

## **Chương 5. Điều hòa và kiểm soát biến dưỡng ở vi khuẩn**

### **Mục lục**

|                                                                        |    |
|------------------------------------------------------------------------|----|
| Chương 5. Điều hòa và kiểm soát biến dưỡng ở vi khuẩn .....            | 1  |
| 5.1. Giới thiệu .....                                                  | 2  |
| 5.2. Thích nghi của vi khuẩn với môi trường dinh dưỡng và vật lý ..... | 2  |
| 5.3. Điều kiện ảnh hưởng đến sự hình thành enzyme ở vi khuẩn .....     | 3  |
| 5.4. Điều kiện phản ứng Enzyme .....                                   | 3  |
| 5.5. Protein dị lập thể .....                                          | 5  |
| 5.6.Ức chế ngược .....                                                 | 7  |
| 5.7.Ức chế enzyme .....                                                | 9  |
| 5.8. Cảm ứng Enzyme .....                                              | 12 |
| 5.9. Kim hãm dị hóa .....                                              | 14 |

### 5.1. Giới thiệu

Không giống như thực vật và động vật, hầu hết vi khuẩn thường xuyên bị phơi nhiễm trước những thay đổi về điều kiện vật lý và hóa học của môi trường. Để thích nghi với môi trường dinh dưỡng và vật lý và trong phạm vi giới hạn của mình, vi khuẩn có thể phản ứng với những thay đổi trong môi trường mà chúng sống thông qua thay đổi về kiểu và cấu trúc protein, protein vận chuyển, độc tố, enzyme, .... nhằm giúp vi khuẩn thích nghi trong môi trường sinh thái cụ thể. Ví dụ *E. coli* không tạo ra sợi tơ để bám dính khi chúng sống trong môi trường trôi nổi. *Vibrio cholerae* không tạo độc tố gây bệnh tả trừ khi chúng ở trong đường ruột người. *Bacillus subtilis* không tạo các enzyme để sinh tổng hợp tryptophan nếu vi khuẩn này tìm thấy tryptophan trong môi trường mà chúng đang sống. Trong môi trường nuôi cấy có hỗn hợp glucose và lactose, *E. coli* sẽ sử dụng glucose trước vì enzyme để biến dưỡng glucose cần ít hơn hai lần so với biến dưỡng lactose. Vi khuẩn gây bệnh lậu *Neisseria gonorrhoeae* sẽ phát triển một hệ thống công phu nhằm thu nhận và vận chuyển sắt nếu chúng nhận thấy nguồn cung cấp sắt không đủ trong môi trường.

### 5.2. Thích nghi của vi khuẩn với môi trường dinh dưỡng và vật lý

Vi khuẩn có khả năng triển khai một cơ chế phức tạp để điều hòa theo cả hai con đường dị hóa và đồng hóa. Nhìn chung vi khuẩn sẽ không tổng hợp enzyme dị hóa trừ khi các cơ chất cho những enzyme này hiện diện trong môi trường. Ví dụ sự tổng hợp các enzyme phân hủy lactose sẽ không cần thiết khi không có lactose trong môi trường. Tương tự như vậy, vi khuẩn cũng triển khai các cơ chế đa dạng để kiểm soát sinh tổng hợp theo con đường đồng hóa. Tế bào vi khuẩn sẽ đóng cửa các con đường sinh tổng hợp khi sản phẩm cuối của con đường này không cần thiết hoặc dễ dàng thu nhận được từ môi trường mà chúng đang sống. Ví dụ nếu vi khuẩn tìm thấy được amino acid như tryptophan trong môi trường, thì chúng sẽ cảm nhận và dừng sinh tổng hợp tryptophan. Điều này sẽ giúp chúng tiết kiệm được năng lượng. Tuy nhiên trong đời sống thực của vi khuẩn, các cơ chế kiểm soát cho tất cả các con đường biến dưỡng này sẽ bị đảo lộn do sự thay đổi nhanh chóng và khốc liệt của môi trường.

Một số cơ chế chung mà vi khuẩn sử dụng để điều hòa và kiểm soát các hoạt động

biến dưỡng được thảo luận trong chương này hầu hết được quan sát và ghi nhận ở *E. coli*.

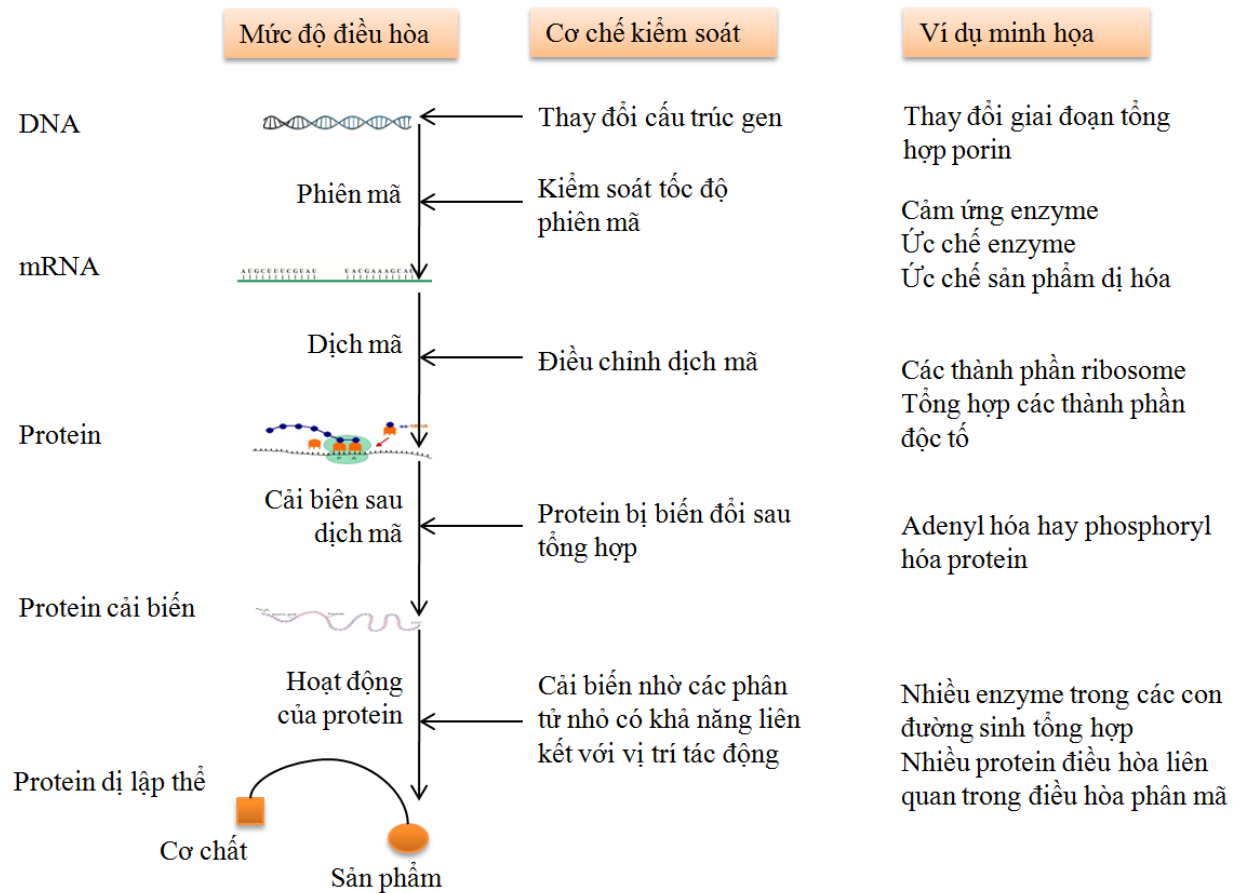
### 5.3. Điều kiện ảnh hưởng đến sự hình thành enzyme ở vi khuẩn

