

TRƯỜNG ĐẠI HỌC ĐÀ LẠT



GIÁO TRÌNH

HOÁ SINH HỌC

GS.TS. MAI XUÂN LƯƠNG

2001

MỤC LỤC

MỤC LỤC	- 1 -
MỞ ĐẦU	- 5 -
CHƯƠNG 1. AMINOACID VÀ PROTEIN	- 10 -
I. AMINOACID.....	- 10 -
1. Cấu tạo.....	- 11 -
2. Hoạt tính quang học.....	- 13 -
3. Tính chất lưỡng tính.....	- 14 -
4. Các phản ứng hóa học đặc trưng.....	- 16 -
II. PEPTIDE.....	- 19 -
III. TÍNH CHẤT CỦA LIÊN KẾT PEPTIDE.....	- 21 -
IV. CÁC LIÊN KẾT THỨ CẤP TRONG PHÂN TỬ PROTEIN.....	- 21 -
V. CẤU TRÚC CỦA PROTEIN.....	- 23 -
1. Cấu trúc bậc một.....	- 23 -
2. Cấu trúc bậc hai.....	- 23 -
3. Cấu trúc bậc ba.....	- 25 -
4. Cấu trúc bậc bốn.....	- 25 -
VI. TÍNH CHẤT CỦA PROTEIN.....	- 26 -
1. Tính chất lưỡng tính.....	- 26 -
2. Hoạt tính quang học.....	- 26 -
3. Tính hydrate-hóa.....	- 26 -
4. Sự biến tính của protein.....	- 27 -
5. Các phản ứng màu đặc trưng.....	- 28 -
6. Hoạt tính và chức năng sinh học của protein.....	- 28 -
VII. PHÂN LOẠI PROTEIN.....	- 29 -
VIII. PHÂN GIẢI PROTEIN.....	- 31 -
IX. PHÂN GIẢI AMINOACID.....	- 32 -
1. Chuyển amin hóa.....	- 32 -
2. Desamin hóa.....	- 33 -
3. Decarboxyl hóa.....	- 34 -
4. Số phận của ammoniac và chu trình urea.....	- 34 -
5. Dị hóa aminoacid và chu trình acid tricarboxylic.....	- 35 -
X. SINH TỔNG HỢP AMINOACID.....	- 36 -
1. Khử nitrate và cố định nitơ.....	- 36 -
2. Amin hóa khử.....	- 37 -
3. Tổng hợp các aminoacid thứ cấp.....	- 37 -
XI. SINH TỔNG HỢP PROTEIN.....	- 38 -
1. Các yếu tố cần thiết cho sinh tổng hợp protein và các giai đoạn của quá trình này.....	- 38 -
2. Điều hòa sinh tổng hợp protein; mô hình operon và lý thuyết điều hòa của Jacob và Monod.....	- 41 -

CHƯƠNG 2. EMZYME	- 45 -
I. CÁC BIỂU THỨC DÙNG TRONG ENZYME HỌC.....	- 45 -
II. BẢN CHẤT HÓA HỌC CỦA ENZYME.	- 45 -
III. ĐỘNG HỌC CỦA CÁC PHẢN ỨNG ENZYME.	- 47 -
IV. ẢNH HƯỞNG CỦA pH LÊN HOẠT TÍNH ENZYME.	- 50 -
V. ẢNH HƯỞNG CỦA NHIỆT ĐỘ LÊN HOẠT TÍNH ENZYME.	- 51 -
VI. HOẠT HÓA ENZYME.	- 51 -
VII. ỨC CHẾ ENZYME.	- 52 -
VIII. TÍNH ĐẶC HIỆU CỦA ENZYME.....	- 57 -
IX. DANH PHÁP VÀ PHÂN LOẠI ENZYME.	- 58 -
X. HỆ THỐNG MULTIENZYM VÀ VAI TRÒ CỦA ENZYME ĐIỀU HÒA....	- 59 -
XI. ISOENZYME	- 61 -
CHƯƠNG 3. KHÁI NIỆM CHUNG VỀ TRAO ĐỔI CHẤT	- 63 -
I. ĐỒNG HÓA VÀ DỊ HÓA.....	- 63 -
II. CÁC HÌNH THỨC VẬN CHUYỂN NĂNG LƯỢNG TRONG TRAO ĐỔI CHẤT.	- 65 -
III. NĂNG LƯỢNG SINH HỌC VÀ CHU TRÌNH ATP.....	- 66 -
IV. VẬN CHUYỂN NĂNG LƯỢNG TRONG CÁC PHẢN ỨNG OXY HÓA – KHỬ	- 70 -
CHƯƠNG 4. GLUCID.....	- 73 -
I. MONOSACHARIDE (MONOSE)	- 73 -
1. cấu tạo.....	- 73 -
2. Tính chất hóa học.....	- 77 -
II. OLIGOSACCHARIDE.	- 80 -
1.Disacchride.	- 80 -
2.Trisaccharide.	- 81 -
3.Tetrasaccharide.	- 81 -
III. POLYSACCHARIDE (POLYOSE).....	- 81 -
1.Homopolisaccharide.	- 82 -
2.Heteropolysaccharide.	- 85 -
IV. PHÂN GIẢI POLYSACCHARIDE.	- 88 -
1.Phân giải tinh bột và glycogen.....	- 88 -
2.Phân giải các polysaccharide khác.	- 90 -
V. CHUYỂN HÓA TƯƠNG HỒ GIỮA CÁC MONOSE.	- 90 -
1.Trao đổi (vận chuyển) các nhóm glycosyl của glycosylphosphate:.....	- 90 -
2.Epimer hóa:	- 90 -
3.Oxy hóa hexose và decarboxyl hóa thành pentose:	- 91 -
VI. GLYCOLYS.	- 91 -
VII. CHU TRÌNH PENTOSOPHOSPHATE	- 95 -
VIII. OXY HÓA HIẾU KHÍ GLUCID.	- 96 -
1.Decarboxyl hóa oxy hóa acid pyruvic.	- 96 -

2. Chu trình acid tricarboxylic (Chu trình Krebs)	- 97 -
3. Ý nghĩa của chu trình acid tricarboxylic	- 98 -
4. Các phản ứng bù đắp.	- 99 -
IX. PHOSPHORYL HÓA OXY HÓA.	- 99 -
X. QUANG HỢP	- 103 -
1. Phương trình tổng quát của quang hợp.....	- 103 -
2. Khái niệm về tích chất hai giai đoạn của quang hợp.	- 104 -
3. Vai trò của năng lượng ánh sáng đối với quang hợp.....	- 105 -
4. Cơ sở cấu trúc của quang phosphoryl-hóa.	- 111 -
5. Cố định CO ₂ trong pha tối của quang hợp.....	- 113 -
CHƯƠNG 5. LIPID	- 117 -
I. ACID BÉO.	- 117 -
II.CÁC ESTER CỦA GLYCEROL.	- 119 -
1.Lipid trung tính.	- 119 -
2.Phosphatide.....	- 122 -
3.Glycerogalactolipid và glycerosulfolipid.....	- 123 -
III. XPHINGOLIPID VÀ GLYCOLIPID.	- 124 -
IV. SÁP.....	- 125 -
V. STEROL VÀ STEROID.	- 126 -
VI. SẮC TỐ QUANG HỢP.	- 127 -
1.Chlorophyll.	- 127 -
2. Caroteneoid	- 128 -
3. Phycobilin.	- 130 -
VII. VITAMIN TAN TRONG LIPID	- 131 -
1. Vitamin A.	- 131 -
2. Vitamin D.	- 132 -
3. Ubiquinone và plastoquinone.	- 134 -
VIII. PHÂN GIẢI LIPID	- 135 -
1.Phân giải lipid trung tính.....	- 135 -
2.Oxy-hóa acid béo.....	- 136 -
3. Thể cetone.	- 142 -
4. Sử dụng lipid dự trữ cho mục đích sinh tổng hợp. Chu trình glyoxylate. ...	- 143 -
IX. SINH TỔNG HỢP ACID BÉO.....	- 144 -
1. Sinh tổng hợp acid béo no.....	- 144 -
2. Sinh tổng hợp acid béo không no.....	- 146 -
X. SINH TỔNG HỢP TRIACYLGLYCERIN.....	- 148 -
XI. SINH TỔNG HỢP GLYCEROPHOSPHOLIPID VÀ GLYCEROGALACTOLIDID.	- 149 -
XII. SINH TỔNG HỢP SPHYINGOLIPID VÀ GLYCOLIPID.	- 150 -
XIII. SINH TỔNG HỢP STERINE.	- 151 -

CHƯƠNG 6. NUCLEOTIDE VÀ ACID NUCLEIC.....	- 153 -
I. NUCLEOTIDE.....	- 153 -
II. POLYNUCLEOTIDE	- 159 -
III. ADN, NHIỄM SẮC THỂ VÀ MẬT MÃ DI TRUYỀN.	- 160 -
IV. ARN.....	- 167 -
1. ARN thông tin (mARN).....	- 167 -
2. ARN vận chuyển (tARN).....	- 168 -
3. ARN ribosome (rARN).....	- 171 -
V. PHÂN GIẢI ACID NUCLEIC.....	- 172 -
1. Tác dụng của exo- và endonuclease.....	- 172 -
2. Tác dụng của acid và kiềm.	- 174 -
3. Phân giải nucleotide và nucleoside.	- 174 -
4. <i>Phân giải pentose và base nitơ. Các pentose tiếp tục chuyển hóa theo con đường chuyển hoá chung của glucide.</i>	- 174 -

MỞ ĐẦU

LOGIC PHÂN TỬ CỦA VẬT THỂ SỐNG VÀ NHIỆM VỤ CỦA HÓA SINH HỌC

Hóa sinh học có thể được xem như hóa học của các vật thể sống. Mọi vật thể sống đều được cấu tạo từ những phân tử vô sinh song lại có những tính chất rất đặc biệt mà thế giới vô sinh không có. Đó là:

- Tính phức tạp và mức độ tổ chức cao. Trong cấu trúc phức tạp đó chứa vô số các hợp chất hóa học với các kiểu cấu trúc khác nhau. Trong khi đó môi trường xung quanh là hỗn hợp vô trật tự của các hợp chất khá đơn giản;

- Mỗi bộ phận tạo thành của cơ thể sống (cơ quan, mô, tế bào, các cấu trúc dưới tế bào và các phân tử hóa học khác nhau) được phân công thực hiện các chức năng xác định;

- Khả năng tiếp nhận năng lượng và nguyên liệu từ môi trường và biến hóa nó để sử dụng cho việc xây dựng và duy trì cấu trúc phức tạp của mình; trong khi đó các hệ thống vô sinh đều bị phân hủy nếu chúng hấp thụ năng lượng;

- Khả năng sinh sản, tức tự khôi phục một cách chính xác để tạo ra từ thế hệ này đến thế hệ khác những cá thể giống hệt như mình (nếu tránh được các yếu tố gây biến dị).

Là một bộ phận không thể tách rời của tự nhiên, vật thể sống không thể không chịu sự điều khiển của tất cả các quy luật của tự nhiên. Tuy vậy, ngoài những quy luật chung của tự nhiên, các phân tử trong cơ thể sống còn tương tác với nhau và với môi trường xung quanh trên cơ sở một hệ thống các nguyên tắc đặc biệt mà ta có thể gọi chung là *logic phân tử của vật thể sống*. Đó là một hệ thống những quy luật cơ bản xác định bản chất, chức năng của các phân tử đặc biệt mà ta tìm thấy trong cơ thể sống và sự tương tác giữa chúng mà nhờ đó cơ thể trở nên có khả năng tự tổ chức và tự khôi phục.

Phần lớn các thành phần hóa học của cơ thể sống là những hợp chất hữu cơ mà trong đó carbon tồn tại ở dạng có mức độ khử cao. Nhiều phân tử sinh học còn chứa nitơ. Hai nguyên tố này ở thế giới vô sinh ít phổ biến hơn và chỉ tồn tại ở dạng những hợp chất đơn giản như CO_2 , N_2 , CO_3^{2-} , NO_3^- v.v...

Các hợp chất hữu cơ trong cơ thể sống rất đa dạng và phần lớn là cực kỳ phức tạp. Thậm chí cơ thể sống đơn giản nhất là vi khuẩn, ví dụ *Escherichia coli*, cũng đã chứa tới 5000 loại hợp chất hữu cơ khác nhau, trong đó có khoảng 3000 loại protein và 1000 loại acid nucleic. Trong những cơ thể phức tạp hơn – động vật và thực vật – mức độ đa dạng còn cao hơn nhiều. Ví dụ, trong cơ thể người có đến 5 triệu loại protein,

trong đó không một loại nào giống hoàn toàn với protein của E. coli, mặc dù một số loại có chức năng giống nhau.

Tuy nhiên dù cho các phân tử sinh học có đa dạng và phức tạp đến đâu, tất cả chúng đều có nguồn gốc rất đơn giản: tất cả protein đều được hình thành từ 20 loại aminoacid, toàn bộ acid nucleic – từ 8 loại nucleotide chủ yếu. Những phân tử vật liệu xây dựng đơn giản này được chọn lọc trong quá trình tiến hóa để thực hiện không phải chỉ một mà nhiều chức năng để đảm bảo nguyên tắc tiết kiệm tối đa. Trong cơ thể sống không thể tìm thấy một hợp chất nào mà không đảm nhiệm ít nhất một chức năng nào đó.

Từ những điều nói trên có thể rút ra một quy luật: ***Tính đa dạng và phức tạp của các phân tử sinh học đều có cội nguồn khá đơn giản: mọi cơ thể sống đều có nguồn gốc chung và được tạo nên trên cơ sở tiết kiệm phân tử.***

Một khía cạnh đặc biệt khác của cơ thể sống là: bằng cách nào cơ thể sống có thể tạo ra và duy trì được tính trật tự và phức tạp của cấu trúc trong khi mọi quá trình vật lý và hóa học, theo định luật thứ hai của nhiệt động học, đều có xu hướng tiến tới chỗ mất trật tự và hỗn loạn, tức hướng về phía tăng entropy? Cơ thể sống không thể không tuân theo các quy luật của tự nhiên, tức chúng không thể xuất hiện một cách tự phát từ sự hỗn loạn. Nó cũng không thể tạo ra năng lượng từ chỗ không có gì, trái với định luật bảo toàn năng lượng. Thế nhưng cơ thể sống có một tính chất đặc thù quan trọng là có khả năng tiếp nhận năng lượng từ môi trường trong những điều kiện nhiệt độ và áp suất cụ thể, biến hóa năng lượng đó thành dạng năng lượng thích hợp cho bản thân chúng. Năng lượng hữu ích mà cơ thể sống có thể sử dụng được gọi là *năng lượng tự do*. Đó là phần năng lượng có thể tạo ra công trong điều kiện nhiệt độ và áp suất không đổi. Phần năng lượng mà tế bào thải ra môi trường thường là ở dạng nhiệt. Điều đó góp phần làm tăng entropy của môi trường, tức làm tăng tính hỗn loạn của nó.

Vật thể sống là những *hệ thống hở* (theo cách diễn đạt của nhiệt động học), hay những *hệ thống cách ly tương đối* (theo cách nói của điều khiển học). Cả hai cách diễn đạt đều có nghĩa là những hệ thống này có sự liên hệ với môi trường xung quanh, trong đó môi trường cần cho cơ thể sống không những như nguồn năng lượng mà còn là nguồn vật liệu xây dựng. Đặc điểm của loại hệ thống này là chúng không thiết lập trạng thái cân bằng với môi trường, mặc dù có thể cảm giác rằng cơ thể tồn tại ở trạng thái cân bằng vì không nhận thấy có sự biến đổi khi quan sát chúng trong một khoảng thời gian nào đó. Trên thực tế thì không phải như vậy. Cơ thể sống chỉ có thể thiết lập trạng thái cân bằng động với môi trường, tức trạng thái mà tốc độ vận chuyển vật chất và năng lượng từ môi trường vào hệ thống cân bằng với tốc độ của dòng ngược lại. Như vậy, ***tế bào là một hệ thống hở không cân bằng, một chiếc máy tiếp nhận năng lượng tự do từ môi trường để làm tăng tính trật tự của bản thân, đồng thời làm tăng entropy của môi trường.*** Máy tiếp nhận năng lượng này hoạt động với hiệu suất cao

hơn nhiều so với mọi máy móc do con người sáng chế ra. Đó là mặt thứ hai của nguyên tắc tiết kiệm của cơ thể sống. – tiết kiệm năng lượng.

Cơ chế tiếp nhận năng lượng của cơ thể sống được xây dựng từ những hợp chất hữu cơ tương đối kém bền vững, nhạy cảm với những điều kiện thái cực như nhiệt độ quá cao, dòng điện quá mạnh, độ pH quá lệch về phía kiềm hoặc acid v.v... Toàn bộ hệ thống sống, ví dụ tế bào, là một hệ thống đẳng nhiệt. Vì thế chúng không thể dùng nhiệt làm nguồn năng lượng. Nói cách khác, *tế bào là những chiếc máy hóa học đẳng nhiệt*. Chúng chỉ có thể thu nhận năng lượng từ môi trường ở dạng hóa năng, sau đó biến hóa năng lượng này để thực hiện các công hóa học trong việc tổng hợp các thành phần của tế bào, công thẩm thấu trong việc vận chuyển vật chất, công cơ học trong động tác co cơ v.v...

Sở dĩ tế bào có thể hoạt động như chiếc máy hóa học đẳng nhiệt là nhờ chúng chứa một hệ thống các chất xúc tác sinh học gồm hàng ngàn loại enzyme khác nhau. Đó là những phân tử protein có khả năng xúc tác một cách đặc hiệu một hoặc một số phản ứng xác định, làm cho ở điều kiện áp suất và nhiệt độ bình thường của tế bào các biến đổi hóa học vẫn có thể xảy ra với tốc độ và hiệu quả rất cao. Nhờ tính đặc hiệu cao của enzyme mà hàng loạt các phản ứng khác nhau có thể xảy ra đồng thời trong tế bào. Tính đặc hiệu này là sự thể hiện của một trong những nguyên tắc rất quan trọng của sự sống – *nguyên tắc bổ sung*: mỗi enzyme chỉ có thể tiếp nhận cơ chất của mình, tức những cơ chất có cấu tạo phân tử phù hợp với trung tâm hoạt động của enzyme ấy.

Giữa các phản ứng enzyme khác nhau trong tế bào tồn tại những mối liên hệ phức tạp. Sản phẩm của phản ứng này có thể là cơ chất của phản ứng kia. Hàng loạt các phản ứng kế tục nhau như vậy lần lượt xảy ra để thực hiện những chức năng xác định. Những chuỗi phản ứng đó còn có thể tạo ra các mạch nhánh để góp phần hình thành nên các mạng lưới với những chức năng sinh học khác nhau. Toàn bộ những mạng lưới đó kết hợp với nhau tạo nên một hệ thống thống nhất các quá trình hóa học trong tế bào có tên gọi là *trao đổi chất*.

Nhờ mối liên hệ chặt chẽ giữa các phản ứng enzyme mà năng lượng hóa học có thể di chuyển được trong hệ thống đẳng nhiệt. Năng lượng mà cơ thể tiếp nhận được từ môi trường nhờ mối liên hệ này có thể được tích lũy lại bằng cách phosphoryl-hóa adenosyldiphosphate (ADP) thành adenosyltriphosphate (ATP). Ngược lại, khi ATP bị phân giải thành ADP sẽ kèm theo giải phóng năng lượng. Nhờ sự liên hệ giữa các phản ứng enzyme năng lượng đó được sử dụng để tổng hợp các hợp chất khác nhau hoặc để thực hiện một công nào đó.

Mối liên hệ giữa các phản ứng enzyme còn là cơ sở để tạo ra các *hệ thống điều hòa* trong cơ thể sống, tại đó tốc độ của một phản ứng đặc hiệu có thể được điều hòa nhờ tốc độ của một phản ứng khác. Nhờ cơ chế điều hòa đó mỗi phản ứng chỉ xảy ra theo chiều hướng xác định với tốc độ xác định đủ để tế bào duy trì trạng thái ổn định bình thường của mình. Trong những trường hợp đơn giản nhất sự tích lũy của sản phẩm

trung gian (chất trao đổi) với hàm lượng quá mức cần thiết sẽ có tác dụng như tín hiệu làm giảm tốc độ của chuỗi phản ứng tạo ra chúng. Cách điều hòa như vậy được gọi là *ức chế theo nguyên tắc liên hệ ngược*. Những enzyme đứng đầu chuỗi phản ứng hoặc đứng tại điểm phân nhánh thường là những *enzyme điều hòa*, trực tiếp bị ức chế bởi sản phẩm cuối cùng.

Khả năng tự điều hòa của tế bào còn thể hiện ở chỗ nó tự điều khiển sự tổng hợp hệ thống enzyme của mình. Khi tế bào đã nhận được từ môi trường một sản phẩm cần thiết nào đó, nó sẽ tạm thời đình chỉ hoạt động của hệ thống enzyme vốn cần thiết để tạo ra sản phẩm đó. Ngược lại, khi tiếp nhận từ môi trường một cơ chất cần phải được tiếp tục biến hóa, tế bào sẽ đưa hệ thống tổng hợp những enzyme cần thiết cho sự biến hóa đó vào hoạt động.

Cuối cùng, trong số những tính chất kỳ diệu của cơ thể sống, kỳ diệu nhất là *khả năng sinh sản*, tức khả năng tạo ra với mức độ chính xác hầu như tuyệt đối những cá thể ở thế hệ sau giống hệt thế hệ trước. Hơn thế nữa, những sai sót đôi khi xảy ra trong quá trình sinh sản có thể làm xuất hiện ở thế hệ sau những dạng đột biến không phải lúc nào cũng có hại. Ngược lại, đột biến là một yếu tố quan trọng góp phần làm cho cơ thể sống ngày càng hoàn thiện, là một động lực của tiến hóa. Khó có thể tưởng tượng được rằng một khối lượng khổng lồ thông tin di truyền cần để tái tạo một cơ thể cực kỳ phức tạp lại có thể gói gọn trong nhân của tế bào trứng và tinh trùng bé nhỏ ở dạng trật tự của các nucleotide trong phân tử acid deoxyribonucleic (ADN) với trọng lượng không quá 6.10^{-12} gam. Tính chất kỳ diệu này là hệ quả của *sự phù hợp về mặt kích thước giữa mật mã di truyền với những bộ phận tạo thành của phân tử ADN*, tức cũng là hệ quả của tính bổ sung về mặt cấu trúc. Nhờ nguyên tắc bổ sung này mà mỗi phân tử ADN có thể làm khuôn để đúc nên phân tử ADN khác trong quá trình có tên là nhân mã (replation) hoặc tạo ra các phân tử acid ribonucleic thông tin (mARN) trong quá trình sao mã (transcription). Cũng chính nhờ nguyên tắc này mà mARN có thể làm khuôn để “đúc” nên các phân tử protein trong quá trình phiên mã (translation). Kết quả là thông tin di truyền vốn có cấu trúc “một chiều” ở dạng trật tự nucleotide trong phân tử ADN được biến thành dạng thông tin “ba chiều” đặc trưng cho mọi cấu trúc phân tử và trên phân tử của vật thể sống. Trật tự nucleotide trong ADN quyết định trật tự aminoacid trong các phân tử protein. Một trật tự aminoacid đó chứa đựng những mối tương tác vật lý và hóa học phức tạp, làm cho phân tử protein tự động tạo ra cho mình những kiểu cấu trúc không gian ổn định và đặc hiệu, cho phép chúng đảm nhận những chức năng nhất định trong hệ thống các quá trình hoạt động sống của tế bào.

Có thể tóm tắt những nguyên tắc đã trình bày trên đây của logic phân tử của vật thể sống một cách ngắn gọn như sau: ***Tế bào là một hệ thống đẳng nhiệt có khả năng tự tổ chức, tự điều khiển và tự tái tạo. Hệ thống này được hình thành từ một số lớn các phản ứng vốn liên quan mật thiết với nhau và được thúc đẩy nhờ các chất xúc tác hữu cơ do bản thân tế bào tạo ra. Mọi hoạt động của tế bào đều tuân thủ một cách***

nghiêm ngặt nguyên tắc tiết kiệm tối đa về vật chất cũng như về năng lượng và thông tin.

Logich phân tử của vật thể sống hoàn toàn không mâu thuẫn với bất kỳ quy luật vật lý và hóa học nào cũng như không đòi hỏi phải phát biểu những quy luật mới. Tuy nhiên, điều quan trọng là các cơ chế của tế bào sống vẫn chỉ tác dụng trong phạm vi của những quy luật điều khiển hoạt động của những máy móc do con người tạo ra, song những phản ứng, những quá trình xảy ra trong tế bào sống hoàn thiện hơn nhiều so với những chiếc máy tự động hiện đại nhất.

Con người đang tiến gần đến chỗ hiểu biết được một cách sâu sắc nguồn gốc và sự tiến hóa của các phân tử sinh học, hiểu được đầy đủ những phản ứng enzyme kết thành các quá trình hóa học thống nhất trong tế bào. Và khi đó con người sẽ hiểu được logich phân tử của vật thể sống xuất hiện như thế nào và chứng minh được những quy luật của nó. Hóa sinh học cùng với các lĩnh vực khác của sinh học hiện đại và với sự hỗ trợ của toán học, vật lý học, hóa học ... đang hướng về mục tiêu đầy hấp dẫn đó trong khi thực hiện nhiệm vụ đặc thù của mình là nghiên cứu những đặc điểm đã được mô tả trên đây với các mức độ khác nhau: cơ thể, cơ quan, mô, tế bào, dưới tế bào, phân tử và dưới phân tử.

CHƯƠNG 1. AMINOACID VÀ PROTEIN

Protein là cơ sở cho sự hình thành cũng như duy trì cấu trúc và chức năng của các vật thể sống nhờ chúng có những đặc điểm mà bất kỳ một hợp chất hữu cơ nào khác cũng không thể có được. Đó là:

- Tính đa dạng vô cùng của cấu trúc và song song với nó là tính đặc hiệu loài rất cao;

- Tính đa dạng vô cùng của các chuyển hóa vật lý và hóa học;

- Khả năng tương tác nội phân tử;

- Khả năng phản ứng với tác động bên ngoài bằng cách biến đổi cấu hình của phân tử theo quy luật nhất định và khôi phục trạng thái ban đầu sau khi những tác động đó không còn nữa;

- Khuynh hướng tương tác với các hợp chất hóa học khác để tạo nên những phức hệ và cấu trúc trên phân tử;

- Sự tồn tại của tính chất xúc tác sinh học và các hoạt tính sinh học khác.

Trung bình, trong phân tử protein có 50-55% C, 21-24% O, 15-18% N, 6,5-7,5% H, 0-2,4% S, 0-2% P. Trong một số protein còn có chứa Fe, Mg, I, Cu, Zn, Br, Mn, Ca v.v... Do hàm lượng nitơ trung bình trong protein là 16% nên để biết hàm lượng protein trong mẫu phân tích, người ta thường xác định hàm lượng nitơ rồi nhân với hệ số 100/16, tức 6,25.

Protein được cấu tạo từ 20 loại aminoacid khác nhau.

I. AMINOACID.

Aminoacid là những acid hữu cơ mạch béo, vòng thơm hoặc dị vòng có chứa ít nhất một nhóm amin ($-NH_2$). Trong tự nhiên có khoảng 150 loại aminoacid khác nhau nhưng chỉ có 20 loại trong số chúng tham gia cấu tạo nên phân tử protein. Nhóm amin trong 20 aminoacid này luôn gắn tại nguyên tử carbon α -, vì thế chúng được xếp vào nhóm α -aminoacid.

1. Cấu tạo.

Dựa vào cấu tạo và tính chất của gốc R có thể chia aminoacid thành những nhóm sau đây (bảng 1.1):

- Aminoacid chứa gốc R không phân cực hay kỵ nước;
- Aminoacid chứa gốc R phân cực không tích điện;
- Aminoacid chứa gốc R tích điện âm;
- Aminoacid có gốc R tích điện dương.

Bảng 1.1. Cấu tạo của các aminoacid thường gặp trong protein.

Tên gọi	Cấu thức cấu tạo
A. Aminoacid chứa gốc R không phân cực hay kỵ nước	
Alanine (Ala, A)	$\begin{array}{c} \text{NH}_2 \\ \\ \text{H}_3\text{C} - \text{C} - \text{COOH} \\ \\ \text{H} \end{array}$
Valine (Val)	$\begin{array}{c} \text{H}_3\text{C} \quad \text{NH}_2 \\ \diagdown \quad \\ \text{CH} - \text{C} - \text{COOH} \\ / \quad \\ \text{H}_3\text{C} \quad \text{H} \end{array}$
Leucine (Leu)	$\begin{array}{c} \text{H}_3\text{C} \quad \text{NH}_2 \\ \diagdown \quad \\ \text{HC} - \text{CH}_2 - \text{C} - \text{COOH} \\ / \quad \\ \text{H}_3\text{C} \quad \text{H} \end{array}$
Isoleucine (Ile)	$\begin{array}{c} \text{NH}_2 \\ \\ \text{H}_3\text{C} - \text{CH}_2 - \text{CH} - \text{CH}_2 - \text{C} - \text{COOH} \\ \quad \quad \quad \\ \text{CH}_3 \quad \quad \quad \text{H} \end{array}$
Proline (Pro)	$\begin{array}{c} \text{CH}_2 \\ / \quad \backslash \\ \text{H}_2\text{C} \quad \quad \text{CH} - \text{COOH} \\ \quad \quad \quad / \quad \backslash \\ \text{H}_2\text{C} \quad \quad \quad \text{NH} \end{array}$
Phenylalanine (Phe)	$\begin{array}{c} \text{NH}_2 \\ \\ \text{C}_6\text{H}_5 - \text{CH}_2 - \text{C} - \text{COOH} \\ \\ \text{H} \end{array}$
Tryptophan (Trp)	$\begin{array}{c} \text{NH}_2 \\ \\ \text{C}_8\text{H}_6\text{N} - \text{CH}_2 - \text{C} - \text{COOH} \\ \\ \text{H} \end{array}$
Metionine	$\begin{array}{c} \text{NH}_2 \\ \\ \text{H}_3\text{C} - \text{S} - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{C} - \text{COOH} \\ \\ \text{H} \end{array}$

(Met)	H
B. Aminoacid chứa gốc R phân cực không tích điện	
Glycine (Gly, G)	$\begin{array}{c} \text{NH}_2 \\ \\ \text{H}-\text{C}-\text{COOH} \\ \\ \text{H} \end{array}$
Serine (Ser, S)	$\begin{array}{c} \text{NH}_2 \\ \\ \text{HO}-\text{CH}_2-\text{C}-\text{COOH} \\ \\ \text{H} \end{array}$

Bảng 1.1. Cấu tạo của các aminoacid thường gặp trong protein (tiếp theo)

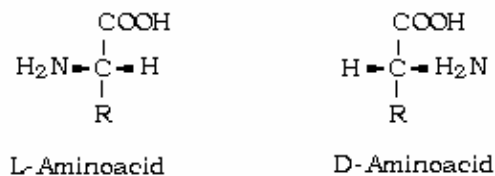
Threonine (Thr, T)	$\begin{array}{c} \text{NH}_2 \\ \\ \text{H}_3\text{C}-\text{CH}-\text{C}-\text{COOH} \\ \quad \\ \text{OH} \quad \text{H} \end{array}$
Tyrosine (Tyr, Y)	$\text{HO}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CH}_2-\begin{array}{c} \text{NH}_2 \\ \\ \text{C}-\text{COOH} \\ \\ \text{H} \end{array}$
Cysteine (Cys, C)	$\begin{array}{c} \text{NH}_2 \\ \\ \text{HS}-\text{CH}_2-\text{C}-\text{COOH} \\ \\ \text{H} \end{array}$
Asparagine (Asn, N)	$\begin{array}{c} \text{O} \quad \text{NH}_2 \\ \quad \\ \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{CH}_2-\text{C}-\text{COOH} \\ \\ \text{H} \end{array}$
Glutamine (Gln, Q)	$\begin{array}{c} \text{O} \quad \text{NH}_2 \\ \quad \\ \text{H}_2\text{N}-\text{C}-(\text{CH}_2)_2-\text{C}-\text{COOH} \\ \\ \text{H} \end{array}$
C. Aminoacid chứa gốc R tích điện âm	
Acid asparaginic (Asp, D)	$\begin{array}{c} \text{NH}_2 \\ \\ \text{HOOC}-\text{CH}_2-\text{C}-\text{COOH} \\ \\ \text{H} \end{array}$
Acid glutamic (Glu, E)	$\begin{array}{c} \text{NH}_2 \\ \\ \text{HOOC}-(\text{CH}_2)_2-\text{C}-\text{COOH} \\ \\ \text{H} \end{array}$
D. Aminoacid có gốc R tích điện dương	
Lysine (Lys, K)	$\begin{array}{c} \text{NH}_2 \\ \\ \text{H}_2\text{N}-(\text{CH}_2)_4-\text{C}-\text{COOH} \\ \\ \text{H} \end{array}$

Arginine (Arg, R)	$\begin{array}{c} \text{NH} \quad \text{NH}_2 \\ \parallel \quad \\ \text{H}_2\text{N}-\text{C}- (\text{CH}_2)_3-\text{C}-\text{COOH} \\ \quad \quad \quad \\ \quad \quad \quad \text{H} \end{array}$
Histidine (His, H)	$\begin{array}{c} \text{NH}_2 \\ \\ \text{---CH}_2-\text{C}-\text{COOH} \\ \\ \text{NH} \quad \text{H} \end{array}$

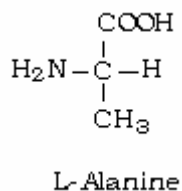
2. Hoạt tính quang học.

Phân tử của mọi aminoacid trừ glycine đều chứa ít nhất một nguyên tử carbon bất đối, do đó là những hợp chất có hoạt tính quang học. Chúng có thể tồn tại ở các dạng đồng phân lập thể D hoặc L. Tuy nhiên, trong tự nhiên hầu hết aminoacid đều có dạng L. Cơ thể động thực vật nói chung chỉ có thể hấp thụ được dạng này.

Các dạng đồng phân D và L của một aminoacid có cấu trúc đối xứng qua gương phẳng. E. Fisher diễn tả hai dạng đồng phân quang học này như sau:



Theo kiểu diễn đạt này liên kết nét đậm là các liên kết trên mặt phẳng nằm ngang hướng về phía người đọc, còn các liên kết nét nhỏ là những liên kết nằm phía trên (nhóm -COOH) và phía dưới (gốc R) của mặt phẳng này. Để thuận tiện hơn, Fisher cũng đề xuất một cách diễn đạt khác gọi là *công thức hình chiếu*, trong đó cả 4 hóa trị của nguyên tử carbon bất đối đều được biểu diễn bằng các gạch nối nét nhỏ như nhau, vị trí của các nguyên tử và nhóm nguyên tử được giữ nguyên như trên. Ví dụ L-alanin được biểu diễn như sau:



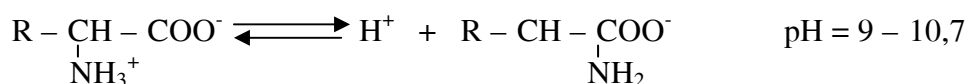
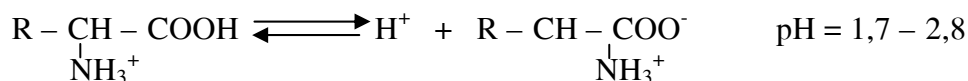
Hoạt tính quang học của một chất liên quan với cấu trúc bất đối của nó, hay nói cách khác, với vị trí của các nguyên tử trong phân tử của chất đó. Kết quả là mỗi dạng đồng phân quang học có khả năng xoay mặt phẳng của tia sáng phân cực một góc nhất định sang trái (-) hoặc sang phải (+). Về mặt định lượng, hoạt tính quang học được thể hiện bằng giá trị có tên gọi là độ quay riêng:

$$[\alpha]_D^{20} = \frac{\text{Góc quay [độ]} \times 100}{\text{Chiều dài đường đi của tia sáng [dm]} \times \text{Nồng độ [g/100ml]}}$$

Giá trị này phụ thuộc nhiệt độ và bước sóng của tia sáng (thường dùng tia D của natri với $\lambda = 5461\text{\AA}$). Trong mỗi dãy D hoặc L đều tồn tại những đại diện có hoạt tính (+) hoặc (-) với những giá trị độ quay riêng đặc trưng. Hỗn hợp gồm 50% dạng D và 50% dạng L của một aminoacid nào đó được gọi là rasebate. Hoạt tính quang học của hỗn hợp đó bằng không.

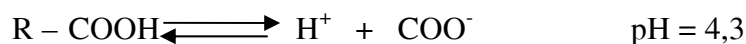
3. Tính chất lưỡng tính.

Aminoacid có ít nhất hai nhóm có khả năng bị ion-hóa: nhóm α -carboxyl với pK nằm giữa 1,7 và 3,0 và nhóm α -amin với pK vào khoảng 10. Trong dung dịch có pH giữa 4 và 7 aminoacid tồn tại ở dạng ion lưỡng tính (zwitterion) khi cả hai nhóm trên đều bị ion hóa:

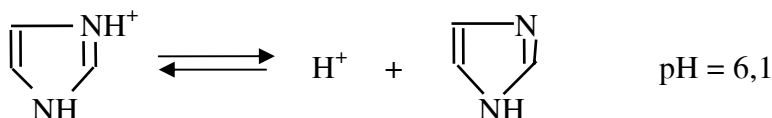


Ngoài ra, một số aminoacid còn chứa các nhóm ion-hóa khác:

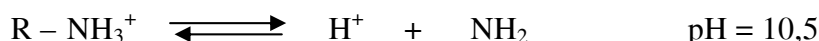
- Các nhóm β - và γ -carboxyl của acid asparaginic và acid glutamic:



- Nhóm β -imidazol của histidine:



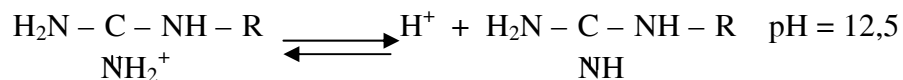
- Nhóm ϵ -amin của lysine:



- Nhóm β -sulfhydryl của cysteine:

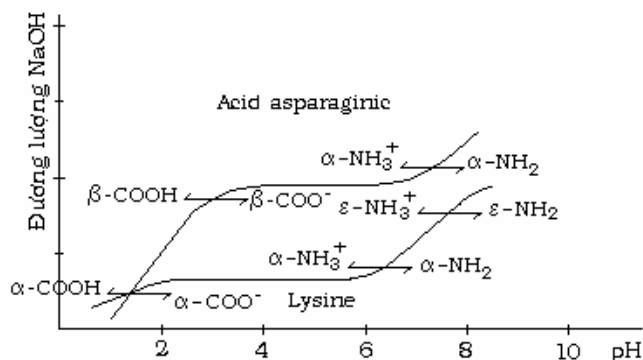


- Nhóm δ -guanidine của arginine:

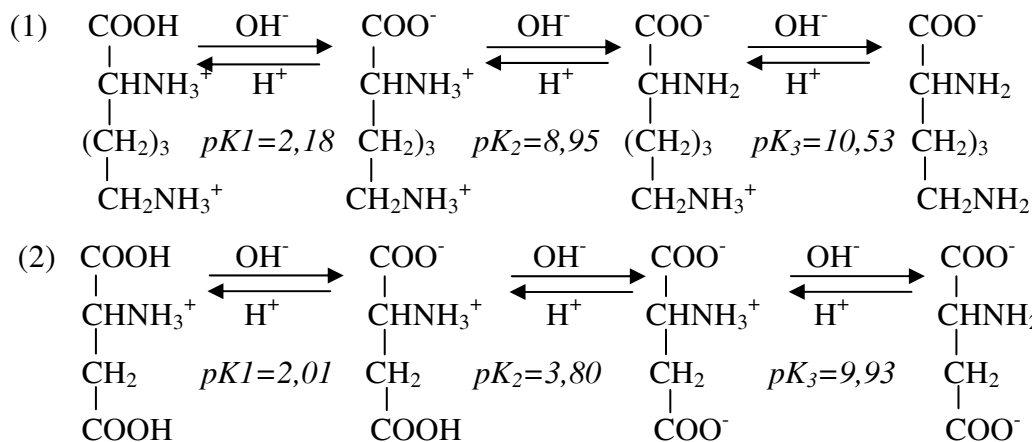


Hình 1.1 trình bày đường cong chuẩn độ mô tả sự ion-hóa kế tiếp nhau của lysine (aminoacid có tính base) và acid asparaginic (aminoacid có tính acid).

Quá trình phân ly của các nhóm ion-hóa trong phân tử của hai chất này được minh họa ở các loạt phản ứng (1) và (2) :



Hình 1.1. Đường cong chuẩn độ của lysine và acid asparaginic.



Ở pH sinh lý cả hai nhóm $-\text{NH}_2$ của lysine cũng như nhóm $-\text{COOH}$ của nó đều bị ion-hóa, tạo ra một điện tích dương yếu trong phân tử. Cũng ở giá trị pH này acid asparaginic mang điện tích âm yếu do sự phân ly của các nhóm carboxyl của nó.

Các giá trị pK của các aminoacid khác nhau được giới thiệu trong bảng 1.2.

Cần nhớ rằng pK là giá trị âm của loga thập phân của hằng số phân ly K, trong đó:

$$K = [H^+] \times \frac{[A^-]}{[HA]} \quad (\text{HA là aminoacid ở trạng thái không phân ly})$$

Theo phương trình Henderson-Hasselbalch, pH, tức giá trị âm của loga thập phân

của $[H^+]$, bằng $pK + \log \frac{[A^-]}{[HA]}$.

Bảng 1.2. Giá trị pK của một số aminoacid.

<i>Aminoacid</i>	<i>PK₁</i>	<i>PK₂</i>	<i>PK₃</i>	<i>Aminoacid</i>	<i>PK₁</i>	<i>PK₂</i>	<i>PK₃</i>	
Gly	2,35	9,78	-	Pro	2,20	10,60	-	
Ala	2,34	9,87	-	HyPro*	1,92	9,73	-	
Ser	2,21	9,15	-	Glu	2,19	4,28	9,66	
Cys	1,96	8,18	10,28	Asp	2,09	3,87	8,82	
Met	2,28	9,21	-	His	1,77	6,10	8,17	
Val	2,32	9,62	-	Lys	2,18	8,95	10,53	
Leu	2,36	9,60	-	Arg	2,09	9,04	12,48	
Ile	2,36	9,68	-	Thr	2,63	10,40	-	
Tyr	2,60	9,10	10,10	Gln	2,17	9,13	-	
Phe	2,58	9,24	-	Asn	2,02	8,80	-	
Trp	2,38	9,39	* - HyPro - Hydroxyproline					

Giá trị pH mà tại đó phân tử aminoacid (hoặc một chất điện phân lưỡng tính) mang số điện tích âm và dương như nhau được gọi là *điểm đẳng điện* và ký hiệu là pH_i . Tại giá trị này aminoacid không di chuyển trong điện trường một chiều. Mỗi aminoacid có điểm đẳng điện đặc trưng.

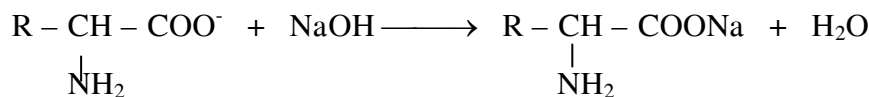
Thông thường, giá trị của pH_i của một aminoacid là giá trị trung bình cộng của các giá trị pK của nó.

4. Các phản ứng hóa học đặc trưng.

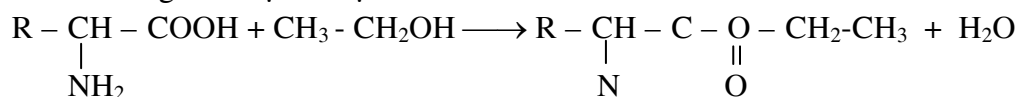
Tính chất hóa học đặc trưng của aminoacid bao gồm các phản ứng liên quan với nhóm α -carboxyl, α -amin và các nhóm chức khác trong thành phần của gốc R.

a/ Các phản ứng của nhóm α -carboxyl:

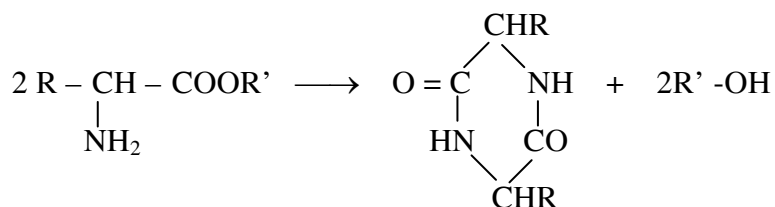
- Phản ứng với kiềm để tạo ra muối tương ứng:



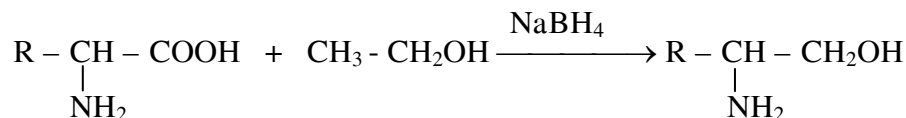
- Phản ứng với rượu để tạo ester:



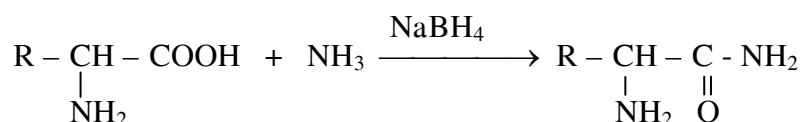
Những ester này có thể ngưng tụ khi đun nóng để tạo ra sản phẩm màu dicetopyperazine tương ứng:



Dưới tác dụng của các tác nhân khử mạnh, ví dụ borhydrite natri, aminoacid bị khử thành rượu amine tương ứng:



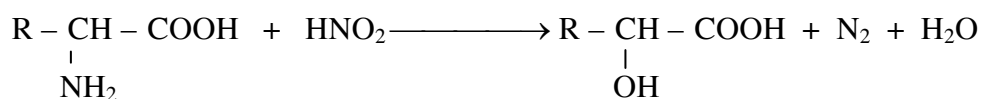
- Kết hợp với ammoniac để tạo ra amide:



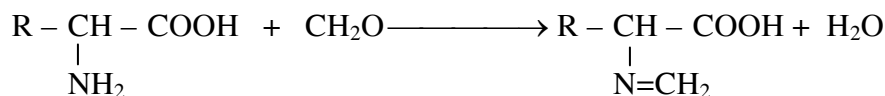
Hai phản ứng này cũng thường được sử dụng để xác định trật tự aminoacid trong chuỗi polypeptide từ đầu tận cùng chứa nhóm -COOH tự do (C-tận cùng).

b/ Các phản ứng của nhóm α-amine.

- Phản ứng với HNO₂ tạo nên oxyacid tương ứng, nitơ tự do và nước:



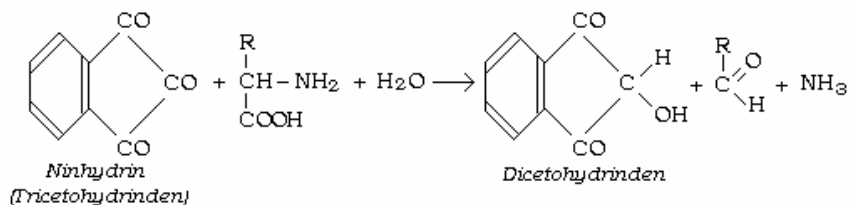
Phản ứng với aldehyde, ví dụ pormaldehyde, để tạo ra các hợp chất rất linh động có tên chung là hợp chất schiff:



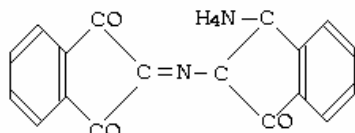
Hai phản ứng này thường được dùng để định lượng aminoacid tự do.

- Phản ứng với ninhydrin:

Khi đun nóng với ninhydrin đa số aminoacid bị oxy hóa và phân giải thành anhydride tương ứng, CO₂ và NH₃.



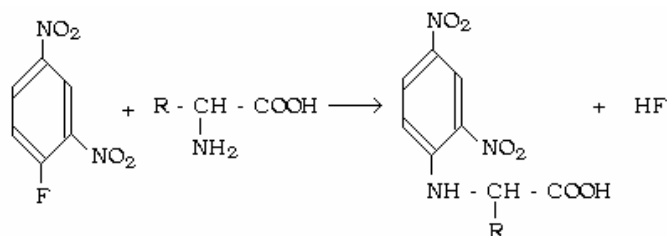
Trong những điều kiện nhất định NH₃ ngưng tụ với dicetohydrinden và với phân tử ninhydrin thứ hai để tạo thành sản phẩm màu tím đỏ hay lam đỏ:



Phản ứng này rất nhạy và được dùng để định lượng aminoacid bằng phương pháp sắc ký và điện di trên giấy.

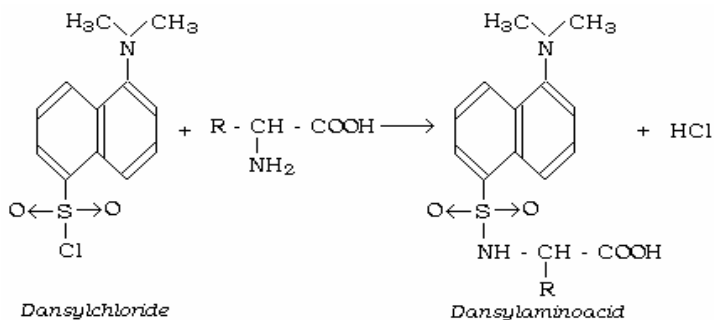
Proline và oxyproline tạo ra với ninhydrin các sản phẩm màu vàng.

- Phản ứng Sanger:



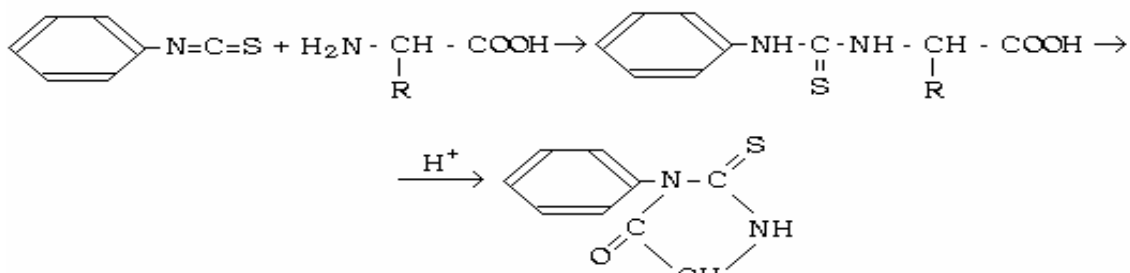
Phản ứng này được Sanger dùng để xác định trật tự aminoacid của chuỗi polypeptide từ đầu N-tận cùng, tức đầu tận cùng chứa nhóm NH₂ tự do.

Phản ứng với 1-dimethylaminophthalin-β-sulfonylchloride (gọi tắt là dansyl-chloride):



- Phản ứng Edman:

α-Aminoacid phản ứng với phenylisothiocyanate để tạo ra các dẫn xuất phenylthio-hydatoyl tương ứng:



Hai phản ứng cuối cùng được sử dụng với mục đích như phản ứng Sanger.

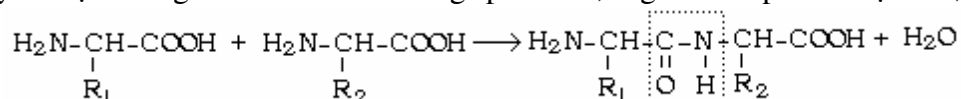
c/ Các phản ứng của gốc R.

Gốc R của các aminoacid khác nhau chứa các nhóm hoạt động khác nhau như đã giới thiệu ở mục (1). Các phản ứng với sự tham gia của chúng rất đa dạng và là yếu tố quan trọng góp phần xác định đặc điểm cấu trúc và hoạt tính sinh học của protein. Chúng sẽ được xem xét tới sau trong các mục IV và VI.

II. PEPTIDE.

Peptide là những hợp chất được hình thành từ ít nhất hai phân tử aminoacid, trong đó nhóm α -amine của aminoacid này kết hợp với nhóm α -carboxyl của aminoacid kia bằng liên kết $-CO-NH-$ (liên kết peptide):

Tùy thuộc số gốc aminoacid trong phân tử, người ta phân biệt di-, tri-,

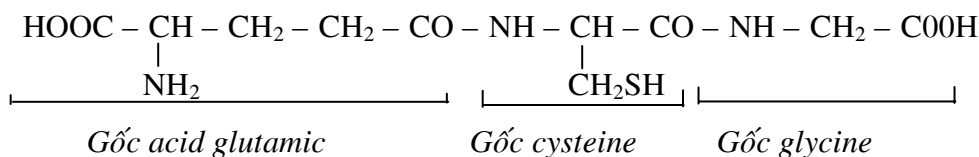


tetrapeptide v.v... Những peptide chứa từ hai đến khoảng 10 gốc aminoacid được gọi chung là *oligopeptide*. Nếu số gốc aminoacid đạt đến hàng trăm, ta có *polypeptide* – cơ sở cấu trúc của protein.

Để gọi tên các peptide phân tử nhỏ, người ta ghép lần lượt từ đầu N-tận cùng tên của các gốc aminoacid, trong đó đuôi “-ine” được đổi thành “-yl”; riêng tên của aminoacid C-tận cùng được giữ nguyên. Ví dụ glycylalanin, glycylalanylserin v.v...

Trong tự nhiên đã phát hiện được nhiều peptide khác nhau có vai trò sinh học rất quan trọng như glutation, oxytosin, vasopresin...

Glutation (γ -glutamylcysteylglycine) là một tripeptide có cấu tạo như sau:

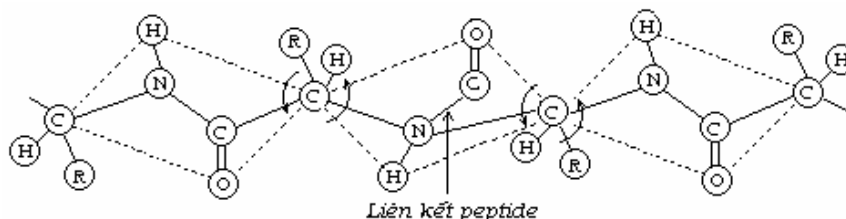
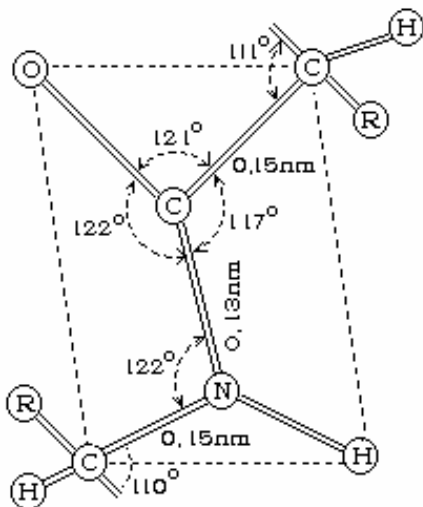


Glutation có vai trò quan trọng trong hô hấp. Trừ dạng khử trên đây nó có thể chuyển hóa thuận nghịch thành dạng oxy hóa:

III. TÍNH CHẤT CỦA LIÊN KẾT PEPTIDE.

Liên kết C-N trong liên kết peptide không thể xoay tự do và mang tính chất trung gian giữa liên kết đôi và liên kết đơn. Khoảng cách giữa C và N trong liên kết peptide bằng 0,13nm, tức ngắn hơn liên kết bình thường giữa nguyên tử carbon α - và nguyên tử nitơ kế cận (0,15nm và dài hơn liên kết đôi thực thụ giữa C và N (0,125nm).

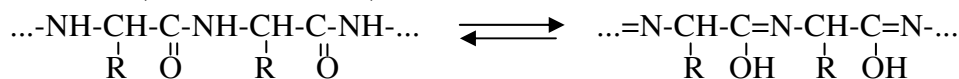
Bốn nguyên tử của liên kết peptide và hai nguyên tử carbon α - luôn nằm trên cùng một mặt phẳng, trong đó oxy của nhóm carbonyl và hydro của nhóm amin nằm ở vị trí trans đối với nhau.



Hình 1.2. Cấu tạo của liên kết peptide.

Gốc R và nguyên tử hydro đính với C- α nằm ở hai phía đối diện của mặt phẳng và tạo với mặt phẳng này một góc $109^{\circ}28'$. Khác với liên kết giữa C và N trong liên kết peptide, liên kết giữa C- α và N trong chuỗi peptide có thể xoay tự do và quyết định dạng cấu trúc của phân tử protein (hình 1.2).

Cũng do tính chất trung gian này nên chuỗi peptide có thể tồn tại ở cả hai dạng cetone và enol (tính chất hổ biến):



Nhờ tính hổ biến này mà khả năng phản ứng của phân tử protein tăng lên đáng kể.

IV. CÁC LIÊN KẾT THỨ CẤP TRONG PHÂN TỬ PROTEIN.

Ngoài liên kết peptide có nhiệm vụ nối các aminoacid với nhau để tạo nên chuỗi polypeptide, trong phân tử protein còn xuất hiện nhiều kiểu liên kết thứ cấp góp phần làm ổn định phân tử và quy định dạng cấu trúc của phân tử. Những liên kết này hình

thành được là do sự tồn tại của các nhóm chức rất đa dạng trong các gốc R với những khả năng phản ứng và tương tác khác nhau (hình 1.3):

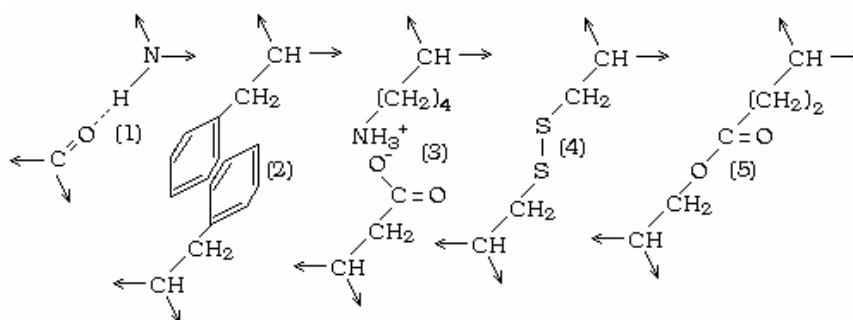
Liên kết ion giữa các nhóm tích điện trái dấu;

Liên kết disulfide giữa các nhóm –SH của cysteine thuộc cùng một chuỗi polypeptide hoặc giữa các chuỗi polypeptide khác nhau;

Liên kết ester giữa nhóm hydroxyl của serine hay threonine với nhóm β- và γ- của các aminoacid dicarboxylic;

- Liên kết hydro giữa các nhóm $\text{C}=\text{O}$ và NH thuộc các liên kết peptide hoặc giữa H và O ở trạng thái liên kết đồng hóa trị thuộc các nhóm chức trong một số gốc R (ví dụ giữa nhóm γ-COOH của gốc acid glutamic và nhóm ε-amin của gốc lysine).

- Liên kết kỵ nước giữa các nhóm không phân cực (có tính kỵ nước) chỉ chúng bị dung môi (nước) xô đẩy. Trong trường hợp đó chúng có xu hướng tập hợp lại và gắn bó với nhau. Cũng như liên kết hydro, liên kết kỵ nước có năng lượng không lớn. Tuy vậy, do tồn tại với số lượng nhiều nên vai trò của hai kiểu liên kết này, đặc biệt là liên kết hydro, không kém quan trọng so với các kiểu liên kết thứ cấp khác trong việc xác định cấu trúc, tính chất và chức năng của protein.



Hình 1.3. Các kiểu liên kết thứ cấp trong phân tử protein: (1)– Liên kết hydro; (2) – Liên kết kỵ nước; (3) – Liên kết ion (4) – Liên kết disulfide; (5) – Liên kết ester.

Trong việc làm ổn định cấu trúc của phân tử protein còn có vai trò của lực Vandervaals, tức lực hấp dẫn giữa các nguyên tử xuất hiện do sự thăng giáng điện thế vốn được cảm ứng khi khoảng cách giữa chúng vừa đủ để làm xuất hiện lực hấp dẫn tĩnh điện giữa các điện tử tích điện âm của nguyên tử này với nhân tích điện dương của nguyên tử khác. Do nhân bị bao bọc bởi lớp điện tử nên lực Vandervaals rất yếu (1-2 Kcal/mol). Trong điều kiện nhiệt độ sinh lý lực hấp dẫn Vandervaals sẽ có hiệu lực nhất nếu nhiều nguyên tử của một phân tử tương tác một cách đồng thời với nhiều nguyên tử của phân tử khác.

V. CẤU TRÚC CỦA PROTEIN.

1. Cấu trúc bậc một.

Người ta gọi cấu trúc bậc một của protein là thành phần và trật tự sắp xếp của các gốc aminoacid trong chuỗi polypeptide. Tính đa dạng của protein được thể hiện chủ yếu ở tính đa dạng trong cấu trúc bậc một của chúng, vì mỗi loại protein có cấu trúc bậc một hoàn toàn xác định và đặc trưng. Một sự nhầm lẫn nhỏ trong cấu trúc bậc một liên quan đến một trong số hàng trăm gốc aminoacid cũng đủ để làm cho tính chất của protein biến đổi đáng kể và gây ra những bệnh phân tử rất trầm trọng. Ví dụ điển hình cho loại bệnh phân tử này là bệnh thiếu máu hồng cầu liềm. Hemoglobin của người mắc bệnh này (HbS) chỉ khác với hemoglobin của người khỏe (HbA) ở chỗ gốc acide glutamic ở vị trí thứ 6 của một trong hai chuỗi polypeptide của hemoglobin (chuỗi β -) đã bị thay thế bởi gốc valine:

HbA: $\text{H}_2\text{N}-\text{Val}-\text{His}-\text{Leu}-\text{Thr}-\text{Pro}-\text{Glu}-\text{Glu}-\text{Lys}-\dots$

HbS: $\text{H}_2\text{N}-\text{Val}-\text{His}-\text{Leu}-\text{Thr}-\text{Pro}-\text{Val}-\text{Glu}-\text{Lys}-\dots$

Sự “nhầm lẫn” này đã làm cho tính chất lý hóa của hemoglobin biến đổi. Từ dạng hình cầu nó chuyển thành dạng lưỡi liềm và không còn khả năng vận chuyển oxy nữa.

Xác định cấu trúc bậc một của protein được thực hiện chủ yếu trên cơ sở các phản ứng Sanger, Dansyl, Edman và một số phản ứng khác kết hợp với phương pháp điện di, sắc ký, thủy phân bằng enzyme v.v... Đặc biệt, phản ứng Edman là cơ sở hoạt động của máy phân tích aminoacid tự động, vì sau khi tạo ra phenylhydantoyl chuỗi peptide vừa bị rút ngắn một gốc aminoacid từ đầu N-tận cùng lại tiếp tục vòng phản ứng khác với phenylisothiocyanate.

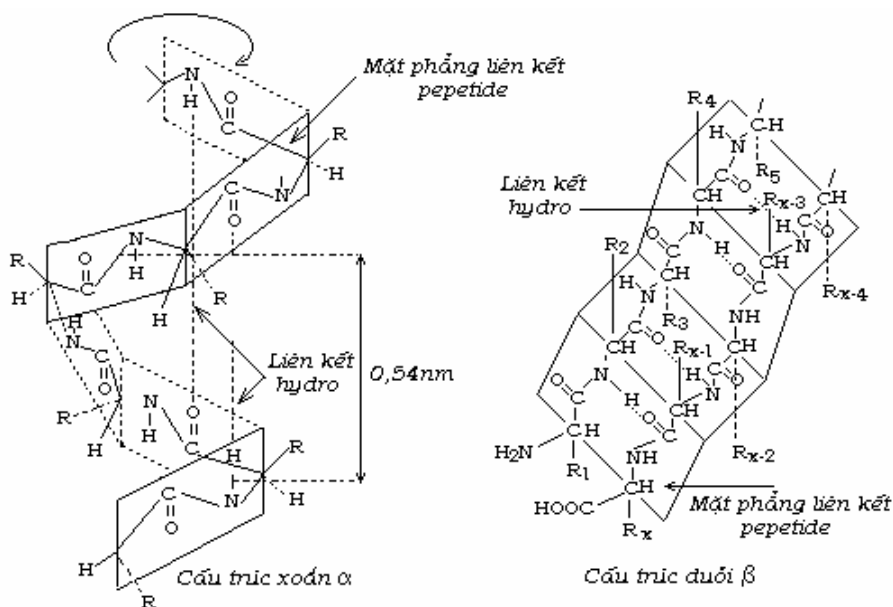
2. Cấu trúc bậc hai.

Danh từ “cấu trúc bậc hai” được dùng để chỉ các trạng thái cấu trúc xoắn α - và chuỗi thẳng β - của chuỗi polypeptide (hình 1.4).

Cấu trúc xoắn α - là kiểu sắp xếp trong không gian quan trọng và thường gặp nhất của các phân tử protein hình cầu. Nó cũng đặc trưng cho α -keratin của tóc, lông cừu, móng, sừng (protein sợi). Chuỗi polypeptide cuộn xung quanh một trục tưởng tượng theo chiều quay phải (chiều kim đồng hồ nếu nhìn từ đầu N-tận cùng). Mỗi vòng xoắn gồm 3,6 gốc aminoacid. Như vậy, cứ 18 gốc aminoacid tạo ra 5 vòng xoắn trọn vẹn. Mỗi bước của mạch xoắn dài 0,54nm, do đó chiều dài của mỗi aminoacid trên trục là $0,54 : 3,6 = 0,15\text{nm}$. Cấu trúc này hình thành được là do sự sắp xếp trên mặt phẳng một cách cố định của liên kết peptide và khả năng xoay tự do của C_α kế cận. Hai mặt phẳng có chung nguyên tử C_α giao nhau với góc 108° . Sự tồn tại của vô số các liên kết hydro trong chuỗi polypeptide làm cho cấu hình của phân tử được ổn

định. Cấu trúc ổn định nhất của phân tử protein có được khi số lượng liên kết hydro lớn nhất.

Các gốc R tỏa ra từ chu vi của ống trục tưởng tượng. Nói chung, các gốc aminoacid kỵ nước xoay vào phía trong, còn những gốc ưa nước hướng ra ngoài. Trong các phân tử protein hình cầu khu vực xoắn α chỉ chiếm một phần nhất định (ví dụ 75% ở myoglobin), phụ thuộc pH của môi trường và thành phần aminoacid. Những khu vực chứa isoleucine, proline và glycine không có cấu trúc xoắn α .



Hình 1.4. Các kiểu cấu trúc bậc hai của protein.

Cấu trúc dải β tồn tại trong fibroin của tơ và β -keratin. Theo kiểu cấu trúc này các chuỗi polypeptide ở trạng thái hầu như dải thẳng nằm song song nhau và ngược chiều nhau. Trái với cấu trúc α , trong cấu trúc β các liên kết hydro hình thành giữa các chuỗi polypeptide khác nhau. Các gốc R hướng thẳng góc với mặt phẳng liên kết peptide về phía trên và phía dưới. Phối hợp một số dây như vậy sẽ tạo nên cấu trúc dạng tổ ong của protein.

Ngoài hai kiểu cấu trúc trên đây còn có một kiểu cấu trúc bậc hai khác đặc trưng cho protein sợi collagen. Loại protein này chứa $1/3$ glycine và $1/4$ proline nên không thể tạo nên cấu trúc α . Kết quả phân tích cấu trúc bằng tia Rơn-ghen cho thấy trong sợi collagen cứ 3 chuỗi polypeptide cuộn lại với nhau tạo ra một dạng đơn vị có tên gọi là tropocollagen. Các đơn vị tropocollagen này sắp xếp trong sợi collagen của gân theo từng bậc lệch nhau khoảng 60-70nm.

3. Cấu trúc bậc ba.

Cấu trúc bậc ba là cấu hình không gian của chuỗi polypeptide. Nó được xác định bởi cấu trúc bậc một và bậc hai. Cấu trúc bậc ba hình thành một cách tự phát phụ thuộc vào kích thước, hình dạng và tính phân cực của các gốc aminoacid. Những gốc này tương tác với nhau và với các phân tử dung môi và bằng cách đó làm suy yếu khả năng xoay tự do của các liên kết trong chuỗi polypeptide. Sự tương tác đó được thực hiện bằng các kiểu liên kết disulfide, ester, hydro và tương tác kỵ nước.

