp vi khuẩn dính lên màng tế bào chủ và bề mặt môi trường để kết cụm. Nhiều yếu tố dính dạng protein có liên quan đến tế bào được vi khuẩn gây bệnh sử dụng là những thành phần của lớp S. Mỗi tương quan giữa Gram âm và đặc tính tế bào được tóm tắt ở Bảng 2.9.

Trong tự nhiên, một số ít vi khuẩn Gram âm nhạy cảm với penicillin. Nhiều vi khuẩn Gram âm nhạy cảm với một số penicillin, nhất là penicillin bán tổng hợp. Vi khuẩn

Gram âm bao gồm cả *E. coli*, có thể bị làm nhạy cảm với penicillin bằng các quy trình phá hỏng đặc tính thấm củ màng ngoài.

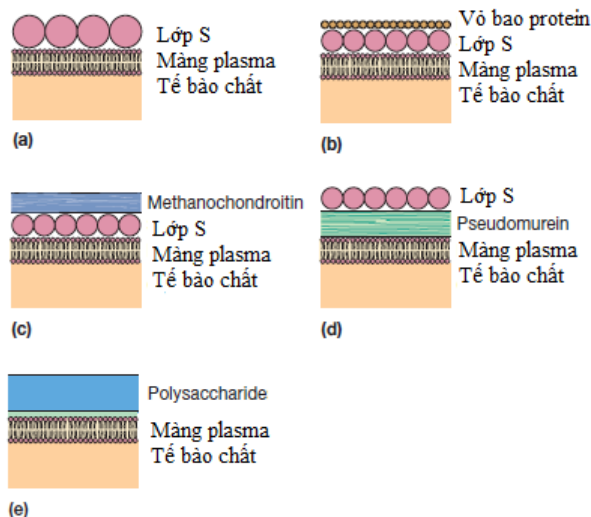
Vi khuẩn Gram âm nhạy cảm với lysozyme nếu xử lý trước qua một số bước như loại bỏ màng ngoài và phơi nhiễm peptidoglycan trực tiếp với enzyme.

Bảng 2.10. Tương quan giữa nhuộm Gram với các đặc tính khác của vi khuẩn.

Đặc tính	Gram dương	Gram âm
Độ dày của thành	Dày, 20-80 nm	Mỏng, 10 nm
Số lớp	1	2
Hàm lượng Peptidoglycan (murein)	>50%	10-20%
Teichoic acid trong thành tế bào	Có	Không
Hàm lượng lipid và lipoprotein	0-3%	58%
Hàm lượng protein	0	9%
Hàm lượng Lipopolysaccharide	0	13%
Nhạy cảm với to Penicillin G	Có	Không (1)
Nhạy cảm với lysozyme	Có	Không (2)

2.6.8. Vòng bao tế bào cổ khuẩn

Một trong những đặc tính khác biệt nhất của Cổ khuẩn là đặc tính tự nhiên của vòng bao tế bào của chúng. Chúng không những chỉ khác nhau về khía cạnh các phân tử hình thành mà còn về cách tổ chức. Ở nhiều cổ khuẩn, lớp S là thành phần chủ yếu và đôi khi chỉ là thành phần duy nhất của thành tế bào. Tuy nhiên không giống như lớp S ở vi khuẩn, lớp S ở cổ khuẩn thường chỉ là lớp ngoài của màng plasma.



Hình 2.31. Mô phỏng vòng bao tế bào cổ khuẩn. (a) *Methanococcus, Halobacterium, Pyrodictium, Sulfolobus, và Thermoproteus.* (b) *Methanospirillum.* (c) *Methanosarcina.* (d) *Methanothermus và Methanopyrus.* (e) *Methanobacterium, Methanospaera, Methanobrevibacter, Halococcus và Methanohalobium.*

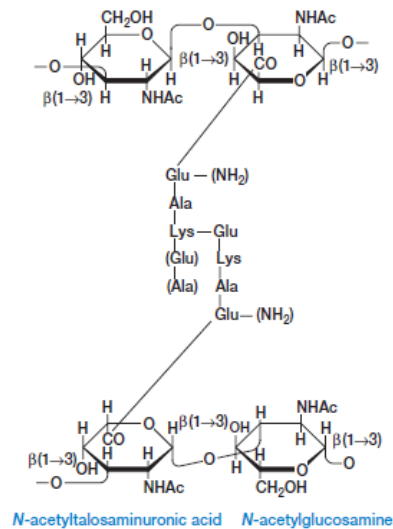
Natronococcus.

Một số cổ khuẩn giống như một số vi khuẩn thiếu thành tế bào nhưng lại có lớp glycocalyx nằm ngoài màng tế bào. Capsule và lớp nhót cũng hiếm khi xuất hiện ở cổ khuẩn.

2.6.9. Thành tế bào cổ khuẩn

Cổ khuẩn có đặc điểm hoặc là Gram dương hoặc là Gram âm. Tuy nhiên phản ứng nhuộm Gram chắc chắn không liên quan cấu trúc thành tế bào. Thành tế bào cổ khuẩn có cấu trúc và đặc tính hóa học khác với cấu trúc và đặc tính hóa học của thành tế bào vi khuẩn. Thành tế bào cổ khuẩn thiếu peptidoglycan và biểu hiện nhiều dạng cấu trúc hóa học như sau:

Kiểu phổ biến nhất của thành tế bào cổ khuẩn là lớp S, được cấu tạo hoặc bằng glycoprotein hoặc là protein (Hình 2.31a). Lớp này có thể dày từ 20 đến 40 nm. Một số cổ khuẩn sinh khí methane như *Methanobolus* và *Methanococcus*, cổ khuẩn ưa muối *Halobacterium* và nhóm ưa nhiệt cực đoan như *Sulfolobus*, *Thermoproteus* và *Pyrodictium* có lớp S ở thành tế bào.



Các cổ khuẩn khác có thêm lớp bên ngoài lớp S. Ví dụ *Methanospirillum* có ống bao protein bên ngoài lớp S (Hình 2.31b). Vi khuẩn sinh khí methane khác như *Methanosarcina*, có lớp vật liệu tương tự chondroitin phủ bên ngoài lớp S (Hình 2.31c). Vật liệu này được gọi là methanochondroitin, tương tự như chondroitin sulfate ở mô liên kết của động vật.

Hình 2.32. Cấu trúc Pseudomurein.

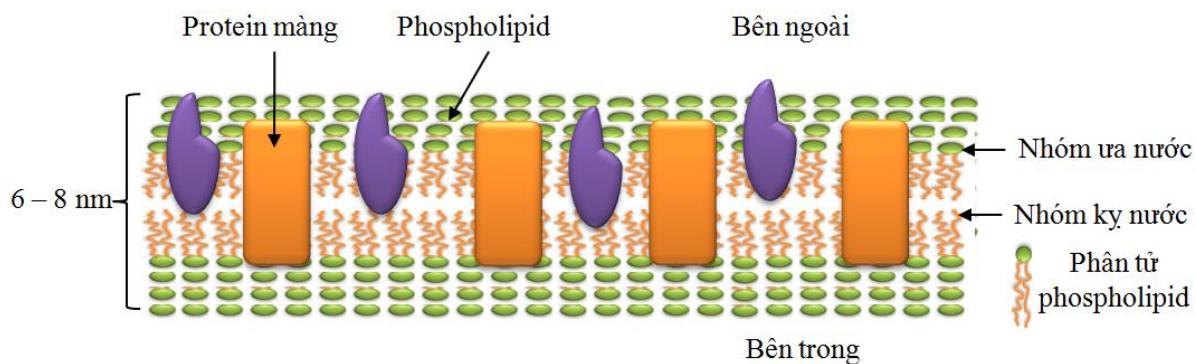
Một số cổ khuẩn có lớp S là lớp ngoài cùng và tách biệt với màng plasma bằng một phân tử gọi là pseudomurein (Hình 2.31d). Pseudomurein là phân tử tương tự như peptidoglycan. Nó khác với peptidoglycan là có L-amino acid thay thế cho D-amino acid trong các liên kết chéo của peptidoglycan, *N*-acetyltalosaminuronic acid thay thế cho *N*-acetylmuramic acid và các cầu nối $\beta(1\rightarrow3)$

glycoside thay thế các cầu nối β (1 $\rightarrow$ 4) glycoside (Hình 2.32).

Kiểu cuối cùng của thành tế bào cổ khuẩn là không có lớp S. Thay vào đó chúng có thành tế bào chỉ có một lớp đơn, dày và đồng nhất tương tự như ở vi khuẩn Gram dương (Hình 2.31e). Các cổ khuẩn này thường cho phản ứng Gram dương. Cấu trúc hóa học thành tế bào của chúng thì đa dạng, tùy thuộc vào loài nhưng thường bao gồm phức hợp polysaccharide như pseudomurein (Hình 2.32).

2.6.10. Màng Plasma

Màng plasma còn gọi là màng sinh chất, là một cấu trúc có tính động học nhất của tế bào prokaryote. Chức năng chính của màng này là một màng bảo vệ có tính thẩm chọn lọc, dùng để điều hòa cho qua các chất đi vào và đi ra khỏi tế bào. Màng plasma là một cấu trúc riêng biệt của tế bào do nó cô lập các phân tử của sự sống trong một đơn vị tách biệt với môi trường. Màng vi khuẩn cho phép nước và các phân tử không tích điện, có trọng lượng khoảng 100 dalton đi qua, nhưng không cho qua các phân tử lớn hơn hoặc bất kỳ các phân tử tích điện nào ngoại trừ sử dụng các phương tiện đặc biệt của màng như các quá trình vận chuyển và các hệ thống vận chuyển.

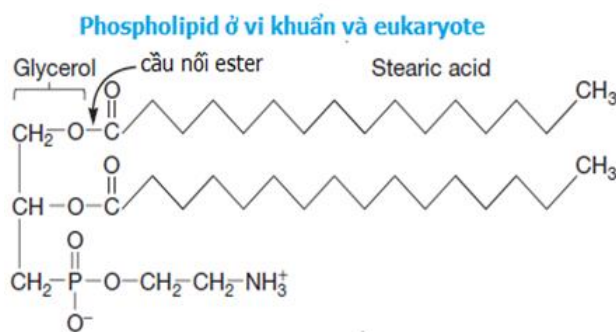


Hình 2.33. Mô phỏng cấu trúc dòng khảm của màng sinh học. Trong môi trường nước màng phospholipid tự sắp xếp theo cách này và tự nhiên hình thành nên lớp đôi lỏng. Các protein màng có thể là protein cấu trúc hoặc chức năng liên quan đến mặt này hoặc mặt kia của màng một cách lâu dài hoặc thoáng qua hoặc thậm chí gắn vào lớp đôi một cách lâu dài, trong khi đó các protein khác nông rộng lớp đôi này để hình thành các kênh vận chuyển xuyên màng.