Như đã biết vi khuẩn có thể sản sinh ra các loại enzyme để thích nghi với điều kiện đặc biệt mà chúng sống. Thông thường nồng độ enzyme trong tế bào vi khuẩn sẽ phụ thuộc vào sự hiện diện của cơ chất mà nó xúc tác. Các enzyme cấu trúc luôn được tế bào tổng hợp một cách độc lập, không phụ thuộc vào thành phần của môi trường mà tế bào vi khuẩn đang sử dụng để tăng trưởng. Các enzyme được sinh ra trong suốt quá trình glycolysis và trong chu trình TCA thường là những enzyme cấu trúc: trong mọi thời điểm, chúng hiện diện ở hàm lượng nhiều hoặc ít trong tế bào. Các enzyme cảm ứng được tạo ra khi tế bào phản ứng với một cơ chất cụ thể và được tổng hợp chỉ khi nào cần thiết. Trong quá trình cảm ứng này, cơ chất hoặc là một cấu tử có cấu trúc tương tự như cơ chất, sẽ kích thích hình thành enzyme và chất này được gọi là chất cảm ứng. Enzyme ức chế (repressible enzyme) là một trong những enzyme tổng hợp dùng để điều hòa giảm (downregulated) hoặc đóng lại do sự hiện diện của sản phẩm cuối trong con đường biến dưỡng có enzyme tham gia. Trong trường hợp này, sản phẩm cuối được gọi là chất đồng ức chế (corepressor) của enzyme.

### 5.4. Điều kiện phản ứng Enzyme

Không phải tất cả các phản ứng của enzyme xảy ra trong một tế bào đều có cùng mức như nhau. Một số cơ chất thiết yếu cần một lượng lớn và vì thế các phản ứng liên quan để tổng hợp ra chúng phải xuất hiện ở một lượng lớn. Các chất khác chỉ cần ở một lượng nhỏ và vì vậy các phản ứng liên quan đến sự tổng hợp ra chúng cũng chỉ xuất hiện một lượng nhỏ.

Trong tế bào vi khuẩn, phản ứng của enzyme có thể được điều hòa bằng hai cách không liên quan nhau đó là: (1) kiểm soát hoặc điều hòa hoạt động của enzyme (ức chế ngược hoặc ức chế do sản phẩm cuối), chủ yếu hoạt động để điều hòa các con đường sinh tổng hợp và (2) kiểm soát hoặc điều hòa sự tổng hợp của enzyme bao gồm ức chế do sản phẩm cuối có chức năng điều hòa các con đường sinh tổng hợp, cảm ứng enzyme và ức



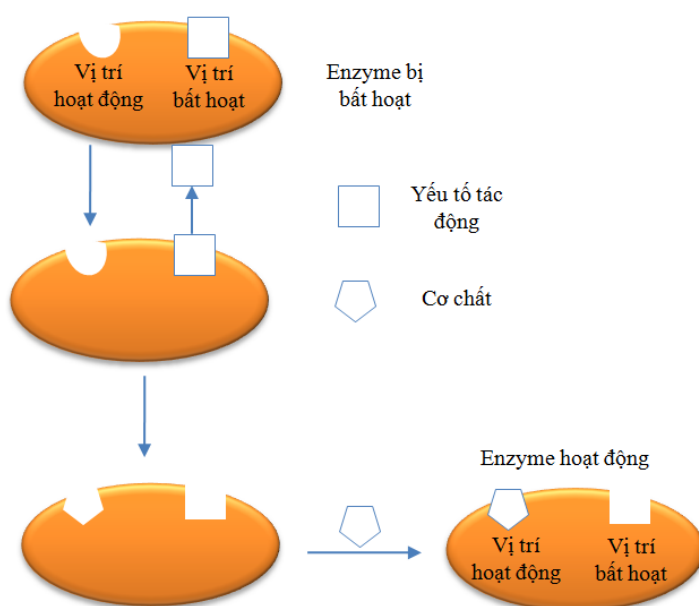
**Sơ đồ 5.1. Minh họa vị trí điều hòa của nhiều quá trình biến dưỡng.** Vi khuẩn nỗ lực kiểm soát sự biến dưỡng quá mức của chúng tại mỗi bước có thể, bắt đầu tại cấp độ gen mã hóa cho protein và kết thúc bằng sự biến đổi hoặc cải biến protein sau tổng hợp. Ví dụ sự biến đổi trong cấu trúc gen có thể làm thay đổi hoạt tính hoặc sự sản sinh ra protein, chỉ biến đổi protein sau khi phân tử này được tạo ra có thể biến đổi hoặc thay đổi hoạt tính của nó. Một trong những vị trí quan trọng nhất để kiểm soát sự biến dưỡng ở cấp độ gen là điều hoàn phiên mã. Ở cấp độ này, trong cơ chế kiểm soát dương (ví dụ ức chế do sản phẩm dị hóa), protein điều hòa có tác động làm tăng tốc độ phiên mã của gen, trong khi đó ở cơ chế kiểm soát âm (ví dụ sự cảm ứng enzyme hay ức chế do sản phẩm cuối), protein điều hòa có tác động làm giảm tốc độ phiên mã của gen. Đôi khi tên gọi này có thể dường như phản lại trực giác nhưng các nhà sinh học phân tử lại thích gọi như vậy.

chế do sản phẩm dị hóa (catabolite repression), chủ yếu điều hòa các con đường giáng hóa

(phân giải - degradative pathway). Quá trình ức chế ngược điều hòa hoạt động của các enzyme đã tồn tại từ trước trong tế bào. Quá trình ức chế do sản phẩm cuối, cảm ứng enzyme và ức chế do sản phẩm dị hóa có liên quan với quá trình kiểm soát tổng hợp enzyme. Các quá trình điều hòa tổng hợp enzyme có thể là một hình thức kiểm soát dương hoặc kiểm soát âm. Ức chế do sản phẩm cuối và sự cảm ứng enzyme là những cơ chế kiểm soát âm vì chúng làm giảm tốc độ phiên mã protein. Sự kìm hãm do sản phẩm dị hóa (Catabolite repression) được xem như là một dạng kiểm soát dương bởi vì nó tác động làm gia tăng sự phiên mã protein.