Các chuỗi polypeptide của protein hình cầu được cấu tạo thành khối một cách rắn chắc. Ví dụ phân tử myoglobin (gồm một chuỗi polypeptide duy nhất với trọng lượng phân tử 16.700, chứa 153 gốc aminoacid) được bó chặt đến mức trong lòng nó chỉ có thể chứa 4 phân tử nước. Tất cả các gốc R có tính phân cực được sắp xếp ở mặt ngoài ở dạng hydrate-hóa còn hầu hết các gốc R không phân cực có tính kỵ nước nằm trong lòng phân tử để tránh tiếp xúc với nước. Những gốc aminoacid không có khả năng tạo cấu trúc xoắn α nằm tại những nơi chuỗi polypeptide bị gấp khúc.

Tính chất sinh học của protein phụ thuộc không những vào cấu trúc bậc một, bậc hai mà cả vào cấu trúc bậc ba của chúng. Các yếu tố phá vỡ cấu trúc bậc ba đều làm mất hoạt tính sinh học của protein.

4. Cấu trúc bậc bốn.

Phân tử của đa số protein với trọng lượng phân tử trên 50.000 thường được cấu tạo từ hai chuỗi polypeptide trở lên. Những chuỗi polypeptide này được gắn với nhau bằng các loại liên kết yếu như liên kết hydro, liên kết kỵ nước hoặc các loại liên kết mạnh hơn như liên kết ester, liên kết disulfide v.v... Mỗi chuỗi polypeptide với cấu trúc bậc một, bậc hai và bậc ba xác định tạo thành một *phần dưới đơn vị*. Những phần dưới đơn vị đó kết hợp với nhau để tạo nên phân tử protein hoàn chỉnh. Các sắp xếp đặc trưng trong không gian của các phần dưới đơn vị trong mỗi phân tử protein hoàn chỉnh loại này được gọi là cấu trúc bậc bốn của protein đó.

Ví dụ điển hình cho những protein có cấu trúc bậc bốn là hemoglobin ($M=68.000$) được cấu tạo bởi 4 chuỗi polypeptide - 2 chuỗi α và 2 chuỗi β . Chuỗi α chứa 141 gốc aminoacid, còn chuỗi β - 146 gốc. Mỗi chuỗi gắn với một phân tử hem. Cả 4 phần dưới đơn vị sắp xếp tương hỗ nhau theo quy luật hoàn toàn xác định, làm cho phân tử hemoglobin có dạng gần như hình cầu với kích thước $50 \times 50 \times 64 \text{ \AA}$.

Trong nhiều trường hợp các phần dưới đơn vị có thể hình thành từ một số chuỗi polypeptide. Khi đó mỗi chuỗi polypeptide được gọi là *protomer*, còn phần dưới đơn vị được gọi là *oligomer*. Những oligomer này kết hợp với nhau thành một phân tử protein có cấu trúc bậc bốn hoàn chỉnh. Đó là trường hợp của glutamate dehydrogenase của gan bò. Enzyme này ($M=2,2 \times 10^6$) cấu tạo bởi 8 oligomer với $M=280.000$. Mỗi oligomer này lại được hình thành từ một số chuỗi polypeptide với trọng lượng phân tử khoảng 50.000.

Bản thân hemoglobin cũng có thể phân ly thành 2 oligomer, mỗi oligomer chứa một chuỗi α và một chuỗi β .

Các phân tử protein có cấu trúc bậc bốn trong những điều kiện nhất định phân ly thành các phần dưới đơn vị; trong những điều kiện khác những phần dưới đơn vị này lại kết hợp với nhau thành những phân tử ban đầu. Quá trình phân ly và kết hợp này kèm theo sự biến đổi tính chất sinh học của protein. Hoạt tính sinh học cũng phụ thuộc vào các kiểu tổ hợp khác nhau của các phần dưới đơn vị. Mối liên quan này giữa cấu trúc bậc bốn và tính chất của protein là cơ sở của nhiều quá trình điều hòa trong tế bào. Những enzyme then chốt mang chức năng điều hòa các quá trình trao đổi chất đều là những enzyme có cấu trúc bậc bốn.

Sự tồn tại protein có cấu trúc bậc bốn còn là yếu tố góp phần khắc phục tác hại của những sự nhầm lẫn trong quá trình sinh tổng hợp protein. Đó cũng là một phương tiện để tiết kiệm ADN và ARN thông tin.

VI. TÍNH CHẤT CỦA PROTEIN.

1. Tính chất lưỡng tính.

Trong dung dịch, cũng như aminoacid, protein tồn tại ở dạng ion lưỡng cực. Tuy nhiên, khác với aminoacid, tính chất lưỡng tính của protein được quyết định bởi các gốc R có khả năng ion-hóa. Các nhóm α -carboxyl và α -amin tận cùng do chiếm tỷ lệ rất ít trong phân tử protein nên ảnh hưởng không đáng kể đến tính chất này. Mỗi protein có một điểm đẳng điện đặc trưng. Tại điểm đẳng điện protein rất dễ bị kết tủa. Tính chất lưỡng tính được sử dụng để tách và tinh chế protein trên cơ sở phương pháp điện di.

2. Hoạt tính quang học.

Protein là những hợp chất có hoạt tính quang học do trong phân tử chứa nhiều nguyên tử carbon bất đối. Tuy nhiên, độ quay tổng số của chuỗi polypeptide không phải là phép cộng đơn giản độ quay của toàn bộ aminoacid trong thành phần của nó. Protein thường có độ quay phải lớn hơn. Mức “quay phải thừa” tối đa được ghi nhận khi chuỗi polypeptide có dạng xoắn α . Khi chuỗi polypeptide ở trạng thái hỗn độn thì không nhận thấy có sự chênh lệch này. Vì vậy, trên cơ sở hoạt tính quang học có thể xác định tỷ lệ khu vực xoắn α trong phân tử protein và nghiên cứu các yếu tố ảnh hưởng đến sự hình thành và phá vỡ cấu trúc đó.

3. Tính hydrate-hóa.

Protein liên kết chặt chẽ với nước trong cơ thể nhờ phân tử của chúng có chứa các nhóm ưa nước như $-\text{COOH}$, $-\text{OH}$, $-\text{NH}_2$ v.v... Những nhóm này lôi cuốn các phân tử nước vốn có tính phân cực về phía mình. Nhờ đó hình thành một lớp nước xung quanh phân tử protein. Nhờ vậy dung dịch protein khá bền vững và khó bị kết tủa. Hiện tượng này được gọi là sự hydrate hóa. Chính nhờ lớp nước hydrate-hóa bao bọc xung quanh nên mặc dù tại điểm đẳng điện protein dễ bị kết tủa nhưng nói chung tự bản thân nó sẽ không bị kết tủa. Nếu loại trừ lớp nước này các phân tử protein sẽ có

điều kiện tiếp cận nhau, phối hợp lại thành những hạt lớn để cuối cùng vượt khỏi giới hạn kích thước của các hạt keo và do đó bị kết tủa.

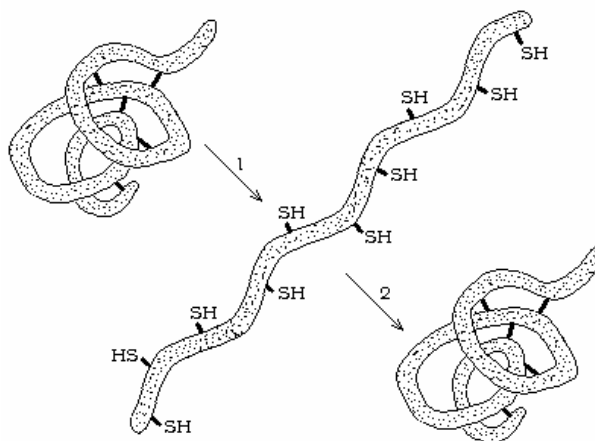
Việc rút nước có thể thực hiện nhờ muối (diêm tích) hoặc các dung môi hữu cơ có tính hút nước mạnh như ethanol, acetone v.v... Nếu việc rút nước được thực hiện trong điều kiện êm dịu (ví dụ nhiệt độ thấp), thì tủa protein vẫn giữ được khả năng hòa tan trở lại cùng với đầy đủ các tính chất nguyên thủy của nó.

Dung dịch protein trong nước là một dạng dung dịch keo (sol). Trong những điều kiện nhất định sol bị mất nước và biến thành dạng keo đặc (gel). Gel khi tiếp xúc với nước sẽ hút một lượng nước rất lớn và trương phồng. Khả năng trương phồng này thấp nhất tại điểm đẳng điện. Sự trương phồng của hạt khi ngâm nước và nảy mầm, sự trương phồng của bột nhào v.v...đều liên quan chặt chẽ với sự trương phồng của gel protein. Khi bị biến tính, khả năng hút nước và trương phồng của protein bị giảm hoặc mất hoàn toàn. Mặt khác, ở trạng thái gel protein khó bị biến tính hơn ở trạng thái sol.

4. Sự biến tính của protein.

Phân tử protein có thể bị biến tính bởi nhiệt độ cao, pH thái cực, tia X, tia cực tím, tia phóng xạ, áp lực cao, các tác động cơ học (ví dụ lắc mạnh dung dịch), tác động của một số hóa chất v.v...

Sự biến tính xảy ra do cấu trúc nguyên thủy bị phá vỡ, chủ yếu vì đứt các liên kết thứ cấp như liên kết hydro, liên kết disulfide v.v... còn cấu trúc bậc một vẫn còn giữ nguyên vẹn. Biến tính kéo theo hiện tượng mất khả năng hòa tan (kết tủa), biến đổi hoạt tính quang học, mất các tính chất sinh học, xuất hiện các yếu tố kháng nguyên mới và trở nên dễ bị phân giải hơn bởi các emzyme tiêu hóa.



Hình 1.5. Sự biến tính thuận nghịch của protein. 1- biến tính; 2- khôi phục trạng thái nguyên thủy; gạch nối đậm – liên kết disulfide.

Khi sự biến tính xảy ra chưa hoàn toàn và nếu sau đó loại bỏ dần tác nhân gây biến tính (ví dụ giảm nhiệt độ từ từ), trạng thái nguyên thủy của protein có thể được khôi phục. Kiểu biến tính này được gọi là biến tính thuận nghịch (hình 1.5).

Khi protein đã biến tính hoàn toàn và sâu sắc, cũng như khi giảm nhiệt độ đột ngột, protein biến tính khó hoặc không thể khôi phục trạng thái nguyên thủy (biến tính không thuận nghịch).

5. Các phản ứng màu đặc trưng.

Tùy thuộc vào thành phần aminoacid, protein có thể cho các phản ứng màu khác nhau.

a/ Phản ứng biurê. Khi cho kiềm và sulphate đồng và dung dịch protein sẽ tạo sản phẩm màu xanh tím hoặc tím đỏ tương tự như khi những chất này tác dụng với biurê ($H_2N-CO-NH-CO-NH_2$). Phản ứng này, vì thế, chứng minh sự tồn tại của liên kết peptide trong phân tử protein.

b/ Phản ứng xanthoprotein. Dưới tác dụng của acid nitric đặc một số protein cho sản phẩm màu vàng. Phản ứng đặc trưng cho những protein có chứa các aminoacid có nhân benzol (tyrosine, phenylalanine, tryptophan).

c/ Phản ứng Milon. Khi đun protein với thuốc thử Milon (hỗn hợp nitrate và nitrite trong acid nitric đặc) sẽ xuất hiện sản phẩm màu hồng hoặc đỏ thẫm. Phản ứng liên quan với sự tồn tại của nhóm phenol của tyrosine.

d/ Phản ứng Adamkjevich. Những protein có chứa tryptophan do sự tồn tại của nhân indol nên khi tác dụng với acid glyoxylic trong acid sulfusuric sẽ cho sản phẩm màu xanh tím.

e/ Phản ứng Sacagusa. Một số protein khi xử lý trước bằng hypoxchloride natri và sau đó bằng β -naphthol sẽ cho màu đỏ thẫm. Phản ứng cho biết trong phân tử có nhóm guanidine của arginine.

6. Hoạt tính và chức năng sinh học của protein.

Hoạt tính sinh học của protein thể hiện ở nhiều khía cạnh khác nhau. Bên cạnh những protein cấu trúc với chức năng chủ yếu là góp phần tạo nên các cơ quan tử của tế bào, còn có những protein enzyme làm nhiệm vụ xúc tác các phản ứng hóa học của quá trình trao đổi chất, Nhiều protein khác làm nhiệm vụ vận chuyển (hemoglobin, myoglobin), cử động (myosin, actin), bảo vệ (protein kháng thể, fibrinogen, trombin), hormone (insulin, hormone sinh trưởng), dự trữ chất dinh dưỡng (ovoalbumin, casein, glyadin, zein). Một số protein là độc tố rất mạnh (nọc rắn, risin, độc tố của một số nấm và vi khuẩn). Ngoài ra, nhờ hoạt tính sinh học của mình, protein còn thực hiện nhiều chức năng khác trong tế bào và cơ thể sống. Sau khi bị biến tính, protein không còn có khả năng đảm nhận bất kỳ chức năng sinh học nào.

Hoạt tính sinh học của protein , cũng như tính chất vật lý và hóa học của chúng, phụ thuộc vào thành phần aminoacid của chuỗi polypeptide. Tính đa dạng của các gốc aminoacid trong phân tử protein cho phép hình thành các kiểu liên kết thứ cấp khác nhau trong nội bộ phân tử protein, giữa các phân tử protein với nhau và giữa các phân

tử protein với các phân tử thuộc các nhóm hợp chất khác nhằm xây dựng các tổ hợp trên phân tử cần thiết để tạo nên các cơ quan khác nhau và quy định tính chất vật lý, hóa học cùng chức năng sinh học của những tổ hợp đó.

Nhiều yếu tố khác nhau của môi trường như nhiệt độ, pH v.v... có tác dụng làm thay đổi mối tương quan giữa các gốc aminoacid trong phân tử protein. Sự thay đổi đó dẫn đến hàng loạt những biến đổi về mặt tính chất vật lý, hóa học, sinh học của protein. Một trong những ví dụ về sự biến đổi đó là sự biến tính.

VII. PHÂN LOẠI PROTEIN.

Do tính đa dạng về mặt cấu trúc và chức năng của protein nên đối với nhiều loại protein không thể thực hiện phân loại một cách thỏa đáng. Nói chung, có hai cách phân loại protein khác nhau. Cách thứ nhất là dựa vào hình dạng, tính tan, chức năng và thành phần hóa học để chia protein thành nhiều nhóm. Dựa vào thành phần hóa học, chia protein thành hai nhóm lớn: protein đơn giản và protein phức tạp.

Protein đơn giản dựa vào tính tan được chia thành các nhóm nhỏ sau đây:

Albumin: tan trong nước, bị kết tủa ở nồng độ muối khá cao (70-100). Nhóm protein này phổ biến ở cơ thể động vật và thực vật. Tinh thể albumin lòng trắng trứng và albumin huyết thanh được sử dụng rộng rãi trong nhiều lĩnh vực.

Globulin: không tan hoặc tan rất ít trong nước, tan trong dung dịch loãng của các muối trung tính. Các protein thuộc nhóm này thường bị kết tủa trong dung dịch $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ bán bão hòa. Globulin có trong huyết thanh máu, lòng trắng trứng. Ở thực vật globulin có trong lá và trong hạt của các cây họ đậu. Ở hạt hòa thảo tập trung chủ yếu trong tầng aluron của hạt.

Prolamin: không tan trong nước và dung dịch muối loãng nhưng tan trong ethanol hoặc isopropanol 70-80%. Prolamin hầu như chỉ có trong nội nhũ chức tinh bột của hạt hòa thảo, ví dụ gliadin của hạt lúa mì, hordein của đại mạch, zein của ngô.

Glutelin: Chỉ tan trong dung dịch kiềm hoặc acid loãng. Glutelin có trong nội nhũ của hạt hòa thảo và hạt của một số cây khác, ví dụ glutelin của hạt lúa mì, ozyenin của hạt lúa.

Prolamin và glutelin là các protein dự trữ điển hình của hạt hòa thảo. Chúng kết hợp với các thành phần khác trong nội nhũ của hạt tạo thành một phức hợp có trọng lượng phân tử rất lớn, gọi là gluten với cấu trúc không gian vô cùng phức tạp.

Histon: Protein có tính base do chứa nhiều các aminoacid có tính base như lysine và arginine., dễ tan trong nước, không tan trong dung dịch ammoniac loãng. Sẽ trình bày kỹ hơn nhóm protein này trong chương acid nucleic.

Ngày nay người ta có xu hướng chia protein thành hai nhóm lớn: protein hình cầu và protein sợi. Protein hình cầu có dạng hình cầu hoặc hình elíp. Hình dạng này có thể xuất hiện từ cấu hình của một hoặc một số chuỗi polypeptide. Trong một số trường hợp (thường gọi là protein đơn giản) những chuỗi polypeptide này không kết

hợp với bất kỳ thành phần nào khác. Trong một số trường hợp khác chuỗi polypeptide kết hợp với một chất đặc biệt không có bản chất aminoacid gọi là *nhóm thêm*, hay *nhóm prostetic*. Những protein loại này thường được gọi là protein phức tạp.

Protein phức tạp thường được mô tả theo nhóm nhóm thêm của chúng, ví dụ, hemoglobin thuộc nhóm hemeprotein, có nhóm nhóm thêm là heme; còn các protein chứa lipid, glucid, kim loại, acid nucleic được xếp tương ứng vào các nhóm lipoprotein, glycoprotein, metaloprotein hoặc nucleoprotein.

Nucleoprotein: Nhóm nhóm thêm là acid nucleic, apoprotein là các protein có tính base, vì vậy chúng kết hợp với nhau khá chặt. Muốn tách riêng chúng phải dùng dung dịch muối hoặc acid loãng. Nucleoprotein tập trung trong nhân tế bào và ribosome.

Nucleoprotein trong tinh dịch cá do acid nucleic kết hợp với protamin, một polypeptide có trọng lượng phân tử gần bằng 5.000 dalton, có tính base do chứa nhiều arginine.

Chromoprotein: là protein phức tạp chứa nhóm nhóm thêm có màu. Tùy theo đặc tính của nhóm prostetic mà các chromoprotein khác nhau có các màu khác nhau, ví dụ hem (porphyrin chứa sắt) có màu đỏ là nhóm nhóm thêm của hemoglobin, mioglobin, cytochrome C, catalase; riboflavine có màu vàng, là nhóm nhóm thêm của các flavoprotein.

Các chromoprotein có hoạt tính sinh học cao, tham gia trong nhiều quá trình sống quan trọng như hô hấp, các phản ứng oxy hóa khử của quá trình thu nhận ánh sáng (rodopsin)...

Lipoprotein: Nhóm thêm là lipid. Lipoprotein đóng vai trò quan trọng trong quá trình vận chuyển lipid trong cơ thể. Lipid không tan trong nước, nhưng sau khi kết hợp với protein, phần lipid kỵ nước cuộn vào trong, phần apoprotein ưa nước làm thành lớp vỏ bọc bên ngoài nên có thể được vận chuyển trong môi trường nước, ví dụ như máu.

Glycoprotein: có nhóm thêm là các momo- hoặc oligosaccharide. Glycoprotein có trong tất cả các mô động vật, thực vật và vi sinh vật. Thuộc nhóm glycoprotein có nhiều protien của máu như các imunoprotein, fibrinogene, musin trong nước bọt và màng nhầy, một số enzyme (bromelain, ribonuclease B của tuyến tụy), các protein cấu trúc của màng tế bào. Phần glucid của glycoprotein của màng tế bào quay ra phía ngoài của màng tế bào, vừa làm nhiệm vụ định hướng glycoprotein trong màng, vừa đóng vai trò “nhận biết” giữa các tế bào. Các gốc glucid thường kết hợp với các nhóm -OH của serine và threonine thông qua các gốc N-acetylglucosamine hoặc N-acetylgalactosamine.

Phosphoprotein: có nhóm thêm là acid phosphoric, kết hợp với apoprotein qua các nhóm -OH của serine và threonine của protein. Phosphoprotein phổ biến trong cơ thể sinh vật, tham gia điều hòa nhiều quá trình quan trọng. Thuộc nhóm này có một số enzyme (như phosphoglucomutase, phosphorylase A), casein của sữa, vitelin của lòng đỏ trứng gà.

Metaloprotein: Theo định nghĩa chung của protein phức tạp, trong phân tử metaloprotein có chứa kim loại, thông thường là Fe, Mg, Cu, Zn, Mo v.v...

Metaloprotein có thể có nhiều chức năng khác nhau như vận chuyển và dự trữ kim loại, liên kết giữa kim loại với apoprotein không bền, trực tiếp tham gia trong hoạt động xúc tác của enzyme.

Kiểu phân loại protein thứ hai là chia protein thành hai nhóm hình cầu và hình sợi. Phần lớn protein hình cầu tan được trong nước, được cấu tạo từ một hoặc một số chuỗi polypeptide. Các tên gọi albumin, globulin vẫn còn được dùng nhưng là để chỉ những protein cụ thể, ví dụ albumine trứng, globulin huyết thanh v.v...

Protein sợi cũng có thể chứa đựng một hoặc một số chuỗi polypeptide. Chúng là những phân tử có hình dạng kéo dài, không đối xứng, chiều dài vượt rất nhiều lần so với bán kính. Protein sợi chủ yếu có mặt trong các mô liên kết, mô đàn hồi, mô co rút với chức năng cấu trúc, hoặc là những chất không tan của tóc và da.

VIII. PHÂN GIẢI PROTEIN.

Protein trong cơ thể sống chủ yếu đảm nhận chức năng cấu trúc và xúc tác. Tuy nhiên, chúng vẫn được dùng làm nguồn năng lượng. Trong trường hợp này trước tiên chúng phải được thủy phân thành aminoacid tự do. Quá trình thủy phân protein được thực hiện nhờ hai nhóm enzyme peptidase. Endopeptidase có nhiệm vụ cắt mạch polypeptide thành nhiều đoạn oligopeptide phân tử nhỏ; trong khi đó exopeptidase tác động lên phân tử protein từ một trong hai đầu tận cùng của chuỗi polypeptide.

Thuộc nhóm endopeptidase có pepsin, trypsin, chymotrypsin ở động vật và papain, bromelin cùng nhiều enzyme khác ở thực vật.

Pepsin được tiết ra từ màng nhầy dạ dày của động vật bậc cao, có pH tối thích 1,0 – 1,5. Tiền thân của nó là dạng không hoạt động pepsinogen. Nó được hoạt hóa thành pepsin nhờ HCl. Enzyme này phân giải những liên kết peptide vốn hình thành từ các aminoacid vòng thơm và dicarboxylic.

Trypsin và chymotrypsin do tuyến tụy tiết ra, thực hiện tác dụng xúc tác trong ruột non với pH 7-8. Tại đó chúng tiếp tục phân giải các chuỗi peptide của thức ăn từ dạ dày đưa xuống sau khi đã được pepsin phân giải sơ bộ. Những enzyme này hình thành từ các dạng tiền thân không hoạt động tương ứng – trypsinogen và chymotrypsinogen. Trypsinogen được hoạt hóa thành trypsin nhờ enterokinase do thành ruột tiết ra cũng như nhờ chính trypsin. Trypsin cũng có tác dụng hoạt hoá chymotrypsinogen thành chymotrypsin. Trong tác dụng xúc tác của mình trypsin phân giải các liên kết peptide có sự tham gia của nhóm carboxyl của arginine hay lysine. Trong khi đó chymotrypsin phân giải những liên kết peptide vốn hình thành với sự tham gia của nhóm carboxyl của tryptophan, phenylalanine hoặc tyrosine.

Papain của đu đủ hoạt động trong phạm vi khá rộng – từ acid yếu đến base yếu, tùy thuộc vào bản chất của cơ chất. Nó công phá những liên kết peptide có leucine glycine và các diaminoacid tham gia. Cũng như các loại peptidase thực vật khác, nó được hoạt hóa nhờ HCN và các hợp chất chứa nhóm –SH.

Song song với endopeptidase, các chuỗi polypeptide còn bị phân giải bởi các loại exopeptidase. Carboxypeptidase phân giải chuỗi polypeptide ở đầu C-tận cùng, aminopeptidase – từ đầu N-tận cùng, lần lượt tách ra các phân tử aminoacid tự do.

Carboxypeptidase A chứa kẽm (Zn^{2+}) và thủy phân tất cả các liên kết C-tận cùng, trừ những liên kết mà aminoacid C-tận cùng là lysine, arginine hoặc proline.

Carboxypeptidase B chỉ tách từ đầu C-tận cùng các aminoacid lysine và arginine.

Leucineaminopeptidase thủy phân các liên kết peptide N-tận cùng với sự tham gia của phần lớn aminoacid.

Các exopeptidase nói trên đều có mặt trong ruột non. Cùng với endopeptidase chúng thủy phân protein thức ăn thành aminoacid tự do để được hấp thụ qua thành ruột vào máu.

Cơ chế của quá trình thủy phân protein nội bào chưa được hiểu biết nhiều, mặc dù trong một số mô và cơ quan, ví dụ trong gan, nó xảy ra với tốc độ rất nhanh.

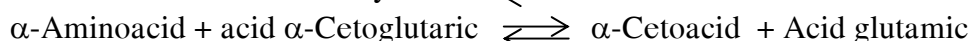
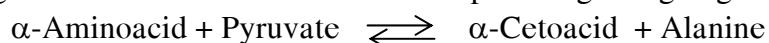
IX. PHÂN GIẢI AMINOACID.

1.Chuyển amin hóa.

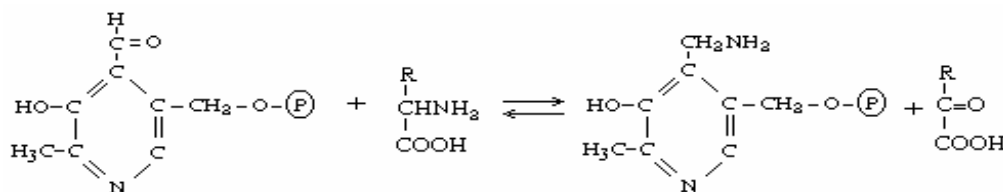
Nhóm α -amine của aminoacid thường được tách khỏi phân tử ở giai đoạn đầu của quá trình dị hóa bằng các cơ chế chuyển amin hóa hoặc desamine hóa.

Nhờ phản ứng chuyển amine hóa nhóm α -amine của ít nhất 11 aminoacid (alanine, arginine, asparagine, cysteine, isoleucine, lysine, phenylalanine, tryptophan, tyrosine, valine, và acid asparaginic) được tách khỏi phân tử và được mang đến carbon α của một trong ba cetoacid là acid α -cetoglutaric, acid pyruvic và acid asparaginic. Kết quả là aminoacid biến thành cetoacid, còn cetoacid biến thành aminoacid.

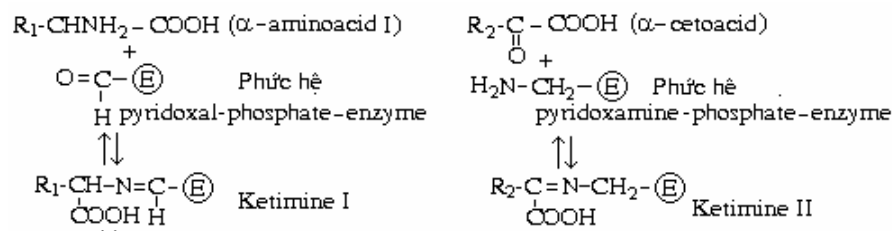
Phản ứng chuyển amin hóa được thực hiện nhờ các enzyme aminotransferase (hay transaminase). Trong số những enzyme này được hiểu biết nhiều nhất là alanie trasaminase và glutamate transaminase xúc tác các phản ứng tương ứng sau đây:



Transaminase có cả trong ty thể và trong bào tương, nhờ đó nhóm α -amine được vận chuyển giữa hai cơ quan này của tế bào. Coenzyme của transaminase là pyridoxalphosphate, dẫn xuất của vitamin B₆. Trong quá trình phản ứng xảy ra sự chuyển hóa thuận nghịch giữa pyridoxalphosphate và pyridoxaminephosphate:



phản ứng này trải qua giai đoạn trung gian với sự hình thành các hợp chất ketimine (hình 11 1\)



Hình 11.1. Các phản ứng chuyển amin hóa

2. Desamin hóa.

Trong khi nhóm α -amine được loại khỏi phân tử aminoacid chủ yếu bằng con đường chuyển amin hóa thì các nhóm amine khác lại được loại khỏi phân tử chủ yếu bằng cơ chế desamine hóa. Trong một số trường hợp desamine hóa cũng được sử dụng cho nhóm α -amine. Desamine hóa là quá trình loại bỏ nhóm amine ở dạng phân tử ammoniac. Kiểu desamine hóa quan trọng nhất là desamine hóa oxy hóa acid glutamic với sự xúc tác của glutamate dehydrogenase:

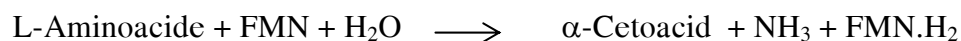


Thông qua phản ứng chuyển amin hóa nhóm amine từ các aminoacid khác nhau cuối cùng đều có thể trở thành nhóm amine của acid glutamic. Về mặt phản ứng trên là con đường desamine hóa **Hình 1.6. Các phản ứng chuyển amin hóa.**

Glutamate dehydrogenase là một enzyme điều hòa, chiếm vị trí then chốt trong trao đổi aminoacid. Hoạt tính của nó bị ức chế bởi ATP, GTP, NAD.H và được hoạt hóa bởi ADP và nhiều aminoacid khác nhau. Nó cũng chịu ảnh hưởng của tyroxine và một số hormone steroid.

Ở một số cơ thể desamine hóa oxy hóa được thực hiện nhờ hai dehydrogenase khác mà nhóm thêm là dẫn xuất của flavine:

- Oxydase L-aminoacid có nhóm thêm là FMN, xúc tác phản ứng:

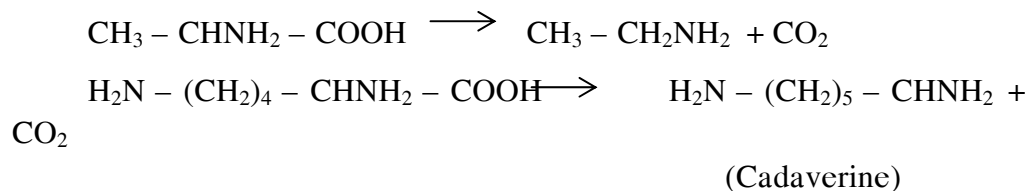


- Oxydase D-aminoacid có nhóm thêm là FAD, xúc tác phản ứng tương ứng đối với D-aminoacide. Tuy nhiên, những enzyme này đóng vai trò không quan trọng lắm

trong việc trao đổi nhóm amine. Người ta chưa rõ vai trò của enzyme sau cùng trong cơ thể động vật, nơi mà hầu như không có D-aminoacid.

3. Decarboxyl hóa.

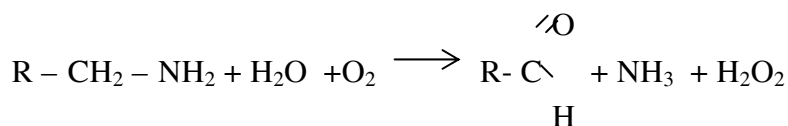
Bị decarboxyl hóa, aminoacid mất nhóm -COOH và biến thành amine hoặc diamine. Ví dụ:



Amine là những chất rất độc đối với cơ thể động vật cũng như thực vật. Ở động vật chúng hình thành trong quá trình lên men thối, ví dụ trong ruột già. Ở thực vật người ta nhận thấy cadaverine và putresine (sản phẩm decarboxyl hóa của ornitin) xuất hiện nhiều khi cây thiếu kali. Trong trường hợp đó cây có thể bị chết.

Các phản ứng desamine hóa aminoacid được xúc tác bởi nhóm enzyme decarboxylase mà nhóm thêm cũng là pyridoxalphosphate.

Trong cơ thể các amine chuyển hóa tiếp tục nhờ monoaminoxidase hoặc diaminoxidase:

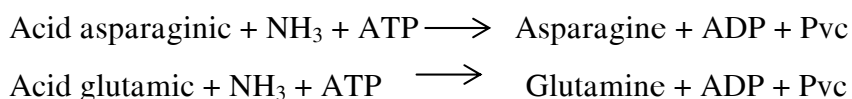


Ở thực vật amine có thể tham gia tổng hợp các hợp chất dị vòng, trong đó có alcaloid

4. Số phận của ammoniac và chu trình urea.

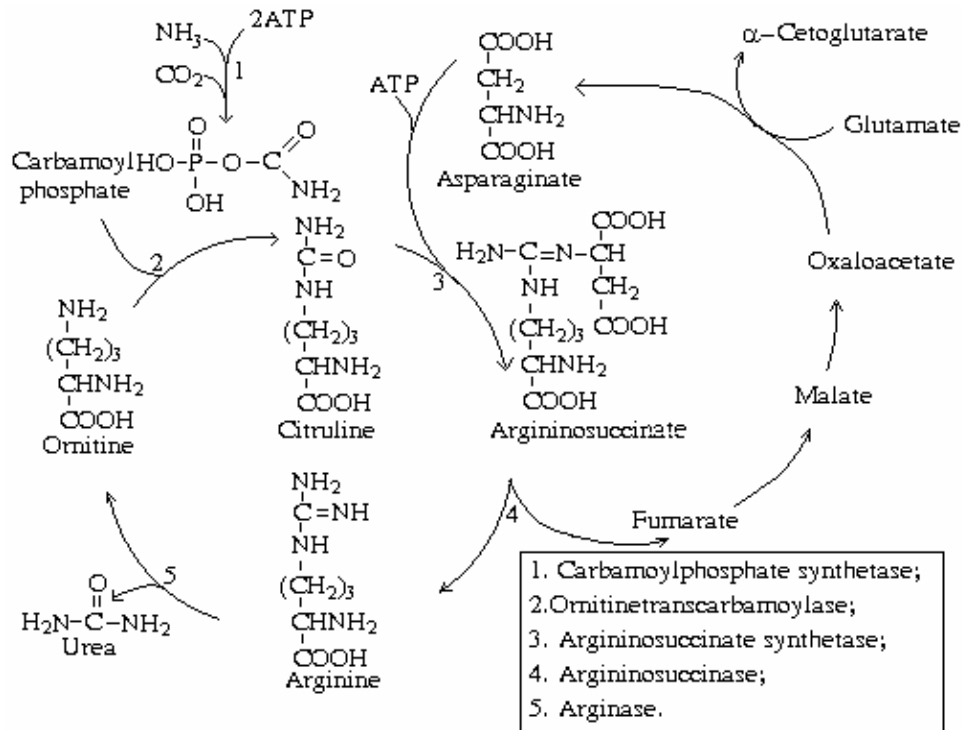
Một lượng lớn ammoniac xuất hiện trong quá trình dị hóa aminoacid và các hợp chất nitơ khác. Ở thực vật nó được hấp thụ lại thông qua các phản ứng tổng hợp aminoacid, muối amon của acid hữu cơ hoặc urea. Ở động vật có vú, lưỡng thê và một số loài cá urea cũng được tổng hợp để sau đó bị bài tiết ra môi trường.

Việc tổng hợp amide (asparagine và glutamine) được thực hiện nhờ asparagine synthetase và glutamine synthetase nhờ năng lượng của ATP:



Trong nhiều trường hợp NH₃ tạo muối với các acid hữu cơ trong dịch bào của thực vật, ví dụ với acid malic, acid oxalic v.v...

Tổng hợp urea ở thực vật và một số động vật là một quá trình gồm nhiều giai đoạn gọi là chu trình urea hay chu trình ornitine (hình 11.2).

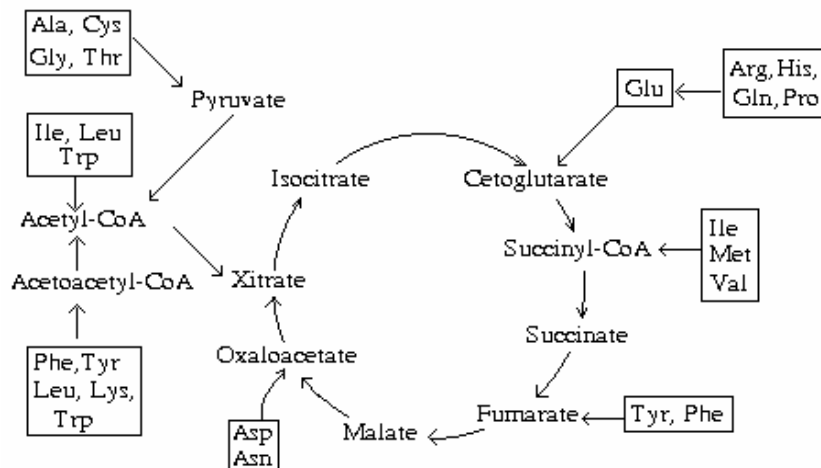


Hình 11.2 Chu trình ornitine (chu trình urea).

5. Di hóa aminoacid và chu trình acid tricarboxylic.

Sự phân giải aminoacid được thực hiện bằng nhiều con đường khác nhau, song đều dẫn đến một số ít sản phẩm để sau đó tiếp tục tham gia chu trình acid tricarboxylic (hình 11.3).

Các aminoacid khác nhau bằng các con đường khác nhau đi vào chu trình acid tricarboxylic tại 5 điểm: acetyl-CoA (qua pyruvate hoặc qua acetoacetyl-CoA), α -cetoglutarate, succinyl-CoA, fumarate và oxaloacetate. Chi tiết của những con đường này rất phức tạp. Có thể tìm thấy chúng trong nhiều tài liệu giáo khoa khác nhau về hóa sinh.



Hình 11.3. Mối liên hệ giữa di hóa aminoacid và chu trình acid tricarboxylic.

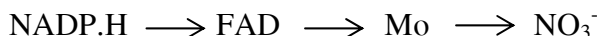
X. SINH TỔNG HỢP AMINOACID.

Các nhóm sinh vật khác nhau có khả năng tổng hợp aminoacid không giống nhau. Thực vật và nhiều loại vi sinh vật có thể tổng hợp tất cả những aminoacid mà chúng cần từ ammoniac, nitrate hoặc nitrite. Cây bộ đậu và một số thực vật khác, nhờ vi khuẩn nốt sần sống cộng sinh với hệ rễ của chúng, có thể sử dụng cả nitơ phân tử để tổng hợp aminoacid. Động vật thường chỉ tổng hợp được một số aminoacid nhất định. Những aminoacid cần thiết còn lại (aminoacid không thay thế) cần được tiếp nhận từ môi trường qua thức ăn. Aminoacid không thay thế đối với người là valine, leucine, isoleucine, lysine, metionine, threonine, phenylalanine và tryptophan; trong những điều kiện nhất định – cả histidine và arginine.

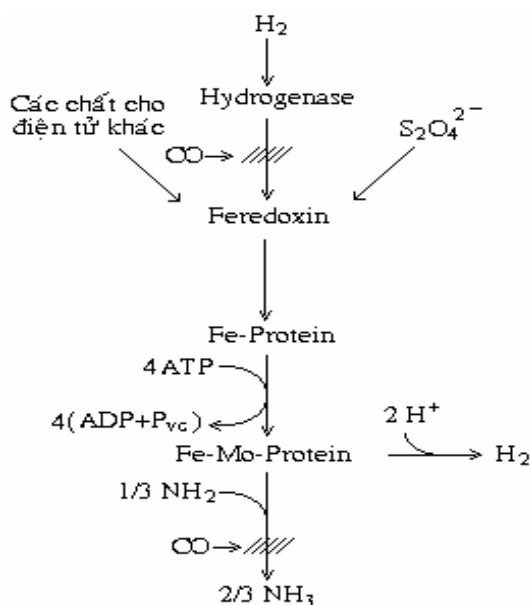
1. Khử nitrate và cố định nitơ.

Ammoniac là cơ chất trực tiếp để tổng hợp aminoacid. Trong cơ thể thực vật và vi sinh vật nó hình thành trong quá trình khử nitrate hoặc cố định nitơ phân tử.

Quá trình khử nitrate thành ammoniac được thực hiện qua hai giai đoạn chính: khử nitrate thành nitrite nhờ nitrate reductase và khử nitrite thành ammoniac nhờ nitrite reductase. Nitrate reductase là một flavoprotein chứa molipden, sử dụng NADP.H làm chất cho điện tử. Trong quá trình phản ứng dòng điện tử được vận chuyển theo trật tự :



Hoạt động của nitrite reductase cần sự tham gia của feredoxin khử vốn hình thành trong giai đoạn phản ứng sáng của quang hợp với tư cách chất cho điện tử:



GS.TS

Cố định nitơ phân tử được thực hiện chủ yếu nhờ Rhizobium cộng sinh với thực vật bậc cao. Tảo lam, Azotobacter, vi khuẩn quang hợp và một số vi khuẩn sống tự do khác cũng có khả năng này. Quá trình cố định nitơ phân tử được thực hiện nhờ hydrogenase, feredoxin và hai loại

Khoa Sinh học

Hình 11.4. Sơ đồ dòng điện tử trong quá trình cố định nitơ phân tử.

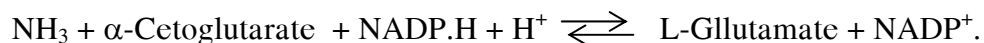
protein enzyme khác, một loại chứa sắt (Fe-protein), loại kia chứa sắt và molybden (Fe-Mo-protein). Năng lượng cần cho quá trình này do ATP cung cấp. Sơ đồ dòng điện tử trong quá trình cố định nitơ có dạng khái quát như mô tả ở hình 11.4.

Oxide carbon ức chế quá trình này bằng cách hưởng dòng điện tử đến H⁺ để khôi phục hydro phân tử cũng như ngăn cản việc vận chuyển điện tử từ hydrogenase đến ferredoxin.

Hệ enzyme cố định nitơ không đặc hiệu đối với N₂ và có thể khử cả oxide nitơ, acetylene, cyanua và một số chất tương tự khác.

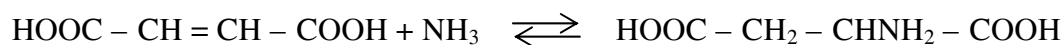
2. Amin hóa khử.

Acid glutamic được xem là aminoacid sơ cấp mà từ đó tổng hợp nên hầu như tất cả aminoacid còn lại. Nó được hình thành trong phản ứng amin hóa khử dưới tác dụng của glutamate dehydrogenase:



Có thể nói phản ứng này là nền tảng đối với quá trình sinh tổng hợp aminoacid trong mọi cơ thể. Nhờ phản ứng chuyển amine hóa từ acid glutamic sẽ hình thái các aminoacid khác. Riêng asparagine và glutamine được tổng hợp theo cơ chế trình bày trong mục II.3.

Alanine và acid asparaginic được tổng hợp chủ yếu bằng cơ chế chuyển amine hóa, nhưng chúng cũng có thể hình thành trong quá trình amine hóa khử. Ở thực vật và một số vi sinh vật acid asparaginic còn xuất hiện nhờ phản ứng amin hóa acid fumaric do aspartate ammoniac lyase xúc tác:



Tuy nhiên, trong tế bào phản ứng này chủ yếu hướng về phía giải phóng ammoniac.

3. Tổng hợp các aminoacid thứ cấp.

Tổng hợp các aminoacid thứ cấp là quá trình rất phức tạp, đặc biệt là đối với các aminoacid không thay thế. Mỗi aminoacid thường được tổng hợp nhờ một hệ thống đa enzyme hoạt động theo nguyên tắc liên hệ ngược nhằm thực hiện nguyên tắc tiết kiệm

vốn chi phối mọi hoạt động của tế bào. Nhiều tài liệu giáo khoa về hóa sinh học có thể giúp chúng ta tìm hiểu chi tiết vấn đề này.

XI. SINH TỔNG HỢP PROTEIN.

1. Các yếu tố cần thiết cho sinh tổng hợp protein và các giai đoạn của quá trình này.

Sinh tổng hợp protein, mà sinh học phân tử gọi là quá trình dịch mã (translation) là một quá trình phức tạp xảy ra trong ribosome, mà như ta đã biết, được cấu tạo chủ yếu từ protein và acid nucleic. Nguyên liệu để tổng hợp protein, tức aminoacid, được tARN mang đến đây, để dưới sự điều khiển của mARN và sự xúc tác của hàng loạt enzyme tập hợp thành chuỗi polypeptide với thành phần và trật tự aminoacid đã được định sẵn trong các gen tương ứng. Nguồn năng lượng để tạo ra các đại phân tử protein là ATP hoặc các hợp chất tương tự sẵn có mặt trong tế bào. Ngoài ra, trong các tế bào nhân thật việc tổng hợp hàng loạt protein còn đòi hỏi sự tham gia của các hệ thống cấu trúc màng của tế bào mà trước hết là hệ thống màng của mạng nội chất.

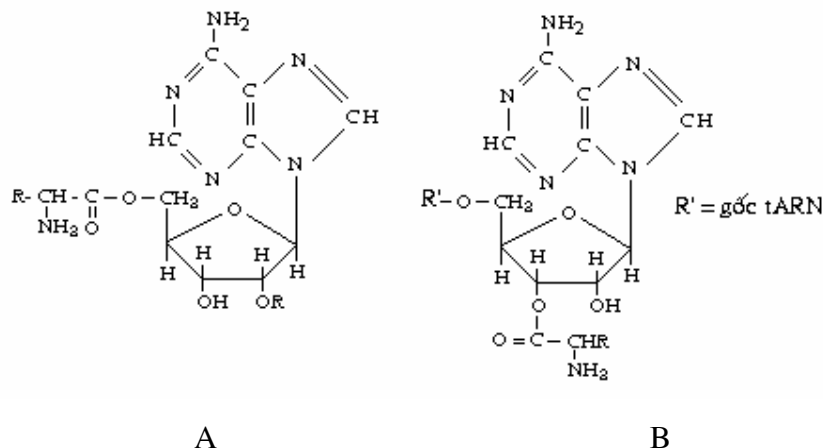
Toàn bộ quá trình sinh tổng hợp protein có thể được chia thành 4 giai đoạn chủ yếu. Đó là: 1/ hoạt hóa aminoacid; 2/ xây dựng phức hệ mở đầu; 3/ tăng trưởng mạch polypeptide và 4/ kết thúc chuỗi polypeptide.

Hoạt hóa aminoacid là quá trình bao gồm hai bước;



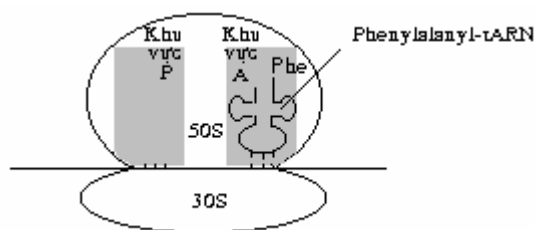
Cả hai phản ứng đều được xúc tác bởi một enzyme aminoacyl-tARN-synthetase đặc hiệu cho mỗi aminoacid. Nhờ trong phân tử enzyme chứa 2 trung tâm xúc tác, một đặc hiệu với aminoacid và một đặc hiệu với tARN vận chuyển aminoacid đó, nên enzyme cho phép aminoacid tìm gắn với tARN đặc hiệu của mình.

Công thức cấu tạo của aminoacyladenylate và aminoacyl-tARN được trình bày trong hình 11.5. Qua đó ta có thể thấy năng lượng của ATP đã được chuyển cho liên kết ester giàu năng lượng giữa nhóm carboxyl của aminoacid và nhóm 3'-OH của gốc adenylate tận cùng của tARN. Nhờ đó aminoacyl-tARN trở thành một sản phẩm hoạt động, dễ dàng tham gia phản ứng polymer-hóa sau này.



Hình 11.5. Aminoacyladenylate (A) và aminoacyl-tARN (B)

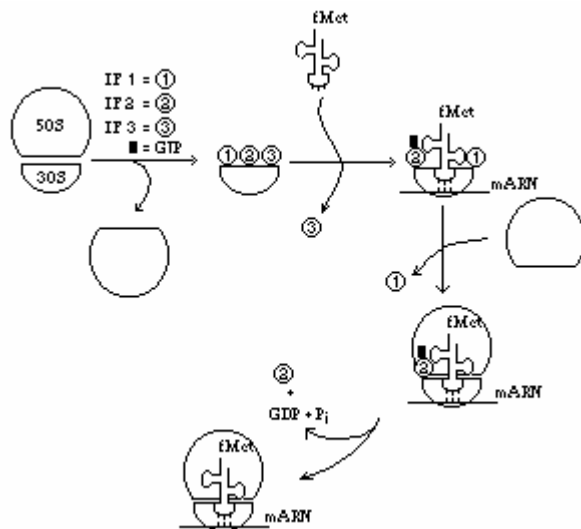
Để chuẩn bị cho phản ứng polymer hóa, các phân tử aminoacyl-tARN lần lượt được đưa vào khu vực A của phần dưới đơn vị lớn của ribosome, như mô tả trong hình 11.6. Tại đây, như ta sẽ thấy, nó có điều kiện thuận lợi để liên kết với chuỗi polypeptide đang tăng trưởng vốn gắn với ribosome tại khu vực P.



Hình 11.6. Vị trí của aminoacyl-tARN trong ribosome

Xây dựng phức hệ mở đầu ở *E. coli* là một quá trình gồm nhiều bước như mô tả trong hình 11.7 với sự tham gia của formylmethionyl-tARN_f, và các yếu tố mở đầu IF₁, IF₂ và IF₃, vốn là những protein đặc hiệu.

Việc xây dựng phức hệ mở đầu trong các tế bào nhân thật trên những nét chính cũng giống như ở *E. coli*, song với các yếu tố mở đầu khác, ký hiệu là eIF₁, eIF₂ và eIF₃. Thêm vào đó, methionyl-tARN tham gia xây dựng phức hệ mở đầu không bị formyl-hóa. Các ribosome, như ta đã biết, cũng có kích thước lớn hơn.



Hình 11.7. Quá trình hình thành phức hệ mở đầu.

Tăng trưởng chuỗi polypeptide bao gồm 3 bước chính (hình 11.8):

Bước 1: Sau khi fMet-tARN_f gắn với ribosome tại khu vực P, aminoacyl-tARN tiếp theo mà codon của nó nằm kế cận codon của fMet sẽ đi vào khu vực A của ribosome. Quá trình này cần GTP để cung cấp năng lượng và một loại protein có tên là yếu tố T, bao gồm hai loại: Tu và Ts.

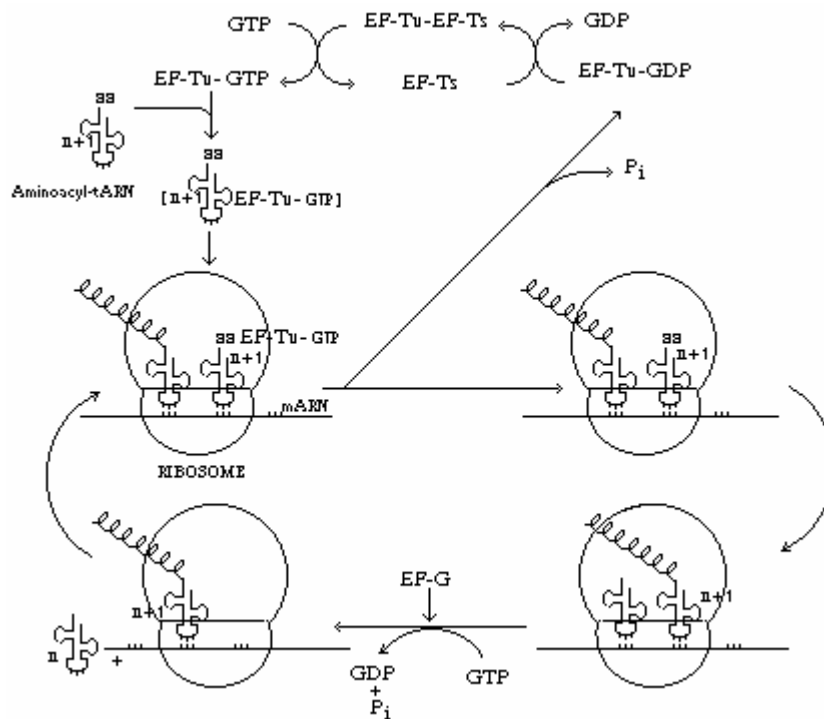
Bước 2: Nhờ peptidyltransferase, Liên kết peptide được hình thành giữa nhóm -NH₂ của aminoacid mới đi vào với nhóm -COOH của aminoacid đứng trước. Dipeptide mới xuất hiện được gắn với tARN của aminoacid thứ hai tại khu vực A, còn tARN của aminoacid thứ nhất (bây giờ được gọi là tARN_p) vẫn nằm lại khu vực P. Năng lượng cần cho sự hình thành liên kết peptide được nhận từ liên kết ester cao năng của aminoacyl-tARN.

Bước 3: Peptidyl-tARN được chuyển từ khu vực A sang khu vực P nhờ translocase (yếu tố G) và GTP. Yếu tố G được đưa ra khỏi ribosome. Ribosome di chuyển một đoạn để cho codon tiếp theo tiếp nhận khu vực A, tạo điều kiện cho aminoacid thứ ba tham gia phản ứng polymer-hóa...

Quá trình tăng trưởng chuỗi polypeptide sẽ kết thúc khi một trong các codon chấm câu (UAA, UAG, UGA) đi vào vị trí đối diện với khu vực A. Nhờ yếu tố giải phóng R, peptidyl-tARN tách khỏi ribosome; tARN tách khỏi chuỗi polypeptide; ribosome 70S phân ly thành các phần dưới đơn vị 30S và 50S để sau đó lại tham gia xây dựng phức hệ mở đầu cho sinh tổng hợp chuỗi polypeptide khác.

Trong quá trình sinh tổng hợp protein nhiều ribosome cùng gắn trên một phân tử mARN, tạo thành phức hệ có tên là polyribosome hay polysome. Trong phức hệ này mỗi ribosome tổng hợp một sợi polypeptide. Trong E. coli và các tế bào tiền nhân khác

quá trình dịch mã có thể bắt đầu ngay khi phân tử mRNA còn đang tăng trưởng trên khuôn ADN.



Hình 11.8. Các bước tăng trưởng chuỗi polypeptide.

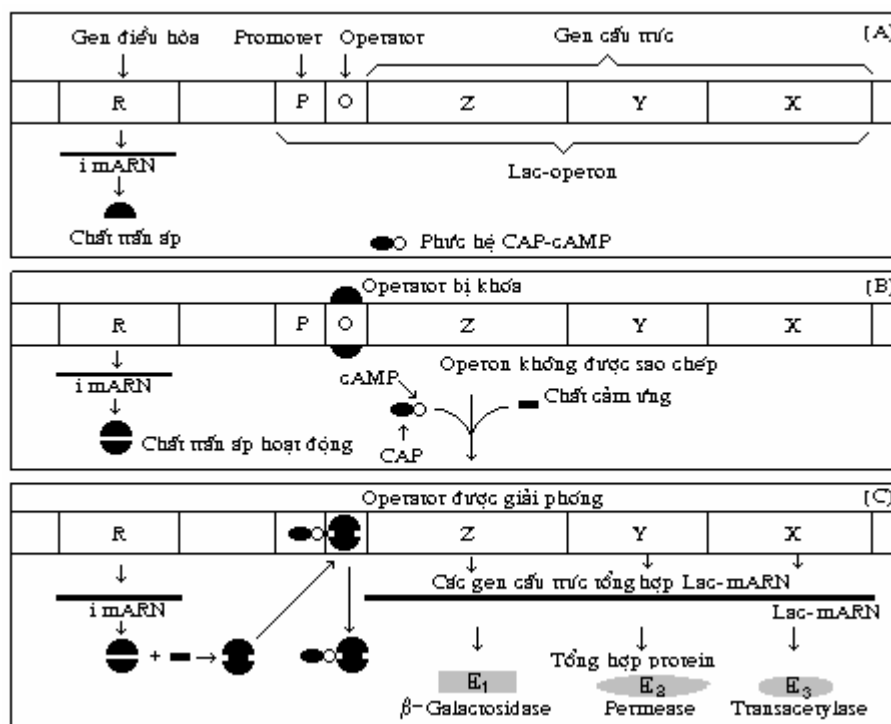
2. Điều hòa sinh tổng hợp protein; mô hình operon và lý thuyết điều hòa của Jacob và Monod.

Lý thuyết điều hòa sinh tổng hợp protein được Jacob và Monod đề xuất trên cơ sở những dẫn liệu thực nghiệm về hiện tượng cảm ứng và trấn áp tổng hợp protein thu được đối với tế bào E. coli. Những dẫn liệu này cho thấy rằng sinh tổng hợp các enzyme β -galactosidase (E_1), β -galactoside permease (E_2) và thyogalactoside transacetylase (E_3) trong tế bào E. coli cùng được cảm ứng bởi cơ chất của chúng là galactose. Tức là những enzyme này (enzyme cảm ứng) chỉ xuất hiện trong tế bào khi có mặt lactose trong môi trường dinh dưỡng.

Cơ chế điều hòa sinh tổng hợp các enzyme cảm ứng được Jacob và Monod giải thích như sau thông qua ví dụ các enzyme dị hóa lactose E_1 , E_2 và E_3 nói trên (hình 11.9).

Ba enzyme được mã hóa bởi các gen cấu trúc X, Y và Z. Chúng cùng nhau tạo thành một operon (trong trường hợp này là lac-operon). Hoạt động của operon như một thể thống nhất dưới sự điều khiển của một gen khởi động O (operator). Về phần mình, operator lại chịu sự điều khiển của gen điều hòa R (regulator) thông qua một chất trấn áp có bản chất protein do gen này tạo ra. Khi gắn với operator, chất trấn áp sẽ làm cho

các gen cấu trúc trên operon không hoạt động, mRNA không được sao chép và do đó protein (tức 3 enzyme nói trên) không được tổng hợp.



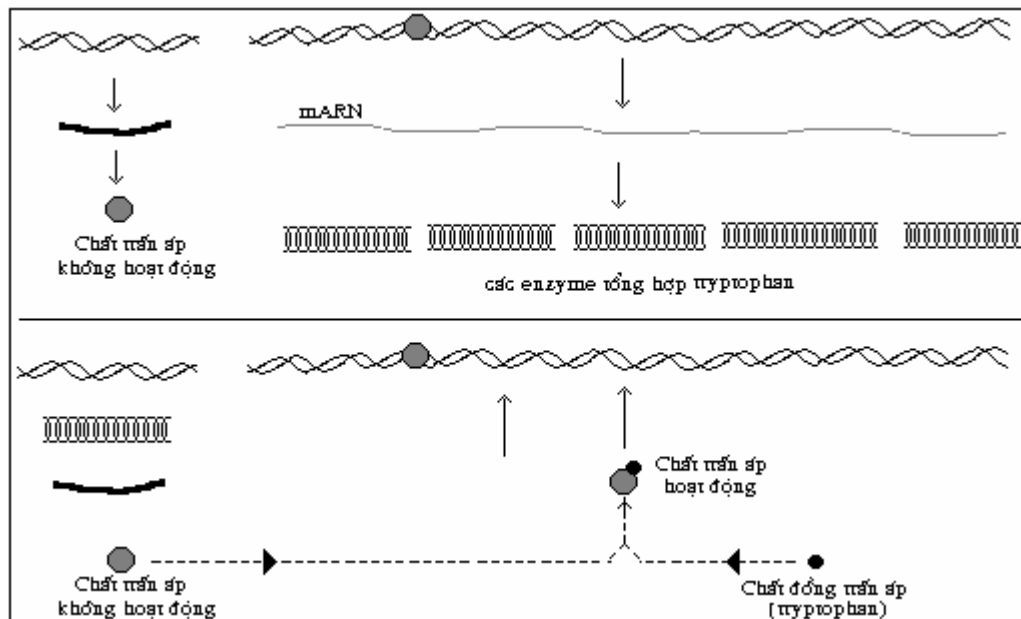
Hình 11.9. Điều hòa sinh tổng hợp enzyme cảm ứng theo Monod và Jacov.

Khi chất cảm ứng allolactose (một sản phẩm của lactose) gắn với chất trấn áp, làm cho nó mất hoạt tính, tạo điều kiện cho operon hoạt động. Tuy nhiên, việc sao chép thông tin từ các gen cấu trúc X, Y và Z chỉ thực sự bắt đầu khi cAMP cùng với một loại protein đặc biệt có tên là CAP tạo thành phức hệ hoạt động để gắn vào khu vực promoter nằm kế cận với với operator và gổì một phần lên operator, giúp chất cảm ứng làm mất hoạt tính của chất trấn áp và đẩy nó ra khỏi khu vực này.

Sự hình thành cAMP bị ức chế bởi một sản phẩm dị hóa nào đó của glucose. Vì vậy khi có mặt glucose trong môi trường dinh dưỡng thì cAMP không được tạo ra và CAP tự nó không thể gắn vào operator. Vì vậy dù có mặt chất cảm ứng allolactose, các enzyme thuộc lac-operon vẫn không được tổng hợp.

Hoạt động của operon tryptophan (Trp operon) điều hòa tổng hợp các enzyme xúc tác các quá trình sinh tổng hợp tryptophan (hình 11.10) cũng tương tự như hoạt động của Lac operon, nhưng có điểm khác là bình thường trong tế bào thiếu tryptophan thì chất trấn áp ở trạng thái không hoạt động. Khi đó operator “mở”, sự sao chép và phiên dịch các gene cấu trúc được tiến hành bình thường, tổng hợp nên các enzyme cần thiết để tạo sản phẩm cuối cùng là tryptophan. Nhưng khi tế bào đã sản xuất đủ tryptophan, hoặc khi thêm tryptophan vào môi trường nuôi tế bào thì tryptophan sẽ kết

hợp với chất trấn áp với tư cách là chất đồng trấn áp, biến nó thành dạng hoạt động. Chất trấn áp hoạt động sẽ lập tức kết hợp với operator, làm cho nó bị khóa lại và sự sao mã sẽ bị đình chỉ.



Hình 11.10. Operon tryptophan (Trp operon)

Theo cơ chế này hàm lượng tryptophan trong tế bào đã kiểm tra sự tổng hợp nên chính nó. Đó là mối liên hệ ngược trong sự điều hòa các phản ứng enzyme bằng sản phẩm cuối cùng. Điều này cho phép tế bào thích nghi với những thay đổi đột ngột của môi trường cũng như tránh được những hao tổn về nguyên liệu và năng lượng dùng để tổng hợp dư thừa một chất nào đó.

Sinh tổng hợp protein ở động vật bậc cao còn có thể được điều hòa nhờ hệ thống hormone. Một số hormone có tác dụng hoạt hóa hoặc ức chế enzyme adenylate cyclase và do đó thể hiện tác dụng điều hòa sinh tổng hợp protein thông qua tác dụng chi phối hàm lượng cAMP trong tế bào. Một số hormone khác, đặc biệt là các hormone steroid, do có khả năng di chuyển xuyên qua màng, nên có thể trực tiếp can thiệp vào cơ chế điều hòa bằng cách gắn với chất trấn áp không hoạt động để biến nó thành dạng hoạt động.

CHƯƠNG 2. EMZYME

Enzyme là những protein có chức năng chuyên hóa rất cao, làm nhiệm vụ xúc tác hàng nghìn phản ứng hóa học mà từ đó tạo nên toàn bộ quá trình trao đổi chất trong tế bào và mô.

Ngày nay đã xác định được hàng ngàn enzyme khác nhau, trong đó có hàng trăm loại thu nhận được ở dạng tinh thể rất tinh khiết. Tuy vậy, các dẫn liệu di truyền học cho thấy rằng còn rất nhiều enzyme cần phải được tiếp tục tìm kiếm.

Những phát minh mới về sự điều khiển của quá trình sinh tổng hợp enzyme ở mức độ gen, về khả năng tự điều hòa của các hệ thống enzyme, về vai trò của enzyme trong các quá trình sinh trưởng, phát triển và phân hóa v.v... là những thành tựu vô cùng to lớn của sinh học hiện đại, làm nảy sinh hàng loạt lĩnh vực nghiên cứu mới của enzyme học.

I. CÁC BIỂU THỨC DÙNG TRONG ENZYME HỌC.

Để xác định hoạt tính của enzyme, người ta sử dụng các biểu thức sau đây:

1. Số chuyển hóa = số mol cơ chất đã chuyển hóa trong một phút;
2. Đơn vị enzyme quốc tế U = Lượng enzyme xúc tác sự chuyển hóa của một μmol cơ chất trong một phút;
3. Hoạt tính đặc hiệu = Katal/ Kg protein hoạt động.
4. Hoạt tính phân tử gam = Katal/Mol enzyme.

Katal là một loại đơn vị hoạt tính của enzyme; nó tương ứng với lượng chất xúc tác có thể làm chuyển hóa 1 mol cơ chất thành sản phẩm trong 1 giây. Quan hệ giữa katal và U như sau:

$$1 \text{ Katal (Kat)} = 1 \text{ Mol/s} = 60 \text{ Mol/min} = 60 \cdot 10^6 \mu\text{Mol/s} = 6 \times 10^7 \text{ U};$$

$$1 \text{ U} = 1 \mu\text{Mol/min} = (1/60)\mu\text{Mol/s} = (1/60) \mu\text{Kat} = 16,67 \text{ nKat}.$$

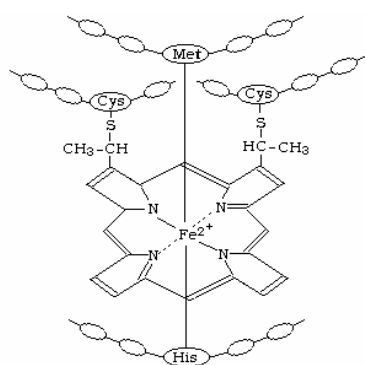
II. BẢN CHẤT HÓA HỌC CỦA ENZYME.

Enzyme có thể là protein đơn giản (enzyme một thành phần) hoặc protein phức tạp (enzyme hai thành phần).

Hoạt tính xúc tác của nhiều enzyme chỉ phụ thuộc vào đặc điểm cấu trúc của bản thân protein-enzyme. Trong khi đó đối với một số enzyme khác hoạt tính của chúng phụ thuộc vào sự tồn tại của một thành phần nào đó không có bản chất protein mà người ta gọi là *cofactor*. Cofactor có thể là ion kim loại hoặc các hợp chất hữu cơ phức tạp. Trường hợp sau đặc trưng cho enzyme hai thành phần, và khi đó cofactor

được gọi là *coenzyme*. Đôi khi hoạt tính xúc tác của enzyme phụ thuộc vào sự tồn tại của cả ion kim loại và coenzyme.

Các cofactor nói chung đều bền với nhiệt độ cao; trong khi đó protein enzyme nếu bị đun nóng sẽ mất hoạt tính xúc tác. Sự liên kết giữa protein enzyme và cofactor có thể có mức độ bền vững khác nhau. Thông thường chúng liên kết với nhau bằng các liên kết yếu và dễ dàng tách khỏi nhau bằng phương pháp thẩm tích. Tuy nhiên cũng có những trường hợp protein enzyme và cofactor gắn với nhau bằng liên kết cộng hóa trị khá bền vững. Trong trường hợp đó cofactor được gọi là **nhóm thêm**, ví dụ trong cytochrome c hem với tư cách là cofactor gắn khá bền vững với protein enzyme bằng các liên kết cộng hóa trị thông qua các gốc cysteine, methionine và histidine (hình VI-1)



Hình VI.1. Cytochrome c

Các phức hệ tự nhiên giữa protein enzyme và cofactor được gọi là holoenzyme. Thành phần protein enzyme không hoạt động sau khi đã bị loại bỏ cofactor được gọi là apoenzyme.

Trong phân tử enzyme các ion kim loại có thể thực hiện một trong hai chức năng: hoặc làm cầu nối giữa enzyme và cơ chất, hoặc trực tiếp làm nhiệm vụ xúc tác. Một số enzyme chứa kim loại được giới thiệu trong bảng VI.1.

Bảng VI.1. Một số enzyme chứa kim loại

<i>Enzyme</i>	<i>Kim loại</i>
Alcoholdehydrogenase, Carboanhydrase, Carboxypeptidase	Zn ²⁺
Phosphohydrolase, Phosphoptrasferase	Mg ²⁺
Arginase, Phosphoptrasferase	Mn ²⁺
Các loại cytochrome, peroxydase, catalase, Feredoxin	Fe ²⁺ hoặc Fe ³⁺
Pvruvatephosphokinase	K ⁺

Các coenzyme tự bản thân chúng thực hiện chức năng xúc tác thường với tư cách là chất vận chuyển trung gian điện tử, nguyên tử hay nhóm nguyên tử từ một hợp chất này sang một hợp chất khác. Nhờ kết hợp với apoenzyme hoạt tính xúc tác của chúng tăng lên gấp nhiều lần và mang tính đặc hiệu cao.

Nhiều coenzyme là dẫn xuất của vitamine (bảng VI.2). Trong một số trường hợp khác coenzyme có thể là các hợp chất quinon, hem, nucleotide v.v...