Màng vi khuẩn được cấu tạo từ 40 % phospholipid và 60 % protein. Phospholipid

là những phân tử lưỡng tính, có một đầu glycerol ưa nước phân cực dính với hai đuôi acid béo kỵ nước không phân cực thông qua cầu nối ester. Đặc điểm tự nhiên này đã hình thành nên lớp đôi trong môi trường nước. Nhiều protein cấu trúc và enzyme phân tán trong lớp đôi của màng. Tại thời điểm nào đó, các protein được sắp xếp một cách gọn gàng dọc theo mặt trong và mặt ngoài của màng. Điều này giải thích lý do tại sao trong vi ảnh dưới kính hiển vi điện tử xuất hiện hình dạng vệt đôi ở màng. Tuy nhiên hiện nay người ta biết rằng trong khi một số protein được định vị và có chức năng trên mặt này hoặc mặt kia của màng, thì hầu hết các protein được chèn một phần vào bên trong màng hoặc có thể di chuyển qua màng như các kênh đi từ bên ngoài vào bên trong. Các protein có thể di chuyển dọc theo bề mặt của màng, nhưng không giống như nhiệt động học, các protein có thể quay tròn trong màng. Điều này không được đề cập ở các lý thuyết trước đây về các hệ thống vận chuyển có thể hoạt động như thế. Sự sắp xếp này của protein và lipid hình thành nên màng được gọi là mô hình cấu trúc dòng khảm và được minh họa ở Hình 2.33.

Màng tế bào vi khuẩn có cấu trúc tương tự như màng tế bào eukaryote, ngoài trừ đặc điểm màng tế bào vi khuẩn gồm các acid béo bão hòa hoặc các acid béo có một liên kết đôi trong chuỗi (monounsaturated fatty acids), hiếm khi là acid béo nhiều liên kết đôi và thường không chứa sterol.



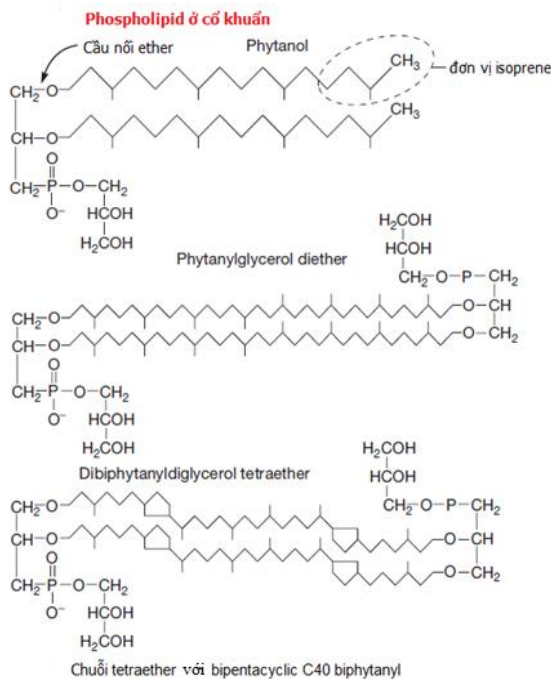
Hình 2.34. Cấu trúc chung của lipid (phospholipid) màng vi khuẩn. Glycerol được thay thế bằng các acid béo bão hòa hoặc acid béo bão hòa đơn, liên kết ester với glyceride để hình thành ester giữa glycerol với acid béo.

2.6.11. Màng plasma của cổ khuẩn

Màng của cổ khuẩn hình thành lớp đôi chức năng tương tự như màng vi khuẩn, nhưng lipid của cổ khuẩn thì bão hòa, phân nhánh, có các tiểu đơn vị isoprene lặp lại dính lên glycerol nhờ liên kết ether tương phản với liên kết ester được phát hiện trong

glyceride của eukaryote và lipid màng của vi khuẩn. Cấu trúc của màng cổ khuẩn được cho là để chúng thích nghi, tồn tại và sống sót trong môi trường cực đoan.

Màng cổ khuẩn được cấu tạo chủ yếu là lipid khác với lipid của vi khuẩn và eukaryote ở hai điểm. Thứ nhất, các lipid này chứa hydrocarbon là các phân tử phân nhánh có nguồn gốc từ các tiểu đơn vị isoprene gồm 5 C. Sự phân nhánh của các hydrocarbon này được biểu diễn ở Hình 2.35. Thứ hai, các hydrocarbon này đính lên glycerol nhờ liên kết ether thay vì liên kết ester. Khi hai hydrocarbon đính với glycerol hình thành nên diether lipid. Thông thường chuỗi hydrocarbon diether gồm 20 carbon. Đôi khi hai chức glycerol liên kết với hai hydrocarbon gồm 40 carbon sẽ hình thành



tetraether lipid. Các tế bào có thể điều chỉnh chiều dài tổng thể của tetraether bằng cách xếp vòng các chuỗi để hình thành vòng năm. Các nhóm chứa phosphate, sulfur-, và đường có thể đính lên carbon thứ ba của phân tử glycerol nằm trong diether và tetraether nên làm cho chúng trở thành lipid phân cực.

Hình 2.35. Ở cổ khuẩn, chuỗi hydrocarbon có nguồn gốc từ các đơn vị isoprene. Vì vậy lipid ở cổ khuẩn là isoprenyl glycerol ether thay cho glycerol fatty acid ester như ở vi khuẩn.

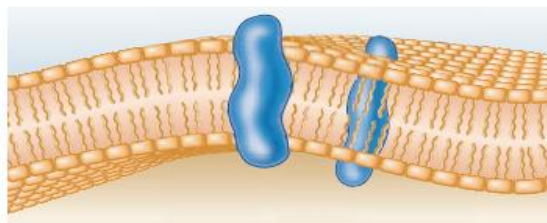
Mặc dù có sự khác nhau đáng kể trong lipid màng, nhưng thiết kế cơ bản của màng cổ khuẩn thì tương tự như màng vi khuẩn và màng eukaryote. Đó là có hai mặt ưa nước và lõi kỵ nước. Khi diether C20 được sử dụng sẽ hình thành màng lớp đôi điển hình (Hình 2.35 a).

Khi màng được xây dựng bằng C₄₀ tetraether, màng lớp đơn sẽ được hình thành có đặc tính cứng hơn (Hình 2.35b). Khi cần để ổn định hơn, màng của cổ khuẩn ưa nhiệt cực đoan như *Thermoplasma* và *Sulfolobus* tăng trưởng tốt nhất ở nhiệt độ trên 85°C, chủ

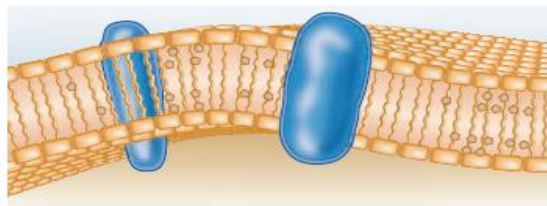
yếu được cấu tạo hoàn toàn là lớp đơn tetraether. Cổ khuẩn sống trong môi trường nóng vừa, màng của chúng có một số vùng với lớp đơn và một số lớp đôi.

2.6.12. Chức năng của màng sinh chất

Do prokaryote thiếu các cơ quan tử nội bào đảm nhận chức năng cho các quá trình như hô hấp hoặc quang tổng hợp hay bài tiết, nên màng sinh chất hay màng plasma được sắp xếp để bố trí các quá trình có nhiều chức năng trong tạo năng lượng và sinh tổng hợp. Ví dụ, hệ chuyển điện tử đi đôi với hô hấp hiếu khí và tổng hợp ATP được phát hiện trong màng prokaryote. Các chất mang sắc trong quang tổng hợp (photosynthetic chromophore) dùng để thu nhận năng lượng ánh sáng để chuyển đổi sang năng lượng hóa học được đặt trong màng. Vì thế màng plasma là vị trí phosphoryl hóa oxi hóa (oxidative phosphorylation) và quang phosphoryl hóa (photophosphorylation) ở các prokaryote, tương tự với các chức năng của ty thể (mitochondria) và lục lạp (chloroplast) ở tế bào eukaryote. Bên cạnh các protein vận chuyển dùng để chuyển chọn lọc các chất qua màng



(a) Lớp đôi diether C₂₀



(b) Lớp đơn tetraether C₄₀

tế bào, màng prokaryote có thể có protein cảm nhận (sensing protein) dùng để đo hàm lượng các phân tử có trong môi trường hoặc có porein tạo cầu nối (binding protein) chuyển đổi các tín hiệu di truyền và cơ chế biến dưỡng trong tế bào chất. Màng cũng chứa các enzyme có liên quan đến nhiều quá trình biến dưỡng như tổng hợp thành tế bào, hình thành vách ngăn, tổng hợp màng, sao chép DNA, cố định CO₂ và oxi hóa ammonia.

Hình 2.36. Minh họa về màng cổ khuẩn (nguồn internet).

Các chức năng nổi trội của màng plasma ở prokaryote được tóm tắt như sau:

- (1). Màng bảo vệ tính thẩm thấu hay màng có tính chọn lọc.
- (2). Định vị hệ vận chuyển cho các chất hòa tan chuyên biệt như chất dinh dưỡng và ion.

(3). Chức năng tạo năng lượng, liên quan đến hô hấp và hệ chuyển điện tử ở quang tổng hợp, nhờ đó thiết lập động lực proton xuyên màng để tổng hợp năng lượng ở dạng ATP nhờ enzyme ATPase.

(4). Chức năng tổng hợp lipid màng bao gồm lipopolysaccharide trong màng tế bào Gram âm.

(5). Sinh tổng hợp murein (peptidoglycan của vách tế bào).