### 5.5. Protein dị lập thể

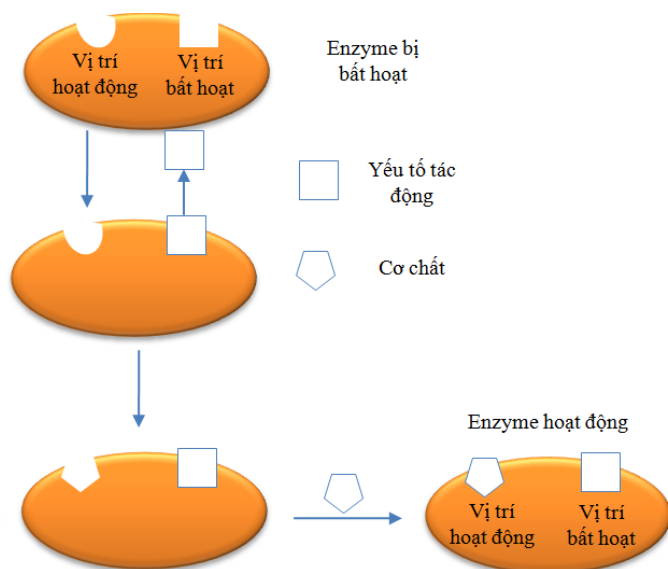
Mặc dù đây là những ví dụ của các quá trình điều hòa xuất hiện ở tất cả các giai đoạn trong sinh học phân tử của tế bào vi khuẩn (Sơ đồ 1), các điểm phổ biến nhất của sự điều hòa này chính là ở mức độ phiên mã (ví dụ cảm ứng do enzyme và kìm hãm do enzyme) và sự thay đổi về hoạt tính của protein tồn tại trước đó. Các mức độ kiểm soát này thường được biến đổi do protein có đặc tính dị lập thể.



**Hình 5.1. Minh họa về enzyme dị lập thể có vị trí cho yếu tố phản ứng lại kích thích (effector) âm. Khi phân tử phản ứng lại kích thích liên kết với vị trí dị lập thể, hoạt tính liên kết cơ chất và xúc tác của enzyme sẽ bị bất hoạt. Khi yếu tố phản ứng lại kích thích bị tháo ra khỏi vị trí dị lập thể, enzyme hoạt động trở lại.**

Protein dị lập thể là protein có một vị trí hoạt động (xúc tác) và một vị trí dị lập thể (yếu tố tác động - effector). Ở enzyme dị lập thể, điểm hoạt động sẽ liên kết với cơ chất và biến đổi nó thành sản phẩm. Điểm dị lập thể bị chiếm giữ bởi một số phân tử nhỏ không phải là cơ chất. Tuy nhiên khi vị trí dị lập thể bị phân tử tác động (effector molecule) chiếm đóng thì hình thể của vị trí

hoạt động sẽ bị thay đổi. Khi đó nó sẽ không nhận biết và liên kết được với cơ chất của enzyme (Hình 5.1). Nếu protein là một enzyme và khi vị trí dị lập thể bị chiếm đóng, thì enzyme này sẽ bị bất hoạt. Ví dụ phân tử tác động sẽ làm giảm hoạt tính của enzyme. Tuy nhiên đây là tình huống lựa chọn thay thế. Phân tử phản ứng lại kích thích của một số enzyme dị lập thể liên kết với vị trí dị lập thể của enzyme và dẫn đến làm chuyển đổi enzyme từ bất hoạt sang trạng thái hoạt động (Hình 5.2). Một số enzyme dị lập thể gồm



nhiều thành phần (multicomponent allosteric enzyme) có một số điểm bị chiếm đóng bởi phân tử phản ứng lại kích thích (effector), làm điều chỉnh (modulate) hoạt tính enzyme vượt qua khoảng điều kiện.

**Hình 5.2. Ví dụ của enzyme dị lập thể với vị trí phản ứng lại kích thích dương (positive effector site). Khi phân tử phản ứng lại kích thích liên**

**kết với vị trí dị lập thể dẫn đến làm thay đổi vị trí hoạt động làm kích thích hoạt tính liên kết với cơ chất và xúc tác.**

Một số protein dị lập thể không phải là enzyme, nhưng các protein này lại có một vị trí hoạt động và một vị trí dị lập thể. Các protein điều hòa kiểm soát các con đường biến dưỡng có liên quan đến sự ức chế do sản phẩm cuối, sự cảm ứng enzyme và ức chế sản phẩm dị hóa là các protein dị lập thể. Trong trường hợp này, vị trí hoạt động là vị trí liên kết với DNA, khi hoạt động chúng liên kết với một trình tự chuyên biệt của DNA và khi bị bất hoạt, chúng không liên kết với trình tự DNA này. Phân tử dị lập thể hoặc phân tử phản ứng lại kích thích là một phân tử nhỏ chiếm đóng vị trí dị lập thể và tác động đến vị trí hoạt động. Trong trường hợp của sự ức chế enzyme (enzyme repression), một phân tử phản ứng lại kích thích dương còn gọi là chất đồng ức chế (corepressor) liên kết với protein điều hòa dị lập thể (allosteric regulatory protein) và hoạt hóa chúng để liên kết với DNA. Trong trường hợp cảm ứng enzyme là một phân tử phản ứng lại kích thích âm còn

gọi là chất cảm ứng liên kết với vị trí dị lập thể, làm cho vị trí hoạt động thay đổi dẫn đến tháo bỏ protein ra khỏi vị trí liên kết DNA.

### 5.6. Ức chế ngược

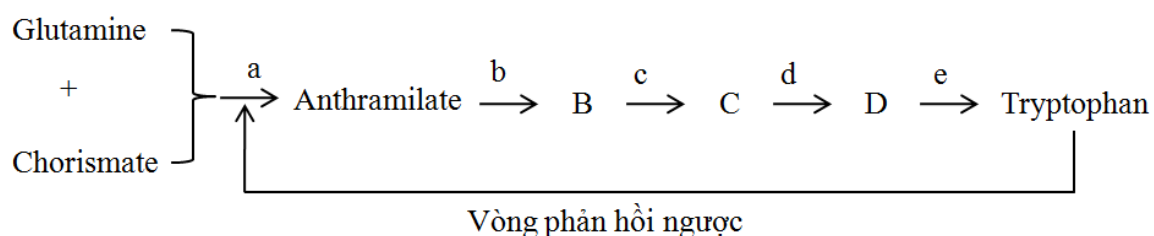
Sự ức chế ngược (Feedback) hay là sự ức chế do sản phẩm cuối là một cơ chế để ức chế các enzyme được hình thành trước đó, chủ yếu điều hòa của cả con đường sinh tổng hợp, ví dụ các con đường có liên quan với sinh tổng hợp amino acid. Các con đường như vậy thường liên quan đến nhiều bước enzyme và sản phẩm cuối đi qua nhiều bước phản ứng từ bước khởi đầu bắt nguồn từ cơ chất. Bằng cơ chế này, sản phẩm cuối có thể phản hồi ngược lại bước đầu tiên trong con đường biến dưỡng và tự điều hòa sinh tổng hợp.

