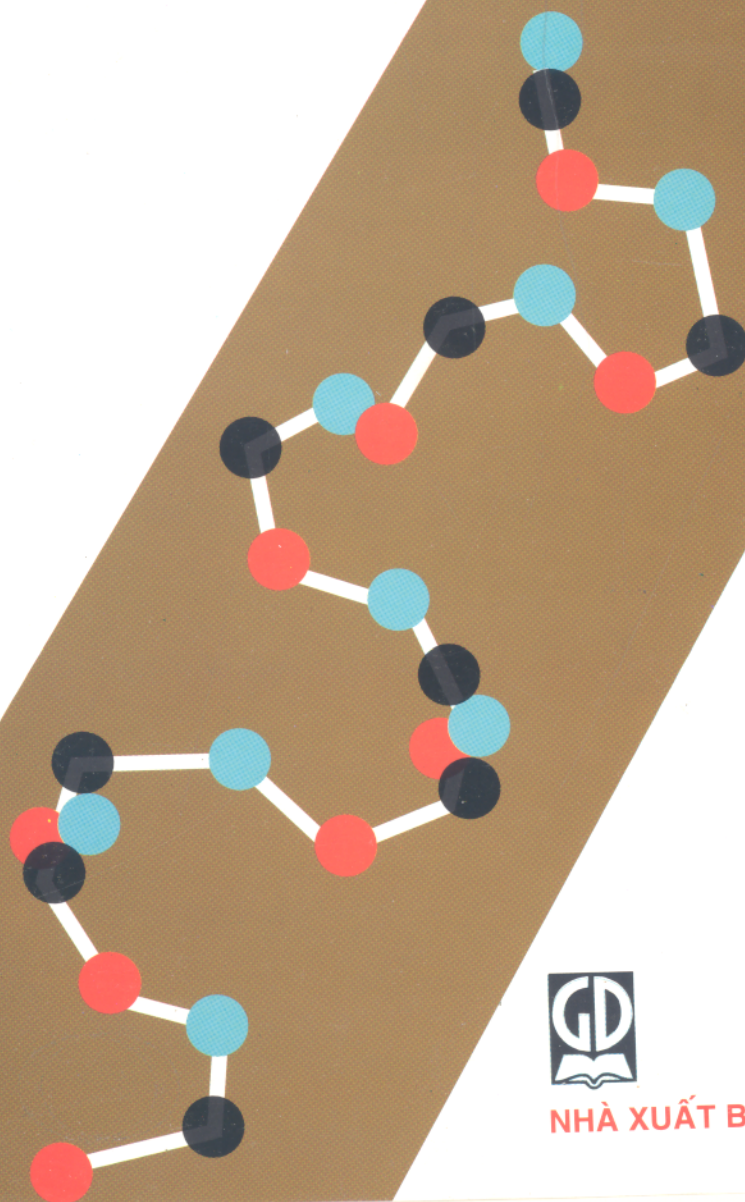


PHẠM THỊ TRÂN CHÂU
TRẦN THỊ ÁNG

Hóa sinh học



NHÀ XUẤT BẢN GIÁO DỤC

GS. TSKH. PHẠM THỊ TRẦN CHÂU (Chủ biên) – TRẦN THỊ ÁNG

HOẢ SINH HỌC

Đã được Hội đồng thẩm định sách của Bộ Giáo dục và Đào tạo giới thiệu
làm sách dùng chung cho các trường Đại học Sư phạm

(Tái bản lần thứ sáu)

NHÀ XUẤT BẢN GIÁO DỤC

Lời nói đầu

Hoá sinh học nghiên cứu thành phần cấu tạo và các quá trình chuyển hoá các chất trong hệ thống sống.

Trong nửa cuối thế kỉ XX, Hoá sinh học là một trong những lĩnh vực phát triển mạnh nhất của Sinh học. Những thành tựu của Hoá sinh học đã góp phần làm sáng tỏ bản chất của sự sống, của các quá trình sống, cơ sở phân tử của quá trình truyền thông tin di truyền v.v.

Các giáo trình Hoá sinh học cơ sở dùng cho sinh viên các trường Đại học khoa học cơ bản nhằm trang bị cho sinh viên những kiến thức cơ bản nhất, làm nền tảng để có thể tiếp tục đi sâu học tập và nghiên cứu về Hoá sinh. Mặt khác, tạo điều kiện cho sinh viên dễ tiếp thu các kiến thức sinh học thực nghiệm khác như: Vi sinh vật học, Di truyền học, Sinh lí học v.v.

Các sách Hoá sinh học cơ sở thường bao gồm hai nội dung chính:

- Cấu trúc, tính chất, chức năng các thành phần cấu tạo chủ yếu của tế bào (Tinh hoá sinh học)*
- Quá trình chuyển hoá các chất chủ yếu trong hệ thống sống (Động hoá sinh học)*

Chương trình Hoá sinh học do Bộ Giáo dục soạn thảo và thông qua năm 1984 cũng sắp xếp các phần theo thứ tự trên. Ngoài ra cũng đã quy định rõ số tiết và số trang tương ứng cho mỗi chương.

Cuốn sách này biên soạn theo đúng tinh thần của chương trình do Bộ Giáo dục ban hành năm 1984 để dùng làm tài liệu học tập chủ yếu cho sinh viên các trường Đại học Sư phạm. Tuy nhiên, sách cũng có thể dùng làm tài liệu tham khảo cho sinh viên các trường đại học và các trường cao đẳng khác, cho những người chuẩn bị dự các kì thi tuyển sau và trên đại học, các giáo viên phổ thông, các cán bộ nghiên cứu muốn tìm hiểu những vấn đề có liên quan đến Hoá sinh học.

Trong quá trình biên soạn, các tác giả cũng đã cố gắng đưa thêm những kiến thức nâng cao và gợi ý cho sinh viên tiếp cận với những vấn đề thời sự, những kiến thức hiện đại trong Hoá sinh học. Tuy nhiên do khuôn khổ sách và giới hạn của chương trình, những vấn đề nâng cao, đi sâu sẽ được in chữ nhỏ, có tính chất để tham khảo thêm.

Sách bao gồm 13 chương, từ chương I đến chương VII do Phạm Thị Trân Châu biên soạn; từ chương VIII đến chương XIII do Trần Thị Áng biên soạn.

Về cách phiên âm các từ hoá học, chúng tôi theo cách phiên âm hiện hành, theo "Từ điển sinh học Nga Việt". Tuy nhiên, dựa vào những ý kiến đóng góp trong mấy năm qua, chúng tôi có một số thay đổi về tên phiên âm một số xacarit và enzim. Ví dụ : glucoz, xacaroza ... lipaz, amilaz, v.v. thay cho glucoza, xacaroza ..., lipaza, amilaza v.v.

Các tác giả xin chân thành cảm ơn những ý kiến đóng góp quý báu của các bạn bè đồng nghiệp, biên tập viên và những người đã góp phần chuẩn bị để sách được ra mắt bạn đọc.

Chúng tôi rất mong nhận được nhiều ý kiến đóng góp của các bạn đồng nghiệp, sinh viên và đông đảo bạn đọc.

Các tác giả

BÀI MỞ ĐẦU

1. Đối tượng, phương pháp, lược sử nghiên cứu Hoá sinh, sự liên quan giữa hoá sinh với các ngành khoa học khác

Hoá sinh học là khoa học nghiên cứu cơ sở phân tử của sự sống : thành phần cấu tạo hoá học (Tĩnh hoá sinh), quá trình chuyển hoá các chất trong tế bào và cơ thể sống (Động hoá sinh), cơ sở hoá học của các quá trình hoạt động sống (Hoá sinh chức năng). Mặt khác, tùy theo đối tượng sinh vật được nghiên cứu có thể phân chia thành : Hoá sinh động vật, Hoá sinh thực vật, Hoá sinh vi sinh vật. Do đó đối tượng của Hoá sinh học rất khác nhau về không gian và thời gian.

Hoá sinh học sử dụng chủ yếu các phương pháp hoá học, phương pháp hoá lí, tuy nhiên trong nhiều năm nay cũng đã sử dụng cả các phương pháp vật lí hiện đại như phương pháp nhiễu xạ rơnghen, phương pháp cộng hưởng từ điện tử, cộng hưởng từ hạt nhân, các phương pháp đồng vị phóng xạ đánh dấu các chất v.v.

Lịch sử hình thành và phát triển của hoá sinh gắn liền với những thành tựu của Hoá hữu cơ, Sinh lí học, Y học và các ngành khoa học khác. Các nghiên cứu hoá sinh đã bắt đầu từ cuối thế kỉ 18. Tuy nhiên, mãi đến cuối thế kỉ 19 đầu thế kỉ 20 Hoá sinh học mới trở thành một ngành khoa học độc lập.

Lược sử phát triển Hoá sinh học.

– Nửa đầu thế kỉ 19, sự kiện Vole (Friedrich Wohler, 1828) tổng hợp được ure đã chứng tỏ có thể tổng hợp được chất hữu cơ của cơ thể sống mà không cần “lực sống”. Đây là công trình mở đầu quan trọng, góp phần đánh đổ quan niệm duy tâm về thế giới sống. Trong thời kì này cũng đã có nhiều nghiên cứu về thành phần hoá học của tế bào thực vật, tế bào động vật ; đã tách được một số enzym như : amilaz từ hạt lúa mạch nảy mầm, pepsin từ dạ dày, tripsin từ tuyến tụy.

– Nửa cuối thế kỉ 19 đã có nhiều dẫn liệu về cấu trúc của các axit amin, xacarit, lipit, bản chất của liên kết peptit; bắt đầu có các nghiên cứu về axit nucleic. Ngoài ra người ta cũng đã bắt đầu chú ý tìm hiểu và giải thích một số quá trình chuyển hoá các chất trong cơ thể sống, đặc biệt là quá trình lên men.

Năm 1897 Bucne (Eduard Buchner) đã thành công trong thí nghiệm lên men vô bào. Kết quả này chứng tỏ có sự chuyển hoá các chất hữu cơ không cần đến hoạt động sống của tế bào, lại một lần nữa quan niệm duy tâm về sự sống bị tấn công. Chính công trình của Bucne đã thúc đẩy sự phát triển Hoá sinh học thành một chuyên ngành độc lập.

– Nửa đầu thế kỉ 20 đã đạt được nhiều thành tựu về Hoá sinh dinh dưỡng, phát hiện được một số bệnh liên quan với dinh dưỡng không đủ chất. Đã phát hiện được các vitamin, hoocmon và xác định vai trò của chúng trong cơ thể. Xác định được bản chất hoá học của enzym là protein. Trong giai đoạn này cũng đã xác định được các phản ứng của quá trình lên men và oxi hoá sinh học.

Đến năm 1950, về cơ bản đã xác định được tính chất các chất chủ yếu cấu tạo cơ thể sống và các con đường chuyển hoá chúng trong cơ thể.

Từ sau 1950 đến nay đã đạt được những thành tựu đáng kể trong nghiên cứu cấu trúc phân tử protein, axit nucleic, liên quan giữa cấu trúc và chức năng, xây dựng lý thuyết về các chất xúc tác sinh học ; đề ra được cơ chế quá trình tổng hợp protein, axit nucleic và cơ chế điều hoà các quá trình sinh tổng hợp này.

Trong 20 năm gần đây đã *tổng hợp được một số protein có hoạt tính sinh học bằng phương pháp hoá học, công nghệ sinh học*. Ví dụ : đã tổng hợp được insulin là một protein có hoạt tính hoocmon (làm giảm lượng đường trong máu, được sử dụng để điều trị bệnh đái tháo đường). Đó là protein đầu tiên được xác định cấu trúc bậc I (1955) và là protein đầu tiên được tổng hợp bằng phương pháp hoá học (1966), cuối cùng cũng lại là protein đầu tiên được nghiên cứu tổng hợp bằng các phương pháp công nghệ sinh học với lượng lớn để phục vụ y học. Đến nay người ta đã tổng hợp được nhiều polipeptit có hoạt tính sinh học khác nhau như hoạt tính enzym, hoạt tính ức chế enzym.

Từ 1961 – 1966 đã có hàng loạt các công trình nghiên cứu cấu trúc phân tử axit nucleic và vai trò của chúng trong quá trình tổng hợp protein.

Năm 1961 đã đề ra được mô hình điều hoà hoạt động gen.

Từ 1970 đã bắt đầu nghiên cứu tổng hợp gen bằng phương pháp hoá học và lần đầu tiên Khorana đã tổng hợp được polinucleotit 2 sợi, tương ứng với gen tổng hợp ARN_{vc} alanin của nấm men.

Những phương hướng nghiên cứu chủ yếu của Hoá sinh học ngày nay là tiếp tục tìm hiểu quá trình sinh tổng hợp axit nucleic và protein, sự liên quan giữa biến đổi di truyền với các quá trình bệnh lý ; đặc tính các quá trình trao đổi trung gian, cơ chế điều hoà của tế bào, cơ chế tác dụng của các hoocmon v.v. nhằm tiến đến chủ động điều khiển mọi hoạt động và quá trình sống theo hướng có lợi nhất, nhằm bảo vệ môi sinh, bảo vệ con người ; mô hình hoá các quá trình sống, thực hiện các quá trình sống ở quy mô công nghiệp, tạo ra ngày càng nhiều các chế phẩm sinh học, các sản phẩm có giá trị để sử dụng trong y học, nông nghiệp, công nghiệp. Hoá sinh học góp phần giải quyết các vấn đề quan trọng của trồng trọt, chăn nuôi và y học.

2. Hoá sinh học Việt Nam

Ở nước ta, trong 40 năm qua Hoá sinh học cũng đã có được những đóng góp nhất định vào các lĩnh vực y học, nông, lâm, ngư nghiệp, công nghiệp thực phẩm và cũng đã có được một số đóng góp cho sự phát triển Hoá sinh học của thế giới.

Các kết quả nghiên cứu hoá sinh ở nước ta trong thời gian qua tập trung vào một số vấn đề sau :

– Về Hoá sinh thực vật, đã có các nghiên cứu điều tra hoá sinh một số cây quan trọng như lúa, đỗ tương, lạc và các loại cây họ đậu khác nhằm phục vụ việc nâng cao năng suất, chất lượng dinh dưỡng của hạt, nâng cao hiệu quả sử dụng chúng. Mặt khác, cũng đã có các nghiên cứu nhằm nâng cao tính chống chịu của những cây trồng quan trọng.

– Về Hoá sinh động vật, các nghiên cứu tập trung phục vụ công tác lai tạo giống bò, tìm hiểu cơ chế một số bệnh ở lợn, gà và phương pháp phòng trừ ; nghiên cứu sử dụng các nguyên liệu sẵn có trong nước để chuẩn bị các chế phẩm làm tăng khối lượng thịt lợn, gà và các chế phẩm làm tăng tính miễn dịch của động vật.

Các nghiên cứu về enzym đã thu hút sự quan tâm của đông đảo cán bộ Hoá sinh học. Các nghiên cứu nhằm theo hướng tách, tinh sạch enzym, tạo ra các chế phẩm có độ sạch khác nhau,

nghiên cứu tính chất, cấu trúc, liên quan giữa cấu trúc và hoạt tính sinh học của enzym, khả năng ứng dụng enzym trong thực tế. Các enzym được chú ý nhiều nhất và đã được sử dụng trong thực tế ở quy mô thử nghiệm là : bromelin (proteinaz của dứa), pepsin, tripsin hoặc chế phẩm pancreatin, glucoamilaz vi sinh vật. Đối với các enzym này đã lựa chọn được nguyên liệu rẻ tiền, quy trình đơn giản để sản xuất, bảo quản chế phẩm enzym, đã sử dụng thử trong công nghiệp thực phẩm, công nghiệp nhẹ, trong y học.

Ngoài enzym, đã tiến hành nghiên cứu cơ bản một số protein có hoạt tính sinh học khác (protein ức chế tripsin và các proteinaz khác v.v.) cũng như các chất có hoạt tính sinh học phân tử thấp tách từ các nguồn động, thực vật Việt Nam. Các nghiên cứu này nhằm khai thác, tận dụng nguồn tài nguyên nhiệt đới phong phú của nước ta để phục vụ trong nước và có thể tiến đến xuất khẩu.

- Xác định các chỉ tiêu hoá sinh của người Việt Nam, những biến đổi của các chỉ tiêu này ở các trạng thái sinh lý, bệnh lý khác nhau hoặc dưới tác dụng các yếu tố môi trường (chất độc hoá học, bức xạ siêu cao tần v.v.).

- Áp dụng, cải tiến, xây dựng các phương pháp kỹ thuật hoá sinh hiện đại, đơn giản, nhanh, phục vụ cho công tác xét nghiệm hoá sinh để phòng và chữa bệnh kịp thời cũng như các nghiên cứu cơ bản.

Những kết quả nghiên cứu về hoá sinh của nước ta đã được công bố ngày càng nhiều ở các tạp chí, các hội nghị trong nước và quốc tế.

Đến nay chúng ta đã tổ chức được các "Hội nghị Hoá sinh học toàn quốc phục vụ sản xuất và đời sống". Hội nghị lần thứ nhất tháng 12/1988 và lần thứ 2 tháng 10/1991, lần thứ 3 năm 1994.

3. Những đặc điểm chính của tế bào, cơ thể sống, sự tương tác giữa cơ thể và môi trường

a) Đặc điểm chung về thành phần hoá học của cơ thể sống.

Nghiên cứu thành phần hoá học của cơ thể sống người ta đã rút ra được một số nhận xét chung sau :

- Hàm lượng nước khá lớn : ở người khoảng 58-65%, ở nhiều loài cá hơn 80 %, một số sinh vật ở nước có thể đến 90% và đặc biệt ở sữa có thể đến 98%.

- Thành phần nguyên tố : Trong cơ thể sống chỉ tìm thấy 27 trong số gần 100 nguyên tố đã biết. Các nguyên tố có trong thành phần các hợp chất hữu cơ của tế bào và cơ thể sống là C, H, O, N, P, S. Hàm lượng C vào khoảng 43-48%, H : 7%, N : 8-12%. Một số nguyên tố thường gặp ở dạng ion như Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Cl^- , các nguyên tố khác (Mn, Fe, Co, Cu, Zn, B, Al, Mo, I, Si, Sn, Ni, Cr, F, Se, Vd) chỉ có với lượng rất nhỏ, gọi là các nguyên tố vi lượng. Như vậy ta thấy có sự sai khác rõ rệt về thành phần nguyên tố giữa thế giới sống và không sống.

- + Bốn nguyên tố chủ yếu trong tế bào và cơ thể sống là C, H, O, N, trong khi đó bốn nguyên tố chủ yếu của vỏ Trái đất là O, Si, Al, Fe.

- + Các nguyên tố C và N của cơ thể sống thường ở dạng khử, trong các hợp chất hữu cơ phức tạp, còn ở môi trường ngoài hệ thống sống chúng thường tồn tại ở dạng các hợp chất đơn giản như CO_2 , N_2 , cacbonat, nitrat, v.v.

– Các hợp chất hữu cơ trong cơ thể sống thường có cấu tạo rất phức tạp, khối lượng phân tử lớn và rất đa dạng.

Sinh vật nhỏ bé như vi khuẩn *Echerichia coli* cũng chứa gần 5000 kiểu hợp chất hữu cơ khác nhau, trong đó có 3000 protein khác nhau, ở người có đến 100000 loại protein khác nhau và chưa tìm thấy một protein nào của người hoàn toàn giống với một trong 3000 protein của *E.coli*, mặc dầu các protein có chức năng tương tự nhau.

Trong thế giới sống có khoảng 1,5 triệu loài (species), khoảng 10^{10} - 10^{12} loại phân tử protein khác nhau và khoảng 10^{10} kiểu phân tử axit nucleic. Trong tất cả các hợp chất hữu cơ của cơ thể sống người ta mới biết được cấu trúc của khoảng 10^6 hợp chất. Vì vậy, việc nghiên cứu tinh hoá sinh vẫn đang là một trong những nhiệm vụ quan trọng của Hoá sinh học. Kết quả nghiên cứu hiện đại trong lĩnh vực này cho phép xác định được thực chất hơn mối quan hệ họ hàng giữa các sinh vật và sự tiến hoá của chúng.

b) Đặc điểm của các phản ứng hoá học xảy ra trong cơ thể sống

Hầu hết các phản ứng đều do enzym xúc tác, vì vậy chúng có một số đặc điểm chung sau :

– Có thể xảy ra ở điều kiện nhiệt độ và áp suất bình thường với tốc độ nhanh gấp hàng trăm, hàng nghìn lần khi xảy ra ngoài cơ thể sống.

– Nhiều phản ứng khác nhau có thể tiến hành đồng thời trong một vi môi trường nhất định, liên hệ chặt chẽ với nhau theo một trình tự xác định.

– Các phản ứng, các quá trình chuyển hoá được điều hoà nghiêm ngặt theo những cơ chế tinh vi phức tạp, các sản phẩm phản ứng, sản phẩm trao đổi trung gian cũng đóng vai trò quan trọng trong cơ chế tự điều hoà này.

c) Sự liên hệ chặt chẽ giữa cơ thể và môi trường

Thành phần cơ bản của các tế bào và cơ thể sống nằm trong một hệ thống liên hệ và tương tác chặt chẽ với thiên nhiên môi trường xung quanh. Ví dụ rõ ràng nhất là chu trình cacbon, chu trình nitơ (xem phần “trao đổi chất và trao đổi năng lượng”). Khí CO_2 trong khí quyển được thực vật hấp thụ $\rightarrow$ động vật $\rightarrow \text{CO}_2$ vào khí quyển.

Hàm lượng C trong cơ thể sống (10^{13} - 10^{14} tấn) lớn hơn hàm lượng C có trong khí quyển (2×10^{12} tấn). Đại dương có hàm lượng C là 10^{14} tấn ; than đá : 2×10^{13} tấn ; đá vôi : 10^{16} tấn. Lượng CO_2 do 1 tỉ người trên hành tinh thải ra là $2,9 \times 10^{11}$ kg/năm, tương đương với lượng CO_2 thoát ra khi đốt cháy 115 triệu tấn than. Vi khuẩn hô hấp còn mạnh hơn người vài trăm lần.

Thực vật xanh sử dụng CO_2 của khí quyển để tạo nên các chất hữu cơ cho chúng. Ví dụ đối với các cây ngũ cốc, để tổng hợp được 1 tấn cacbon ở dạng hợp chất hữu cơ cần $8,6 \times 10^6 \text{ m}^3$ không khí, có $5 \times 10^4 \text{ m}^3 \text{ CO}_2$.

Nitơ của khí quyển đưa vào cơ thể sống nhờ các vi sinh vật cố định nitơ, chuyển N_2 thành dạng nitrit, nitrat, axit amin thực vật. Kết quả của quá trình đồng hoá, dị hoá ở cơ thể sinh vật, tác dụng của vi sinh vật lại tạo thành N_2 đi vào khí quyển.

d) Sơ lược về Hoá sinh dinh dưỡng và tình trạng thiếu dinh dưỡng hiện nay

Để bảo đảm cho tế bào và cơ thể sống tồn tại, cần có một chế độ dinh dưỡng đủ năng lượng, đủ chất, có tỉ lệ cân đối giữa các thành phần dinh dưỡng trong khẩu phần.

Mỗi chất dinh dưỡng có thể được sử dụng cho nhiều quá trình khác nhau trong cơ thể. Tuy nhiên, vai trò chủ yếu của mỗi chất lại khác nhau : protein cần cho quá trình tăng trưởng; lipid và xacarit cung cấp năng lượng (1g lipid cung cấp 9 kcal trong khi đó 1g xacarit hoặc protein chỉ cung cấp 4 kcal) ; còn vitamin có thể nói một cách khái quát là có vai trò bồi bổ sức khỏe.

Theo nhiều tài liệu, tương quan giữa protein : lipid : xacarit trong khẩu phần nên là 1 : 1 : 5 hoặc 1 : 1 : 4 (1g protein nên có 1g lipid và 4 (hoặc 5g) xacarit). Nếu theo tỉ lệ 1 : 1 : 4 thì năng lượng do protein cung cấp là khoảng 14%, lipid 30% và xacarit là 56% tổng năng lượng do khẩu phần cung cấp.

Theo tài liệu của Viện Dinh dưỡng Việt Nam, năng lượng do protein cung cấp nên đạt 12 – 15%, lipid từ 25 đến 35% tổng số năng lượng ; năng lượng do lipid không nên vượt quá 35% hoặc thấp hơn 10%.

Nếu ăn không đủ năng lượng và không đủ các chất dinh dưỡng cần thiết trong một thời gian tương đối dài sẽ bị “*thiếu dinh dưỡng*”. Theo tổ chức y tế thế giới có 4 loại bệnh thiếu dinh dưỡng quan trọng nhất hiện nay là : 1) thiếu dinh dưỡng protein năng lượng. 2) bệnh khô mắt do thiếu vitamin A. 3) thiếu máu dinh dưỡng do thiếu sắt. 4) bệnh bướu cổ địa phương và bệnh kém phát triển trí tuệ do thiếu iot. Tình trạng thiếu dinh dưỡng phổ biến ở các nước đang phát triển và ở tầng lớp nghèo. Riêng bệnh do thiếu iot có tính chất địa phương. Bệnh thiếu máu dinh dưỡng cũng gặp ở cả các nước phát triển. Đặc biệt, tình trạng thiếu dinh dưỡng protein năng lượng ở trẻ em các nước đang phát triển là vấn đề rất nghiêm trọng đang được quan tâm giải quyết. Để giải quyết các bệnh thiếu dinh dưỡng cần tiến hành “*can thiệp dinh dưỡng*” (cải tiến bữa ăn, cách ăn) với sự tham gia của nhiều ngành : y tế, nông nghiệp, giáo dục. Nước ta có nguồn thực vật nhiệt đới phong phú do đó cần nghiên cứu khai thác các nguồn nguyên liệu tự nhiên giàu các chất cần bổ sung vào khẩu phần. Hoá sinh học phải góp phần giải quyết hiện trạng trên.

Chương I

Protein

Protein là các polime phân tử lớn chủ yếu bao gồm các L – axit amin kết hợp với nhau qua liên kết peptit.

I - ĐẶC TÍNH CHUNG VÀ VAI TRÒ SINH HỌC CỦA PROTEIN, NGUỒN PROTEIN

Protein là thành phần không thể thiếu được của tất cả các cơ thể sinh vật nhưng lại có tính đặc thù cao cho từng loài, từng cá thể của cùng một loài, từng cơ quan, mô của cùng một cá thể. Protein rất đa dạng về cấu trúc và chức năng, là nền tảng về cấu trúc và chức năng của cơ thể sống. Có thể kể đến một số chức năng quan trọng của protein như sau :

1. Xúc tác

Các protein có chức năng xúc tác cho các phản ứng gọi là enzym. Hầu hết các phản ứng của hệ thống sinh học, từ những phản ứng đơn giản nhất như phản ứng hydrat hoá CO_2 đến những phản ứng khá phức tạp như sao chép mã di truyền v.v. đều do enzym xúc tác. Enzim đóng vai trò quan trọng xác định kiểu biến đổi hoá học trong hệ thống sống. Đến nay đã biết và phân loại được hơn 3500 enzym, một số enzym đã được kết tinh và nghiên cứu kĩ về cấu trúc.

2. Vận tải

Một số protein có vai trò như những “xe tải” vận chuyển các chất trong cơ thể.

Ví dụ : hemoglobin, mioglobin (ở động vật có xương sống), hemoxianin (ở động vật không xương sống) kết hợp với O_2 và tải chúng đến khắp các mô và cơ quan trong cơ thể. Nhờ các chất “tải” O_2 này, mặc dù độ hoà tan trong nước của O_2 thấp, vẫn bảo đảm thoả mãn được nhu cầu O_2 của cơ thể. Có hemoglobin trong máu đã làm tăng dung tích “tải” O_2 của máu. Hemoglobin còn có vai trò quan trọng trong vận tải CO_2 , H^+ .

3. Chuyển động

Nhiều protein trực tiếp tham gia trong quá trình chuyển động như : co cơ, chuyển vị trí của nhiễm sắc thể trong quá trình phân bào, di động của tinh trùng v.v.

Ở động vật có xương sống, sự co cơ vẫn được thực hiện nhờ chuyển động trượt trên nhau của 2 loại sợi protein : sợi to chứa protein miozin và sợi mảnh chứa các protein actin, tropomiozin và

troponin. Ngày nay người ta cũng đã biết được rằng actin và miozin có vai trò cơ cơ ở hầu hết các tế bào eucariot (*Eukaryote*) khác.

4. Bảo vệ

Các kháng thể trong máu động vật có xương sống là những protein đặc biệt có khả năng nhận biết và “bắt” những chất lạ xâm nhập vào cơ thể như protein lạ, virus, vi khuẩn hoặc tế bào lạ. Như vậy ở đây ta thấy protein như những “lính gác”, nhận biết được những vật lạ để loại trừ chúng ra khỏi cơ thể.

– Các inteferon là những protein do tế bào động vật có xương sống tổng hợp và tiết ra để chống lại sự nhiễm virus. Tác dụng của các inteferon rất mạnh, chỉ cần ở nồng độ 10^{-11} M đã có hiệu quả kháng virus rõ rệt. Inteferon kết hợp vào màng nguyên sinh của các tế bào khác trong cơ thể và cảm ứng trạng thái kháng virus của chúng.

– Các protein tham gia trong quá trình đông máu có vai trò bảo vệ cho cơ thể sống khỏi bị mất máu.

– Ở một số thực vật có chứa các protein có tác dụng độc đối với động vật ngay cả ở liều lượng rất thấp. Chúng có tác dụng bảo vệ thực vật khỏi sự phá hại của động vật.

5. Truyền xung thần kinh

Một số protein có vai trò trung gian cho phản ứng trả lời của tế bào thần kinh đối với các kích thích đặc hiệu. Ví dụ : vai trò của sắc tố thị giác rodopsin ở màng lưới mắt (xem phần vitamin A).

6. Điều hoà

Một số protein có chức năng điều hoà quá trình truyền thông tin di truyền, điều hoà quá trình trao đổi chất.

– Protein điều hoà quá trình biểu hiện gen như các protein repressor (repressor proteins) ở vi khuẩn có thể làm ngừng quá trình sinh tổng hợp enzym của các gen tương ứng. Ở cơ thể bậc cao sự điều hoà hoạt động biểu hiện gen theo một cơ chế phức tạp hơn nhưng các protein cũng đóng vai trò quan trọng.

– Các protein có hoạt tính hormone, các protein ức chế đặc hiệu enzym đều có chức năng điều hoà nhiều quá trình trao đổi chất khác nhau.

7. Kiến tạo chống đỡ cơ học

Các protein này thường có dạng sợi như : sclerotin có trong lớp vỏ ngoài của sâu bọ ; fibroin của tơ tằm, tơ nhện ; collagen, elastin của mô liên kết, mô xương. Collagen bảo đảm độ bền và tính mềm dẻo của mô liên kết.

8. Dự trữ dinh dưỡng

Protein còn là chất dinh dưỡng quan trọng cung cấp các axit amin cho phôi phát triển. Ví dụ ovalbumin trong lòng trắng trứng, gliadin trong hạt lúa mì, zein của ngô. Các protein dự trữ khác như casein của sữa, ferritin (protein dự trữ sắt) trong lá lách. Cuối cùng cũng cần lưu ý rằng việc phân chia thành các chức năng khác nhau của protein như trên không phải thật cứng nhắc, thực tế

một protein có thể hoàn thành một số chức năng khác nhau. Mặt khác, tùy theo tác giả, có thể có những sai khác nhất định trong cách phân chia.

Nguồn protein. Hàm lượng protein trong các cơ thể sống thay đổi khá nhiều (bảng 1).

Nguồn protein động vật phổ biến là các loại thịt gia súc gia cầm, cá, tôm, trứng, sữa. Các loại động vật khác như cua, cáy, tép, các động vật thân mềm cũng là những nguồn protein đáng được lưu ý khai thác, đặc biệt ở các nước đang phát triển.

Ngày nay người ta còn chú ý khai thác các nguồn protein động vật chưa được tận dụng hợp lí như các phế thải lò mổ, đặc biệt là tiết và xương.

Bảng 1

**HÀM LƯỢNG PROTEIN TRONG MỘT SỐ NGUYÊN LIỆU
ĐỘNG VẬT VÀ THỰC VẬT**

Nguyên liệu	Protein (%)
Gan	18-19
Tim	16-18
Mô cơ thịt gia súc	16-22
Trứng (gà, vịt, chim cút)	13-15
Sữa bò	3-5
Thịt cá	17-21
Tôm	19-23
Mực	17-20
Moi	13-16
Ốc	11-12
Sò	8-9
Hến	4-5
Đậu tương	34-40
Lạc và các loại đậu khác	23-27
Ngô (khô)	8-10
Lúa	7-8

Nguồn protein thực vật quan trọng là hạt các loại đậu, đặc biệt là đậu tương. Các loại bèo dậu, tảo, nấm cũng là những nguồn protein quý giá đang được chú ý khai thác. Để giải quyết tình trạng thiếu protein người ta cũng chú ý dùng nhiều biện pháp khác nhau để tăng hàm lượng protein trong các loại hạt ngũ cốc, các loại củ, là những thứ được sử dụng với lượng lớn trong khẩu phần ăn hàng ngày.

II - CẤU TẠO PHÂN TỬ PROTEIN

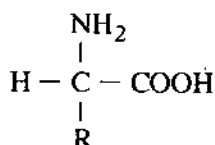
A - THÀNH PHẦN NGUYÊN TỐ CỦA PROTEIN

Tất cả các protein đều chứa các nguyên tố C, O, N, H, một số còn có một lượng nhỏ S. Tỷ lệ phần trăm khối lượng các nguyên tố này trong phân tử protein như sau : C từ 50 đến 55%; O từ 21 đến 24%; N từ 15 đến 18% ; H từ 6,5 đến 7,3% ; S từ 0 đến 0,24%.

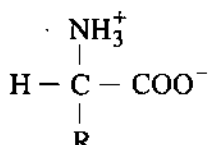
Ngoài các nguyên tố trên, một số protein còn chứa một lượng rất ít các nguyên tố khác như P, Fe, Zn, Cu, Mn, Ca v.v.

B – ĐƠN VỊ CẤU TẠO CƠ SỞ CỦA PROTEIN LÀ AXIT AMIN (AXIT AMINOCACBOXILIC)

Thủy phân hoàn toàn phân tử protein, chủ yếu nhận được các L- α – axit amin. Trong phân tử các axit amin này, nguyên tử cacbon ở vị trí alpha so với nhóm cacboxil kết hợp với nhóm amin, nguyên tử H, và gốc R. Gốc R được gọi là mạch bên. Công thức cấu tạo chung của các axit amin này như sau :



Dạng không
ion hoá



Dạng ion lưỡng cực (là dạng
chủ yếu trong dung dịch pH = 7)

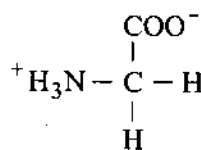
Như vậy về mặt cấu tạo, các axit amin của protein chỉ khác nhau ở mạch bên (nhóm R).

Mặc dù protein rất đa dạng nhưng hầu hết chúng đều được cấu tạo từ 20 L- α – axit amin và 2 amit tương ứng. Dựa vào đặc tính của mạch bên (nhóm R), người ta thường phân các axit amin thành một số nhóm chính.

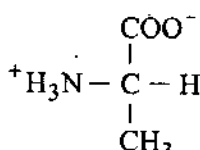
Sau đây sẽ giới thiệu một trong các cách phân nhóm axit amin thường được dùng. Theo cách này, các axit amin thường gặp trong phân tử protein được chia thành 6 nhóm chính như sau :

1. Các axit amin trung tính mạch không vòng

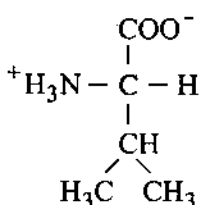
Nhóm này bao gồm 5 axit amin là : glixin, alanin, valin, loxin, izoloxin. Các axit amin này đều có 1 nhóm amin, 1 nhóm cacboxil :



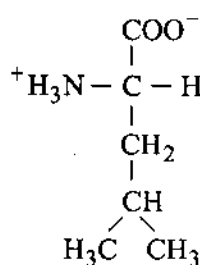
Glixin



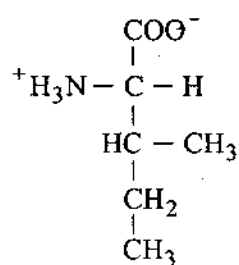
Alanin



Valin



Loxin

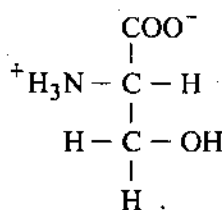


Izoloxin

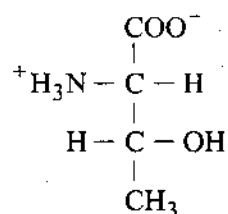
Glixin là axit amin đơn giản nhất, nhóm R của nó là nguyên tử hiđro, ít ảnh hưởng đến sự phân cực của nhóm α – NH_2 và – COOH . Glixin là axit amin duy nhất không chứa cacbon bất đối. Bốn axit amin còn lại có mạch bên không phân cực.

2. Các hidroxil axit amin mạch không vòng

Thuộc nhóm này có 2 axit amin là : xerin và treonin. Chúng giống với nhóm trên ở chỗ chỉ có 1 nhóm amin, 1 nhóm cacboxil và cũng là mạch thẳng nhưng có chứa 1 nhóm – OH.



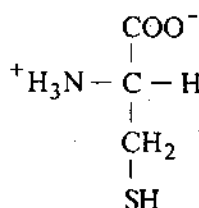
Xerin



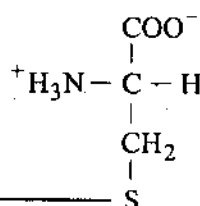
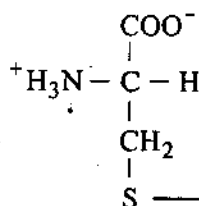
Treonin

3. Các axit amin chứa lưu huỳnh mạch không vòng

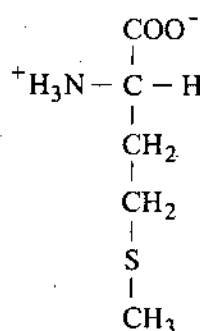
Nhóm này gồm có 2 axit amin là xistein và metionin. Khi oxi hoá 2 nhóm – SH của 2 phân tử xistein tạo thành xistin có chứa cầu (– S – S –).



Xistein



Xistin



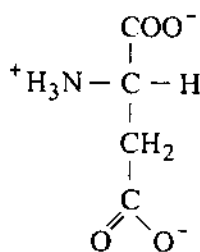
Metionin

Sự tạo thành cầu disunfua trong phân tử protein có vai trò quan trọng đối với cấu trúc và chức năng của protein. Khi khử các cầu disunfua trong phân tử protein, thường làm thay đổi đáng kể cấu trúc và hoạt tính sinh học của nó.

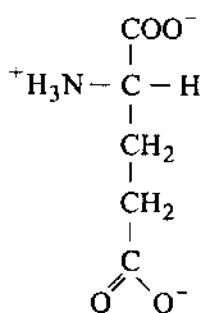
4. Các axit amin axit và amit của chúng

Hai axit amin thuộc nhóm này là axit asparaginic và axit glutamic. Trong phân tử của chúng có 1 nhóm amin và 2 nhóm cacboxil. Ở pH sinh lí (6–7) các axit amin này tích điện âm, vì vậy chúng cũng được gọi là aspactat và glutamat để nhấn mạnh tính axit của chúng. Muối natri của axit glutamic là loại gia vị phổ biến (có tên thường dùng là mì chính), khi thêm vào thực phẩm làm tăng vị “thịt” và “rau” đặc biệt là ở pH từ 5–6,5 (ở pH ≤ 4 vị của nó bị mất đi).

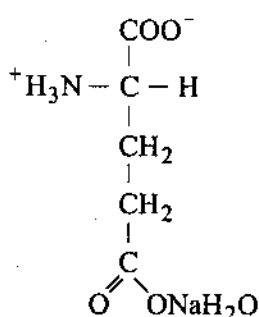
Amit hoá nhóm cacboxil ở mạch bên của aspactat và glutamat tạo thành các amit tương ứng là asparagin và glutamin :



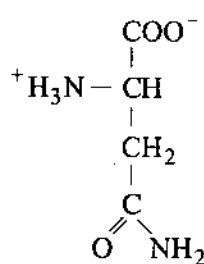
Aspactat



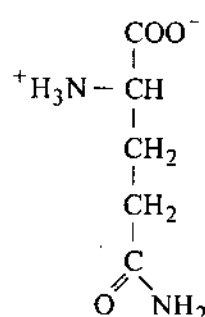
Glutamat



*Natri glutamat
(mì chính)*



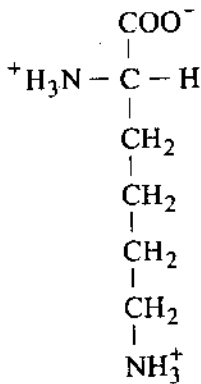
Asparagin



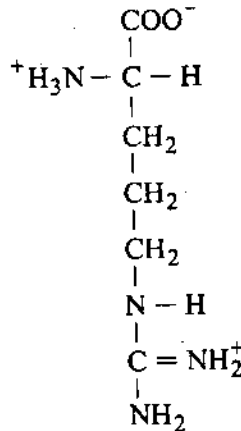
Glutamin

5. Các axit amin kiềm

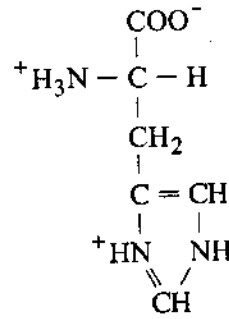
Trong 3 axit amin thuộc nhóm này, acginin và lizin tích điện dương (ở pH = 7) còn histidin chứa nhóm imidazol có tính baz yếu ở pH = 7 :



Lizin



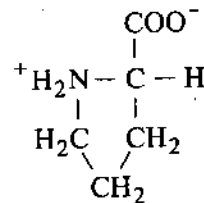
Acginin



Histidin

6. Iminoaxit (prolin)

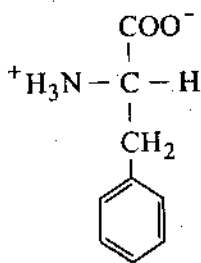
Prolin cũng có mạch bên là hidrocacbu nhưng khác với tất cả các axit amin khác ở chỗ nhóm amin bậc 1 ở cacbon alpha kết hợp với mạch bên, tạo thành vòng pirolidin. Do đó prolin là một iminoaxit chứa nhóm amin bậc 2.



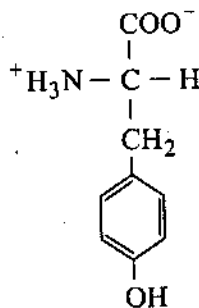
7. Các axit amin thơm và dị vòng thơm

Các axit amin thuộc nhóm này là phenilalanin, tirozin và triptophan. Mạch bên của tirozin phân cực mạnh nhưng chỉ ion hoá rất ít ở pH = 7.

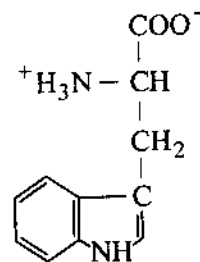
Do có chứa vòng thơm nên các axit amin này có cho một số phản ứng đặc trưng.



Phenilalanin



Tirozin



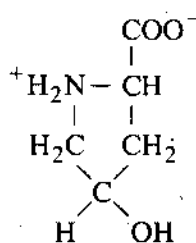
Triptophan

Kí hiệu và cách viết tắt tên các axit amin theo quy ước quốc tế được giới thiệu trong bảng 2.

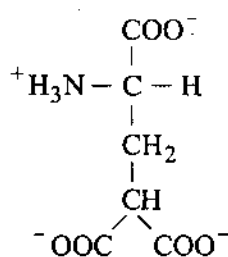
8. Các axit amin ít gặp trong protein

Ngoài các axit amin đã nêu trên, trong phân tử một số protein còn chứa một số axit amin khác. Các axit amin này thường là dạng hiệu chỉnh của các axit amin thường gặp đã nêu. Quá trình hiệu chỉnh thường xảy ra sau khi chuỗi polipeptit đã được tổng hợp. Ví dụ collagen có chứa hidroxiprolin, hidroxilizin; protrombin có chứa cacboxi-glutamat; nhiều protein khác có chứa photphoxerin.

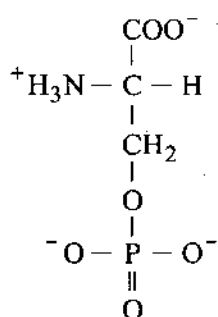
Các axit amin này có vai trò quan trọng trong cấu trúc và chức năng của các protein tương ứng. Hidroxiprolin làm tăng độ bền của sợi collagen ; cacboxil hoá glutamat bảo đảm thực hiện vai trò của protrombin trong quá trình đông máu v.v.



Hidroxiprolin



γ - Cacboxiglutamat



O - Photphoxerin

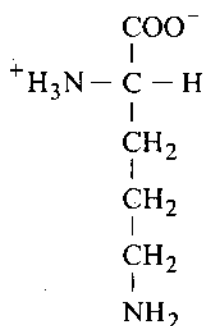
Bảng 2

KÍ HIỆU VÀ CÁCH VIẾT TẮT TÊN CÁC AXIT AMIN THƯỜNG GẶP TRONG PROTEIN

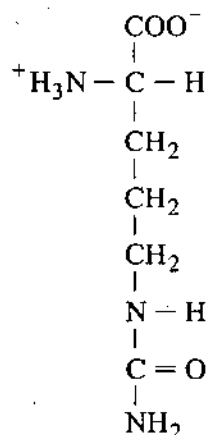
Kí hiệu 1 chữ	Viết tắt 3 chữ	Tên axit amin	
		Thường dùng	Theo danh pháp hoá học
A	Ala	Alanin	α -aminopropionic
B	Asx	Asparagin, aspactat	
C	Cys	Xistein	α -amino - β - izopropionic
D	Asp	Aspactat	α -aminoxucxinic
E	Glu	Glutamat	α -aminoglutarat
F	Phe	Phenilalanin	α -amino - β - phenilpropionic
G	Gly	Glixin	α -aminoaxetic
H	His	Histidin	α -amino - β imidazol propionic
I	I le	Izoloxin	α -amino - β - metil valeric
K	Lys	Lizin	α , ϵ - diaminocaproic
L	Leu	Loxin	α -aminoizocaproic
M	Met	Metionin	α -amino - γ - metiltiobutiric
N	Asn	Asparagin	amit của aspactat
P	Pro	Prolin	α -pirolidin cacboxilic
Q	Gln	Glutamin	amit của glutamat
R	Arg	Acginin	α -amino - δ - guanidin valeric
S	Ser	Xerin	α -amino - β - hidroxipropionic
T	Thr	Treonin	α -amino - β - hidroxibutiric
V	Val	Valin	α -amino - izovaleric
Y	Tyr	Tirozin	α -amino - β - hidroxiphenilpropionic
W	Trp	Triptophan	α -amino - β - indolil propionic

9. Các axit amin không có trong protein nhưng được tìm thấy trong cơ thể sống

– Ocnitin và xitrulin là sản phẩm trung gian quan trọng của quá trình trao đổi chất. Công thức cấu tạo của chúng như sau :



Ocnitin



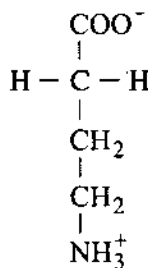
Xitruin

– Axit-γ – aminobutiric có vai trò truyền xung thần kinh.

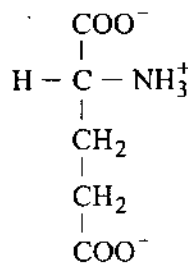
– Một số D – axit amin:

D – glutamat (có trong vách tế bào của nhiều vi khuẩn)

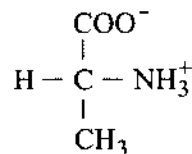
D – alanin (trong ấu trùng của một số sâu bọ)



γ - Aminobutiric



D - Glutamat



D - Alanin

10. “Axit amin cần thiết” (axit amin không thay thế)

Trong số 20 axit amin thường gặp trong phân tử protein có một số axit amin mà cơ thể người và động vật không thể tự tổng hợp được, phải đưa từ ngoài vào qua thức ăn, gọi là các axit amin cần thiết hoặc axit amin không thay thế.

Khi thiếu thậm chí chỉ một trong các axit amin cần thiết, có thể làm cho protein được tổng hợp ít hơn protein bị phân giải, kết quả dẫn đến cân bằng nitơ âm. Các axit amin cần thiết đối với cơ thể còn tùy thuộc những điều kiện riêng biệt như loài động vật, lứa tuổi v.v. Theo nhiều tài liệu, 8 axit amin cần thiết đối với người là : Val, Leu, Ile, Met, Thr, Phe, Trp và Lys. Ở một số tài liệu khác, Arg, His và cả Cys cũng được xem là axit amin cần thiết của người.

Hàm lượng các axit amin không thay thế và tỉ lệ giữa chúng trong phân tử protein là một tiêu chuẩn quan trọng để đánh giá chất lượng protein.

C – CÁC BẬC CẤU TRÚC CỦA PHÂN TỬ PROTEIN

1. Các bậc cấu trúc

Để thuận tiện, người ta thường phân biệt cấu trúc phân tử protein thành 4 bậc như sau : bậc I, bậc II, bậc III và bậc IV.

Cấu trúc bậc I là trình tự sắp xếp các gốc axit amin trong mạch polipeptit. Cấu trúc này được giữ vững nhờ liên kết peptit (liên kết cộng hoá trị).

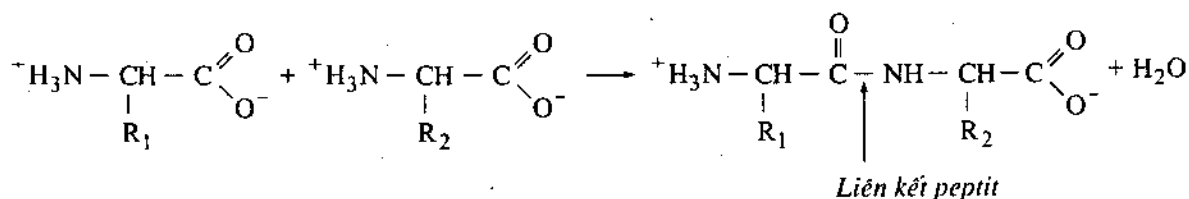
Cấu trúc bậc II là tương tác không gian giữa các gốc axit amin ở gần nhau trong mạch polipeptit. Nói cách khác, nó là dạng không gian cục bộ của từng phần trong mạch polipeptit. Cấu trúc được làm bền chủ yếu nhờ liên kết hidro được tạo thành giữa các liên kết peptit ở kề gần nhau, cách nhau những khoảng xác định.

Cấu trúc bậc III là tương tác không gian giữa các gốc axit amin ở xa nhau trong mạch polipeptit, là dạng cuộn lại trong không gian của toàn mạch polipeptit (hình dạng chung của chuỗi polipeptit). Trong nhiều protein hình cầu có chứa các gốc Cys, sự tạo thành các liên kết disunfua giữa các gốc Cys ở xa nhau trong mạch polipeptit, làm cho mạch bị cuộn lại đáng kể. Các liên kết khác như tương tác Vandecvan, liên kết tĩnh điện, liên kết hidro giữa các mạch bên của các gốc axit amin v.v. đều tham gia làm bền cấu trúc bậc III. Kết quả nghiên cứu nhiều protein cho thấy chính trình tự sắp xếp các gốc axit amin trong chuỗi polipeptit chứa những thông tin cần thiết để hình thành cấu trúc bậc III.

Cấu trúc bậc IV : Đối với các phân tử protein bao gồm 2 hay nhiều chuỗi polipeptit hình cầu, tương tác không gian (sự sắp xếp) giữa các chuỗi này trong phân tử gọi là cấu trúc bậc IV. Mỗi chuỗi polipeptit này gọi là “phần dưới đơn vị” (subunit). Chúng gắn với nhau nhờ các liên kết hidro, tương tác Vandecvan giữa các nhóm phân bố trên bề mặt của các phần dưới đơn vị.

2. Liên kết peptit giữa các axit amin tạo thành cấu trúc bậc I của chuỗi polipeptit

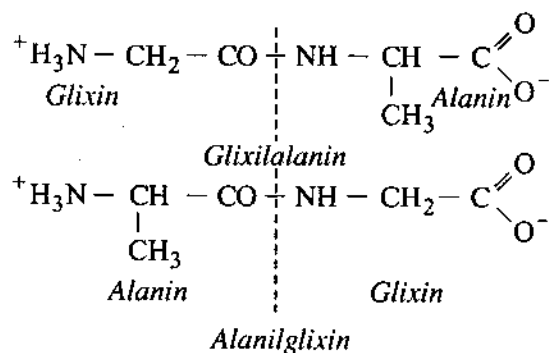
Liên kết peptit ($-\text{CO}-\text{NH}-$) được tạo thành do phản ứng kết hợp giữa nhóm α -cacboxil của một axit amin này với nhóm α -amin của một axit amin khác, loại đi 1 phân tử nước. Sơ đồ phản ứng như sau :



Sản phẩm của phản ứng này là 1 dipeptit. Nếu 3, 4, 5 v.v. hoặc nhiều axit amin kết hợp với nhau, tạo thành các peptit có các tên tương ứng là tripeptit, tetrapeptit, pentapeptit v.v. và polipeptit.

Tên các peptit được quy định như sau : ghép tất cả tên các axit amin cấu tạo nên nó theo thứ tự sắp xếp của chúng trong chuỗi peptit bắt đầu từ axit amin thứ nhất, những axit amin nào có nhóm cacboxil tham gia trong liên kết peptit đuôi của nó đổi thành “il”.

Ví dụ từ 2 axit amin glixin và alanin sẽ tạo thành 2 peptit khác nhau như sau :



Theo cách kết hợp này các liên kết peptit nằm trên một mạch thẳng không phân nhánh, có 2 đầu khác nhau gọi là “đầu N” (có nhóm α – amin tự do) và “đầu C” (có nhóm α – cacboxil tự do). Đánh số thứ tự các gốc axit amin trong chuỗi peptit bắt đầu từ “đầu N” và thường kí hiệu “đầu N” bằng dấu “+”, “đầu C”, bằng dấu “-”.

Qua ví dụ trên ta thấy từ các axit amin giống nhau có thể tạo thành các peptit khác nhau. Từ 3 axit amin khác nhau tạo thành 6 peptit khác nhau ; từ 4 axit amin khác nhau sẽ có 24 peptit khác nhau v.v.

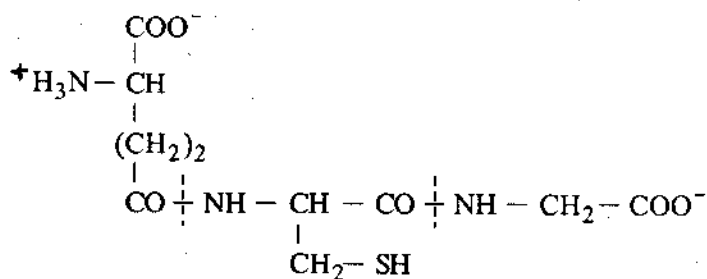
Từ n axit amin khác nhau, có đồng phân peptit (Pn) chứa n gốc axit amin sẽ là :

$$P_n = n! = 1 \cdot 2 \cdot 3 \cdot 4 \dots n$$

Phân tử protein được cấu tạo từ 20 axit amin khác nhau, lại chứa số gốc axit amin lớn hơn 20, rõ ràng có thể tạo thành một số lượng khổng lồ các protein khác nhau (khoảng 20^{18} protein). Do đó ta hiểu được vì sao protein rất đa dạng về cấu trúc.

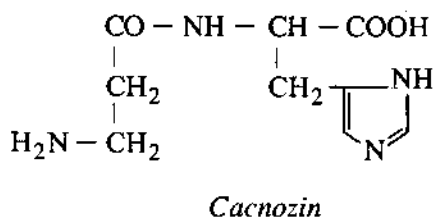
a) Một số peptit tự nhiên quan trọng

– Glutation (tripeptit) : γ – glutamylxisteilglixin



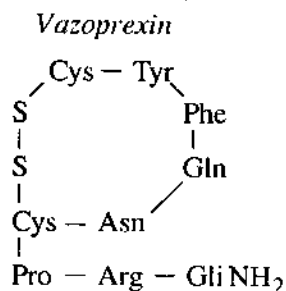
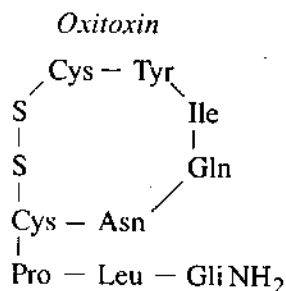
Glutation có trong tất cả các cơ thể sống, tham gia trong các phản ứng oxi hoá khử.

– Cacnozin (đipeptit) : β alanilhistidin

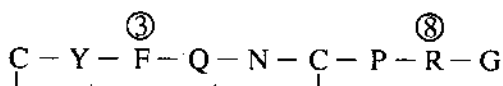
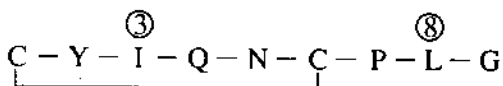


Cacnozin có nhiều trong cơ của động vật có xương sống (trừ một số loài cá), vai trò sinh học chưa được xác định rõ nhưng có thể tham gia trong các quá trình sinh hoá khi cơ hoạt động.

– *Oxitozin và vazoprexin* : cả 2 peptit này là các noropeptit có cấu trúc hoá học được biết sớm nhất và cũng đã được tổng hợp hoá học. Oxitozin và vazoprexin đều bao gồm 9 axit amin, trong phân tử có 1 cầu disunfua.



Viết theo kí hiệu một chữ



b) *Tầm quan trọng của việc xác định cấu trúc bậc I của phân tử protein*

– Là bước đầu tiên quan trọng để xác định cơ sở phân tử hoạt tính sinh học và tính chất hoá lí của protein. Là dấu hiệu rõ nhất về sự sai khác giữa protein này với protein khác.

– Là cơ sở xác định cấu trúc không gian của phân tử protein. Từ những dẫn liệu về cấu trúc bậc I, trên cơ sở những quy luật hình thành cấu trúc không gian phân tử protein, dựa vào cấu trúc không gian của các protein tương đồng, có thể dự đoán sự định vị cầu disunfua, cấu trúc không gian của protein nghiên cứu.

– Là yếu tố góp phần quan trọng trong nghiên cứu bệnh lí phân tử. Nhiều kết quả nghiên cứu đã cho thấy khi thay đổi thứ tự axit amin, thậm chí thay đổi chỉ 1 gốc axit amin trong phân tử protein có thể làm thay đổi hoạt tính sinh học, chức năng của một cơ quan, hoặc gây những bệnh đặc trưng. Ví dụ điển hình là bệnh thiếu máu hồng cầu hình lưỡi liềm. Nghiên cứu cấu trúc bậc I của hemoglobin bình thường và bệnh lí đã xác định được đó là do gốc axit amin Glu ở vị trí thứ 6 trong chuỗi β của hemoglobin A (bình thường) bị thay thế bằng gốc axit amin Val.

– Cấu trúc bậc I là bản phiên dịch mã di truyền. Vì vậy, cấu trúc này nói lên quan hệ họ hàng và lịch sử tiến hoá của thế giới sống.

Các kết quả nghiên cứu cấu trúc bậc I của một protein nhất định tách từ các cơ thể khác nhau về vị trí trong thang tiến hoá, đã cho những dẫn liệu khá thú vị. Ví dụ Smit và Macgoliash (Emil Smith, Emanuel Margoliash) và những người khác đã xác định trình tự axit amin của xitocrom c tách từ hơn 80 loài oecariot rất khác nhau. Kết quả đáng ngạc nhiên là 1/4 số gốc axit amin trong phân tử (26/104 gốc) đã không thay đổi qua một nghìn năm trăm triệu năm tiến hoá. Đặc biệt thứ tự của đoạn 11 axit amin từ gốc 70 đến gốc 80 trong phân tử xitocrom c hầu như không thay đổi.

– Việc xác định được cấu trúc bậc I là cơ sở để tổng hợp nhân tạo protein bằng phương pháp hoá học hoặc bằng các biện pháp công nghệ sinh học.

Năm 1953, lần đầu tiên Frederick Sanger (người Anh) đã đề ra được phương pháp và sử dụng thành công phương pháp này để xác định chính xác trình tự sắp xếp các axit amin trong phân tử insulin (polipeptit có hoạt tính hoocmon)*.

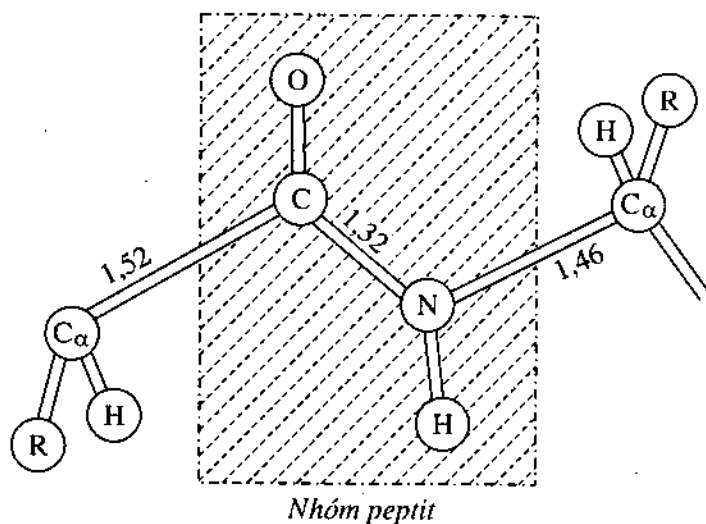
Kết quả này là một bước ngoặt quan trọng trong sự phát triển Hoá sinh học, vì vậy tác giả đã được nhận giải thưởng Nobel vào năm 1958. Đến nay khoảng hơn một trăm nghìn protein đã được xác định cấu trúc bậc I. Ngày nay người ta đã có thể sử dụng vi khuẩn *Escherichia coli* để tổng hợp insulin.

3. Cấu trúc không gian của phân tử protein

Do cách liên kết giữa các axit amin để tạo thành chuỗi polipeptit như đã nêu, trong mạch dài polipeptit luôn lặp lại các đoạn $-\text{CO}-\text{NH}-\text{CH}-$.

Mạch bên của các axit amin không tham gia tạo thành bộ khung của mạch, mà ở bên ngoài mạch peptit.

Vì vậy trước khi xét đến cấu trúc không gian của toàn bộ phân tử protein, ta hãy xét đến sự sắp xếp trong không gian của các nguyên tử trong liên kết peptit. Kết quả nghiên cứu của Paulin và Cori (Linus Pauling, Robert Corey 1930) và những người khác cho thấy nhóm peptit ($-\text{CO}-\text{NH}-$) là phẳng và "cứng".

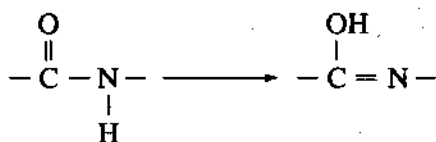


Hình 1 - Cấu trúc không gian của nhóm peptit là phẳng và cứng.
Khoảng cách giữa các nguyên tử tính bằng Å.

H của nhóm $-\text{NH}-$ luôn ở vị trí trans so với O của nhóm cacboxil (hình 1), nhưng nhóm peptit có cấu hình phẳng, nghĩa là tất cả các nguyên tử tham gia trong liên kết peptit nằm trên cùng một mặt phẳng (hình 1). Paulin và Cori đã xác định được khoảng cách giữa C và N trong liên kết peptit là 1,32 Å, nghĩa là nằm giữa khoảng cách giữa C và N của liên kết đơn (1,49 Å) và

* Phân tử insulin gồm có 2 chuỗi polipeptit ; chuỗi A có 21 axit amin, chuỗi B có 30 axit amin. Insulin có tác dụng làm giảm lượng đường trong máu; được dùng để điều trị bệnh đái tháo đường.

khoảng cách giữa C và N trong liên kết đôi. Trong liên kết đôi $-C=N-$, khoảng cách này là 1,27 Å. Như vậy, liên kết peptit có 1 phần đặc tính của liên kết đôi, có thể hình thành dạng enol như sau :



Do đặc tính của liên kết giữa C và N trong nhóm peptit như đã nêu nên liên kết peptit “cứng”, không có sự tự do quay xung quanh liên kết này. Ngược lại, khả năng quay tự do xung quanh các liên kết nối nhóm peptit với cacbon alpha (giữa C và C α , giữa N và C α ở hình 1) là rất lớn, mạch peptit có khuynh hướng hình thành cấu trúc xoắn.

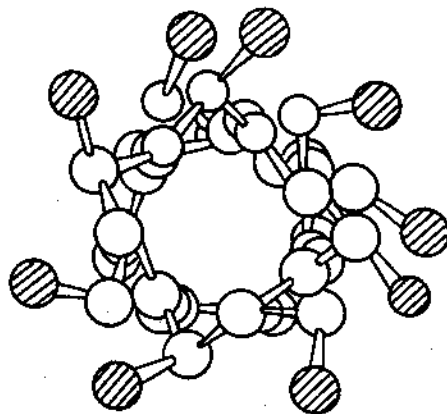
a) Cấu trúc bậc II của phân tử protein : xoắn α , phiến gấp nếp β và xoắn collagen.

Theo Paulin và Cori (1951), có 2 kiểu cấu trúc chính là xoắn α và phiến gấp nếp β . Các cấu trúc này được đề xuất dựa trên những cơ sở thực nghiệm và đã được thừa nhận rộng rãi, Paulin đã được nhận giải thưởng Nobel vào năm 1954.

– *Cấu trúc xoắn α* : Đoạn mạch polipeptit xoắn chặt lại, những nhóm peptit ($-\text{CO}-\text{NH}-$), C α tạo thành phần bên trong (lõi) của xoắn, các mạch bên (nhóm R) của các gốc axit amin quay ra phía ngoài (hình 2).

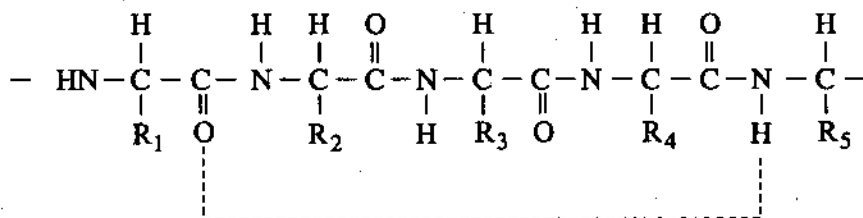
Cấu trúc xoắn α được giữ vững chủ yếu nhờ liên kết hidro. Liên kết hidro được tạo thành giữa nhóm cacboxil của 1 liên kết peptit với nhóm $-\text{NH}-$ của liên kết peptit thứ tư sau nó (cách nhau 3 gốc axit amin) trên cùng một mạch polipeptit (hình 3).

Tất cả các nhóm $-\text{CO}-$, $-\text{NH}-$ trong liên kết peptit của mạch polipeptit đều tạo thành liên kết hidro với nhau theo cách như trên.



Hình 2 - Mặt cắt ngang của xoắn α .

Chuỗi bên (vòng tròn có sọc) ở phía ngoài của xoắn. Trong thực tế hầu như không có khoảng trống bên trong xoắn

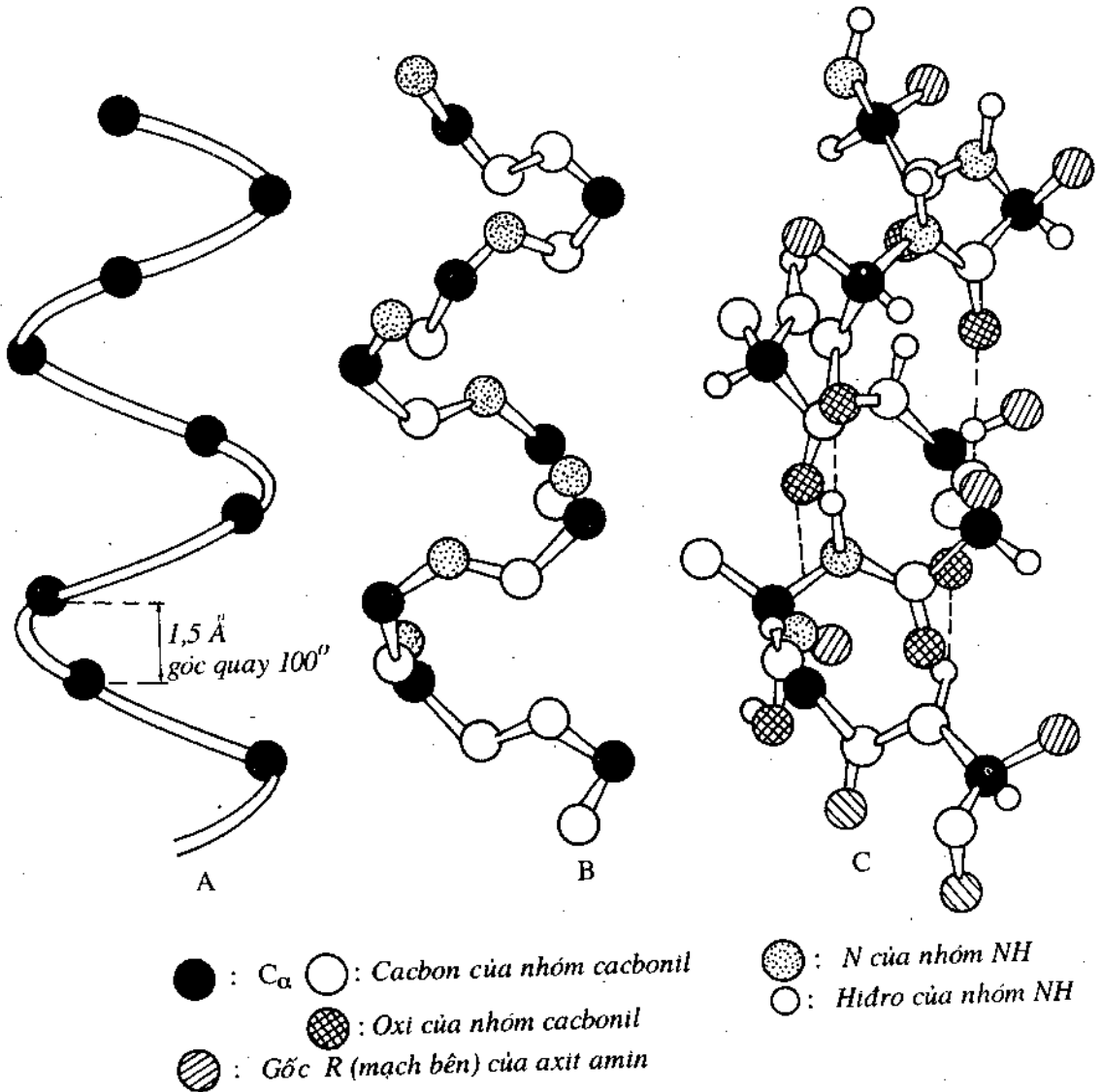


Hình 3 - Liên kết hidro giữa 2 nhóm CO và NH thuộc 2 liên kết peptit khác nhau trong cấu trúc xoắn alpha.

Trong cấu trúc xoắn α , cứ mỗi nhóm $-\text{CO}-\text{NH}-$ có thể tạo thành 2 liên kết hidro với hai nhóm $-\text{CO}-\text{NH}-$ khác. Các liên kết hidro được tạo thành với số lượng tối đa, bảo đảm độ bền vững của cấu trúc xoắn α .

Theo mô hình của Paulin và Cori trong cấu trúc xoắn giữa 2 gốc axit amin kế tiếp nhau có khoảng cách dọc theo trục xoắn là 1,5 Å và góc quay 100° (hình 4), 1 vòng xoắn có 3,6 gốc axit amin có chiều cao tương ứng là 5,4 Å.

Chiều của xoắn có thể là xoắn phải (theo chiều kim đồng hồ) hoặc xoắn trái (ngược chiều kim đồng hồ). Xoắn α trong phân tử protein thường là dạng xoắn phải.



Hình 4 - Mô hình cấu trúc xoắn α trong phân tử protein.

- A. Dạng chung của các sợi xoắn.
 B. Các nguyên tử tạo thành khung mạch polipeptit (C α , N và C của liên kết peptit).
 C. Các liên kết hidro (----) giữa các nhóm CO và NH làm bền cấu trúc xoắn.

Sự tạo thành và độ bền của cấu trúc xoắn α phụ thuộc vào nhiều yếu tố, ví dụ thành phần và trình tự sắp xếp của các axit amin trong mạch polipeptit, pH môi trường v.v... Đến nay người ta đã biết được một số quy luật cơ bản để tạo thành xoắn α . Vì vậy, nếu xác định được cấu trúc bậc I của phân tử protein thì có thể dự đoán tỉ lệ xoắn α (% số gốc axit amin tham gia tạo thành xoắn) và vị trí của cấu trúc xoắn α trong phân tử protein.

Tỉ lệ % xoắn α trong phân tử các protein khác nhau thay đổi khá nhiều. Ví dụ : trong hemoglobin và mioglobin là 75%, lizozim là 35%, ribonucleaz là 17%, kimotripsin hầu như không có xoắn α , chỉ có 1 phần xoắn rất ngắn ở đầu C.

Khi tạo thành cấu trúc xoắn α , khả năng làm quay mặt phẳng ánh sáng phân cực sang bên phải tăng lên, vì thế có thể dựa vào tính chất này để xác định % xoắn trong phân tử protein.

Để nghiên cứu khả năng tạo thành xoắn của các axit amin, người ta dùng các chuỗi polipeptit chứa chỉ một hoặc vài loại axit amin và xác định % xoắn α trong polipeptit ấy. Kết quả nghiên cứu cho thấy chuỗi polialanin đủ dài tạo xoắn α , còn poliglutamic ở pH = 7 không tạo xoắn vì chúng tích điện âm, nhưng ở pH = 2 lại tạo xoắn.

Prolin ở giữa các bước xoắn sẽ phá vỡ xoắn.

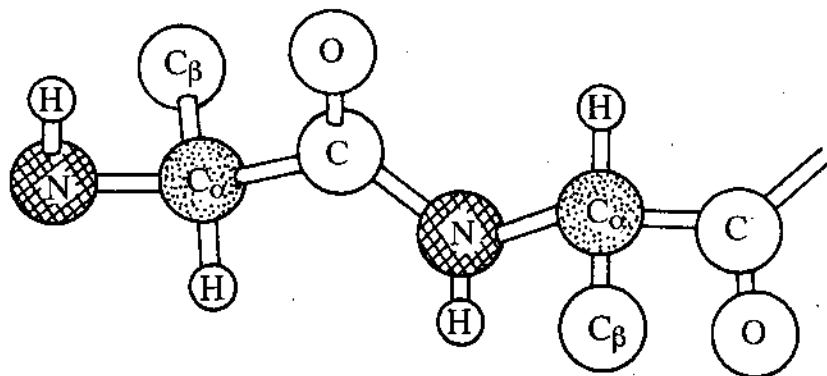
Các axit amin Ser, Ile, Lys, Arg, Thr, Gly tạo xoắn α nhưng không bền.

Các axit amin có khả năng tạo thành xoắn bền là : Ala, Leu, Phe, Tyr, Trp, Cys, Met, His, Asn, Gln, Val.

Chiều dài các đoạn xoắn α trong phân tử protein thường không dài, ngắn hơn 40 Å.

– Cấu trúc phiến gấp nếp β tìm thấy trong fibroin của tơ, nó khác với xoắn α ở một số điểm chủ yếu như sau :

+ Đoạn mạch polipeptit có cấu trúc phiến gấp nếp β thường duỗi dài ra (hình 5) chứ không cuộn xoắn chặt như xoắn α . Khoảng cách trên trục giữa 2 gốc axit amin kề nhau là 3,5 Å (ở xoắn α là 1,5 Å).

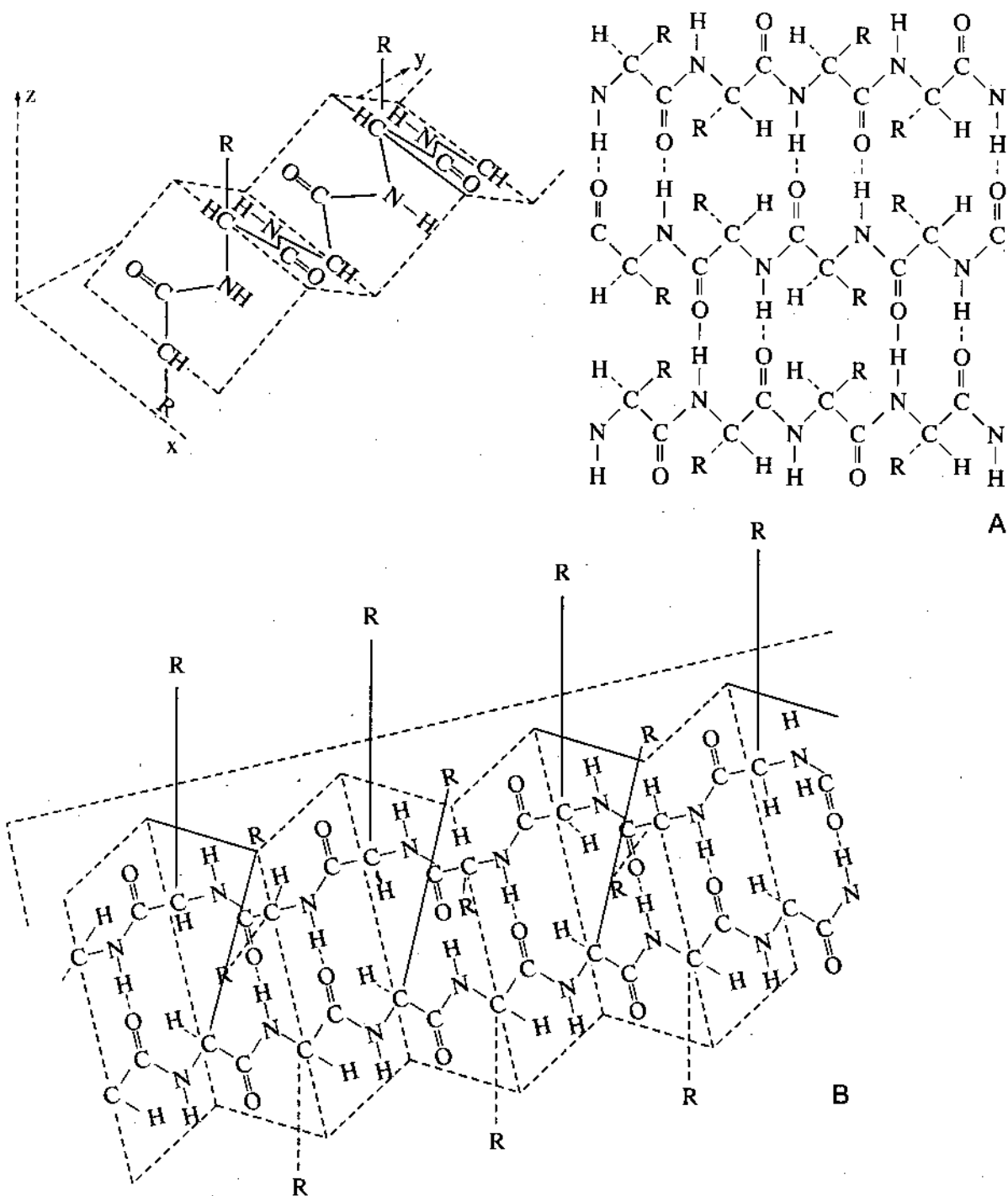


Hình 5 - Dạng của đoạn khung mạch polipeptit có cấu trúc phiến nếp gấp β .

Khung mạch hầu như duỗi ra hoàn toàn.

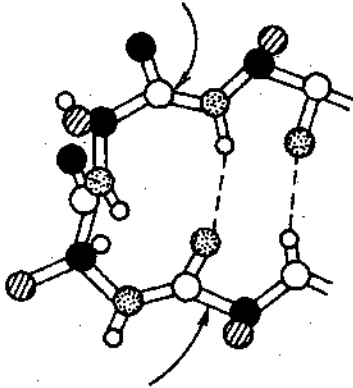
Vòng tròn gạch chéo là N của nhóm NH, trắng là cacbon của nhóm cacboxil ; đen : $C\alpha$.

+ Liên kết hidro được tạo thành giữa các nhóm $-NH-$ và $-CO-$ trên 2 mạch polipeptit khác nhau, ở kề nhau, (hình 6) các mạch này có thể chạy cùng hướng hay ngược hướng với nhau.



Hình 6 - Cấu trúc phiến gấp nếp β
A. Nhìn trên xuống ; B. Phiến gấp nếp.

Liên kết peptit thứ $n+2$



Liên kết peptit thứ n

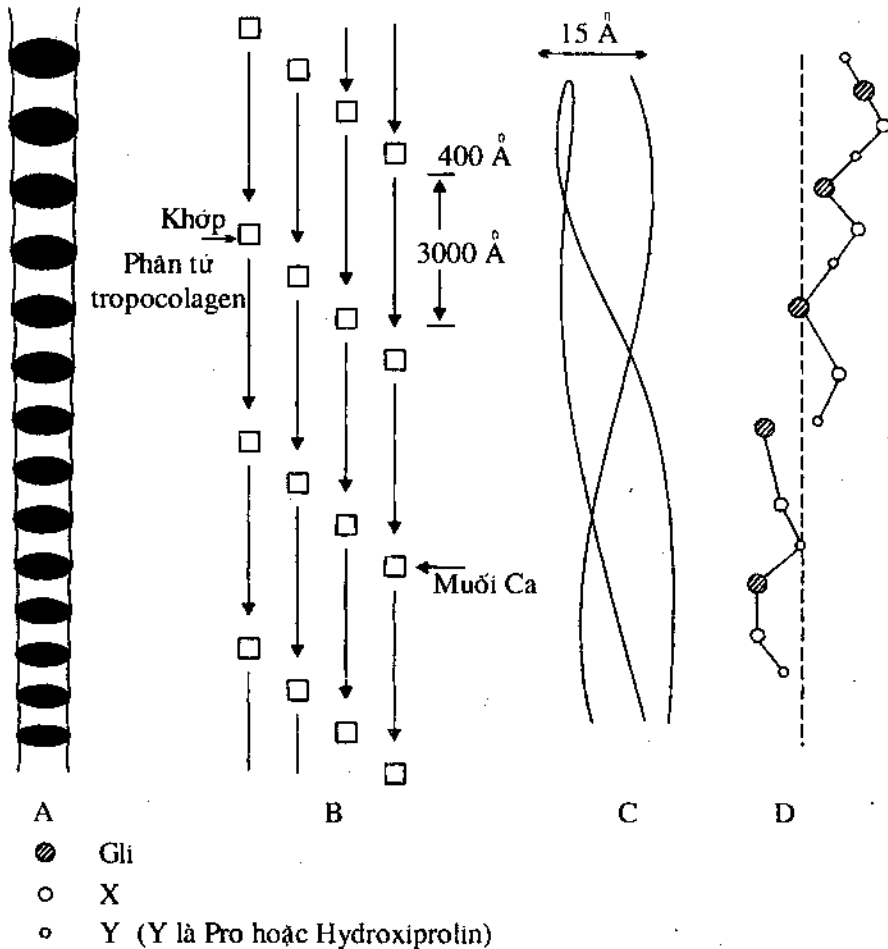
Hình 7 - Cấu trúc "quay- β "

Nhóm CO của liên kết peptit thứ n tạo thành liên kết hidro với nhóm NH của liên kết peptit thứ $n+2$.
Các kí hiệu giống ở hình 4.

Trong phân tử của nhiều protein hình cầu cuộn chặt, còn gặp kiểu cấu trúc "quay - β ". Ở đó mạch polipeptit bị đảo hướng đột ngột. Đó là do tạo thành liên kết hidro giữa nhóm CO của liên kết peptit thứ n với nhóm NH của liên kết peptit thứ $n+2$ (hình 7).

- Cấu trúc kiểu "xoắn collagen".

Kiểu cấu trúc này tìm thấy trong phân tử collagen. Thành phần axit amin của collagen rất đặc biệt so với các protein khác: glixin chiếm khoảng 35%, prolin chiếm 12% tổng số gốc axit amin trong phân tử (hình 8).



Hình 8 - Cấu trúc sợi collagen (A), sự sắp xếp của các phân tử tropocollagen trong sợi collagen (B), phân tử tropocollagen gồm 3 chuỗi polipeptit bện với nhau (C), D : 1 chuỗi polipeptit của phân tử tropocollagen.

Ngoài ra, collagen còn chứa 2 axit amin ít gặp trong các protein khác, đó là hidroxi-prolin và hidroxi-lizin. Đơn vị cấu trúc của collagen là tropocolagen bao gồm 3 mạch polipeptit bện vào nhau thành một "dây cáp" siêu xoắn (vì mỗi mạch đã có cấu trúc xoắn). Chiều cao của mỗi gốc trên trục siêu xoắn này là 2,9 Å, 1 vòng xoắn có 3,3 gốc axit amin. Ba mạch polipeptit trong "dây cáp" nối với nhau bằng các liên kết hidro.

Liên kết hidro được tạo thành giữa nhóm NH của gốc glixin trên 1 mạch polipeptit với nhóm CO trong liên kết peptit ở trên mạch polipeptit khác. Ngoài ra các nhóm hidroxi của hidroxi-prolin cũng tham gia tạo thành liên kết hidro làm tăng độ bền của cấu trúc siêu xoắn.