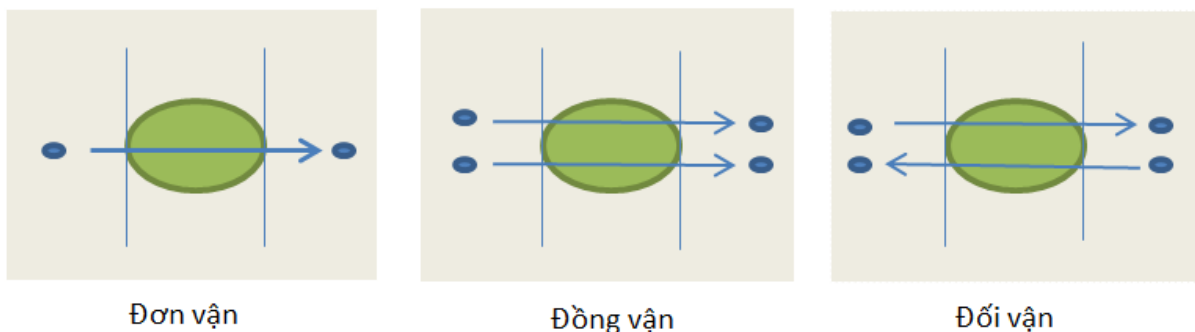
(6). Tập hợp và tiết các protein ra ngoài tế bào chất.

(7). Phối hợp trong sao chép và chia tách DNA, hình thành vách ngăn và phân đôi tế bào.

(8). Hóa hướng động cho cả chức năng di động và chức năng cảm nhận.

(9). Nơi định vị của hệ enzyme chuyên biệt.

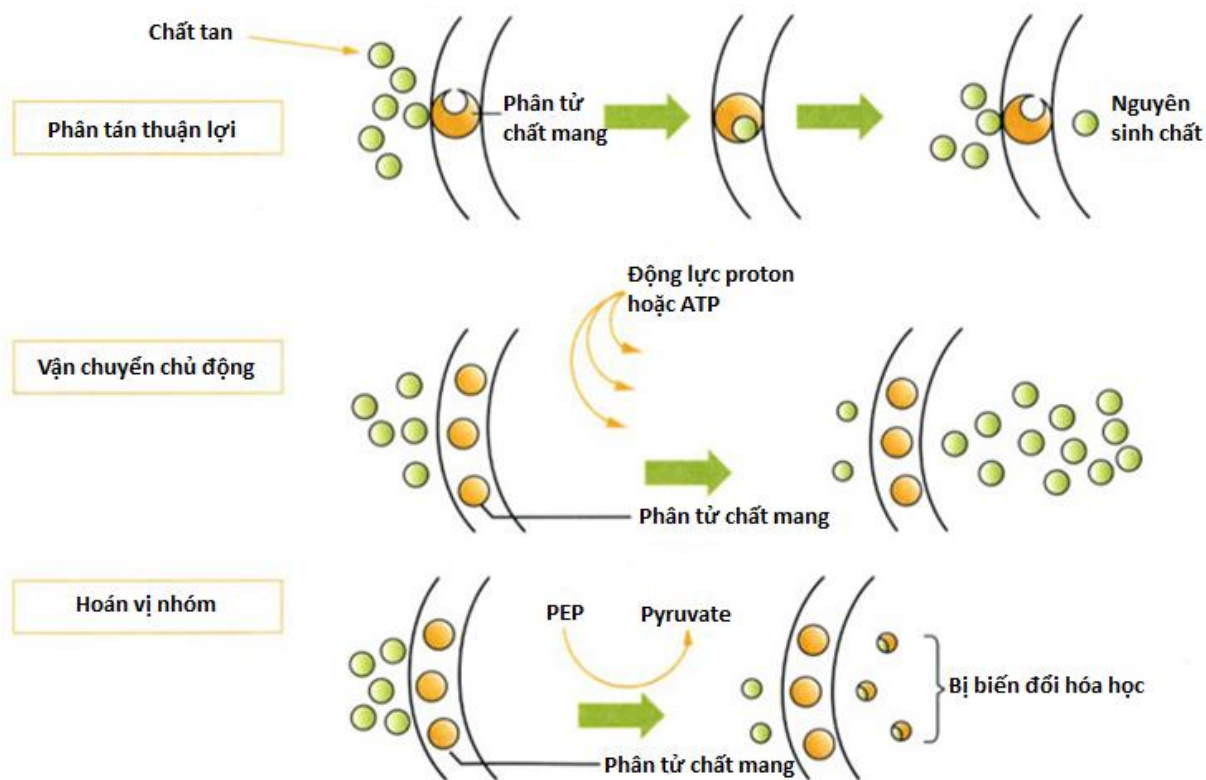
Màng bảo vệ có tính thấm được: màng tế bào là cấu trúc có tính động lực nhất trong tế bào. Chức năng chính của nó như là màng bảo vệ có tính thấm được dùng để điều hòa các chất đi vào và đi ra khỏi tế bào. Màng plasma là một cấu trúc xác định của tế bào do nó cô lập các phân tử sống trong tế bào chất tách biệt với môi trường bên ngoài. Màng vi khuẩn cho phép nước và một số ít phân tử không tích điện ($MW < 100$ dalton) qua màng tự do, nhưng không cho phép các phân tử lớn hoặc bất kỳ các phân tử tích điện nào qua màng ngoại trừ khi được các protein trên màng giám sát, được gọi là hệ vận chuyển.



Hình 2.25. Minh họa các quá trình vận chuyển ở tế bào vi khuẩn. Các chất hoà tan vào hoặc ra khỏi tế bào vi khuẩn bằng ba quá trình chính: đơn vận, đồng vận và đối vận, còn gọi là khuếch tán trao đổi. Các hệ thống vận chuyển vận hành theo một

trong ba quá trình này.

Vận chuyển các chất hòa tan: các protein làm trung gian vận chuyển các chất hòa tan xuyên màng được gọi bằng nhiều tên khác nhau như: hệ thống vận chuyển, protein chất mang (carrier protein), phân tử khuân vác (porter) và enzyme permease. Hệ thống vận chuyển vận hành theo một trong ba quá trình vận chuyển được mô tả ở Hình 2.36.



Hình 2.26. Sơ đồ minh họa sự vận hành của các hệ thống vận chuyển ở vi khuẩn. Hệ thống vận chuyển ở vi khuẩn được vận hành nhờ các protein vận chuyển, đôi khi gọi là chất mang, chất khuân vác hay enzyme permease ở màng plasma. Sự khuếch tán thuận lợi là hệ thống trung gian qua chất mang không đòi hỏi năng lượng và không cần cô đặc chất tan để chống lại gradient. Hệ thống vận chuyển chủ động như vận chuyển theo ion và vận chuyển phụ thuộc protein liên kết sử dụng năng lượng và các phân tử cô đặc để chống lại nồng độ gradient. Nhóm các hệ thống hoán vị như hệ thống phosphotransferase (pts) ở *Escherichia coli*, sử dụng năng lượng trong quá trình vận chuyển và biến đổi chất hòa tan trong quá trình chuyển chúng qua

màng.

Ở quá trình đơn vận (uniport process), một phân tử chất tan sẽ qua màng theo một hướng duy nhất. Trong quá trình đồng vận (symport process), hai phân tử chất tan phải được vận chuyển theo cùng một hướng tại cùng thời điểm. Ngược lại ở quá trình đối vận (antiport process), một phân tử chất tan được vận chuyển theo một hướng, đồng thời phân tử thứ hai được vận chuyển theo hướng ngược lại.

Kiểu hệ thống vận chuyển: vi khuẩn có nhiều kiểu hệ vận chuyển có thể được sử dụng trong nhiều tình huống của môi trường. Việc triển khai một cách công phu các quá trình vận chuyển và hệ vận chuyển ở prokaryote có lẽ là cần thiết để vi khuẩn trao đổi chất trong điều kiện các chất trong tế bào chất có nồng độ đậm đặc, đối ngược với nồng độ các chất có trong môi trường bên ngoài. Do nồng độ đậm đặc của các chất hòa tan trong tế bào chất nên đòi hỏi màng vi khuẩn phải có sự vận hành của hệ thống vận chuyển chủ động. Ở vi khuẩn, hệ thống này có hai dạng: hệ vận chuyển theo hướng ion (ion driven transport system - IDT) và hệ vận chuyển phụ thuộc protein liên kết (binding-protein dependent transport system - BPDT). Đặc điểm cuối cùng của hệ thống vận chuyển chủ động là tích lũy chất tan trong tế bào chất ở nồng độ vượt xa nồng độ của chất đó có ở môi trường ngoài tế bào. Theo định luật lý hóa thì quá trình này cần năng lượng.

Có bốn kiểu vận chuyển qua trung gian chất mang ở prokaryote. Chất mang này là một protein hoặc nhóm các protein có chức năng vận chuyển một phân tử nhỏ từ mặt này sang mặt kia của màng. Hệ vận chuyển này có thể là một protein xuyên màng đơn lẻ hình thành nên kênh màng, tiếp nhận cho qua một chất tan đặc trưng hoặc kênh này có thể là một hệ thống phối hợp của các protein liên kết và dùng để chuyển một phân tử nhỏ qua màng một cách liên tục. Các hệ vận chuyển có tính chuyên biệt đối với chất tan mà chúng vận chuyển. Một số hệ vận chuyển chuyển một chất tan riêng lẻ có tính chuyên biệt và hệ thống này có động học tương tự như một enzyme. Một số hệ vận chuyển sẽ vận chuyển các phân tử liên quan đến cấu trúc, mặc dù cho năng suất giảm khi so sánh với cơ chất ban đầu. Hầu hết các hệ thống vận chuyển vận chuyển các chất đường, amino acid, anion

hay cation đặc trưng, có giá trị dinh dưỡng cho vi khuẩn.

Hệ thống khuếch tán thuận lợi hay được làm dễ (Facilitated diffusion systems - FD) là kiểu vận chuyển ít phổ biến ở vi khuẩn. Thực ra chất đơn vận glycerol ở *E. coli* chỉ là hệ khuếch tán thuận lợi được biết rõ. FD liên quan đến việc cho qua một chất tan đặc trưng để hình thành nên kênh màng. Chất tan này có thể di chuyển theo hướng qua màng đến điểm cân bằng trên hai mặt của màng. Mặc dù hệ thống này sử dụng chất mang làm trung gian (carrier-mediated) và đặc trưng, nhưng không có năng lượng được sử dụng trong quá trình vận chuyển này. Vì lý do này nên phân tử glycerol có thể không cần được tích lũy để chống lại nồng độ gradient.