Trong ức chế ngược, sản phẩm cuối của con đường sinh tổng hợp ức chế hoạt tính của enzyme đầu tiên là duy nhất của con đường biến dưỡng, dùng để kiểm soát sự sản xuất ra sản phẩm cuối và enzyme này là một enzyme dị lập thể. Vị trí dị lập thể của nó sẽ liên kết với sản phẩm cuối (ví dụ amino acid) của con đường biến dưỡng này làm thay đổi vị trí hoạt động của enzyme vì vậy enzyme không thể làm trung gian cho phản ứng ở bước đầu tiên này. Các enzyme khác trong con đường này vẫn còn hoạt động nhưng lại không có cơ chất. Con đường này sẽ dừng lại khi mà số lượng sản phẩm cuối vẫn còn đủ. Nếu sản phẩm cuối được sử dụng hết hoặc biến mất, thì sự ức chế sẽ bị mất đi, enzyme sẽ hoạt động trở lại và vi sinh vật có thể lại tiến hành tổng hợp ra sản phẩm cuối. Vì vậy nếu *E. coli* bơi ra khỏi môi trường có glucose tối thiểu để vào môi trường sữa hoặc một số môi trường khác giàu các yếu tố cần thiết cho sự tăng trưởng, thì vi khuẩn này có thể dừng tổng hợp bất kỳ các chất biến đổi cần thiết nào nếu chúng có sẵn trong môi trường mới.

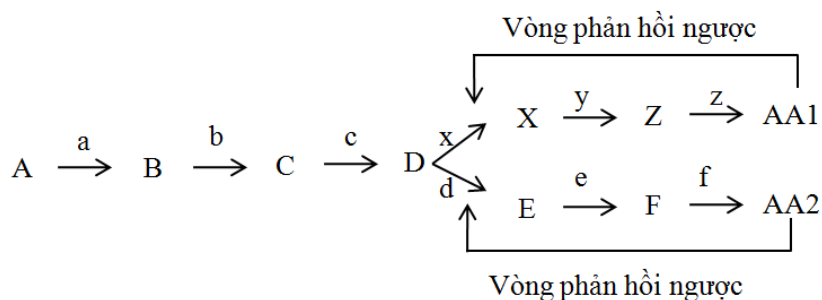
Một trong những con đường sinh tổng hợp ở vi khuẩn được nghiên cứu nhiều chính là con đường sinh tổng hợp tryptophan (Hình 5.3). Con đường sinh tổng hợp tryptophan được điều hòa bởi sự ức chế ngược. Tryptophan là một phân tử phản ứng lại kích thích đối với enzyme dị lập thể a. Khi sản phẩm cuối tryptophan của con đường này đánh vào enzyme a, thì enzyme này sẽ bị bất hoạt và có thể gắn kết không lâu hơn giữa glutamine và chorismic acid để hình thành anthranilate. Nếu tryptophan không gắn kết

với enzyme nữa thì sự tổng hợp tryptophan sẽ tiếp tục. Sinh tổng hợp tryptophan cũng được điều hòa ở cấp độ di truyền nhờ các quá trình của sự ức chế enzyme và sự làm giảm (attenuation).

Điều lưu ý rằng: trong trường hợp ức chế ngược đã nêu ở trên, phân tử tín hiệu tryptophan là một yếu tố tạo hiệu ứng âm (negative effector) của enzyme a trong con đường sinh tổng hợp tryptophan, là bởi vì khi nó liên kết với enzyme a, sẽ làm bất hoạt enzyme. Trong phản ức chế enzyme bên dưới, tryptophan là một phân tử tín hiệu hoạt động như là yếu tố tác động dương (positive effector) của protein gây ức chế tryptophan là do khi nó tạo cầu nối với chất ức chế này nó làm bất hoạt protein, vì vậy nó liên kết với tryptophan DNA.



**Hình 5.3. Sơ đồ minh họa con đường sinh tổng hợp tryptophan ở *E. coli*. Con đường này được điều hòa nhờ quá trình ức chế ngược. Tryptophan (trp) là sản phẩm cuối của con đường, là phân tử gây hiệu ứng ngược tạo cầu nối với vị trí dị lập thể của Enzyme a, enzyme đầu tiên trong con đường sinh tổng hợp trp. Khi vị trí hoạt động của Enzyme a được thay thế bởi trp làm cho enzyme này không phản ứng được với cơ chất và sự tổng hợp anthranilate vì thế bị ức chế.**



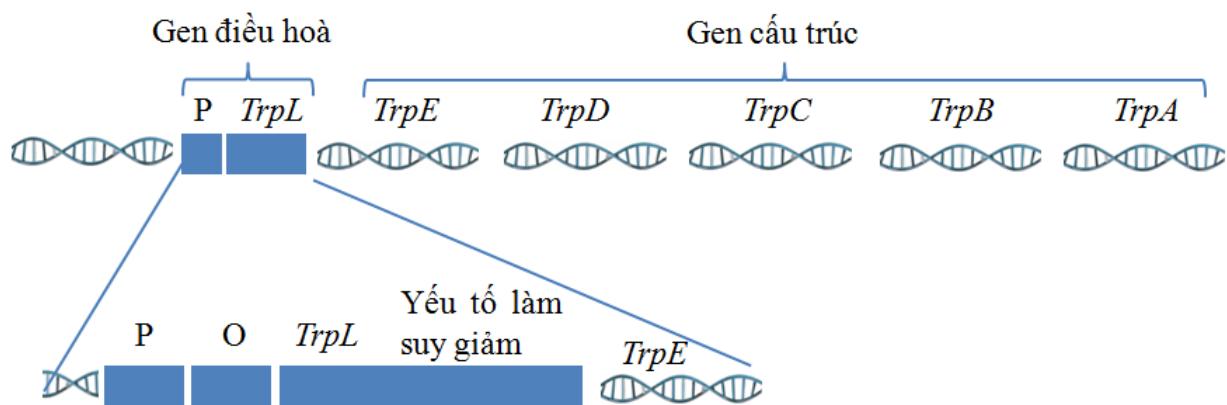
**Hình 5.4. Sơ đồ minh họa sự điều hòa chung con đường biến dưỡng được phân nhánh bằng quá trình ức chế ngược.**

Nếu con đường biến dưỡng có phân nhánh để tổng hợp ra hai amino acid, mỗi amino acid sản phẩm cuối có thể kiểm soát con đường của mình mà không là ảnh hưởng đến con đường khác (Hình 5.4). Ví dụ proline và arginine cả hai amino acid được tổng hợp từ glutamic acid. Mỗi

amino acid có thể điều hòa enzyme đầu tiên duy nhất trong nhánh tổng hợp ra nó nhưng lại không ảnh hưởng đến sự tổng hợp amono acid còn lại. Vì vậy sự dư thừa arginine sẽ không làm dừng sự tổng hợp proline và ngược lại.