Quá trình biến hóa cơ chất xảy ra tại trung tâm hoạt động của enzyme. Trung tâm này thường có cấu trúc phù hợp với cơ chất thuộc các phương diện bản chất hóa học và cấu hình không gian.

Trung tâm hoạt động của enzyme một thành phần do một số gốc aminoacid đặc biệt cấu tạo nên; trong khi đó ở những enzyme hai thành phần trung tâm hoạt động được hình thành với sự tham gia của coenzyme cùng với các gốc aminoacid nhất định.

Bảng VI.2. Coenzyme dẫn xuất của vitamine

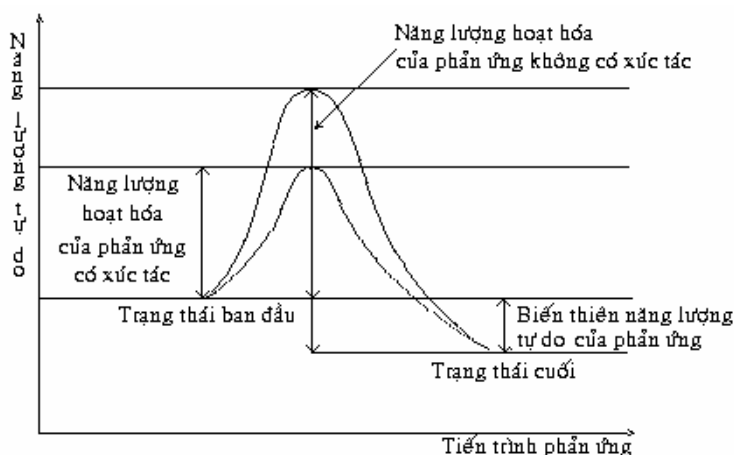
<i>Coenzyme</i>	<i>Vitamine</i>	<i>Chức năng</i>
Pyridoxal phosphate	Piridoxine	Chuyển amin hóa; decarboxyl hóa; rasemate hóa
Thyamine-pyrophosphate	Thyamine (Vit. B ₁)	Decarboxyl hóa oxy hóa; vận chuyển nhóm aldehyde
Coenzyme A	Acid pantotenic	Vận chuyển acyl; phân giải và tổng hợp acid béo trong điều kiện hiếu khí
Acid tetrahydrofolic	Acid folic	Vận chuyển các nhóm một carbon
Biotin	Biotin (Vit. H)	Vận chuyển CO ₂
NAD ⁺ , NADP ⁺	Acid nicotinic	Vận chuyển H ⁺ , e ⁻
FMN, FAD	Riboflavin	Vận chuyển H ⁺ , e ⁻

III. ĐỘNG HỌC CỦA CÁC PHẢN ỨNG ENZYME.

Bất kỳ phản ứng hóa học nào, ví dụ phản ứng $A \longrightarrow P$, sẽ dĩ xảy ra được là nhờ một phần năng lượng trong số các phân tử A chứa năng lượng lớn hơn số phân tử còn lại, làm cho chúng tồn tại ở trạng thái hoạt động. Ở trạng thái này dễ dàng phá vỡ một liên kết hóa học hoặc tạo ra một liên kết mới để làm xuất hiện sản phẩm P. Năng lượng cần để chuyển toàn bộ số phân tử của một mol vật chất ở điều kiện nhất định sang trạng thái kích động được gọi là ***năng lượng hoạt hóa***. Năng lượng này cần thiết để chuyển các phân tử tham gia phản ứng sang một trạng thái trung gian giàu năng lượng tương ứng với đỉnh của hàng rào hoạt hóa (hình VI.2). Tốc độ của phản ứng tỉ lệ với nồng độ của phân tử ở trạng thái trung gian này.

Khi tăng nhiệt độ năng lượng chuyển động nhiệt của phân tử tăng lên, làm cho số phân tử có khả năng đạt trạng thái trung gian tăng lên. Vì thế khi tăng nhiệt độ lên 10°, tốc độ của phản ứng tăng lên khoảng hai lần ($Q_{10} = 2$).

Khác với tác dụng của nhiệt độ, chất xúc tác làm tăng tốc độ của phản ứng bằng cách làm giảm năng lượng hoạt hóa. Sự kết hợp giữa chất phản ứng và chất xúc tác làm xuất hiện trạng thái trung gian mới với mức năng lượng hoạt hóa thấp hơn. Khi sản phẩm hình thành, chất xúc tác lại được giải phóng ở trạng thái tự do.



Hình VI.2. Biến thiên năng lượng tự do trong các phản ứng hóa học.

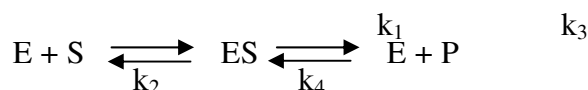
Các phản ứng enzyme cũng tuân theo những nguyên tắc chung của động học các phản ứng hóa học. Tuy nhiên, chúng còn có những đặc điểm riêng. Một trong những đặc điểm đó là hiện tượng **bão hòa cơ chất**. Ở nồng độ cơ chất thấp tốc độ của phản ứng enzyme tỉ lệ thuận với nồng độ cơ chất. Nhưng nếu tiếp tục tăng nồng độ cơ chất thì tốc độ phản ứng tăng chậm dần,

và khi nồng độ cơ chất đạt một giá trị nào đó, tốc độ của phản ứng không tăng nữa. Trong những điều kiện đó nồng độ enzyme là yếu tố quyết định tốc độ phản ứng.

Mặc dù hiện tượng bão hòa cơ chất đặc trưng cho mọi enzyme, nhưng giá trị cụ thể của nồng độ cơ chất là giá trị đặc trưng. Thông qua nghiên cứu vấn đề này Michaelis và Menten năm 1913 đã đề xuất một phương trình diễn tả tốc độ các phản ứng enzyme và nêu lên một số lý thuyết chung về động học của quá trình này. Thuyết này về sau đã được Briggs và Haldans phát triển thêm.

Các tác giả trên nhận thấy rằng trong các phản ứng enzyme trước tiên enzyme E tạo ra phức hệ ES với cơ chất S. Sau đó ES sẽ được phân giải thành sản phẩm P và enzyme E tự do.

Theo định luật khối lượng, quá trình đó có thể được mô tả như sau:



trong đó k_1 là hằng số tốc độ phản ứng hình thành ES từ E và S; k_2 là hằng số tốc độ phản ứng phân giải ES thành E và S; k_3 là hằng số tốc độ phản ứng phân giải ES thành E và P; k_4 là hằng số tốc độ phản ứng hình thành ES từ E và P.

Ở trạng thái cân bằng tốc độ hình thành ES bằng tốc độ phân giải phức hệ này:

$$k_1[E][S] - k_2[ES] = k_3[ES] - k_4[E][P].$$

Biến đổi phương trình này, ta có:

$$[ES](k_2+k_3) = [E](k_4[P] + k_1[S])$$

$$\frac{[ES]}{[E]} = \frac{k_4[P] + k_1[S]}{k_2 + k_3} = \frac{k_4[P]}{k_2+k_3} + \frac{k_1[S]}{k_2+k_3}$$

Do ở các giai đoạn đầu của phản ứng giá trị của [P] vô cùng nhỏ nên có thể giản lược phương trình trên như sau:

$$\frac{[ES]}{[E]} = \frac{[ES]}{[E]} \frac{k_1[S]}{k_2 + k_3}$$

Đặt $[E]_t$ là hàm lượng enzyme tổng số và $K_m = k_2+k_3 / k_1$, ta có:

$$\frac{[ES]}{[E]} = \frac{[E]_t - [ES]}{[ES]} \frac{1}{K_m} \Rightarrow \frac{[ES]}{[E]} = \frac{[E]_t}{[ES]} \frac{K_m}{[S]}$$

Tốc độ ban đầu v của phản ứng enzyme tỉ lệ thuận với hàm lượng enzyme hoạt động, hay [ES], nên ta có thể viết:

$$v = k_3[ES]$$

Nếu nồng độ cơ chất rất lớn, làm cho hầu hết enzyme trong hệ thống đều tồn tại ở trạng thái ES, thì tốc độ phản ứng enzyme sẽ đạt giá trị tối đa V , và tốc độ tối đa đó sẽ bằng:

$$V = k_3[E]_t$$

Do đó:

$$\frac{v}{V} = \frac{[ES]}{[E]_t} = \frac{V}{V} \frac{K_m}{[S] + K_m}$$

Nhân hai vế cho [S] và biến đổi phương trình, ta có:

$$\boxed{\frac{v[S]}{V} = \frac{K_m}{K_m + [S]}}$$

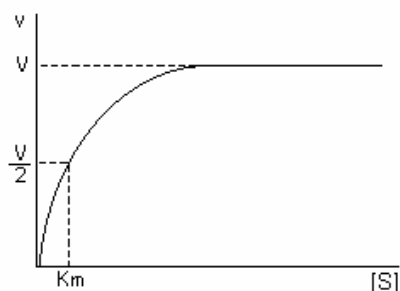
Đây chính là phương trình Michaelis-Menten và K_m được gọi là hằng số Michaelis.

Ý nghĩa thực tiễn của hằng số Michaelis là ở chỗ nó chính là giá trị của nồng độ cơ chất khi tốc độ phản ứng bằng 1/2 tốc độ tối đa. Thay V và v bằng các con số tương ứng 1 và 0,5 vào phương trình trên, ta sẽ thấy rõ điều đó. Như vậy, K_m được đo bằng đơn vị nồng độ, tức mol/l.

Hằng số Michaelis là một hằng số rất quan trọng. Nó xác định ái lực của enzyme với cơ chất. K_m càng nhỏ thì ái lực này càng lớn, tốc độ phản ứng càng cao vì tốc độ tối đa V đạt ở giá trị nồng độ cơ chất càng thấp.

Trên cơ sở phương trình Michaelis-Menten, bằng cách xây dựng đường biểu diễn sự phụ thuộc của v vào [S] và bằng đồ thị đó xác định tốc độ tối đa V ta có thể tìm thấy giá trị của [S], ở đó $v = V/2$, tức giá trị của K_m (hình VI.3).

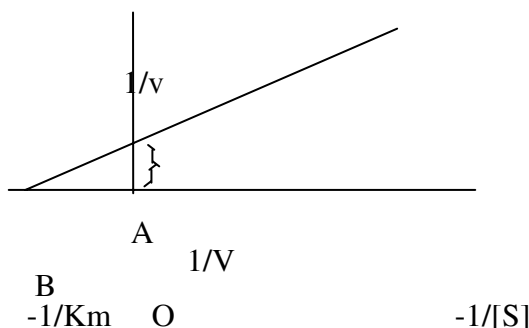
Tuy nhiên, bằng cách này khó xác định v một cách chính xác. Để khắc phục nhược điểm đó, người ta sử dụng đường biểu diễn Lineweaver-Burk. Hai tác giả này biến đổi phương trình Michaelis-Menten thành dạng:



Hình VI.3. Đường biểu diễn phương trình Michaelis-Menten

$$1/v = K_m/V \times 1/[S] +$$

Ưu điểm của phương trình này là ở chỗ giữa các đại lượng $1/v$ và $1/[S]$ có mối liên hệ tỉ lệ thuận (hình VI.4).



Hình VI.4. Đường biểu diễn phương trình Lineweaver-Burk

Qua đường biểu diễn này ta có thể thấy rằng tang $\overline{ABO} = K_m/V$ và $BO = 1/K_m$.

Phương trình này còn cho phép tìm hiểu nhiều khía cạnh quan trọng liên quan đến tác dụng của các chất ức chế hoạt tính của enzyme.

IV. ẢNH HƯỞNG CỦA pH LÊN HOẠT TÍNH ENZYME.

Phần lớn enzyme được đặc trưng bởi sự phụ thuộc của chúng vào pH, trong đó mỗi enzyme có hoạt tính cao nhất ở một giá trị pH nhất định. Ở cả hai phía của giá trị này hoạt tính enzyme đều giảm. Giá trị pH tối thích này (pH_{opt}) biến thiên trong phạm vi khá rộng, từ 1,5-2,5 đối với pepsin đến 8-9 đối với trypsin. Vì vậy trong mọi nghiên cứu enzyme pH cần được giữ vững bằng dung dịch đệm thích hợp.

Sự phụ thuộc của hoạt tính enzyme vào pH được qui định bởi pK của các nhóm ion hóa trong phân tử enzyme, đặc biệt của các nhóm tại hoặc gần trung tâm hoạt động (có thể có vai trò trong việc kết hợp giữa apoenzyme và coenzyme), hoặc các nhóm có thể đóng góp vào việc làm biến đổi trung tâm hoạt động thông qua việc làm biến dạng các bộ phận của phân tử enzyme. pH cũng có thể ảnh hưởng xa hơn đến mức độ ion hóa hoặc cấu trúc không gian của cơ chất.

Tuy nhiên, có những trường hợp mà hoạt động của enzyme không phụ thuộc vào pH của môi trường. Đó là trường hợp enzyme tác dụng lên những cơ chất trung hòa về điện hoặc những cơ chất mà các nhóm tích điện không có vai trò quan trọng đối với tác dụng xúc tác. Papain là một trường hợp như vậy.

Giá trị pH tối thích đối với hoạt tính xúc tác của enzyme không nhất thiết phù hợp với giá trị pH của dịch bào mà trong đó chứa enzyme. Điều đó cho phép chúng ta nghĩ rằng ảnh hưởng của pH lên hoạt tính enzyme là một trong những yếu tố góp phần điều hòa hoạt tính enzyme trong tế bào.

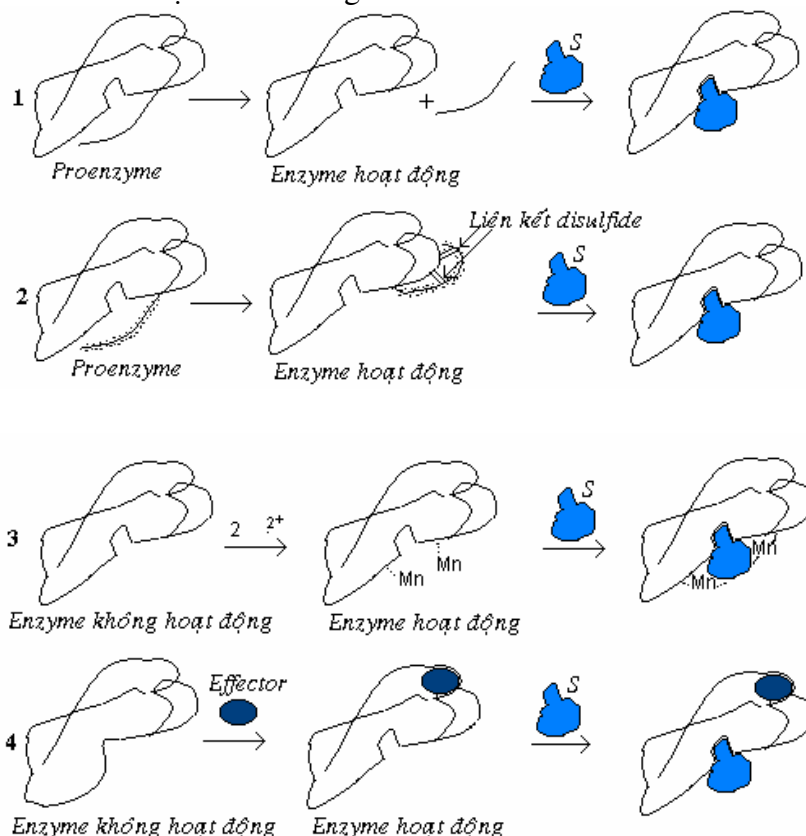
V. ẢNH HƯỞNG CỦA NHIỆT ĐỘ LÊN HOẠT TÍNH ENZYME.

Nhiệt độ ảnh hưởng lên tốc độ của mọi phản ứng hóa học. Trong phạm vi biên độ sinh lý tốc độ của phản ứng enzyme tăng theo nhiệt độ với hệ số Q_{10} bằng 2. Khi nhiệt độ vượt quá giới hạn nhất định, do protein enzyme bị biến tính, tốc độ của phản ứng enzyme giảm một cách đột ngột. Nhiệt độ tối thích (t°_{opt}) của phản ứng enzyme thường nằm trong phạm vi 40-50°C và có thể biến đổi phụ thuộc vào nhiều yếu tố như độ sạch của enzyme, thời gian phản ứng v.v...

Mỗi enzyme chịu ảnh hưởng của nhiệt độ một cách khác nhau. Đặc điểm đó được lợi dụng để tách chiết và nghiên cứu hoạt tính của từng loại enzyme trong tế bào.

VI. HOẠT HÓA ENZYME.

Nhiều enzyme để thể hiện hoạt tính của mình, cần phải có sự hỗ trợ của các yếu tố khác nhau, trong đó mỗi enzyme được hoạt hóa bằng một con đường nhất định. Bốn kiểu hoạt hóa khác nhau được mô tả trong hình VI.5.



Hình VI.5. Các kiểu hoạt hóa enzyme

Một số enzyme, ví dụ pepsinogen, trypsinogen ... được hoạt hóa bằng cách cắt bỏ một đoạn oligopeptide khỏi phân tử proenzyme (1);

Một số enzyme khác được hoạt hóa bằng cách hình thành cầu disulfide, ví dụ ribonuclease (2), hoặc bằng cách tạo phức với ion kim loại (3). Kiểu hoạt hóa thứ tư đặc trưng cho các enzyme dị lập thể, được thực hiện bằng cách thay đổi cấu hình không gian của enzyme nhờ một effector dương tính đặc hiệu (4).

VII. ỨC CHẾ ENZYME.

Hoạt tính của enzyme bị ức chế khi protein enzyme bị biến tính dưới tác dụng của kim loại nặng và của những tác nhân phá vỡ liên kết hydro, khi trung tâm hoạt động của enzyme bị phong tỏa hoặc bị biến dạng dưới tác dụng của các yếu tố vật lý hoặc các chất hữu cơ và vô cơ khác nhau.

Một hợp chất hóa học có thể ức chế hoạt tính của enzyme này nhưng lại kích thích hoạt tính của enzyme khác. Ví dụ, CN^- ức chế nhiều enzyme oxy hóa – khử nhưng lại kích thích hoạt tính của một số loại enzyme thủy phân (papain, cathepsin...). Mặt khác, một enzyme có thể bị ức chế bởi một hợp chất hóa học ở một nồng độ nào đó nhưng lại chịu tác dụng kích thích của hợp chất ấy ở một nồng độ khác.

Bên cạnh những chất ức chế chung, có những chất chỉ gây ức chế đặc hiệu đối với một enzyme hoặc một nhóm enzyme xác định.

Tác dụng ức chế đối với hoạt tính enzyme có thể thuận nghịch hay không thuận nghịch.

Các chất ức chế đóng vai trò quan trọng trong lĩnh vực y học. Nhiều công trình nghiên cứu được thực hiện nhằm sử dụng chúng để chữa bệnh. Các nhà khoa học đặc biệt lưu ý đến vấn đề sử dụng phương pháp ức chế chọn lọc các phản ứng enzyme nhằm điều trị các bệnh ung thư.

Các chất ức chế cũng đóng vai trò rất quan trọng trong việc nghiên cứu các cơ chế tinh vi của trao đổi chất. Ví dụ, các chu trình Krebs, Calvin... đã được tìm ra trên cơ sở sử dụng các chất ức chế đặc hiệu khác nhau.

Trên cơ sở cơ chế tác dụng của chất ức chế người ta chia chúng làm hai nhóm: chất ức chế cạnh tranh và chất ức chế không cạnh tranh.

Ức chế cạnh tranh là hậu quả của sự vắng mặt tính đặc hiệu tuyệt đối của nhiều phản ứng enzyme. Trung tâm hoạt động của enzyme có thể kết hợp với các chất ức chế mà cấu tạo hóa học của chúng tương đối giống với cơ chất, do đó cản trở sự tiếp xúc của cơ chất với enzyme tại trung tâm này.

Một trong những chất ức chế cạnh tranh điển hình là acid malonic. Đó là một chất ức chế mạnh và đặc hiệu đối với enzyme succinate dehydrogenase. Enzyme này

không phân biệt được acid malonic (HOOC-CH₂-COOH) với acid suxinic (HOOC-CH₂-CH₂-COOH). Khi trung tâm phản ứng của suxinate dehydrogenase bị acid malonic chiếm chỗ, enzyme này không còn phản ứng oxy hóa acid suxinic. Mức độ ức chế trong trường hợp này phụ thuộc vào tỉ lệ malonate/suxinate. Nồng độ của acid suxinic cao đến mức nhất định sẽ có thể hoàn toàn loại trừ tác dụng ức chế của acid malonic. Đặc điểm của ức chế cạnh tranh là tốc độ của phản ứng phụ thuộc vào nồng độ chất ức chế, nồng độ cơ chất và ái lực của enzyme với cơ chất cũng như với chất ức chế.

Các chất ức chế cạnh tranh thuộc nhóm những chất ức chế có phản ứng thuận nghịch với enzyme. Chất ức chế I kết hợp với enzyme E, tạo thành phức hệ EI, Hệ số phân li K_i của phức hệ này được gọi là hằng số ức chế.

$$K_i = \frac{[E][I]}{[EI]}$$

Trong phần động học các phản ứng enzyme ta đã thấy rằng:

$$\frac{[E]}{[ES]} = \frac{K_m}{[S]}$$

Vì [E] = [E]_t - [EI] - [ES], ta có:

$$\frac{[E]_t - [EI] - [ES]}{[ES]} = \frac{[E]_t}{[ES]} - \frac{[EI]}{[ES]} - \frac{[ES]}{[ES]} = \frac{K_m}{[S]}$$

Hay:

$$\frac{[E]_t}{[ES]} - \frac{K_m}{[S]} - \frac{[EI]}{[ES]} = 1$$

Thay [EI] bằng $\frac{[E][I]}{K_i}$, ta có: $\frac{[E]_t}{[ES]} - \frac{K_m}{[S]} - \frac{[E][I]}{K_i[ES]} = 1$

Vì $[ES] = \frac{[E][S]}{K_m}$, ta có thể thay $\frac{1}{[ES]}$ bằng $\frac{K_m}{[E]_t[S]}$, tức:

$$\frac{[E]_t}{[ES]} - \frac{K_m}{[S]} - \frac{K_m[I]}{K_i[S]} = 1$$

Vì tốc độ tối đa V tỉ lệ thuận với enzyme tổng số [E]_t, còn tốc độ tức thời v tỉ lệ thuận với nồng độ phức hệ [ES], nên:

$$\frac{[E]_t}{[ES]} = \frac{V}{v} = \frac{K_i K_m}{K_i[S]} + \frac{K_m[I]}{K_i[S]} + \frac{K_i[S]}{K_i[S]} + \frac{K_i K_m + K_m[I] + K_i[S]}{K_i[S]}$$

Từ đó, $v = \frac{V[S]K_i}{K_m K_i + K_m[I] + K_i[S]} = \frac{V[S]}{K_m + K_m[I]/K_i + [S]}$

Tức: $v = \frac{V[S]}{K_m (1 + [I]/K_i) + [S]}$

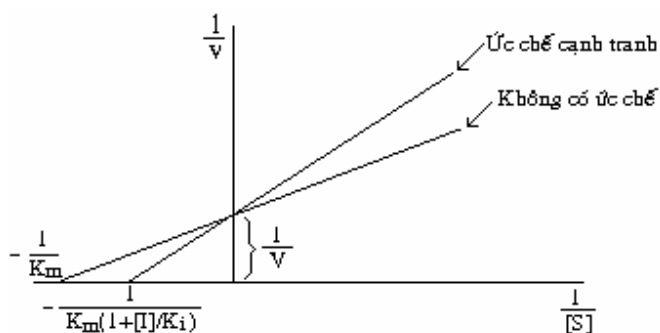
Ta có thể nhận thấy rằng phương trình trên khác với phương trình Michaelis-Menten ở chỗ K_m được nhân với hệ số $(1 + [I]/K_i)$.

Vì vậy, **ức chế cạnh tranh làm tăng giá trị của K_m** . Nếu $[S]$ có giá trị rất lớn so với giá trị của $K_m(1+[I]/K_i)$ thì giá trị này có thể bỏ qua và tốc độ phản ứng sẽ đạt giá trị tối đa. Nếu K_i nhỏ và $[I]$ lớn thì sẽ xảy ra sự ức chế và mức độ ức chế phụ thuộc vào $[S]$.

Ý nghĩa thực tiễn của việc nghiên cứu tác dụng ức chế là đánh giá về mặt định lượng khả năng của chất ức chế tác dụng với enzyme, tức xác định hằng số K_i . Để giải quyết công việc này sẽ thuận tiện hơn nếu áp dụng phương trình Lineweaver-Burk trong trường hợp ức chế cạnh tranh với dạng sau đây:

$$\frac{1}{v} = \frac{1}{V} \left(1 + \frac{[I]}{K_i} \right) \frac{K_m}{V} \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V}$$

So sánh phương trình này với phương trình Lineweaver-Burk trong trường hợp không có chất ức chế, ta sẽ thấy chúng chỉ khác nhau ở giá trị $(1+[I]/K_i)$, tức tang của góc nghiêng bằng $(1+[I]/K_i) \cdot K_m/V$, còn giá trị $1/V$ hay V không thay đổi. Đường biểu diễn của hai phương trình Lineweaver-Burk trong các trường hợp không có và có ức chế cạnh tranh được mô tả trong hình VI.6.

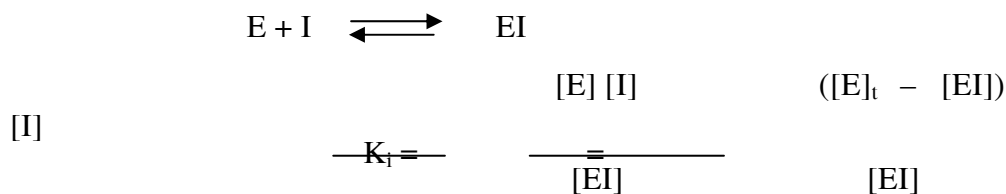


Hình VI.6. Đường biểu diễn phương trình Lineweaver-Burk trong các trường hợp không có và có ức chế cạnh tranh.

Ức chế không cạnh tranh là một quá trình ức chế thuận nghịch mà trong đó chất ức chế không kết hợp với enzyme tại vị trí vốn xảy ra phản ứng giữa enzyme và cơ chất. Trong trường hợp này không thể loại trừ tác dụng ức chế bằng cách nâng cao nồng độ cơ chất, vì cơ chất không ngăn cản sự kết hợp của chất ức chế với enzyme. Mức độ ức chế phụ thuộc vào $[I]$ và K_i .

Các chất ức chế không cạnh tranh thường có cấu trúc không gian không giống với cơ chất.

Phương trình của ức chế không cạnh tranh có thể diễn đạt như sau:



$$K_i[EI] = [E]_t [I] - [EI] [I]$$

$$K_i[EI] + [EI] [I] = [E]_t [I]$$

$$[EI](K_i + [I]) = [E]_t [I]$$

$$[EI] = \frac{[E]_t [I]}{K_i + [I]}$$

Tốc độ v trong trường hợp không có ức chế tỉ lệ thuận với [E]_t, còn tốc độ v_i trong trường hợp có chất ức chế tỉ lệ thuận với [E].

Do [E] = [E]_t - [EI], nên $\frac{v}{v_i} = \frac{[E]}{[E]_t - [EI]}$. Thay giá trị của [EI], ta có:

$$\frac{v}{v_i} = \frac{[E]_t}{[E]_t - \frac{[E]_t [I]}{K_i + [I]}} = \frac{1}{1 - \frac{[I]}{K_i + [I]}} = \frac{1}{\frac{K_i + [I] - [I]}{K_i + [I]}} = \frac{K_i + [I]}{K_i}$$

$$\frac{v_i}{v} = \frac{K_i}{K_i + [I]}$$

Từ phương trình trên, ta thấy rõ tốc độ phản ứng khi có mặt chất ức chế không cạnh tranh chỉ phụ thuộc [I] và K_i mà không phụ thuộc vào [S]. Tốc độ tối đa V sẽ bị giảm vì một phần enzyme không tham gia phản ứng được nữa. Nếu K_i nhỏ, và [I] lớn thì tỉ lệ v_i/v sẽ rất nhỏ. Trong trường hợp ngược lại, tỉ số đó sẽ gần bằng 1, có nghĩa là tác dụng ức chế không đáng kể. Chuyển phương trình trên sang dạng phương trình Lineweaver-Burk:

$$\frac{1}{v} = \frac{K_i}{v_i(K_i + [I])}$$

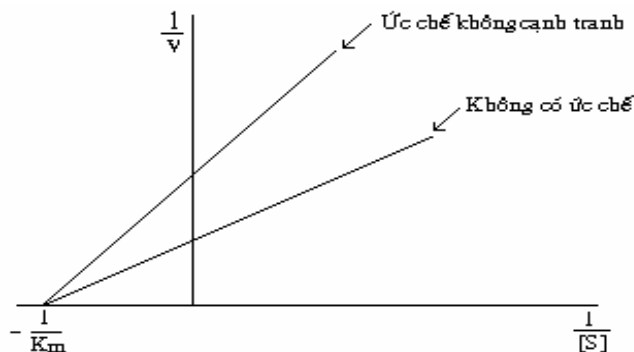
Thay 1/v bằng $\frac{1}{V[S]}$ + $\frac{K_m}{V[S]}$, ta có:

$$\frac{1}{V[S]} = \frac{K_i}{v_i(K_i + [I])} + \frac{K_m}{V[S]}$$

), hay $\frac{1}{V} = \left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right) \left(\frac{1}{V} + \frac{K_m}{V[S]}\right)$

$$\frac{v_i (K_i + [I])}{V[S]} = \frac{V[S]}{V} + \frac{K_i}{V}$$

Qua phương trình trên, ta thấy rõ cả góc nghiêng K_m/V và $1/V$ đều tăng lên một giá



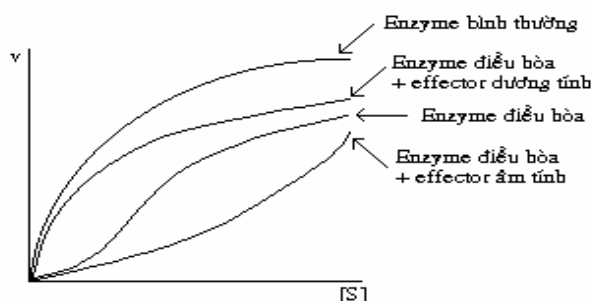
Hình VI.7. Đường biểu diễn phương trình Lineweaver-Burk trong các trường hợp không có và có ức chế cạnh tranh.

trị bằng $(1 + [I]/K_i)$. Đường biểu diễn của phương trình trên được mô tả ở hình VI.7.

Kiểu ức chế thứ ba là **ức chế dị lập thể**. Kiểu ức chế này đặc trưng cho các enzyme dị lập thể hay

enzyme điều hòa. Những enzyme loại này thường đứng đầu một hệ thống đa enzyme chịu trách nhiệm xúc tác cho một loạt phản ứng gắn liền nhau về mặt chức năng.

Ức chế dị lập thể có thể thuận nghịch hay không thuận nghịch. Trái với hoạt hóa dị lập thể, nó do một effector âm tính gây ra. Chất này hoạt động như một chất ức chế không cạnh tranh, tức liên kết với enzyme tại một trung tâm khác với trung tâm hoạt động, làm cho cấu trúc không gian của enzyme biến đổi và hình dạng của trung tâm hoạt động không còn phù hợp với cơ chất nữa. Tuy nhiên, trong trường hợp này sự phụ thuộc của tốc độ phản ứng vào nồng độ cơ chất và chất ức chế không đơn giản và không thể mô tả bằng sự biến đổi của K_m .



Hình VI.8. Đường biểu diễn sự phụ thuộc của tốc độ phản ứng enzyme điều hòa (dị lập thể) vào nồng độ cơ chất.

Đường biểu diễn sự phụ thuộc này thường có dạng chữ S (hình VI.8).

Chất ức chế dị lập thể thường là sản phẩm cuối cùng của hệ thống đa enzyme (nguyên tắc liên hệ ngược). Trong phần trao đổi chất ta sẽ đề cập đến nhiều trường

hợp cụ thể của kiểu ức chế này.

VIII. TÍNH ĐẶC HIỆU CỦA ENZYME.

Mỗi enzyme chỉ tác dụng lên một cơ chất nhất định hay một số cơ chất có cấu tạo gần nhau, hoặc chỉ tác động lên một kiểu liên kết hóa học nhất định trong phân tử cơ chất.

Những thay đổi rất nhỏ trong cấu trúc hóa học của cơ chất đôi khi có thể làm mất khả năng xúc tác của enzyme. Đặc điểm này được gọi là **tính đặc hiệu** của enzyme đối với cơ chất.

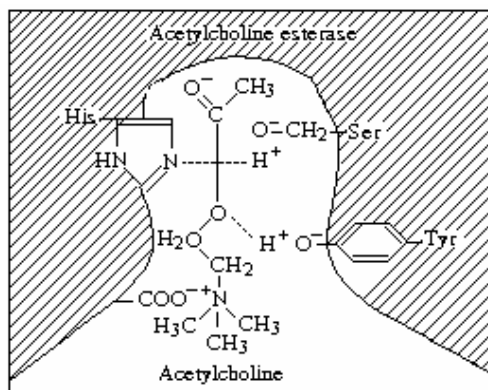
Những enzyme có tính đặc hiệu hẹp, hay **tính đặc hiệu tuyệt đối** chỉ tác động lên một cơ chất nhất định. Ví dụ, arginase chỉ phân giải arginine mà không phân giải bất kỳ hợp chất nào khác, thậm chí rất giống với cơ chất này, chẳng hạn như ester methyl của arginine.

Những enzyme có tính đặc hiệu rộng hay **tính đặc hiệu tương đối** có thể tác dụng lên các cơ chất khác nhau nhưng có cùng một kiểu liên kết hóa học.. Ví dụ lipase có thể phân giải nhiều loại triacylglycerine khác nhau; phosphatase có thể phân giải nhiều loại ester của acid phosphoric.

Những enzyme có **tính đặc hiệu lập thể** chỉ có khả năng phân giải một trong hai dạng đồng phân quang học, ví dụ dạng D- hoặc dạng L-.

Có hai cơ sở cấu trúc quan trọng xác định tính đặc hiệu của enzyme đối với cơ chất. Đó là:

- 1/ Cơ chất cần chứa kiểu liên kết hóa học đặc trưng mà enzyme có thể công phá;
- 2/ Bên cạnh yếu tố thứ nhất, cơ chất còn chứa một hoặc một số nhóm chức có khả năng kết hợp với enzyme bằng cách nào đó để định hướng cơ chất tại trung tâm hoạt



Hình VI.9. Sự phù hợp về cấu trúc giữa enzyme và cơ chất

động, tức trung tâm phản ứng, của enzyme. Ví dụ điển hình là trường hợp acetylcholinesterase phân giải liên kết ester giữa choline và gốc acetyl (hình VI.9). Khả năng của enzyme phân giải liên kết ester phụ thuộc cả vào sự tồn tại của các gốc serine, tyrosine và histidine vốn trực tiếp tham gia quá

trình phản ứng, cũng như vào sự có mặt của nhóm COO⁻ để liên kết tĩnh điện với N⁺ của cơ chất.

IX. DANH PHÁP VÀ PHÂN LOẠI ENZYME.

Tên gọi của enzyme thường là tên gọi của cơ chất hay của kiểu phản ứng mà nó xúc tác cộng với đuôi “ase”, ví dụ *urease*, *hydrolase* v.v... Ngoài ra còn có những tên gọi truyền thống theo thói quen, không cho thấy bản chất hóa học của phản ứng do enzyme xúc tác, ví dụ *pepsin*, *trypsin* ... cả hai kiểu gọi tên nêu trên đều thiếu chính xác.

Để khắc phục tình trạng đó, Hội Hóa sinh học quốc tế đề nghị sử dụng một hệ thống danh pháp và phân loại trên cơ sở bản chất của phản ứng được xúc tác. Theo hệ thống này toàn bộ enzyme được chia thành 6 nhóm lớn; mỗi nhóm lớn này lại được chia thành nhiều phân nhóm; mỗi phân nhóm này lại được chia thành nhiều phân nhóm nhỏ hơn, trong đó bao gồm những enzyme có cơ chất tác dụng giống nhau. Mỗi nhóm, mỗi phân nhóm và mỗi enzyme được ký hiệu bằng một mã số đặc trưng gồm tương ứng một, hai, ba hoặc bốn con số cách nhau bằng các dấu chấm.

Tên gọi của 6 nhóm enzyme và các phân nhóm quan trọng được giới thiệu trong bảng II.3. cùng với bản chất của các phản ứng được xúc tác.

Các phân nhóm nhỏ hơn thuộc mỗi phân nhóm trong bảng VI.3 được ký hiệu bằng những mã số gồm 3 con số. Ví dụ ba phân nhóm nhỏ đầu tiên của phân nhóm 1.1 là 1.1.1, 1.1.2 và 1.1.3 đặc trưng cho các trường hợp mà chất nhận điện tử là NAD hoặc NADP, FAD và cytochrome.

Mã số của mỗi enzyme gồm 4 con số, ví dụ:

1.1.1.29 – Glycerophosphate dehydrogenase; 2.7.1.1 – Hexokinase

3.2.1.20 - α- Glucosidase;

4.1.1.1 – Pyruvate

decarboxylase;

5.3.1.1 – Triosphosphate isomerase;

6.3.1.2 – Glutamin synthetase

Bảng VI.3. Danh mục mã số của 6 nhóm enzyme và các phân nhóm chính của chúng

Nhóm	Phân nhóm	Phản ứng được xúc tác
1. <i>Oxydoreductase</i>	1.1	Hydrogen hóa và dehydrogen hóa =CH–OH =C=O –CH=CH– –CH–NH ₂ =CH–NH– NADH, NADPH
	1.2	
	1.3	
	1.4	
	1.5	
	1.6	
2. <i>Transferase</i>	2.1	Vận chuyển các nhóm chức Các gốc 1 carbon Nhóm aldehyde hoặc cetone
	2.2	

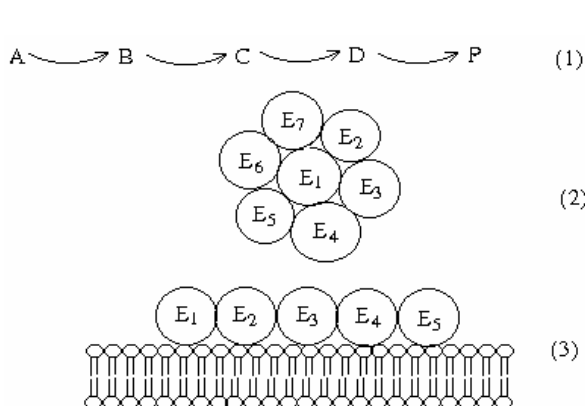
	2.3 2.4 2.5 2.6 2.7 2.8	Acyl Liên kết glycoside Nhóm methylalkyl hoặc aryl Nhóm chứa nitơ Nhóm chứa phosphore Nhóm chứa lưu huỳnh
3. Hydrolase	3.1 3.2 3.3 3.4 3.5 3.6	Các phản ứng thủy phân Ester Glycoside Eter Peptide Các liên kết C-N khác Các anhydrit acid
4. Liase	4.1 4.2 4.3	Tạo liên kết đôi =C=C= =C=O =C=N-

Bảng II.3. Danh mục mã số của 6 nhóm enzyme và các phân nhóm chính của chúng (tiếp theo)

5. Isomerase	5.1 5.2 5.3 5.4	Đồng phân hóa Rasemase và epimerase Xis-trans-isomerase Oxy hóa nội phân tử Transferase nội phân tử
6. Ligase	6.1 6.2 6.3 6.4	Tạo ra liên kết nhờ ATP -C=O ≡C-S- =C=N- ≡C-C≡

X. HỆ THỐNG MULTIEZYME VÀ VAI TRÒ CỦA ENZYME ĐIỀU HÒA.

Trong tế bào nhiều enzyme hoạt động đồng thời, trong đó sản phẩm của phản ứng trước là cơ chất của phản ứng sau. Tùy thuộc vào mức độ phức tạp, những hệ thống multienzyme (hay đa enzyme) này được chia làm 3 loại (hình VI.10):



1/ Các enzyme cá biệt hòa tan trong tế bào chất và hoạt động độc lập nhau. Các phân tử cơ chất có kích thước nhỏ, dễ khuếch tán, có thể tìm thấy nhanh chóng con đường từ enzyme này sang enzyme khác (1);

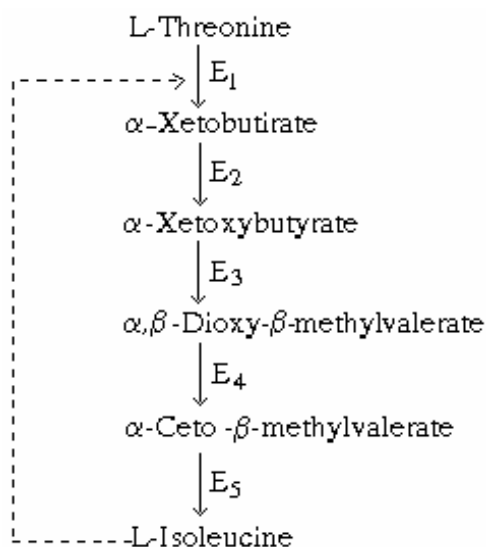
2/ các enzyme của hệ thống kết hợp nhau thành một phức hệ hoạt động phối hợp nhau. Đó là

Hình VI.10. Các kiểu tổ chức của hệ thống multienzyme

trường hợp hệ enzyme tổng hợp acid béo của nấm men. Hệ thống này gồm 7 enzyme kết hợp chặt chẽ với nhau. Nếu tách rời nhau, tất cả đều bị mất hoạt tính;

3/ Có mức độ tổ chức cao nhất là những hệ thống enzyme liên kết với các cấu trúc trên phân tử của tế bào. Đó là trường hợp đối với hệ enzyme của chuỗi vận chuyển điện tử trong ti thể. Mỗi enzyme cá biệt gắn vào lớp màng trong của ti thể, vừa làm nhiệm vụ xúc tác, vừa đóng vai trò như một yếu tố cấu trúc của màng.

Trong những hệ thống multienzyme này tốc độ của một phản ứng nào đó thường xác định tốc độ của toàn bộ hệ thống, trong đó yếu tố hạn chế có thể là nồng độ enzyme hoặc nồng độ cơ chất. Việc điều hoà tốc độ này có thể được thực hiện một cách tự động.



Hình VI.11. Ức chế L-treonine desaminase bởi isoleucine theo nguyên tắc liên hệ ngược.

Trong đa số trường hợp sản phẩm cuối cùng có tác dụng ức chế enzyme đầu tiên của hệ thống, nhờ đó tốc độ của toàn bộ quá trình cũng được xác định bởi trạng thái nồng độ của sản phẩm cuối cùng. Ví dụ hệ thống multienzyme, trong đó L-threonine chuyển hóa thành L-isoleucine bao gồm 5 phản

ứng (hình VI.11).

Enzyme E_1 (threonine desaminase) bị ức chế bởi sản phẩm cuối cùng L-isoleucine, mặc dù nó không phải là chất cạnh tranh với L-threonine. Tất cả những aminoacid giống nó đều không gây hiệu ứng này. Rõ ràng là khi trong hệ thống tích lũy quá nhiều L-isoleucine, vượt quá mức cho phép nào đó, thì enzyme đầu tiên của hệ thống sẽ bị ức chế. Kiểu ức chế này được gọi là **ức chế theo nguyên tắc liên hệ ngược**. Enzyme bị ức chế bởi sản phẩm cuối cùng trong hệ thống multienzyme được gọi là **enzyme điều hòa** (hay enzyme di lập thể). Chất trao đổi gây tác dụng ức chế enzyme điều hòa được gọi là **effector âm tính**, hay **modulator âm tính**. Cũng có trường hợp enzyme điều hòa nằm ở điểm phân nhánh của các dãy phản ứng. Enzyme điều hòa có thể là đơn trị, nếu chỉ chịu tác dụng của một effector, hoặc đa trị nếu chịu tác dụng của từ hai effector trở lên. Các effector có thể là các sản phẩm cuối cùng của những trật tự phản ứng liên quan nhau. Nhờ đặc điểm này một số hệ thống multienzyme có thể có chung một hệ thống điều hòa.

Enzyme điều hòa có thể chịu tác dụng của effector dương tính. Thông thường, effector dương tính là cơ chất của chính enzyme điều hòa.

Có những trường hợp enzyme điều hòa chịu tác động đồng thời của một hoặc một số effector âm tính và một hoặc một số effector dương tính, trong đó mỗi effector kết hợp với bề mặt enzyme tại một vị trí rất đặc trưng.

Phần lớn enzyme điều hòa trong điều kiện tế bào là những enzyme xúc tác các phản ứng không thuận nghịch.

Sự tồn tại của enzyme điều hòa là một trong những thể hiện của nguyên tắc tiết kiệm tối đa của tế bào.

Enzyme điều hòa thường có kích thước rất lớn và cấu trúc rất phức tạp, được hình thành từ nhiều chuỗi polypeptide, trong phân tử của chúng bên cạnh một hoặc một số **trung tâm hoạt động**, hay **trung tâm cơ chất** dùng để thực hiện nhiệm vụ xúc tác còn có những trung tâm dùng để kết hợp với effector âm hoặc dương tính gọi là **trung tâm điều hòa** hay **trung tâm di lập thể**.

Tác dụng điều hòa bằng cách gây hiệu ứng âm cũng như dương, theo quan điểm phổ biến hiện nay, được thực hiện thông qua tác dụng làm biến đổi cấu hình không gian của enzyme, làm cho hoạt tính xúc tác của enzyme tăng hoặc giảm.

XI. ISOENZYME

Nhiều enzyme trong cùng một cơ thể, thậm chí trong cùng một tế bào, tồn tại ở nhiều dạng phân tử khác nhau. Những dạng phân tử đó của cùng một enzyme được gọi là **isoenzyme**. Chúng thường được tách khỏi nhau một cách dễ dàng bằng phương pháp điện di.

CHƯƠNG 3. KHÁI NIỆM CHUNG VỀ TRAO ĐỔI CHẤT

Cơ sở của sự sống là quá trình biến hóa vật chất xảy ra liên tục trong tế bào. Quá trình đó gọi là **trao đổi chất**. Danh từ “trao đổi chất” ám chỉ toàn bộ hệ thống các phản ứng có tính định hướng và liên quan mật thiết với nhau xảy ra trong tế bào sống nhằm thực hiện 4 chức năng đặc trưng sau đây:

1. Tiếp nhận năng lượng từ môi trường ở dạng năng lượng hóa học của các hợp chất hữu cơ hoặc năng lượng ánh sáng;
2. Biến hóa các hợp chất ngoại lai thành “vật liệu xây dựng” của cơ thể, tức tiền thân của các đại phân tử của tế bào;
3. Tổng hợp các thành phần protein, acid nucleic, lipid, polysaccharide và các thành phần khác của tế bào từ các vật liệu xây dựng nói trên;
4. Tổng hợp và phân hủy những hợp chất sinh học cần cho việc thực hiện các chức năng đặc trưng khác nhau của tế bào.

I. ĐỒNG HÓA VÀ DỊ HÓA.

Trao đổi chất bao gồm hai quá trình đồng hóa và dị hóa. Dị hóa là quá trình phân giải các phân tử thức ăn tương đối lớn chủ yếu bằng các phản ứng oxy hóa. Nguồn chất dinh dưỡng tham gia trong quá trình dị hóa được thu nhận từ môi trường hoặc từ các kho dự trữ của cơ thể. Trong quá trình dị hóa các phân tử lớn (glucid, lipid, protein) bị phân giải thành những phân tử nhỏ hơn như acid lactic, acid acetic, urê, NH_3 , CO_2 v.v..., đồng thời giải phóng năng lượng tự do vốn được chứa trong cấu trúc phức tạp của các phân tử hữu cơ. Để trở thành hữu ích, số năng lượng này được sơ bộ tích lũy lại trong các liên kết phosphate cao năng của ATP và các hợp chất tương tự.

Đồng hóa là quá trình tổng hợp các thành phần tương đối lớn của tế bào như polysaccharide, lipid, protein, acid nucleic ... từ những hợp chất tiền thân đơn giản. Vì quá trình này làm tăng kích thước phân tử và làm cho cấu trúc phức tạp hơn, hay nói cách khác, làm giảm entropy của hệ thống, nên nó cần tiêu dùng năng lượng. Năng lượng này được cung cấp bằng cách phân giải các liên kết cao năng của ATP.

Cả đồng hóa và dị hóa đều được cấu thành từ hai quá trình xảy ra đồng thời và liên quan mật thiết với nhau, đó là:

1. Trật tự các phản ứng enzyme dẫn đến sự phân hủy hoặc hình thành bộ khung của một phân tử sinh học. Sản phẩm trung gian hình thành trong quá trình này được gọi là **chất trao đổi** và toàn bộ chuỗi biến hóa đó được gọi chung là **trao đổi trung gian**.

2. Sự biến hóa năng lượng đi kèm với mỗi một phản ứng enzyme của quá trình trao đổi trung gian. Ở một số giai đoạn của quá trình dị hóa năng lượng hóa học của

các chất trao đổi được tích lũy (thường dưới dạng của các liên kết phosphate cao năng); Ở những giai đoạn nhất định của quá trình đồng hóa năng lượng này được đem ra chi dùng. Phương diện này của trao đổi chất được quy ước gọi chung là sự **liên hợp năng lượng**.

Trao đổi trung gian và liên hợp năng lượng là hai quá trình liên quan nhau và phụ thuộc nhau. Vì vậy, khi nghiên cứu trao đổi chất cần phải phân tích chúng một cách đồng thời.

Quá trình dị hóa các chất dinh dưỡng chính bao gồm ba giai đoạn chủ yếu sau đây:

1/ Phân giải các chất dinh dưỡng thành các đơn vị cấu trúc: polysaccharide bị phân giải thành monosaccharide; lipid thành glycerine và acid béo; protein thành aminoacid v.v...

2/ Số lượng lớn các loại hợp chất khác nhau hình thành trong giai đoạn 1 được chuyển hóa thành một số ít các loại hợp chất đơn giản hơn. Ví dụ glycerine và tất cả các loại monosaccharide đều bị phân giải thành glyceraldehyde-3-phosphate và sau đó thành acetyl-coenzyme A; Tất cả 20 aminoacid đều bị phân giải thành một vài sản phẩm đơn giản hơn như acetyl-coenzyme A, α -cetoglutarate, succinate, fumarate, oxaloacetate...;

3/ Các sản phẩm hình thành ở giai đoạn 2 bị oxy hóa thành các sản phẩm cuối cùng: CO_2 , H_2O và NH_3 .

Quá trình dị hóa cũng bao gồm 3 giai đoạn. Nguyên liệu xây dựng ban đầu là những sản phẩm hình thành ở giai đoạn 3 của quá trình dị hóa. Ở giai đoạn 2 các hợp chất còn tương đối đơn giản trong giai đoạn 1 được phức tạp hóa thêm một bước, để sang giai đoạn 3 chúng được sử dụng làm nguyên liệu cho các phản ứng sinh tổng hợp các đại phân tử như polysaccharide, protein, acid nucleic...

Mặc dù đồng hóa và dị hóa là hai quá trình trái ngược nhau nhưng các sản phẩm trung gian của hai quá trình này trong nhiều khâu không trùng nhau. Ví dụ, quá trình phân giải glycogen thành acid lactic, như ta sẽ thấy sau này, được thực hiện nhờ 12 enzyme; trong khi đó quá trình tổng hợp glycogen từ acid lactic chỉ có 9 enzyme là chung với quá trình phân giải, 3 enzyme còn lại được thay thế bằng những enzyme khác.

Sự tồn tại hai con đường khác nhau của đồng hóa và dị hóa là hoàn toàn cần thiết, vì con đường dị hóa về mặt năng lượng không thể được sử dụng cho con đường dị hóa.

Các con đường đồng hóa và dị hóa thường xảy ra trong các cơ quan tử khác nhau của tế bào. Ví dụ oxy hóa acid béo xảy ra trong ty thể, còn sinh tổng hợp acid béo được thực hiện trong tế bào chất. Nhờ đặc điểm định vị

khác nhau này mà các con đường đồng hóa và dị hóa có thể xảy ra đồng thời và không phụ thuộc nhau.

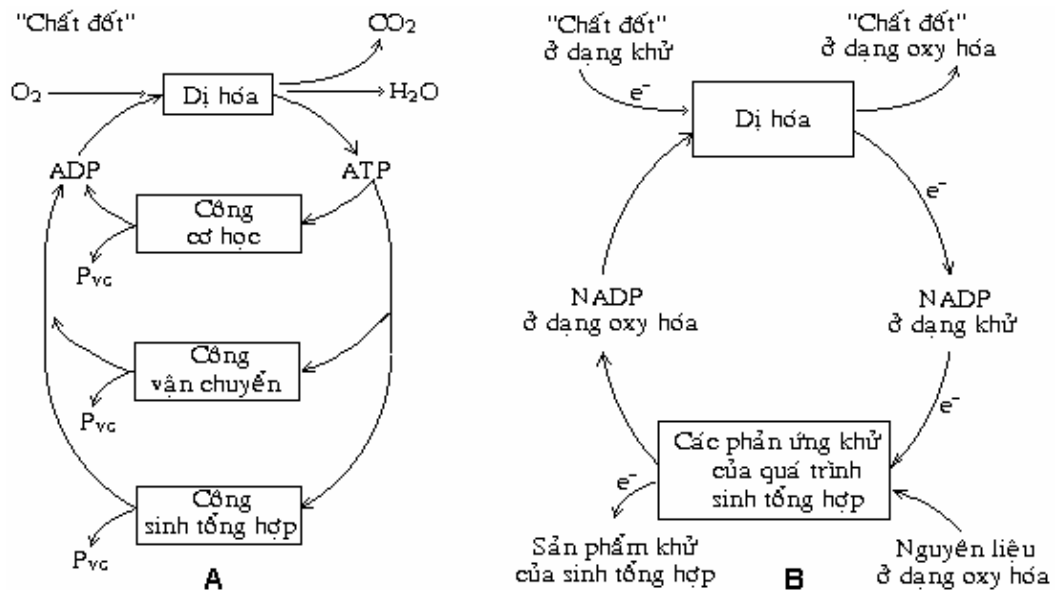
Sự khác nhau giữa hai con đường đồng hóa và dị hóa còn thể hiện ở chỗ chúng được điều hòa bằng những cơ chế không giống nhau và độc lập nhau.

Tuy nhiên, hai quá trình đồng hóa và dị hóa có những giai đoạn chung thường được gọi là những **con đường trung tâm** mà một trong những ví dụ điển hình là chu trình Krebs. Trong chu trình này, một mặt, các hợp chất hữu cơ sẽ bị phân giải đến cùng thành CO₂, mặt khác, chúng cũng có thể được sử dụng làm nguyên liệu cho quá trình đồng hóa.

II. CÁC HÌNH THỨC VẬN CHUYỂN NĂNG LƯỢNG TRONG TRAO ĐỔI CHẤT.

Phân tử của các hợp chất hữu cơ phức tạp, ví dụ glucose, do có mức độ tổ chức cao nên chứa trong nó một năng lượng tiềm tàng rất lớn, đồng thời entropy của nó tương đối thấp. Khi phân tử glucose bị phân giải thành 6 phân tử CO₂ và 6 phân tử H₂O, do mức độ tổ chức của các sản phẩm thấp hơn nên entropy của hệ thống tăng lên với mức độ tương ứng, đồng thời, một phần năng lượng nhất định giải phóng trong quá trình này được sử dụng để thực hiện một công nào đó. Phần năng lượng này được gọi là **Năng lượng tự do**.

Trong các hệ thống sinh học năng lượng tự do bao giờ cũng là hóa năng, vì chỉ có hóa năng mới được cơ thể sử dụng để thực hiện công do cơ thể là những hệ thống đẳng nhiệt.



Hình VIII.1. Các hình thức vận chuyển năng lượng :

A – bằng chu trình $ADP \rightleftharpoons ATP$
 B – bằng điện tử

Năng lượng tự do giải phóng trong các phản ứng dị hóa được sơ bộ tích lũy trong các liên kết hóa học đặc biệt gọi là **liên kết cao năng** của ATP. Những phân tử ATP này sau đó đi vào những khu vực của tế bào mà ở đó cần dùng tối năng lượng. Tại đây nó chuyển một hoặc hai gốc phosphate tận cùng của mình cho một phân tử chất nhận nào đó và bằng cách ấy truyền năng lượng hóa học vốn tích lũy được trước đó cho phân tử này, làm cho nó có khả năng thực hiện công. Bản thân ATP sau khi mất các gốc phosphate tận cùng sẽ biến thành ADP hoặc AMP để rồi lại kết hợp thêm các gốc phosphate mới trong các phản ứng liên hợp với các phản ứng giải phóng năng lượng để tạo nên những phân tử ATP mới. Như vậy, năng lượng tự do trong tế bào được vận chuyển ở dạng các gốc phosphate tận cùng của ATP nhờ khả năng chuyển hóa thuận nghịch $ATP \leftrightarrow ADP$.

Ngoài chu trình $ATP \leftrightarrow ADP$ nói trên năng lượng còn được vận chuyển trong tế bào ở dạng các điện tử (xem chương Trao đổi glucid). Để tổng hợp các hợp chất hữu cơ trong tế bào thường phải cung cấp điện tử và H^+ . Những điện tử này được chuyển đến các chất nhận từ các chất cho trong các phản ứng oxy hóa – khử với sự tham gia của một số coenzyme đặc biệt chuyên làm nhiệm vụ vận chuyển điện tử. Quan trọng nhất trong số các coenzyme loại này là NADP. Nó đóng vai trò như một chất mang các điện tử giàu năng lượng từ các sản phẩm dị hoá đến các phản ứng đồng hóa vốn cần được cung cấp năng lượng ở dạng này. Có thể xem vai trò của NADP trong vận chuyển điện tử tương tự như vai trò của ATP trong vận chuyển các gốc phosphate giàu năng lượng.

Trong tế bào hai kiểu vận chuyển năng lượng này liên quan mật thiết với nhau: năng lượng tự do giải phóng khi vận chuyển điện tử từ một hệ thống có năng lượng cao đến một hệ thống có mức năng lượng thấp được sơ bộ tích lũy trong các phân tử ATP trước khi dùng để thực hiện công.

III. NĂNG LƯỢNG SINH HỌC VÀ CHU TRÌNH ATP

Biến thiên năng lượng trong các phản ứng sinh hóa hoàn toàn tuân theo các định luật của nhiệt động học.

Bên cạnh định luật thứ nhất về bảo toàn năng lượng, định luật thứ hai của nhiệt động học quy định chiều hướng biến hóa tự phát của năng lượng trong khi xảy ra các biến đổi vật lý hoặc các phản ứng hóa học. Theo định luật này mọi quá trình đều có xu hướng xảy ra theo chiều làm tăng entropy. Xu hướng này tồn tại cho đến khi đạt được trạng thái cân bằng mà ở đó entropy có giá trị tối đa tương ứng với nhiệt độ và áp suất nhất định. Entropy được xem là tiêu chuẩn đánh giá mức độ hỗn loạn của hệ thống, còn trạng thái cân bằng được xem là trạng thái mà tại đó không còn xảy ra

các biến đổi vật lý và hóa học của hệ thống; hệ thống ở trạng thái cân bằng không còn khả năng thực hiện công. Sau khi trạng thái cân bằng, cùng với việc tăng entropy nó không còn khả năng tự thay đổi chiều để quay trở lại trạng thái ban đầu vì như vậy có nghĩa là giảm entropy. Các quá trình không làm biến đổi entropy được gọi là **quá trình thuận nghịch**, còn các quá trình làm tăng entropy được gọi là **quá trình không thuận nghịch**.

Entropy là một hàm số toán học được xác định bởi nhiều thông số, trong đó có nhiệt độ và áp suất. Đơn vị đo entropy là calo/°C.

Biến thiên entropy trong các phản ứng hóa học liên quan với biến thiên năng lượng tự do. Mối liên hệ này trong các hệ thống sinh học được xác định bằng phương trình:

$$\Delta E = \Delta G + T\Delta S$$

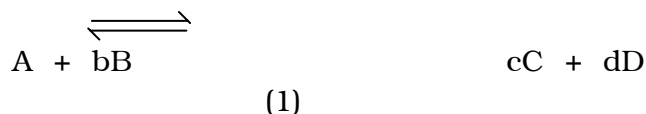
trong đó ΔE là biến thiên tổng năng lượng của hệ thống; ΔG là biến thiên năng lượng tự do của hệ thống, ΔS là biến thiên entropy, T là nhiệt độ tuyệt đối.

Biến thiên năng lượng tự do ΔG là phần biến thiên năng lượng của hệ thống có thể được sử dụng để thực hiện công trong quá trình mà hệ thống hướng về trạng thái cân bằng trong điều kiện nhiệt độ và áp suất không đổi. Trạng thái cân bằng là trạng thái tương ứng với giá trị nhỏ nhất của năng lượng tự do.

Biến thiên năng lượng tự do thường được dùng để xác định chiều hướng của một phản ứng hóa học. Trong điều kiện nhiệt độ và áp suất nhất định năng lượng tự do của hệ thống có xu hướng giảm đến giá trị tối thiểu tương ứng với trạng thái cân bằng.

Giá trị biến thiên năng lượng tự do ΔG của phản ứng hóa học nhờ phương trình rút ra từ định luật cân bằng hóa học.

Đối với phản ứng bất kỳ



trong đó a, b, c, và d là số phân tử tương ứng của các chất A, B, C và D.

Biến thiên năng lượng tự do của phản ứng (1) bằng:

$$\Delta G = \Delta G^\circ + RT \ln \frac{[C]^c [D]^d}{[A]^a [B]^b} \quad (2)$$

trong đó [A], [B], [C] và [D] là nồng độ phân tử gam (mol) của các chất A, B, C và D; R là hằng số khí bằng 1,987 Calo/mol.°C; T là nhiệt độ tuyệt đối; ΔG° là biến thiên năng lượng tự do tiêu chuẩn, tức biến thiên năng lượng tự do của phản ứng hóa học khi pH = 0, nồng độ các chất tham gia phản ứng và sản phẩm của phản ứng đều bằng 1.0M, áp suất 1 atm, nhiệt độ 25°C.

Đối với phản ứng (1) tại trạng thái cân bằng, không phụ thuộc vào nồng độ của các chất A, B, C và D, năng lượng tự do có giá trị tối thiểu và nó không tiếp tục biến thiên nữa, tức $\Delta G = 0$, có nghĩa là:

$$0 = \Delta G^\circ + RT \ln \frac{[C]^c [D]^d}{[A]^a [B]^b} \quad (3)$$

$$\Delta G^\circ = - RT \ln \frac{[C]^c [D]^d}{[A]^a [B]^b} \quad (4)$$

Đặt hằng số cân bằng của phản ứng là K'_{eq} , ta có:

$$K'_{eq} = \frac{[C]^c [D]^d}{[A]^a [B]^b} \quad (5)$$

Từ đó: $\Delta G^\circ = - RT \ln K'_{eq}$ hay: $\Delta G^\circ = - 2,303RT \lg K'_{eq}$ (6)

Từ phương trình (6) ta thấy, nếu biết được hằng số cân bằng K'_{eq} của phản ứng ở nhiệt độ bất kỳ cho trước thì ta có thể xác định được giá trị biến thiên năng lượng tự do tiêu chuẩn ΔG° của phản ứng đó. Như vậy, ΔG° là một hằng số nhiệt động học đặc trưng cho một phản ứng hóa học. Qua phương trình (2) ta có thể thấy rằng ΔG° sẽ bằng ΔG khi nồng độ của mỗi chất tham gia phản ứng đều bằng 1,0M.

Biến thiên năng lượng tự do tiêu chuẩn ΔG° của phản ứng cũng có thể được xem là hiệu số giữa năng lượng tự do tiêu chuẩn của sản phẩm của phản ứng ΣG°_p và năng lượng tự do tiêu chuẩn ΣG°_r của các chất ban đầu, tức:

$$\Delta G^\circ = \Sigma G^\circ_p - \Sigma G^\circ_r \quad (7)$$

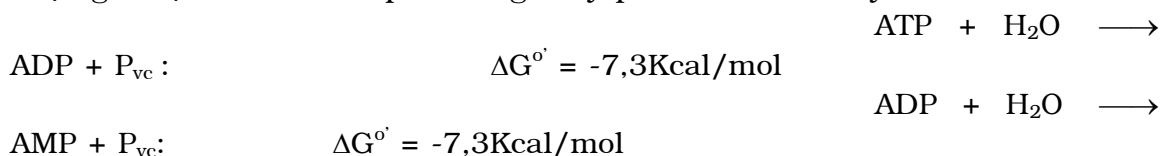
ΣG° đối với mỗi phản ứng tại một nhiệt độ nhất định là một hằng số, còn ΔG của phản ứng biến đổi tùy thuộc vào nồng độ của các chất ban đầu và sản phẩm của phản ứng. Giá trị ΔG cho thấy phản ứng có thể xảy ra hay không ở điều kiện nồng độ nhất định của các chất tham gia phản ứng. Phản ứng chỉ có thể xảy ra trong trường hợp ΔG có giá trị âm, tức trong trường hợp năng lượng tự do giảm. Cần lưu ý rằng một phản ứng với $\Delta G^\circ > 0$ vẫn có thể xảy ra, miễn là tỉ lệ nồng độ của sản phẩm của phản ứng và của các chất ban đầu làm cho $\Delta G < 0$.

Phương trình (6) cho phép tính ΔG° của bất kỳ phản ứng hóa học nào trên cơ sở giá trị K'_{eq} . Nếu $K'_{eq} = 1$ thì $\Delta G^\circ = 0$; nếu $K'_{eq} > 1$ thì $\Delta G^\circ < 0$, phản ứng trong trường hợp đó là phản ứng giải phóng năng lượng; nếu $K'_{eq} < 1$ thì $\Delta G^\circ > 0$ và phản ứng trong trường hợp đó là phản ứng thu nhận năng lượng. Loại phản ứng này sẽ không tự xảy ra theo chiều thuận nếu nồng độ ban đầu của các chất tham gia phản ứng bằng 1,0M.

Tất cả những điều nêu trên đều đúng với các phản ứng sinh hóa. Tuy nhiên, khi phân tích nhiệt động học của các hệ thống sinh hóa cần phải bổ sung ba điều kiện quan trọng sau đây:

1. Nếu chất phản ứng ban đầu hoặc sản phẩm của phản ứng là nước thì nồng độ của nó luôn được xem là bằng 1,0M;
2. Giá trị pH chuẩn của các hệ thống sinh hóa được xem là pH = 7 chứ không phải pH = 0, vì vậy biến thiên năng lượng tự do tiêu chuẩn của các hệ thống sinh hóa được ký hiệu là $\Delta G^\circ'$;
3. Sử dụng giá trị $\Delta G^\circ'$ trong việc xác định biến thiên năng lượng tự do tiêu chuẩn của các hệ thống sinh hóa có nghĩa là các trạng thái ion hóa và không ion hóa ở pH = 7 của các chất tham gia phản ứng và sản phẩm của phản ứng là trạng thái chuẩn. Khi pH thay đổi, mức độ ion hóa của một hoặc một số thành phần cũng biến đổi theo.

Thông qua việc xác định hằng số cân bằng K'_{eq} người ta đã xác định được giá trị $\Delta G^\circ'$ của các phản ứng thủy phân ATP sau đây:





→ Adenosine + P_{vc}: $\Delta G^{\circ} = -3,4\text{Kcal/mol}$

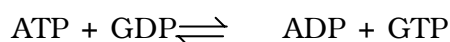
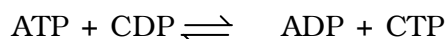
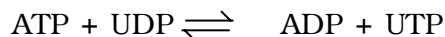
Trên cơ sở các giá trị ΔG° của các phản ứng thủy phân trên đây người ta gọi các liên kết của hai gốc phosphate tận cùng của phân tử ATP là **liên kết phosphate cao năng**. Tuy nhiên, nếu so sánh ΔG° của các liên kết phosphate cao năng với ΔG° của các phản ứng thủy phân nhiều hợp chất khác (bảng VIII.1), ta sẽ thấy giá trị $-7,3\text{Kcal}$ chỉ chiếm vị trí trung gian. Chính nhờ đặc điểm này mà ATP có thể đóng vai trò quan trọng trong việc vận chuyển các gốc phosphate từ các liên kết giàu năng lượng đến các chất nghèo năng lượng để làm cho những chất này trở nên giàu năng lượng hơn.

Bảng VIII.1. Giá trị ΔG° của phản ứng thủy phân một số phosphate có ý nghĩa sinh học.