Hệ thống vận chuyển theo hướng ion (Ion driven transport systems - IDT) và hệ thống vận chuyển phụ thuộc protein liên kết (BPDT) là những hệ thống vận chuyển chủ động (active transport system), được sử dụng để vận chuyển hầu hết chất tan cho các tế bào vi khuẩn. IDT được sử dụng để tích lũy nhiều ion và amino acid. BPDT thường được sử dụng cho các chất đường và amino acid. IDT là quá trình đồng vận (symport) hay đối vận (antiport) sử dụng ion hydrogen (H^+), ví dụ động lực proton (PMF) hoặc một số cation khác, ví dụ thế thẩm thấu hóa học (chemiosmotic potential), để lái quá trình vận chuyển. Các hệ thống IDT như lactose permease của *E. coli* sử dụng ion hydrogen trong quá trình vận chuyển lactose. Vì vậy năng lượng được sử dụng trong quá trình vận chuyển chủ động lactose ở dạng PMF. Lactose permease là một polypeptide xuyên màng, nó mở rộng màng bảy lần để hình thành kênh chuyên biệt nhằm tiếp nhận lactose vào (Hình 2.37).

Hệ thống vận chuyển phụ thuộc protein liên kết (Binding-protein dependent transport systems - BPDT) như hệ thống vận chuyển histidine ở *E. coli* được cấu tạo từ bốn protein. Hai protein hình thành kênh màng cho phép histidine qua màng. Protein thứ ba cư trú trong khoảng không chu chất, ở đó nó có thể tạo cầu nối với amino acid và chuyển qua protein thứ tư để nhận amino acid vào kênh màng. Việc chuyên chở chất hòa tan qua kênh màng có liên quan đến việc sử dụng năng lượng. Năng lượng này được cung cấp nhờ sự thủy giải ATP.

Hệ thống hoán vị nhóm (Group translocation system - GT) thường được biết như là hệ phosphotransferase (PTS) ở *E. coli*, chủ yếu sử dụng để vận chuyển các chất đường. Giống như thống vận chuyển phụ thuộc protein liên kết, chúng được cấu tạo từ một số cấu tử khác biệt. Tuy nhiên các hệ thống GT chuyên biệt cho một loại đường có thể cùng chia sẻ một số cấu tử của chúng với các hệ vận chuyển nhóm khác. Ở *E. coli*, glucose có thể được vận chuyển bằng quá trình hoán vị nhóm, có liên quan đến hệ enzyme phosphotransferase. Chất mang thực tế ở màng là một kênh protein khá chuyên biệt cho glucose. Rõ ràng glucose từ bên ngoài vào kênh này nhưng thoát ra khỏi màng để vào tế bào chất thì nó phải được phosphoryl hóa nhờ hệ enzyme phosphotransferase. PTS lấy năng lượng từ chất biến đổi trung gian phosphoenol pyruvate (PEP). PEP bị thủy giải thành pyruvate và glucose được phosphoryl hóa để hình thành glucose-phosphate trong quá trình này. Vì thế bằng cách sử dụng một phân tử riêng lẻ của phosphate có năng lượng cao, glucose được vận chuyển và được thay đổi thành glucose-phosphate (Hình 2.37).

Bảng 2.11. Các đặc điểm riêng biệt của các hệ vận chuyển ở vi khuẩn.

Đặc tính	PD	FD	IDT	BPDT	GT
Chất mang trung gian	-	+	+	+	+
Nồng độ ngược gradient	-	-	+	+	NA
Tính đặc hiệu	-	+	+	+	+
Năng lượng được sử dụng	-	-	PMF	ATP	PEP
Chất hòa tan bị biến đổi trong quá trình vận chuyển	-	-	-	-	+

PD = khuếch tán thụ động (passive diffusion)

FD = khuếch tán thuận lợi (facilitated diffusion)

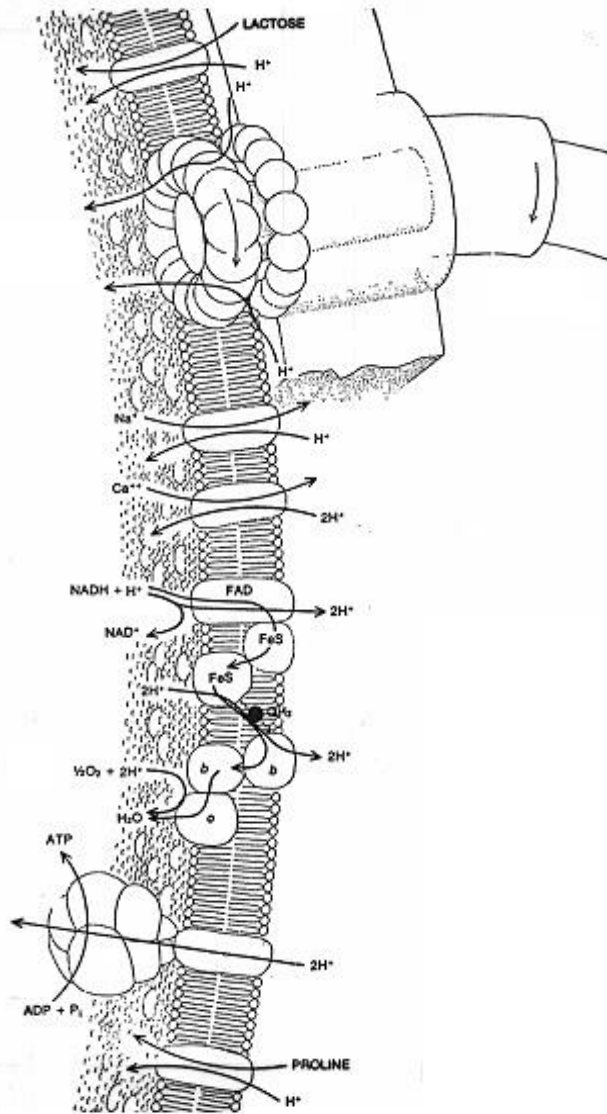
IDT = vận chuyển theo hướng ion (ion-driven transport)

BPDT = vận chuyển phụ thuộc protein liên kết (binding protein dependent transport)

GT = hoán vị nhóm (group translocation)

Sản sinh năng lượng: không giống như eukaryote, vi khuẩn không có các cơ

quan tử nội bào cho các quá trình tạo năng lượng như hô hấp hay quang tổng hợp. Thay vào đó màng sinh chất tiến hành các chức năng này. Màng này là nơi hệ chuyển điện tử (ETS) sử dụng để sản sinh năng lượng trong quá trình quang tổng hợp và hô hấp và nó



cũng là nơi có enzyme ATP synthetase (ATPase) dùng để tổng hợp ATP.

Hình 2.27. Sơ đồ minh họa màng plasma của *E. coli*. Các vòng S và M cấu tạo nên mô tơ tiên mao. Vòng mô tơ được đúc trong lớp đôi phospholipid. Lực động học proton sẽ làm quay sợi tơ tiên mao. ETS oxi hóa NAD bằng cách loại bỏ hai e^- , chuyển chúng qua lần lượt các chất mang cho đến chất cuối cùng là O_2 . ATPase là enzyme protein vận chuyển xuyên màng sử dụng proton từ bên ngoài để tổng hợp ATP trên mặt trong của màng. Một số protein vận chuyển xuyên màng khác là các hệ thống vận chuyển hoạt động

theo phương thức hoặc đồng vận hoặc đối vận (K.Todar).

Khi hệ chuyển điện tử vận hành, nó thiết lập gradient pH xuyên màng nhờ tích lũy các proton (H^+) ở bên ngoài và ion hydroxyl (OH^-) ở bên trong. Điều này làm cho bên ngoài có tính acid và bên trong có tính kiềm. Sự vận hành của ETS cũng thiết lập điện tích trên màng được gọi là động lực proton (PMF). Mặt ngoài của màng trở nên tích điện

dương trong khi mặt trong tích điện âm, vì vậy màng sẽ có một mặt tích điện dương và một mặt tích điện âm giống như một cục pin. PMF này có thể được sử dụng cho nhiều loại công việc gồm làm quay tiên mao hoặc vận chuyển chủ động như đã được mô tả ở trên. Động lực proton này cũng có thể được sử dụng để sản sinh ATP nhờ enzyme ATPase màng, quá trình tổng hợp ATP từ ADP và phosphate sẽ sử dụng các proton. Sự kết nối giữa chuyển điện tử, thiết lập PMF và tổng hợp ATP trong quá trình hô hấp được biết là phosphoryl hóa oxi hóa (oxidative phosphorylation), quá trình quang tổng hợp được gọi là quang phosphoryl hóa.

Màng plasma của prokaryote có thể lõm vào tế bào chất hoặc hình thành các ngăn xếp (nếp gấp) hay các túi nhỏ đính lên bề mặt màng trong. Đôi khi các cấu trúc này được gọi là mesosome. Các hệ thống này của màng trong có thể tương tự như cấu trúc dạng mào (cristae) của ty thể (mitochondria) hoặc thylakoid của lục lạp (chloroplast). Các cấu trúc này giúp làm tăng diện tích bề mặt của màng với các enzyme mà nó bao lại dùng cho các chức năng có tính enzyme chuyên biệt. Các công cụ quang tổng hợp như sắc tố thu nhận ánh sáng và enzyme của prokaryote quang tổng hợp thì được chứa trong các kiểu cấu trúc này của màng. Mesosome cũng có thể hiện diện ở các vùng màng chuyên biệt có liên quan đến sự sao chép và phân tách DNA, sự tổng hợp vách tế bào hoặc gia tăng hoạt tính của enzyme.

Hình 2.38. Ảnh minh họa màng *E. coli*. Định vị của màng từ đỉnh xuống đáy là: (1). Hệ thống vận chuyển lactose; (2). Mô tơ của tiên mao gắn với mấu câu và sợi tơ; (3). Hệ thống vận chuyển Na^+ ; (4). Hệ thống vận chuyển Ca^{++} ; (5). Hệ thống chuyển điện tử; (6). Enzyme ATPase; (7). Hệ thống vận chuyển proline. Sự vận hành của hệ thống chuyển điện tử trong quá trình hô hấp sẽ tạo sự tích điện H^+ trên màng (PMF). PMF (H^+) này được hệ thống vận chuyển sử dụng để di chuyển các phân tử từ mặt này sang mặt kia của màng, được vòng mô tơ tiên mao sử dụng để quay sợi tơ tiên mao và được enzyme ATPase sử dụng để tổng hợp ATP.