Khi quan sát sợi collagen ta thấy có vằn ngang, đó là do các phân tử tropocolagen ở các dây kề nhau xếp lệch nhau 1/4 phân tử. Trên cùng một dây, giữa phân tử tropocolagen có 1 khớp dài 400 Å (hình 8 - B).

Ngoài các kiểu cấu trúc bậc II nói trên, trong phân tử của nhiều protein hình cầu còn có các đoạn mạch không có cấu trúc xoắn, phần vô định hình hoặc cuộn lộn xộn.

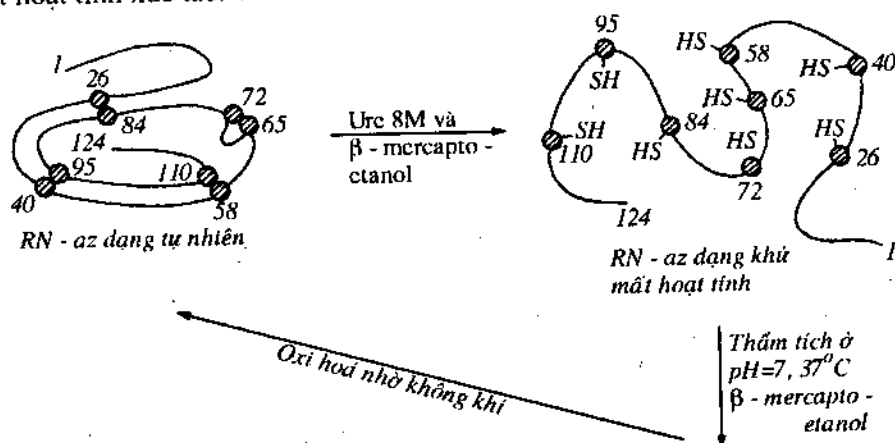
b) Cấu trúc bậc III của phân tử protein

Nhờ sử dụng thành công các phương pháp hiện đại như phương pháp cộng hưởng từ hạt nhân, phương pháp phân tích tinh thể protein bằng tia X, đến nay người ta đã biết được cấu trúc bậc III chi tiết của hàng nghìn protein.

Kết quả nghiên cứu nhiều protein tan trong nước, protein có hoạt tính xúc tác cho thấy chúng thường có dạng hình cầu. Chuỗi polipeptit với các phần có cấu trúc bậc II (phần có cấu trúc xoắn α , β , phần cuộn lộn xộn) cuộn chặt lại, các gốc kỵ nước thường ở phần "lõi" giữa các phân tử, các gốc ưa nước ở trên bề mặt phân tử.

Cấu trúc bậc III được giữ vững nhờ các cầu disunfua, tương tác van der Waals, liên kết hidro, lực ion. Vì vậy khi phá vỡ các liên kết này phân tử bị duỗi ra đồng thời làm thay đổi một số tính chất của nó, đặc biệt là tính tan và hoạt tính xúc tác của nó.

Một ví dụ rõ ràng nhất là kết quả nghiên cứu của Anfinsen (Christian Anfinsen) trên phân tử ribonucleaz (enzim phân giải ARN). Phân tử enzim này là 1 chuỗi polipeptit bao gồm 124 gốc axit amin. Bốn cầu disunfua được tạo thành giữa các gốc xistein ở các vị trí sau : 26-84, 40-95, 58-110 và 65-72. Ở môi trường pH = 7 và nhiệt độ 37°C, có ure hoặc guanidin clorua làm phá vỡ các liên kết khác liên kết hoá trị, dùng β - mercaptoetanol ở nồng độ dư thừa có thể khử tất cả 4 cầu disunfua tạo thành 8 nhóm -SH tự do trong phân tử (hình 9). Kết quả là phân tử enzim bị duỗi ra và mất hoạt tính xúc tác.

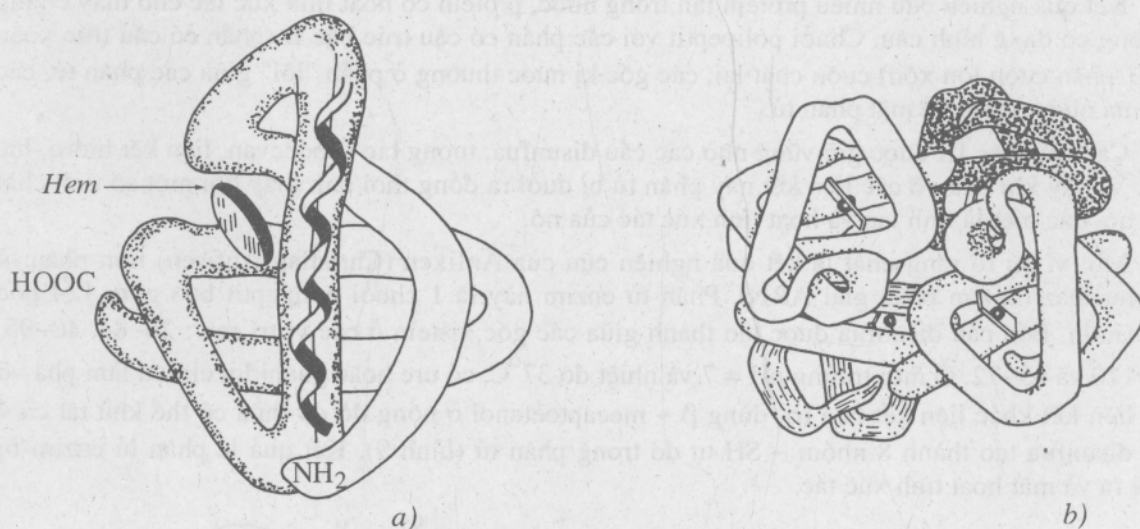


Hình 9 - Sơ đồ minh họa sự thay đổi cấu trúc phân tử ribonucleaz khi khử enzim ở những điều kiện xác định

Nếu thẩm tích dung dịch enzym này, ở những điều kiện xác định để loại ure và β - mercaptoetanol, các cầu disunfua dần dần được tạo thành trở lại, hoạt độ enzym tăng dần. Khi phân tử được cuộn lại giống dạng ban đầu, hoạt độ enzym được hồi phục hoàn toàn. Điều đó chứng tỏ chính cấu trúc bậc I chứa những thông tin cần thiết cho cấu trúc bậc III. Ngược lại, nếu oxi hoá enzym đã mất cầu - S - S - trong môi trường có ure rồi sau đó mới thẩm tích loại ure, hoạt độ enzym chỉ được hồi phục 1%. Đó là vì trong điều kiện này có thể tạo thành các cầu - S - S - theo nhiều cách khác nhau (có 105 cách) nhưng chỉ có 1 cách giống với dạng ban đầu. Qua đây ta cũng thấy được vai trò của các tương tác yếu đối với hình thành cấu trúc không gian có hoạt tính sinh học của phân tử protein.

Các dạng phân tử enzym có cấu trúc sai lệch trên cũng có thể chuyển thành dạng có hoạt tính ở điều kiện có β - mercaptoetanol xúc tác trong 10 giờ. Trong điều kiện này, các cầu -S-S- được sắp xếp trở lại đến dạng bền nhất về nhiệt động học, dạng enzym ban đầu.

Protein đầu tiên được nghiên cứu cấu trúc bậc III chi tiết là mioglobin (Mb), có vai trò vận chuyển oxi ở mô cơ. Mb bao gồm một chuỗi polipeptit có 153 axit amin, và một nhóm thêm "hem", phân tử có cấu trúc khá rắn đặc, bên trong phân tử chỉ có một khoảng trống rất bé (hình 10) phân lõi giữa phân tử hầu hết là các gốc axit amin không phân cực (Leu, Val, Met, Phe) và chỉ có 2 gốc phân cực là His. Bề mặt phân tử có các gốc phân cực và cả các gốc không phân cực.



Hình 10 - Cấu trúc bậc III của mioglobin (a) và cấu trúc bậc IV của hemoglobin (b).

Một phân tử Hb bao gồm 4 chuỗi polipeptit sắp xếp thành dạng gần như cầu.

Mỗi chuỗi polipeptit có chứa 1 nhóm hem (□□)

Nghiên cứu cấu trúc bậc III chi tiết của một chất ức chế tripsin tách từ hạt gấc (MCo TI-II) Việt Nam* cũng nhận được kết quả tương tự. MCo TI-II là một polipeptit có cấu trúc vòng theo kiểu đầu N nối với đầu C, có khối lượng phân tử là 3453,7 dalton, bao gồm 34 axit amin, có 3 cầu disunfua. Bề mặt phân tử của nó có 6 gốc tích điện dương, 3 gốc tích điện âm và chỉ có 4 gốc kỵ nước.

Một số protein xuyên qua hai lớp lipoprotein của màng, ví dụ như các porin (các protein màng ngoài của nhiều vi khuẩn) có kiểu cấu trúc "lộn mặt trong ra ngoài" : mặt ngoài phân tử chủ

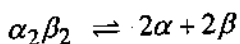
* Biochemistry 2001, vol 40, pag 7973 - 7983.

yếu là các axit amin kỵ nước, còn bên trong chủ yếu là các axit amin phân cực, tích điện bao quanh một kênh nước xuyên qua giữa phân tử. Kiểu cấu trúc này cho phép các porin dễ dàng tương tác với các chuỗi alkan (kỵ nước) trên bề mặt màng.

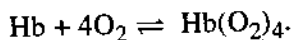
c) Cấu trúc bậc IV của phân tử protein

Phân tử protein có cấu trúc bậc IV có thể phân li thuận nghịch thành các phần dưới đơn vị (pddv). Khi phân li, hoạt tính sinh học của nó bị thay đổi hoặc có thể mất hoàn toàn. Do tồn tại tương tác giữa các pddv nên khi kết hợp với 1 chất nào đó dù là phân tử bé cũng kéo theo những biến đổi nhất định trong cấu trúc không gian của chúng.

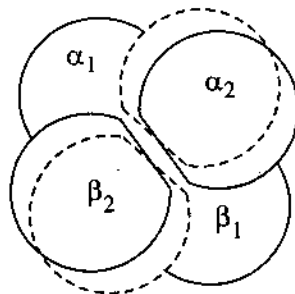
Ví dụ phân tử hemoglobin (Hb) của hồng cầu có chức năng vận chuyển O_2 trong máu. Phân tử Hb có 4 chuỗi polipeptit sắp xếp thành khối có dạng cầu. Mỗi chuỗi có 1 nhóm hem là trung tâm liên kết O_2 (hình 10). Hb A của người lớn gồm 4 chuỗi polipeptit thuộc 2 loại khác nhau gọi là chuỗi α và chuỗi β , do đó Hb A gồm $\alpha_2\beta_2$. Mỗi chuỗi α đều tiếp xúc với 2 chuỗi β và có một số ít tương tác giữa các chuỗi cùng 1 loại. Dưới tác dụng của ure, Hb A có thể bị phân li thuận nghịch như sau :



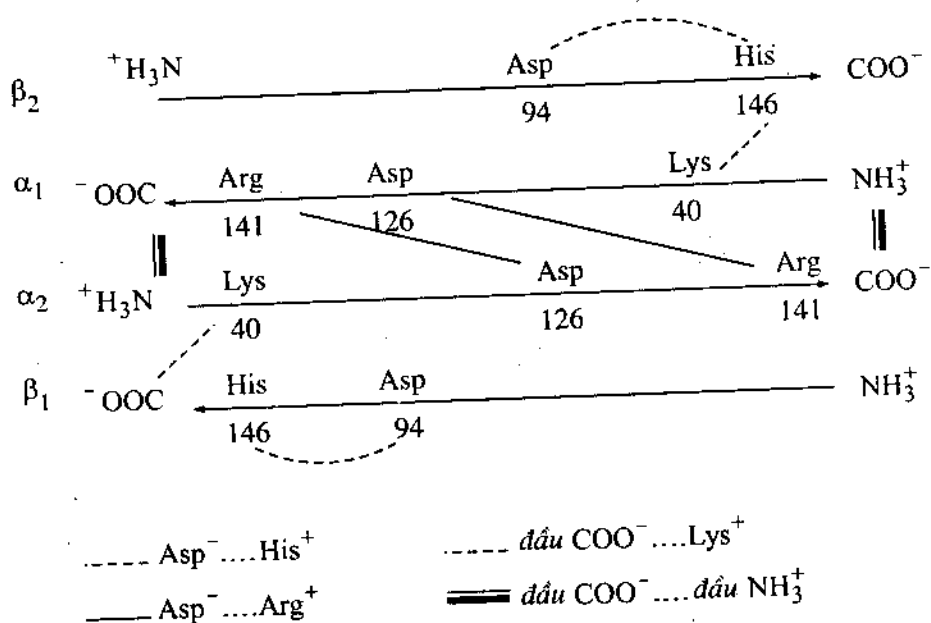
1 phân tử Hb có thể kết hợp với 4 phân tử oxi :



Khi kết hợp với O_2 , cấu trúc bậc 4 của Hb thay đổi đáng kể, thể tích phân tử giảm, các pddv xích lại gần nhau hơn. Khi tách O_2 , thể tích phân tử lại tăng lên trở lại, Betvin và Cotia (J-Baldwin và C.Chothia, 1979), đã xác định được rằng khi kết hợp với O_2 , 1 cặp đơn vị quay 15° so với cặp kia và 1 số nguyên tử trên bề mặt tương tác giữa các pddv bị dịch chuyển 6 Å (hình 11), nguyên tử sắt dịch chuyển đến gần mặt phẳng vòng porphirin tạo thành liên kết mạnh với O_2 , mặt phẳng của vòng hem trở nên phẳng hơn. Ngoài ra, còn có một số thay đổi trong tương tác giữa các gốc trên bề mặt tiếp xúc giữa các pddv, các nhóm cacboxil, nhóm amin ở đầu cuối của mỗi pddv. Trong phân tử Hb, các nhóm cacboxil ở đầu C của mỗi pddv kết hợp với các nhóm amin đầu N hoặc của các axit amin kiềm của pddv khác (hình 12). Ngược lại khi kết hợp với O_2 , các liên kết trên bị cắt đứt, giải phóng các nhóm cacboxil đầu C. Như vậy, 2 dạng cấu trúc bậc IV của deoxy-Hb và oxy-Hb được giữ vững nhờ các "bộ" liên kết hydro khác nhau và có các tên gọi tương ứng là dạng T (tense- kéo căng) và dạng R (relaxed - nói lỏng). Tương tác giữa các nhóm trên bề mặt tiếp xúc α_1 và β_2 có những thay đổi (hình 13).

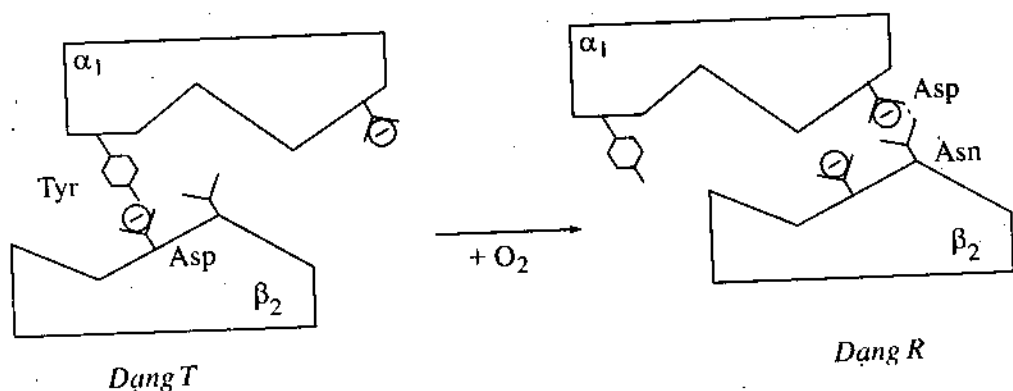


Hình 11 - Sơ đồ minh họa sự thay đổi cấu trúc bậc IV của phân tử Hb sau khi kết hợp với O_2 . Một cặp dưới đơn vị của $\alpha_2\beta_2$ dịch chuyển so với cặp kia là 1 góc quay 15° (đường ---)



Hình 12 - Các liên kết chéo giữa các pđdv khác nhau trong phân tử Hb.
 Tất cả 8 liên kết này đều bị phá vỡ khi -Hb kết hợp với O₂.

Trong các tương tác giữa các pđdv, tương tác giữa $\alpha_1\beta_2$ có vai trò quan trọng làm cho các nhóm hem của chúng gần nhau hơn. Phần lớn các gốc tham gia trong tương tác giữa α_1 và β_2 đều giống nhau ở tất cả các loài.



Hình 13 - Sự chuyển chỗ của tương tác bề mặt giữa α_1 và β_2 khi kết hợp với O₂.

4. Đại cương về phương pháp nghiên cứu cấu trúc phân tử protein

a) *Thu nhận protein ở dạng tinh sạch* : sử dụng các phương pháp kết tủa thuận nghịch, sắc kí qua cột trao đổi ion, rây phân tử, phương pháp sắc kí ái lực v.v. để loại bỏ các protein tạp.

b) *Xác định thành phần axit amin của protein*

Tiến hành các bước như sau :

– Thủy phân protein thành các axit amin, thông thường dùng HCl 6N ở 110° trong 24 giờ.

– Loại axit khỏi dịch thuỷ phân.

– Tách riêng các axit amin trong dịch thuỷ phân : Có thể dùng phương pháp sắc kí trên giấy, sắc kí kết hợp với điện di trên giấy, sắc kí cột với chất trao đổi ion (thường dùng là polistiren sunphonat như Dowex 50).

– Phát hiện axit amin bằng phản ứng đặc hiệu. Ví dụ với thuốc thử ninhydrin, axit amin tạo thành phức chất màu xanh tím, riêng prolin tạo thành phức màu vàng. Cường độ màu tỉ lệ với lượng axit amin.

– Để định tên các axit amin trong dịch thuỷ phân cần tiến hành phân tích song song 1 mẫu chứa hỗn hợp của các axit amin chuẩn. Đối chiếu so sánh sắc kí đồ nhận được của mẫu nghiên cứu và mẫu chuẩn sẽ biết được thành phần, tỉ lệ từng axit amin trong mẫu nghiên cứu.

– Tính số gốc axit amin trong phân tử.

Ngày nay, nhờ có máy phân tích tự động thành phần axit amin, có thể hoàn thành việc tách và phân tích dung dịch axit amin trong vòng 2 giờ.

c) Xác định trình tự sắp xếp các gốc axit amin trong chuỗi polipeptit

Các phương pháp được dùng từ trước đến nay như phương pháp Sanger, phương pháp dùng danxil clorua, phương pháp Edman. Hai phương pháp đầu thường bao gồm một số bước chính sau đây :

– Bẻ gãy cầu – S – S – : khử với ditiotritol sẽ tạo thành các nhóm – SH ; hoặc ôxi hoá bằng axit formic, tạo thành gốc axit xisteic ($R - CH_2 - SO_3^-$).

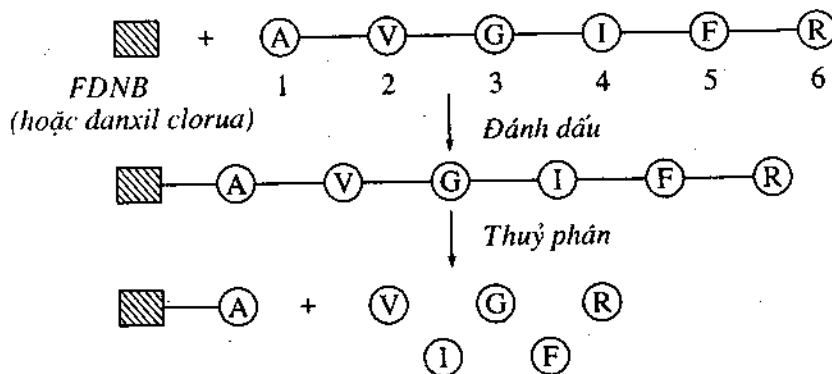
– Cắt chuỗi polipeptit ở những vị trí xác định tạo thành các đoạn peptit ngắn. Để thực hiện điều này, thường dùng các enzym phân giải protein (trypsin, kimotrypsin, clostripain v.v..), các hoá chất đặc biệt (CNBr).

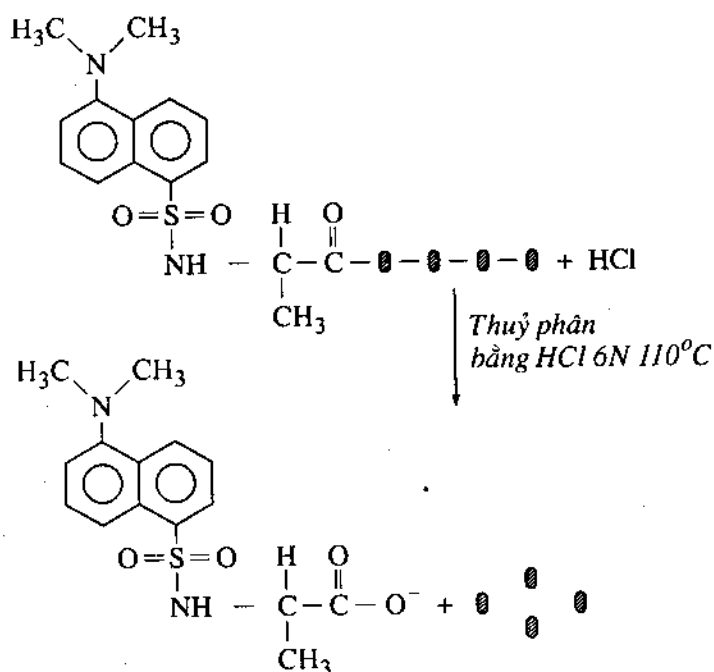
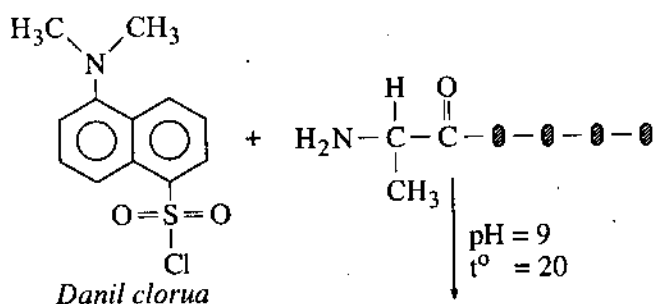
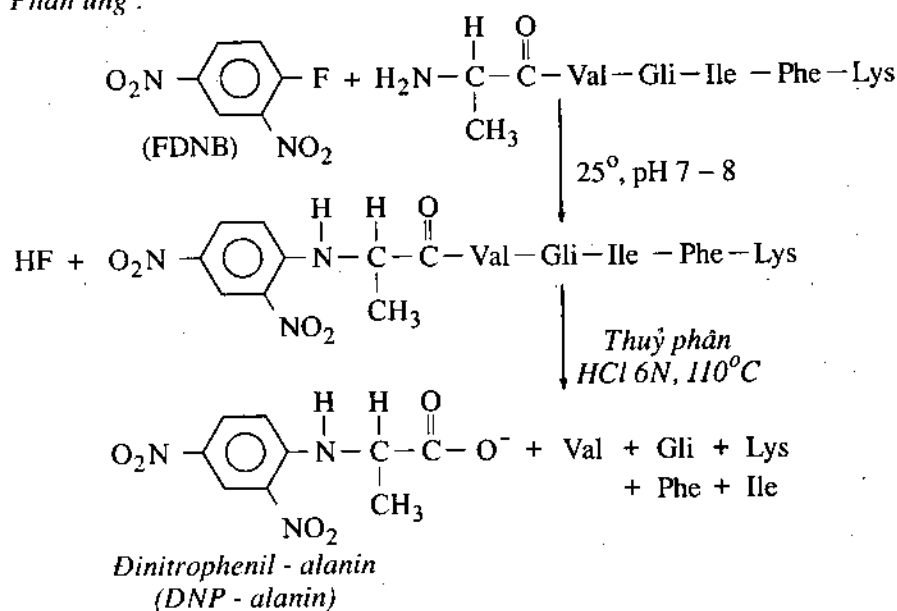
– Dùng phương pháp sắc kí để tách riêng các đoạn peptit này và tinh sạch chúng.

– Xác định trình tự sắp xếp axit amin của mỗi đoạn peptit đã tinh sạch.

– Đối chiếu trình tự axit amin của các đoạn peptit khác nhau (chú ý những đoạn có trình tự axit amin bao phủ lên nhau) để thiết lập trình tự axit amin của toàn bộ chuỗi polipeptit.

Dùng 1-fluor-2,4-dinitrobenzen (FDNB) hoặc danxil clorua, có thể minh hoạ theo sơ đồ sau :





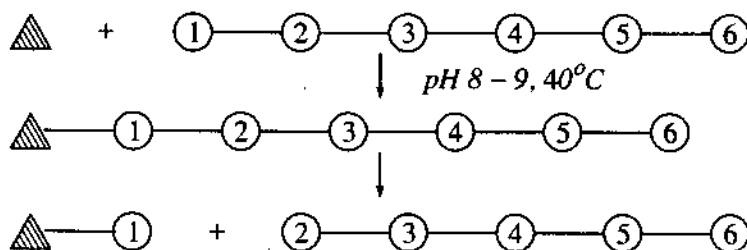
*Dẫn xuất đianxil
- axit amin*

Sử dụng hai phương pháp này không đòi hỏi thiết bị đắt tiền nhưng mất nhiều thời gian và dễ bị sai sót.

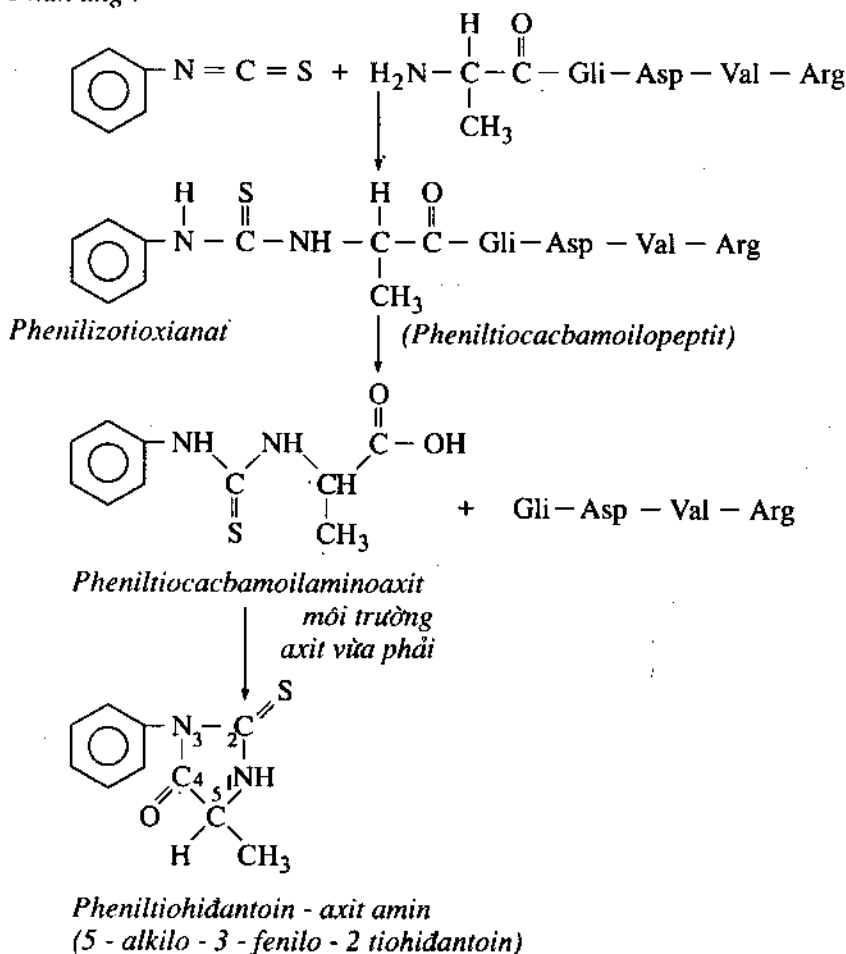
Phương pháp Edman (Pehr- Edman)

Xác định cấu trúc bậc I bằng cách cắt lần lượt từng gốc axit amin khỏi phân tử, bắt đầu từ đầu N. Trong phương pháp này, phenilizotioxianat phản ứng với nhóm amin đầu N tạo thành dẫn xuất pheniltiocacbamoiipeptit, liên kết peptit giữa axit amin đầu N (axit amin thứ nhất) với axit amin thứ hai bị cắt đứt (nhưng không phá huỷ các liên kết khác). Axit amin đầu N được tách ra ở dạng dẫn xuất pheniltiocacbamoiilaminoaxit, rồi chuyển thành pheniltiohidantoin (PTH)-axit amin là dạng bền. Chu trình này lặp lại nhiều lần, tất cả các axit amin lần lượt bị cắt khỏi phân tử mỗi lần một gốc cho đến khi tách toàn bộ axit amin khỏi phân tử. Các PTH-axit amin được xác định bằng phương pháp HPLC (high-performance liquid chromatography).

Sơ đồ minh hoạ :



Phản ứng :



Đây là phương pháp quan trọng nhất *xác định trực tiếp* cấu trúc bậc I của protein, cho phép tự động hoá quá trình phân tích. Máy phân tích tự động cấu trúc bậc I của protein (sequenator) bao gồm các thiết bị tự động thực hiện lần lượt các phản ứng của phương pháp này và xác định bản chất của các axit amin.

Trong thực tế, phương pháp Edman cho kết quả tốt khi chuỗi polipeptit không quá dài, trong điều kiện thích hợp, với chuỗi polipeptit gồm 100 gốc amin, chỉ cần 5pmol đã có thể đủ để phân tích.

Đối với các protein phân tử lớn, người ta thường cắt thành một số đoạn nhỏ, xác định trình tự của các đoạn này bằng phương pháp Edman, ghép nối lại để đọc trình tự của toàn bộ phân tử. Cũng có thể xác định trình tự axit amin của protein một cách gián tiếp dựa vào trình tự nucleotit của ADN mã hoá cho protein.

Để nghiên cứu cấu trúc không gian của phân tử protein thường sử dụng phương pháp cộng hưởng từ hạt nhân và phương pháp nhiễu xạ tia X.

III - MỘT SỐ TÍNH CHẤT QUAN TRỌNG CỦA PROTEIN

Tính chất của protein phụ thuộc vào thành phần, trình tự sắp xếp các gốc axit amin trong phân tử của nó. Do cách kết hợp giữa các axit amin trong phân tử protein dễ dàng thấy rằng protein phải còn mang dấu ấn rõ rệt tính chất các mạch bên của các gốc axit amin cấu tạo nên nó. Ví dụ : một số phản ứng màu đặc trưng, tính chất điện li v.v.. Tuy nhiên, protein có những tính chất hoàn toàn khác axit amin, đó là những tính chất phụ thuộc vào liên kết peptit, phụ thuộc vào cấu trúc không gian phân tử lớn của protein. Sau đây sẽ trình bày chi tiết hơn một số tính chất này.

1. Khối lượng và hình dạng phân tử protein

Protein có khối lượng phân tử (M_r) tương đối lớn và thay đổi trong một dải rộng từ hơn mười nghìn đến hàng trăm nghìn dalton hoặc lớn hơn nữa (bảng 3). Các phân tử lớn này có thể có dạng cầu (hình hạt, hình bầu dục) hoặc dạng sợi. Giữa hai nhóm protein này có khác nhau về một số tính chất.

Các protein hình cầu (spheroprotein) tan trong nước hoặc dung dịch muối loãng, rất hoạt động về mặt hoá học. Thuộc nhóm này có hầu hết protein có hoạt tính xúc tác (enzim), albumin, globulin, mioglobin, hemoglobin v.v.. Tỷ lệ giữa trục dài và trục ngắn của phân tử bé hơn hoặc bằng 20. Ở các protein hình sợi, tỷ lệ này lớn hơn nhiều. Ví dụ tropocollagen (đơn vị cấu trúc cơ sở của collagen) có chiều dài 3000 Å, đường kính 15 Å. Các protein hình sợi (scleroprotein) tương đối trơ về mặt hoá học, chủ yếu có chức năng cơ học. Ví dụ : Collagen của da, xương, sụn, gân, răng ; keratin của tóc, lông ; fibroin của tơ, miozin của cơ v.v..

Bảng 3

**KHỐI LƯỢNG PHÂN TỬ TƯƠNG ĐỐI (M_r)
CỦA MỘT SỐ PROTEIN THƯỜNG GẶP**

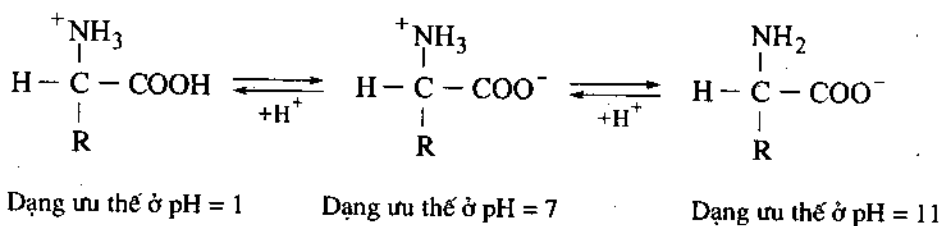
Protein	Mr(dalton)*
Xitocrom C	11 600
Ribonucleaz	12 700
Lizozim (lòng trắng trứng)	14 400
Mioglobin	17 800
Tripsin	24 000
Bromelin	25 000
Pepsin	36 000
Hemoglobin	64 500
Albumin huyết thanh	69 000
Hexokinaz	96 000
Lactat dehydrogenaz	150 000
Ureaz	483 000
Miozin	620 000

Ghi chú: Protein có M_r lớn, để xác định cần dùng các phương pháp đặc biệt như: li tâm siêu tốc, đo áp suất thẩm thấu, dùng chất rây phân tử, điện di v. v.. Các kết quả nhận được khi sử dụng các phương pháp khác nhau, theo các tác giả khác nhau không hoàn toàn giống nhau. Vì vậy các giá trị trong bảng có thể dao động ít nhiều.

2. Tính chất lưỡng tính của axit amin và protein

Axit amin và protein có tính chất lưỡng tính, có nghĩa là vừa có tính chất axit vừa có tính chất baz. Theo thuyết Brenxtat, một chất có tính chất axit có khả năng cho proton, phản ứng với baz tạo thành muối. Tính chất baz thể hiện ở khả năng nhận proton, kết hợp với axit tạo thành muối.

Phân tử axit amin đồng thời có cả nhóm amin và nhóm cacboxil. Trong dung dịch, ở pH trung tính, axit amin tồn tại chủ yếu ở dạng ion lưỡng cực (chỉ 1% ở dạng trung hoà). Ở dạng ion lưỡng cực, nhóm cacboxil bị phân li, nhóm amin bị proton hoá. Trạng thái ion hoá của các nhóm này tùy thuộc vào pH môi trường. Trong môi trường axit (pH = 1) nhóm cacboxil không ion hoá nhóm amin ở dạng proton hoá. Ngược lại trong môi trường kiềm (pH = 11), nhóm cacboxil ion hoá, nhóm amin không ion hoá (hình 14).



Hình 14 - Các dạng ion hoá của axit amin ở các pH khác nhau.

Như vậy, khi đặt axit amin trong điện trường tùy thuộc pH môi trường, nó có thể di chuyển về catot hoặc anot. Ở một pH nào đó, axit amin không di động trong điện trường, chúng tỏ tổng số điện tích trong phân tử của nó bằng không, pH này được gọi là *pH đẳng điện* của axit amin, kí hiệu là pH_i .

Các axit amin chứa 1 nhóm amin, 1 nhóm cacboxil, mạch bên không phân cực (Ala, Val, Leu, Ile) có giá trị pH_i vào khoảng 6, axit amin có 2 nhóm cacboxil (Asp, Glu), pH_i ở vùng axit, ngược lại các axit amin kiềm, pH_i ở vùng kiềm (bảng 4).

Bảng 4

GIA TRỊ pH_i CỦA MỘT SỐ AXIT AMIN

Axit amin		pH_i
Asp	(D)	2,77
Glu	(E)	3,22,
Cys	(C)	5,07
Ser	(S)	5,68,
Val	(V)	5,96
Gly	(G)	5,97
Leu	(L)	5,98
Ala	(A)	6,02
Ile	(I)	6,02,
Lys	(K)	9,74
Arg	(R)	10,76,

Tương tự như axit amin, protein cũng là chất điện li lưỡng tính, vì trong phân tử protein còn có nhiều nhóm phân cực của mạch bên (gốc R) của axit amin. Ví dụ : nhóm cacboxil thứ 2 của Asp, Glu, nhóm amin của Lys, guanidin của Arg, imidazol của His, hidroxil của Ser, Thr, Tyr, v.v.. Trạng thái tích điện của các nhóm này cũng tùy thuộc pH môi trường. Ở một pH nào đó mà tổng số điện tích dương và điện tích âm của phân tử protein bằng không, phân tử protein không di chuyển trong điện trường, gọi là pH_i của protein. Như vậy nếu protein có chứa nhiều Asp, Glu (axit amin axit), pH_i của nó ở vùng axit, và ngược lại nếu chứa nhiều axit amin kiềm (Lys, Arg, His) thì pH_i của nó ở vùng kiềm. Giá trị pH_i của một số protein như sau :

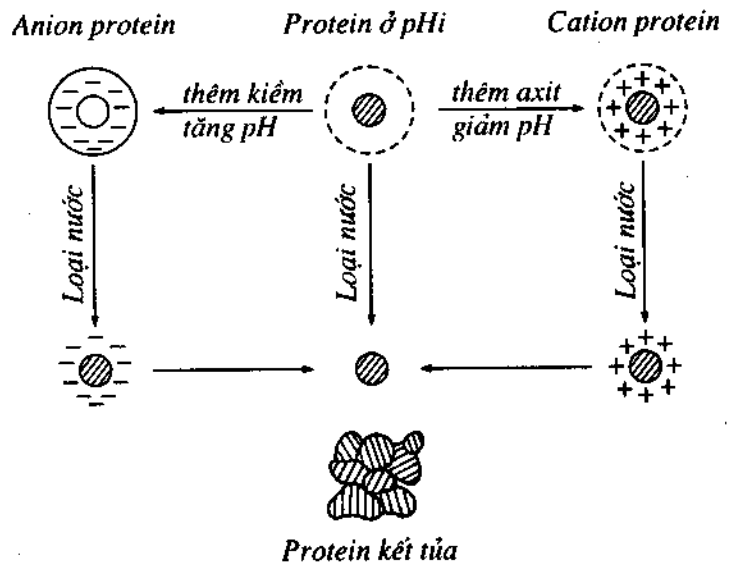
Pepsin	1,0	Hemoglobin	6,8
Albumin trứng	4,6	Ribonucleaz	7,8
Cazein	4,7	Trypsin	10,5
Albumin huyết thanh	4,9	Xitocrom C	10,6
Gelatin	4,9	Prolamin	12,0
Globulin sữa	5,2		

Ở môi trường có $\text{pH} < \text{pH}_i$, protein là một đa cation, số điện tích dương lớn hơn số điện tích âm. Ở $\text{pH} > \text{pH}_i$ phân tử protein thể hiện tính axit, cho ion H^+ , do đó số điện tích âm lớn hơn số điện tích dương, protein là đa anion, tích điện âm.

Ở trong môi trường có $\text{pH} = \text{pH}_i$, protein dễ dàng kết tụ lại với nhau (hình 15) có thể sử dụng tính chất này để xác định pH_i của protein cũng như để kết tủa protein. Mặt khác, do sự sai khác về pH_i giữa các protein khác nhau, có thể điều chỉnh pH môi trường để tách riêng các protein ra khỏi hỗn hợp của chúng.

3. Tính chất dung dịch keo protein, sự kết tủa protein

Khi hoà tan, protein tạo thành dung dịch keo. Các phân tử keo có kích thước lớn, không đi qua màng bán thấm. Sử dụng tính chất này, có thể tinh sạch protein khỏi các chất phân tử thấp bằng phương pháp thẩm tích. Do trên bề mặt phân tử protein có các nhóm phân cực, khi hoà vào nước, các phân tử nước lưỡng cực được hấp phụ bởi các nhóm này, tạo thành màng nước bao quanh phân tử protein gọi là các lớp vỏ hydrat. Dùng phương pháp phân tích rơnghen đã xác định được rằng lớp nước ở sát bề mặt phân tử protein có bề dày 3 Å (đúng bằng kích thước phân tử nước) là lớp nước đơn phân tử. Những phân tử nước ở xa hơn sắp xếp ít trật tự hơn. Độ bền của dung dịch keo protein phụ thuộc vào nhiều yếu tố, ví dụ: sự tích điện của phân tử protein, mức độ hydrat hoá, nhiệt độ v.v.. Khi thay đổi các yếu tố này, ví dụ làm trung hoà điện của phân tử protein, loại bỏ lớp vỏ hydrat, các phân tử protein sẽ kết tụ lại với nhau tạo thành khối lớn, tách khỏi dung dịch thường gọi là *kết tủa protein* (hình 15). Như vậy để kết tủa protein có thể thay đổi pH dung dịch đến pH_i của protein, thêm các muối trung hoà, dung môi hữu cơ (axeton, etanol) ở nồng độ cao, tăng nhiệt độ v. v..



Hình 15 - Sơ đồ minh họa sự kết tủa protein

Sau khi protein bị kết tủa, nếu loại bỏ các yếu tố gây kết tủa, protein lại có thể tạo thành dung dịch keo bền như trước hoặc mất khả năng này. Trường hợp thứ nhất gọi là "*kết tủa thuận nghịch*", trường hợp thứ hai gọi là "*kết tủa không thuận nghịch*". Khi bị kết tủa không thuận nghịch, protein đã bị mất những tính chất ban đầu, còn gọi là sự *biến tính protein*. Những thay đổi dễ thấy nhất là tính tan, hoạt tính sinh học (ví dụ: enzym mất hoạt tính xúc tác) và khả năng phản ứng hoá học. Nghiên cứu cấu trúc không gian cho thấy khi bị biến tính, phân tử protein không cuộn chặt như trước mà thường duỗi ra hơn. Kết quả là phá vỡ cấu hình không gian cần thiết để thực hiện hoạt tính sinh học của phân tử protein. Mặt khác, do phân tử duỗi ra làm cho

một số nhóm chức vốn ở bên trong phân tử được lộ ra ngoài nên làm tăng khả năng phản ứng hoá học của protein.

Tóm lại, 2 yếu tố bảo đảm độ bền dung dịch keo protein là :

- Sự tích điện cùng dấu của các phân tử protein (ở $\text{pH} \neq \text{pH}_i$).
- Lớp vỏ hydrat bao quanh phân tử protein. Loại bỏ 2 yếu tố này protein sẽ bị kết tủa.

4. Ứng dụng các yếu tố kết tủa protein

- Các yếu tố kết tủa thuận nghịch protein được dùng để thu nhận chế phẩm protein. Để đạt mục đích này thường dùng muối trung hoà như $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, dung môi hữu cơ như axeton etanol và phải tiến hành kết tủa ở nhiệt độ thấp dưới 0°C .

Muối trung hoà vừa làm trung hoà điện vừa loại bỏ lớp vỏ hydrat của protein, còn dung môi hữu cơ háo nước, phá huỷ lớp vỏ hydrat rất nhanh chóng. Trong chế phẩm protein nhận được còn lẫn các chất đã dùng để kết tủa, cần sử dụng các phương pháp thích hợp để loại bỏ các chất này. Ví dụ dùng phương pháp thẩm tích hoặc cho qua cột sephadex G – 25 để loại bỏ muối $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$.

- Các yếu tố kết tủa không thuận nghịch (biến tính) protein được sử dụng để loại bỏ protein khỏi dung dịch, làm ngừng phản ứng enzym. Đơn giản hơn cả là đun sôi dung dịch protein. Các hoá chất thường dùng để làm biến tính protein là : các loại axit, kiềm ở nồng độ cao. Một số axit được dùng phổ biến như : axit tricloaxetic, axit vonframic, axit picric, axit sunfoaxalixilic v.v.. Ngoài ra, để làm biến tính protein người ta cũng thường dùng muối của các kim loại nặng như Pb, Hg, Cu, Fe v.v..

5. Khả năng hấp thụ tia tử ngoại của dung dịch protein

Dung dịch protein có khả năng hấp thụ ánh sáng tử ngoại ở 2 vùng bước sóng khác nhau : 180 – 220nm và 250 – 300nm.

a) *Bước sóng từ 180 đến 220nm.* Đó là vùng hấp thụ của liên kết peptit trong phân tử protein, cực đại hấp thụ ở 190nm. Do liên kết peptit có nhiều trong phân tử protein nên độ hấp thụ khá cao, cho phép định lượng tất cả các loại protein với nồng độ thấp. Tuy nhiên vùng hấp thụ này của các liên kết peptit trong protein có thể bị dịch về phía có bước sóng dài hơn khi có một số tạp chất khác lẫn trong dung dịch protein. Mặt khác, chính các tạp chất này cũng hấp thụ ánh sáng tử ngoại ở vùng bước sóng 180 – 220nm. Vì vậy, trong thực tế khi đo độ hấp thụ của dung dịch protein thường đo ở bước sóng 220 – 240nm.

b) *Bước sóng từ 250 – 300nm.* Đây là vùng hấp thụ của các axit amin thơm (Phe, Tyr, Trp) có trong phân tử protein, cực đại hấp thụ ở 280nm. Ở bước sóng này, Trp có độ hấp thụ lớn nhất, rồi đến Tyr. Có thể sử dụng phương pháp đo độ hấp thụ của dung dịch protein ở bước sóng 280nm để định tính và định lượng các protein có chứa axit amin thơm. Hàm lượng các axit amin thơm trong các protein khác nhau thay đổi khá nhiều, do đó dung dịch của các protein khác nhau, có nồng độ giống nhau, có thể khác nhau về độ hấp thụ ở 280nm. Ngoài ra, nhiều chất khác trong dung dịch cũng có ảnh hưởng lớn đến độ hấp thụ của protein.

Vì vậy, các phương pháp đo độ hấp thụ ánh sáng ở vùng tử ngoại thường được dùng để định lượng protein đã tinh sạch hoặc để xác định protein trong các phân đoạn nhận được khi sắc ký tách các protein qua cột.

6. Các phản ứng thường dùng để định tính, định lượng axit amin và protein

Như trên đã nói, axit amin là đơn vị cấu tạo cơ sở của peptit và protein. Các axit amin kết hợp với nhau qua liên kết peptit ($-\text{CO}-\text{NH}-$) tạo thành peptit có chiều dài mạch khác nhau gọi là polipeptit.

Phân tử protein có thể bao gồm một hay nhiều chuỗi polipeptit. Từ đó có thể phân các phản ứng của protein thành 3 nhóm :

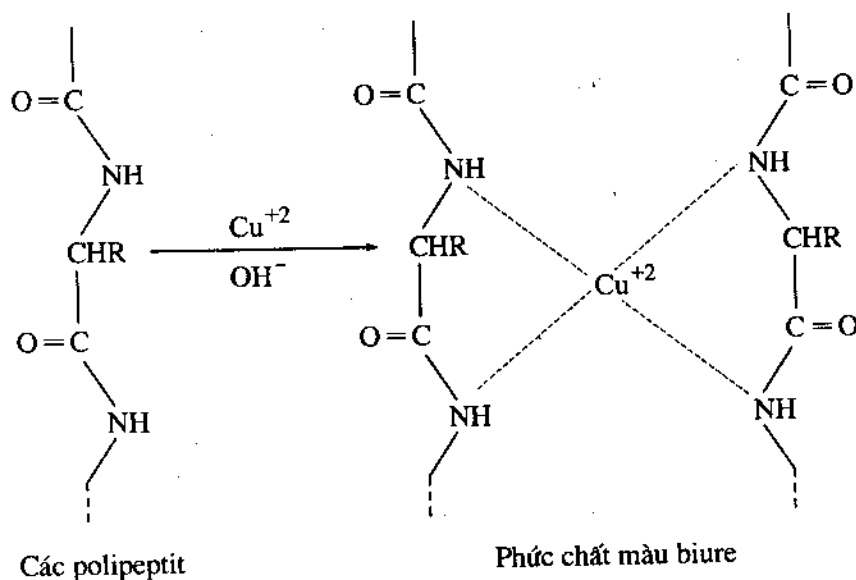
- Phản ứng của liên kết peptit (phản ứng biure) là phản ứng đặc trưng cho tất cả polipeptit, protein.

- Phản ứng đặc trưng của một hay một số gốc axit amin trong phân tử polipeptit, protein.

- Phản ứng của nhóm α - amin tự do đầu N của chuỗi polipeptit.

Sau đây là một số phản ứng đặc trưng thường dùng để định tính và định lượng axit amin và protein.

a) *Phản ứng biure* là phản ứng đặc trưng của liên kết peptit, tất cả các chất có chứa từ 2 liên kết peptit trở lên đều cho phản ứng này (axit amin và dipeptit không có phản ứng biure). Trong môi trường kiềm mạnh, liên kết peptit trong phân tử protein phản ứng với CuSO_4 tạo thành phức chất màu tím hoặc tím đỏ. Công thức cấu tạo của phức chất màu như sau :



Công thức cấu tạo phức chất màu biure

Phức chất màu có cực đại hấp thụ ở bước sóng 540nm. Phản ứng này được sử dụng rộng rãi để phát hiện và định lượng protein. Độ nhạy phản ứng tăng lên nhiều lần khi có thuốc thử Folin - Xiocanto (Folin - Ciocalteu). Hiện nay nhiều nhà khoa học đã cải tiến phương pháp biure, làm tăng độ nhạy phản ứng lên hàng chục lần gọi là phản ứng microbiure.

b) *Phản ứng với thuốc thử Folin - Xiocanto (phương pháp Lori (Lowry) định lượng protein)*

Thuốc thử Folin - Xiocanto có chứa axit photphomolipđic và axit photphovon phramic. Các chất này một mặt làm tăng độ nhạy phản ứng biure, mặt khác phản ứng với gốc Tyr và Trp trong

phân tử protein. Các gốc axit amin này tham gia trong quá trình tạo phức chất màu. Phức được tạo thành có màu xanh da trời, hấp thụ cực đại ở bước sóng 750nm.

Trong phương pháp Lori, giai đoạn đầu thực hiện phản ứng biure, sau đó mới thêm thuốc thử Folin – Xiocanto để tạo phức màu xanh. Phương pháp này có độ nhạy cao, cho phép phát hiện được protein trong dung dịch ở nồng độ $1\mu\text{g}/\text{cm}^3$. Vì vậy phương pháp Lori được dùng khá phổ biến trong phân tích protein. Tuy nhiên cường độ màu phản ứng còn tùy thuộc nhiều vào loại protein. Ví dụ ở cùng một nồng độ, dung dịch tripsin cho cường độ màu cao gấp 3 lần gelatin; hemoglobin cho cường độ màu thấp hơn tripsin nhưng cao hơn gelatin.

Ngoài ra, nhiều chất khác có thể làm tăng hay giảm cường độ màu phản ứng, vì vậy phương pháp này cho kết quả chính xác khi xác định protein đã được tinh sạch ít nhiều.

Các chất làm tăng cường độ màu phản ứng : phenol, purin, pirimidin, axit uric, các chất chứa nhóm – SH, một số ion kim loại v.v. (do chúng cùng phản ứng với thuốc thử Folin – Xiocanto).

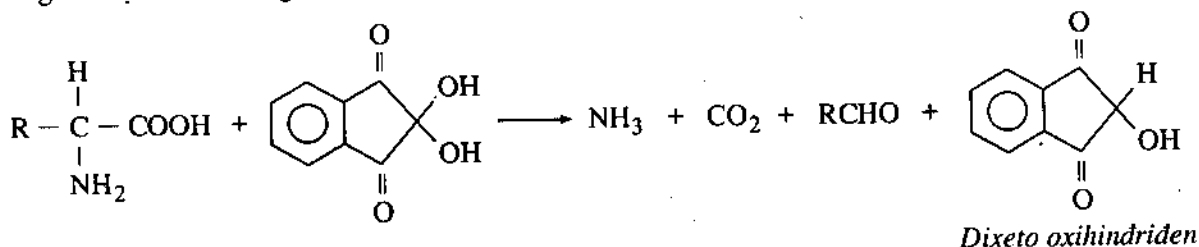
Các chất làm giảm cường độ màu phản ứng : etanol, ete ở nồng độ cao hơn 5%, axeton, $\text{Ba}(\text{OH})_2$ ở nồng độ cao hơn 1% ; Cl_3COOH , HClO_4 .

Phương pháp khác khắc phục được những điểm yếu trên là phương pháp Bradford : protein phản ứng với xanh Cumaxi (Coomassie Brilliant Blue G-250), đo độ hấp thụ ở bước sóng 595nm. Phương pháp này có độ nhạy cao hơn phương pháp Lori khoảng 4 lần, không phụ thuộc vào thành phần axit amin của protein, ít bị ảnh hưởng bởi các hợp chất khác thường gặp trong tế bào như muối v.v.

c) *Phản ứng với ninhidrin*. Phản ứng màu đặc trưng quan trọng để định tính và định lượng axit amin.

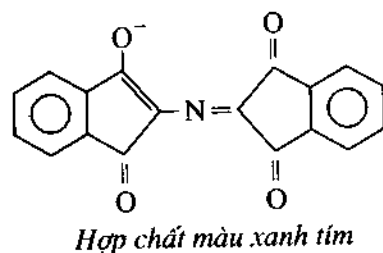
Tất cả các α -axit amin của protein đều phản ứng với ninhidrin tạo thành hợp chất màu xanh tím, riêng iminoaxit như prolin tạo thành màu vàng. Phản ứng này rất nhạy ; có thể phát hiện được đến microgram axit amin, vì vậy được dùng nhiều trong phân tích định tính và định lượng axit amin (trong các phương pháp sắc ký và điện di). Cơ chế phản ứng khá phức tạp và có nhiều chỗ chưa thống nhất. Có thể nêu một số phản ứng chính như sau :

– Dưới tác dụng của ninhidrin ở nhiệt độ cao, axit amin tạo thành NH_3 , CO_2 và aldehyt tương ứng có mạch cacbon ngắn hơn axit amin 1 cacbon ; ninhidrin chuyển thành đixeto oxihindriden.



– Dixeto oxihindriden, NH_3 mới được tạo thành, tiếp tục phản ứng với 1 phân tử ninhidrin khác tạo thành hợp chất màu xanh tím có công thức như sau :

Để định lượng axit amin có thể dùng phương pháp so màu đo cường độ màu phản ứng hoặc dùng phương pháp đo thể tích khí CO_2 hoặc NH_3 được tạo thành. Phương pháp so màu được dùng nhiều hơn.



Ngoài axit amin, peptit, protein, muối amon, amoniac, v.v. cũng tạo màu với thuốc thử ninhidrin. Vì vậy, muốn xác định chính xác axit amin phải loại bỏ các chất này. Để xác định axit amin liên kết trong peptit hoặc protein phải thủy phân các chất này để tạo thành axit amin tự do rồi mới thực hiện phản ứng với ninhidrin.

Các phản ứng màu đặc trưng cho một hoặc một số gốc axit amin và có thể sử dụng để phát hiện axit amin, protein trong dung dịch được tóm tắt trong bảng 5.

Bảng 5

MỘT SỐ PHẢN ỨNG MÀU ĐƯỢC DÙNG ĐỂ
PHÁT HIỆN AXIT AMIN, PROTEIN

Số T.T	Phản ứng	Chất chính tham gia phản ứng – điều kiện chính của phản ứng	Gốc axit amin tham gia phản ứng	Màu
1	Xantoproteic	HNO ₃ đặc	-Trp- -Tyr- -Phe-	Vàng sau khi thêm kiềm chuyển thành màu da cam
2	Pauli	Axit diazobenzosunfonic trong môi trường kiềm	-Tyr- -His-	Đỏ anh đào
3	Milon	Thủy ngân nitrat trong HNO ₃ đặc	-Tyr-	Kết tủa màu nâu đất
4	Xacaguchi	Dung dịch kiềm của α-naphtol và hipobromit	-Arg-	Đỏ
5	Adamkiewicz và Hopkin (có tài liệu ghi là Hopkin – Cole)	Axit glioxilic, H ₂ SO ₄ đặc	-Trp-	Vòng tím ở mặt phân cách
6	Roxenhem	Aldehyt foomic 0,1% và dung dịch HgSO ₄ bão hoà	-Trp-	Tím

d) Phản ứng của nhóm α-amin với foomaldehyt (phản ứng Xiorenxen)

Đây là phản ứng quan trọng thường dùng để đánh giá mức độ thủy phân protein. Foomaldehyt phản ứng với nhóm amin tạo thành dẫn xuất metilen của axit amin theo phản ứng sau :



(Do nhóm amin đã bị khoá nên có thể chuẩn độ nhóm cacboxil bằng kiềm, từ đó tính được số nhóm amin. Phương pháp xác định nitơ amin dựa trên phản ứng này gọi là phương pháp chuẩn độ foomol).

IV - PHÂN NHÓM PROTEIN

Do cấu trúc phức tạp, sự đa dạng về cấu trúc và chức năng của protein nên việc phân loại chúng gặp nhiều khó khăn. Để thuận lợi, người ta thường dựa vào hình dạng, tính tan hoặc chức năng, thành phần hoá học để phân nhóm protein. Dựa vào thành phần hoá học các protein hình cầu được phân thành 2 nhóm lớn :

– Protein đơn giản.

– Protein phức tạp : phân tử của nó bao gồm phần protein và phần không phải protein gọi là “nhóm ngoại”. Tùy theo bản chất hoá học của nhóm ngoại, có thể phân thành các nhóm nhỏ như : metaloproteit, photphoproteit, lipoproteit, nucleoproteit, glicoproteit, cromoproteit.

Theo cách phân chia trên, khó vạch một ranh giới rõ rệt giữa các protein hấp phụ kim loại, xacarit (hoặc chỉ chứa một lượng rất ít các chất này trong phân tử) với các protein phức tạp có chứa các chất trên như là một bộ phận cấu tạo nên phân tử. Do đó một số protein thuộc nhóm protein đơn giản sẽ giới thiệu dưới đây cũng có chứa xacarit.

A – PROTEIN ĐƠN GIẢN

Dựa theo tính tan, có thể phân thành các nhóm nhỏ như sau :

1. **Albumin** : tan trong nước, bị kết tủa ở nồng độ muối $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ khá cao (70 – 100%). Các protein thuộc nhóm này phổ biến ở tế bào động vật và thực vật. Tinh thể albumin lòng trắng trứng, albumin huyết thanh được sử dụng rộng rãi trong nhiều lĩnh vực. Khối lượng phân tử của các protein thuộc nhóm này rất khác nhau, từ 12000 – 60000 dalton, hoặc có thể đến 170000 dalton.

2. **Globulin** : không tan hoặc tan rất ít trong nước, tan trong dung dịch loãng của muối trung hoà (NaCl , KCl , Na_2SO_4 , K_2SO_4). Các protein nhóm này thường bị kết tủa ở nồng độ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ bán bão hoà. Globulin có trong huyết thanh máu, lòng trắng trứng v.v. Ở thực vật, globulin có trong lá và đặc biệt là trong hạt các cây họ đậu. Globulin là protein dự trữ chủ yếu của các cây họ đậu, chiếm khoảng 60 – 80% protein tổng số của các hạt này. Ở nhiều hạt hoà thảo, globulin chỉ chiếm khoảng từ 2 – 13% protein tổng số của hạt và chủ yếu tập trung ở tầng aloron của hạt.

Các protein thuộc nhóm này cũng có khối lượng phân tử rất khác nhau, và thường có chứa xacarit.

3. **Prolamin** : không tan trong nước hoặc dung dịch muối loãng, tan trong etanol hoặc izopropanol 70 – 80%. Prolamin hầu như chỉ có trong phần nội nhũ chứa tinh bột của hạt hoà thảo. Ví dụ : gliadin của hạt lúa mì, hoecdein của đại mạch, zein của ngô v.v. Ở một số hạt hoà thảo, hàm lượng protein tan trong cồn có thể chiếm đến 30 – 60% protein tổng số của hạt. Hàm lượng prolamin trong lúa ít hơn nhiều, vào khoảng 5%.

Prolamin có khối lượng phân tử rất khác nhau. Ví dụ từ chế phẩm gliadin của hạt lúa mì có thể tách được 4 protein kí hiệu là F_1 , F_2 , F_3 , F_4 có M_r tương ứng là 150000, 44000, 27000 và

10000 dalton – Các protein này còn khác nhau về thành phần axit amin. Loại có M_r lớn (F_1) có nhiều Pro và Glu (cả 2 axit amin này chiếm 60% số gốc axit amin trong phân tử). Protein F_4 có thành phần axit amin gần với albumin và globulin.

Phần lớn các protein gliadin có cấu trúc bậc IV. Ví dụ protein F_1 của hạt lúa mì gồm có 3 phần dưới đơn vị, có M_r là 40000, 50000 và 53000 dalton.

4. Glutelin : chỉ tan trong dung dịch kiềm hoặc axit loãng. Glutelin có trong nội nhũ hạt hoà thảo và một số hạt của các cây khác. Ví dụ : glutelin của lúa mì, orizenin của lúa. Hàm lượng orizenin trong hạt lúa chiếm 80% protein tổng số của hạt. Ở các hạt hoà thảo khác glutelin chỉ chiếm khoảng 5 – 40% protein tổng số của hạt. Các protein thuộc nhóm này có M_r cao, và rất khác nhau, đa số có M_r từ 50000 đến vài triệu dalton.

Glutelin được nghiên cứu kĩ nhất là glutelin của lúa mì. Sau khi khử các cầu disunfua trong phân tử của nó, dùng phương pháp điện li tách được 15 loại phần dưới đơn vị có M_r từ 11600 – 133000 dalton. Glutelin có cấu trúc bậc IV phức tạp.

Prolamin và glutelin là các protein dự trữ điển hình của hạt hoà thảo, chúng kết hợp với các thành phần khác trong nội nhũ của hạt tạo thành hợp phức có khối lượng phân tử rất lớn, gọi là gluten. Gluten có cấu trúc không gian cực kì phức tạp.

Trong hạt hoà thảo còn có một số protein không tan trong 4 loại dung dịch kể trên.

5. Histon : protein kiềm, có chứa nhiều axit amin kiềm như Lys, Arg, dễ tan trong nước, không tan trong dung dịch amoniac loãng. Người ta đã tách được từ nhiễm sắc thể của tế bào eucariot 5 dạng histon, kí hiệu là H1, H2A, H2B, H3 và H4. Sự sai khác giữa các dạng này được tóm tắt trong bảng 6. Tỷ lệ hàm lượng histon với ADN không thay đổi từ nấm men đến người, khoảng 1g histon trên 1g ADN, số lượng phân tử các dạng histon luôn tương đương nhau.

Bảng 6

MỘT SỐ TÍNH CHẤT CỦA 5 DẠNG HISTON

Histon	Tỉ lệ Lys/Arg	Số gốc A.amin	M_r (dalton)
H1	20,00	215	21000
H2A	1,25	129	14500
H2B	2,50	125	13800
H3	0,72	135	15300
H4	0,79	102	11300

Cấu trúc bậc I của H3 và H4 có tính bảo thủ rất lớn, hầu như không thay đổi sau hàng trăm triệu năm kể từ khi có sự phân hướng động vật và thực vật trong quá trình tiến hoá.

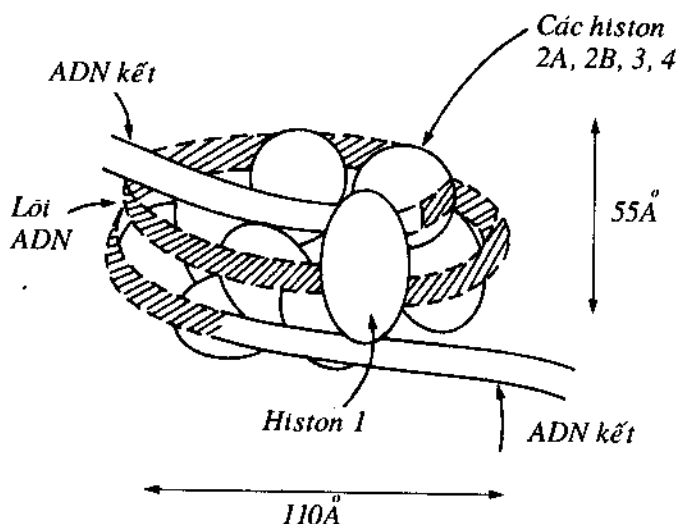
Smit và Dolangơ (Emil Smith và Robert Delange) nghiên cứu so sánh cấu trúc bậc I của H4 tách từ tuyến ức bê con và hạt đậu Hà lan nảy mầm cho thấy chúng hoàn toàn giống nhau, chỉ khác ở 2 vị trí 60 và 77. Ở H4 các tuyến ức là Val₆₀ và Lys₇₇, còn ở hạt đậu hà lan là Ile₆₀ và Arg₇₇. Còn H3 tách từ 2 đối tượng này khác nhau 4 vị trí.

B – PROTEIN PHỨC TẠP

Do protein kết hợp với nhóm ngoại. Phần protein trong phân tử protein phức tạp gọi là apoprotein.

1. Nucleoprotein

Nhóm ngoại là axit nucleic, apoprotein là polipeptit hay protein có tính kiềm, vì vậy chúng kết hợp với nhau khá chặt. Muốn tách riêng chúng, phải dùng dung dịch muối hoặc axit loãng. Nucleoprotein tập trung trong nhân tế bào, riboxom.



Hình 16 - Sơ đồ cấu trúc của 1 nucleoxom.

Phân tử ADN xoắn kép quấn quanh 1 lõi bao gồm 8 phân tử histon (mỗi loại 2 phân tử). Histon H1 ở bên ngoài lõi và gắn vào phần ADN kết.

Khi quan sát chất nhiễm sắc (chromatin) dưới kính hiển vi điện tử ta thấy có nhiều "hạt trên sợi", mỗi hạt gọi là nucleoxom (nucleosome). Nucleoxom có kích thước khoảng 100Å, bao gồm đoạn ADN có 146 cặp baz quấn quanh "lõi" là các histon (hình 16). Lõi histon của nucleoxom gồm 8 phân tử histon khác nhau sắp xếp theo kiểu sau : $(H3)_2(H4)_2$ (tetramer) và $2(H2A - H2B)$ (2 dimer). Đoạn ADN giữa 2 nucleoxom gọi là ADN kết (linker). Histon 1 (H1) ở sát nucleoxom trên ADN kết. Chiều dài của ADN kết (khoảng cách giữa 2 nucleoxom) trên chất nhiễm sắc thay đổi đáng kể giữa các cơ thể, thậm chí giữa các mô của cùng một cơ thể, có thể từ khoảng 20 cặp baz đến hơn 100 cặp baz.

Nucleoprotein trong tinh dịch cá do axit nucleic kết hợp với protamin. Protamin là 1 polipeptit có $M_r < 5000$ dalton, có tính kiềm, chứa nhiều acginin.

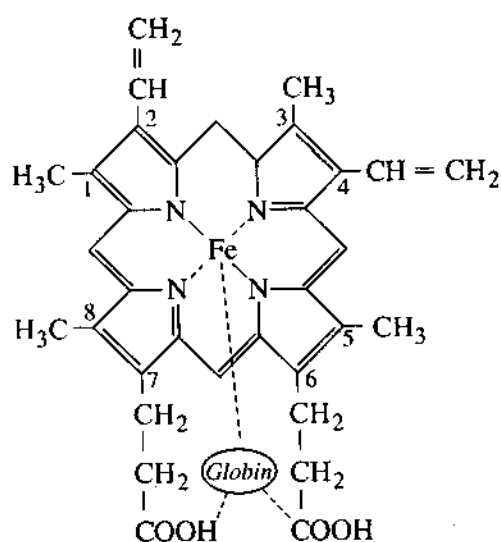
2. Cromoprotein

Nhóm ngoại là hợp chất có màu. Tùy theo đặc tính của nhóm ngoại ta có các cromoprotein có màu khác nhau. Ví dụ : hem (porphirin chứa sắt) có màu đỏ, là nhóm ngoại của mioglobin, hemoglobin, xitocrom C, catalaz. Riboflavin có màu vàng, là nhóm ngoại của các flavoprotein (các dehydrogenaz hiệu khí v.v.)

Các cromoprotein có hoạt tính sinh học sao, tham gia trong nhiều quá trình sống quan trọng như hô hấp, oxi hoá khử, quá trình thu nhận ánh sáng (rodopxin). Sau đây sẽ giới thiệu chi tiết hơn về hemoglobin.

Hemoglobin (Hb) : bao gồm 4 chuỗi polipeptit, mỗi chuỗi kết hợp với 1 nhóm ngoại hem.

a) Nhóm ngoại "hem" gồm có vòng protoporphirin và nguyên tử sắt. Vòng pocphirin được cấu tạo từ 4 vòng piron, các vòng này nối với nhau qua cầu meten tạo thành vòng tetrapiron. Bốn nhóm metil, 2 vinyl, 2 propionat gắn với vòng protopocphirin. Các nhóm này có thể gắn vào các vị trí khác nhau của vòng theo 15 cách khác nhau nhưng chỉ 1 cách có trong hệ thống sinh học gọi là protopocphirin IX (1, 3, 5, 8 tetrametil, 2, 4, divinyl, 6, 7 đipropionic pocphirin). Công thức cấu tạo như sau :



Hem (Fe - protopocphirin IX) : gắn với globin trong Hb.

Nguyên tử sắt trong hem có thể có hoá trị + 2 (fero) hoặc + 3 (feric), hemoglobin có các tên tương ứng là ferohemoglobin và ferihemoglobin (còn gọi là metemoglobin). Chỉ có ferohemoglobin (Fe^{2+}) mới kết hợp với O_2 . Nhóm ngoại hem của tất cả các dạng Hb đều có cấu trúc như trên. Sự sai khác giữa các dạng Hb là ở phần apoprotein của nó (globin).

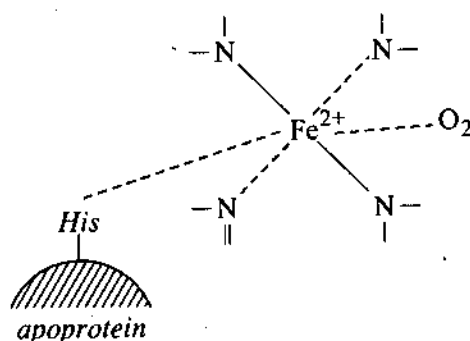
b) Apoprotein của Hb. Như trước đây (trong phần cấu trúc bậc IV của protein) đã giới thiệu, Hb do 4 chuỗi polipeptit kết hợp lại với nhau nhờ các tương tác yếu. Mỗi chuỗi có 1 nhóm ngoại hem, như vậy Hb có thể kết hợp với 4 phân tử O_2 . Có nhiều dạng Hb khác nhau, trong cơ thể bình thường, có 3 dạng là HbA, HbA₂ và HbF.

HbA : Hb chủ yếu của người lớn được cấu tạo từ 2 chuỗi α , 2 chuỗi β . Do đó HbA = $\alpha_2\beta_2$.

HbA₂ : Hb thứ yếu, có ở người lớn chỉ chiếm khoảng 2% tổng số Hb trong cơ thể người lớn. Nó có cấu tạo là $\alpha_2\delta_2$ (2 chuỗi α , 2 chuỗi δ).

HbF : Hb của bào thai, có cấu tạo là $\alpha_2\gamma_2$.

Chuỗi α gồm 141 gốc axit amin, các chuỗi β , δ , γ đều bao gồm 146 gốc axit amin, có trình tự axit amin trong phân tử khá giống nhau, chỉ khác nhau ở một số ít vị trí. So sánh trình tự axit amin trong phân tử Hb của các loài khác nhau cho thấy chỉ có 9 vị trí ít thay đổi, trong đó có các gốc ở gần nhóm hem, các gốc tham gia trong trung tâm kết hợp O_2 . Như vậy những vị trí thay đổi là vị trí bảo đảm chức năng sinh học của Hb.



c) Mỗi hem kết hợp với apoprotein qua 3 liên kết phối trí, trong đó có 1 liên kết phối trí giữa sắt và nitơ của vòng imidazol của các gốc His (vị trí phối trí thứ 5).

Hb kết hợp với O_2 qua liên kết phối trí thứ 6 với sắt. $Hb + O_2 \rightarrow HbO_2$

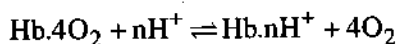
Trong HbO_2 , sắt vẫn giữ hoá trị 2 :

Sự kết hợp O_2 của phân tử Hb có tính chất "hợp tác" : sau khi 1 phân tử O_2 kết hợp vào 1 trung tâm kết hợp O_2 trong phân tử Hb, sẽ kích thích sự kết hợp thêm phân tử O_2 khác với chính phân tử HbO_2 ấy.

Nhờ sự "hợp tác" giữa các trung tâm liên kết O_2 trong phân tử Hb đã làm tăng khả năng phân phát O_2 của Hb lên 2 lần so với khi các trung tâm này hoạt động riêng lẻ. Tóm lại là làm tăng hiệu quả vận chuyển O_2 của Hb.

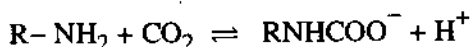
Oxihemoglobin dễ dàng bị phân li, giải phóng O_2 (ở điều kiện áp suất riêng phần của O_2 bị giảm), do đó O_2 được vận chuyển từ phổi đến các tế bào mô ở khắp cơ thể.

Ái lực của Hb với O_2 còn giảm khi tăng nồng độ H^+ , nồng độ CO_2 (ở 1 pH xác định). Do đó ở các mô hoạt động trao đổi chất mạnh (khi co cơ), tạo thành nhiều axit, CO_2 sẽ làm tăng sự tách O_2 khỏi oxihemoglobin. Sự thay đổi ái lực giữa O_2 và Hb theo sự thay đổi của pH gọi là "hiệu ứng Bohr" (Bohr effect), có thể viết phản ứng chúng như sau :



Ngoài O_2 , Hb còn tham gia vận chuyển H^+ và CO_2 . Có 3 cặp nhóm kết hợp proton là : nhóm amin đầu N và 2 gốc His. Ba cặp nhóm này có vi môi trường khác nhau trong oxi và đezoxi - Hb. Trong đezoxi - Hb môi trường trực tiếp của chúng tích điện âm nhiều hơn, kết quả là chúng lấy H^+ khi giải phóng O_2 .

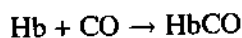
CO_2 kết hợp với nhóm amin đầu N của Hb. Dạng không ion hoá của nhóm α - amin đầu N của Hb phản ứng thuận nghịch với CO_2 tạo thành dạng cacbamat :



Khi kết hợp với CO_2 làm giảm ái lực của Hb với O_2 , CO_2 kết hợp với đezoxi- Hb chặt hơn là với oxi- Hb.

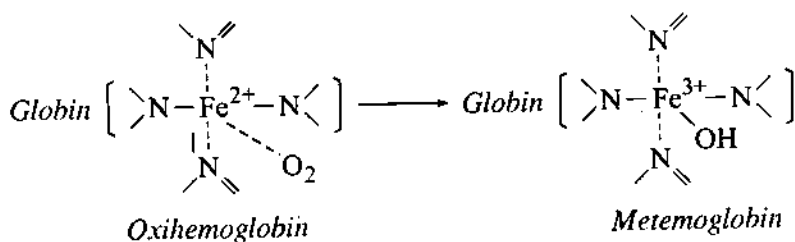
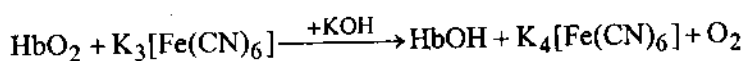
Tóm lại, ta thấy Hb có khả năng kết hợp với O_2 , H^+ , CO_2 ở 3 trung tâm khác nhau, tương tác giữa các trung tâm này được truyền bằng những thay đổi dạng không gian của phân tử protein, gọi là tương tác aloxteric. Tính chất aloxteric của Hb xuất phát từ tương tác giữa các phần dưới đơn vị α và β của chúng. Hb là 1 protein aloxteric.

Ngoài những chất nói trên, Hb còn có thể kết hợp với cacbonmonooxit (CO), hơn nữa ái lực của Hb với CO gấp 200 lần ái lực của nó với O₂. Vì vậy cacbonmonooxit là chất độc nguy hiểm, nó đẩy O₂ khỏi oxi- Hb làm cho O₂ không được vận chuyển đến tế bào, mô, cơ thể bị ngạt (ngộ độc khí than)



Cachoxihemoglobin

Oxi hoá Hb, tạo thành metemoglobin (Fe³⁺) mất khả năng kết hợp với O₂. Các hợp chất xianua, H₂O₂, KMnO₄ đều có tác dụng này, ở điều kiện nhẹ nhàng không làm biến tính globin, chỉ oxi hoá Fe²⁺:



3. Lipoprotein

Nhóm ngoại là lipit.

Lipoprotein đóng vai trò quan trọng trong quá trình vận chuyển lipit trong cơ thể. Lipit không tan trong nước, nhưng sau khi kết hợp với protein, phần lipit kị nước cuộn vào trong, phần apoprotein tạo thành lớp vỏ bọc xung quanh, do đó nó có thể được vận chuyển trong môi trường nước, ví dụ như máu.

Các lipoprotein được phân loại theo tỉ trọng của chúng (bảng 7). Mỗi loại có vai trò xác định trong quá trình vận chuyển lipit. Mỗi nhóm lipoprotein có thành phần apoprotein đặc trưng. Đến nay ít nhất đã có chín apoprotein chính được tìm thấy ở người, kí hiệu là: A-I, A-II, B-48, B-100, C-I, C-II, C-III, D và E. Các apoprotein có khối lượng phân tử khác nhau, thấp nhất là C-I và C-III, theo thứ tự là 7000, 9300 dalton; B-100 có khối lượng phân tử lớn nhất (513.000) rồi đến B-48 (241.000).

Mặc dù có những sai khác giữa các loại lipoprotein, nhưng chúng có cấu trúc chung giống nhau: đều có hình cầu, có thể nhìn thấy dưới kính hiển vi điện tử, các phần kị nước của lipit và của axit amin tạo thành phần lõi bên trong, các phần ưa nước quay ra ngoài.

Bảng 7

TÍNH CHẤT CỦA CÁC LIPOPROTEIN CHÍNH ĐƯỢC TÁCH TỪ HUYẾT TƯƠNG NGƯỜI

STT	Tính chất	Các loại lipoprotein				
		Chilomicron	VLDL	IDL	LDL	HDL
1	Tỉ trọng (g/ml)	<0.950	0,950-1,006	1,006-1,009	1,009-1,063	1,063-1,210
2	Thành phần Apoprotein	A-I, A-II B-48 C-I, C-II C-III	B-100 C-I, C-II C-III E	B-100 C-I, C-II C-III E	B-100	A-I, A-II C-I, C-II C-III D E
3	Hàm lượng các lipit (% khối lượng khô)					
	TGA	86	55	31	6	4
	Colesterol tự do	2	7	7	8	4
	Este cholesterol	3	12	23	42	12-20
	photpholipit	7	18	22	22	25-30

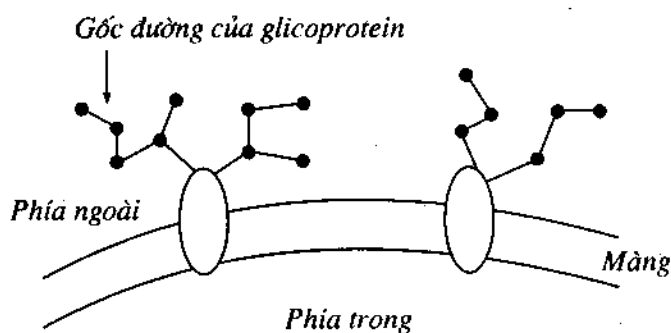
Ghi chú : Chilomicron (chilomicron) ; VLDL (very low density lipoprotein) : lipoprotein tỉ trọng rất thấp ; IDL (intermediate - density lipoprotein) : lipoprotein có tỉ trọng trung gian ; LDL (low density lipoprotein) : lipoprotein tỉ trọng thấp ; HDL (high density lipoprotein) : lipoprotein tỉ trọng cao ; TAG (triacylglycerol).

Chất mang chủ yếu cholesterol trong máu là LDL. Cholesterol có trong LDL thường gọi là cholesterol "xấu" vì hàm lượng LDL cao trong máu dẫn đến tắc nghẽn động mạch (atherosclerosis). Ngược lại, cholesterol trong HDL được xem là "tốt" vì hàm lượng HDL cao chống lại bệnh tắc nghẽn động mạch do nó "thu dọn" cholesterol thừa trong máu, đưa đến gan qua mật, đến ruột hoặc đến các mô, sử dụng để tổng hợp các hormone steroid. (xem phần trao đổi lipit).

4. Glicoprotein

Nhóm ngoại là xacarit. Các xacarit trong glicoprotein có thể là monoxacarit, oligoxacarit và dẫn xuất của chúng. Hàm lượng xacarit trong phân tử thay đổi khá nhiều, có thể đạt đến 80% khối lượng phân tử glicoprotein.

Glicoprotein có trong tất cả các mô động vật, thực vật và vi sinh vật ; có nhiều chức năng khác nhau : miễn dịch, làm trơn, xúc tác, hạ thấp nhiệt độ đóng băng của dịch cơ thể v.v.



Hình 17 - Gốc xacarit của glicoprotein quay ra mặt ngoài của màng nguyên sinh chất.

Ví dụ các protein của máu (các globulin miễn dịch, fibrinogen v.v.) ; mucin trong nước bọt và màng nhầy ; một số enzym (bromelain, ribonucleaz B của tuyến tụy v.v.), các protein cấu trúc của màng tế bào. Ở các glycoprotein của màng tế bào, phần xacarit của nó quay ra mặt ngoài của màng nguyên sinh chất (hình 17).

Nhóm ngoại xacarit có thể có vai trò định hướng glycoprotein trong màng, và còn có thể có vai trò “nhận biết” giữa các tế bào. Các lectin là nhóm glycoprotein rất phổ biến ở thực vật, động vật, vi sinh vật và khá đa dạng về chức năng : hỗ trợ quá trình cuộn (folding) phân tử protein ; tạo điều kiện cho sự tương tác giữa các tế bào (hỗ trợ việc bám dính vi khuẩn cố định nitơ vào rễ v.v.) ; vai trò bảo vệ (diệt sâu bọ).

Các gốc xacarit thường kết hợp với các nhóm OH của Ser, Thr, và thường là qua gốc N-axetil- glucosamin hoặc N- axetilgalactosamin.

5. Photphoprotein

Nhóm ngoại là axit photphoric, kết hợp với apoprotein qua - OH của Ser hoặc Thr của protein. Photphoprotein phổ biến trong cơ thể sinh vật, tham gia điều hoà nhiều quá trình quan trọng. Thuộc nhóm này có một số enzym (photphoglucomutaz, photphorilaz A v.v.) casein của sữa, vitelin của lòng đỏ trứng. Casein có M_r từ 75000 – 100000 dalton, có đủ các axit amin cần thiết. Trong sữa, casein ở dạng tiền chất caseinogen (chiếm 80% protein trong sữa bò), bị kết tủa ở pH axit.

Dưới tác dụng của kimozin và một số proteinaz axit khác, khi có ion Ca^{2+} , casein chuyển thành casein không tan (làm đông sữa). Kết tủa casein được giữ trong dạ dày lâu hơn và được hấp thu hoàn toàn hơn. Các dạng casein khác nhau (α , β , γ) có thành phần axit amin và hàm lượng photpho khác nhau. Hàm lượng photpho trong phân tử α , β , γ casein là 0,96, 0,52 và 0,1% theo thứ tự tương ứng.

6. Metaloprotein

Định nghĩa metaloprotein cũng còn một số vấn đề chưa thống nhất. Theo định nghĩa chung của protein phức tạp, trong phân tử metaloprotein có chứa kim loại thì kim loại là bộ phận cần thiết trong phân tử của nó. Các kim loại thường gặp là : Fe, Mg, Cu, Zn, Mn, Mo v.v.

Các metaloprotein có thể có nhiều chức năng khác nhau như :

a) Vận chuyển và dự trữ kim loại (transferin và feritin chứa sắt, xeruplazmin chứa đồng), liên kết giữa kim loại và apoprotein không bền.

b) Trực tiếp tham gia trong hoạt động xúc tác của enzym, khi loại bỏ kim loại thì enzym mất hoạt tính xúc tác. Ví dụ : tirozinaz (enzim chứa Cu), cacboxipeptidaz (chứa Zn), xantinoxidaz (chứa Mo), hệ thống nitrogenaz tham gia trong quá trình cố định đạm (chứa Fe và Mo). Kim loại liên kết bền với protein.

c) Kim loại ở trong nhóm ngoại, ví dụ Fe trong hem, nhóm ngoại của nhiều protein, enzym.

Chương II

Axit Nucleic

Axit nucleic là polinucleotit, được tạo thành do các mononucleotit kết hợp với nhau qua liên kết photphodiester. Axit nucleic có thể bao gồm 1(ARN) hoặc 2 chuỗi polinucleotit (ADN), 2 chuỗi này kết hợp với nhau qua các liên kết hidro.

Ở pH sinh lí, axit nucleic có tính axit, tích điện âm, do đó dễ dàng kết hợp với các cation, đặc biệt là các protein có tính kiềm, tạo thành các nucleoprotein.