Cơ chất	ΔG°	Cơ chất	ΔG°
Phosphoenolpyruvate	- 14,80	ATP	-7,30
1,3-diphosphoglycerate	-11,80	Glucoso-1-phosphate	- 5,00
Creatine phosphate	-10,30	Fructoso-6-phosphate	- 3,8
Acetylphosphate	-10,10	Glucoso-6-phosphate	- 3,3
Argininephosphate	-7,70	Glycerolphosphate	-2,00

Trong các phản ứng nối tiếp nhau mà trong đó việc vận chuyển năng lượng do ATP thực hiện, năng lượng hóa học trước tiên được truyền từ một hợp chất giàu năng lượng, ví dụ phosphoenolpyruvate hoặc 1,3-diphosphoglycerate (có $\Delta G^{\circ} > 7,3\text{Kcal}$) sang ADP để được tạm thời tích lũy trong một hoặc hai liên kết cao năng của ATP. Sau đó ATP lại nhường một hoặc hai gốc phosphate tận cùng của mình cho phân tử chất nhận vốn nghèo năng lượng, làm cho sức chứa năng lượng, và do đó hoạt tính hóa học, của nó được tăng lên.

Ngoài ATP, năng lượng còn có thể được vận chuyển nhờ các nucleoside triphosphate khác như GTP, UTP v.v... Tuy nhiên, sự phục hồi các nucleoside triphosphate này vẫn phải nhờ đến ATP với sự xúc tác của enzyme nucleozidediphosphate kinase:



IV. VẬN CHUYỂN NĂNG LƯỢNG TRONG CÁC PHẢN ỨNG OXY HÓA - KHỬ

Phản ứng oxy hóa - khử là phản ứng mà trong đó điện tử được chuyển từ chất cho (chất khử) sang chất nhận (chất oxy hóa) (hình VIII.1B). Trong cơ thể sống quá trình này được thực hiện nhờ sự tham gia của các enzyme oxy hóa - khử khác nhau mà coenzyme của chúng đóng vai trò như những

chất vận chuyển điện tử. Trước tiên, điện tử được tách ra từ chất cho để kết hợp với một coenzyme nào đó ở dạng oxy hóa (NAD⁺, NADP⁺, FAD...) để chuyển những coenzyme này sang dạng khử (NAD.H, NADP.H, FAD.H₂...); sau đó từ những coenzyme ở dạng khử này điện tử được chuyển đến cho một chất nhận có mức năng lượng thấp hơn.

Chất oxy hóa và chất khử bao giờ cũng hoạt động liên hợp với nhau từng cặp. Khả năng xảy ra phản ứng oxy hóa – khử được đánh giá trên cơ sở **thế khử E**, tức hiệu số điện thế (đo bằng volt) giữa cặp chất khử – chất oxy hóa trong phản ứng.

Thế khử của một phản ứng oxy hóa – khử xảy ra trong điều kiện áp suất bằng 1,0 atm, nhiệt độ bằng 25°C, pH bằng 0, nồng độ chất oxy hóa và chất khử đều bằng 1.0 mol được gọi là **thế khử tiêu chuẩn**, ký hiệu là E_o, của phản ứng đó.

Thế khử của phản ứng $\text{H}_2 \rightarrow 2\text{H}^+ + 2\text{e}^-$, xảy ra trong điều kiện nói trên được xem là đơn vị của thế khử tiêu chuẩn (E_o = 1,0).

Do trong các hệ thống sinh học điều kiện thuận lợi nhất để hầu hết các phản ứng sinh hóa xảy ra là ở pH = 7 nên thế khử tiêu chuẩn của các phản ứng sinh hoá được quy ước xác định ở pH = 7 và ký hiệu là E_o'. Nếu E_o của phản ứng $\text{H}_2 \rightarrow 2\text{H}^+ + 2\text{e}^-$ bằng 1,0 thì E_o' của nó bằng -0,42V.

Thế khử tiêu chuẩn của một số cặp chất oxy hóa – chất khử quan trọng được giới thiệu trong bảng VIII.2.

Bảng VIII.2. Thế khử tiêu chuẩn của một số hệ thống oxy hóa – khử sinh học.

Chất khử	Chất oxy hóa	E _o ' (V)
Acetaldehyde	Acetate	-0,60
H ₂	2H ⁺	-0,42
Isocitrate	α-Cetoglutarate	-0,38
NAD.H+H ⁺ (NADP.H+H ⁺)	NAD ⁺ (NADP ⁺)	-0,32
FAD.H ₂	FAD	-0,11
Cytochrome b (Fe ²⁺)	Cytochrome b (Fe ³⁺)	0,00
Cytochrome c (Fe ²⁺)	Cytochrome c (Fe ³⁺)	0,26

Các hệ thống có giá trị âm của thế khử tiêu chuẩn cao hơn so với cặp H₂ – 2H⁺ sẽ có khả năng nhường điện tử lớn hơn khả năng này của hydro; ngược lại, các hệ thống có giá trị dương của thế khử tiêu chuẩn lớn hơn (hay giá trị âm nhỏ hơn) thì khả năng nhường điện tử của chúng thấp hơn so với hydro.

Thế khử tiêu chuẩn E_o' và thế khử biểu kiến E_h của một phản ứng oxy hóa – khử liên hệ với nhau bằng phương trình:

CHƯƠNG 4. GLUCID

Glucid là nhóm hợp chất hữu cơ phổ biến rộng rãi trong tự nhiên mà bản chất hóa học là dẫn xuất aldehyde hoặc cetone của rượu đa chức (polyalcohol) hoặc là sản phẩm ngưng tụ của những dẫn xuất này. Vì tỉ lệ giữa H và O trong nhiều loại glucid giống như tỉ lệ giữa những nguyên tố này trong nước, và bên cạnh đó còn có nguyên tố carbon, nên trước đây người ta thường gọi nhóm hợp chất này là hydrate carbon. Tuy nhiên, cách gọi này ngày nay ít được dùng. Đó là do người ta phát hiện được ngày càng nhiều loại glucid có tỉ lệ giữa H và O không giống như trong nước; hơn thế nữa, người ta cũng đã tìm thấy một số loại glucid mà phân tử của chúng có chứa nitơ (ví dụ glucosamine, galactosamine v.v...).

Ý nghĩa của glucid đối với đời sống của sinh vật là vô cùng to lớn. Ở thực vật glucid chiếm 25-90% chất khô. Chúng là sản phẩm chủ yếu của quang hợp và được tích lũy trong các cơ quan khác nhau của cây để làm chất dinh dưỡng dự trữ. Một số glucid làm nhiệm vụ nâng đỡ và góp phần chủ yếu vào việc kiến tạo vách tế bào thực vật. Ở động vật hàm lượng glucid thường không vượt quá 2% chất khô, tích lũy chủ yếu trong gan và cơ ở dạng hợp chất cao phân tử glycogen. Tuy nhiên điều đó không có nghĩa là glucid ít cần thiết đối với đời sống động vật, bởi vì phần lớn năng lượng cần cho quá trình hoạt động sống của động vật cũng như của thực vật là do glucid cung cấp.

Các sản phẩm chuyển hóa trung gian của glucid trong cơ thể sống là nguyên liệu để tổng hợp nhiều loại hợp chất khác nhau. Chúng còn là thành phần cấu tạo của nhiều loại hợp chất cực kỳ quan trọng như acid nucleic, một số coenzyme, các hợp chất cao năng, các hợp chất quy định nhóm máu v.v...

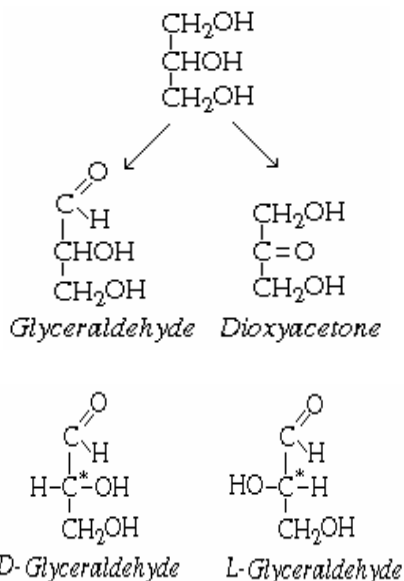
Glucid được chia làm hai nhóm lớn: *monosacharide* (monose) và *polysacharide* (polyose). Phân tử polysacharide chứa từ hai gốc monose trở lên. Những polysacharide chứa số gốc monose không nhiều lắm trong phân tử còn được gọi là *oligosaccharide* (disacharide, trisacharide, tetrasaccharide v.v...). Cũng như monosacharide, oligo-saccharide dễ tan trong nước, chế phẩm tinh khiết có dạng tinh thể, có vị ngọt, do đó được gọi chung là *đường*. Tuy nhiên, những oligosaccharide có phân tử tương đối lớn không tan trong ethanol như monosacharide và các oligosaccharide phân tử nhỏ. Các polysacharide có phân tử lớn không tan trong nước (cellulose) hay tạo trong nước những dung dịch keo rất nhớt (tinh bột, glycogen, hemixellulose, pectin, chất nhầy v.v...).

I. MONOSACHARIDE (MONOSE)

1. cấu tạo.

Monosacharide là những *polyoxyaldehyde* hoặc *polyoxycetone* của một số rượu đa chức (polyalcohol). Một trong những rượu đa chức đơn giản nhất là glycerine

(glycerol). Khi chức rượu bậc 1 của nó bị oxy hóa sẽ tạo ra aldehyde glyceric (glyceraldehyde); nếu chức rượu bậc 2 bị oxy hóa sẽ tạo ra dioxyacetone. Những monose này chứa 3 nguyên tử carbon nên được gọi chung là **triose**. Những monosacharide chứa 4, 5, 6, 7 nguyên tử carbon có tên gọi tương ứng là **tetrose**, **pentose**, **hesose** và **heptose**.

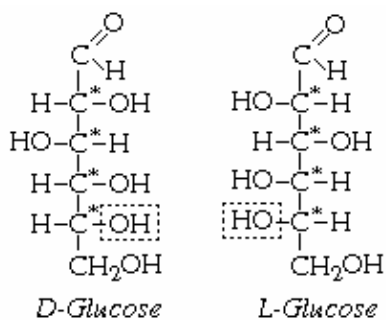


Mặt khác, phụ thuộc vào đặc điểm phân tử monose chứa nhóm aldehyde hay cetone mà chúng được xếp vào nhóm **aldose** hay **cetose**. Glyceral-dehyde thuộc nhóm aldose (aldotriose), còn dioxyacetone thuộc nhóm cetose (cetotriose).

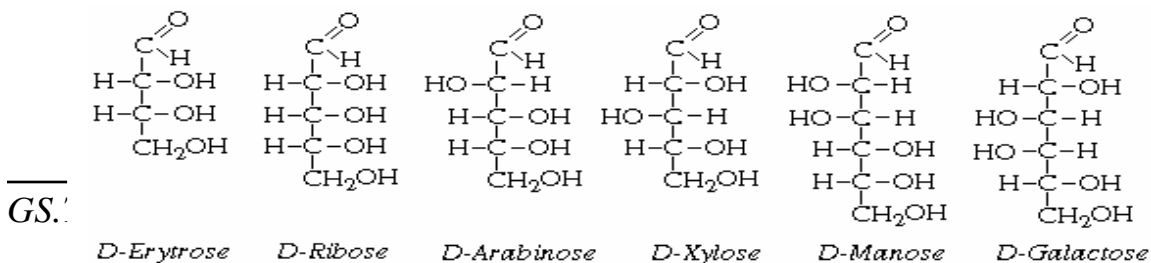
Cũng như aminoacid, trong phân tử monose, trừ dioxyacetone, có chứa một hay nhiều nguyên tử carbon bất đối, nên chúng có thể tồn tại ở các dạng đồng phân quang học D- hoặc L- với hoạt tính quang học đặc trưng. Số lượng đồng phân quang học của mỗi loại monose được xác định bằng công thức $X = 2^n$, trong đó n là số nguyên tử carbon bất đối.

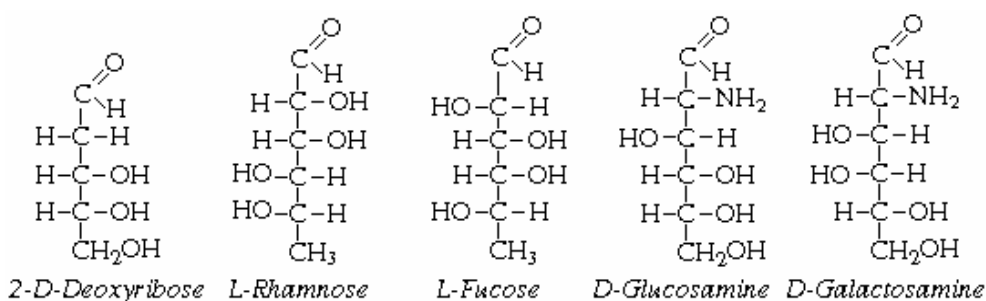
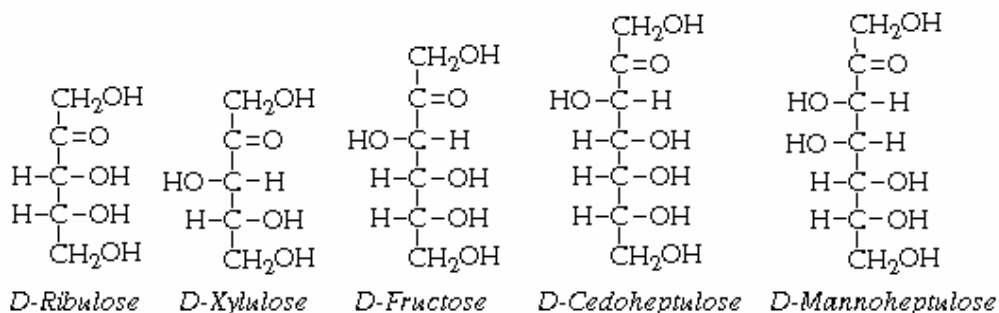
D- và L- glyceraldehyde có cấu tạo như mô tả trong hình bên cạnh.

Đối với các monose khác nếu các nhóm chức gắn với nguyên tử carbon bất đối xa chức aldehyde hoặc cetone nhất có sự phân bố trong không gian giống D-glyceraldehyde thì được xếp vào nhóm D-; nếu giống L-glyceraldehyde thì được xếp vào nhóm L-. Ví dụ, D-glucose và L-glucose có cấu tạo như sau:

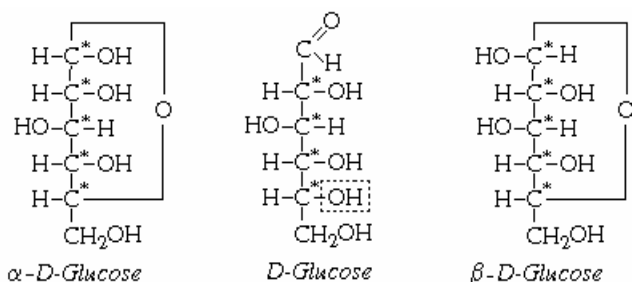


Trong tự nhiên monose thường tồn tại ở dạng D. Ngoài D-glyceraldehyde và D-glucose, hàng loạt các monose khác cũng đóng vai trò rất quan trọng trong các quá trình hoạt động sống. Đó là D- erytrose, D-ribose, D-arabinose, D-xylose, D-galactose, D-mannose (thuộc nhóm aldose) và D-fructose, D-ribulose, D-xylulose, D-cedoheptulose, D-mannoheptulose (thuộc nhóm cetose) cũng như một số đường deoxy (2-D-deoxyribose, L-rhamnose, L-fucose) và đường amin (D-glucosamine, D-galactosamine)





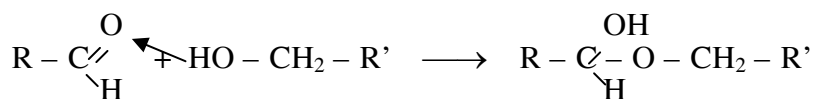
Khác với aminoacid và nhiều loại hợp chất có hoạt tính quang học khác, tất cả các monose chứa từ 4 nguyên tử carbon trở lên khi tan trong nước sẽ thay đổi giá trị hoạt tính quang học. Hiện tượng này được gọi là sự **chuyển quay** (mutarotation). Nguyên nhân của hiện tượng này là ở chỗ bên cạnh cấu trúc mạch hở như đã giới thiệu ở trên, những monose này còn có khả năng tồn tại ở dạng cấu trúc vòng. Những dạng mạch vòng này do làm xuất hiện thêm một nguyên tử carbon bất đối nên có hoạt tính quang học khác với dạng mạch hở. Giá trị góc quay của dung dịch là giá trị trung bình của các dạng cấu trúc đó. Ví dụ, D-glucose trong dung dịch có thêm hai dạng cấu trúc mạch vòng là α -D-glucose và β -D-glucose:



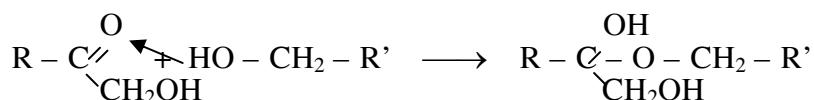
Trong số ba dạng cấu trúc này dạng mạch hở chiếm tỉ lệ không đáng kể, dạng α -D- chiếm khoảng 1/3 với độ quay riêng bằng $+112,2^\circ$, còn dạng β -D- chiếm khoảng 2/3 với độ quay riêng bằng $+18,7^\circ$. Tỉ lệ này quyết định độ quay riêng của dung dịch D-glucose

trong nước là $+52,7^\circ$.

Sự hình thành cấu trúc vòng là kết quả của phản ứng tạo semiacetal nội. Đối với aldose phản ứng này xảy ra như sau:



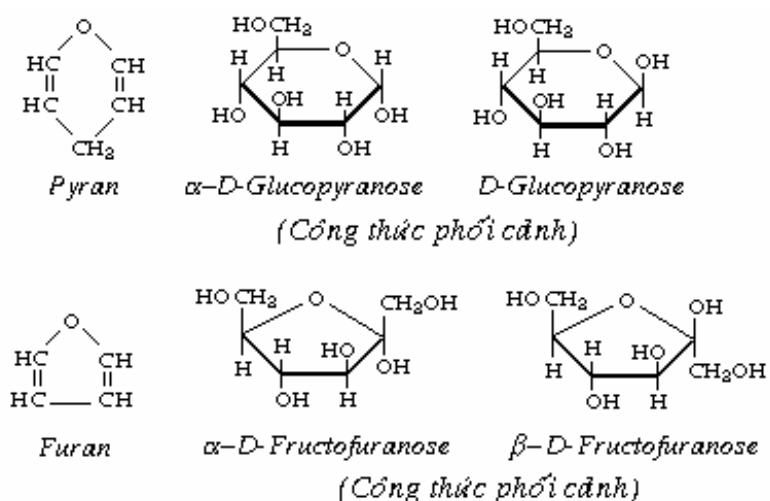
hoặc đối với cetose:



Quá trình này dẫn đến sự xuất hiện thêm một nguyên tử carbon bất đối (C₁ đối với aldose và C₂ đối với cetose) và một nhóm -OH (gắn với carbon bất đối đó). Nhóm -OH này được gọi là nhóm *hydroxyl semiacetal*. Nó có hoạt tính hóa học cao hơn nhiều so với các nhóm -OH khác. Tùy thuộc vào vị trí không gian của nhóm -OH semiacetal mà cấu trúc vòng của monose có dạng α- hay dạng β-. Một monose mạch vòng sẽ thuộc dạng α- nếu nhóm -OH semiacetal có vị trí không gian cùng phía với nhóm -OH gắn với nguyên tử carbon bất đối vốn quyết định monose đó thuộc dãy D- hay dãy L-. Trong trường hợp ngược lại monose mạch vòng sẽ thuộc dạng β-.

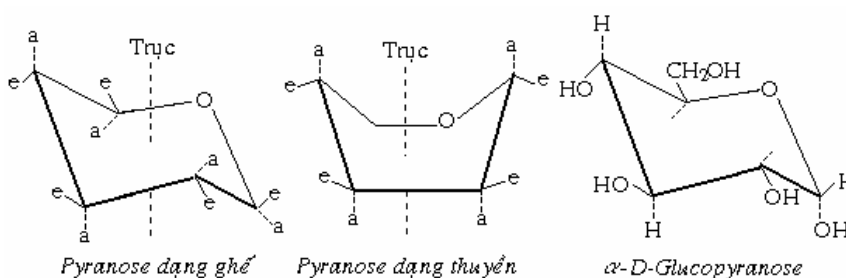
Các dạng mạch vòng trên đây của glucose và những dạng vòng tương tự có thể được xem là dẫn xuất của pyran và vì thế chúng được xếp vào nhóm pyranose (glucopyranose, galactopyranose v.v...).

Cấu trúc vòng của monose còn có thể được hình thành ở dạng vòng 5 cạnh (cầu oxy nối các nguyên tử C₁ với C₄ ở aldose hoặc C₂ với C₅ ở cetose). Cấu trúc này có thể được xem là dẫn xuất của furan nên được gọi chung là furanose.



Để mô tả cấu trúc không gian của monose vòng người ta sử dụng một kiểu công thức có tên là *công thức phối cảnh*. Theo cách diễn đạt này các nguyên tử C₁ - C₅

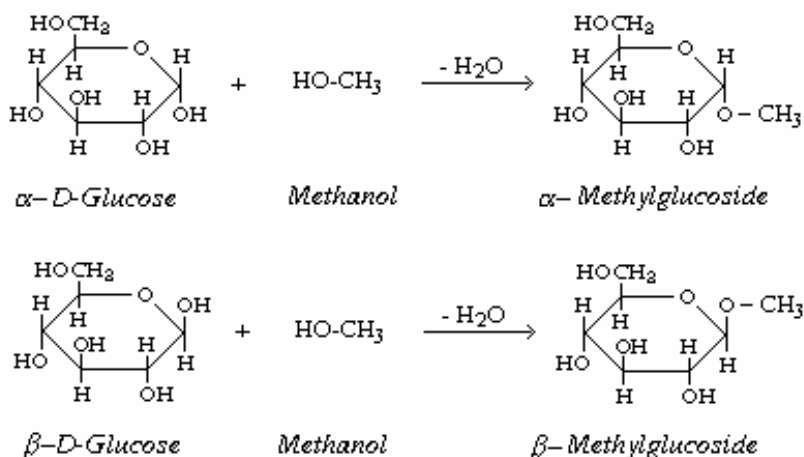
của glucopyranose hoặc C₂ – C₅ của fructofuranose cùng với nguyên tử oxy làm thành mặt phẳng nằm ngang với nét đậm hướng về phía trước, tức phía người nhìn; các nhóm chức gắn với các nguyên tử carbon này (-H, -OH, CH₂OH...) được phân bố phía trên hoặc phía dưới mặt phẳng đó. Quan sát vị trí của nhóm -OH semiacetal trong công thức phối cảnh, ta có thể phân biệt được dễ dàng các dạng α- và β- của một monose vòng. Tuy nhiên cách diễn đạt này có thể gây ấn tượng sai lầm rằng vòng pyran hay vòng furan có cấu trúc phẳng. Trên thực tế các cấu trúc vòng pyranose có thể có cấu trúc dạng ghế hay dạng thuyền, trong đó dạng ghế bền vững hơn. Người ta cho rằng các loại đường hexose trong tự nhiên tồn tại ở dạng này. Các nhóm chức gắn với vòng pyran ở dạng thuyền hay dạng ghế được chia làm hai nhóm: nhóm trục (a) và nhóm xích đạo (e), trong đó các nhóm -OH xích đạo dễ tham gia các phản ứng esetr hóa hơn các nhóm -OH trục.



2. Tính chất hóa học.

a/ *Phản ứng tổng hợp glycoside*: Thông qua nhóm -OH semiacetal vốn có hoạt tính hóa học cao các monose có thể kết hợp với nhiều loại hợp chất khác nhau để tạo nên các sản phẩm có tên chung là glycoside. Tùy thuộc nhóm -OH semiacetal có vị trí α- hay β- mà glycoside được chia làm hai nhóm: α-glycoside và β-glycoside với tính chất rất khác nhau, đặc biệt là trong quan hệ với enzyme.

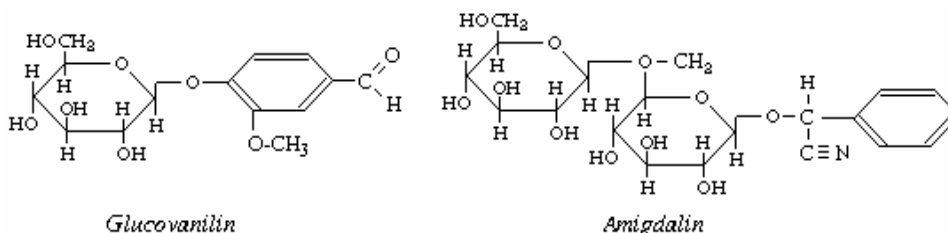
Ví dụ đơn giản nhất của glycoside là α- và β-methylglycoside.



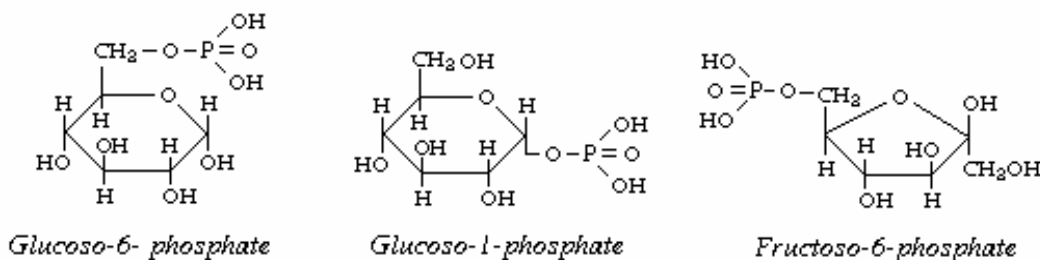
Do nhóm $-OH$ semiacetal tham gia trực tiếp trong việc tạo thành các glycoside nên nó còn được gọi là nhóm **hydroxyl glycoside**. Bộ phận không phải glucid trong phân tử glycoside được gọi là **nhóm aglycon**. Nó có thể là gốc rượu, các hợp chất vòng thơm, vòng thơm hydrogen hóa, steroid, alcaloid v.v...

Glycoside phổ biến rộng rãi trong tự nhiên, đặc biệt là trong giới thực vật. Trên cơ sở đặc điểm của liên kết giữa hai thành phần glucid và aglycon người ta phân biệt O-glycoside ($R-C-O-A$), S-glycoside ($R-C-S-A$), N-glycoside ($R-C-N-A$), và C-glycoside ($R-C-C-A$). Phổ biến nhất là nhóm O-glycoside (ví dụ: glucovanilin, amigdaline, các loại glycoside tim v.v...) và N-glycoside (ví dụ các loại nucleoside).

Glucovanilin có nhiều trong quả vani (Vanilla); thành phần aglycon của nó là vaniline, một chất thơm quý giá. Amigdaline có trong hạt mơ, táo, mận, điều... Aglycon của nó là hợp chất giữa acid benzoic và acid cyanhydric. Do có chứa nhóm $-C\equiv N$ nên amigdaline có thể làm cho người và gia súc bị trúng độc do ức chế hô hấp. Glycoside tim là một nhóm glycoside mà aglycon là các dẫn xuất khác nhau của cyclopentanoperhydro-phenantren. Chúng có tác dụng rất mạnh lên cơ tim. Nucleoside là thành phần cấu tạo của acid nucleic và của nhiều hợp chất sinh học quan trọng khác (coenzyme, hợp chất cao năng v.v...).

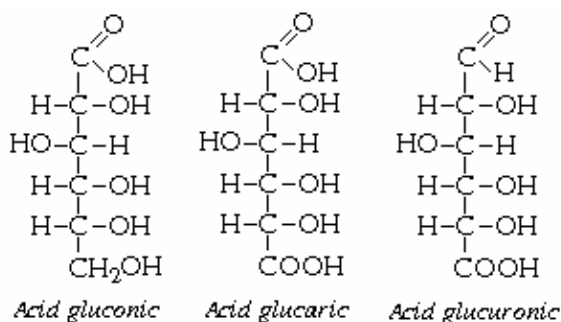


b/ Phản ứng ester hóa. Thông qua các nhóm $-OH$ tự do của mình, đặc biệt là các nhóm $-OH$ ở hai đầu tận cùng, monose phản ứng với các acid chứa oxy để tạo ra các ester. Quan trọng nhất là các ester phosphate. Những ester này có hoạt tính hóa học rất cao và dễ dàng tham gia hàng loạt phản ứng của quá trình trao đổi chất. Ví dụ glucoso-6-phosphate, glucoso-1-phosphate, fructoso-6-phosphate... có vai trò quan trọng trong chuyển hóa tinh bột và glycogen, trong các quá trình quang hợp và hô hấp.



c/ Phản ứng oxy hóa và tính khử của monose: Khi monose bị oxy hóa, tùy thuộc vào điều kiện môi trường, có thể hình thành các sản phẩm khác nhau. Nếu bị oxy hóa

trong môi trường acid, ví dụ với sự tham gia của nước brom, chức aldehyde của monose bị oxy hóa và sản phẩm thu được có tên chung là acid aldonic. Ví dụ glucose bị oxy hóa thành acid gluconic.



Khi aldose bị oxy hóa mạnh, ví dụ dưới tác dụng của acid nitric đặc, cả chức aldehyde và chức rượu bậc một đều bị oxy hóa. Sản phẩm là acid dicarboxylic có tên chung là acid aldaric. Ví dụ glucose bị oxy hóa thành acid glucaric, galactose thành acid

slisic, mannose thành acid mannosaccharic...

Trong những trường hợp đặc biệt (như dưới tác dụng của enzyme), monose chỉ bị oxy hóa tại chức rượu bậc một. Trong trường hợp này sản phẩm có tên chung là acid uronic (acid glucuronic, acid galacturonic, acid mannuronic...).

Trong cơ thể thực vật acid uronic tồn tại ở dạng liên kết trong thành phần của các chất pectin, một số loại chất nhầy và những polysaccharide phức tạp khác có tên chung là polyuronide. Acid uronic còn là sản phẩm trung gian trong quá trình chuyển hóa hexose thành pentose.

Tính chất của monose bị oxy hóa bởi các chất oxy hóa yếu, ví dụ dung dịch kiềm của oxyde đồng II, được ứng dụng trong việc định tích và định lượng đường. Trong khi monose bị oxy hóa thì Cu^{2+} bị khử thành Cu^+ . Đặc điểm này của monose được gọi là **tính khử**. Tất cả monose và những oligosaccharide còn có nhóm -OH semiacetal tự do (phần lớn là disaccharide) được đặc trưng bởi tính khử và vì thế được xếp vào nhóm **đường khử**.

Một trong những sản phẩm oxy hóa của glucose – acid glucuronic – trong các mô của thực vật và gan của đa số động vật, trừ người, vượn, chuột bạch và một số loài động vật khác, là chất tiền thân để tổng hợp acid L-ascorbic, tức vitamin C (xem chương 5 nói về vitamin).

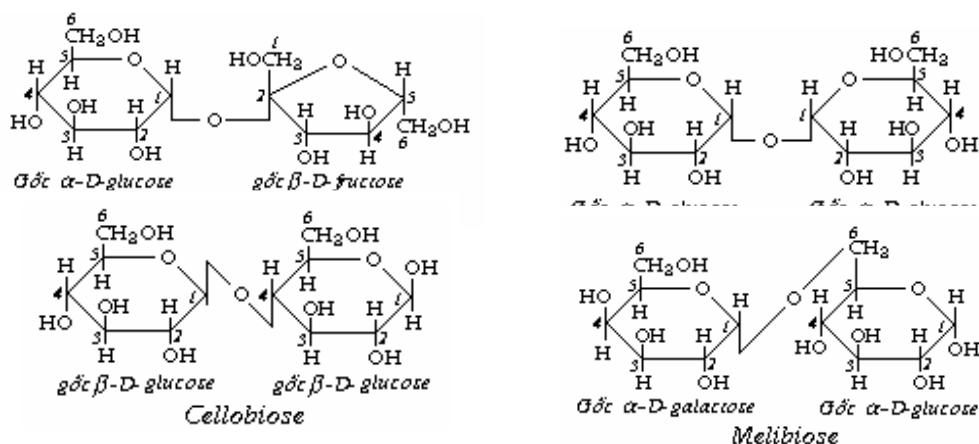
Phản ứng khử: Ngược lại với phản ứng oxy hóa, khi bị khử monose chuyển hóa thành các rượu đa chức (polyalcohol) tương ứng: glyceraldehyde và dioxyacetone bị khử thành glycerine; D-glucose và D-fructose – thành D-sorbit(ol); D-galactose – thành D-dulcit(ol); D-mannose – thành D-mannit(ol) v.v... Các loại rượu đa chức này phổ biến rất rộng rãi trong rau, quả, nấm và tảo.

II. OLIGOSACCHARIDE.

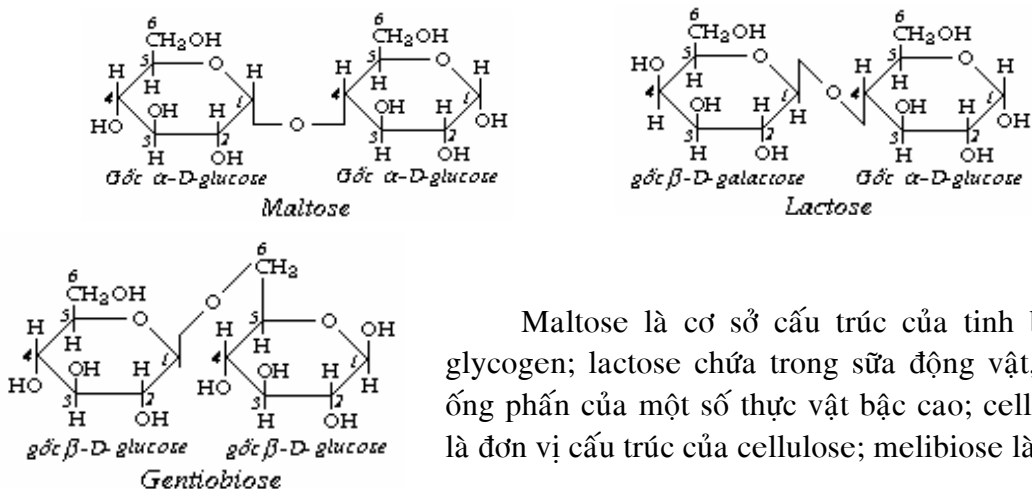
Dựa vào số gốc monose trong phân tử, oligosaccharide được chia thành disaccharide, trisaccharide, tetrasaccharide v.v... Để tạo nên phân tử oligosaccharide cũng như polysaccharide, các gốc monose nối với nhau bằng các liên kết glycoside.

1. Disaccharide.

Trong phân tử disaccharide hai gốc monose liên kết với nhau nhờ nhóm -OH glycoside của monose này với nhóm -OH bất kỳ của monose kia. Đặc điểm liên kết giữa các gốc monose có ý nghĩa rất quan trọng đối với tính chất của disaccharide. Nếu hai nhóm -OH glycoside liên kết với nhau thì phân tử disaccharide không có tính khử. ví dụ điển hình cho nhóm disaccharide này là saccharose (trong cây mía, cây củ cải đường) và trehalose (trong nấm, tảo, một ít thực vật bậc cao và động vật không xương sống).



Nếu trong số hai nhóm -OH tham gia tạo thành phân tử disaccharide chỉ có một nhóm -OH glycoside thì trong phân tử disaccharide đó còn lại một nhóm -OH glycoside tự do, làm cho phân tử có tính khử, và do đó những polysaccharide này cùng với monose được xếp vào nhóm đường khử. Phổ biến nhất trong nhóm disaccharide này là maltose, lactose, cellobiose, melibiose và gentiobiose.

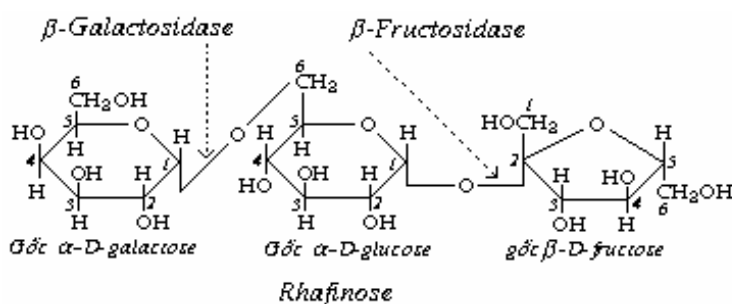


Maltose là cơ sở cấu trúc của tinh bột và glycogen; lactose chứa trong sữa động vật, trong ống phần của một số thực vật bậc cao; cellobiose là đơn vị cấu trúc của cellulose; melibiose là thành

phần cấu tạo của trisaccharide rhamnose; gentiobiose là thành phần

cấu tạo của amygdaline và nhiều glycoside khác. Tất cả disaccharide dưới tác dụng của acid hoặc của các enzyme tương ứng sẽ bị thủy phân thành monose.

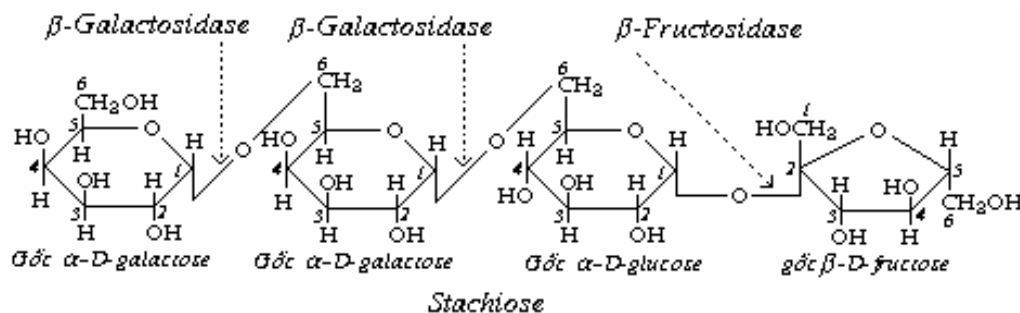
2. Trisaccharide.



Đại diện cho nhóm trisaccharide là rhamnose. Nó được phát hiện trong nhiều thực vật, đặc biệt là trong hạt bông và củ cải đường. Nó không có tính khử do cả 3 nhóm -OH glycoside đều không còn ở trạng thái tự do.

3. Tetrasaccharide.

Đại diện cho nhóm tetrasaccharide là stachiose. Nó được cấu tạo bởi hai gốc alpha-D-galactose, một gốc alpha-D-glucose và một gốc beta-D-fructose. Có thể xem phân tử stachiose là phân tử rafinose được gắn thêm một gốc alpha-D-galactose thứ hai bằng liên kết glycoside 1-6 thông qua gốc alpha-galactose thứ nhất. Loại tetrasaccharide này được phát hiện trong rễ và củ của một số thực vật và trong hạt cây họ đậu. Cũng như rafinose, stachiose không có tính khử.



III. POLYSACCHARIDE (POLYOSE).

Polyose hay polysaccharide bậc hai có trọng lượng phân tử rất lớn, hình thành từ rất nhiều gốc monose. Tùy thuộc kích thước và đặc điểm cấu trúc của phân tử, chúng có thể tạo dung dịch keo hoặc hoàn toàn không tan trong nước.

Những polysaccharide hình thành từ cùng một loại monose được gọi là **homopolysac-charide**; nếu chúng được tạo nên từ các loại monose khác nhau thì được gọi là **hetero-polysaccharise**.

1.Homopolisaccharide.

Trong tự nhiên phần lớn các homopolysaccharide là các chất dinh dưỡng dự trữ (tinh bột, glycogen, dextran, inulin ...) hoặc tham gia trong cấu trúc của vách tế bào (cellulose, hemicellulose...)

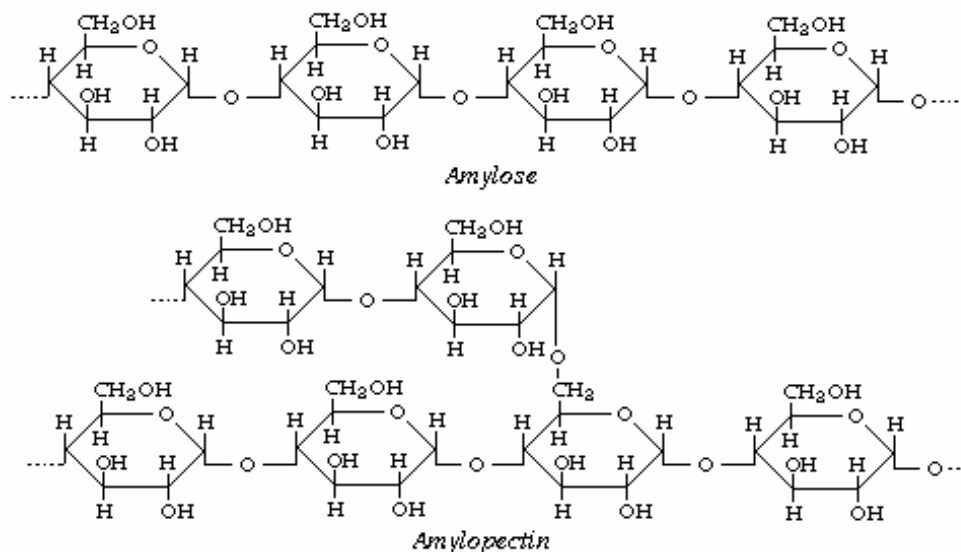
Tinh bột là chất dinh dưỡng chủ yếu của thực vật. Polysaccharide tinh bột gồm hai loại có cấu tạo và tính chất lý hóa học khác nhau: *amylose* và *amylopectin*.

Amylose dễ tan trong nước nóng, tạo nên dung dịch keo không nhớt lắm. Dung dịch này không bền và khi để lắng dễ bị kết tủa dưới dạng tinh thể. Amylopectin chỉ tan trong nước đun sôi ở áp lực cao, tạo nên dung dịch keo rất nhớt và khá bền vững. Trọng lượng phân tử của amylose vào khoảng 300.000 – 1.000.000, còn của amylopectin – vài trăm triệu. Amylose nhuộm màu xanh với iod, còn amylopectin – màu đỏ.

Trong phân tử amylose các gốc α -D-glucose nối với nhau bằng liên kết glycoside 1-4, tạo nên cấu trúc sợi không phân nhánh, tồn tại ở dạng cấu trúc xoắn ốc, mỗi vòng xoắn chứa 6-7 gốc glucose (hình 2.1).

Hình 2.1. Sơ đồ cấu trúc xoắn ốc của amylose

Trong phân tử amylopectin bên cạnh liên kết glycoside 1-4 còn có liên kết glycoside 1-6 để tạo ra các mạch nhánh với các điểm phân nhánh cách nhau khoảng 24 gốc glucose.



Trong tinh bột của các loài thực vật khác nhau tỉ lệ amylopectin / amylose không giống nhau. Trong bột gạo tỉ lệ này vào khoảng 17/83, còn trong bột lúa mì – 24/76. Giá trị này còn phụ thuộc vào giống, điều kiện canh tác và các yếu tố ngoại cảnh khác.

Khi đun với acid, tinh bột bị thủy phân thành α -D-glucose. Tinh bột hòa tan vốn được sử dụng rộng rãi trong kỹ thuật phòng thí nghiệm là sản phẩm thủy phân không hoàn toàn của tinh bột dưới tác dụng của acid loãng.

Dưới tác dụng của enzyme amylase tinh bột bị phân giải thành maltose thông qua các sản phẩm trung gian với trọng lượng phân tử nhỏ dần có tên là **dextrin**.

- *Amylodextrin* nhuộm màu xanh với iod, tan trong ethanol 25% nhưng bị kết tủa bằng ethanol 40% dưới dạng bột trắng;

- *Erythrodextrin* nhuộm màu đỏ với iod, tan trong ethanol 55% nhưng bị kết tủa trong ethanol 65% dưới dạng tinh thể hình cầu;

- *Achromodextrin* không nhuộm màu với iod, tan trong ethanol 70%;

- *Maltodextrin* có trọng lượng phân tử nhỏ nhất trong số các dextrin, không nhuộm màu với iod. Cũng như maltose và monosaccharide, nó hòa tan rất tốt trong ethanol 80%.

Glycogen, đôi khi còn được gọi là tinh bột động vật, có nhiều trong gan và cơ, là nguồn cung cấp năng lượng chủ yếu cho mọi quá trình hoạt động sống của cơ thể động vật. Nó có dạng bột trắng vô định hình, tan trong nước nóng và tạo thành dung dịch keo màu trắng đục. Khi tác dụng với iod, glycogen nhuộm màu nâu đỏ hay tím đỏ. Trọng lượng phân tử từ 1 triệu (trong cơ) đến 5 triệu (trong gan).

Cấu tạo của phân tử glycogen giống như amylopectin nhưng mức độ phân nhánh dày hơn. Nó bị thủy phân dưới tác dụng của acid và enzyme giống như tinh bột. Ngoài

ra, dưới tác dụng của phosphorylase và với sự tham gia của phosphate vô cơ glycogen bị phân giải (theo một cơ chế enzyme có tên là phospholys) thành glucoso-1-phosphate.

Dextran là một loại polysaccharide đóng vai trò chất dinh dưỡng dự trữ của vi khuẩn và nấm men. Nó được hình thành từ các gốc α -D-glucose nối với nhau bằng các liên kết glycoside 1-6. Các mạch nhánh được hình thành nhờ các liên kết glycoside 1-2, 1-3 hoặc 1-4. Các loại dextran khác nhau có mức độ phân nhánh khác nhau. Lợi dụng đặc điểm này người ta sử dụng dextran để chế tạo các sản phẩm có tên là sephadex để sử dụng trong kỹ thuật phòng thí nghiệm làm các loại “rây phân tử”.

Inulin là sản phẩm quang hợp và là chất dinh dưỡng dự trữ của một số thực vật, như thực dược (*Dahlia*), diếp xoăn (*Cicorium*), actisô (artichaut) v.v... Phân tử inulin là một mạch dài không phân nhánh được hình thành từ 32 – 34 gốc β -D-fructose thông qua liên kết glycoside 1 – 2. Do được hình thành từ các đơn vị fructose nên inulin được xếp vào nhóm polyfructoside.

Levan cũng là một loại polyfructoside. Khác với inulin, trong phân tử levan các gốc fructose nối với nhau bằng các liên kết fructoside 2 - 6. Ở vi khuẩn các nhóm –OH tự do trong phân tử levan được metoxyl hóa. Levan cũng có mặt trong thực vật thuộc họ Hòa thảo, nhưng chứa ít gốc fructose hơn và các nhóm –OH không bị metoxyl hóa.

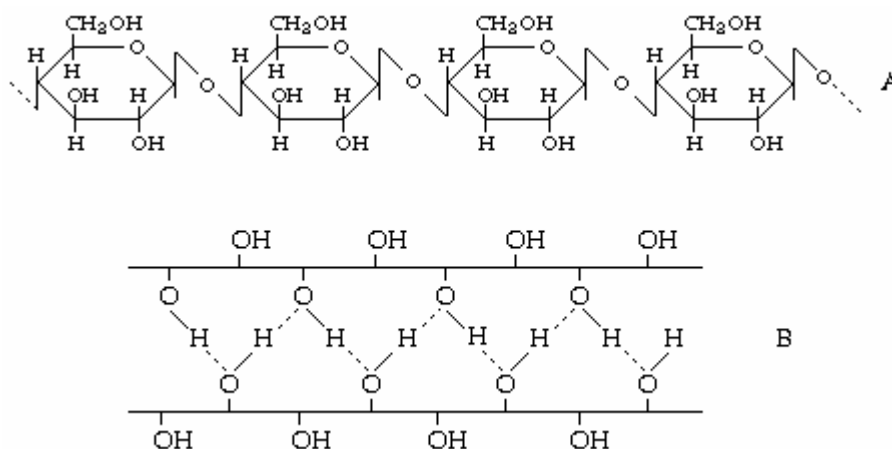
Một số polysaccharide nhầy tương tự inulin và levan cũng được các vi khuẩn sống trong đất tổng hợp nên và đóng vai trò quan trọng trong việc hình thành cấu tượng của đất.

Trong số các homopolysaccharide là chất dinh dưỡng dự trữ còn có thể kể đến *xylan* và *mannan*. Xylan hình thành từ các gốc xylose, có mặt trong các mô thực vật. Mannan hình thành từ các gốc mannose. Nó là chất dung dịch dự trữ của vi khuẩn, nấm men, nấm mốc và thực vật bậc cao.

Xylan, manan cùng với galactan (hình thành từ các gốc galactose) và araban (hình thành từ các gốc arabinose) được gọi chung là hemicellulose. Những hemicellulose này do được hình thành từ một loại monose duy nhất nên chúng nằm trong nhóm homopoly-saccharide. Bên cạnh chúng còn có những hemicellulose được cấu tạo từ một số loại monose, và do đó, theo định nghĩa, chúng thuộc nhóm heteropolysaccharide. Phần lớn những hemicellulose này tham gia trong cấu trúc của vách tế bào cùng với cellulose.

Cellulose là thành phần chủ yếu của vách tế bào thực vật. Đơn vị cấu trúc của cellulose là β -D-glucose. Chúng nối với nhau nhờ liên kết β -1-4-glycoside, tạo thành những mạch dài không phân nhánh. Trung bình, mỗi phân tử cellulose chứa vài nghìn gốc glucose. Các sợi cellulose thường liên kết lại thành bó khoảng 60 phân tử. Sự liên

kết này được thực hiện nhờ liên kết hydro giữa các nhóm –OH tự do của các phân tử cellulose nằm gần nhau.



Hình 2.2. Sơ đồ cấu trúc phân tử của amylose (A) và liên kết hydro giữa các sợi cellulose nằm gần nhau trong bó mạch (B).

Cellulose không tan trong nước, rượu, eter nhưng tan trong dung dịch $\text{Cu}(\text{OH})_2$ trong ammoniac đậm đặc (thuốc thử Sweitzer). Acid sulfuric đặc ở nhiệt độ sôi thủy phân cellulose thành β -D-glucose.

Hydro thuộc các nhóm –OH tự do trong phân tử cellulose trong những điều kiện nhất định có thể được thay thế bằng các gốc khác nhau ($-\text{CH}_3$, $\text{CH}_3\text{COO}-$ v.v...) để tạo thành các dẫn xuất eter và ester. Nhờ các phản ứng này từ cellulose có thể chế tạo cellophan, celluloid, chất nổ, phim ảnh v.v... Nhiều dẫn xuất của cellulose, như carboxycellulose (CM-cellulose), diethylaminoethyl-cellulose (DEAE-cellulose) v.v... được sử dụng rộng rãi trong kỹ thuật phòng thí nghiệm để phân đoạn protein, acid nucleic bằng phương pháp sắc ký trao đổi ion.

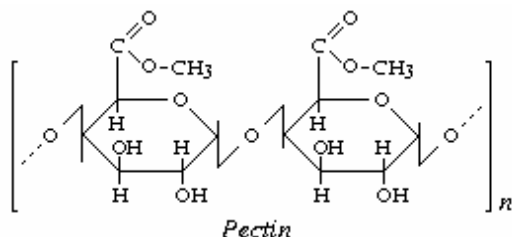
2.Heteropolysaccharide.

Thuộc nhóm heteropolysaccharide có nhiều loại hemicellulose, chất nhầy và gôm, pectin, agar-agar, acid alginic, chitin, mucopolisaccharide...

Các loại hemicellulose thuộc nhóm heteropolysaccharide là những polysaccharide mà thành phần cấu tạo của chúng gồm các loại acid uronic, arabino, xylose và một số monose khác. Như đã nói ở trên, chức năng chủ yếu của những hemicellulose này là tham gia trong cấu trúc của vách tế bào thực vật.

Chất nhầy và gôm là những polysaccharide do thực vật tiết ra trong trạng thái sinh lý bình thường (chất nhầy) hoặc khi bị tổn thương (gôm). Khi hòa tan trong nước chúng cho dung dịch keo rất nhớt. Trong thành phần cấu tạo của hai loại polysaccharide này có lactose, mannose, glucose, rhamnose, xylose và các monose khác.

Pectin là những polysaccharide phân tử lớn, chứa nhiều trong quả, củ và thân cây. Trong thực vật pectin tồn tại ở dạng không tan *protopectin*. Sau khi sử lý bằng acid loãng, hoặc dưới tác dụng của enzyme protopectinase, protopectin chuyển hóa thành pectin hòa tan. Quá trình này xảy ra khi quả chín, làm cho quả trở nên mềm.



Phân tử pectin hòa tan hình thành nhờ các ester methylic của acid galacturonic liên kết với nhau bằng liên kết 1-4-glycoside. Pectin từ các nguồn khác nhau có trọng lượng phân tử không giống nhau, dao động từ 20.000 đến 50.000.

Pectin hòa tan trong nước bị kết tủa bằng acetone 50%. Tính chất đặc trưng của pectin là khả năng tạo ra thạch đông khi có mặt acid và đường, do đó nó được sử dụng rộng rãi trong kỹ nghệ bánh kẹo. Dưới tác dụng của kiềm loãng hoặc của enzyme pectinase gốc metoxyl (-O CH₃) bị tách khỏi chuỗi polysaccharide và pectin bị biến thành acid pectic (acid polygalacturonic), đồng thời mất khả năng tạo thạch đông.

Agar-agar là một loại polysaccharide trong vách tế bào của một số loài tảo đỏ thuộc các giống *Gelidium*, *Gracilaria*, *Pterocladia* và *ahnfeltia*. *Agar-agar* không tan trong nước lạnh nhưng tan trong nước nóng dưới hình thức dung dịch keo. Dung dịch này khi để nguội đông lại thành thạch. Loại polysaccharide này không được cơ thể người và động vật hấp thụ. Nó được sử dụng rộng rãi trong y học và kỹ thuật phòng thí nghiệm trong việc làm môi trường nuôi cấy vi sinh vật và nuôi cấy mô thực vật.

Người ta cho rằng *agar-agar* là hỗn hợp của ít nhất hai loại polysaccharide là agarose và agarpectin. Agarose được cấu tạo bởi các gốc D- và L-galactose nối với nhau bằng liên kết 1-3-glycoside. Agarpectin hình thành từ các gốc D-galactose và một số ít gốc galactoso- 6- sulfate. Tuy nhiên, trong *agar-agar* còn phát hiện được các gốc arabinose và glucose.

Acid alginic được phát hiện trong vách tế bào tảo nâu thuộc các chi *Macrocystis*, *Laminaria*, *Fucus*, *Sargassum*. Đó là một loại polysaccharide hình thành từ các gốc acid β-D-mannuronic nối với nhau bằng liên kết 1-4-glycoside.

Acid alginic có khả năng tạo dung dịch keo nên được sử dụng rộng rãi trong công nghiệp dệt để làm chất hồ vải. Nó cũng được dùng để sản xuất tơ nhân tạo, làm mỹ phẩm...

Chitin là thành phần chủ yếu của mô bì của côn trùng, tôm, cua. Nó cũng được phát hiện trong nấm và địa y. Trong các mô động vật chitin liên kết với protein và calcium carbonae. Phân tử chitin rất giống cellulose nhưng nó được cấu tạo không

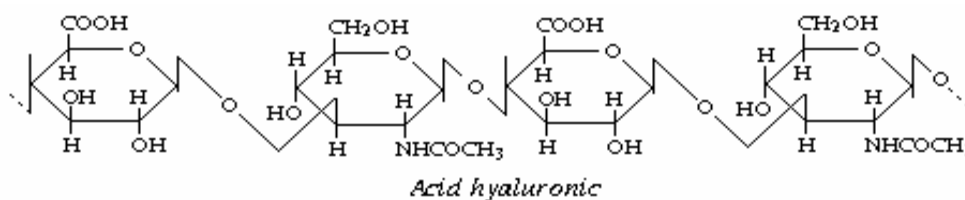
phải từ glucose mà từ các gốc N-acetyl-β-D-glucosamine nối với nhau bằng các liên kết 1-4-glycoside.

Mucopolysaccharide tồn tại trong các mô động vật như sụn, mô liên kết, trong thành phần các chất gian bào, dịch nhầy... với chức năng chủ yếu là bảo vệ.

Thành phần chủ yếu của mucopolysaccharide là glucosamine và acid uronic. Trong các mô động vật chúng tồn tại một phần ở trạng thái tự do, một phần ở dạng liên kết với protein (mucoprotein).

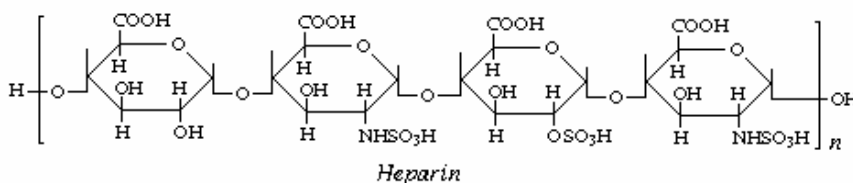
Được hiểu biết nhiều nhất trong số mucopolysaccharide là acid hyaluronic, acid chondroitinsulfuric và heparin.

Acid hyaluronic có nhiều trong thủy tinh thể của mắt, gan, dịch khớp, trong nang của một số vi khuẩn và trong màng tế bào trứng. Nó được cấu tạo từ N-acetyl-β-D-glucosamine và acid D-glucuronic.



Dưới tác dụng của enzyme hyaluronidase do tình trùng tiết ra acid hyaluronic bị phân giải để tạo điều kiện cho sự thụ tinh xảy ra dễ dàng. Cũng nhờ acid hyaluronic, các khoảng gian bào giữ nước để tế bào luôn tồn tại trong môi trường dung dịch keo, làm giảm tác dụng ma sát và chống lại sự thâm nhập của vi trùng.

Acid chondroitinsulfuric là thành phần của sụn, xương, gân ở dạng liên kết với protein collagen và lipid. Khi bị thủy phân, acid chondroitinsulfuric sẽ giải phóng N-acetylgalactosaminesulfate và acid galacturonic. Những gốc này cũng nối với nhau bằng các liên kết β-1-3 và 1-4-glycoside.

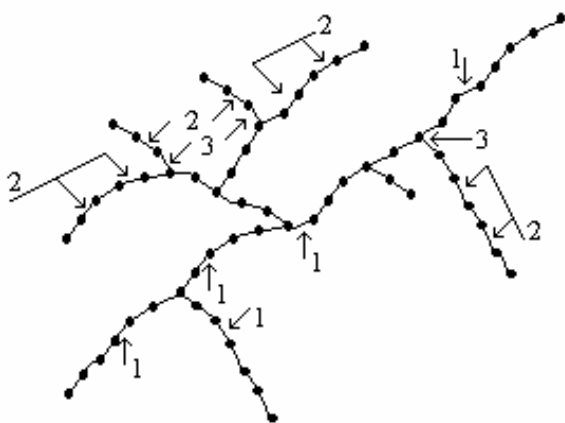


Heparin là một heteropolysaccharide có tác dụng chống đông máu. Nó được tổng hợp và tích lũy trong gan. Ngoài ra,

nó còn có trong phổi, tim, mật, tuyến giáp trạng, máu và trong nhiều cơ quan khác. Tác dụng chống đông máu của heparin được thực hiện nhờ nó ngăn cản sự chuyển hóa prototrombin thành trombin. Phân tử heparin được cấu tạo từ các gốc acid glucuronic và α -D-glucosamine ở dạng dẫn xuất kép của acid sulfuric.

IV. PHÂN GIẢI POLYSACCHARIDE.

1. Phân giải tinh bột và glycogen.



Hình IX.1. Thủy phân amylopectin và glycogen dưới tác dụng của α -amylase, β -amylase và α -(1-6)-glucosidase

Mọi polysaccharide trước khi tham gia các quá trình trao đổi chất khác nhau đều cần được phân giải thành monosaccharide. Tinh bột và glycogen trong các mô thực vật và trong đường tiêu hóa của động vật được thủy phân thành maltose nhờ tác dụng hợp đồng của ba enzyme: α -amylase, β -amylase và α -(1-6)-glucosidase (hình IX.1).

α -Amylase (α -1,4-glucan-4-glu- canohydrolase) cắt các liên kết (α -1,4-glucoside, tạo ra sản phẩm cuối cùng là hỗn hợp maltose và glucose thông qua sản phẩm trung gian là những oligosacchaside chứa 6-7 gốc glucose. Do không thể công phá liên

kết α -(1,6) nên α -amylase chừa lại nguyên vẹn khu vực phân nhánh của amylopectin và glycogen.

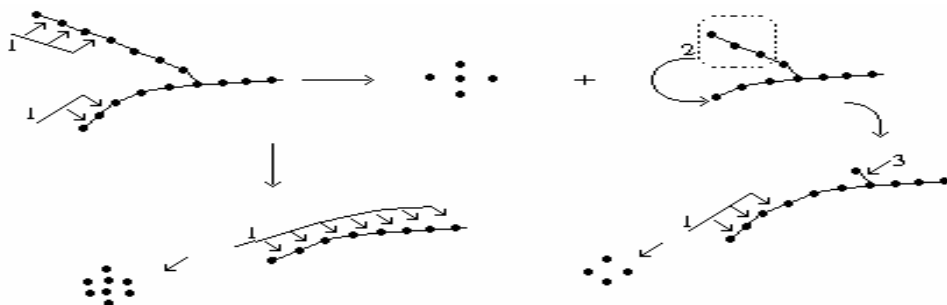
β -Amylase (α -1,4-glucan-4-glucanmaltohydrolase) phân giải amylose, amylopectin và glycogen từ những đầu tận cùng không khử của phân tử, tạo ra sản phẩm cuối cùng là đường maltose. Đối với amylopectin và glycogen quá trình dừng lại tại các điểm phân nhánh, để lại phần 'dextrin giới hạn'.

α -(1-6)-Glucosidase công phá các liên kết α -(1-6)-glucoside. Nhờ đó các dextrin giới hạn chứa các khu vực phân nhánh còn lại sau tác dụng của α - và β -amylase lại tiếp tục bị thủy phân.

Khác với quá trình thủy phân trong đường tiêu hóa, glycogen nội bào và tinh bột ở một số thực vật bị phân giải bằng con đường phosphorolis.

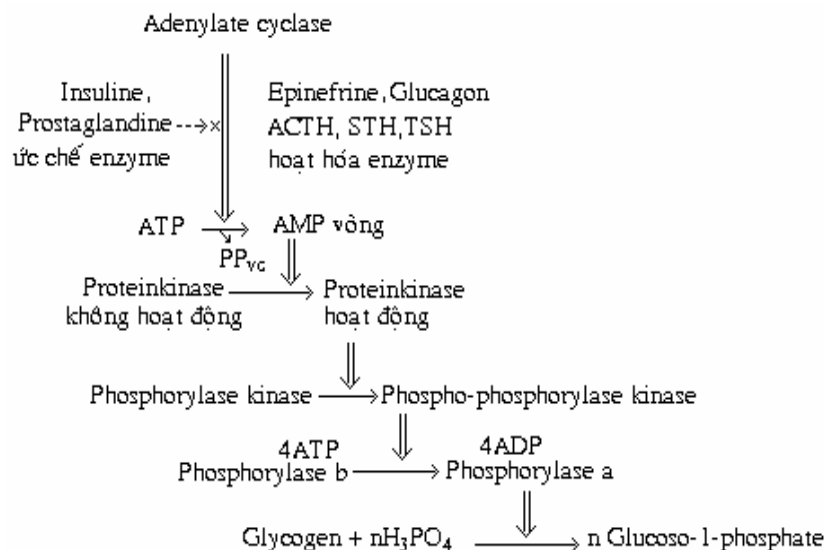
Trong quá trình này với sự tham gia của acid phosphoric enzyme phosphorylase tách gốc glucose tận cùng không khử khỏi phân tử glycogen hoặc tinh bột ở dạng glucoso-1-phosphate. Quá trình phân giải xảy ra cho đến khi chuỗi polysaccharide rút ngắn còn cách điểm phân nhánh 4 đơn vị glucose.

Để phosphorylase tiếp tục hoạt động, oligotransferase cắt các đơn vị maltotriose khỏi đoạn ngắn còn lại và gắn chúng vào các đầu tận cùng không khử bằng liên kết (1-4). Liên kết (1-6) còn lại sau hoạt động của oligotransferase được công phá nhờ α -(1-6)-glucosidase. Sự phối hợp của hai enzyme này làm xuất hiện một mạch dài không phân nhánh để lại có thể chịu tác dụng của phosphorylase (hình IX.2).



Hình IX.2. Phân giải glycogen dưới tác dụng của phosphorylase (1), oligotransferase (2) và α -(1-6)-glucosidase (3).

Phosphorylase nội bào tồn tại ở hai dạng; phosphorylase a có hoạt tính cao và phosphorylase b không hoạt động. Quá trình hoạt hóa phosphorylase b thành phosphorylase a được thực hiện nhờ hàng loạt enzyme với sự tham gia của AMP vòng và nhiều hormone (hình IX.3).



Hình IX.3. Sơ đồ hoạt hóa phosphorylase

2. Phân giải các polysaccharide khác.

Cũng như tinh bột và glycogen, các polysaccharide khác bị phân giải nhờ những enzyme thủy phân đặc hiệu.

Cellulose dưới tác dụng của enzyme cellulase bị thủy phân thành cellobiose. Enzyme này có trong nhiều loại nấm, một số côn trùng và trong dạ dày của động vật ăn cỏ. Nhờ hệ vi sinh vật sống cộng sinh ở đây mà những động vật này tiêu hóa được cellulose. Ngày nay công nghiệp thủy phân cellulose bằng cellulase vi sinh vật được thực hiện ở nhiều nước nhằm mục đích sản xuất rượu và nhiều sản phẩm khác, đặc biệt là thức ăn gia súc.

Dưới tác dụng của β -fructosidase inuline bị thủy phân thành β -D-fructose, còn rafinose – thành β -D-fructose và melibiose, saccharose – thành α -D-glucose và β -D-fructose.

Thủy phân các disaccharide maltose, cellobiose, melibiose và lactose được thực hiện nhờ các enzyme đặc hiệu tương ứng α -glucosidase, β -glucosidase, α -galactosidase, và β -galactosidase.

V. CHUYỂN HÓA TƯƠNG HỖ GIỮA CÁC MONOSE.

Sự chuyển hóa tương hỗ giữa các monose được thực hiện ở dạng ester phosphate nhờ hệ enzyme của chu trình pentosophosphate hoặc với sự tham gia của các dẫn xuất nucleosidediphosphate của đường (NDPS). Các dẫn xuất này được hình thành trong phản ứng giữa ester phosphate của đường với nucleosidediphosphate nhờ sự xúc tác của các enzyme đặc hiệu. Ví dụ:

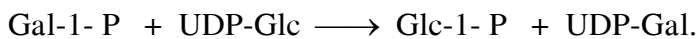


Xúc tác phản ứng này là enzyme uridyldiphosphateglucosopyrophosphorylase.

Sự chuyển hoá tương hỗ giữa monose ở dạng NDPS được thực hiện chủ yếu theo những kiểu phản ứng sau đây:

1. Trao đổi (vận chuyển) các nhóm glycosyl của glycosylphosphate:

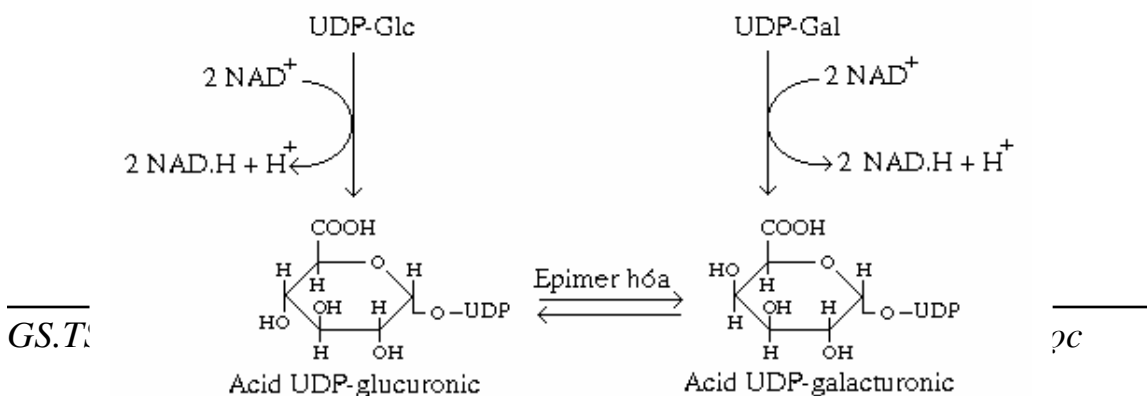
Ví dụ, với sự xúc tác của hexoso-1-phosphate uridyltransferase xảy ra phản ứng



Phản ứng này rất quan trọng nhằm đưa galactose vào quá trình trao đổi chất.