Một số ít kháng sinh (ví dụ polymyxin), các yếu tố kỵ nước (ví dụ muối mật bò) và protein (ví dụ bồ thể) có thể làm tổn hại màng vi khuẩn.

2.6.13. Chu chất

Giữa màng trong và màng ngoài plasma của vi khuẩn Gram âm và xoắn khuẩn là khoảng không được gọi là chu chất hay không gian chu chất. Thực tế phần peptidoglycan nằm trong khoảng chu chất này. Chu chất là một khoang hoạt động của tế bào. Ở đó có các enzyme lắp đặt thành tế bào và các thành phần của màng, nhiều enzyme phân hủy hay enzyme khử độc tố, hệ thống bài tiết, các protein cảm nhận về hóa hướng động và sự truyền tín hiệu cũng như các protein liên kết cho các chất hòa tan hấp thu được bằng hệ thống vận chuyển BPDT. Các thành phần của chu chất thì cần thiết trong vùng này của tế bào và được bao lại hay được bẫy nhờ hai màng của tế bào. Ở trường hợp xoắn khuẩn (spirochetes), các tiên mao của chúng quay tròn trong chu chất và truyền sự uốn éo và đặc điểm xoay tròn như đỉnh vít là kiểu di động của xoắn khuẩn.

Bảng 2.12. Các protein chu chất đại diện ở *E.coli*.

Protein liên kết

Cho amino acid (ví dụ histadine, arginine)

Cho các nhóm đường (ví dụ glucose, maltose)

Cho vitamin (ví dụ thiamine, vitamin B12)

Cho ion (ví dụ phosphate, sulfate)

Các enzyme sinh tổng hợp

Cho lắp ghép murein (ví dụ các enzyme transglycosylase, carboxypeptidase transpeptidase)

Đề tiết tiểu đơn vị thể tua và lắp ghép (ví dụ chaperonin)

Các enzyme phân hủy

Phosphatase

Protease

Các enzyme giải độc tố

Beta-lactamase (ví dụ penicillinase)

Aminoglycoside-phosphorylating enzyme

2.6.14. Tế bào chất

Tế bào chất tế bào vi khuẩn gồm dung dịch lỏng của ba nhóm phân tử là (a) các đại phân tử như protein dạng enzyme, (b) mRNA và (c) tRNA; các phân tử nhỏ dùng làm nguồn năng lượng, các tiền chất của các đại thực bào, các chất biến đổi (metabolite) hoặc các vitamin, nhiều ion vô cơ và cofactor (Bảng 13,14 và 15). Các thành phần cấu trúc chủ yếu được tìm thấy trong tế bào chất là nucleoid và ribosome, có thể có một vài dạng thể vùi (inclusion). Tế bào chất của prokaryote thì trông giống gel hơn tế bào chất của eukaryote và không xuất hiện các quá trình của dòng sinh chất di chuyển.

Nhiễm sắc thể của vi khuẩn thường là một phân tử DNA vòng có kích thước lớn, nhiều hoặc ít tự do trong nguyên sinh chất, mặc dù được các protein cuộn lại hoặc siêu cuộn và neo lại. Đôi khi prokaryote có các mảnh DNA ngoài nhiễm sắc thể gọi là plasmid. Tổng lượng DNA của prokaryote được xem như là bộ gen của tế bào. Nhiễm sắc thể của tế bào là trung tâm kiểm soát có di truyền của tế bào dùng để quyết định tất cả các đặc điểm và chức năng của vi khuẩn. Trong quá trình tăng trưởng và phân đôi của tế bào, nhiễm sắc thể prokaryote được sao chép theo kiểu bảo tồn một nửa để tạo ra một phân tử bản sao cho tế bào con. Tuy nhiên các quá trình giảm phân (meiosis) và nguyên phân (mitosis) ở eukaryote thì không có ở prokaryote. Sự sao chép và phân tách DNA của prokaryote có sự kết hợp của màng và nhiều protein trong nguyên sinh chất.

Bảng 2.13. Thành phần phân tử của E.coli dưới những điều kiện tăng trưởng cân bằng, tính theo phần trăm trọng lượng khô.

Phân tử	% trọng lượng khô
Protein	55
Tổng RNA	20,5
DNA	3,1
Phospholipid	9,1
Lipopolysaccharide	3,4
Murein	2,5
Glycogen	2,5
Các phân tử nhỏ: tiền chất, chất biến đổi, vitamin, ...	2,9

Các ion vô cơ	1,0
Tổng trọng lượng khô	100,0

Sự xuất hiện thể hạt khác biệt trong nguyên sinh chất của prokaryote là do ribosome. Ribosome được cấu tạo từ protein và RNA. Các ribosome của prokaryote thì nhỏ hơn các ribosome của eukaryote. Ribosome của prokaryote có kích thước 70S, gồm tiểu đơn vị 30S và tiểu đơn vị 50S. Ribosome của eukaryote thì 80S được cấu thành từ hai tiểu đơn vị 40S và 60S. Ribosome liên quan đến quá trình dịch mã (tổng hợp protein), nhưng một số chi tiết về hoạt động của chúng thì khác với eukaryote, vi khuẩn và cổ khuẩn. Ribosome 70S ở ty thể và lạp thể chứa ssrRNA có quan hệ gần với RNA ribosome vi khuẩn. Đây là bằng chứng cho thấy các cơ quan tử này có nguồn gốc từ prokaryote.

Bảng 2.14. Các phân tử nhỏ trong sinh chất của các tế bào đang phát tăng trưởng.

Phân tử	Số gần đúng của các nhóm
Amino acid, tiền chất và dẫn xuất của chúng	120
Nucleotide, tiền chất và dẫn xuất của chúng	100
Acid béo và tiền chất của chúng	50
Đường, carbohydrate và tiền chất hoặc dẫn xuất của chúng	250
Quinone, porphyrin, vitamin, coenzyme và các nhóm phụ giả (prosthetic group) và các tiền chất của chúng	300

Bảng 2.15. Các ion vô cơ hiện diện trong tế bào chất vi khuẩn đang tăng trưởng.

Ion	Chức năng
K ⁺	Duy trì sức mạnh của ion; cofactor cho một số enzyme
NH ₄ ⁺	Nhóm chất chính của N vô cơ dùng để đồng hóa (assimilation)
Ca ²⁺	Cofactor cho một số enzyme
Fe ²⁺	Hiện diện trong cytochrome và các metalloenzyme khác
Mg ²⁺	Cofactor cho nhiều enzyme; giúp ổn định màng ngoài của vi khuẩn Gram âm
Mn ²⁺	Hiện diện trong một số metalloenzyme
Co ²⁺	Yếu tố vết cấu tạo nên vitamin B12 và các dẫn xuất coenzyme của chúng cũng như

được phát hiện trong một số metalloenzyme

Cu^{++} Yếu tố vết hiện diện trong một số metalloenzyme

Mo^{2+} Yếu tố vết hiện diện trong một số metalloenzyme

Ni^{2+} Yếu tố vết hiện diện trong một số metalloenzyme

Zn^{2+} Yếu tố vết hiện diện trong một số metalloenzyme

SO_4^{2-} Dạng chính của S vô cơ dùng để đồng hóa

PO_4^{3-} Dạng chính P dùng để đồng hóa và là chất tham gia trong nhiều phản ứng biến đổi

2.6.15. Thể vùi

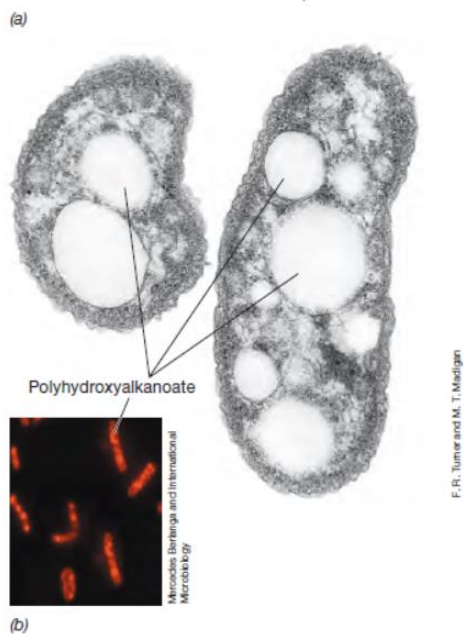
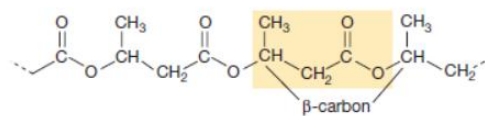
Nguyên sinh chất của tế bào prokaryote thường chứa một hoặc một số kiểu thể vùi (inclusion). Thể vùi là những hạt riêng biệt, có thể chiếm giữ một phần đáng kể nguyên sinh chất. Các hạt thể vùi thường chứa một phần nào đó chất dự trữ. Ví dụ carbon và năng lượng dự trữ có thể được bảo quản ở dạng glycogen (một cao phân tử của glucose) hoặc ở dạng các hạt polybetahydroxybutyric acid (một loại chất béo). Các thể vùi polyphosphate là chất dự trữ PO_4 và có thể là năng lượng; sulfur nguyên tố (giọt S) được dự trữ ở một số prokaryote quang dưỡng và vô cơ dưỡng như là chất dự trữ về năng lượng hay điện tử. Một số thể vùi thực chất là các túi màng (membranous vesicle) hoặc những thể lún vào trong nguyên sinh chất chứa các sắc tố quang tổng hợp hay enzyme.

2.6.16. Carbon dự trữ dạng cao phân tử

Poly- β -hydroxybutyric (PHB) là một trong những thể vùi thường gặp nhất ở prokaryote, lipid được hình thành từ các đơn vị β -hydroxybutyric acid. Các đơn phân của PHB kết hợp với nhau bằng liên kết ester để hình thành polymer PHB và sau đó tập hợp thành các hạt. Các hạt này có thể quan sát bằng kính hiển vi pha sáng hoặc kính hiển vi điện tử. Đơn phân tử của polymer không chỉ là hydroxybutyrate (C4) nhưng có thể có chiều dài dao động từ 3 carbon (C3) đến 18 carbon (C18). Vì vậy thuật ngữ poly- β -hydroxyalkanoate (PHA) thường được sử dụng để mô tả nhóm này ở dạng carbon và năng lượng dự trữ dưới dạng polymer. PHA được tế bào tổng hợp khi carbon thừa quá mức và được bẻ gãy cho mục đích sinh tổng hợp hoặc năng lượng khi có nhu cầu. Nhiều prokaryote bao gồm các loài thuộc vi khuẩn và cổ khuẩn có khả năng tạo PHA (Hình

2.39).

