

Chương 4. Đa dạng biến dưỡng ở prokaryote

Mục lục

Chương 4. Đa dạng biến dưỡng ở prokaryote	1
4.1. Giới thiệu	2
4.2. Biến dưỡng tạo năng lượng.....	3
4.2.1. ATP	3
4.2.2. NAD	5
4.2.3. Coenzyme A.....	7
4.2.4. Tổng hợp ATP ở prokaryote	8
4.2.5. Biến dưỡng kiểu dị dưỡng.....	9
4.2.6. Khử nitrate.....	22
4.2.7. Khử sulfate	23
4.2.8. Biến dưỡng vô cơ dưỡng.....	23
4.2.9. Biến dưỡng quang dưỡng.....	27
4.3. Cố định CO ₂ tự dưỡng	34
4.4. Sinh tổng hợp.....	37

4.1. Giới thiệu

Eukaryote đơn bào thường đa dạng đáng kể về cấu trúc, nhưng prokaryote lại không có sự đa dạng này. Prokaryote chỉ khác biệt đôi chút về kiểu hình cơ bản, đó là khả năng di động và sự hình thành bào tử. Sự khác biệt đáng kể nhất có thể nói đến chính là biểu hiện màu nhuộm Gram, đa dạng về sinh hóa hay là về biến dưỡng, nhất là biến dưỡng tạo năng lượng và sinh tổng hợp các chất biến đổi thứ cấp. Prokaryote tiến hành tất cả các kiểu biến dưỡng cơ bản tương tự như ở eukaryote. Tuy nhiên nhiều kiểu biến dưỡng tạo năng lượng ở prokaryote lại không tồn tại ở eukaryote. Sự đa dạng biến dưỡng này ở prokaryote được biểu hiện qua sự thay đổi đáng kể về kiểu sản sinh năng lượng và biến dưỡng của chúng. Đây cũng chính là đặc điểm cho phép prokaryote phát triển trong tất cả môi trường thích hợp cho sự sống trên trái đất.

Ngay cả cùng một loài prokaryote, có thể có sự thay đổi lớn về biến dưỡng. Như trong trường hợp ở *E.coli*, vi khuẩn này có thể tạo năng lượng để tăng trưởng bằng con đường lên men hoặc hô hấp. *E.coli* có thể hô hấp hiếu khí nhờ sử dụng O_2 làm chất nhận điện tử cuối hoặc nó cũng có thể hô hấp trong điều kiện kỵ khí. Khi đó chúng sử dụng nitrate (NO_3^-) hoặc fumarate ($C_4H_4O_4$) làm chất nhận điện tử cuối. *E. coli* có thể sử dụng glucose hoặc lactose làm nguồn carbon duy nhất để tăng trưởng. Với khả năng biến dưỡng như vậy, chúng chuyển đường thành acid amin, vitamin và nucleotide cần thiết để xây dựng tế bào. Tương tự như *E. coli*, *Rhodospirillum rubrum* có tất cả khả năng dị dưỡng như *E. coli*, nhưng thêm vào đó là khả năng tăng trưởng trong các điều kiện quang tự dưỡng, quang dị dưỡng hoặc vô cơ hóa dưỡng. Tuy nhiên để có những khả năng như vậy, khuẩn này đòi hỏi một yếu tố thiết yếu cho sự tăng trưởng đó là biotin.

Về cơ bản hầu hết eukaryote đều tạo năng lượng ở dạng ATP thông qua lên men rượu như nấm men; lên men tạo lactic acid diễn ra ở các tế bào cơ, bạch cầu đa nhân trung tính; hô hấp hiếu khí diễn ra ở như nấm, động vật đơn bào và động vật; hoặc quang tổng hợp có oxy diễn ra ở tảo và thực vật. Những kiểu biến dưỡng tạo năng lượng này đều tồn tại ở prokaryote. Hơn nữa tất cả các kiểu sản xuất năng lượng sau đây ở prokaryote thì không tồn tại ở eukaryote, đó là:

(a) lên men duy nhất bắt đầu từ con đường Embden-Meyerhof.

(b) sử dụng các con đường lên men khác như: con đường phosphoketolase hay lên men acid lactic dị hình và con đường Entner-Doudoroff.

(c) hô hấp kỵ khí sử dụng cơ chất khác ngoài O_2 để nhận điện tử.

(d) vô cơ hóa dưỡng sử dụng cơ chất vô cơ làm nguồn năng lượng.

(e) quang dị dưỡng sử dụng các hợp chất hữu cơ làm nguồn carbon trong quá trình quang tổng hợp.

(f) quang tổng hợp không có oxy là quang phosphoryl hóa trong điều kiện không có O_2 .

(g) sinh tổng hợp methan, một dạng biến dưỡng cổ xưa của cổ khuẩn sử dụng H_2 như là nguồn năng lượng tạo methane.

(h) quang phosphoryl hóa nhờ ánh sáng nhưng không phải là quang tổng hợp, đây là sự biến dưỡng cổ xưa nhất, biến năng lượng ánh sáng thành năng lượng hóa học.

Hơn nữa trong số các prokaryote tự dưỡng, có ba con đường cố định CO_2 , hai trong số đó thì không phát hiện được ở eukaryote, đó là CODH (con đường acetyl CoA) và chu trình Krebs còn gọi là chu trình TCA theo chiều ngược.

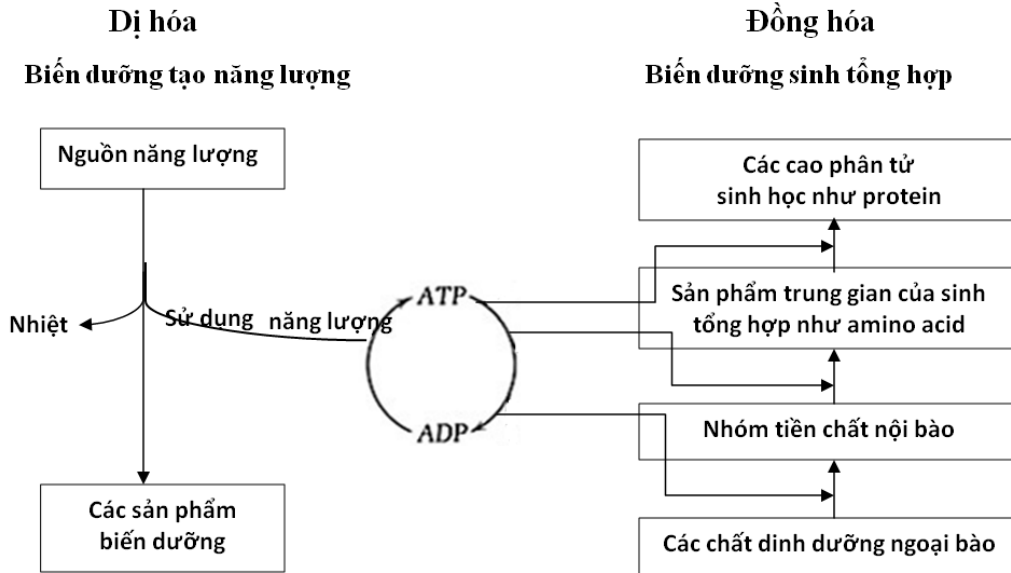
4.2. Biến dưỡng tạo năng lượng

Thuật ngữ biến dưỡng được dùng để chỉ tóm tắt các phản ứng sinh hóa tạo năng lượng và sử dụng năng lượng này để tổng hợp vật chất tế bào từ các phân tử nhỏ trong môi trường. Theo đó biến dưỡng tạo năng lượng được gọi là quá trình dị hóa (catabolism) và biến dưỡng có sử dụng năng lượng, sinh tổng hợp các chất, được gọi là quá trình đồng hóa (anabolism). Các phản ứng dị hóa hoặc trình tự tạo năng lượng như ATP, chất này có thể được sử dụng cho các phản ứng đồng hóa để tạo vật chất tế bào từ nguồn dinh dưỡng có trong môi trường. Mối quan hệ giữa dị hóa và đồng hóa được minh họa ở Hình 4.1.

4.2.1. ATP

Trong suốt quá trình dị hóa, năng lượng hữu ích tạm thời được bảo tồn dưới dạng “cầu nối năng lượng cao” đó là ATP - adenosine triphosphate (Hình 4.2). Cho dù hình thức nào đi chăng nữa thì năng lượng của tế bào được sử dụng làm nguồn năng lượng chủ yếu thì cuối cùng chúng cũng được chuyển hóa và bảo tồn ở dạng ATP - dạng tiền tệ chung của sự trao đổi năng lượng trong các hệ thống sinh học. Khi tế bào cần đòi hỏi

cung cấp năng lượng cho quá trình đồng hóa thì cần một năng lượng cao (8 kcal/ mole) của ATP được sử dụng để đáp ứng nhu cầu này. Chính vì thế khi chuyển đổi ADP thành ATP đòi hỏi 8 kcal năng lượng và khi thủy giải ATP thành ADP sẽ phóng thích ra 8 kcal.



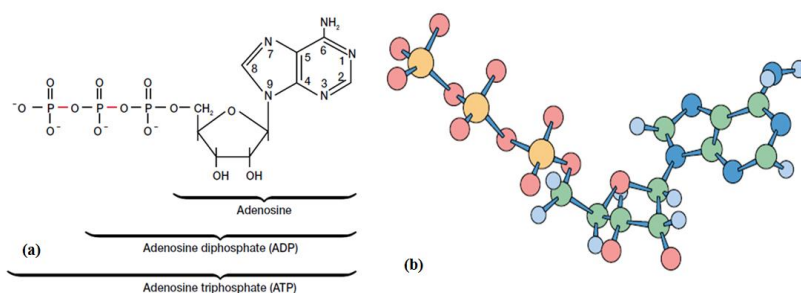
Hình 4.1. Sơ đồ biểu diễn mối quan hệ giữa dị hóa (biến dưỡng tạo năng lượng) và đồng hóa (biến dưỡng sinh tổng hợp) diễn ra trong tế bào. Trong suốt quá trình dị hóa, năng lượng sẽ bị thay đổi từ dạng này sang dạng khác và được giữ lại nhờ nguyên lý nhiệt động lực học, sự biến đổi năng lượng này chưa bao giờ đạt hiệu suất đầy đủ, vì năng lượng sẽ bị thất thoát trong quá trình sinh nhiệt. Hiệu suất của quá trình tự dị hóa của các phản ứng là lượng năng lượng được tạo ra cho tế bào (để sử dụng cho quá trình đồng hóa) được phân chia từ tổng số năng lượng phóng thích ra từ các phản ứng.

ATP hoạt động như là một coenzyme trong các phản ứng kết hợp mạnh mẽ diễn ra ở một hoặc cả hai nhóm phosphate ở đầu cuối bị di chuyển khỏi phân tử ATP, cùng với đó là năng lượng liên kết được sử dụng để chuyển ATP thành phân tử khác. Ví dụ: $\text{glucose} + \text{ATP} \rightarrow \text{glucose-P} + \text{ADP}$ hoặc $\text{amino acid} + \text{ATP} \rightarrow \text{AMP-Amino acid} + \text{Pi}$.

Do vai trò trung tâm của ATP trong biến dưỡng tạo năng lượng, nên ATP cũng đóng vai trò là một coenzyme trong hầu hết quá trình sản sinh năng lượng diễn ra trong tế bào (Hình 4.3).

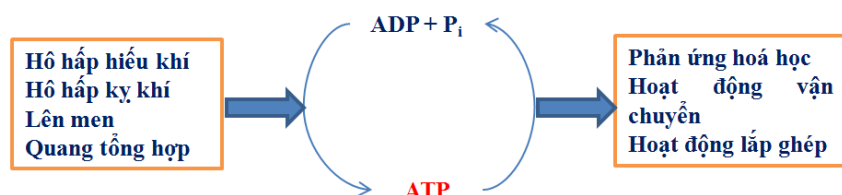
Khi ATP được bẻ gãy thành adenosine diphosphate (ADP) và orthophosphate (Pi),

sẽ phóng thích năng lượng hữu ích cho hoạt động. Sau đó năng lượng sản sinh từ các quá trình quang tổng hợp, hô hấp hiếu khí, hô hấp kỵ khí và lên men sẽ được tái tổng hợp thành ATP từ ADP và P_i . Chu trình năng lượng được tạo ra trong tế bào được biểu diễn ở Hình 4.3.



Hình 4.2. Cấu trúc của ATP. (a). ATP có nguồn gốc từ nucleotide adenosine monophosphate (AMP) hoặc acid adenylic, hai nhóm phosphate được

thêm vào bằng cách đính lên liên kết đôi pyrophosphate (biểu thị màu đỏ). Các liên kết đôi giàu năng lượng này (hai liên kết có màu đỏ) khi thủy giải sẽ tạo ra một lượng năng lượng lớn hơn liên kết cộng hóa trị tương ứng. (b). Cấu trúc không gian ba chiều của phân tử ATP. Carbon là màu xanh lá cây, hydrogen màu xanh da trời, nitrogen màu xanh đậm; oxygen màu đỏ và phosphorus màu cam.



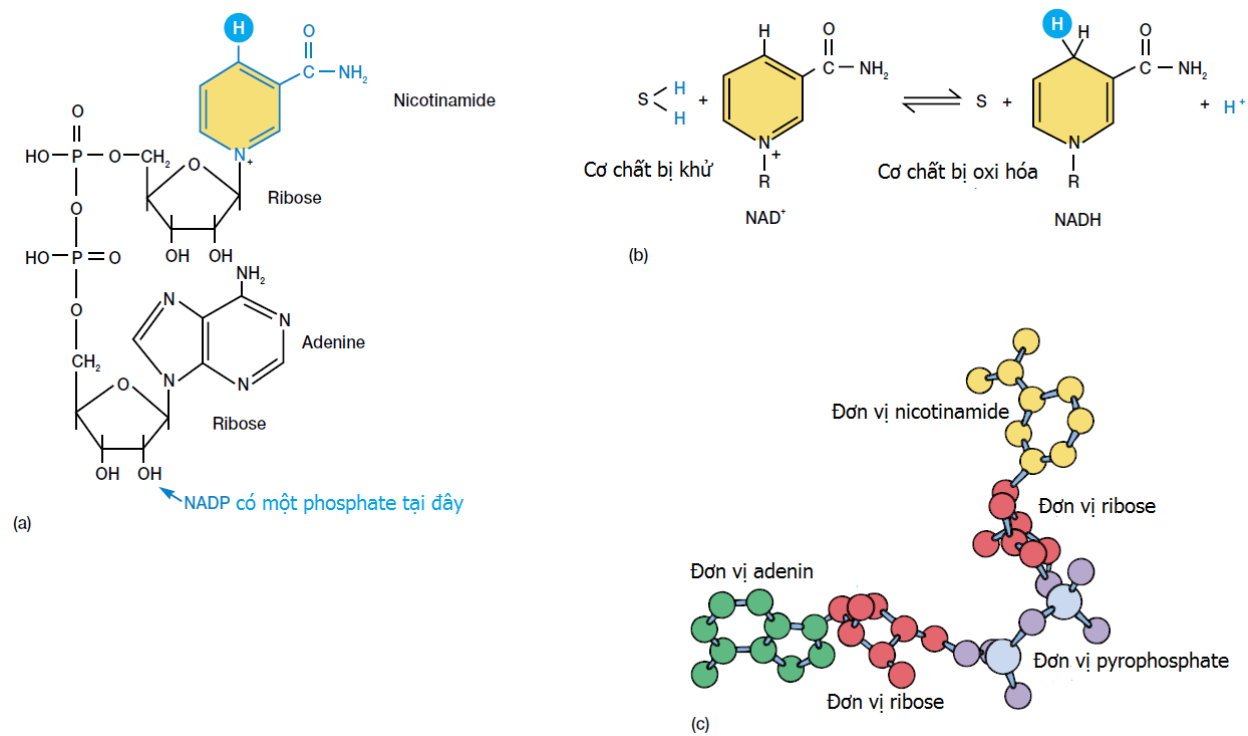
Hình 4.3. Sơ đồ minh họa chu trình năng lượng trong tế bào. ATP được hình thành từ quá

trình hô hấp hiếu khí, hô hấp kỵ khí, lên men và quang tổng hợp. Phân tử này được bẻ gãy thành ADP và orthophosphate (P_i) khi có nhu cầu năng lượng cho các hoạt động hóa học, vận chuyển và lắp ghép.