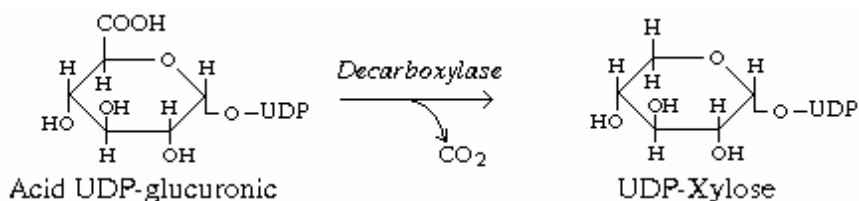
2. Epimer hóa:

Các epimerase đặc hiệu làm biến đổi cấu hình của NDPS. Quá trình kèm theo các hệ thống oxy hóa – khử. Ví dụ:



3. Oxy hóa hexose và decarboxyl hóa thành pentose:

Ví dụ: UDP-glucose sau khi bị oxy hóa thành acid UDP-glucuronic bị decarboxyl hóa thành xylose:



Bên cạnh sự chuyển hóa tương hỗ giữa các monose, các dẫn xuất NDPS còn tham gia trong việc tổng hợp polysaccharide .

Sự chuyển hóa tương hỗ giữa các monose theo chu trình pentosophosphate sẽ được xét tới trong mục IV.

VI. GLYCOLYS.

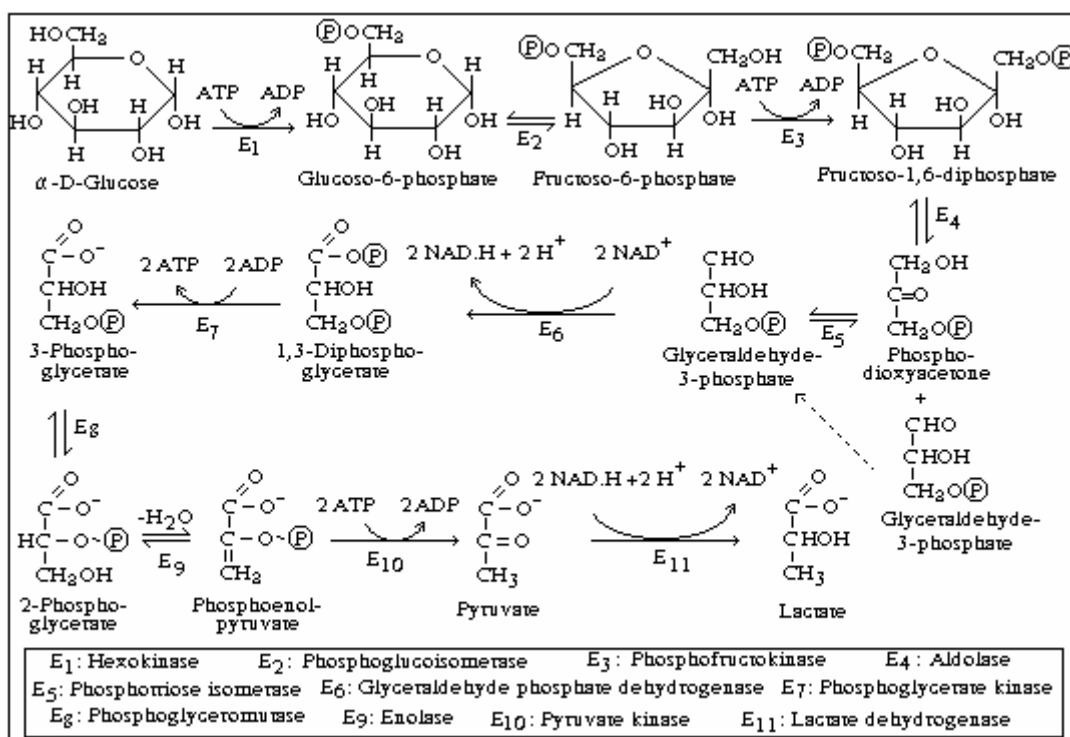
Glycolys là quá trình phân giải kỵ khí glucose thành acid lactic. Sơ đồ tổng quát của nó được trình bày trong hình IX.4.

Giai đoạn thứ nhất của glycolis kết thúc sau phản ứng E₅ để tạo ra các triosophosphate. Nhiệm vụ của giai đoạn này là hoạt hóa glucose nhờ ATP và chuyển hoá chất này thành glyceraldehyde-3-phosphate để tham gia các phản ứng oxy hóa – khử của giai đoạn thứ hai.

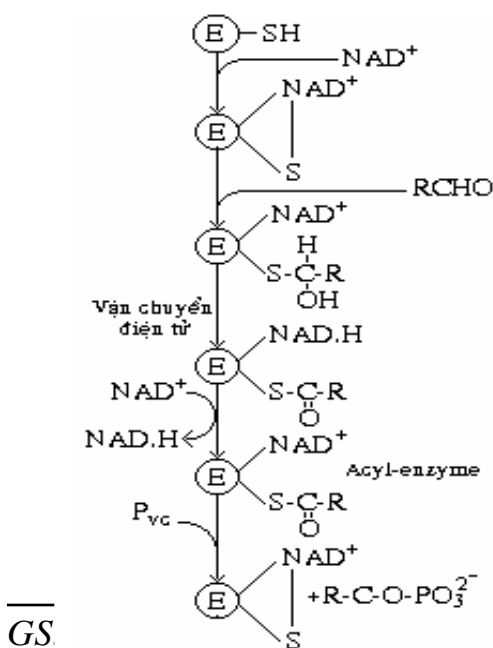
Giai đoạn thứ hai của glycolis là giai đoạn các phản ứng oxy hóa – khử và giải phóng ATP. Nó kết thúc với sự hình thành acid lactic (trong các mô động vật và một số vi khuẩn) hoặc ethanol (ở nấm men).

Glycolis nếu được bắt đầu từ glycogen thì toàn bộ quá trình có tên gọi là *glycogenolis*. Trong trường hợp này glycogen cần được phosphorolis sơ bộ thành glucoso-1-phosphate nhờ glycogenphosphorylase và chất này sẽ chuyển hoá thành glucoso-6-phosphate nhờ phospho-glucomutase.

Trong số 11 enzyme của glycolis phosphofructokinase đóng vai trò của enzyme điều hòa toàn bộ quá trình. Hoạt tính của nó bị ức chế bởi ATP và citrate (ở nồng độ cao) và được kích thích bởi ADP và AMP.



Hình IX.4: Sơ đồ tổng quát của quá trình glycolys



GS

Glyceraldehydephosphate dehydrogenase cũng đóng vai trò quan trọng trong việc điều hòa quá trình glycolis. Cơ chế tác dụng phức tạp của nó được nghiên cứu khá chi tiết (hình IX.5). Mỗi một trong 4 phần dưới đơn vị giống hệt nhau của enzyme liên kết với một phân tử NAD^+ và có một trung tâm hoạt động mà thành phần rất quan trọng là nhóm $-SH$. Trước tiên, enzyme kết hợp với NAD^+ . Sau đó chức aldehyde của cơ chất tương tác với trung tâm hoạt động, tạo ra một

Hình IX.5. Cơ chế tác dụng của glyceraldehyde phosphate

thiosemiacetal. Giai đoạn tiếp theo là vận chuyển hydro vốn liên kết với glyceraldehyde-3-phosphate đến NAD^+ liên kết, khử nó thành NAD.H , đồng thời hình thành thioester giữa nhóm $-\text{SH}$ của enzyme với nhóm carboxyl của cơ chất. Phân tử NAD.H vẫn không tách khỏi enzyme mà lại nhường điện tử

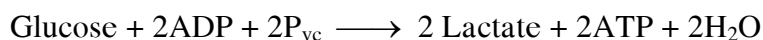
và hydro cho phân tử NAD^+ tự do. Phức hệ giữa cơ chất và enzyme ở giai đoạn này được gọi là *acyl-enzyme*. Gốc acyl sau đó được chuyển từ nhóm $-\text{SH}$ của enzyme đến phân tử phosphate vô cơ để tạo ra sản phẩm oxy hóa là acid 1,3-diphosphoglyceric.

Lactate dehydrogenase xúc tác phản ứng cuối cùng của glycolis. Như đã nói đến trước đây, trong cơ thể động vật bậc cao có ít nhất 5 dạng isoenzyme khác nhau. Tỷ lệ tương đối của 5 dạng này cũng đóng góp một phần quan trọng vào việc điều hòa glycolis nói riêng và trao đổi chất nói chung.

Các phản ứng của glycolis xảy ra trong tế bào chất và không liên quan với cấu trúc tế bào. Khi có mặt oxy tốc độ của nó giảm sút. Hiện tượng này được gọi là *hiệu ứng Pasteur*.

Acid lactic – sản phẩm cuối cùng của glycolis trong điều kiện kỵ khí – được thải qua màng tế bào ra môi trường như một sản phẩm bị loại bỏ. Khi các tế bào cơ của động vật bậc cao hoạt động quá mạnh trong điều kiện thiếu oxy, từ cơ một lượng lớn acid lactic được đưa vào máu. Ở gan nó lại được chuyển hóa thành glucose. Cảm giác mỏi mệt hoặc tê cơ là do pH bị lệch về phía acid.

Phương trình tổng quát của glycolis có dạng:



Biến thiên năng lượng tự do của glycolis với sự chuyển hóa glucose thành 2 lactate có giá trị không lớn ($\Delta G^\circ = -47\text{Kcal}$). Với sự hình thành 2 phân tử ATP tế bào tích lũy được $2 \times 7,3 \text{ Kcal} = 14,6 \text{ Kcal}$. Điều đó có nghĩa là hiệu suất năng lượng có ích của glycolis bằng

$$\frac{14,6 \times 100}{47} = 31\%$$

Ở sinh vật kỵ khí bắt buộc glycolis là nguồn năng lượng duy nhất. Ở sinh vật kỵ khí không bắt buộc và sinh vật hiếu khí bắt buộc glycolis là giai đoạn đầu của sự phân giải glucose. Trong điều kiện có oxy pyruvate không bị khử thành lactate mà bị decarboxyl hóa oxy hóa thành acetylcoenzyme A để tiếp tục bị phân giải thành H_2O và CO_2 theo chu trình acid tricarboxylic.

Cơ chất của glycolis bên cạnh glucose và glucoso-1-phosphate (hình thành từ glycogen) còn có thể là các monose khác. Ví dụ, D-mannose và D-fructose có thể được phosphoryl hóa thành D-mannoso-6-phosphate và D-fructoso-6-phosphate. D-fructoso-6-phosphate thực sự là sản phẩm trung gian của glycolis, còn D-mannoso-6-phosphate cũng sẽ được chuyển hóa thành D-fructoso-6-phosphate nhờ enzyme phosphomannoso-isomerase. Trong khi đó, D-galactose được phosphoryl hóa thành D-galactoso-1-phosphate nhờ galactokinase. Sau đó chất này được epimer hóa thành glucoso-1-phosphate với sự tham gia của UTP như đã trình bày trong mục V.

Các pentose được lôi cuốn vào quá trình glycolis sau khi chuyển hóa sơ bộ thành glyceraldehyde-3-phosphate nhờ các phản ứng của chu trình pentosophosphate.

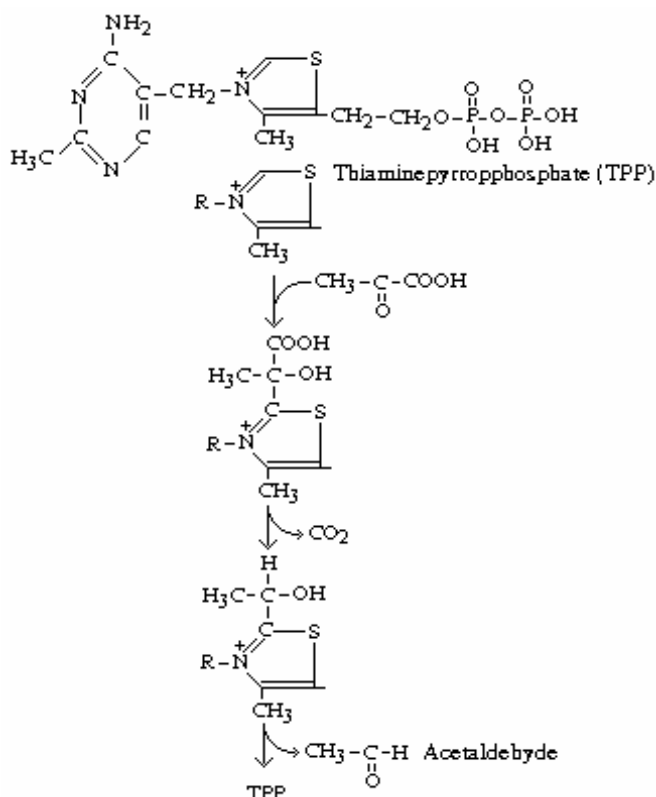
Cơ chất của glycolis còn có thể là glycerine và glycerol-3-phosphate vốn xuất hiện trong quá trình thủy phân một số lipid. Glycerine được phosphoryl hóa thành glycerol-3-phosphate nhờ glycerokinase. Sau đó glycerophosphate dehydrogenase oxy hóa chất này thành dioxyacetonephosphate, một trong những sản phẩm trung gian của glycolis.

Quá trình lên men rượu xảy ra trong tế bào nấm men với sự tham gia của 10 enzyme đầu của glycolis và 2 enzyme bổ sung là pyruvate decarboxylase và alcoholdehydro-genase.

Enzyme pyruvate decarboxylase xúc tác cho phản ứng không thuận nghịch

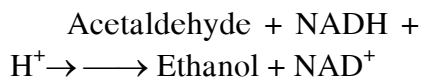


Cơ chế tác dụng của enzyme này được trình bày trong hình IX.6. Trực tiếp tham gia trong hoạt động xúc tác của enzyme là coenzyme thiaminepyrophosphate (dẫn xuất của vitamine B₁). Hoạt động của nó cần có Mg²⁺.

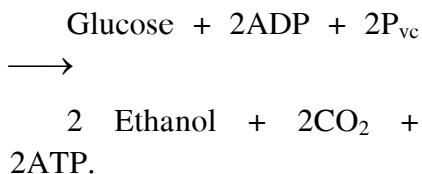


Quá trình decarboxyl hóa acid pyruvic được thực hiện qua một loạt giai đoạn. Trước tiên, nguyên tử carbon α của pyruvate kết hợp với C₂ của vòng thiazol của TPP ở trạng thái liên kết với enzyme, làm xuất hiện dẫn xuất 2- α -lactyl của coenzyme. Dẫn xuất này sau đó bị decarboxyl hóa thành dẫn xuất 2-oxethyl (acetaldehyde hoạt động). Cuối cùng, nhóm oxethyl tách khỏi coenzyme ở dạng acetaldehyde tự do. Chất này

sau đó sẽ bị khử thành ethanol nhờ alcoholdehydro-genase:



Phương trình tổng quát của lên men rượu vì vậy sẽ là:

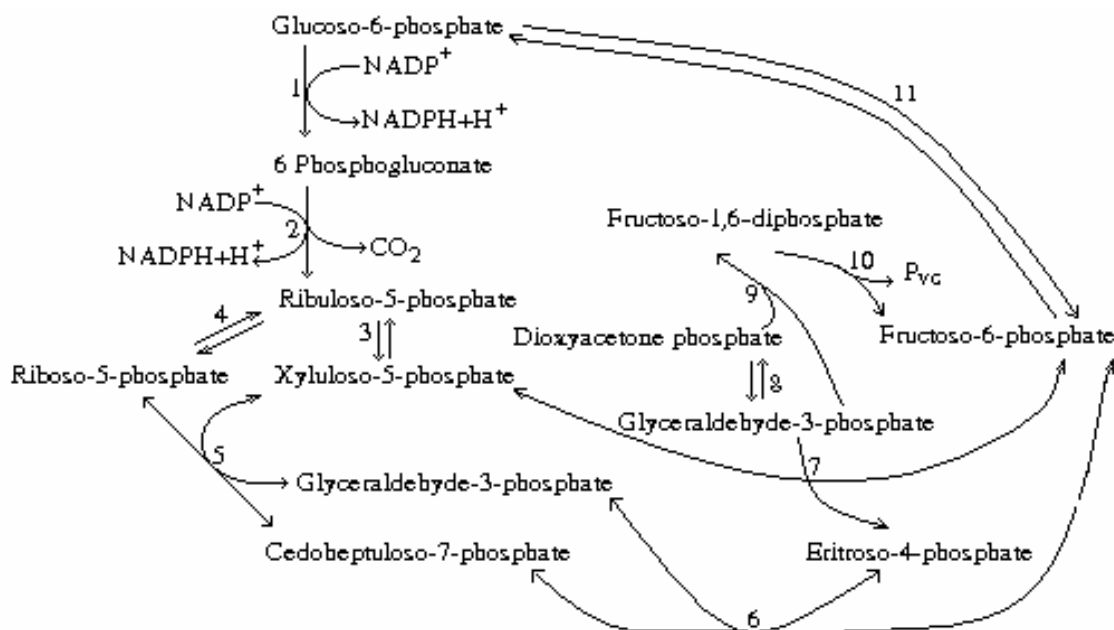


Hình IX.6. Cơ chế tác dụng của pyruvate decarboxylase

VII. CHU TRÌNH PENTOSOPHOSPHATE

Chu trình pentosophosphate (còn được gọi là con đường phosphogluconate) là một trật tự phản ứng xảy ra trong tế bào song song với glycolis, bao gồm 2 phản ứng oxi hóa – khử và 9 phản ứng chuyển hóa tương hỗ giữa các ester phosphate của triose, tetrose, pentose, hexose và heptose (hình IX.7).

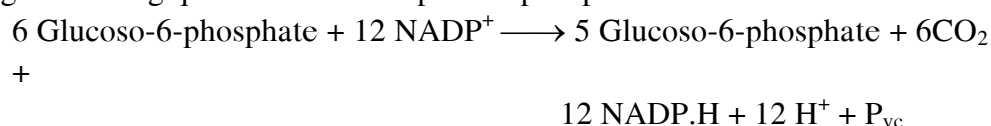
Dehydrogen hóa và decarboxyl hóa 6 phân tử glucoso-6-phosphate tạo ra 6 phân tử pentoso-5-phosphate. Những phân tử pentosophosphate này trải qua các phản ứng chuyển hóa tương hỗ do các enzyme transetolase, transaldolase aldolase, isomerase và epimerase xúc tác. Sản phẩm trung gian là các ester phosphate của monose chứa từ 3 đến 7 nguyên tử carbon. Những ester này tạo ra 4 phân tử fructoso-6-phosphate và 2 phân tử glyceralde-hyde-3-phosphate. Hai phân tử này sẽ ngưng tụ để tạo ra phân tử fructoso-6-phosphate thứ 5 hoặc tiếp tục bị phân giải theo các phản ứng glycolis. Các phân tử fructoso-6-phosphate sẽ được đồng phân hóa thành glucoso-6-phosphate và gia nhập vào vốn glucoso-6-phosphate chung của tế bào. Vốn này có thể được sử dụng cho các phản ứng glycolis hoặc các phản ứng của chu trình pentosophosphate.



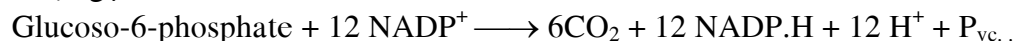
Hình IX.7. Chu trình pentosophosphate

1. Glucoso-6-phosphatye dehydrogenase; 2. 6-phosphogluconate dehydrogenase; 3. Phosphopentoeipimerase; 4. Phoaphopentoisomerase; 5,7. Transcetolase; 6. Transaldollase; 8. Triosphosphate isomerase; 9. Aldolase; 10. Fructodiphosphatase; 11. Phosphoglucoisomerase.

Phương trình tổng quát của chu trình pentosophosphate là:



Hoặc gọn hơn:



Tuy nhiên, theo con đường này glucose thường không bị oxy hoá hoàn toàn thành CO₂. Các phản ứng của chu trình này không thể được sử dụng làm nguồn năng lượng. Do xảy ra trong tế bào chất nên oxy hóa NADP.H (vốn hình thành trong chu trình) không thể tạo ra ATP một cách trực tiếp như những phân tử NAD.H và FAD.H₂ trong ty thể. Chức năng chủ yếu của chu trình pentosophosphate là tạo ra NADP.H để cung cấp cho các phản ứng khử của các quá trình sinh tổng hợp. Nó còn là nguồn cung cấp riboso-5-phosphate để tổng hợp nucleotide, acid nucleic và nguồn erytroso-4-phosphate để tổng hợp các aminoacid vòng thơm trong các cơ thể tự dưỡng.

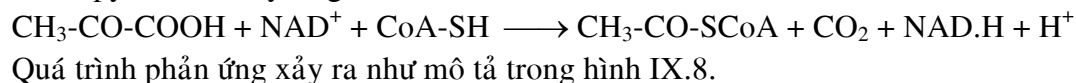
Nếu không được dùng cho các mục đích sinh tổng hợp, các chất trao đổi trung gian của chu trình sẽ được chuyển hóa thành glyceraldehyde-3-phosphate và fructoso-6-phosphate để tham gia quá trình glycolis.

Theo hướng ngược lại, một số phản ứng của chu trình pentosophosphate được dùng để cố định CO₂ trong quang hợp.

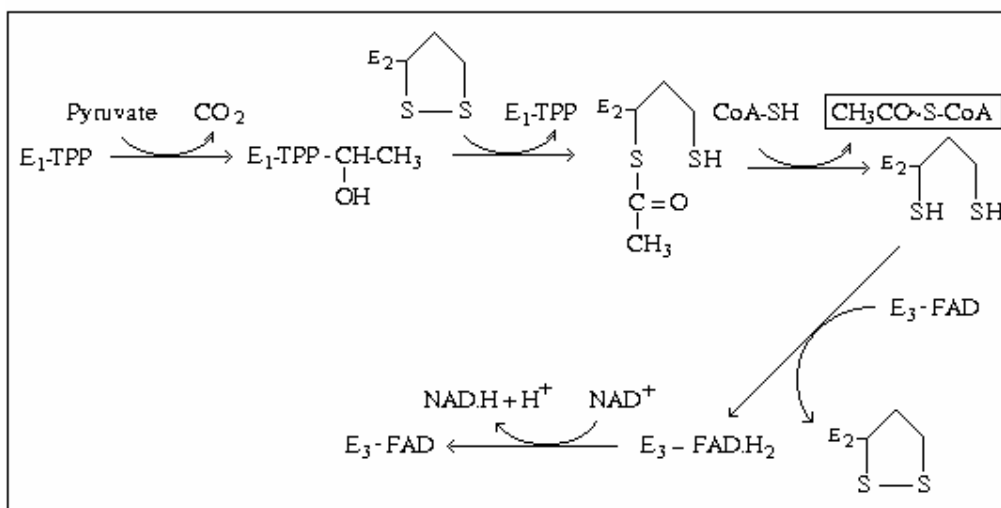
VIII. OXY HÓA HIẾU KHÍ GLUCID.

1. Decarboxyl hóa oxy hóa acid pyruvic.

Ở sinh vật hiếu khí quá trình dị hóa glucid thường được chia làm hai giai đoạn: giai đoạn kỵ khí (glycolis) với sự hình thành acid pyruvic và giai đoạn hiếu khí, trong đó acid pyruvic sẽ bị oxy hóa hoàn toàn thành CO₂ và H₂O. Phản ứng đầu tiên của giai đoạn sau là decarboxyl hóa oxy hóa acid pyruvic thành acetylcoenzyme A với sự xúc tác của pyruvate dehydrogenase:



Pyruvatedehydrogenase là một hệ thống enzyme phức tạp gồm 3 enzyme và 5 coenzyme coenzyme tập hợp lại thành một cơ cấu thống nhất, trong đó mỗi enzyme và coenzyme thực hiện một chức năng xác định. Hoạt tính của của hệ thống enzyme này bị ức chế khi hàm lượng ATP trong tế bào vượt quá giới hạn nhất định. Có nghĩa là Pyruvatede-hydrogenase là một enzyme điều hòa. Nó đóng vai trò quan trọng trong việc chi phối hoạt động của chu trình acid tricarboxylic và của các quá trình liên quan khác.

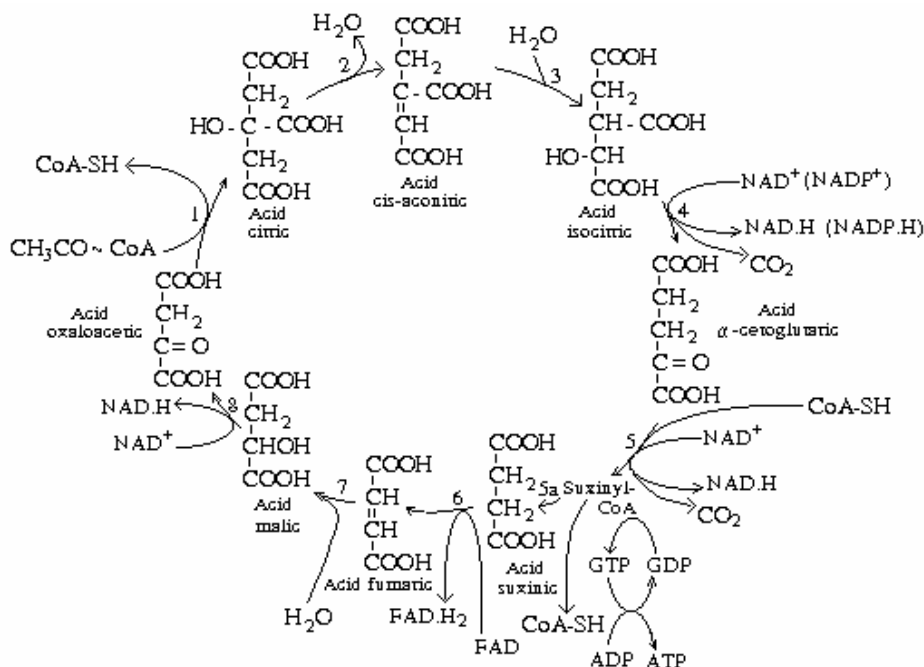


Hình IX.8. Sơ đồ các giai đoạn của phản ứng decarboxyl hóa oxy hóa acid pyruvic.

E1: Pyruvate decarboxylase có coenzyme là thiamine pyrophosphate (TPP). E2-dihydrolipoyltransacetylase có coenzyme là acid lipoic;
E3:Dihydrolipoyldehydrogenase có coenzyme là FAD.

2. Chu trình acid tricarboxylic (Chu trình Krebs)

Acetylcoenzyme A tiếp tục bị oxy hóa thành khí carbonic theo một cơ chế có tên là chu trình acid tricarboxylic hay chu trình Krebs (hình IX.9).



Hình IX.9. Chu trình acid tricarboxylic. 1: Citrate syntase; 2,3: Aconitase; 4: Isocitrate dehydrogenase; 5: Cetoglutarate dehydrogenase; 5a: Succinate thiokinase; 6: Succinate dehydrogenase; 7: Fumarase; 8: Malate dehydrogenase.

Citrate syntase, isocitrate dehydrogenase và fumarase là những enzyme mang tính chất của enzyme điều hòa. Hoạt tính của chúng góp phần chi phối tốc độ của chu trình. Hoạt tính của những enzyme này bị ức chế bởi ATP và NAD.H. Tuy nhiên, về phương diện này isocitrate dehydrogenase có vai trò quan trọng hơn cả. Khi hàm lượng ADP trong tế bào tăng lên, tốc độ oxy hóa isocitrate tự động tăng, làm tăng tốc độ của toàn bộ chu trình. Ngược lại, khi tăng tốc độ của chu trình, hàm lượng ATP trong tế bào tăng lên, làm cho hoạt động của isocitrate dehydrogenase bị ức chế. Sự tích lũy NAD.H trong ty thể cũng có tác dụng tương tự.

Đáng lưu ý hơn cả về phương diện tích lũy năng lượng là phản ứng α -cetoglutarate dehydrogenase. Phức hệ enzyme này rất giống với hệ thống pyruvate dehydrogenase. Hoạt động của nó cũng đòi hỏi các coenzyme TPP, acid folic, CoA-SH, NAD⁺ và FAD. Với sự tham gia của những coenzyme này α -cetoglutarate bị oxy hóa thành suxinyl-coenzyme A. Suxinyl-coenzyme A là một tioester cao năng. Ở giai đoạn kế tiếp năng lượng tích lũy trong nó được dùng để tổng hợp GTP từ GDP và P_{vc} nhờ sự xúc tác của enzyme suxinyl thiokinase (suxinyl-CoA-synthetase). GTP sau đó nhường gốc phosphate tận cùng cho ADP để tạo ra phân tử ATP.

Kiểu tổng hợp ATP này thường được gọi là *phosphoryl hóa oxy hóa ở mức độ cơ chất* để phân biệt với các phản ứng phosphoryl hóa oxy hóa trong chuỗi hô hấp (mục IX).

Toàn bộ các enzyme của chu trình acid tricarboxylic cũng như các enzyme của chuỗi vận chuyển điện tử đến oxy phân tử đều định vị trong ty thể – cấu trúc được mệnh danh là “*Trạm năng lượng của tế bào*”. Một số enzyme của chu trình này cũng có mặt trong phân đoạn hòa tan của tế bào chất, tuy nhiên chúng tác dụng lên các con đường trao đổi chất khác.

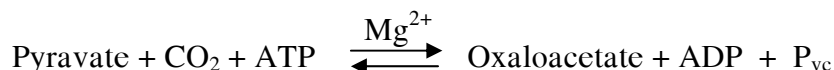
3. Ý nghĩa của chu trình acid tricarboxylic.

Qua hình IV.9 ta thấy rằng một vòng của chu trình dung nạp một phân tử acetyl-CoA và oxy hóa chất này thành hai phân tử CO₂, đồng thời tạo ra một phân tử ATP và 4 coenzyme ở dạng khử (3 NAD.H và 1 FAD.H₂). Những phân tử coenzyme này sẽ tạo ra số năng lượng đáng kể khi bị oxy hóa trong chuỗi hô hấp.

Như vậy, các phản ứng của chu trình acid tricarboxilic là nguồn cung cấp năng lượng quan trọng của tế bào. Tuy nhiên nó còn liên quan cả với các quá trình đồng hóa với tư cách là nguồn cung cấp nguyên liệu và năng lượng cho hàng loạt các phản ứng sinh tổng hợp. Một số sản phẩm trung gian của chu trình nhờ những phản ứng liên hệ được dùng để tổng hợp glucose, acid béo aminoacid và nhiều hợp chất khác. Phần lớn những phản ứng này có tính thuận nghịch nên chúng cũng được sử dụng để tạo ra các sản phẩm trung gian của chu trình từ những hợp chất không phải glucid. Do đặc điểm này chu trình acid tricarboxilic được xem là *trung tâm của trao đổi chất tế bào*.

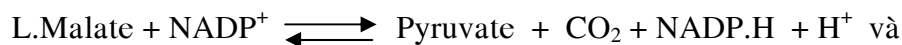
4. Các phản ứng bù đắp.

Thông thường, nồng độ của các sản phẩm trung gian của chu trình acid tricarboxilic trong ty thể được giữ ở mức rất ổn định. Trong việc giữ thế ổn định này ngoài vai trò của các enzyme điều hòa như pyruvate dehydrogenase isocitrate dehydrogenase v.v... còn có sự tham gia của những phản ứng enzyme đặc biệt chuyên làm nhiệm vụ bổ sung nguồn dự trữ các sản phẩm trung gian của chu trình mà người ta gọi là những *phản ứng bù đắp*. Trong số các phản ứng loại này quan trọng nhất là phản ứng carboxyl hóa acid pyruvic thành acid oxaloacetic do enzyme pyruvate carboxylase xúc tác:



Khi chu trình hoạt động trong điều kiện thiếu oxaloacetate hoặc thiếu các sản phẩm trung gian khác, phản ứng này được kích thích làm cho nguồn dự trữ oxaloacetate tăng lên. Pyruvate carboxylase là một enzyme điều hòa. Tốc độ của phản ứng thuận tăng lên đáng kể khi trong tế bào có dư acetyl-CoA; ngược lại, khi thiếu acetyl-CoA, tốc độ của phản ứng rất thấp. Trong gan và thận của động vật bậc cao đây là phản ứng bù đắp quan trọng nhất.

Ở những mô khác chức năng bù đắp được thực hiện bởi malico-enzyme (malate dehydrogenase) và phosphoenolpyruvate carboxylase xúc tác các phản ứng tương ứng sau đây:



Ở thực vật và vi sinh vật chức năng bù đắp còn được thực hiện bởi chu trình glyoxylate (chương 5).

IX. PHOSPHORYL HÓA OXY HÓA.

Trong trật tự các phản ứng dị hóa glucose mà ta đã xem xét trên đây có 4 phân tử ATP được hình thành trong các phản ứng liên hợp với các phản ứng oxy hóa aldehyde 3-phosphoglyceric và acid α -cetoglutaric. Số phân tử ATP này mới chỉ là một phần nhỏ năng lượng sản sinh trong toàn bộ quá trình phân hủy một phân tử

glucose thành khí carbonic và nước. Số năng lượng còn lại một phần được giải phóng ở dạng nhiệt vốn cần để thúc đẩy quá trình phản ứng, một phần khác được tích lũy trong các coenzyme khử NAD.H và FAD.H₂ vốn có thế khử tiêu chuẩn rất cao và do đó là những hợp chất rất giàu năng lượng. Như ta đã thấy, có tất cả 12 phân tử thuộc loại này được hình thành khi phân hủy một phân tử glucose, bao gồm 2 NAD.H trong glycolis, 2 NAD.H trong phản ứng decarboxyl hóa oxy hóa acid pyruvic thành acetyl-CoA và 6 NAD.H cùng 2 FAD.H₂ trong chu trình acid tricarboxylic.

Trong điều kiện hiếu khí những hợp chất giàu năng lượng này sẽ chuyển điện tử của mình cho oxy không khí để khôi phục lại trạng thái oxy hóa NAD⁺ và FAD. Tuy nhiên, oxy không trực tiếp nhận điện tử từ các coenzyme khử. Các điện tử cùng với proton vốn gắn liền với chúng được đưa đến chất nhận cuối cùng qua một chuỗi chất vận chuyển trung gian định vị trên màng trong của ty thể, có tên gọi là **chuỗi hô hấp**. Năng lượng giải phóng trong quá trình vận chuyển điện tử này sau đó được hệ enzyme ATP-ase cũng định vị trên màng trong của ty thể dùng để tổng hợp ATP trong quá trình phosphoryl hóa oxy hóa.

Sự hiểu biết của con người hiện nay về phosphoryl hóa oxy hóa (và cả phosphoryl hóa quang hợp) dựa trên giả thuyết hóa thẩm thấu do Peter Mitchell đề xuất năm 1961, theo đó hiệu số nồng độ proton giữa hai phía của màng trong của ty thể (và màng thylacoid của lục lạp) là động lực quan trọng cho quá trình sinh tổng hợp ATP từ ADP và P_{vc}.

Có 3 điểm giống nhau cơ bản giữa phosphoryl hóa oxy hóa và phosphoryl hóa quang hợp:

1/ Cả hai quá trình đều gắn với dòng điện tử xuyên qua một chuỗi các chất vận chuyển trung gian ở dạng khử gắn với màng, bao gồm các hợp chất quinone, cytochrome và các protein chứa sắt – lưu huỳnh;

2/ Năng lượng tự do giải phóng do dòng điện tử “đi xuống” gắn liền với sự vận chuyển proton “đi lên” xuyên qua hệ thống màng không thấm đối với proton. Sự phối hợp này giúp tích lũy một phần năng lượng ở dạng *thế điện hóa xuyên màng*;

3/ Dòng proton xuyên màng theo chiều giảm nồng độ của chúng xảy ra xuyên qua các kênh đặc hiệu, dẫn đến sự cung cấp năng lượng cho sinh tổng hợp ATP.

Trong mục này chúng ta xem xét trước quá trình phosphoryl hóa oxy hóa, bắt đầu bằng sự mô tả các thành phần của chuỗi vận chuyển điện tử trên màng trong của ty thể, trật tự các chất vận chuyển được tổ chức thành các phức hệ chức năng để hoạt động, đồng thời, sẽ xét tới cơ chế hoá thẩm thấu mà nhờ đó sự vận chuyển điện tử trong chuỗi hô hấp dẫn đến sinh tổng hợp ATP.

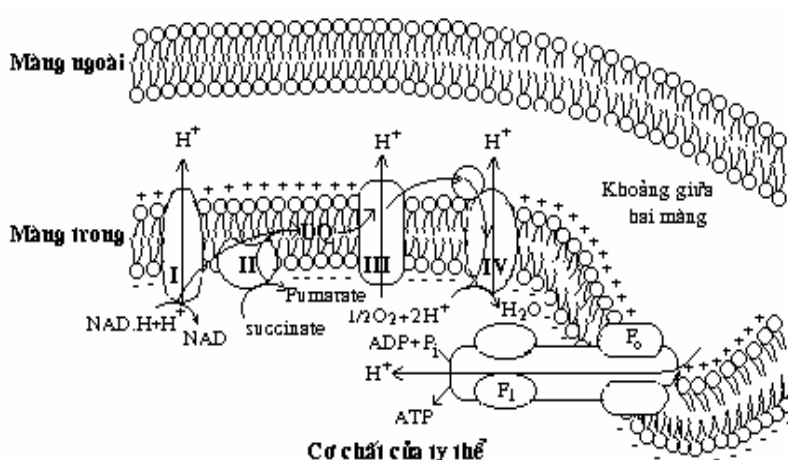
Ty thể được phân cách các cơ quan tử khác của tế bào bởi lớp màng kép. Màng ngoài cho phép các phân tử nhỏ và các ion xuyên qua. Các kênh xuyên màng cấu tạo từ protein cho phép phần lớn các phân tử với M < 5000 qua lại dễ dàng. Trong khi đó màng trong không xuyên thấm đối với phần lớn các phân tử nhỏ và ion, kể cả ion H⁺.

Trên màng này định vị các thành phần của chuỗi hô hấp và phức hệ enzyme làm nhiệm vụ tổng hợp ATP.

Trong thành phần của chuỗi hô hấp ngoài NAD và các flavoprotein còn có 3 nhóm vận chuyển điện tử khác. Đó là benzoquinone kỵ nước (ubiquinone) và hai nhóm protein chứa sắt là các cytochrome và Fe-S-protein.

Trong tất cả các phản ứng xảy ra trên chuỗi hô hấp các điện tử di chuyển từ NAD.H, succinate hoặc một số chất cho điện tử sơ cấp khác, xuyên qua các flavoprotein, ubiquinone Fe-S-protein và các cytochrome để cuối cùng đến với O₂ (hình IX.10).

Dựa vào thế khử của chúng có thể sắp xếp các chất vận chuyển theo trật tự: NAD.H, UQ, cytochrome b, cytochrome c₁, cytochrome c, cytochrome a+a₃.



Hình IX.10. Sơ đồ mô tả chuỗi hô hấp và hoạt động của quá trình phosphoryl hóa oxy hóa.

Xử lý nhẹ màng trong của ty thể bằng chất tẩy rửa, cho phép phát hiện 4 phức hệ vận chuyển điện tử, mỗi phức hệ có thành phần rất đặc trưng (bảng IX.1). Mỗi phức hệ có khả năng xúc tác vận chuyển điện tử

qua một khu vực của chuỗi hô hấp.

Các phức hệ I và II xúc tác vận chuyển điện tử đến ubiquinone từ hai chất cho khác nhau là NAD.H (phức hệ I) và succinate (phức hệ II). Phức hệ III vận chuyển điện tử từ ubiquinone đến cytochrome c, còn phức hệ IV tiếp tục vận chuyển điện tử từ cytochrome c đến O₂.

Bảng IX.1. Thành phần protein của chuỗi vận chuyển điện tử trong ty thể

Phức hệ enzyme	Khối lượng (kDa)	Số lượng phân dimer đơn vị	Các nhóm thêm
I. NAD.H-dehydrogenase	850	> 25	FMN, Fe-S
II. Succinate dehydrogenase	140	4	FAD, Fe-S

III. Ubiquinone, cytochrome c-oxydoreductase	250	10	Heme, Fe-S
Cytochrome c	13	1	Heme
IV. Cytochrome c oxydase	160	6-13	Heme, Cu _A , Cu _B

Ngoài 4 phức hệ trên, trên màng trong của ty thể còn có hệ enzyme sinh tổng hợp ATP, ký hiệu là phức hệ F₀F₁, hay đôi khi còn được gọi là phức hệ V.

Qua hình IX.10 ta có thể thấy rõ các điện tử đạt đến UQ qua các phức hệ I và II. UQ.H₂ làm nhiệm vụ như một chất vận chuyển linh động đối với điện tử và proton. Nó chuyển điện tử cho phức hệ III để sau đó phức hệ III chuyển tiếp cho cytochrome c. Phức hệ IV chuyển điện tử từ cytochrome c đến O₂. Dòng điện tử xuyên qua các phức hệ I, III và IV kèm theo dòng proton từ cơ chất của ty thể đi ra khoảng không gian giữa 2 màng tạo ra gradient proton xuyên màng – động lực để hệ enzyme ATP-ase sử dụng trong việc sinh tổng hợp ATP sau đó.

Như vậy, nhờ hoạt động của chuỗi hô hấp mà toàn bộ năng lượng tích lũy trong các coenzyme khử NAD.H và FAD.H₂ đã được giải phóng. Phần lớn số năng lượng đó, như ta đã thấy, đã chuyển hóa thành năng lượng của gradient proton giữa hai phía của màng trong của ty thể. Gradient này hình thành được là nhờ tính không xuyên thấm của ion H⁺ qua màng này. Ngăn trong bị mất H⁺ sẽ tính điện âm, còn ngăn ngoài có nhiều ion H⁺ nên tích điện dương. Kết quả xuất hiện một hiệu số điện thế. Phức hệ F₀F₁ là nơi duy nhất cho phép ion H⁺ quay ngược từ ngăn ngoài vào ngăn trong. Khi dòng điện (ở đây là dòng H⁺ chứ không phải là dòng e⁻) chạy qua, phức hệ này sẽ được cấp năng lượng để tổng hợp ATP từ ADP và P_{vc}. Như vậy, nhờ có sự hòa hợp giữa phức hệ F₀F₁ với chuỗi hô hấp mà năng lượng giải phóng trong các phản ứng oxy hóa NAD.H và FAD.H₂ có thể được dùng để tổng hợp ATP. Vì thế kiểu tổng hợp ATP này được gọi là phosphoryl hóa oxy hóa trong chuỗi hô hấp.

Ngoài tác dụng làm nguồn năng lượng trực tiếp để tổng hợp ATP, gradient proton còn được sử dụng để bơm các phân tử ATP từ trong cơ chất của ty thể ra tế bào chất.

Trên cơ sở mức chênh lệch năng lượng giữa NAD.H, FAD.H₂ với dạng oxy hóa tương ứng (NAD⁺ và FAD) người ta cho rằng khi nhường điện tử của mình cho oxy phân tử qua chuỗi hô hấp cho phép tạo ra 3 ATP từ NAD.H và 2 ATP từ FAD.H₂. Riêng các phân tử NAD.H hình thành trong quá trình glycolis vốn xảy ra trong tế bào chất chỉ cho phép tạo ra số phân tử ATP tương đương với FAD.H₂ trong ty thể. Đó là do kết quả của một cơ chế vận chuyển các đường lượng khử từ tế bào chất vào ty thể có tên là cơ chế con thoi glycerophosphate. Theo cơ chế này NAD.H của tế bào chất được dùng để khử dioxyacetone phosphate thành glycerophosphate. Sau đó glycerophosphate đi vào ty thể. Tại đó với sự tham gia của FAD nó bị oxy hóa ngược lại thành dioxyacetone phosphate, còn FAD bị khử thành FAD.H₂. Cả hai phản ứng

đều được xúc tác bởi glycerophosphate dehydrogenase nhưng với sự tham gia của hai coenzyme khác nhau. Kết quả là các đường lượng khử trong tế bào chất ở dạng NAD.H được chuyển vào ty thể ở dạng FAD.H₂.

Nhờ hoạt động của chuỗi hô hấp liên hợp với phức hệ F₀F₁ mà năng lượng tự do giải phóng từ một phân tử glucose trong quá trình glycolis có thể dẫn đến sự hình thành thêm 4 phân tử ATP, nâng tổng số ATP của giai đoạn này lên 6 phân tử. Trong khi đó ở giai đoạn hiếu khí tiếp theo ngoài 2 ATP xuất hiện trực tiếp trong chu trình acid tricarboxylic còn hình thành thêm (6x3) + (2x2) = 28 phân tử ATP nữa. Do đó khi oxy hóa hoàn toàn một phân tử glucose thành khí carbonic và nước tạo ra được 36 phân tử ATP, trong đó 6 phân tử ở giai đoạn kỵ khí và 30 phân tử ở giai đoạn hiếu khí. Trong mỗi phân tử ATP tích lũy 7,3 Kcal. Như vậy trong 36 phân tử ATP tích lũy được 7,3 x 36 = 263 Kcal.

Trong khi đó biến thiên năng lượng tự do của phản ứng C₆H₁₂O₆ + 6O₂ → 6CO₂ + 6H₂O là 686 Kcal. Từ đó ta có thể thấy rõ hiệu suất tích lũy năng lượng của phản ứng này là 263 x 100 / 686 = 38%.

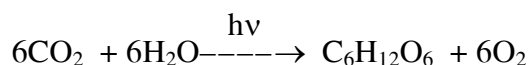
X. QUANG HỢP

1. Phương trình tổng quát của quang hợp.

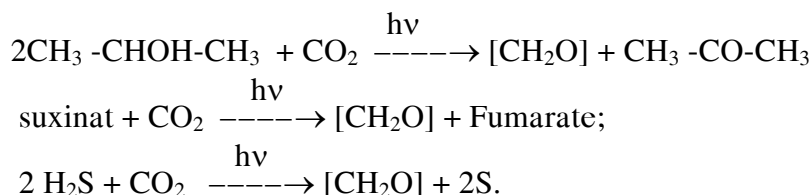
Mọi cơ thể sống chỉ tồn tại khi được liên tục cung cấp năng lượng từ bên ngoài. Dạng năng lượng duy nhất mà cơ thể sống có thể sử dụng được để thực hiện công là năng lượng hóa học. Nguồn năng lượng này được khai thác từ hai hướng: năng lượng hóa học của các hợp chất vô cơ (hướng trái đất) và năng lượng ánh sáng (hướng vũ trụ). Quang hợp chính là quá trình biến đổi năng lượng ánh sáng thành năng lượng hóa học dưới dạng các hợp chất hữu cơ, được thực hiện bởi các cơ thể và tế bào có chứa chất diệp lục.

Theo các định luật của nhiệt động học, mọi phản ứng tự phát đều kèm theo giảm năng lượng tự do và tăng entropy của hệ thống, có nghĩa là làm cho hệ thống trở nên mất trật tự. Tính tổ chức của một hệ thống chỉ có thể được nâng cao khi nó được cung cấp thêm năng lượng, tạo điều kiện để phản ứng có thể xảy ra ngược với gradient nhiệt động học. Nhờ có quang hợp mà năng lượng ánh sáng được chuyển hóa thành năng lượng hóa học ở dạng dễ sử dụng để cung cấp cho các phản ứng cần sử dụng năng lượng nhằm tạo lập, duy trì và nâng cao tính tổ chức của tế bào và cơ thể.

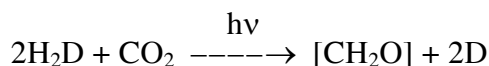
Sau khi năng lượng ánh sáng đã được các phân tử diệp lục (chlorophyll) hấp thụ và biến đổi thành năng lượng hóa học, nó sẽ được dùng để khử CO₂ thành các hợp chất hữu cơ, mà chủ yếu là glucose. Vì vậy, phương trình tổng quát của quang hợp có thể viết dưới dạng:



Tuy nhiên, không phải quá trình quang hợp nào cũng giải phóng oxy. Một số vi khuẩn quang hợp không dùng nước mà dùng một số hợp chất khác để làm chất cho điện tử trong quá trình quang hợp. Vì vậy quang hợp ở những cơ thể này không giải phóng oxy. Ví dụ:



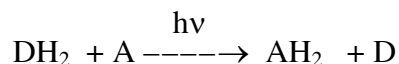
Thông qua các phương trình trên, có thể viết phương trình quang hợp ở dạng khái quát hơn như sau:



trong đó DH_2 là chất cho điện tử, còn D là dạng oxy-hóa của nó.

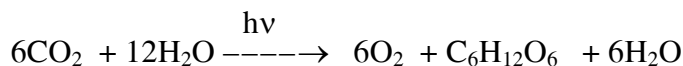
Mặt khác, trong các loại tế bào quang hợp khác nhau, tuy chất nhận điện tử (A) chủ yếu là CO_2 , nhưng trong một số trường hợp A có thể là các hợp chất khác, ví dụ ở thực vật bậc cao A có thể là nitrate, ở vi sinh vật A có thể là N_2 . Thậm chí một số cơ thể quang hợp có thể sử dụng cả H^+ làm chất nhận điện tử. Trong trường hợp này H^+ sẽ bị khử thành H_2 .

Như vậy, có thể viết phân tử quang hợp ở dạng chung nhất như sau:



Dù quá trình quang hợp xảy ra với sự tham gia của bất kỳ chất cho và chất nhận điện tử nào, dòng điện tử từ chất cho đến chất nhận hình thành dưới tác dụng của ánh sáng mặt trời bao giờ cũng có hướng ngược lại với hướng bình thường của gradient thế khử tiêu chuẩn đặc trưng cho hệ thống chất nhận - chất cho đó, tức hướng về phía có giá trị âm của thế khử tiêu chuẩn cao hơn. Bằng cách đó năng lượng ánh sáng được tích lũy lại trong phân tử chất nhận ở dạng thế oxy-hóa khử.

Các nghiên cứu chi tiết quá trình quang hợp cho thấy rằng để tổng hợp một phân tử glucose cần sử dụng 12 phân tử nước, và trong số sản phẩm, cần phải kể đến 6 phân tử nước khác với 12 phân tử nước đã sử dụng. Vì vậy, phương trình tổng quát đầy đủ của quá trình quang hợp ở thực vật bậc cao cần phải viết dưới dạng:

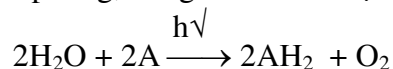


Biến thiên năng lượng tự do tiêu chuẩn (ΔG^0) của phản ứng trên đây bằng - 1300 KCal/mol. Vì năng lượng tích lũy trong phân tử glucose là 686 KCal/mol, nên để tích lũy được số năng lượng này tế bào quang hợp cần phải thu nhận khoảng 1800KCal/mol năng lượng ánh sáng.

2. Khái niệm về tích chất hai giai đoạn của quang hợp.

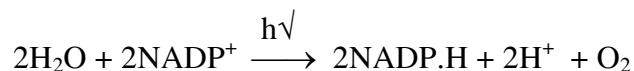
Trên cơ sở thực nghiệm người ta đã xác định được rằng quá trình quang hợp bao gồm hai loại phản ứng: phản ứng sáng liên quan trực tiếp với việc sử dụng năng lượng

ánh sáng, và phản ứng tối, trong đó CO₂ bị khử thành các hợp chất hữu cơ. Khái niệm về tính hai pha của quang hợp được đúc rút từ kết quả thí nghiệm của Hill (1937). Bằng cách chiếu sáng chế phẩm phi tế bào chứa chlorophyll thu được từ tế bào quang hợp trong điều kiện tồn tại chất nhận điện tử nhân tạo, ví dụ kali ferricyanate (A), oxy phân tử sẽ được giải phóng, đồng thời chất nhận điện tử bị khử theo phương trình:



Điều đặc biệt quan trọng là phản ứng không đòi hỏi sự tham gia của CO₂. Như vậy, Hill đã cho thấy khả năng tách quá trình giải phóng O₂ ra khỏi quá trình khử CO₂.

Phản ứng trên đây ngày nay được gọi là phản ứng Hill, còn chất A được gọi là thuốc thử Hill. Người ta cũng đã phát hiện được rằng thuốc thử Hill trong tế bào là NADP⁺. Trong điều kiện lục lạp được chiếu sáng, nó sẽ nhận điện tử để bị khử thành NADP.H, đồng thời giải phóng oxy phân tử. Như vậy, phản ứng Hill trong tế bào có dạng:



Trên cơ sở của phản ứng này người ta cho rằng một trong những sản phẩm cuối cùng của pha sáng là một tác nhân khử nào đó (có thể là NADP.H) mà sau đó trong pha tối sẽ được sử dụng để khử CO₂.

Khái niệm về tính chất hai pha của quang hợp được tiếp tục củng cố nhờ Arnon phát hiện quá trình phosphoryl-hóa quang hợp năm 1954. Ông nhận thấy rằng khi chiếu sáng lục lạp trong điều kiện có mặt ADP và phosphate vô cơ thì ATP sẽ được tổng hợp mà cũng không cần có sự tham gia của CO₂.

Trên cơ sở của các thí nghiệm nói trên người ta đi đến kết luận rằng ở giai đoạn đầu của quá trình quang hợp năng lượng ánh sáng không những được dùng để khử NADP⁺ mà còn có tác dụng thực hiện phản ứng phosphoryl-hóa ADP thành ATP. NADP.H và ATP hình thành ở pha sáng sẽ được sử dụng trong pha tối để khử CO₂ và các chất nhận điện tử khác.

3. Vai trò của năng lượng ánh sáng đối với quang hợp.

Pha sáng của quang hợp bao gồm hai quá trình liên quan mật thiết với nhau: vận chuyển điện tử và phosphoryl-hóa. Mỗi quan hệ này tương tự như mỗi quan hệ giữa các quá trình xảy ra trên màng ty thể. Sự khác biệt ở đây là ở chỗ dòng điện tử chuyển ngược với gradient thế khử tiêu chuẩn. Sở dĩ có dòng điện tử ngược này là nhờ khả năng của chlorophyll hấp thụ năng lượng ánh sáng.

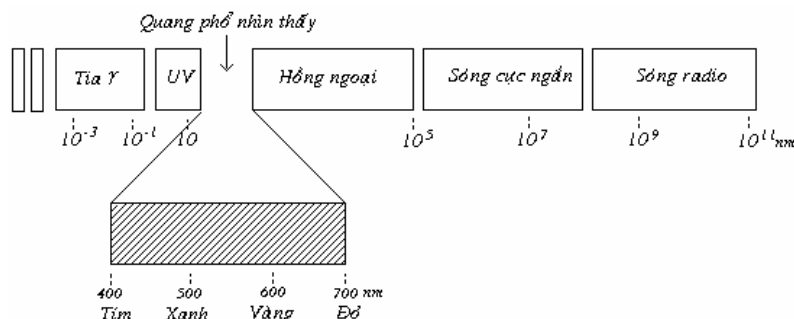
a/ Ánh sáng và chlorophyll.

Ánh sáng chỉ bao gồm một phần nhỏ của quang phổ bức xạ điện từ (hình IX.11). Mỗi loại bức xạ được đặc trưng bởi bước sóng và sức chứa năng lượng. Hai đặc trưng này có tương quan nghịch với nhau: bước sóng càng dài sức chứa năng lượng càng nhỏ. Trong phạm vi một dải hẹp mà mắt người nhìn thấy được các sóng ánh sáng ngắn nhất gây cảm giác màu tím và dài nhất - màu đỏ.

Phần lớn năng lượng mặt trời được bức xạ ở dạng photon (lượng tử). Năng lượng của photon được tính bằng công thức:

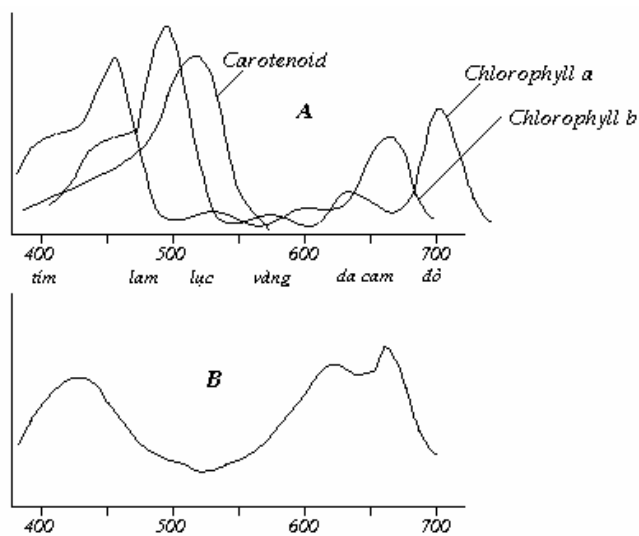
$$E = Nh\nu = Nh \frac{C}{\lambda} = \frac{286.000}{\lambda} \text{ KCal}$$

trong đó E là năng lượng tính bằng KCal của một "mol photon", hay một enstein; N là số Avogadro (bằng $6,023 \cdot 10^{23}$); ν là tần số (số dao động của sóng điện từ trong 1 giây); h là hằng số Plank (bằng $1,58 \times 10^{-34}$ Calo/s; C là tốc độ ánh sáng (bằng $3 \cdot 10^{10}$ cm/s); λ là bước sóng ánh sáng đo bằng Å.



Hình IX.11 Các bộ phận của quang phổ điện từ

Từ công thức trên có thể tính được năng lượng trung bình của các tia sáng nhìn thấy như sau: tia đỏ: 40,86KCal/enstein; tia vàng: 47,67 KCal/enstein; tia xanh: 57,20 KCal/enstein và tia tím: 71,50 KCal/enstein.

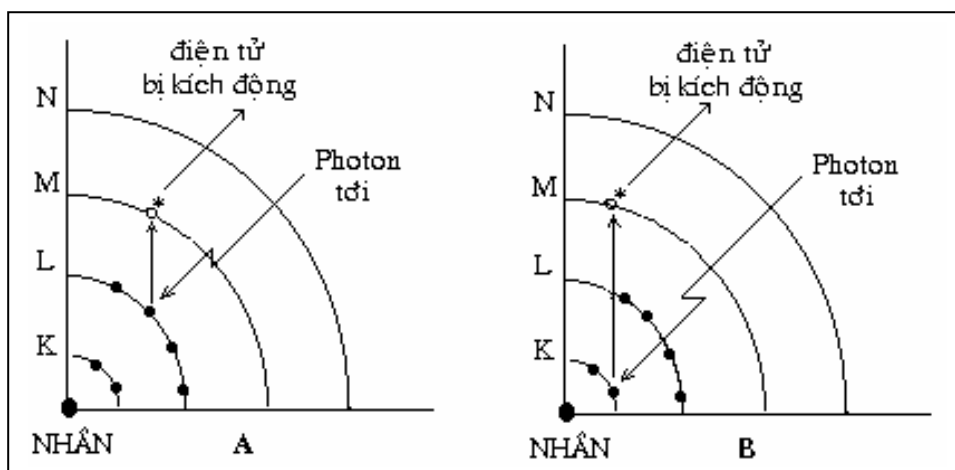


HÌNH IX.12. QUANG PHỔ HẤP THỤ (A) VÀ QUANG PHỔ HOẠT ĐỘNG (B) CỦA

Khả năng của tế bào quang hợp sử dụng ánh sáng với loại bước sóng nào là phụ thuộc vào sự có mặt của các sắc tố quang hợp. Trong số các sắc tố quang hợp này quan trọng nhất là chlorophyll. Bằng cách xác định quang phổ hấp thụ có thể biết mỗi loại sắc tố quang hợp hấp thụ nhiều nhất những tia nào. Hình IX.12A giới thiệu quang phổ hấp thụ của chlorophyll

a, chlorophyll b và carote-noid. Ta có thể thấy rõ chlorophyll a hấp thụ chủ yếu các tia với các bước sóng tím, lam và đỏ. Các tia lục, vàng và da cam chỉ được chlorophyll a hấp thụ rất ít. Một số vùng của quang phổ mặc dù được chlorophyll hấp thụ rất ít, nhưng vẫn có hiệu lực khá cao đối với quang hợp, làm cho phổ hoạt động của quang hợp được mở rộng (hình IX.12B). Đó là do các tia tại những vùng quang phổ này được các sắc tố khác hấp thụ (carotenoid và các dạng chlorophyll khác) và chuyển năng lượng cho chlorophyll a. Những sắc tố phụ trợ này đã làm cho thực vật sử dụng ánh sáng với bước sóng đa dạng hơn là những tia chỉ được chlorophyll hấp thụ.

Trong lục lạp của tế bào quang hợp ở cây xanh chlorophyll và các sắc tố quang hợp phụ trợ được sắp xếp thành nhóm chức năng gọi là các đơn vị quang hợp. Mỗi đơn vị quang hợp chứa khoảng 300 phân tử sắc tố bao gồm chlorophyll a, chlorophyll b, carotenoid v.v... Trong số các phân tử sắc tố này của mỗi đơn vị quang hợp có một phân tử sắc tố khác biệt với tất cả các phân tử còn lại. Đó là một dạng đặc biệt của chlorophyll a hoạt động như một trung tâm phản ứng. Các phân tử sắc tố khác hoạt động như những anten thu nhận năng lượng ánh sáng.



HÌNH IX.13. SƠ ĐỒ MÔ TẢ CÁC MỨC ĐỘ KÍCH ĐỘNG ĐIỆN TỬ KHÁC NHAU TRONG PHÂN TỬ

Khi một photon tác động lên một phân tử chlorophyll và được hấp thụ, năng lượng của nó được chuyển cho một điện tử của phân tử sắc tố, làm cho điện tử bị kích động này chuyển lên mức năng lượng cao hơn và tương đối không ổn định (hình IV.13). Không phải photon nào cũng làm được việc này, bởi vì các điện tử có những mức năng lượng xác định. Photon cần phải có đủ năng lượng mới có thể kích động điện tử của sắc tố từ trạng thái cơ bản lên một mức năng lượng cao hơn nào đó. Các photon này còn được gọi là exciton. Không phải mọi điện tử đều đòi hỏi một giá trị năng lượng như nhau để được nâng lên mức kích động. Ví dụ, một điện tử từ mức độ cơ bản thấp hơn (hình IX.13B) cũng có thể bị kích động lên cùng mức năng lượng M (như trong hình IX.13A) nhờ một photon với năng lượng tương ứng để sau đó tham gia vào quá trình quang hợp. Photon giàu năng lượng hơn và bước sóng ngắn hơn này

đại diện cho vùng tím-lam của quang phổ hấp thụ, trong khi photon nghèo năng lượng hơn trong trường hợp A đại diện cho vùng đỏ.

Điện tử bị kích động, và do đó không bền, sẽ tự quay về trạng thái cơ bản của nó hầu như ngay tức khắc và giải phóng năng lượng hấp thụ được. Chlorophyll chiết xuất trong ống nghiệm nhanh chóng để mất năng lượng mà nó chiếm giữ được bằng cách phát lại ở dạng ánh sáng huỳnh quang. Đó là vì các phân tử chlorophyll tách biệt khỏi đơn vị quang hợp không còn khả năng biến hóa năng lượng ánh sáng thành năng lượng hóa học. Nhưng trong lục lạp, khi mà năng lượng ánh sáng đã nâng một điện tử trong một phân tử anten lên mức năng lượng cao hơn, trạng thái kích động sẽ được chuyển từ phân tử sắc tố này đến phân tử sắc tố khác và cuối cùng đạt đến phân tử sắc tố trung tâm (bẫy exciton) để bị phân tử sắc tố này chiếm đoạt. Trạng thái kích động bị chiếm đoạt tại đây là nhờ năng lượng cần để kích động phân tử sắc tố trung tâm thấp hơn so với năng lượng cần để kích động các phân tử sắc tố anten.

Như vậy, mỗi khi trạng thái kích động đạt tới trung tâm phản ứng, nó không dễ gì trốn thoát được. Trong phân tử sắc tố trung tâm ở trạng thái kích động điện tử giàu năng lượng không quay về trạng thái cơ bản như trong các sắc tố khác, thay vào đó nó được chuyển cho một phân tử chất nhận và đi qua một loạt các phản ứng enzyme để tích lũy năng lượng này trong NADP.H và ATP.

b/ Khái niệm về hai hệ thống quang hóa và hai kiểu phản ứng sáng.

Nhiều dẫn liệu thực nghiệm cho thấy trong quá trình quang hợp ở thực vật bậc cao tồn tại hai loại phản ứng sáng.

Trong lục lạp của thực vật có hai loại chlorophyll khác nhau, trong khi đó ở vi khuẩn quang hợp, mà quá trình quang hợp xảy ra không kèm theo giải phóng oxy, thì chỉ có một loại chlorophyll. Hơn thế nữa, các thí nghiệm của Emerson cho thấy rằng hiệu suất quang hợp của thực vật trong vùng ánh sáng đỏ kể từ bước sóng 680nm trở lên giảm sút nhanh chóng. Tuy nhiên, nếu đồng thời với các tia 680nm chiếu tế bào bằng các tia có bước sóng ngắn hơn ($\lambda = 650\text{nm}$) thì hiệu suất quang hợp đối với tia 680nm lại được khôi phục đến giá trị bình thường. Đặc biệt là cường độ quang hợp khi chiếu đồng thời hai loại tia 680 và 650nm sẽ có giá trị lớn hơn so với tổng giá trị cường độ quang hợp khi hai loại tia này được chiếu riêng biệt. Trên cơ sở đó người ta cho rằng để đạt hiệu suất quang hóa cao nhất, cần phải xảy ra đồng thời hai loại phản ứng sáng khác nhau, mà cơ sở của hai loại phản ứng này là hai hệ thống quang hóa khác nhau tồn tại trong lục lạp của thực vật bậc cao.

Phản ứng được cảm ứng bởi các tia có bước sóng dài liên quan với chlorophyll a và được thực hiện bởi *quang hệ thống I*. Trong khi đó oxy được giải phóng trong các phản ứng do *quang hệ thống II* thực hiện với sự tham gia của cả hai chlorophyll và các sắc tố quang hợp khác (carotenoid và phycobilin). Hoạt động của hai loại phản ứng này liên quan với các tia có bước sóng ngắn hơn. Tất cả các tế bào quang hợp giải

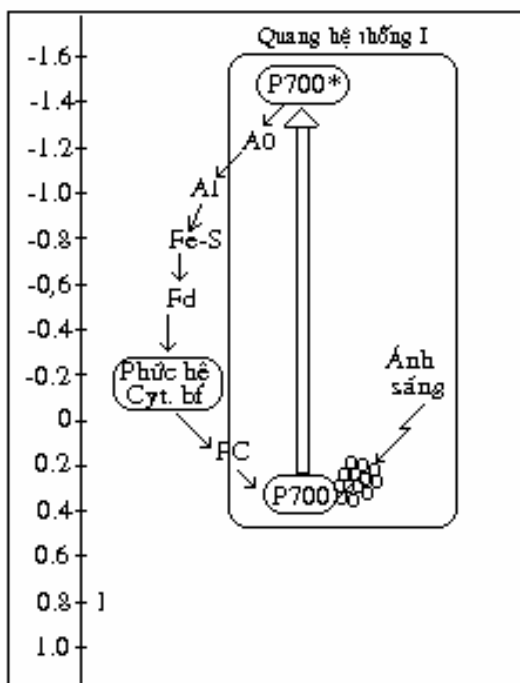
phóng oxy đều phải có hai hệ thống quang hóa, còn vi khuẩn chỉ có hệ thống quang hóa I. Trong quá trình tiến hóa có lẽ hệ thống quang hóa I xuất hiện trước.

Hệ thống quang hóa II xuất hiện sau cùng với khả năng sử dụng nước làm chất khử và do đó dẫn đến giải phóng oxy.

Mỗi hệ thống quang hóa có tập đoàn sắc tố đặc trưng trong màng thylacoid của lục lạp. Đơn vị tiếp nhận ánh sáng của hệ thống quang hóa I chứa gần 200 phân tử chlorophyll a và gần 50 phân tử carotenoid, trong đó một phân tử chlorophyll a duy nhất thực hiện chức năng của bẫy exciton (tức sắc tố trung tâm, ký hiệu là P 700). Hệ thống quang hóa II chứa khoảng 200 phân tử chlorophyll a và 200 phân tử chlorophyll b, c hoặc d, tùy thuộc từng loại cơ thể. Ngoài ra ở một số tảo còn có phycobilin. Trung tâm của hệ thống quang hóa này cũng là một phân tử chlorophyll a ký hiệu là P 680 .

Cả hai loại phản ứng sáng đều dẫn đến tổng hợp ATP. Sự khác nhau giữa chúng thể hiện ở đặc điểm của dòng điện tử. Trên cơ sở của dòng điện tử mà một trong hai cơ chế tổng hợp ATP được gọi là quang phosphoryl-hóa có tính chu kỳ, còn cơ chế kia được gọi là quang phosphoryl-hóa không có tính chu kỳ.