### 5.7. Ức chế enzyme

Ức chế enzyme là một dạng kiểm soát âm (điều hòa giảm) của sự phiên mã ở vi khuẩn. Quá trình này cùng với sự cảm ứng của enzyme được gọi là kiểm soát âm. Bởi vì protein điều hòa mang lại sự ức chế cho sinh tổng hợp mRNA dẫn đến làm giảm sự tổng hợp enzyme.

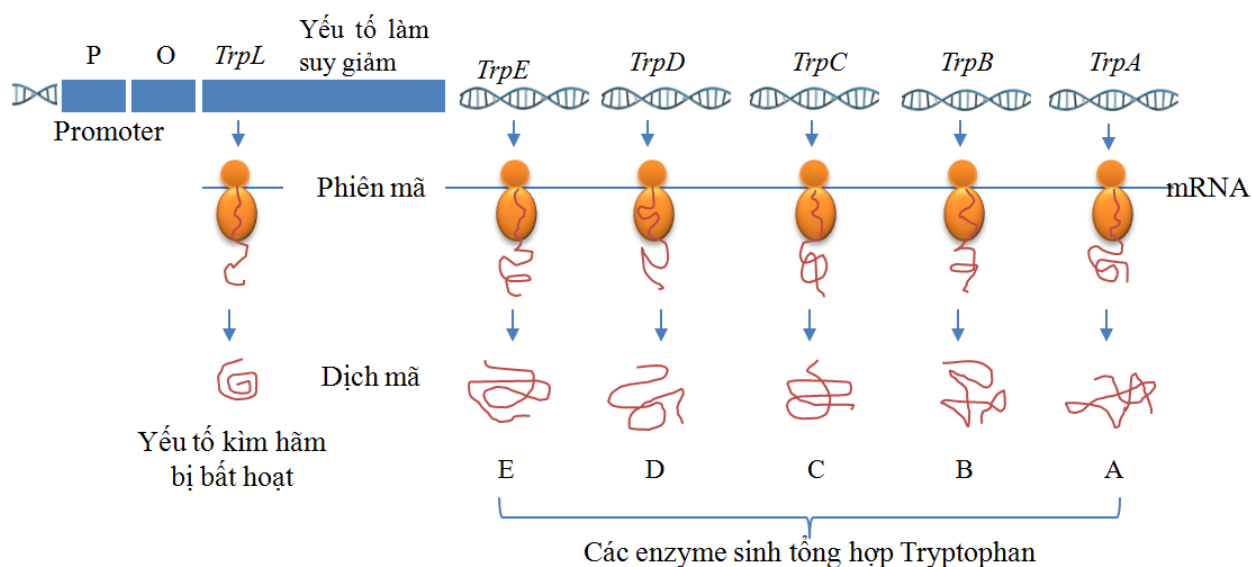


**Hình 5.5. Sơ đồ minh họa tổ chức di truyền của operon Trp và các yếu tố kiểm soát operon này.**

Mặc dù sự ức chế ngược làm dừng tổng hợp sản phẩm cuối của con đường biến dưỡng nhưng nó vẫn cho phép một số năng lượng và carbon thừa nếu tế bào tiếp tục sản xuất ra enzyme. Quá trình ức chế enzyme ngăn chặn sự tổng hợp enzyme có liên quan đến sự tổng hợp sản phẩm cụ thể. Trong trường hợp của con đường sinh tổng hợp tryptophan (Hình 5.3), sản phẩm cuối của con đường này là tryptophan được xem như là một phân tử tác động (hiệu ức có thể làm dừng sự tổng hợp các Enzyme a,b, c, d và e có liên quan đến sinh tổng hợp tryptophan. Kết quả tiết kiệm được nhiều phân tử ATP cần phải được sử dụng trong quá trình tổng hợp protein và bảo tồn các tiền chất amino acid cho sinh tổng hợp các protein khác. Quá trình này hoạt động chậm hơn so với sự ức chế ngược (tác động ngay tức thì) là bởi vì các enzyme tồn tại trước đó bị pha loãng do tế bào chia đôi trước khi hiệu ứng được nhìn thấy.

Các gen sinh tổng hợp tryptophan ở *Escherichia coli* nằm ở operon tryptophan

(operon trp) trong nhiễm sắc thể. Operon là một tập hợp các gen được kiểm soát bởi các yếu tố giống nhau trong phiên mã và giải mã. Operon trp gồm vùng Promoter (P), vùng Khởi động - Operator (O), vùng Suy giảm - Attenuator (A) và 5 gen cấu trúc cho các enzyme liên quan đến sinh tổng hợp tryptophan (Trp A-E). Các thành phần của operon trp và các yếu tố kiểm soát được mô tả ở Hình 5.5 và Bảng 5.1.



**Hình 5.6. Sơ đồ minh họa hoạt động làm mất đi sự kìm hãm (Derepression) của operon trp.** Khi không có trp yếu tố kìm hãm bị bất hoạt nên không thể liên kết với vùng khởi động operator để ngăn chặn sự phiên mã. Tế bào phải tổng hợp amino acid.

**Bảng 5.1. Operon Trp và các yếu tố kiểm soát operon này**

R = gen điều hòa mã hóa cho protein ức chế trp có liên quan đến điều hòa tổng hợp các sản phẩm của 5 gen. Yếu tố ức chế hoạt hóa (active repressor) sẽ liên kết với một trình tự nucleotide chuyên biệt trong vùng Khởi động (Operator) và vì vậy làm ngăn chặn sự liên kết của RNAP với promoter để khởi đầu cho sự phiên mã.

O = Vùng khởi động (Operator) là trình tự nucleotide chuyên biệt trên DNA. DNA này liên kết với yếu tố ức chế hoạt hóa.