4.2.2. NAD

NAD (Nicotinamide Adenine Dinucleotide) là một coenzyme thường liên quan đến quá trình biến dưỡng tạo năng lượng. NAD xuất phát từ vitamin niacin, là một nucleotide pyridine. Về cơ bản sự biến đổi hóa học để tạo năng lượng chủ yếu dựa trên các phản ứng oxi hóa/khử. Về phương diện sinh hóa, để được oxi hóa điện tử phải được di chuyển nhờ yếu tố oxi hóa. Yếu tố oxi hóa này là một chất nhận điện tử. Chất nhận điện tử này sẽ bị khử trong phản ứng. Trong phản ứng oxi hóa/khử, yếu tố oxi hóa được

chuyển thành yếu tố khử và điện tử của nó được chuyển sang chất hóa học khác để hình thành yếu tố khử và theo cách như vậy tự nó sẽ bị oxi hóa lại.



Hình 4.4. Cấu trúc của NAD. (a) NAD được cấu thành từ hai phân tử nucleotide đó là: Adenosine monophosphate (adenine cộng với ribose-phosphate) và nicotinamide ribotide (nicotinamide cộng với ribose-phosphate). NADP có cấu trúc đồng nhất trừ khi nó có chứa thêm nhóm phosphate đính thêm nhóm chức lên ribose. (b) Các dạng oxi hóa và khử của phần đặc biệt nicotinamide thuộc phân tử NAD. (c) Kiểu cấu trúc của NAD⁺ khi liên kết với enzyme lactate dehydrogenase. Nicotinamide là phần hoạt động của phân tử nơi xảy ra phản ứng oxi hóa khử thuận nghịch. Dạng oxi hóa của NAD sẽ có ít hơn một nguyên tử hydrogen so với dạng khử và hơn nữa điện tích dương trên nguyên tử nitrogen cho phép chúng nhận điện tử thứ hai vào lúc khử. Vì vậy cách chính xác để biểu đạt phản ứng là $\text{NAD}^+ + 2\text{H} \rightarrow \text{NADH} + \text{H}^+$. Tuy nhiên để thuận tiện, người ta thường sử dụng các biểu tượng NAD và NADH₂.

Chức năng của phân tử NAD thường được xem như là chất mang điện tử trong các kiểu phản ứng cặp oxi hóa/khử diễn ra ở các hệ thống sinh học là NAD và dẫn xuất của nó là NADP do bị phosphoryl hóa. NAD hoặc NADP có thể lần lượt bị oxi hóa hoặc khử

Nhiều độc tố protein của vi khuẩn bao gồm độc tố gây bệnh tả do *Vibrio cholera* sinh ra, độc tố gây bệnh ho gà từ vi khuẩn *Bordetella pertussis* và độc tố gây bệnh bạch hầu biểu hiện hoạt tính enzyme của chúng bằng cách sử dụng NAD như là đồng cơ chất (co-substrate). Các độc tố này được xem là những độc tố ribosyl hoá ADP-ribose, do chúng chẻ NAD thành nicotinamide cộng với ADP-ribose (ADPR) và sau đó chuyển ADPR đến một số phân tử của động vật chủ. Ví dụ độc tố gây bệnh bạch hầu chuyển ADPR đến yếu tố kéo dài 2, làm bất hoạt hoàn toàn chức năng của yếu tố này trong kéo dài chuỗi tổng hợp protein. Vì vậy hoạt tính sinh học của độc tố gây bệnh bạch hầu là ức chế sự tổng hợp protein ở tế bào eukaryote.

(a)

Coenzyme A (CoA hay CoASH)

(b)

Pyruvic acid

Acetyl-S-CoA

Hình 4.5. Cấu trúc của Coenzyme A(a). CoA-SH là dẫn xuất của ADP. Trên hình biểu diễn, pantothenic acid đính lên ADP, có nhóm thiol (-S) ở đầu cuối. Phản ứng oxi hóa của keto acid, pyruvic acid, với acetyl~SCoA. Đây là phản ứng đưa hai carbon từ pyruvate vào chu trình TCA (b).

7

quan đến Coenzyme A, NAD, là phản ứng khử hydrogen và phản ứng khử carboxyl, là hai trong số các phản ứng quan trọng và phức tạp nhất của sự biến dưỡng.

Trong phản ứng oxi hóa các keto acid, coenzyme A (CoA hoặc CoASH) sẽ đính lên nhóm carboxyl của sản phẩm được oxi hóa nhờ liên kết thioester ($\sim S$). Phần năng lượng được phóng thích ra trong phản ứng oxi hóa được bảo tồn trong liên kết thioester. Liên kết năng lượng này có thể được sử dụng sau đó để tổng hợp ATP, như ở trường hợp ở clostridia là $\text{acetyl}\sim\text{SCoA} + \text{ADP} + \text{P}_i \rightarrow \text{acetic acid} + \text{CoASH} + \text{ATP}$. Hoặc trong trường hợp ở vi khuẩn hô hấp, liên kết thioester được sử dụng khi $\text{acetyl}\sim\text{SCoA}$ cô đặc với oxalacetate để đưa vào chu trình TCA và nhánh oxi của nó.

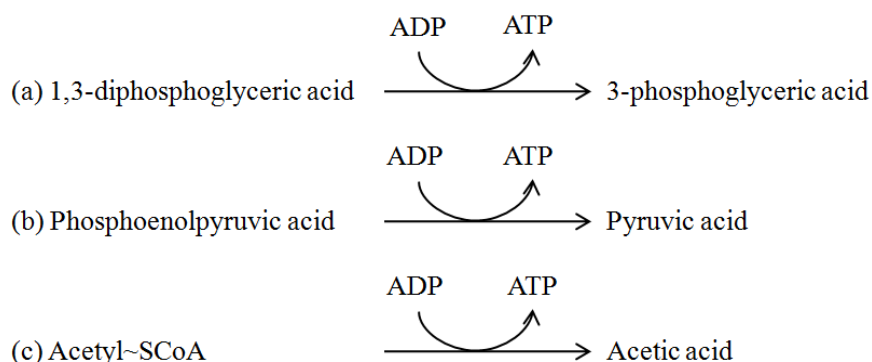
4.2.4. Tổng hợp ATP ở prokaryote

Mục tiêu của con đường dị hóa là tạo ATP, tức là chuyển đổi hoặc năng lượng hóa học hoặc năng lượng điện từ (ánh sáng) thành năng lượng hóa học được chứa dưới dạng các liên kết cao năng lượng của ATP. Về cơ bản các tế bào có thể sản sinh ATP theo hai cách: (a) phosphoryl hóa ở mức cơ chất và (b) phosphoryl hóa chuyển điện tử.

(a). Phosphoryl hóa ở mức cơ chất (SLP) là hình thức đơn giản nhất, cổ nhất và ít tiến hóa nhất để tạo ATP. Trong phản ứng phosphoryl hóa ở mức cơ chất, ATP được sinh ra trong suốt quá trình chuyển đổi một phân tử chất hữu cơ từ dạng này sang dạng khác. Một phần năng lượng được phóng thích trong quá trình chuyển đổi này được bảo tồn dưới dạng tổng liên kết năng lượng cao của ATP. Phosphoryl hóa ở mức cơ chất xảy ra trong quá trình lên men và hô hấp (chu trình TCA) và thậm chí xuất hiện ở các quá trình chuyển đổi vô cơ hóa dưỡng một số cơ chất vô.

(b). Phosphoryl hóa chuyển điện tử (ETP) diễn ra với nhiều bước phức tạp, đã tiến hóa từ lâu sau SLP. Phosphoryl hóa chuyển điện tử xuất hiện ở quá trình hô hấp, quang tổng hợp, vô cơ hóa dưỡng và có thể có ở biến dưỡng khác của vi khuẩn. ETP đòi hỏi điện tử di chuyển khỏi cơ chất để vào hệ chuyển điện tử (ETS) ở màng tế bào. Các điện tử này di chuyển xuyên qua hệ chuyển điện tử để đi đến một số chất nhận điện tử cuối trong màng tế bào (như O_2 trong hô hấp hiếu khí), trong khi đó sự di chuyển điện tử ngang qua ETS là do các proton đẩy ra và động lực proton (PMF) xuyên màng được thiết lập. Một thành phần thiết yếu của màng để tổng hợp ATP là enzyme ATPase (ATP

synthetase) liên kết với màng tế bào. Enzyme này vận chuyển các proton, do đó sử dụng động lực proton trong quá trình tổng hợp ATP. Điều lý tưởng trong Phosphoryl hóa chuyển điện tử là đưa các điện tử xuyên qua hệ chuyển điện tử (ETS) ở màng, thiết lập động lực proton (PMF) và sử dụng động lực proton này để tổng hợp ATP. Rõ ràng phosphoryl hóa chuyển điện tử (ETP) sử dụng nhiều công cụ hơn so với phosphoryl hóa ở mức cơ chất (SLP), đó là màng tế bào, hệ chuyển điện tử, enzyme ATPase,...



Hình 4.6. Ba ví dụ phosphoryl hóa ở mức cơ chất (SLP). (a) và (b) là hai phản ứng SLP xuất hiện ở con đường Embden Meyerhof, nhưng

chúng lại xuất hiện ở tất cả con đường lên men khác có thành phần Embden-Meyerhof. (c) là phản ứng SLP được phát hiện ở các vi khuẩn *Clostridium* và *Bifidobacterium*. Đây là hai vi khuẩn lên men kỵ khí, chúng ta cũng đã biết cách thức để tạo ra thêm một ATP từ con đường glyco giải thông qua hình thành pyruvate

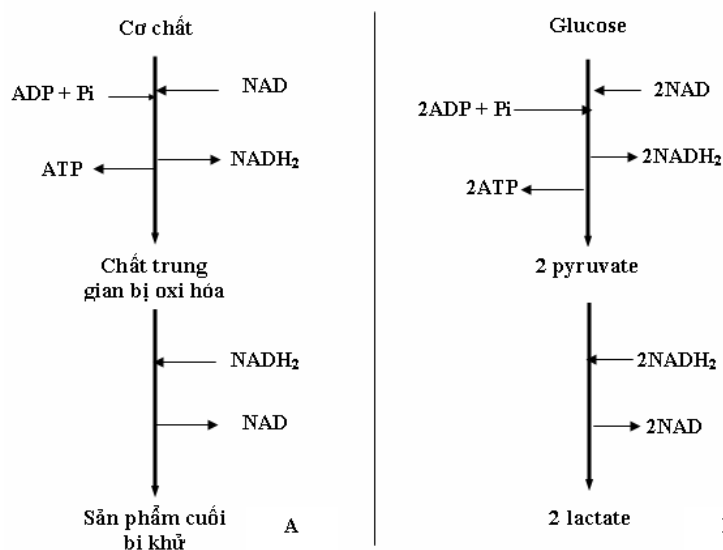
Một ví dụ thường thấy về chức năng tạo năng lượng và sử dụng năng lượng của màng tế bào vi khuẩn. Quá trình này có liên quan đến việc thiết lập và sử dụng PMF cũng như sản xuất ATP diễn ra ở màng plasma của vi khuẩn *Escherichia coli*.

4.2.5. Biến dưỡng kiểu dị dưỡng

Dị dưỡng (heterotrophy) là gói biến dưỡng đầy đủ, sử dụng hợp chất hữu cơ làm nguồn carbon và năng lượng. Tế bào oxy hóa các phân tử hữu cơ để tạo năng lượng (sự dị hóa) và sau đó sử dụng năng lượng này để tổng hợp vật liệu tế bào từ những phân tử hữu cơ này (sự đồng hóa). Động vật thường có kiểu biến dưỡng dị dưỡng. Nhiều vi khuẩn và một ít cổ khuẩn, nhất là những vi khuẩn sống ở những điều kiện có liên quan đến động vật thuộc nhóm dị dưỡng. Vi khuẩn dị dưỡng là những bậc thầy trong phân hủy các chất từ môi trường. Biến dưỡng dị dưỡng có hai quá trình biến dưỡng chủ yếu đó là (a) lên

men và (b) là hô hấp.

(a). Lên men được biết là kiểu biến dưỡng cổ xưa nhất. Kiểu biến dưỡng này tiến hóa cùng với sự xuất hiện chất hữu cơ trên trái đất. Lên men là sự biến dưỡng mà năng lượng được lấy từ sự oxi hóa từng phần hợp chất hữu cơ đồng thời sử dụng chất trung gian hữu cơ làm chất cho và nhận điện tử. Không liên quan đến chất nhận điện tử bên ngoài; không cần đến màng tế bào hay hệ chuyển điện tử; tất cả ATP được tạo ra nhờ phản ứng phosphoryl hóa ở mức cơ chất.



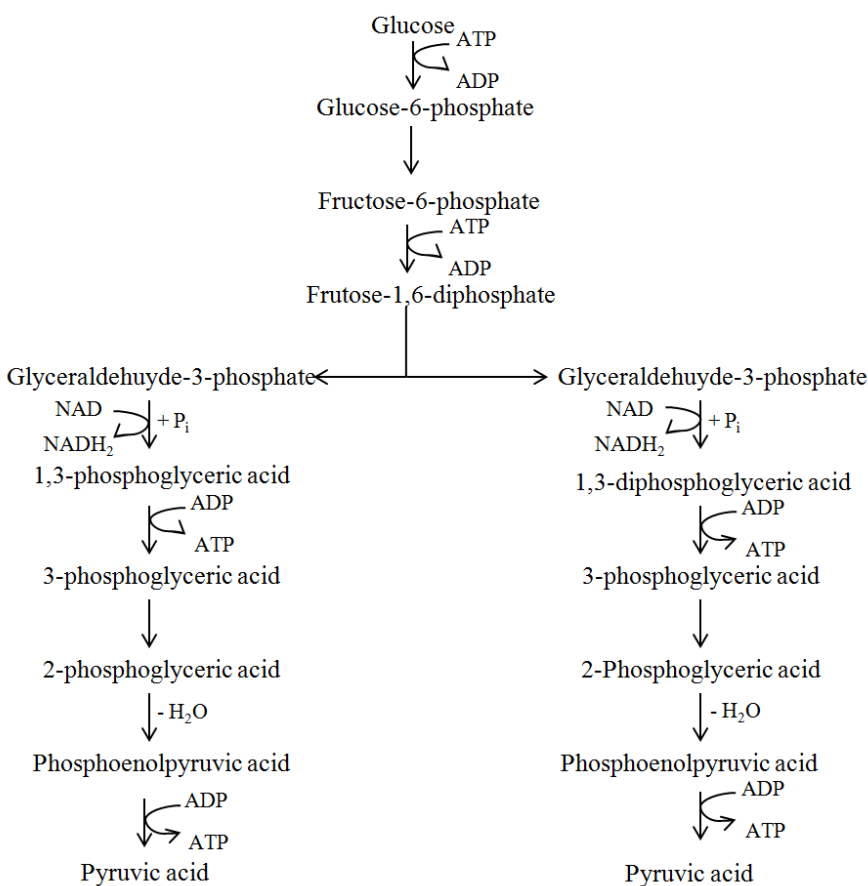
Hình 4.7. Kiểu lên men. A. Cơ chất bị oxi hóa thành chất hữu cơ trung gian; yếu tố oxi hóa thường được sử dụng là NAD. Một số năng lượng phóng thích do oxi hóa được bảo tồn trong ATP nhờ quá trình phosphoryl hóa ở mức cơ chất. Cuối cùng chất trung gian oxi hóa bị khử để tạo thành sản phẩm cuối.

Lưu ý là NADH_2 là yếu tố khử, vì vậy sự cân bằng về khả năng oxi hóa của chúng xuất phát từ các phản ứng tạo năng lượng. B. Lên men của *Lactobacillus*, cơ chất (glucose) bị oxi hóa thành pyruvate và pyruvate sẽ bị khử để thành lactic acid. Sự cân bằng phản ứng oxi hóa khử được duy trì nhờ các phản ứng oxi hóa khử nối tiếp nhau trong con đường biến dưỡng này. Ví dụ trong lên men lactic acid thông qua con đường Embden-Meyerhof, phản ứng oxi hóa glyceraldehyde phosphate thành phosphoglyceric acid được ghép đôi để khử pyruvic acid thành lactic acid.