- Quang phosphoryl-hóa có tính chu kỳ.



Hình IX.14. Quang phosphoryl hóa có tính chu kỳ.

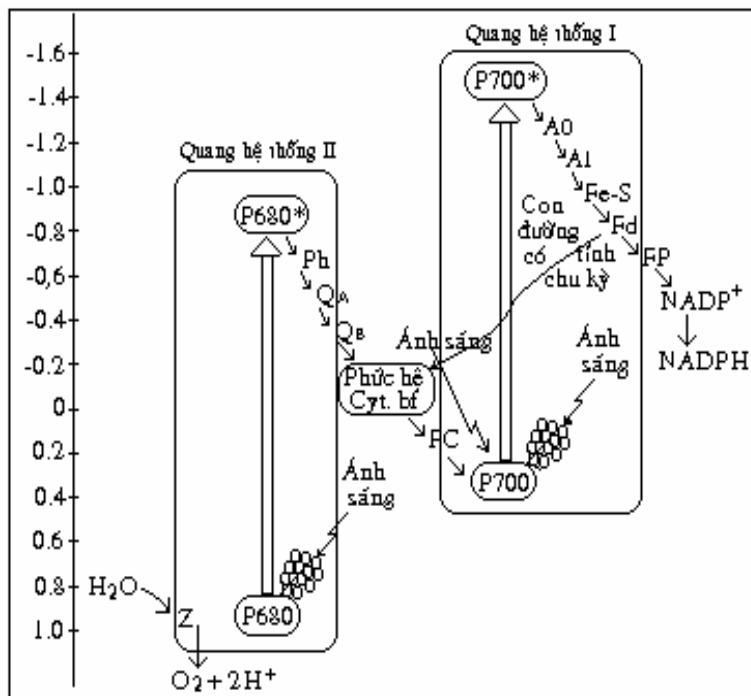
Quang phosphoryl hóa có tính chu kỳ, như mô tả trong hình IX.14, liên quan với dòng điện tử kín. Hoạt động của dòng điện tử này chỉ liên quan với hệ thống quang hóa I. Sắc tố trung tâm của hệ thống (P700) sau khi bị kích động bởi năng lượng của photon do các phân tử sắc tố anten chuyển đến, thế khử tiêu chuẩn của nó được nâng lên + 0,4V lên - 0,6V, do đó trở thành một chất khử khá mạnh. Phân tử chất nhận đầu tiên để nó chuyển điện tử giàu năng lượng đến là một enzyme chứa sắt và lưu huỳnh (FeS). Chất này bị khử và P700 bị oxy-hóa trong quá trình vận chuyển điện tử này. Điện tử sau đó tiếp tục được vận chuyển qua một loạt enzyme trên màng thylacoid của lục lạp. Cuối cùng điện tử được chuyển cho plastocyanin (PC), tại đó nó chờ để được lắp vào chỗ trống và chu trình được khép kín.

Khi điện tử giàu năng lượng rời khỏi phân tử P700, nó có mức năng lượng cao; khi quay về, nó trở nên nghèo năng lượng. Sự giảm sút năng lượng này xảy ra dần dần. Khi điện tử chuyển từ chất vận chuyển này đến chất vận chuyển khác trong chuỗi, nó giải phóng một phần năng lượng, làm cho gradient năng lượng giảm từng bước từ trạng thái kích động xuống trạng thái cơ bản, mỗi bước giảm một phần với mức độ sao cho tế bào sử dụng một cách thuận lợi. Một phần trong số năng lượng này được dùng để tổng hợp ATP theo cơ chế hóa thẩm thấu.

Về khía cạnh năng lượng, cơ chế phosphoryl-hóa có tính chu kỳ có hiệu quả không lớn. Trong số khoảng 25KCal/mol năng lượng thu nhận được do kích động P700 chỉ có phần năng lượng giải phóng khi điện tử đi từ plastoquinon (PQ) đến cytochrome f (Cyt f) với mức 3,4KCal/mol là thực sự có ích cho tế bào. Để khắc phục tính hiệu quả kém này, trong quá trình tiến hóa đã xuất hiện một cơ chế quang phosphoryl-hóa khác - quang phosphoryl-hóa không có tính chu kỳ.

- Quang phosphoryl-hóa không có tính chu kỳ.

Quang phosphoryl-hóa không có tính chu kỳ lôi cuốn sự tham gia của cả hai hệ thống quang hóa. Cơ chế của nó được mô tả trong hình IX.15. Giống như quang phosphoryl-hóa có tính chu kỳ, ở đây quá trình cũng được bắt đầu khi một photon tác động lên phân tử chlorophyll anten và sau đó kích động P700. Chất nhận điện tử từ P700 là FeS và ferredoxin (Fd). Nhưng ở đây kết thúc sự giống nhau giữa hai con đường. Thay vì tiếp



tục rơi xuống theo mạch kín, điện tử được chuyển từ Fd cho một enzyme phụ thuộc flavin (FP). Sau đó FP chuyển điện tử nhận được cho một chất nhận quang trọng là NADP⁺ để khử chất này thành NADP.H. Các phân tử anten và P700 của trung tâm phản ứng cùng với chuỗi vận chuyển điện tử từ FeS đến FP là thành phần cấu tạo của hệ thống quang hóa I.

Các phân tử NADP.H sau đó được dùng để khử CO₂ trong

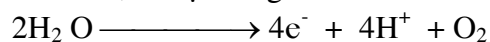
Hình IX.15. Quang phosphoryl hóa không có tính chu kỳ.

pha tối của quang hợp để tổng hợp glucose và

các hợp chất hữu cơ khác. Như vậy, ở đây dòng điện tử đi từ P 700 qua chuỗi vận chuyển đến NADP⁺ rồi cuối cùng đến glucose. Một phần năng lượng giải phóng trong chuỗi vận chuyển điện tử này cũng được sử dụng để tổng hợp ATP.

Do các điện tử giàu năng lượng của P700 bị giữ lại trong NADP.H và cuối cùng đưa vào glucid, nên sắc tố này bị thiếu hụt điện tử. Những "hố điện tử" này được lấp một cách gián tiếp nhờ các điện tử lấy từ nước nhờ hoạt động của quang hệ thống II.

Khi ánh sáng với bước sóng tương ứng tác động lên một sắc tố anten của quang hệ thống II, năng lượng được chuyển cho sắc tố trung tâm P680. Phân tử này đến lượt mình sẽ nhường điện tử giàu năng lượng cho một chất nhận ký hiệu là Q. Sau đó Q chuyển điện tử cho một chuỗi chất nhận giống như trong phosphoryl-hóa có tính chu kỳ, từng bước làm giảm gradient năng lượng đến mức của "hố điện tử" trong P700 của hệ thống quang hóa I. Khi điện tử di chuyển từ trên xuống dọc theo chuỗi, một phần năng lượng giải phóng cũng được tế bào sử dụng để tổng hợp ATP. Như vậy, các "hố điện tử" xuất hiện trong biến cố ánh sáng thứ nhất được lấp bằng các điện tử di chuyển từ hệ thống quang hóa II đến nhờ biến cố ánh sáng thứ hai. Lúc này, các điện tử từ nước bắt đầu thực hiện vai trò của mình. P680 do mất điện tử nên trở thành một chất oxy-hóa mạnh. Nhờ sự hỗ trợ của một phức hệ enzyme ký hiệu là Z, nó thực hiện sự cuốn hút điện tử từ nước, để lại đằng sau các ion H⁺ và oxy phân tử:



↓
đến với P 680

Nhờ phản ứng này, oxy được giải phóng từ nước như một sản phẩm phụ. Các ion H⁺ cũng đóng vai trò quan trọng của mình trong việc tổng hợp ATP.

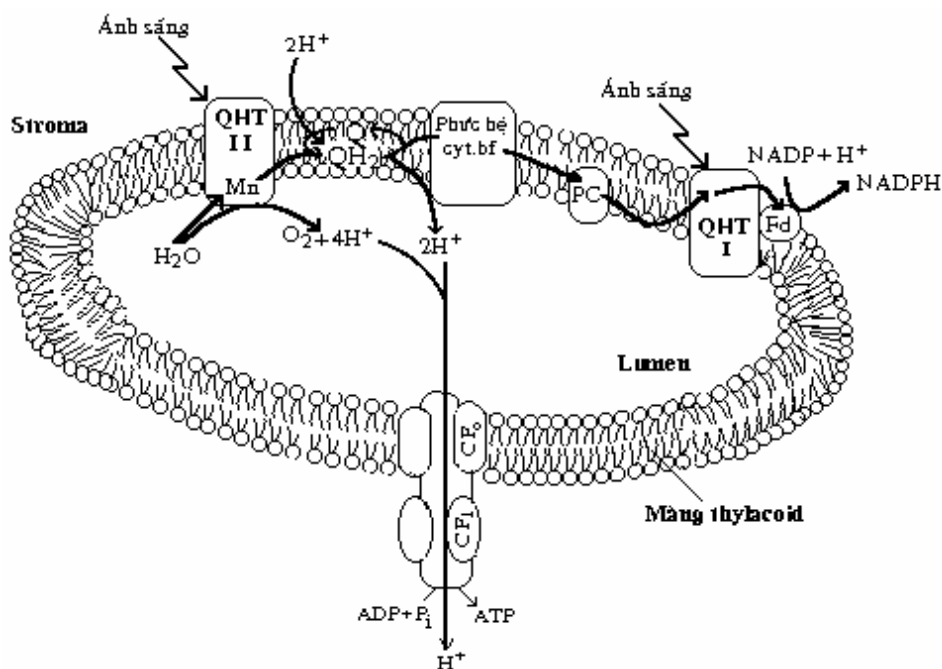
4. Cơ sở cấu trúc của quang phosphoryl-hóa.

Lục lạp cũng được tổ chức tương tự như ty thể để có thể tạo nên và duy trì gradient hóa thẩm thấu, làm động lực cho sinh tổng hợp ATP và các quá trình trao đổi chất khác. Các sắc tố anten cùng với các trung tâm phản ứng (QHT I và QHT II), các phân tử của chuỗi vận chuyển điện tử và hệ enzyme tổng hợp ATP (CF₀ và CF₁) đều nằm trên màng thylacoid của lục lạp. Giống như màng trong của ty thể, màng thylacoid tạo điều kiện để phát sinh gradient điện hóa, cung cấp năng lượng cho tổng hợp ATP. Tuy nhiên, khác với ty thể, trong lục lạp ion H⁺ được tích lũy trong ngăn nội chất của thylacoid, còn ở ngăn ngoài, tức nội chất của lục lạp (stroma) thì tích điện âm.

Các quá trình vận chuyển điện tử, hình thành gradient điện hóa và sử dụng gradient này để tổng hợp ATP được mô tả trong hình IX.16.

Quá trình quang hợp được bắt đầu khi photon được hấp thụ bởi phức hệ các sắc tố anten của hệ thống quang hóa I. Nhưng để thuận tiện, ta bắt đầu xem xét từ sự kích

động của một photon lên hệ thống quang hóa II. Năng lượng kích động được chuyển đến phân tử sắc tố trung tâm P 680 (nằm trong QHT II) và làm cho nó tích lũy năng lượng. P680 chuyển điện tử giàu năng lượng cho chất nhận Q. Hồ điện tử trong P 680 được lấp nhờ hệ enzyme vốn làm nhiệm vụ phân giải nước, tích lũy một ion H^+ bên trong thylacoid khi mỗi điện tử được chuyển cho P 680. Điện tử giàu năng lượng ban đầu được chuyển đến Q, một phân tử di động qua lại giữa hai phía của màng thylacoid. Một phần năng lượng của điện tử được dùng ở đây để di chuyển một ion H^+ từ stroma vào trong thylacoid, làm cho tất cả có hai ion H^+ được tăng cường cho nội chất của thylacoid.



Hình IX.16. Cơ sở cấu trúc của phosphoryl hóa quang hợp

Điện tử được chuyển tiếp tục cho phức hệ cytochrom b_f và sau đó cho PC, tại đó nó chờ để lấp vào chỗ trống trong P700 (nằm trong QHT II). Khi một photon được hấp thụ bởi một phân tử anten trong quang hệ thống I và kích động một điện tử, năng lượng kích động được chuyển cho phân tử P700, làm cho nó tích được năng lượng. Điện tử giàu năng lượng của P700 nhanh chóng được chuyển cho chất nhận Fd. Hồ điện tử xuất hiện trong P700 bây giờ có thể được lấp bởi điện tử hệ thống quang hóa II đang chờ trong PC.

Trong khi đó điện tử giàu năng lượng trong hệ thống quang hóa I chuyển đến Fd, từ đó có thể đi theo hai hướng. Trong điều kiện bình thường điện tử này được dùng để khử $NADP^+$ thông qua flavoprotein (FP) vốn có mặt trong màng. Trong quá trình này tiêu thụ một ion H^+ của stroma để tạo ra $NADP.H$.

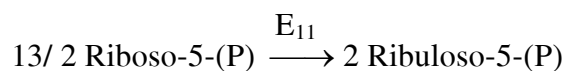
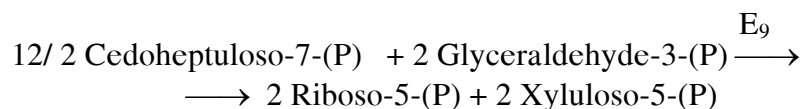
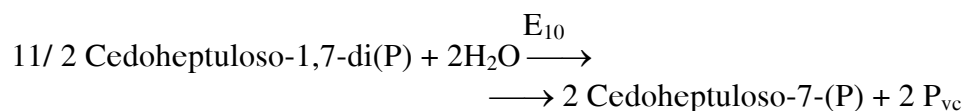
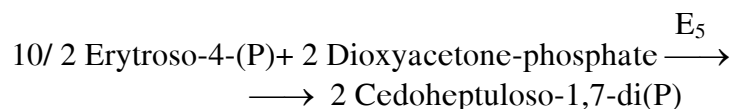
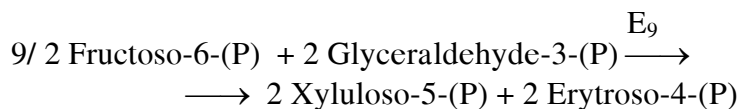
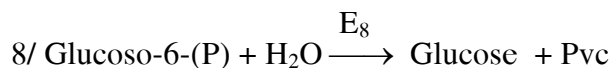
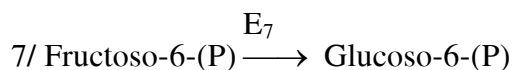
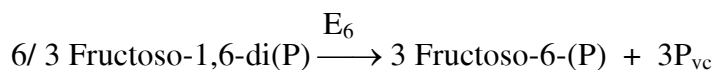
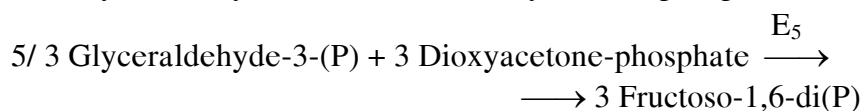
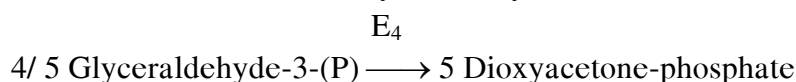
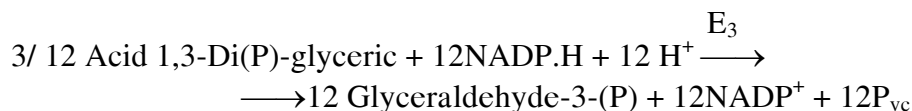
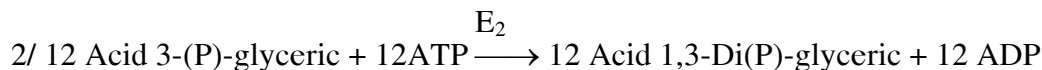
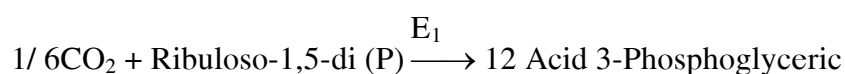
Dòng điện tử đã mô tả dẫn đến hai kết quả: Một là tạo ra phân tử $NADP.H$ giàu năng lượng để tham gia tổng hợp glucid, mặt khác tạo ra gradient điện hóa để sau đó

được dùng cho tổng hợp ATP. Cũng như trong ty thể, màng thylacoid chứa phức hệ enzyme CF₁ có khả năng sử dụng năng lượng của gradient điện hóa để phosphoryl hóa ADP.

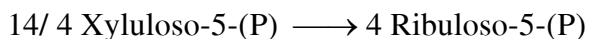
5. Cố định CO₂ trong pha tối của quang hợp.

a/ Chu trình Calvin.

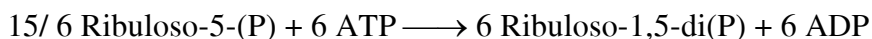
Sau nhiều năm nghiên cứu (1946-1961) Melvin Calvin thuộc trường đại học Berkeley (Hoa kỳ) với công cụ chủ yếu là ¹⁴O₂ đã tìm ra một trật tự các phản ứng cố định CO₂ trong quang hợp mà ngày nay chúng ta gọi là chu trình Calvin. Chu trình này còn được gọi là con đường C₃ do sản phẩm được hình thành đầu tiên là ột hợp chất 3 carbon – acid 3-phosphoglyceric. Toàn bộ chu trình bao gồm các phản ứng sau đây:



E₁₂



E₁₃



Enzyme xúc tác chuỗi phản ứng trên đây bao gồm:

E₁: Ribulosophosphate carboxylase (Ribulosophosphate carboxydismutase)

E₂: Phosphoglycerate kinase

E₃: Glyceraldehydephosphate dehydrogenase

E₄: Triosphosphate isomerase

E₅: Aldolase

E₆: Fructosodiphosphatase

E₇: Hexosophosphate isomerase

E₈: Glucoso-6-phosphatase

E₉: Trancetolase

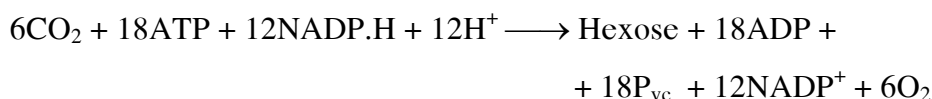
E₁₀: Phosphatase

E₁₁: Isomerase

E₁₂: Epimerase

E₁₃: Phosphoribokinase

Phương trình tổng quát của toàn bộ chu trình là:



b/ Chu trình Hatch – Slack

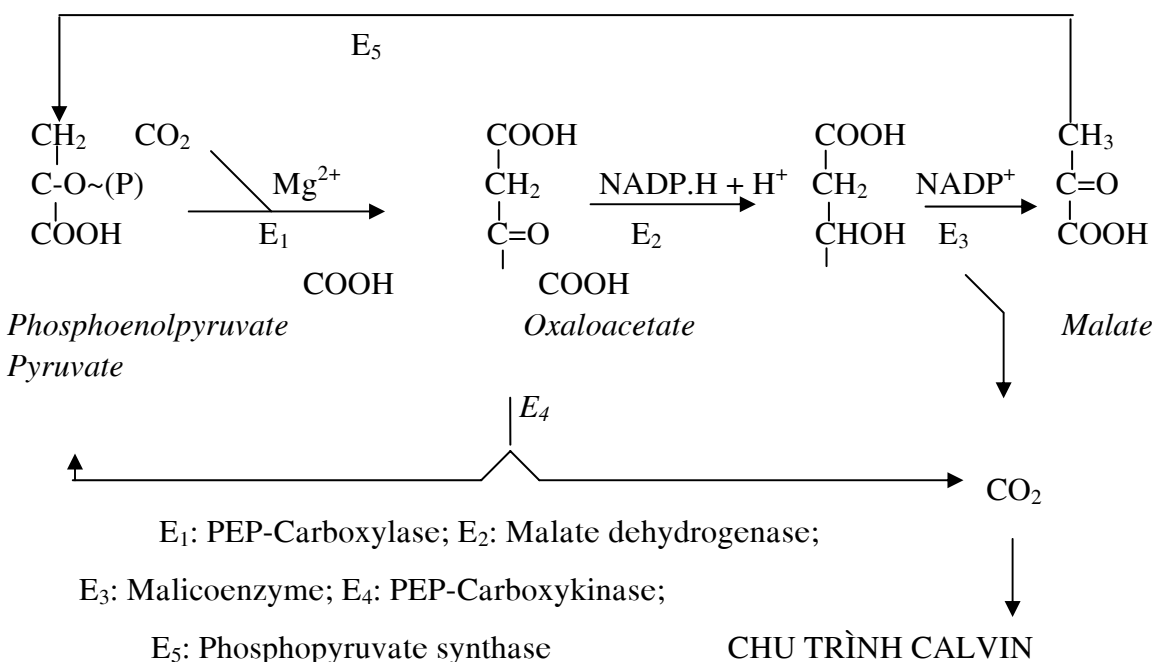
Vào những năm 1960 hai nhà bác học M.D. Hatch (người Úc) và Slack (người Anh) đã phát hiện một cơ chế sinh hóa ở cây mía và một số thực vật nhiệt đới khác, trong đó sản phẩm đầu tiên của quá trình khử CO₂ là một hợp chất 4 carbon – acid oxaloacetic. Chu trình này vì vậy được gọi là con đường C₄ trong quang hợp. Nó có dạng như mô tả trong hình IX.17.

Ở những thực vật có con đường C₄ (gọi tắt là cây C₄) hoạt tính enzyme PEP-carboxylase – enzyme then chốt của chu trình C₄ – cao gấp 20 lần so với cây C₃. Lợi thế của cây C₄ là ở chỗ bằng cách tổng hợp oxaloacetate và malate chúng dự trữ được CO₂ trong tế bào, nhờ đó chúng có thể thực hiện được quang hợp trong lúc khí khổng đóng do nhiệt độ môi trường quá cao để hạn chế thoát hơi nước. Vì lý do này mà thực vật C₄ thường có tính chịu hạn cao. Một nét ưu việt khác của thực vật C₄ là hạn chế được tác hại của quang hô hấp mà ở thực vật C₃ thường thiêu đốt mất khoảng 50% sản phẩm trung gian của chu trình Calvin.

Nguyên nhân của hiện tượng quang hô hấp là do ribulosophosphate carboxylase vốn xúc tác phản ứng đầu tiên của chu trình Calvin trong điều kiện hàm lượng CO₂ thấp có thể chuyển sang xúc tác phản ứng oxy hóa ribulosophosphate.

Nhiệt độ cao của môi trường cũng tạo điều kiện thuận lợi cho quá trình oxy hóa này. Sự oxy hóa này không dẫn đến hình thành ATP nên các chất hữu cơ bị thiêu đốt một cách vô ích.

Ở thực vật C₄ nhờ đặc điểm giải phẫu của lá đã góp phần ngăn ngừa được tác hại của quang hô hấp. Ở thực vật C₃ các tế bào bao bọc xung quanh bó mạch không chứa lục lạp, do đó quang hợp chỉ xảy ra trong các tế bào thịt lá. Hơn thế nữa, tế bào thịt lá không tiếp xúc chặt chẽ với bó mạch. Trong khi đó ở thực vật C₄ các tế bào bao bọc xung quanh bó mạch rất giàu lục lạp, đồng thời tế bào thịt lá (cũng chứa lục lạp) có xu hướng bao bọc xung quanh các tế bào bao bọc bó mạch. Đáng chú ý là trong hai loại tế bào này cấu trúc của lục lạp khác nhau và hai loại lục lạp thực hiện hai chức năng khác nhau: trong tế bào thịt lá chủ yếu xảy ra chu trình C₄ để tích lũy CO₂. Sau đó sản phẩm của chu trình C₄ được đưa vào tế bào bao bọc bó mạch, tại đó chúng bị decarboxyl hóa để giải phóng CO₂ phục vụ cho chu trình Calvin. Như vậy, nhờ chu trình C₄ mà nồng độ CO₂ trong tế bào bao bọc bó mạch luôn ở mức cao, làm cho oxy không thể cạnh tranh với nó tại trung tâm hoạt động của enzyme RDP- carboxylase.



Hình IX.17 Chu trình Hatch – Slack

c/ Con đường carbon ở thực vật CAM.

Ngoài các con đường C₃ và C₄, ở một số thực vật mọng nước như dứa, xương rồng và nhiều cây khác sống ở vùng sa mạc, có tên gọi chung là thực vật CAM (Crassulacean Acid Metabolism), còn có một con đường cố định CO₂ khác. Con đường này cũng cho phép thực vật thích nghi với điều kiện khô nóng kéo dài. Tuy nhiên, nếu ở thực vật C₄ các cơ chế cố định CO₂ khác nhau được phân biệt về mặt không gian, thì

CHƯƠNG 5. LIPID

Lipid là một nhóm hợp chất hữu cơ nguồn gốc sinh vật, có tính kỵ nước nhưng hòa tan dễ dàng trong các dung môi không phân cực. Nhóm hợp chất này là một trong những thành phần chính của tế bào và mô động thực vật. Một số trong chúng được dùng làm chất dinh dưỡng dự trữ, một số khác tham gia trong việc kiến tạo các cơ quan tử của tế bào, đặc biệt là các hệ thống màng, đồng thời tham gia trong việc điều hòa các quá trình vận chuyển vật chất qua màng và nhiều quá trình quan trọng khác.

Phần lớn lipid là dẫn xuất của acid béo, hình thành khi các nhóm carboxyl liên kết ester với một rượu đa chức hoặc đơn chức. Ngoài ra, trong phân tử của nhiều loại lipid khác nhau còn chứa các nhóm ion hóa hoặc phân cực như base nitơ, phosphate, saccharide, aminoacid v.v... Một số hợp chất tuy không phải là dẫn xuất của acid béo nhưng do có tính kỵ nước nên cũng được xếp vào nhóm lipid. Đó là sterol và các hợp chất steroid, sắc tố quang hợp, các vitamin tan trong chất béo và vài hợp chất khác.

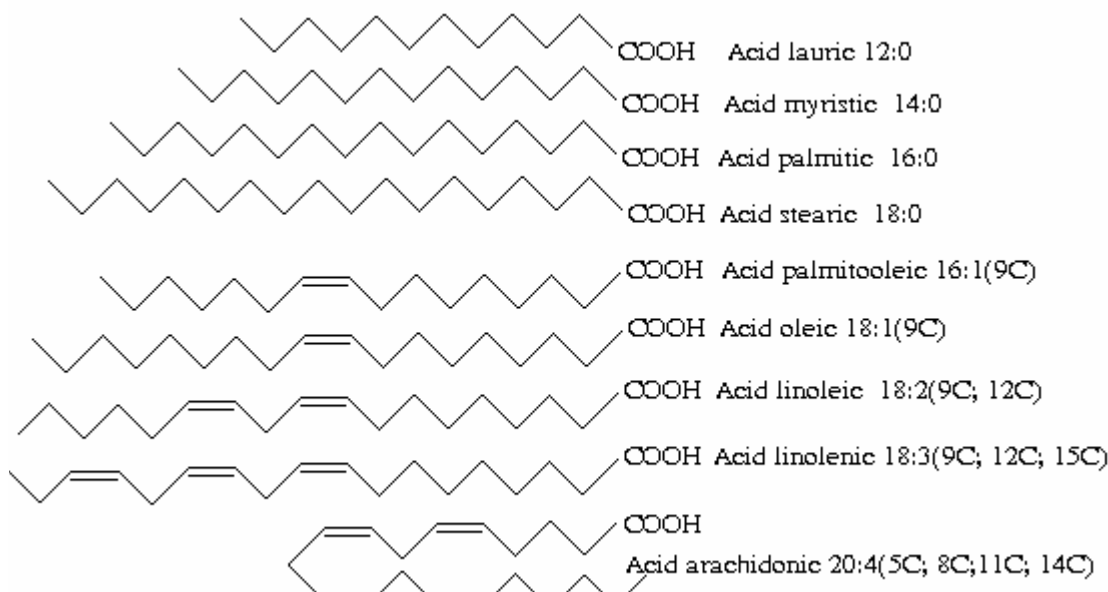
Những loại lipid mà trong phân tử của chúng chứa đồng thời các nhóm chức phân cực và không phân cực thường gặp trong các cấu trúc màng và trên các bề mặt phân cách khác giữa môi trường nước và các khu vực kỵ nước bên trong tế bào.

I. ACID BÉO.

Acid béo là thành phần cấu tạo của phần lớn lipid. Hơn 70 loại acid béo tìm thấy trong các loại tế bào khác nhau là những mạch hydro carbon no hoặc không no chứa một nhóm carboxyl tận cùng. Hầu hết các acid béo có số chẵn nguyên tử carbon từ 12 đến 22, nhưng thường gặp nhất là những acid béo có 16 – 18 nguyên tử carbon. Acid béo không no có thể chứa một hoặc vài liên kết đôi. Rất ít gặp acid béo chứa liên kết ba. Phần lớn các liên kết đôi nối C₉ với C₁₀ (kí hiệu là Δ⁹). Các liên kết đôi thứ hai và thứ ba thường nằm cách liên kết đôi thứ nhất một vài nhóm methylen (-CH₂-) về phía đầu CH₃ tận cùng. Các liên kết đôi trong phần lớn acid béo không no trong tự nhiên có cấu hình *cis*-, mặc dù dạng này kém bền vững hơn dạng *trans*-. Khi đun nóng với một số chất xúc tác, dạng *cis*- sẽ chuyển sang dạng *trans*-, đồng thời nhiệt độ nóng chảy tăng lên.

Dạng *cis*- của acid béo không no làm cho những phân tử chứa nhiều liên kết đôi được uốn cong và co ngắn lại. Đặc điểm này có ý nghĩa sinh học quan trọng đặc biệt đối với cấu trúc của các loại màng tế bào. Đối với acid béo no dạng đuôi thẳng thích hợp hơn về mặt năng lượng, mặc dù trên nguyên tắc chúng có thể tồn tại ở vô số kiểu cấu hình khác nhau do các liên kết -C-C- trong mạch hydro carbon quay một cách hoàn toàn tự do. Khả năng ở acid béo không no bị hạn chế do các liên kết đôi không xoay được. Nhiệt độ nóng chảy của acid béo no cao hơn acid béo không no.

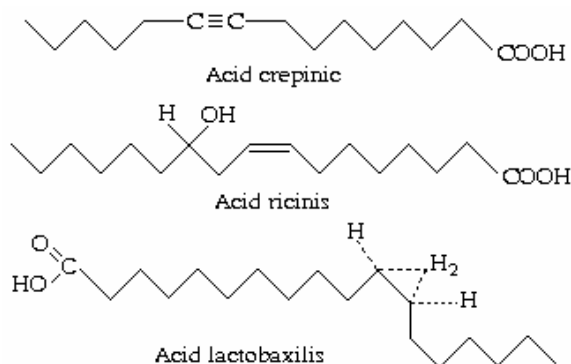
Phổ biến nhất trong tự nhiên là những acid béo no và không no giới thiệu trong hình III.1.



Hình III.1. Những acid béo phổ biến trong tự nhiên.

Hình 3.1. Các acid béo no và không no phổ biến

Trong acid béo không no đôi khi còn chứa liên kết ba $-C\equiv C-$, mặc dù rất ít gặp, ví dụ acid crepinis trong hạt *Crepis foetida* (thuộc họ *Compositae*).



Một số acid béo còn chứa nhóm $-OH$, ví dụ acid ricinic trong hạt thầu dầu (*Ricinus communis*)

Ở vi khuẩn còn gặp các acid béo chứa chóm cyclopropionyl, làm cho chúng trở nên có số lẻ nguyên tử carbon, ví dụ acid lactobaxilis.

Một số acid béo có số lẻ nguyên tử carbon còn do chúng chứa nhóm $-CH_3$ ở mạch nhánh tương tự như trong phân tử của các aminoacid valine, leucine, isoleucine.

Acid béo hầu như không tan trong nước, nhưng muối Na hoặc K của chúng (xà phòng) có thể tạo những chuỗi phân tử gọi là mixen (micella) khá ổn định trong nước do tác dụng của tương tác kỵ nước giữa chúng, nhờ đó xà phòng có tác dụng tẩy rửa.

Acid béo không no dễ kết hợp với hydro hoặc halogen tại các vị trí liên kết đôi. Nhờ tính chất này người ta có thể biến acid béo không no thành acid béo no trong công nghệ chế tạo mỡ thực vật hoặc xác định tỉ lệ liên kết đôi trong phân tử acid béo bằng cách cho tác dụng với I_2 hoặc Cl_2 .

Một số acid béo không no (acid linoleic, acid linolenic, acid arachidonic...) không được tổng hợp trong cơ thể người và động vật có vú. Vì thế chúng thường được gọi là **acid béo không thay thế**, hay **vitamine F**.

Các acid béo tự do thường gặp trong tự nhiên thông thường nằm trên các bề mặt phân cách giữa lipid và nước, đầu mang gốc $-COOH$ của chúng phân li thành $-COO^-$ và quay về phía môi trường nước. Tuy nhiên, phần lớn acid béo liên kết với các thành phần khác nhau trong các loại lipid khác nhau bằng liên kết ester hay liên kết amid.

Mặc dù acid béo rất đa dạng, nhưng trong mỗi loại cơ thể chỉ có một vài loại là có hàm lượng đáng kể. Ở thực vật bậc cao chủ yếu có mặt acid palmitic và hai acid béo không no là acid oleic và acid linoleic. Acid stearic hầu như không có ở thực vật, còn các acid béo $C_{20} - C_{24}$ được gặp rất ít (trừ biểu bì của lá). Trong khi đó ở một số loài thực vật đặc biệt lại chứa một số loại acid béo đặc biệt với hàm lượng khá cao, ví dụ acid crepinic chiếm 60% tổng số acid béo trong hạt *Crepis foestida*, còn acid ricinis chiếm đến 90% acid béo của hạt thầu dầu *Ricinus communis*.

Trong cơ thể động vật cũng chứa acid palmitic và acid oleic, nhưng ngoài ra còn có acid stearic với hàm lượng khá cao.

Ở vi khuẩn thường không có các acid béo chứa nhiều liên kết đôi nhưng lại thường gặp các acid béo chứa nhóm cyclopropionyl và nhóm hydroxyl trong thành phần của các loại lipid khác nhau hoặc ở trạng thái tự do.

Hàm lượng acid béo trong các cơ quan khác nhau của cùng một cơ thể thường rất khác nhau. Ví dụ, trong thành phần lipid của màng tỉ lệ acid béo không no cao hơn trong mô mỡ dự trữ.

II. CÁC ESTER CỦA GLYCEROL.

Những lipid mà bản chất hóa học của chúng là ester của glycerol (glycerine) bao gồm các hợp chất khác nhau mà tên gọi và cấu tạo của chúng được giới thiệu trong bảng III.1.

1. Lipid trung tính.

Glycerol có thể liên kết với một, hai hoặc ba phân tử acid béo để tạo ra mono-, di- hoặc triglyceride. Cả ba hợp chất này được gọi chung là lipid trung tính, nhưng phổ biến nhất trong tự nhiên là triglyceride, hay triacylglycerine. Đó là thành phần chính của dầu và mỡ động thực vật. Phần lớn triglyceride có thành phần đa hợp, tức hai hoặc ba loại acid béo khác nhau, trong đó có acid béo no và không no, thường là những acid

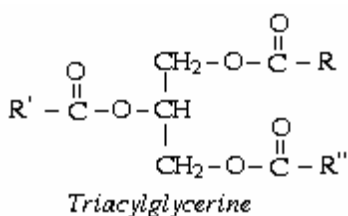
béo 16 – 18C. Các triglyceride đơn giản, tức chỉ chứa một loại acid béo, ví dụ triolein trong dầu ôliu, rất ít gặp trong tự nhiên. Dầu thực vật chứa nhiều acid béo không no nên dễ nóng chảy hơn mỡ động vật.

Bảng III.1. Các lipid là ester của glycerol

$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{C} - \text{CH} - \text{CH}_2 \\ \quad \quad \\ \text{O} \quad \text{O} \quad \text{O} \\ \quad \quad \\ \text{FA} \quad \text{FA} \quad \text{FA} \end{array}$	Gốc glycerine
$\begin{array}{c} \quad \quad \\ \text{FA} \quad \text{FA} \quad \text{FA} \end{array}$	Lipid trung tính
$\begin{array}{c} \quad \quad \\ \text{FA} \quad \text{FA} \quad \text{P} \end{array}$	Acid phosphatidic
$\begin{array}{c} \quad \quad \\ \text{FA} \quad \text{FA} \quad \text{P} - \text{O} - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{NH}_3^+ \\ \underbrace{\hspace{10em}} \\ \text{Gốc choline} \end{array}$	Phosphatidylcholine (Leucitine)
$\begin{array}{c} \quad \quad \\ \text{FA} \quad \text{FA} \quad \text{P} - \text{O} - \text{CH}_2 - \text{CH} - \text{N}^+ \equiv (\text{CH}_3)_3 \\ \underbrace{\hspace{10em}} \\ \text{Gốc ethanolamine} \end{array}$	Phosphatidylethanolamine (Cephaline)
$\begin{array}{c} \quad \quad \\ \text{FA} \quad \text{FA} \quad \text{P} - \text{O} - \text{CH}_2 - \text{CH} - \text{NH}_3^+ \\ \quad \quad \quad \\ \quad \quad \quad \text{COO}^- \\ \underbrace{\hspace{10em}} \\ \text{Gốc serine} \end{array}$	Phosphatidylserine
$\begin{array}{c} \quad \quad \\ \text{FA} \quad \text{FA} \quad \text{P} \\ \\ \text{O} \\ \\ \text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6 \text{ (Inositol ring)} \\ \\ \text{OH} \\ \underbrace{\hspace{10em}} \\ \text{Gốc inositol} \end{array}$	Phosphatidylinosit(ol) (Inositide)
$\begin{array}{c} \quad \quad \\ \text{FA} \quad \text{FA} \quad \text{P} - \text{O} \quad \text{OH} \quad \text{OH} \\ \quad \quad \quad \quad \\ \quad \quad \quad \text{H}_2\text{C} - \text{CH} - \text{CH}_2 \\ \underbrace{\hspace{10em}} \\ \text{Gốc glycerine} \end{array}$	Phosphatidylglycerine
$\begin{array}{c} \quad \quad \\ \text{FA} \quad \text{FA} \quad \text{P} - \text{O} \quad \text{OH} \\ \quad \quad \quad \quad \\ \quad \quad \quad \text{H}_2\text{C} - \text{CH} - \text{CH}_2 \\ \quad \quad \quad \\ \quad \quad \quad \text{O} \\ \quad \quad \quad \\ \quad \quad \quad \text{P} \\ \quad \quad \quad \\ \quad \quad \quad \text{O} \\ \quad \quad \quad \\ \quad \quad \quad \text{H}_2\text{C} - \text{CH} - \text{CH}_2 \\ \quad \quad \quad \quad \\ \quad \quad \quad \text{O} \quad \text{O} \\ \quad \quad \quad \text{FA} \quad \text{FA} \end{array}$	Diphosphatidylglycerine (Cardiolipin)
$\begin{array}{c} \quad \quad \\ \text{HC} \quad \text{FA} \quad \text{P} - \text{O} - \text{CH}_2 - \text{CH} - \text{NH}_3^+ \\ \quad \quad \quad \\ \text{HC} \text{ hoặc } - \text{O} \quad \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{N}^+ \equiv (\text{CH}_3)_3 \end{array}$	Plasmalogen

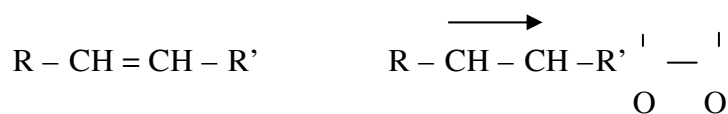
R	
FA FA Một hoặc hai gốc galactose	Glycerogalactolipid
FA FA Gal-6-SO ₃ ⁻	Glycrosulphate

Triglyceride được gọi tên trên cơ sở thành phần acid béo, ví dụ palmitodiolein, palmitooleinolinolein v.v... Dầu cũng như mỡ thường là hỗn hợp của nhiều loại triglyceride khác nhau.

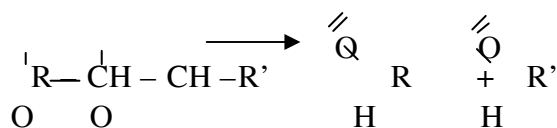


Lipid trung tính được cơ thể sử dụng chủ yếu làm chất dinh dưỡng dự trữ, chỉ một phần rất ít tham gia cấu trúc màng tế bào.

Acid béo không no dưới tác dụng của ánh sáng, tia ion hóa, oxy không khí và độ ẩm cao rất dễ bị oxy hóa. Giai đoạn đầu của quá trình này là sự hình thành peroxyde.



Sau đó peroxide tiếp tục bị phân giải thành các aldehyde có mùi khó chịu:



Quá trình này làm cho dầu và mỡ giảm chất lượng. Để hạn chế nó, cũng như để dễ đóng gói và vận chuyển, người ta tiến hành hydrogen hóa các liên kết đôi, làm cho dầu biến thành mỡ thực vật.

Dưới tác dụng của của acid và của enzyme lipase lipid trung tính bị thủy phân thành glycerol và acid béo tự do. Nếu thủy phân bằng kiềm sẽ thu được muối của acid béo (xà phòng).

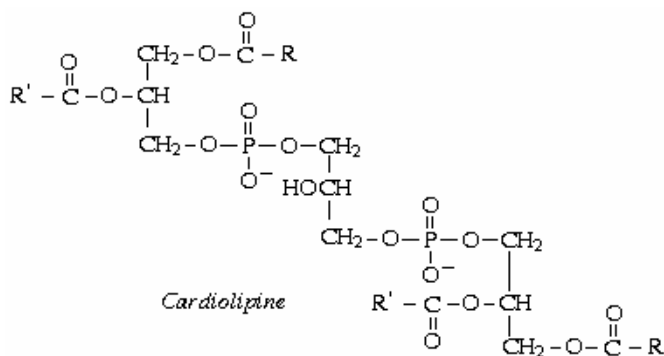
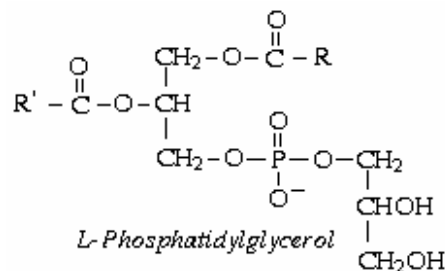
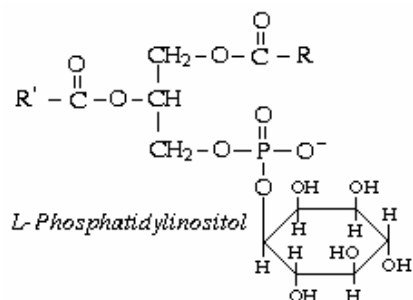
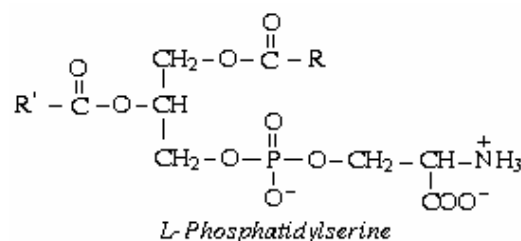
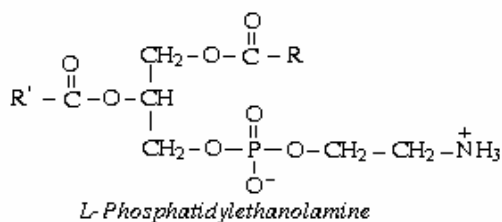
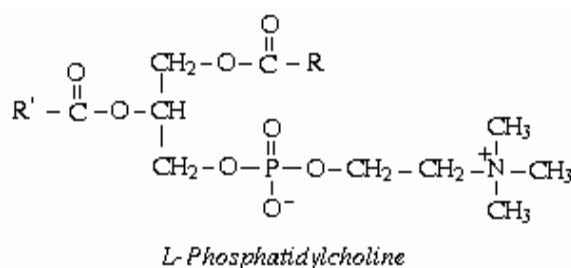
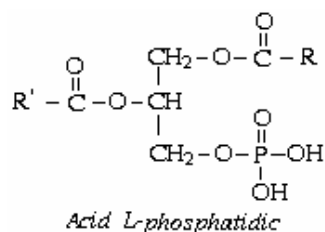
Tính chất của từng loại dầu hoặc mỡ thường được sử dụng bằng các chỉ số sau đây:

- *Chỉ số iod*: là số mg iod kết hợp với 100 gam dầu hoặc mỡ. Nó cho phép tính được tỉ lệ acid béo không no trong dầu, mỡ;
- *Chỉ số acid*: là số mg KOH cần để trung hòa toàn bộ acid béo tự do trong 1 gam dầu hoặc mỡ. Chỉ số này cho phép kiểm tra sự hình thành acid béo tự do trong quá trình bảo quản dầu, mỡ;

• *Chỉ số xà phòng hóa*: là số mg KOH cần để trung hòa toàn bộ acid béo tự do và liên kết có trong 1 gam dầu hoặc mỡ. Trọng lượng phân tử của triglyceride càng lớn thì chỉ số xà phòng hóa càng nhỏ.

2. Phosphatide.

Phosphatide là những lipid phức tạp có chứa acid phosphoric. Tuy nhiên, thuật ngữ này thường dùng để chỉ những phosphatide là ester của glycerol, tức *phosphoglyceride*, hay *glycerophospholipid*. Đại diện đơn giản nhất của nhóm lipid này là acid phosphatidic. Nó hình thành khi hai nhóm -OH tự do của glycerol ester hóa với acid béo, còn nhóm -OH thứ ba - với acid phosphoric. Trong cơ thể acid phosphatidic được tổng hợp từ α -glycerophosphate tức dạng hoạt động của glycerol. Tuy acid phosphoric tồn tại trong tế bào ở dạng tự do với hàm lượng rất thấp, nhưng là một sản phẩm trung gian quan trọng của quá trình sinh tổng hợp lipid trung tính và các phosphoglyceride khác. Những phospho-glyceride này hình thành khi gốc phosphate của acid phosphatidic ester hóa với một base nitơ (choline, ethanolamine, serine) hoặc với một chất khác có chứa chức rượu tự do (inositol, glycerine v.v...) (bảng III.1).



Đặc điểm cấu tạo vừa chứa nhóm kỵ nước (acid béo), vừa chứa các nhóm ưa nước (gốc phosphate, base

nitơ, glycerine v.v...) cho phép phosphoglyce-ride tham gia các cấu trúc màng của tế bào và điều hòa các quá trình vận chuyển vật chất qua màng.

Trong mô thần kinh, tim, gan, trứng của động vật có xương sống và trong hạt của thực vật hàm lượng phosphoglyceride rất cao.

Trong phosphatidylcholine (leucitine) gốc phosphate của acid phosphatidic ester hóa với choline. Tất cả các acid béo phổ biến trong lipid trung tính đều có mặt trong phosphatidylcholine. Acid béo no thường liên kết với nhóm -OH của C α , còn acid béo không no - với C β .

Phosphatidylethanolamine (cephaline) và phosphatidylserine cũng là những phosphoglyceride phổ biến. Với sự tham gia của S-adenosylmethionine (dạng hoạt động của methionine) phosphatidylethanolamine có thể được methyl hóa thành phosphatidylcholine, còn phosphatidylserine nhờ enzyme đặc hiệu có thể bị decarboxyl hóa thành phosphatidylethanolamine.

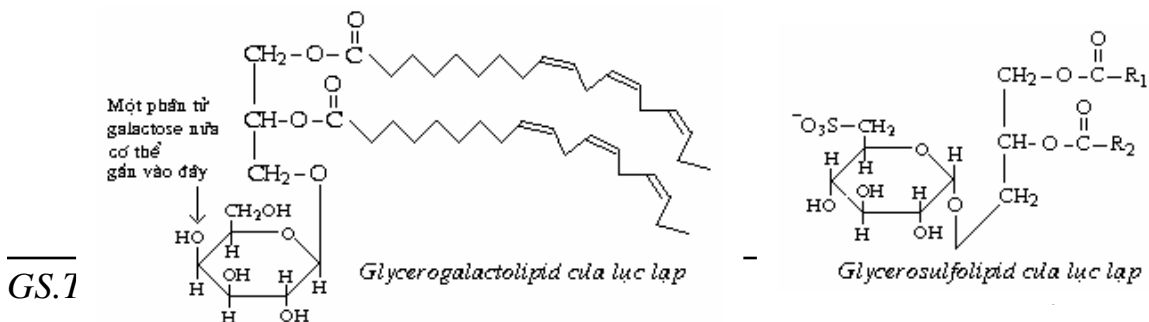
Phosphatidylinosit, hay inositolphosphatide, chứa rượu vòng inositol. Các nhóm hóa trị -OH có thể định vị ở xích đạo hoặc quanh trục, cho phép hình thành 9 dạng đồng phân khác nhau. Những nhóm -OH này thường được ester hóa với acid phosphoric, tạo ra diphosphoinositide, triphosphoinositide và các dẫn xuất bậc cao hơn.

Phosphatidylglycerine và diphosphatidylglycerine (cardiolipine) chứa thêm các phân tử glycerine liên kết thông qua gốc phosphate.

Trong tất cả các loại màng sinh học bên cạnh hàng loạt các loại lipid khác nhau hàm lượng phospholipid thường chiếm ưu thế với tỉ lệ từ 40 đến 90% lipid tổng số của cấu trúc màng, trong đó nhiều hơn cả là phosphatidylcholine, Phosphatidylethanolamine, phosphatidylserine và cardiolipine. Phosphatidylinosit thường có mặt với hàm lượng thấp hơn. Hàm lượng cardiolipine đặc biệt cao trong màng của vi khuẩn, ti thể và lục lạp.

3. Glycerogalactolipid và glycerosulfolipid.

Trong số các ester của glycerin còn có glycerolactolipid (galactosyl diglyceride) và glycerosulfolipid.



Hai loại lipid này là thành phần cấu tạo quan trọng của màng tế bào thực vật nói chung và màng lục lạp nói riêng. Trong galactosyldiglyceride của lục lạp tỉ lệ acid linolenic chiếm đến 96% acid béo tổng số.

Cần phân biệt nhóm lipid này với glycolipid và sulfolipid (sulfatide) thuộc nhóm sphingolipid sẽ được xét đến sau đây.

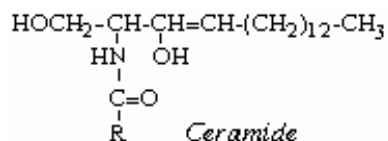
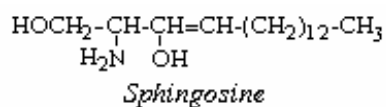
III. XPHINGOLIPID VÀ GLYCOLIPID.

Hai nhóm lipid này đều chứa một loại rượu amin có tên là *sphingosine*. Song giữa rượu và acid béo gắn với nhau không phải bằng liên kết ester mà bằng liên kết amide. Sphingolipid đơn giản nhất là ceramide. Nếu chức rượu bậc một của sphingosine được gắn thêm gốc phosphorylcholine thì sẽ tạo ra một sphingolipid khác là sphingomyeline.

Có thể xem glycolipid là những sphingolipid có chứa glucid hoặc dẫn xuất của glucid. Cấu tạo của các nhóm sphingolipid và glycolipid khác nhau được giới thiệu tóm tắt trong bảng III.2.

Bảng III.2. Cấu tạo của sphingolipid và glycolipid

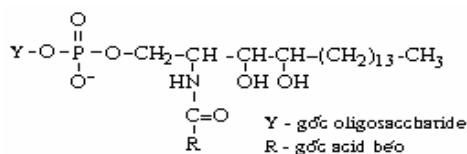
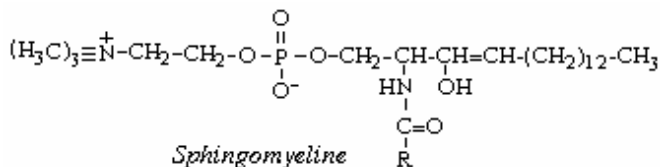
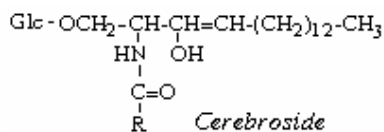
		Sphingosine	
	H	FA	Ceramide
S	(P)-Choline	FA	Sphingomyeline
P			
H	β-D-Gal hoặc β-D-Gal-1,4-Glc	FA	Cerebroside
I			
N	Oligose với thành phần:	FA	G L Y C O L I P I D
G	Gal, Glc, Gal-N-Ac, Acid Nac-neuraminic		
O			
L			
I	Saccharide sulfate hóa: Glc-SO ₃ H, Gal-SO ₃ H	FA	Sulfolipid (Cerebroside sulfatide)



Cần lưu ý rằng, khác với sphingolipid, glycolipid không chứa acid phosphoric.

Cùng với phospholipid, sphingolipid và glycolipid cũng góp phần quan trọng trong việc hình thành các cấu trúc màng, trong

sphingo-myeline thường có hàm lượng khá cao. Tuy nhiên, loại sphingolipid này lại không có mặt trong ti thể.



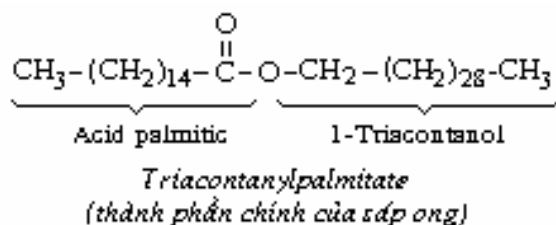
"Sphingolipid" thực vật

Các loại glycolipid khác nhau có nhiều trong não, lách và các cơ quan khác của động vật. Ganglioside là thành phần quan trọng của màng tế bào thần kinh và tham gia vào việc phục hồi điện kích thích của não, loại trừ tính độc của độc tố vi trùng uốn ván, bạch hầu và các chất độc khác do vi khuẩn tiết ra. Trong màng tế bào thần kinh còn có nhiều loại cerebroside và các ester sulfate của chúng, tức sulfolipid hay cereroside sulfatid.

Sphingolipid không được tìm thấy trong tế bào thực vật. Tuy nhiên, trong nấm men, nấm mốc và một số thực vật khác có một nhóm lipid tương tự sphingolipid mà thành phần rượu là cerebrine hay còn có tên là phytosphingosine.

IV. SÁP.

Sáp nguồn gốc sinh học là ester của một acid béo bậc cao, bão hòa hoặc không bão hòa chứa 14 - 36 nguyên tử carbon, với một rượu đơn chức phân tử lớn chứa 16 - 30 nguyên tử carbon. Như vậy, cấu tạo của chúng gần với acylglycerine. Nhiệt độ nóng chảy của sáp từ 60 đến 100°C, tức cao hơn nhiều so với triacylglycerol. Sáp tạo nên lớp bảo vệ trên da, lông động vật, quả, thân, lá thực vật và trên lớp vỏ ngoài của nhiều loài côn trùng. Ngoài ra, ở một số plankton sống trong nước biển sáp được sử dụng làm nguồn năng lượng dự trữ.



Thành phần chủ yếu của sáp ong là ester của acid palmitic với rượu béo 1-triacontanol. Lanoline, tức sáp lông cừu, là hỗn hợp các ester của acid béo với hai loại rượu

vòng là lanosterine và agnosterine.

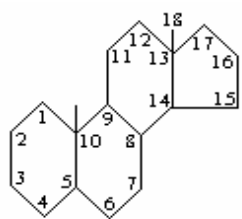
Sáp thực vật là hỗn hợp các ester của acid béo chứa 20-24C với các rượu béo chứa 26-34C. Hỗn hợp này thường có thành phần rất đặc trưng đối với từng loại cây. Ngoài ra, trong thành phần của sáp thực vật còn có các acid béo và rượu béo tự do cùng với một số hydro carbon, chủ yếu là các alcan với số lẻ nguyên tử carbon từ 25 đến 35.

Chức năng bảo vệ bề mặt của sáp liên quan với tính không phân cực cao và tính kỵ nước mạnh của chúng.

Sáp được sử dụng rộng rãi trong kỹ nghệ dược phẩm, mỹ phẩm và nhiều lĩnh vực công nghệ khác.

V. STEROL VÀ STEROID.

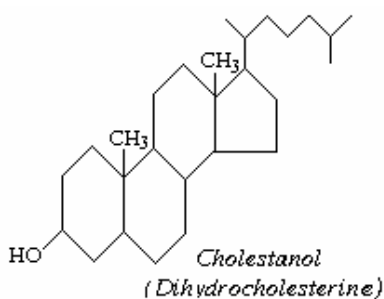
Các hợp chất steroid được đặc trưng bởi bộ khung cyclopentanoperhydrophenantren.



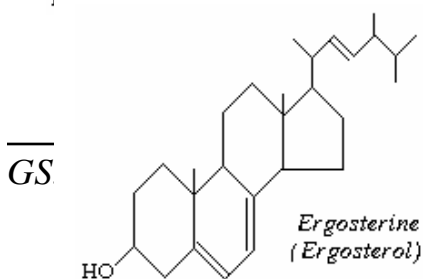
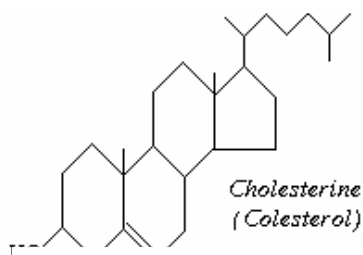
Cyclopentanoperhydrophenantrene

Sterin (hay sterol) là những steroid có chứa chức rượu. Chức rượu này thường gắn tại vị trí C₃. Còn tại vị trí C₁₇ thường gắn một mạch n/hánh chứa 8-10 nguyên tử carbon. Phần lớn steroid chứa hai nhóm CH₃ với ký hiệu C₁₈ và C₁₉.

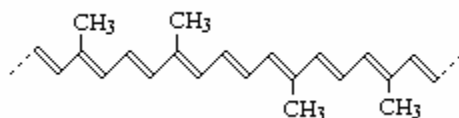
Cholestanol có thể được xem là một sterine điển hình về phương diện cấu trúc, mặc dù hàm lượng của nó trong cơ thể động vật không cao.



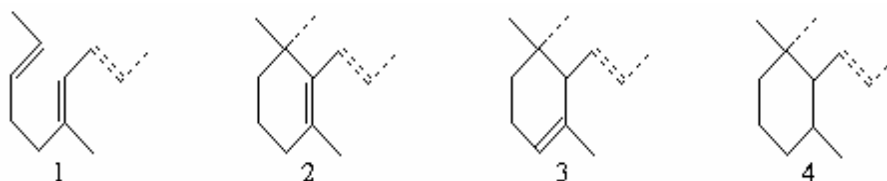
Dẫn xuất dehydrogen hóa của cholestanol là cholesterine (cholesterol). Nó đóng vai trò quan trọng trong cấu trúc và hoạt động chức năng của màng tế bào động, thực vật. Ngoài ra, cholesterine còn chiếm vị trí hàng đầu trong trao đổi steroid. Từ nó tế bào động vật tổng hợp nên các hợp chất steroid có hoạt tính sinh học rất quan trọng như acid mật, các hormone tuyến thượng thận (cortisol, corticosterone, androsterone), hormone tuyến sinh dục đực (testosterone, androstenedione, androsterone) và hormone sinh dục cái (estrone, estradiol, estradiol, progesterone).



tổ màu vàng, da cam và đỏ. Cấu trúc polyisoprenoid của nhóm sắc tố này trong đa số trường hợp bao gồm 40 nguyên tử carbon. Mạch polyisoprenoid của nhiều sắc tố được kết thúc ở hai đầu bằng các vòng ionone, còn ở một số sắc tố khác hai đầu vẫn ở trạng thái mạch hở. Phần trung tâm của phân tử caroteneoid gồm 16 nguyên tử carbon tạo thành một mạch liên kết tiếp hợp và 4 nhóm methyl:



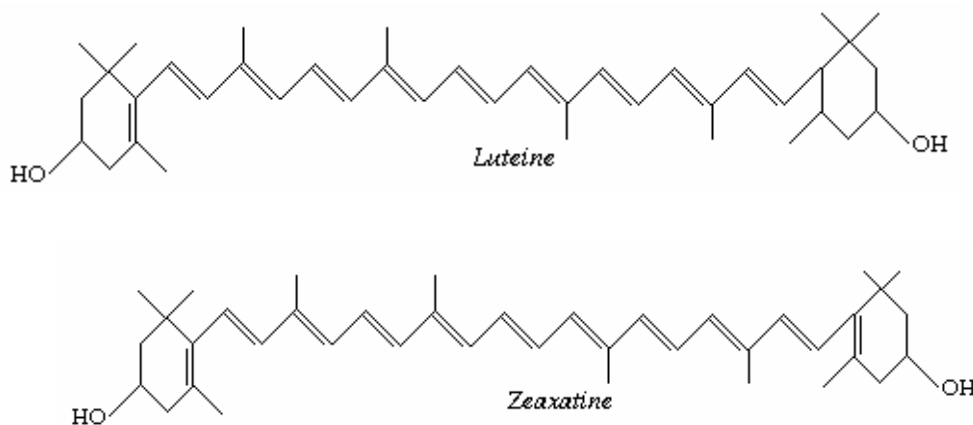
Các nhóm tận cùng gắn ở hai đầu của mạch trung tâm này ở các caroteneoid khác nhau có cấu trúc khác nhau. Ví dụ, ở lycopine hai đầu có kiểu cấu trúc (1-1), ở γ -carotene - (1-2), ở α -carotene - (2-3), ở β -carotene - (2-2), ở epiquinone - (2-4), ở cantaxantine - (4-4)...

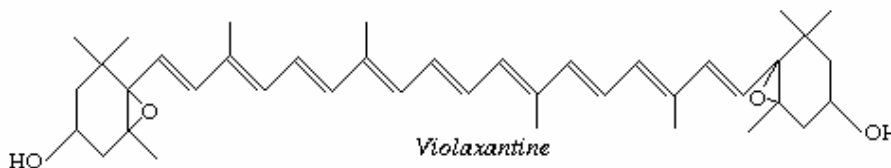


Do chứa một lượng lớn các gốc kỵ nước nên caroteneoid thể hiện tính kỵ nước rất rõ. Chúng đều là những sắc tố tan trong lipid và hòa tan dễ dàng trong các dung môi hữu cơ không phân cực (benzene, ether petrol...) cũng như dung môi hữu cơ phân cực (ether ethylic, acetone...)

Trong lục lạp

Những caroteneoid chứa oxy được gọi chung là xanthophyll, trong đó ở một số đại diện oxy tồn tại ở dạng nhóm -OH, ví dụ trong luteine, zeaxantine; còn ở một số đại diện khác - ở dạng epoxide, ví dụ trong violaxantine.

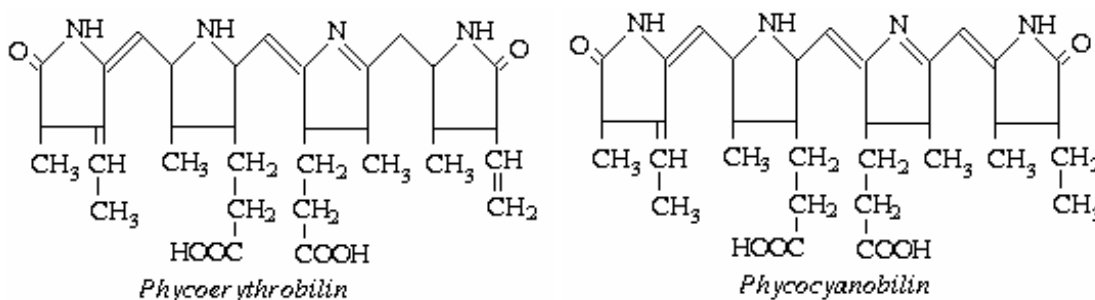




Trong tế bào quang hợp các caroteneoid khác nhau đóng vai trò hấp thụ ánh sáng bổ sung cho chlorophyll. Đồng thời, do đặc điểm hấp thụ các tia giàu năng lượng hơn các tia màu đỏ vốn được chlorophyll hấp thụ mạnh nhất, nên chúng còn có chức năng bảo vệ chlorophyll và các cấu trúc khác của tế bào khỏi bị “thiệt hại” bởi ánh sáng mặt trời. Các caroteneoid chứa oxy còn có thể tham gia các phản ứng quang phân nước. Một số caroteneoid có những chức năng hoàn toàn không liên quan đến quang hợp, vì chúng được phát hiện cả trong nấm và trong các mô, cơ quan không thực hiện quang hợp như cánh hoa, hạt phấn, túi phấn của một số loại hoa.

3. Phycobilin.

Rhodophyceae, Cyanophyceae và Cryptophyceae.



Phycobilin cũng được cấu tạo từ 4 vòng pyrrol nhưng không khép kín thành nhân porphyrine.

các phân dưới đơn vị này chỉ liên kết với một trong hai loại sắc tố để tạo ra phycoerythrin màu đỏ hoặc phycocyanin màu lam. Tuy nhiên, cũng có trường hợp cả hai loại sắc tố cùng có mặt trong một cấu tử protein nhưng một trong hai loại sẽ chiếm ưu thế.

Cùng với caroteneoid, phycobilin được xem là sắc tố hỗ trợ cho chlorophyll trong hoạt động quang hợp, mặc dù cũng có ý kiến cho rằng chúng hoạt động độc lập. Đặc điểm phân bố của chúng trong tự nhiên được giới thiệu trong bảng III.4.

Bảng III.4. Phân bố của các sắc tố quang hợp chủ yếu trong giới thực vật.

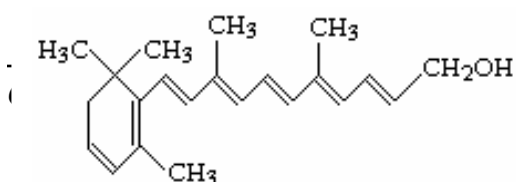
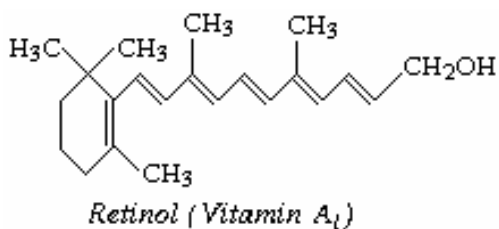
Cơ thể	Chlorophyll					Phycobilin		Caroteneoid
	a	b	c ₁	c ₂	d	Phycoerythri n	Phycocyani n	

Thực vật bậc cao, dương xỉ, địa y	+	+	-	-	-	-	-	α -Carotene, β -Carotene, Violaxantine, Neoxantine
Tảo Chlorophyceae	+	+	-	-	-	-	-	β -Carotene, Lutein, Violaxantine, Neoxantine
Euglenophyceae	+	+	-	-	-	-	-	β -Carotene, Neoxantine, Diadinoxantine
Phaeophyceae	+	-	+	+	-	-	-	β -Carotene, Fucoxantine, Violaxantine
Chrysophyceae	+	-	+	+	-	-	-	β -Carotene, Fucoxantine,
Xanthophyceae	+	-	-	-	-	-	-	β -Carotene, Neoxantine, Diadinoxantine
Baccillariophyceae	+	-	+	+	-	-	-	β -Carotene, Neoxantine, Diadinoxantine, Fucoxantine
Cryptophyceae	+	-	-	+	-	+	+	α -Carotene, β -Carotene, Alloxantin
Rhodophyceae	+	-	-	-	+	+++	+	α -Carotene, β -Carotene, Lutein, Zeaxantin
Cyanophyceae	+	-	-	-	-	+	+++	β -Carotene, Equinenone Micoxantine Zeaxantine
Prochlorophyceae (chi Prochloron)	+	+	-	-	-	-	-	β -Carotene, Zeaxantine

Ghi chú: dấu + hoặc – chỉ sự có mặt hay vắng mặt các sắc tố.

VII. VITAMIN TAN TRONG LIPID

1. Vitamin A.



Vitamin A có nhiều loại, nhưng quan trọng nhất là retinol, tức vitamin A₁. nó thường tồn tại ở dạng ester với acid β -glucuronic, tích lũy chủ yếu trong gan cá và các động vật biển khác. Tuy nhiên, nhu cầu vitamin A của người còn có thể được đáp ứng qua những thức ăn thực vật giàu carotene. Chất này còn được gọi là provitamin A, vì có thể bị oxy hóa dưới

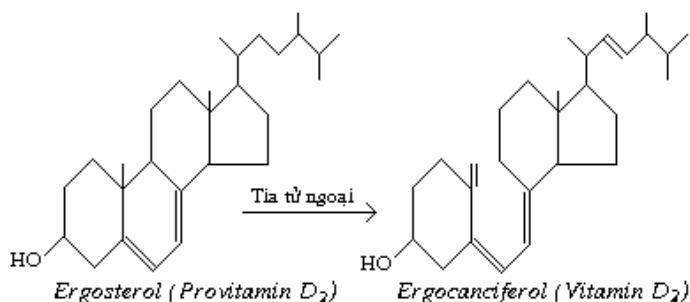
tác dụng của enzyme carotenease trong gan và niêm mạc ruột non thành retinol. So sánh cấu tạo phân tử của retinol với α -, β - và γ -carotene, ta sẽ thấy rõ khi oxy hóa một phân tử β -carotene sẽ tạo ra hai phân tử vitamin A₁, trong khi đó mỗi phân tử α - và γ -carotene chỉ cho một phân tử vitamin A₁.