I - THÀNH PHẦN CẤU TẠO

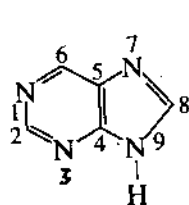
Axit nucleic có chứa các nguyên tố C, H, O, N và P. Hàm lượng P từ 8 đến 10%. Đơn vị cấu tạo cơ sở của axit nucleic là mononucleotit. Một mononucleotit bao gồm 3 thành phần : baz nitơ, pentoz và axit photphoric. Ba thành phần này kết hợp với nhau theo tỉ lệ 1 : 1 : 1. Sau đây sẽ trình bày chi tiết hơn về các baz nitơ và pentoz.

A - BAZ NITƠ

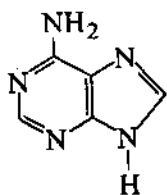
Các baz nitơ có trong phân tử axit nucleic là dẫn xuất của purin (baz purin) hoặc pirimidin (baz pirimidin). Các dẫn xuất này chủ yếu ở dạng lactam (dạng keton $\text{C}=\text{O}$), ít khi ở dạng lactim (dạng enol $\text{C}-\text{OH}$).

1. Baz purin

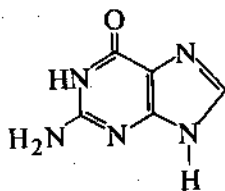
Hai baz purin thường gặp là adenin và guanin. Các baz ít gặp hơn (gọi là baz nitơ lạ) như hipoxantin, xantin, 2 metiladenin, 1 metilguanin. Công thức cấu tạo của các baz này như sau :



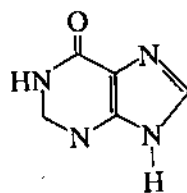
Purin



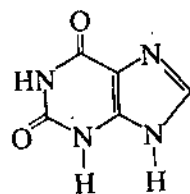
Adenin
(6 - aminopurin)



Guanin
(2 - amino 6 - oxipurin)

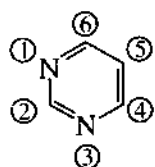


Hipoxantin
(6 - oxipurin)

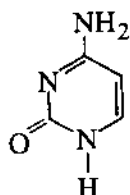


Xantin
(2, 6 - dioxipurin)

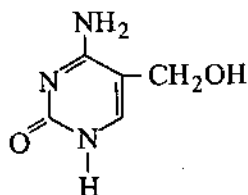
2. Baz pirimidin : xitozin, uraxin, timin. Trong đó xitozin có trong tất cả các loại axit nucleic với lượng lớn. Các baz pirimidin ít gặp (baz nitơ lạ) và chỉ có 1 lượng nhỏ trong axit nucleic là : 5-metilxitozin, 1 metilxitozin, 1 metiluraxin, 5-hidroxi metilxitozin v.v. Công thức cấu tạo của một số baz pirimidin như sau :



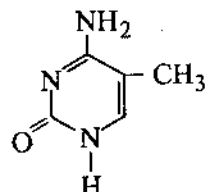
Pirimidin



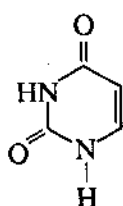
Xytosin
(2 - oxi 6 - aminopirimidin)



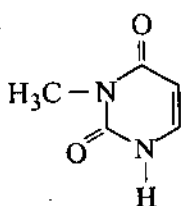
5 - Hidroxi metilxytosin



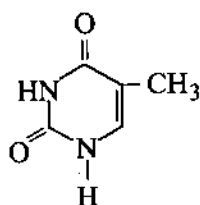
5 - Metylxytosin



Uraxin
2, 6 - dioxipirimidin



1 - Metyluraxin

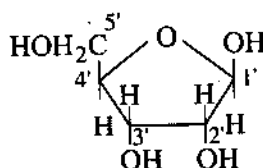


Timin
2, 6 - dioxi 5 - metilpirimidin

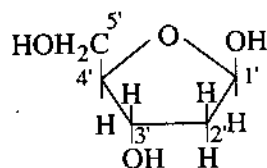
B. PENTOZ

Pentoz có trong phân tử axit nucleic ở dạng β -D-furanoz. Hai loại pentoz của axit nucleic là : riboz và 2 - đêzoxiriboz có công thức cấu tạo như sau (đánh số nguyên tử C có thêm dấu “'” để phân biệt với cách đánh số vị trí của các baz nitơ) :

Dựa vào đặc điểm của pentoz, người ta phân axit nucleic thành 2 loại chính: axit ribonucleic (ARN) chứa riboz và axit đêzoxiribonucleic (ADN) chứa đêzoxiriboz. Ngoài ra, giữa ADN và ARN cũng còn khác nhau về thành phần baz nitơ : ADN không chứa uraxin, ARN nói chung không chứa timin. ARN thường chứa nhiều loại baz nitơ lạ hơn ADN.

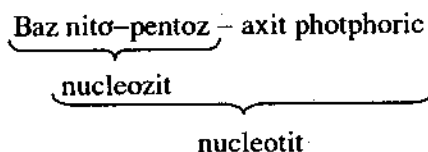


Riboz

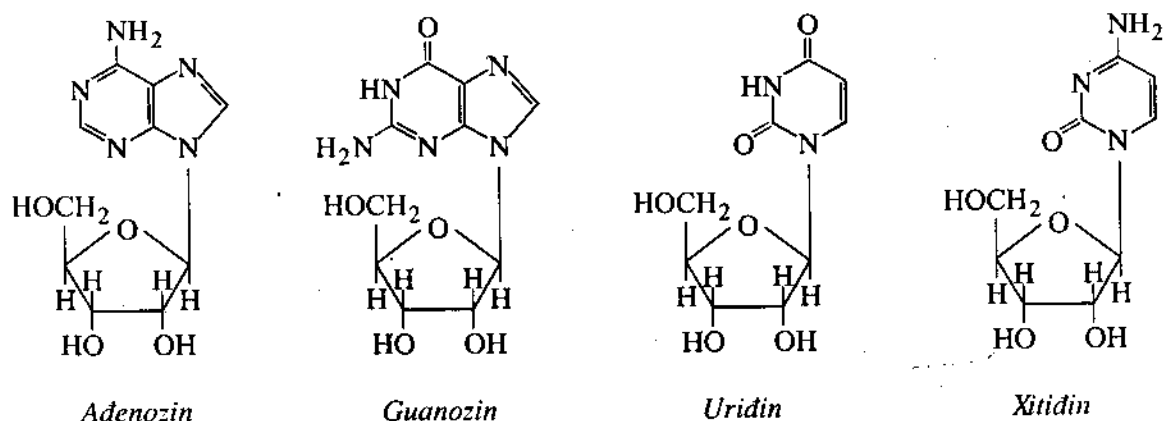


2 - Đêzoxiriboz
(mất oxi ở vị trí thứ 2)

C- CÁCH LIÊN KẾT GIỮA CÁC THÀNH PHẦN CẤU TẠO CỦA MONONUCLEOTIT



Qua sơ đồ trên ta thấy khi tách gốc axit photphoric khỏi nucleotit tạo thành *nucleozit*. Trong 1 nucleozit, baz nitơ kết hợp với pentoz qua liên kết N-glicozit được tạo thành giữa C^{1'} của pentoz với N³ của baz pirimidin hoặc N⁹ của baz purin (hình 18). Các nucleozit của baz pirimidin có tiếp vĩ ngữ *idin*, còn các nucleozit của baz purin mang tiếp vĩ ngữ *ozin* (bảng 8).



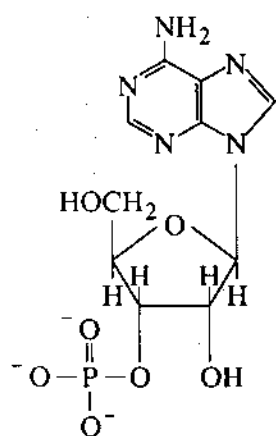
Hình 18 - Công thức cấu tạo của một số ribonucleozit

Bảng 8

TÊN GỌI CÁC BAZ NITƠ, CÁC NUCLEOZIT VÀ NUCLEOTIT TƯƠNG ỨNG

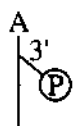
Baz nitơ (kí hiệu)	Ribonucleozit	Ribonucleotit (5' – monophotphat)
Adenin (A)	Adenozin	Adenilat (AMP)
Guanin (G)	Guanozin	Guanilat (GMP)
Uraxin (U)	Uridin	Uridilat (UMP)
Xitozin (X)	Xitidin	Xitidilat (XMP)
	Đezoxiribonucleozit	Đezoxiribonucleotit (5' – monophotphat)
Adenin (A)	Đezoxiadenozin	Đezoxiadenilat (dAMP)
Guanin (G)	Đezoxiguanozin	Đezoxiguanilat (dGMP)
Timin (T)	Đezoxitimidin	Đezoxitimidilat (dTMP)
Xitozin (X)	Đezoxixitidin	Đezoxixitidilat (dXMP)

Trong 1 nucleotit, axit photphoric kết hợp với pentoz qua liên kết este được tạo thành với nhóm OH của pentoz, thường gặp nhất là OH ở vị trí C^{5'}. Nucleotit này gọi là nucleozit 5'–monophotphat hoặc 5'–nucleotit. Khi thủy phân axit nucleic cũng nhận được các nucleozit 3'–monophotphat (axit photphoric kết hợp với OH ở vị trí C^{3'} của pentoz) (hình 19).

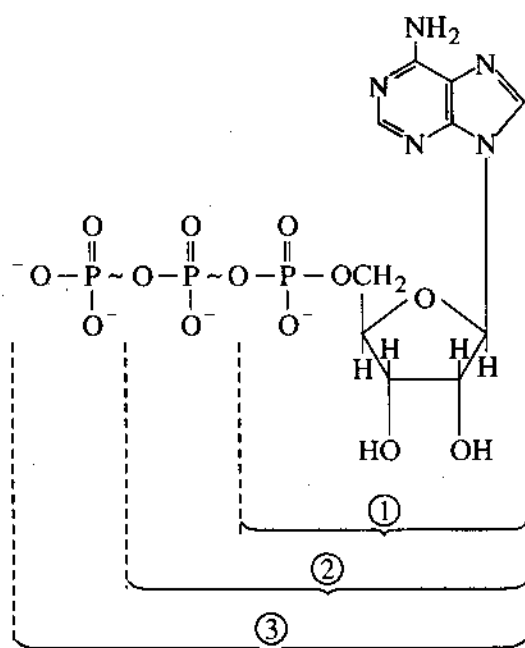


Adenozin 3' photphat
Viết tắt Ado 3' - p, kí hiệu Ap

Biểu diễn theo kiểu sau :



Hình 19 - Công thức cấu tạo cách viết tắt, biểu diễn bằng kí hiệu một số adenozin photphat.



1 - Adenozin monophotphat (AMP) có thể viết là Ado 5' - p hoặc pA, hoặc biểu diễn theo kiểu như sau :

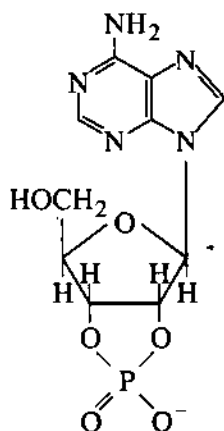


2 - Adenozin diphotphat (ADP), cũng có thể viết tắt theo kiểu sau : AMP ~ (P)

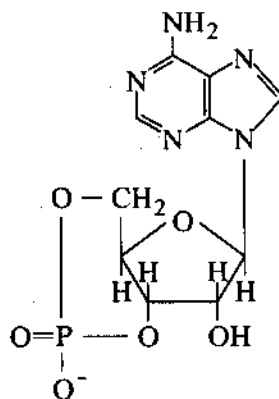
3 - Adenozin triphotphat : (ATP) hoặc viết tắt theo kiểu sau AMP ~ (P) ~ (P)

Dấu "~" chỉ liên kết giàu năng lượng

Trong cơ thể sinh vật còn gặp các nucleotit vòng, trong đó gốc photphat kết hợp với gốc pentoz ở 2 vị trí : 2' và 3' hoặc 3' và 5'. Công thức cấu tạo của các AMP vòng (AMP_v) như sau :



Adenozin 2' 3' - monophotphat



Adenozin 3' 5' - monophotphat

Ngoài các AMP vòng, trong cơ thể cũng gặp các GMP vòng. Các nucleotit vòng có vai trò chìa khoá trong việc kiểm tra các quá trình sống như : điều hoà hoạt độ enzym trong tế bào, là chất trung gian cho hoạt động của nhiều hoocmon. AMP vòng là yếu tố truyền tin thứ hai trong hoạt động của các hoocmon (bản thân hoocmon là yếu tố truyền tin thứ nhất). Nhờ AMP vòng, hoocmon có thể truyền tín hiệu vào trong tế bào mà không cần thâm nhập vào trong tế bào.

1. Các nucleozit diphotphat và nucleozit triphotphat

Các nucleozit diphotphat (NDP) và nucleozit triphotphat (NTP), ví dụ như adenosindiphotphat (ADP) và adenosin triphotphat (ATP) (hình 19) có chứa các liên kết anhidric giữa các gốc photphat. Đó là những liên kết giàu năng lượng (kí hiệu “~”), khi cắt đứt các liên kết này, năng lượng được giải phóng lớn gấp 2 lần liên kết este giữa gốc photphat và riboz.



Giống với adenin, các baz nitơ khác cũng tạo thành các nucleozit diphotphat và nucleozit triphotphat tương ứng như $\text{GDP} \leftrightarrow \text{GTP}$, $\text{XDP} \leftrightarrow \text{XTP}$, $\text{UDP} \leftrightarrow \text{UTP}$.

Các NTP, NDP khác với NMP về độ bền. Khi đun ở 100°C trong HCl 1N trong 7 phút, NMP bền, trong khi đó NDP và NTP bị cắt đứt các liên kết photphoanhydric tạo thành NMP.

2. Chức năng của các nucleotit

- Là “viên gạch” xây nên phân tử axit nucleic
- Một số nucleotit tham gia cấu tạo nên các coenzim quan trọng như coenzim NAD^+ , NADP^+ , FAD, coenzim A.
- Nucleotit (đặc biệt là adenosin 5' triphotphat) có vai trò dự trữ và vận chuyển năng lượng hoá học.

Ngoài ra, một số nucleotit như inozin 5'-monophotphat, guanozin 5'-monophotphat được sử dụng trong công nghiệp thực phẩm làm chất gia vị. Khi sử dụng các nucleotit này cũng như muối natri của chúng làm tăng vị của các sản phẩm thịt, cá, canh... và đẩy lùi những vị không thích hợp.

- Các nucleotit vòng có vai trò điều hoà hoạt độ enzym trong tế bào, là chất trung gian cho hoạt động của nhiều hoocmon, chất truyền tin thứ 2.

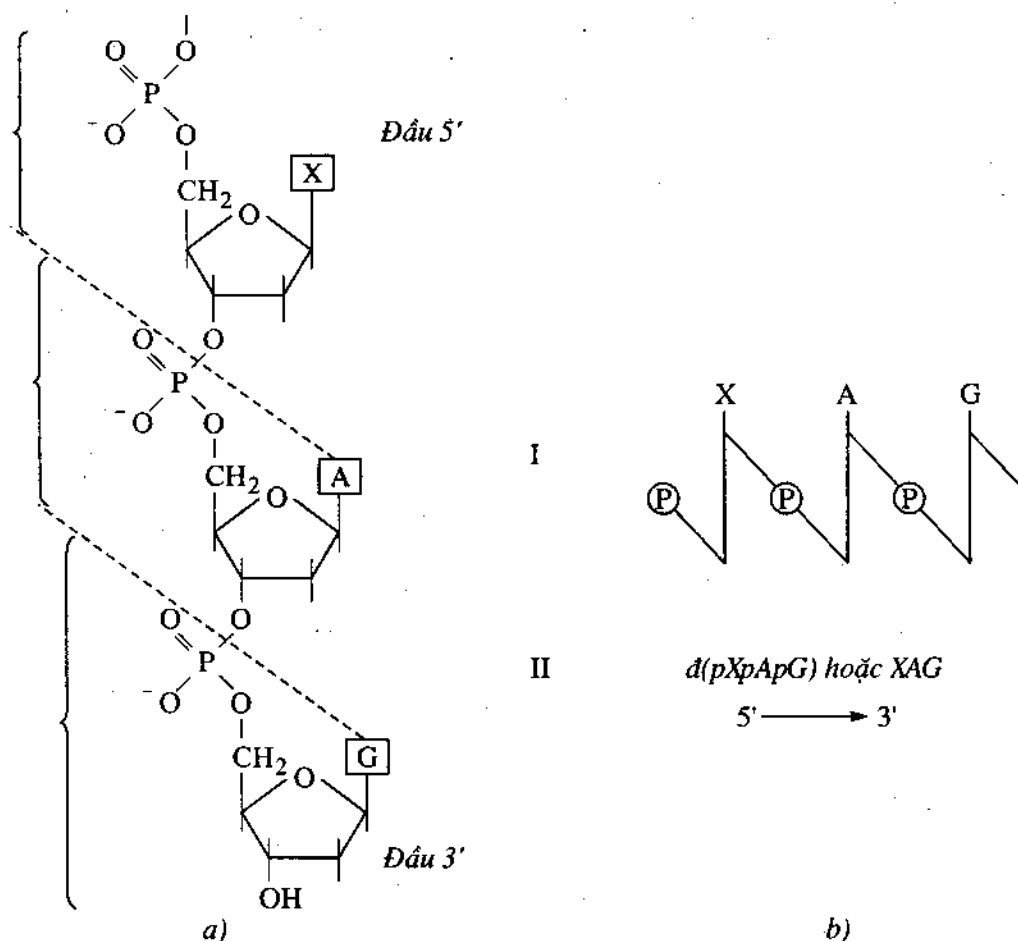
II - LIÊN KẾT PHOTPHODIESTE GIỮA CÁC MONONUCLEOTIT TRONG CHUỖI POLINUCLEOTIT

Các gốc mononucleotit trong chuỗi polinucleotit kết hợp với nhau qua liên kết photphodiester. Liên kết này được tạo thành giữa gốc photphat của một mononucleotit với nhóm OH pentoz của mononucleotit kế tiếp (hình 20a). Các nhóm OH ở C3' và C5' của các pentoz tham gia trong liên

kết photphodiester. Chuỗi polinucleotit ngắn (bao gồm một số ít gốc mononucleotit) gọi là oligonucleotit, còn chuỗi có nhiều gốc nucleotit gọi là polinucleotit.

Do liên kết photphodiester được tạo thành giữa các vị trí 3' và 5' nên chuỗi polipeptit có tính phân cực : 1 đầu 5' thường có gốc photphat và đầu 3' thường có OH tự do (hình 20b).

Đoạn oligonucleotit trên có thể biểu diễn theo các cách sau :



Hình 20 - Cấu trúc của 1 đoạn oligonucleotit.

a) Cách biểu diễn đầy đủ ; b) Cách biểu diễn đơn giản.

Liên kết photphodiester được tạo thành giữa các gốc OH ở vị trí 3' và OH 5'.

□ baz nitơ

--- chỉ các phần thuộc mỗi một nucleotit 1, 2, 3.

Khi biểu diễn 1 oligo – hoặc polinucleotit bắt đầu từ đầu 5' và kết thúc bằng đầu 3', mũi tên chỉ từ 5' → 3'. Như vậy, nucleotit thứ 1 có gốc photphat kết hợp với 5'–OH, nucleotit cuối cùng có 3'–OH tự do. Đánh số thứ tự các baz trong chuỗi polinucleotit bắt đầu từ đầu 5' đến đầu 3' ; cũng tương tự như việc đánh số thứ tự các axit amin trong phân tử protein bắt đầu từ đầu – N đến đầu C (theo hướng đầu N → đầu C). Do đó, oligonucleotit XAG khác với GAX. Chính trình tự sắp xếp khác nhau của các mononucleotit mà từ một số baz nitơ xác định có thể tạo thành nhiều axit nucleic khác nhau. Sau đây sẽ xét riêng ADN, ARN.

A – PHÂN LOẠI AXIT NUCLEIC

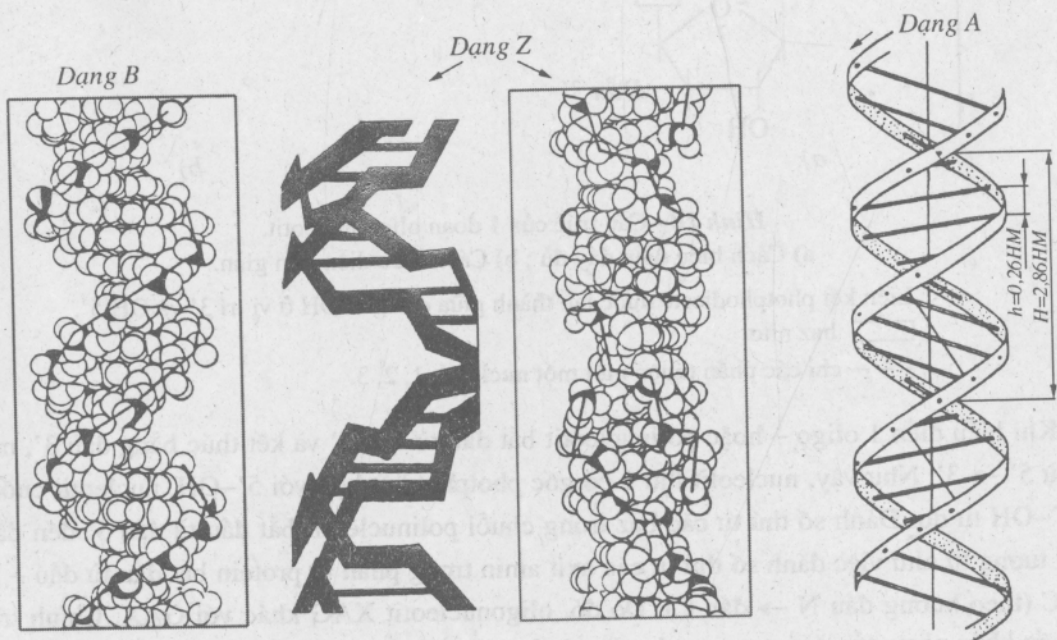
1. Axit dezoxiribonucleic (ADN)

ADN là polidezoxiribonucleozit monophotphat, đơn vị cấu tạo cơ sở của ADN là dezoxiribonucleozit monophotphat đ(NMP). Cấu tử pentoz của ADN là dezoxiriboz. ADN có chứa 4 loại baz nitơ : A, T, G, X (không có U). Sacgarp đã phát hiện được đặc điểm về số lượng của các loại baz nitơ trong phân tử ADN là : tổng số các gốc A bằng tổng số các gốc T ($\sum A = \sum T$) và tổng số các gốc G bằng tổng số các gốc X ($\sum G = \sum X$). Có thể biểu diễn quy luật này như sau :

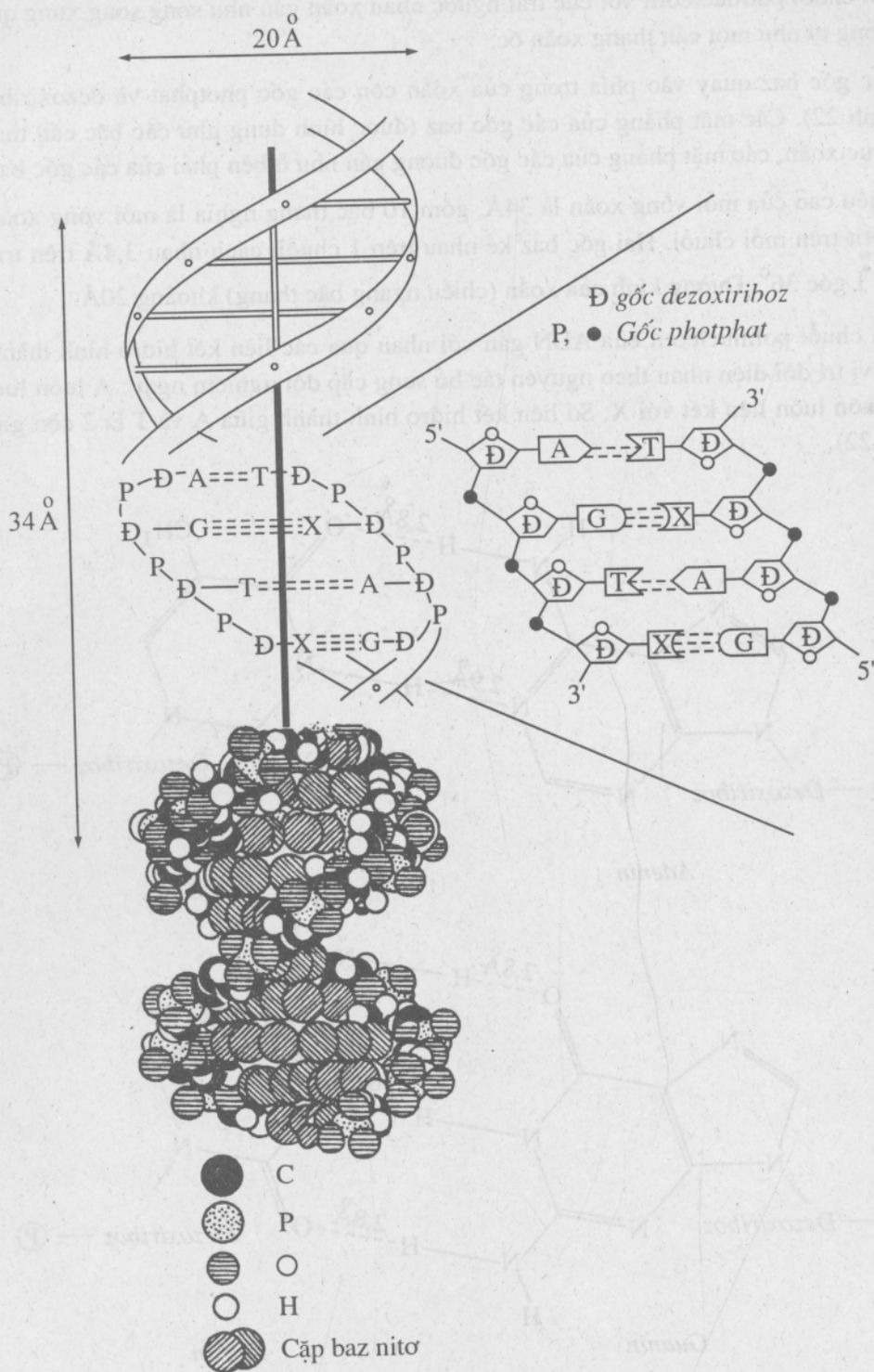
$$\frac{\sum A}{\sum T} = \frac{\sum G}{\sum X} = 1$$

Từ đó có thể thấy : tổng số baz purin (A + G) = tổng số baz pirimidin (T + X). Như vậy sự sai khác về thành phần nucleotit giữa các ADN khác nhau là tỉ lệ $\sum (A + T) / \sum (G + X)$, thường kí hiệu A + T / G + X hoặc A / G.

a) *Cấu trúc xoắn kép của ADN*. Oatxon (James Watxon, người Mỹ) và Cric (Francis Crick, người Anh) đã nghiên cứu, phân tích các ảnh nhiễu xạ rơnghen do Franclin (Rosalind Franklin) và Uynkin (Maurice Wilkins) thu được khi nghiên cứu tinh thể ADN, và dựa vào các kết quả khác như thành phần baz nitơ của ADN v.v., năm 1953 đã đề ra mô hình cấu trúc xoắn kép của phân tử ADN (hình 21b). Thành tựu này mở ra một bước ngoặt mới trong lịch sử sinh học, dẫn đến những hiểu biết về cơ chế phân tử hoạt động biểu hiện gen. Oatxon và Cric đã được nhận giải thưởng Nobel vào năm 1962. Theo mô hình này, cấu trúc xoắn kép của ADN có những đặc điểm chính sau :



Hình 21a - Các kiểu xoắn kép của phân tử ADN – Mô hình chung



Hình 21b – Mô hình phân tử ADN xoắn kép theo Oatxon-Cric.

Phần trên : dạng chung của 1 đoạn phân tử, mặt phẳng các cặp baz như những thanh ngang.

Phần giữa minh hoạ chi tiết hơn : P- photphát, Đ-đerôxiribôz, A, T, G, X : Các baz nitơ,... liên kết hidro.

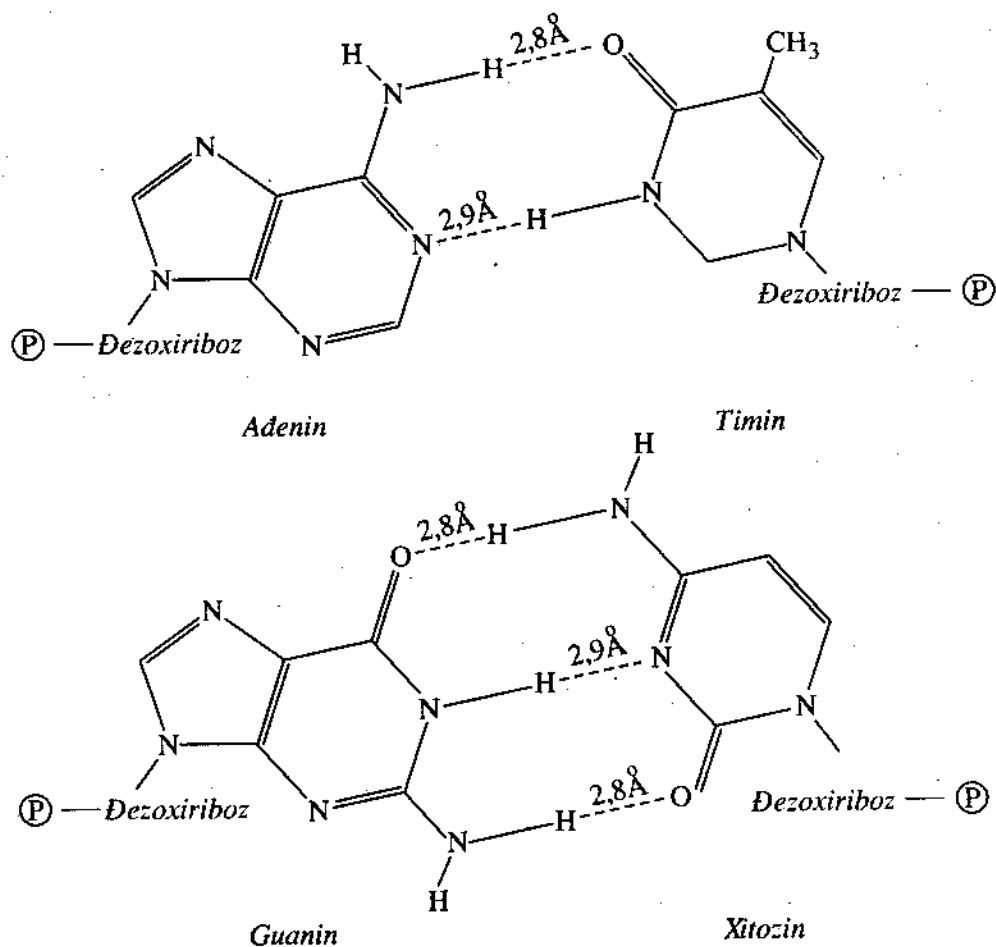
Phần dưới : mô tả mô hình các nguyên tử trong phân tử ADN.

– Hai chuỗi polinucleotit với cực trái ngược nhau xoắn gần như song song xung quanh 1 trục chung tương tự như một cầu thang xoắn ốc.

– Các gốc baz quay vào phía trong của xoắn còn các gốc photphat và đêzoxiriboz quay ra ngoài (hình 22). Các mặt phẳng của các gốc baz (được hình dung như các bậc cầu thang) vuông góc với trục xoắn, các mặt phẳng của các gốc đường gần như ở bên phải của các gốc baz.

– Chiều cao của mỗi vòng xoắn là 34Å, gồm 10 bậc thang nghĩa là mỗi vòng xoắn bao gồm 10 nucleotit trên mỗi chuỗi. Hai gốc baz kề nhau trên 1 chuỗi, cách nhau 3,4Å trên trục xoắn và lệch nhau 1 góc 36° . Đường kính của xoắn (chiều ngang bậc thang) khoảng 20Å.

– Hai chuỗi polinucleotit của ADN gắn với nhau qua các liên kết hydro hình thành giữa các cặp baz ở vị trí đối diện nhau theo nguyên tắc bổ sung cặp đôi nghiêm ngặt : A luôn luôn liên kết với T, G luôn luôn liên kết với X. Số liên kết hydro hình thành giữa A và T là 2 còn giữa G và X là 3 (hình 22).



Hình 22 - Liên kết hydro giữa các cặp baz trong phân tử ADN.

Các baz của 2 chuỗi ở vị trí đối diện nhau luôn thỏa mãn điều kiện để tạo thành liên kết hydro đã nêu : A ở vị trí đối diện với T, G đối diện với X. Do đó, biết được trật tự sắp xếp của các nucleotit (các baz) trên 1 chuỗi có thể thiết lập chính xác trật tự sắp xếp của các nucleotit trên

chuỗi kia. Trật tự chính xác của các baz (các nucleotit) trên chuỗi polinucleotit là yếu tố mang thông tin di truyền.

Ngày nay người ta đã phát hiện được một số kiểu xoắn kép của ADN khác với mô hình Oatxon-Cric (hình 21a). Một số đặc tính của các kiểu xoắn này được trình bày trong bảng 9.

Bảng 9

SO SÁNH CÁC KIỂU XOẮN CỦA ADN

Đặc tính	Kiểu xoắn		
	B (mô hình Oatxon Cric)	A	Z
Chiều xoắn	Phải	Phải	Trái
Đường kính của xoắn (nm)	2,37	2,55 (rộng nhất)	1,84 (hẹp nhất)
Chiều cao (nm) của 1 cặp baz trên trục xoắn (h)	0,34	0,23 (0,25)	0,38 (0,37)
Số cặp baz của 1 vòng xoắn (n)	10,4 (10)	11	12
Chiều cao (nm) của một vòng xoắn (n×h)	35,4 (34)	25,3 (28)	45,6 (45)

Ghi chú : Các số trong ngoặc đơn cho thấy các giá trị này còn chưa thống nhất giữa các nhà khoa học.

Giữa các dạng này còn khác nhau về một số tính chất khác như tương quan giữa mặt phẳng cặp baz so với trục xoắn : ở kiểu A mặt phẳng này không vuông góc như ở kiểu B mà lệch khoảng 20° so với đường vuông góc với trục xoắn.

Khác với kiểu A và B, ở kiểu Z các nguyên tử P sắp xếp trên phân tử theo dạng dích dắc (zigzag).

Ngoài ra người ta cũng giả thiết rằng kiểu B thích hợp cho quá trình tự sao ADN còn kiểu A thích hợp cho quá trình sao chép.

Cuối cùng cũng phải nói thêm rằng sự phát hiện thêm các kiểu xoắn khác với kiểu B vẫn không làm giảm giá trị của mô hình Oatxon-Cric vì mô hình này đã giải thích được tính đa dạng, vai trò sinh học của ADN.

Ngoài các ADN có cấu trúc xoắn kép phổ biến ở tế bào sinh vật, còn ở 1 số virut thì thường gặp ADN 1 sợi.

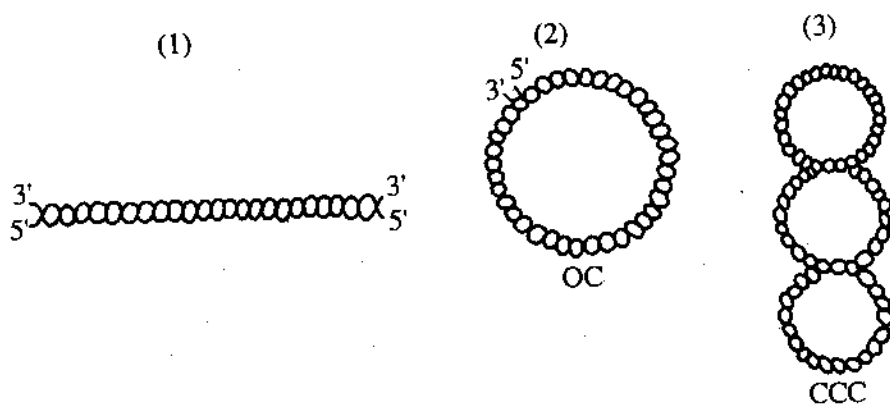
b) *Dạng tự nhiên của phân tử ADN.* Đặc điểm chung của phân tử ADN là chiều dài có thể gấp hàng trăm triệu lần đường kính của nó. Sợi ADN có thể tồn tại ở các dạng sau :

– Dạng xoắn kép sợi thẳng có các đầu 3' và 5' tự do. Dạng này gặp ở các tế bào có nhân thật (eukaryote), ADN thể thực khuẩn T7.

– Dạng vòng (phân tử có tính liên tục) có thể có các kiểu sau :

+ Dạng vòng 1 sợi, ví dụ ADN của thể thực khuẩn ϕ x 174 – (virut bé gây nhiễm ở E. coli).

+ Dạng vòng của ADN xoắn kép (2 sợi) : ADN của các tế bào chưa có nhân thật, ADN của virut, plazmit, ADN của ti thể, lục lạp. Có thể là vòng *khép kín đồng hoá trị* (tiếng Anh : covalently closed circles, viết tắt : C C C), không có đầu 3' và 5' tự do, hoặc *vòng mở* (tiếng Anh : open circle, viết tắt : OC), 1 trong 2 sợi bị đứt 1 liên kết photpho dieste tạo thành đầu 3', đầu 5' tự do (hình 23). Dạng CCC có thể vận lại tạo thành *dạng siêu xoắn*, khi dạng này mất cấu tạo siêu xoắn gọi là dạng “nới lỏng” (relaxed form).



Hình 23 - Các dạng tự nhiên của phân tử ADN.

(1) dạng thẳng với các đầu 3' và 5' tự do; (2) dạng vòng "nối lồng" (OC) của sợi ADN xoắn kép có 1 sợi bị cắt đứt 1 liên kết photphodiester; (3) dạng siêu xoắn.

Dạng siêu xoắn và dạng "nối lồng" khác nhau về độ di động điện di : cấu trúc càng rắn chắc di động càng nhanh, dạng "nối lồng" di động chậm nhất.

Điều đáng lưu ý nữa là axit nucleic thường tồn tại dưới dạng kết hợp với protein gọi là nucleoprotein. Các protein này thường có tính kiềm như histon, protamin.

c) *Kích thước của các phân tử ADN trong virus và trong tế bào* (bảng 10)

Khi tính và so sánh các dẫn liệu về chiều dài, khối lượng phân tử và số cặp baz trong phân tử ADN, đã phát hiện được mối liên hệ giữa các đại lượng này như sau : 1 μm chiều dài của phân tử ADN có khối lượng phân tử là 2 megadalton và có chứa 3 kb (kb = kilobaz).

Kilobaz là đơn vị chiều dài của phân tử ADN, bằng 1000 cặp baz của phân tử axit nucleic xoắn kép (hoặc 1000 baz của phân tử axit nucleic 1 chuỗi polinucleotit).

1 kilobaz của ADN xoắn kép có chiều dài dọc theo chuỗi là 3400 Å và khối lượng khoảng 660 kDa.

Bảng 10

KÍCH THƯỚC MỘT SỐ PHÂN TỬ ADN Ở CÁC SINH VẬT KHÁC NHAU

Cơ thể	Số cặp nucleotit (kb)	Chiều dài (μm) (°)
<i>Virus</i>		
SV 40	5,1	1,7
Lamda	48,6	17,0
<i>Vi khuẩn</i>		
Mycoplasma	760,0	260,0
<i>E.coli</i>	4000,0	1360,0
<i>Sinh vật có nhân</i>		
Nấm men	13500,0	4600,0
Drosophila	165000,0	56000,0
Người	2900000,0	990000,0

* Chiều dài được đo dưới kính hiển vi điện tử

Từ các dẫn liệu trên bảng 10 có thể tính được khối lượng phân tử của các ADN tương ứng (khối lượng phân tử trung bình của 1 cặp baz là 660 dalton).

Qua bảng 10 cũng có thể thấy lượng ADN tính trên nhân tế bào tăng lên với sự phát triển của cơ thể sinh vật trong thang tiến hoá. Cơ thể càng phức tạp, càng chứa nhiều thông tin di truyền hơn, chứa nhiều ADN trong tế bào. Tuy nhiên sự phụ thuộc này cũng rất giới hạn vì trong tế bào của động vật và thực vật bậc cao có chứa 1 phần lớn ADN không mã hoá cho protein nào cả, ADN virus cũng có những đoạn không mã hoá protein.

2. Axit ribonucleic (ARN)

a) *Đặc điểm chung.* Ngoài đặc điểm về thành phần cấu tạo đã nêu trên về cấu tử đường (là riboz), các baz nitơ (không có T, có U), các ARN còn khác ADN về một số điểm sau :

- Sự phân bố trong tế bào : các ARN có trong nhân, trong tế bào chất, ti thể, lục thể và đặc biệt nhiều trong riboxom. Ví dụ trong tế bào gan, ARN được phân bố (% tổng số ARN trong tế bào) như sau : trong riboxom : 50%, bào tương : 24%, ti thể : 15% và nhân : 11%.

- Khối lượng phân tử (M_r) rất khác nhau, từ 75 đến hàng nghìn gốc nucleotit.

- Phân tử ARN bao gồm 1 chuỗi polinucleotit (trừ ở một số virus) nhưng có chứa các vùng có cấu trúc xoắn kép. Trong những vùng này các baz cũng tạo thành cặp đôi theo nguyên tắc bổ sung giữa A và U, G và X. Tuy nhiên G cũng có thể tạo thành cặp đôi với U, nhưng liên kết này kém bền hơn giữa G và X. Do đó tỉ lệ giữa các baz trong phân tử ARN không giống như ở ADN, trong ARN tỉ lệ $\frac{A}{U} \neq 1$, $\frac{G}{X} \neq 1$ nhưng $A + X = G + U$. Trong phân tử ARN có thể có nhiều baz nitơ lạ.

- Vai trò của ARN là truyền những thông tin chứa trong ADN đến tế bào chất.

b) *Các loại ARN.* Dựa vào sự định khu và chức năng, có thể phân biệt 3 loại ARN :

- *ARN thông tin hay ARN khuôn* (messenger RNA = mRNA) viết tắt là ARN_{tt} hoặc là ARN_k , là khuôn trực tiếp để tổng hợp protein. ARN_{tt} có trong nhân, tế bào chất, rất đa dạng, có kích thước rất khác nhau, M_r rất khác nhau (vài trăm nghìn đến vài triệu hoặc lớn hơn).

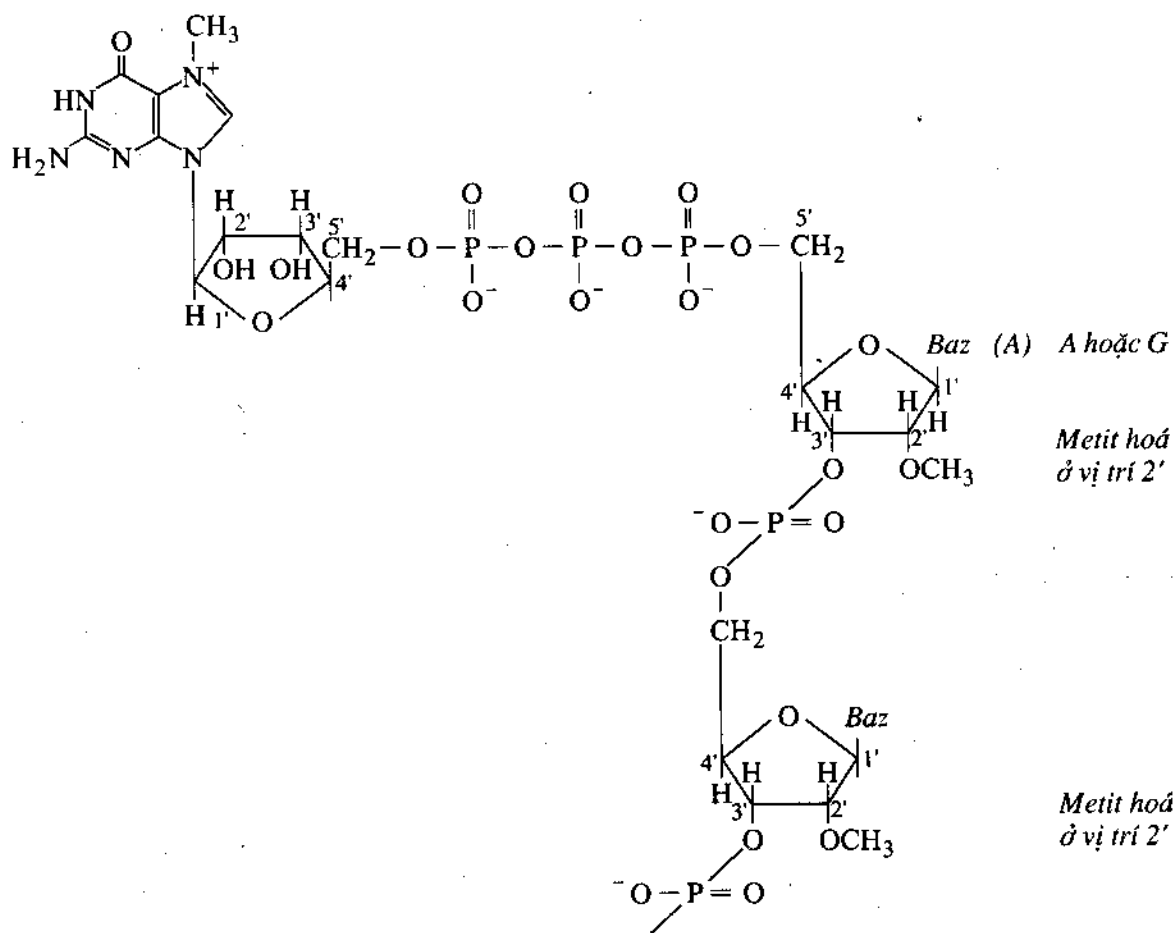
ARN_{tt} có thời gian sống ngắn (tốc độ đổi mới nhanh), có cấu trúc bậc 1 (trật tự sắp xếp của các nucleotit trong phân tử) tương ứng với cấu trúc của 1 gen hoặc nhóm gen tổng hợp nó.

ARN_{tt} ở tế bào có nhân điển hình có chứa "mũ" ở đầu 5' và "đuôi poli (A)" ở đầu 3'.

Đuôi poli (A) bao gồm 100–300 nucleotit adenilic. Đoạn này gắn vào bản sao chép đầu tiên, có thể có vai trò làm bền, bảo vệ ARN_{tt} và điều hoà hoạt động phiên mã của ARN_{tt} .

Đầu 5' của ARN_{tt} ở tế bào có nhân điển hình thường có cấu trúc đặc biệt, gọi là "mũ" (tiếng Anh : cap). Cấu trúc này gồm 1 gốc G metil hoá ở vị trí 7, ở vị trí 5' của nucleotit này có 3 gốc photphat (7mG5'ppp), gốc photphat cuối cùng kết hợp với 5' của mononucleotit trước nó, baz của nucleotit này là A (đôi khi là G), metil hoá ở vị trí thứ 2' (hình 24). Cấu trúc "mũ" này có vai trò quan trọng làm tăng khả năng kết hợp giữa ARN_{tt} với riboxom và có ảnh hưởng quan trọng đến

quá trình phiên mã. Cấu trúc “mũ” cũng góp phần làm bền ARN_{tt} , bảo vệ đầu 5' của ARN_{tt} khỏi bị enzym phân giải.



Hình 24 - Cấu trúc mũ ở đầu 5' của các ARN_{tt} ở tế bào có nhân điển hình.

Gốc riboz của “mũ” 7.mG5' ppp không bị metil hoá nhưng 2 gốc nucleotit trước nó có vị trí 2' metil hoá.

Có thể kí hiệu phân tử ARN_{tt} với mũ ở đầu 5' và đuôi poli(A) như sau : 7-mGppp AAA....A

– *ARN riboxom* (ribosomal RNA = $rRNA$, viết tắt theo tiếng Việt là ARN_r) là thành phần chủ yếu của riboxom, ARN_r có vai trò cấu trúc và xúc tác. Vai trò xúc tác thể hiện ở chỗ nó tự xúc tác cho phản ứng cắt, nối để chuyển hoá tiền chất ARN_r thành ARN_r . Ở *E.coli* có 3 loại ARN (bảng 11) khác nhau về khối lượng phân tử và sự định khu trong riboxom. ARN_r chiếm khoảng 95% hàm lượng ARN trong tế bào. Hàm lượng ARN_r phụ thuộc vào số lượng riboxom, số lượng riboxom lại tùy thuộc vào nhịp độ tổng hợp protein.

CÁC LOẠI ARN Ở TẾ BÀO *E. COLI*

Loại ARN	Hàm lượng (%)	Hệ số lắng (S)	Khối lượng phân tử (kDa)	Số gốc nucleotit
ARN riboxom	80	23	1200	3700
		16	550	1700
		5	3,6	120
ARN vận chuyển	15	4	2,5	75
ARN thông tin	5	rất khác nhau		

Ghi chú : Hệ số lắng biểu diễn bằng đơn vị *Svedtbe* (Svedberg unit), kí hiệu S. $1S = 10^{-13}$ giây. Dựa vào hệ số lắng để xác định khối lượng phân tử của các phân tử lớn sinh học bằng phương pháp li tâm siêu tốc. Svedtbe là người phát minh ra máy li tâm siêu tốc vào năm 1923 được giải thưởng Nobel năm 1926. Phương trình liên quan giữa M_r của chất hoà tan với tốc độ lắng trong trường li tâm :

$$M_r = SRT/D(1 - \bar{V}P).$$

S : hệ số lắng

D : hệ số khuếch tán

$\bar{V}$: thể tích đặc hiệu riêng phần của chất hoà tan

P : tỉ trọng (density) của dung dịch

R : hằng số khí (hằng số hoá lí cơ sở) = $8,314510 (70) \text{ JK}^{-1} \text{ mol}^{-1}$

T: nhiệt độ tuyệt đối.

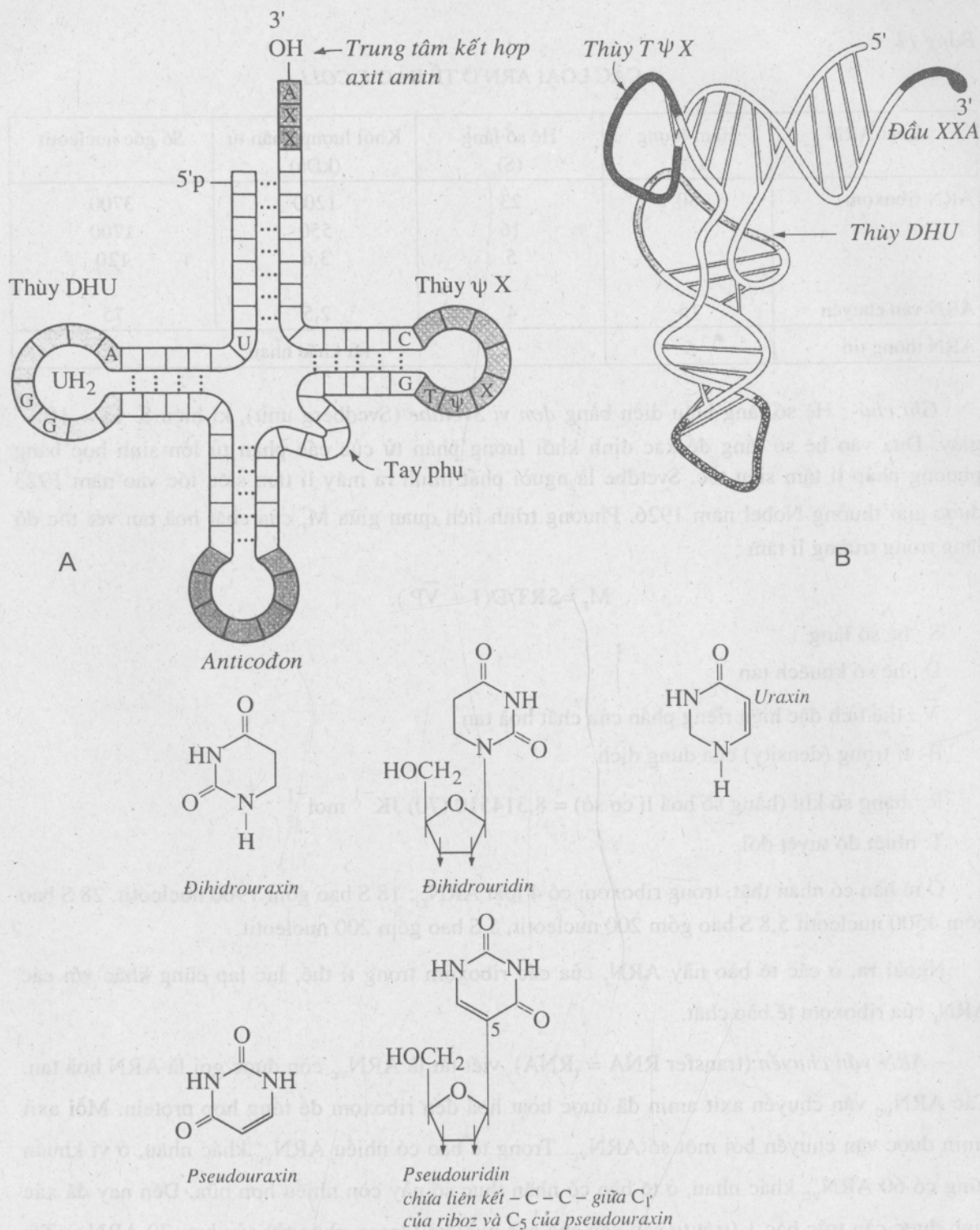
Ở tế bào có nhân thật, trong riboxom có 4 loại ARN_r : 18 S bao gồm 1900 nucleotit, 28 S bao gồm 4500 nucleotit 5,8 S bao gồm 200 nucleotit, 5 S bao gồm 200 nucleotit.

Ngoài ra, ở các tế bào này ARN_r của các riboxom trong ti thể, lục lạp cũng khác với các ARN_r của riboxom tế bào chất.

– *ARN vận chuyển* (transfer RNA = rRNA), viết tắt là ARN_{vc} còn được gọi là ARN hoà tan. Các ARN_{vc} vận chuyển axit amin đã được hoạt hoá đến riboxom để tổng hợp protein. Mỗi axit amin được vận chuyển bởi một số ARN_{vc} . Trong tế bào có nhiều ARN_{vc} khác nhau, ở vi khuẩn cũng có 60 ARN_{vc} khác nhau, ở tế bào có nhân thực số này còn nhiều hơn nữa. Đến nay đã xác định được cấu trúc bậc 1 (trật tự sắp xếp của các nucleotit trong phân tử) của hơn 70 ARN_{vc} . Tất cả các ARN_{vc} có một số đặc điểm chung như sau :

+ Là 1 chuỗi đơn, chứa khoảng 73 đến 93 nucleotit, M_r vào khoảng 25 kDa.

+ Có chứa nhiều baz lạ, khoảng 7–15 gốc trong 1 phân tử. Phần lớn các baz lạ này là các dẫn xuất metil hoặc dimetil của các baz A, U, X và G (hình 25).



Hình 25 - Cấu trúc của phân tử ARN vận chuyển.

- A - Dạng chung của các phân tử ARN_{vc}: thùy DHU bao gồm một vài gốc dihidrouroxil ; thùy anticodon sẽ kết hợp với mã bộ ba trong phân tử ARN_{tt} ; tay phụ : thay đổi nhiều, có thể có tính đặc hiệu loài : thùy T ψ X có thứ tự các baz như sau : ribotimin - p ψ oxouraxin - xitozin.
- B - Sơ đồ cấu trúc 3 chiều của phân tử ARN_{vc} vận chuyển phenilalanin của nấm men (theo Xung Hau Kim) có hình chữ L

+ Đầu 5' của các ARN_{vc} có gốc photphat, baz nitơ là G do đó đầu 5' là pG.

+ Đầu 3' của tất cả các ARN_{vc} luôn có đoạn -XXA. Các axit amin đã được hoạt hoá kết hợp với nhóm 3'-OH của AMP ở đầu 3'.

+ Một nửa các nucleotit trong phân tử của ARN_{vc} tạo thành cặp đôi với nhau tạo thành những đoạn xoắn kép.

+ Cấu trúc không gian của phân tử ARN_{vc} có hình chữ L, trong đó đầu 3' (-XXA) sẽ gắn với axit amin đã được hoạt hoá, ở cách vùng anticodon (gắn với ARN_t) khoảng 80Å (hình 25B).

- *ARN micro (micro RNA)* có vai trò trong sự phát triển của cây. Đây là chức năng mới được phát hiện của ARN

Cách đây khoảng 3 năm, các nhà khoa học đã phát hiện được các ARN rất bé, có chiều dài 20 nucleotit, gọi là ARN micro. ARN micro được phát hiện trước tiên ở Arabidopsis, đến nay đã biết được khoảng 100 ARN micro ở tất cả các loài, tuy nhiên vẫn chưa biết rõ chức năng của chúng mặc dù chúng có tính bảo tồn cao đến 250 triệu năm trong quá trình tiến hoá của sinh vật. Mới đây, các nhà sinh học của Viện công nghệ Massachusetts đã phát hiện được chức năng của một ARN micro có tên là miR164 ở Arabidopsis. miR164 có vai trò quan trọng đối với sự phát triển bình thường các cơ quan chủ yếu của cây như hoa, lá, và thân. Các kết quả nghiên cứu Arabidopsis bình thường và 2 dạng đột biến của nó được tạo ra trong phòng thí nghiệm cho thấy : ở đột biến thiếu sự điều hoà của miR164, cây tạo ra số lượng không bình thường các cơ quan của cây. Ví dụ như quá nhiều cánh hoa và quá ít đài hoa. Ở dạng đột biến quá nhiều miR164, các cơ quan có xu hướng dính với nhau, ví dụ các đài không tách riêng, các nhị hoa kết với nhau thành một khối.

B – MỘT SỐ TÍNH CHẤT CỦA AXIT NUCLEIC

Dung dịch axit nucleic có độ nhớt cao. Axit nucleic có hoạt tính quang học (làm quay mặt phẳng ánh sáng phân cực).

Axit nucleic hấp thụ mạnh ở vùng ánh sáng tử ngoại có bước sóng 250–280 nm, cực đại hấp thụ ở 260nm. Tính chất này được sử dụng để định lượng axit nucleic, xác định độ sạch của chế phẩm axit nucleic.

Khi đun dung dịch axit nucleic ở nhiệt độ cao, thêm axit hoặc kiềm để ion hoá các baz của nó, axit nucleic bị biến tính. Phân tử ADN xoắn kép bị tháo rời, độ hấp thụ ở bước sóng 260nm tăng lên. Sự tăng độ hấp thụ này gọi là hiện tượng *hipecromism (hyperchromism)*. Nhiệt độ làm mất một nửa cấu trúc xoắn kép của phân tử ADN gọi là *hiệt độ chảy* (melting temperature, viết tắt : T_m). Các ADN giàu các baz GX có T_m cao.

ADN phản ứng với thuốc thử Fucsin tạo thành màu đỏ (phản ứng Feulgen), phản ứng này được sử dụng trong hoá tế bào.

Để phân biệt ADN và ARN, dùng các phản ứng đặc trưng với thuốc thử orxin tạo thành màu xanh lục bền, *dezoxiriboz* của ADN phản ứng với *điphenilamin* tạo thành màu xanh da trời bền.

Chương III

Xacarit

Xacarit (còn gọi là glucit hoặc hidratcacbon) là nhóm chất hữu cơ phổ biến khá rộng rãi trong cơ thể sinh vật. Nhìn chung, hàm lượng xacarit ở thực vật cao hơn ở động vật.

Ở thực vật, xacarit tập trung nhiều ở thành tế bào thực vật, mô nâng đỡ, mô dự trữ. Tuy nhiên hàm lượng xacarit ở thực vật thay đổi nhiều tùy loài, tùy giai đoạn sinh trưởng, phát triển của thực vật v.v. Trong cơ thể động vật và người, xacarit tập trung chủ yếu trong gan. Trong máu cơ thể bình thường, hàm lượng xacarit thường là hằng số.

Thực vật xanh có khả năng sử dụng năng lượng ánh sáng mặt trời để tổng hợp xacarit từ CO_2 và H_2O . Động vật và người không có khả năng này, vì vậy thực vật là nguồn dinh dưỡng xacarit quan trọng của động vật và người.

Xacarit giữ nhiều vai trò quan trọng trong cơ thể sống như :

- Cung cấp năng lượng cho cơ thể, xacarit bảo đảm 60% năng lượng cho các quá trình sống.
- Có vai trò cấu trúc, tạo hình (ví dụ : xenluloz, peptidoglican, pentoz v.v.)
- Có vai trò bảo vệ (mucopolixacarit)
- Góp phần bảo đảm tương tác đặc hiệu của tế bào (polixacarit trên màng tế bào hồng cầu, thành tế bào một số vi sinh vật).

Xacarit được cấu tạo từ các nguyên tố C, H, O. Trong phân tử của đa số xacarit, tỉ lệ giữa H và O giống như ở phân tử nước ($\text{C}_n\text{H}_{2n}\text{O}_n$). Vì vậy trước đây xacarit thường được gọi là hidratcacbon. Tuy nhiên có một số chất không phải xacarit cũng có tỉ lệ giữa H và O như trên. Ví dụ : axit axetic ($\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$), axit lactic ($\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3$). Vì vậy ngày nay tên hidratcacbon chỉ còn có tính chất lịch sử.

Để phân loại các xacarit người ta thường dựa vào cấu tạo, tính chất của chúng. Có một số cách phân loại khác nhau nhưng nói chung đều chia xacarit thành 2 nhóm lớn là monoxacarit và polixacarit, mỗi nhóm này lại chia thành các nhóm nhỏ.

Một trong các cách phân loại xacarit thường dùng như sau :

1. Monoxacarit (đường đơn)
 - 1.1. Đường đơn điển hình
 - 1.2. Đezoximonoxacarit
 - 1.3. Monoxacarit phân nhánh
 - 1.4. Aminoxacarit

2. Polixacarit (do một số hoặc nhiều đường đơn kết hợp với nhau)

2.1. Oligoxacarit : đixacarit, trixacarit, oligoxacarit khác

2.2. Polixacarit : – Fructan

– Glucan

– Các polixacarit khác

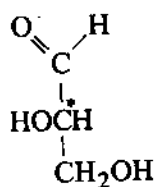
– Glicoprotein

Sau đây sẽ giới thiệu một số đại diện của các nhóm trên.

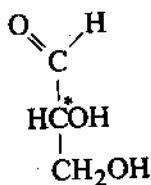
I - MONOXACARIT

Monoxacarit là các aldehyt hoặc xeton có chứa một hoặc nhiều nhóm hidroxi.

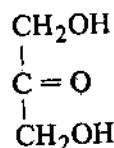
1. Các monoxacarit có thể là aldôz (chứa nhóm aldehyt) hoặc **xetôz** (chứa nhóm xeton). Số lượng cacbon trong phân tử monoxacarit ít nhất là bằng 3, gọi là *trioz*, đó là glixeraldehyt (aldôz) và dihidroxiaxeton (xetôz). Chúng có công thức như sau :



L - glixeraldehyt



D - glixeraldehyt



Đihidroxiaxeton

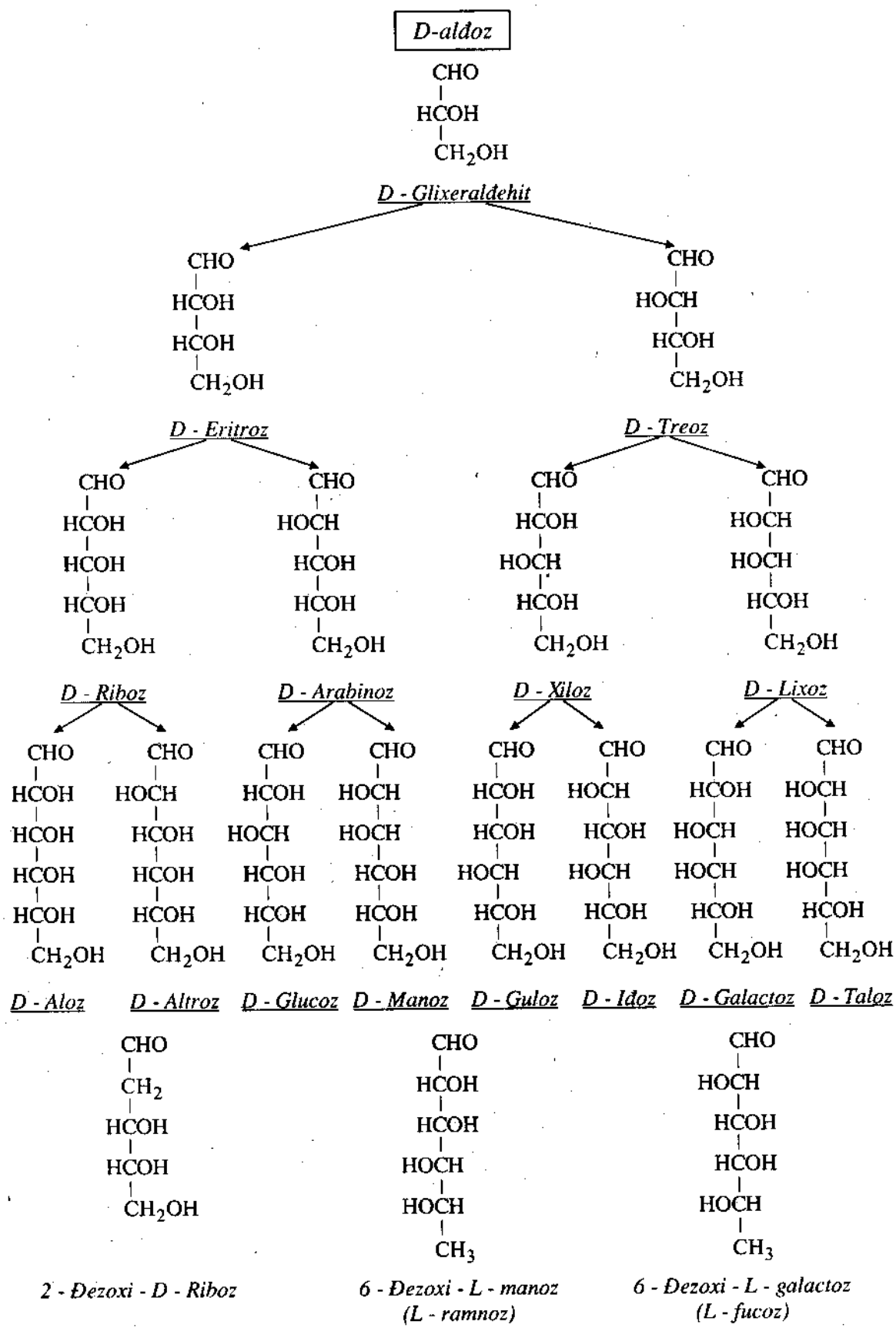
Glixeraldehyt có chứa 1 cacbon bất đối (kí hiệu C*), có 2 đồng phân D và L, còn dihidroxiaxeton không chứa cacbon bất đối. Số lượng cacbon bất đối trong phân tử aldôz lớn hơn xetôz tương ứng. Số đồng phân lập thể của monoxacarit (X) tính theo công thức $X = 2^n$ (n là số C* trong phân tử).

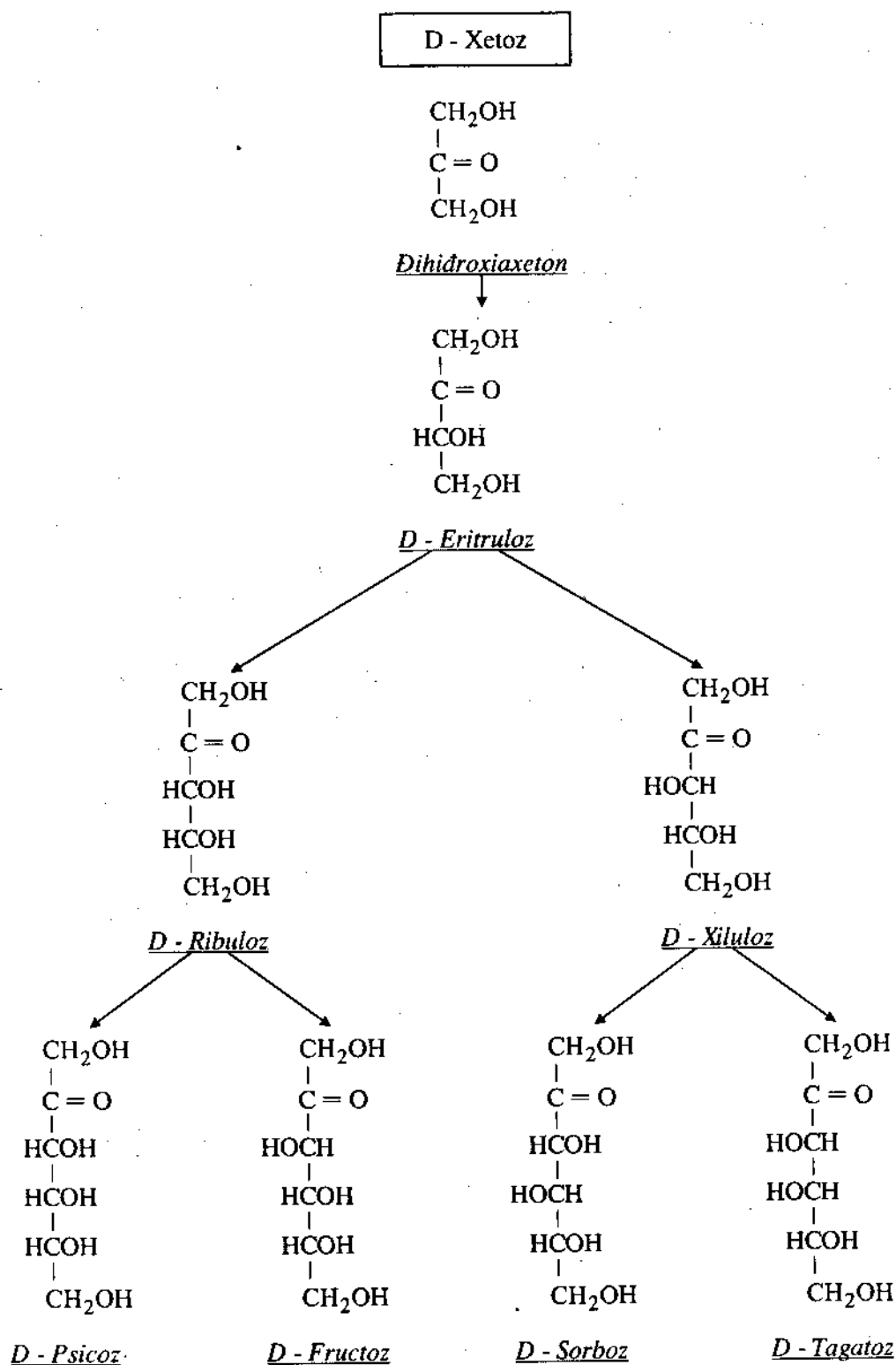
Nếu số cacbon trong phân tử monoxacarit là 4, 5, 6 hoặc 7, chúng có các tên gọi tương ứng là tetroz, pentoz, hexoz và heptoz. Công thức cấu tạo của một số monoxacarit thường gặp, được trình bày trên hình 26 và 27.

Khi đánh số thứ tự các nguyên tử cacbon trong phân tử monoxacarit, bắt đầu từ cacbon của nhóm cacbonil của các aldôz, hoặc cacbon ở đầu gần với nhóm cacbonil của các xetôz.

Dạng đồng phân D hoặc L là chỉ dạng không gian “tuyệt đối”, căn cứ vào vị trí của H và OH ở cacbon bất đối mang số thứ tự lớn nhất (cacbon bất đối ở xa nhóm cacbonil) giống với D hoặc L-glixeraldehyt.

Các monoxacarit có khả năng làm quay mặt phẳng ánh sáng phân cực về bên phải (kí hiệu dấu +) hoặc bên trái (kí hiệu dấu -).





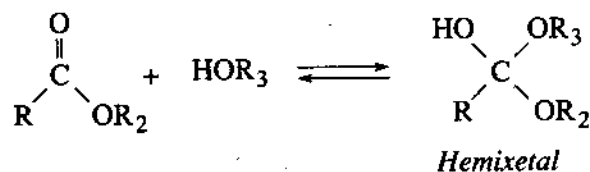
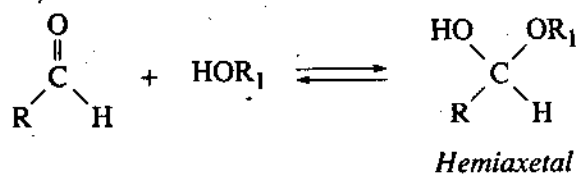
Hình 26 và 27 - Sự liên quan về cấu tạo của một số D-aldoz và D-xetoz có chứa từ 3 đến 6 nguyên tử cacbon.

Các monoxacarit có vai trò quan trọng là : glixeraldehit, riboz, glucoz, manoz và galactoz

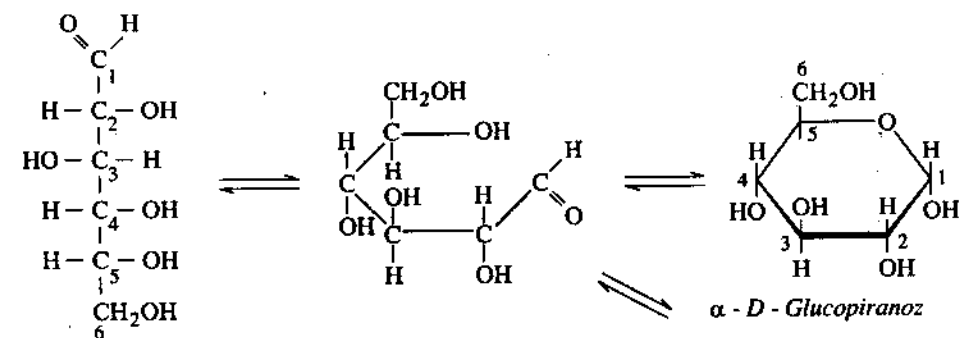
Các dezoximonoxacarit như L-ramnoz và L-fucoz
là thành phần quan trọng của thành tế bào một số vi khuẩn.

2. Phân tử pentoz, hexoz có thể vòng hoá tạo thành dạng vòng 5 hoặc 6 cạnh

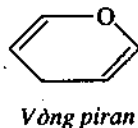
Hai hexoz phổ biến là D-glucos (aldos) và D-fructos (xetos). Trong dung dịch, chúng tồn tại chủ yếu không phải là cấu trúc mở mà là dạng vòng. Quá trình vòng hoá là do phản ứng giữa nhóm cacbonil và nhóm OH trong phân tử của chúng tạo thành hemiaxetal hoặc hemixetal. Trong trường hợp glucos, phản ứng xảy ra giữa nhóm aldehyt (C - 1) với OH ở vị trí C-5 tạo thành vòng 6



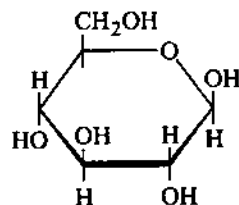
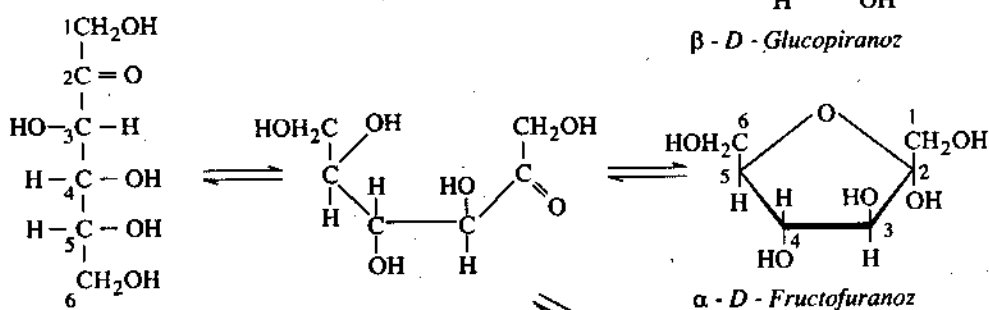
canh gọi là *piranoz* (vì tương tự với *piran*) ; còn đối với fructoz, phản ứng xảy ra giữa nhóm xeto (C-2) với OH ở C-5 tạo thành vòng 5 cạnh gọi là *furanoz* (vì nó có cấu trúc tương tự *furan*).



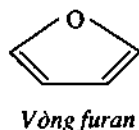
D - Glucoz
(dạng cấu trúc chuỗi mở)



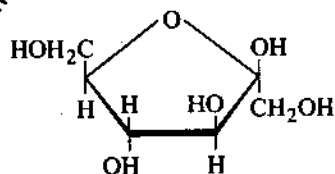
Vòng piran

 β - D - Glucopiranoz

D - Fructoz
(dạng cấu trúc chuỗi mở)



Vòng furan



β - D - Fructofuranoz

Hình 28 - Dạng cấu trúc "chuỗi mở" và cấu trúc vòng của D-glucôz và D-fructôz.

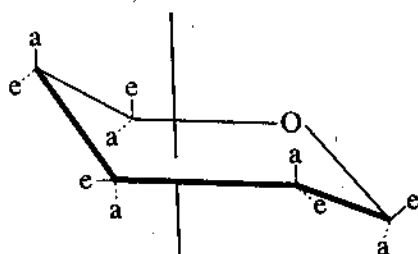
Dạng chuỗi mở theo Fisor (Fischer) và dạng vòng theo Hayvot (Haworth) : theo cách biểu diễn của Hayvot ; viết phân tử trên một mặt phẳng (kể cả oxi), các cạnh của vòng ở gần người quan sát được vẽ nét đậm, nhóm thế ở bên phải (trong cấu trúc Fisor) thì đặt dưới mặt phẳng của vòng do đó vẽ nhạt. Theo cách biểu diễn này, cacbon của vòng cũng không ghi trên hình.

Để đơn giản, nhiều khi người ta dùng mũi tên để biểu diễn H và OH : đầu mũi tên là OH. Ví dụ $\text{H}-\text{C}-\text{OH}$ biểu diễn là " $\rightarrow$ "

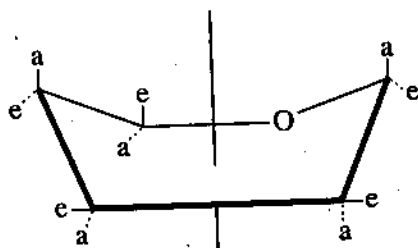
Khi tạo vòng, ở vị trí C-1 của glucos hoặc C-2 của fructoz có thêm 1 nhóm OH, gọi là OH glucosit, các cacbon này trở thành cacbon bất đối. Như vậy, khi tạo thành dạng vòng đã làm tăng thêm 1 cacbon bất đối trong phân tử, do đó có thêm 2 đồng phân mới là α và β (hình 28). Gọi là α nếu OH-glucosit ở phía dưới vòng (nghĩa là cùng phía với OH ở C-5 của hexoz này), gọi là β nếu OH-glucosit ở trên vòng (khác phía với OH ở C-5). Hai dạng α và β có góc quay cực riêng khác nhau. $[\alpha]_D^{20}$ của α -D-glucopiranoz là $+112,2^\circ$ còn của β -D-glucopiranoz là $+18,7^\circ$. Tuy nhiên khi hoà tan một trong 2 dạng vào nước, sau một thời gian ngắn, góc quay cực của dung dịch đều đạt đến $+52,7^\circ$ và sau đó không thay đổi nữa. Kết quả nghiên cứu cho thấy bảy giờ trong dung dịch có chứa 63% dạng β và 36% dạng α . Dạng chuỗi mở chỉ chiếm khoảng 1%. Như vậy khi hoà tan glucos vào dung dịch đã hình thành cân bằng giữa các dạng.

Monoxacarit trong phân tử polixacarit tồn tại ở dạng vòng.

Vòng piranoz 6 cạnh không phải là phẳng mà có dạng ghế hoặc dạng thuyền. Các nhóm thế được sắp xếp theo trục thẳng hoặc theo vị trí nằm ngang.



Dạng ghế



Dạng thuyền

a- (từ chữ axial) nhóm thế xếp theo chiều trục
e- (equatorial) nhóm thế xếp theo vị trí nằm ngang

3. Ý nghĩa của các monoxacarit trong tự nhiên

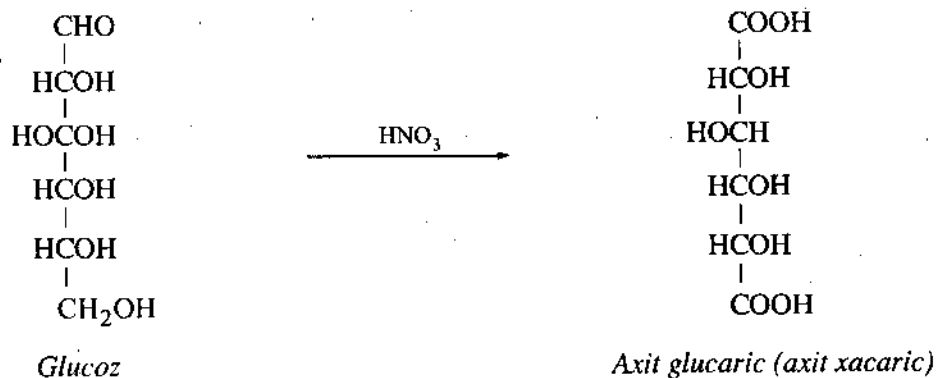
Các trioz phổ biến trong cơ thể sinh vật là sản phẩm trung gian của nhiều quá trình trao đổi chất.

Các tetroz và pentoz là sản phẩm trung gian của quá trình quang hợp. Các pentoz cũng được tạo thành trong một số quá trình trao đổi chất khác phổ biến ở sinh vật. Riboz, dezoxiriboz là thành phần cấu tạo của axit nucleic, các coenzim.

Trong số các hexoz, D-glucos phổ biến nhất trong cơ thể động vật cũng như thực vật. Glucos có nhiều trong quả nho chín nên được gọi là đường nho. D-glucos là thành phần cấu tạo của nhiều loại polixacarit quan trọng như tinh bột, xenluloz, glicogen. D-glucos cũng là thành phần cấu tạo của nhiều oligoxacarit phổ biến như đường, đường sữa, đường mạch nha v.v. D-glucos là

Đecacboxil hoá axit uronic của các hexoz sẽ nhận được các pentoz tương ứng. Ví dụ : loại cacboxil của axit glucuronic tạo thành xiloz.

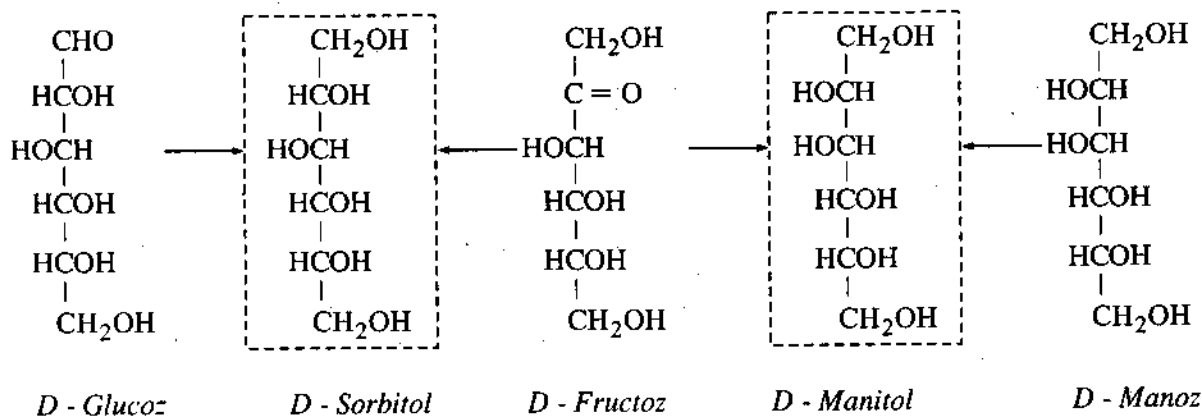
– Khi oxi hoá bằng HNO_3 đặc, cả 2 nhóm chức aldehyt và alcol bậc 1 của monoxacarit đều bị oxi hoá tạo thành axit có chứa 2 nhóm cacboxil gọi là axit xacaric.



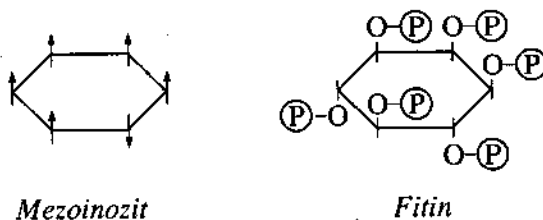
b) Dưới tác dụng của các chất khử, nhóm cacbonil của monoxacarit bị khử tạo thành các poliol tương ứng.

Để tiến hành phản ứng khử, có thể dùng dòng khí hiđro, có kim loại xúc tác (hỗn hợp Hg và Na). Khi bị khử, fructoz (xetoz) tạo thành 2 poliol đồng phân là sorbitol và manitol. Sorbitol cũng là sản phẩm của phản ứng khử glucoz.