Bằng cách định nghĩa như vậy, lên men có thể là quá trình đơn giản gồm hai bước như mô tả ở Hình 4.7. Thực tế một số quá trình lên men amino acid do vi khuẩn *Clostridia* thực hiện thì đơn giản như vậy. Tuy nhiên các con đường lên men có nhiều bước phức tạp hơn, thường liên quan đến một số bước sơ khởi nhằm khơi mào nguồn năng lượng cho các phản ứng oxi hóa và phosphoryl hóa cơ chất.

Trong sinh hóa, để tiện lợi các con đường lên men đều bắt đầu từ glucose. Điều này là do glucose là phân tử đơn giản nhất, đòi hỏi các bước xúc tác ít nhất, để đi vào con đường glyco giải và biến dưỡng trung tâm. Ở prokaryote, tồn tại ba con đường glyco giải chính còn gọi là sự dị hóa chất đường, đó là: (i) con đường Embden-Meyerhof cổ điển, con đường này cũng được hầu hết eukaryote sử dụng kể cả nấm men *Saccharomyces*; (ii) con đường phosphoketolase hay lên men lactic dị hình liên quan đến sự chuyển hướng hexose-pentose và (iii) con đường Entner-Doudoroff. Dù gì đi chăng nữa thì vi khuẩn vẫn là một cỗ máy lên men, nó dường như sẽ phân giải đường qua một hoặc nhiều con đường này. Ba con đường oxi hóa glyco giải diễn ra ở nhiều vi khuẩn được tóm tắt ở Bảng 4.1.

(i). **Con đường Embden-Meyerhof**, đây là con đường glyco giải cổ điển. được nấm men *Saccharomyces* sử dụng để sản sinh ethanol và CO_2 , được vi khuẩn sinh acid lactic đồng hình sử dụng để tạo lactic acid và cũng được nhiều vi khuẩn khác sử dụng để sản sinh ra nhiều sản phẩm như acid béo, rượu và nhiều loại khí.



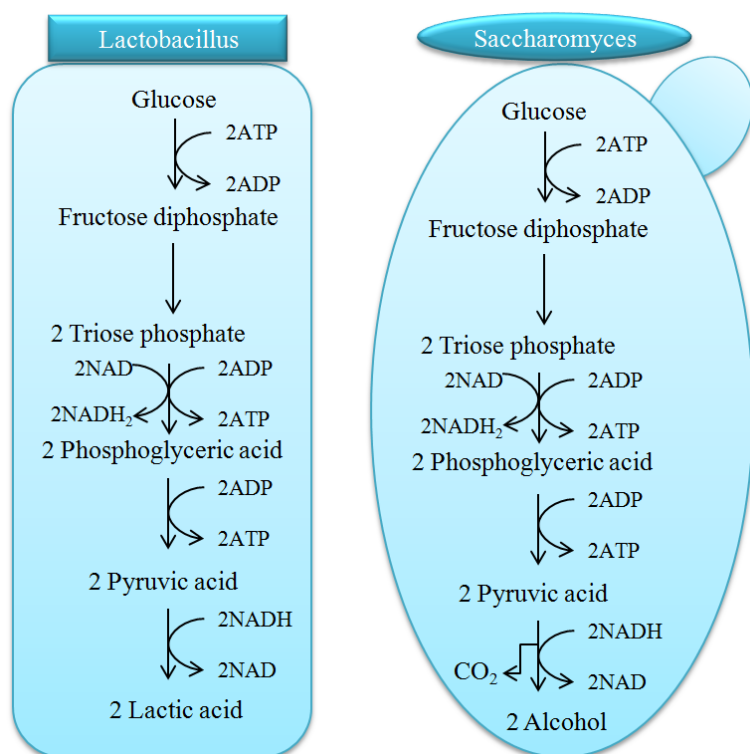
Hình 4.8. Con đường Embden Meyerhof dùng để phân giải glucose. Phản ứng chung là oxi hóa glucose thành 2 pyruvic acid. Hai nhánh của con đường này sau khi được tách ra thì tương tự nhau. Vẽ ra đặc điểm này để so sánh với các con đường glyco giải khác của vi khuẩn.

Một số sản phẩm cuối của lên men Embden-Meyerhof là các thành phần thiết yếu

trong thực phẩm và nước uống có ga, nhiều sản phẩm biến dưỡng từ con đường này được sử dụng trong một số nhiên liệu hữu dụng và các dung môi trong ngành công nghiệp. Trong chẩn đoán, các nhà phân tích sẽ sử dụng đặc điểm lên men của vi khuẩn để xác định chúng hoặc xác định ở cấp độ loài vi khuẩn. Ví dụ thử nghiệm khả năng lên men một số loại đường của vi khuẩn hoặc xét nghiệm dãy các sản phẩm cuối của vi khuẩn sau lên men.

Ba bước đầu tiên quan trọng của con đường này là phosphoryl hóa và sắp xếp lại hexose để cắt thành 2 triose (glyceraldehyde-phosphate). Trong con đường Embden-Meyerhof, Fructose 1,6-diphosphate aldolase là enzyme chính để phân cắt. Mỗi phân tử triose sẽ bị oxi hóa và phosphoryl hóa tiếp theo sau là hai phản ứng phosphoryl hóa ở mức cơ chất để tạo ra 4 ATP trong con đường đi đến pyruvate.

Vi khuẩn lactic khử pyruvate thành acid lactic (lactate); nấm men khử pyruvate thành rượu ethanol và CO₂ (Hình 4.9).



Hình 4.9. Biến dưỡng theo con đường Embden Meyerhof lên men tạo lactic acid ở vi khuẩn lactic là Lactobacillus và lên men tạo rượu ở nấm men Saccharomyces. Hai con đường này sản sinh ra 2 mole sản phẩm cuối và 2 ATP/1 mole glucose được lên men. Các bước phá hủy glucose thành pyruvate thì giống nhau. Sự khác nhau chỉ diễn ra khi khử pyruvic acid và điều này làm

sản sinh ra các sản phẩm cuối khác nhau.

Khi oxi hóa glucose thành lactate, mỗi phân tử glucose sẽ tạo ra 56 kcal tổng cộng. Do các tế bào thu hoạch 2 ATP (16 kcal) làm năng lượng hữu ích, vì vậy hiệu quả của sự

lên men lactate chỉ khoảng 29% (16/56). Lên men rượu đạt hiệu quả tương tự.

Bên cạnh acid lactic, lên men Embden-Meyerhof ở vi khuẩn sẽ dẫn đến hàng loạt các sản phẩm cuối tùy thuộc vào những con đường tiến hành ở các bước khử sau khi lên men acid pyruvic. Hình 4.10 biểu diễn một số con đường tiếp diễn từ acid pyruvic ở một số vi khuẩn. Sự lên men của các vi khuẩn này thường phân biệt được nhờ các sản phẩm cuối của chúng theo những nhóm sau.

(1). Lên men lactic đồng hình (Homolactic fermentation): trong lên men này, lactic acid là sản phẩm cuối duy nhất. Đây là con đường lên men được các vi khuẩn lactic đồng hình như *Lactobacillus*, *Lactococcus* và hầu hết *Streptococcus* sử dụng. Các vi khuẩn này được sử dụng để lên men sữa và các sản phẩm sữa trong các nhà máy chế biến yogurt, bơ sữa, kem chua, pho mát sữa tách kem, pho mát cheddar và hầu hết các sản phẩm lên men từ sữa.

(2). Lên men acid hỗn hợp: là con đường chủ yếu diễn ra ở vi khuẩn đường ruột *Enterobacteriaceae*. Các sản phẩm cuối là hỗn hợp lactic acid, acetic acid, formic acid, succinic acid và ethanol, cùng với đó là khí CO₂ và H₂ nếu vi khuẩn có enzyme formate dehydrogenase, nó sẽ phân cắt formate thành các khí này.

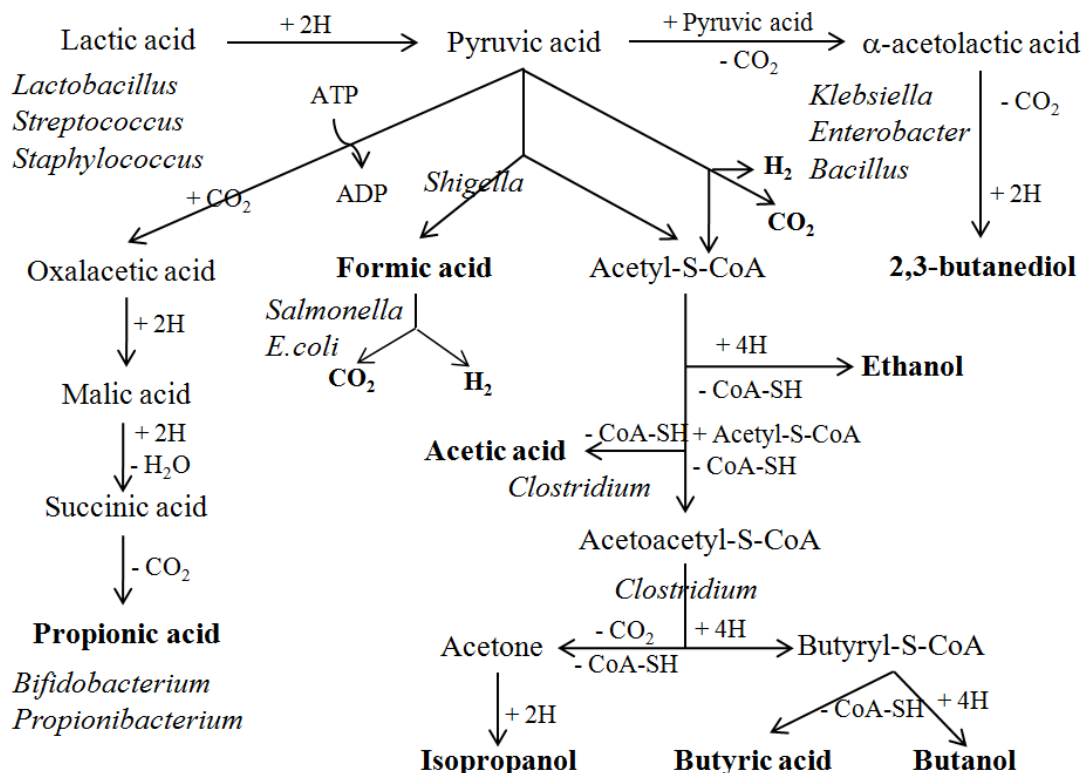
(2a). Lên men Butanediol: lên men này hình thành các acid hỗn hợp và khí như đã đề cập ở trên. Tuy nhiên thêm vào đó là 2,3 butanediol được hình thành từ 2 pyruvate. Việc sử dụng con đường này sẽ làm giảm sự hình thành acid (butanediol là trung tính) và tạo ra một trung gian khác biệt đó là acetoin. Đây là đặc điểm được sử dụng trong thử nghiệm chuyên biệt nhằm phát hiện acid thấp và acetoin để phân biệt các vi khuẩn đường ruột không phải xuất phát từ phân hình thành butanediol như *Klebsiella* and *Enterobacter* với các vi khuẩn đường ruột xuất phát từ phân sinh hỗn hợp acid như *E. coli*, *Salmonella* và *Shigella*.

(3). Lên men butyric acid: cũng như lên men butanol-acetone, kiểu lên men này xảy ra ở vi khuẩn *Clostridia*. Bên cạnh butyric acid, clostridia còn hình thành acetic acid, CO₂ và H₂ từ lên men đường. Một lượng nhỏ ethanol và isopropanol cũng có thể được hình thành.

(3a). Lên men butanol-acetone: trong thể chiến thứ I, butanol và acetone được

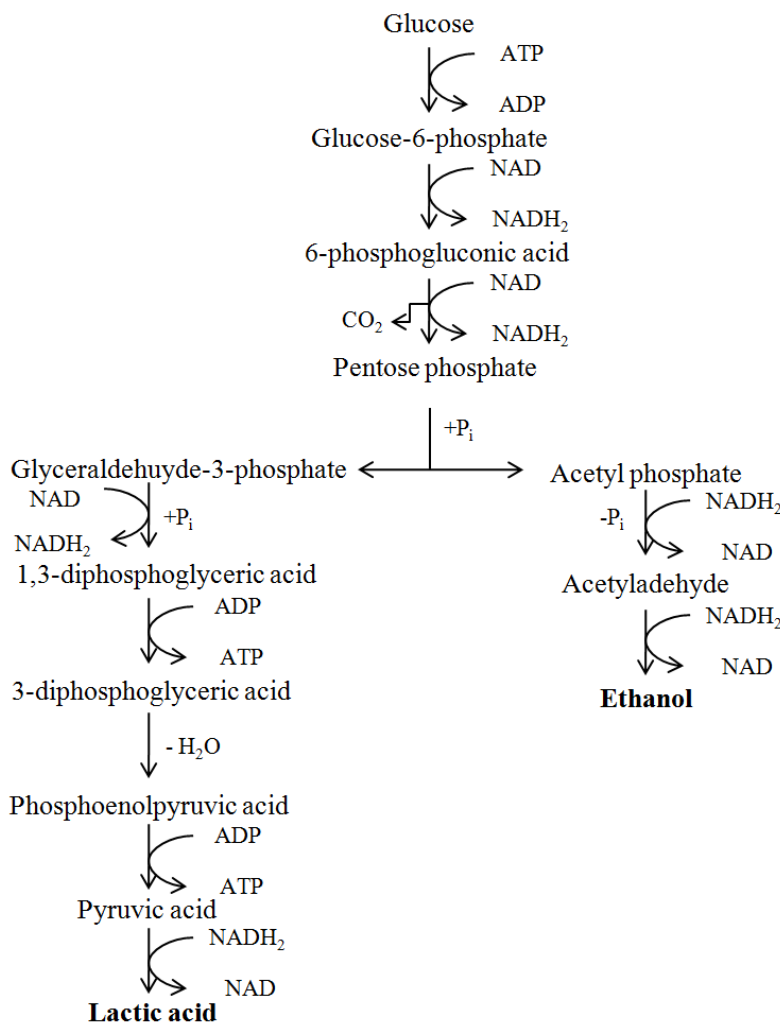
khám phá là sản phẩm chính từ quá trình kết thúc quá trình lên men do vi khuẩn *Clostridium acetobutylicum*. Khám phá này đã giải quyết được vấn đề khủng hoảng của nhà máy sản xuất thuốc nổ do acetone cần thiết trong sản xuất thuốc súng.

(4). Lên men propionic acid: đây là sự lên men không thường xuyên được các vi khuẩn sinh propionic acid gồm *Corynebacterium*, *Propionibacterium* và *Bifidobacterium*. Mặc dù đường có thể được lên men thẳng để tạo ra propionate, nhưng các vi khuẩn propionic acid sẽ lên men lactate (là sản phẩm cuối của lên men lactic acid) để tạo acetic acid, CO₂ và propionic acid. Sự hình thành propionate là một phức hợp và qua quá trình gián tiếp có liên quan đến 5 hoặc 6 phản ứng. Nhìn chung 3 mole lactate được biến đổi thành 2 mole propionate + 1 mole acetate + 1 mole CO₂, và 1 mole ATP được ép ra từ quá trình này. Vi khuẩn sinh propionic acid được sử dụng trong sản xuất pho mát Thụy sỹ. Pho mát này phân biệt được nhờ mùi vị khác biệt của propionate và acetate, cũng như các lỗ trên sản phẩm được tạo ra từ CO₂.



Hình 4.10. Quá trình lên men ở những vi khuẩn tiếp diễn theo con đường Embden-Meyerhof. Vi khuẩn đại diện sử dụng các con đường này được biểu thị bằng chữ in nghiêng.

Con đường Embden-Meyerhof để dị hóa glucose (Hình 4.8) cũng như chu trình TCA (Hình 4.14) là hai con đường trung tâm của sự biến dưỡng diễn ra ở gần như tất cả vi khuẩn và eukaryote. Các con đường này không những chỉ có dị hóa các hợp chất hữu cơ và cung cấp năng lượng mà chúng còn cung cấp các tiền chất (precursor) để sinh tổng hợp các đại phân tử dùng để xây dựng các hệ thống sống. Công bằng mà nói các con đường này được gọi là con đường hai hướng (amphibolic pathway) do có cả hai chức năng dị hóa và đồng hóa.