Vitamin A₂ (dehydroretinol) là dạng oxy hóa của vitamin A₁. Nó được tích lũy trong gan và mỡ cá nước ngọt. Ngoài ra, trong gan cá voi còn có vitamin A₃.

Thiếu vitamin A đặc biệt nguy hiểm đối với trẻ em, vì lúc mới sinh chúng chưa tích lũy được vitamin này. Ở người lớn retinol có thể tích lũy trong gan đủ để cơ thể sử dụng trong vòng 2 năm. Thiếu vitamin A sẽ ảnh hưởng đến sinh hoạt bình thường của động vật, giảm sức đề kháng đối với vi trùng vì nó tham gia trong quá trình sinh tổng hợp lisozyme. Tuy nhiên, hiệu ứng phổ biến nhất của việc thiếu vitamin A là làm ảnh hưởng đến thị giác, gây bệnh khô mắt và quáng gà do nó đóng vai trò quan trọng trong cơ chế sinh tổng hợp sắc tố cảm quang rhodopsin.

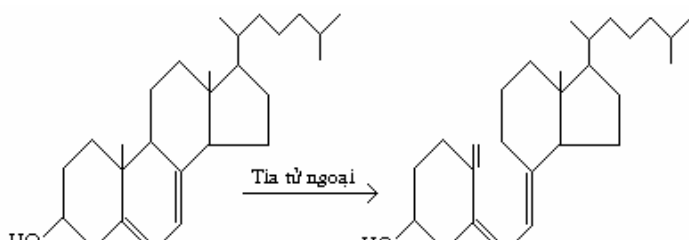
Thừa vitamin A cũng gây ra hàng loạt các bệnh nguy hiểm, ví dụ bệnh đùn xương.

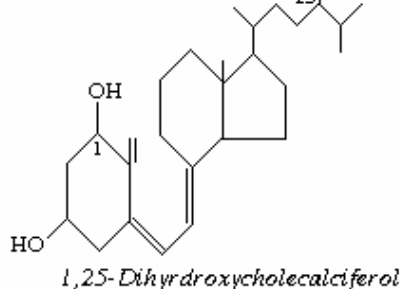
2. Vitamin D.



Vitamin D (calciferol) là một nhóm vitamin chống bệnh còi xương. Có 7 loại vitamin D, ký hiệu từ 1 đến 7, nhưng quan trọng nhất là vitamin D₂ (ergocalciferol) và vitamin D₃ (cholecalciferol) hình thành từ các dạng tiền thân tương ứng ergosterol và 7-dehydrocholesterol.

Provitamin D₃, tức 7-dehydrocholesterol, có mặt trong lớp mỡ dưới da của người. Dưới tác dụng của tia tử ngoại trong ánh sáng mặt trời nó sẽ biến thành cholecalciferol (vitamin D₃) với số lượng đủ để tiêu dùng hàng ngày (7-12 μ g). Ở trẻ em nhu cầu cao hơn (12-25 μ g). Khi thiếu vitamin D cần được bổ sung



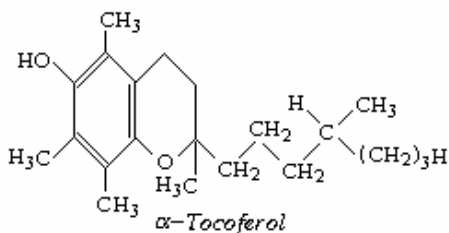


bằng nấm men (trong đó chứa nhiều ergosterol, tức provitamin D₂), dầu cá và một số thức ăn giàu vitamin D khác.

Trong cơ thể người và động vật vitamin D điều hòa quá trình hấp thụ Ca²⁺ trong đường ruột, điều hòa nội cân bằng Ca²⁺ trong máu và trao đổi calcium, phosphore trong quá trình tạo xương. Phần lớn chức năng không phải do chính vitamin D thực hiện, mà là do các sản phẩm oxy hóa của nó: 25-hydrocalciferol, 1,25-dihydrocholecalciferol, 1α-dihydro-cholecalciferol v.v... Những hợp chất này có hoạt tính sinh học cao hơn nhiều so với chính các vitamin D sản sinh ra chúng và thể hiện tất cả các tính chất của hormone steroid.

3. Vitamin E.

Vitamin E (tocopherol) có nhiều loại, phổ biến nhất là α-, β-, và γ-tocopherol. Nhóm vitamin này chỉ được tổng hợp ở thực vật. Chúng tích lũy chủ yếu trong hạt (lúa, lúa mì), trong dầu (ngô, bông, đậu tương, hướng dương...) và trong một số rau xanh.



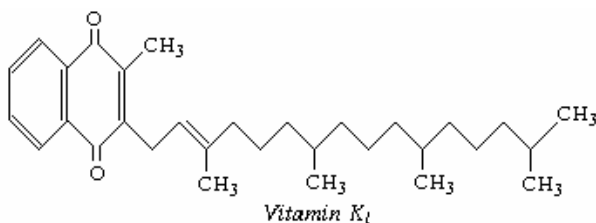
Ở động vật thiếu vitamin E không những ảnh hưởng đến khả năng sinh sản mà còn làm tổn thương cơ tim và các cơ khác, hệ tuần hoàn và hệ thần kinh. Cơ chế tác dụng của chúng không những liên quan với tác dụng chống oxy hóa để ngăn ngừa quá trình oxy hóa các acid béo không no trong các

cấu trúc màng mà còn liên quan với sinh tổng hợp enzyme, đặc biệt là hệ enzyme xúc tác quá trình tổng hợp hem.

Nhu cầu vitamin E ở người vào khoảng gần 5mg ở trẻ em và 10-15mg ở người lớn và nhiều hơn một ít ở phụ nữ có mang và cho con bú. Nhu cầu này dễ dàng được đáp ứng qua chế độ dinh dưỡng bình thường, vì vậy ở người ít xảy ra tình trạng thiếu vitamin E.

4. Vitamin K.

Vitamin K là một nhóm gồm nhiều vitamin có tác dụng làm đông máu. Loại vitamin K được phát hiện đầu tiên là phyloquinone mà ngày nay được gọi là vitamin K₁. Sau đó từ bột cá tách được nhóm vitamin K₂ (menaquinone) có mạch nhánh với chiều dài khác nhau bởi số lượng đơn vị isoprene.



Vitamin K cần cho người để quá trình đông máu xảy ra bình thường hoặc để tăng cường tốc độ đông máu khi cần thiết. Chúng

tham gia vào quá trình đông máu một cách trực tiếp, hoặc gián tiếp thông qua tổng hợp protrombine và các yếu tố đông máu khác.

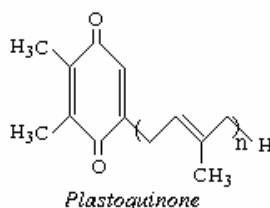
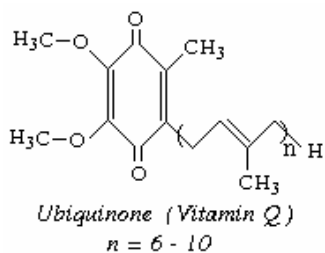
Ngoài ra, menaquinone còn tham gia một số quá trình oxy hóa khử, đặc biệt trong quang hợp, phosphoryl hóa oxy hóa, oxy hóa acid dihydroorotic thành acid orotic.

Ngoài vitamin K tự nhiên, (K_1 và K_2), còn có nhiều chất tương đồng được tổng hợp bằng phương pháp hóa học song lại có hoạt tính sinh học cao hơn. Chúng được ký hiệu từ K_3 đến K_7 .

Vitamin K có nhiều trong rau xanh. Ngoài ra, chúng còn được vi sinh vật đường ruột tiết ra với một lượng đáng kể. Vì vậy, thiếu vitamin K thường chỉ xảy ra với trẻ em mới sinh. Thiếu vitamin K ở người lớn chủ yếu do lạm dụng sulfamide và các chất kháng sinh, dẫn đến ức chế các vi sinh vật đường ruột có ích cho quá trình tiêu hóa thức ăn.

3. Ubiquinone và plastoquinone.

Ubiquinone còn được gọi là vitamin Q, hay coenzyme Q. Đó là một nhóm dẫn xuất của benzoquinone có mạch bên chứa 6-10 đơn vị isoprene (ký hiệu là vitamin Q_6 – Q_{10}). Chúng được tổng hợp trong cơ thể động vật, thực vật và vi sinh vật, là một trong những vitamin rất phổ biến trong tự nhiên. Nhờ cấu trúc mang tính kỵ nước nên chúng tập trung ở màng trong của ti thể, vi thể, bộ máy Golgi, cùng với vitamin K_2 tham gia vào hoạt động hô hấp của cơ thể bậc cao và vi sinh vật, đảm bảo việc hấp thụ oxy, vận chuyển điện tử và phosphoryl hóa oxy hóa trong ti thể.



Plastoquinone với cấu tạo tương tự ubiquinone có vai trò quan trọng trong quang hợp với tư cách một chất vận chuyển điện tử.

Vitamin Q còn có vai trò quan trọng trong việc ổn định cấu trúc màng, trong

đó, tương tự như tocoferol nhưng thường có hiệu suất cao hơn, chúng ngăn ngừa quá trình oxy hóa các acid béo không no.

Trong điều kiện bình thường ubiquinone được tổng hợp trong cơ thể người đủ cho nhu cầu, nhưng khi đói protein hoặc đói năng lượng ở trẻ em xuất hiện triệu chứng thiếu máu hoặc tổn thương não tủy. Vitamin này cũng cần cho sự phát triển bình thường của phôi do kích thích sự hình thành hồng cầu và được sử dụng rộng rãi trong y học để kích thích ti thể cơ tim khi bị bệnh tim mạch và loạn dinh dưỡng cơ. Ngược lại, ở các bệnh nhân ung thư có nồng độ vitamin Q cao người ta thường dùng các chất kháng sinh antraxylene vốn có tác dụng kháng vitamin Q để điều trị.

VIII. PHÂN GIẢI LIPID

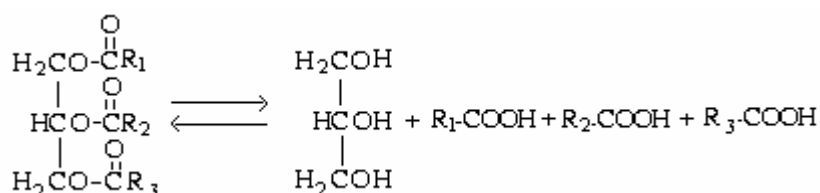
1. Phân giải lipid trung tính.

Lipid chiếm từ 10 đến 20% trọng lượng cơ thể động vật có vú, trong đó thành phần chủ yếu là lipid trung tính (triacylglycerol). Loại lipid này có mặt trong tất cả các cơ quan, đặc biệt là trong các mô dự trữ. Trong quá trình tiến hóa của sinh giới nó đã tỏ ra thích hợp với chức năng dự trữ năng lượng, vì trong mỗi phân tử của nó chứa đến 3 gốc acid béo với mức độ khử cao, do đó khi bị oxy-hóa, những acid béo này sản sinh ra nhiều năng lượng hơn bất kỳ một nhóm hợp chất nào khác. Ví dụ mức năng lượng dự trữ để huy động của lipid trong cơ thể con người cao hơn gấp 100 lần so với glucid.

Thành phần của lipid dự trữ biến động ở các loài khác nhau, song trong phạm vi mỗi loài thì thường khá giống nhau. Hơn 99% lipid dự trữ tích lũy trong các mô của người là triacylglycerol, bất kể nó được tích lũy ở đâu. Nói chung, lipid dự trữ giàu acid béo no hơn lipid trong gan. Càng giàu acid béo no thì khi bị oxy-hóa nó càng sản sinh nhiều năng lượng.

Triacylglycerol không chỉ có chức năng cung cấp năng lượng cho các quá trình hoạt động sống mà còn cung cấp nguyên liệu để tổng hợp hàng loạt các hợp chất khác nhau trong tế bào.

Dưới tác dụng của enzyme lipase, triacylglycerol bị thủy phân thành glycerol và acid béo.



Glycerol sau đó được lôi cuốn vào quá trình glycolys sau khi được hoạt hóa thành glycerol-3-phosphate nhờ glycerokinase.



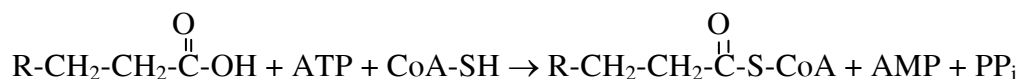
Sau đó glycerol-3-phosphate bị oxy hóa thành glyceraldehyde-3-phosphate. Sự chuyển hóa tiếp theo có thể xảy ra theo hai hướng: tiếp tục bị oxy hóa theo con đường

glycolis và chu trình Crebs thành CO₂ và H₂O, hoặc bằng các phản ứng ngược với glycolis để tổng hợp glucose và các monosaccharide khác. Trong khi đó acid béo bị oxy-hóa bằng các con đường khác nhau mà chúng ta sẽ lần lượt tìm hiểu sau đây.

2.Oxy-hóa acid béo.

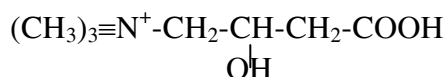
a/ *β*-Oxy-hóa acid béo no có số nguyên tử carbon chẵn.

Quá trình *β*-oxy-hóa được bắt đầu bằng một phản ứng chuẩn bị, trong đó acid béo được chuyển thành dạng hòa tan trong nước là acyl-CoA, trong đó các nguyên tử hydro *α*- của gốc acid được hoạt hóa:



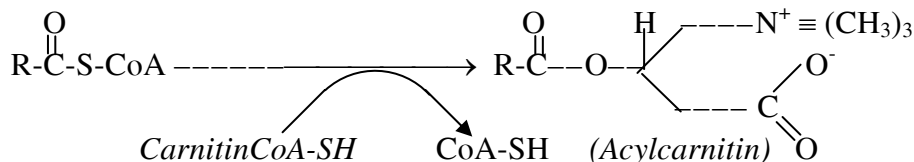
Phản ứng này được xúc tác bởi nhóm enzyme hoạt hóa acid béo gồm acetate thiolase và các acyl-CoA synthetase. Nhóm enzyme này bao gồm ít nhất hai loại: loại thứ nhất đặc hiệu đối với những chuỗi hydrocarbon có chiều dài trung bình (4-12 nguyên tử carbon); loại thứ hai đặc hiệu cho những chuỗi dài hơn. Ngoài ra, trong ty thể còn có một loại acyl-CoA synthetase hoạt động với sự tham gia của GTP, nhưng khác với các enzyme hoạt hóa khác, trong phản ứng hai phân tử GTP lần lượt bị phân giải thành 2 GDP và 2 P_i.

Một trong những yếu tố xác định tốc độ oxy-hóa acid béo là tốc độ xuyên thủng của chúng vào ty thể. Trong khi một số acid béo (khoảng 30% acid béo tổng số) tự chúng có thể xuyên thủng vào ty thể và trong matrix của bào quan này sẽ được hoạt hóa thành acyl-CoA, thì phần lớn acid béo có mạch carbon dài hơn không chui qua được màng trong của ty thể và do đó cần phải được hoạt hóa ngay sau khi xuyên qua được màng ngoài của ty thể. Sau đó những acyl-CoA này sẽ di chuyển qua lớp màng trong của ty thể nhờ liên kết tạm thời với một chất vận chuyển là *carnitine* (*τ*-trimethyl-amino-*β*-oxybutyrate).



Carnitine

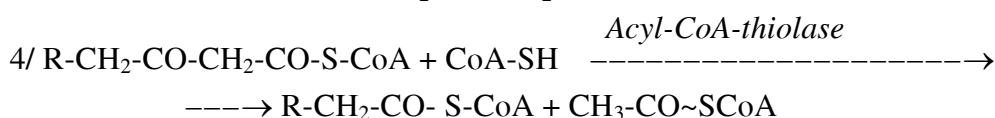
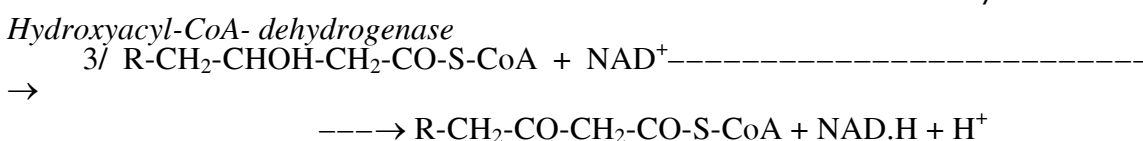
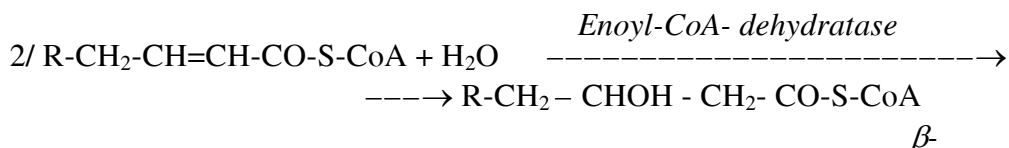
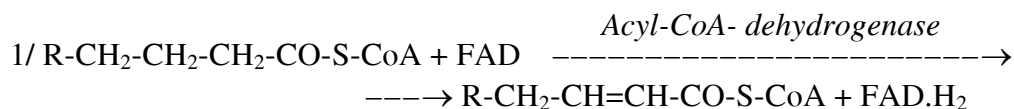
Carnitine có mặt hầu như trong mọi cơ thể và trong tất cả các mô động thực vật. Nhờ một acyl transferase đặc hiệu, gốc acyl của acyl-CoA được chuyển cho nhóm -OH của *carnitine*, tạo nên acylcarnitine:



Người ta cho rằng acyl-carnitine dễ xuyên qua màng hơn acyl-CoA vì các điện tích âm và dương nằm gần nhau hơn và dễ trung hòa nhau. Sau khi đi vào matrix của

ty thể và trước khi bắt đầu quá trình β -oxy-hóa, nhóm acyl lại được chuyển về cho CoA-SH.

Quá trình β -oxy-hóa acid béo no được thực hiện qua 4 phản ứng kế tiếp sau đây:



Trước tiên, trong phản ứng (1), acyl-CoA bị oxy-hóa với sự xúc tác của acyl-CoA dehydrogenase mà coenzyme là FAD. Trong phản ứng này các nguyên tử H tại các vị trí α - và β - được FAD lấy đi. Kết quả là hình thành một dẫn xuất không no enoyl-CoA. Tiếp theo, trong phản ứng (2) enoyl-CoA bị hydrate hóa, trong đó nhóm -OH được gắn tại vị trí β -, còn nguyên tử hydro - tại vị trí α -. Kết quả tạo ra L- β -oxyacyl-CoA. Trong phản ứng (3) chức rượu tại vị trí β - bị oxy-hóa bởi β -oxyacyl-CoA dehydrogenase với coenzyme là NAD^+ , dẫn đến sự hình thành β -cetoacyl-CoA. Cuối cùng, trong phản ứng (4) với sự xúc tác của acyl-CoA-thiolase và một phân tử CoA-SH tự do mạch cetoacyl-CoA bị cắt giữa C- α và C- β để tạo ra acetyl-CoA và một acyl-CoA mới ngắn hơn acyl-CoA ban đầu 2 nguyên tử carbon. Nó lại sẽ tiếp tục bị oxy-hóa theo trật tự 4 phản ứng trên để tạo ra phân tử acetyl-CoA thứ hai. Quá trình này sẽ tiếp tục cho đến khi toàn bộ phân tử acyl-CoA với 2n nguyên tử carbon bị phân giải thành n phân tử acetyl-CoA.

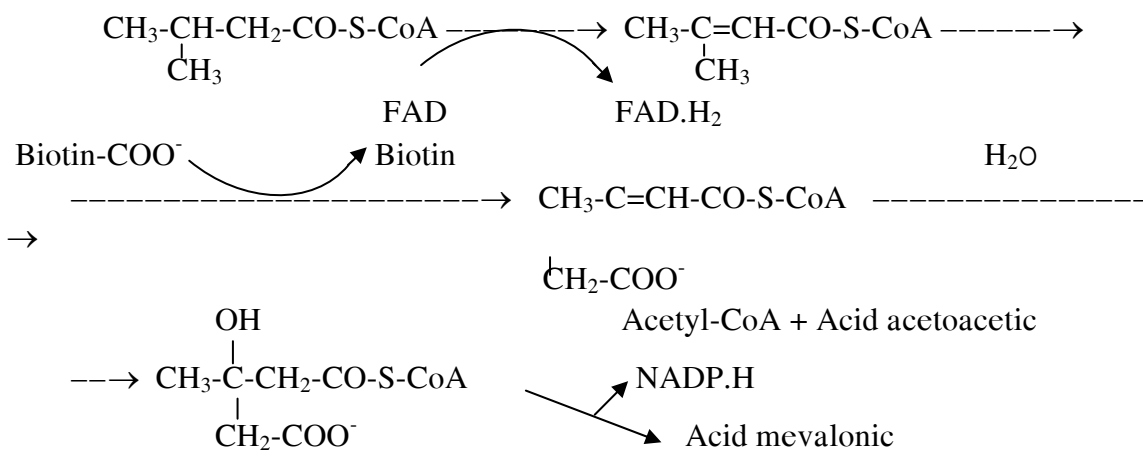
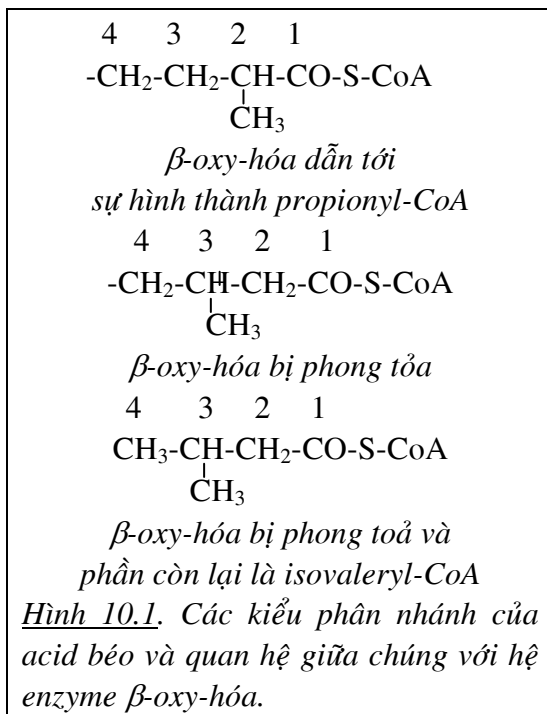
Qua trật tự các phản ứng trên ta thấy cùng với việc rút ngắn một đơn vị acetyl-CoA (C_2) từ phân tử acid béo cơ chế β -oxy-hóa cho phép tạo ra một phân tử NAD.H và một phân tử FAD.H₂. Một phân tử acetyl-CoA trong chu trình acid tricarboxylic sẽ tạo ra thêm 1 ATP, 3 NAD.H và 1 FAD.H₂. Trong chuỗi hô hấp toàn bộ số coenzyme khử này sẽ tạo ra 16 phân tử ATP. Như vậy, 17 phân tử ATP hình thành khi một đơn vị C_2 của acid béo bị oxy-hóa hoàn toàn thành khí carbonic và nước. Mạch acid béo càng dài thì trong β -oxy-hóa càng tạo ra nhiều acetyl-CoA, và do đó khi bị oxy-hóa hoàn toàn sẽ sản sinh ra càng nhiều năng lượng hơn. Tuy nhiên, acetyl-CoA sau khi

hình thành có thể không bị oxy-hóa tiếp tục theo chu trình acid tricarboxylic mà được dùng cho các mục đích sinh tổng hợp theo trật tự các phản ứng của chu trình glyoxilate.

b/ Oxy-hóa acid béo no có số nguyên tử carbon lẻ.

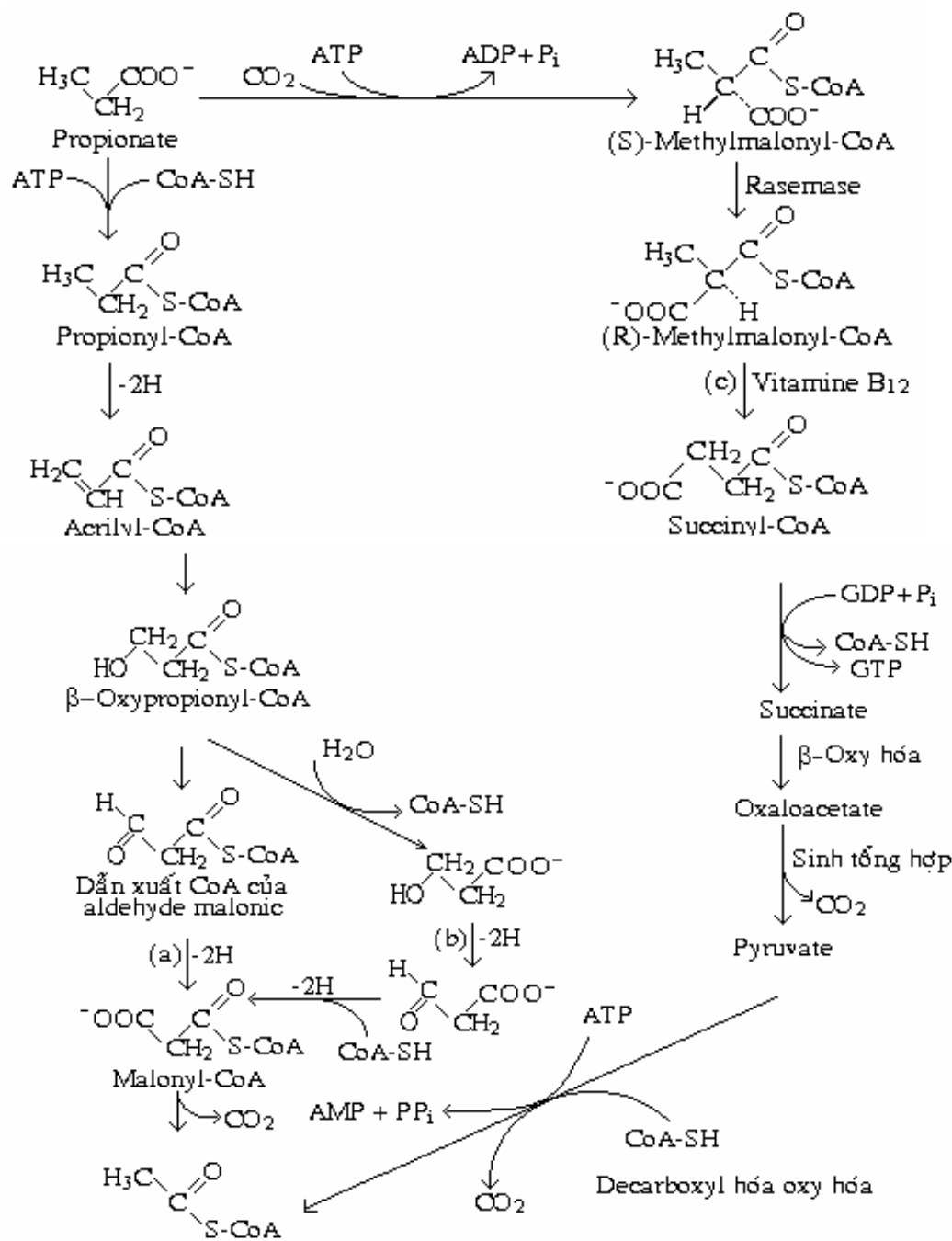
Phần lớn acid béo chứa trong các mô của cơ thể người, động vật và thực vật có số chẵn nguyên tử carbon và mạch carbon không phân nhánh. Tuy nhiên, trong một số vi sinh vật và trong sáo thường gặp các acid béo có cấu trúc phân nhánh, chủ yếu bởi các nhóm CH₃ (hình 10.1). Nếu mức độ phân nhánh không nhiều và mọi điểm phân nhánh

đều nằm tại vị trí chẵn (tính từ đầu carboxyl) thì quá trình β-oxy-hóa xảy ra bình thường. Khi mạch acid béo bị phân hủy, bên cạnh acetyl-CoA còn tạo ra propionyl-CoA. Nếu các nhóm methyl nằm tại các vị trí lẻ thì quá trình β-oxy-hóa bị phong tỏa sau khi thực hiện phản ứng acyl-CoA dehydrogenase. Trong trường hợp này nếu nhóm methyl của mạch nhánh nằm sát đầu tận cùng đối diện thì sẽ dẫn đến sự hình thành isovaleryl-CoA. Sự chuyển hóa tiếp tục của isovaleryl-CoA hiện nhờ trật tự được thực hiện nhờ trật tự các phản ứng sau:



Acid mevalonic là sản phẩm trung gian của nhiều quá trình sinh tổng hợp, trong đó có quá trình sinh tổng hợp các hợp chất steroid. Sự chuyển hóa tiếp tục của acid acetoacetic sẽ được xem xét sau.

Propionyl-CoA hình thành trong quá trình β -oxy-hóa không những các acid béo có mạch carbon phân nhánh trong trường hợp mô tả trên đây mà nói chung các acid béo có số lẻ nguyên tử carbon. Ngoài ra, gốc propionyl 3 carbon cũng xuất hiện khi phân hủy các isoprenoid, các aminoacid isoleucine, threonine và methionine. Hơn nữa, con người còn cần sử dụng một lượng nhỏ acid propionic vốn có mặt trong một số thực phẩm. Propionate cũng được cho vào bánh mỳ để ngăn cản sự phát triển của nấm mốc. Đặc biệt đối với động vật nhai lại propionate là một nguồn năng lượng quan trọng do nó được vi khuẩn phân giải cellulose trong dạ dày tạo ra cùng với acetate và butyrate.



HÌNH 10.2. CÁC CON ĐƯỜNG DI HÓA PROPIONATE VÀ

c/ β -Oxy-hóa acid béo không no.

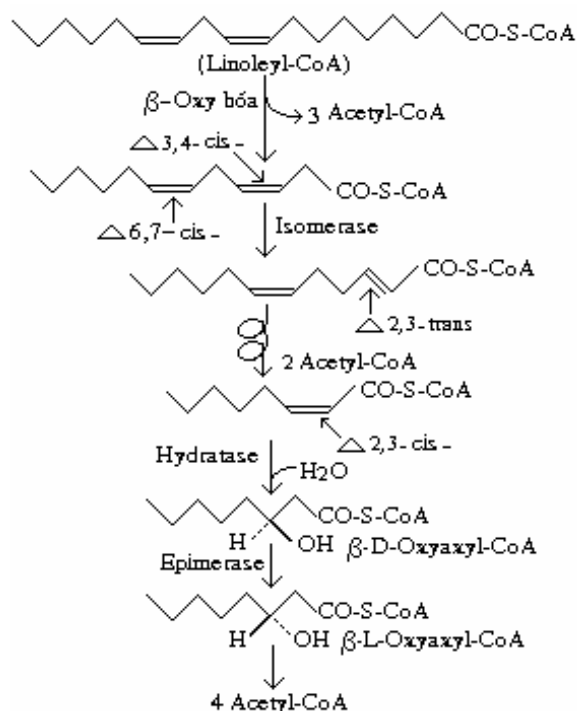
1/ Nhờ các phản ứng β -oxy-hóa của con đường (a) dẫn đến sự hình thành dẫn xuất CoA của semialdehyde malonic để tiếp tục bị oxy hóa thành malonyl-CoA và cuối cùng bị decarboxyl-hóa thành acetyl-CoA.

2/ Ở thực vật và nhiều vi sinh vật β -Oxypropionyl-CoA vốn hình thành trong các phản ứng β -oxy-hóa không chuyển hóa thành dẫn xuất CoA của semialdehyde malonic mà theo con đường (b) bị thủy phân thành β -oxypropionate để sau đó bị oxy-hóa thành semialdehyde malonic rồi từ đó theo đoạn cuối cùng của con đường (a) chuyển hóa thành acetyl-CoA.

3/ Mặc dù β -oxy-hóa là một con đường đơn giản, ở động vật bậc cao còn tồn tại một con đường (c) phức tạp hơn với sự tham gia của vitamine B₁₂. Nó được bắt đầu bằng phản ứng carboxyl-hóa propionate phụ thuộc biotin và ATP. (S)-methylmalonyl-CoA hình thành trong phản ứng này sau đó chuyển thành dạng đồng phân (R)-methylmalonyl-CoA. Chất này tiếp tục chuyển hóa thành succinyl-CoA với sự tham gia của vitamine B₁₂.

Tách CoA-SH ra khỏi succinyl-CoA sẽ giải phóng succinate tự do, đồng thời tạo ra một phân tử ATP để bù lại phân tử ATP đã sử dụng. Succinate bằng con đường β -oxy-hóa biến thành oxaloacetate rồi bị decarboxyl-hóa thành pyruvate. Cuối cùng bằng phản ứng decarboxyl-hóa pyruvate sẽ chuyển hóa thành acetyl-CoA.

Acid béo không no cũng bị phân hủy chủ yếu bằng con đường β -Oxy-hóa với sự tham gia của hai enzyme bổ sung (hình 10.3). Ta hãy lấy acid linoleic làm ví dụ. Sau 3



vòng β -oxy hóa, cùng với 3 phân tử acetyl-CoA sẽ xuất hiện $\Delta^{3,4}$ -cis- $\Delta^{6,7}$ -cis-enoyl-CoA. Một isomerase đặc hiệu (Δ^3 -cis- Δ^3 -trans-enoyl-CoA isomerase) chuyển dẫn xuất không no này thành $\Delta^{2,3}$ -trans- $\Delta^{6,7}$ -cis-enoyl-CoA, tạo điều kiện để β -oxy hóa tiếp tục được thực

hiện. Cấu tiếp 2 phân tử acetyl-CoA nữa sẽ dẫn đến tình trạng là liên kết đôi thứ hai với cấu hình cis- chuyển tới vị trí $\Delta^{2,3}$. Enzyme enoyl-CoA hydratase của β -oxy hóa gắn thêm phân tử nước vào chất này, làm xuất hiện β -oxyacyl-CoA với cấu hình D. Nhờ một epimerase đặc hiệu nó được chuyển thành dạng L để β -oxy hóa lại được tiếp tục.

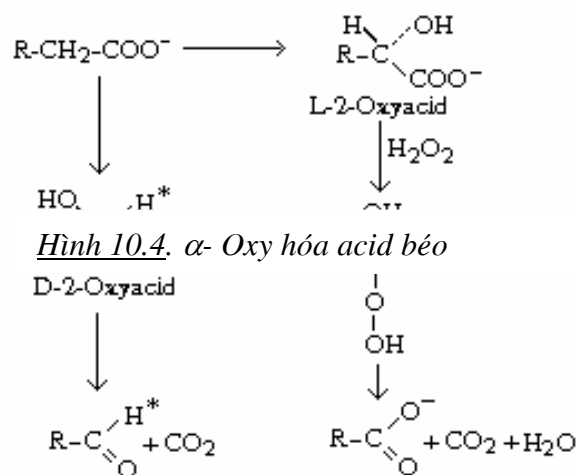
d/ α - và ω -Oxy hóa

Trong các mô động vật quá trình phân hủy acid béo được thực hiện chủ yếu bằng con đường β -oxy hóa. Tuy nhiên trong các tế bào thực vật, đặc biệt là trong hạt nảy mầm

oxy hóa acid béo thường được thực hiện theo cơ chế α -oxy hóa, tức bằng cách tách

lần lượt các đoạn 1C. Chi tiết của cơ chế này chưa được sáng tỏ, nhưng người ta biết được rằng giai đoạn đầu của nó thường là hydroxyl hóa carbon - để tạo ra D- hoặc L-oxyacid (hình 10.4). L-2-Oxyacid tiếp tục bị oxy hóa để dàng có lẽ bằng con đường dehydrogen hóa để tạo ra α -cetoacid và sau đó decarboxyl hóa chất này với sự tham gia của H_2O_2 .

Trong khi đó D-oxyacid có xu hướng tích lũy và thường có mặt trong lá xanh. Tuy nhiên, chúng cũng có thể bị oxy hóa nhưng giữ lại nguyên tử hydro có dấu (*). Điều đó cho thấy có một con đường dehydrogen hóa khác vốn xảy ra đồng thời với quá trình decarboxyl hóa.



Hình 10.4. α -Oxy hóa acid béo

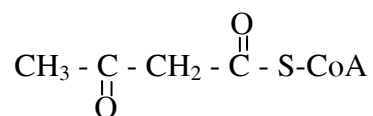
Hình 10.4. α -Oxy Hóa acid béo

α -Oxy-hóa ở mức độ nào đó cũng xảy ra trong các mô động vật, đặc biệt là trong não. Trong những trường hợp β -oxy-hóa bị phong tỏa do các nhóm $-\text{CH}_3$ trong mạch nhánh thì α -oxy-hóa sẽ là một con đường vòng để khắc phục sự phong tỏa này.

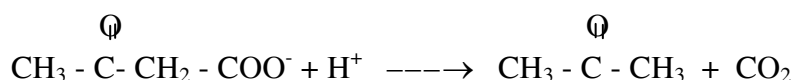
Các acid béo có chiều dài trung bình, và trong một số trường hợp, các acid béo có chuỗi carbon dài hơn có thể trải qua quá trình ω -oxy-hóa để tạo ra các dẫn xuất hydroxyacid; những dẫn xuất này sau đó thường chuyển hóa thành các acid α -, ω -dicarboxylic. Trật tự các phản ứng này được thực hiện với sự xúc tác của các enzyme trong vi thể của gan mà enzyme đầu tiên là một monooxygenase mà hoạt động của nó cần sự tham gia của NADP, O_2 và cytochrome P₄₅₀. Sau khi hình thành, những acid dicarboxylic này có thể bị cắt ngắn từ một trong hai đầu của chúng bằng cơ chế β -oxy-hóa.

3. Thể cetone.

Khi acid béo có số chẵn nguyên tử carbon bị phân hủy bằng con đường β -oxy-hóa thì sản phẩm trung gian cuối cùng trước khi chuyển hóa hoàn toàn thành acetyl-CoA là hợp chất 4C acetoacetyl-CoA:



Trong cơ thể chất này là một sản phẩm trung gian quan trọng và có lẽ tồn tại trên một thế cân bằng với acetyl-CoA. Nó không chỉ có thể bị phân giải thành 2 phân tử acetyl-CoA để đi vào chu trình acid tricarboxylic mà còn là một chất tiền thân quan trọng trong quá trình tổng hợp các hợp chất isoprenoid, trong đó có cholesterol. Ngoài ra, acid acetoacetic cũng có ý nghĩa rất quan trọng vì là một trong các thành phần của máu. Khi cần thiết, nó sẽ bị decarboxyl-hóa thành acetone nhờ acetoacetate decarboxylase:



Nó cũng có thể bị khử nhờ một dehydrogenase phụ thuộc NAD.H thành acid L-3-oxybutyric. Cần lưu ý là cấu hình của chất này ngược với cấu hình của D-3-oxybutyryl-CoA vốn hình thành trong quá trình β -oxy-hóa acid béo.

Tất cả 3 hợp chất: acetoacetate, acetone và 3-oxybutyrate đều có tên chung là thể cetone. Nồng độ của chúng trong máu tăng đáng kể trong nhiều trường hợp bệnh lý khác nhau, đặc biệt là khi bị bệnh tiểu đường, cũng như khi nhịn đói. Việc tăng nồng độ các thể cetone rất nguy hiểm đối với cơ thể vì nó kèm theo hiện tượng giải phóng ion H^+ , làm cho máu bị acid hóa.

Mặt khác, acetoacetate và oxybutyrate là những nguồn năng lượng quan trọng cho hoạt động của cơ và các mô khác trong những trường hợp thiếu glucid. Để sử dụng thể cetone làm nguồn năng lượng, cần phải chuyển hóa chúng thành acetyl-CoA:

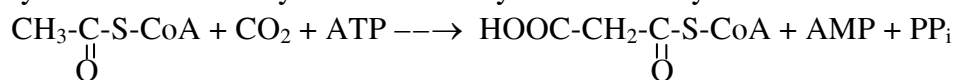
IX. SINH TỔNG HỢP ACID BÉO.

1. Sinh tổng hợp acid béo no.

Acid béo no được tổng hợp trong tế bào nhờ sự xúc tác của một hệ thống enzyme gắn liền với một chất mang acyl đặc hiệu có tên là acyl carrier protein, thường được ký hiệu là ACP, hay ACP-SH để lưu ý sự tồn tại của nhóm -SH trong phân tử của nó.

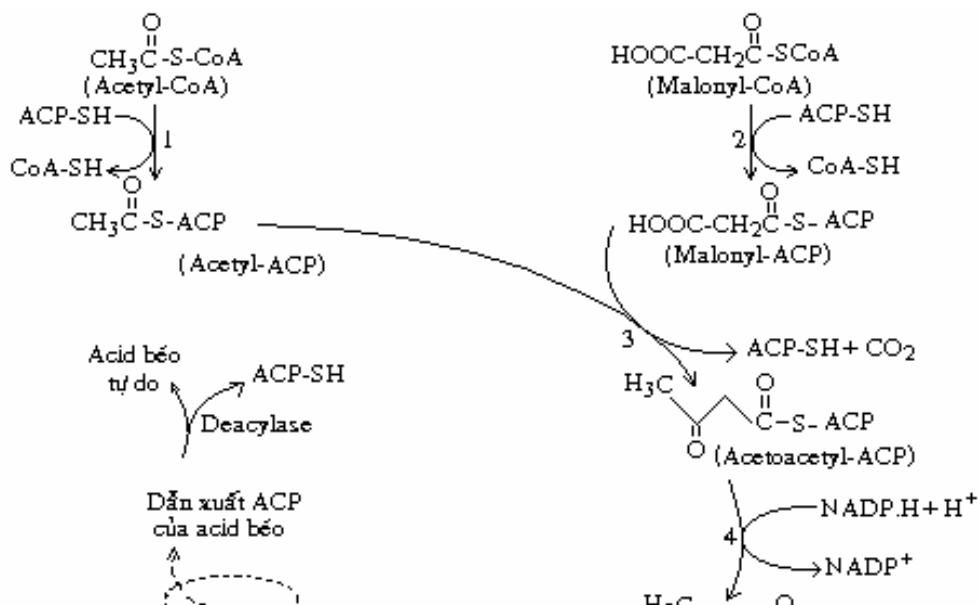
Nguyên liệu để tổng hợp acid béo là acetyl-CoA vốn hình thành trong ty thể do β -oxy-hóa acid béo hoặc do decarboxyl-hóa acid pyruvic hoặc từ một số nguồn khác. Các phân tử acetyl-CoA được vận chuyển ra tế bào chất nhờ kết hợp với oxaloacetate để tạo ra citrate. Chất này ra khỏi ty thể nhờ một cơ chế vận chuyển đặc biệt để rồi lại bị phân giải thành acetyl-CoA và oxaloacetate nhờ một enzyme phụ thuộc ATP.

Mặc dù nguyên liệu để tổng hợp acid béo là acetyl-CoA, song trước hết nó cần được carboxyl-hóa thành malonyl-CoA nhờ acetyl-CoA carboxylase:



Sau đó quá trình sinh tổng hợp acid béo được bắt đầu bằng trật tự 6 phản ứng mô tả trong hình 10.6.

Trong các phản ứng (1) và (2) acetyl-CoA và malonyl-CoA nhờ các enzyme vận chuyển tương ứng acetyl transacylase và malonyl transacylase chuyển hóa thành acetyl-ACP và malonyl-ACP. Hai chất này trong phản ứng (3) kết hợp với nhau nhờ β -cetoacyl-ACP synthetase thành sản phẩm 4C acetoacetyl-ACP, đồng thời giải phóng CO_2 . Acetoacetyl-ACP dưới tác dụng của β -cetoacyl-ACP reductase với coenzyme là NADP.H bị khử trong phản ứng (4) thành D- β -oxybutyryl-ACP. (Cần lưu ý rằng trong β -oxy-hóa β -oxybutyryl-CoA có cấu hình L). Trong phản ứng (5) với sự xúc tác của enoyl-ACP hydratase β -oxybutyryl-ACP bị dehydrate-hóa thành sản phẩm không no crotonyl-ACP. Cuối cùng, trong phản ứng (6) xúc tác bởi crotonyl-ACP reductase với coenzyme là NADP.H crotonyl-ACP sẽ bị khử thành butyryl-ACP.



Hình 10.6. Sơ đồ sinh tổng hợp acid béo

Butyryl-ACP lại kết hợp với malonyl-ACP theo cơ chế của phản ứng (3) và quá trình được lặp lại như trên, làm cho phân tử acid béo nối dài thêm một đoạn 2 carbon nữa, tạo ra một acyl-ACP chứa 6 carbon (C₆). Khi phân tử acyl-ACP đạt được chiều dài cần thiết, ACP-SH sẽ được tách khỏi gốc acid béo nhờ enzyme thủy phân deacylase.

Trong phức hệ multienzyme tổng hợp acid béo của tế bào eucaryote ACP-SH chiếm vị trí trung tâm và tiếp xúc trực tiếp với 6 enzyme còn lại (hình V.8). Coenzyme của ACP-SH bao gồm phosphopantotenate và β -mercaptoethylamin. Thông qua gốc phosphate của phosphopantotenate, coenzyme này liên kết ester với gốc serine của chuỗi polypeptide (Ở E. coli chuỗi polypeptide này chứa 77 gốc aminoacid và gốc serine thứ 36 gắn với coenzyme). Trong khi đó nhóm -SH của mercaptoethylamine liên kết với cơ chất và với các sản phẩm trung gian trong quá trình sinh tổng hợp. Bằng cách đó các coenzyme của ACP-SH làm nhiệm vụ như một cánh tay để chuyển giao các sản phẩm trung gian từ enzyme này đến enzyme khác. Các sản phẩm trung gian nhờ liên kết khá chặt chẽ với nhóm -SH tận cùng của ACP nên không bị chi phối bởi các quá trình trao đổi chất khác trong bào tương mà tại đó quá trình sinh tổng hợp acid béo được thực hiện.

Trong tế bào E. coli và vi khuẩn nói chung các enzyme của hệ thống synthetase acid béo chỉ thực hiện chức năng xúc tác một cách riêng lẻ.

Tốc độ sinh tổng hợp acid béo trong tế bào có lẽ được điều hòa bởi tốc độ hình thành triacylglycerine và glycerophospholipid, vì acid béo tự do không tích lũy trong tế bào với hàm lượng cao.

Bên cạnh cơ chế trên đây còn tồn tại một số cơ chế khác, chủ yếu để nối dài thêm mạch acid béo sẵn có 12-16 nguyên tử carbon: 1/ Trong ty thể mạch carbon của acyl-CoA được nối dài bằng cách kết hợp với acetyl-CoA theo cơ chế ngược với β -oxy-hóa, trừ phản ứng hydrogen-hóa liên kết đôi xảy ra với sự tham gia

của NADP.H chứ không phải của FAD.H₂. Hệ enzyme này của ty thể cũng có thể nối dài mạch carbon của acid béo không no. 2/ Trong vi thể tồn tại một hệ thống enzyme khác xúc tác quá trình nối dài mạch carbon của acid béo no và không no bằng cách gắn thêm các gốc acetyl từ malonyl-CoA. Phản ứng hydrogen-hóa liên kết đôi ở đây cũng được thực hiện nhờ NADP.H.

Để tổng hợp các acid béo có số nguyên tử carbon lẻ, propionyl- ACP sẽ thay thế cho acetyl-ACP tham gia phản ứng (3) với malonyl-ACP. Trong khi đó, nếu thay cho acetyl-ACP là các sản phẩm dị hóa của valine, leucine và isoleucine, ví dụ isobutyryl-ACP, isovaleryl-ACP và α - methylbutyryl-ACP, thì mạch acid béo được tổng hợp sẽ có cấu trúc phân nhánh tại đầu CH₃ tận cùng, tương tự như cấu trúc phân nhánh của chính những aminoacid này. Trong trường hợp methylmalonyl-ACP thay cho malonyl-ACP trong phản ứng (3) thì cấu trúc phân nhánh ở dạng các nhóm methyl sẽ có mặt tại các khu vực khác nhau của mạch acid béo.

Hình 10.7. *Phức hệ multienzyme synthetase acid béo trong tế bào eucaryote*

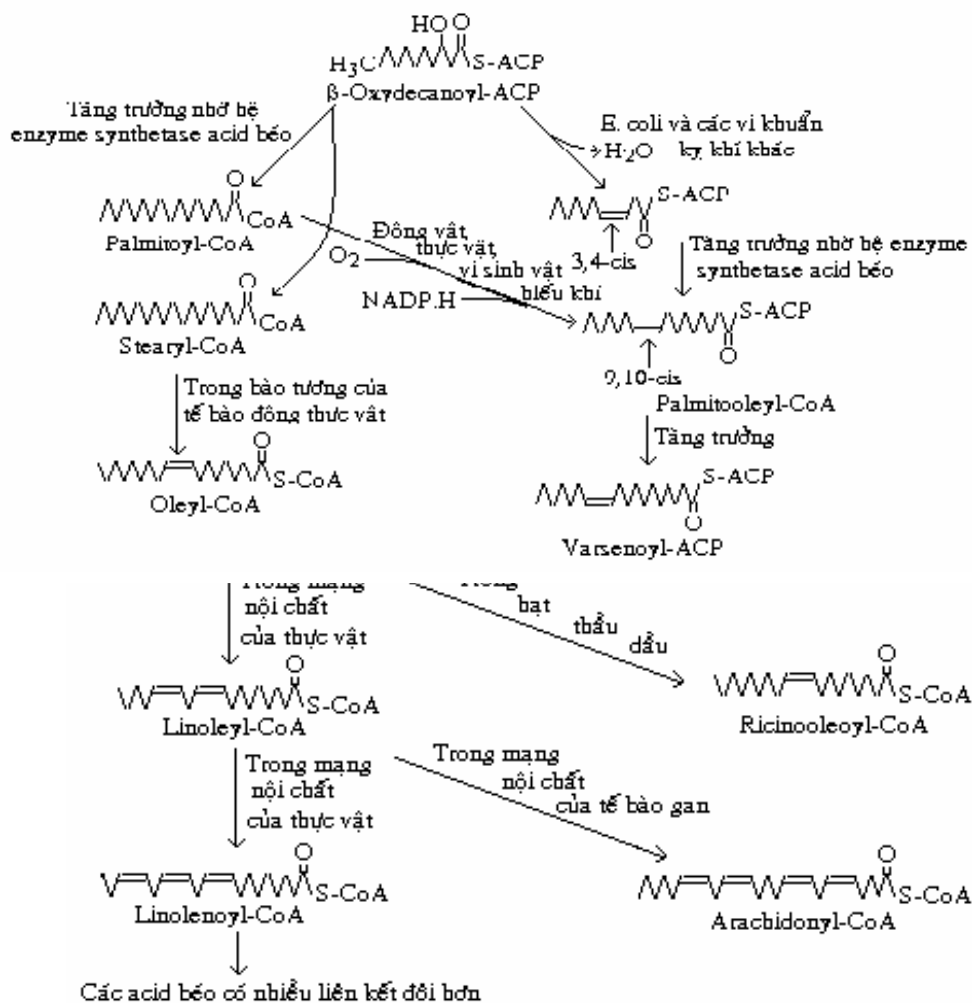
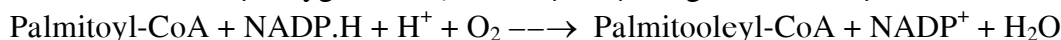
2. Sinh tổng hợp acid béo không no.

Ở các sinh vật khác nhau có các con đường khác nhau dẫn đến sự hình thành liên kết đôi trong acid béo không no. Liên kết đôi có thể hình thành ngay trong quá trình tăng trưởng mạch carbon hoặc sau khi quá trình tăng trưởng kết thúc (hình 10.8).

Ở E. coli và các vi khuẩn tương tự vốn sống trong điều kiện kỵ khí quá trình tổng hợp acid béo không no được thực hiện bằng cách tạo liên kết đôi ở giai đoạn hình thành β -oxydecanoyl-ACP chứa 10 nguyên tử carbon. Dưới tác dụng của β -

oxydecanoylthioester dehydratase nhóm β -hydroxyl được loại bỏ để tạo liên kết đôi với cấu hình $\Delta^{3,4}$ -cis- (chứ không phải $\Delta^{2,3}$ -trans- như xảy ra trong phản ứng (5) của sinh tổng hợp acid béo no). Sau đó nhờ hệ enzyme synthetase acid béo mạch carbon tiếp tục tăng trưởng để tạo ra palmitooyl-ACP (C_{16}) hoặc varsenoyl-ACP (C_{18}) rất phổ biến trong nhóm tế bào này.

Người ta cho rằng ở động vật, thực vật và phần lớn vi sinh vật hiếu khí acid béo không no chứa một liên kết đôi được hình thành từ các dẫn xuất coenzyme A của acid béo no nhờ một loại oxygenase đặc biệt định vị trong vi thể. Ví dụ:



Hình 10.8. Các con đường sinh tổng hợp acid béo không no.

Tính chất đặc biệt của phản ứng thể hiện ở chỗ phân tử oxy được dùng làm chất nhận hai cặp điện tử: một cặp từ cơ chất và một cặp từ coenzyme. Những enzyme loại này được gọi là "oxygenase có chức năng hỗn hợp".

Acid béo chứa nhiều liên kết đôi hình thành từ stearoyl-CoA. Trong tế bào chất của động vật và thực vật từ stearoyl-CoA tạo ra oleoyl-CoA. Sau đó từ axit béo

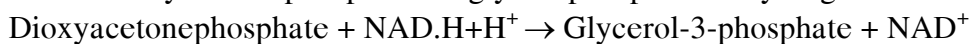
không no có một liên kết đôi này với sự tham gia của NADP.H, ferredoxin và O₂ tạo ra linoleoyl-CoA và linolenoyl-CoA cũng như các acid béo có nhiều liên kết đôi hơn. Ở động vật oleoyl-CoA không chuyển hóa được thành linoleoyl-CoA, vì vậy các acid béo không no chứa nhiều liên kết đôi như acid linoleic, acid linolenic, acid arachidonic không được tổng hợp trong cơ thể của chúng, do đó những acid béo này được gọi là "acid béo không thay thế", hay vitamin F.

X. SINH TỔNG HỢP TRIACYLGLYCERIN.

Triacylglycerin được tổng hợp từ L-glycerol-3-phosphate và các dẫn xuất coenzyme A của acid béo.

Glycerol-3-phosphate được hình thành từ hai nguồn khác nhau:

1/ Khử dioxyacetonephosphate do glycerophosphate dehydrogenase xúc tác:

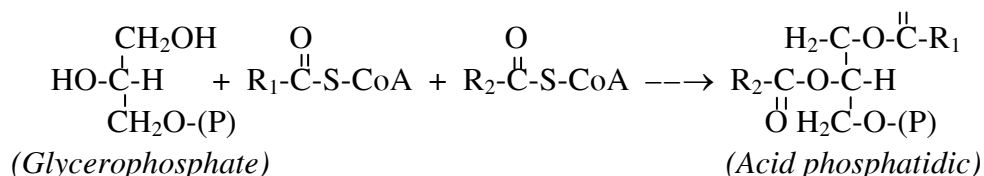


2/ phosphoryl-hóa glycerol nhờ glycerokinase:



Giai đoạn đầu của quá trình sinh tổng hợp triacylglycerin là phản ứng tổng hợp acid phosphatidic:

O



Ở một số vi sinh vật, ví dụ E. coli, acid béo tham gia phản ứng trên ở dạng dẫn xuất của ACP-SH.

Nhờ một phosphatase đặc hiệu acid phosphatidic loại bỏ gốc phosphate để trở thành diacylglycerin. Cuối cùng, chất này gắn thêm gốc acid béo thứ ba để tạo ra triacylglycerin.

Triacylglycerin được tổng hợp và tích lũy trong các mô dự trữ của động vật và thực vật. Trong cơ thể động vật quá trình tích lũy này được đẩy mạnh khi thức ăn có hàm lượng glucid cao. Trong trường hợp đó hàm lượng glucose trong máu tăng lên và đồng thời tăng mức độ dự trữ glycogen trong tế bào. Hàm lượng ATP cũng tăng lên, gây ức chế chu trình acid tricarboxylic. Kết quả là acid citric bị đưa ra khỏi ty thể và bị phân giải dưới tác dụng của enzyme citrate liase phụ thuộc ATP:



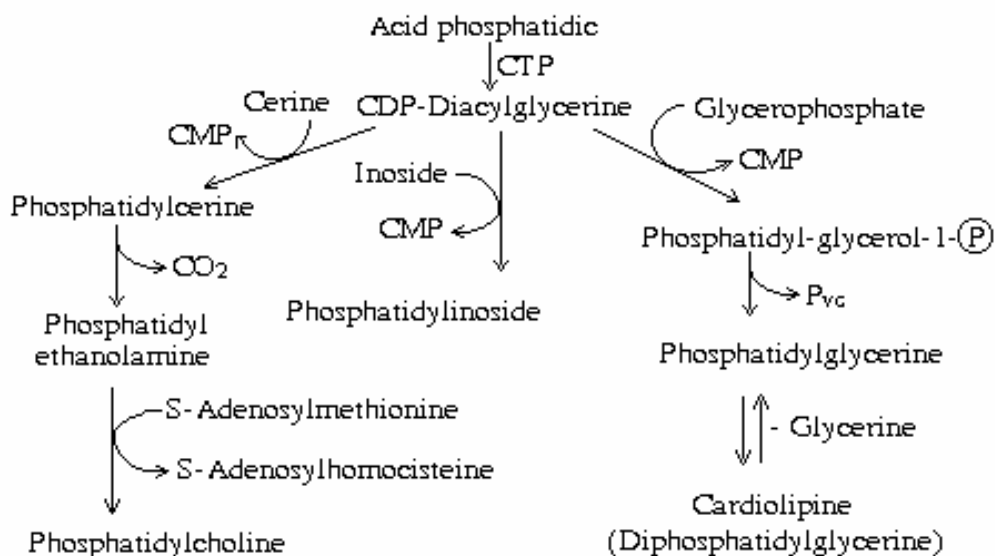
Oxaloacetate có thể bị khử thành malate và sau đó bị oxy-hóa và decarboxyl-hóa thành acid pyruvic rồi xâm nhập lại vào ty thể; còn acetyl-CoA được sử dụng để

tổng hợp acid béo và sau đó cùng với glycerol-3- phosphate tổng hợp lipid dự trữ, làm cho quá trình tích lũy mỡ được tăng cường.

Quá trình tích lũy mỡ còn được thúc đẩy do acid citric có tác dụng hoạt hóa enzyme acetyl-CoA carboxylase. Insulin cũng có tác dụng thúc đẩy quá trình tích lũy mỡ do nó làm tăng hoạt tính của hệ enzyme tổng hợp lipid, đặc biệt là enzyme citrate liase phụ thuộc ATP. Ngoài ra, thông qua tác dụng ức chế sự hình thành AMP vòng nó ngăn cản quá trình huy động mỡ dự trữ. Trong khi đó các hormone khác như glucagon, adrenalin kích thích sự hình thành AMP vòng và do đó hoạt hóa lipase, dẫn đến sự tăng cường huy động mỡ dự trữ.

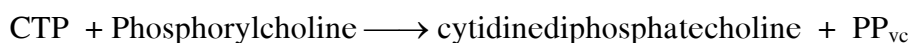
XI. SINH TỔNG HỢP GLYCEROPHOSPHOLIPID VÀ GLYCEROGALACTOLIDID.

Ở vi khuẩn phần lớn glycerophospholipid (hay phosphoglyceride, phosphatide) được tổng hợp bằng con đường chuyển hóa acid phosphatidic thành CDP-diacylglycerine. Sau đó chất này kết hợp với các base khác nhau để tạo ra phosphoglyceride tương ứng, đồng thời giải phóng CMP (hình X.9). Phần lớn các phản ứng này xảy ra trong mạng nội chất.



Hình 10.9. Sơ đồ các phản ứng sinh tổng hợp glycerophospholipid

Ở động vật phosphatidylcholine và phosphatidylethanolamine còn có thể được tổng hợp bằng con đường:

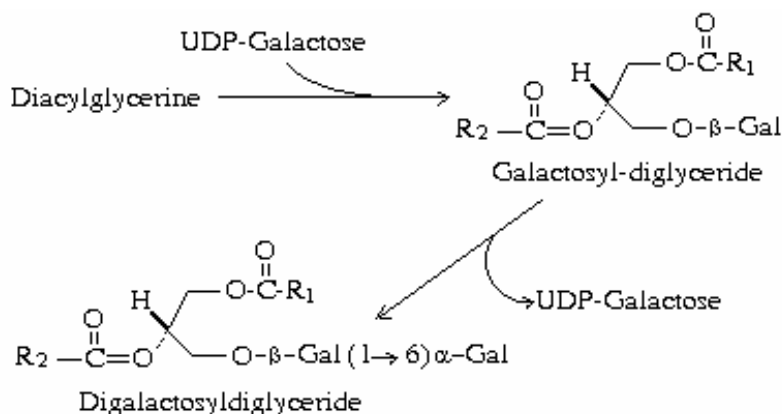


Cytidinediphosphatecholine + Diacylglycerine \longrightarrow Phosphatidylcholine + CMP.

Nếu ethanolamine thay vào vị trí của choline trong các phản ứng trên thì sản phẩm sẽ là phosphatidylethanolamine.

Phosphatidylinoside thông qua các nhóm -OH tự do của gốc inositol có thể nhận từ ATP một, hai nhóm phosphate và liên kết với nó một cách lỏng lẻo, nhờ đó phosphatidyl-inoside thực hiện được chức năng vận chuyển phosphate qua màng.

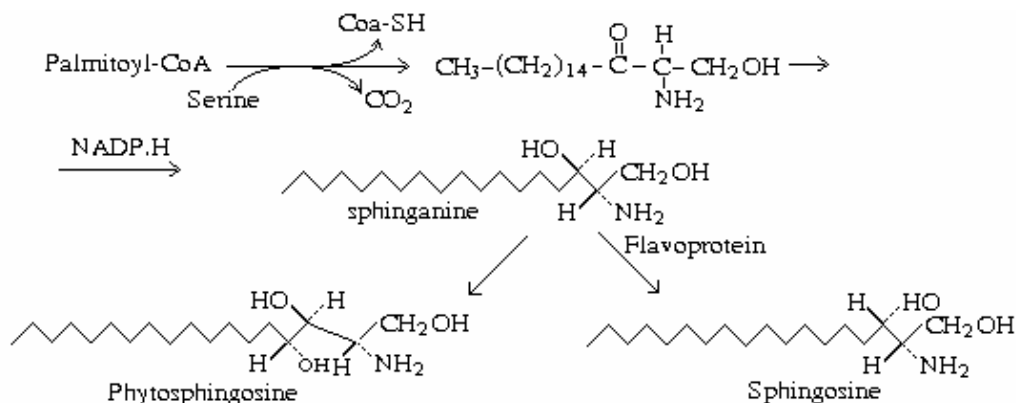
Glycerogalactolipid của lục lạp được tổng hợp bằng cách gắn vào diacylglycerine một hoặc hai gốc galactose từ UDP-galactose (hình 10.10).



Hình 10.10. Sơ đồ các phản ứng sinh tổng hợp glycerogalactolipid

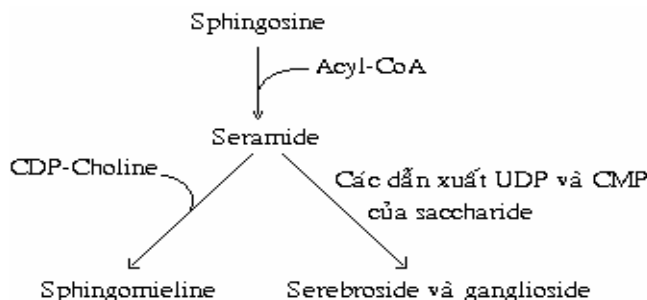
XII. SINH TỔNG HỢP SPHYNGOLIPID VÀ GLYCOLIPID.

Sphingolipid được tổng hợp từ sản phẩm ngưng tụ của palmitoyl-CoA với serine. Sản phẩm ngưng tụ này sẽ bị khử bởi NADP.H thành sphinganine (dihyrosphingosine), sau đó boặc bị oxy hóa bởi flavoprotein thành sphingosine hoặc hydroxyl hóa thành phytosphingosine (hình 10.11).



Hình 10.11. Sơ đồ các phản ứng sinh tổng hợp sphigolipid.

Sphingosine bằng nhóm NH₂ của mình sẽ kết hợp với một acyl-CoA để tạo ra seramide. Chất này tác dụng với CDP-choline sẽ làm xuất hiện sphingomieline hoặc với các dẫn xuất UDP và CDP của các saccharide khác nhau sẽ tổng hợp nên glycolipid (serebroside và ganglioside) (hình 10.12).



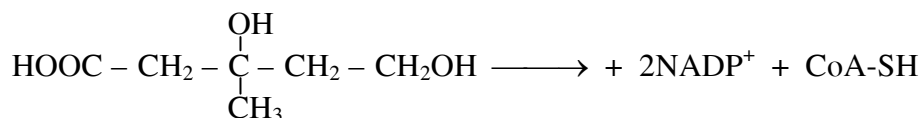
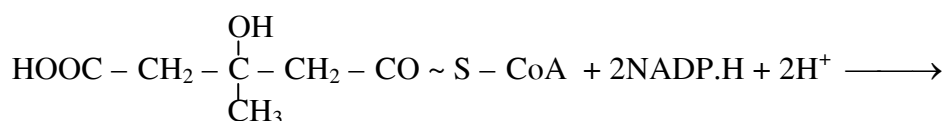
Hình 10.12. Sơ đồ các phản ứng sinh tổng hợp Sphingomieline , serebroside và ganglioside

XIII. SINH TỔNG HỢP STERINE.

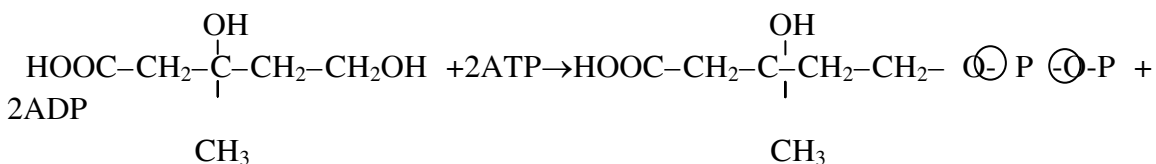
Trong cơ thể động vật, thực vật và nấm sterine được tổng hợp từ acetyl-CoA. (Ở vi khuẩn không có nhóm hợp chất này).

Cholesterine ở động vật là tiền thân của acid mật và của các loại hormone steroid. Quá trình sinh tổng hợp cholesterine khá phức tạp. Nó bao gồm những bước chủ yếu sau đây:

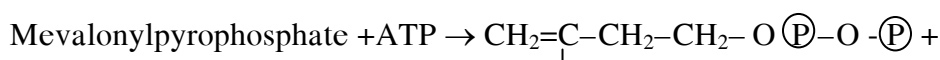
- 1/ Ngưng tụ hai phân tử acetyl-CoA để tạo nên acetoacetyl-CoA;
- 2/ Acetoacetyl-CoA tác dụng với phân tử acetyl-CoA thứ ba để tạo nên β-oxy-β-metylglutaryl-CoA;
- 3/ Một trong hai nhóm carboxyl của β-oxy-β-metylglutaryl-CoA bị khử để tạo ra acid mevalonic:

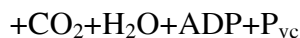


- 4/ Acid mevalinic được phosphoryl hóa thành mevalonylpyrophosphate:

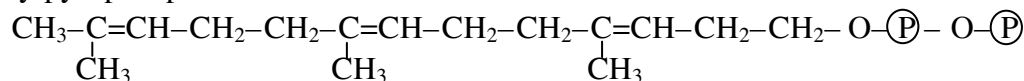


- 5/ Decarboxyl hóa mevalonylpyrophosphate thành isopentenylpyrophosphate:





6/ Ngưng tụ 3 phân tử isopentenylpyrophosphate để tạo ra farnesylpyrophosphate:



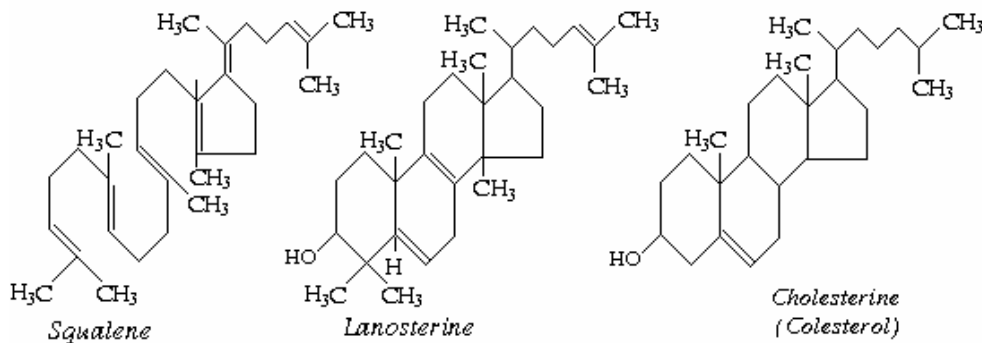
7/ Phân tử farnesylpyrophosphate ngưng tụ với dạng đồng phân của nó là nepolidolpyrophosphate để tạo nên squalen:

8/ Chuỗi hydrocarbon của squalene chuyển hóa thành dạng mạch vòng, gắn thêm nhóm -OH ở C₃ và biến thành lanosterine;

9/ Sau một số khâu trung gian lanosterine biến thành cholesterine;

Hai khâu sau cùng xảy ra trên hệ thống màng của mạng nội chất. Trong khi đó các phản ứng thuộc các giai đoạn trước xảy ra trong bào tương.