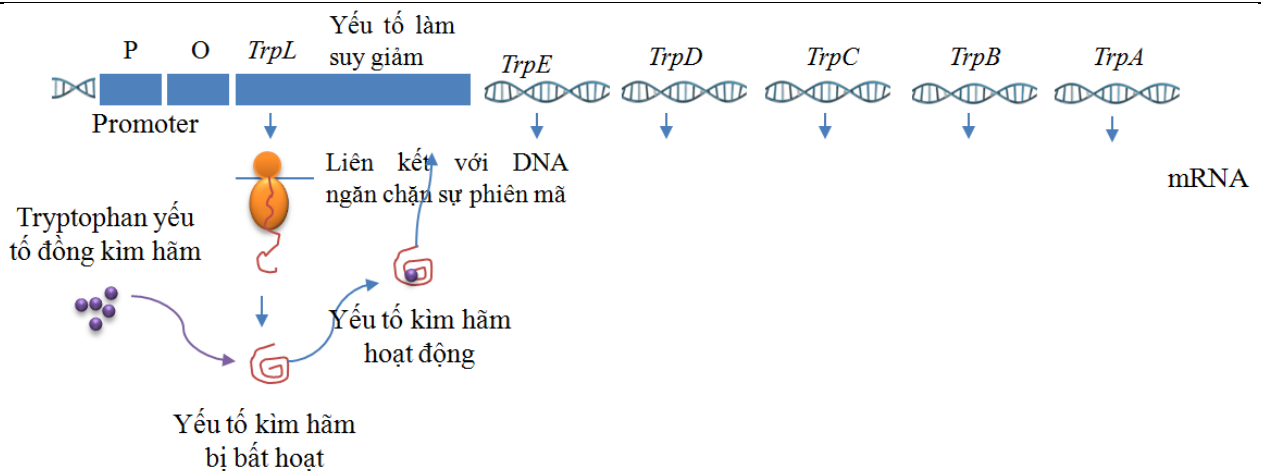
P = Promoter, trình tự nucleotide chuyên biệt trên DNA mà RNA polymerase liên kết để bắt đầu phiên mã. Nếu protein yếu tố ức chế liên kết với operator, RNAP sẽ bị ngăn chặn không cho liên kết với promoter và khởi đầu cho sự phiên mã. Vì thế không có enzyme

quan tâm nào liên quan với sinh tổng hợp tryptophan được tổng hợp.

A = Yếu tố làm giảm (Attenuator) là trình tự DNA nằm giữa operator và các gen cấu trúc sinh tổng hợp trp. Yếu tố làm giảm (attenuator) là một yếu tố bảo vệ mà RNA polymerase phải đi qua nếu nó mã hóa cho các gen sinh tổng hợp tryptophan. Khi trp hiện diện, hầu hết các phân tử RNAP đổ xuống DNA trước khi diễn ra sự phiên mã các gen trp. Khi không có mặt trp, RNAP có thể vượt qua vùng yếu tố làm giảm (attenuator) để phiên mã các gen trp.

Trp A, B, C, D, E = Các gen cấu trúc cho các enzyme liên quan đến sinh tổng hợp tryptophan.

Trp = tryptophan sản phẩm cuối của con đường sinh tổng hợp. Khi kết hợp với protein ức chế thì Repressor hoạt động. Trp được gọi là chất đồng ức chế (corepressor).



**Hình 5.7. Sơ đồ minh họa sự kim hãm của operon trp. Khi không có tryptophan, operon trp bị kim hãm do trp làm hoạt hóa yếu tố kim hãm (repressor). Sự phiên mã bị chặn lại do yếu tố kim hãm hoạt động tạo cầu nối với DNA và ngăn chặn sự liên kết của RNA polymerase.**

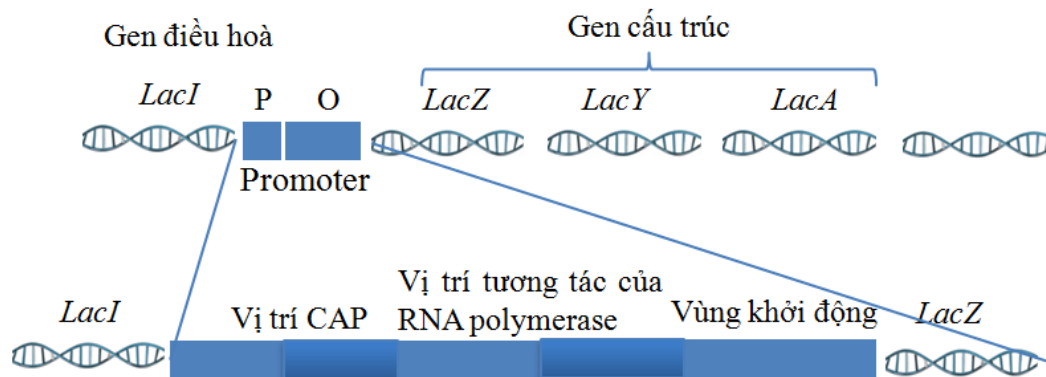
Operon *trp* được điều hòa bởi gen điều hòa (*Trp L*) liên kết với promoter *trp*. Sản phẩm của gen *Trp L* là Yếu tố Kim hãm *trp* (*trp* Repressor), là protein dị lập thể, protein này được điều hòa bởi tryptophan. Yếu tố Kim hãm này được sinh ra với một lượng nhỏ ở dạng bất hoạt. Khi Yếu tố Kim hãm này kết hợp với tryptophan nó sẽ được hoạt hóa và liên kết với DNA của operon *trp* theo cách ngăn chặn sự phiên mã của các gen cấu trúc mã hóa cho tryptophan. Vì vậy khi có sự hiện diện của tryptophan, thì sự phiên mã của

các enzyme để tổng hợp tryptophan bị kìm hãm (tryptophan không được tạo ra), ngược lại khi không có tryptophan, các gen tryptophan có thể được mã hóa (tryptophan được tạo ra).

### 5.8. Cảm ứng Enzyme

Trong một số trường hợp, các chất biến đổi (metabolite) hoặc cơ chất có thể làm thay đổi các gen bị bất hoạt vì vậy chúng được phiên mã. Trong quá trình của cảm ứng enzyme, cơ chất hoặc hợp chất có cấu trúc tương tự như cơ chất, gọi ra sự hình thành enzyme thường có liên quan đến sự phân hủy cơ chất này. Enzyme được tổng hợp là kết quả của sự cảm ứng do cơ chất được gọi là enzyme cảm ứng, các chất làm hoạt hóa sự phiên mã gen gọi là chất cảm ứng. Các enzyme cảm ứng chỉ được tạo ra khi có sự hiện diện của cơ chất và chỉ được sản sinh khi cần thiết. Bằng cách này tế bào không lãng phí năng lượng và tổng hợp các enzyme không cần thiết.