Hình 4.11. Con đường lên men lactic dị hình hay con đường phosphoketolase. So với con đường Embden-Meyerhof ở Hình 9, con đường này khác nhau ở các bước sớm trước khi cơ chất bị phân cắt. Phản ứng chung của lên men glucose là: Glucose $\rightarrow$ Lactic acid + ethanol + CO_2 + 1ATP ròng (thực tế là tạo ra 2 ATP nhưng đã sử dụng mất 1 ATP).

(ii). Lên men lactic dị hình hay còn gọi là con đường Phosphoketolase được phân biệt nhờ enzyme

phân cắt quan trọng đó là phosphoketolase. Enzyme này cắt pentose phosphate thành glyceraldehyde-3-phosphate và acetyl phosphate. Con đường lên men này được thực hiện chủ yếu do các vi khuẩn sinh acid lactic dị hình gồm một số loài *Lactobacillus* và *Leuconostoc*. Trong con đường này glucose-phosphate được oxi hóa

thành 6-phosphogluconic acid. Chất này sẽ bị oxi hóa và bị khử nhóm carboxyl để hình thành pentose phosphate (Hình 4.11).

Không giống như con đường Embden-Meyerhof, các phản ứng oxi hóa qua trung gian NAD xảy ra trước khi cơ chất bị cắt để sử dụng. Sau đó pentose phosphate bị cắt thành glyceraldehyde-3-phosphate (GAP) và acetyl phosphate. GAP được biến đổi thành lactic acid nhờ các enzyme giống như enzyme ở con đường E-M. Nhánh này của con đường lên men lactic dị hình có cặp oxi hóa khử trong lúc 2 ATP được tạo ra bởi cơ chất ở mức phosphoryl hóa. Acetyl phosphate bị khử trong hai bước để hình thành ethanol, chất này cân bằng hai phản ứng oxi hóa trước khi cắt nhưng lại không tạo ra ATP. Phản ứng chung là Glucose $\rightarrow$ 1 lactic acid + 1 ethanol + 1 CO₂ cùng với 1 ATP ròng. Hiệu quả thì chỉ khoảng một nửa của con đường E-M.

Các loài vi khuẩn lactic dị hình đôi khi được sử dụng trong công nghiệp lên men. Ví dụ kefir, là một kiểu lên men sữa để tạo yogurt, sản phẩm này có sử dụng các loài vi khuẩn lactic dị hình *Lactobacillus*. Tương tự sản phẩm lên men sauerkraut có sử dụng vi khuẩn lactic dị hình *Leuconostoc*.

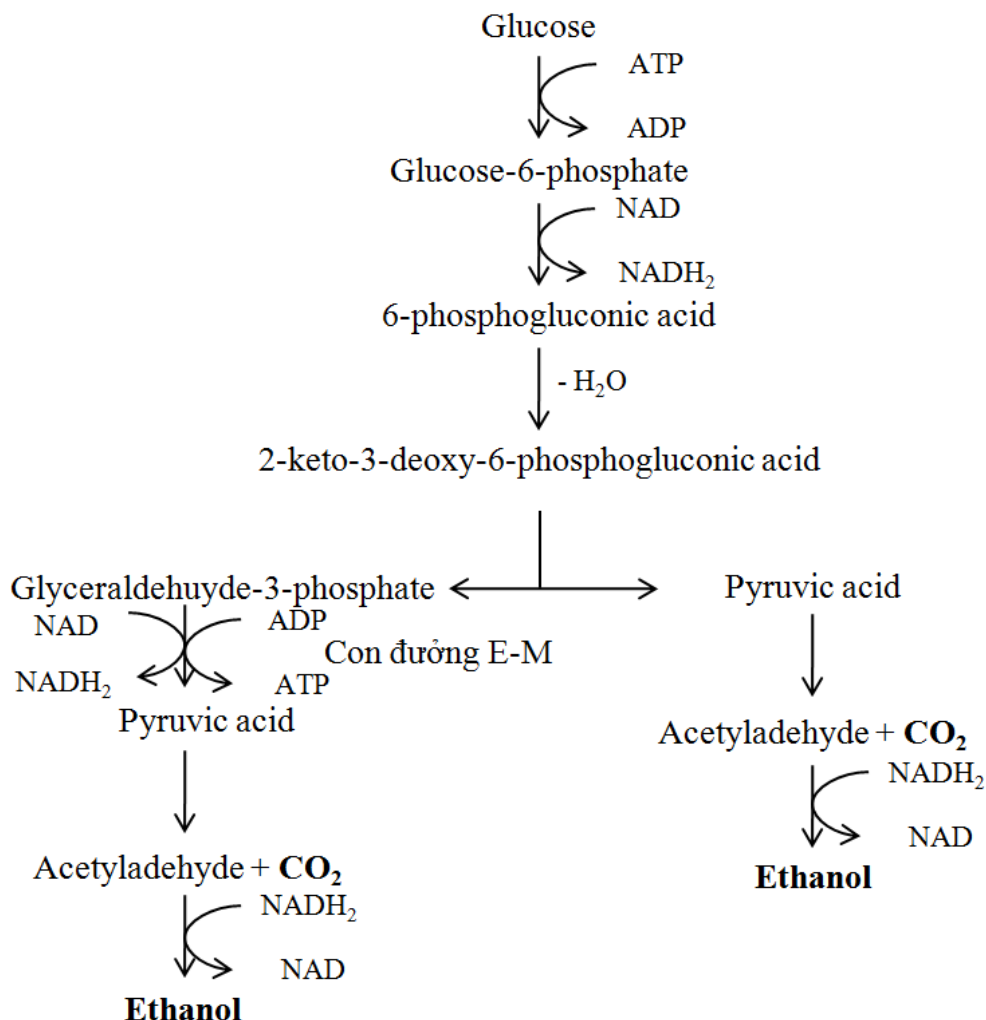
Bảng 4.1. Các con đường oxi hóa glucose giải diễn ra ở nhiều vi khuẩn.

Vi khuẩn	Con đường E-M	Con đường Phosphoketolase	Con đường E-D
<i>Acetobacteraceti</i>	-	+	-
<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	-	-	+
<i>Azotobactervinelandii</i>	-	-	+
<i>Bacillus subtilis</i>	Chính	Thứ yếu	-
<i>Escherichia coli</i>	+	-	-
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	+	-	-
<i>Leuconostocmesenteroides</i>	-	+	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	+
<i>Vibrio cholerae</i>	Thứ yếu	-	Chủ yếu
<i>Zymomonasmobilis</i>	-	-	+

(iii). Con đường Entner-Doudoroff

Con đường Entner-Doudoroff là một phương thức lên men nghiêm khắc và chỉ có

một số ít vi khuẩn thực hiện con đường này, đáng chú ý nhất là *Zymomonas*. Tuy nhiên nhiều vi khuẩn nhất là những vi khuẩn thuộc nhóm pseudomonads, sử dụng con đường này để phân hủy carbohydrate dùng cho biến dưỡng hô hấp (Bảng 4.1). Con đường E-D tạo ra 2 pyruvic acid từ 1 glucose (tương tự như con đường E-M) nhưng giống như con đường phosphoketolase ở chỗ phản ứng oxi hóa xuất hiện trước khi phân cắt và năng lượng ròng (sau khi đã trừ phần sử dụng) là 1 mole ATP/ 1 mole glucose sử dụng.



Hình 4.12. Con đường lên men Entner-Doudoroff. Phản ứng chung là: Glucose → 2 ethanol + 2 CO₂ + 1 ATP ròng.

Ở con đường E-D, glucose phosphate bị oxi hóa thành 2-keto-3-deoxy-6-phosphogluconic acid (KDPG). Chất này bị enzyme KDPG aldolase cắt thành pyruvate và GAP. GAP bị oxi hóa thành pyruvate nhờ các enzyme ở con đường E-M enzymes nhờ

thế 2 ATP được tạo ra từ phosphoryl hóa ở mức cơ chất. Pyruvic acid từ mỗi nhánh của con đường này bị khử thành ethanol và CO₂. Vi sinh vật có kiểu lên men tương tự được phát hiện ở nấm men, vi khuẩn *Zymomonas* (Hình 4.12). Phản ứng chung là: Glucose → 2 ethanol + 2 CO₂ và 1 ATP ròng.

Bảng 4.2. Các sản phẩm cuối được tạo ra trong lên men vi sinh vật.

Con đường	Enzyme chính	Ethanol	Lactic Acid	CO ₂	ATP
Embden-Meyerhof					
<i>Saccharomyces</i>	fructose 1,6-diP aldolase	2	0	2	2
Embden-Meyerhof					
<i>Lactobacillus</i>	fructose 1,6-diP aldolase	0	2	0	2
Heterolactic					
<i>Streptococcus</i>	phosphoketolase	1	1	1	1
Entner-Doudoroff					
<i>Zymomonas</i>	KDPG aldolase	2	0	2	1

(b). Hô hấp: khi so sánh với lên men về phương diện oxi hóa hợp chất hữu cơ, thì hô hấp là quá trình rất phức tạp. Hô hấp làm oxi hóa hoàn toàn cơ chất nhờ chất nhận điện tử bên ngoài. Bên cạnh con đường glyco giải, bốn thành phần cấu trúc thiết yếu hay thành phần biến dưỡng cần thiết là: (1). Chu trình tricarboxylic acid (TCA), (2). Màng và hệ thống chuyển điện tử, (3). Chất nhận điện tử bên ngoài và (4). Enzyme vận chuyển xuyên màng ATPase.

(1). Chu trình tricarboxylic acid (TCA) còn gọi là chu trình citric acid hay chu trình Krebs: khi hợp chất hữu cơ được sử dụng làm cơ chất, vi khuẩn sử dụng chu trình TCA để oxi hóa hoàn toàn cơ chất này. Sản phẩm cuối của quá trình oxi hóa hoàn toàn hợp chất hữu cơ là CO₂.

(2). Màng và hệ thống chuyển điện tử: hệ thống chuyển điện tử (ETS) là trình tự các chất mang điện tử ở màng sinh chất tiến hành chuyển điện tử từ cơ chất qua chuỗi các chất mang để đi đến chất nhận điện tử cuối. Điện tử đi vào ETS có thể oxi hóa khử (E'_o) rất thấp và khi đi ra có thể oxi hóa khử tương đối cao. Sự sụt thế này làm phóng thích năng lượng và năng lượng này được các tế bào thu hoạch trong quá trình tổng hợp ATP

nhờ cơ chế phosphoryl hóa chuyển điện tử. Sự vận hành của ETS thiết lập lực động học proton (PMF) do hình thành một gradient proton xuyên màng.

(3). Chất nhận điện tử bên ngoài: bên ngoài ở đây nghĩa là ngoài nội bộ con đường biến dưỡng như pyruvate trong lên men. Đối với hô hấp hiếu khí, chất nhận điện tử dĩ nhiên là O_2 . Oxy phân tử được khử thành H_2O ở bước cuối cùng trong hệ chuyển điện tử. Tuy nhiên ở các quá trình hô hấp kỵ khí của vi khuẩn, các chất nhận điện tử cuối có thể là SO_4 hoặc S hoặc NO_3 hoặc NO_2 hoặc một số hợp chất vô cơ khác hoặc thậm chí có cả hợp chất hữu cơ như fumarate.

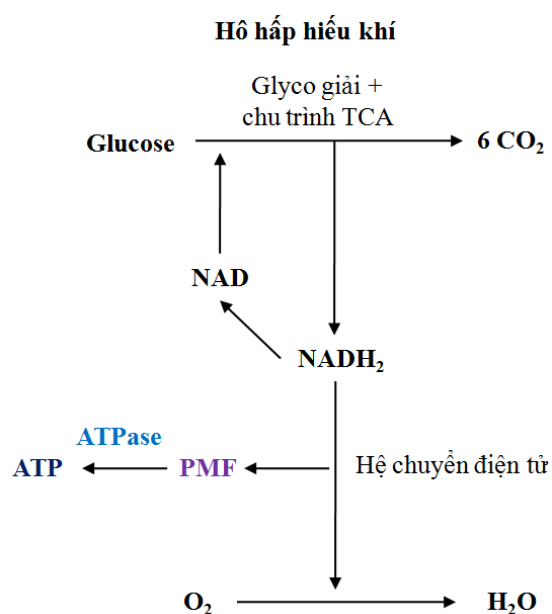
(4). Enzyme vận chuyển xuyên màng ATPase (ATP synthetase): enzyme này sử dụng động lực proton được thiết lập trên màng nhờ vận hành của ETS để tổng hợp ATP trong quá trình phosphoryl hóa chuyển điện tử. Tiểu đơn vị xuyên màng F_o là một hệ thống chuyển proton. Hệ thống này chuyển $2H^+$ thành tiểu đơn vị F_1 (thực tế là ATPase) vào bên trong màng. Quá trình tổng hợp ATP từ ADP cộng với P_i cần có 2 proton. Điều quan trọng đánh giá đúng tính thuận nghịch của phản ứng này để tính toán vi khuẩn lên men như thế nào, khi không có ETS, có thể thiết lập PMF cần thiết trên màng cho vận chuyển hoặc làm xoay tròn tiên mao. Nếu một vi sinh vật có ATPase xuyên màng thì khuẩn này có thể tạo ATP nhờ SLP và cuối cùng ATPase có thể thủy giải thành ATP, nhờ đó phóng thích proton ra bên ngoài màng.

Sơ đồ hô hấp hiếu khí được mô tả ở Hình 4.13. Sơ đồ này tổng hợp các quá trình biến dưỡng, đại diện cho quá trình tổng thể của biến dưỡng hô hấp. Cơ chất như glucose được oxi hóa hoàn toàn thành CO_2 nhờ các con đường kết hợp giữa glyco giải và chu trình TCA. Các điện tử di chuyển từ glucose nhờ NAD được đưa vào ETS ở màng. Khi các điện tử đi qua ETS, một thế động lực xuyên màng sẽ được thiết lập. Cuối cùng các điện tử này khử chất nhận điện tử bên ngoài, từ O_2 và khử nó thành H_2O . Thế động học trên màng được enzyme ATPase sử dụng để tổng hợp ATP nhờ quá trình phosphoryl hóa oxi hóa.

Cao hơn nữa đó là sự hiểu được vai trò của chu trình TCA. Chu trình TCA là nhằm để oxi hóa hoàn toàn cơ chất và từ một phân tử glucose cung cấp 10 cặp điện tử cho hệ thống ETS. Đối với mỗi cặp điện tử đặt vào ETS, có thể có 2 hoặc 3 ATP được

tạo ra, vì vậy một lượng lớn ATP được sản sinh trong hô hấp so với lên men.

Glucose được dị hóa theo con đường glyco giải để tạo thành chất trung gian là pyruvate và pyruvate được chuyển vào chu trình TCA để cuối cùng bị oxi hóa thành 3 CO₂. Do 2 pyruvate được hình thành từ một glucose, vì vậy từ mỗi một phân tử glucose, chu trình này phải chạy hai lần để oxi hóa thành 6 CO₂.