Cơ chế sinh tổng hợp sterine ở thực vật và nấm men (stigmastarine, ergosterine v.v...) về cơ bản cũng giống với cơ chế tổng hợp cholesterine.



CHƯƠNG 6. NUCLEOTIDE VÀ ACID NUCLEIC

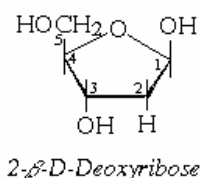
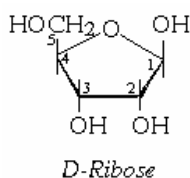
Cùng với protein, acid nucleic đóng vai trò cực kỳ quan trọng trong việc bảo tồn sự sống. Tuy nhóm hợp chất này đã được phát hiện hơn 100 năm về trước, cấu tạo, tính chất và chức năng của chúng chỉ mới được hiểu biết một cách sâu sắc từ những năm 50 của thế kỷ 20 nhờ ứng dụng những phương pháp nghiên cứu vật lý và hóa học chính xác.

Trên cơ sở sự khác biệt về thành phần hóa học, acid nucleic được chia thành hai nhóm lớn. Đó là *acid ribonucleic* (ARN) và *acid deoxyribonucleic* (ADN). ADN có trọng lượng phân tử từ vài triệu đến vài trăm triệu, là thành phần không thể thiếu được của nhiễm sắc thể trong nhân tế bào. Ngoài ra, ADN còn có mặt trong ti thể và lục lạp. ARN có nhiều loại: ARN vận chuyển (tARN) có trọng lượng phân tử tương đối nhỏ (25.000 – 35.000); ARN ribosome (rARN), nói chung, có trọng lượng phân tử khá lớn (từ 1,7 đến 1,2 triệu), trừ một vài loại chỉ lớn hơn tARN một ít; ARN thông tin (mARN) có trọng lượng phân tử từ 300.000 đến 4 triệu; ARN virus có trọng lượng phân tử từ 1 đến 2 triệu. Ngoài ra, còn có một số ARN khác, chủ yếu là ARN phân tử nhỏ mà cấu trúc và chức năng của chúng chưa được hiểu biết nhiều.

Đại bộ phận acid nucleic (cả ADN và ARN) là những biopolymer dạng sợi hình thành từ các đơn vị cấu tạo (monomer) có tên chung là (mono)nucleotide. Mỗi nucleotide được cấu tạo từ ba thành phần: monosaccharide, base nitơ và acid phosphoric.

I. NUCLEOTIDE.

Phần lớn nucleotide, hay còn gọi là mononucleotide, là đơn vị cấu tạo của acid nucleic. Chúng được cấu tạo từ base nitơ, đường pentose và acid phosphoric.



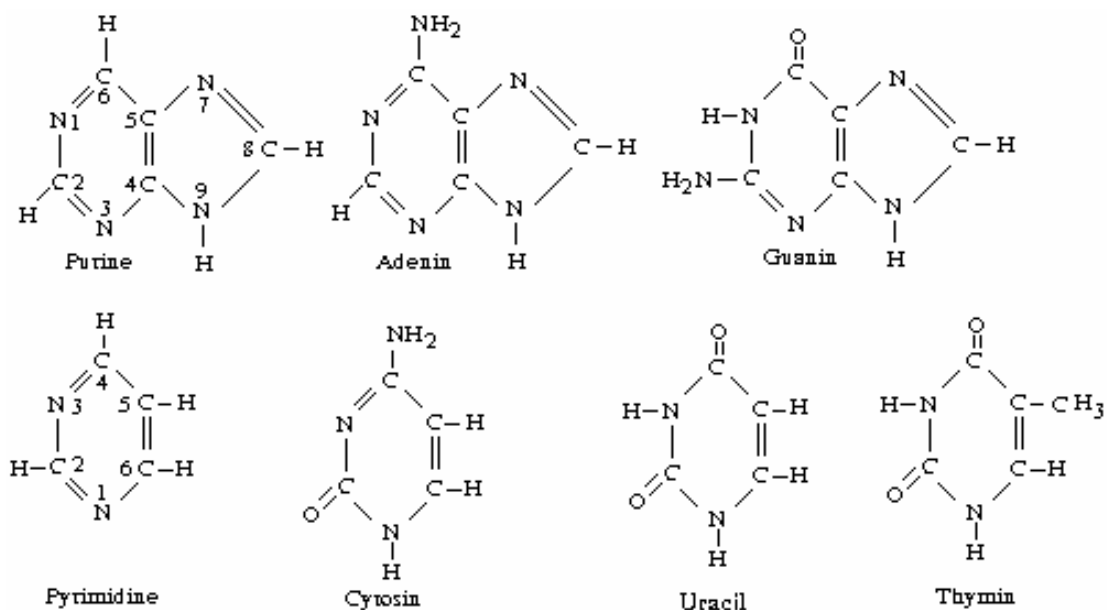
Tất cả các nucleotide tham gia cấu tạo nên acid nucleic đều chứa một trong hai loại monosaccharide: β-D-ribose hoặc 2-β-D-deoxyribose.

Cả hai loại pentose này đều có dạng cấu trúc vòng furanose. Cần lưu ý rằng, khi ở dạng tự do các nguyên tử carbon trong phân tử được đánh số từ 1 đến 5, nhưng khi trở thành một bộ phận của phân tử nucleotide, chúng phải được đánh số từ 1' đến 5' (để phân biệt với các nguyên tử carbon trong base nitơ).

Ngoài ribose và deoxyribose, ribitol - sản phẩm khử của ribose - cũng có thể tham gia trong thành phần cấu tạo của một số nucleotide đặc biệt.

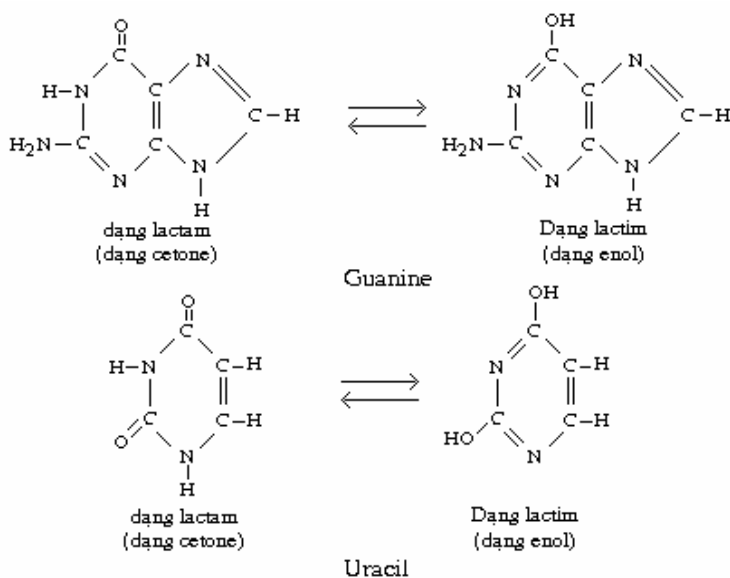
Trong hai loại acid nucleic - acid ribonucleic và acid deoxyribonucleic - có 5 loại base nitơ thường gặp, 3 loại chung cho cả ADN và ARN (adenine, guanine và

cytosine), loại thứ tư (uracil) đặc trưng cho ARN, còn loại thứ 5 (thymine) hầu như chỉ có mặt trong ADN.



Hình IV.1. Công thức cấu tạo của các base nitơ chủ yếu.

Adenine và guanine là dẫn xuất của purine và do đó được xếp vào nhóm base purine; 3 base còn lại là dẫn xuất của pyrimidine và do đó được xếp vào nhóm base pyrimidine.



Hình IV.2. Hiện tượng hỗ biến ở các base chứa oxy

Thymine cũng được xem là một base thứ yếu trong thành phần cấu tạo của ARN; ngược lại, uracil là base thứ yếu trong ADN. Cấu trúc của các base chủ yếu được trình bày trong hình IV.1. Cách đánh số các nguyên tử carbon và nitơ trong mỗi phân tử base được giới thiệu qua các đại diện là purine và pyrimidine. Từ công thức cấu tạo của các base chủ yếu ta có thể dễ dàng viết công thức

cấu tạo của các base thứ yếu trên cơ sở tên gọi của chúng.

Đặc điểm quan trọng của các dẫn xuất chứa oxy của purine và pyrimidine là khả năng hỗ biến, tức chuyển hóa tương hỗ giữa các dạng enol (lactim) và cetone (lactam) (hình IV.2):

Ngoài các base chủ yếu nói trên, trong một số loại acid nucleic, đặc biệt là trong ARN vận chuyển (tARN) và ARN ribosom (rARN), còn hay gặp một số base khác với hàm lượng không lớn. Chúng được gọi là các base thứ yếu, phần lớn là các dẫn xuất hydrogen hóa, methyl hóa, oxymethyl hóa của các base chủ yếu, ví dụ dihydrouracil (UH₂), 2-methyladenine (A-CH₃), 5-oxymethyl-cytosine (C-OCH₃) v.v.

Tất cả các base nitơ đều hấp thụ ánh sáng mạnh nhất trong vùng phổ cực tím. Tính chất này được ứng dụng để xác định hàm lượng acid nucleic và các sản phẩm thủy phân của chúng.

Khi một base nitơ liên kết với một pentose bằng liên kết N-glycoside sẽ tạo ra các sản phẩm có tên chung là *nucleoside*. Tùy thuộc ở chỗ loại pentose nào và loại base nào tham gia cấu tạo nên nucleoside mà mỗi loại có tên gọi riêng của mình. Trên cơ sở thành phần pentose người ta phân biệt hai loại nucleoside là *ribonucleoside* (pentose là ribose) và *deoxyribonucleoside* (pentose là deoxyribose). Ở cách nhìn khác, các nucleoside lại được phân biệt là *purine nucleoside* hay *pyrimidine nucleoside* tùy thuộc ở chỗ base purine hay base pyrimidine tham gia trong thành phần cấu tạo của chúng. Cần lưu ý rằng trong các purine-nucleoside liên kết glycoside hình thành giữa C-1' với N-9, trong khi đó các pyrimidine nucleoside - giữa C-1' với N-1. Công thức cấu tạo của một số nucleoside điển hình được giới thiệu trong hình VI.3. Thông qua các công thức cấu tạo này ta có thể hình dung công thức cấu tạo của các nucleoside khác.

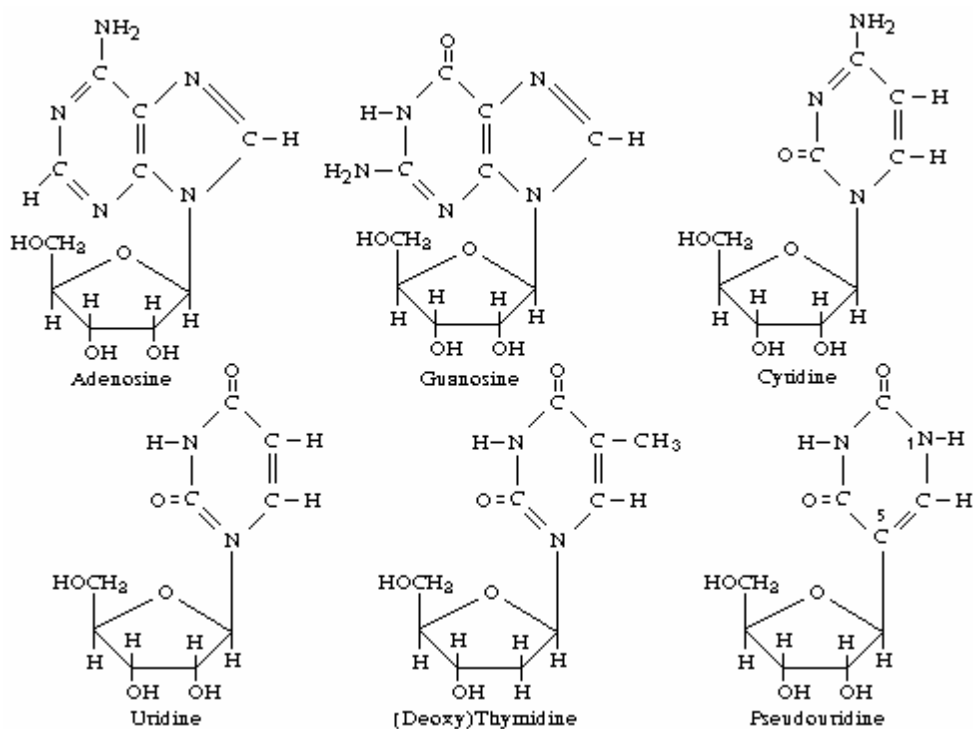
Nucleoside được gọi tên theo base nitơ theo nguyên tắc:

- Nếu base là dẫn xuất của purine thì đuôi "-ine" được đổi thành "-osine", ví dụ: adenosine, guanosine;

- Nếu base là dẫn xuất của pyrimidine thì đuôi "-acil" hoặc "-ine" được đổi thành "-idine", ví dụ: cytidine, uridine, thymidine.

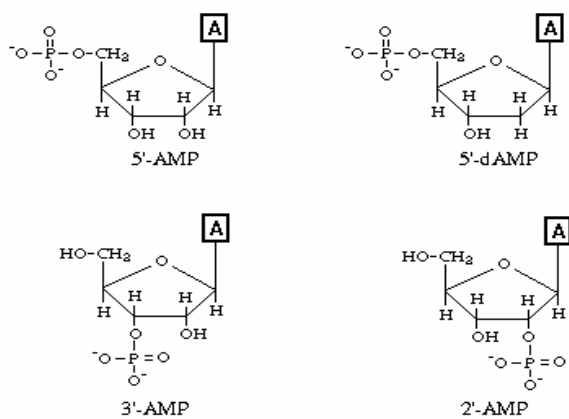
Pseudouridine (ψ) trong hình IV.3 là một trường hợp đặc biệt, hầu như chỉ gặp trong tARN với tỉ lệ rất thấp.

Từ các công thức cấu tạo trong hình VI.3 ta có thể hình dung công thức cấu tạo của các nucleotide khác với sự tham gia của guanine, cytidine, uracil, thymin v.v...



Hình IV.3. Cấu tạo của một số nucleoside điển hình.

Khi một nucleoside kết hợp với một gốc phosphate bằng liên kết ester thông qua một trong các nhóm -OH còn lại của gốc pentose sẽ tạo ra một nucleotide tương ứng. Điều đó có nghĩa là mỗi ribonucleoside có thể tạo ra ba loại nucleotide, trong đó gốc phosphate có thể gắn tại C-2', C-3' hoặc C-5'; trong khi đó mỗi deoxyribonucleoside chỉ tạo ra hai loại nucleotide tương ứng vì tại C-2' không có nhóm -OH để tương tác với phosphate. Tùy thuộc vào vị trí gắn gốc phosphate mà sản phẩm được gọi là 2'-, 3'- hay 5'-nucleotide. Chúng cũng còn được gọi tương ứng là 2'-, 3'- hay 5'-nucleoside monophosphate, viết tắt là 2'-NMP, 3'-NMP và 5'-NMP. Trong tế bào chủ yếu tồn tại các loại 3'- và 5'-



Hình IV.4. Cấu tạo của các loại 5'-, 3'-và 2'-nucleotide

nucleotide. Cấu tạo của các loại nucleotid này được giới thiệu trong hình IV.4 với base nitơ là adenine.

Trong bảng IV.1 giới thiệu tên gọi và cách viết tắt của một số ribonucleoside và ribonucleotide phổ biến. Trong trường hợp gốc mono-saccharide là deoxyribose, tên gọi của các nucleoside và nucleotide được thêm tiếp đầu ngữ "deoxy-", và trước các ký hiệu viết tắt thêm chữ "d", ví dụ deoxyadenosine, acid deoxyadenylic, deoxyadenosine monophosphate, dAMP, dA.

Bảng IV.1. Tên gọi và cách viết tắt của một số nucleotide.

<i>B as e ni tơ</i>	<u>Nucle oside</u>	<i>Nucleotide</i>	<i>Viết tắt</i>
Adenine	Adenosine	Acid adenylic Adenosine monophosphate	AMP, A
Guanine	Guanosine	Acid guanilic Guanosine monophosphate	GMP, G
Cytosine	Cytidine	Acid cytidilic Cytidine monophosphate	CMP, C
Uracil	Uridine	Acid uridilic Uridine monophosphate	UMP, U
Thymine	Thymidine	Acid thymidilic (Deoxy)Thymidine monophosphate	dTMP, T

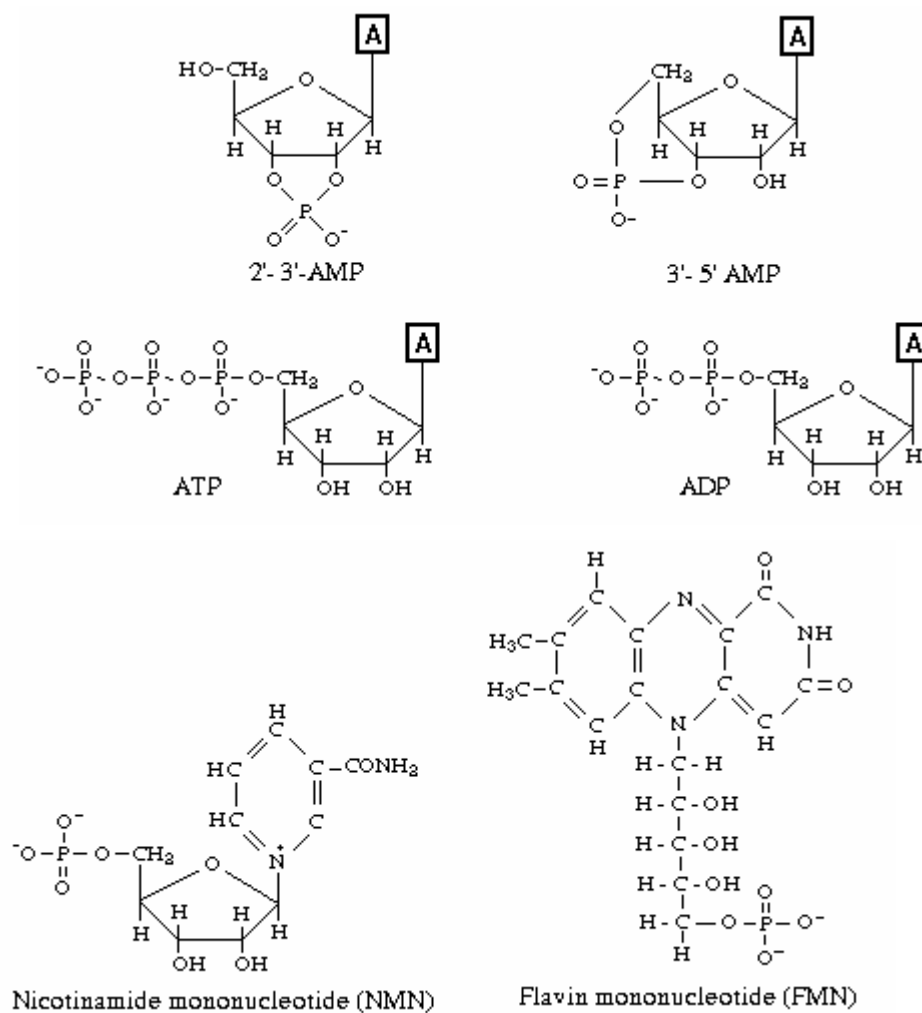
Ngoài các nucleotide giới thiệu trên đây có chức năng chủ yếu là tham gia cấu tạo nên các đại phân tử acid nucleic, còn có một số nucleotide khác có các vai trò quan trọng khác trong đời sống của tế bào (hình IV.5).

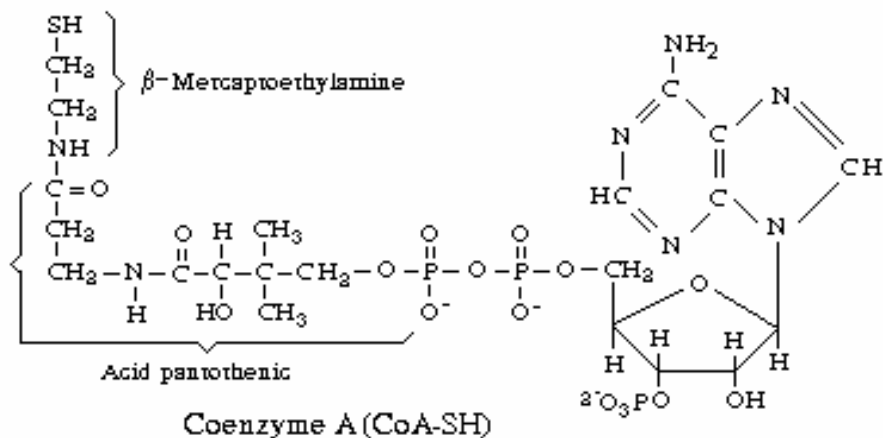
Trước hết, đó là các nucleotide vòng. Những nucleotide loại này hình thành khi gốc phosphate liên kết ester đồng thời với hai nhóm -OH của gốc ribose. Ví dụ điển hình là hai loại AMP vòng (cAMP). Đó là 2'-3'-cAMP và 3'-5'-cAMP. 3'-5'-cAMP đóng vai trò quan trọng trong một số quá trình điều hòa trao đổi chất, còn 2'-3'-cAMP là sản phẩm trung gian của quá trình phân giải ARN dưới tác dụng của một số enzyme ribonuclease.

Nhóm nucleotide đặc biệt thứ hai là các nucleoside polyphosphate, bao gồm nucleoside diphosphate (NDP), ví dụ ADP, và nucleoside triphosphate (NTP), ví dụ ATP. Tính chất đặc biệt của các NDP và NTP là ở chỗ một hoặc hai gốc phosphate nữa được gắn vào phân tử nucleoside monophosphate bằng các liên kết giàu năng lượng (liên kết cao năng) mà người ta thường ký hiệu bằng dấu ~, như mô tả trong hình IV.5. Nhờ sự tồn tại của các liên kết cao năng này nên các NDP và đặc biệt là

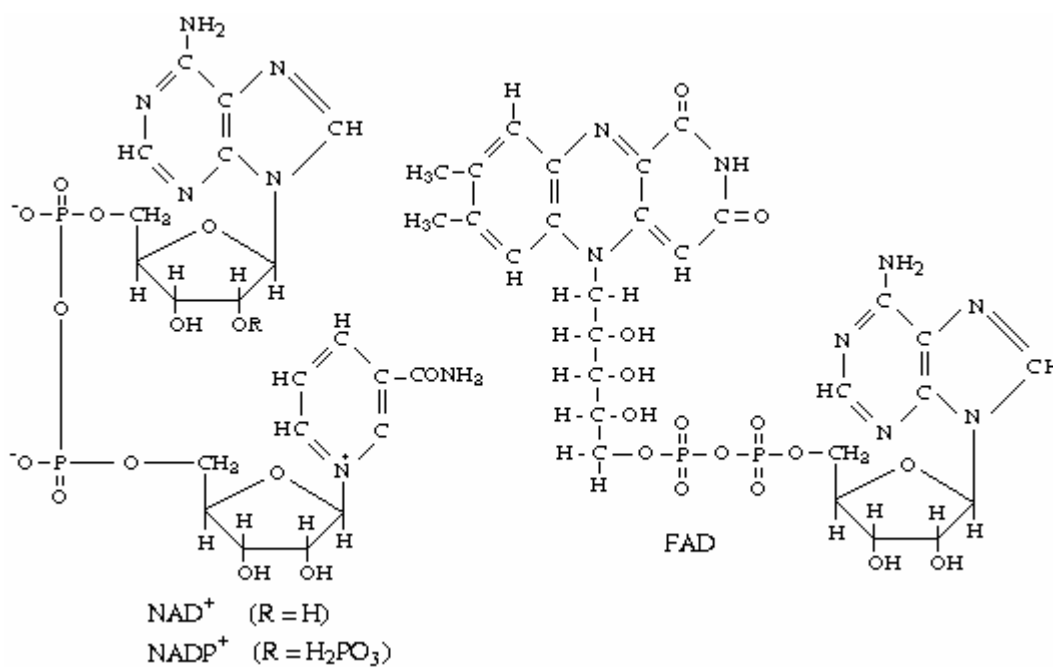
các NTP đóng vai trò quan trọng trong trao đổi năng lượng của tế bào và tham gia hoạt hóa nhiều hợp chất trung gian của các quá trình trao đổi chất.

Nhóm nucleotide đặc biệt thứ ba bao gồm những hợp chất mà thành phần base nitơ và monosacchride của chúng thường không giống như đã mô tả ở trên. Ví dụ điển hình cho nhóm nucleotide đặc biệt này là nicotinamide mononucleotide (NMN), flavine mononucleotide (FMN) và coenzyme A (CoA-SH) mà công thức cấu tạo của chúng được giới thiệu trong hình IV. 5. Do có khả năng oxy hóa-khử thuận nghịch, nên NMN và FAD tham gia trong hàng loạt các enzyme oxyhóa-khử với tư cách là coenzyme. Trong khi đó CoA-SH đóng vai trò rất quan trọng trong trao đổi lipid và một số quá trình trao đổi chất khác. NMN và FMN còn là thành phần cấu tạo của các coenzyme oxyhóa-khử phức tạp hơn. Đó là các dinucleotide NAD^+ , $NADP^+$ và FAD (hình IV.6).





Hình IV.5. Cấu tạo của một số nucleotide có chức năng đặc biệt

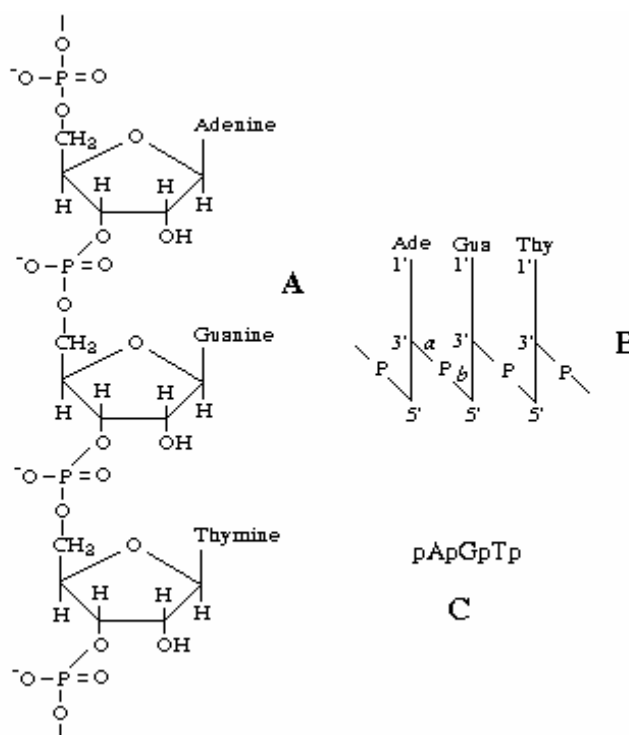


Hình IV.6. Cấu tạo của NAD^+ , NADP^+ và FAD.

II. POLYNUCLEOTIDE

Cơ sở cấu trúc của acid nucleic là các chuỗi polynucleotide cấu tạo từ nhiều đơn vị (mono)nucleotide. Trong những chuỗi này các mononucleotide nối với nhau bằng các liên kết 3'-5'-phosphodiester như mô tả trong hình 4.7. Các chuỗi polynucleotide thường chứa từ hàng chục đến hàng trăm gốc mononucleotide. Tuy nhiên, cũng có những chuỗi polynucleotide ngắn, chứa không quá 10 gốc nucleotide và chúng được gọi chung là oligonucleotide (bao gồm di-, tri-, tetra-, penta-, hexanucleotide v.v...).

Người ta phân biệt hai loại polynucleotide là polyribonucleotide - cơ sở cấu trúc của ARN, và polydeoxy-ribonucleotide - cơ sở cấu trúc của ADN. Trong hình IV.7A giới thiệu một đoạn polynucleotide để ta có thể hình dung sự hình thành liên kết 3'-5'-phosphodiester. Để mô tả thành phần và trật tự sắp xếp của các gốc nucleotide trong những chuỗi polynucleotide ngắn, người ta thường dùng kiểu mô hình đơn giản như trình bày trong hình IV.7B. Kiểu mô tả này cho phép phân biệt hai thành phần trong liên kết phosphodiester, tức liên kết a nối gốc phosphate với C-3' và liên kết b nối gốc phosphate với C-5', qua đó tạo ra cầu nối 3'-5'-phosphodiester giữa hai nucleotide kế cận. Việc phân biệt liên kết a với liên kết b có ý nghĩa rất quan trọng do hai kiểu liên kết này mang tính đặc hiệu khác nhau đối với các enzyme thủy phân acid nucleic. Đối với các chuỗi poly-nucleotide dài, không thể sử dụng kiểu mô tả này vì sẽ rất cồng kềnh, và người ta thường dùng kiểu mô tả bằng dãy chữ cái A, G, C, U hoặc T, tức chữ cái đầu tiên của tên tiếng Anh các base nitơ như trình bày qua ví dụ trong hình IV.7C. Trong trường hợp đối với ADN trước dãy chữ cái này, tức ở đầu tận cùng 5' của chuỗi polypeptide, viết thêm chữ d (deoxy-), ví dụ dpApGpTp...



Hình IV.7. Cấu tạo của polynucleotide

III. ADN, NHIỄM SẮC THỂ VÀ MẬT MÃ DI TRUYỀN.

Các chuỗi polydeoxyribonucleotide của ADN được cấu tạo từ 4 loại nucleotide là dAMP, dGMP, dCMP và dTMP. Ngoài ra, đôi khi người ta còn tìm thấy một lượng nhỏ các dẫn xuất methyl-hóa của các nucleotide này, ví dụ 6-methyladenine, 5-

methylcyto-sine v.v... được tìm thấy trong nhiều loại ADN của vi khuẩn, động vật và thực vật. Thành phần và trật tự sắp xếp của nucleotide trong các chuỗi polydeoxyribonucleotide, tức cấu trúc bậc 1 của ADN vô cùng đa dạng. Sự đa dạng này chính là cơ sở của tính đa dạng của thế giới sinh vật, bởi vì, như ta sẽ thấy sau này, nó là cơ sở của quá trình tiến hóa và liên quan mật thiết với tính di truyền.

Để hiểu rõ chức năng sinh học của ADN, bên cạnh nhu cầu xác định cấu trúc bậc 1 còn cần phải hiểu rõ cấu trúc không gian của chúng. Mô hình cấu trúc không gian của phân tử ADN được xây dựng trên cơ sở hàng loạt nghiên cứu trong lĩnh vực sinh học phân tử, trong đó quan trọng nhất là các công trình của Chargaff và của Franklin và Wilkins.

Sau nhiều năm nghiên cứu (1949-1953), Chargaff và những người cộng tác của ông đã nêu lên những kết luận quan trọng về đặc điểm hóa học của ADN trong tế bào. Những kết luận này ngày nay được mọi người công nhận và gọi là các *quy luật Chargaff*. Đó là:

1/ Các chế phẩm ADN tách từ các mô khác nhau của cùng một cơ thể có thành phần nucleotide như nhau;

2/ Thành phần nucleotide của ADN trong cơ thể thuộc các loài khác nhau là không giống nhau;

3/ Thành phần nucleotide của ADN trong cơ thể thuộc một loài nào đó không phụ thuộc vào tuổi, điều kiện dinh dưỡng và điều kiện môi trường;

4/ Hầu như trong tất cả các chế phẩm ADN đã nghiên cứu số gốc adenine bằng số gốc thymine ($A = T$), còn số gốc guanine bằng số gốc cytosine ($G = C$). Điều đó dẫn đến số gốc purine bằng số gốc pyrimidine ($A+G = C+T$);

5/ ADN của các loài vốn có quan hệ về mặt hệ thống học càng gần nhau thì có thành phần nucleotide càng giống nhau; còn các loài cách xa nhau trong quá trình tiến hóa thì khác nhau khá rõ về thành phần nucleotide. Có nghĩa là thành phần nucleotide của ADN có thể được sử dụng như một trong những cơ sở của phân loại học.

Các nhà khoa học này cũng phát hiện được rằng ở động vật và thực vật, tức những cơ thể bậc cao chỉ có ADN thuộc kiểu AT, tức $A+T > G+C$, trong khi đó ADN ở vi khuẩn gồm cả hai kiểu AT và GC.

Hàm lượng như nhau (tính theo mol) của một số base trong ADN cho phép giả định rằng nét cấu trúc đặc trưng của ADN là sự tồn tại những mối quan hệ hoàn toàn xác định giữa số lượng các base khác nhau.

Song song với phát hiện của Chargaff, kết quả phân tích cấu trúc bằng tia Rơn-ghen do Franklin và Wilkins thực hiện trong những năm 1950-1953 với những chế

phẩm ADN tinh khiết cho thấy ADN có thể tồn tại ở hai dạng A và B với mức độ hydrat hóa khác nhau.

Trên cơ sở các kết quả nghiên cứu của Chargaff cũng như của Franklin và Wilkins năm 1953 Watson và Crick đã đề xuất một mô hình cấu trúc không gian của phân tử ADN. Theo mô hình này dạng cấu trúc B của phân tử ADN được cấu tạo bởi hai chuỗi polydeoxy-ribonucleotide xoắn phải, song song và ngược chiều nhau, nằm song đôi xung quanh một trục chung, tạo thành một sợi xoắn kép. Các nguyên tử phosphore nằm cách trục 1,0nm. Trên mỗi chuỗi các base nằm cách nhau 0,34nm. Theo tính toán ban đầu một vòng xoắn trọn vẹn chứa 10 cặp base và có chiều dài chiếu lên trục bằng 3,4nm. Tuy nhiên các phép đo sau đó cho thấy một vòng xoắn hoàn chỉnh chứa 10,5 cặp base và do đó có chiều dài chiếu lên trục bằng 3,6nm. (hình IV.8). Dạng B được xem là dạng ổn định nhất trong điều kiện sinh lý. Nó đặc trưng cho trạng thái có mức độ hydrate hóa cao.

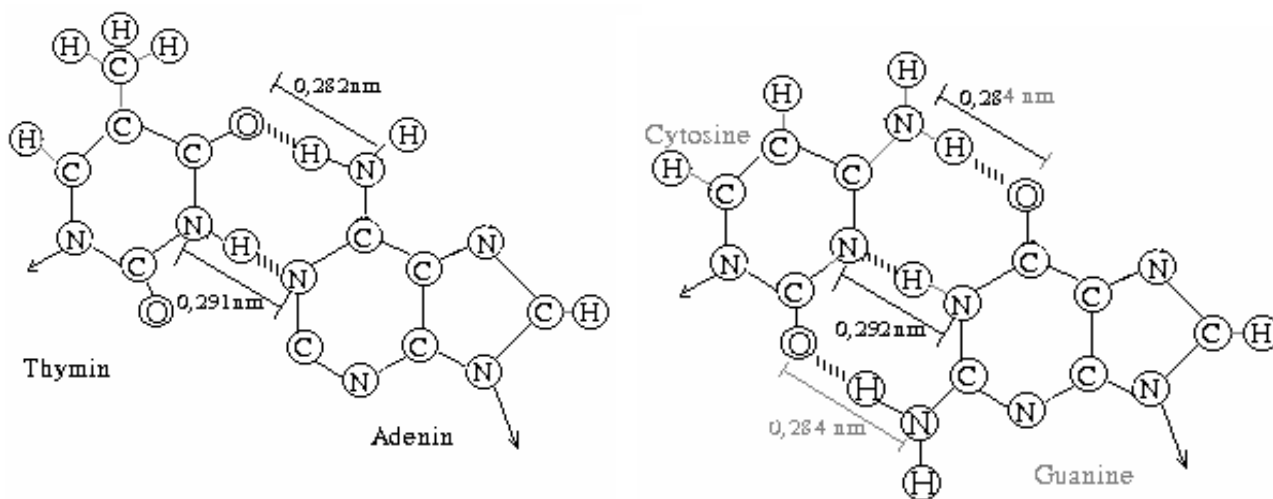
Nếu giảm mức độ hydrate hóa hoặc nằm trong các môi trường tương đối có tính kỵ nước, ADN sẽ chuyển sang dạng cấu trúc A, trong đó các base cách nhau 0,23nm và mỗi vòng xoắn chứa 11 cặp base. Trục trung tâm của phân tử ADN xoắn kép không còn thẳng góc với các mặt phẳng của các cặp base mà tạo ra với chúng một góc $\approx 20^\circ$, đồng thời cũng không xuyên qua các mặt phẳng này mà nằm lệch sang phía này hoặc phía khác. Đặc điểm cấu trúc này làm cho dạng A ngắn hơn và có đường kính lớn hơn dạng B.

Các hóa chất dùng để kết tinh ADN thường làm cho nó bị dehydrate hóa, làm cho ADN có xu hướng kết tinh ở dạng cấu trúc A.

Phân tử ADN xoắn kép thậm chí có thể tồn tại ở dạng quay trái (dạng Z).

Ở dạng này các cặp base cách nhau 0,38nm và 12 cặp base tạo nên một vòng xoắn hoàn chỉnh. Bộ khung của phân tử có dạng zig-zak. Một số trật tự nucleotide dễ tạo ra dạng cấu trúc Z hơn là những trật tự khác. Người ta chưa biết rõ vai trò sinh học của dạng cấu trúc này, chỉ biết rằng cấu trúc Z được hình thành khi các base cytosine được methyl hóa. Methyl hóa là hiện tượng sinh học rất phổ biến đối với ADN, Đối với eukaryote nó có vai trò quan trọng trong việc điều hòa hoạt tính của gen. Trong tế bào eukaryote có thể đây là một cơ chế kiểm tra hoạt động của gene hoặc tham gia trong quá trình cải biến gene (genetic recombination).

Hình IV.8. Sơ đồ mô tả sự khác nhau giữa các dạng cấu trúc A, B và Z của phân tử ADN xoắn kép



HÌNH IV.9. LIÊN KẾT HYDRO GIỮA CÁC CẶP BASE BỔ SUNG A-T VÀ G-C

Chuỗi xoắn kép được hình thành nhờ tính chất bổ sung giữa các base A với T và G với C. Trong toàn bộ phân tử mỗi base nitơ của chuỗi này nối với base bổ sung ở chuỗi kia thông qua các liên kết hydro (hình IV-9).

Do tính chất bổ sung này giữa các base nitơ mà trong phân tử ADN xoắn kép sợi đơn này có cấu trúc hoàn toàn bổ sung với sợi đơn kia.

Trong mạch xoắn kép của ADN các base nitơ do có tính kỵ nước nên nằm bên trong và không tiếp xúc với nước, còn các nhóm phosphate cũng như các gốc pentose nằm ở mặt ngoài và tiếp xúc trực tiếp với nước. Như vậy, cấu trúc xoắn kép của ADN được ổn định không những nhờ liên kết hydro giữa các base bổ sung mà còn nhờ liên kết kỵ nước giữa các base nitơ với nhau dọc theo toàn bộ chiều dài phân tử (tương tác Steking).

Mô hình của Watson và Crick cho phép giải thích cơ chế tái tạo thông tin di truyền một cách chính xác. Nhờ tính chất bổ sung của hai mạch đơn mà trật tự nucleotide của mạch này xác định trật tự nucleotide của mạch kia. Song song với việc nêu lên mô hình này các tác giả còn giả thuyết rằng phân tử ADN được nhân đôi bằng cách hai mạch đơn của phân tử xoắn kép tách ra và mỗi mạch làm khuôn để đúc nên mạch mới bổ sung với nó. Kết quả là hình thành hai phân tử ADN giống hệt nhau, trong mỗi phân tử chứa một mạch mẹ và một mạch con. Cơ chế nhân đôi này của ADN được gọi là cơ chế bán bảo thủ.

Bên cạnh cấu trúc sợi xoắn kép mô tả trên đây, ở một số loài sinh vật đặc biệt còn có các dạng cấu trúc khác của ADN. Ví dụ, ở *E. coli* và nhiều vi khuẩn khác có dạng cấu trúc xoắn kép mạch vòng do hai đầu của mỗi mạch đơn nối với nhau bằng liên kết phosphodiester. Dạng cấu trúc này cũng được ghi nhận trong ti thể, lục lạp của tế bào eukaryote và nhiều loại virus, ví dụ bacteriophage λ ; trong khi đó ở bacteriophage ϕ X 170 ADN lại có dạng cấu trúc vòng sợi đơn.

Tất cả các phân tử ADN trong phần lớn thời gian tồn tại trong tế bào ở trạng thái siêu xoắn do tác dụng của các enzyme đặc biệt. Trong khi đó một số enzyme khác lại làm giảm mức độ siêu xoắn, tạo điều kiện để phân tử ADN nhân đôi hoặc sao chép mã di truyền sang các phân tử ARN. Năng lượng tích lũy trong trạng thái siêu xoắn của phân tử ADN khi cần thiết sẽ được sử dụng cho quá trình tháo xoắn cục bộ để phân tử ADN thực hiện chức năng của mình.

Phân tử ADN xoắn kép dưới tác dụng của nhiệt độ cao, của pH thái cực của môi trường, của hằng số điện môi thấp và của các yếu tố phá vỡ liên kết hydro khác như urea, amide của các acid carboxylic... có thể tách rời thành hai sợi đơn riêng biệt với kết cấu hỗn độn. Hiện tượng này được gọi là sự *biến tính* của ADN. Nếu dần dần loại trừ tác nhân gây biến tính trong khi phân tử ADN chưa biến tính hoàn toàn (một phần phân tử vẫn còn tồn tại ở trạng thái xoắn kép), cấu trúc xoắn kép nguyên thủy cùng với đầy đủ các tính chất hóa học và sinh học của nó có thể được khôi phục hoàn toàn. Trong trường hợp này ta có *biến tính thuận nghịch*. Nếu phân tử ADN đã bị biến tính hoàn toàn và loại trừ tác nhân gây biến tính một cách đột ngột, cấu trúc xoắn kép nguyên thủy của nó sẽ không khôi phục được nữa, tức phân tử ADN đã bị *biến tính không thuận nghịch*.

Sự biến tính của ADN kèm theo những thay đổi đáng kể các tính chất vật lý của nó, đặc biệt, độ hấp thụ tia tử ngoại ($\lambda = 260\text{nm}$) tăng lên. Hiện tượng này được gọi là *hiệu ứng ưu sắc*. Nguyên nhân của nó là do *tính nhược sắc* của ADN xoắn kép, tức độ hấp thụ tia tử ngoại của ADN nguyên thủy (xoắn kép) nhỏ hơn tổng độ hấp thụ của các base purine và pyrimidine khi chúng tồn tại ở trạng thái tự do. Khi bị biến tính, độ hấp thụ tia tử ngoại của ADN sợi đơn tăng lên 20 – 60%, vì mức hấp thụ của chúng bằng tổng độ hấp thụ của số lượng tương ứng các base nitơ tự do. Hiệu ứng ưu sắc của ADN xoắn kép liên quan trực tiếp đến cặp base A-T. Hàm lượng cặp base này trong ADN càng cao, hiệu ứng ưu sắc càng lớn. Như vậy, trên nguyên tắc, có thể xác định thành phần nucleotide của ADN bằng cách xác định hiệu ứng ưu sắc của nó khi bị biến tính.

Khác với protein, ADN bị biến tính trong một phạm vi nhiệt độ rất hẹp. Sự biến đổi đột ngột này tương tự như sự nóng chảy của các tinh thể hữu cơ. Vì vậy sự biến tính vì nhiệt của ADN thường được gọi là *sự nóng chảy*.

Hiện tượng biến tính thuận nghịch của ADN được các nhà khoa học rất chú ý, bởi vì không loại trừ khả năng hiện tượng này đóng vai trò nhất định trong các quá trình nhân đôi ADN và sinh tổng hợp ARN.

Trong quá trình chiết rút và tinh chế phân tử ADN rất dễ bị đứt, vì vậy việc thu nhận ADN ở dạng nguyên thủy và xác định trọng lượng phân tử của nó gặp rất nhiều khó khăn. Tuy nhiên, ngày nay công việc này đã và đang thu nhận được những thành tựu đáng kể. Ví dụ, người ta đã xác định được phân tử ADN duy nhất của *E. coli* dài 1200 μm , chứa 4,2 triệu cặp nucleotide và có trọng lượng phân tử 2800 triệu. Sợi ADN này có cấu trúc vòng, tạo nên nhiễm sắc thể duy nhất của tế bào vi khuẩn.

Nhiễm sắc thể của nhân tế bào eukaryote được cấu tạo bởi một số sợi ADN khổng lồ, trong nhiều trường hợp có thể dài đến 2 mét với khoảng 5,5 tỉ cặp nucleotide do phải chứa một lượng thông tin rất lớn. Một trong những thành tựu vô cùng vĩ đại của hóa sinh học và sinh học phân tử của thế kỷ 20 là đã xác định được cấu trúc bậc I của hầu hết ADN trong cơ thể con người.

Nhiễm sắc thể tế bào eukaryote được cấu tạo từ một loại nucleoprotein có tên là *chromatine*. Thành phần chủ yếu của *chromatine* bao gồm ADN, histone và một số protein không phải histone. Histone là một nhóm protein có tính base do chứa nhiều các aminoacid có tính base là lysine và arginine. Dựa trên tỉ lệ giữa Lys và Arg người ta chia histone thành 5 nhóm. Giàu lysine nhất là histone H₁, giàu arginine nhất là histone H₄; histone thuộc các nhóm H_{2A}, H_{2B} và H₃ lần lượt chiếm các vị trí trung gian với tỉ lệ Lys/Arg giảm dần. Thành phần protein không phải histone khá đa dạng về tính chất và chức năng.

Chromatine có cấu trúc rất đa dạng. Nó bao gồm các cấu trúc hạt gọi là *nucleosome* nối với nhau bởi các đoạn nucleoprotein ngắn. Đoạn nucleoprotein này cấu tạo bởi một đoạn ADN dài khoảng 200 cặp nucleotide kết hợp với một phân tử

histone H₁. Hạt nucleosome được hình thành từ đoạn ADN dài khoảng 140-150 cặp nucleotide bao bọc xung quanh phần lõi với 4 loại histone nhóm H₂A, H₂B, H₃ và H₄, mỗi loại 2 phân tử (hình IV.10).

Hình IV.10. Cấu tạo của nucleosome

Ngày nay người ta đã xác định được rằng thông tin di truyền được mã hóa trong các bộ ba nucleotide của ADN. Những bộ ba này được gọi là *bộ ba mật mã* hay *codon*, làm nhiệm vụ điều khiển trật tự aminoacid trong quá trình sinh tổng hợp protein. Vì mỗi codon gồm ba trong bốn loại nucleotide nên tổng số codon bằng $4^3 = 64$. Ngày nay ý nghĩa của tất cả 64 codon này đã được xác định (bảng IV.2). Ý nghĩa này đúng cho mọi cơ thể ở mọi bậc thang tiến hóa.

Bảng IV.2 . Mật mã di truyền.

Chữ cái thứ nhất (đầu 5')	Chữ cái thứ hai				Chữ cái thứ ba (đầu 3')
	U	C	A	G	
U	Phe Phe Leu Leu	Ser Ser Ser Ser	Tyr Tyr Term Term	Cys Cys Term Trp	U C A G
C	Leu Leu Leu Leu	Pro Pro Pro Pro	His His Gln Gln	Arg Arg Arg Arg	U C A G
A	Ile Ile Ile Met	Thr Thr Thr Thr	Asn Asn Lys Lys	Ser Ser Arg Arg	U C A G
G	Val Val Val Val	Ala Ala Ala Ala	Asp Asp Glu Glu	Gly Gly Gly Gly	U C A G

IV. ARN.

Khác với ADN, phân tử ARN thuộc tất cả các loại được hình thành từ một chuỗi polynucleotide duy nhất. Tuy nhiên, trong những điều kiện nhất định tại từng khu vực riêng biệt của chuỗi polynucleotide này có thể hình thành cấu trúc xoắn kép trên cơ sở tính bổ sung A-U và G-C.

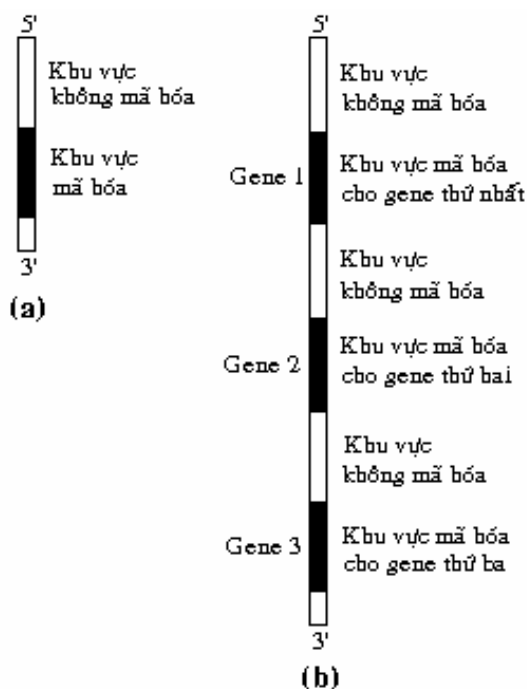
Hàm lượng ARN trong đa số tế bào nhiều hơn ADN gấp nhiều lần. Trong tế bào vi khuẩn ARN tồn tại trong tế bào chất; trong tế bào eukaryote ARN có mặt trong nhân, ty thể, lục lạp, ribosome và bào tương.

Trong tế bào prokaryote cũng như eukaryote có ba nhóm ARN chính là ARN thông tin (mARN), ARN vận chuyển (tARN) và ARN ribosome (rARN). Ngoài ra, còn một số loại ARN khác mà chức năng sinh học của chúng chưa được xác định. Một nhóm ARN đặc biệt khác còn có mặt trong nhiều loại virus, đặc biệt là virus thực vật và bacteriophage, ở đó chúng đóng vai trò là vật chất di truyền (thay cho ADN).

1. ARN thông tin (mARN).

Phân tử mARN chỉ chứa 4 nucleotide là A, U, G và C.

mARN trong tế bào chỉ chiếm khoảng vài phần trăm ARN tổng số, song bao gồm hàng ngàn loại khác nhau với trọng lượng phân tử dao động từ vài trăm ngàn đến hàng triệu. Phân tử của chúng hầu như chỉ chứa các base A, G, C và U, rất ít khi có mặt các base thứ yếu.



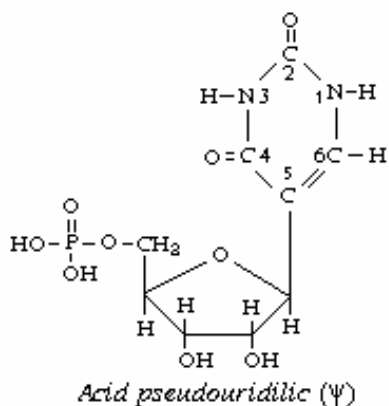
Cũng như tất cả các loại ARN khác, mARN được tổng hợp bằng cách sao chép từ các gen tương ứng trên các phân tử ADN trong quá trình có tên là *transcription* hay *sao mã*, khác với từ *nhân mã* ám chỉ quá trình nhân đôi phân tử ADN. Tuy nhiên, mARN chỉ được sao chép từ các gen chứa những thông tin cần thiết cho việc tạo ra các đại phân tử protein trong tế bào để mang những thông tin đó ở dạng các bộ ba mật mã di truyền đến ribosome để điều khiển quá trình sinh tổng hợp protein, hay còn gọi là quá trình *phiên mã* hay *dịch mã*. Sau khi hoàn thành chức năng của mình, chúng nhanh chóng bị phân hủy. Vì vậy, thời gian tồn tại

Hình IV.11. Trong các phân tử mARN polycistron các khu vực không mã hóa nằm xen kẽ với các khu vực không làm nhiệm vụ mã hóa.

Trong tế bào prokaryote một sợi mARN duy nhất có thể mã hóa cho một hoặc một số chuỗi polypeptide. Loại mARN mang thông tin cho một chuỗi polypeptide được gọi là *mARN monocistron*, nếu nó mã hóa cho một số chuỗi polypeptide thì được gọi là *mARN polycistron*. Ở eukaryote phần lớn mARN là monocistron. (Từ “cistron” ở đây đồng nghĩa với từ “gen”). Chiều dài của một phân tử mARN tương ứng với kích thước của chuỗi polypeptide mà nó mã hóa. Ví dụ, một chuỗi polypeptide chứa 100 gốc aminoacid đòi hỏi một mARN chứa ít nhất 300 gốc nucleotide, vì mỗi aminoacid được mã hóa bởi một bộ ba nucleotide. Tuy nhiên, các bản sao mARN từ ADN luôn dài hơn kích thước cần thiết để điều khiển quá trình phiên mã. Phần trật tự không trực tiếp làm nhiệm vụ mã hóa cho trật tự aminoacid của chuỗi polypeptide chính là trật tự làm nhiệm vụ điều hòa quá trình sinh tổng hợp protein. Trong các phân tử mARN polycistron các khu vực không mã hóa nằm xen kẽ với các khu vực không làm nhiệm vụ mã hóa (hình IV.11).

2. ARN vận chuyển (tARN).

tARN có phân tử tương đối nhỏ nên việc nghiên cứu cấu trúc của chúng ít gặp khó khăn hơn. Loại ARN này chiếm khoảng 16% ARN tổng số trong tế bào, làm nhiệm vụ vận chuyển aminoacid trong quá trình sinh tổng hợp protein. tARN chứa từ 75 đến 90 gốc nucleotide. Mỗi loại tARN chỉ tương ứng với một aminoacid nhất định. Tuy nhiên, một aminoacid có thể được vận chuyển bởi một số tARN khác nhau. Điều đó không có nghĩa là số loại tARN phải bằng số codon của mỗi aminoacid. Ví dụ, glycine có 4 codon nhưng chỉ có 3 tARN.



Một đặc điểm quan trọng của tARN là bên cạnh các base chủ yếu A, U, G và C trong phân tử của chúng còn chứa một lượng đáng kể các base thứ yếu (khoảng 10%). Phần lớn những base thứ yếu này là các dẫn xuất methyl hóa và hydrogen hóa của các base chủ yếu, đặc biệt rất thường gặp là acid dihyouridilic, ký hiệu là UH₂. Thêm vào đó, base uracil còn tạo ra một lượng nhỏ nucleotide không bình thường có tên là acid pseudouridilic, tức 5'-nucleotide

của pseudouridine, ký hiệu là ψ . Trong tARN cũng chứa cả acid (ribo)thymidilic với tư cách là một nucleotide thứ yếu.

Các base và nucleotide thứ yếu có tác dụng làm cho phân tử tARN bền vững với nuclease và duy trì cấu trúc bậc ba đặc trưng của phân tử bằng cách ngăn cản sự hình thành cấu trúc xoắn kép ở những khu vực nhất định mà tại đó các phân tử tARN khác nhau cần gắn với mARN, ribosome và với các enzyme aminoacyl-tARN synthetase đặc hiệu với chúng.

Năm 1955 lần đầu tiên Holley đã xác định được hoàn toàn trật tự nucleotide của tARN vận chuyển alanin (tARN_{ala}) gồm 77 gốc nucleotide. Sau đó trật tự nucleotide, tức cấu trúc bậc một của nhiều tARN khác cũng đã lần lượt được xác định. Đồng thời các nhà khoa học cũng đã phát hiện được rằng cấu trúc bậc một, bậc hai và bậc ba của tất cả các loại tARN đều có nhiều điểm giống nhau (hình IV.12,13):

- Đầu tận cùng 5' bao giờ cũng là pG, còn đầu tận cùng 3' là trật tự pCpCpA. Aminoacid được gắn bằng liên kết ester với nhóm -3'OH tự do của gốc acid adenylic tận cùng.

- Các khu vực xoắn kép cục bộ được bắt đầu từ base thứ 5 kể từ đầu -3'OH và xen kẽ với các khu vực sợi đơn tạo thành các thùy.

- Thùy đầu tiên kể từ đầu 3' được gọi là *thùy toàn năng* gồm 7 nucleotide, trong đó trật tự 5'-pGpTp ψ pcpG-3' chung cho mọi tARN. Theo nhiều tác giả, thùy này dùng để gắn với ribosome.

- Tiếp theo thùy toàn năng là thùy phụ với kích thước biến động ở các loại tARN khác nhau. Chức năng của thùy này chưa rõ.

- Sau thùy phụ là *thùy đối mã* chứa *bộ ba đối mã* (anticodon) đặc hiệu cho mỗi loại tARN. Bộ ba đối mã này luôn luôn nằm giữa một base thứ yếu (thường là một base purine alkyl hóa) về phía đầu 3' và U về phía đầu 5'. Trong quá trình sinh tổng hợp protein trong ribosome nhờ tính bổ sung giữa các bộ ba đối mã của tARN và các bộ ba mật mã của mARN mà hai loại ARN phối hợp được với nhau để xác định trật tự aminoacid của chuỗi polypeptide cần được tổng hợp.

Hình VI.12. Sơ đồ cấu trúc bậc hai dạng lá chẻ ba của tARN

- Tiếp tục về phía đầu 5' là thùy UH₂. Tên gọi này xuất phát từ chỗ UH₂ luôn có mặt tại đây. Trật tự 3'pUH₂pGpA-5' là chung cho mọi tARN. Theo quan điểm được nhiều nhà khoa học công nhận, thùy này là nơi tARN gắn với enzyme aminoacyl-tARN-synthetase đặc hiệu.

- Cấu trúc bậc hai với những đặc điểm nói trên có dạng một lá chẻ ba, vì vậy nó thường được gọi là cấu trúc lá chẻ ba.

- Cấu trúc bậc ba của tARN, theo quan điểm được nhiều người thừa nhận, có dạng chữ Γ , trong đó một đầu của chữ này chứa hai đầu tận cùng 3' và 5', đầu đối diện chữ thùy đối mã, còn góc của nó chứa thùy toàn năng và thùy UH₂. Cấu trúc này hình thành chủ yếu là nhờ những liên kết hydro khác với các liên kết hydro tạo ra các khu vực xoắn kép hình IV.13).

Hình VI.13. Mô hình cấu trúc bậc ba của tARN

3. ARN ribosome (rARN).

rARN là thành phần cấu tạo của ribosome. Chúng chiếm hơn 80% tổng số ARN của tế bào. Trong các tế bào procaryote, mà đại diện là E. coli, có ba loại rARN với hằng số lắng 23S, 16S và 5S. Hai loại 23S và 5S góp phần cùng với 34 loại protein khác nhau, ký hiệu từ L1 đến L34, tạo nên phần dưới đơn vị ribosome 50S. Trong khi đó ARN 16S cùng với 21 loại protein, ký hiệu từ S1 đến S21, tạo nên phần dưới đơn vị ribosome 30S. Khi tổng hợp protein, hai phần dưới đơn vị 50S và 30S kết hợp với nhau để tạo nên ribosome hoạt động 70S (hình IV.14).

Ribosome của tế bào eucaryote có hằng số lắng 80S và được cấu tạo bởi hai phần dưới đơn vị 40S và 60S. Phần dưới đơn vị 40S chứa ARN 18S kết hợp với 33 loại protein, còn phần dưới đơn vị 60S chứa các loại ARN 28S, 5,8S và 5S kết hợp với 49 loại protein.

Cũng như các loại ARN khác, chuỗi polinucleotide của rARN tạo nên các khu vực xoắn kép trên cơ sở tính bổ sung của các base nitơ A-U và G-C (hình VI.15). Hai phần dưới đơn vị

Hình IV.14. Cấu trúc không gian của ribosom tế bào procaryote và tế bào eucaryote.

của ribosome phối hợp với nhau sao cho giữa chúng có một khe hở để sợi mRNA xuyên qua để truyền đạt thông tin trong quá trình sinh tổng hợp protein. Ngoài ra, trong ribosome còn có những khu vực đặc biệt cho phép chúng liên kết tạm thời với aminoacyl-tARN và với sợi polypeptide đang được tổng hợp. Trong sự liên kết này rARN đóng vai trò rất quan trọng.

Hình IV.15. rARN 16S và rARN 5S

V. PHÂN GIẢI ACID NUCLEIC.

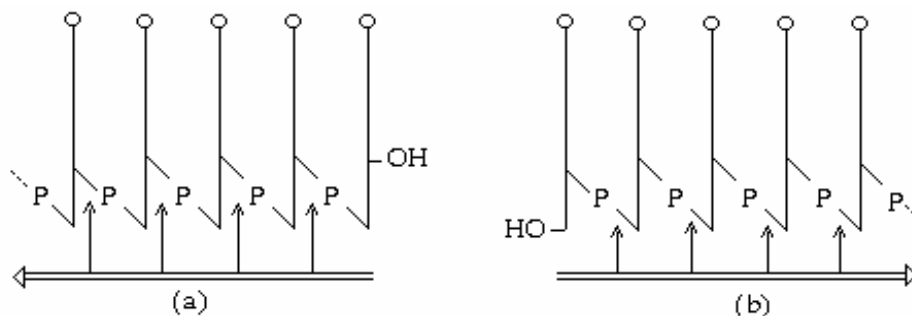
1. Tác dụng của exo- và endonuclease.

ADN và ARN bị thủy phân với sự xúc tác của các loại nuclease và phosphodiesterase đặc hiệu. Những enzyme này có thể được chia làm hai nhóm a và b. Những enzyme nhóm a chỉ thủy phân liên kết ester giữa gốc phosphate với C3' (liên kết a trong hình IV.7), trong khi đó các enzyme nhóm b chỉ thủy phân liên kết ester giữa gốc phosphate với C5' (liên kết b).

Thuộc enzyme nhóm a có phosphodiesterase của nọc rắn. Enzyme này thủy phân mọi liên kết a trong ADN cũng như trong ARN và giải phóng nucleoside-5'-phosphate. Hoạt động của enzyme này đòi hỏi sự tồn tại của nhóm 3'-OH tự do ở đầu tận cùng mạch polinucleotide. Phản ứng được thực hiện từng bước ở đầu tận cùng này (hình XII.1 a).

Thuộc nhóm b có phosphodiesterase của lách bò. Nó tác dụng từ đầu tận cùng chứa nhóm 5'OH tự do, thủy phân lần lượt các liên kết của cả ADN và ARN để giải phóng nucleoside-3'-phosphate (hình XII.1 b).

Cả hai loại enzyme này đều thuộc loại exonuclease. Khác với chúng, những enzyme thuộc loại endonuclease không đòi hỏi sự tồn tại của nhóm 3'- hoặc 5'-OH tận cùng. Chúng công phá các liên kết a hoặc b ở các vị trí trong giữa mạch polynucleotide. Hoạt động của chúng mang tính chất đặc hiệu nhất định đối với thành phần nucleotide của phân tử ADN và ARN.

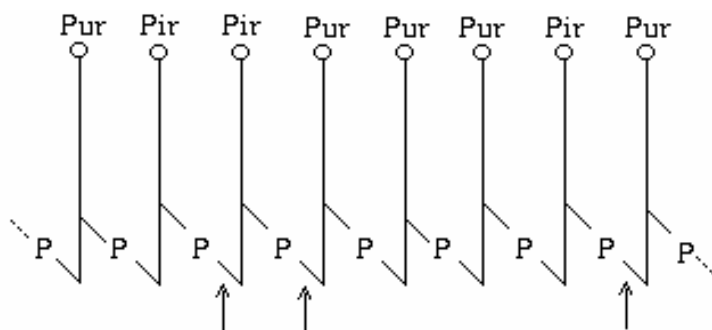


Hình XII.1. Cơ chế tác dụng của phosphodiesterase nọc rắn (a) và phosphodiesterase lách bò (b).

Deoxyribonuclease I từ tuyến tụy của bò thủy phân liên kết a giữa các pyrimidine và purine không phụ thuộc vào vị trí của chúng trong mạch (với điều kiện mạch tương đối dài). Sản phẩm là những oligonucleotide chứa khoảng 4 đơn vị với gốc phosphate ở đầu 5' và nhóm -OH ở đầu 3'.

Deoxyribonuclease II từ lách, tuyến ức hoặc vi khuẩn thủy phân liên kết b trong một số trường hợp. Sản phẩm là những oligonucleotide chứa khoảng 6 đơn vị với gốc phosphate ở đầu 3' và nhóm -OH ở đầu 5'.

Ribonuclease tuyến tụy chỉ thủy phân những liên kết b của ARN mà gốc phosphate gắn với một pyrimidine-nucleotide thông qua liên kết a (hình XII.2).



Hình XII.2. Cơ chế tác dụng của ribonuclease tuyến tụy

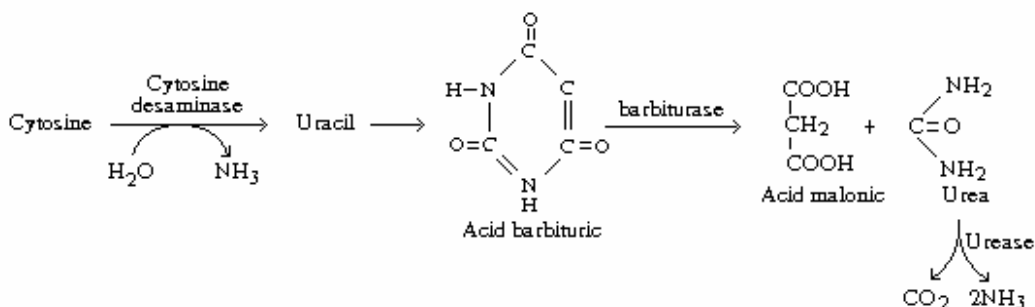
Sản phẩm là những pyrimidine-nucleoside - 3'-phosphate và những oligo-nucleotide chứa khoảng 2-5 đơn vị purine-nucleotide và một gốc pyrimidine-nucleoside - 3'-phosphate tận cùng. Sản phẩm trung gian là những pyrimidine-

nucleoside -2',3'-phosphate vòng ở dạng gốc tự do hoặc ở dạng gốc tận cùng của oligonucleotide.

Ngoài những enzyme kể trên, ngày nay người ta đã phát hiện được nhiều loại exonuclease và endonuclease khác từ các nguồn khác nhau. Các loại nuclease được sử dụng rộng rãi trong việc xác định cấu trúc bậc một của acid nucleic.

Hình XII.3. Phân giải base purine thành sản phẩm cuối cùng

Quá trình phân giải các base pyrimidine chưa được nghiên cứu đầy đủ. Các số liệu thu được ở vi sinh vật cho thấy chúng bị phân giải thành acid malonic, ammoniac và CO₂ với sản phẩm trung gian là acid barbituric (hình XII.4). Tương tự uracil sản phẩm trung gian của quá trình dị hóa thymine là acid 5-methyl-barbituric.

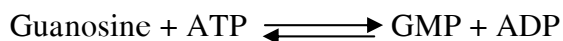


Hình XII.4. Phân giải các base pyrimidine cytosine và uracil thành sản phẩm cuối cùng.

Trong nhiều cơ thể, đặc biệt ở vi khuẩn, các base tự do có thể không bị phân giải hoàn toàn mà được sử dụng lại để tổng hợp acid nucleic và các hợp chất khác. Các base purine tự do có thể biến thành nucleotide tương ứng nhờ phosphoribosyltransferase:



Chúng cũng có thể biến thành nucleotide với sự xúc tác liên tiếp của hai enzyme nucleoside phosphosylase và nucleoside kinase. Ví dụ:



Các sản phẩm trung gian của quá trình dị hóa pyrimidine có thể được dùng để tổng hợp một số β-aminoacid, ví dụ β-alanine và acid β-aminobutyric.