Một sản phẩm dự trữ khác là glycogen, là một polymer của glucose. Giống như PHA, glycogen là thể dự trữ dùng làm nguồn carbon và năng lượng. Glycogen được tạo



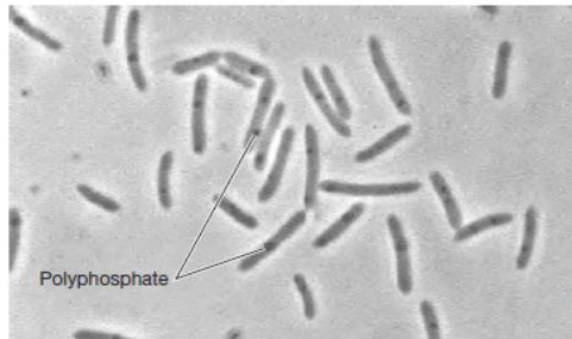
ra khi carbon dư thừa trong môi trường và được sử dụng khi carbon bị giới hạn. Glycogen giống với tinh bột, chất dự trữ chính trong thực vật, nhưng khác với tinh bột ở chỗ các đơn vị glucose có liên kết với nhau.

Hình 2.28. Poly- β -hydroxybutyrate hay còn gọi là PHA (a). Các PHA khác được hình thành bằng cách thay thế hydrocarbon chuỗi dài thành nhóm $-\text{CH}_3$ trên carbon β . (b). Lớp cắt mỏng tế bào dưới kính hiển vi điện tử vi khuẩn chứa các hạt PHA. Ảnh màu: Tế bào vi khuẩn chứa PHA nhuộm Nile đỏ.

Polyphosphate và Sulfur, nhiều vi khuẩn tích lũy phosphate (PO_4^{2-}) vô cơ hình thành các hạt polyphosphate (Hình 2.40). Các hạt có thể sử dụng như nguồn phosphate cho sinh tổng hợp nucleic acid và phospholipid và trong một số vi sinh vật có thể sử dụng chúng để tạo phân tử ATP giàu năng lượng. Phosphate thường là nguyên tố dinh dưỡng giới hạn trong môi trường tự nhiên. Vì vậy nếu một tế bào xảy ra phosphate thừa thải quá mức, thì sẽ là điều kiện thuận lợi để có thể dự trữ ở dạng polyphosphate để sử dụng sau.

Nhiều prokaryote Gram âm có thể oxi hoá khử các hợp chất sulfur, như hydrogen sulfide (H_2S). Sự oxi hoá sulfide có liên quan đến các phản ứng biến dưỡng tạo năng lượng (vô cơ hoá dưỡng) hay cố định CO_2 (tự dưỡng). Hoặc trong trường hợp sulfur nguyên tố (S_0) có thể tích lũy trong tế bào dưới dạng giọt có thể thấy được dưới kính hiển vi (Hình 2.40b). Sulfur được lưu giữ lâu dài làm nguồn sulfur khử. Tuy nhiên khi nguồn sulfur khử trở nên giới hạn, sulfur trong các hạt được oxi hoá thành sulfate (SO_4^{2-}) và các

hạt này biến mất một cách từ từ. Mặc dù các giọt sulfur xuất hiện trong nguyên sinh chất nhưng thực tế chúng tồn lưu trong chu chất. Chu chất mở rộng ra bên ngoài để tích lũy



(a)



(b)

các giọt H_2S được oxi hoá thành S_0 và sau đó rút gọn lại bên trong, khi đó S_0 bị oxi hoá thành SO_4^{2-} .

Hình 2.29. Sản phẩm dự trữ dạng polyphosphate và sulfur. (a). Ảnh dưới kính hiển vi pha đảo tế bào vi khuẩn *Heliobacterium modesticaldum* biểu hiện polyphosphate, hạt sẫm màu; kích thước tế bào khoảng $1\ \mu m$. (b). Ảnh tế bào vi khuẩn tía sulfur *Isochromatium buderi* dưới kính hiển vi pha sáng. Các hạt thể vùi nội bào là giọt sulfur được hình thành từ sự oxi hoá hydrogen sulfide (H_2S). Tế bào rộng khoảng $4\ \mu m$.

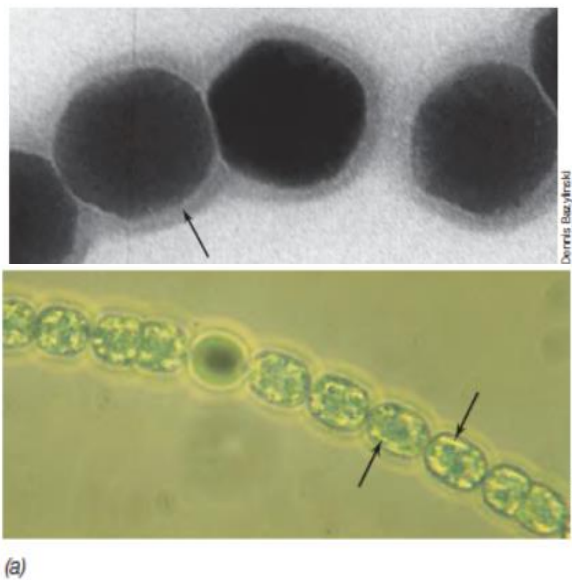
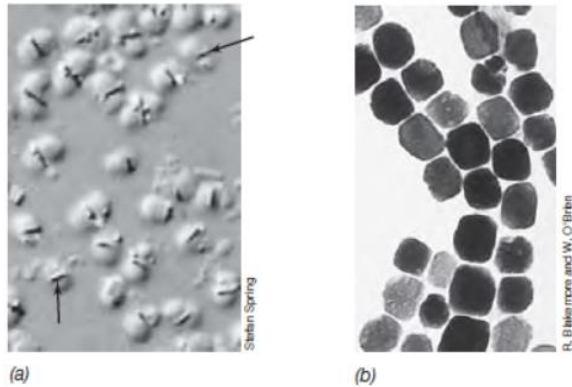
2.6.17. Thể vùi dự trữ có từ tính

Một số vi khuẩn tự chúng có thể di chuyển chuyên biệt theo hướng từ trường là bởi vì chúng có chứa thể từ tính (magnetosome). Cấu trúc này là các hạt nội bào gồm Fe_3O_4 (Hình 2.41). Thể từ tính truyền lưỡng cực từ (magnetic dipole) lên tế bào, cho phép tế bào phản ứng với từ trường. Vi khuẩn tạo thể từ tính biểu hiện đặc tính từ hướng động (magnetotaxis), quá trình này định hướng cho sự di chuyển của tế bào dọc theo đường từ trường của trái đất. Mặc dù sử dụng thuật ngữ từ hướng động, nhưng không có bằng chứng nào cho thấy vi khuẩn từ hướng động thể hiện hệ cảm nhận như vi khuẩn hoá hướng động hay quang hướng động. Sự sắp hàng của các thể từ tính trong tế bào đơn giản chỉ là truyền momen từ tính để hướng tế bào xoay theo hướng cụ thể trong môi trường.

Chức năng chính của thể từ tính thì chưa được rõ. Tuy nhiên vi sinh vật thủy sinh chứa thể từ tính có thể tăng trưởng tốt trong môi trường thí nghiệm có hàm lượng O_2

thấp. Vì vậy có giả thuyết cho rằng chức năng của thể từ tính có thể là định hướng cho những tế bào thuỷ sinh xuôi theo lớp trầm tích có hàm lượng O_2 thấp.

Các thể từ tính có màng mỏng bao xung quanh. Màng này chứa protein, phospholipid và glycoprotein. Màng của chúng không được cấu tạo giống như màng tế bào chất và protein hiện diện đóng vai trò trong sự trầm hiện của Fe^{3+} (mang vào tế bào ở dạng hoà tan nhờ các yếu tố tạo keo) như Fe_3O_4 để phát triển thể từ tính.



Hình 2.30. Vi khuẩn từ tính và thể từ tính (magnetosome). (a) Hình ảnh cầu khuẩn từ tính dưới kính hiển vi pha đảo, mũi tên chỉ chuỗi thể từ tính. Tế bào đơn lẻ có chiều rộng 2,2 μm . (b). Thể từ tính được phân lập từ vi khuẩn có từ tính *Magnetospirillum magnetotacticum*; mỗi hạt rộng khoảng 50 nm. (c) Ảnh dưới kính hiển vi truyền suốt (TEM) của thể từ tính từ cầu khuẩn có từ tính. Mũi tên chỉ màng bao xung quanh thể từ tính. Mỗi thể từ tính rộng khoảng 90nm.

Hình 2.31. Túi khí của khuẩn lam Anabaena và Microcystis. (a). Anabaena dưới kính hiển vi pha đảo. Mũi tên chỉ chùm túi khí có màu sáng. (b). Microcystis dưới kính hiển vi truyền suốt (TEM). Túi khí được sắp xếp trong những bó, ở đây thấy được cả phần theo chiều

đọc và chiều ngang.

Tương tự như vậy màng bao xung quanh PHA cũng không phải là màng nguyên sinh chất. Hình thái của thể từ tính mang tính chuyên biệt theo loài, hình dạng thay đổi từ hình vuông sang hình chữ nhật đến hình có đỉnh nhọn tùy thuộc vào sự khác nhau của loài mà hình thành chuỗi bên trong tế bào (Hình 2.41).