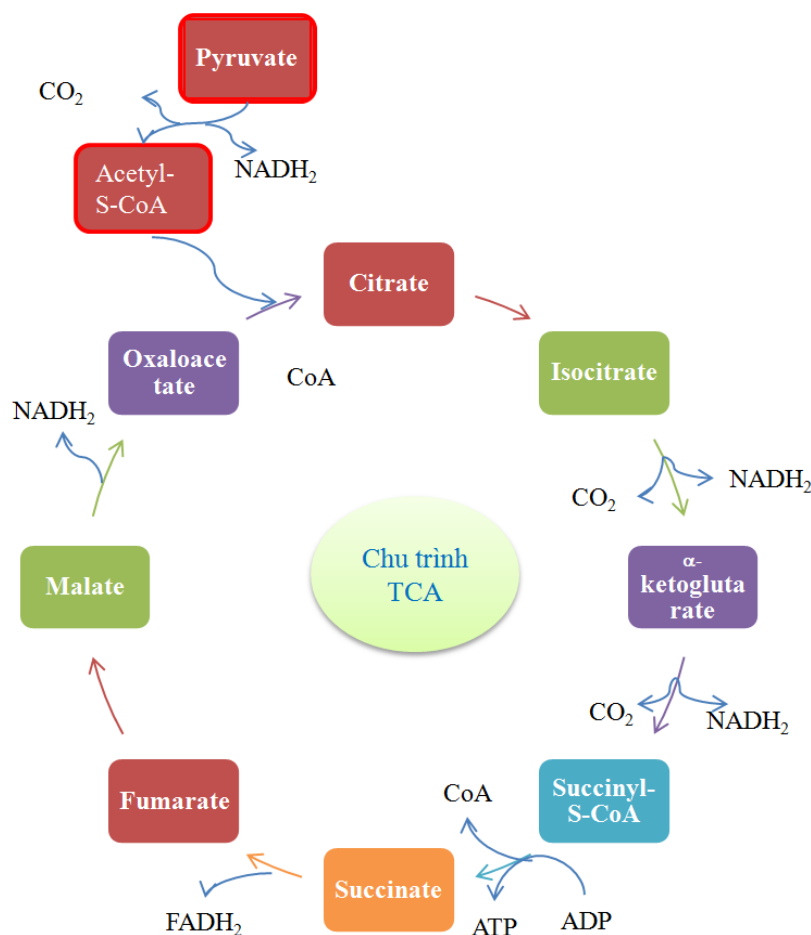
Hình 4.13. Sơ đồ minh họa kiểu hô hấp hiếu khí diễn ra trong tế bào. Glucose qua chu trình TCA bị oxi hóa thành CO₂. Hầu hết các electron được di chuyển từ glucose nhờ NAD và đưa vào hệ chuyển điện tử ở màng tế bào. Chất nhận điện tử sau cùng là O₂ sẽ bị khử thành H₂O. Thế động học proton (PMF) được thiết lập trên màng là kết quả của quá trình chuyển điện tử. PMF kích thích tổng hợp ATP trong quá trình phosphoryl hóa oxi hóa.

Ban đầu pyruvate bị oxi hóa và bị khử nhóm carboxyl trong một phức hợp phản ứng có liên quan đến NAD, Coenzyme A và enzyme pyruvate dehydrogenase (pyruvate decarboxylase), để hình thành phân tử trung tâm là Acetyl CoA. Acetyl CoA cô đặc với hợp chất 4C, oxalacetic acid, để hình thành chất trung gian bền vững đầu tiên của chu trình TCA là 6C - citric acid (hay citrate), tricarboxylic acid. Citrate được đồng phân hóa thành isocitrate. Chất này được oxi hóa và khử nhóm carboxyl thành alpha-ketoglutarate (akg). Alpha ketoglutarate dehydrogenase sử dụng CoA và NAD để oxi hóa akg thành succinyl CoA trong một phản ứng tương tự với phản ứng pyruvate dehydrogenase ở trên. Succinyl CoA được chuyển đổi thành succinate trong quá trình phosphoryl hóa ở mức cơ chất tạo ra GTP năng lượng cao (tương đương với ATP). Pyruvate bị khử hoàn toàn nhóm carboxyl để hình thành 3 CO₂. Ba bước còn lại trong chu trình TCA oxi hóa hoàn toàn succinate và tạo ra oxalacetate cần thiết cho chu trình này. Trong quá trình oxi hóa pyruvic acid thành 3 CO₂, một vòng chu trình TCA sẽ tạo ra 4 NADH₂, 1 FADH₂ và 1

ATP (thực tế là GTP). Do chu trình TCA là một con đường hai hướng quan trọng, nên một số chất trung gian của chu trình này có thể được rút ra cho quá trình đồng hóa hay còn gọi là sinh tổng hợp.

Phản ứng chung cho sự hô hấp hiếu khí phân tử glucose là: $\text{Glucose} + 6 \text{ O}_2 \rightarrow 6 \text{ CO}_2 + 6 \text{ H}_2\text{O} + 688 \text{ kcal (tổng)}$.

Có thể viết: $\text{Glucose} \rightarrow 6 \text{ CO}_2 + 10 \text{ NADH}_2 + 2 \text{ FADH}_2 + 4 \text{ ATP}$ (2NADH₂ từ glyco giải, 8 NADH₂ từ 2 vòng TCA, 2 FADH₂ từ 2 vòng TCA; 2 ATP (ròng) từ glyco giải, 2 ATP (GTP) từ 2 vòng TCA)



Ở *E. coli*, 2 ATP qua NADH₂ được tạo ra cho mỗi cặp điện tử được đưa vào ETS. Một ATP qua FADH₂ được tạo ra cho một cặp điện tử được đưa vào. Vì vậy phương trình có thể viết: $\text{Glucose} + 6 \text{ O}_2 \rightarrow 6 \text{ CO}_2 + 6 \text{ H}_2\text{O} + 20 \text{ ATP (ETP)} + 2 \text{ ATP (ETP)} + 4 \text{ ATP (SLP)} + 688 \text{ kcal (tổng)}$.

Hình 4.14. Minh họa chu trình tricarboxylic acid (TCA) hay chu trình Krebs.

Do tổng 26 ATP được hình thành trong quá trình phóng thích 688 kcal năng lượng, nên hiệu suất của quá trình hô hấp là $26 \times 8/688$ hay khoảng 30%. Ở *Pseudomonas* (hoặc mitochondria), do tính chính xác của ETS, 3 ATP qua NADH₂ được tạo ra cho mỗi cặp điện tử được chuyển vào ETS và 2 ATP qua FADH₂ được tạo ra cho một cặp điện tử được đưa vào. Vì vậy phản ứng chung ở *Pseudomonas* khi sử dụng các

con đường dị hóa như ở *E. coli*, thì $\text{Glucose} + 6 \text{O}_2 \rightarrow 6 \text{CO}_2 + 6 \text{H}_2\text{O} + 38 \text{ATP} + 688 \text{kcal}$ (tổng) cho hiệu suất tương ứng khoảng 45 %.

Sự hô hấp trong một số trường hợp có thể sử dụng các chất nhận điện tử khác ngoài oxygen (O_2). Kiểu hô hấp này không có oxygen được gọi là hô hấp kỵ khí. Mặc dù hô hấp kỵ khí phức tạp hơn nhưng ở hình thức đơn giản nhất, quá trình hô hấp này sử dụng một số hợp chất khác hơn là O_2 dùng làm chất nhận điện tử cuối trong chuỗi chuyển điện tử. Chất nhận điện tử được sử dụng cho hô hấp hoặc sinh khí methan (một kiểu tương tự như sự tạo năng lượng ở khuẩn cổ) được mô tả ở Bảng 4.3.

Bảng 4.3. Chất nhận điện tử cho hô hấp và sinh khí methan ở prokaryote.

Chất nhận điện tử cuối	Khử sản phẩm cuối	Tên quá trình	Tên vi sinh vật
O_2	H_2O	Hô hấp hiếu khí	<i>Escherichia</i> , <i>Streptomyces</i>
NO_3	NO_2 , N_2O hoặc N_2	Hô hấp kỵ khí: khử nitrate (denitrification)	<i>Bacillus</i> , <i>Pseudomonas</i>
SO_4	S hoặc H_2S	Hô hấp kỵ khí: khử sulfate	<i>Desulfovibrio</i>
Fumarate	Succinate	Hô hấp kỵ khí: Sử dụng chất nhận điện tử là hữu cơ	<i>Escherichia</i>
CO_2	CH_4	Sinh khí methan	<i>Methanococcus</i>

Sinh khí methan sinh học tạo ra nguồn khí methan tự nhiên trên trái đất. Methan được bảo tồn dưới dạng nhiên liệu hóa thạch nhờ được sản sinh và lưu giữ dưới những điều kiện yếm khí. Oxygen cần thiết để oxi hóa CH_4 . Thực ra sự sinh khí methan không phải là một dạng hô hấp kỵ khí, nhưng nó là một kiểu của biến dưỡng tạo năng lượng đòi hỏi chất nhận điện tử bên ngoài ở dạng CO_2 . Methan là khí gây hiệu ứng nhà kính đáng kể do được sinh ra trong tự nhiên với số lượng tương đối lớn và khí này hấp thu nhiệt cao hơn CO_2 gấp 15 lần.

4.2.6. Khử nitrate

Khử nitrate (denitrification) là một quá trình quan trọng trong nông nghiệp do quá

trình này chuyển NO_3 từ đất. NO_3 là nguồn phân nitrogen chủ yếu trong nông nghiệp. Hầu hết một phần ba chi phí trong một số vụ canh tác cây trồng nằm ở phân nitrate. Một số vi khuẩn sử dụng nitrate làm chất nhận điện tử trong hô hấp, nitrate thường được lựa chọn để thay thế việc sử dụng oxygen. Vì vậy vi khuẩn đất như *Pseudomonas* sẽ sử dụng O_2 làm chất nhận điện tử nếu chúng có sẵn trong đất và không màng tới NO_3 . Đây là lý do căn bản để duy trì sự thông khí tốt cho đất như cày và xới. *E. coli* sẽ sử dụng NO_3 (cũng như fumarate) làm chất nhận điện tử trong hô hấp và vì vậy vi khuẩn này có thể hô hấp trong môi trường kỵ khí ở đường ruột.

Trong số các sản phẩm khử nitrate, N_2O là một sản phẩm chính cần quan tâm vì chất này sẽ gây hiệu ứng nhà kính và có khả năng hấp thu nhiệt gấp 300 lần so với CO_2 . Trong hô hấp vi khuẩn khử nitrate sử dụng N_2O làm chất nhận điện tử để tạo N_2 và vì vậy làm giảm mức N_2O , mặc dù điều này không làm cải thiện hơn sự khử nitrate trong đất.

4.2.7. Khử sulfate

Khử sulfate không phải là sự lựa chọn thay thế cho việc sử dụng O_2 như là chất nhận điện tử. Khử sulfate là quá trình bắt buộc chỉ xảy ra dưới những điều kiện kỵ khí. Vi khuẩn sinh khí methan và vi khuẩn khử sulfate có thể cùng chia sẻ môi trường sống, đặc biệt trong các khu vực trầm tích kỵ khí như ao hồ, nơi sinh khí methan và hydrogen sulfide.

Vi khuẩn hô hấp kỵ khí và vi khuẩn sinh khí methan đóng vai trò thiết yếu trong các chu trình sinh học carbon, nitrogen và sulfur. Nhìn chung các vi khuẩn này biến đổi các dạng oxi hóa của các nguyên tố thành trạng thái khử. Prokaryote vô cơ hóa dưỡng biến dưỡng các dạng khử của nitrogen và sulfur thành trạng thái oxi hóa để tạo năng lượng. Ở vi khuẩn methan dưỡng (methanotrophic bacteria) có enzyme duy nhất là monooxygenase có thể oxi hóa methane để tạo năng lượng. Tất cả các nhóm này của prokaryote có vai trò trong tiểu chu trình (minicycle) các nguyên tố trong hệ sinh thái.

4.2.8. Biến dưỡng vô cơ dưỡng

Vô cơ dưỡng (lithotrophy) là sự sử dụng hợp chất vô cơ làm nguồn năng lượng. Hầu hết vi khuẩn vô cơ dưỡng là những vi khuẩn hô hấp hiếu khí tạo năng lượng, tương tự như vi sinh vật hô hấp hiếu khí ở chỗ, chúng di chuyển điện tử từ cơ chất và đưa vào

hệ chuyển điện tử để tạo ATP nhờ phosphoryl hóa chuyển điện tử. Vi khuẩn vô cơ dưỡng chỉ khác vi sinh vật hô hấp ở chỗ là lấy điện tử từ chất vô cơ thay vì từ chất hữu cơ.

Một số vi khuẩn vô cơ dưỡng thuộc nhóm vô cơ dưỡng kỵ khí tùy nghi, nghĩa là chúng có thể sử dụng các hợp chất hữu cơ làm nguồn năng lượng. Các vi khuẩn vô cơ dưỡng khác không sử dụng các hợp chất hữu cơ làm nguồn năng lượng; trong thực tế chúng sẽ không vận chuyển các chất hữu cơ. CO₂ là nguồn carbon duy nhất cho vi khuẩn sinh khí methan, vi khuẩn khử nitrate và một số ít loài khác phân tán ở nhiều nhóm khác. Các vi khuẩn vô cơ dưỡng này thường được gọi bằng tên khác là vi khuẩn hóa tự dưỡng (chemoautotroph). Tuy nhiên thuật ngữ vi khuẩn vô cơ tự dưỡng (lithoautotroph) là sự mô tả chuẩn xác hơn cho kiểu biến dưỡng này. Vi khuẩn vô cơ dưỡng là nhóm rất đa dạng của prokaryote. Chúng chỉ hợp nhất ở chỗ khả năng oxi hóa chất vô cơ làm nguồn năng lượng.

Bảng 4.4. Các nhóm sinh lý của vi khuẩn vô cơ dưỡng.

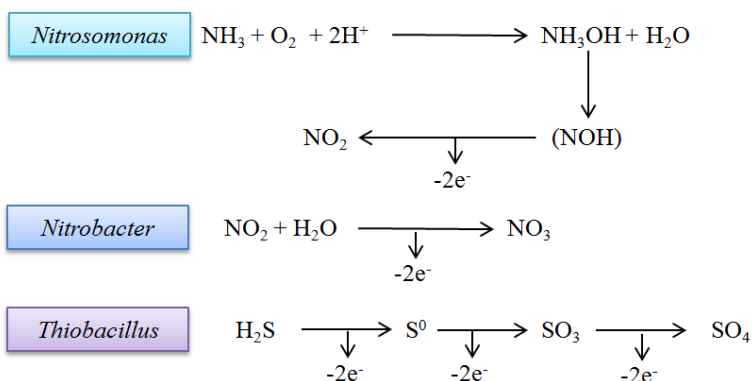
Nhóm sinh lý	Nguồn năng lượng	Sản phẩm cuối bị oxi hóa	Vi sinh vật
Vi khuẩn hydrogen	H ₂	H ₂ O	<i>Alcaligenes, Pseudomonas</i>
Vi khuẩn sinh methan	H ₂	H ₂ O	<i>Methanobacterium</i>
Carboxydobacteria	CO	CO ₂	<i>Rhodospirillum, Azotobacter</i>
Vi khuẩn nitrate hóa*	NH ₃	NO ₂	<i>Nitrosomonas</i>
Vi khuẩn nitrate hóa*	NO ₂	NO ₃	<i>Nitrobacter</i>
Vi khuẩn oxi hóa sulfur	H ₂ S hoặc S	SO ₄	<i>Thiobacillus, Sulfolobus</i>
Vi khuẩn sắt	Fe ²⁺	Fe ³⁺	<i>Gallionella, Thiobacillus</i>

* Quá trình tổng thể nitrate hóa là biến đổi NH₃ thành NO₃, đòi hỏi phải có sự kết hợp của nhiều vi sinh vật.

Vô cơ dưỡng là kiểu biến dưỡng được vi khuẩn và cổ khuẩn tiến hành. Nếu chúng ta xem oxi hóa H₂ để tạo methan là một dạng vô cơ dưỡng, thì hầu hết các cổ khuẩn là nhóm vô cơ dưỡng. Vi khuẩn vô cơ dưỡng thường được tổ chức thành các nhóm sinh lý khác nhau dựa trên cơ chất mà chúng sử dụng để sản sinh năng lượng và tăng trưởng.

Bảng 4.4 liệt kê một số nhóm vi khuẩn vô cơ dưỡng được xếp cụm dựa vào đặc tính sinh lý của chúng.

Vi khuẩn biến dưỡng hydrogen (hydrogen bacteria) oxi hóa khí H_2 làm nguồn năng lượng. Chúng là những vi khuẩn vô cơ dưỡng kỵ khí tùy nghi như *Pseudomonads*, có enzyme hydrogenase dùng để oxi hóa H_2 và chuyển điện tử vào ETS trong quá trình hô hấp của chúng. Vi khuẩn này sẽ sử dụng H_2 nếu chúng tìm thấy chất này trong môi trường. Thậm chí chúng là những vi sinh vật dị dưỡng (heterotrophic) điển hình. Thực vậy hầu hết vi khuẩn biến dưỡng hydrogen linh hoạt về khả năng sử dụng nhiều nguồn carbon và năng lượng. Một số vi khuẩn biến dưỡng hydrogen có NAD liên kết với enzyme hydrogenase chuyển điện tử từ H_2 đến NAD trong quá trình chỉ gồm một bước. Sau đó NAD chuyển điện tử vào ETS. Các vi khuẩn khác có enzyme hydrogenase chuyển điện tử đến các thể mang khác nhau trong hệ chuyển điện tử của vi khuẩn.