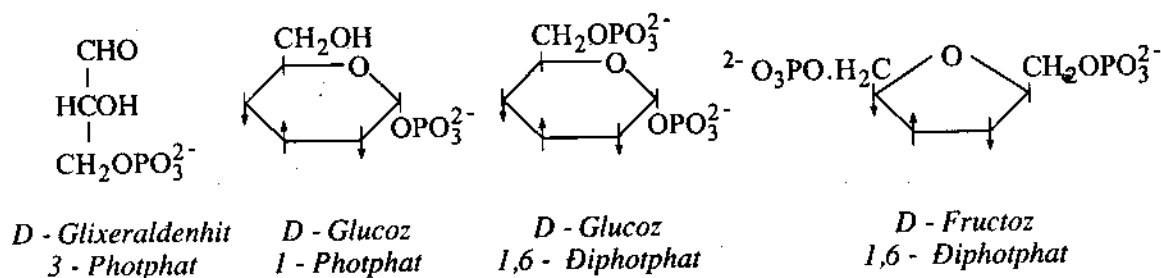
Manitol cũng nhận được khi khử manoz.



Trong cơ thể sinh vật, dưới tác dụng của enzym, glucoz có thể bị khử tạo thành poliol vòng gọi là inozit. Inozit như mezoinozit là yếu tố sinh trưởng của các mô thực vật nuôi cấy. Este photphoric của nó (fitin) là nguồn dự trữ photpho trong hạt.

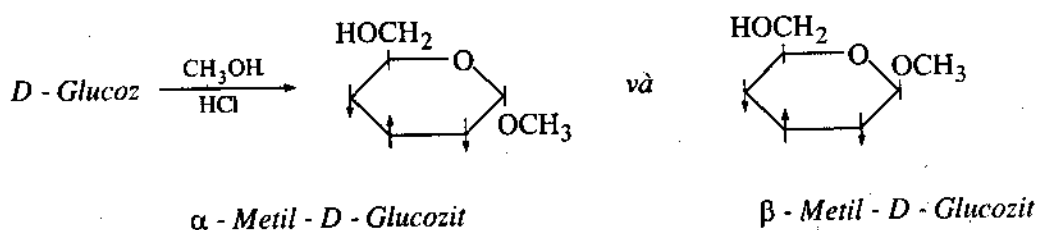


c) Phản ứng tạo thành este thường xảy ra đối với nhóm ancol bậc 1, OH glucosit của monoxacarit. Quan trọng nhất là phản ứng tạo thành este photphat của monoxacarit. Các este photphat của monoxacarit là những sản phẩm trung gian quan trọng của nhiều quá trình trao đổi chất trong cơ thể sinh vật. Ví dụ :

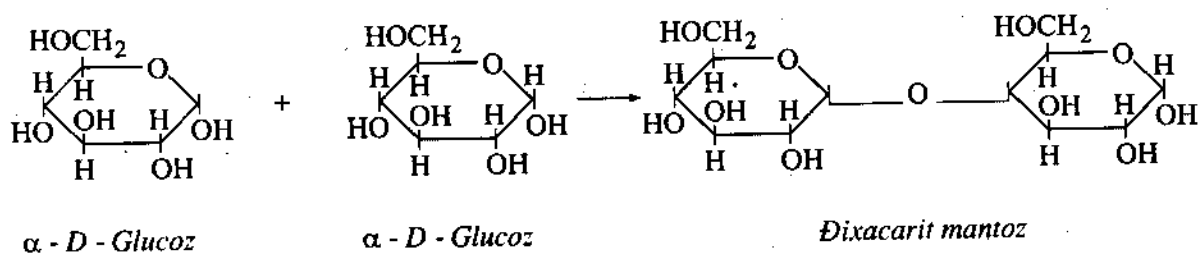


d) Phản ứng của nhóm hidroxil glucosit tạo thành các hợp chất glucosit

Nhóm hidroxil glucosit có thể phản ứng với rượu khan tạo thành ete tương ứng gọi là glucosit. Do đó glucosit được tạo thành có thể là α -glucosit hoặc β -glucosit. Ví dụ :



Trong phân tử glucosit, phần không phải xacarit gọi là *aglicon*. Liên kết giữa xacarit và aglicon gọi là *liên kết glucosit*. Liên kết glucosit cũng được tạo thành giữa các monoxacarit để tạo nên các di-, oligo- và polixacarit:



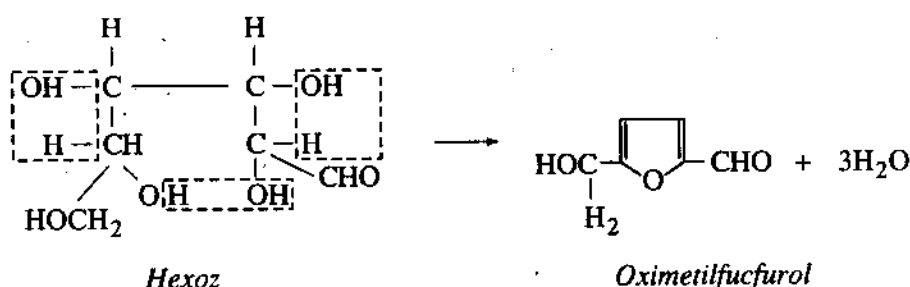
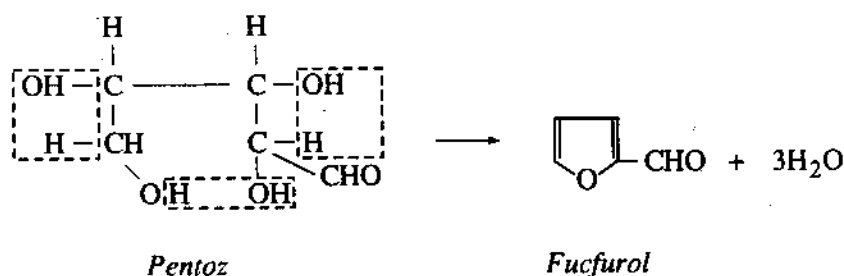
Có thể phân biệt các kiểu liên kết glucosit khác nhau :

- Liên kết O-glucosit ($\text{X} - \text{C} - \text{O} - \text{A}$) gốc aglicon (A) kết hợp với xacarit (X) qua O.
- S-glucosit ($\text{X} - \text{C} - \text{S} - \text{A}$), gốc aglicon được kết hợp qua S.
- N-glucosit (X) gốc aglicon được kết hợp qua N ($\text{X} - \text{C} - \text{N} - \text{A}$)
- C-glucosit : ($\text{X} - \text{C} - \text{C} - \text{A}$), cacbon của gốc aglicon kết hợp với cacbon của xacarit.

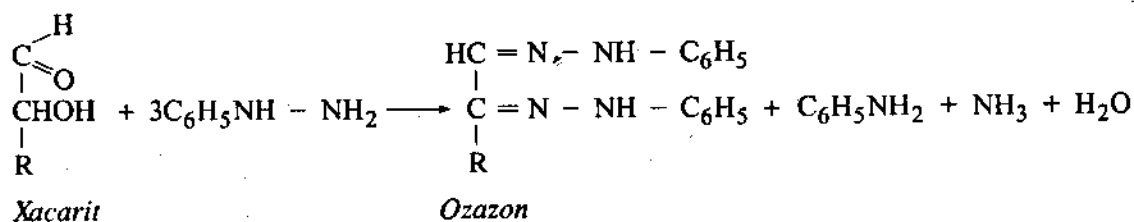
Liên kết glucosit không bền với axit, tương đối bền với kiềm. Dưới tác dụng của axit hoặc các enzym tương ứng, glucosit bị thủy phân tạo thành monoxacarit và aglicon.

Các glucosit thường có vị đắng, có mùi thơm đặc biệt, có tác dụng trợ tim.

d) *Tác dụng của axit.* Đun sôi các pentoz, hexoz với axit nồng độ cao (HCl 12% hoặc H₂SO₄ đặc), phân tử của chúng bị loại đi 3 phân tử H₂O, tạo thành *fucfurool* hoặc *oximetilfucfurool*. Các sản phẩm này có thể ngưng tụ với các hợp chất phenol như α -naphтол, timol, antron, tạo thành các hợp chất màu đặc trưng, các phản ứng này thường được sử dụng để định tính, định lượng các monoxacarit.



e) *Phản ứng với phenil hidrazin.* Trong những điều kiện xác định, 1 phân tử xacarit có thể phản ứng với 3 phân tử phenilhidrazin tạo thành *tinh thể ozazon*. Phản ứng có thể viết tóm tắt như sau :



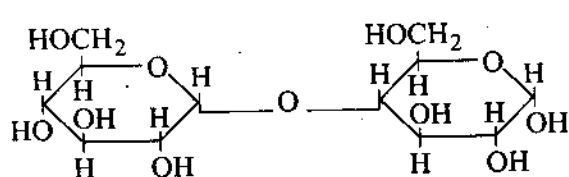
Phản ứng này xảy ra đối với các xacarit có tính khử. Các ozazon được tạo thành có thể khác nhau về hình dạng tinh thể, nhiệt độ nóng chảy. Vì vậy có thể căn cứ vào tính chất của ozazon để phân biệt, nhận biết các xacarit khác nhau. Tuy nhiên, theo công thức của ozazon, có thể thấy rằng các monoxacarit chỉ khác nhau ở C-1 và C-2 (như glucôz, fructôz, manôz) sẽ tạo thành cùng 1 loại ozazon.

II - OLIGOXACARIT

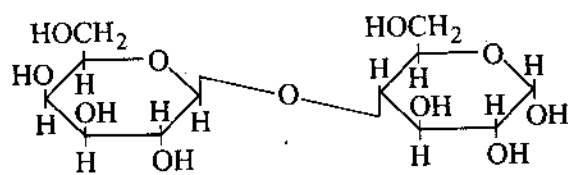
Theo định nghĩa, phân tử oligoxacarit bao gồm không quá 10 gốc monoxacarit. Các monoxacarit này kết hợp với nhau qua liên kết *O-glucozit*. Oligoxacarit phổ biến nhất là đixacarit.

1. Đixacarit

Do 2 gốc monoxacarit kết hợp với nhau qua liên kết *O-glucozit*, công thức chung của đixacarit là $C_{12}H_{22}O_{11}$. Tùy theo cách kết hợp giữa 2 monoxacarit, đixacarit có thể còn hoặc không có tính khử. Các đixacarit phổ biến là mantoz, lactoz và xacaro. .



α - Mantoz
4 - (α - D - Glucozido) - D - Glucoz



α - Lactoz
4 - (β - D - Galactozido) - D - Glucoz

Mantoz (còn gọi là đường mạch nha), được cấu tạo từ 2 phân tử α -D-glucos. Liên kết glucozit được tạo thành giữa một OH glucozit với OH ở C-4 của gốc glucos thứ hai. Do đó phân tử mantoz vẫn còn chứa 1 nhóm OH glucozit tự do nên vẫn giữ được tính chất khử nhưng chỉ bằng một nửa của glucos.

Mantoz là đường chủ yếu của mạch nha. Từ trước người ta vẫn cho rằng mantoz được tạo thành khi thủy phân tinh bột. Tuy nhiên trong thời gian gần đây đã xác nhận rằng mantoz là thành phần thường trực (mặc dầu với lượng không nhiều lắm) trong nhiều cơ quan của thực vật bậc cao, đặc biệt là rễ cây.

Dưới tác dụng của enzym (mantaz), hoặc axit ở nhiệt độ cao, mantoz bị thủy phân thành 2 gốc α -D-glucos.

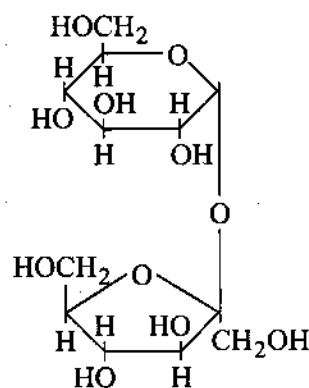
Lactoz là đixacarit có chứa 1 gốc β -D-galactos và 1 gốc α -D-glucos. Hai gốc này kết hợp với nhau qua liên kết glucozit được tạo thành giữa OH glucozit của galactos với OH ở C-4 của glucos. Vì vậy lactoz vẫn còn tính khử.

Lactoz còn gọi là đường sữa vì trước đây người ta chỉ tìm thấy nó trong sữa người và động vật (5-8%) và hầu như không tìm thấy một lượng nào đáng kể ở thực vật hoặc các cơ quan khác của động vật.

Tuy nhiên, gần đây đã phát hiện được lactoz trong hoa của *Forsythia suspensa*. Hàm lượng lactoz tự do trong hoa này chiếm khoảng 25% chất khô. Trong một số thực vật khác cũng tìm thấy lactoz ở dạng liên kết.

Xacaro. được cấu tạo từ α -D-glucos và β -D-fructos. Hai monoxacarit này kết hợp với nhau qua liên kết glucozit được tạo thành giữa 2 nhóm OH glucozit của chúng. Vì vậy, khác với

mantoz và lactoz, xacaroz không có tính khử. Xacaroz hoà tan tốt trong nước, ở 0°C, độ hoà tan là 62%. Xacaroz là loại đường rất phổ biến trong tự nhiên. Đặc biệt, trong mía, củ cải đường có khoảng 20–25% xacaroz, vì vậy chúng được sử dụng làm nguyên liệu để sản xuất đường. Gần đây, cũng đã phát hiện được một số thực vật khác có hàm lượng xacaroz khá cao. Hiện nay người ta cũng đã xác định được rằng xacaroz tồn tại với lượng không lớn lắm trong tất cả các mô có chứa clorofil, và thực hiện chức năng vận chuyển trong các mô này. Xacaroz có vai trò quan trọng đối với dinh dưỡng của người.



Xacaroz

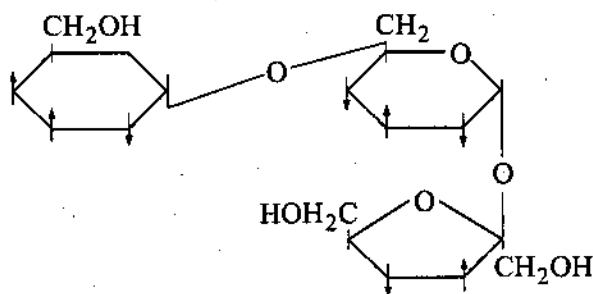
2 - (α - D - Glucozido) - β - D - Fructozit

Xacaroz dễ bị thủy phân hơn các đisacarit khác. Dưới tác dụng của enzym (xacaraz) hoặc axit, xacaroz bị thủy phân tạo thành glucoz và fructoz, góc quay cực riêng của dung dịch thay đổi từ phải sang trái. Đó là vì $[\alpha]_D^{20}$ của xacaroz là +66°, còn fructoz có góc quay trái lớn hơn nhiều so với glucoz, ($[\alpha]_D^{20}$ của fructoz là -92,4°, và của glucoz là +52,5°). Hỗn hợp glucoz và fructoz được tạo thành khi thủy phân xacaroz gọi là đường nghịch đảo.

Độ ngọt của các mono- và đisacarit. Hầu hết các monoxacarit và đisacarit đều có vị ngọt. Tuy nhiên độ ngọt của chúng không giống nhau, có thể sắp xếp các mono- và đisacarit theo thứ tự độ ngọt giảm dần như sau : fructoz, đường nghịch đảo, xacaroz, glucoz, sorbit và glixerin, xiloz, mantoz và ramnoz, galactoz rồi đến lactoz.

2. Trisacarit

Trisacarit là oligoxacarit có chứa 3 gốc monoxacarit. Trisacarit phổ biến và được biết rõ hơn cả là rafinoz. Rafinoz được cấu tạo từ 3 monoxacarit là galactoz, glucoz và fructoz. Các nhóm OH glucozit của chúng đều tham gia tạo thành liên kết glucozit, vì vậy rafinoz không có tính khử.



Rafinoz

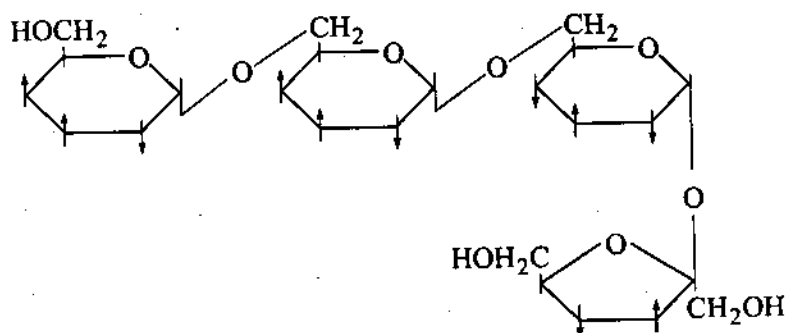
α - D - Galactozido (1-6) α - D - Glucozido (1-2) β - D - Fructozit

Rafinoz lần đầu tiên tách được từ rỉ đường thu được khi sản xuất đường từ củ cải đường. Về sau người ta cũng đã tách được rafinoz từ các thực vật khác như : hạt bông, lúa mì nảy mầm ; lá, hạt và quả của một số cây khác.

Rafinoz tinh thể không có vị ngọt. Rafinoz không bền với nhiệt, khi hoà tan trong nước, ở nhiệt độ không cao, dưới tác dụng của axit dễ dàng bị thủy phân giải phóng gốc fructoz. Dưới tác dụng của các enzym tương ứng, rafinoz bị thủy phân hoàn toàn tạo thành các monoxacarit.

Các oligoxacarit khác :

– *Stakioz* là một tetraxacarit được cấu tạo từ 4 gốc monoxacarit, trong đó có 2 gốc α -D galactoz, 1 gốc α -D glucoz và 1 gốc β -D glucoz. Stakioz không có tính khử vì tất cả các nhóm OH glucozit đều tham gia tạo thành liên kết glucozit.



Stakioz

α -D-Galactozido (1 $\rightarrow$ 6) - α -D-Galactozido (1 $\rightarrow$ 6) - α -D-Glucozido (1-2) - β -D-Fructozit

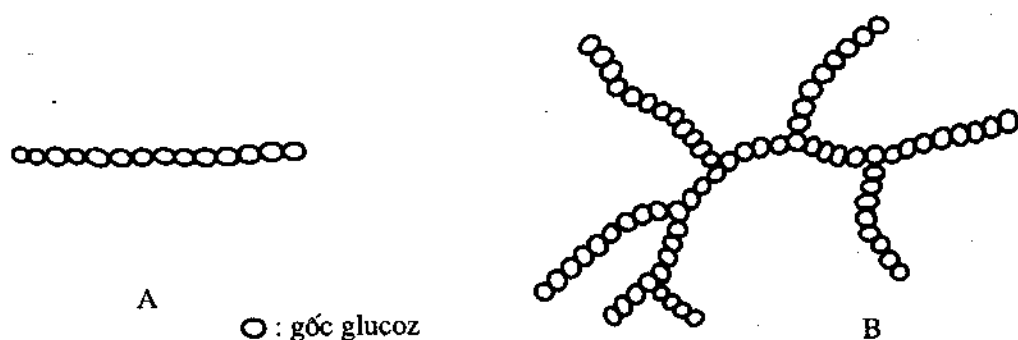
Stakioz phổ biến ở các cây họ đậu và cũng tìm thấy trong một số cây khác. Nó thường tập trung trong hạt, củ, rễ.

Ngoài các oligoxacarit kể trên, còn có các oligoxacarit được tạo thành do pentoz kết hợp với hexoz.

3. Polixacarit

Polixacarit do nhiều gốc monoxacarit kết hợp với nhau, có khối lượng phân tử lớn, do đó polixacarit không có tính khử. Các monoxacarit trong phân tử polixacarit có thể thuộc một loại hay nhiều loại khác nhau. Trong một số trường hợp các gốc monoxacarit có chứa các nhóm thế khác như gốc axit sunfuric, axit photphoric, axit axetic v.v.. Các liên kết glucozit trong phân tử polixacarit có thể là α - hoặc β -glucozit. Tên gọi polixacarit dựa theo tên của monoxacarit cấu tạo nên nó nhưng đổi đuôi oz thành đuôi “-an”. Ví dụ D-glucan, D-fructan, D-galactan, D-galactoglucan v.v. Sau đây sẽ xét chi tiết hơn một số polixacarit phổ biến và quan trọng.

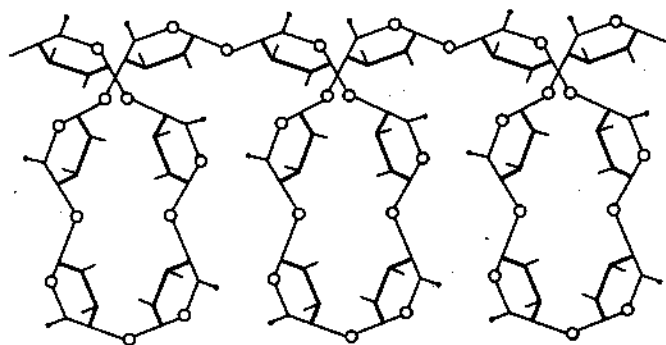
a) *Tinh bột* là polixacarit dự trữ thực vật phổ biến nhất, là chất dinh dưỡng chủ yếu của người. Tinh bột được tích lũy chủ yếu trong các loại hạt, đặc biệt là các hạt hoà thảo và các loại củ. Trong tế bào, tinh bột tồn tại ở dạng các hạt có kích thước bé. Đại phân tử tinh bột bao gồm 2 cấu tử là *amiloza* và *amilopectin*. Cả 2 cấu tử này đều được cấu tạo từ α -D-glucoz, các gốc glucoz trong chuỗi kết hợp với nhau qua liên kết α -1,4 glucozit. Amilopectin có cấu trúc phân nhánh, ở điểm phân nhánh là liên kết 1,6 glucozit (hình 29).



Hình 29 - Sơ đồ minh hoạ cấu trúc của amiloz (A) và amilopectin (B).

Tỉ lệ % giữa amiloz và amilopectin thay đổi tùy theo loại tinh bột.

– *Amiloz* có cấu tạo dạng chuỗi không phân nhánh, dài khoảng gần 300 – 1000 gốc glucoz, xoắn theo kiểu lò xo (hình 30), mỗi xoắn có 6 gốc glucoz. Cấu trúc xoắn được giữ vững nhờ liên kết hidro được tạo thành giữa các nhóm OH tự do. Bên trong xoắn có thể kết hợp với các nguyên tử khác, ví dụ amiloz tạo thành màu xanh khi kết hợp với iot. Nếu đun nóng, liên kết hidro bị cắt đứt, chuỗi amiloz duỗi thẳng do đó iot bị tách ra khỏi amiloz, dung dịch mất màu xanh.



Hình 30 - Sơ đồ cấu trúc xoắn lò xo của amiloz.

Amiloz thường được phân bố ở phần bên trong của hạt tinh bột. Dung dịch amiloz có độ nhớt thấp hơn dung dịch amilopectin. Amiloz bị kết tủa bởi alcol butylic.

– *Amilopectin* có chứa cả liên kết 1 → 4 và liên kết 1 → 6 glucozit. Cấu trúc phân tử của nó bao gồm 1 nhánh trung tâm (chứa liên kết 1 → 4), từ nhánh này phát ra các nhánh phụ (hình 29) có chiều dài khoảng vài chục gốc glucoz. Khối lượng phân tử của amilopectin vào khoảng 500000 – 1 triệu. Amilopectin được phân bố ở mặt ngoài hạt tinh bột. Dung dịch amilopectin có độ nhớt cao. Khi đun nóng làm thay đổi sâu sắc và không thuận nghịch cấu trúc phân tử amilopectin gây ra trạng thái *hồ hoá tinh bột*.

Tinh bột có thể bị thủy phân dưới tác dụng của enzym (amilaz) hoặc axit tạo thành các sản phẩm có khối lượng phân tử thấp hơn gọi là *dextrin*. Các dextrin này có thể tiếp tục bị thủy phân hoàn toàn tạo thành các gốc glucoz. Như vậy, sản phẩm thủy phân hoàn toàn tinh bột là glucoz. Tuy nhiên ở những điều kiện xác định, dưới tác dụng của enzym, dioxacarit mantoz lại là thành phần chủ yếu trong sản phẩm thủy phân tinh bột.

Tùy theo độ lớn của phân tử, các dextrin có thể không cho màu với iot (mantodextrin) hoặc cho màu đỏ nâu (eritrodextrin), màu tím với iot (amilodextrin).

Phitoglicogen cũng được cấu tạo từ các α -D-glucopiranoz, có cấu trúc tương tự amilopectin, glicogen nhưng phân nhánh nhiều hơn. Đến nay mới tìm thấy phitoglicogen trong một số ít thực vật, như ngô đường (*Zea mays var saccharata*).

b) *Dextran* là polixacarit phân tử lớn được tổng hợp nhờ một số vi sinh vật. Trong hoá sinh, các dextran thường được gọi là gel sephadex. Dextran được cấu tạo từ các α -D-glucopiranoz, chủ yếu là các liên kết α -1 $\rightarrow$ 6-glucosit. Khối lượng phân tử của nó có thể đạt đến vài triệu. Dextran có thể dùng để thay thế huyết tương. Sunphat dextran chống đông máu cũng có thể dùng thay heparin khi truyền máu.

Vi khuẩn sử dụng xacaroz để tổng hợp dextran. Dextran được tạo thành do vi khuẩn *Leuconoxoc mesenteroides*, chính quá trình này đã gây tổn thất lớn trong công nghiệp sản xuất đường.

c) *Xenluloz* là polixacarit cấu trúc phổ biến rộng rãi trong thực vật, là thành phần cấu tạo chủ yếu của thành tế bào thực vật. Xenluloz là hợp chất hữu cơ nhiều nhất trong sinh quyển, hàng năm thực vật tổng hợp được khoảng 10^{11} tấn. Xenluloz chứa khoảng một nửa toàn bộ cacbon hữu cơ của sinh quyển. Xenluloz là glucan không phân nhánh, trong đó các gốc glucos kết hợp với nhau qua liên kết β -1 $\rightarrow$ 4-glucosit. Xenluloz có cấu trúc rất bền, khó bị thủy phân. Người và động vật không có enzym phân giải xenluloz (xenlulaz) không tiêu hoá được xenluloz vì vậy xenluloz không có giá trị dinh dưỡng. Tuy nhiên, một số nghiên cứu cho thấy xenluloz có thể có vai trò điều hoà hoạt động của hệ thống tiêu hoá. Ở động vật nhai lại, trong ống tiêu hoá của chúng có chứa các vi khuẩn sinh enzym phân giải xenluloz. Vì vậy chúng có thể sử dụng xenluloz làm thức ăn.

Xenluloz chứa đến 8000 gốc monoxacarit. Các chuỗi xenluloz này xếp đối song song tạo thành các sợi có đường kính khoảng 3,5 nm. Mỗi chuỗi có nhiều nhóm OH tự do, vì vậy giữa các sợi ở cạnh nhau kết hợp với nhau nhờ các liên kết hiđro được tạo thành giữa các nhóm OH của chúng. Các sợi lại kết hợp với nhau tạo thành bó gọi là *mixen* có đường kính 20nm, giữa các sợi trong mixen có những khoảng trống lớn. Khi tế bào còn non, những khoảng này chứa đầy nước, ở tế bào già linhlin và hemixenluloz choán đầy các khoang này.

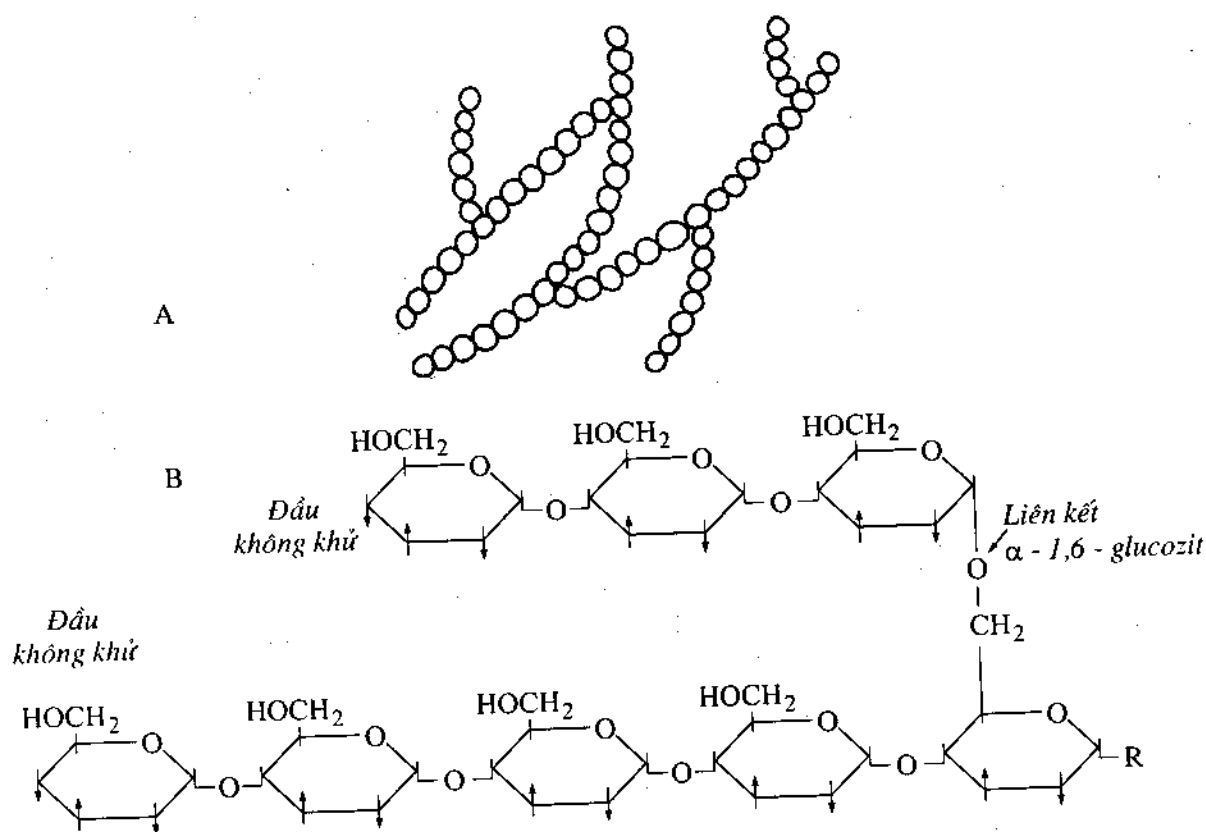
d) *Glicogen* cũng thuộc glucan, là polixacarit dự trữ ở động vật và người. Phân tử glicogen có cấu tạo phân nhánh tương tự như amilopectin nhưng mức độ phân nhánh nhiều hơn. Phần lớn các gốc glucos trong phân tử kết hợp với nhau qua liên kết α -1,4-glucosit, liên kết α -1,6-glucosit ở chỗ phân nhánh của phân tử (hình 31) glicogen có thể bị thủy phân dưới tác dụng của enzym hoặc axit. Khi thủy phân hoàn toàn glicogen nhận được α -D-glucos.

Glicogen hoà tan trong nước nóng, cho màu đỏ tím hoặc đỏ nâu với iot.

Ở động vật và người, glicogen tập trung chủ yếu trong gan. Tuy nhiên, hàm lượng của nó phụ thuộc nhiều vào mức độ dinh dưỡng. Khi bị đói, hàm lượng glicogen giảm nhanh chóng.

Ngoài các polixacarit kể trên, còn có các polixacarit được cấu tạo từ các monoxacarit khác nhau hoặc các dẫn xuất của monoxacarit.

– Hemixenluloz : polixacarit thực vật, có nhiều trong vỏ cứng của hạt, quả như trấu, rơm rạ, bẹ ngô v.v. Hemixenluloz được cấu tạo từ manoz, galactoz, arabinoz, xiloz.



Hình 31 - Sơ đồ cấu trúc phân tử glicogen

A - Sơ đồ cấu trúc phân nhánh. Mỗi vòng tròn là gốc D - glucos.

B - Cấu trúc 2 nhánh bên ngoài của phân tử glicogen.

- Aga-aga : có trong một số rong biển (rau câu), được cấu tạo từ D-galactoz, 3,6 anhidro-L-galactoz, một số gốc ở C-6 có chứa nhóm thế sunfonic. Aga-aga được dùng nhiều trong công nghiệp thực phẩm, làm môi trường nuôi cấy vi sinh vật.

- Pectin : có nhiều trong quả, củ, thân, đặc biệt trong cùi trắng của quả bưởi, cam, chanh. Khi có axit, đường nó có thể tạo thành keo, vì vậy được sử dụng nhiều trong sản xuất mứt, kẹo. Pectin được cấu tạo từ axit galacturonic, một số gốc được metil hoá ở C-6.

- Kitin : có trong phần vỏ cứng của côn trùng, giáp xác, có vai trò bảo vệ. Kitin được cấu tạo từ N-axetil- β - D-glucosamin. Từ kitin có thể chuyển thành kitodan, là chất có nhiều ứng dụng trong nông nghiệp (tăng năng suất cây trồng, kích thích nảy mầm, ra rễ v.v.), y học (làm thuốc diệt nấm kí sinh ở người và động vật, chữa bệnh cao huyết áp v.v.) và trong công nghiệp (làm chất bọc lót cho các hệ thống máy móc tinh vi được an toàn, tăng độ bền của gỗ, phim ảnh v.v.).

Chương IV

Lipit

Tên gọi “lipit” xuất phát từ chữ Hi Lạp “lipos” có nghĩa là chất béo. Lipit là những hợp chất hữu cơ có trong tế bào sống, không hoà tan trong nước, nhưng tan trong các dung môi hữu cơ không phân cực như : ete, clorofooc, benzen, ete dầu hỏa, toluen v.v.

Lipit là thành phần cấu tạo quan trọng của các màng sinh học, là nguồn nhiên liệu dự trữ quan trọng cung cấp năng lượng cho cơ thể.

Lipit thường được chia thành 2 nhóm lớn :

Lipit đơn giản : là este của alcol và axit béo

Thuộc nhóm này có : – triaxilglixerol (dầu thực vật, mỡ)

– Sáp

– Sterit

Lipit phức tạp : trong phân tử của chúng ngoài alcol và axit béo còn có các thành phần khác như các gốc axit photphoric, colin, xacarit.

Nhóm này được chia thành các nhóm nhỏ tùy theo bản chất của cấu tử alcol hoặc cấu tử khác :

– *Glixerophotpholipit* : bao gồm glixerol, axit béo, axit photphoric. Gốc axit photphoric có thể bị este hoá với 1 aminalcol như : colin tạo thành *loxitin* hoặc colamin (etanolamin) tạo thành *xephalin*.

– *Glixeroglicolipit* : ngoài glixerol và axit béo còn có chứa mono–hoặc oligoxacarit. Xacarit kết hợp với OH của glixerol qua liên kết glucozit.

– *Sphingophotpholipit* : được cấu tạo từ alcol sphingozin, axit béo, axit photphoric.

– *Sphingoglicolipit* : được cấu tạo từ sphingozin, axit béo và xacarit. Thuộc nhóm này có xerebrozit trong não, trong mô thực vật. Xerebrozit của não có cấu tử xacarit là galactoz hoặc sunphogalactoz.

Sau đây sẽ trình bày chi tiết hơn về lipit đơn giản và một số đại diện của lipit phức tạp.

I - LIPIT ĐƠN GIẢN

A - TRIAXILGLIXEROL

Triaxilglixerol (còn gọi là mỡ trung tính hoặc triglixerit) là chất béo dự trữ quan trọng ở động vật (mỡ) và thực vật (dầu). Dầu thực vật có nhiều trong hạt và quả các cây có dầu như: lạc, dừa, thầu dầu, vừng, quả mỡ v.v. Hàm lượng dầu (tính theo phần trăm khối lượng khô không khí) của nhân hạt thầu dầu vào khoảng 65 – 70% ; hạt vừng : 48 – 63% ; lạc : 40 – 60% ; cùi dừa già là 42%, và của hạt đậu tương là 18%. Hàm lượng dầu thay đổi tùy theo giống, chế độ bón phân, giai đoạn sinh trưởng phát triển v.v.

Ở động vật, mỡ thường tập trung trong các mô mỡ. Thành phần mô mỡ động vật gồm 70 – 97% là mỡ, chỉ có 0,5 – 7,2% protein và 2 – 21% là nước ; các chất khác chỉ chiếm một tỉ lệ rất thấp. Tỉ lệ này có thể thay đổi tùy giống, tuổi, mức độ béo, vị trí tích lũy mỡ. Thông thường mỡ được tích lũy ở các tế bào dưới da, gần thận, trong hốc bụng, xung quanh ruột non v.v. Ngoài ra trong tủy sống, não, hàm lượng chất béo cũng khá cao, có thể đạt từ 14 đến hơn 20% khối lượng tươi.

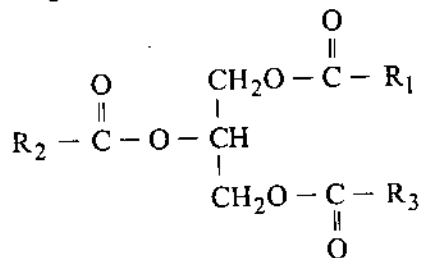
Các chất béo dự trữ có vai trò quan trọng đối với cơ thể. Nó là nguồn dự trữ năng lượng của cơ thể. Oxi hoá hoàn toàn 1g mỡ giải phóng 9,3 kcal gấp hơn 2 lần năng lượng nhận được khi oxi hoá một gam protein hoặc glucôz. Ngoài việc tạo thành các phân tử ATP dùng cho các quá trình trao đổi chất, oxi hoá triaxilglixerol cũng tạo nhiệt cho cơ thể động vật máu nóng.

– Bảo vệ các nội quan của động vật tránh khỏi tác dụng của các chấn động mạnh, lớp tế bào mỡ dưới da có tác dụng cách nhiệt.

– Bảo đảm sự vận chuyển, hấp thụ các chất hoà tan trong chất béo.

1. Cấu tạo hoá học

Triaxilglixerol là các este không tích điện của glixerol, có công thức cấu tạo chung như sau :

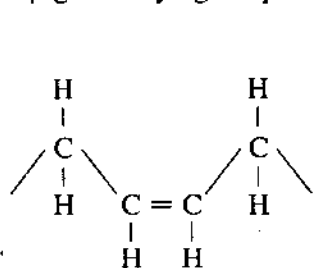


$\text{R}_1, \text{R}_2, \text{R}_3$ là mạch cacbon của các axit béo tương ứng. Các axit béo này có thể giống hoặc khác nhau. Trong tự nhiên thường gặp các loại triglixerit hỗn hợp (có chứa 3 loại axit béo khác nhau trong phân tử).

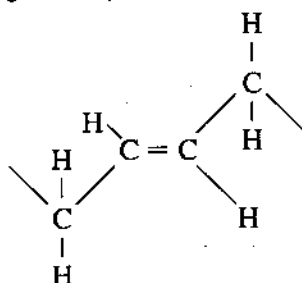
Các nguyên tử cacbon của glixerol được đánh số 1, 2, 3 theo thứ tự từ trên xuống dưới. Các liên kết este ở C-1 và C-3 cũng gọi là liên kết este α (hoặc α và α') còn liên kết ở C-2 gọi là liên kết este β .

Khi thủy phân mỡ trung tính thường nhận được các axit béo có số nguyên tử cacbon chẵn (từ 14–22 cacbon), thường gặp nhất là các axit béo có 16 hoặc 18 cacbon. Các axit béo này có thể là no hoặc không no. Mạch cacbon của axit béo no thường có dạng chữ chi kéo thành chuỗi dài ;

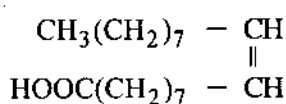
còn các axit béo không no dạng cis, có mạch cacbon bị uốn cong 30° (hình 32) và dạng trans lại có dạng chuỗi mạch cacbon không khác mấy so với axit béo no. Trong tự nhiên các axit béo không no thường gặp ở dạng cis. Có giả thiết cho rằng sự uốn cong mạch cacbon của các axit béo không no dạng cis có ý nghĩa quan trọng đối với màng sinh học.



Dạng cis

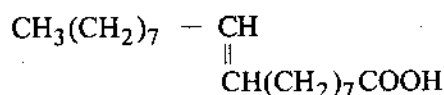


Dạng trans



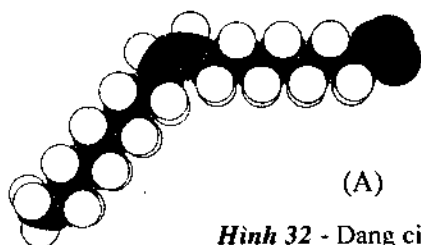
Dạng cis
Axit oleic

(a)



Dạng trans
Axit elaidic

(b)



(A)



(B)

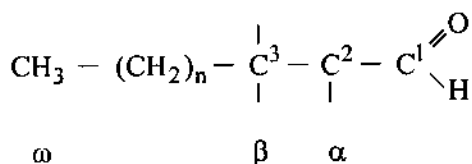
Hình 32 - Dạng cis và trans của nối đôi trong phân tử axit béo (a, b) và dạng chung của mạch cacbon của axit béo.

A - Mạch cacbon uốn cong của axit oleic (dạng cis)
B - Mạch cacbon thẳng của axit béo no.

Tên hệ thống của axit béo xuất phát từ tên hidrocarbon gốc của chúng thêm đuôi *oic*. Ví dụ : axit béo no có 18 cacbon gọi là axit octadecanoic vì hidrocarbon 18C có tên là octadecan. Nếu axit béo 18C có 1 nối đôi thì gọi là octadexenoic ; 2 nối đôi sẽ là octadecadienoic ; và nếu có 3 nối đôi gọi là octadecatrienoic.

Kí hiệu số lượng nối đôi trong phân tử của các axit trên theo thứ tự tương ứng là 18 : 0 (không có nối đôi) ; 18 : 1 (1 nối đôi) ; 18 : 2 và 18 : 3.

Đánh số thứ tự các nguyên tử cacbon trong phân tử axit béo bắt đầu từ nhóm cacboxil (số 1). Cacbon thứ 2 và thứ 3 thường kí hiệu là α và β . Còn C của nhóm metil ở cuối mạch gọi là cacbon ω (cacbon omega).



Để chỉ vị trí nối đôi dùng kí hiệu Δ và ghi số ở trên.

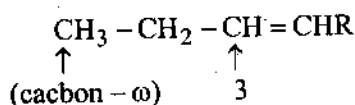
Ví dụ : cis - Δ^9 có nghĩa là nối đôi ở dạng cis giữa C-9 và C-10 ; trans - Δ^{11} có nghĩa là nối đôi ở dạng trans giữa C-11 và C-12. Các nối đôi trong phân tử axit béo không no thường cách nhau ít nhất một nhóm metilen (bảng 12).

Bảng 12

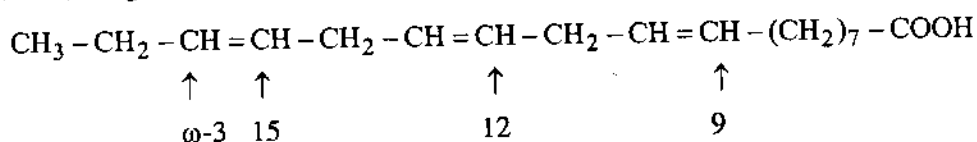
CÁC AXIT BÉO THƯỜNG GẶP TRONG TỰ NHIÊN

Axit		Số cacbon	Số nối đôi	Công thức	Ghi chú
Tên thường dùng	Tên hệ thống				
Lorat	n.Đodecanoat	12	0	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{COO}^-$	Có ở cây nguyệt quế.
Miristat	n.Tetradecanoat	14	0	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{COO}^-$	Có ở quả hồ đào, cây sim đại.
Palmitat	n.Hexadecanoat	16	0	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COO}^-$	Phổ biến trong mỡ động vật, dầu thực vật.
Stearat	n.Octadecanoat	18	0	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COO}^-$	
Arachidat	n.Aycosanoat	20	0	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COO}^-$	Hạt lạc
Palmitoleat	cis- Δ^9 -Hexadexenoat	16	1	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COO}^-$	Phổ biến trong mỡ động vật, dầu thực vật.
Oleat	cis- Δ^9 Octadexenoat	18	1	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COO}^-$	
Linoleat	cis,cis- Δ^9,Δ^{12} Octadecadienoat	18	2	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4(\text{CH}=\text{CHCH}_2)_2(\text{CH}_2)_6\text{COO}^-$	Mỡ động vật, dầu thực vật.
Linolenat	cis($\Delta^9, \Delta^{12}, \Delta^{15}$) Octadecatrienoat	18	3	$\text{CH}_3\text{CH}_2(\text{CH}=\text{CHCH}_2)_3(\text{CH}_2)_6\text{COO}^-$	
Arachidonat	cis($\Delta^5, \Delta^8, \Delta^{11}, \Delta^{14}$) Aycaxotetraenoat	20	4	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4(\text{CH}=\text{CHCH}_2)_4(\text{CH}_2)_2\text{COO}^-$	Hạt lạc.

Tuy nhiên, vị trí của nối đôi cũng có thể được đánh số từ nguyên tử cacbon omega, ví dụ của axit béo omega - 3 có công thức chung như sau :



Theo cách này, axit linolenic là một axit béo omega - 3, linolenat ($\omega - 3$), viết tắt là 18 : 3 cis $\Delta^9, \Delta^{12}, \Delta^{15}$, công thức như sau :

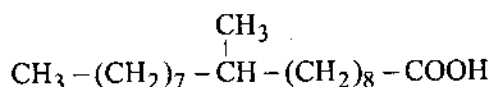


Các axit béo omega-3 có nhiều trong cá, dầu cá, có tác dụng làm giảm cholesterol và triaxilglixerol trong huyết thanh. Vì vậy các nhà dinh dưỡng học khuyến cáo nên dùng cá thay thế cho các loại thịt màu đỏ trong thức ăn.

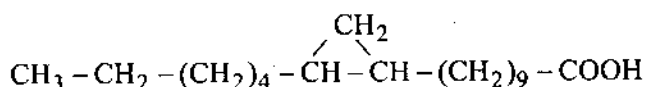
Axit linoleic và linolenic là các "axit béo cần thiết" của động vật có vú, "cần thiết" có nghĩa là phải đưa từ ngoài vào (qua thức ăn) vì cơ thể không tự tổng hợp được.

Mặc dù phần lớn các axit béo tự nhiên có mạch cacbon thẳng, nhưng cũng có một số axit béo phân nhánh hoặc có vòng. Ví dụ :

– Axit tuberculostearic (9-metilheptadecanoic)

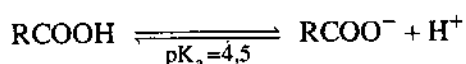


– Axit lactobacilis (axit lactobacilic = ω - (2 hexylcyclopropyldecanoic)



Tính chất của các axit béo

Các axit béo là những axit yếu, phân li như sau :



Ở điều kiện pH sinh lí, các axit này tồn tại ở dạng anion (RCOO^- : đầu cacboxilat), do đó có các tên gọi tương ứng như palmitat, stearat v.v. Phân tử axit béo có một đầu ưa nước (đầu cacboxilat) và một đầu rất kỵ nước (đầu cacbon omega), khi cho axit béo vào nước, phân tử được định hướng rõ ràng : đầu ưa nước quay về phía có nước, còn đầu kỵ nước quay ra ngoài.

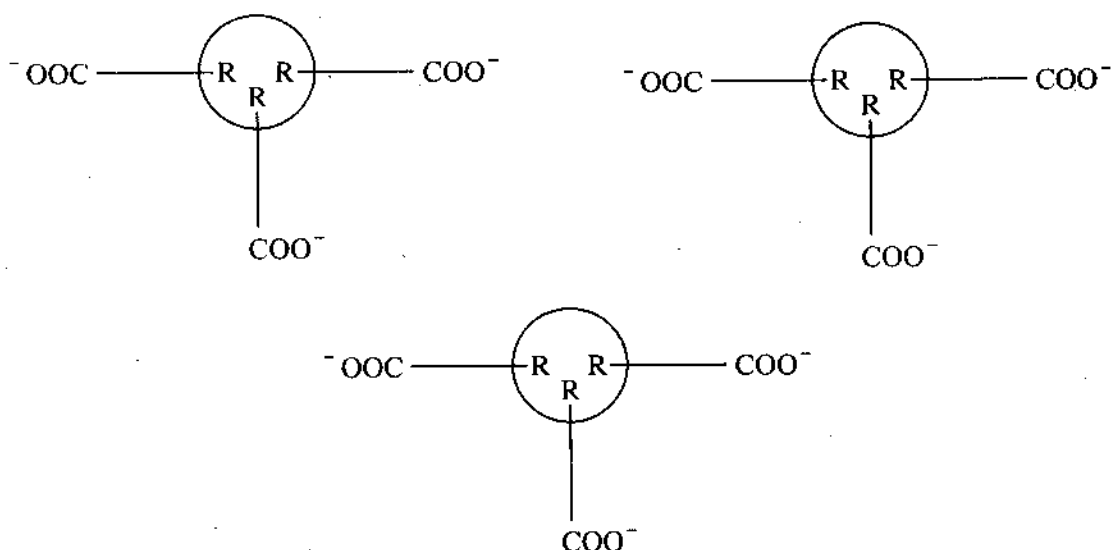
Trong tế bào sống, các axit béo thường không tồn tại ở dạng tự do, mà hầu hết ở dạng kết hợp trong các lipit khác nhau như : triaxilglixerol (dầu, mỡ), sáp, sterit và các lipit phức tạp.

2. Tính chất

Chất béo có tỉ trọng bé hơn nước, vào khoảng 0,866–0,973 (ở 15°C). Chất béo không tan trong nước, khi trộn lẫn với nước tách thành 2 lớp. Tuy nhiên, ở những điều kiện nhất định, dưới tác dụng của một số chất nó có thể tạo thành nhũ tương bền. Các chất có tác dụng này gọi là chất tạo nhũ tương. Chúng có bản chất rất khác nhau, có thể là protein, muối của axit mật, xà phòng và các chất hoạt động bề mặt khác.

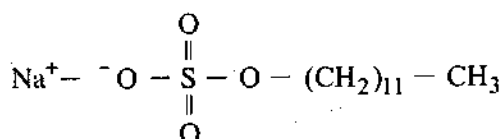
Nói chung, các chất tạo nhũ tương thường là những chất khi hoà vào nước tạo thành dung dịch keo và có hoạt động bề mặt lớn. Do đó chúng làm giảm sức căng bề mặt làm giảm độ bền của các giọt dầu, mỡ. Kết quả làm cho các giọt chất béo có khuynh hướng phân thành các giọt nhỏ hơn, tạo điều kiện để tạo thành nhũ tương bền. Có thể lấy ví dụ cụ thể về cơ chế nhũ tương hoá chất béo dưới tác dụng của xà phòng. Xà phòng là muối kali hoặc natri của các axit béo bậc cao. Trong phân tử của xà phòng có chứa đồng thời các nhóm ưa nước và các nhóm kỵ nước. Khi cho xà phòng vào nhũ tương mỡ không bền, các phân tử xà phòng phân cực được hấp thụ trên bề mặt giọt mỡ, tạo thành một lớp mỏng trên giọt mỡ, nhóm ưa nước của xà phòng quay ra ngoài tiếp xúc với nước (hình 33). Do các phân tử xà phòng bao quanh giọt mỡ như vậy nên các giọt mỡ không kết tụ với nhau để tạo thành các giọt lớn hơn được, nghĩa là tạo thành nhũ tương bền.

Khi dùng nước "cứng" (có nồng độ các ion Ca^{2+} và Mg^{2+} cao), xà phòng chuyển thành các muối canxi hoặc muối magiê không hoà tan, có cặn trắng, mất tác dụng tạo nhũ tương bền, không có tác dụng tẩy sạch.



Hình 33 - Sơ đồ minh họa tương tác giữa các giọt glixerit với các phân tử xà phòng.

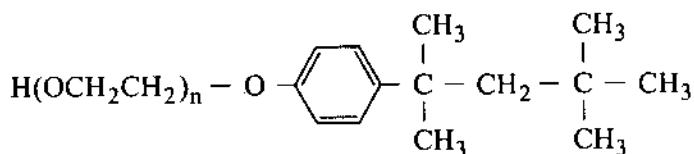
Các chất tẩy tổng hợp (synthetic detergent) khắc phục được điểm yếu này. Ví dụ natri dodexil sunphat (sodium dodecyl sulfate, viết tắt là SDS), là chất tẩy thuộc loại anion (anionic detergent) :



Muối dodexil sunphat canxi hoặc magiê có độ hoà tan lớn hơn, vì vậy được dùng thay thế xà phòng tự nhiên trong nhiều ngành công nghiệp.

SDS được dùng nhiều trong phương pháp điện di protein ở điều kiện biến tính. SDS kết hợp với phần lớn các protein với một lượng gần như tỉ lệ với khối lượng phân tử của protein. Các anion SDS kết hợp vào mạch polipeptit của phân tử, khoảng một phân tử SDS với 2 gốc axit amin, làm tăng đáng kể điện tích âm của phân tử protein, làm thay đổi hình dạng tự nhiên của phân tử, do đó các phân tử protein khác nhau đều có hình dạng tương tự nhau. Vì vậy khi điện di, độ di động của protein phụ thuộc vào khối lượng phân tử của nó, phân tử càng bé, di động càng nhanh trong điện trường.

Một ví dụ khác về chất tẩy tổng hợp là Triton X-100, là chất tẩy không ion hoá (nonionic detergent), có công thức như sau :



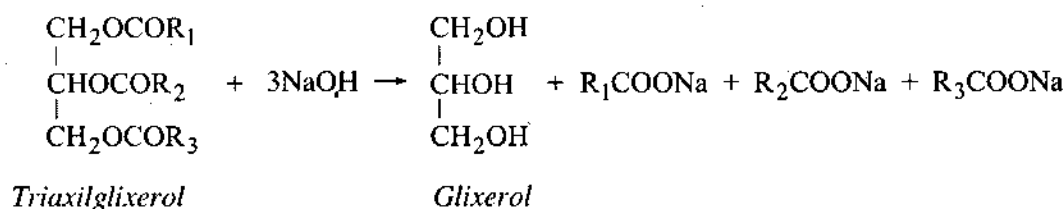
Phần polioxietilen là phần ưa nước. Chất này cũng được dùng nhiều trong nghiên cứu hoá sinh.

Nhờ sự tạo thành nhũ tương bền làm cho mỡ của thức ăn được tiêu hoá dễ dàng hơn.

Nói chung tính chất của glixerit tùy thuộc vào thành phần axit béo của chúng. Tính chất của axit béo phụ thuộc vào chiều dài mạch cacbon và độ không no của phân tử. Ví dụ rõ ràng nhất là điểm nóng chảy : của axit stearic là 69,6°C, axit palmitic là 63,1°C, và của axit oleic là 13,4°C.

Tristearin và tripalmitin nóng chảy ở nhiệt độ gần 80°C, trong khi triolein vẫn ở trạng thái lỏng ngay cả ở nhiệt độ 0°C. Nhiều dầu thực vật thường ở thể lỏng vì hàm lượng axit béo không no trong thành phần của chúng khá cao. Hàm lượng axit oleic và axit linoleic trong thành phần dầu hướng dương đạt đến 85% nên dầu này có nhiệt độ nóng chảy là -21°C. Ngược lại, dầu ca cao chứa 35% axit palmitic và 40% axit stearic, có nhiệt độ nóng chảy khoảng 30–34°C. Mỡ động vật thường có hàm lượng axit béo no cao nên trong điều kiện nhiệt độ bình thường nó ở thể rắn.

a) *Phản ứng thủy phân.* Dưới tác dụng của axit hoặc enzym (lipaz) liên kết este trong phân tử glixerit có thể bị thủy phân tạo thành glixerol và axit béo tự do. Quá trình thủy phân cũng xảy ra dưới tác dụng của kiềm (KOH hoặc NaOH), nhưng sản phẩm được tạo thành là glixerol và muối của axit béo bậc cao. Muối này được gọi là xà phòng, vì vậy phản ứng này cũng gọi là phản ứng xà phòng hoá glixerit.



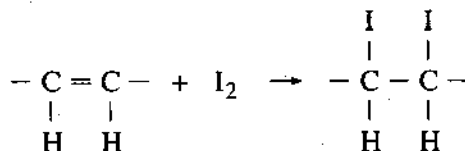
b) *Các chỉ số của chất béo.* Để xác định tính chất của chất béo thường dựa vào các chỉ số khác nhau. Sau đây sẽ giới thiệu một số chỉ số quan trọng thường dùng.

– *Chỉ số axit* là số mg KOH dùng để trung hoà axit béo tự do có trong 1 gam chất béo. Chỉ số axit được dùng khi đánh giá độ tươi của các chất béo dùng làm thực phẩm. Chỉ số axit cao chứng tỏ chất béo không tươi, đã bị thủy phân một phần.

– *Chỉ số xà phòng hoá* là số mg KOH dùng để xà phòng hoá 1 gam chất béo và trung hoà axit béo tự do có trong 1 gam chất béo này.

– *Chỉ số este* là số mg KOH cần dùng để trung hoà axit béo liên kết với glixerol, được giải phóng khi xà phòng hoá 1 gam chất béo. Do đó chỉ số este bằng hiệu số giữa chỉ số xà phòng và chỉ số axit.

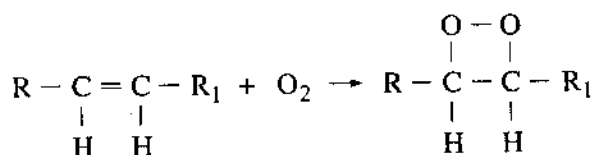
– *Chỉ số iot* là số gam iot kết hợp với 100g chất béo. Iot kết hợp vào các nối đôi trong phân tử axit béo không no.



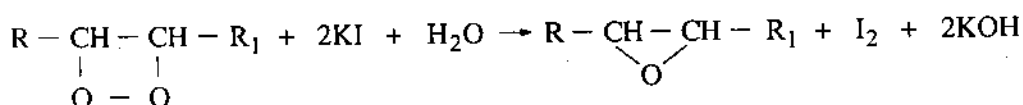
Chỉ số iot phản ánh độ không no của các axit béo. Các chất béo có chứa nhiều axit béo không no, có chỉ số iot lớn. Ví dụ : chỉ số iot của dầu đậu tương vào khoảng 130, của dầu bông là 150, của mỡ lợn chỉ bằng 56 và của bơ còn thấp hơn nữa, vào khoảng 25–38. Chất béo có chỉ số iot càng cao, nhiệt độ nóng chảy càng thấp.

– *Chỉ số peroxit* : là số gam iot được giải phóng bởi peroxit có trong 100gam chất béo. Chỉ số này phản ánh mức độ ôi của chất béo. Dầu, mỡ giữ lâu ngày thường có mùi khét khó chịu, gọi

là sự ôi mỡ. Hiện tượng này có thể do nhiều nguyên nhân, tuy nhiên kiểu phổ biến nhất là do oxi trong không khí kết hợp vào nối đôi trong phân tử axit béo không no tạo thành peroxit theo phản ứng sau :



Khi cho KI phản ứng với chất béo bị ôi, nó sẽ phản ứng với peroxit, giải phóng iot theo phản ứng sau :



Dùng tiosunphat để chuẩn độ lượng iot được giải phóng.

Mặc dù, dầu mỡ có thể bị ôi do nhiều nguyên nhân khác nhau, theo nhiều cơ chế khác nhau, nhưng kết quả của các quá trình này dẫn đến việc tạo thành các aldehyt, xeton, axit phân tử thấp có mùi khó chịu.

Quá trình ôi mỡ tăng nhanh ở điều kiện ẩm, nhiệt độ cao và có ánh sáng. Một số ion kim loại như đồng, chì cũng xúc tác cho quá trình này.

Trong thực tế, để ngăn ngừa quá trình oxi hoá mỡ, người ta thường thêm các chất chống oxi hoá như : galatpropil, galatetil v.v. hoặc tìm cách loại bỏ oxi trong môi trường bảo quản.

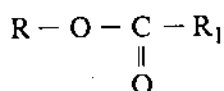
B – SÁP

Sáp cũng thuộc lipid đơn giản, ở trạng thái rắn trong điều kiện nhiệt độ bình thường. Sáp tạo thành lớp mỏng bao phủ trên bề mặt lá, thân, quả của nhiều cây. Nhiều tác giả cho rằng sáp được tạo thành trong tế bào biểu bì, sau đó được đưa qua các ống dẫn nhỏ ra khỏi tế bào ở lại trên bề mặt của mô và kết tinh thành hình que hay hình bản nhỏ. Lớp sáp trên bề mặt lá *Caripha caripha* ở Nam Mỹ có màu vàng, rất rắn, nóng chảy ở 83–90°C ; do đó có thể dùng làm nến. Sáp có tác dụng bảo vệ giữ cho lá, quả khỏi bị thấm nước, không bị khô và ngăn ngừa vi sinh vật xâm nhập. Khi lớp sáp trên bề mặt quả bị vi phạm, quả dễ bị hỏng trong quá trình bảo quản.

Sáp cũng có ở động vật, ví dụ như sáp ong, sáp ở lông cừu (lanolin). Sáp ong bảo vệ cho ấu trùng ong phát triển bình thường và bảo vệ cho mật ong khỏi bị hư hỏng. Lanolin giữ cho lông cừu khỏi bị thấm ướt. Lanolin cũng được dùng nhiều trong y học, trong công nghệ mỹ phẩm.

1. Cấu tạo hoá học của sáp

Sáp là các este được tạo thành từ các alcol bậc một mạch thẳng, phân tử lớn, với các axit béo bậc cao. Sáp có công thức cấu tạo chung như sau :



Trong đó : R là gốc alcol thường có số nguyên tử cacbon chẵn.

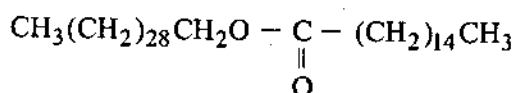
Các alcol đã được biết là :

- Alcol xetilic : $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{CH}_2\text{OH}$ (16 cacbon)
- Alcol xerilic (hexacozanol) : $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{24}\text{CH}_2\text{OH}$ (26 cacbon)
- Alcol montanilic (octacozanol) : $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{26}\text{CH}_2\text{OH}$ (28 cacbon)
- Alcol minixilic (tricontanol) : $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{28}\text{CH}_2\text{OH}$ (30 cacbon)

R_1 là gốc axit béo. Trong thành phần của sáp cũng tìm thấy các axit béo thường gặp trong mỡ như axit palmitic, axit stearic, axit oleic v.v. Ngoài ra, còn có một số axit béo khác đặc trưng của sáp, có khối lượng phân tử lớn hơn nhiều như :

- Axit xerotic (26 cacbon) : $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{24}\text{COOH}$
- Axit montanic (28 cacbon) : $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{26}\text{COOH}$
- Axit melixic (30 cacbon) : $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{28}\text{COOH}$

Ví dụ : thành phần chủ yếu của sáp ong là este của tricontanol và axit palmitic, có công thức như sau :



Trong thành phần của sáp ngoài các este của alcol với axit béo phân tử lớn, còn có các hidrocarbon, axit béo tự do và alcol phân tử lớn tự do.

Sáp cũng được tìm thấy trong than đá, than bùn, gọi là *sáp khoáng*. Sáp khoáng có chứa axit montanic và các este của nó.

2. Tính chất của sáp

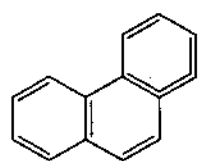
So với mỡ trung tính, tất cả các loại sáp đều bền hơn dưới tác dụng của ánh sáng, nhiệt, các chất oxi hoá và các yếu tố khác. Ngoài ra, sáp cũng khó bị thủy phân, do đó có thể dễ dàng bảo quản sáp trong thời gian dài.

C - STERIT

1. Cấu tạo hoá học

Sterit là este của alcol vòng và axit béo phân tử lớn. Các axit béo thường gặp trong thành phần sterit là axit palmitic, axit stearic, axit oleic.

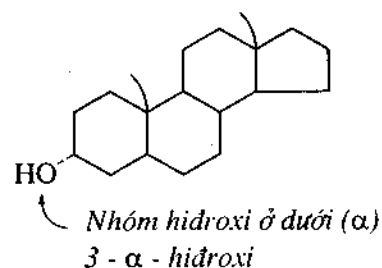
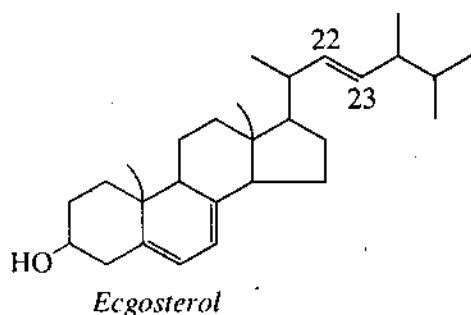
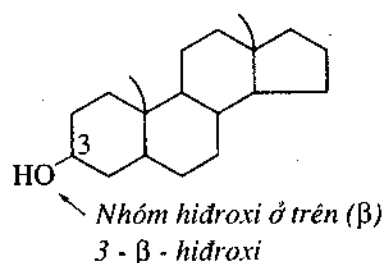
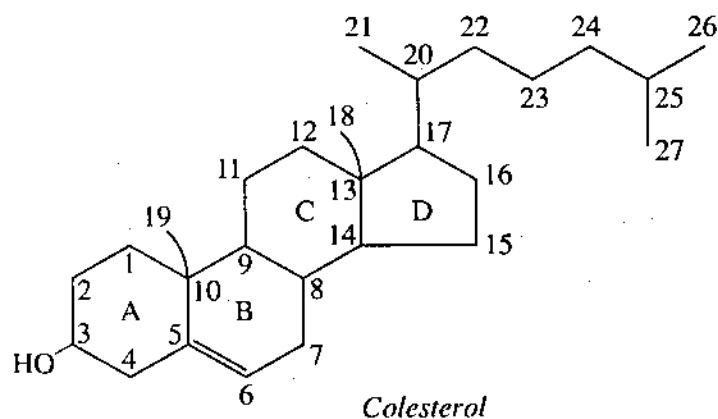
Alcol vòng của sterit là *sterol*. Sterol là dẫn xuất của xiclopentanoperhydrophenantren (hình 34). Đại diện quan trọng của sterol là cholesterol và ecgosterol (hình 34). Các dẫn xuất của sterol được kí hiệu và đánh số theo kiểu đã ghi trên hình 34. Các vòng này được kí hiệu là A, B, C, D. Hai nhóm metil gắn vào vòng là : C-19 ở vị trí C-10 và C-18 ở vị trí C-13, các nhóm metil này kí hiệu bằng đường gạch như trên hình 34. Đường gạch liền có nghĩa là ở trên mặt phẳng của 4 vòng. Các nhóm thế ở trên mặt phẳng của vòng (cùng phía với các nhóm metil C-19 và C-18) gọi là định hướng $-\beta$ và liên kết được biểu diễn bằng một gạch thẳng ; còn nếu ở vị trí ngược lại (ở dưới mặt phẳng của 4 vòng), gọi là α , liên kết được biểu diễn bằng đường chấm chấm (...) (hình 34).



Phenantren



Xiclopentan



Hình 34 - Công thức cấu tạo của cholesterol, ecosterol. Cách đánh số thứ tự các nguyên tử cacbon kí hiệu các vòng trong phân tử. Các dẫn xuất khác đều đánh số giống với cholesterol.

Sterol phổ biến ở động vật, thực vật, ở nấm men và một số loài tảo. Ở động vật bậc cao, cholesterol được tổng hợp chủ yếu trong gan. Cholesterol cũng có nhiều trong mô thần kinh, máu, tinh trùng, trong lớp mỡ dưới da v.v. Ở thực vật, cholesterol có nhiều trong phấn hoa, trong hạt, đặc biệt là ở các cây có dầu.

Vai trò sinh học quan trọng của sterol là ở chỗ chúng có thể chuyển hoá thành các chất điều hoà sinh học khác nhau (các hormone sinh dục, hormone corticoid vitamin D v.v.) và tham gia tạo thành màng tế bào.

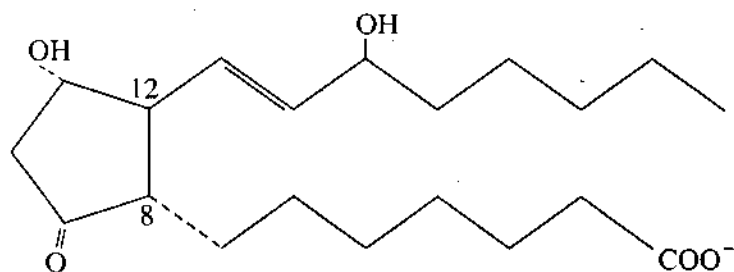
Cholesterol được sử dụng trong công nghiệp hoá dược để sản xuất các hormone steroid, vitamin D.

2. Tính chất của sterit

Sterit cũng như sterol, là chất rắn không màu, không tan trong nước, tan trong dung môi của chất béo như clorofooc, ete v.v.

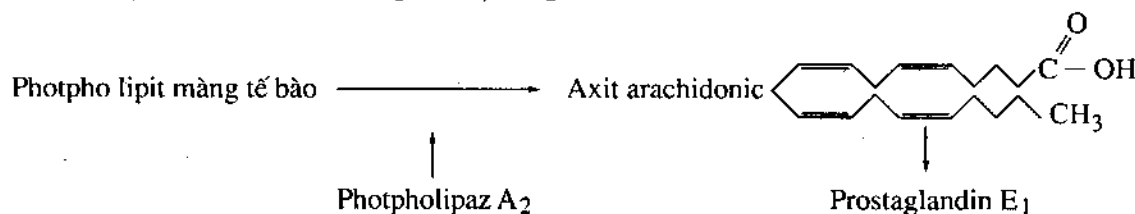
Các sterit có thể bị thủy phân dưới tác dụng kiềm hoặc enzyme tương ứng. Sterol bền đối với các yếu tố thủy phân.

Prostaglandin : là những axit béo bao gồm 20 cacbon trong đó có một vòng 5 cạnh (hình 35). Đến nay người ta đã biết khoảng 20 prostaglandin khác nhau, trong đó các prostaglandin E và F có vai trò sinh lý quan trọng hơn cả. Prostaglandin là những chất có hoạt tính sinh học, tìm thấy trong nhiều mô, cơ quan của động vật, người và một số thực vật. Prostaglandin có vai trò điều chỉnh tác dụng của các hoocmon. Ví dụ : prostaglandin E₁ ở nồng độ thấp (10⁻⁸ M) cũng có tác dụng làm giảm mạnh hiệu quả kích thích quá trình phân giải chất béo trong mô mỡ của hoocmon glucagon, epinephrin. Nguyên nhân là do prostaglandin E₁ kìm hãm adenilatcyclaz của tế bào mô mỡ. Tuy nhiên ở tế bào khác nó lại có thể ảnh hưởng ngược lại đến hàm lượng AMP_v trong tế bào.



Hình 35 - Cấu trúc của prostaglandin E₁ (PGE₁).

trình phân giải chất béo trong mô mỡ của hoocmon glucagon, epinephrin. Nguyên nhân là do prostaglandin E₁ kìm hãm adenilatcyclaz của tế bào mô mỡ. Tuy nhiên ở tế bào khác nó lại có thể ảnh hưởng ngược lại đến hàm lượng AMP_v trong tế bào.



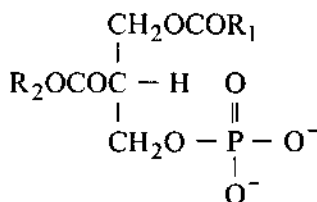
Prostaglandin cũng có tác dụng điều hoà dòng máu đến các cơ quan, kiểm tra quá trình vận chuyển ion qua một số màng làm giảm sự tiết progesteron v.v.

II - LIPIT PHỨC TẠP

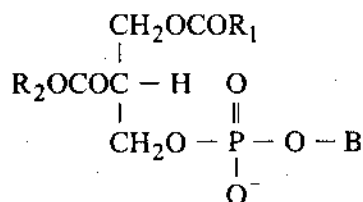
Các đại diện chính :

1. Glixerophotpholipit

Như trên đã nói, cấu tử alcol của nó là glixerol. Hai nhóm hidroxil ở C-1 và C-2 của glixerol bị este hoá với các axit béo phân tử lớn, còn nhóm hidroxil ở C-3 este hoá với axit photphoric. Do đó hợp chất này cũng gọi là *photphatidat* hoặc *diaxilglixerol-3-photphat*, có công thức cấu tạo chung như sau :



Photphatidat



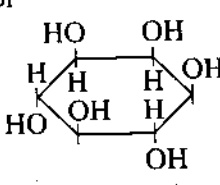
Dẫn xuất của photphatidat

Các gốc axit béo thường gặp trong thành phần photphatidat là axit palmitic, stearic và các axit béo không no khác.

Gốc axit photphoric của photphatidat có thể phản ứng với nhóm hidroxil của các chất khác như xerin, etanolamin, colin, glixerol, inozitol v.v. tạo thành các dẫn xuất tương ứng (bảng 13). Phần lớn các photphoglixerit gặp trong tự nhiên là các dẫn xuất của photphatidat và cũng thường được gọi là photphatit.

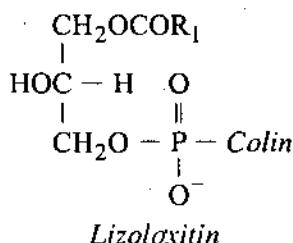
Bảng 13

THÀNH PHẦN MỘT SỐ GLIXEROPHOTPHOLIPIT

Bản chất của gốc B	Glixerophotpholipit
- Colin $\text{HOCH}_2 - \text{CH}_2 - \overset{+}{\text{N}} \begin{array}{l} \diagup \text{CH}_3 \\ \diagdown \text{CH}_3 \\ \text{CH}_3 \end{array}$	Photphatidilcolin - (loxitin) $\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{R} - \text{C} - \text{OCH}_2 \\ \\ \text{R}' - \text{C} - \text{OCH} \\ \parallel \\ \text{O} \end{array}$ $\text{H}_2\text{C} - \text{O} - \overset{\text{O}}{\parallel} \text{P} - \text{O} - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \overset{+}{\text{N}}(\text{CH}_3)_3$ O^-
- Etanolamin $\text{HOCH}_2 - \text{CH}_2 - \text{NH}_3^+$	Photphatidil-etanolamin (trong lòng đỏ trứng, mỡ động vật) $\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{R} - \text{C} - \text{OCH}_2 \\ \\ \text{R}' - \text{C} - \text{OCH} \\ \parallel \\ \text{O} \end{array}$ $\text{H}_2\text{C} - \text{O} - \overset{\text{O}}{\parallel} \text{P} - \text{O} - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{NH}_3^+$ O^-
- Xerin $\text{HOCH}_2 - \overset{\text{NH}_2}{\underset{ }{\text{CH}}} - \text{COOH}$	Photphatidilixerin (có nhiều trong não) $\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{R} - \text{C} - \text{OCH}_2 \\ \\ \text{R}' - \text{C} - \text{OCH} \\ \parallel \\ \text{O} \end{array}$ $\text{H}_2\text{C} - \text{O} - \overset{\text{O}}{\parallel} \text{P} - \text{O} - \text{CH}_2 - \underset{\text{COO}^-}{\underset{ }{\text{CH}}} - \overset{+}{\text{NH}_3}$ O^-
- Inozitol 	Photphatidilinozitol (trong gan, não) $\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{C} - \text{O} - \text{C} - \text{R} \\ \\ \text{HC} - \text{O} - \text{C} - \text{R}' \\ \parallel \\ \text{O} \end{array}$ $\text{HO} \text{---} \text{C}_6\text{H}_4 \text{---} \text{O} - \overset{\text{O}}{\parallel} \text{P} - \text{O} - \text{CH}_2$ O^-

Phosphatidylcolin (loxitin hoặc colinphosphatit) phổ biến rộng rãi trong cơ thể người và động vật (hồng cầu, tinh trùng, não, lòng đỏ trứng, gan, tim...) thực vật (đậu tương, hạt hướng dương, hạt hoà thảo nảy mầm). Loxitin tham gia trong thành phần các màng sinh học. Phân tử loxitin có tính phân cực : đầu có gốc colin có tính chất ưa nước và phần có các gốc axit béo có tính chất kỵ nước. Do đó chúng được sắp xếp định hướng rõ rệt ở ranh giới 2 pha, tham gia trong việc bảo đảm tính thấm của màng sinh học.

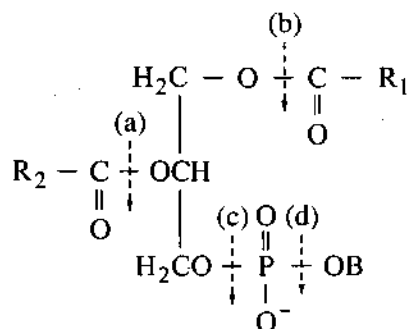
Dưới tác dụng của enzym tương ứng loxitinaz (của nọc rắn), liên kết este ở C-2 bị thủy phân tạo thành lizoloxitin có tác dụng hoại huyết mạnh :



Loxitinaz cũng gọi là phospholipaz A. Các liên kết khác trong phân tử phosphatit cũng có thể bị thủy phân dưới tác dụng của các phospholipaz tương ứng khác (hình 36)

(a)phospholipaz A ; (b)phospholipaz B, enzym này cũng có thể cắt đứt cả 2 liên kết este ở C-1 và C-2 tạo thành glycerol-3-phosphorylcolin ; (c) phospholipaz C thủy phân liên kết este giữa C-3 với gốc photphat, (d) phospholipaz D, thủy phân liên kết giữa gốc axit photphoric và gốc B, tạo thành axit photphatidic (phosphatidat).

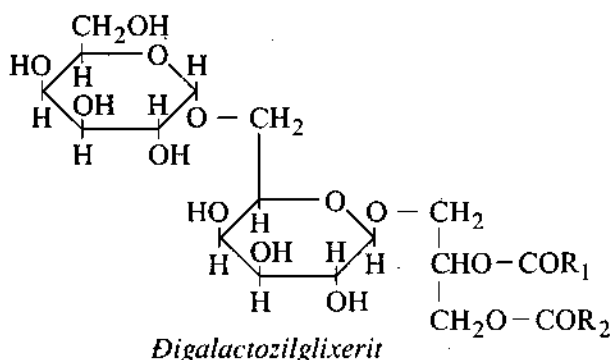
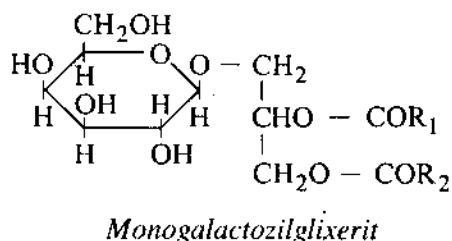
Loxitin hoà tan tốt trong ete, etanol, benzen, clorofooc v.v. nhưng không tan trong axeton. Có thể dựa vào tính chất này để tách loxitin từ lòng đỏ trứng gia cầm. Loxitin là những tinh thể màu trắng, dễ hút nước, ngoài không khí dễ bị sẫm màu do bị oxy hoá.



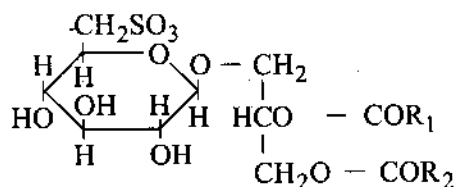
Hình 36 - Vị trí tác dụng của các phospholipaz khác nhau trên phân tử phosphatit.

2. Glixeroglicolipit

Thuộc nhóm này có monogalactozilglixerit, digalactozilglixerit, sunfoglucozilglixerit khá phổ biến trong lục lạp và các phần khác của tế bào lá. Công thức cấu tạo của các chất này như sau :



Vai trò của các chất này chưa rõ, nhưng người ta cho rằng các galactozilglixerit có vai trò quan trọng trong quá trình trao đổi chất.



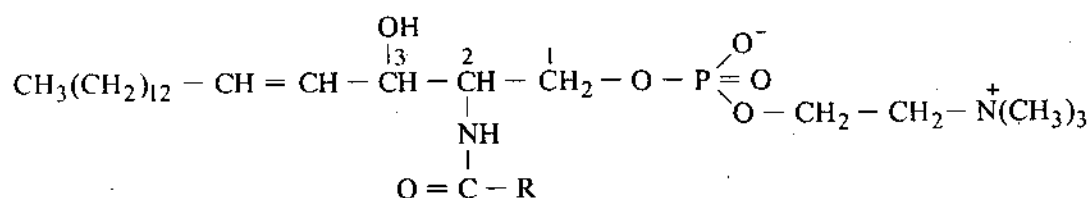
6 - Sunfoglucosilglixerit

3. Sphingophotpholipit

Chất này được cấu tạo từ các thành phần sau :

- Aminoalcol không no có 18 cacbon là sphingoizin
- Axit béo phân tử lớn như axit stearic, axit lignoxerinic
- Axit photphoric
- Colin

Đại diện của nhóm này là *sphingomielin*, có công thức cấu tạo như sau :



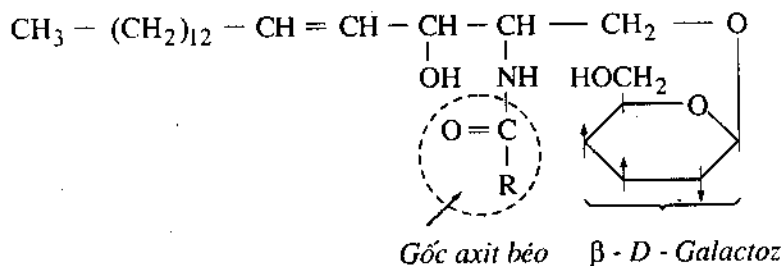
Axit béo trong phân tử sphingomielin là axit lignoxerinic. Các sphingophotpholipit khác nhau về thành phần axit béo của chúng. Sphingomielin có nhiều trong chất trắng của não, mô thần kinh, ngoài ra cũng có trong gan, thận, phổi. Hàm lượng sphingomielin ở động vật có xương sống bậc cao (10-12%) lớn hơn ở động vật có xương sống bậc thấp (1-4%). Ở động vật không xương sống hầu như không có chất này.

4. Sphingoglicolipit

Đại diện của nhóm này là xerebrozit. Xerebrozit được cấu tạo từ 3 thành phần sau :

- Alcol sphingoizin.
- Axit béo kết hợp với nhóm amin của sphingoizin qua liên kết amit.
- Một gốc xacarit là glucoz hoặc galactoz kết hợp với nhóm hidroxi ở C-1 của sphingoizin.

Xerebrozit có công thức cấu tạo chung như sau :



Các xerebrozit khác nhau về thành phần axit béo trong phân tử của chúng. Các axit béo này thường chứa 24 cacbon, có thể có nối đôi và có các nhóm hidroxi. Ở một số xerebrozit, gốc axit sunfuric kết hợp vào C-6 của gốc monoxacarit trong phân tử của chúng, gọi là *sunfatit*.

Xerebrozit có trong mô thần kinh (đặc biệt có nhiều trong chất trắng của não) hồng cầu, bạch cầu, tinh trùng v.v.

Vitamin

Vitamin là những chất hữu cơ có bản chất hoá học khác nhau, chỉ cần một lượng nhỏ trong thức ăn của động vật bậc cao và người để bảo đảm sự sinh trưởng và phát triển bình thường của cơ thể.

Do đó, về mặt số lượng, vitamin không phải là một hợp phần quan trọng của cơ thể như protein, xacarit, lipid, mà có tác dụng bồi bổ, giữ gìn sức khỏe giống như “khoá giữ nhà”. Nhu cầu của người hàng ngày đối với mỗi loại vitamin thường ít hơn 10mg (trừ vitamin C, PP). Nhu cầu này có thể thay đổi tùy theo trạng thái sinh lí của cơ thể. Đối với các động vật khác nhau, nhu cầu vitamin cũng khác nhau. Không phải tất cả các động vật bậc cao đều cần thiết tất cả các vitamin như nhau. Một số vitamin được tạo thành trong cơ thể động vật từ những chất trong thức ăn nguồn thực vật. Thực vật có khả năng tổng hợp hầu hết các vitamin hoặc provitamin (chất tiền vitamin). Tuy nhiên, một số vitamin cũng cần cho sự sinh trưởng của thực vật trên môi trường tổng hợp. Ngoài ra, một số nấm và vi khuẩn cũng có nhu cầu khác nhau về vitamin.

Khi thiếu vitamin thường bị những bệnh đặc trưng gọi là bệnh thiếu vitamin (avitaminose). Điều đáng lưu ý là da khá nhạy với sự thiếu vitamin.

Vitamin thường được tổng hợp ở thực vật, vi sinh vật đặc biệt là nấm men. Một số mô động vật như gan, lá lách hoặc lòng đỏ trứng cũng là những nguồn vitamin quan trọng.

Các vitamin thường được gọi tên theo các cách khác nhau như sau :

- Theo các chữ cái, A, B, C...
- Theo tên bệnh xảy ra khi thiếu một vitamin nào đó và thêm đầu ngữ “anti” (tên sinh lí)
- Theo cấu tạo hoá học của chúng.