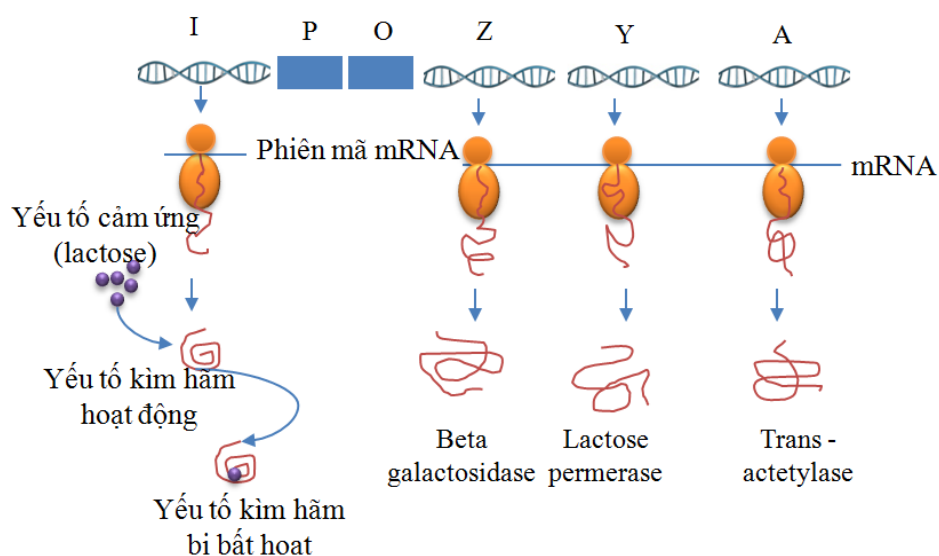
Trường hợp được nghiên cứu kỹ và biết nhiều nhất về sự cảm ứng của enzyme liên quan đến các enzyme phân hủy lactose ở *E. coli*. Chỉ khi nào lactose hiện diện sẽ làm cho vi khuẩn tổng hợp enzyme cần thiết cho sử dụng lactose như là nguồn carbon và năng lượng cho sự tăng trưởng. Hai enzyme đầu tiên đòi hỏi để bẻ gãy lactose là: lactose permease, enzyme vận chuyển đường vào tế bào và beta galactosidase, bẻ gãy lactose thành glucose và galactose. Các gen mã hóa cho hai enzyme này nằm ở operon lactose (lac operon) thuộc nhiễm sắc thể vi khuẩn (Hình 8).



**Hình 5.8. Sơ đồ minh họa operon Lac và các yếu tố kiểm soát operon này.**

Cơ chế cảm ứng enzyme thì tương tự như sự kìm hãm do sản phẩm cuối ở gen điều hòa, promoter và operator có liên quan, nhưng có sự khác biệt đáng kể đó là yếu tố kìm

hãm lac chỉ hoạt hóa khi có sự vắng mặt của phân tử cảm ứng lactose. Khi lactose hiện diện, yếu tố kìm hãm không thể liên kết với vùng khởi động operator, vì vậy các gen mã hóa cho lactose được phiên mã. Khi không có lactose, Yếu tố kìm hãm hoạt động và liên kết với operator làm cho các gen biến dưỡng lactose không được phiên mã. Sự cảm ứng (hiện diện của lactose) và sự kìm hãm (vắng mặt của lactose) của operon lactose được mô tả ở Hình 8. Các chức năng của các thành phần và các yếu tố kiểm soát của operon lac được mô tả ở Bảng 5.2.



**Hình 5.9. Sơ đồ minh họa sự cảm ứng enzyme. Sự cảm ứng của operon lac.**

**Bảng 5.2. Các thành phần chức năng và điều hòa của operon lac.**

Lac I = Gen điều hòa mã hóa cho protein kìm hãm có liên quan đến việc điều hòa sự tổng hợp của các gen cấu trúc ở operon. Lac I gần với vị trí Promoter của operon. Yếu tố kìm hãm tạo cầu nối với trình tự nucleotide chuyên biệt thuộc vùng khởi động (operator) và vì vậy làm ngăn chặn sự liên kết của RNAP với promoter để khởi đầu phiên mã. Yếu tố kìm hãm lac bị bất hoạt do lactose và hoạt động khi không có lactose.

O = Vùng khởi động (Operator) trình tự nucleotide chuyên biệt trên DNA mà theo đó Yếu tố kìm hãm liên kết.

P = Promoter trình tự nucleotide chuyên biệt trên DNA mà theo đó RNA polymerase liên kết để khởi đầu phiên mã. (vị trí promoter của operon lac được chia thành hai vùng, vùng ngược (upstream) gọi là vị trí CAP và vùng xuôi (downstream) gồm vị trí tương tác

RNAP. Vị trí CAP có liên quan đến sự kìm hãm catabolite của operon the lac.). Nếu Yếu tố kìm hãm protein liên kết với vùng khởi động operator, RNAP bị ngăn chặn không liên kết với promoter và bắt đầu phiên mã. Dưới những điều kiện như vậy enzyme liên quan đến việc sử dụng lactose không được tổng hợp.

Lac Z, Y và A = các gen cấu trúc trong operon lac. Lac Z mã hóa cho Beta-galactosidase; Lac Y mã hóa cho lactose permease; Lac A mã hóa cho transacetylase chức năng của enzyme này chưa được biết.

lac = lactose, phân tử cảm ứng. Khi lactose liên kết với yếu tố kìm hãm protein, Yếu tố kìm hãm này bị bất hoạt; operon bị khử kìm hãm; xuất hiện sự phiên mã của các gen dùng để sử dụng lactose.

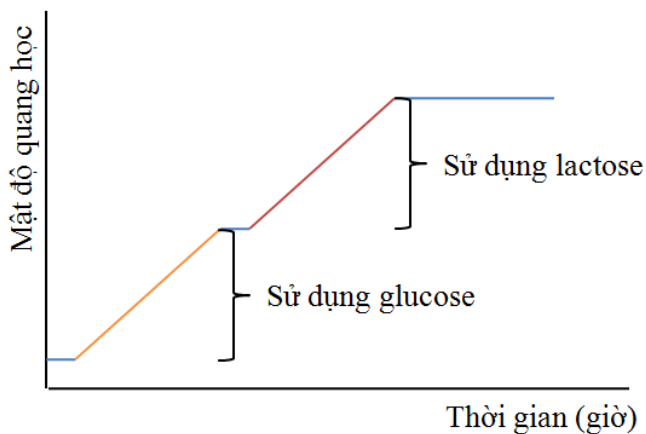
### 5.9. Kìm hãm dị hóa

Sự cảm ứng enzyme vẫn được xem là một dạng kiểm soát âm vì tác động của phân tử điều hòa (yếu tố kìm hãm hoạt động) giảm hoặc tỷ lệ điều hòa âm (downregulate) của sự phiên mã. Kìm hãm dị hóa (catabolite repression) là một kiểu kiểm soát dương của phiên mã, do protein điều hòa tác động làm tăng tốc độ (điều hòa tăng - upregulation) phiên mã của operon. Quá trình này được khám phá ở *E. coli* và ban đầu được mệnh danh là có hiệu ứng với glucose vì có phát hiện cho thấy glucose ức chế tổng hợp một số enzyme cảm ứng, ngay cả khi chất cảm ứng của con đường này hiện diện trong môi trường. Sự khám phá này được tiến hành trong quá trình nghiên cứu sự điều hòa của lac operon ở *E. coli*. Do glucose được các enzyme cơ bản phân hủy và lactose đầu tiên được bẻ gãy nhờ các enzyme cảm ứng, điều gì sẽ xảy ra nếu khuẩn này tăng trưởng trong môi trường có glucose và lactose giới hạn? Biểu đồ về tốc độ tăng trưởng của vi khuẩn là đường cong tăng trưởng hai kỳ (diauxic growth), đường cong này biểu thị hai giai đoạn khác biệt của sự tăng trưởng. Giai đoạn đầu của quá trình tăng trưởng cấp số nhân, vi khuẩn sử dụng glucose làm nguồn năng lượng cho đến khi glucose cạn kiệt. Sau đó là phase lag thứ hai, lactose được sử dụng trong giai đoạn hai của quá trình tăng trưởng cấp số nhân. Chi tiết của quá trình này được biểu thị ở Hình 5.10.