Hình 4.15. Oxi hóa vô cơ dưỡng của vi khuẩn nitrate hóa và vi khuẩn oxi hóa sulfide và Cổ khuẩn.

Vi khuẩn sinh methan thường được xem là nhóm chính của vi khuẩn biến dưỡng hydrogen và ngày nay chúng được khám phá là Cổ khuẩn (Archaea). Vi khuẩn sinh methan có khả năng oxi hóa H_2 làm nguồn năng lượng duy nhất trong lúc chuyển điện tử từ H_2 sang CO_2 trong quá trình khử H_2 thành methan. Rõ ràng H_2 có nhiều năng lượng hơn CH_4 . Biến dưỡng sinh khí methan là kiểu biến dưỡng độc nhất vô nhị, vi khuẩn sinh khí methan đại diện cho nhóm phổ biến và đa dạng nhất của Cổ khuẩn. Vi khuẩn sinh khí methan sử dụng H_2 và CO_2 để tạo vật liệu tế bào và tạo methan. Chúng có coenzyme và có quá trình chuyển điện tử độc nhất. Kiểu biến dưỡng tạo năng lượng này của chúng chưa bao giờ nhìn thấy ở vi khuẩn và cơ chế tự dưỡng cố định CO_2 của chúng thì rất hiếm gặp ngoại trừ ở vi khuẩn sinh khí methan.

Vi khuẩn biến dưỡng CO (Carboxydobacteria) là những vi khuẩn có khả năng oxi

hóa CO (carbon monoxide) thành CO₂, sử dụng enzyme carbon monoxide dehydrogenase (CODH). Carboxydobacteria là vi khuẩn sử dụng CO không bắt buộc, ví dụ một số trong chúng cũng là vi khuẩn biến dưỡng hydrogen và một số là vi khuẩn quang dưỡng (phototrophic). Điều thú vị là enzyme CODH được vi khuẩn carboxydobacteria sử dụng để oxi hóa CO thành CO₂. Enzyme này cũng được vi khuẩn sử dụng trong phản ứng đảo ngược là khử CO₂ thành CO trong quá trình cố định CO₂ bằng con đường CODH (Hình 4.23). Vi khuẩn nitrate hóa (nitrifying bacteria) có hai giống đại diện đó là *Nitrosomonas* và *Nitrobacter*. Chúng phối hợp với nhau để oxi hóa NH₃ thành NO₃, quá trình này gọi là nitrate hóa (nitrification). Không có một vi sinh vật đơn lẻ nào có thể tiến hành cả quá trình oxi hóa này. *Nitrosomonas* oxi hóa ammonia thành NO₂ và *Nitrobacter* oxi hóa NO₂ thành NO₃. Hầu hết vi khuẩn nitrate hóa thuộc nhóm vô cơ tự dưỡng bắt buộc, ngoại trừ một vài chủng *Nitrobacter* sử dụng được acetate, cố định CO₂ sử dụng enzyme RUBP carboxylase và chu trình Calvin. Vi khuẩn nitrate hóa phát triển trong môi trường giàu ammonia, nơi diễn ra sự phân hủy rộng rãi protein. Nitrate hóa trong đất và trong môi trường thủy sinh là một phần thiết yếu của chu trình nitrogen.

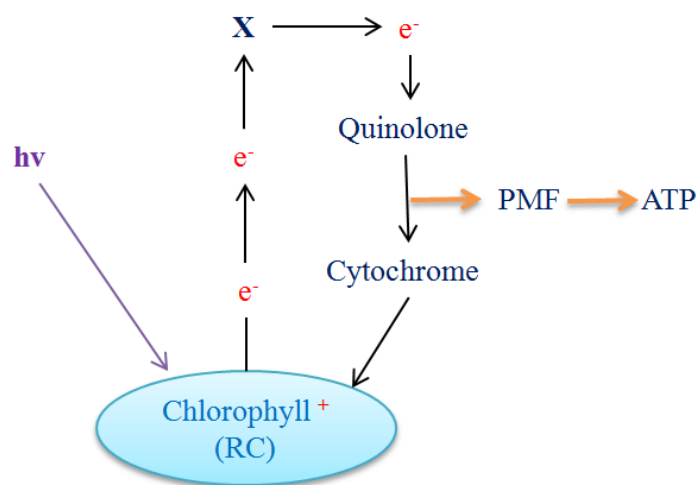
Vi khuẩn vô cơ dưỡng oxi hóa sulfur (Lithotrophic sulfur oxidizer) gồm cả vi khuẩn (ví dụ *Thiobacillus*) và Cổ khuẩn (ví dụ *Sulfolobus*). Vi khuẩn oxi hóa sulfur có khả năng oxi hóa H₂S (sulfide) hoặc nguyên tố lưu huỳnh (S) làm nguồn năng lượng. Tương tự như vậy, vi khuẩn lưu huỳnh tía và xanh oxi hóa H₂S hoặc S như là chất cho điện tử cho quang tổng hợp và sử dụng các điện tử này để cố định CO₂, đây là phản ứng trong pha tối của quang tổng hợp. Tự dưỡng bắt buộc gần như là phương thức biến dưỡng hoàn toàn trong số vi sinh vật nitrate hóa và đa dạng trong số vi khuẩn oxi hóa sulfur. Vi khuẩn vô cơ dưỡng oxi hóa sulfur được tìm thấy trong môi trường giàu H₂S như suối nước nóng từ núi lửa, lỗ phun ở núi lửa và lỗ phun nhiệt ở biển sâu. Một số trong nhóm này được phát hiện như là vi sinh vật cộng sinh (symbiont) và nội cộng sinh (endosymbiont) trong sinh vật bậc cao. Do chúng có thể tạo năng lượng từ chất vô cơ và cố định CO₂ như là vi sinh vật tự dưỡng, nên chúng có thể đóng vai trò sản xuất chính trong các môi trường thiếu ánh sáng. Vi khuẩn vô cơ dưỡng oxi hóa sulfur tạo sulfuric

acid (SO_4^{2-}) trong quá trình oxi hóa vô cơ dưỡng và vì vậy có khuynh hướng acid hóa môi trường mà chúng sống. Một số vi khuẩn oxi hóa sulfur là nhóm ưa acid (acidophile) chúng có khả năng tăng trưởng ở $\text{pH} \leq 1$. Một số là vi khuẩn ưa nhiệt cao (hyperthermophile), chúng có thể tăng trưởng ở nhiệt độ 115°C .

Vi khuẩn biến dưỡng sắt (Iron bacteria) là vi khuẩn có khả năng oxi hóa Fe^{++} (sắt II) thành Fe^{+++} (sắt III). Ít nhất có hai vi khuẩn có khả năng oxi hóa Fe^{++} làm nguồn năng lượng và/hoặc điện tử và có khả năng tăng trưởng theo cách vô cơ tự dưỡng đó là vi khuẩn có cuống *Gallionella* và *Thiobacillus ferrooxidans* cũng thuộc nhóm vô cơ dưỡng oxi hóa sulfur.

4.2.9. Biến dưỡng quang dưỡng

Quang dưỡng (phototrophy) là việc sử dụng ánh sáng làm nguồn năng lượng cho tăng trưởng, đó là sự chuyển đổi năng lượng ánh sáng thành năng lượng hóa học dưới dạng ATP. Prokaryote có thể chuyển đổi năng lượng ánh sáng thành năng lượng hóa học gồm khuẩn lam quang tổng hợp, khuẩn tía và xanh và cổ khuẩn ưa muối (halobacteria). Khuẩn lam tiến hành quang tổng hợp giống như thực vật, được gọi là quang tổng hợp có oxygen (oxygenic photosynthesis). Khuẩn tía và xanh tiến hành quang tổng hợp vi khuẩn hay là quang tổng hợp không tạo ra oxygen (anoxygenic photosynthesis). Cổ khuẩn ưa



mặn cực đoan sử dụng kiểu quang phosphoryl hóa không phải là quang tổng hợp (nonphotosynthetic photophosphorylation) qua trung gian bacteriorhodopsin để chuyển năng lượng ánh sáng thành ATP.

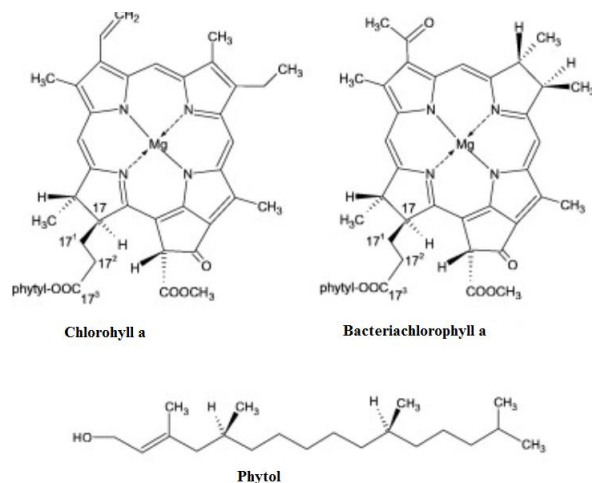
Hình 4.16. Sơ đồ minh họa Hệ quang I: sơ đồ chu trình điện tử tuần hoàn ghép với quang

phosphoryl hóa.

Quang tổng hợp (Photosynthesis) là sự chuyển đổi năng lượng ánh sáng thành năng lượng hóa học có thể được sử dụng để hình thành vật liệu tế bào từ nguồn CO_2 .

Quang tổng hợp là một kiểu biến dưỡng tách biệt với thành phần dị hóa và đồng hóa. Thành phần dị hóa của quang tổng hợp là phản ứng sáng, nhờ đó ánh sáng được chuyển thành năng lượng điện, sau đó thành năng lượng hóa học. Thành phần dị hóa có liên quan đến cố định CO_2 và CO_2 được sử dụng làm nguồn carbon cho tăng trưởng. Quá trình này được gọi là phản ứng tối. Ở các prokaryote quang tổng hợp, có hai kiểu quang tổng hợp và hai kiểu cố định CO_2 .

Phản ứng sáng phụ thuộc vào sự hiện diện của chlorophyll, sắc tố cơ bản thu nhận ánh sáng nằm ở màng sinh vật quang tổng hợp. Sự hấp thu lượng tử (quantum) ánh sáng qua phân tử chlorophyll làm dịch chuyển điện tử ở trung tâm phản ứng. Điện tử dịch chuyển này là nguồn năng lượng được chuyển qua hệ thống chuyển điện tử quang tổng hợp trên màng, điện tử được chuyển liên tục từ protein có lưu huỳnh và sắt (X) đến quinone, đến cytochrome và chuyển lại chlorophyll (Hình 4.16). Khi điện tử được vận chuyển thì động lực proton (PMF) sẽ được thiết lập trên màng và ATP được tổng hợp nhờ enzyme ATPase. Kiểu biến đổi năng lượng ánh sáng này thành năng lượng hóa học được gọi là quang phosphoryl hóa vòng (cyclic photophosphorylation).

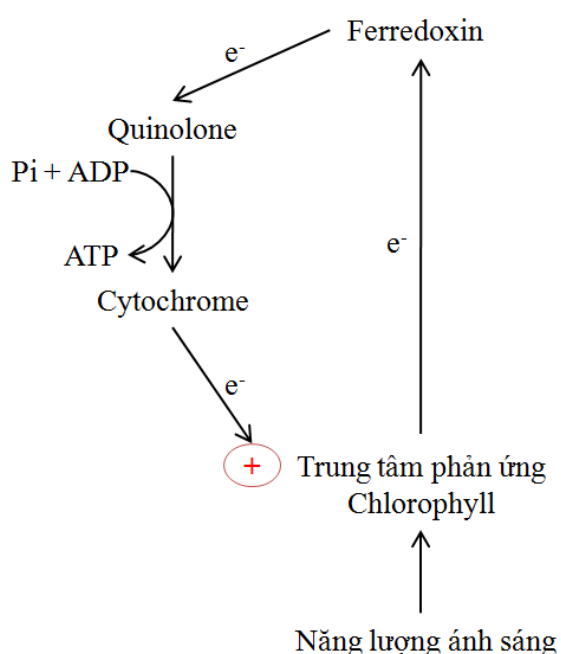


Hình 4.17. Cấu trúc hoá học của Chlorophyll a và bacteriochlorophyll a.

Thành phần chức năng của hệ quang hóa (photochemical system) gồm sắc tố thu nhận ánh sáng, hệ chuyển điện tử trên màng và enzyme ATPase. Hệ chuyển điện tử quang tổng hợp về cơ bản thì tương tự như hệ chuyển điện tử (ETS) ở hô hấp, ngoại trừ chất nhận điện tử có thể oxi hóa khử thấp (ví dụ ferredoxin) tại đỉnh (điểm cuối có thể oxi hóa khử thấp) của chuỗi chuyển điện tử, mà trước tiên bị khử do sự dịch chuyển điện tử từ chlorophyll.

Một số kiểu sắc tố được phân bố trong một số vi sinh vật quang dưỡng. Chlorophyll là một sắc tố chủ yếu thu nhận ánh sáng ở tất cả các sinh vật quang tổng hợp. Chlorophyll là một tetrapyrrole chứa magnesium tại vòng trung tâm porphyrin.

Nó có chuỗi bên dài kỵ nước liên kết với màng quang tổng hợp. Khuẩn lam có chlorophyll a giống như ở thực vật và tảo. Các chlorophyll của vi khuẩn tía và xanh được gọi là bacteriochlorophyll (chlorophyll vi khuẩn) có cấu trúc hóa học khác với chlorophyll do thay thế các chuỗi bên. Điều này phản ánh phổ hấp thu ánh sáng của chúng. Chlorophyll a hấp thu ánh sáng trong hai vùng của phổ, vùng thứ nhất trong khoảng bước sóng 450nm và vùng còn lại trong khoảng bước sóng từ 650 - 750nm. Các chlorophyll của vi khuẩn hấp thu trong vùng có bước sóng từ 800 - 1000nm là vùng cận đỏ của phổ.

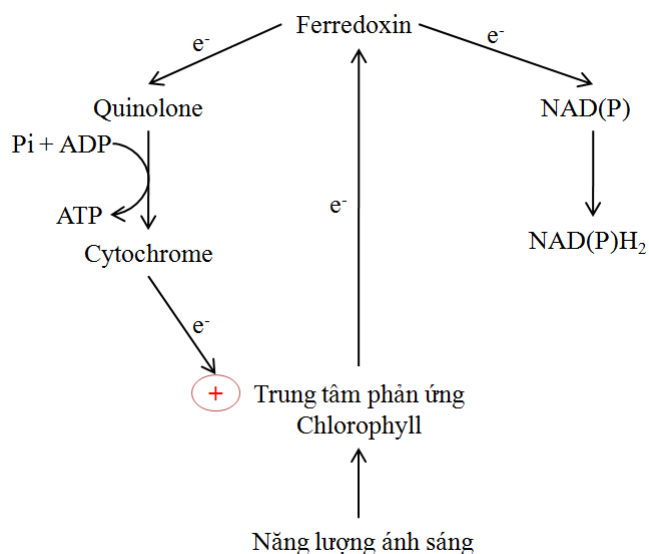


Hình 4.18. Sơ đồ minh họa chuyển điện tử vòng trong quá trình quang tổng hợp không sinh oxygen. Các phân tử carotenoid và chlorophyll tụm lại tại trung tâm phản ứng thu nhận lượng tử ánh sáng. Phân tử chlorophyll của vi khuẩn bị oxi hóa tức thì do mất một điện tử. Năng lượng ánh sáng được sử dụng để đẩy điện tử vào chất trung gian có thể oxy hóa khử thấp là ferredoxin (hoặc một số protein sulfur sắt khác) chất này có thể đưa điện tử vào hệ chuyển điện tử quang tổng hợp nằm ở màng. Khi điện tử

được chuyển vào ETS, một động lực proton được thiết lập và PMF này được sử dụng để tạo ATP trong quá trình phosphoryl hóa. Cytochrome ở cuối ETS sẽ chuyển điện tử về chlorophyll. Do năng lượng ánh sáng làm cho các điện tử di chuyển vòng trong một chu trình, khi đó ATP được tổng hợp nên quá trình này được gọi là quang phosphoryl hóa vòng. So với quang tổng hợp ở vi khuẩn với sơ đồ vận hành ở Hệ quang I tại Hình 4.16. Quang tổng hợp ở vi khuẩn chỉ sử dụng Hệ quang I để biến đổi năng lượng ánh sáng thành năng lượng hóa học.