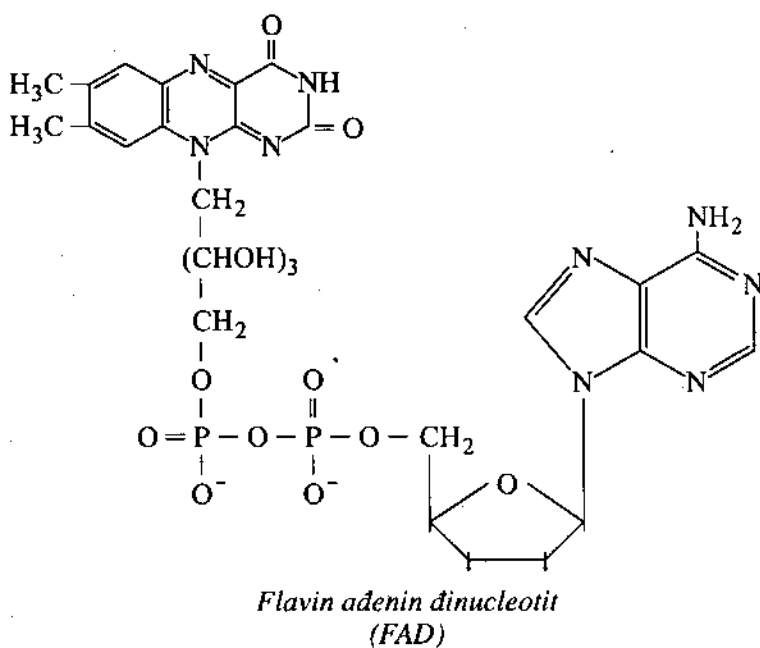
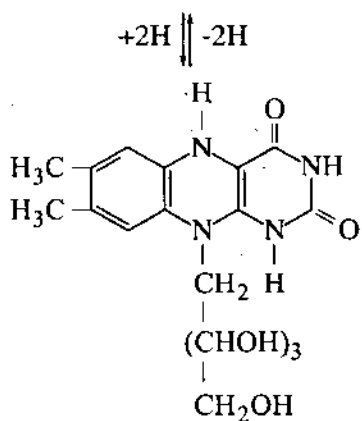
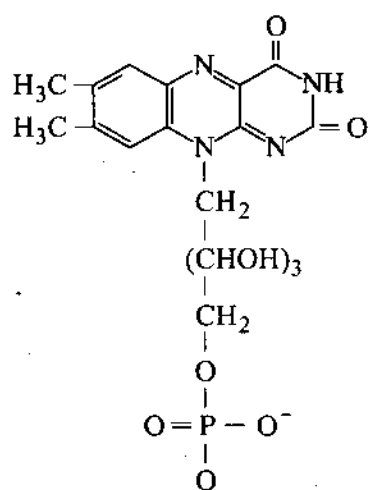
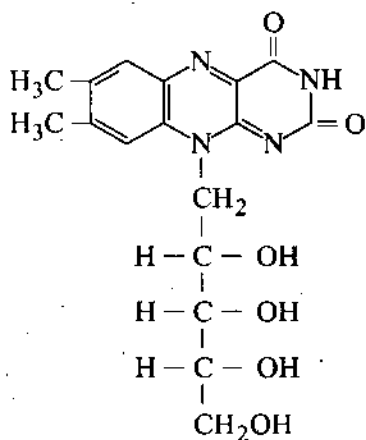
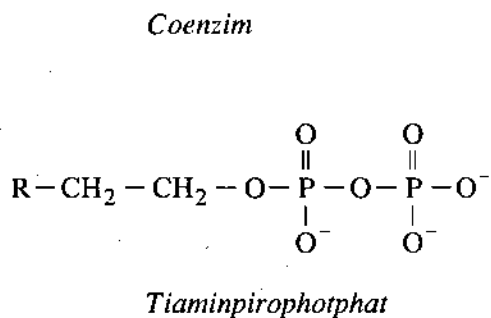
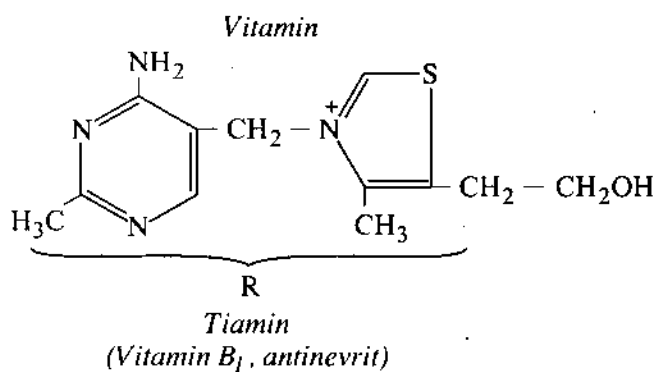
Người ta thường chia vitamin thành 2 nhóm lớn :

+ Các vitamin tan trong nước (vitamin nhóm B), các vitamin nhóm này thường tham gia trong thành phần cấu tạo của các coenzim khác nhau.

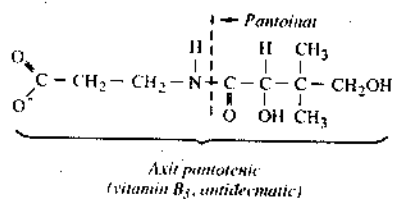
+ Các vitamin tan trong chất béo : vitamin A, D, E, K. Các vitamin này tác dụng theo nhiều cơ chế khác nhau.

Tên gọi và công thức cấu tạo của các vitamin tan trong nước được trình bày trên hình 37. Dưới đây chỉ giới thiệu chi tiết hơn về một số vitamin.

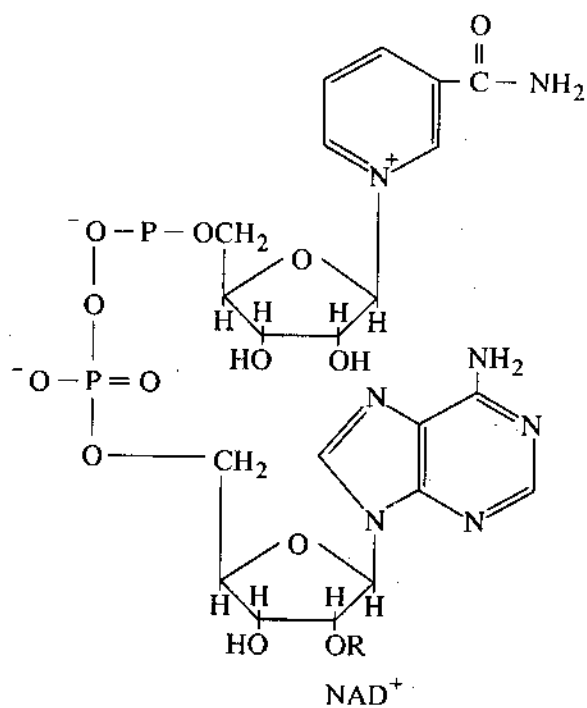
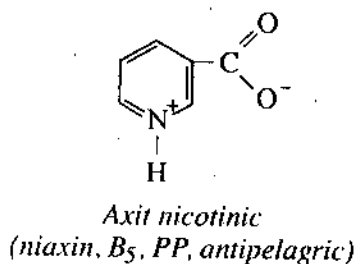
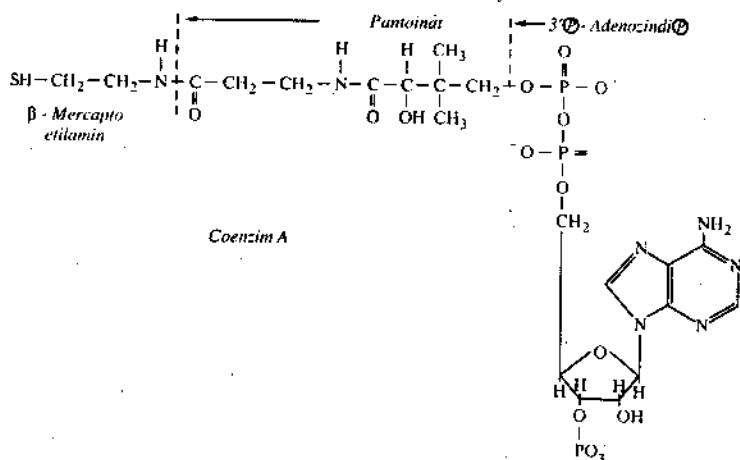
19.09.24
19.09.24



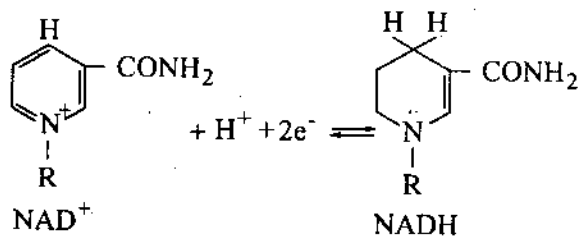
Vitamin



Coenzim

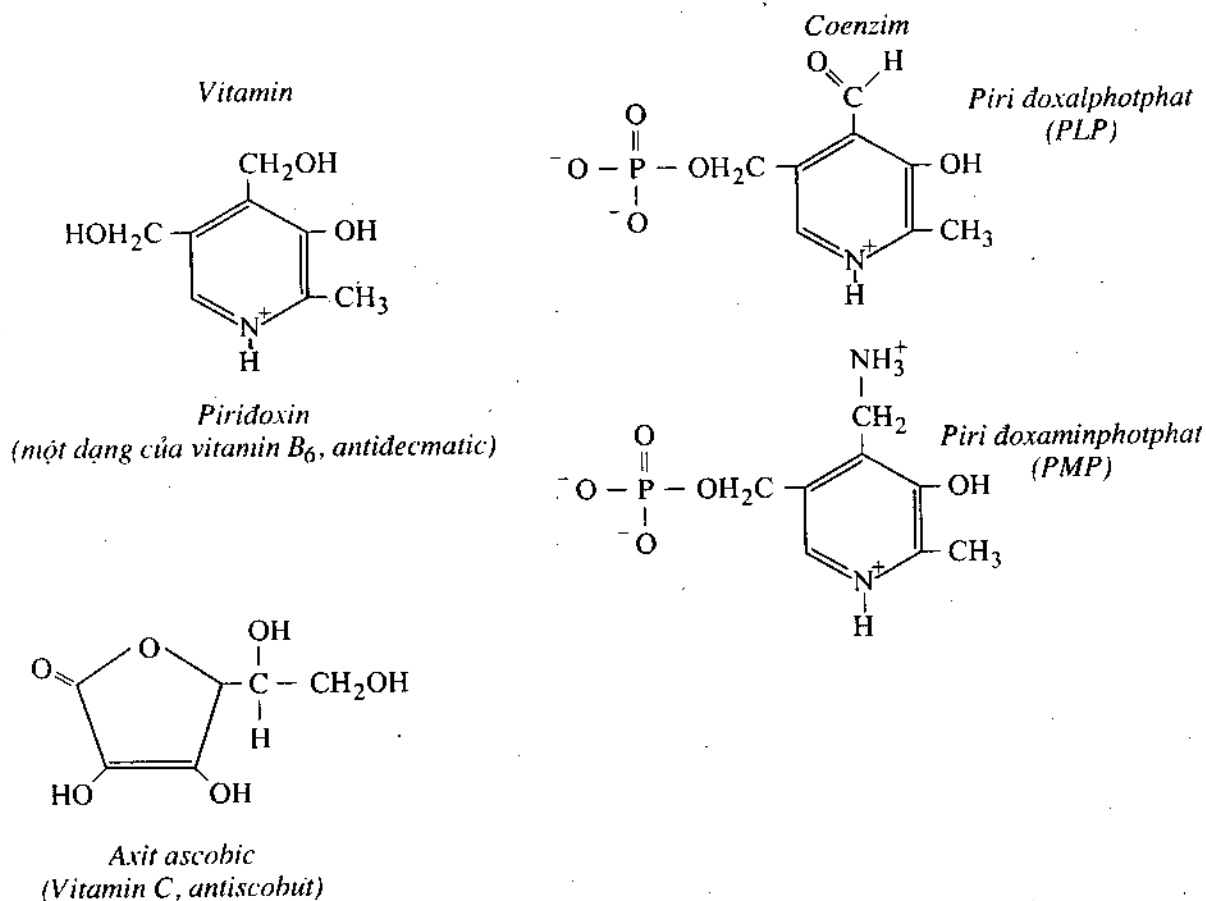


(Trong phân tử NADP, R = PO₃²⁻)



(Dạng oxi hoá)

(Dạng khử)



Hình 37 - Công thức các vitamin tan trong nước và các coenzim tương ứng.

I - CÁC VITAMIN TAN TRONG NƯỚC

1. Vitamin B₁

Có nhiều trong cám gạo, nấm men, gan, thận, tim v.v. Tiaminpirophotphat (TPP) là coenzim của :

- Decarboxylaz* xúc tác cho phản ứng loại cacboxil của các axit piruvic, axit α -xetoglutaric.
- Transxetolaz* xúc tác cho phản ứng vận chuyển glicolaldehyt ($\text{CH}_2\text{OH}-\text{CO}-$). Ví dụ : Phản ứng chuyển đoạn 2C (C_1 và C_2) của xiluloz - 5 photphat đến riboz 5- photphat tạo thành xedoheptuloz -7 photphat và glixeraldehyt 3 photphat.

Thiếu vitamin B₁ ảnh hưởng đến quá trình trao đổi xacarit, phát sinh bệnh beri-beri, hay tê phù, ảnh hưởng đến quá trình trao đổi xacarit, quá trình tiêu hoá, hệ thống thần kinh và tim mạch.

Nhu cầu vitamin B₁ thay đổi tùy theo lứa tuổi, nghề nghiệp, trạng thái sinh lí của cơ thể v.v. Đối với người lớn cần khoảng từ 1,5-3mg vitamin B₁ trong 24 giờ ; đối với trẻ em, số lượng này ít hơn, khoảng 0,5-2mg.

Vitamin B₁ chỉ bền với nhiệt trong môi trường axit, còn trong môi trường kiềm nó bị phân huỷ nhanh chóng khi đun nóng. Khi oxi hoá, vitamin B₁ chuyển thành một hợp chất gọi là tiocrom phát huỳnh quang. Tính chất này thường được sử dụng để định lượng vitamin B₁.

Hàm lượng vitamin B₁ trong nguyên liệu có thể thay đổi đáng kể tùy thuộc điều kiện bảo quản và chế biến. Ví dụ : gạo xay sát kỹ hàm lượng vitamin B₁ có thể bị giảm đến 4 lần so với ban đầu. Độ ẩm khi bảo quản nguyên liệu (thóc gạo) càng cao, hàm lượng vitamin B₁ bị giảm càng nhanh. Một số chất như gelatin, ovalbumin, tinh bột v.v. có thể làm giảm tác dụng phá huỷ vitamin B₁ ở nhiệt độ cao.

2. Vitamin B₂ (trước kia còn gọi là lactoflavin vì lần đầu tiên tách được từ sữa).

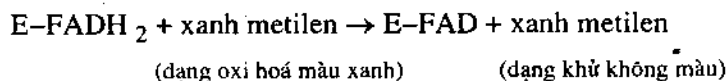
Vitamin B₂ là dẫn xuất của vòng izoaloxazin, có nhiều trong nấm men, đậu, thịt, sữa, gan, trứng, đặc biệt là trong lòng đỏ.

Dẫn xuất quan trọng của vitamin B₂ là flavinmononucleotit (FMN) và flavinadeninucleotit (FAD). Đó là các coenzim của các dehydrogenaz (gọi là “men vàng Vacbua”) xúc tác cho các phản ứng chuyển vị hydro trong quá trình hô hấp của mô. Ví dụ : quá trình decarboxyl hoá oxi hoá axit piruvic, oxi hoá axit béo, decarboxyl hoá oxi hoá axit amin v.v. Phản phản ứng của các coenzim này là vòng izoaloxazin.

Thiếu vitamin B₂ ảnh hưởng đến quá trình oxi hoá khử làm ảnh hưởng đến quá trình tạo năng lượng cần thiết cho sự sinh trưởng và phát triển của cơ thể. Thiếu vitamin B₂ cũng ảnh hưởng đến da, đến các màng nhầy trong cơ thể (màng nhầy ruột), cũng như sự phát triển của bào thai, tốc độ tạo máu.

Nhu cầu vitamin B₂ của người trong 1 ngày là từ 2 đến 2,5 mg. Động vật có sừng không cần vitamin B₂ vì các vi sinh vật trong ruột của chúng có khả năng tổng hợp vitamin này và cung cấp cho cơ thể chủ.

Dạng oxi hoá hoàn toàn của riboflavin là những tinh thể vàng da cam, hấp thụ ở bước sóng 370 và 450nm. Dạng khử của nó không màu và mất tính hấp thụ ở 450nm. Các coenzim flavin nucleotit dạng khử cũng có thể bị oxi hoá trở lại khi có các chất nhận điện tử như xanh metilen, 2,6-diclorophenolindophenol.



Có thể sử dụng các tính chất trên để theo dõi các phản ứng do flavin dehydrogenaz xúc tác.

Tinh thể vitamin B₂ ở dạng khô tương đối bền với nhiệt hơn vitamin B₁. Tuy nhiên, vitamin B₂ không bền dưới tác dụng của ánh sáng. Ngược với vitamin B₁, hàm lượng vitamin B₂ trong thóc gạo, thịt, trứng, sữa biến đổi không nhiều trong quá trình bảo quản và chế biến.

3. Vitamin PP (pellagra preventative factor)

Có nhiều trong thịt bò, gan bò, thận, tim, trứng, các loại hạt đậu v.v. và đặc biệt là trong nấm men. Ở hạt ngô hàm lượng vitamin PP rất thấp. Tên gọi của vitamin này xuất phát từ tác dụng sinh lí của nó là ngăn ngừa bệnh pelagra (pellagra). Thiếu vitamin PP, màng nhầy dạ dày, ruột bị sưng, da bị sần sùi nhất là ở những chỗ tiếp xúc nhiều với ánh sáng.

Vitamin PP là thành phần cấu tạo quan trọng, là phần phản ứng của các coenzim nicotinamitadenin dinucleotit (NAD^+ , R của OR là H), nicotinamitadenin dinucleotit photphat (NADP^+ , R của OR là gốc photphat). NAD^+ và NADP^+ là coenzim của các dehydrogenaz tham gia trong giai đoạn đầu của quá trình oxi hoá-khử sinh học các chất xacarit, axit hữu cơ v.v. Do đó, thiếu vitamin này vi phạm quá trình oxi hoá – khử trong cơ thể. Nhu cầu vitamin PP ở người trong 1 ngày đêm là 15–25mg. Nhiều thực vật, vi sinh vật và một số động vật có thể tổng hợp vitamin PP từ triptophan. Vì vậy, nếu động vật, người, ăn thức ăn nhiều protein giàu triptophan thì cũng sẽ không bị thiếu vitamin PP khi thức ăn chứa ít vitamin này. Người ta cũng có thể tổng hợp hoá học vitamin PP từ nicotin.

Axit nicotinic là những tinh thể màu trắng, có vị axit. Dạng amit của nó – nicotinamit cũng là những tinh thể trắng, có vị đắng nhưng kém bền hơn axit nicotinic dưới tác dụng của axit, kiềm. Hàm lượng vitamin PP trong gạo ít bị biến đổi trong quá trình bảo quản.

4. Vitamin B₆

Ngoài dạng piridoxin đã giới thiệu trên hình 37, trong tự nhiên còn có 2 dạng khác của vitamin B₆ là piridoxal và piridoxamin. Cả 3 dạng này dễ dàng chuyển hoá lẫn nhau. Vitamin B₆ có nhiều trong nấm men bia, lúa mì, ngô, đậu, cám gạo, thịt bò, gan bò, thận và các sản phẩm của cá.

Dẫn xuất của vitamin B₆ piridoxalphotphat (PLP) là coenzim của nhiều enzym xúc tác cho các quá trình chuyển hoá các axit amin như: vận chuyển nhóm amin (aminno-transpherez), loại cacboxil (decacboxilaz). Vitamin B₆ cũng là thành phần cấu tạo của photphorilaz xúc tác cho phản ứng phân giải glicogen. Ngoài ra, vitamin B₆ còn có vai trò quan trọng trong quá trình sinh tổng hợp NAD^+ , coenzim A v.v. Do đó thiếu vitamin B₆ cũng ảnh hưởng đến nhiều quá trình do các enzym chứa các coenzim này xúc tác, vi phạm các quá trình trao đổi xacarit, lipid, protein.

Triệu chứng bệnh lí đặc trưng khi thiếu vitamin B₆ là các bệnh ngoài da, thần kinh, sụt cân, rụng tóc, rụng lông...

Nhu cầu vitamin B₆ hàng ngày đối với người bình thường là 1,5 – 2,8mg; đối với trẻ em là 0,5 – 2mg.

Thực vật và nhiều vi sinh vật có khả năng sinh tổng hợp vitamin B₆ đủ đáp ứng nhu cầu của chúng. Động vật nhai lại cũng không cần có vitamin B₆ trong thức ăn vì vi sinh vật trong ruột của chúng có thể tổng hợp vitamin này đủ cung cấp cho cơ thể động vật chủ.

Cả 3 dạng của vitamin B₆ đều bền khi đun sôi trong dung dịch axit hoặc kiềm, nhưng không bền khi có các chất oxy hoá. Dưới tác dụng chiếu sáng, trong môi trường trung tính hoặc môi trường kiềm, vitamin B₆ bị phân huỷ nhanh ; trong môi trường axit (HCl 0,1 N), các dạng piridoxin và piridoxal bền hơn so với dạng piridoxamin.

Sự biến đổi hàm lượng vitamin B₆ trong nguyên liệu rất khác nhau phụ thuộc nhiều vào điều kiện bảo quản và chế biến chúng.

5. Vitamin C

Có nhiều trong rau quả tươi, đặc biệt là các loại : quả cam, chanh, dưa chuột, ớt, thì là, rau cải, hành v.v. Các loại hạt ngũ cốc, trứng, thịt, hầu như không có vitamin C. Vitamin C được tổng hợp ở thực vật và nhiều động vật trừ khỉ, chuột bạch, người.

Vitamin C tham gia trong nhiều quá trình quan trọng của cơ thể sống như :

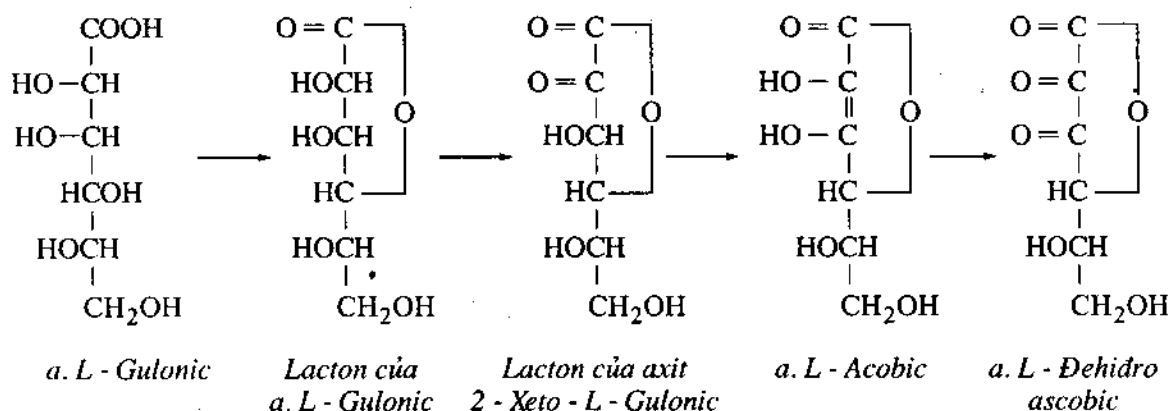
a) Quá trình hidroxil hoá do hidroxilaz (oxigenaz) xúc tác. Ví dụ hidroxil hoá prolin, lizin trong phân tử collagen. Thiếu vitamin C, collagen mới được tạo thành không được hidroxil hoá, không tạo được dạng xoắn ba nên có độ bền kém, do đó da dễ bị thương tổn, thành mạch máu mỏng manh dễ bị vỡ, gây ra bệnh hoại huyết. Vitamin C tham gia trong quá trình chuyển hoá protocollagen thành collagen nên nó còn có tác dụng làm cho vết thương chóng thành sẹo.

b) Duy trì cân bằng giữa các dạng ion Fe^{2+}/Fe^{3+} , Cu^{+}/Cu^{2+} .

c) Vận chuyển hidro trong quá trình oxy hoá – khử ở thực vật.

d) Làm tăng tính đề kháng của cơ thể đối với những điều kiện không thuận lợi của môi trường ngoài, các độc tố bệnh nhiễm trùng, giảm các triệu chứng bệnh lí do tác dụng phóng xạ. Ngoài ra vitamin C còn tham gia trong nhiều quá trình tổng hợp, chuyển hoá các chất khác nhau.

Thiếu vitamin C, ở người bị bệnh scobut (scurbutus) với các triệu chứng bệnh lí như chảy máu ở lợi răng, các lỗ chân lông hoặc các nội quan. Nhu cầu vitamin C hàng ngày của người lớn là 50–100mg, còn đối với trẻ em vào khoảng 30–70 mg. Về mặt cấu tạo hoá học (hình 37), vitamin C (axit L – ascorbic) là dạng lacton của axit 2-xeto-L-gulonic :



Do đó ta thấy vitamin C là sản phẩm oxi hoá của các đường. Nó được tổng hợp từ glucos (ở thực vật và động vật), từ galactos (ở một số thực vật). Phân tử vitamin C có chứa en-di-ol, dễ dàng bị loại H tạo thành axit dehidroascobit (cũng có hoạt tính vitamin C). Hoạt tính vitamin bị mất khi vòng lacton bị thủy phân. Trong tự nhiên, vitamin C còn có thể tồn tại ở dạng liên kết với các chất khác, gọi là ascobigen là dạng dự trữ vitamin C quan trọng. Người ta cũng giả thiết rằng ascobigen có vai trò quan trọng trong quá trình trao đổi chất ở thực vật bậc cao. Vitamin C hoà tan tốt trong nước, dung dịch có vị axit, có tính hoạt quang và có tính khử mạnh. Axit ascobit có khả năng khử dung dịch Fehling, bạc nitrat, 2,6-diclorophenolindophenol. Do đó có thể sử dụng tính chất này để định lượng axit ascobit. Ngoài ra, cũng có thể sử dụng axit ascobit làm chất chống oxi hoá trong kỹ nghệ thực phẩm.

6. Vitamin B₁₂

Thiếu vitamin B₁₂ bị bệnh thiếu máu ác tính. Vitamin B₁₂ tham gia trong thành phần cấu tạo của các enzym xúc tác cho các phản ứng :

- Sắp xếp lại các nhóm thế của 2 cacbon ở liền nhau trong phân tử.
- Phản ứng chuyển hoá ribonucleotit thành deoxiribonucleotit.
- Phản ứng chuyển vị nhóm metil.

7. Vitamin B₁₅ (antianoxi, axit pangamic) có vai trò quan trọng đối với quá trình trao đổi oxi trong cơ thể, kích thích các quá trình chuyển hoá oxi hoá, có thể là chất cho nhóm metil.

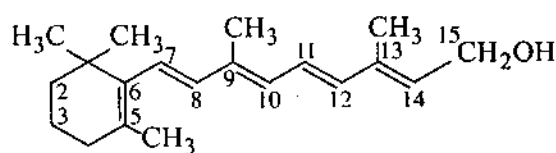
8. Vitamin B_c (axit folic), thiếu vitamin này cũng bị thiếu máu. Từ axit folic dễ dàng chuyển thành axit tetrahydrofolic (CoF, FH₄) là coenzim của các enzym xúc tác cho phản ứng chuyển vị nhóm chứa 1 cacbon (nhưng không phải là CO₂).

9. Vitamin H (biotin), là yếu tố sinh trưởng của nấm men và người. Biotin là thành phần cấu tạo của các enzym xúc tác cho các phản ứng cacboxil hoá. Thiếu biotin sẽ xuất hiện các triệu chứng như sưng ngoài da, rụng tóc v.v.. Biotin có trong nhiều thực phẩm và được tổng hợp bởi vi khuẩn đường ruột, vì vậy ít khi bị bệnh thiếu biotin trừ khi ăn nhiều trứng sống có nhiều avidin (Mr = 70.000) kết hợp rất chặt với biotin, ngăn cách việc hấp thu nó qua đường ruột non.

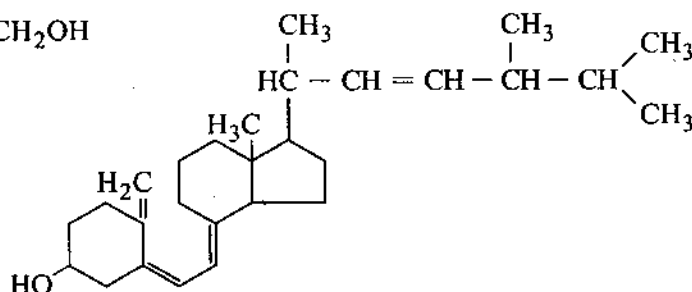
Ngoài các vitamin đã nêu trên, thuộc nhóm vitamin tan trong nước còn có nhiều vitamin khác cũng có vai trò khác quan trọng đối với người và động vật.

II - CÁC VITAMIN TAN TRONG CHẤT BÉO

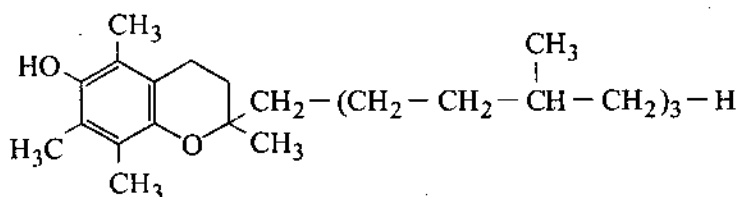
Công thức cấu tạo của các vitamin tan trong chất béo :



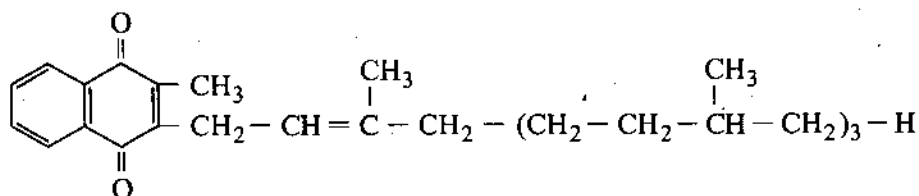
*Retinol (vitamin A₂,
dạng alcol antixetophthalmic)*



*Canxipherol
(vitamin D₂, antirakhitic)*



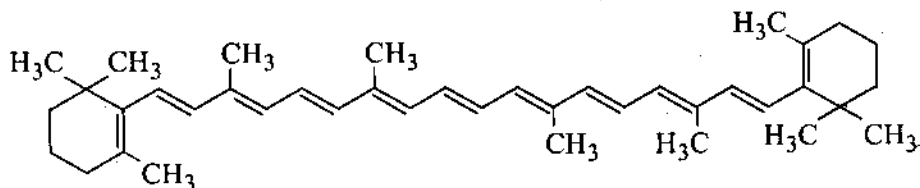
α - Tocopherol (vitamin E, antisteril)



Filokinon (vitamin K₁, antihemoragic)

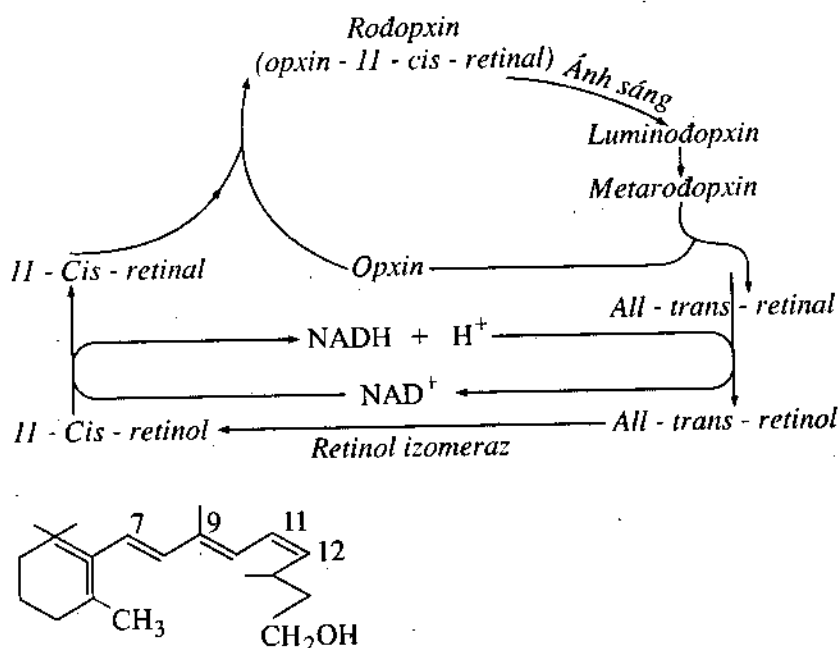
1. Vitamin A

Các vitamin nhóm này có nhiều trong dầu cá, lòng đỏ trứng... Trong thực vật có chứa tiền chất của vitamin A (provitamin A) là caroten. Caroten có nhiều trong các loại quả có màu da cam (gấc, cà rốt, bí đỏ, xoài, đu đủ v.v.), trong rau ngót. Có nhiều dạng caroten (α , β , γ , δ) nhưng β -caroten có hoạt tính vitamin A cao hơn cả vì lượng vitamin A được tạo thành khi phân giải β -caroten lớn gấp 2 lần khi phân giải các dạng khác. β -caroten có công thức như sau :



Trong số các vitamin nhóm A có 2 dạng quan trọng là vitamin A₁ và vitamin A₂. Vitamin A₂ khác vitamin A₁ ở chỗ trong vòng có thêm một nối đôi giữa C₃ và C₄. Trong cơ thể, dưới tác dụng của enzym tương ứng (retinol dehydrogenaz) nhóm alcol của vitamin A dễ dàng bị oxi hoá

đến aldehyt (all-trans-retinal, vẫn có hoạt tính vitamin A). Nối đôi giữa C₁₁ và C₁₂ của retinal có thể chuyển thành dạng cis (11-cis-retinal), 11-cis-retinal kết hợp với protein opsin tạo nên sắc tố của mắt là rodopsin. Rodopsin là protein nhận ánh sáng (photoreceptor protein) có trong tế bào hình que của màng lưới mắt người và động vật có vú. Tế bào này hoạt động trong ánh sáng yếu, thích nghi với bóng tối. Dưới tác dụng của ánh sáng, nhóm thêm của rodopsin chuyển từ dạng cis thành dạng trans nên mất khả năng kết hợp với opsin, sẽ tách ra khỏi protein này. Ngược lại trong tối sẽ tái tạo lại dạng 11-cis-retinal và rodopsin được tổng hợp trở lại, làm tăng độ nhạy cảm của mắt trong ánh sáng yếu. Có thể tóm tắt sự tham gia của vitamin A trong quá trình trên theo sơ đồ sau :



Ngoài ra, vitamin A còn có vai trò quan trọng đối với quá trình trao đổi protein, lipid, xacarit và trao đổi khoáng. Thiếu vitamin A bị bệnh quáng gà, khô mắt, ngừng lớn, sút cân, giảm khả năng đề kháng đối với các bệnh nhiễm trùng.

Nhu cầu vitamin A hằng ngày đối với người lớn là 3000-5000 UI còn đối với trẻ em tùy lứa tuổi, có thể là 1500 UI/ngày (0-1 tuổi) hoặc 4000-5000 UI/ngày (trên 10 tuổi). 1UI = 0,3mcg retinol kết tinh. Theo tài liệu của Hà Huy Khởi và tập thể thì nhu cầu vitamin A ở trẻ em là 300mcg, ở người lớn là 750mcg.

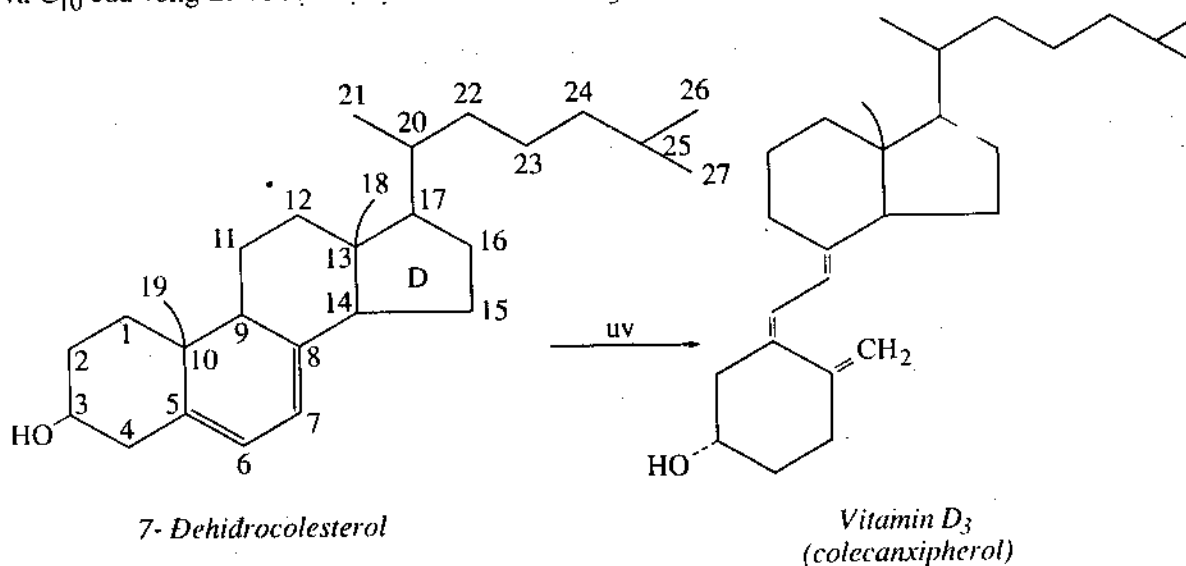
Vitamin A bền với axit, kiềm ở nhiệt độ không quá cao, nhất là trong điều kiện yếm khí. Vitamin A dễ bị phân huỷ khi có oxi. Ánh sáng làm tăng nhanh quá trình oxi hoá vitamin A. Hàm lượng vitamin A trong nguyên liệu biến đổi ít nhiều tùy thuộc vào điều kiện bảo quản và chế biến. Các chất chống oxi hoá có tác dụng bảo quản tốt vitamin A.

2. Vitamin D (antirachitic)

Vitamin D có nhiều trong dầu gan cá thu, dầu dừa, lòng đỏ trứng, sữa v.v.

Về mặt hoá học, vitamin D là dẫn xuất của sterol. Hai dạng phổ biến và quan trọng nhất của các vitamin nhóm D là D₂ và D₃. Các vitamin này được tạo thành từ các provitamin tương ứng : D₂

được tạo thành từ ecgosterol, D₃ được tạo thành từ 7-dehydrocolesterol. Sự chuyển hoá provitamin D thành vitamin D xảy ra dưới tác dụng của tia tử ngoại, làm cắt đứt liên kết giữa C₉ và C₁₀ của vòng B. Ví dụ : sự tạo thành vitamin D₃ như sau :



Một ít vitamin D₃ (colescanxipherol) được dự trữ trong cơ, trong tế bào mỡ, còn phần lớn được hidroxil hoá ở gan (ở vị trí thứ 25) và ở thận (ở vị trí 1) tạo thành 1,25 - dihidroxil colescanxipherol. Chất này có tác dụng tạo điều kiện cho ruột hấp thụ canxi và photpho, tạo điều kiện chuyển canxi vào xương và kích thích tái hấp thụ photphat ở ống thận, duy trì cân bằng P/Ca⁺⁺ nội môi. Do đó, vitamin D có vai trò kiểm tra quá trình trao đổi canxi và photpho trong cơ thể người và động vật.

Thiếu hoặc thừa vitamin D đều ảnh hưởng đến nồng độ photpho và canxi trong máu. Thiếu vitamin D, ở trẻ em thường bị bệnh còi xương (rachitisme) ở người lớn bị nhuyễn xương.

Nhu cầu vitamin D hàng ngày đối với người lớn sống ở điều kiện thiếu ánh sáng là 25microgam, đối với trẻ em dưới 30 tháng có thể dùng 10 microgam/ngày. Người già, phụ nữ có thai hoặc cho con bú, trẻ em đang lớn cần nhiều vitamin D hơn.

Vitamin D cũng cần thiết cho động vật có sừng, gà, chim.

Vitamin D có thể chịu được nhiệt độ thường dùng trong quá trình chế biến, nhưng dễ bị phân huỷ (cắt đứt nối đôi giữa C₇ và C₈) khi có chất oxi hoá hoặc axit vô cơ.

3. Vitamin E (tocopherol)

Tocopherol (tocos = con cháu, pherol = sinh ra) khá phổ biến ở cây xanh, rau xà lách, hạt ngũ cốc, dầu thực vật, gan bò, lòng đỏ trứng v.v. và có nhiều trong mầm hạt hoà thảo.

Thuộc vitamin nhóm E có nhiều dạng khác nhau như : α , β , γ , δ v.v.. Các dạng này khác nhau về số lượng và vị trí gốc metil gắn vào vòng thơm trong phân tử. Trong số các dạng kể trên, α -tocopherol có hoạt tính sinh học cao hơn cả.

Vitamin E có khả năng chuyển hoá thuận nghịch giữa 2 dạng kinon và hidrokinon nên nó có thể tham gia trong phản ứng oxi hoá khử.

1878-9
XGGOB
XNGB

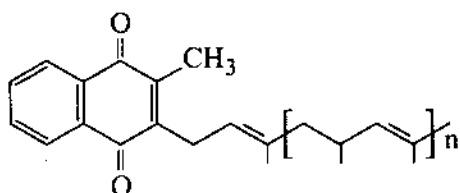
[illegible]

1878-9
XGGOB
XNGB

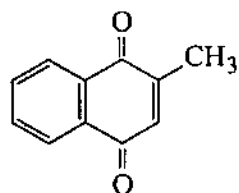
1878-9
XGGOB
XNGB

[illegible][illegible]

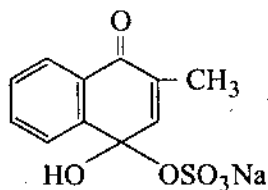
1878-9
XGGOB
XNGB



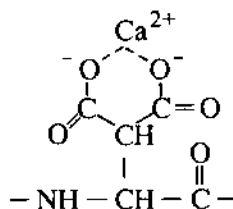
Vitamin K₂ (menaquinon)



Vitamin K₃ (menadion)



Vicasol (hoà tan trong nước)



Một gốc γ - cacboxiglutamat

Vitamin K cần cho quá trình sinh tổng hợp các yếu tố đông máu (protrombin, yếu tố X, yếu tố V v.v.). Vitamin K tham gia trong hệ thống enzym xúc tác cho quá trình cacboxyl hoá vị trí γ của 10 gốc axit glutamic ở đầu-N của protrombin làm cho nó có khả năng kết hợp mạnh với Ca^{2+} . Do kết hợp với Ca^{2+} , protrombin được đưa vào bề mặt màng photpholipit được tạo thành khi bị thương chảy máu làm cho nó gắn với yếu tố X_a và yếu tố V, do đó làm tăng nhanh quá trình hoạt hoá protrombin lên 10^4 lần. Khi hoạt hoá, trombin được giải phóng vào huyết tương, xúc tác cho quá trình chuyển hoá fibrinogen thành fibrin làm cho máu đông.

Tuy nhiên, tác dụng của vitamin K còn phụ thuộc vào chức năng bình thường của gan.

Thiếu vitamin K máu chậm đông. Hiện tượng thiếu vitamin K có thể do nhiều nguyên nhân khác nhau :

- Thức ăn cung cấp không đủ.
- Khả năng hấp thụ vitamin K kém do hệ tiêu hoá bị vi phạm (niêm mạc ruột bị vi phạm, thiếu mật v.v.).
- Rối loạn vi khuẩn đường ruột nên chúng không tổng hợp đủ vitamin K cho cơ thể.
- Hệ thống tuần hoàn kém hoặc do dùng thuốc chống đông máu nhiều.

Ở người khỏe mạnh, nếu chế độ ăn bình thường, hợp lý, vi khuẩn đường ruột có khả năng cung cấp đủ vitamin K cho cơ thể (4mg trong 24 giờ) nên chỉ cần khoảng 0,2–0,3mg vitamin K trong thức ăn hằng ngày.

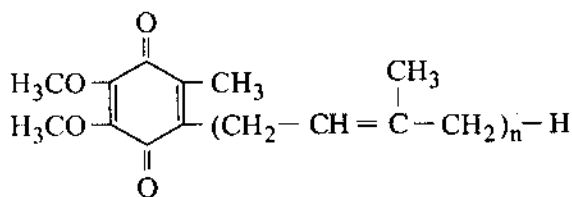
Vitamin K có thể chuyển hoá thuận nghịch thành dạng hidrokinon có thể tham gia vận chuyển điện tử trong quá trình quang photphoril hoá ở thực vật xanh và quá trình photphoril hoá oxi hoá ở động vật.

Vitamin K₁ là chất lỏng màu vàng nhạt, vitamin K₂ và K₃ là những tinh thể màu vàng. Vitamin K khá bền khi đun trong dung dịch nước nhưng bị phá hủy nhanh khi đun trong môi trường kiềm. Vitamin K cũng bị phân hủy nhanh dưới tác dụng của tia tử ngoại.

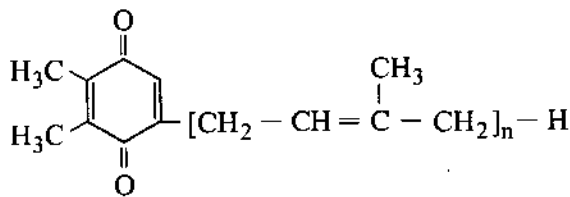
Ngoài 4 vitamin tan trong chất béo đã nêu, trong một số tài liệu còn kể đến vitamin Q và vitamin F.

5. Vitamin Q

Vitamin Q có cấu tạo hoá học gần giống vitamin K, là dẫn xuất của benzokinon với chuỗi bên là poliizoprenoit :



Ubikinon
($n = \text{từ } 5 + 10$)



Plastokinon
($n = \text{từ } 6 + 10$)

Chuỗi bên izoprenoit làm cho phân tử có tính không phân cực cao, có thể khuếch tán nhanh chóng vào pha hidrocarbon của màng trong ti thể. Vòng kinon có thể chuyển hoá thuận nghịch thành dạng hidrokion, do đó chúng tham gia trong hệ thống oxi hoá khử của tế bào.

Ubikinon phổ biến ở động vật thực vật và vi sinh vật. Số đơn vị izoprenoit (n) trong phân tử ubikinon thay đổi tùy loài. Ở vi khuẩn từ 5 đến 9, ở động vật từ 6 đến 10. Dạng ubikinon phổ biến nhất ở động vật có vú và thực vật có $n = 10$, gọi là coenzim Q_{10} . Coenzim này không chỉ là chất vận chuyển điện tử giữa flavoprotein và xitocrom b trong chuỗi hô hấp, mà còn vận chuyển điện tử từ axit succinic và từ các chất trung gian của quá trình trao đổi axit béo.

Plastokinon có trong lục lạp của tế bào, dạng có hoạt tính sinh học có chứa 9 đơn vị izoprenoit trong phân tử. Plastokinon có vai trò như chất vận chuyển điện tử trong quá trình quang photphoril hoá.

6. Vitamin F

Vitamin F bao gồm các axit béo không no như axit linoleic, linolenic, arachidonic v.v. Cơ chế tác dụng của các chất này chưa được xác định rõ, chúng có thể tham gia điều hoà quá trình trao đổi lipid, tạo điều kiện cho cholesterol hoà tan và loại chúng khỏi cơ thể. Các kết quả nghiên cứu cho thấy vitamin F có tác dụng nuôi da, tiêu mỡ.

Thiếu vitamin F, súc vật chậm lớn, viêm da, rụng lông, hoại tử đuôi. Triệu chứng thiếu vitamin F ít thấy ở người, tuy nhiên vitamin F được dùng trong điều trị bệnh eczema ở mặt, ở chân, bệnh da do dị ứng, bệnh xơ vữa động mạch...

Vitamin F có nhiều trong các loại dầu thực vật được dùng làm thực phẩm.

Hầu hết các phản ứng hoá học xảy ra trong hệ thống sống đều do các protein đặc biệt xúc tác, các protein này gọi là enzim hay fecmen (ferment). Enzim có trong mọi tế bào sống, vì vậy cũng được gọi là các chất xúc tác sinh học. Tuy nhiên, enzim không những có thể xúc tác cho các phản ứng xảy ra trong hệ thống sống, mà sau khi tách khỏi hệ thống sống chúng vẫn có thể xúc tác cho các phản ứng ở ngoài tế bào (in vitro). Tóm lại, có thể nói *enzim là những protein có khả năng xúc tác đặc hiệu cho các phản ứng hoá học, là các chất xúc tác sinh học.*

Mặc dù phần lớn các enzim đã biết có bản chất là protein, nhưng không phải chỉ protein mới có hoạt tính xúc tác. Khoảng năm 1981, hai nhóm nhà khoa học là Xéc (Tom R. Cech) và Anman (Sidney Altman), tiến hành nghiên cứu độc lập đã phát hiện một số ARN có hoạt tính xúc tác, được đặt tên là *ribozim* (xuất phát từ các tên : riboz và ezim). Phát minh này có ý nghĩa to lớn vì vậy đã được nhận giải thưởng Nobel năm 1989. Việc phát hiện được hoạt tính xúc tác của ARN mở ra một kỉ nguyên mới, làm thay đổi quan niệm của chúng ta về sự tiến hoá phân tử. ARN vừa mang thông tin di truyền lại vừa là chất xúc tác, do đó có thể nghĩ rằng ARN xuất hiện trước ADN và protein trong quá trình tiến hoá của sự sống. Vấn đề "con gà có trước hay quả trứng có trước" lại được đặt ra.

Các bằng chứng về hoạt tính xúc tác của ARN

Nghiên cứu ribonucleaz P : enzim này bao gồm phần protein và ARN, xúc tác cho phản ứng chuyển hoá tiền chất ARN_p (pre- ARN_p) thành ARN_r . Các kết quả khảo sát vai trò của mỗi thành phần đối với hoạt tính xúc tác của enzim cho thấy chỉ riêng phần protein (tách khỏi ARN) không có hoạt tính xúc tác ; ngược lại, riêng ARN trong điều kiện có ion Mg với nồng độ đủ cao có hoạt tính nucleaz. Các nghiên cứu tiếp theo cho thấy phần ARN có chứa trung tâm hoạt động, có đủ các tính chất của enzim như : có tính đặc hiệu cơ chất, tạo thành phức trung gian với cơ chất, động học xúc tác tuân theo phương trình Michaelis-Menten. Phần protein của ribonucleaz P có vai trò làm tăng hoạt tính xúc tác của ARN trong phản ứng của nó, nhưng không có vai trò trong việc kết hợp, cắt đứt các liên kết của cơ chất (xem phần sau).

Quá trình chuyển hoá tiền chất ARN_p (pre-rRNA) thành ARN_r ở *Tetrahymena* cũng là quá trình tự cắt không cần có protein.

Tiền chất ARN của ti thể, nấm men, nấm mốc cũng có khả năng tự cắt ; một số tiền chất ARN trong lục lạp của cơ thể đơn bào như *Clamylomonas* cũng có thể tự cắt để chuyển thành dạng "chín" thực hiện chức năng của nó.

Trong mấy năm gần đây đã có nhiều nghiên cứu cấu trúc và chức năng của nhiều ribozim, một số ribozim đã được nghiên cứu cấu trúc không gian chi tiết, xác định được cách cuộn phân tử của chúng. Tất cả các ribozim đều xúc tác cho phản ứng cắt, nối các đoạn của phân tử ARN bằng

phản ứng chuyển vị este photphat, phản ứng chuyển vị photphoril hoặc thủy phân các nhóm photphat. Tuy nhiên cũng còn nhiều vấn đề về cơ chế xúc tác của chúng vẫn chưa được biết rõ.

Kích thước của các ribozim cũng khác nhau nhiều : các ribozim loại bé chỉ bao gồm khoảng 50 đến 150 nucleotit, các ribozim khác (nhóm intron I, II và ribonucleaz P) có kích thước lớn hơn, khoảng vài trăm nucleotit, có cấu trúc phức tạp hơn. Hai loại này cũng khác nhau về cơ chế phản ứng cắt, nối.

Các enzym có bản chất là protein

Đến nay người ta đã biết và phân loại được hơn 3500 enzym có bản chất là protein.

Những thành tựu nghiên cứu cơ bản về enzym là cơ sở để phát triển các nghiên cứu ứng dụng enzym trong thực tế.

Ứng dụng enzym

Enzym thường được sử dụng theo hai cách sau :

- Không tách enzym khỏi nguyên liệu mà chỉ tạo điều kiện thuận lợi cho hoạt động của một hoặc một số enzym sẵn có trong nguyên liệu để chúng chuyển hoá các chất có cùng trong nguyên liệu ấy theo hướng ta mong muốn.

- Tách enzym khỏi nguyên liệu ở dạng chế phẩm để sử dụng khi cần thiết.

Do đó có thể tận dụng các nguồn nguyên liệu giàu enzym để tách enzym, dùng chế phẩm enzym này để chế biến các nguyên liệu khác nhau hoặc sử dụng vào những mục đích khác nhau. Việc sử dụng enzym theo cách này ngày càng phát triển dẫn đến việc hình thành ngành *công nghệ enzym* ở nhiều nước, hằng năm sản xuất hàng trăm tấn chế phẩm enzym để phục vụ cho các ngành sản xuất khác nhau và cho y học. Ví dụ : năm 1980 trên thế giới đã sản xuất 530 tấn proteaz từ vi khuẩn, 350 tấn glucoamilaz, 320 tấn α - amilaz, 70 tấn glucoizomeraz, tất cả trị giá 150 triệu đôla Mỹ. Theo dự tính đến năm 2000, sản xuất chế phẩm enzym bằng phương pháp kĩ thuật sinh học sẽ đạt 500 triệu đôla Mỹ.

Vì sinh vật là nguồn nguyên liệu tốt của ngành công nghệ enzym vì chúng có tốc độ sinh trưởng phát triển nhanh trên các môi trường không đắt tiền. Hơn nữa, chúng ta có thể chủ động điều khiển quá trình sinh tổng hợp enzym, nâng cao hàm lượng enzym trong tế bào của chúng để dùng hơn so với thực vật và động vật.

Từ 1950 đã có nhiều công trình nghiên cứu tạo các *chế phẩm enzym không tan* bằng cách gắn enzym vào các chất không hoà tan như thủy tinh, xenluloz, nilon v.v. Nhờ ở dạng không tan nên có thể sử dụng lặp lại nhiều lần một lượng enzym xác định, vì vậy nâng cao hiệu quả sử dụng enzym. Các chế phẩm enzym không tan còn được sử dụng có hiệu quả trong y học, trong nghiên cứu mô hình hoá hệ thống sống.

Trong thời gian gần đây, với sự phát triển của công nghệ sinh học, người ta đã có thể thay đổi một hay một số gốc axit amin trong phân tử enzym để làm thay đổi tính chất enzym theo yêu cầu sử dụng (ví dụ làm tăng độ bền của enzym).

Enzym được sử dụng rộng rãi trong nhiều lĩnh vực khác nhau : như trong nghiên cứu cấu trúc phân tử, định lượng các chất trong nông nghiệp, công nghiệp và trong y học.

Sau đây sẽ nêu một số ví dụ :

- Sử dụng các proteaz nghiên cứu cấu trúc phân tử protein ; các endonucleaz hạn chế để nghiên cứu cấu trúc phân tử axit nucleic.
- Sử dụng enzym định lượng các chất : ureaz để định lượng ure trong nước giải ; amilaz để định lượng tinh bột ; glucozooxidaz để định lượng glucoz v.v.

– Trong nông nghiệp : enzym được sử dụng để chế biến các thức ăn cho động vật, đặc biệt là động vật còn non, nâng cao hiệu quả sử dụng thức ăn của chúng, cai sữa sớm.

– Trong công nghiệp : các chế phẩm enzym được sử dụng rộng rãi trong nhiều ngành công nghiệp nhẹ như công nghiệp dệt, công nghiệp da, công nghiệp chế biến thực phẩm. Trong công nghiệp thực phẩm enzym được dùng trong quá trình chế biến cá, thịt, sữa, chế biến hoa quả, sản xuất các loại nước uống, sản xuất bánh kẹo, bánh mì v.v.

Sử dụng enzym làm tăng nhanh quá trình chế biến, tăng hương vị và giá trị dinh dưỡng của sản phẩm.

– Trong y học, enzym được sử dụng làm thuốc chữa bệnh, sản xuất một số thuốc v.v.

I - CẤU TẠO HOÁ HỌC CỦA ENZIM

Bản chất hoá học của phần lớn enzym là protein. Bản chất hoá học của enzym chỉ được xác định đúng đắn từ sau khi kết tinh được enzym. Enzim đầu tiên nhận được ở dạng tinh thể là ureaz của đậu tương (Sumner, 1926), tiếp theo là pepsin và tripsin (Northrop và Kuritz, 1930, 1931). Sau đó một số nhà nghiên cứu khác cũng đã kết tinh được một số enzym khác và đã có đủ bằng chứng xác nhận các tinh thể protein nhận được chính là các enzym.

– Phần lớn enzym có dạng hạt như các protein hình hạt, tỉ lệ giữa trục dài và trục ngắn của phân tử vào khoảng 1–2 hoặc 4–6. Các enzym cũng có khối lượng phân tử lớn, enzym có khối lượng phân tử bé nhất là ribonucleaz (12700 dalton). Đa số enzym có khối lượng phân tử từ 20000 đến 90000 hoặc vài trăm nghìn, một số có khối lượng phân tử đến một triệu hoặc lớn hơn.

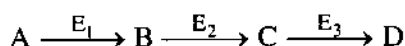
– Giống với các protein hình hạt khác, các enzym có thể hoà tan trong nước, trong dung dịch muối loãng nhưng không tan trong dung môi không phân cực. Dung dịch enzym có tính chất của dung dịch keo ưa nước. Khi hoà tan enzym vào nước, các phân tử nước lưỡng cực sẽ kết hợp với các ion các nhóm ion hoặc các nhóm phân cực trong phân tử enzym tạo thành lớp vỏ hydrat. Lượng nước hydrat này có vai trò quan trọng đối với các phản ứng sinh hoá.

– Enzim trong dung dịch dễ dàng bị kết tủa dưới tác dụng của các yếu tố vật lý và hoá học vốn làm kết tủa protein. Ví dụ : dưới tác dụng của muối trung hoà như amon sunfat hoặc các dung môi hữu cơ như etanol, axeton ở nhiệt độ thấp, enzym bị kết tủa nhưng không mất hoạt tính xúc tác. Ngược lại, dưới tác dụng của các yếu tố gây biến tính protein (nhiệt độ cao, axit hoặc kiềm đặc, muối kim loại nặng ở nồng độ cao) phần lớn enzym bị mất hoạt tính xúc tác. Điều đáng lưu ý là mức giảm hoạt độ tương ứng với mức độ biến tính của phân tử protein enzym. Các tính chất đã nêu được sử dụng để thu nhận chế phẩm enzym có hoạt tính xúc tác hoặc để ức chế enzym khi cần thiết.

– Enzim được cấu tạo từ các L- α axit amin kết hợp với nhau qua liên kết peptit. Các kết quả nghiên cứu cho thấy các enzym cũng bị thủy phân dưới tác dụng của các peptit-hidrolaz, axit hoặc kiềm. Khi enzym bị thủy phân hoàn toàn tạo thành các L- α axit amin, trong nhiều trường hợp ngoài axit amin còn nhận được các chất khác. Trong trường hợp thứ nhất enzym là một protein đơn giản, gọi là *enzim một thành phần* ; trường hợp thứ hai, enzym là một protein phức tạp, gọi là *enzim hai thành phần*. Phân tử enzym hai thành phần (*holoenzim*) bao gồm phần protein (*apoenzim*) kết hợp với một nhóm khác không phải protein gọi là nhóm ngoại hoặc coenzim. Một coenzim khi kết hợp với các apoenzim khác nhau, tạo thành các holoenzim khác nhau, xúc tác cho quá trình chuyển hoá các chất khác nhau nhưng giống nhau về kiểu phản ứng. Apoenzim quyết định tính đặc hiệu cao của enzym và làm tăng hoạt tính xúc tác của coenzim. Coenzim quyết định kiểu phản ứng

mà enzym xúc tác, trực tiếp tham gia trong phản ứng và làm tăng độ bền của apoenzym đối với các yếu tố gây biến tính. Các coenzim thường là dẫn xuất của các vitamin hoà tan trong nước (hình 37). Đa số enzym thuộc loại enzym 2 thành phần. Đến nay người ta cũng đã xác định được rằng phần lớn các enzym trong tế bào là những protein có cấu trúc bậc 4. Ở những điều kiện xác định, phân tử của chúng có thể phân li thuận nghịch tạo thành các phần dưới đơn vị (pđv), hoạt độ enzym bị giảm hoặc có thể bị mất hoàn toàn. Ở những điều kiện thích hợp, các pđv lại có thể kết hợp lại với nhau và hoạt độ xúc tác của enzym được hồi phục.

Trong tế bào còn tồn tại *hệ thống nhiều enzym* (multienzyme) : bao gồm các enzym xúc tác cho dây chuyền phản ứng của một quá trình trao đổi chất xác định, trong đó sản phẩm của phản ứng do một enzym xúc tác là cơ chất của enzym xúc tác cho phản ứng tiếp theo. Ví dụ: hệ thống gồm 3 enzym E_1, E_2, E_3 xúc tác cho dây chuyền phản ứng như sau :



Trong sơ đồ trên, B là sản phẩm của phản ứng do E_1 xúc tác nhưng lại là cơ chất của E_2 .

Các enzym trong hệ thống nhiều enzym có thể tồn tại riêng rẽ ở dạng hoà tan, không liên kết với nhau hoặc có thể kết tụ với nhau, liên kết với nhau khá bền tạo thành *phức hệ nhiều enzym*. Khi tách riêng khỏi phức hệ enzym, sẽ mất hoạt tính xúc tác. Ngoài ra, một số hệ thống enzym có thể liên kết với các màng, cơ quan tử của tế bào (màng ti thể, riboxom v.v.).

Trung tâm hoạt động của enzym

Bản chất hoá học của enzym là protein, do đó cấu trúc không gian của toàn bộ phân tử có vai trò quan trọng đối với hoạt tính xúc tác của enzym. Tuy nhiên, có một phần nhỏ của phân tử enzym chứa các nhóm chức trực tiếp kết hợp với *cơ chất* (chất phản ứng bị chuyển hoá dưới tác dụng của enzym) tham gia trực tiếp trong việc hình thành, cắt đứt các liên kết v.v. để tạo thành sản phẩm phản ứng, gọi là *trung tâm hoạt động* (TTHĐ) của enzym. Từ các kết quả nghiên cứu TTHĐ của nhiều enzym người ta đã rút ra một số nhận xét chung như sau :

- TTHĐ của enzym chỉ chiếm một tỉ lệ thể tích tương đối bé của phân tử enzym.
- TTHĐ bao gồm nhiều nhóm chức khác nhau của axit amin, phân tử nước liên kết và trong nhiều trường hợp có cả ion kim loại, các nhóm chức của coenzim (enzim 2 thành phần).

Các nhóm chức của axit amin thường gặp trong TTHĐ là : nhóm sunfidril của xistein ; nhóm amin ở đầu N hoặc ϵ -amin của lizin ; nhóm cacboxil của axit asparaginic, glutamic ; nhóm hidroxil của xerin, treonin và tirozin ; vòng indol của triptophan, vòng imidazol của histidin, nhóm guanilic của acginin.

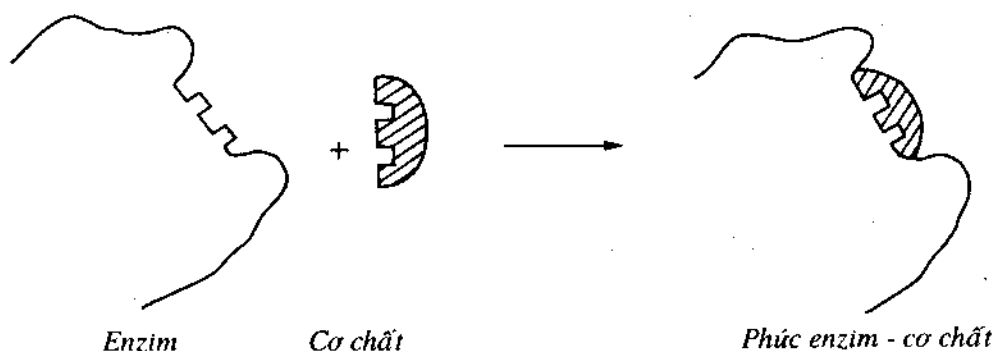
- TTHĐ có cấu trúc không gian xác định. Các nhóm chức của axit amin trong TTHĐ có thể ở xa nhau trong chuỗi mạch polipeptit, cách nhau vài chục gốc axit amin nhưng lại gần nhau trong không gian. Giữa các nhóm chức này và ion kim loại, coenzim (nếu có) được định hướng xác định trong không gian, cách nhau những khoảng cách nhất định (thường bé hơn 3Å) tạo thành *cấu hình không gian phức tạp*, được giữ vững nhờ mạng lưới liên kết hidro.

Ví dụ : TTHĐ của α -kimotripsin bao gồm nhóm hidroxil của Ser-195, imidazol của His-57 và nhóm cacboxil của Asp-102, các gốc này ở khá xa nhau trong chuỗi polipeptit nhưng giữa các nhóm chức của chúng chỉ cách nhau từ 2,8 đến 3,0Å.

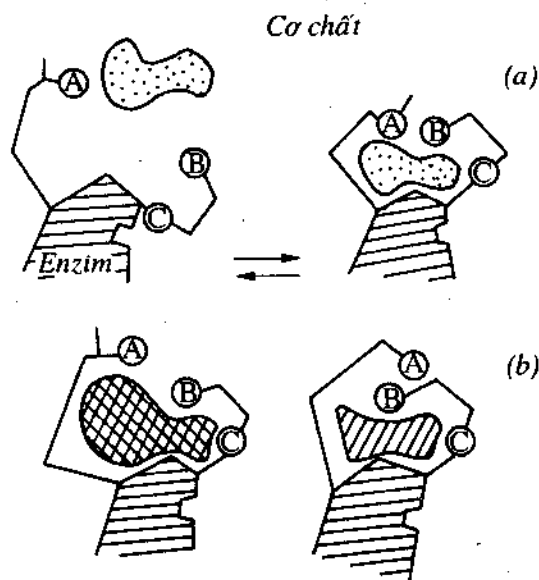
Những nghiên cứu gần đây cho thấy mạng lưới hidro này cũng đủ linh động để có thể dễ dàng thay đổi cấu tạo của nó khi tương tác với cơ chất cũng như các chất khác.

– Sự tương ứng về cấu hình không gian giữa TTHĐ và cơ chất được hình thành trong quá trình enzym tiếp xúc với cơ chất.

Theo quan niệm trước đây (Emil Fischer, 1890) thì TTHĐ của enzym vốn có cấu trúc không gian tương ứng với cấu trúc phân tử cơ chất cũng giống như tương ứng giữa ổ khoá và chìa khoá (hình 38). Quan niệm này đã nêu được một hình ảnh khá rõ ràng về sự tương ứng hình thể giữa enzym và cơ chất đã được thừa nhận trong một thời gian dài. Tuy nhiên, hiện nay đã có nhiều dẫn liệu thực nghiệm chứng minh cấu trúc không gian của enzym cũng như protein không cứng mà mềm dẻo, linh động. Theo quan niệm hiện nay, khi enzym tương tác với cơ chất, các nhóm chức ở trong phần TTHĐ của phân tử enzym thay đổi vị trí trong không gian, tạo thành hình thể khớp với hình thể của cơ chất (hình 39), vì vậy gọi là sự “khớp cảm ứng”.



Hình 38 - Sơ đồ minh hoạ sự tương ứng về cấu trúc giữa enzym và cơ chất theo thuyết ổ khoá và chìa khoá của Fisor (E. Fischer).



Hình 39 - Sơ đồ minh hoạ thuyết tiếp xúc cảm ứng (khớp cảm ứng) của Koshland.

A, B, C là các nhóm chức trong trung tâm hoạt động của enzym.

(a) Phức enzym – cơ chất hoạt động

(b) Các chất có cấu trúc gần với cơ chất có thể kết hợp với enzym nhưng các nhóm A, B, C được định hướng không đúng, không tạo được cấu hình không gian đúng của trung tâm hoạt động nên phức không hoạt động.

Giữa cơ chất và TTHĐ tạo thành *nhiều tương tác yếu*, do đó có thể dễ dàng bị cắt đứt trong quá trình phản ứng để giải phóng enzym và sản phẩm phản ứng.

TTHĐ của các enzym có cấu trúc bậc 4 có thể nằm trên một phần dưới đơn vị hoặc bao gồm các nhóm chức thuộc các phần dưới đơn vị khác nhau. Trong trường hợp thứ hai, khi enzym bị phân li cấu trúc không gian của TTHĐ bị phá huỷ, làm mất hoạt tính xúc tác của nó.

Enzim alosteric (enzim dị lập thể, enzym điều hoà) ; trong phân tử của chúng ngoài trung tâm hoạt động còn có một số vị trí khác có thể tương tác với các chất khác gọi là *trung tâm alosteric* (trung tâm dị lập thể, trung tâm điều hoà). Các chất kết hợp vào các trung tâm này gọi là các *chất điều hoà alosteric* (chất điều hoà dị lập thể). Khi các chất này kết hợp với enzym làm thay đổi cấu trúc không gian của phân tử enzym, của TTHĐ do đó làm thay đổi hoạt độ xúc tác của enzym. Nếu làm tăng hoạt độ gọi là chất *điều hoà dương* ; nếu làm giảm hoạt độ gọi là chất *điều hoà âm*. Điều đáng lưu ý là các chất điều hoà này kết hợp với enzym nhưng không bị chuyển hoá dưới tác dụng của enzym mà nó kết hợp.

Hầu hết các enzym alosteric là các protein có cấu trúc bậc 4, trong phân tử thường có 2 hay một số trung tâm hoạt động, có thể kết hợp với 2 hay một số phân tử cơ chất, cơ chất có thể thực hiện chức năng của chất điều hoà – *điều hoà homotropic* (đồng hợp). Các chất điều hoà, có cấu trúc khác cơ chất – *điều hoà heterotropic* (dị hợp).

Thông thường các enzym alosteric được điều hoà theo kiểu hỗn hợp vừa là homotropic và heterotropic.

II - TÍNH ĐẶC HIỆU CỦA ENZIM

Tính đặc hiệu cao của enzym là một trong những sai khác chủ yếu giữa enzym với các chất xúc tác khác. Mỗi enzym chỉ có khả năng xúc tác cho sự chuyển hoá một hay một số chất nhất định theo một kiểu phản ứng nhất định. Đặc tính tác dụng lựa chọn cao này gọi là tính đặc hiệu hoặc tính chuyên hoá của enzym.

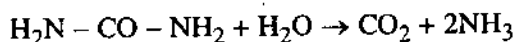
1. Đặc hiệu kiểu phản ứng

Thể hiện ở chỗ mỗi enzym chỉ có thể xúc tác cho một trong các kiểu phản ứng chuyển hoá một chất nhất định. Ví dụ : phản ứng oxi hoá khử, chuyển vị, thủy phân v.v.

2. Đặc hiệu cơ chất

Cơ chất là chất có khả năng kết hợp vào trung tâm hoạt động của enzym và bị chuyển hoá dưới tác dụng của enzym. Mức độ đặc hiệu của các enzym không giống nhau, người ta thường phân biệt thành các mức như sau :

a) *Đặc hiệu tuyệt đối* . Enzim chỉ có tác dụng trên một chất nhất định và hầu như không có tác dụng với chất nào khác. Ví dụ ureaz hầu như chỉ có tác dụng với ure, thủy phân nó thành khí cacbonic và amoniac :



Tuy nhiên, sau này người ta cũng tìm thấy rằng ureaz cũng có tác dụng đối với chất khác có cấu trúc rất gần ure (hidroxiure) nhưng với vận tốc bé hơn 120 lần so với khi dùng cơ chất ure. Các enzym khác như acginaz, glucosozidaz cũng được xếp thuộc loại có tính đặc hiệu tuyệt đối. Những enzym có tính đặc hiệu tuyệt đối được dùng để định lượng chính xác cơ chất của nó.

b) *Đặc hiệu nhóm tuyệt đối*. Các enzym này chỉ tác dụng lên những chất có cùng một kiểu cấu trúc phân tử, một kiểu liên kết và có những yêu cầu xác định đối với nhóm nguyên tử ở gần liên kết chịu tác dụng. Ví dụ : mantaz thuộc nhóm α -glucosidaz chỉ xúc tác cho phản ứng thủy phân liên kết glucosid được tạo thành từ nhóm OH glucosid của α -glucos với nhóm OH của một monoz khác.

c) *Đặc hiệu nhóm tương đối*. Mức độ đặc hiệu kém hơn nhóm trên ở chỗ enzym không có những đòi hỏi gì nghiêm ngặt đối với nhóm ở gần liên kết bị phân giải. Ví dụ : lipaz xúc tác cho phản ứng thủy phân lipit.

Phần lớn các enzym đều có tính *đặc hiệu lập thể* nghĩa là enzym chỉ tác dụng với một trong 2 dạng đồng phân không gian của các chất. Ví dụ lactatdehidrogenaz chỉ tác dụng lên axit L-lactic mà không có tác dụng với D-lactic.

Các enzym xúc tác cho phản ứng chuyển hoá axit amin ở cơ thể người và động vật thường chỉ có tác dụng với các L-axit amin. Do đó nếu đưa vào cơ thể hỗn hợp racemic chứa cả dạng D và dạng L của một axit amin nào đó (nhận được bằng phương pháp hoá tổng hợp) thì chỉ một nửa lượng axit amin này được sử dụng cho cơ thể. Trong một số trường hợp, các D-axit amin lại có tác dụng kìm hãm enzym. Ví dụ : D-asparagin làm giảm hoạt độ của asparaginaz đối với L-asparagin.

Trong tự nhiên cũng có các enzym xúc tác cho phản ứng chuyển hoá tương hỗ giữa các cặp đồng phân không gian tương ứng. Ví dụ : lactatracemaz của vi khuẩn xúc tác cho phản ứng chuyển hoá lẫn nhau giữa axit D và L lactic ; aldo-1-epimeraz xúc tác cho phản ứng đồng phân hoá α -D-glucos thành β -D-glucos ; maleinat cis-trans izomeraz của vi khuẩn xúc tác cho phản ứng đồng phân hoá giữa axit maleic (dạng cis) và axit fumaric (dạng trans) v.v. Các enzym này có vai trò quan trọng khi sản xuất các chất dinh dưỡng bằng phương pháp hoá học, vì chúng có thể chuyển các chất từ dạng cơ thể không thể sử dụng được thành dạng có thể hấp thụ.

Enzim còn có khả năng phân biệt được 2 gốc đối xứng trong phân tử giống nhau hoàn toàn về mặt hoá học. Ví dụ 2 nhóm $-\text{CH}_2\text{OH}$ trong phân tử glixerin, glixerophotphat – kinaz xúc tác cho phản ứng chuyển vị gốc photphat từ ATP đến C_3 của glixerin (chứ không phải C_1).

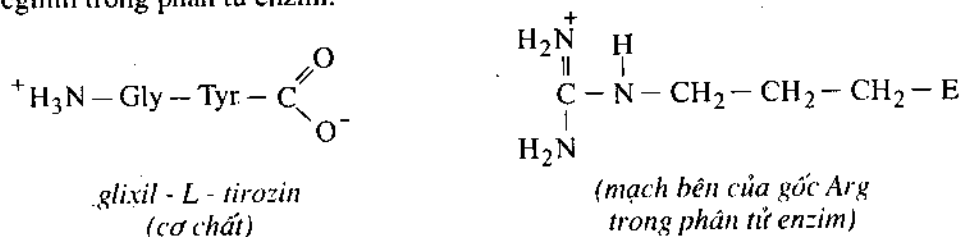
III - CƠ CHẾ TÁC DỤNG CỦA ENZIM

Sự kết hợp của cơ chất (S) vào trung tâm hoạt động của enzym (E) tạo thành *phức chất enzym - cơ chất* (ES) là giai đoạn đầu tiên của phản ứng do E xúc tác. Điều này đã được xác nhận qua nhiều dẫn liệu thực nghiệm nhận được khi dùng các phương pháp hoá lí khác nhau. Trong một số trường hợp đã quan sát được phức ES dưới kính hiển vi điện tử hoặc tách được phức ES. Phức ES rất kém bền vững, nhanh chóng chuyển hoá giải phóng sản phẩm được tạo thành và enzym tự do, E lại quay vòng xúc tác.

Các loại liên kết chủ yếu được tạo thành giữa E và S trong phức ES là : tương tác tĩnh điện, liên kết hidro, tương tác Vandecvan. Mỗi loại liên kết đòi hỏi những điều kiện khác nhau và chịu ảnh hưởng khác nhau khi có nước.

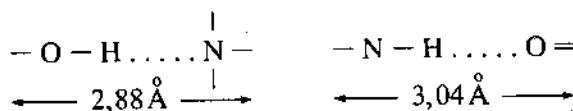
1. Tương tác tĩnh điện (còn gọi là liên kết ion, liên kết muối, cầu muối, hoặc cặp ion)

Liên kết này được tạo thành giữa nhóm tích điện của cơ chất với nhóm tích điện trái dấu trong phân tử enzym. Ví dụ trong phản ứng thủy phân dipeptit glixil-L-tirozin do cacboxipeptidaz A xúc tác, nhóm cacboxil tích điện âm của cơ chất tương tác với nhóm guanidin tích điện dương của gốc acginin trong phân tử enzym.



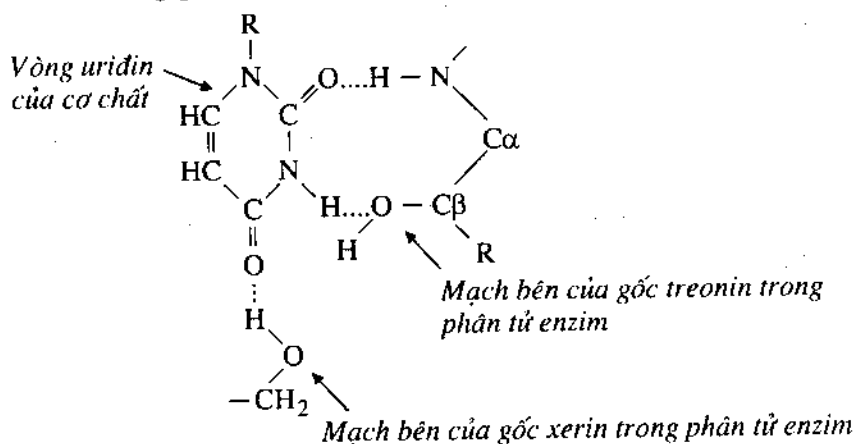
Đối với cơ chất có chứa các nhóm tích điện dương, các nhóm này sẽ kết hợp với các nhóm tích điện âm (nhóm cacboxil ở mạch bên của Asp, Glu, hoặc đầu-C) trong trung tâm liên kết của phân tử enzym.

2. Liên kết hidro được tạo thành theo kiểu A-H...B, trong đó hidro kết hợp với A bằng liên kết cộng hoá trị, đồng thời tạo thành liên kết yếu với B. Liên kết hidro được tạo thành khi khoảng cách giữa A và B vào khoảng 3Å. Ví dụ :



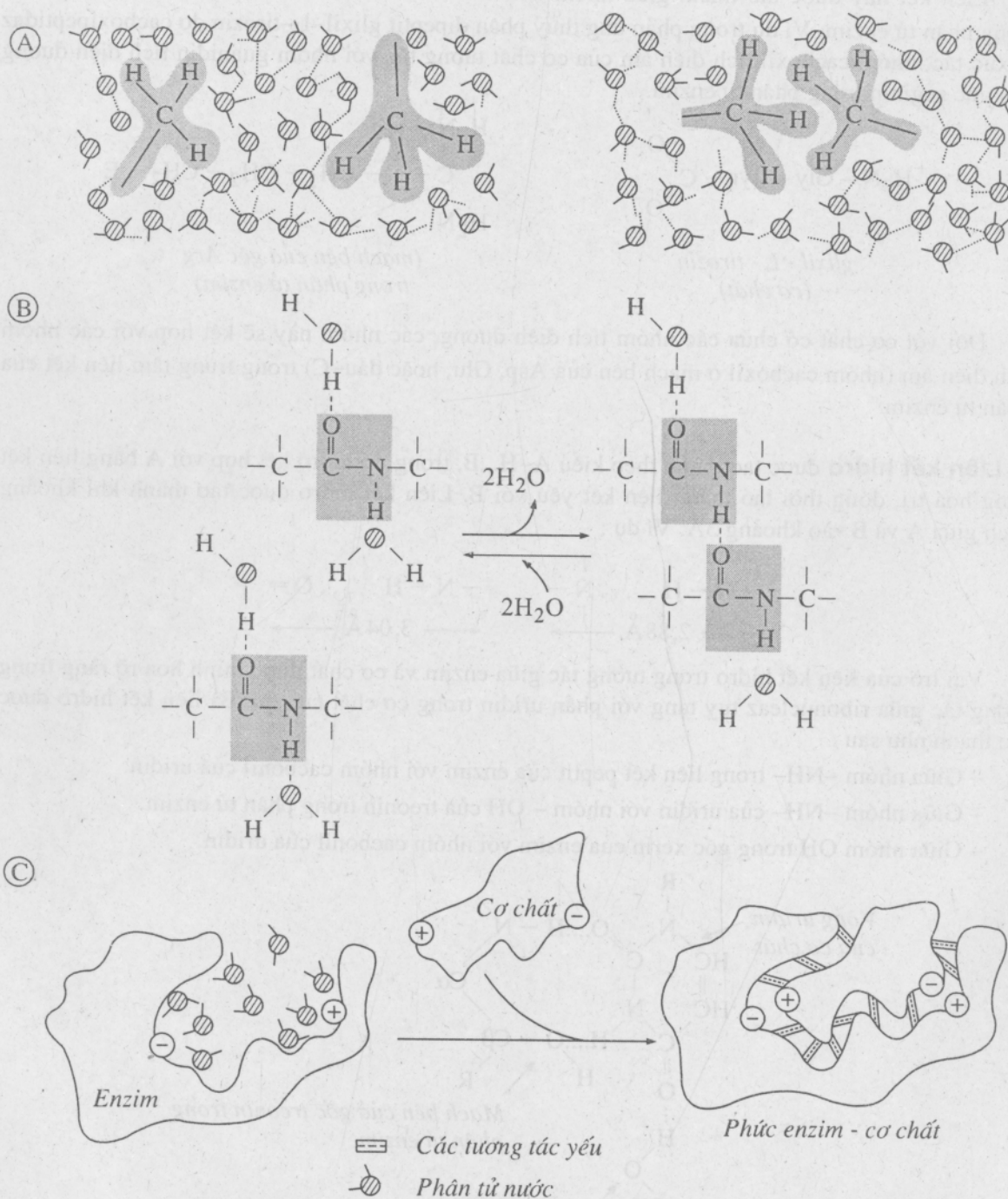
Vai trò của liên kết hidro trong tương tác giữa enzym và cơ chất được minh hoạ rõ ràng trong tương tác giữa ribonucleaz tuy tạng với phân uridin trong cơ chất của nó. Ba liên kết hidro được tạo thành như sau :

- Giữa nhóm -NH- trong liên kết peptit của enzym với nhóm cacbonil của uridin.
- Giữa nhóm -NH- của uridin với nhóm -OH của treonin trong phân tử enzym.
- Giữa nhóm OH trong gốc xerin của enzym với nhóm cacbonil của uridin.



Hình 40 - Liên kết hidro trong tương tác giữa ribonucleaz với cơ chất của nó.

3. Tương tác Vandecvan yếu và ít đặc hiệu hơn tương tác tĩnh điện và liên kết hidro. Vai trò tương tác này thể hiện rõ khi nhiều nguyên tử của cơ chất có thể đồng thời tiếp cận với nhiều nguyên tử của enzym. Điều này chỉ có thể xảy ra khi có sự ăn khớp về hình dạng giữa cơ chất và enzym. Vì vậy, mặc dù 1 tương tác Vandecvan không có tính đặc hiệu nhưng tính đặc hiệu tăng lên khi có điều kiện để đồng thời tạo thành lượng lớn tương tác Vandecvan.



Hình 41 - Sơ đồ minh họa tương tác kỵ nước (A) liên kết hidro (B) và liên kết ion (C) trong môi trường nước.

Ngoài 3 loại tương tác kể trên còn có tương tác kỵ nước giữa các nhóm không phân cực cũng có vai trò quan trọng. Các nhóm, các phần không phân cực của các gốc trong phân tử cơ chất và enzym có khuynh hướng kết lại với nhau, do đó có vai trò quan trọng trong quá trình cuộn lại của các chất phân tử lớn cũng như trong tương tác giữa cơ chất và enzym.

Phản ứng enzym thường xảy ra trong môi trường nước, các phân tử nước có tính chất phân cực, do đó làm yếu tương tác tĩnh điện, liên kết hiđro nhưng lại làm tăng cường tương tác kỵ nước (hình 41). Khi cơ chất kết hợp vào trung tâm hoạt động của enzym, nước bị đẩy ra khỏi vùng này, kết quả hồi phục lại độ bền của tương tác tĩnh điện và liên kết hiđro.