2.6.18. Túi khí

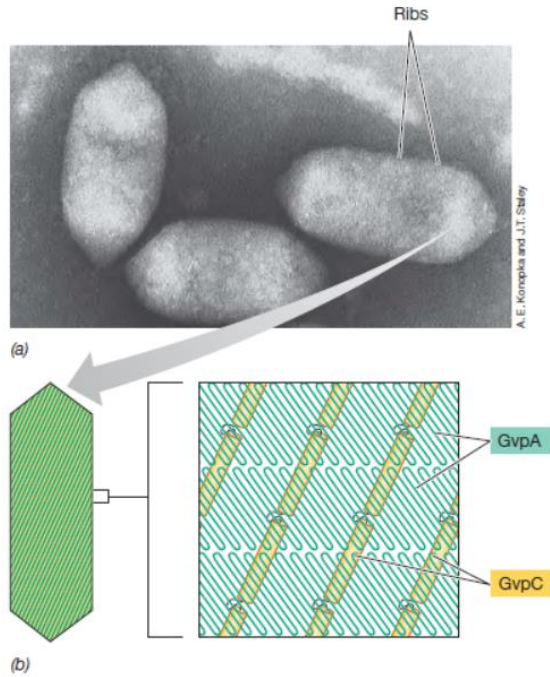
Một số prokaryote là sinh vật phù du (plankton), nghĩa là chúng sống trôi nổi trong cột nước của ao hồ và đại dương. Các vi sinh vật này có thể trôi nổi được là vì chúng có túi khí. Cấu trúc túi khí này làm tế bào nổi lên, cho phép chúng định vị trong cột nước để phản ứng với các tín hiệu của môi trường. Hầu hết ví dụ về túi khí ở vi khuẩn là khuẩn lam, chúng tích lũy một lượng sinh khối lớn gọi là tảo nở hoa trong ao hồ hay vùng duyên hải. Các tế bào có túi khí nổi lên mặt ao và hình thành khối dày đặc nhờ gió thổi. Nhiều vi khuẩn và cổ khuẩn thủy sinh có túi khí. Ngược lại túi khí chưa bao giờ phát hiện ở sinh vật eukaryote.

Cấu trúc chung của túi khí, túi khí có cấu trúc dạng con thoi làm từ protein. Chúng có cấu trúc rỗng nhưng cứng và có chiều dài và kích thước dao động (Hình 42). Kích thước của chúng dao động trong khoảng từ 300 nm - 1000 nm về chiều dài và rộng từ 45 đến 120 nm tùy theo loài. Trong một tế bào số lượng túi khí dao động từ vài cái đến hàng trăm cái và chúng không có đặc tính thấm nước và chất hoà tan nhưng lại cho khí thấm vào. Túi khí trong tế bào có thể xác định được bằng kính hiển vi sáng hoặc bằng kính hiển vi điện tử truyền suốt (TEM). Nơi các túi tập hợp lại được gọi là các thể không bào khí (gas vacuole), xuất hiện như dạng các thể vùi sáng có hình dạng bất định.

Cấu trúc phân tử của túi khí: túi khí dạng hình nón được cấu tạo từ hai protein khác nhau. Protein chiếm đa số gọi là GvpA, một lượng nhỏ trong chúng là vỏ, kỵ nước và là protein rất cứng. Đặc tính cứng là thiết yếu giúp cấu trúc này kháng lại áp suất từ bên ngoài. Protein ít hơn gọi là GvpC, chức năng của chúng là tăng cường vỏ của túi khí bằng các liên kết chéo (Hình 2.43).

Túi khí gồm các bản sao GvpA xếp hàng với nhau để tạo ra cấu trúc song song gọi

là “ribs” nhờ đó hình thành cấu trúc vỏ kín nước. Sau đó các cấu trúc rib này được xếp lại nhờ protein GvpC tạo cầu nối với rib tại vị trí góc với một số nhóm phân tử GvpA với nhau (Hình 2.43). Hình dạng của túi khí thì khác nhau ở vi sinh vật khác nhau từ mỏng



đến ngắn và to. Hình dạng của chúng do sự tương tác của protein GvpA và GvpC quyết định hình dạng chính xác của túi khí.

Hình 2.32. Kiến trúc của túi khí. Ảnh túi khí dưới kính hiển vi điện tử truyền suốt (TEM) được tinh sạch từ vi khuẩn *Ancylobacter aquaticus*. Kích thước túi khí khoảng 100 nm. (b). Cách mà các protein GvpA và GvpC tương tác để hình thành cấu trúc kín nước (không cho nước vào) nhưng khí lại thấm được. GvpA là phiên β cứng cấu tạo nên rib và GvpC dạng cấu trúc xoắn α thì có

liên kết chéo.

Làm thế nào mà túi khí nổi lên và lợi ích sinh thái từ sự nổi lên này là gì? Thành phần và áp suất của khí bên trong túi khí này làm cho vi sinh vật lơ lửng. Tuy nhiên do túi được bơm phồng lên mật độ khí chỉ khoảng 10% tế bào cụ thể, nên các thể khí này làm giảm mật độ tế bào vì vậy sẽ làm tăng khả năng nổi của tế bào. Rõ ràng vi sinh vật quang dưỡng hưởng lợi từ cấu trúc của thể khí này vì nó cho phép tế bào điều chỉnh vị trí thẳng đứng trong cột nước để tiếp cận với các vùng có cường độ ánh sáng tối thích cho quang tổng hợp.

Bảng 2.16. Một số thể vùi trong các tế bào vi khuẩn.

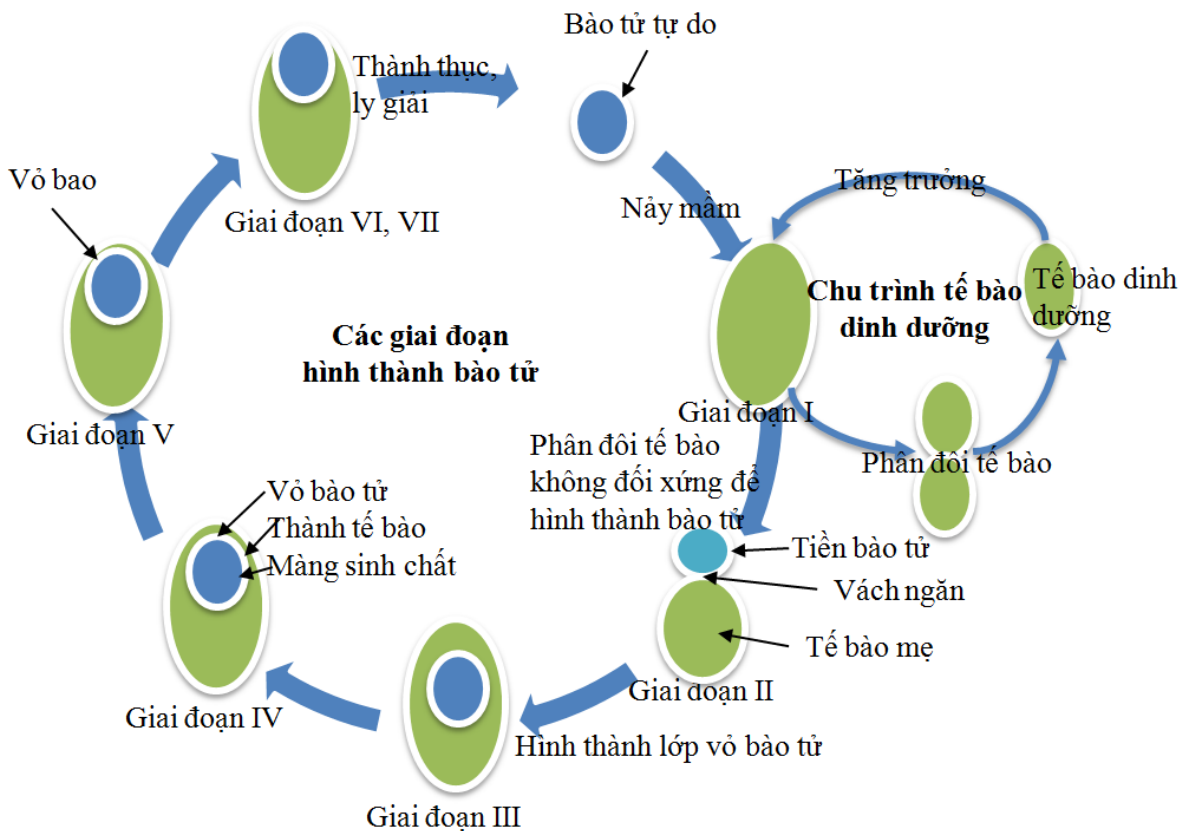
Các thể vùi trong nguyên sinh chất	Nơi phát hiện	Thành phần	Chức năng
Glycogen	Nhiều vi khuẩn ví dụ <i>E. coli</i>	Polyglucose	Carbon và năng lượng dự trữ

Polybetahydroxybutyric acid (PHB)	Nhiều vi khuẩn ví dụ <i>Pseudomonas</i>	Hydroxy butyrate trùng hợp	Carbon và năng lượng dự trữ
Polyphosphate (hạt volutin)	Nhiều vi khuẩn ví dụ: <i>Corynebacterium</i>	Các polymer PO ₄ dạng tuyến tính hoặc hình trụ	Phosphate dự trữ; có lẽ là phosphate dự trữ năng lượng cao
Giọt sulfur	Vi khuẩn quang dưỡng tía và xanh và vi khuẩn vô cơ dưỡng sulfur	Nguyên tố sulfur	Điện tử dự trữ (nguồn khử) ở nhóm quan dưỡng; năng lượng dự trữ ở nhóm vô cơ dưỡng
Túi khí	Vi khuẩn thủy sinh nhất là khuẩn lam	Vỏ bao protein hay vỏ phòng có khí	Nổi lên trong cột nước thẳng
Các tinh thể parasporal	Trực khuẩn hình thành nội bào tử (Giống <i>Bacillus</i>)	Protein	Chưa biết nhưng độc đối với côn trùng
Các thể từ tính (magnetosome)	Một số vi khuẩn thủy sinh	oxide sắt từ (magnetite) Fe ₃ O ₄	Giúp định hướng và di chuyển dọc theo các đường địa từ trường (geomagnetic field)
Các thể carboxysome	Nhiều vi khuẩn tự dưỡng	Các enzyme dùng cố định CO ₂ tự dưỡng	Vị trí cố định CO ₂
Các thể phycobilisome	Khuẩn lam	phycobiliprotein	Sắc tố thu nhận ánh sáng
Các thể chlorosome	Khuẩn xanh	Lipid, protein và	Sắc tố thu nhận ánh

diệp lục tố vi khuẩn sáng và ăng ten
(bacteriochlorophyll)