Chlorophyll có một phần chức năng cho thu nhận ánh sáng tại trung tâm phản ứng quang hóa. Năng lượng của một photon ánh sáng được hấp thu nhờ một phân tử

chlorophyll đặc biệt tại trung tâm phản ứng, phân tử này sẽ bị oxi hóa tức thì bởi chất nhận điện tử ở gần đó có thể oxi hóa khử thấp. Năng lượng hiện diện trong photon ánh sáng được bảo tồn ở dạng điện lượng (electrical charge) tách biệt. Khi tế bào cần, điện lượng này có thể được sử dụng để tạo một gradient proton cho tổng hợp ATP.

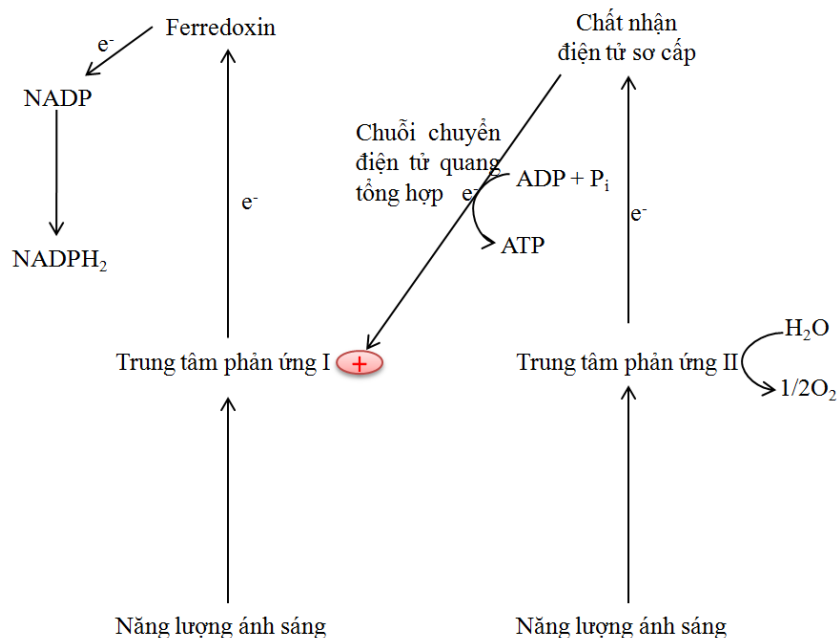


Hình 4.19. Sơ đồ bình thường chuyển điện tử vòng trong quá trình quang tổng hợp của vi khuẩn phải được mở ra để thu nhận điện tử cho cố định CO₂. Ở trường hợp vi khuẩn tía sulfur, chúng sử dụng H₂S làm nguồn điện tử. Sự oxi hóa H₂S được ghép với PSI. Năng lượng ánh sáng đẩy điện tử có nguồn gốc từ H₂S lên mức ferredoxin, chất này khử NADP cung

cấp các điện tử cho cố định CO₂ tự dưỡng.

Hệ quang I và các cơ chế của phosphoryl hóa vòng được vận hành ở thực vật, tảo và khuẩn lam, y như vận hành trong quang tổng hợp của vi khuẩn. Ở quang tổng hợp thực vật, chlorophyll a là kiểu chlorophyll chính tại trung tâm phản ứng. Đặc điểm chính xác của chất nhận điện tử sơ cấp (đó là X hoặc ferredoxin) và các thành phần của ETS thì khác với quang tổng hợp ở vi khuẩn. Nhưng cơ chế cơ bản của quang phosphoryl vòng thì tương tự nhau. Tuy nhiên khi điện tử phải rút lui khỏi Hệ quang I (ferredoxin--e⁻ → NADP ở phần trên bên trái Hình 20), thì các điện tử sẽ được bù vào nhờ vận hành của Hệ quang II. Ở Trung tâm phản ứng của PSII, phản ứng giữa ánh sáng, chlorophyll và nước H₂O sẽ làm di chuyển điện tử ra khỏi H₂O (hình thành O₂) và chuyển các điện tử này vào một thành phần của Hệ chuyển điện tử của quang tổng hợp (đó chính là chất nhận điện tử sơ cấp). Sau đó các điện tử này được chuyển đến chuỗi các chất mang điện tử gồm cytochrome và quinone cho đến khi chúng đến được chlorophyll ở PSI. Kết quả là làm sụt thế oxi hóa khử cho phép tổng hợp ATP trong một quá trình gọi là quang phosphoryl hóa không vòng. Sự vận hành của Hệ quang II trong quang tổng hợp ở thực

vật là điểm khác nhau căn bản so với quang tổng hợp ở vi khuẩn. Hệ quang II giải thích cho nguồn chất khử đối với cố định CO_2 (được H_2O cung cấp), sản sinh O_2 và tổng hợp ATP nhờ quá trình gọi là quang phosphoryl hóa không vòng.



Hình 4.20 . Sơ đồ chuyển điện tử quang tổng hợp ở thực vật (có tạo ra oxygen).

Carotenoid luôn luôn liên quan đến bộ máy quang tổng hợp. Chúng đóng vai trò như là những sắc tố thứ hai thu nhận, hấp thu ánh sáng trong vùng xanh lam - xanh lá có

bước sóng từ 400 - 550 nm. Carotenoid chuyển năng lượng tới chlorophyll với hiệu suất gần 100%. Thêm vào đó carotenoid có chức năng rất cần thiết để bảo vệ bộ máy quang tổng hợp khỏi sự hư hỏng do quang oxi hóa. Carotenoid có các chuỗi hydrocarbon bên dài tiếp giáp với hệ nối đôi. Carotenoid dập tắt sức mạnh của gốc oxygen, oxygen mức đơn (singlet oxygen), là một dạng xoygen ở mức năng lượng cao, các chất này luôn được tạo ra trong phản ứng giữa chlorophyll và phân tử oxygen (O_2). Một số vi khuẩn gây bệnh không có quang tổng hợp, ví dụ như *Staphylococcus aureus*, sản sinh carotenoid để bảo vệ tế bào khỏi sự oxi hóa gây chết do oxy mức đơn trong các thực bào tạo ra.

Phycobiliprotein là các sắc tố thu nhận ánh sáng chủ yếu của khuẩn lam. Các sắc tố này cũng xuất hiện trong một số nhóm tảo. Sắc tố phycobiliprotein có thể có màu đỏ hay xanh lam, hấp thu ánh sáng trong vùng phổ giữa, có bước sóng giữa 550 và 650 nm. Phycobiliprotein gồm các protein có phycobilin gồm bốn pyrrole thẳng có cầu nối cộng hóa trị. Phycobiliprotein được chứa trong các thể hạt gọi là phycobilisome, có liên quan mật thiết với bộ máy quang tổng hợp. Do có liên kết gần với chlorophyll nên chúng có

thể chuyển năng lượng ánh sáng một cách hiệu quả tới chlorophyll tại trung tâm phản ứng.

Tất cả các vi khuẩn quang dưỡng có khả năng tiến hành quang phosphoryl hóa vòng như mô tả ở Hình 4.16 - 4.19. Cơ chế chung này của quang phosphoryl hóa được gọi là Hệ quang I. Quang tổng hợp ở vi khuẩn chỉ sử dụng Hệ quang I (PSI). Tuy nhiên nhiều khuẩn lam tiến hóa cũng như tảo và thực vật có thêm hệ thu nhận ánh sáng được gọi là Hệ quang II (PSII). Hệ quang II được sử dụng để khử Hệ quang I khi các điện tử ra khỏi PSI để cố định CO₂. PSII chuyển các điện tử từ H₂O và tạo O₂ như mô tả ở Hình 4.20.

Hầu hết các prokaryote quang dưỡng là những vi sinh vật tự dưỡng bắt buộc hoặc tùy nghi. Điều này có nghĩa là chúng có thể cố định CO₂ như là nguồn carbon cho sự tăng trưởng. Khi oxi hóa chất hữu cơ tạo năng lượng, điện tử và CO₂ nhằm chuyển CO₂ thành vật liệu tế bào (CH₂O), đòi hỏi phải có năng lượng (ATP) và điện tử (khả năng khử). Phản ứng chung cho cố định CO₂ trong chu trình Calvin là:



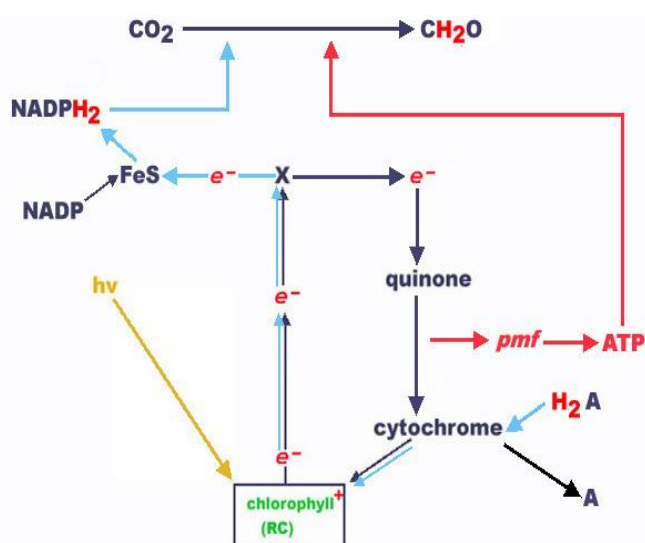
Các phản ứng pha sáng vận hành để tạo ATP cung cấp năng lượng cho các phản ứng trong pha tối cố định CO₂. Các phản ứng pha tối cũng cần chất khử (các điện tử). Các điện tử thường được cung cấp theo cách nối với các phản ứng sáng. Kiểu ghép các phản ứng sáng và tối của quang tổng hợp được minh họa ở Hình 4.21.

Sơ đồ chung cho sự tìm kiếm điện tử cho cố định CO₂ thì Hệ quang I cần phải mở ra cho các điện tử di chuyển, để cuối cùng điện tử sẽ được tiếp nhận tại NADP và chất này sẽ đưa điện tử vào phản ứng trong pha tối. Quang tổng hợp ở vi khuẩn có thể là quá trình khá phức tạp. Các điện tử được di chuyển từ Hệ quang I ở mức cytochrome, sau đó được chuyển qua hệ chuyển điện tử thuận nghịch có sử dụng năng lượng để vào protein sulfur sắt là ferredoxin, chất này khử NADP thành NADPH₂. Các điện tử bổ sung vào Hệ quang I đến từ quá trình oxi hóa chất cho (donor) điện tử cho quang tổng hợp nằm ở bên ngoài. Chất này có thể là H₂S, hợp chất sulfur khác, H₂ hoặc một số chất hữu cơ.

Trong quang tổng hợp thực vật, chất nhận điện tử quang tổng hợp là H₂O, chất này bị ly giải do hệ quang II, tạo O₂. Các điện tử từ H₂O di chuyển qua Hệ quang II đến Hệ

quang I được mô tả ở Hình 20. Các điện tử di chuyển khỏi Hệ quang I khử trực tiếp ferredoxin. Đến lượt ferredoxin chuyển điện tử đến NADP.

Sự khác nhau giữa quang tổng hợp thực vật và vi khuẩn được tóm tắt Bảng 4.5. Quang tổng hợp ở vi khuẩn là một quá trình không sinh oxy. Chất cho điện tử bên ngoài của quang tổng hợp ở vi khuẩn thì không bao giờ là nước H_2O và vì vậy vi khuẩn sulfur tía và xanh thì không bao giờ sản sinh ra O_2 trong quá trình quang tổng hợp. Hơn nữa quang tổng hợp ở vi khuẩn thường bị ức chế bởi O_2 và quá trình quang tổng hợp ở vi khuẩn chỉ xảy ra trong môi trường vi hiếu khí và kỵ khí. Các chlorophyll vi khuẩn sử



dụng ánh sáng ở các bước sóng dài hơn không được quang tổng hợp ở thực vật sử dụng và vì vậy chúng không cạnh tranh ánh sáng với sinh vật quang dưỡng sinh oxy. Vi khuẩn chỉ dùng phosphoryl hóa vòng (Hệ quang I) cho sự tổng hợp ATP và thiếu Hệ quang II.

Hình 4.21. Sơ đồ minh họa kiểu ghép của phản ứng ở pha sáng và pha tối của quang tổng hợp.

Trong khi quang tổng hợp là sự tiến hóa cao ở prokaryote, thì rõ ràng rằng nó có nguồn gốc ở vi khuẩn nhưng lại không lan rộng hoặc tiến hóa ở Cổ khuẩn. Cổ khuẩn vẫn giữ cách của chúng nhưng không có nghĩa là không có đại diện tiến hành kiểu quang phosphoryl hóa theo hướng ánh sáng. Các vi khuẩn ưa mặn cực đoan đó là cổ khuẩn sống trong các môi trường tự nhiên như Biển Chết và Hồ Muối Lớn (Great Salt Lake) có nồng độ muối rất cao (25 % $NaCl$). Cổ khuẩn này thích nghi được với môi trường muối cao là do chúng phát triển được màng màu tía, thực tế là những mảng sắc tố hấp thu ánh sáng trên màng tế bào chất. Sắc tố này là một dạng rhodopsin được gọi là bacteriorhodopsin. Chất này phản ứng với ánh sáng theo cách hình thành một gradient proton trên màng để cho phép tổng hợp ATP. Đây chỉ là một ví dụ trong tự nhiên về quang phosphoryl hóa không phải quang tổng hợp. Các vi sinh vật này là nhóm dị dưỡng, hô hấp bình thường

nhờ các phương tiện hiệu khí. Nồng độ NaCl cao trong môi trường mà chúng sống sẽ giới hạn hàm lượng O_2 sẵn có cho hô hấp vì vậy chúng có thể bổ sung khả năng tổng hợp ATP bằng cách biến đổi năng lượng ánh sáng thành ATP nhờ sử dụng bacteriorhodopsin.

Bảng 4.5. Sự khác nhau giữa thực vật và quang tổng hợp vi khuẩn.