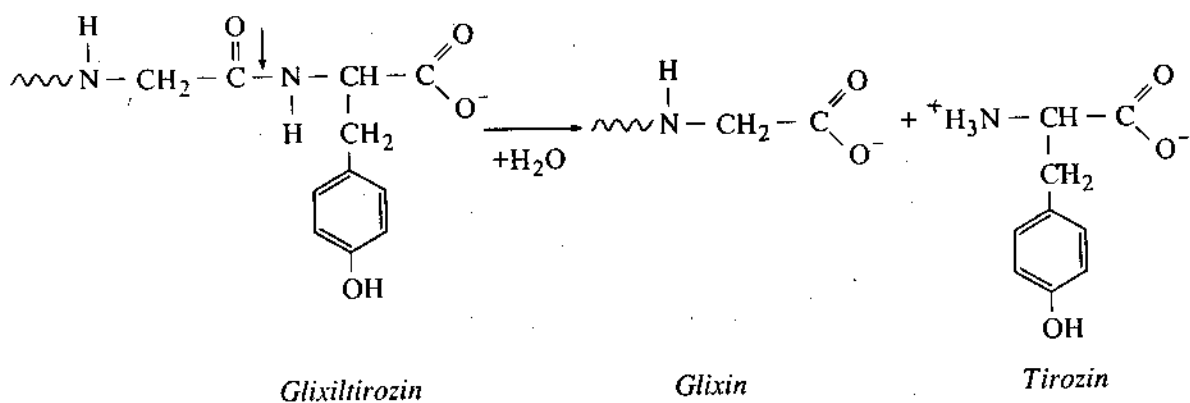
Sử dụng các phương pháp hoá lí hiện đại đã xác định được cơ chế phản ứng của một số enzym như lizozim, cacboxipeptidaz A, kimotripsin v.v. Sau đây sẽ giới thiệu chi tiết hơn cơ chế phản ứng của một số enzym.

a) *Cacboxipeptidaz A* (3-4.17.1) thuộc nhóm peptidohidrolaz, xúc tác cho phản ứng thuỷ phân liên kết peptit ở đầu C của các peptit và protein, phản ứng xảy ra với tốc độ lớn nếu axit amin đầu C là axit amin thơm. Enzym này cũng thuỷ phân liên kết este.

Cacboxipeptidaz A có khối lượng phân tử 34,3 kDa chứa 1molZn/1molE. Zn tham gia trong hoạt động xúc tác của enzym. Khi thay thế Zn bằng các kim loại hoá trị hai khác làm thay đổi hoạt độ và có thể cả tính đặc hiệu của enzym. Trong phân tử enzym, Zn ở gần bề mặt phân tử, tương tác với các gốc His-69, His-196 và glu-72.

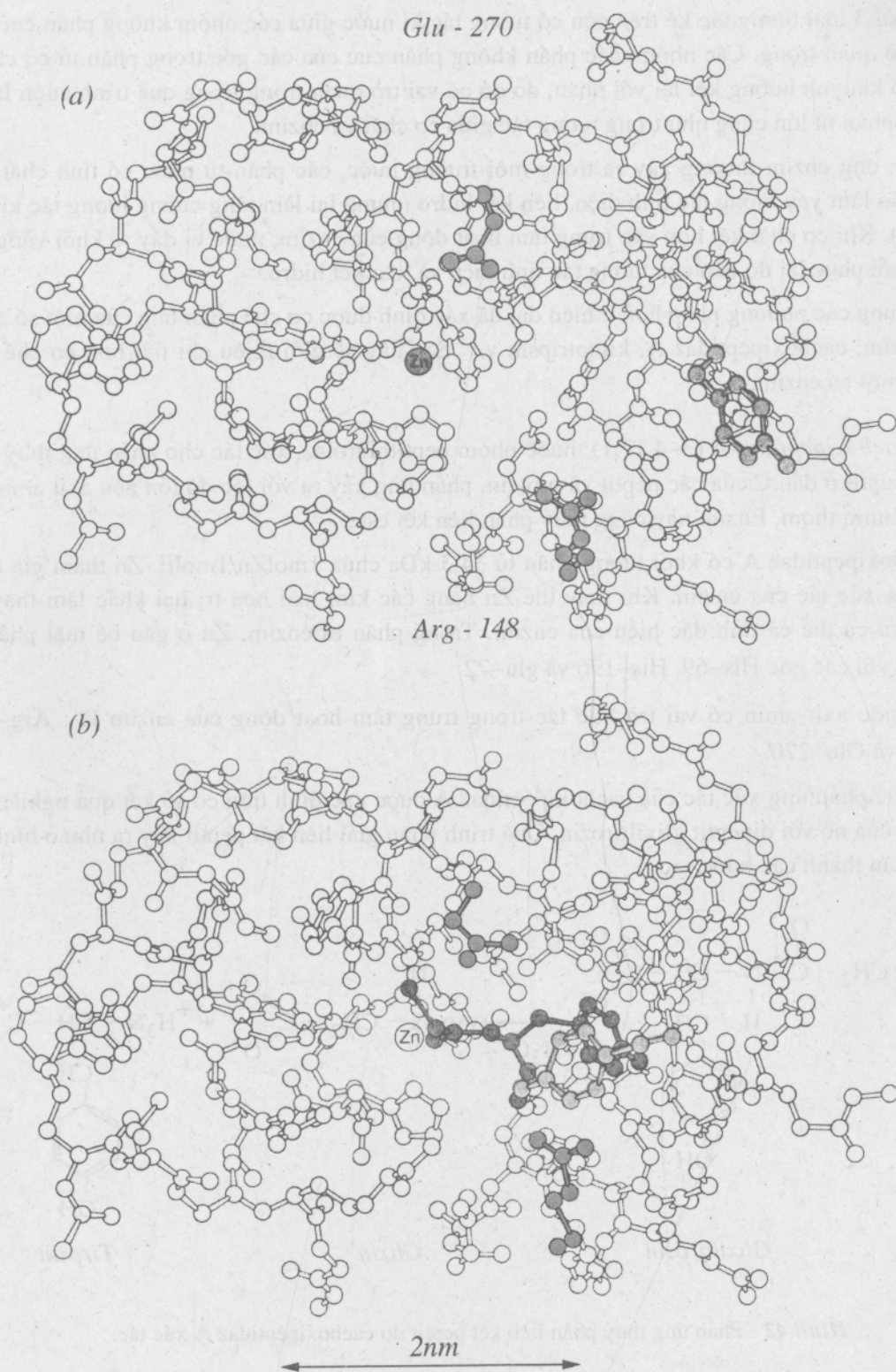
Các gốc axit amin có vai trò xúc tác trong trung tâm hoạt động của enzym là : Arg-145, Tyr-248 và Glu-270.

Cơ chế phản ứng xúc tác của cacboxipeptidaz A được xác định trên cơ sở kết quả nghiên cứu phản ứng của nó với dipeptit glixiltirozin. Quá trình phân giải liên kết peptit xảy ra như ở hình 42. Có thể phân thành các bước sau :



Hình 42 - Phản ứng thuỷ phân liên kết peptit do cacboxipeptidaz A xúc tác.

- *Tạo thành phức ES* : khi tiếp xúc với cơ chất, các nhóm trong trung tâm hoạt động của enzym thay đổi vị trí trong không gian (hình 43) nhóm guanidin của Arg-145 cũng như nhóm cacboxil của glu-270 dịch chuyển 2Å, nhóm hidroxil của Tyr-248 dịch chuyển nhiều nhất (12Å) từ chỗ gần trên bề mặt phân tử chuyển vào trong đến vùng gần với liên kết peptit của cơ chất.



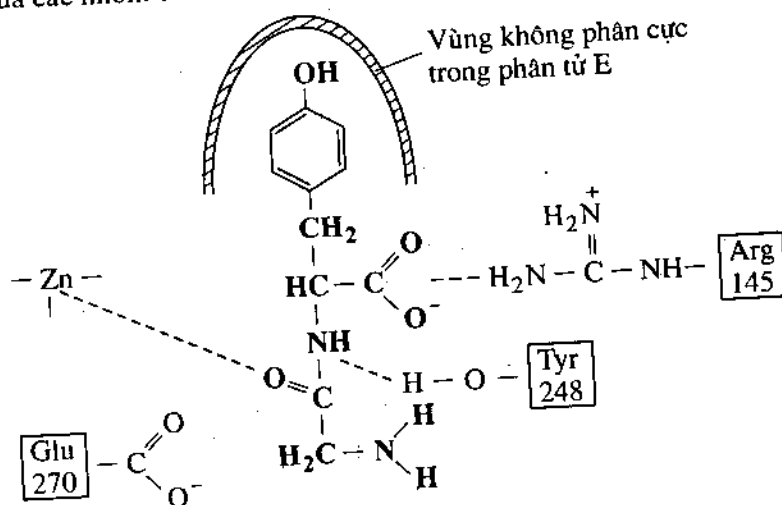
Hình 43 - Sự biến đổi cấu trúc của cacboxipeptidaz A khi kết hợp với cơ chất

a) enzym

b) phức enzym - cơ chất

(trên hình là một phần phân tử enzym)

Tương tác giữa các nhóm chức của trung tâm hoạt động với glixiltirozin như sau (hình 44) :

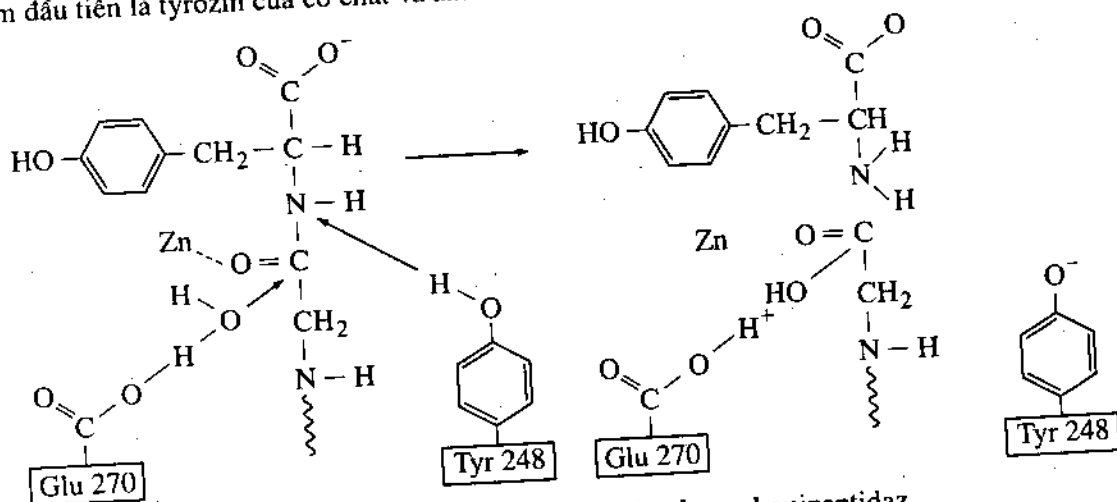


Hình 44 - Sơ đồ biểu diễn tương tác giữa glixiltirozin với các nhóm chức trong trung tâm hoạt động của cacboxipeptidaz A (cơ chất viết nét đậm).

- Nhóm cacboxil tự do của cơ chất kết hợp với nhóm tích điện dương của Arg-145 của enzym qua liên kết ion.
- Nhóm -NH- trong liên kết peptit của cơ chất tạo thành liên kết hidro với nhóm -OH của Tyr-248.
- Oxi trong nhóm -CO- của liên kết peptit tương tác với Zn, còn cacbon trong nhóm -CO- này tương tác với nhóm cacboxil của Glu-270 qua phân tử nước.
- Cắt đứt liên kết peptit giải phóng sản phẩm :

Nguyên tử Zn phân cực liên kết -CO-, tăng tính ái điện tử của nguyên tử cacbon, do đó làm tăng tương tác của nó với nước hoặc với nhóm ái nhân của phân tử protein enzym.

Gốc Glu-270 hoạt hoá phân tử nước, nhóm OH⁻ được tạo thành, tấn công trực tiếp vào nguyên tử cacbon của -CO- (trong liên kết peptit của cơ chất), liên kết peptit bị kéo căng ra và bị đứt. Gốc Tyr-248 nhường hidro cho nhóm -NH- trong liên kết peptit của cơ chất, giải phóng sản phẩm đầu tiên là tyrozín của cơ chất và axil-enzim (hình 45).



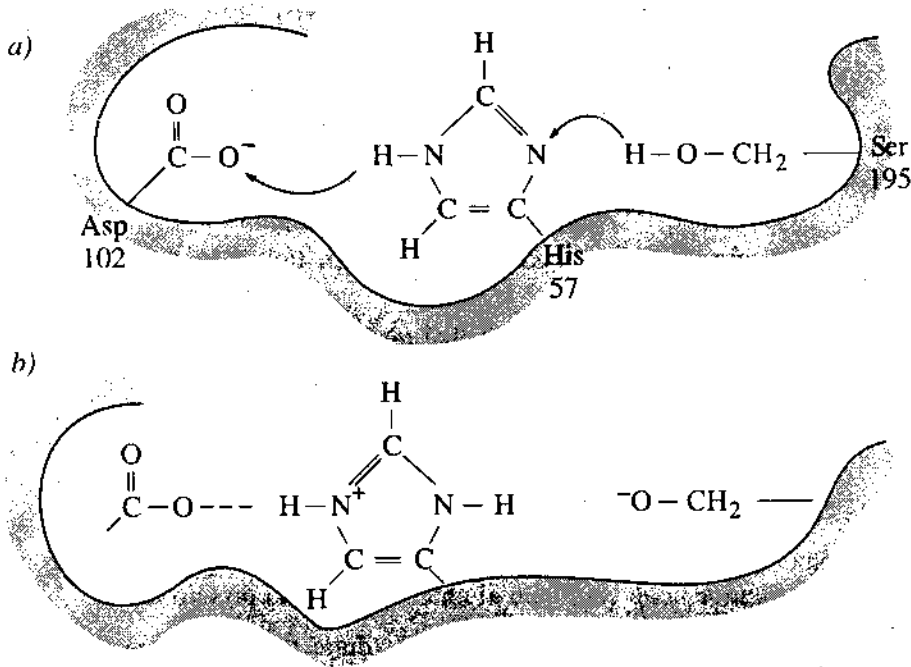
Hình 45 - Cơ chế phản ứng xúc tác của cacboxipeptidaz.

Sau khi liên kết peptit bị cắt đứt, trạng thái ion hoá của các nhóm axit và nhóm baz bị biến đổi tương ứng với pH môi trường, Tyr-248 kết hợp với proton, trở về trạng thái ban đầu.

b) *Kimotripsin* (3.4.21.1) thuộc nhóm proteinaz-xerin : được tổng hợp ở tụy tạng, xúc tác cho quá trình thủy phân protein thức ăn ở ruột non.

Kimotripsin có khối lượng phân tử gần 25 kDa, bao gồm 3 chuỗi polipeptit gắn với nhau qua 2 cầu disunfua ($-S-S-$). Ngoài ra, trong phân tử enzym còn có 3 cầu disunfua khác.

Các gốc axit amin Ser-195, His-57 và Asp-102 và tương tác giữa chúng trong phân tử có vai trò đặc biệt quan trọng đối với hoạt độ xúc tác của *kimotripsin*. Các liên kết hidro giữa 3 gốc axit amin này tạo thành một mạng role điện (charge relay network) (hình 46).

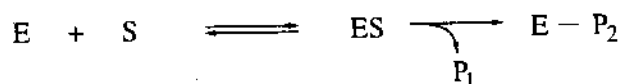


Hình 46 - Tương tác giữa các nhóm chức trong trung tâm hoạt động của *kimotripsin*.
a) Enzim ở dạng tự do ; b) Enzim khi tiếp xúc với cơ chất.

Kimotripsin thể hiện tính đặc hiệu về phía gốc axit amin chứa nhóm $-CO-$ của liên kết peptit. Nó xúc tác cho phản ứng thủy phân các liên kết peptit trong đó có nhóm $-CO-$ của các axit amin thơm (Tyr, Trp, Phe) hoặc metionin. Vì vậy, *kimotripsin* cũng xúc tác cho phản ứng thủy phân este của các axit amin này. Cơ chế phản ứng thủy phân liên kết peptit hoặc liên kết este do *kimotripsin* xúc tác đã được nghiên cứu khá kĩ. Kết quả cho thấy phản ứng bao gồm 2 giai đoạn khác biệt rõ rệt :

- **Axil hoá** : Cơ chất kết hợp với enzym tạo thành phức chất trung gian, liên kết peptit (hoặc liên kết este) bị cắt đứt, tạo thành sản phẩm đầu tiên P_1 (chứa nhóm amin hoặc alcol) và phức chất trung gian *axil-enzim* (nhóm axil của cơ chất kết hợp với nguyên tử oxi trong nhóm OH của Ser-195). Phức chất này khá bền ở pH = 3.

- **Deaxil hoá** : Phức axil-enzim phân giải tạo thành enzym và sản phẩm P_2 là thành phần chứa nhóm $-CO-$ của cơ chất. Có thể biểu diễn cơ chế phản ứng do *kimotripsin* xúc tác theo sơ đồ sau :

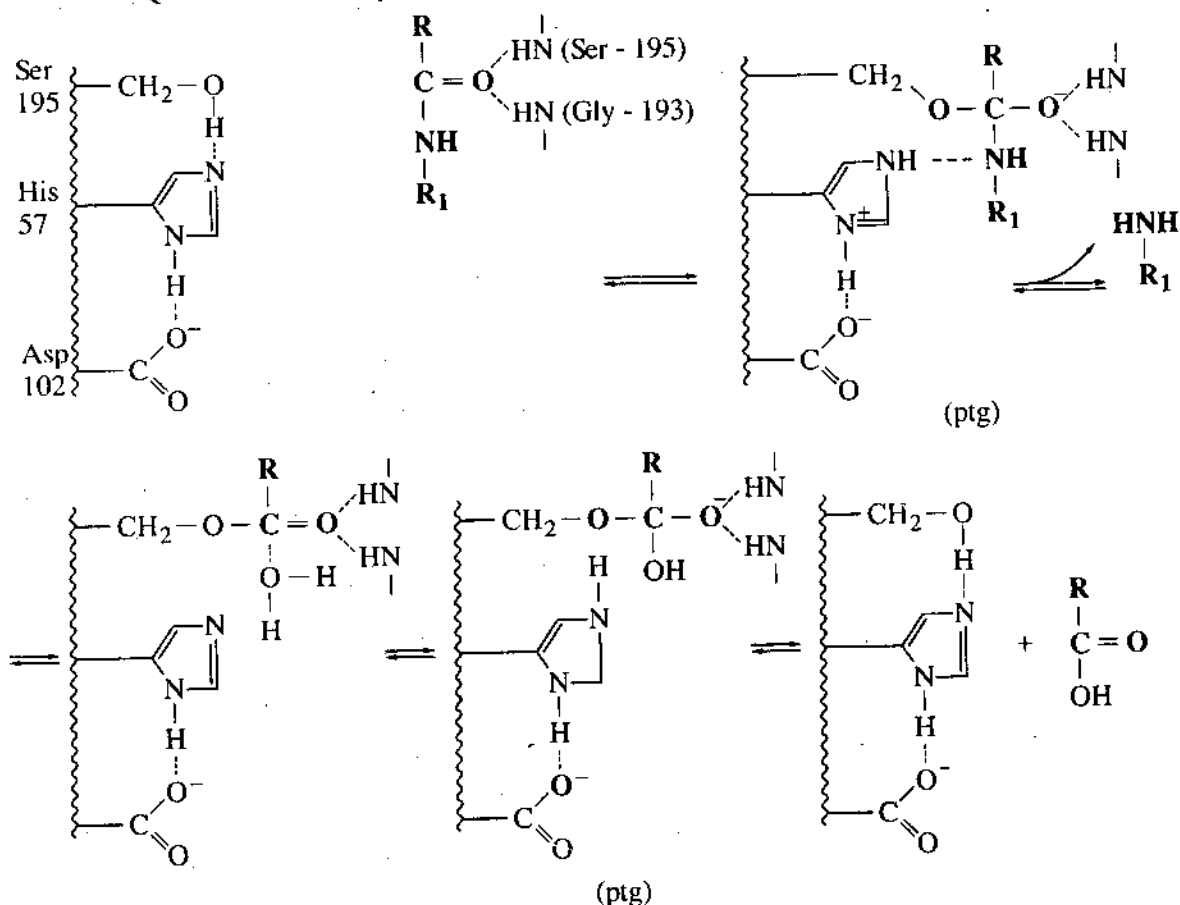


Trong đó : E-P₂ là phức trung gian axil-enzim ;

P₁ là phần chứa nhóm -NH- (hoặc -OH), và P₂ là phần chứa nhóm -CO- của liên kết bị thủy phân.

Đặc điểm cơ chế phản ứng của kimotripsin là có sự tạo thành *phức trung gian tứ điện tức thời* trong quá trình xúc tác (hình 47). Các gốc Ser - 195 và His - 57 trực tiếp tham gia trong phản ứng cắt đứt liên kết peptit của cơ chất. Bắt đầu là nguyên tử oxi của Ser - 195 tấn công vào C của -CO- trong liên kết peptit, do đó liên kết đôi giữa C và O của -CO- trở thành liên kết đơn, oxi tích điện âm (gọi là oxianion). Các nguyên tử kết hợp với C của -CO- sắp xếp như một khối 4 mặt, do đó được gọi là phức trung gian tứ điện tức thời (trạng thái chuyển tiếp), sau đó giải phóng sản phẩm P₁ và phức axil - enzym. Để tạo thành phức tứ điện tức thời còn có sự tham gia của các nhóm -NH- (Ser - 195) và NH (Gly - 193) trong khung mạch chính, H của các nhóm NH này tạo thành liên kết hydro với O của -CO-.

Quá trình deaxil hoá phức axil-enzim có phân tử nước tham gia (hình 47).



Hình 47 - Sơ đồ cơ chế phản ứng thủy phân liên kết peptit do α -kimotripsin xúc tác. Trong công thức các chữ viết đậm là cơ chất ; (ptg) : phức trung gian tứ điện tức thời.

Các proteinaz khác của tụy như tripsin, elastaz cũng thực hiện phản ứng xúc tác theo cơ chế tương tự như kimotripsin. Cả 3 enzym này có cấu trúc bậc ba khá giống nhau. Cũng giống như kimotripsin, trong phân tử tripsin, elastaz cũng có các phần cấu trúc quan trọng đối với hoạt động xúc tác của chúng là : mạng role điện và "hố" oxianion. Hai yếu tố này đã xúc tiến tạo thành phức trung gian tứ diện tức thời. Tuy nhiên ba enzym này lại khác nhau về tính đặc hiệu. Tripsin thuỷ phân liên kết peptit hoặc liên kết este có chứa nhóm cacboxil của axit amin kiềm ; còn elastaz có tính đặc hiệu đối với các axit amin có chuỗi bên bé, không tích điện.

IV - ZIMOGEN VÀ SỰ HOẠT HOÁ ZIMOGEN

Các proteinaz của tụy tạng, dạ dày cũng như các proteinaz xúc tác cho quá trình đông máu thường được tổng hợp ở dạng chưa có hoạt tính xúc tác gọi là *zimogen* hoặc *proenzim*, sau đó mới chuyển thành enzym. Quá trình chuyển hoá zimogen thành enzym gọi là quá trình hoạt hoá zimogen. Quá trình này có thể là tự xúc tác hoặc do các proteinaz tương ứng xúc tác (bảng 14).

Bảng 14

MỘT SỐ VÍ DỤ VỀ ZIMOGEN VÀ ENZIM XÚC TÁC
CHO QUÁ TRÌNH HOẠT HOÁ ZIMOGEN

Zimogen	Enzim	Enzim xúc tác cho quá trình hoạt hoá
Pepsinogen ^(a)	Pepsin	Pepsin
Kimotripsinogen	Kimotripsin	Tripsin, kimotripsin
Tripsinogen	Tripsin	Tripsin, enteropeptidaz
Procacboxipeptidaz	Cacboxipeptidaz	Tripsin
Proelastaz	Elastaz	Tripsin

Ghi chú : ^(a) được tổng hợp ở dạ dày, các enzym khác được tổng hợp ở tụy.

Qua bảng trên ta thấy tripsin có vai trò đặc biệt quan trọng, là enzym chìa khoá trong quá trình hoạt hoá các proteaz tụy tạng. Phải có đủ tripsin mới bảo đảm được quá trình tiêu hoá protein ở ruột non, làm thế nào để có đủ tripsin ? Tripsinogen đi vào tá tràng, các tế bào tá tràng sản sinh một loại enzym gọi là enteropeptidaz, enzym này hoạt hoá tripsinogen tạo thành một lượng nhỏ tripsin, tripsin hoạt hoá tripsinogen và các zimogen khác. Do đó, sự hoạt hoá tripsinogen nhờ enteropeptidaz là bước hoạt hoá có vai trò đặc biệt quan trọng.

Lượng tripsin, quá trình hoạt hoá các zimogen của tụy nói chung vừa phải bảo đảm được nhu cầu, vừa phải *đúng lúc*. Khi quá trình hoạt hoá xảy ra không đúng lúc (quá sớm), bị bệnh *pancreatitis* rất nguy hiểm, có thể chết. Ở bệnh này, các zimogen được hoạt hoá ngay khi còn ở bên trong tụy dẫn đến việc phá huỷ mô tụy và các mạch máu. Do đó các zimogen thường được bao bọc trong màng protein và lipid. Ngoài ra, tụy cũng tiết các chất kìm hãm đặc hiệu cùng với các zimogen và được giữ trong các hạt zimogen.

Ngoài các proteaz kể trên, tripsin cũng hoạt hoá prophotpholipaz A₂ (thuộc lipaz) tạo thành photpholipaz A₂. Quá trình này xảy ra ở tá tràng, là nơi có muối của axit mật được đưa từ túi mật đến.

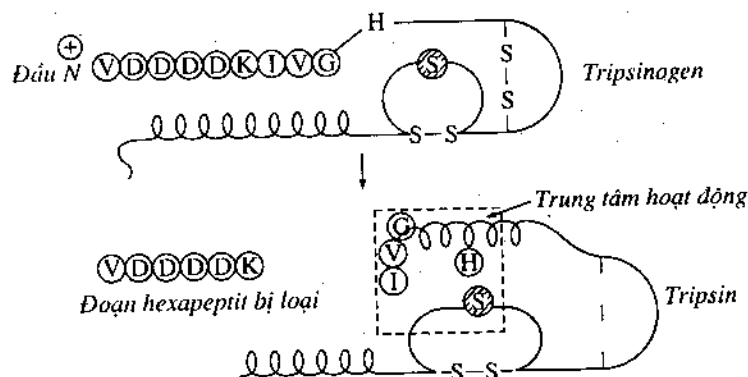
Một số đặc điểm chung của quá trình hoạt hoá zimogen

– Là quá trình thuỷ phân giới hạn protein (limited proteolysis), cắt đứt một hay một số liên kết peptit ở gần đầu N của phân tử zimogen. Đoạn peptit được tạo thành có thể bị loại ra hoặc vẫn gắn với phần còn lại của phân tử nhờ các cầu disunfua.

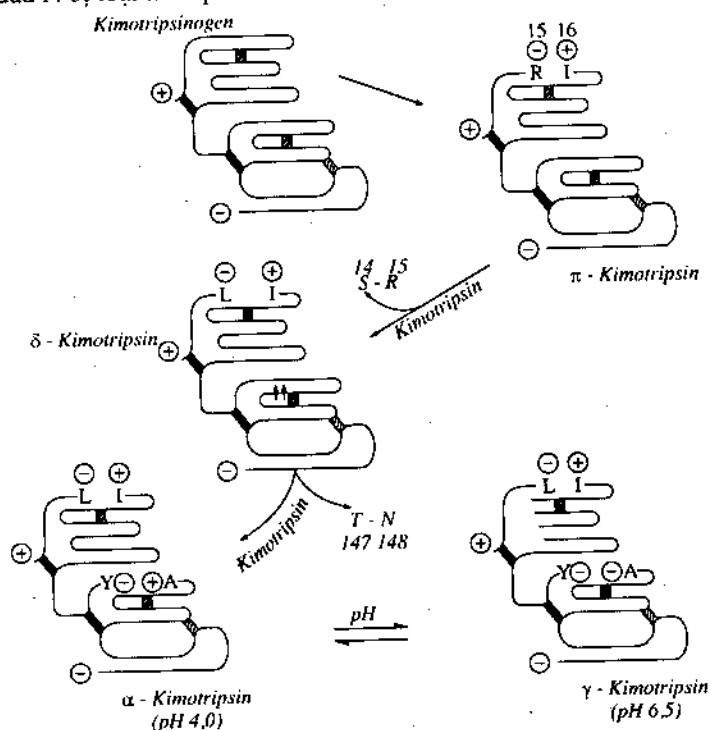
– Khi liên kết peptit bị cắt đứt thường làm thay đổi cấu hình không gian của phân tử theo hướng có lợi cho hoạt động xúc tác, tạo thành phân tử enzym.

– Hiệu suất hoạt hoá zimogen phụ thuộc vào điều kiện hoạt hoá, nồng độ zimogen, bản chất và nồng độ của enzym xúc tác cho quá trình hoạt hoá, nhiệt độ, pH và một số yếu tố khác.

Sơ đồ minh hoạ quá trình hoạt hoá trypsinogen và kimotripsinogen được trình bày trên hình 48 và 49.



Hình 48 - Sơ đồ minh hoạ quá trình hoạt hoá trypsinogen : S ở trong vòng có sọc là gốc xerin trong trung tâm hoạt động. Mũi tên chỉ liên kết peptit bị cắt đứt trong quá trình hoạt hoá, liên kết giữa Lys-6 và Ile-7, đoạn hexapeptit ở đầu N bị loại khỏi phân tử. Các axit amin viết tắt theo kí hiệu 1 chữ (D-aspartat).



Hình 49 - Sơ đồ minh hoạ quá trình hoạt hoá kimotripsinogen bò. : cầu disunfua. phân tử α-kimotripsin bao gồm 3 chuỗi polipeptit gắn với nhau qua 2 cầu disunfua (—)

V - CÁC YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG ĐẾN VẬN TỐC PHẢN ỨNG ENZIM

Phản ứng do enzym xúc tác phụ thuộc vào nhiều yếu tố như : nồng độ enzym, bản chất và nồng độ các chất phản ứng (cơ chất), nhiệt độ, pH của môi trường, các ion kim loại, các chất vô cơ và hữu cơ khác v.v. Điều đáng lưu ý là các yếu tố hoá lí không chỉ ảnh hưởng đến phản ứng enzym theo kiểu giống như các phản ứng hoá học thông thường mà còn ảnh hưởng đến vận tốc phản ứng thông qua tác dụng của chúng đối với cấu trúc phân tử enzym.

Sau đây sẽ xét cụ thể hơn về một số yếu tố.

1. Nồng độ enzym

Nói chung, trong điều kiện thừa cơ chất, tốc độ phản ứng phụ thuộc tuyến tính vào nồng độ enzym :

$$v = k [E]$$

v : vận tốc phản ứng ; $[E]$ nồng độ enzym

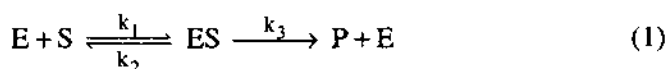
Cũng có trường hợp khi nồng độ enzym quá lớn, vận tốc phản ứng tăng chậm.

2. Nồng độ cơ chất, mô hình Michaelis-Menten

Năm 1913, L.Michaelis và M.Menten (Leonon Michaelis và Maud Menten) đã đưa ra mô hình để giải thích tính chất động học của phản ứng enzym và đã lập được phương trình biểu diễn mối quan hệ giữa vận tốc phản ứng (v) với nồng độ cơ chất của enzym.

Đặc điểm quan trọng nhất của mô hình này là : mở đầu phản ứng cần thiết phải tạo thành phức trung gian enzym-cơ chất (ES). Sau đó phức ES chuyển hoá tiếp tạo thành sản phẩm cuối cùng của phản ứng và enzym tự do, enzym lại kết hợp với phân tử cơ chất khác bắt đầu vòng xúc tác mới.

Trường hợp đơn giản nhất, phản ứng chỉ có một cơ chất S, enzym (E) xúc tác cho sự chuyển hoá nó chỉ tạo thành một sản phẩm P, phản ứng xảy ra như sau :



k_1 , k_2 , k_3 là các hằng số tốc độ các phản ứng tương ứng v_1 , v_2 , v_3 . Tốc độ phản ứng chuyển hoá phức ES tạo thành sản phẩm và enzym quyết định vận tốc xúc tác phản ứng chuyển $S \rightarrow P$. Tốc độ phản ứng tỉ lệ với nồng độ phức ES, nồng độ ES càng cao, tốc độ phản ứng càng lớn.

Kí hiệu $[E_0]$ là nồng độ enzym ban đầu : $[ES]$ nồng độ phức trung gian enzym - cơ chất và $[E]$

là nồng độ enzym tự do khi phản ứng đạt đến cân bằng. Do đó $[E] = [E_0] - [ES]$; $[S]$: nồng độ cơ chất ban đầu và cũng được xem là nồng độ cơ chất lúc phản ứng đạt đến cân bằng vì nồng độ cơ chất trong phản ứng luôn lớn gấp nhiều lần nồng độ enzym do đó có thể bỏ qua lượng $[S]$ ở trong phức ES. Hơn nữa, khi nghiên cứu động học phản ứng enzym thường xác định *tốc độ ban đầu*, lượng cơ chất bị chuyển hoá chưa đáng kể so với nồng độ ban đầu của nó.

Từ phương trình phản ứng (1) có thể thiết lập các phương trình vận tốc phản ứng như sau :

- Tốc độ phản ứng tạo thành phức ES là : $k_1 ([E_0] - [ES]) [S]$

– Tốc độ phân li phức ES là tổng tốc độ của 2 phản ứng :

+ Phản ứng phân li để tạo thành E và S (ngược với phản ứng kết hợp).

+ Phản ứng biến đổi thành P và E.

Do đó tốc độ phân li phức ES là bằng : $(k_2 + k_3)[ES]$ (3). Khi hệ thống phản ứng đạt đến cân bằng, tốc độ tạo thành ES bằng vận tốc phân li ES :

$$k_1([E_0] - [ES])[S] = (k_2 + k_3)[ES] \quad (4)$$

Để đơn giản hơn, dùng hằng số $K_m = \frac{k_2 + k_3}{k_1}$ và sắp xếp lại các số hạng trong phương trình (4)

sẽ có :

$$[ES] = [E_0] \frac{[S]}{[S] + K_m} \quad (5)$$

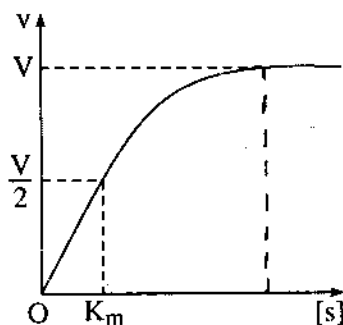
Như trên đã nói, ES càng lớn tốc độ phản ứng càng lớn. Khi nồng độ cơ chất đủ lớn, tất cả các phân tử enzyme có trong phản ứng đều tham gia trong phức ES, tốc độ phản ứng sẽ đạt đến cực đại (V). Do đó có thể thiết lập tỉ lệ sau :

$$\frac{v}{V} = \frac{[ES]}{[E_0]} \quad (6)$$

Tính $\frac{[ES]}{[E_0]}$ từ phương trình (5) và thay vào (6) sẽ có :

$$v = \frac{V[S]}{K_m + [S]} \quad (7)$$

Đây là phương trình Michaelis – Menten đã được Holden và Briggs hoàn thiện. K_m được gọi là hằng số Michaelis. Đồ thị biểu diễn ảnh hưởng nồng độ cơ chất đến tốc độ phản ứng (theo phương trình (7)), trong đó v là hàm số của [S] có dạng của nhánh hypebol vuông góc (hình 50).



Hình 50 - Dạng chung của đường biểu diễn sự phụ thuộc tốc độ phản ứng enzyme vào nồng độ cơ chất.

Từ phương trình (7) ta có thể xét đến 3 trường hợp :

– Nếu $[S] \ll K_m$, $v = \frac{[S]}{K_m}$ như vậy, ở nồng độ cơ chất thấp, v phụ thuộc tuyến tính vào S.

– Nếu $[S] \gg K_m$, $v = V$, tốc độ phản ứng đạt cực đại, không phụ thuộc [S]. Như vậy nếu [S] đã đủ lớn đến mức nào đó, nếu tiếp tục tăng [S], v cũng sẽ không tăng theo.

– Nếu $[S] = K_m$, $v = \frac{V}{2}$ tốc độ phản ứng bằng một nửa tốc độ cực đại. Như vậy, K_m bằng nồng độ cơ chất mà ở đó tốc độ ban đầu của phản ứng bằng một nửa tốc độ cực đại. Do đó trị số của K_m cũng được biểu diễn bằng đơn vị đo nồng độ cơ chất : mol, hoặc gam, % (nếu chưa biết khối lượng phân tử của cơ chất). Đối với phần lớn các enzyme đã được nghiên cứu,

trị số K_m vào khoảng $10^{-1} - 10^{-6}$. Như đã nêu trên, hằng số Michaelis $K_m = \frac{k_2 + k_3}{k_1}$, đối

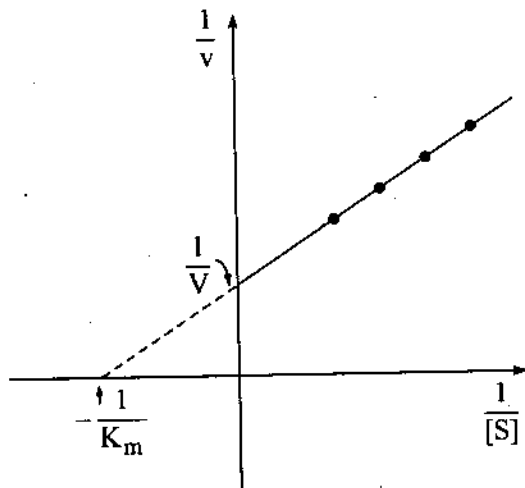
với phần lớn phản ứng enzym $k_2 \gg k_3$, do đó đối với các enzym này có thể căn cứ vào K_m để đánh giá ái lực giữa enzym và cơ chất. K_m lớn, ái lực giữa E và S thấp và ngược lại. Ở những điều kiện hoàn toàn xác định về nhiệt độ, pH v.v.. K_m của một enzym đối với một cơ chất là hằng số. Nếu enzym có thể tác dụng với các cơ chất khác nhau thì K_m có thể khác nhau tùy cơ chất. Do đó xác định trị số K_m có ý nghĩa quan trọng trong nghiên cứu enzym.

Để xác định K_m cũng như V có thể dựa vào đồ thị biểu diễn mối quan hệ giữa tốc độ phản ứng với nồng độ cơ chất: thay đổi nồng độ cơ chất, với mỗi nồng độ cơ chất xác định vận tốc ban đầu của phản ứng. Theo cách biểu diễn ở phương trình (7), cần tiến hành khá nhiều thí nghiệm mới vẽ được chính xác. Vì vậy người ta cải biến phương trình này thành dạng có đường biểu diễn thẳng. Cách đơn giản nhất là lấy số nghịch đảo của cả 2 vế trong phương trình (7) (Lineweaver và Burk 1934), do đó sẽ có:

$$\frac{1}{v} = \frac{K_m}{V} \cdot \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V} \quad (8)$$

Phương trình (8) có dạng $Y = ax + b$, đường biểu diễn của nó là thẳng, cắt trục tung ở điểm $\frac{1}{V}$ và cắt trục hoành ở điểm

$-\frac{1}{K_m}$ (hình 51). Theo cách này, chỉ cần tiến hành thí nghiệm với ba, bốn nồng độ cơ chất đã có thể vẽ được đồ thị khá chính xác và xác định được các trị số K_m , V. Điều quan trọng cần nhấn mạnh là khi nghiên cứu động học phản ứng enzym cần xác định tốc độ ban đầu của phản ứng, sử dụng chế phẩm enzym tinh khiết. Ngoài ra, nồng độ cơ chất cũng không nên quá lớn vì nó có thể làm giảm tốc độ phản ứng enzym.



Hình 51 - Đồ thị biểu diễn sự phụ thuộc giữa $\frac{1}{v}$ và $\frac{1}{[S]}$.

Độ dốc của đường biểu diễn là K_m/V . Đường biểu diễn cắt trục tung ở điểm $\frac{1}{V}$, cắt trục hoành ở điểm $-\frac{1}{K_m}$

Tính chất phổ biến của phương trình Michaelis - Menten thể hiện ở chỗ nó không chỉ đúng trong trường hợp đơn giản như đã nêu trong phương trình phản ứng (1) (chỉ một cơ chất tạo thành một sản phẩm), mà nó cũng đúng trong những trường hợp phức tạp hơn. Tuy nhiên trong những trường hợp này tốc độ xúc tác cực đại khi enzym bão hoà cơ chất, kí hiệu là k_{cat} , còn phụ thuộc vào một số hằng số tốc độ khác chứ không phải chỉ k_3 như trên.

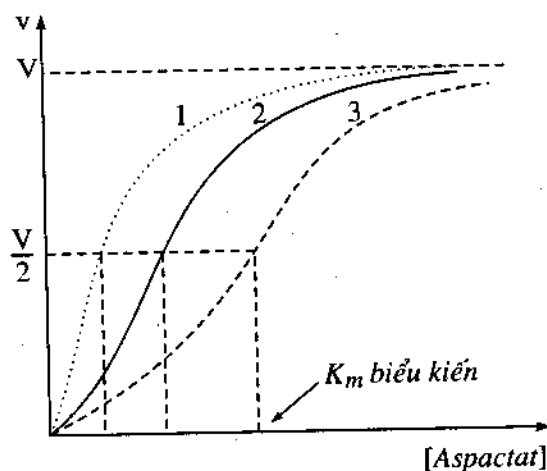
Đối với các enzym *alosteric*, đường biểu diễn sự phụ thuộc của v vào $[S]$ không có dạng *hipechol* như ở hình 50. Trong nhiều trường hợp, đường biểu diễn quan hệ giữa tốc độ ban đầu của phản ứng với nồng độ cơ chất có dạng gần như chữ "S" (dạng Sigmoid) (hình 52). Điều đó

có nghĩa là khi phân tử cơ chất đầu tiên kết hợp vào một trung tâm hoạt động của enzym đã làm tăng nhanh việc kết hợp các phân tử cơ chất tiếp theo vào các trung tâm hoạt động khác trong phân tử enzym. Điều này cũng giống như khi một phân tử O_2 kết hợp vào Hb đã làm tăng nhanh sự tương tác của các phân tử O_2 tiếp theo. Đường biểu diễn có dạng chữ "S" cũng cho thấy chỉ cần nồng độ cơ chất tăng lên rất nhỏ cũng có thể làm tăng tốc độ xúc tác nhiều lần lớn hơn so với các enzym tuân theo phương trình Michaelis-Menten.

Các chất điều hoà có thể ảnh hưởng khác nhau đến các thông số động học của các enzym allosteric. Chúng có thể làm tăng hay giảm riêng rẽ một trong 2 giá trị K_m hoặc V . Một số enzym allosteric khi kết hợp với chất điều hoà, thay đổi giá trị K_m biểu kiến đối với cơ chất (gọi là enzym K) mà không thay đổi giá trị tốc độ cực đại; ngược lại, một số enzym khác chỉ thay đổi giá trị V (gọi là enzym M) mà không thay đổi K_m .

Ví dụ : Aspartat cacbamoil transpherez (2.1.3.2) là enzym allosteric kiểu K, enzym này xúc tác cho phản ứng sau :

$L - \text{aspartat} + \text{cacbamoil photphat} = N.\text{cacbamoil} - \text{Laspactat} + H_3PO_4$. ATP là chất điều hoà dương và XTP là chất điều hoà âm của aspartat cacbamoiltranspherez (ACT-az). Trên hình 52 biểu diễn ảnh hưởng của nồng độ aspartat đến vận tốc phản ứng của ACT-az khi không có và có các chất điều hoà khác nhau. Qua hình này ta thấy giá trị K_m biểu kiến khi có XTP là lớn hơn cả, ở một nồng độ cơ chất thấp hơn nồng độ bão hoà tốc độ phản ứng khi có XTP là thấp nhất.



Hình 52 - Ảnh hưởng nồng độ aspartat đến tốc độ phản ứng của aspartat cacbamoil transpherez.
1. Có chất điều hoà dương : ATP ; 2. Không có chất điều hoà ; 3. Có chất điều hoà âm : XTP.

3. Ảnh hưởng của các chất kìm hãm

Hoạt độ của enzym có thể bị thay đổi dưới tác dụng của một số chất có bản chất hoá học khác nhau. Các chất làm giảm hoạt độ enzym gọi là các chất kìm hãm hoặc các chất ức chế (inhibitor), thường kí hiệu là I. Các chất này có thể là những ion, các phân tử vô cơ, hữu cơ kể cả các protein. Các chất ức chế tham gia trong điều hoà, kiểm tra các quá trình trao đổi chất trong hệ thống sống.

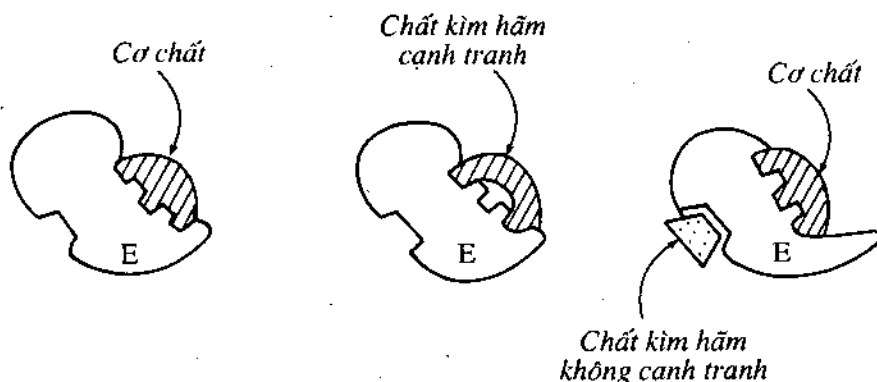
Các chất gây biến tính protein là những chất kìm hãm không đặc hiệu enzym. Nhiều chất khác không làm biến tính protein enzym nhưng vẫn làm giảm hoạt độ xúc tác của nó theo cơ chế khác.

Các chất này có thể kìm hãm thuận nghịch hoặc không thuận nghịch enzym. Nếu là kiểu *kìm hãm thuận nghịch*, phản ứng kết hợp giữa enzym và chất kìm hãm (I) nhanh chóng đạt đến cân bằng :



Trong trường hợp *kìm hãm không thuận nghịch*, $k - i$ rất bé, có thể xem như $= 0$, I kết hợp với E bằng liên kết đồng hoá trị hoặc kết hợp rất chặt đến mức khó lòng tách khỏi E, sự phân li phức EI là rất chậm.

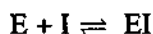
a) *Các chất kìm hãm cạnh tranh* : là những chất kìm hãm thuận nghịch enzym, có cấu trúc tương tự với cấu trúc của cơ chất, do đó có khả năng kết hợp vào trung tâm hoạt động của E chiếm chỗ kết hợp của cơ chất (hình 53). Sự kết hợp của I và S vào trung tâm hoạt động của enzym có tính chất loại trừ lẫn nhau. Như vậy, I cạnh tranh làm giảm tốc độ phản ứng xúc tác là do làm giảm số lượng phân tử enzym có khả năng kết hợp với cơ chất.



Hình 53 - Mô hình minh họa sự sai khác giữa chất kìm hãm cạnh tranh và chất kìm hãm không cạnh tranh trong cách kết hợp với enzym.

Ví dụ : chất kìm hãm cạnh tranh của xucxinatdehydrogenaz là axit malonic ($\text{HOOC}-\text{CH}_2-\text{COOH}$), có cấu tạo khá giống với cơ chất của enzym là axit xucxinic ($\text{HOOC}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{COOH}$). Do chỗ I và S có khuynh hướng đẩy nhau ra khỏi phức với enzym cho nên nếu nồng độ cơ chất rất lớn so với nồng độ chất kìm hãm, có thể loại trừ hoàn toàn tác dụng kìm hãm của nó.

Trong trường hợp đơn giản nhất (phương trình phản ứng (1)), khi có chất kìm hãm cạnh tranh, có các phản ứng xảy ra như sau :



Gọi K_i là hằng số phân li của phức EI, theo phương trình phản ứng (9) sẽ có $K_i = \frac{k-i}{k+i}$.

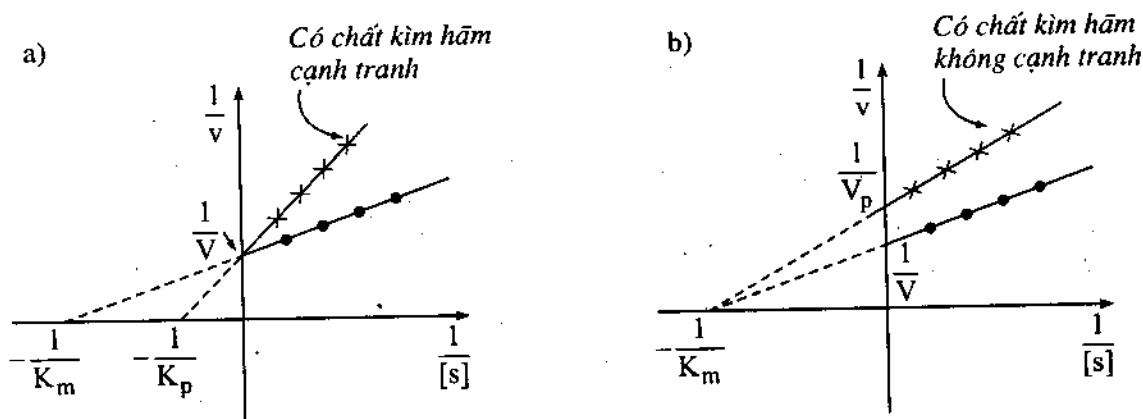
K_i càng lớn phức chất dễ phân li, ái lực giữa E và I thấp và ngược lại.

Vấn đề là thử xem chất kìm hãm cạnh tranh ảnh hưởng thế nào đến phương trình Michaelis-Menten. Bằng cách lập luận và tính toán tương tự như trên (mục nghiên cứu ảnh hưởng của nồng độ cơ chất), cuối cùng sẽ có :

$$v = \frac{V}{\frac{K_m}{[S]} + 1 + \frac{[I]}{K_i} \cdot \frac{K_m}{[S]}} \quad (10) \text{ hoặc } v = \frac{V}{\frac{K_m}{[S]} \left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right) + 1} \quad (11) \text{ hoặc } \frac{1}{v} = \frac{K_m}{V} \left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right) \frac{1}{S} + \frac{1}{V} \quad (12)$$

Trong các phương trình trên, $[I]$ là nồng độ của chất kìm hãm.

Đối chiếu phương trình (11) với phương trình (7), hoặc phương trình (12) với phương trình (8), ta thấy chúng có dạng giống nhau. Hơn nữa, tốc độ cực đại V không đổi, do đó, trên hình 54, cả 2 đường biểu diễn cùng cắt trục tung tại điểm $\frac{1}{V}$; tuy nhiên điểm cắt trên trục hoành lại khác nhau : khi có chất kìm hãm cạnh tranh, điểm cắt trên trục hoành là $-\frac{1}{K_p}$, ($K_p = K_m \left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right)$)



Hình 54 - Đồ thị biểu diễn sự phụ thuộc giữa $\frac{1}{v}$ vào $\frac{1}{[S]}$ khi có (x-x-x-) và không có (•-•-•-) chất kìm hãm

a) Kìm hãm cạnh tranh ; b) Kìm hãm không cạnh tranh (chi tiết xem trong bài).

$$K_p = K_m \left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right) ; V_p = \frac{V}{1 + \frac{[I]}{K_i}}$$

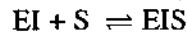
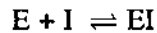
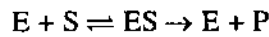
Phương trình (10) cũng cho thấy khi $[S] \gg [I]$ thì $\frac{K_m}{[S]} \cdot \frac{[I]}{K_i} \rightarrow 0$. Điều này xác nhận đặc điểm của kiểu kìm hãm cạnh tranh là có thể bị loại trừ ở điều kiện nồng độ cơ chất đủ lớn.

Các chất kìm hãm cạnh tranh được sử dụng trong nghiên cứu cơ chế phản ứng enzym.

Như trên đã nói, chất kìm hãm cạnh tranh cũng kết hợp vào trung tâm hoạt động của enzym, nhưng khác với cơ chất ở chỗ bản thân chất kìm hãm không bị chuyển hoá dưới tác dụng của enzym.

b) Các chất kìm hãm không cạnh tranh : Chất kìm hãm này kết hợp với enzym ở chỗ khác với trung tâm hoạt động (hình 53) làm thay đổi cấu trúc không gian của phân tử enzym do đó theo hướng không có lợi cho hoạt độ xúc tác của nó, làm giảm tốc độ phản ứng xúc tác. Sau khi kết

hợp với chất kìm hãm không cạnh tranh, enzym vẫn có thể kết hợp với cơ chất tạo thành phức EIS có thể viết phương trình phản ứng (1) khi có chất kìm hãm không cạnh tranh như sau :



Gọi K_{SI} là hằng số phân li của phức EIS tạo thành EI và S, và giả sử ái lực của I với E cũng giống ái lực của I với ES sẽ có : $K_i = K_{SI}$. Phương trình Michaelis-Menten (phương trình (7)) sẽ là :

$$v = \frac{\frac{V}{1 + \frac{[I]}{K_i}}}{\frac{K_m}{S} + 1} \quad (13)$$

Để dễ so sánh, ta kí hiệu V_p là tốc độ cực đại của phản ứng khi có I không cạnh tranh,

$$V_p = \frac{V}{1 + \frac{[I]}{K_i}}$$

Phương trình (13) sẽ là :

$$v = \frac{V_p}{\frac{K_m}{[S]} + 1} \quad (14)$$

Dạng nghịch đảo của phương trình (14) sẽ là :

$$\frac{1}{v} = \frac{K_m}{V_p} \cdot \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_p} \quad (15)$$

Đường biểu diễn của phương trình (15) như đã trình bày trên hình 54b, cắt trục tung ở điểm $\frac{1}{V_p}$ và cắt trục hoành vẫn ở điểm $-\frac{1}{K_m}$.

Khi có chất kìm hãm không cạnh tranh vận tốc cực đại bị giảm $\left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right)$ lần trong khi đó

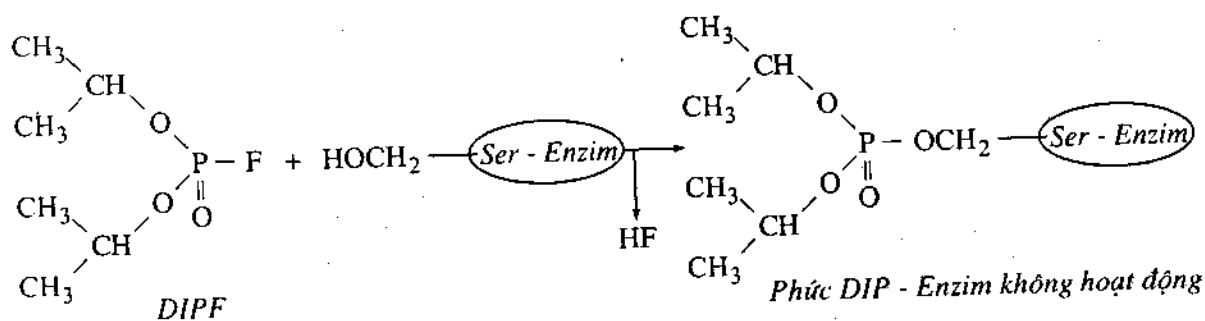
K_m không thay đổi, vận tốc phản ứng bị giảm tương ứng. Dưới tác dụng của chất kìm hãm không cạnh tranh, mức độ kìm hãm không phụ thuộc vào tương quan nồng độ giữa S và I, nồng độ cơ chất lớn cũng không loại trừ được tác dụng kìm hãm.

Trong một số trường hợp sản phẩm phản ứng có thể tác dụng như chất kìm hãm không cạnh tranh của enzym.

Ngoài ra cũng có trường hợp chất kìm hãm chỉ kết hợp với ES mà không kết hợp với E tự do, trong trường hợp này cả V và K_m đều bị giảm $\left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right)$ lần, do đó độ dốc của đường biểu diễn không đổi.

Các chất kìm hãm, nhất là các chất kìm hãm có tính đặc hiệu cao có ý nghĩa lớn trong nghiên cứu khoa học cũng như trong thực tế. Ví dụ : diizopropylphosphorfluoridat (DIPF hoặc DFP),

iodoacetamid, p-cloromerurbenzoat v.v. thường được dùng để phát hiện các nhóm chức trong trung tâm hoạt động của enzym. DIPF chỉ phản ứng với gốc Ser có vai trò xúc tác trong trung tâm hoạt động của enzym axetilcolinesteraz, tripsin, kimotripsin, tạo thành phức không hoạt động :



Các chất kìm hãm protein thường có tính đặc hiệu khá cao, kìm hãm thuận nghịch enzym, chúng có vai trò quan trọng trong việc điều hoà, kiểm tra quá trình trao đổi chất trong hệ thống sống. Thuộc loại này, các protein điều hoà hoạt độ proteinaz được nghiên cứu nhiều hơn cả và đã được sử dụng trong y học, trong nghiên cứu khoa học.

- 4. Các chất kích hoạt (activator)

Chất này làm tăng hoạt độ xúc tác của enzym. Các chất này có bản chất hoá học khác nhau, có thể là các anion, các ion kim loại hoặc các chất hữu cơ có cấu tạo phức tạp hơn.

Ví dụ : tác dụng của anion clo, brom, iot đến hoạt độ của α -amilaz động vật ; tác dụng của một số ion kim loại như Mn^{++} , Zn^{++} v.v. đối với hoạt độ của các proteaz v.v. Tuy nhiên tác dụng kích hoạt chỉ giới hạn ở những nồng độ xác định, vượt quá giới hạn này có thể làm giảm hoạt độ enzym.

Glutation dạng khử (Glu-Cys-Gli) có tác dụng khử liên kết disunfua thành nhóm sunfidril tự do (-SH) nên cũng có tác dụng hoạt hoá nhiều enzym. Các chất đã nêu thường kết hợp trực tiếp với phân tử enzym, làm thay đổi cấu tạo không gian của nó theo hướng có lợi cho hoạt độ xúc tác của enzym. Một số chất khác có thể tác dụng theo cách gián tiếp, ví dụ loại trừ các yếu tố kìm hãm khỏi môi trường phản ứng.

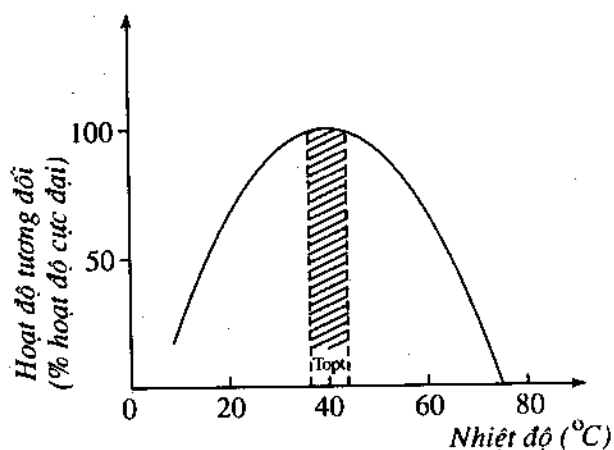
5. Nhiệt độ

Tốc độ phản ứng do enzym xúc tác chỉ tăng theo nhiệt độ trong một giới hạn xác định mà ở đó phân tử enzym vẫn còn bền chưa bị biến tính. Đại lượng đặc trưng cho ảnh hưởng nhiệt độ đến tốc độ phản ứng hoá học cũng như phản ứng enzym là hệ số nhiệt Q_{10} . Đó là tỉ lệ giữa hằng số tốc độ phản ứng ở nhiệt độ nào đó so với hằng số tốc độ phản ứng ở nhiệt độ thấp hơn $10^{\circ}C$.

$$Q_{10} = \frac{k_{t+10}}{k_t}$$

Hệ số này càng lớn, phản ứng càng khó xảy ra ở nhiệt độ bình thường, Hệ số Q_{10} của phản ứng enzym là từ 1 đến 2 (của phản ứng hoá học bằng 2 đến 3). Từ hệ số Q_{10} , có thể tính được năng lượng hoạt hoá của phản ứng enzym, đánh giá quá trình xúc tác.

Đường biểu diễn ảnh hưởng của nhiệt độ đến tốc độ phản ứng của nhiều enzym có dạng như ở hình 55. Nhiệt độ ứng với hoạt độ enzym cao nhất gọi là *nhiệt độ hoạt động thích hợp của enzym* (t_{opt}). Đa số enzym có t_{opt} vào khoảng $40 - 50^{\circ}\text{C}$. Tuy nhiên t_{opt} của 1 enzym không cố định mà có thể thay đổi tùy cơ chất, pH môi trường, thời gian phản ứng v.v. Nhiệt độ mà enzym bị mất hoàn toàn hoạt tính xúc tác gọi là *nhiệt độ tới hạn*, thường vào khoảng trên 70°C . Ở nhiệt độ tới hạn, enzym bị biến tính, ít khi có khả năng được hồi phục lại hoạt độ. Ngược lại, ở nhiệt độ dưới 0°C , hoạt độ enzym tuy bị giảm nhưng lại có thể tăng lên khi đưa về nhiệt độ bình thường.

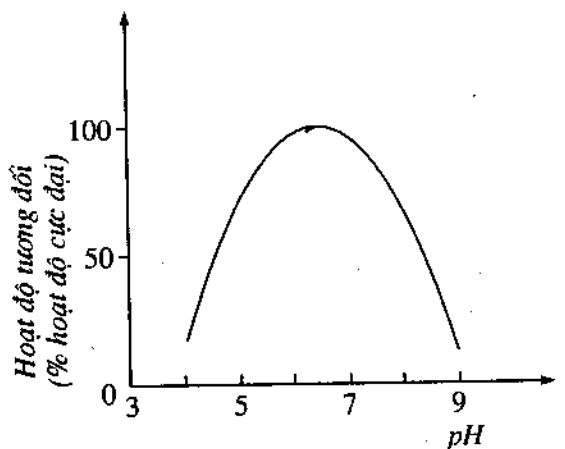


Hình 55 - Đường biểu diễn minh họa ảnh hưởng nhiệt độ đến tốc độ phản ứng enzym.

Độ bền của phân tử enzym tăng khi có cơ chất, coenzim, Ca^{2+} v.v.

pH môi trường : pH môi trường ảnh hưởng rõ rệt đến phản ứng enzym vì nó ảnh hưởng đến mức độ ion hoá cơ chất, enzym và ảnh hưởng đến độ bền của protein enzym. Đa số enzym bền trong giới hạn pH giữa 5 và 9, độ bền của enzym có thể tăng lên khi có cơ chất, coenzim, Ca^{2+} v.v.

Đường biểu diễn ảnh hưởng pH đến vận tốc phản ứng của nhiều enzym có dạng như ở hình 56. pH thích hợp (pH_{opt}) cho hoạt động của nhiều enzym vào khoảng 7. Tuy nhiên cũng có một số enzym có pH_{opt} rất thấp (pepsin, proteinaz axit của vi sinh vật v.v.) hoặc khá cao (subtilizin, $\text{pH}_{opt} > 10$). pH_{opt} của 1 enzym cũng không cố định mà phụ thuộc nhiều vào nhiều yếu tố khác như cơ chất, tính chất dung dịch đệm, nhiệt độ v.v.



Hình 56 - Đường biểu diễn minh họa ảnh hưởng của pH đến hoạt độ của enzym.

Ngoài một số yếu tố chính đã nêu trên, hoạt độ của enzym còn phụ thuộc vào nhiều yếu tố khác như : ánh sáng (đặc biệt là tia tử ngoại), sóng siêu âm, tia bức xạ v.v. Trong hệ thống sống, hoạt độ enzym còn phụ thuộc vào giai đoạn sinh trưởng phát triển v.v..

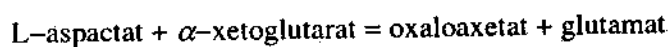
VI - CÁCH GỌI TÊN VÀ PHÂN LOẠI ENZIM

Trước kia thường gọi tên enzym một cách tùy tiện, tùy theo tác giả. Các tên đã quen dùng như pepsin, tripsin, kimotripsin v.v. hiện nay vẫn được dùng, gọi là tên thường dùng. Tên gọi đầy đủ, chính xác theo quy ước quốc tế – *tên hệ thống* của enzym được gọi theo tên cơ chất đặc hiệu của nó cùng với tên của loại phản ứng mà nó xúc tác, cộng thêm đuôi “az”.

Dựa vào tính đặc hiệu phản ứng của enzym, từ 1960 Hội hoá sinh quốc tế (IUB) đã thống nhất phân loại enzym thành 6 lớp, đánh số từ 1 đến 6. Các số thứ tự này là cố định cho mỗi lớp.

1. Oxidoreductaz : các enzym xúc tác cho phản ứng oxi hoá – khử.
2. Transpherezaz : các enzym xúc tác cho phản ứng chuyển vị.
3. Hidrolaz : các enzym xúc tác cho phản ứng thủy phân.
4. Liaz : các enzym xúc tác cho phản ứng phân cắt không cần nước, loại nước tạo thành nối đôi hoặc kết hợp phân tử nước vào nối đôi.
5. Izomeraz : các enzym xúc tác cho phản ứng đồng phân hoá.
6. Ligaz : các enzym xúc tác cho phản ứng tổng hợp có sử dụng liên kết giàu năng lượng của ATP v.v.

Mỗi lớp lại chia thành nhiều tổ. Mỗi tổ lại chia thành nhiều nhóm. Do đó, trong bảng phân loại, đứng trước tên enzym thường có 4 con số : số thứ 1 chỉ *lớp*, số thứ 2 chỉ *tổ*, số thứ 3 chỉ *nhóm* và số thứ 4 là chỉ *enzim*. Ví dụ : 2.6.1.1. L-aspartat : α -xetoglutarat aminotranspherezaz xúc tác cho phản ứng chuyển vị (lớp 2) nhóm chứa nitơ (tổ 6), nhóm chứa nitơ ấy là nhóm amin (nhóm 1) ; phản ứng do enzym này xúc tác :



(nhóm amin được chuyển từ L-aspartat đến α -xetoglutarat)

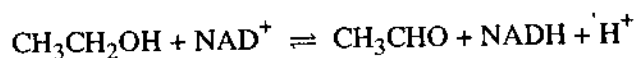
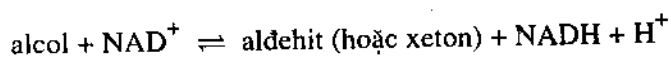
Sau đây sẽ trình bày chi tiết hơn về một số enzym của các lớp.

1. Oxidoreductaz

Các enzym thuộc lớp này là những enzym 2 thành phần có các coenzim như NAD^+ , NADP^+ , FMN, FAD, hem v.v. Ngoài kiểu phân loại chính thức theo quy ước quốc tế như đã ghi, thông thường người ta phân biệt các enzym của lớp này thành các nhóm sau : dehidrogenaz, reductaz, oxigenaz và peroxidaz (tác dụng trên H_2O_2 như là chất nhận).

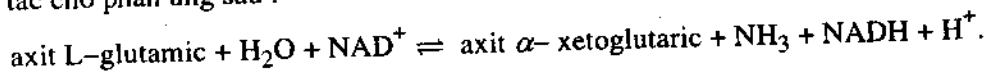
a) *Dehidrogenaz* : xúc tác cho phản ứng tách H trực tiếp từ cơ chất và chuyển đến NAD^+ , NADP^+ , FMN, FAD. Các dehidrogenaz xúc tác cho giai đoạn đầu của chuỗi hô hấp, vận chuyển H nghĩa là vận chuyển đồng thời proton và electron. Các dehidrogenaz cũng xúc tác cho phản ứng theo chiều ngược lại : chuyển H từ $[\text{NADH} + \text{H}^+]$ hoặc $[\text{NADPH} + \text{H}^+]$, FMNH_2 , FADH_2 đến cơ chất, khử cơ chất. Các phản ứng khử này có vai trò quan trọng trong các quá trình sinh tổng hợp. Một số ví dụ về các dehidrogenaz :

– *Alcoholdehidrogenaz* (1.1.1.1), enzym chứa Zn, có coenzim là NAD^+ , xúc tác cho phản ứng :



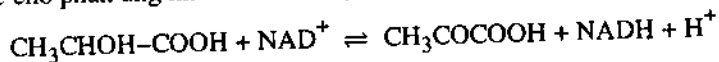
Phản ứng này có vai trò quan trọng trong quá trình lên men rượu. Người ta đã tách được enzym này ở dạng tinh thể, có thể sử dụng để định lượng etanol (khi hàm lượng etanol rất thấp)

– *Glutamat dehidrogenaz* (1.4.3.), có thể sử dụng coenzim NAD^+ (hoặc NADP^+). Enzim này xúc tác cho phản ứng sau :



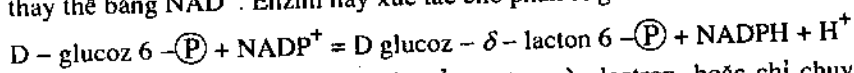
Phản ứng này có ý nghĩa sinh lí quan trọng ở chỗ : chuyển N vô cơ từ đất vào thực vật, giúp vi sinh vật hấp thụ amoniac.

Các coenzim NAD^+ và NADP^+ mặc dầu khá giống nhau về cấu tạo (hình 37) nhưng trong một số trường hợp không thể thay thế cho nhau được. Ví dụ lactadehidrogenaz (1.1.1.24) (LDH) xúc tác cho phản ứng khử axit lactic tạo thành axit piruvic :

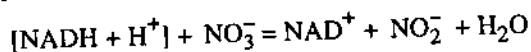


LDH có coenzim là NAD^+ , nếu thay bằng NADP^+ hoạt độ của nó có thể bị giảm 100 lần.

Ngược lại, glucos 6-(P)* dehidrogenaz (1.1.1.49) lại sử dụng coenzim NADP^+ mà không thể thay thế bằng NAD^+ . Enzim này xúc tác cho phản ứng sau :

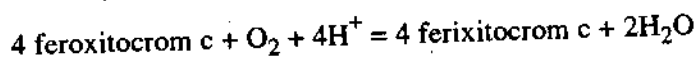


Reductaz xúc tác cho quá trình chuyển proton và electron, hoặc chỉ chuyển riêng electron giữa các chất mang. Ví dụ nitrat reductaz ($\text{NADH} + \text{H}^+ : \text{nitrat oxidoreductaz}$, 1.6.6.1) xúc tác cho phản ứng chuyển hoá NO_3^- thành NO_2^- :



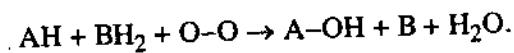
Phản ứng này có ý nghĩa lớn trong nông nghiệp. Enzim này có coenzim là FAD, cần kim loại cho hoạt động xúc tác của nó. Ví dụ : nitrat reductaz của mốc, thực vật cần molipden.

b) Oxidaz : Các enzym xúc tác cho quá trình chuyển electron đến oxi do đó hoạt hoá oxi làm cho nó có khả năng kết hợp với proton có trong môi trường. Các enzym này tác dụng trực tiếp với oxi. Ví dụ : xitocrom C oxidaz (1.9.3.1) xúc tác cho phản ứng cuối cùng của chuỗi hô hấp :



c) Oxygenaz : xúc tác cho các phản ứng oxi hoá, trong đó các nguyên tử oxi được kết hợp vào phân tử cơ chất tạo thành nhóm hidroxil hoặc nhóm cacboxil mới.

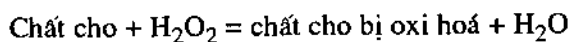
Dioxigenaz xúc tác cho các phản ứng kết hợp cả 2 nguyên tử oxi của O_2 vào phân tử cơ chất hữu cơ. Ví dụ triptophan 2,3 - dioxigenaz xúc tác cho phản ứng mở vòng 5 cạnh của Trp (phản ứng đầu tiên của quá trình phân giải Trp). Monoxigenaz (hidroxilaz) xúc tác cho phản ứng kết hợp chỉ một nguyên tử oxi của O_2 vào cơ chất hữu cơ, nguyên tử oxi thứ hai bị khử thành H_2O :



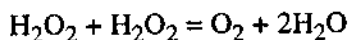
AH là cơ chất chính và BH_2 là cơ chất phối hợp cung cấp các nguyên tử H để khử nguyên tử oxi thứ hai thành H_2O . Ví dụ : phenilalanil - 4 - monooxygenaz cũng gọi là phenilalanil - 4 - hidroxilaz xúc tác cho phản ứng chuyển Phe thành Tyr.

* PO_3^{2-} : Gốc axit photphoric ; đọc là photphat.

d) *Peroxidaz*. Các peroxidaz điển hình và catalaz có coenzim là hem, xúc tác cho phản ứng oxi hoá các chất hữu cơ khi có H_2O_2 . Do đó chúng có vai trò loại tác dụng độc của H_2O_2 được tạo thành trong cơ thể. Peroxidaz xúc tác cho phản ứng :



Catalaz xúc tác cho phản ứng :

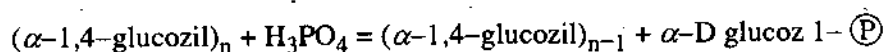


2. Transpherez

Các enzym lớp này cũng là những protein phức tạp, bản chất hoá học các coenzim của chúng rất khác nhau, tùy theo bản chất của nhóm được chuyển vị.

a) *Axyltranspherez*. Các enzym này xúc tác cho phản ứng chuyển nhóm axil thường là thông qua coenzim A, tạo thành phức CoAS-axil. Nhóm cacboxil của axit kết hợp với nhóm -SH của coenzim A tạo thành liên kết tioeste là liên kết giàu năng lượng. Các enzym này có vai trò quan trọng trong nhiều quá trình trao đổi chất quan trọng như trong quá trình trao đổi lipid, quá trình phân giải glucos v.v.

b) *Glucosyl transpherez* : xúc tác cho phản ứng vận chuyển gốc đường (hexoz, pentoz) từ chất cho đến các chất nhận khác nhau, thường gặp nhất là nhóm OH của một gốc xacarit khác hoặc của gốc photphat, nguyên tử N của nhân dị vòng. Ví dụ : α -glucan photphorilaz (2.4.1.1), cũng thường gọi là photphorilaz, xúc tác cho phản ứng phân giải tinh bột, glicogen, trong đó axit photphoric đóng vai trò như H_2O (photphoril phân)

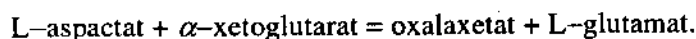


Các glucosyl transpherez cũng xúc tác cho quá trình tạo cấu trúc phân nhánh trong phân tử glicogen, amilopectin.

Trong mô enzym tồn tại ở 2 dạng : photphorilaz a và b, cả 2 dạng đều có cấu trúc bậc 4. Nhiều bằng chứng thực nghiệm xác thực rằng monome của photphorilaz a (FA) và b (FB) là hoàn toàn giống nhau về khối lượng phân tử, số trung tâm hoạt động, trung tâm điều hoà v.v. nhưng khác nhau ở chỗ các monome của FA được photphoril hoá. Hai dạng FA và FB có thể chuyển hoá lẫn nhau, FB hầu như không có hoạt động xúc tác, sau khi photphoril hoá chuyển thành FA. Khi dephotphoril hoá FA tạo thành FB.

c) *Aminotranspherez*. Các enzym này có coenzim là piridoxal photphat, xúc tác cho phản ứng chuyển vị nhóm amin. Các phản ứng quan trọng như chuyển thuận nghịch nhóm amin của axit amin đến alpha-xetoaxit.

Ví dụ : L-aspartat : α -xetoglutarat-aminotranspherez (2.6.1.1) xúc tác cho phản ứng :



hoặc L-alanin : 2 oxoglutarat-aminotranpherez (2.6.1.2) xúc tác cho phản ứng : L-alanin + 2 oxoglutarat = piruvat + L-glutamat.

Hoạt độ của các enzym này trong huyết thanh liên quan chặt chẽ với trạng thái của cơ thể, sự huỷ hoại tế bào của các cơ quan khác nhau (gan, tim, cơ). Khi tế bào của các cơ quan này bị huỷ

hoại, các enzym được giải phóng vào máu, vì vậy có thể căn cứ vào hoạt độ của chúng để chẩn đoán trong lâm sàng.

d) *Photphotranspherez*. Hầu hết các phản ứng vận chuyển gốc photphoril thường có ATP tham gia với tính chất là chất cho, gốc photphat được chuyển từ ATP (hoặc có thể là NTP khác) đến nhóm hidroxil của alcol hoặc xacarit. Các enzym này thường có tiếp vĩ "kinaz". Ví dụ hexokinaz xúc tác cho phản ứng sau : $ATP + D - \text{hexoz} = ADP + D - \text{glucoz } 6 - \text{P}$

Các kinaz cũng xúc tác cho phản ứng chuyển gốc photphat theo kiểu : $ATP + AMP = ADP + ADP$ (enzim xúc tác cho phản ứng này gọi là adenilat kinaz).

Thuộc photphotranspherez còn có các photphomutaz, xúc tác cho phản ứng chuyển photphat nội phân tử. Ví dụ : glucophotphomutaz xúc tác cho phản ứng chuyển glucoz 1-P, thành glucoz 6-P. Enzim này có coenzim là glucoz 1,6-di P, chính coenzim chuyển thành sản phẩm phản ứng, gốc P ở vị trí 1 của coenzim được chuyển đến vị trí 6 của cơ chất, cơ chất sẽ hoạt động như 1 coenzim.

3. Hidrolaz

Hidrolaz xúc tác cho phản ứng thuỷ phân, vì vậy các phản ứng do enzym lớp này xúc tác luôn có nước tham gia. Đặc điểm khác là các hidrolaz thường không cần coenzim cho hoạt động xúc tác của chúng. Một số hidrolaz phổ biến có vai trò quan trọng đối với quá trình tiêu hoá như amilaz, peptit hidrolaz, lipaz v.v.

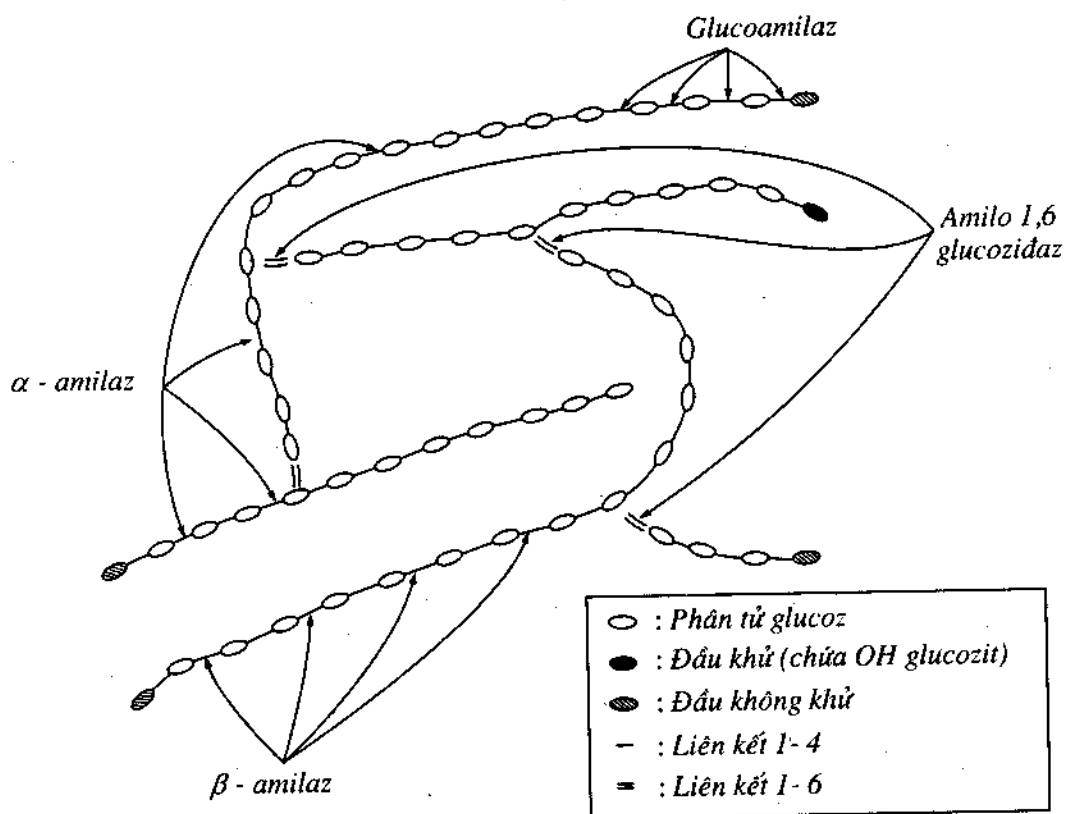
a) *Amilaz* xúc tác cho quá trình thuỷ phân tinh bột, glicogen và các polixacarit tương tự. Đến nay người ta biết có 3 loại amilaz là α -amilaz, β -amilaz và glucoamilaz. Các enzym này khác nhau về tính đặc hiệu tác dụng đối với liên kết glucozit và một số tính chất khác. Các amilaz tách từ vi sinh vật, thực vật được sử dụng rộng rãi trong thực tế.

- *Alpha-amilaz* (3.2.1.1) có trong nước bọt, hạt hoà thảo nảy mầm, tuy tạng, trong nấm mốc, vi khuẩn. α -amilaz phân giải các liên kết 1,4-glucozit ở giữa chuỗi mạch polixacarit (hình 57), vì vậy cũng gọi là "endo-amilaz" tạo thành các dextrin phân tử thấp. Do đó dưới tác dụng của enzym này dung dịch tinh bột nhanh chóng bị mất khả năng tạo màu với dung dịch iot và bị giảm độ nhớt mạnh. Ion canxi có tác dụng làm bền cấu trúc không gian của phân tử enzym. α -amilaz tương đối bền với nhiệt hơn các amilaz khác nhưng lại kém bền với axit.

- *Beta-amilaz* (3.2.1.2) : có nhiều ở thực vật (hạt, củ) xúc tác phản ứng thuỷ phân liên kết 1,4-glucozit kể từ đầu không khử, tạo thành chủ yếu là mantoz và dextrin phân tử lớn. β -amilaz bị mất hoạt tính ở nhiệt độ cao hơn 70°C nhưng lại bền với axit hơn α -amilaz.

- *Glucoamilaz* (3.2.1.3) : có nhiều ở vi sinh vật, gan động vật, xúc tác cho phản ứng thuỷ phân các liên kết 1,4 - 1,6 - glucozit bắt đầu từ đầu không khử của chuỗi polixacarit. Sản phẩm chủ yếu được tạo thành dưới tác dụng của enzym này là glucoz và dextrin. Glucoamilaz cũng bị mất hoạt tính ở nhiệt độ cao hơn 70°C. Nhiều glucoamilaz hoạt động mạnh nhất ở pH từ 3,5 - 5,5.

b) *Peptit hidrolaz* : xúc tác cho phản ứng thuỷ phân liên kết peptit, tạo thành peptit phân tử thấp, axit amin. Các peptit hidrolaz khác nhau có tính đặc hiệu khác nhau đối với liên kết peptit. Một số enzym phân giải các liên kết peptit ở giữa chuỗi mạch polipeptit, gọi là *endo peptit hidrolaz* hay proteinaz (pepxin, tripsin, kimotripsin v.v.) một số khác lại thuỷ phân các liên kết ở đầu mút của chuỗi mạch ; gọi là *ekzo peptitidrolaz* hay *peptidaz*.



Hình 57 - Sơ đồ minh họa tác dụng của các dạng amilaz.

Ví dụ : aminopeptidaz phân giải liên kết peptit ở đầu N, cacboxipeptidaz phân giải liên kết peptit ở đầu C của chuỗi polipeptit. Dipeptidaz phân giải liên kết peptit của các dipeptit. Ngoài ra mỗi enzym còn có yêu cầu xác định về cấu tạo mạch bên của axit amin có nhóm $-CO-$ hoặc nhóm $-NH-$ của liên kết peptit. Dựa vào tính đặc hiệu, cấu tạo trung tâm hoạt động và một số tính chất hoá lí khác, người ta thường chia proteinaz thành các nhóm nhỏ.

Theo cách phân chia của Hartley 1960 các proteinaz được chia thành 4 nhóm :

- Proteinaz - xerin : gốc xerin đóng vai trò xúc tác trong trung tâm hoạt động (trypsin, kimotrypsin, elastaz, subtilizin tách từ *Bacillus*, các proteinaz xúc tác cho quá trình đông máu, acrozin v.v.)
- Proteinaz - tiol : Có nhóm SH trong trung tâm hoạt động trực tiếp tham gia phản ứng xúc tác (bromelin, papain, fixin v.v.)
- Proteinaz - kim loại : Trung tâm hoạt động có chứa ion kim loại trực tiếp tham gia phản ứng xúc tác (proteinaz trung tính của *Bacillus*, collagenaz v.v.)
- Proteinaz - axit : (cũng gọi là aspartic proteinaz) : nhóm γ -cacboxil của aspartat trong trung tâm hoạt động tham gia trong phản ứng xúc tác (pepsin, renin, proteinaz axit của vi sinh vật). Các enzym này có pH hoạt động thích hợp nhất ở vùng axit.

Proteinaz tham gia trong nhiều quá trình hoạt động sống quan trọng và được sử dụng rộng rãi trong y học và nhiều ngành công nghiệp khác.

c) Lipaz (triacylglycerol lipaz 3.1.1.3) xúc tác cho phản ứng thủy phân triacylglycerol (dầu thực vật, mỡ động vật) tạo thành các axit béo tự do và glycerol. Lipaz xúc tác phản ứng thủy phân lần lượt từng liên kết este trong phân tử chứ không phải cắt đứt cả 3 liên kết este cùng một lúc.

Lipaz có nhiều ở hạt thầu dầu, tuy tạng động vật có vú, có thể dùng các nguyên liệu này để tách lipaz. Ngoài tuy ra người ta cũng tìm thấy lipaz trong dạ dày, nước bọt và trong sữa. Một số nấm mốc, vi khuẩn cũng có khả năng tổng hợp lượng lớn lipaz. Tính chất hoá lí của các lipaz tách từ các nguồn khác nhau có nhiều điểm không giống nhau. Ví dụ : khối lượng phân tử, độ bền với nhiệt, pH thích hợp cho hoạt động xúc tác v.v.