Trong giai đoạn sử dụng glucose, lactose không được sử dụng vì tế bào không có khả năng vận chuyển và phân cắt đường đôi lactose. Glucose thì luôn luôn được biến

dưỡng trước so với các đường khác. Chỉ sau khi glucose được sử dụng hoàn toàn thì lactose mới được phân giải. Operon lactose bị kìm hãm ngay cả khi lactose (chất cảm ứng) hiện diện. Lý do căn bản chính là glucose là nguồn năng lượng tốt hơn lactose vì đòi hỏi sử dụng ít hơn hai enzyme.

Chỉ sau khi glucose bị cạn kiệt thì các enzyme cho sử dụng lactose được tổng hợp. Phase lag lần hai trong sự tăng trưởng lưỡng kỳ chính là thời gian đòi hỏi để hoàn thành sự cảm ứng của operon lac và tổng hợp các enzyme cần thiết cho sử dụng lactose như lactose permease và beta-galactosidase. Sau đó vi khuẩn tăng trưởng theo cấp số nhân. Do



khả năng glucose kìm hãm các enzyme sử dụng lactose, nên kiểu kìm hãm này được gọi là kìm hãm dị hóa hay hiệu ứng glucose.

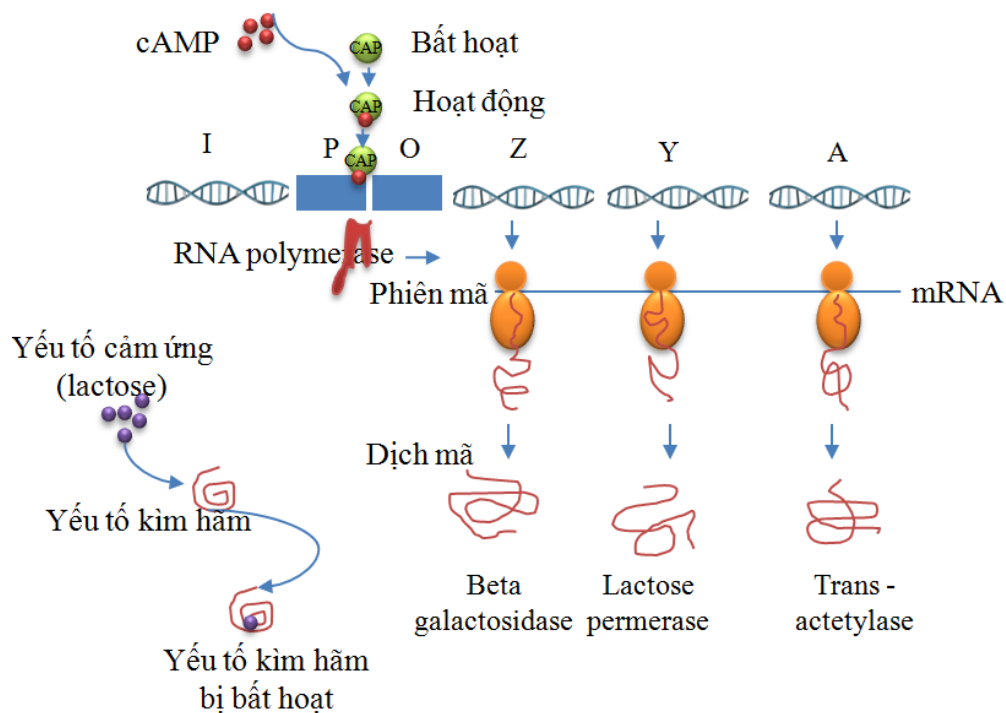
**Hình 5.10. Đồ thị minh họa tăng trưởng hai kỳ ở *E. coli* trong môi trường hỗn hợp có glucose và lactose giới hạn.**

Glucose là chất kìm hãm một lượng lớn các enzyme cảm ứng trong nhiều vi khuẩn khác nhau. Glucose kìm hãm sự cảm ứng operon cảm ứng bằng cách ức chế sự tổng hợp AMP vòng (cAMP), một nucleotide đòi hỏi cho sự khởi đầu phiên mã của nhiều hệ enzyme cảm ứng bao gồm cả operon lac.

Vai trò của cAMP thì phức tạp và cAMP cần thiết để hoạt hóa protein dị lập thể gọi là CAP (catabolite activator protein). Chất này liên kết với vị trí CAP trên promoter và kích thích RNAP polymerase liên kết với promoter để khởi đầu cho quá trình phiên mã. Vì vậy để thúc đẩy phiên mã gen của operon lac một cách hiệu quả thì không những chỉ có lactose hiện diện để làm bất hoạt yếu tố kìm hãm lac, mà cAMP phải sẵn sàng liên kết với CAP, liên kết với DNA để tạo thuận lợi cho sự phiên mã. Khi có mặt của glucose, hoạt tính của adenylate cyclase (AC) bị khóa lại. AC thì cần thiết để tổng hợp cAMP từ ATP. Vì vậy nếu mức cAMP thấp, thì CAP sẽ bất hoạt và phiên mã sẽ không diễn ra. Khi không có mặt glucose, mức cAMP sẽ cao, thì CAP sẽ được cAMP hoạt hóa và sự phiên

mã sẽ xảy ra (khi không có lactose).

Nhiều promoter kiểm soát dương như promoter lac thì không biểu hiện đầy đủ chức năng khi chỉ có RNAP và đòi hỏi phải có CAP hoạt hóa. CAP được gen Điều hòa tách biệt mã hóa gen và hiện diện ở mức cơ bản. CAP chỉ có hoạt động khi có cAMP. Sự liên kết của cAMP với CAP tạo ra sự thay đổi về hình thể ở protein cho phép nó liên kết với promoter gần với vị trí liên kết RNAP. Rõ ràng CAP có thể tương tác với RNAP để làm tăng tốc độ phiên mã của operon khoảng gấp 50 lần. Kiểm soát dương operon lac được minh họa ở Hình 5.11.



**Hình 5.11. Sự ức chế dị hoá là kiểm soát dương operon lac. Hiệu ứng làm tăng tốc độ phiên mã. Trong trường hợp này, protein CAP được cAMP hoạt hoá để liên kết với operon lac và làm RNA polymerase liên kết thuận lợi để promoter phiên mã gen phân giải lactose.**

Như là một dạng kìm hãm dị hoá, hiệu ứng glucose có chức năng hữu ích ở vi khuẩn: chất này đòi hỏi tế bào sử dụng nguồn năng lượng sẵn có một cách tốt nhất. Đối với nhiều vi khuẩn, glucose thì phổ biến nhất và cơ chất dễ dàng sử dụng cho tăng trưởng. Theo đó nó ức chế một cách bán trực tiếp sự tổng hợp enzyme biến dưỡng nguồn năng lượng nghèo hơn.