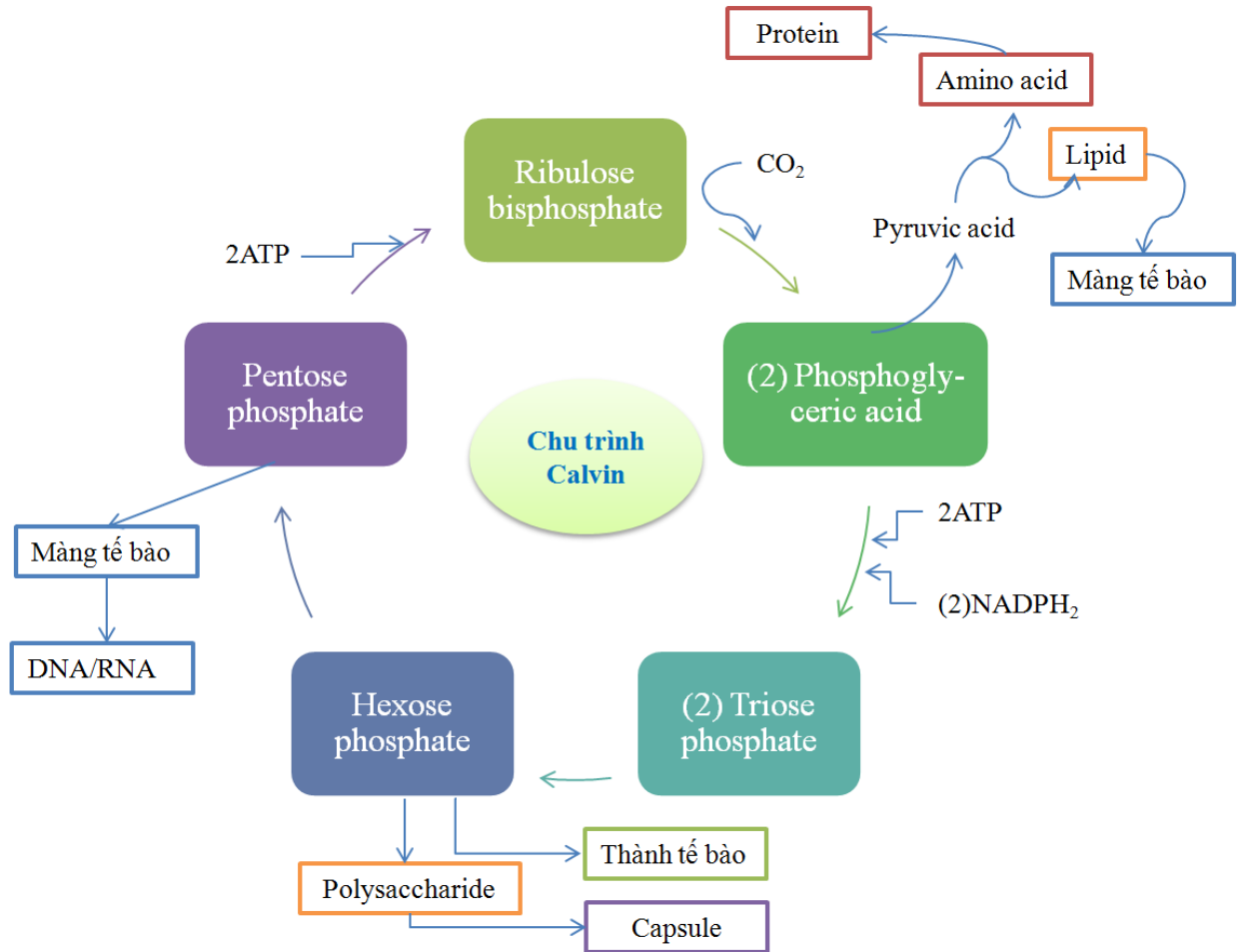
Sinh vật	Quang tổng hợp thực vật	Quang tổng hợp vi khuẩn
	Thực vật, tảo, khuẩn lam	Vi khuẩn tía và xanh
Kiểu chlorophyll	chlorophyll a hấp thu ở λ 650 - 750nm	Bacteriochlorophyll hấp thu ở λ 800 - 1000nm
Hệ quang I (Quang phosphoryl hóa vòng)	Hiện diện	Hiện diện
Hệ quang II (Quang phosphoryl hóa không vòng)	Hiện diện	Không
Tạo O_2	Có	Không
Chất nhận điện tử quang tổng hợp	H_2O	H_2S , các hợp chất sulfur hoặc một số hợp chất hữu cơ

4.3. Cố định CO_2 tự dưỡng

Sử dụng enzyme RUBP carboxylase và chu trình Calvin là cơ chế phổ biến nhất để cố định CO_2 trong một số vi sinh vật tự dưỡng. Thực tế enzyme RUBP carboxylase được cho là enzyme phong phú nhất trên hành tinh, đứng thứ hai là enzyme nitrogenase dùng để cố định N_2 . Đây chỉ là một cơ chế tự dưỡng cố định CO_2 trong số eukaryote và nó được sử dụng bởi tất cả khuẩn lam và khuẩn tía. Vi khuẩn vô cơ tự dưỡng cũng sử dụng con đường này. Nhưng vi khuẩn xanh và vi khuẩn sinh methan cũng như một số nhóm phân lập được của prokaryote lại có cơ chế lựa chọn khác để cố định CO_2 tự dưỡng và chúng cũng không sở hữu enzyme RUBP carboxylase.

Enzyme RUBP carboxylase (ribulose biphosphate carboxylase) sử dụng ribulose biphosphate (RUBP) và CO_2 như là đồng cơ chất. Trong một phản ứng phức tạp,

CO₂ được cố định bằng cách thêm vào RUBP, chất này ngay lập tức bị chẻ ra thành hai phân tử 3-phosphoglyceric acid (PGA). Cố định CO₂ sẽ kết thúc tại chức -COO của một trong các phân tử PGA. Thực tế đây là phản ứng khởi đầu chu trình Calvin (Hình 4.22).

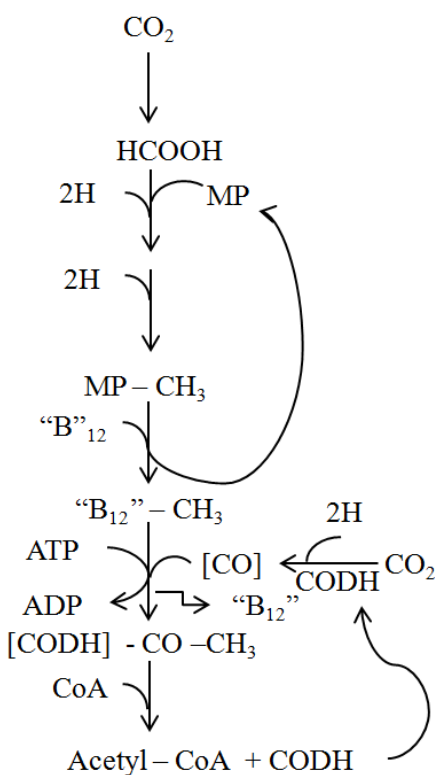


Hình 4.22. Sơ đồ minh họa chu trình Calvin và mối quan hệ trong tổng hợp vật liệu tế bào.

Chu trình Calvin biến đổi PGA thành các chất trung gian trong quá trình glyco giải có thể được sử dụng cho sinh tổng hợp và với việc sản sinh RUBP, cơ chất này đi vào chu trình. Sau khi cố định CO₂ bắt đầu, 2 PGA bị khử và kết hợp lại để hình thành hexose-phosphate nhờ các phản ứng cần thiết để đảo ngược con đường oxi hoá Embden-Meyerhof. (Hình 4.8, con đường E-M tại vị trí PGA và glucose-phosphate). Hexose phosphate được biến đổi thành thành pentose-phosphate, chất này được phosphoryl hóa

để tạo ra RUBP. Một chức năng quan trọng của chu trình Calvin đó là cung cấp các chất hữu cơ tiền thân cho sinh tổng hợp vật liệu tế bào. Các chất trung gian phải được rút ra thường xuyên từ chu trình Calvin để sản xuất vật liệu tế bào. Điều đáng quan tâm là chu trình Calvin là con đường đồng hóa. Sự cố định CO_2 thành glucose ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$) đòi hỏi có 18 ATP và 12 NADPH_2 .

Vi khuẩn sinh methan là nhóm vi khuẩn rất phong phú của prokaryote, sử dụng CO_2 làm nguồn carbon cho sự tăng trưởng và làm chất nhận điện tử cuối trong quá trình tạo năng lượng từ đó sản sinh ra khí methane. Nếu một cổ khuẩn sinh khí methan được cho ăn CO_2 có đánh dấu, thì có đến 95 % biến thành khí methane và chỉ có 5 % dùng để xây dựng vật liệu tế bào. Cổ khuẩn sinh methan cố định CO_2 nhờ enzyme CODH (carbon monoxide dehydrogenase) và con đường Acetyl CoA (Hình 4.23).

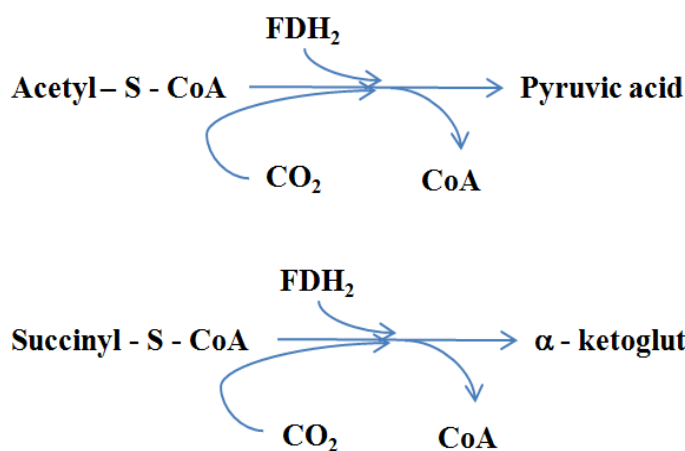


Con đường sinh methan khử CO_2 thành methyl (CH_3), trung gian qua coenzyme methanopterin (MP), liên quan với folic acid. MP-CH_3 có thể bị khử thành methan hoặc MP có thể bị thay thế bằng phân tử tương tự như vitamin B_{12} để đi vào con đường cố định CO_2 . " B_{12} "- CH_3 là cơ chất cho cố định CO qua trung gian CODH. CODH khử CO_2 thành CO và thêm CO vào phức hợp " B_{12} "- CH_3 để thành acetyl-[CODH]. Sau đó Coenzyme A (CoA) thay CODH để hình thành Acetyl CoA. Chất này là trung tâm của biến dưỡng sinh tổng hợp, nỗ lực kế tiếp là khử 2 CO_2 thành Acetyl CoA.

Hình 4.23. CODH hay con đường acetyl CoA của cố định CO_2 ở vi khuẩn sinh methan.

Cuối cùng, Khuẩn xanh quang tổng hợp, con đường cố định CO_2 tự dưỡng có liên quan đến các phản ứng tương tự như khử carboxyl đảo ngược xung quanh chu trình TCA. Hai phản ứng căn bản được Vi khuẩn Xanh sử dụng là hai phản ứng qua trung gian Ferredoxin (FD), khử Acetyl CoA thành pyruvate và khử succinyl CoA thành alpha-ketoglutarate. Điều này được cho là như chu trình TCA đảo ngược để hấp thụ CO_2 .

Các con đường trung tâm biến dưỡng (ví dụ như glyco giải và chu trình TCA), với một ít biến đổi, luôn luôn vận hành theo một hướng hoặc hướng khác ở tất cả sinh vật. Lý do - những con đường này cung cấp các tiền chất (precursor) cho sinh tổng hợp vật liệu tế bào. Khi một con đường, như con đường Embden-Meyerhof hoặc chu trình TCA, chức năng của chúng là cung cấp năng lượng và cùng với đó là các chất trung gian cho sự tổng hợp vật liệu tế bào, con đường này được xem như là con đường hai hướng (amphibolic pathway). Các con đường glyco giải và chu trình TCA là những con đường hai hướng vì chúng cung cấp năng lượng ATP và chất hóa học trung gian để xây dựng vật liệu tế bào mới. Các con đường biến dưỡng chính này và mối quan hệ giữa chúng với sinh tổng hợp



vật liệu tế bào được minh họa ở Hình 4.25.

Hình 4.24. Hai phản ứng qua trung gian ferredoxin (FD) được sử dụng để hấp thu CO₂ ở vi khuẩn xanh là sự đảo ngược của sự oxy hóa keto acid qua trung

gian NAD và CoA.

4.4. Sinh tổng hợp

Sinh tổng hợp hay biến dưỡng trung gian (biosynthesis/intermediary metabolism) là một chủ đề của sinh hóa, hơn là vi sinh vật học. Nó sẽ không giải quyết chi tiết ở đây. Các con đường biến dưỡng cơ bản của sinh tổng hợp thì tương tự ở tất cả sinh vật, theo cách giống như vậy sự ổng hợp protein hoặc cấu trúc DNA thì tương tự trong tất cả sinh vật. Khi sinh tổng hợp được tiến hành từ biến dưỡng trung tâm như mô tả ở hình Hình 4.25, thì một số tiền chất (precursor) chính cần thiết để tổng hợp các cấu trúc và thành phần tế bào prokaryote như sau:

(a). Capsule dạng polysaccharide hay thể vùi là các polymer của glucose và chất đường khác.

(b). Thành tế bào peptidoglycan (NAG và NAM) có nguồn gốc từ glucose

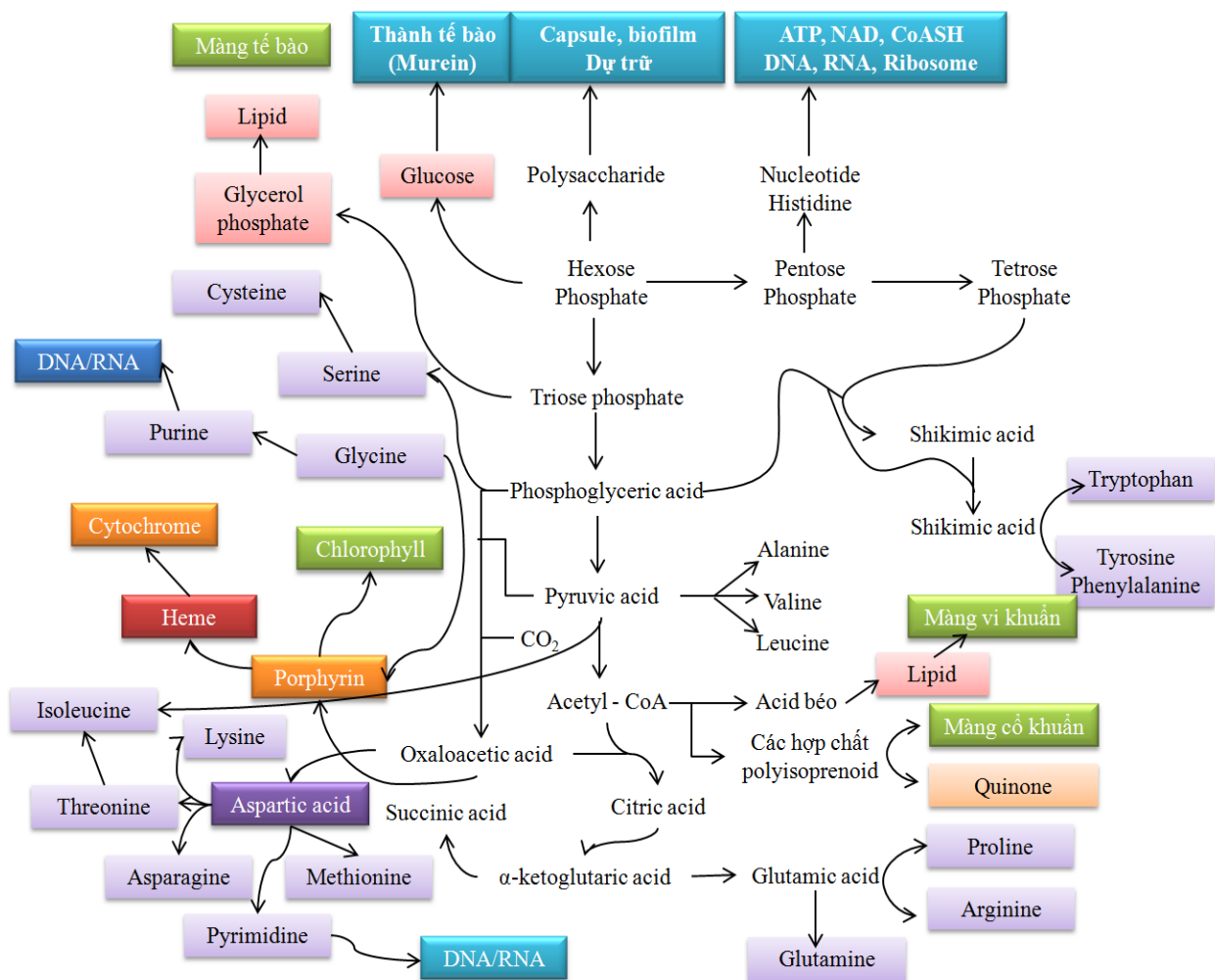
phosphate.

(c). Amino acid cho sản xuất protein xuất phát từ nhiều nguồn, trong đó quan trọng nhất là từ pyruvic acid, alpha ketoglutaric acid và oxalacetic acid.

(d). Nucleotide (DNA và RNA) được tổng hợp từ ribose phosphate. ATP và NAD là một phần của sự biến dưỡng purine (nucleotide).

(e). Triose-phosphates là những tiền chất của glycerol và acetyl CoA, là tiền chất chính của lipid màng và

(f). Vitamin và coenzyme được tổng hợp từ nhiều con đường xuất phát từ sự biến dưỡng trung tâm. Trong ví dụ Hình 4.25, sự tổng hợp heme xuất phát từ con đường serine và từ succinate ở chu trình TCA.



Hình 4.25. Minh họa các con đường chính của sinh tổng hợp ở tế bào prokaryote.