Một số yếu tố như NaCl, Ca^{++} , axit mật làm tăng tốc độ thủy phân lipid trong cơ thể, đặc biệt axit mật có vai trò quan trọng đối với quá trình hấp thụ mỡ ở ruột non.

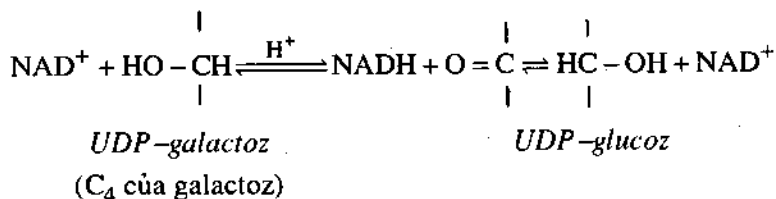
4. Liaz

Piruvat decarboxilaz (cacboxi-liaz 2 oxo axit 4. 1.1.1) xúc tác cho phản ứng loại CO_2 khỏi phân tử axit piruvic, tạo thành aldehyt tương ứng là axetaldehyt. Phản ứng này có vai trò quan trọng trong quá trình lên men rượu. Enzim này có coenzim là tiaminpyrophosphat. Fumarat hydrataz (L-malat hydratiaz 4.2.1.2) xúc tác cho phản ứng tách thuận nghịch phân tử H_2O khỏi axit malic, tạo thành axit fumaric (có một nối đôi).

Amoniac liaz của L-aspartat (4.3.1.1) xúc tác cho phản ứng chuyển hoá thuận nghịch L-aspartat thành axit fumaric và NH_3 . Phản ứng ngược có ý nghĩa quan trọng ở chỗ kết hợp NH_3 vào hợp chất hữu cơ.

5. Izomeraz

UDP glucoz 4-epimeraz (5.1.3.2) xúc tác cho phản ứng chuyển hoá tương hỗ phức tạp giữa galactoz và glucoz. Enzim có chứa NAD^+ , nghiên cứu cho thấy NAD^+ tham gia trực tiếp trong phản ứng xúc tác theo sơ đồ sau :



D-glucoz 6-(P)-xetoizomeraz (5.3.1.9) xúc tác cho phản ứng chuyển hoá lẫn nhau giữa D-glucoz 6-(P) và fructoz 6-(P). Enzim này cũng như các enzim khác của nhóm 5.3.1 thực hiện phản ứng oxi hoá nhóm CHOH kèm theo phản ứng khử nhóm $\text{C} = \text{O}$ ở bên cạnh, do đó cũng có thể xem là oxidoreductaz nội phân tử.

D-phosphoglixerat-2,3-phosphoglucomutaz (5.4.2.1) xúc tác cho phản ứng chuyển vị nội phân tử gốc photphat từ vị trí 3 đến vị trí 2 trong phân tử axit glixerinic.

6. Ligaz

Piruvatcacboxilaz (6.4.1.1) : Xúc tác cho phản ứng cacboxil hoá axit piruvic tạo thành axit oxaloaxetic. Enzim này có chứa nhóm thêm là biotin, cần axetil-CoA và Mg^{++} cho phản ứng xúc tác. Biotin là chất mang CO_2 đã hoạt hoá và chuyển đến axit piruvic.

Hoocmon là những hợp chất hữu cơ được tạo thành trong cơ thể, có tác dụng như những tín hiệu giữa các tế bào trong toàn bộ cơ thể. Lượng hoocmon trong cơ thể thường rất thấp, một số hoocmon ở động vật chỉ có khoảng $10^{-12} - 10^{-15}$ mol/mg protein của mô. Hoocmon có ở thực vật, cơ thể đơn bào, động vật.

Tên gọi "hoocmon" do Baylis (William Bayliss) và Xtaclinh (Ernest Starling) đặt ra vào năm 1904 để chỉ một chất do niêm mạc tá tràng tiết ra và có tác dụng làm tăng bài tiết dịch tụy. Về sau, người ta gọi tất cả các sản phẩm của tuyến nội tiết là hoocmon nội tiết hay hoocmon.

Hoocmon được tạo thành từ các mô đặc biệt, thường tác dụng đến các mô khác với nơi nó được tổng hợp. Ở người và động vật, hoocmon được tiết trực tiếp vào máu, máu vận chuyển hoocmon đến mô chịu tác dụng. Ở thực vật, hoocmon có thể được vận chuyển trong mô dẫn. Hoocmon hoạt động ở nồng độ rất thấp chỉ cần một lượng rất ít cũng thể hiện được tác dụng sinh học của nó.

Lượng hoocmon được tiết ra tùy thuộc nhu cầu của cơ thể, hoạt động sinh lí v.v.

Tác dụng của hoocmon có tính đặc hiệu rõ rệt : mỗi hoocmon làm thay đổi hoạt động đặc hiệu của các tế bào, các cơ quan nhất định. Các tế bào, cơ quan chịu tác dụng đặc hiệu này gọi là tế bào đích (target cell) hoặc cơ quan đích (target organ).

Hoocmon có tác dụng điều hoà các quá trình sinh hoá trong cơ thể chứ không tham gia trực tiếp vào các phản ứng. Có thể nói các hoocmon có tác dụng đến các quá trình trước khi nó xảy ra.

Có thể tóm tắt các cách tác dụng của hoocmon như sau :

- Ảnh hưởng đến tốc độ sinh tổng hợp enzym và protein.
- Ảnh hưởng đến tốc độ xúc tác của enzym.
- Thay đổi tính thấm của màng tế bào.
- Điều khiển nhiều chức năng khác như : tăng trưởng mô và tế bào, nhịp đập tim, áp suất máu, chức năng thận, sự tiết các enzym tiêu hoá và các hoocmon khác, sự tiết sữa và các hoạt động của các hệ thống sinh sản.

I - HOOCMON ĐỘNG VẬT

Các hoocmon có cấu trúc rất đa dạng, tuy nhiên, dựa vào cấu tạo hoá học có thể phân thành 3 nhóm :

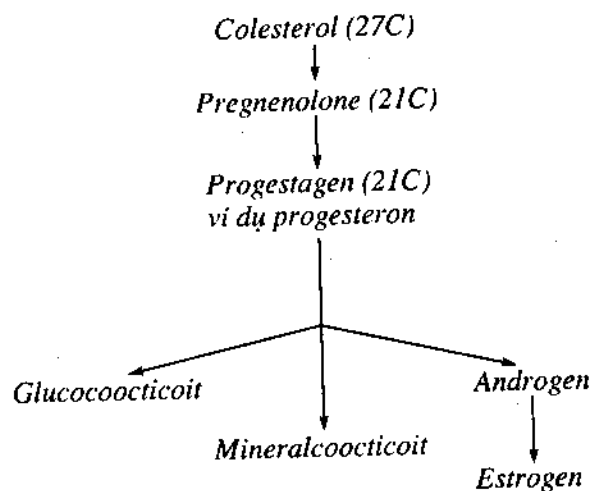
- Hoocmon steroid là dẫn xuất của cholesterol.
- Hoocmon amin, có khối lượng phân tử thấp.

– Hoocmon peptit, protein có khối lượng phân tử lớn hơn 2 loại trên.

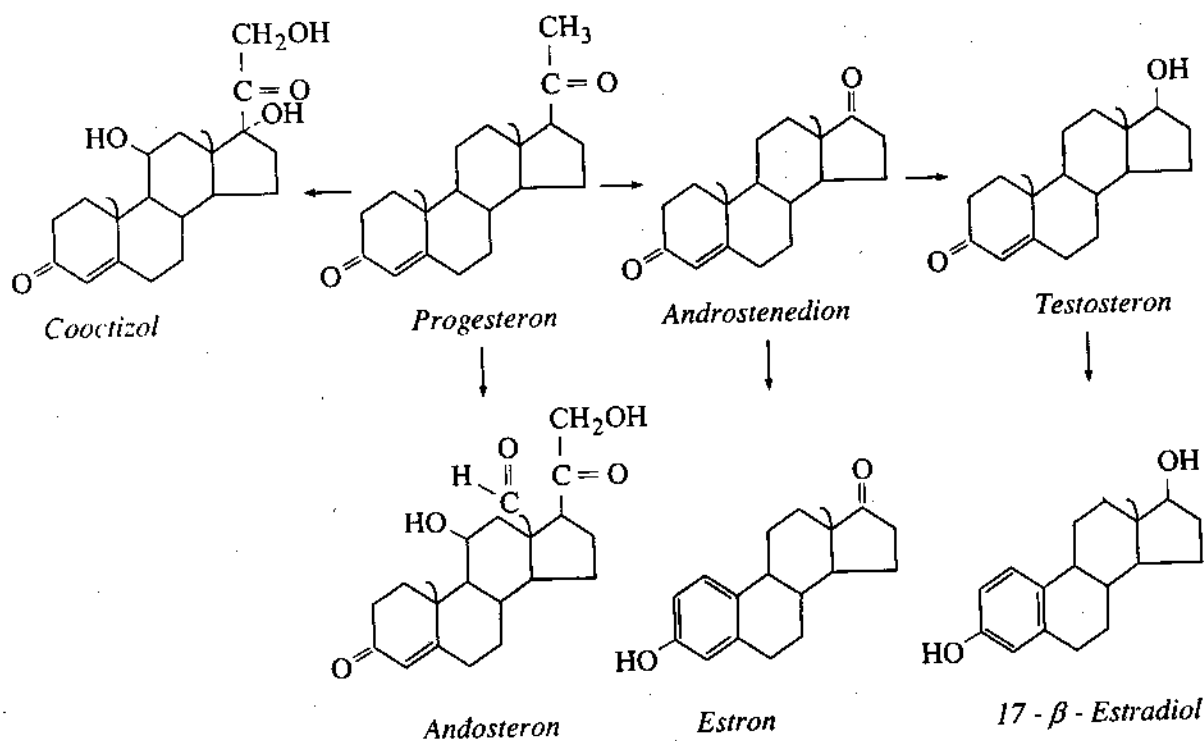
Ngoài ra, nhóm thứ 4 bao gồm các tín hiệu ngoại bào có tác dụng tương tự hoocmon (cicosapoides) nhưng tác dụng của chúng có tính chất cục bộ.

1. Các hoocmon steroid

Các hoocmon này được phân thành 5 nhóm (bảng 15). Liên hệ giữa các nhóm này được trình bày trên sơ đồ ở hình 58. Công thức một số hoocmon đại diện cho mỗi nhóm được giới thiệu trên hình 59.



Hình 58 – Mối liên hệ giữa các hoocmon đã giới thiệu trong bảng 15.



Hình 59 – Công thức của một số hoocmon steroid.

Bảng 15

**CÁC HOOCMON STEROIT, ĐẠI DIỆN CỦA MỖI NHÓM
VÀ TÁC DỤNG SINH HỌC CHÍNH CỦA CHÚNG**

STT	Nhóm (số cacbon trong phân tử)	Hoocmon lấy làm ví dụ	Nơi tạo thành	Tác dụng sinh học chính
1	Progestagen (21C)	Progesteron	- Thể vàng - Vỏ thượng thận	Hoocmon dưỡng thai, chuẩn bị dạ con để trứng phát triển, bảo vệ thai.
2	Glucococorticoid (21C)	Cocortizol	Vỏ thượng thận	- Kích thích tổng hợp glicogen trong gan và tích lũy glicogen ở gan, tăng cường giải phóng glucos ở gan vào máu. - Tăng cường quá trình phân giải protein, chất béo. - Giảm phản ứng viêm - Tăng tích nước, muối natri
3	Mineralococorticoid	Andosterol	Vỏ thượng thận	Tăng tái hấp thụ (reab-sorption) Na^+ , Cl^- , HCO_3^- bởi thận, tăng tích nước, bài tiết K^+ .
4	Androgen (19C)	Testosterol	Tinh hoàn	Cần cho sự phát triển các dấu hiệu giới tính đực thứ cấp.
5	Estrogen (18C)	Estron (folliculin) Estradiol (dihydrofo- liculin)	Buồng trứng	Cần cho sự phát triển các dấu hiệu giới tính cái thứ cấp, làm phát triển niêm mạc dạ con trong chu kỳ kinh nguyệt.

Các hoocmon steroid như estradiol, progesteron, cocortizol v.v. tác dụng theo cách thứ nhất, nghĩa là chúng ảnh hưởng trước hết đến quá trình phiên mã (*transcription*), trung tâm chịu tác dụng là nhân tế bào. Hiệu quả sinh học của chúng phụ thuộc vào quá trình sinh tổng hợp các protein mới, do đó thời gian cần thiết để thể hiện kết quả tác dụng tương đối lâu, phải hàng giờ.

Các hoocmon steroid và các hoocmon cùng họ tác dụng bằng cách kết hợp với các protein thụ quan đặc hiệu (*specific receptor proteins*) trong bào tương. Tiếp theo, phức hoocmon-thụ quan đi vào nhân, tương tác với các trung tâm ADN đặc hiệu gọi là các yếu tố đáp lại hoocmon (*hormone-responsive elements = HREs*). Sự kết hợp này ảnh hưởng đến sự phiên mã của các gen bên cạnh. Do trung tâm tác dụng của chúng (là nhân tế bào), các thành viên của mọi protein này cũng gọi là các thụ quan nhân (*nuclear receptors*). Hàm lượng thụ quan nhân rất thấp chỉ khoảng 10^4 phân tử trong một tế bào. Mỗi protein thụ quan có domain khoảng 80 gốc tham gia trong việc kết hợp với ADN. Đầu N của domain này là vùng quan trọng đối với việc khởi động quá trình sao chép; domain ở đầu C tham gia kết hợp hoocmon và khởi động sao chép.

Tất cả các thụ quan của họ này đã được biết đều chứa kẽm, kẽm có vai trò chủ yếu kết hợp với ADN.

Ví dụ: tác dụng của $17\text{-}\beta\text{-estradiol}$, trước hết nó kết hợp rất chặt với thụ quan (*receptor*) đặc hiệu có trong tế bào chất của các tế bào dạ con. Phức hoocmon - thụ quan này đi vào nhân tế bào. Sau khi kết hợp với estradiol, ái lực giữa thụ quan và ADN tăng lên đáng kể. Tương tác giữa phức estradiol - thụ quan với ADN có tính đặc hiệu cao. Tính đặc hiệu còn thể hiện ở chỗ estron có thể

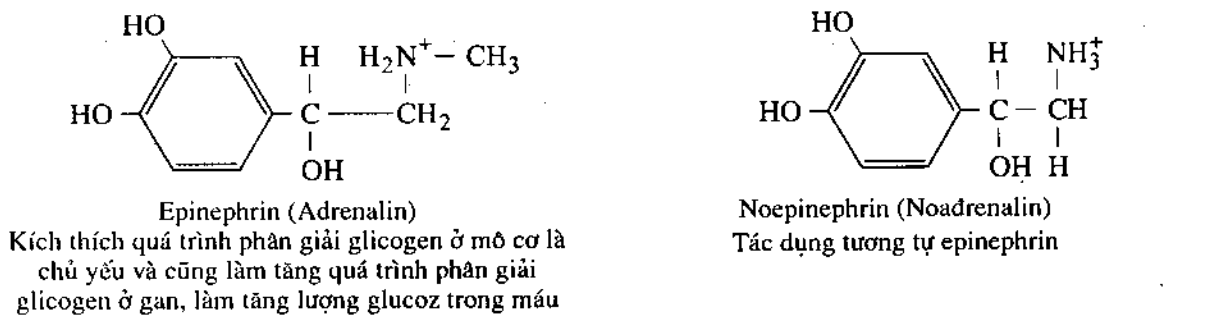
kết hợp với thụ quan nhưng phức này không kết hợp với ADN do đó estron không có tác dụng kích thích tăng trưởng dạ con.

2. Các hoocmon amin và các hoocmon peptit

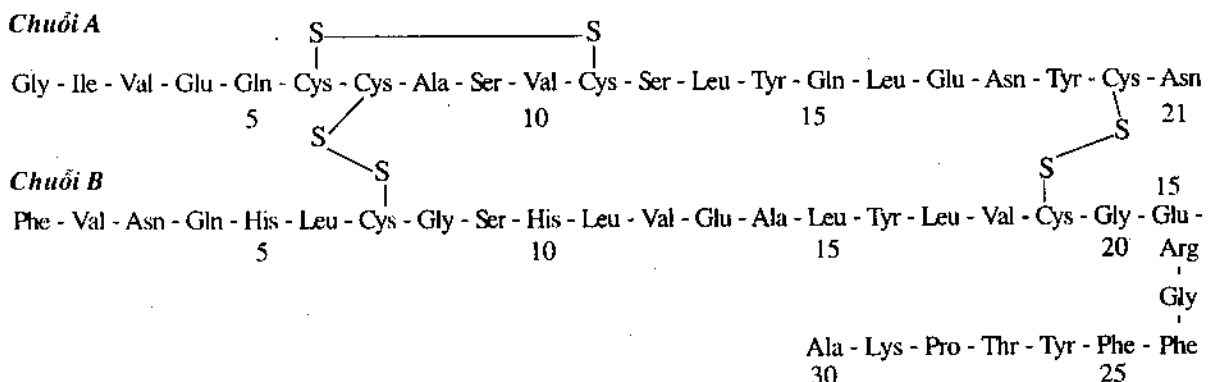
Một số ví dụ về các axit amin này được trình bày trên hình 60 – 62, bảng 16. Đến nay, người ta đã biết một số hoocmon như epinephrin, norepinephrin, coocticotropin, glucagon v.v. tác dụng theo cơ chế thông qua chất trung gian AMP_v (AMP_v). Do đó, AMP_v được xem như là chất truyền tin thứ hai (second messenger) trong tế bào. Hoocmon là chất truyền tin thứ nhất (first messenger). Theo cơ chế này, tác dụng của các hoocmon đến tế bào đích (tế bào chịu tác dụng, target cell) được thực hiện như sau :

- Trong màng nguyên sinh của tế bào chịu tác dụng có chứa thụ quan hoocmon, sẽ kết hợp đặc hiệu với hoocmon.
- Sự kết hợp giữa hoocmon và chất nhận làm tăng hoạt độ của adenilatcyclaz, một enzym gắn trong màng nguyên sinh.
- Adenilatcyclaz xúc tác cho phản ứng chuyển hoá ATP thành AMP_v , do đó khi hoạt độ của nó tăng, làm tăng lượng AMP_v .
- AMP_v có tác dụng làm thay đổi tốc độ của một hay nhiều quá trình.

Như vậy các hoocmon tác dụng theo kiểu này không cần thiết phải đi vào tế bào, tác dụng sinh học của chúng đối với các quá trình trong tế bào được thực hiện thông qua AMP_v . Đến nay người ta đã biết có khoảng 13 hoocmon tác dụng theo kiểu này.



Hình 60 – Công thức và tác dụng sinh học chính của một số hoocmon amin.

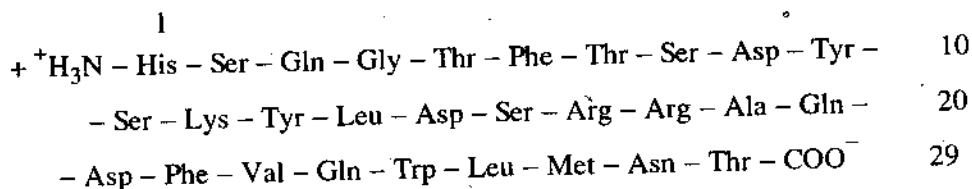


Hình 61 – Trình tự axit amin trong insulin của tụy tạng bò.

Bảng 16.

MỘT SỐ HOOCMON AMIN VÀ HOOCMON POLIPEPTIT

Hoocmon	Viết tắt	Nơi tạo thành	Tác dụng sinh học chính
Hoocmon amin	{ Epinephrin (adrenalin) Norepinephrin (noradrenalin) Tiroxin (Thyroxin)	Tuyến trên thận	Tăng cường phân giải glicogen, tăng đường trong máu
		Tuyến giáp	Tăng cường quá trình trao đổi cơ bản, tác dụng phát triển, biệt hoá hình thể.
Hoocmon polipeptit (polipeptit)			
Tirocantitonin (Thyrocalcitonin)		Tuyến giáp	Giảm hàm lượng Ca^{++} trong máu.
Hoocmon tuyến cận giáp			
		Tuyến cận giáp	Tăng Ca^{++} trong máu.
Insulin		Tụy	Giảm lượng đường trong máu.
Glucagon	HGF	Tụy	Tăng lượng đường trong máu.
Oxitoxin		Thùy sau tuyến yên	Tác dụng thúc đẻ, gây co dạ con
Vazoprexin	ADH	- nt -	Tăng áp và chống bài niệu.
Melanotropin (Melanophore - Stimulating Hormone)	MSH	Thùy trước tuyến yên	Kích thích tế bào tạo chất màu ở da.
Somatotropin (Somato-tropin Hormone)	STH	"	Kích thích tăng trưởng, trao đổi chất.
Coocticotropin (Adreno - Cortico - trophin Hormone)	ACTH	"	Kích thích tuyến trên thận.
Tireotropin (Thyreo - Stimulating Hormone)	TSH	"	Kích thích tuyến giáp.
Kích nang tố (Follicle - Stimulating Hormone)	FSH	"	Kích thích tạo estradiol.
Hoocmon kích thích phát triển tổ chức kẽ (Interstitial Cells stimulating Hormone = Luteinizing Hormone)	LH (=ICSH)	"	Kích thích các tế bào kẽ tuyến làm phát triển tổ chức kẽ kích thích tạo hoocmon sinh dục.
Hoocmon sinh sữa : prolactin (Luteo - Trophin Hormone)	LTH	"	Kích thích bài tiết sữa nhưng không có tác dụng trên phụ nữ thiếu sữa cho con bú.

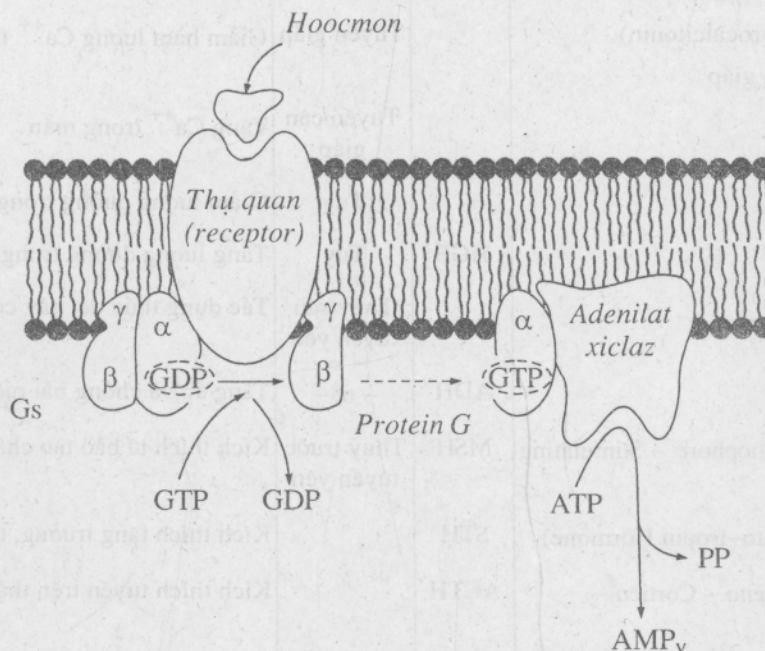


Hình 62 - Trình tự axit amin của glucagon.

Sau đây sẽ trình bày chi tiết hơn một số giai đoạn đã nêu trên.

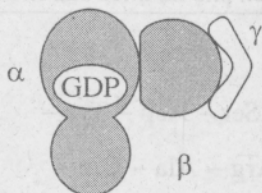
Trước hết hãy xem phức hoocmon – chất nhận hoạt hoá adenilatxiclaz bằng cách nào? Quá trình hoạt hoá này được thực hiện qua một chất trung gian là protein G. Gọi là protein G vì protein này kết hợp với guanilnucleotit, nó có thể kết hợp với GDP hoặc GTP. Dạng protein G–GTP có tác dụng hoạt hoá adenilatxiclaz còn protein G–GDP không có tác dụng này. Như vậy, muốn chuyển sang dạng hoạt động, GDP trong phức protein G–GDP phải được thay thế bằng GTP. Quá trình thay thế này do phức hoocmon – chất nhận xúc tác (chất nhận ở dạng tự do, không kết hợp với hoocmon, không có tác dụng xúc tác).

Như vậy, dòng thông tin đi từ chất nhận hoocmon đến protein G rồi đến adenilatxiclaz (hình 63).



Hình 63 – Sơ đồ minh hoạ vai trò trung gian của protein G trong quá trình truyền thông tin từ phức hoocmon – thụ quan đến adenilatxiclaz.

Protein G không chỉ có vai trò trung gian mang thông tin từ chất nhận hoocmon đến adenilaxiclaz như đã nói trên, mà còn có hoạt tính GTP – az (phân giải GTP), do đó nó xúc tác cho quá trình chuyển phức protein G – GTP hoạt động thành dạng không hoạt động (protein G – GDP), bằng cách này làm ngừng quá trình hoạt hoá adenilatxiclaz. Do đó, protein G có vai trò quan trọng trong cả hai quá trình hoạt hoá và phản hoạt hoá adenilatxiclaz. Khi lượng hoocmon giảm, adenilatxiclaz trở về trạng thái không hoạt động.



Sơ đồ biểu diễn cấu trúc của protein G gồm 3 phần dưới đơn vị (pddv) α , β và γ .

α : kết hợp với guanin nucleotit, có hoạt tính GTP–az

β : chứa cấu trúc cánh quạt 7 nang.

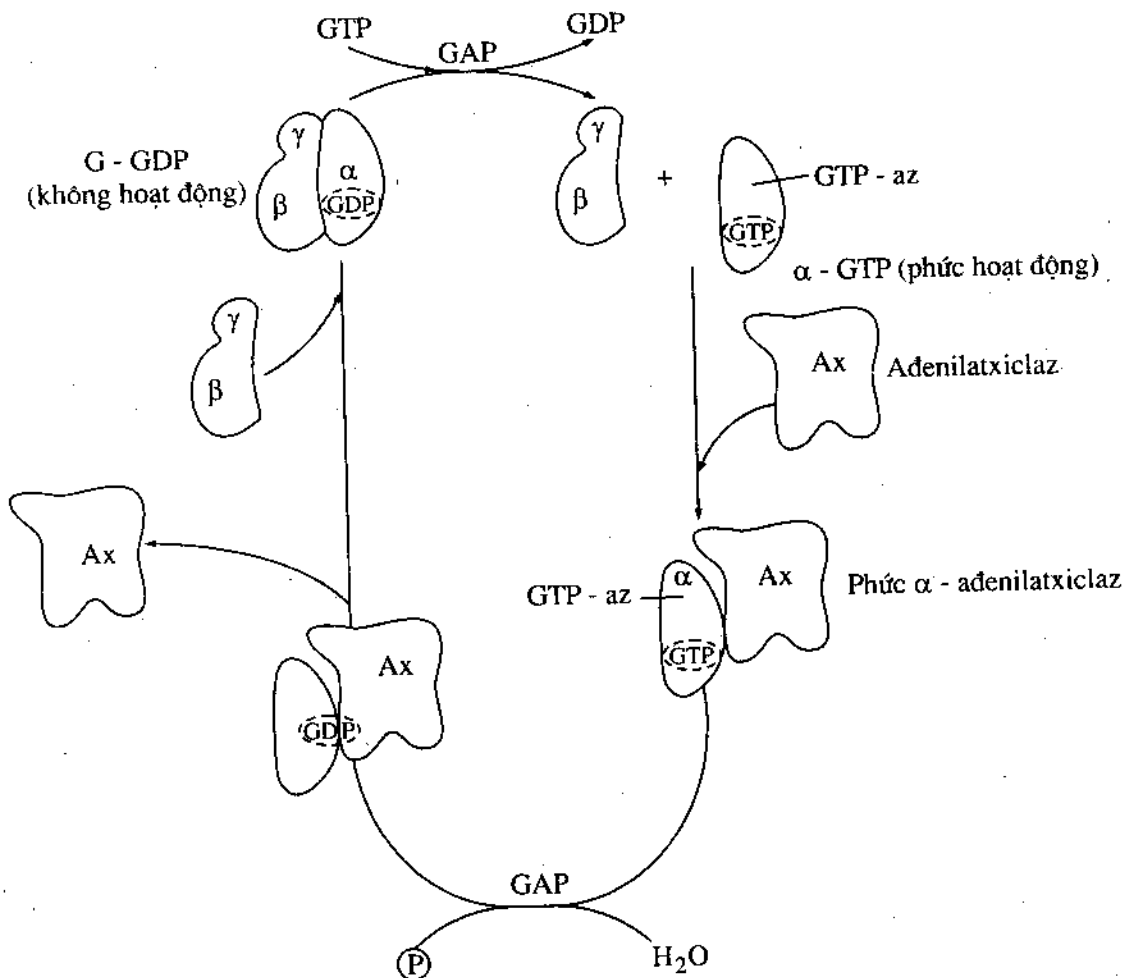
γ : gồm một cặp xoắn α úp trên pddv β .

Protein G là loại các protein liên kết với màng, có vai trò truyền tín hiệu nhận được bởi các thụ quan trên bề mặt tế bào. Hai loại protein được biết rõ nhất là Gs và Gi. Các protein Gs tham

gia trong quá trình hoạt hoá adenilatcyclaz còn Gi kìm hãm enzym này. Các protein G cũng còn tương tác với các thụ quan khác (và với các protein đích khác ngoài adenilatcyclaz).

Các protein Gs, Gi và các protein G khác đều gồm 3 phần dưới đơn vị (pddv) α , β , γ , khối lượng phân tử tương ứng của 3 pddv này là : 39 – 46 kDa, 37kDa và 8 kDa.

Các pddv này có vai trò khác nhau : pddv γ giúp cho protein gắn vào màng và hỗ trợ cho tương tác protein–protein ; pddv α có trung tâm kết hợp guanin nucleotit, hoạt tính GTP–az xảy ra ở pddv này. Tín hiệu từ hoocmon dẫn đến sự thay thế GDP (của Gs) bằng GTP và phân li protein G, phức α –GTP di chuyển dọc theo màng cho đến khi nó bắt gặp phân tử adenilatcyclaz hoặc một protein đích khác. GTP ở trong phức α –GTP sẽ từ từ chuyển thành GDP (do hoạt tính GTP–az của pddv này) và lại tạo thành α –GDP, phức này kết hợp trở lại với phức β , γ (xem sơ đồ minh hoạ chu trình phân li và tái kết hợp của protein G dưới đây) và mất khả năng hoạt hoá adenilatcyclaz . Quá trình này cần một protein hoạt hoá GTP–az.



Sơ đồ minh hoạ chu trình phân li và tái kết hợp của protein G.

α , β , γ là 3 pddv của protein G ; α –GTP là dạng hoạt động ; phức với GDP không hoạt động ; GAP : protein hoạt hoá GTP–az.

Các protein G khác nhau có thể tác dụng đến các protein đích theo các cách khác nhau.

Các protein G (pddv α) cũng tham gia vào nhiều quá trình truyền các tín hiệu khác, ví dụ truyền tín hiệu từ ánh sáng trong quá trình nhìn thấy, nhận mùi (odor) hoặc tương tác với các kênh ion (ion channels), tương tác với photpholipaz.

Bộ gen của người có chứa hơn 15 gen mã hoá các pddv α , 5 gen mã hoá cho các pddv β và 10 gen mã hoá cho các pddv γ , như vậy về lí thuyết có thể tạo thành rất nhiều protein G, tuy nhiên chưa rõ có bao nhiêu protein G hiện diện trong thực tế.

Như trên đã nói, hiện nay đã biết có khoảng 13 hoocmon khác nhau đều tác dụng theo cơ chế thông qua vai trò trung gian của AMP_v , điều đó chứng tỏ AMP_v phải có tác dụng đến nhiều quá trình khác nhau. Bằng cách nào AMP_v có thể ảnh hưởng đến nhiều quá trình như vậy? Có thể nói tóm tắt đó là do AMP_v có tác dụng hoạt hoá proteinkinaz, một enzym xúc tác cho quá trình photphoril hoá nhiều protein, enzym khác nhau. Dạng photphoril hoá và dephotphorit hoá của các protein, enzym này thường có hoạt tính sinh học rất khác nhau, dạng này có hoạt tính sinh học thì dạng kia lại mất hoạt tính.

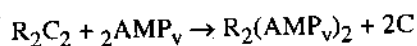
Các hoocmon tác dụng theo cơ chế đã nêu (sử dụng AMP_v làm chất trung gian), tín hiệu của chúng được khuếch đại lên nhiều lần. Nồng độ của nhiều hoocmon trong máu chỉ vào khoảng $10^{-10}M$, nhưng chỉ cần hoạt hoá 1 phân tử adenilatcyclaz đã có thể tạo thành nhiều phân tử AMP_v do đó nồng độ AMP_v trong tế bào đích cao hơn nhiều. Tác dụng hoạt hoá proteinkinaz nhờ AMP_v lại làm cho tín hiệu được khuếch đại tiếp tục vì nhiều phân tử protein, enzym sẽ được photphoril hoá nhờ enzym này.

Ví dụ: các hoocmon glucagon, epinephrin và norepinephrin, mặc dù chúng khác nhau về mặt hoá học, cả 3 hoocmon này đều có tác dụng làm tăng lượng glucos trong máu (khi lượng glucos bị giảm), cả ba đều tác dụng theo cơ chế sử dụng AMP_v làm chất truyền tin thứ hai, glucagon tác dụng chủ yếu lên mô gan còn hai chất kia chủ yếu tác dụng lên mô cơ.

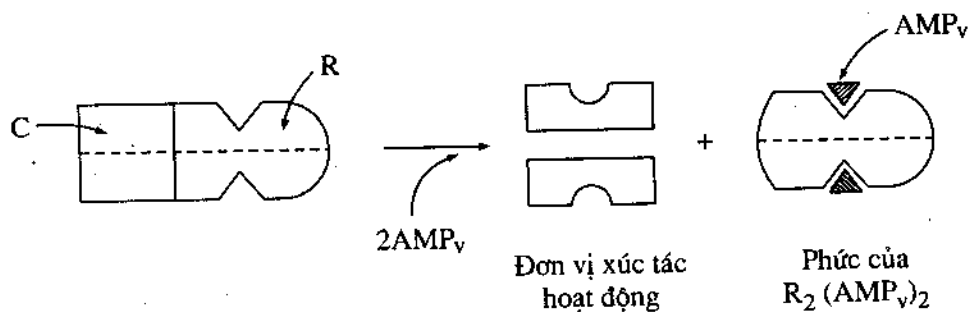
Ví dụ tác dụng của epinephrin đối với quá trình trao đổi glicogen ở mô cơ được thực hiện như sau:

- Epinephrin kết hợp với màng nguyên sinh chất của tế bào cơ, adenilatcyclaz được hoạt hoá.
- Adenilatcyclaz trong màng nguyên sinh xúc tác cho quá trình chuyển hoá ATP thành AMP_v
- Hàm lượng AMP_v trong tế bào tăng lên, hoạt hoá proteinkinaz.

Cơ chế hoạt hoá proteinkinaz nhờ AMP_v : Enzim bao gồm 2 loại phần dưới đơn vị (pddv): pddv điều hoà (R) có khối lượng phân tử 49 kDa, có trung tâm kết hợp với AMP_v và pddv xúc tác (C) có $M_r = 38kDa$. Khi không có AMP_v , emzim ở dạng không hoạt động, bao gồm R_2C_2 . Khi AMP_v kết hợp với mỗi pddv R, enzym phân li theo phản ứng:



Có thể biểu diễn quá trình này theo sơ đồ trên hình 64.

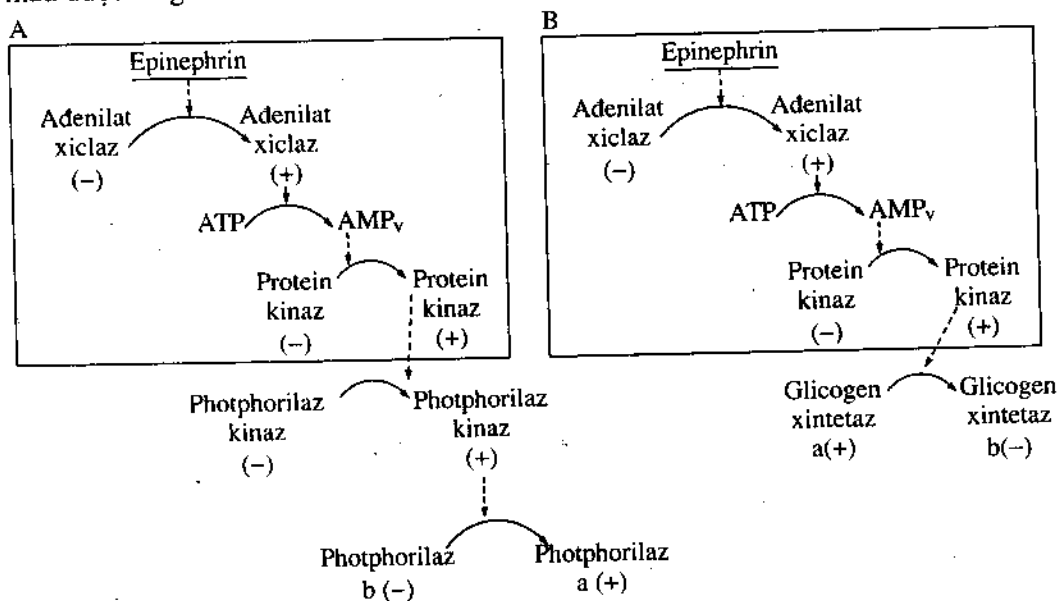


Hình 64 – AMP_v hoạt hoá proteinkinaz bằng cách phân li phức enzym không hoạt động.

AMP_v có tác dụng như chất điều hoà allosteric, tác dụng của nó hình như là loại tác dụng kìm hãm của đơn vị điều hoà đối với đơn vị xúc tác.

Sau khi được hoạt hoá, proteinkinaz xúc tác cho phản ứng photphoril hoá 2 enzym quan trọng của quá trình trao đổi glycogen là : glycogen photphorilaz và glicozen xintetaz. Kết quả của quá trình photphoril hoá, photphorilaz trở nên hoạt động còn glicozen xintetaz chuyển thành dạng không hoạt động.

Có thể tóm tắt tác dụng của epinephrin trên sơ đồ ở hình 65. Kết quả làm tăng quá trình phân giải glycogen đồng thời giảm quá trình sử dụng glucôz để tổng hợp glycogen do đó lượng đường trong máu được tăng lên.



Hình 65 – Tác dụng của Epinephrin đối với quá trình trao đổi glycogen thông qua các chất trung gian AMP_v proteinkinaz.

A – Hoạt hoá photphorilaz ; B – Làm bất hoạt glicogen xintetaz.
(Dấu (-) : dạng không hoạt động ; dấu (+) : dạng hoạt động).

Norepinephrin và glucagon cũng tác dụng theo cách tương tự. Ngoài ra, epinephrin còn kích thích quá trình tiết glucagon và ức chế sự tiết insulin.

a) Glucagon

Hoocmon polipeptit có khối lượng phân tử 3,5kDa, bao gồm 29 gốc axit amin, trình tự sắp xếp các axit amin của glucagon đã được xác định (hình 62).

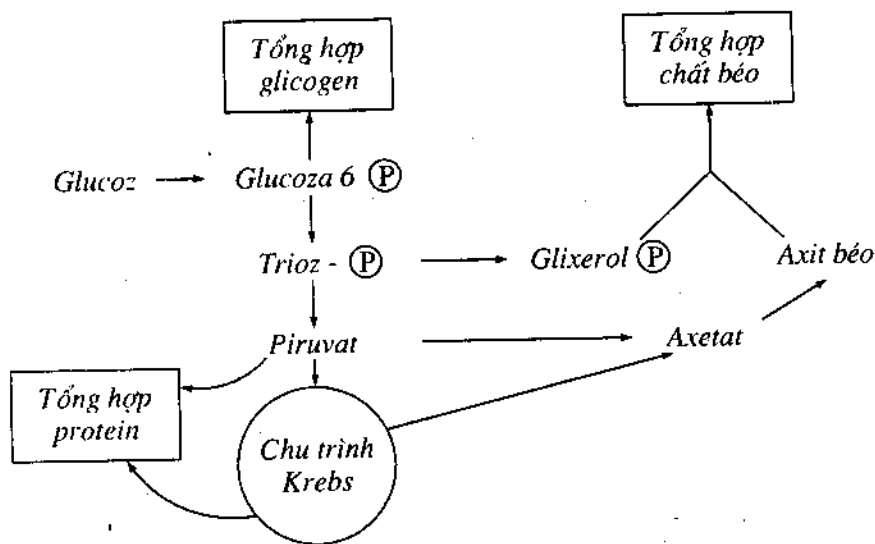
Glucagon được tiết từ tế bào tụy khi lượng glucôz trong máu thấp. Hoocmon này làm tăng lượng glucôz trong máu bằng cách kích hãm quá trình phân giải glicogen ở gan.

Glucagon cũng kích hãm quá trình sinh tổng hợp axit béo bằng cách làm giảm sự tạo thành axit piruvic và giảm hoạt độ của axetil-CoA-cacboxilaz. Hơn nữa, glucagon cũng làm tăng lượng AMP_v trong tế bào mô mỡ, kích thích quá trình phân giải triaxilglixerol.

b) Insulin

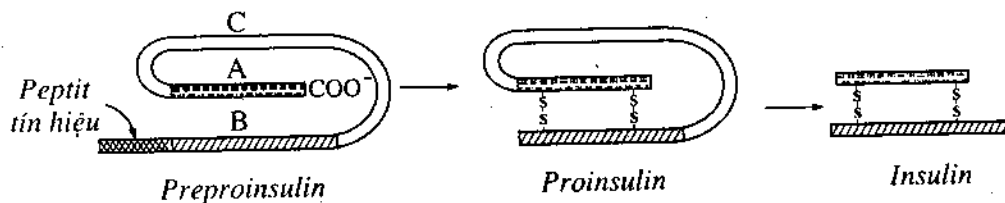
Ngược với tác dụng của glucagon, epinephrin và norepinephrin, insulin làm giảm lượng glucôz trong máu. Do đó dưới tác dụng của tất cả các hoocmon kể trên, lượng glucôz trong máu tương đối ít thay đổi, lượng glucôz trong máu của người bình thường, hàng ngày thay đổi từ 80mg/100ml (trước bữa ăn) đến 120mg/100ml (sau bữa ăn).

Insulin được tiết từ tế bào bêta của tụy khi lượng đường trong máu cao. Nói chung, insulin kích thích các quá trình tổng hợp, kích hãm các quá trình phân giải ở mô cơ, gan, mô mỡ. Insulin làm tăng vận tốc tổng hợp glicogen, axit béo, protein, kích thích quá trình phân giải glucôz. Tác dụng cuối cùng này là do insulin hoạt hoá glucôzkinaz, một enzym xúc tác cho phản ứng photphoril hoá glucôz tạo thành glucôz 6-phosphat. Các sản phẩm trung gian của quá trình phân giải glucôz là nguyên liệu cho các quá trình tổng hợp đã nêu (hình 66).



Hình 66 – Sơ đồ tác dụng sinh lý của insulin.

Insulin có khối lượng phân tử 5800, bao gồm 2 chuỗi polipeptit : chuỗi A 21 gốc và chuỗi B 30 gốc. Hai chuỗi này gắn với nhau qua các cầu disunfua (hình 67).



Hình 67 – Sơ đồ quá trình chuyển hoá preproinsulin đến proinsulin và cuối cùng tạo thành insulin.

Đoạn peptit tín hiệu ở đầu - N của preproinsulin bị loại bỏ tạo thành proinsulin.

Đoạn peptit C bị cắt bỏ khỏi phân tử proinsulin, tạo thành insulin.

Tiền chất của insulin là preproinsulin, proinsulin, cả hai chất này đều không có hoạt tính hoocmon. Dưới tác dụng của các proteinaz tương tự tripsin, một số liên kết peptit bị thủy phân, cắt bỏ 2 đoạn polipeptit, tạo thành insulin hoạt động. Có thể minh họa quá trình chuyển hoá preproinsulin thành insulin như ở hình 67.

– *Preproinsulin* là tiền chất đầu tiên của insulin. Phân tử của nó là 1 chuỗi polipeptit, đầu – N là một vùng kỵ nước bao gồm 16 axit amin, có vai trò như peptit tín hiệu để đưa phân tử qua màng lưới nội tiết, ngay sau đó nó sẽ bị cắt bỏ khỏi phân tử, tạo thành proinsulin, được chuyển đến thể Golgi. Khác với insulin, proinsulin vẫn là một chuỗi polipeptit, có chứa thêm một đoạn gồm 30 gốc axit amin (đoạn C) gọi là đoạn peptit nối. Đoạn này nối liền đầu – C của chuỗi B với đầu – N của chuỗi A (trong phân tử insulin). Tuy nhiên trong phân tử proinsulin đã có cầu disunfua đúng như ở phân tử insulin. Các proinsulin tách từ các loài khác nhau có đoạn peptit C giống nhau, có chứa Arg–Arg ở đầu N và Lys–Arg ở đầu –C của nó. Các liên kết này sẽ bị thủy phân dưới tác dụng của các proteinaz tương tự tripsin, kết quả là tách đoạn peptit C ra khỏi phân tử còn lại của phân tử (chuỗi A và chuỗi B của phân tử insulin). Phân tử insulin được tiết ra ở dạng hoạt tính sinh học.

– *Cơ sở phân tử tác dụng của insulin* : Khác với glucagon và các hoocmon đã nêu, tác dụng của insulin đến tế bào đích không qua bước trung gian làm tăng lượng AMP_v trong tế bào đích. Insulin liên kết rất chặt với chất nhận đặc hiệu của nó ở trong màng nguyên sinh chất của tế bào đích, hằng số phân li của phức insulin chất nhận là khoảng 10^{-10} M. Người ta đã tinh sạch được chất nhận của insulin, chứng minh bằng thực nghiệm tính liên kết đặc hiệu của nó và đã xác định được phân tử đơn vị kết hợp với insulin là 1 glicoprotein có khối lượng phân tử khoảng 135kDa. Người ta cho rằng có lẽ tương tác giữa insulin – chất nhận bảo đảm cho tác dụng của insulin được thể hiện nhanh chóng. Ngoài ra, người ta cũng đã biết một tác dụng khác của insulin là photphoril hoá một protein của phân tử đơn vị ribosom 40S.

Insulin được sử dụng phổ biến để điều trị bệnh đái tháo đường. Ngày nay dùng các biện pháp công nghệ sinh học người ta đã có thể sử dụng *E. coli* để sản xuất insulin.

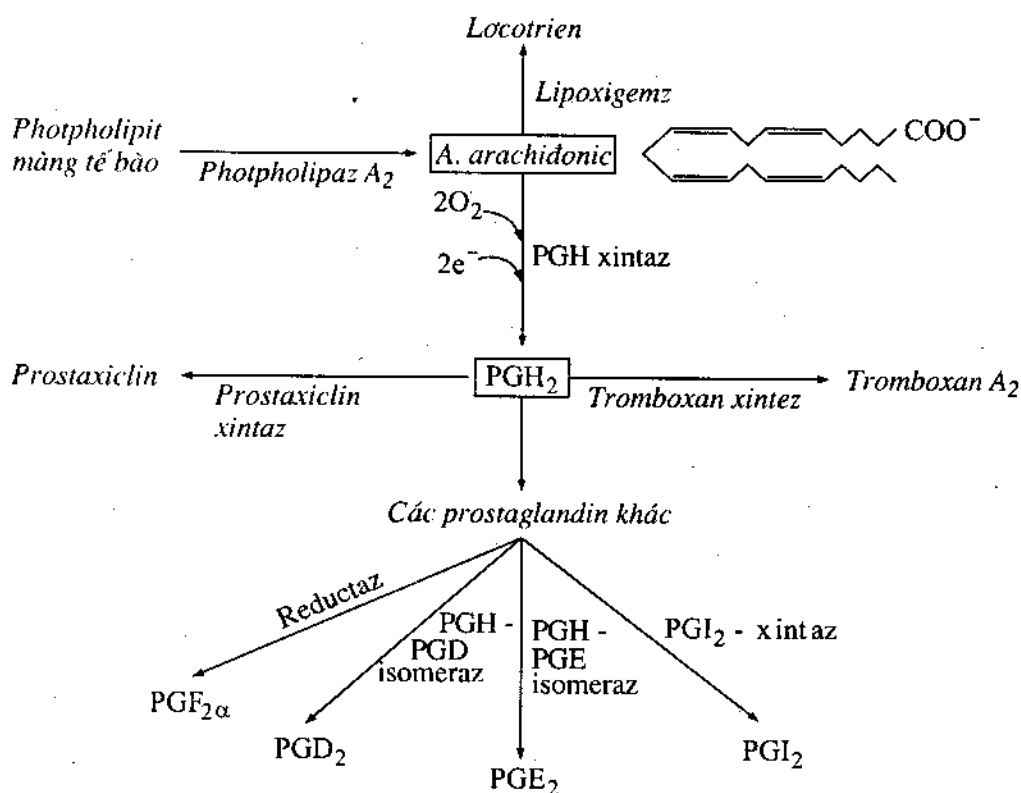
3. Các hoocmon eicozanoid (eicosanoid hormones) có 20 cacbon, được tạo thành từ axit béo không no có nhiều nối đôi. Axit arachidonic có 20 cacbon, 4 nối đôi, là tiền chất chính của các prostaglandin (PG) khác nhau, thromboxan (thromboxane), lécotrien (leucotriens) (xem sơ đồ các hoocmon được tạo thành từ axit arachidonic). Quá trình chuyển hoá này có thể phân thành 3 giai đoạn :

– Giải phóng axit arachidonic từ photpholipit màng.

– Oxi hoá axit arachidonic tạo thành PGH_2 nhờ một enzym chỉ gồm một chuỗi polipeptit có chứa một vòng hem, nhưng có 2 hoạt tính : đưa 2 phân tử oxi vào, 1 phân tử kết hợp với vòng 5 cạnh tạo thành peroxit, 1 phân tử khác hiđroxil hoá cacbon ở vị trí 15 ; hoạt tính thứ hai là khử $2e^-$ của peroxit tạo thành PGH_2 .

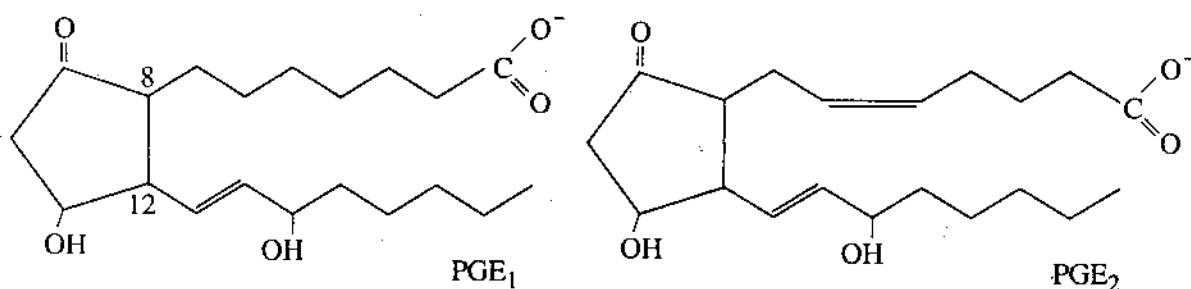
– Tạo thành các sản phẩm : tùy thuộc vào enzym có mặt trong tế bào sẽ chuyển hoá thành các sản phẩm khác nhau.

Tên gọi lécotrien là do nó được tìm thấy trước tiên ở bạch huyết cầu (leucocyte) và có 3 nối đôi (trien).



Sơ đồ các hormone được tạo thành từ tiền chất arachidonic.

Prostaglandin (PG) là nhóm các axit béo có 20 cacbon, trong đó có một vòng 5 cạnh (xiclopentan) và 2 chuỗi mạch cacbon, nhóm cacboxil ở đầu của một chuỗi. Hai PG đầu tiên được biết là PGE (hoà tan tốt trong ete) và PGF (hoà tan nhiều trong đệm photphat). Các PG khác được kí hiệu là PGA, PGI, PGH. Thuộc PGE có PGE₁ và PGE₂, các số 1,2 chỉ số lượng nối đôi giữa cacbon-cacbon ở ngoài vòng 5 cạnh của phân tử. Công thức cấu tạo của 2PGE này như sau :



Tác dụng sinh học :

– Các PG và hormone eozanot khác là các hormone cục bộ (local hormones), có thời gian tồn tại ngắn, có tác dụng làm thay đổi hoạt động của các tế bào tại chỗ (nơi chúng được tổng hợp) và cả các tế bào bên cạnh. Tuy nhiên, tác dụng của chúng thay đổi tùy theo kiểu tế bào. Điều này ngược với các hormone toàn cục (general hormones) như insulin hay glucagon, tác dụng giống nhau đối với các tế bào.

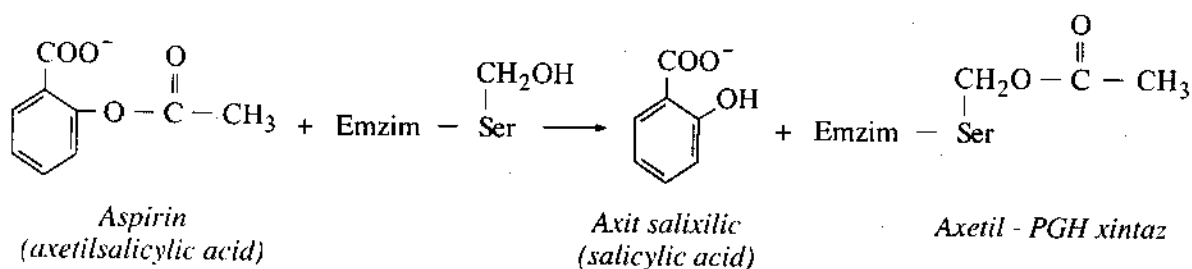
– Prostaglandin kích thích quá trình viêm, điều hoà dòng máu đến các cơ quan, kiểm tra sự vận chuyển ion qua màng.

– Các PG có liên quan với quá trình trao đổi các nucleotit vòng : ở một số tế bào có thể làm tăng lượng GMP_v , ở một số tế bào khác lại làm giảm hàm lượng AMP_v , do đó PG ảnh hưởng đến tác dụng của một số hoocmon mà hoạt động của nó có AMP_v tham gia, ví dụ như epinephrin.

– PGE_1 là chất làm giãn mạch, được thử nghiệm để chữa các bệnh rối loạn tuần hoàn.

– PGE_2 được dùng để gây sảy thai ở thời kì sau 3 tháng hoặc để thúc đẻ sau khi thai nhi bị chết.

Aspirin có tác dụng chống viêm là do nó kìm hãm hoạt động của xiclooxigenaz, một enzym có chứa xerin trong trung tâm hoạt động. Aspirin axetil hoá gốc ser của enzym, ngăn cản cơ chất axit béo tiếp cận với enzym, làm giảm hoạt độ của PGH xintaz. Tuy nhiên, aspirin có thể có tác dụng phụ như gây loét dạ dày. Vì vậy người ta đã điều chế các chất tương đồng với aspirin có tác dụng kìm hãm enzym mạnh hơn aspirin nhưng không có tác dụng phụ. Ví dụ : ibuprofen, celebrex. Locotrien có tác dụng co thắt cơ mạnh.



II - HOOCMON THỰC VẬT (PHYTOHOOCMON)

Các hoocmon thực vật điển hình là các chất điều hoà nội sinh. Các hoocmon thực vật có vai trò trong nhiều quá trình quan trọng ở thực vật như quá trình sinh trưởng, phân chia, biệt hoá tế bào và cũng ảnh hưởng đến quá trình phát triển, chín, lão hoá mô và nhiều quá trình khác.

Cũng tương tự như hoocmon động vật, các hoocmon thực vật hoạt động ở nồng độ rất thấp, tác động đến các mô khác với nơi mà chúng được tổng hợp. Hoocmon được vận chuyển trong các mô dẫn. Tuy nhiên các hoocmon thực vật có tính đặc hiệu tác dụng thấp. Phạm vi hoạt động của hoocmon thực vật rất rộng, mỗi hoocmon tham gia trong nhiều quá trình sinh lí, thường có hoạt động trái ngược nhau hoặc làm tăng tác dụng của hoocmon khác. Vì vậy, theo dõi cơ chế hoạt động của các hoocmon thực vật thường gặp nhiều khó khăn.

Các hoocmon thực vật có thể được phân thành 5 nhóm :

- Dẫn xuất indol
- Gibberelin : có cấu trúc tetraterpen
- Xitokinin : có cấu trúc gần với adenin
- Dẫn xuất của axit abxixic : dẫn xuất của triterpen.
- Etilen : được tạo thành trong quá trình trao đổi metionin. Gần đây đã phát hiện được một loại hoocmon thực vật mới là oligoxacarin. Chất này có tính đặc hiệu cao hơn và có tác dụng ở nồng độ 100 – 1000 lần thấp hơn các hoocmon thực vật khác.

Công thức cấu tạo các hoocmon đại diện các nhóm này được trình bày trên hình 68.

1. Các hoocmon là dẫn xuất indol

Hoocmon được biết sớm nhất là axit β -indolaxetic (IAA). Trong thực vật IAA có thể tồn tại ở dạng tự do hoặc dạng liên kết với glucos hoặc peptit (qua gốc asparagin hoặc glutamin).

IAA và các dẫn xuất của nó cũng thường được gọi là auxin hoặc hoocmon sinh trưởng. Một số tác dụng chủ yếu của IAA như sau :

- Kích thích tăng trưởng chiều dài của tế bào.
- Kích thích sự phân chia tế bào trong tượng tầng, đặc biệt là ở các cây gỗ.
- Kìm hãm sự sinh trưởng các chồi phụ do đó tạo điều kiện thuận lợi cho chồi chính phát triển.
- Tham gia trong cơ chế gây rụng lá, quả.
- Cảm ứng việc tạo quả không thụ phấn.
- Tác động đến quá trình sinh tổng hợp enzym (kích thích hoặc kìm hãm).
- Tham gia trong quá trình làm chín hoặc làm già các quả sau khi thu hoạch.

Quá trình sinh tổng hợp IAA có liên quan với quá trình trao đổi triptophan. IAA được tổng hợp chủ yếu ở mô phân sinh hoặc ở phần non của thực vật.

2. Giberelin

Được phát hiện trước tiên ở nấm *Giberella fusicuroi* gây bệnh ở lúa làm cây lúa phát triển chiều cao quá mức bình thường. Một số nấm khác như *Fusarium moniliform*, *Sphaceloma manihoticola* v.v. cũng tạo thành một lượng lớn giberelin. Đến nay đã xác định là giberelin rất phổ biến ở thực vật. Người ta thường kí hiệu giberelin A_1 , $-A_2$, $-A_3$ (theo thứ tự thời gian tách và xác định cấu tạo của chúng). Bộ khung phân tử của các giberelin giống nhau chỉ khác về các nhóm gắn vào bộ khung chính. Đến nay đã biết được khoảng 60 giberelin (40 ở thực vật, 20 ở nấm). Một trong các giberelin hoạt động nhất là axit giberelic (GA_3).

Tác dụng sinh học chủ yếu của giberelin :

- Là chất điều hoà và kích thích sinh trưởng, mạnh nhất ở các cơ quan của thực vật, nhất là thân.
- Kích thích quá trình phân chia và kéo dài tế bào.
- Có tác dụng phá trạng thái ngủ của hạt, củ ; kích thích sự ra hoa của các cây dài ngày ; tạo quả không hạt, đặc biệt là quả cà chua, dưa chuột, táo.

Giberelin có tác dụng trực tiếp đến sinh tổng hợp enzym. Ví dụ trong hạt hoà thảo nảy mầm, giberelin được tổng hợp trong phôi nhũ, chuyển vào nội nhũ, cảm ứng sinh tổng hợp ARN thông tin chịu trách nhiệm tổng hợp alpha amilaz và các enzym thuỷ phân khác. Nhờ vậy bảo đảm được việc điều động chất dự trữ cần thiết cho quá trình nảy mầm. Trong thực vật, thụ quan (receptor) của giberelin là protein của tế bào chất.

Giberelin được sử dụng nhiều trong nông nghiệp. Ở nước ta cũng đã sản xuất được chế phẩm giberelin thô và đã sử dụng thử ở một số địa phương.

3. Xitokinin

Về mặt hoá học, là dẫn xuất của adenin, nhóm amin ở vị trí 6 được gắn với các dẫn xuất khác. Xitokinin tự nhiên chủ yếu là zeatin [6 - (4 hiđroxi-3-metil - 2butenil) aminopurin] và

6 – (3 metil – 2 – butenil). Một số xitokinin tổng hợp như kinetin (6 – furfuril – aminopurin) và 6 – benzilo – aminopurin. Các chất tổng hợp này được dùng để nghiên cứu tác dụng sinh lý của các hoocmon nhóm này. Xitokinin có thể có các chức năng sau :

– Kích thích sự phân chia tế bào, kích thích sinh trưởng tế bào lá, xitokinin có thể thay thế các yếu tố vật lý để phá ngủ hạt.

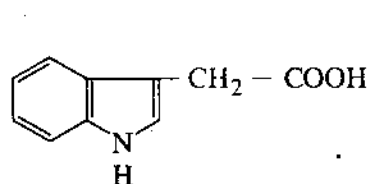
– Kích thích sinh trưởng chồi chính nhưng không kìm hãm sinh trưởng chồi phụ.

– Làm chậm quá trình già hoá mô, do kìm hãm quá trình thoái hoá protein và clorofil, thậm chí còn kích thích quá trình tổng hợp chúng. Xitokinin hoạt hoá các gen liên quan đến sinh tổng hợp cảm ứng các enzym, đặc biệt các enzym tổng hợp protein, ARN.

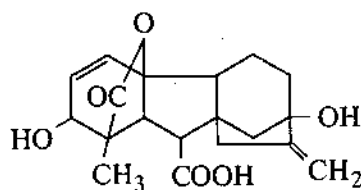
– Tham gia trực tiếp trong tương tác giữa anticodon với codon trong riboxom ; có ý kiến còn cho rằng xitokinin như 6-izopentenil (aminopurin) còn có thể gắn vào ARN vận chuyển mang một số axit amin.

Xitokinin có trong các phần khác nhau của cây có hoa và nhiều nhất ở mô phân sinh, tham gia điều hoà quá trình trao đổi chất ở các cơ quan trên mặt đất của cây.

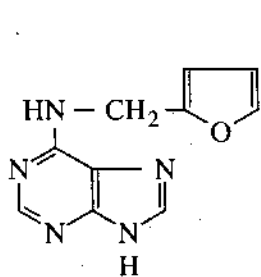
Xitokinin có thể tồn tại ở dạng tự do hoặc ở dạng ribozit, ribotit.



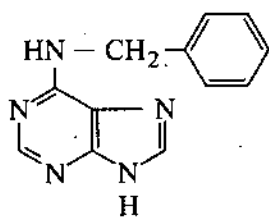
Axit β - indolaxetic
(IAA)



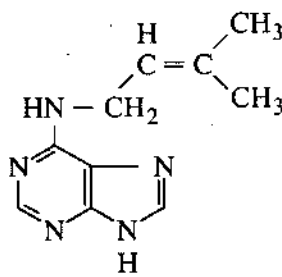
Axit gibberelic (GA₃)



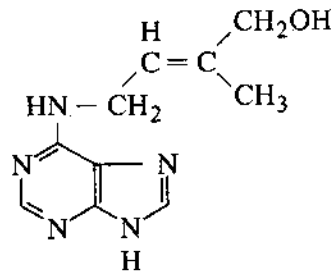
Kinetin



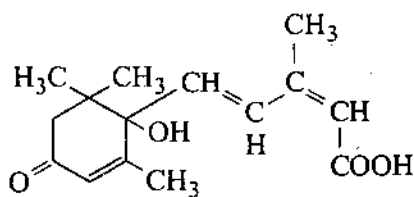
6 - Benziloaminopurin



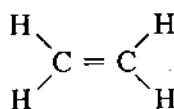
6 - Izopentenil -
aminopurin
(IPA)



Zeatin



Axit abxixic
(ABA)



Etilen

Hình 68 - Công thức của một số hoocmon thực vật.

4. Axit abxixic

Về mặt hoá học, là dẫn xuất của triterpen, phổ biến ở thực vật. Tác dụng sinh học đầu tiên được biết của axit abxixic là gây rụng lá, rụng quả. Axit abxixic có tác dụng ngược với giberelin, nó kìm hãm nhiều quá trình sinh lí, đó là sai khác chủ yếu với các fitohocmon khác. Có giả thuyết cho rằng axit abxixic và giberelin được tổng hợp từ chất tiền thân chung là axit mevalonic. Do đó giả thiết rằng trong thực vật có hệ thống để thay đổi con đường chuyển hoá axit mevalonic theo hướng tạo thành giberelin hoặc theo hướng tạo thành axit abxixic. Hệ thống này được điều hoà nhờ nồng độ của các hocmon này theo cơ chế liên hệ ngược âm (nồng độ sản phẩm cao ức chế quá trình tạo thành nó).

Axit abxixic có nhiều trong hạt ở trạng thái ngủ.

Có ý kiến cho rằng axit abxixic kìm hãm quá trình sao chép gen.

5. Etilen

Được xem là thuộc fitohocmon vì chỉ cần một lượng rất ít cũng thể hiện hoạt tính. Etilen là sản phẩm trao đổi trung gian của quá trình trao đổi chất được tạo thành trong quá trình phân giải metionin. Etilen có trong các phần khác nhau của cây : quả, hoa, lá, thân, rễ, có tác dụng ngược với auxin. Etilen có tác dụng thúc đẩy quá trình chín của quả. Người ta sử dụng etilen tổng hợp để làm cho quả chín nhanh sau khi thu hoạch.

Chương VIII

Khái niệm chung về sự trao đổi chất và trao đổi năng lượng

I - SỰ TRAO ĐỔI CHẤT

Mỗi cơ thể sống đều tồn tại trong một môi trường và liên hệ mật thiết với môi trường đó. Hiện tượng cơ thể lấy một số chất từ môi trường kiến tạo nên sinh chất của mình và thải ra ngoài những chất cặn bã được gọi là sự trao đổi chất. Ăng-ghen (F. Engels) từ năm 1878 đã xem sự trao đổi chất là một dấu hiệu cơ bản và là điều kiện tồn tại của sự sống.

Sự trao đổi chất ở giới vô sinh khác với giới hữu sinh. Giới vô sinh, thông qua các quá trình trao đổi, các chất vô cơ hoặc hữu cơ bị phân huỷ. Chẳng hạn, đá vôi (canxi cacbonat) bị xói mòn do tác dụng với axit cacbonic (H_2CO_3) có trong nước mưa tạo thành canxi bicacbonat dễ tan; mỡ bị ôi hoá tạo ra một số sản phẩm khác là do tác dụng với nước hoặc oxi. Trong khi đó, ở thế giới sinh vật, mỗi cơ thể sống luôn luôn trao đổi với môi trường ngoài: lấy thức ăn để chuyển hoá thành các chất sử dụng cho cơ thể và thải ra ngoài các chất cặn bã. Quá trình đó thực hiện được là do các biến đổi hoá học liên tục xảy ra trong cơ thể. Người ta gọi toàn bộ các biến đổi hoá học đó là *sự trao đổi chất*. Kết quả của quá trình trao đổi chất khiến cơ thể sinh vật tồn tại và phát triển.

Quá trình trao đổi chất bao gồm nhiều khâu chuyển hoá trung gian. Mỗi chuyển hoá trung gian là một mắt xích của một trong hai quá trình cơ bản: *đồng hoá* và *dị hoá*.

Ví dụ: ở động vật và người, quá trình đồng hoá là quá trình biến đổi các chất hữu cơ của thức ăn (xacarit, lipit, protein) từ các nguồn khác nhau (thực vật, động vật, vi sinh vật) thành các chất hữu cơ khác (xacarit, lipit, protein) đặc hiệu của cơ thể. Đó là quá trình gồm nhiều giai đoạn, được xúc tác bởi các enzym khác nhau. Trước tiên, thức ăn được tiêu hoá nhờ các enzym thuỷ phân có trong dịch tiêu hoá. Các phân tử lớn của thức ăn biến thành các đơn vị cấu tạo cơ sở (monoxacarit, axit béo, glixerin, axit amin ...).

Sản phẩm cuối cùng của sự tiêu hoá ở động vật là các chất có cấu tạo đơn giản nói trên sẽ được hấp thụ qua thành ruột vào máu và bạch huyết đi tới mọi mô bào. Ở đây chúng là nguyên liệu để tổng hợp nên các phân tử hữu cơ phức tạp của tế bào và mô hoặc dùng làm chất dự trữ. Đặc điểm của quá trình này là thu năng lượng. Năng lượng cần thiết cung cấp cho các phản ứng tổng hợp trên chủ yếu ở dạng liên kết cao năng của ATP.

Ngược lại, quá trình dị hoá là quá trình phân giải các chất hữu cơ có nguồn gốc từ thức ăn hay từ kho dự trữ nội bào, biến đổi chúng thành những sản phẩm phân tử nhỏ và cuối cùng thành những chất thải (CO_2 , H_2O , NH_3 v.v.). Quá trình trên đồng thời là quá trình giải phóng năng lượng tự do chứa trong các chất hữu cơ bị phân giải. Năng lượng đó được tích trữ lại trong ATP và được sử dụng cho nhiều phản ứng thu năng lượng khác.

Rõ ràng đồng hoá và dị hoá là hai quá trình đối lập nhưng lại thống nhất với nhau trong một cơ thể. Trong mỗi tế bào, chúng xảy ra đồng thời và liên quan mật thiết với nhau : Năng lượng giải phóng trong quá trình dị hoá một phần được sử dụng cho quá trình tổng hợp. Mặt khác, những sản phẩm tạo thành từ các quá trình dị hoá lại có thể được dùng làm nguyên liệu để tổng hợp nên các chất của tế bào.

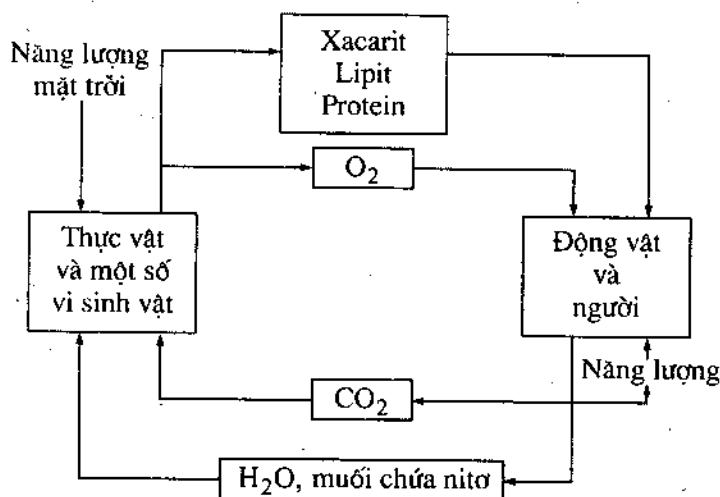
Nhờ các quá trình trên mà cơ thể sinh vật tuy ở trạng thái cân bằng nhưng vẫn đổi mới liên tục. Mỗi cơ thể có kiểu trao đổi chất đặc thù của nó. Nhìn chung thì những quá trình chuyển hoá chính trong mọi cơ thể, thực vật cũng như động vật, đơn bào cũng như đa bào đều theo những con đường tương tự nhau. Chẳng hạn như con đường phân giải glucôz trong quá trình lên men rượu chỉ khác một vài chi tiết so với sự phân giải glucôz trong các mô của động vật bậc cao. Hoặc nhiều phản ứng lúc đầu phát hiện thấy ở thực vật, về sau lại thấy có cả ở động vật. Điều đó biểu hiện tính thống nhất trong quá trình trao đổi chất của thế giới sinh vật. Tuy nhiên, thế giới sinh vật phong phú và đa dạng bao giờ cũng có vô vàn những đặc điểm riêng biệt của quá trình trao đổi chất mà ta không thể bỏ qua.

Người ta thường phân biệt thế giới sinh vật thành hai nhóm lớn : nhóm *sinh vật tự dưỡng* và nhóm *sinh vật dị dưỡng*.

Nhóm sinh vật tự dưỡng bao gồm các sinh vật tự tổng hợp được chất dinh dưỡng cần thiết cho chúng từ những chất vô cơ đơn giản như CO_2 , H_2O và các muối vô cơ. Thực vật và một số vi khuẩn (vi khuẩn tía, vi khuẩn lưu huỳnh) thu năng lượng ánh sáng mặt trời, nhờ quá trình quang hợp có thể tổng hợp nên toàn bộ các chất hữu cơ (xacarit, lipit, protein...) từ những chất vô cơ nói trên.

Nhóm sinh vật dị dưỡng không có khả năng trên. Chúng phải lấy chất dinh dưỡng từ những chất hữu cơ do nhóm tự dưỡng tổng hợp nên. Trong cơ thể sinh vật dị dưỡng, thức ăn bị biến đổi giải phóng năng lượng dùng cho cơ thể, còn các sản phẩm cặn bã CO_2 , H_2O , NH_3 ... được tạo thành sẽ thải vào môi trường. Cơ thể tự dưỡng lại sử dụng các chất thải đó để tổng hợp nên các chất hữu cơ phức tạp.

Như vậy, quá trình trao đổi chất của mọi sinh vật có liên quan chặt chẽ với nhau, tạo nên một chu trình trao đổi chất trong sinh giới.



Chu trình trên cũng thể hiện quy luật bảo toàn vật chất và năng lượng trong tự nhiên. Từ 1g CO_2 và H_2O , thực vật hấp thụ 4kcal năng lượng ánh sáng mặt trời tạo thành 1g tinh bột ; cơ thể người hoặc động vật sử dụng 1g tinh bột đó phân giải hoàn toàn sẽ tạo thành 1g CO_2 và H_2O , đồng thời giải phóng ra 4 kcal cho cơ thể hoạt động.

Ngoài cách chia sinh vật thành nhóm tự dưỡng và nhóm dị dưỡng, người ta còn có thể chia chúng thành hai nhóm lớn khác : nhóm *háo khí* và nhóm *kị khí*. Cơ sở của sự phân chia này dựa trên các phản ứng oxi hoá khử của cơ thể sinh vật cần hay không cần oxi khí quyển.

Đại đa số sinh vật thuộc nhóm háo khí, chỉ một số ít vi sinh vật dị dưỡng là thuộc nhóm kị khí. Tuy nhiên, trong nhiều cơ thể, cùng song song tồn tại cả hai hình thức trao đổi háo khí và trao đổi kị khí. Người ta đã phát hiện thấy rằng hai hình thức trao đổi trên có những giai đoạn chuyển hoá giống nhau. Nhưng hình thức trao đổi nào là chủ đạo lại phụ thuộc vào đặc tính di truyền của mỗi cơ thể, mỗi mô cơ quan và giai đoạn phát triển cá thể v.v. Ví dụ, ở người và động vật, sự trao đổi chất ở mô cơ xảy ra theo chiều hướng kị khí, trái lại ở mô thần kinh là háo khí.

II - SỰ TRAO ĐỔI NĂNG LƯỢNG

Sự trao đổi chất không thể tách rời sự trao đổi năng lượng, đó là hai mặt của một vấn đề nhằm bảo đảm mọi hoạt động sống của cơ thể (sinh trưởng, sinh sản, vận động, bài tiết...). Nguồn năng lượng duy nhất đối với cơ thể người, động vật và đa số vi sinh vật là năng lượng hoá học của các chất dinh dưỡng trong thức ăn.

Các chất dinh dưỡng chủ yếu là xacarit, lipit và protein đều bị oxi hoá trong cơ thể. Lipit và xacarit bị oxi hoá tạo thành CO_2 và H_2O , còn protein tạo thành CO_2 , H_2O và amoniac. Quá trình oxi hoá các chất dinh dưỡng có hai ý nghĩa quan trọng :

- Là nguồn cung cấp năng lượng cho mọi hoạt động sống.
- Là nguồn cung cấp nguyên liệu cho các phản ứng tổng hợp.

Trong mục này ta chỉ xét ý nghĩa thứ nhất.

1. Năng lượng sinh học và nhiệt động học

a) Quá trình biến đổi năng lượng sinh học tuân theo các quy luật nhiệt động học

Mọi cơ thể sống đều được coi là những hệ thống hoá lí tương tác với môi trường xung quanh chúng. Mọi quá trình biến đổi năng lượng trong cơ thể sống đều tuân theo các quy luật nhiệt động học. Để thấy rõ điều này, ta cần phân biệt một số khái niệm cơ bản sau :

- *Hệ thống* (System) là một bộ phận của vũ trụ, ví dụ như một cơ thể sống hoặc một chiếc bình kín trong đó có một phản ứng hoá học đang xảy ra. Phần vũ trụ bên ngoài một hệ thống được gọi là *môi trường xung quanh* của hệ thống đó.

- *Hệ thống mở* (Open system) là hệ thống trong đó cả vật chất và nhiệt có thể trao đổi với môi trường xung quanh.

- *Hệ thống kín* (Close system) là hệ thống trong đó chỉ có nhiệt có thể trao đổi với môi trường xung quanh.

Cơ thể sống được coi là những *hệ thống mở* bởi vì chúng trao đổi với môi trường xung quanh cả nhiệt và vật chất. Chúng lấy năng lượng từ thức ăn, từ ánh sáng và hoàn trả lại môi trường một năng lượng tương đương ở dạng nhiệt và vật chất. Trái lại, vũ trụ nhìn tổng thể lại là một *hệ thống kín* bởi trong đó không có sự trao đổi vật chất và năng lượng với môi trường ngoài, ngoại trừ sự biến đổi về nhiệt.

Cuối thế kỉ XIX, khái niệm nhiệt động học giúp ta hiểu năng lượng sinh học đã hình thành, đó là *năng lượng tự do*. Năm 1878, Giodia Uynla Gips (Josiah Willard Gibbs) bằng những nghiên cứu và sự kết hợp các quy luật nhiệt động học đã tìm ra hàm số của năng lượng tự do theo phương trình sau :

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S \quad (1)$$

Trong hệ thống này, kí hiệu G để chỉ *năng lượng tự do Gibbs*, H để chỉ nhiệt lượng (heat content), T là nhiệt độ tuyệt đối (temperature) và S là *entropy*.

Tương tự như phương trình trên, các đại lượng này có mối tương quan như sau :

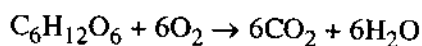
$$G = H - TS \quad (2)$$

ΔG là sự thay đổi năng lượng tự do của một quá trình, xảy ra trong điều kiện nhiệt độ và áp suất không đổi. Giá trị của ΔG theo phương trình 1 phụ thuộc vào hai đại lượng sau :

- *Enthalpy*, đó là *nhiệt lượng* của chất phản ứng (H), nó phản ánh đặc tính của các liên kết hoá học (số lượng và chủng loại : liên kết thường, liên kết giàu năng lượng) có trong chất phản ứng.

Sự thay đổi nhiệt lượng của chất phản ứng được kí hiệu là ΔH , còn gọi là sự thay đổi enthalpy. Đơn vị của ΔH được tính bằng cal/mol. Khi $\Delta H < 0$, tức là nhiệt lượng của sản phẩm phản ứng thấp hơn nhiệt lượng của chất tham gia phản ứng, đó là phản ứng toả nhiệt. Ngược lại, $\Delta H > 0$ thì phản ứng thu nhiệt.

- Entropy (S) là *thước đo mức năng lượng của hệ thống kín*. Entropy phản ánh mức độ chuyển động hỗn độn của các phân tử trong một hệ thống. Nó tăng lên khi phản ứng tạo ra những sản phẩm đơn giản hơn so với chất tham gia phản ứng (quá trình dị hoá), đặc biệt là đối với những phản ứng biến đổi chất rắn thành chất lỏng, nhất là chất khí. Ví dụ : sự oxi hoá glucos xảy ra theo phương trình :



Có sự tham gia của 7 phân tử lúc đầu để tạo thành 12 phân tử sản phẩm, điều đó đã làm gia tăng entropy của hệ thống.

So sánh entropy của vũ trụ với entropy của cơ thể sống thấy có sự khác biệt sau : vũ trụ là một hệ thống kín và entropy luôn gia tăng, trong khi cơ thể sống là hệ thống mở, nhờ sự trao đổi chất chúng lấy năng lượng từ vũ trụ để duy trì và phát triển, hoàn trả cho môi trường năng lượng ở dạng nhiệt và entropy. Điều đó cho phép giải thích vì sao entropy của vũ trụ không ngừng gia tăng.

Đơn vị của ΔS được tính bằng (J/mol)

Khái niệm *năng lượng tự do* có ý nghĩa quan trọng trong Hoá Sinh học. Sự thay đổi năng lượng tự do của một phản ứng (xác định bởi giá trị ΔG) cho biết trạng thái của phản ứng đó. Nói cách khác, trạng thái của mỗi phản ứng phụ thuộc vào giá trị ΔG của phản ứng đó.

$\Delta G < 0$, phản ứng toả nhiệt, có thể xảy ra một cách tự phát.

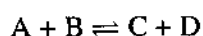
$\Delta G = 0$, phản ứng ở trạng thái cân bằng, không có sự biến đổi nào.

$\Delta G > 0$, phản ứng thu nhiệt, muốn tiến hành phản ứng cần cung cấp năng lượng.

Tuy nhiên, cần lưu ý là sự thay đổi năng lượng tự do của một phản ứng không phụ thuộc vào con đường chuyển hoá mà chỉ phụ thuộc vào năng lượng tự do của trạng thái đầu (trước phản ứng) và trạng thái cuối (sau phản ứng). ΔG không cho biết thông tin gì về tốc độ phản ứng.

h) Sự thay đổi năng lượng tự do chuẩn và mối quan hệ với hằng số cân bằng phản ứng

Xét phản ứng sau :



ΔG của phản ứng được tính bằng :

$$\Delta G = \Delta G^\circ + RT \ln \left(\frac{[C][D]}{[A][B]} \right) \quad (3)$$

Trong đó, ΔG° là sự thay đổi năng lượng tự do chuẩn ; T là nhiệt độ tuyệt đối ; [A], [B], [C], [D] là nồng độ của các chất phản ứng ; R là hằng số khí (được xác định bằng 1,98 cal/mol/độ hoặc bằng 8,314 J/mol/độ).

ΔG° là sự thay đổi năng lượng tự do chuẩn của phản ứng. Điều kiện chuẩn đó là nồng độ các chất phản ứng A, B, C, D là 1M, áp suất không khí là 1 atm, nhiệt độ tuyệt đối T = 298K (25°C).

Tuy nhiên, trong hệ thống sinh học khi tính giá trị ΔG° cần chú ý đến độ pH, vì trạng thái ion hoá của nhiều hợp chất sinh học bị thay đổi khi pH thay đổi. Đa số các phản ứng hoá sinh diễn ra trong môi trường trung tính (pH = 7), nhưng ở điều kiện chuẩn có nồng độ ion $H^+ = 1M$ (tương đương pH = 0) là không phù hợp. Bởi vậy, để giúp việc tính toán được đơn giản, người ta coi trạng thái chuẩn có pH là 7 và kí hiệu sự thay đổi năng lượng tự do chuẩn ở pH = 7 là $\Delta G'^\circ$.

Để thấy được mối liên hệ giữa sự thay đổi năng lượng tự do chuẩn ($\Delta G'^\circ$) với hằng số cân bằng phản ứng, ta thay thế $\Delta G = 0$ vào phương trình 3 sẽ được phương trình sau :

$$\Delta G'^\circ = -RT \ln \left(\frac{[C][D]}{[A][B]} \right) \quad (4)$$

Thay hằng số cân bằng phương trình phản ứng $K'_{eq} = \frac{[C][D]}{[A][B]}$ vào phương trình (4) sẽ có :

$$\Delta G'^\circ = -RT \ln K'_{eq} \quad (5)$$

$$\Delta G'^\circ = -2,303 RT \lg K'_{eq} \quad (6)$$

Mối tương quan giữa $\Delta G'^\circ$ và K'_{eq} được nêu trong bảng sau :

Bảng 17

TƯƠNG QUAN GIỮA $\Delta G'^\circ$ VÀ K'_{eq}

K'_{eq}	$\Delta G'^\circ$	
	kcal/mol	kJ/mol
10^{-3}	4,09	17,1
10^{-2}	2,73	11,4
10^{-1}	1,36	5,7
1	0	0
10	-1,36	-5,7
10^2	-2,73	-11,4
10^3	-4,09	-17,1

* eq Viết tắt của equation : phương trình.

Bảng 17 cho thấy :

ΔG° bằng 0 khi phản ứng cân bằng ($K'_{eq} = 1$)

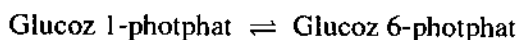
$\Delta G^{\circ} < 0$, phản ứng xảy ra thuận chiều, tự phát ($K'_{eq} > 0$)

$\Delta G^{\circ} > 0$, phản ứng xảy ra theo chiều ngược lại ($K'_{eq} < 0$)

Như vậy, ΔG° cũng cho biết trạng thái của phản ứng trong điều kiện chuẩn.