2.6.19. Nội bào tử

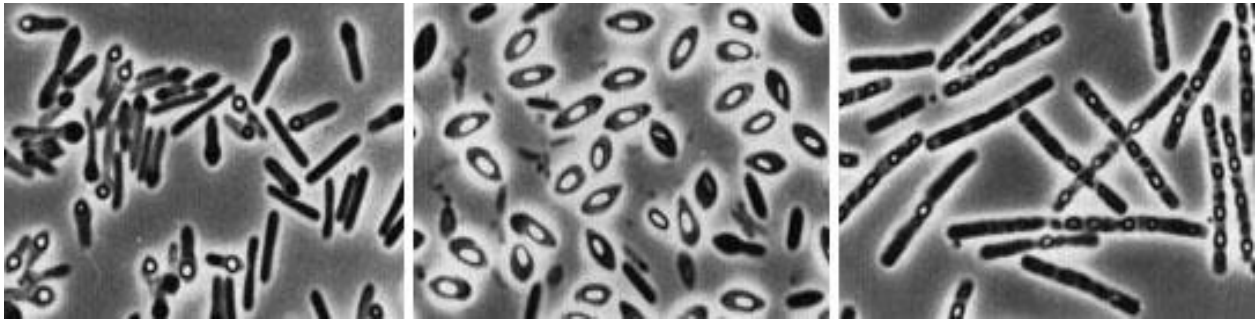
Đôi khi một cấu trúc của vi khuẩn được quan sát như là thể vùi nhưng thực tế lại là một dạng tế bào ngủ đông được gọi là nội bào tử. Nội bào tử được hình thành ở một số nhóm vi khuẩn như là cấu trúc nội bào, nhưng cuối cùng thì chúng được phóng thích thành các nội bào tử tự do. Về mặt sinh học, nội bào tử là một dạng hấp dẫn của tế bào.



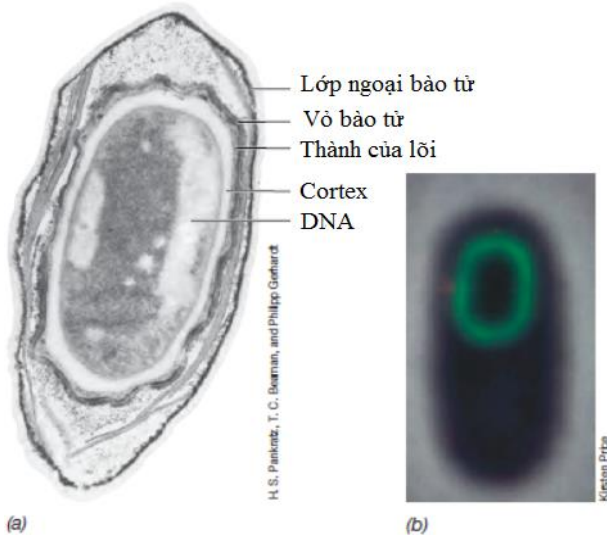
Hình 2.33. Sơ đồ minh họa các giai đoạn hình thành nội bào tử. Các giai đoạn này được xác định từ phân tích về di truyền và phân tích dưới kính hiển vi về sự hình thành bào tử ở vi khuẩn *Bacillus subtilis*.

Nội bào tử không có biểu hiện tín hiệu nào của sự sống. Chúng được mô tả như là sự sống ở trạng thái tiềm ẩn. Nội bào tử có khả năng kháng lại các tác động của môi trường như nhiệt độ cao (một số nội bào tử có thể được đun sôi trong nhiều giờ nhưng vẫn còn

sống được), chiếu xạ, acid mạnh, chất khử trùng, Có lẽ chúng là những tế bào có khả năng chịu đựng nhất được sản sinh trong tự nhiên. Mặc dù là ở trạng thái tiềm ẩn nhưng chúng vẫn còn sống được và dưới những điều kiện môi trường thích hợp, chúng sẽ nảy mầm để trở lại tế bào dinh dưỡng. Các bào tử được hình thành bởi các tế bào dinh dưỡng để phản ứng lại những tín hiệu của môi trường làm giới hạn sự tăng trưởng của tế bào dinh dưỡng như sự cạn kiệt về dinh dưỡng chẳng hạn. Nội bào tử sẽ nảy mầm trở lại tế bào dinh dưỡng khi các yếu tố gây sốc của môi trường dịu đi. Vì vậy sự hình thành nội bào tử là một cơ chế để vi khuẩn tồn tại hơn là cơ chế của sự sinh sản.



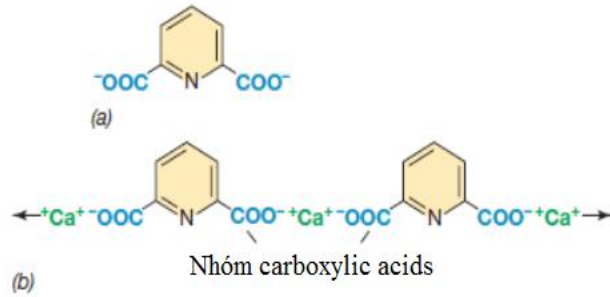
Hình 2.34. Ảnh gốc của Robert Cock, nội bào tử vi khuẩn dưới kính hiển vi pha đảo. Sự hình thành của bào tử chứng minh bằng sự khúc xạ của nội bào tử cũng như hình dáng đặc trưng và vị trí trong tế bào mẹ.



Hình 2.35. Vi ảnh điện tử của nội bào tử vi khuẩn. Bào tử có thành (vỏ) cấu tạo chỉ có peptidoglycan bao xung quanh một số lớp gồm cortex, lớp ngoại bào tử và vỏ bao bào tử (exosporium). Nhân khử nước chứa nhiễm sắc thể và một tí ribosome và enzyme để bắt đầu tổng hợp protein và biến dưỡng trong quá trình nảy mầm.

Trong quá trình hình thành nội bào tử, tế bào dinh dưỡng được chuyển đổi thành bào tử kháng nhiệt. Có tám giai đoạn: I - VIII (Hình 2.44) trong chu trình hình thành bào

tử của *Bacillus* sp. và quá trình này diễn ra trong khoảng tám giờ. Trong giai đoạn sớm (Bước II) trên nhiễm sắc thể vi khuẩn và một số ít ribosome bị ngăn ra bởi màng vi khuẩn



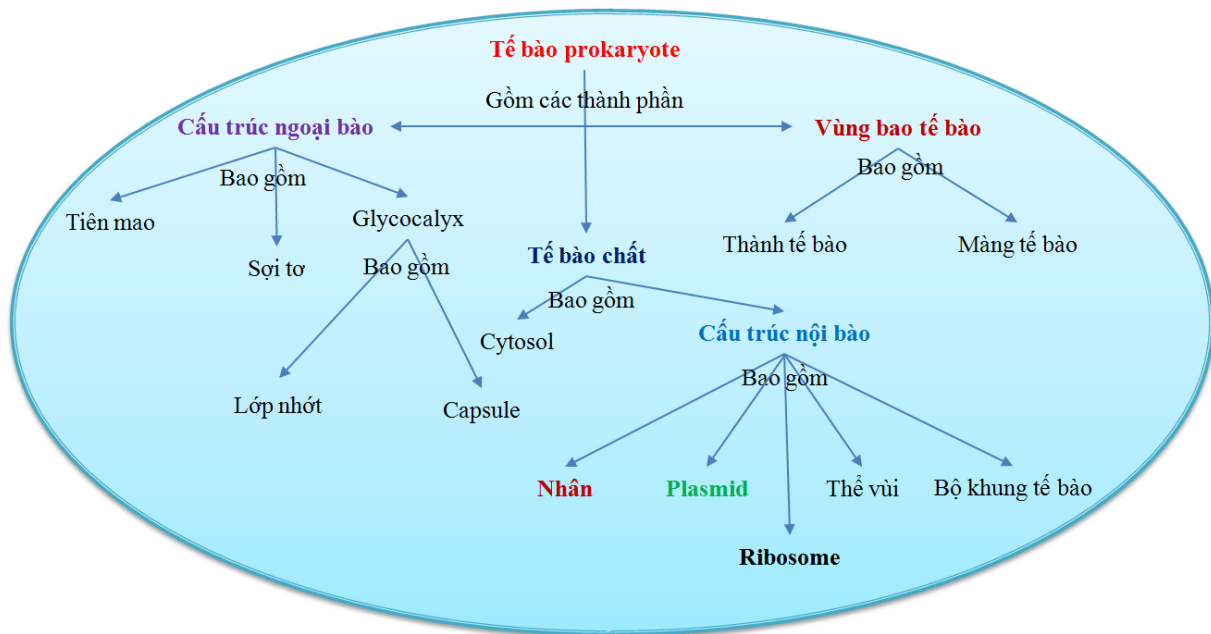
để hình thành thể nguyên sinh trong tế bào mẹ. Ở các giai đoạn trễ (Giai đoạn VI) thể nguyên sinh lúc này gọi là tiền bào tử phát triển thêm màng thứ hai và một số lớp vật liệu tương tự thành tế bào.

Hình 2.36. Dipicolinic acid (DPA). (a). Cấu trúc DPA. (b) Làm thế nào mà Ca^{2+} liên kết chéo với phân tử DPA để hình thành một phức hợp.

Bảng 2.17. Sự khác nhau giữa nội bào tử và tế bào dinh dưỡng.

Đặc điểm	Các tế bào dinh dưỡng	Nội bào tử
Bề mặt phủ	Vi khuẩn Gram dương điển hình có thành tế bào là murein	Lớp phủ dày, cortex và peptidoglycan
Hình dạng dưới kính hiển vi	Không khúc xạ	Có khúc xạ
Calcium dipicolinic acid	Không	Hiện diện trong lõi
Hoạt tính nước trong nguyên sinh chất	Cao	Rất thấp
Hoạt tính enzyme	Có	Không
Tổng hợp các đại phân tử	Có	Không
Kháng nhiệt	Thấp	Cao
Kháng được các hóa chất và acid	Thấp	Cao
Kháng được phóng xạ	Thấp	Cao
Nhạy cảm với lysozyme	Nhạy cảm	Kháng
Nhạy với chất màu và chất nhuộm	Nhạy cảm	Kháng

Tóm tắt các thành phần hình thành nên tế bào prokaryote được minh họa tại Hình 48.



Hình 2.37. Sơ đồ minh họa thành phần cấu tạo nên tế bào prokaryote.