Phương trình 5 được ứng dụng để tính toán, từ các giá trị của K'_{eq} có thể tính được các giá trị của ΔG° , tiếp theo là ΔG , hoặc từ các giá trị của ΔG° có thể tính được hằng số cân bằng K'_{eq} và xa hơn là tính được nồng độ các chất phản ứng. Ví dụ :

Bài toán : Phản ứng sau đây được xúc tác bởi một enzym (photphoglucomutaz)



Biết giá trị ΔG° của phản ứng là $-7,3 \text{ kJ/mol}$.

Nếu thêm vào enzym $2 \times 10^{-4} \text{ mol/l}$ dung dịch glucos 1-phosphat ở nhiệt độ $T = 310 \text{ K}$. Hãy cho biết nồng độ của các thành phần trong dung dịch khi phản ứng cân bằng ?

Cách giải :

Từ phương trình 5 ta có :

$$\ln K'_{eq} = \frac{-\Delta G^{\circ}}{RT} = \frac{7,3 \times 10^3}{8,314 \times 310}$$

Do đó : $K'_{eq} = 17,00$

Cũng như vậy : $\frac{[\text{glucos 6-phosphat}]}{[\text{glucos 1-phosphat}]} = 17,0$

Tuy nhiên : $[\text{glucos 1-phosphat}] + [\text{glucos 6-phosphat}] = 2 \times 10^{-4} \text{ mol/l}$

Bởi vậy : $[\text{glucos 6-phosphat}] = 1,89 \times 10^{-4} \text{ mol/l}$

và : $[\text{glucos 1-phosphat}] = 1,11 \times 10^{-5} \text{ mol/l}$

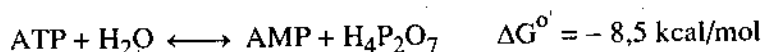
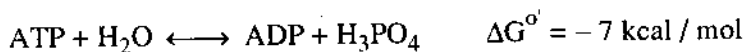
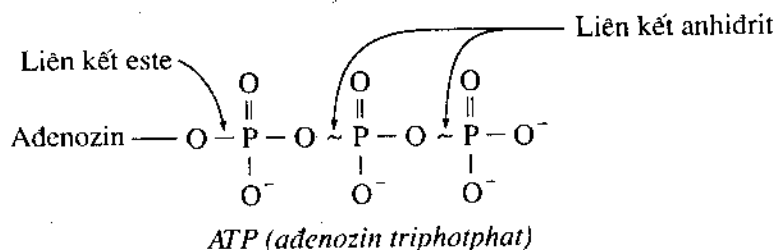
2. Liên kết cao năng và vai trò của ATP trong quá trình trao đổi năng lượng

Về mặt năng lượng, trong các hợp chất hữu cơ có 2 loại liên kết : liên kết thường và liên kết cao năng (liên kết giàu năng lượng). Liên kết thường là liên kết mà khi phân giải hoặc tạo thành nó, có sự biến đổi năng lượng vào khoảng 3kcal trên một phân tử gam (ví dụ như liên kết este) ; trong khi đó đối với liên kết cao năng sự biến đổi này lớn hơn nhiều, từ 7 – 12 kcal (bảng 18).

Để thực hiện nhiều quá trình sống như quá trình tổng hợp các chất phân tử lớn từ các chất đơn giản, vận chuyển tích cực các chất qua màng tế bào, quá trình vận động v.v. luôn đòi hỏi năng lượng tự do. Năng lượng tự do nhận được từ quá trình oxi hoá các chất của thức ăn, từ ánh sáng. Trong hệ thống sống cần có các chất, các hệ thống nhận năng lượng tự do từ các quá trình

này chuyển đến cho các quá trình khác. ATP là chất phổ biến giữ vai trò này, là chất có vai trò trung tâm trong trao đổi năng lượng ở tế bào và cơ thể sống, là mắt xích liên hợp giữa các phản ứng thu năng lượng và phản ứng giải phóng năng lượng.

Trong phân tử ATP có 3 gốc photphat, 1 gốc kết hợp với gốc riboz qua liên kết este, 2 liên kết giữa 3 gốc photphat là liên kết anhidrit. Đó là các liên kết cao năng, kí hiệu bằng dấu “ ~ ”. Khi cắt đứt các liên kết cao năng này giải phóng số năng lượng lớn như đã nêu.

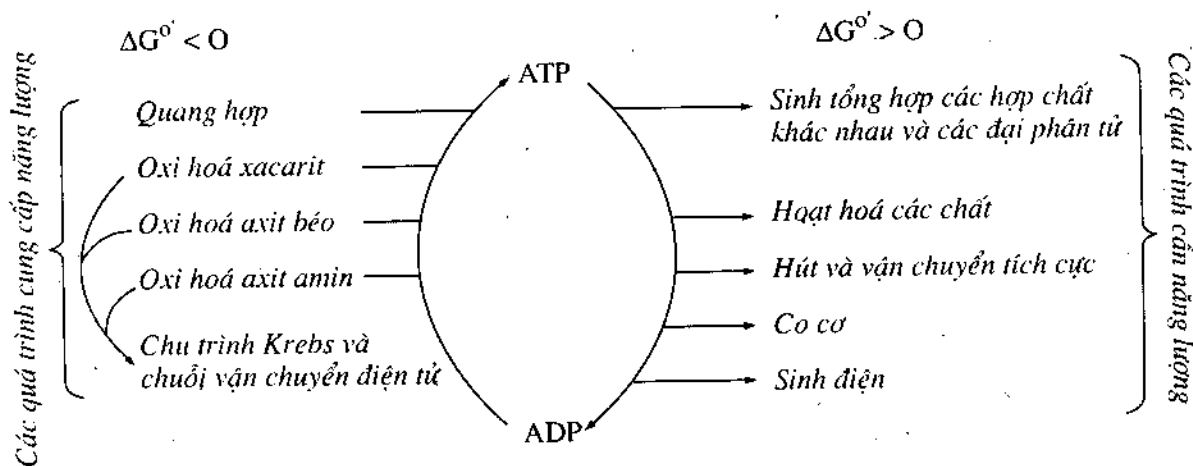


Tiếp tục thủy phân liên kết este của AMP để tạo thành adenosin và photphat vô cơ, năng lượng tự do được giải phóng của phản ứng này thấp hơn nhiều.

Sự chuyển hoá tương hỗ giữa ATP và ADP có vai trò đặc biệt quan trọng trong quá trình trao đổi năng lượng của hệ thống sống.

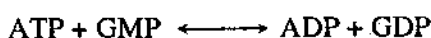
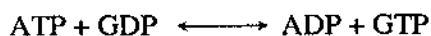
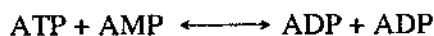
Nghiên cứu sự biến đổi của hàm lượng ATP ở các mô khác nhau người ta thấy rằng : khi tăng phân giải ATP thành ADP và H_3PO_4 thì tiếp sau đó xảy ra sự tổng hợp bù lại lượng ATP từ ADP và H_3PO_4 bằng cách tăng cường độ photphoril hoá oxi hoá ở tế bào.

Sơ đồ dưới đây cho thấy mối liên quan giữa các quá trình cần năng lượng với các quá trình cung cấp năng lượng :



Ngoài ATP còn có các nucleozit triphotphat khác có vai trò quan trọng trong quá trình sinh tổng hợp các chất trong tế bào. Ví dụ : UTP cần cho quá trình tổng hợp polixacarit ; XTP cần cho tổng hợp photpholipit ; GTP cần cho tổng hợp protein v.v.

Trong cơ thể có các enzym xúc tác cho các quá trình chuyển hoá tương hỗ này. Ví dụ :



Một số hợp chất cao năng khác chỉ là sản phẩm trung gian để tạo ra ATP hoặc được tạo thành từ ATP, ví dụ như :



Trong đa số trường hợp thường thấy photpho hoặc sunfua tham gia tạo thành liên kết cao năng. Sau đây là một số dạng liên kết cao năng thường gặp (bảng 18).

Bảng 18

CÁC DẠNG LIÊN KẾT CAO NĂNG

Kiểu liên kết	Ví dụ ở các chất	Phản ứng	ΔG^0 (kcal/mol)
Photphoanhidrit (pirophotphat) $\text{P} - \text{O} \sim \text{P}$	NTP : ATP, GTP, XTP, UTP, TTP, v.v.	$\text{NTP} \leftrightarrow \text{NDP} + \text{P}_v$	- 7
	NDP : ADP, GDP, XDP, UDP v.v	$\text{NDP} \leftrightarrow \text{NMP} + \text{P}_v$	- 7
Axil photphat $\text{R} - \text{C} \begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \sim \text{P} \end{array}$	1,3 -Điphotphoglixerat.	$1,3\text{-Điphotphoglixerat} \leftrightarrow$ $3\text{-Photphoglixerat} + \text{P}_v$	- 10
	Aminoaxil-AMP	$\text{Aminoaxil} - \text{AMP} \leftrightarrow \text{AMP} + \text{axit}$ amin	-7
Enol photphat $\text{R} - \text{C} \begin{array}{c} \sim \text{P} \\ \parallel \\ \text{CH}_2 \end{array}$	Photphoenolpiruvat	$\text{Photphoenolpiruvat} \leftrightarrow \text{piruvat} + \text{P}_v$	- 12,8
Amidin photphat $\text{R} - \text{NH} \sim \text{P}$	Creatin photphat	$\text{Creatin photphat} \leftrightarrow \text{Creatin} + \text{P}_v$	- 10,5
	Acginin photphat	$\text{Acginin photphat} \leftrightarrow \text{Acginin} + \text{P}_v$	
Tio este $\text{R} - \text{C} \begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \sim \text{S} - \text{R}' \end{array}$	Axetil coenzim A Axil coenzim A	$\text{Axetil coenzim A} \leftrightarrow$ $\text{coenzim A} + \text{axetat}$	- 8,8

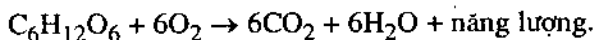
Ghi chú : NTP, NDP, NMP : chữ viết tắt của nucleozit tri, di, monophotphat ; P_v : H_3PO_4

3. Quá trình hô hấp

Bản chất của quá trình hô hấp là sự oxi hoá các chất hữu cơ và giải phóng năng lượng vốn được tàng trữ trong các hợp chất hữu cơ đó thành dạng hoá năng của ATP. Quá trình *oxi hoá khử sinh học* nói trên bao gồm nhiều giai đoạn kế tiếp nhau, mỗi giai đoạn được xúc tác bởi một enzym thích hợp. Cơ chất sẽ bị oxi hoá dần dần chuyển thành các sản phẩm đơn giản hơn và cuối cùng bị biến đổi hoàn toàn thành CO_2 và H_2O .

Có hai hình thức hô hấp : *hô hấp kỵ khí* hoặc quá trình *lên men kỵ khí* và *hô hấp hiếu khí*. Hô hấp kỵ khí là dạng tiến hoá thấp, nó xuất hiện từ khi trên Trái Đất chưa có oxi tự do và tiếp tục được duy trì cho đến ngày nay. Cơ chất chủ yếu của sự hô hấp và sự lên men là xacarit, trước hết là glucôz.

Trong quá trình lên men kỵ khí, sự oxi hoá glucôz xảy ra không hoàn toàn, xét về mặt năng lượng thì hiệu quả không cao vì những sản phẩm cuối của sự lên men còn dự trữ năng lượng lớn. Quá trình hô hấp hiếu khí là sự oxi hoá các chất dinh dưỡng trong điều kiện có oxi không khí. Đây là bước tiến hoá cao trong sinh giới. Giai đoạn đầu của quá trình này diễn ra giống giai đoạn đầu của sự lên men kỵ khí. Sự khác nhau giữa hai quá trình bắt đầu từ sự chuyển hoá tiếp tục piruvat. Trong quá trình hô hấp hiếu khí, glucôz bị oxi hoá hoàn toàn tạo thành các sản phẩm cuối cùng là CO_2 và H_2O đồng thời giải phóng năng lượng.



Các sản phẩm giàu xacarit khi bảo quản thường xảy ra quá trình hô hấp. Kết quả là khối lượng khô bị giảm, thành phần không khí thay đổi do sự thải CO_2 và hấp thu O_2 , do sự thoát hơi nước khiến độ ẩm của không khí tăng lên. Ngoài ra, quá trình hô hấp bao giờ cũng kèm theo sự toả nhiệt, đôi khi dẫn đến hiện tượng tự bốc cháy. Thêm vào đó, một hậu quả tai hại là chất lượng của sản phẩm bị giảm sút nhanh chóng, ví dụ : bột gạo, mì, khoai, sản bị thâm đen (do sự oxi hoá axit amin tirozin thành hợp chất màu melanin dưới tác dụng của tirozinaz). Bởi vậy, muốn bảo quản các loại hạt, rau, quả ... phải giảm tối đa cường độ hô hấp, thực chất là làm giảm sự oxi hoá các sản phẩm. Trong kĩ nghệ, có thể sử dụng các biện pháp kĩ thuật để tránh sự oxi hoá như sau :

- Nhanh chóng làm ngừng hoạt động các enzym oxi hoá khử
- Loại trừ oxi
- Bảo quản ở nhiệt độ thấp
- Dùng các chất chống oxi hoá.

4. Quan niệm hiện đại về cơ chế quá trình oxi hoá khử sinh học

Người ta đã xác định rằng, trong quá trình oxi hoá khử xảy ra sự biến đổi trên lớp vỏ điện tử của nguyên tử các chất phản ứng. Có thể định nghĩa : oxi hoá là sự tách điện tử ra khỏi cơ chất, còn khử là sự gắn điện tử vào cơ chất. Tất cả các chất tham gia vào các quá trình oxi hoá khử ở cơ thể sống đều có khả năng nhường và thu điện tử. Hay nói cách khác, đó là khả năng oxi hoá khử. Đại lượng đặc trưng cho khả năng oxi hoá khử của mỗi chất gọi là *thế năng oxi hoá khử*.

Các chất oxi hoá mạnh là chất có khả năng thu điện tử của các hợp chất khác dễ dàng đồng thời bản thân chúng sẽ bị khử, chúng là các chất có thế năng oxi hoá cao. Ngược lại, các chất khử mạnh là những chất dễ nhường điện tử, chúng bị oxi hoá và là những chất có thế năng oxi hoá thấp. Hidro có thế năng oxi hoá thấp nhất, còn oxi có thế năng oxi hoá cao nhất. Đối với mỗi chất, có khả năng tạo nên một hệ oxi hoá khử, trong dung dịch sẽ tồn tại ở hai dạng : dạng oxi hoá và dạng khử.

Có thể tính được thế năng oxi hoá khử theo công thức sau :

$$E'_n = E'_o + \frac{RT}{nF} \ln \frac{[\text{dạng oxi hoá}]}{[\text{dạng khử}]} \quad (7)$$

E'_n là thế năng oxi hoá khử của một chất nhất định trong những điều kiện nhất định.

E'_o là thế năng oxi hoá khử ở các điều kiện tiêu chuẩn (nồng độ của hai dạng bằng nhau).

R là hằng số khí (1,98 calo/mol, °C) T là nhiệt độ tuyệt đối (K), n là số điện tử được di chuyển, F là số Faraday (95.500 culông / ptg hay 23,06 kcal/mol).

Trong thực tế, để xác định thế oxi hoá khử của mỗi chất, người ta đo ái lực đối với điện tử của chất đó trong điện thế kế (với điện cực chuẩn hidro có điện thế bằng không). Trong bảng dưới đây trình bày thế oxi hoá khử tiêu chuẩn (kí hiệu E'_o) của một số hệ oxi hoá khử sinh học (ở điều kiện pH = 7 và nhiệt độ 25°C) được đo bằng thực nghiệm. Cũng trong bảng này trình bày hiệu điện thế oxi hoá khử ($\Delta E'_o$) và năng lượng tự do (ΔG^o) của mỗi hệ.

Bảng 19

THẾ NĂNG OXI HOÁ TIÊU CHUẨN CỦA MỘT SỐ HỆ OXI HOÁ KHỬ SINH HỌC

Hệ thống oxi hoá khử	E'_o (V*) pH = 7, t = 25°C	$\Delta E'_o$ (V)	ΔG^o (kcal/mol) pH = 7, t = 25°C	photphoril hoá ADP → ATP
Điện cực hidro $2H^+ / H_2$	- 0,42			
$NAD^+ / NADH + H^+$	- 0,32			
$FAD / FADH_2$	- 0,10	+ 0,22	- 10,1	1
Xitocrom b Fe^{3+} / Fe^{2+}	+ 0,04	+ 0,14	- 6,4	
Xitocrom c_1 Fe^{3+} / Fe^{2+}	+ 0,23	+ 0,19	- 8,7	1
Xitocrom c Fe^{3+} / Fe^{2+}	+ 0,26	+ 0,03	- 1,4	
Xitocrom a Fe^{3+} / Fe^{2+}	+ 0,29	+ 0,03	- 1,4	
Xitocrom a_3 Fe^{3+} / Fe^{2+}	+ 0,55	+ 0,26	- 12,0	1
Điện cực oxi $1/2 O_2 / O^{2-}$	+ 0,81	+ 0,26	- 12,0	
		+ 1,13	- 52,0	3

Thế năng oxi hoá khử còn dùng để tính năng lượng tự do (ΔG^o) được giải phóng ra trong quá trình oxi hoá khử theo phương trình sau :

$$\Delta G^o = - nF \cdot \Delta E'_o \quad (8)$$

n : số điện tử được chuyển đi = 2

F : số Faraday = 23,06 kcal/mol

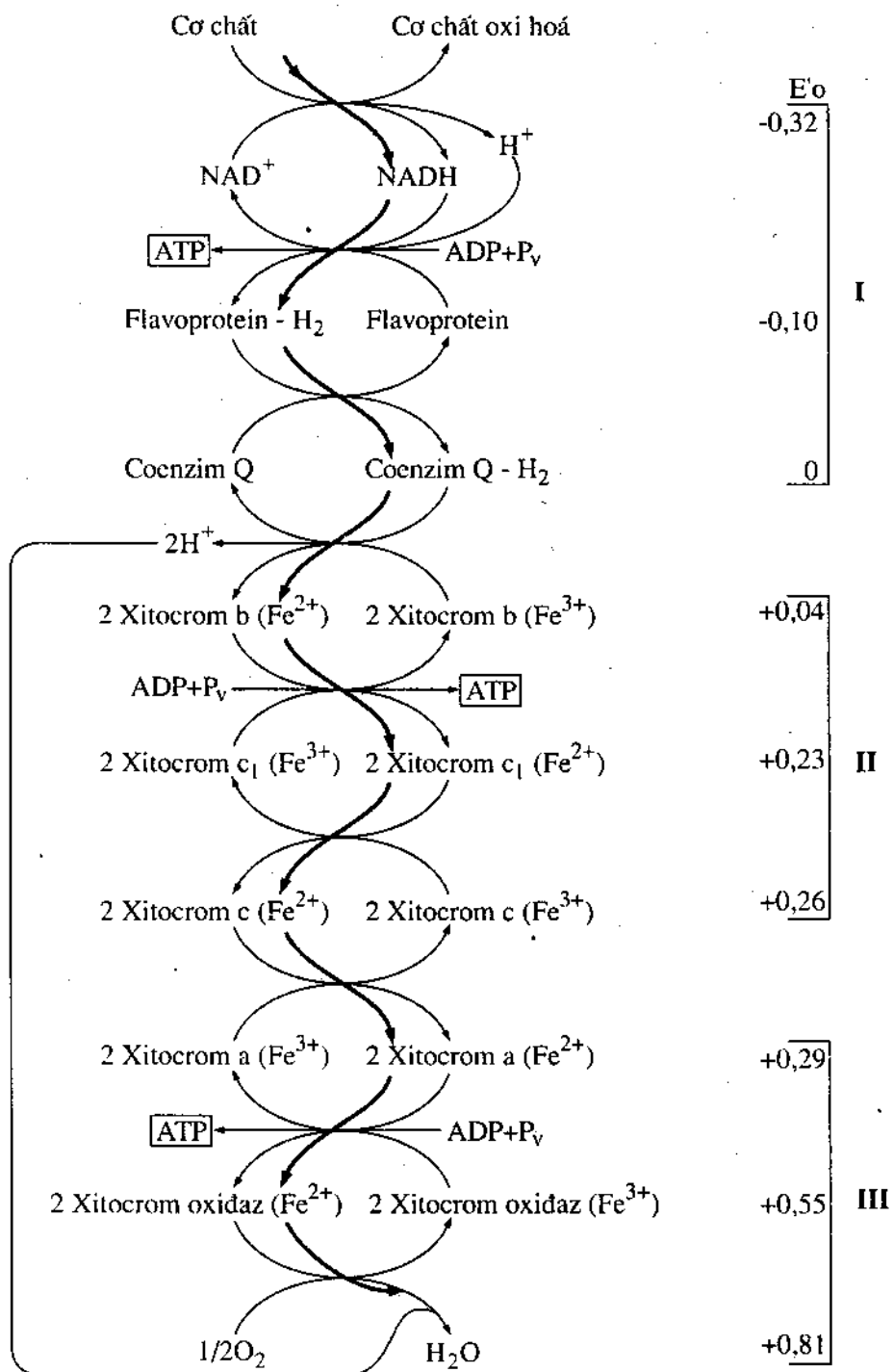
$\Delta E'_o$: hiệu thế oxi hoá của hai hệ

Ví dụ, khi oxi hoá NADH bằng oxi không khí nhờ chuỗi hô hấp (bảng 19) thì năng lượng tự do được giải phóng ra sẽ là :

$$\Delta G^o = - 2 \times 23,06 \times 1,13 \approx - 52 \text{ kcal/mol}$$

* V : đơn vị đo điện thế.

5. Chuỗi hô hấp và sự photphoril hoá oxi hoá



Hình 69 - Chuỗi hô hấp và các điểm thoát năng lượng.

I, II, III : Thế năng oxi hoá khử tương ứng với các điểm thoát năng lượng
Đường vẽ đậm là đường di chuyển của điện tử.

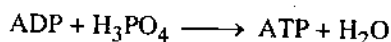
a) *Chuỗi hô hấp* : Trong tế bào, oxi là chất oxi hoá vạn năng, còn các phân tử hữu cơ khác nhau đóng vai trò chất cho điện tử. Tuy nhiên, điện tử và ion hidro của phân tử cơ chất không chuyển trực tiếp cho oxi không khí mà được chuyển dần qua một chuỗi phức tạp nhiều mắt xích, bao gồm các hệ enzym oxi hoá khử, có thể năng oxi hoá khử nằm trong khoảng giữa thế năng oxi hoá khử của cơ chất và của oxi. Các hệ enzym này được sắp đặt theo trật tự tăng dần thế năng oxi hoá khử tạo thành một chuỗi, gọi là *chuỗi hô hấp* hay *chuỗi vận chuyển điện tử*. Vai trò của chuỗi hô hấp là oxi hoá từng bậc hidro của cơ chất đến H_2O .

Cơ chế hoạt động của chuỗi hô hấp như sau :

Chất cho nguyên tử hidro là $NADH + H^+$ hoặc trong một số trường hợp là $FADH_2$. Nguyên tử hidro sẽ được chuyển tới hệ coenzim Q (CoQ) thông qua hệ trung gian flavoprotein chứa sắt và lưu huỳnh. Tiếp đó, hai điện tử của nguyên tử hidro được tách ra và đi vào hệ thống vận chuyển điện tử theo trình tự các xitocrom b-c₁ -c-a-xitocromoxidaz (a₃), cuối cùng điện tử được chuyển cho oxi. Nguyên tử oxi ở trạng thái ion hoá (O^{2-}) sẽ kết hợp với $2H^+$ để tạo ra phân tử nước (hình 69).

b) *Sự photphoril hoá oxi hoá*. Từ những năm 30 của thế kỉ XX, các nhà khoa học đã tìm ra mối tương quan P/O. Đó là một chỉ số liên quan đến sự hô hấp và sự photphoril hoá. Chỉ số này được gọi là *hệ số photphoril hoá*.

Có thể định nghĩa *sự photphoril hoá oxi hoá* là *cơ chế tạo thành năng lượng khi chuyển điện tử và proton của cơ chất cho oxi*. V.A.Belize (1940) đã chỉ ra rằng : Chuỗi hô hấp là một tổ chức cấu trúc. Người ta thấy các hợp phần của nó không ở trạng thái dung dịch nước mà được gắn vào màng trong của ti thể, bảo đảm, sắp xếp các enzym theo một trật tự xác định để có thể chuyển điện tử từ enzym này sang enzym khác và sau cùng tới oxi. Khi hấp thụ một nguyên tử oxi (hoặc khi chuyển một cặp điện tử từ cơ chất đến oxi) thì có ba nguyên tử photpho cũng được hấp thụ tức là hệ số P/O bằng 3. Như vậy, trong chuỗi hô hấp có tới ba điểm photphoril hoá, ở đó photphat vô cơ (H_3PO_4) tham gia tạo thành ATP theo phương trình :



Theo quan niệm hiện nay, *sự photphoril hoá oxi hoá* là *quá trình hình thành ATP bằng cách chuyển điện tử và proton trong chuỗi hô hấp*. Sự tạo thành ATP trong chuỗi hô hấp được nêu trên hình 69.

c) *Điểm thoát năng lượng trong chuỗi hô hấp*. Như đã biết, để tạo thành ATP từ ADP và P_v cần 7 kcal. Do đó theo phương trình (8) cần có sự chênh lệch thế năng oxi hoá khử giữa các chất tham gia trong chuỗi hô hấp vào khoảng 0,152 von để tạo thành 1 phân tử ATP.

$$\Delta E'_o = \frac{\Delta G^{\circ'}}{nF} = \frac{7}{2.23,06} = 0,152V$$

Trong chuỗi hô hấp có ba điểm tương hợp giữa sự hô hấp với sự photphoril hoá : 1) giữa NADH với flavoprotein ; 2) giữa xitocrom b và c₁ ; 3) giữa xitocrom a và xitocromoxidaz (hình 69).

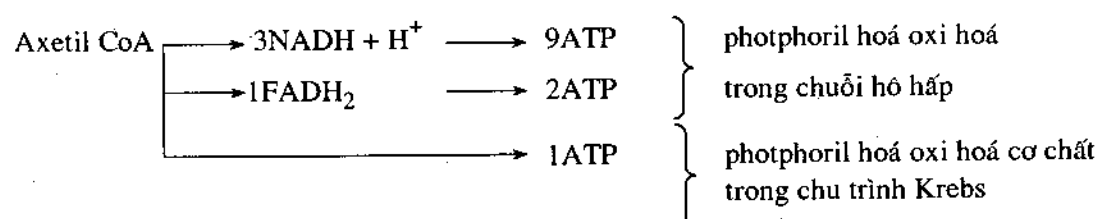
Như vậy là proton và điện tử được chuyển từ $NADH + H^+$ tới oxi, sẽ tạo được ba điểm photphoril hoá, còn proton và điện tử được chuyển trong chuỗi hô hấp từ $FADH_2$ chỉ có hai điểm photphoril hoá. Từ đó, có thể tính được giá trị năng lượng, hiệu suất của sự oxi hoá của bất kì cơ chất nào. Bảng 20 cho ta một vài ví dụ.

Bảng 20

SỰ TẠO THÀNH ATP TRÊN 1 MOL CƠ CHẤT OXI HOÁ

Cơ chất	Sản phẩm của sự oxi hoá cơ chất	Hệ số P/O	Số phân tử ATP trên 1 mol cơ chất oxi hoá
Malat	$\text{NADH} + \text{H}^+$	3	3
Xucxinat	FAD H_2	2	2
Izoxitrat	$\text{NADH} + \text{H}^+$	3	3
α -Xetoglutarat	$\left\{ \begin{array}{l} \text{NADH} + \text{H}^+ \\ \text{Xucxinil CoA} \end{array} \right.$	4 (3 do sự photphoril hoá oxi hoá NADH và 1 do sự photphoril hoá oxi hoá cơ chất)	4

Các tính toán đã cho thấy rằng khi phân giải axetil CoA thành CO_2 và H_2O sẽ tạo ra 12 ATP :



Qua những điều trình bày trên, có thể kết luận rằng sự photphoril hoá oxi hoá qua hệ thống vận chuyển điện tử của chuỗi enzym hô hấp là con đường chủ yếu đối với các sinh vật hiếu khí nhằm khai thác năng lượng của các hợp chất hữu cơ một cách hữu hiệu nhất để phục vụ cho các hoạt động sống của mình.

d) Sự photphoril hoá oxi hoá cơ chất

Ngoài ra trong một vài trường hợp, sự photphoril hoá oxi hoá xảy ra ở ngay cơ chất gọi là sự photphoril hoá cơ chất. Năng lượng giải phóng được chuyển trực tiếp cho gốc photphat vô cơ, tạo nên cơ chất photphoril hoá chứa liên kết cao năng. Gốc photphat của cơ chất photphoril hoá rất dễ chuyển sang ADP để tạo nên ATP. Có thể lấy ví dụ về sự tạo thành ATP bằng cách oxi hoá glixeraldehyt 3-phosphat như sau :

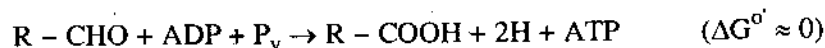
Sự oxi hoá aldehyt thành axit xảy ra theo phương trình :



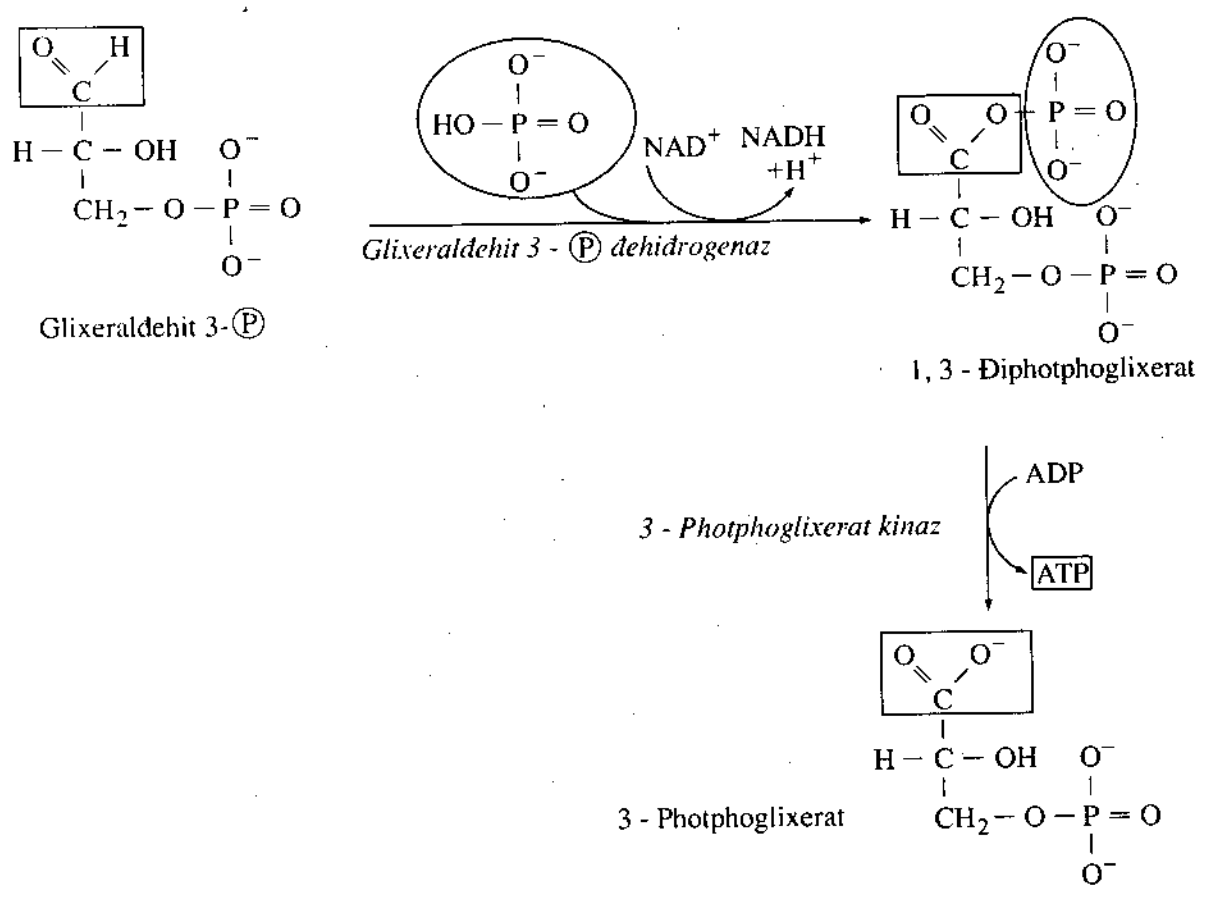
Sự tạo thành ATP từ ADP và H_3PO_4 :



Từ 2 phương trình trên ta có :



Quá trình trên được minh hoạ như sau :



Sự photphoril hoá cơ chất chỉ cung cấp một lượng rất ít ATP cho cơ thể sử dụng. Ví dụ : 1 phân tử glucos ở quá trình đường phân tạo ra 2 ATP và trong chu trình Krebs cũng tạo ra được 2 ATP nữa. Như vậy sự photphoril hoá cơ chất chỉ chiếm một tỉ lệ rất nhỏ so với toàn bộ năng lượng được giải phóng (4/38). Tuy nhiên, đối với sinh vật kị khí thì đây là cách thức chủ yếu để khai thác năng lượng của chất dinh dưỡng trong môi trường.

Chương IX

Trao đổi xacarit

I - SỰ PHÂN GIẢI XACARIT

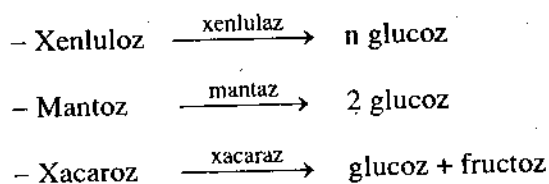
A – PHÂN GIẢI POLIXACARIT VÀ ĐIXACARIT

Sự phân giải polixacarit và đixacarit thực hiện theo hai cách : thủy phân và photphoril phân.

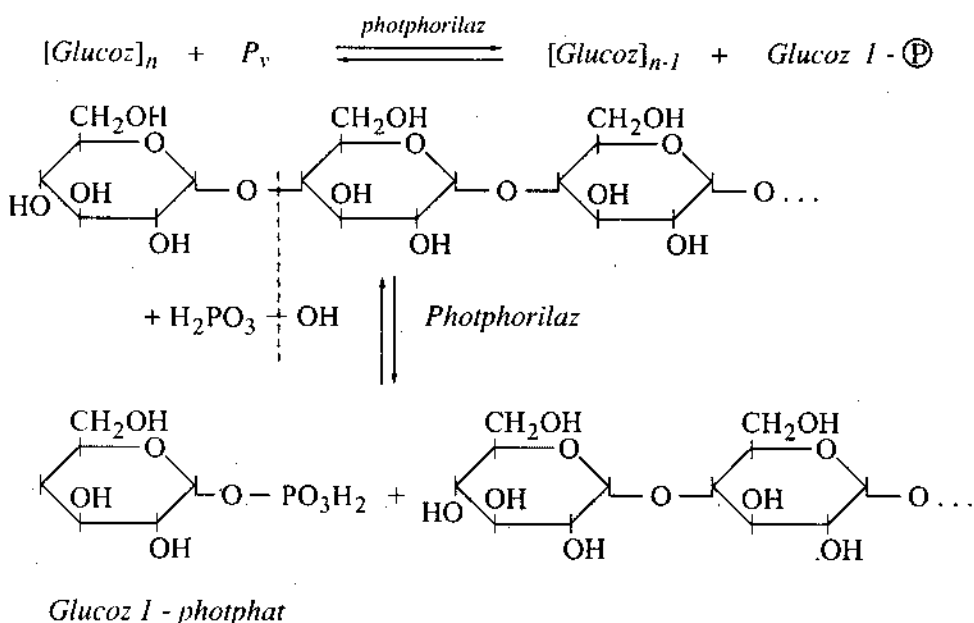
Thủy phân là quá trình phân giải có sự tham gia của nước. Dưới tác dụng của nhiều loại enzym tương ứng khác nhau, các polixacarit và đixacarit bị bẻ gãy thành các phân tử nhỏ hơn (ví dụ như tinh bột, glicogen tạo thành dextrin, mantoz, glucoz). Các dextrin và mantoz bị biến đổi thủy phân tiếp tục tạo thành các phân tử glucoz.

Ví dụ : tinh bột bị thủy phân nhờ tác dụng xúc tác của các dạng *amilaz* khác nhau như α -amilaz, β -amilaz và *glucoamilaz* (γ -amilaz). Tùy thuộc vào đặc tính của mỗi enzym, sự thủy phân có thể xảy ra ở các vị trí liên kết khác nhau (chương enzym) và tạo nên các sản phẩm khác nhau như dextrin, mantoz, glucoz. Dextrin và mantoz bị thủy phân hoàn toàn tạo thành glucoz.

Sự thủy phân glicogen cũng xảy ra tương tự như ở tinh bột. Các polixacarit hoặc đixacarit khác sẽ bị thủy phân bởi các enzym tương ứng, sản phẩm cuối cùng của quá trình thủy phân là các monoxacarit.



Photphoril phân : Bằng cách này, axit photphoric thay thế vai trò của nước trong quá trình thủy phân. Enzim photphorilaz chỉ tác dụng vào liên kết 1,4 của phân tử tinh bột mà không tác động đến liên kết 1,6 (liên kết này chỉ bị phân cắt bởi *amilo 1,6-glucozidaz*). Trong phản ứng này *photphorilaz* xúc tác cho sự tách 1 gốc glucoz ra khỏi chuỗi polixacarit dưới dạng một phân tử glucoz 1-photphat. Nhờ các phản ứng tiếp diễn như vậy mà phân tử tinh bột sẽ tách ra dần dần các phân tử glucoz 1-photphat. Phản ứng tổng quát và cụ thể xảy ra như sau :



Phản ứng photphoril phân đối với glicogen và đixacarit cũng xảy ra tương tự. Do tính chất thuận nghịch của phản ứng này nên có thể tái tổng hợp các polixacarit hoặc đixacarit từ những sản phẩm phân giải của chúng.

B – SỰ OXI HOÁ MONOXACARIT

Về bản chất quá trình này bao gồm các phản ứng oxi hoá khử sinh học được thực hiện bởi một loạt các enzym có trong ti thể. Kết quả là phân tử hexoz (chủ yếu là glucos) bị oxi hoá hoàn toàn tạo ra các sản phẩm vô cơ là khí CO_2 và nước, còn năng lượng mà chất hữu cơ giải phóng ra được tích lũy trong liên kết cao năng của ATP.

Tuỳ thuộc vào điều kiện không có hay có oxi mà sự phân giải glucos xảy ra theo hai hướng chính :

- Phân giải kỵ khí : bao gồm giai đoạn đường phân (glicoliz) và sự lên men kỵ khí.
- Phân giải hiếu khí (còn gọi là quá trình hô hấp) : bao gồm cả giai đoạn đường phân, sự oxi hoá piruvat và chu trình Krebs.

Như vậy, 2 quá trình trên đều có chung một chuỗi phản ứng từ glucos đến piruvat.

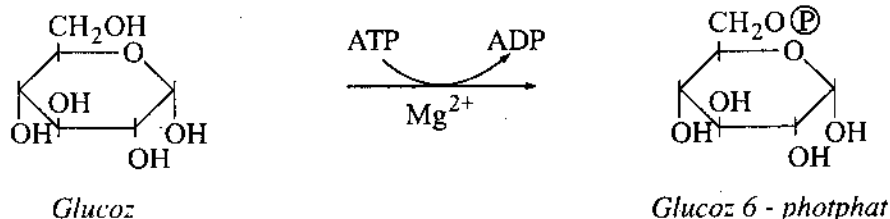
1. Quá trình phân giải kỵ khí glucos

Quá trình này được phát hiện năm 1933 bởi Emden ; Máyehôp và Pacnax (Embden – Meyerhof – Parnas).

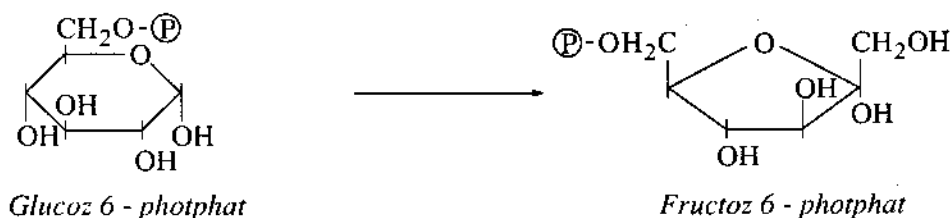
Đây là một quá trình phức tạp, được xúc tác bởi nhiều enzym và không có sự tham gia của oxi. Phân tử đường lần lượt trải qua các giai đoạn : hoạt hoá ; cắt đôi phân tử hexoz (6C) tạo thành 2 phân tử trioz (3C) ; loại hidro của trioz photphat tạo thành photpho glixerat ; chuyển sản phẩm trên thành piruvat ; khử piruvat tạo thành lactat (chẳng hạn trong mô cơ) hoặc decacboxil hoá khử để tạo thành etanol (ở tế bào nấm men).

a) Giai đoạn hoạt hoá phân tử hexoz. Giai đoạn này bao gồm 3 phản ứng :

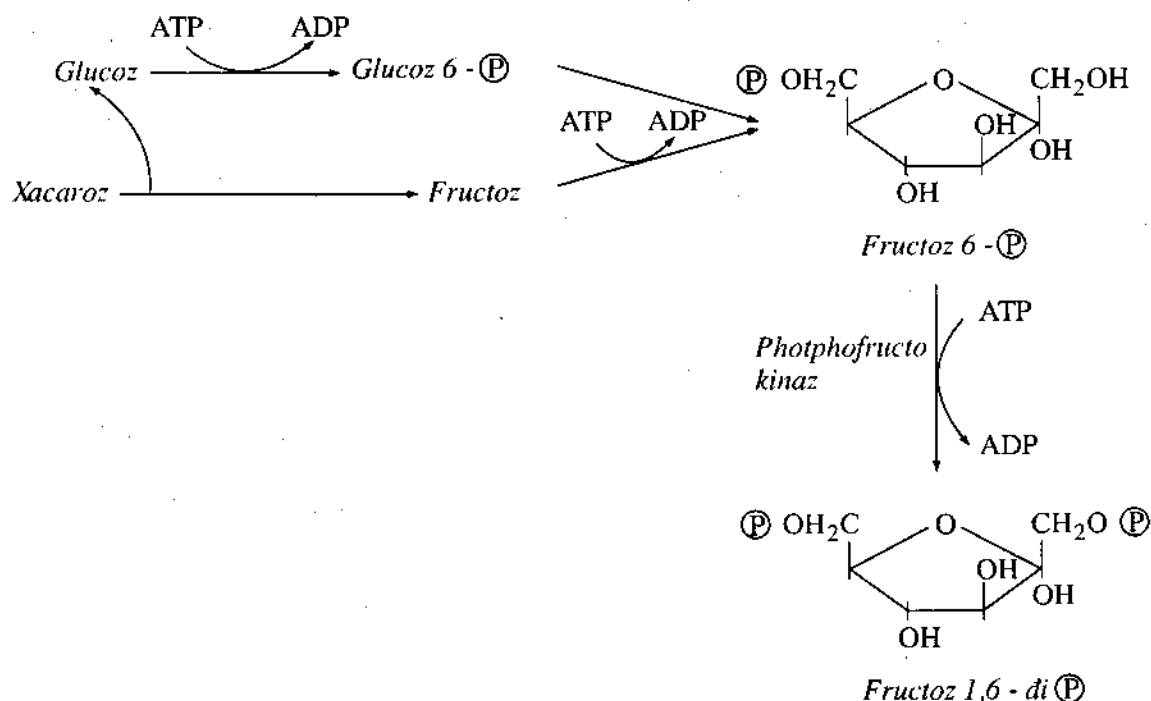
– Phân tử glucôz kém hoạt động, nhờ enzym *photphoglucokinaz* chuyển 1 gốc photphat từ ATP sang sẽ tạo thành glucôz 6-phosphat là dạng hoạt động và có thể tham gia vào phản ứng tiếp theo.



– Glucôz 6-phosphat sẽ chuyển thành dạng đồng phân của nó là fructôz 6-phosphat nhờ tác dụng của *izomeraz*. Như vậy, phân tử đường dạng vòng piran (6 cạnh) biến đổi thành dạng vòng furan (5 cạnh). Cấu tạo dạng sau có liên kết kém bền vững hơn, do đó mạch cacbon dễ bị cắt hơn.



Từ fructôz, bằng cách photphoril hoá nhờ tác dụng của *photphofructokinaz* cũng sẽ tạo ra fructôz 6-phosphat. Bởi vậy chất này là một sản phẩm của sự photphoril hoá trực tiếp fructôz hoặc xa hơn là từ xacarôz (hình 70a).

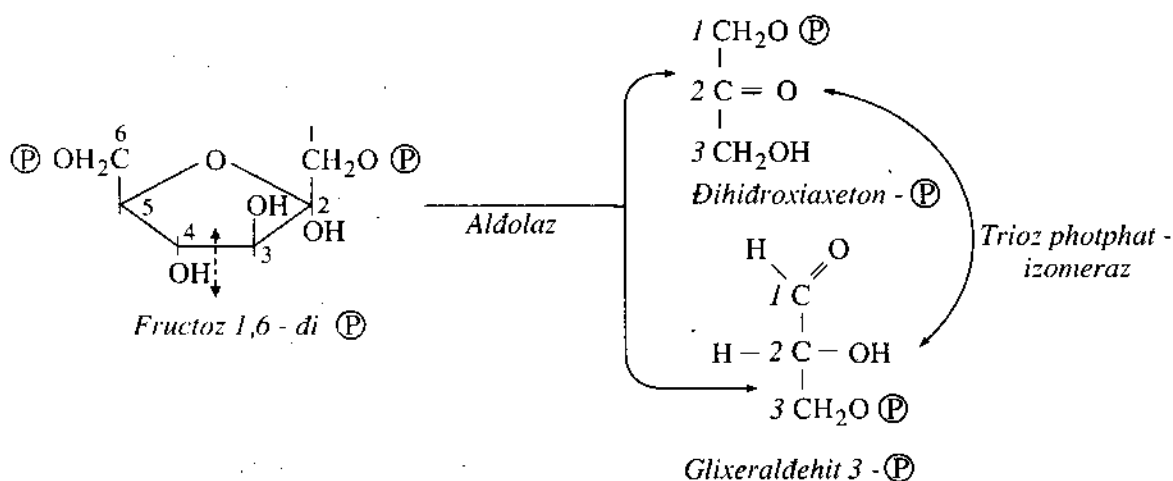


Hình 70a – Quá trình hoạt hoá phân tử đường.

– Fructoz 6-phosphat tiếp tục bị photphoril hoá lần thứ hai nhờ enzym *phosphofructokinaz* với sự tham gia của phân tử ATP thứ hai. Sản phẩm của phản ứng là fructoz 1,6-diphosphat. Do cấu tạo đối xứng, nó dễ bị cắt mạch cacbon ở điểm giữa.

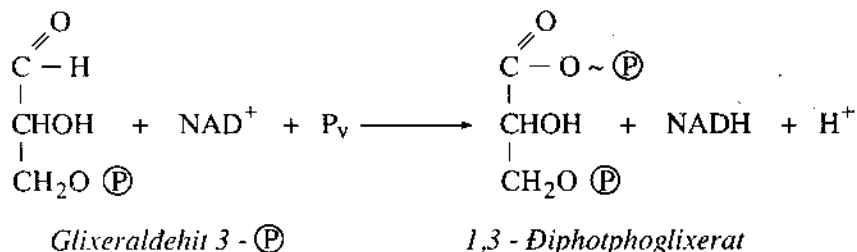
b) Giai đoạn cắt mạch cacbon

Aldolaz là enzym xúc tác sự phân li fructoz 1,6-diphosphat thành 2 phân tử trioz photphat (dihidroxi axeton photphat và glixeraldehit 3-phosphat). Hai trioz photphat này có thể chuyển hoá lẫn nhau nhờ 1 enzym đồng phân (*trioz photphat izomeraz*). Cân bằng của phản ứng này lệch về phía tạo thành glixeraldehit 3-phosphat. Bởi vậy, từ 1 phân tử fructoz 1,6-diphosphat sẽ tạo thành 2 phân tử glixeraldehit 3-phosphat (hình 70b).

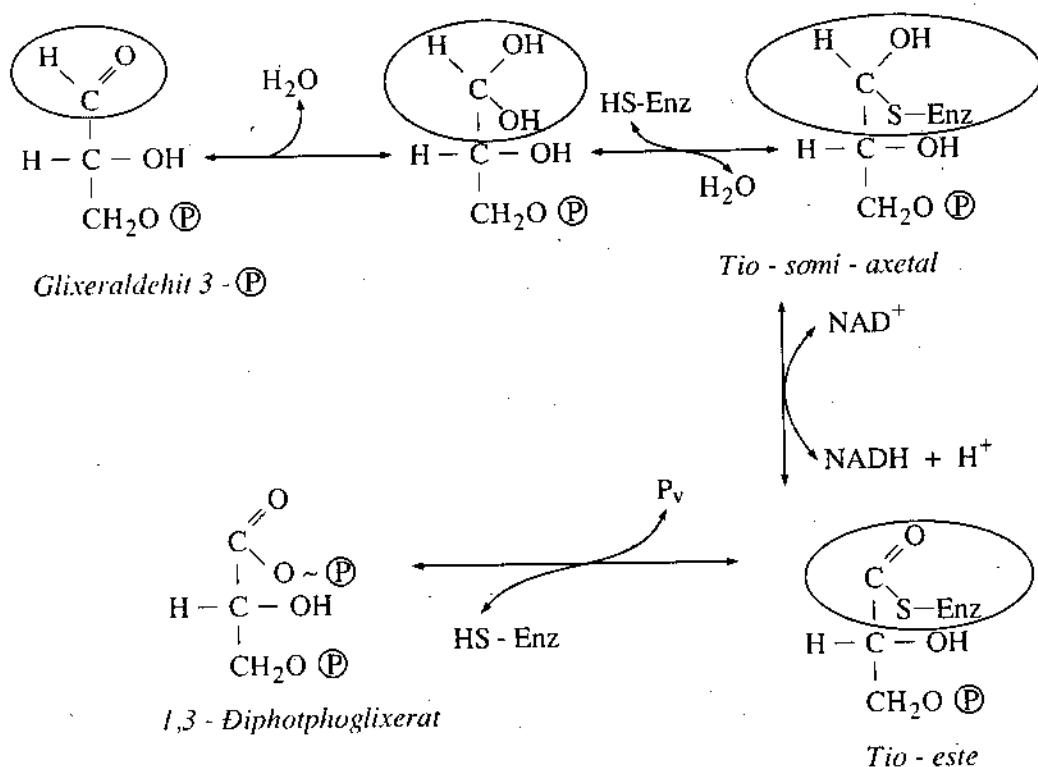


Hình 70b – Quá trình cắt đôi phân tử đường.

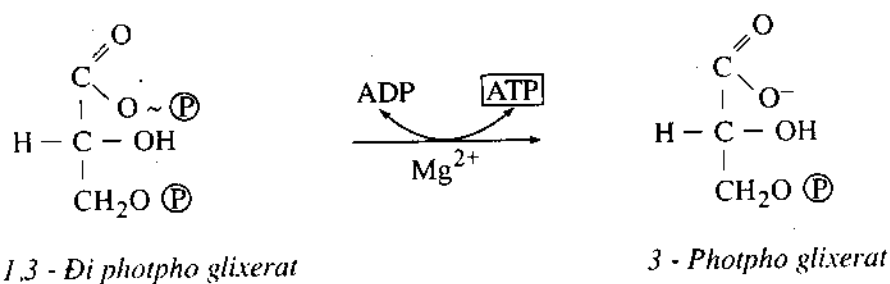
c) Giai đoạn oxi hoá : – Giai đoạn oxi hoá khử được thực hiện nhờ *glixeraldehit 3-phosphat-dehydrogenaz*. Enzym này đã được tách ra ở dạng tinh thể từ nấm men và từ cơ, có coenzim là NAD^+ ; trong trung tâm hoạt động có nhóm SH. Nó xúc tác cho sự oxi hoá glixeraldehit 3-phosphat thành axit tương ứng là 1,3-diphosphoglixerat :



Cơ chế của phản ứng này đã được nghiên cứu đầy đủ. Nhóm SH của enzym gắn với gốc aldehyt của cơ chất tạo thành phức hợp enzym–cơ chất có chứa liên kết tio-somaxetal. Sau đó NAD^+ lấy hidro của phức hợp tạo thành hợp chất tio-este có chứa liên kết C–S giàu năng lượng. Nhưng liên kết này không bền, khi có mặt axit photphoric nó lập tức bị phân li giải phóng enzym ($\text{Enz} - \text{SH}$) và tạo thành 1,3-diphosphoglixerat chứa 1 liên kết cao năng :



– Trong phản ứng này gốc photphat cao năng của 1,3-điphotpho glixerat chuyển cho ADP. Đó cũng là một kiểu photphoril hoá ADP thành ATP. Phản ứng này rất có ý nghĩa vì năng lượng giải phóng trong quá trình oxi hoá được tích lũy trong phân tử ATP, bảo đảm cung cấp năng lượng cho hoạt động tế bào trong điều kiện không có oxi. Phản ứng do enzym *3-phốtpho glixerat kinaz* xúc tác và tạo thành 3-phốtpho glixerat :

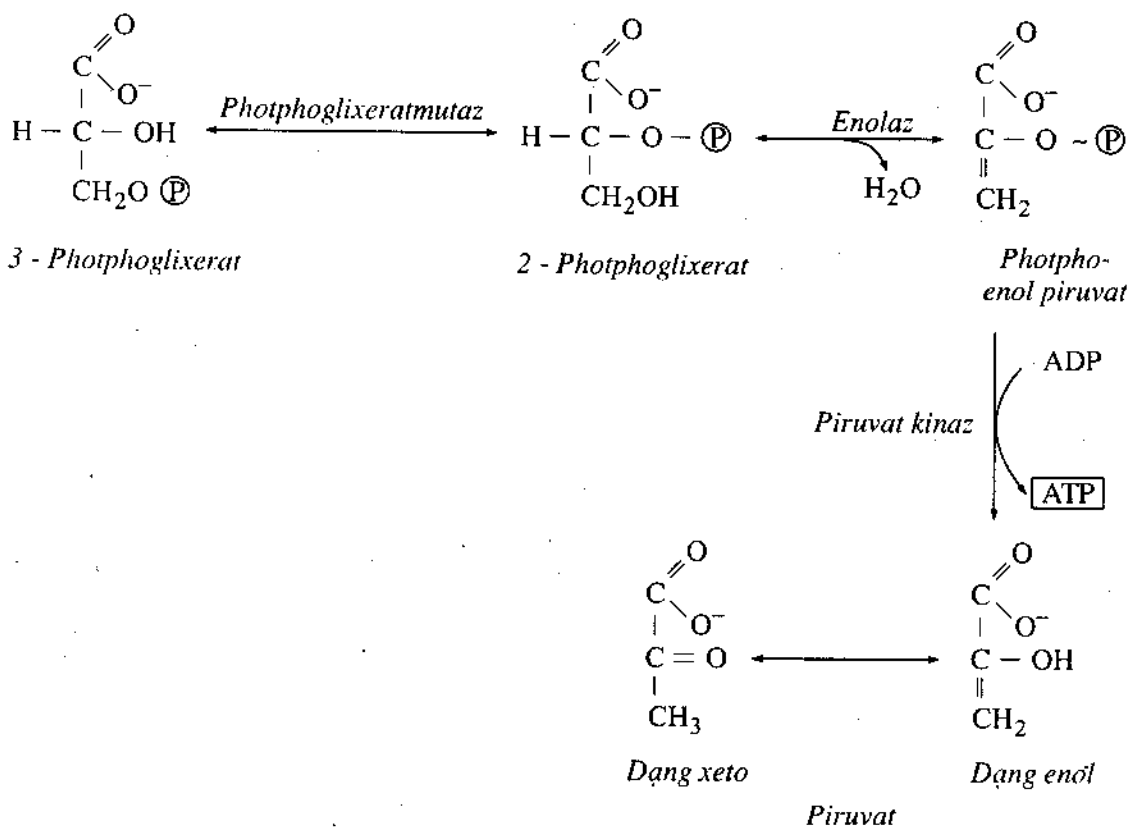


3-Photpho glixerat biến đổi thành 2-phốtpho glixerat. Đây là phản ứng chuyển gốc photphat nội phân tử nhờ sự xúc tác của enzym *photphoglixerat mutaz* được trình bày trong hình 71 .

d) Sự tạo thành piruvat

– Quá trình loại nước được xúc tác bởi *enolaz*, 2-phốtphoglixerat biến đổi thành photpho enolpirurat. Hợp chất này có chứa liên kết cao năng.

– Photpho enolpiruvat chuyển gốc photphat cao năng cho ADP tạo thành enolpiruvat và ATP. Phản ứng được thực hiện nhờ enzym *piruvat kinaz*. Dạng enol của piruvat không bền, nó sẽ chuyển thành dạng xeto bền hơn. Những điều trên được minh hoạ trong hình sau :

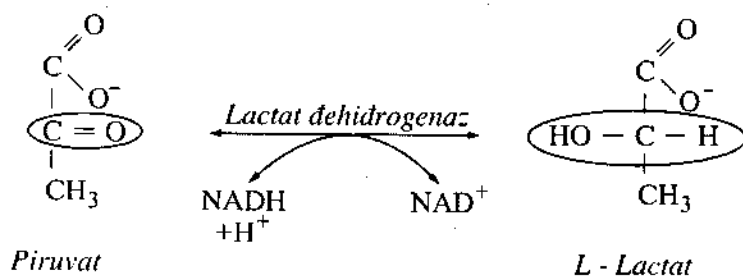


Hình 71 - Ba giai đoạn cuối của quá trình đường phân dẫn đến tạo thành piruvat.

đ) Sự chuyển hoá tiếp tục piruvat thành các sản phẩm cuối cùng

Từ piruvat, tùy thuộc mỗi cơ thể, mỗi điều kiện, có thể chuyển hoá thành các sản phẩm khác nhau.

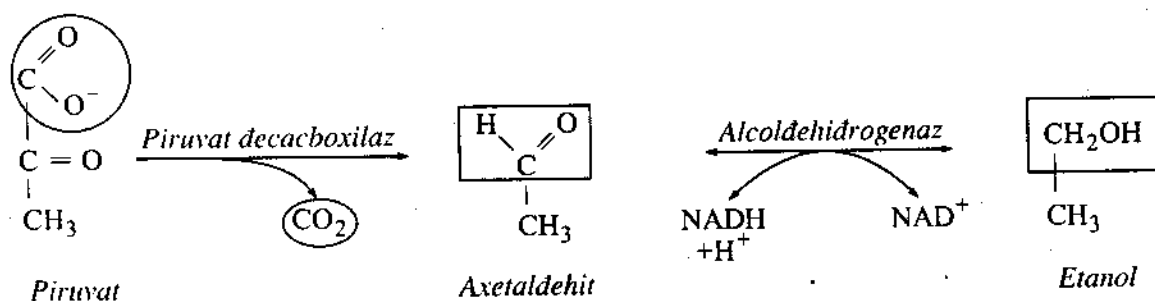
– Sự tạo thành lactat : Dưới tác dụng của lactat dehidrogenaz, piruvat bị khử thành lactat.



Phản ứng này xảy ra trong mô cơ động vật thì tạo thành L-lactat, còn trong quá trình lên men lactat do các vi sinh vật gây ra (lên men sữa chua, muối dưa, cà ...) thì tạo thành D-lactat.

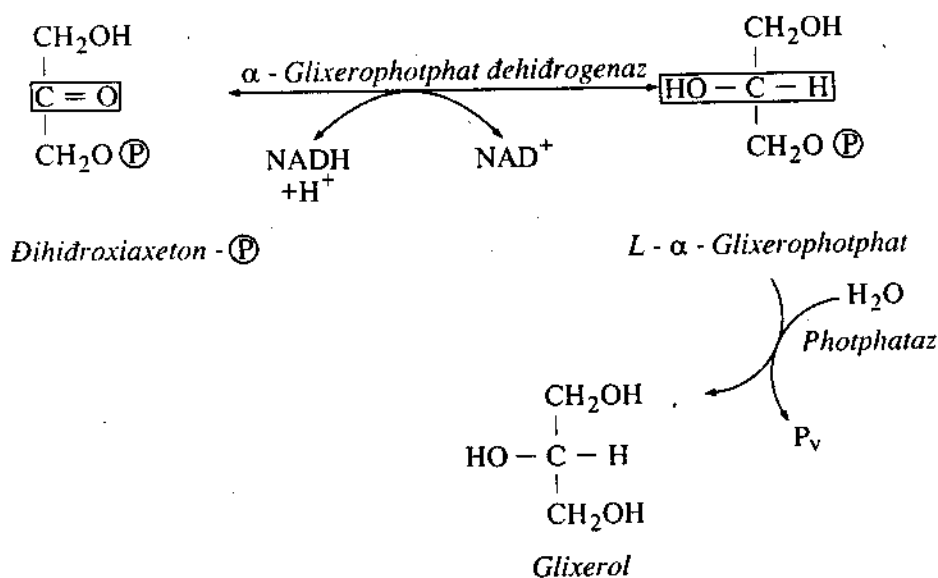
Sự tạo thành lactat trong mô cơ động vật có một ý nghĩa quan trọng. Nó cung cấp năng lượng để duy trì các hoạt động sống của cơ thể trong điều kiện bất lợi không đủ oxi.

– *Lên men rượu*. Một số vi sinh vật khác, chẳng hạn nấm men có khả năng biến đổi piruvat thành etanol. Quá trình xảy ra qua 2 bước. Bước đầu, piruvat bị khử nhóm cacboxil thành CO_2 và axetalđehit nhờ enzym xúc tác là *piruvat decacboxilaz* có coenzim là tiaminpirophotphat (chứa vitamin B_1) và Zn^{2+} . Trong bước hai, axetalđehit bị khử thành etanol. Phản ứng này được xúc tác bởi *alcol dehidrogenaz* :

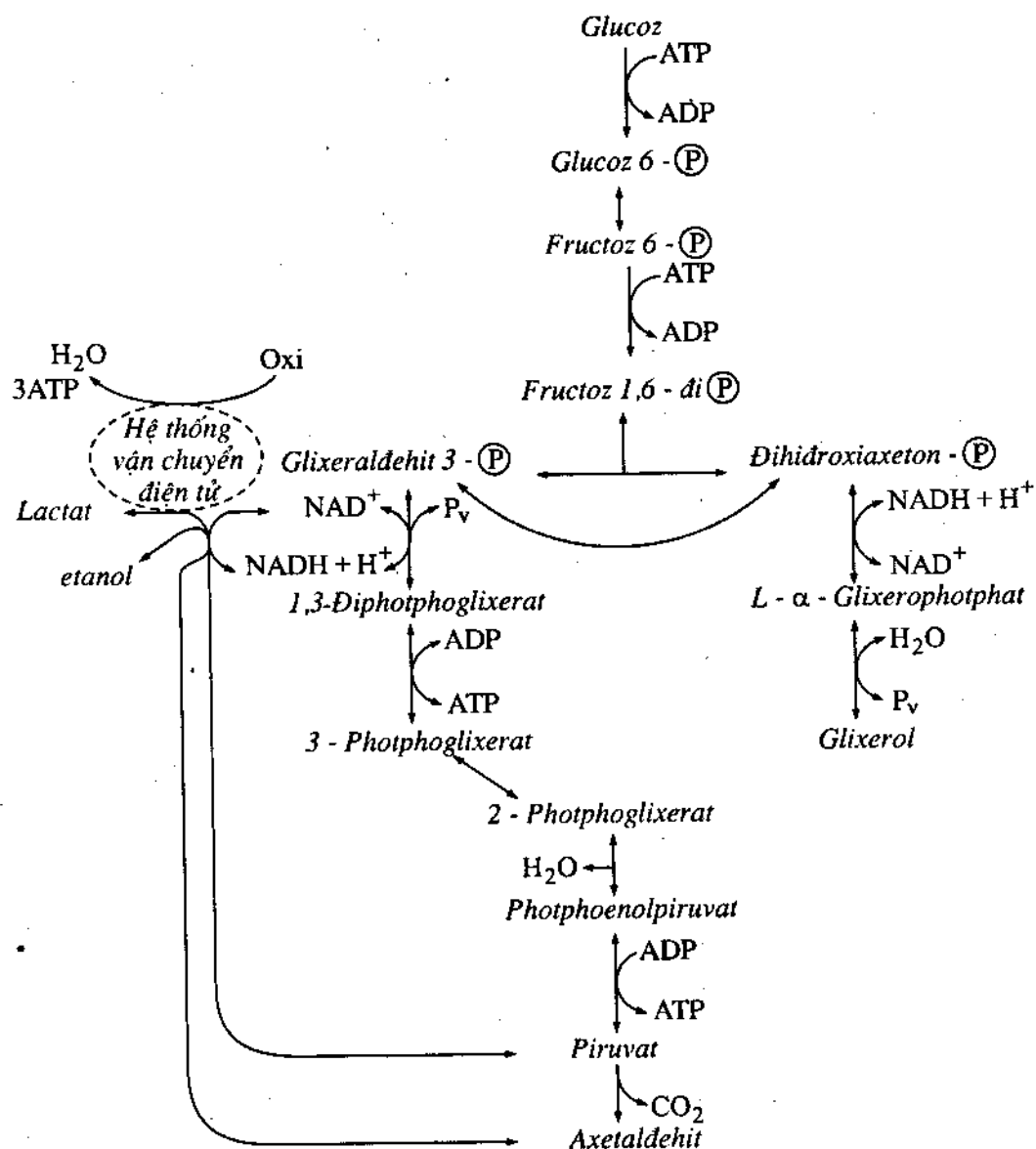


– *Sự tạo thành α -glixerophotphat và glixerol*

Sự lên men glucoz bởi nấm men luôn kèm theo tạo thành một lượng nhỏ glixerol. Trước tiên, dihidroxiacetophotphat sẽ bị khử thành L- α -glixerophotphat rồi sau đó tạo thành glixerol :



Quá trình đường phân và các quá trình lên men được tóm tắt trong sơ đồ ở hình 72 :



Hình 72 – Sơ đồ các phản ứng của quá trình đường phân và lên men.

Tổng kết năng lượng của quá trình đường phân.

Bảng 21

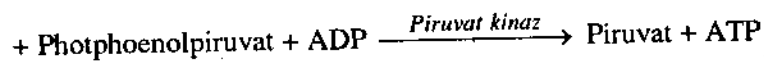
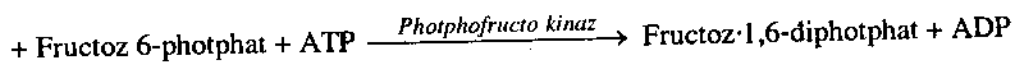
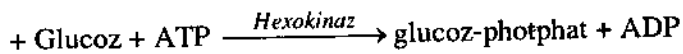
TỔNG KẾT NĂNG LƯỢNG CỦA QUÁ TRÌNH ĐƯỜNG PHÂN

Giai đoạn phản ứng	ATP sử dụng	Coenzim khử tạo thành	ATP tạo thành
glucoz → gluco 6 - (P)	1	2 [NADH + H ⁺]	2
fructoz 6 - (P) → fructo 1, 6 - di (P)	1		
2. glixeraldehit 3 - (P) → 2. 1, 3 - diphosphoglixerat			
2. 1,3 - diphosphoglixerat → 2. 3 - photphoglixerat			
2. photphoenolpiruvat → 2. piruvat			2
TỔNG CỘNG	2	2	4

Qua bảng 21 ta thấy : sự oxi hoá kỵ khí 1 phân tử glucôz thành 2 phân tử piruvat đã sử dụng 2ATP và tạo ra được 4ATP. Như vậy quá trình này đã tạo ra được 2ATP. So với năng lượng dự trữ của phân tử glucôz, thì quá trình này chỉ giải phóng một phần nhỏ năng lượng. Phần lớn năng lượng vẫn còn tàng trữ trong sản phẩm cuối cùng (lactat, etanol v.v.). Như vậy đối với các vi sinh vật kỵ khí, để bảo đảm đủ năng lượng cho các hoạt động sống, chúng phải phân giải một lượng lớn đường, tạo thành một lượng lớn sản phẩm cuối cùng là những hợp chất hữu cơ (rượu, axit hữu cơ v.v.). Người ta đã lợi dụng điều đó để sản xuất rượu, bia, cồn, axit hữu cơ v.v.

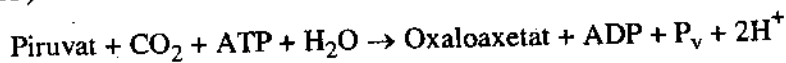
e) *Quá trình tổng hợp mới glucôz (gluconeogenesis)*. Đây là quá trình cho phép tổng hợp glucôz từ các tiền chất không phải là xacarit, vì thế quá trình được gọi là *tổng hợp mới glucôz*. Các tiền chất đó là axit amin, glixerol, lactat (một ngoại lệ vì là sản phẩm cuối của sự phân giải glucôz).

Một câu hỏi đặt ra là : từ piruvat có thể biến đổi theo các phản ứng nghịch của quá trình đường phân để tạo ra glucôz không ? Câu trả lời là : không thể trực tiếp, vì có 3 bước phản ứng không thuận nghịch. Vì vậy piruvat muốn biến đổi thành glucôz phải có thêm một số phản ứng mới bổ sung (mặc dù một vài phản ứng biến đổi piruvat thành glucôz chung với quá trình đường phân). Các phản ứng không thuận nghịch của quá trình đường phân bao gồm :



Trong quá trình tổng hợp mới glucôz, các phản ứng không thuận nghịch của quá trình đường phân được đi vòng qua những bước mới như sau :

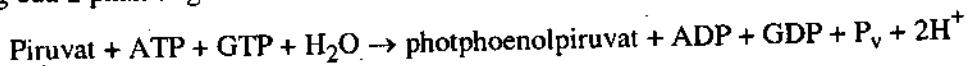
– Từ piruvat, thông qua oxaloacetat tạo thành phosphoenolpiruvat và tiêu tốn 1 ATP. Sau đó oxaloacetat loại bỏ CO_2 và phosphoryl hoá, tạo thành phosphoenolpiruvat và tiêu tốn 1 liên kết cao năng thứ hai (GTP).



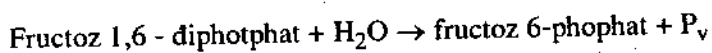
Phản ứng đầu được xúc tác bởi *piruvat cacboxilaz*.

Phản ứng sau được xúc tác bởi *phosphoenolpiruvat cacboxikinaz*.

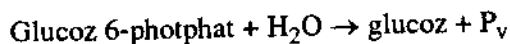
Tổng của 2 phản ứng trên như sau :



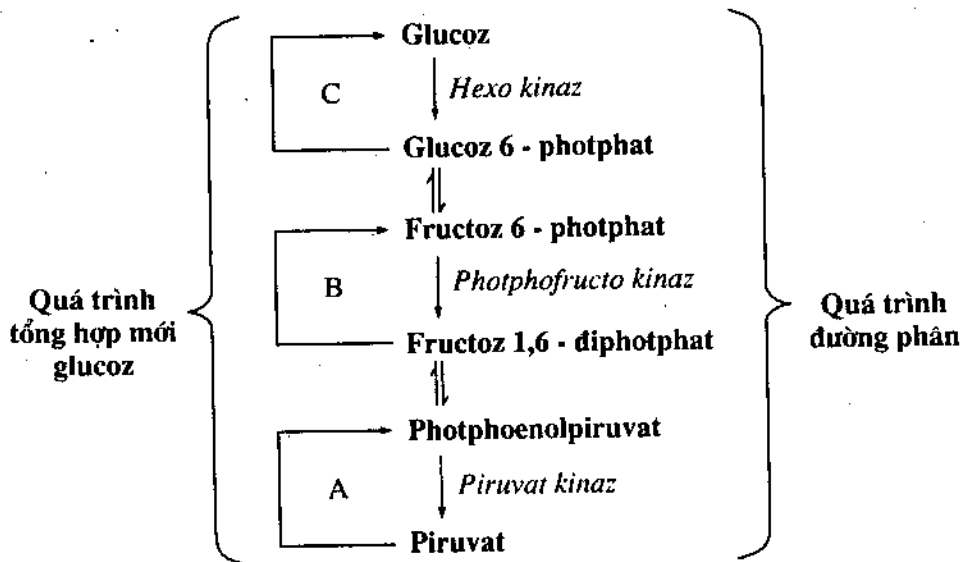
– Fructôz 6-phosphat được tạo thành từ fructôz 1,6-diphosphat bằng cách thủy phân nhờ *fructôz 1,6-diphosphataz* :



Glucôz được tạo thành từ glucôz 6-phosphat dưới tác dụng của *glucôz 6-phosphataz* :



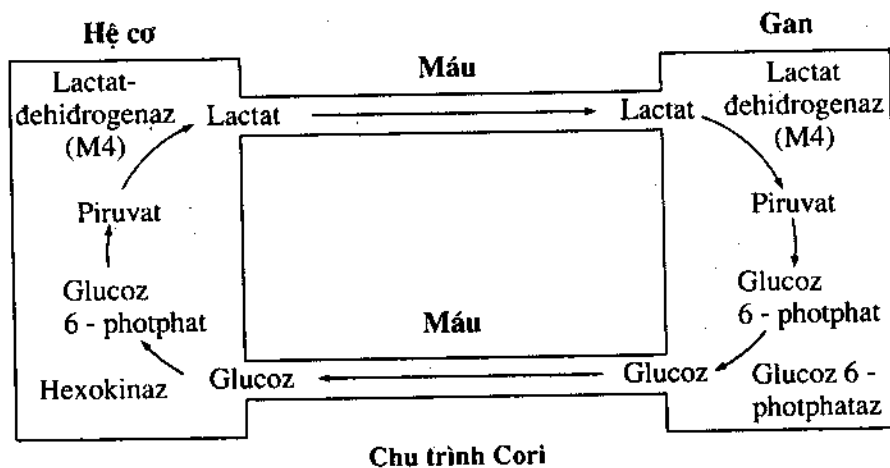
Sự liên hệ giữa quá trình đường phân và quá trình tổng hợp mới glucôz được trình bày trong sơ đồ sau :



Cần lưu ý rằng, trong sơ đồ trên, các chữ cái A, B, C chỉ các bước mới bổ sung trong quá trình tổng hợp mới glucôz.

f) Chu trình Cori

Gan và hệ cơ có một kiểu hợp tác trao đổi chất đặc biệt. Khi hệ cơ hoạt động căng thẳng (bơi lội, luyện tập, thi đấu...), nguồn cung cấp oxy cho tế bào không đủ, hệ cơ phải sử dụng ATP hầu hết từ quá trình đường phân. Vì vậy, trong mô cơ hoạt động, lactat được tạo thành nhiều sẽ gây độc cho cơ thể do tế bào bị nhiễm toan. Tuy nhiên, cơ thể có một quá trình duy trì cân bằng lactat. Đó là: lactat được tạo thành trong mô cơ sẽ vào máu đi tới gan. Trong gan, lactat biến đổi thành piruvat do izoenzim M_4 của *lactatdehidrogenaz* xúc tác. Cũng vì gan thường xuyên ở trạng thái năng lượng cao, nên phần lớn lượng piruvat sẽ biến đổi thành glucôz 6-photphat (theo con đường tổng hợp mới glucôz). Từ glucôz 6-photphat bằng cách thủy phân sẽ tạo ra glucôz. Sau đó, glucôz lại theo máu tới hệ cơ. Ở hệ cơ, nhờ enzym *hexokinaz* xúc tác, glucôz lại biến đổi thành glucôz 6-photphat. Chất này tiếp tục biến đổi trong quá trình đường phân, tạo ra sản phẩm cuối là lactat, kèm theo một năng lượng nhỏ (2ATP) cho hệ cơ sử dụng. Các phản ứng này làm thành vòng khép kín, được gọi là chu trình Cori (tên vợ chồng nhà bác học Carl và Gerty Cori đã khám phá và được tặng giải thưởng Nobel năm 1937). Chu trình này cho phép giải thích vì sao lượng lactat trong bắp cơ của các vận động viên khi luyện tập căng thẳng hay khi thi đấu không ở mức quá cao.



g) Sự điều hoà quá trình đường phân

Quá trình đường phân có ba bước phản ứng không thuận nghịch được xúc tác bởi *hexo kinaz*, *phosphofructo kinaz* và *piruvat kinaz*. Các enzym này thuộc loại enzym dị lập thể (allosteric) nên chúng vừa có vai trò xúc tác vừa có vai trò điều hoà. Trong số các enzym này, ở loài có vú *phosphofructo kinaz* có vai trò điều hoà chính. Nó được hoạt hoá bởi ADP, AMP và bị ức chế bởi ATP, cho nên hoạt độ của nó cao nhất khi năng lượng tế bào thấp và hoạt độ thấp nhất khi mức năng lượng tế bào cao. Hoạt độ của *phosphofructo kinaz* cũng bị ức chế bởi NADH, nếu NADH được tích lại từ quá trình đường phân thì enzym này bị ức chế cho đến khi NADH bị oxi hoá hoàn toàn thành NAD^+ .

Xa hơn một chút, *phosphofructo kinaz* bị ức chế bởi xitrat, sự dư thừa của chất này cho biết không cần thiết phân giải glucoz tiếp tục, vì thế quá trình đường phân bị ức chế.

2. Sự phân giải hiếu khí glucoz. Chu trình Krebs

Có thể chia quá trình này thành 4 giai đoạn chính :

- Từ glucoz đến piruvat : các phản ứng giống với sự đường phân kỵ khí
- Từ piruvat đến axetil CoA
- Oxi hoá axetil CoA trong chu trình Krebs
- Oxi hoá các coenzim khử qua chuỗi hô hấp.

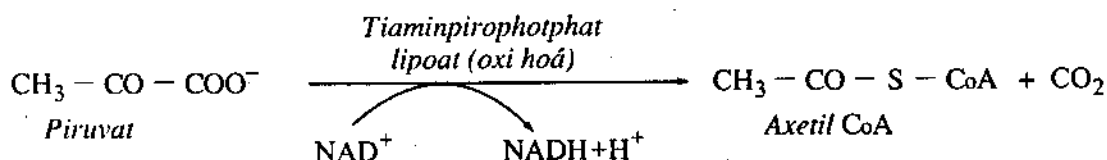
Trong phần này ta chỉ đề cập giai đoạn hai và giai đoạn ba. Trong điều kiện có oxi, piruvat bị oxi hoá hoàn toàn đến CO_2 , H_2O và giải phóng toàn bộ năng lượng còn lại. Các phản ứng của quá trình này xảy ra theo một chu trình, mang tên nhà bác học người Đức phát hiện ra (1937) gọi là chu trình Krebs.

a) Sự khử cacboxil oxi hoá piruvat tạo thành axetil CoA :

Trước khi tham gia vào chu trình, piruvat bị khử nhóm cacboxil đồng thời bị oxi hoá dưới tác dụng của một phức hệ đa enzym có tên là *piruvat oxidaz* hay *piruvat decacoxilaz*.

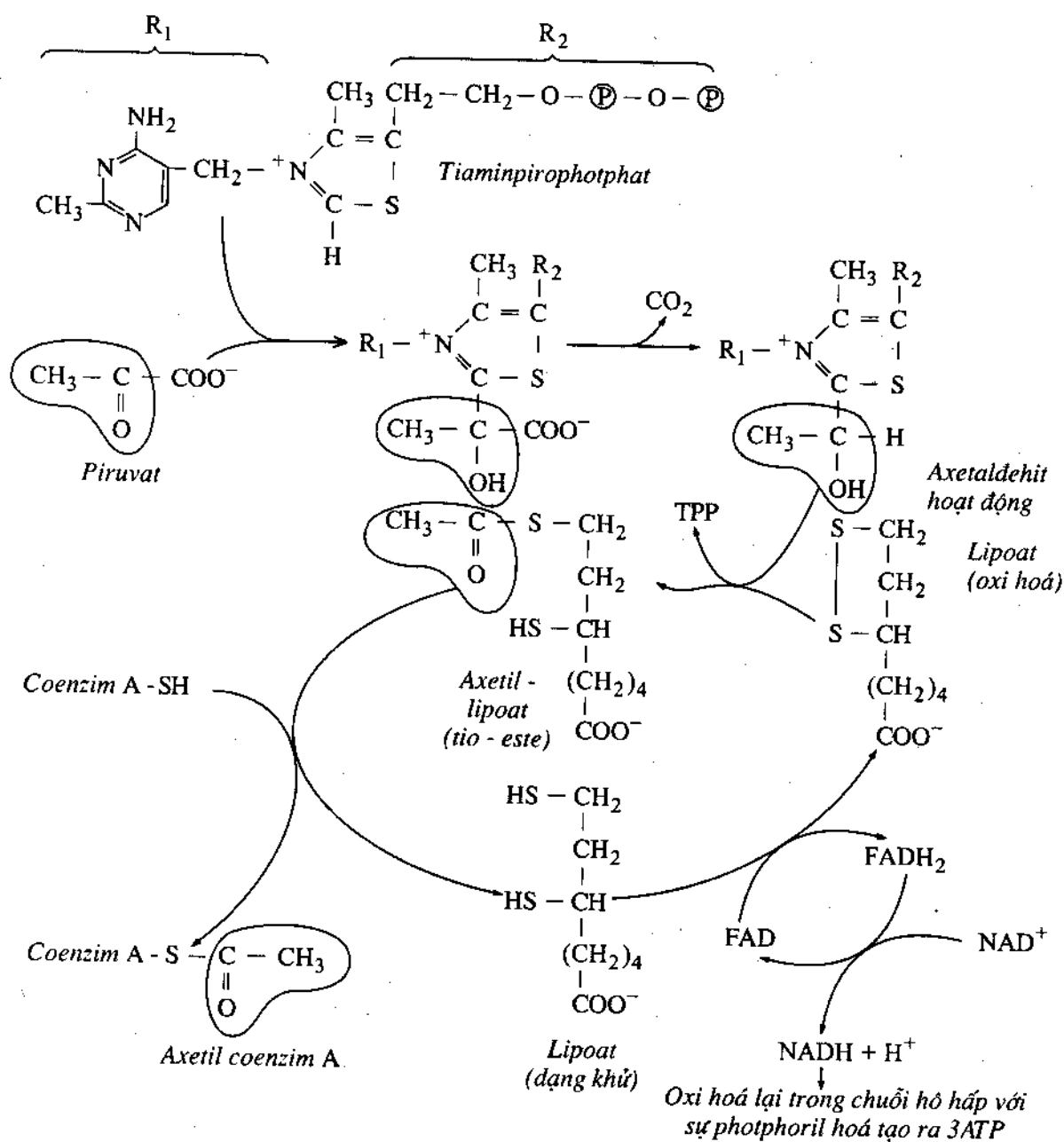
Coenzim của enzym này có chứa tiamin pirophosphat và lipoat. Ngoài ra cần một số coenzim khác như coenzim A, NAD^+ hoặc FAD. Cơ chế của phản ứng này đã được biết rõ (hình 73).

Phương trình tổng quát của giai đoạn này như sau :



Kết quả của phản ứng là từ piruvat chứa 3 cacbon và kém hoạt động đã biến thành hợp chất 2 cacbon ở dạng hoạt hoá, đó là axetil coenzim A có chứa liên kết cao năng trong phân tử. Chính chất này, sẽ trực tiếp tham gia vào chu trình. Cũng ở phản ứng này, nguyên tử cacbon đầu tiên của piruvat bị tách ra dưới dạng CO_2 .

Do quá trình oxi hoá, nguyên tử hidro của cơ chất được chuyển đến các coenzim NAD^+ tạo thành coenzim dạng khử NADH. Nếu hidro đó được chuyển qua hệ thống vận chuyển điện tử tới oxi thì sẽ tổng hợp được 3ATP.



Hình 73 – Sự khử nhóm cacboxil của piruvat.

b) Các phản ứng trong chu trình Krebs

Chu trình bao gồm 8 phản ứng sau :

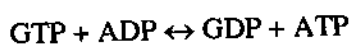
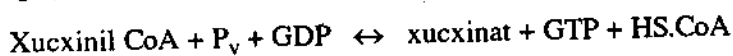
– **Giai đoạn một** : nhờ sự xúc tác của enzym *xitrat xintetaz*, nhóm axetil của axetil coenzim A sẽ được chuyển cho oxaloaxetat để tạo thành xitrat, đồng thời giải phóng coenzim A. Chính liên kết cao năng trong phân tử axetil coenzim A đã cung cấp năng lượng bảo đảm cho phản ứng ngưng tụ xảy ra giữa hai chất này. Do trong chu trình phản ứng có mặt các axit đi – và tricacboxilic, nên chu trình Krebs còn được gọi là chu trình axit tricacboxilic, hoặc chu trình axit xitric.

– *Giai đoạn hai* : xitrat biến đổi thành dạng đồng phân của nó là izoxitrat, quá trình này được xúc tác bởi cùng một enzym là *aconitaz*. Đầu tiên là phản ứng loại đi một phân tử nước của xitrat, chất tạo thành sau đó lại kết hợp với nước để tạo ra izoxitrat. Phản ứng này cần thiết để chuẩn bị cho sự oxi hoá xitrat. (Vì izoxitrat có nhóm $\text{H}-\overset{\text{O}}{\underset{\text{O}}{\text{C}}}-\text{OH}$, mà chỉ 2 nguyên tử hiđro ở vị trí này mới dễ dàng tách khỏi cơ chất để kết hợp với coenzim NAD^+ hoặc NADP^+).

– *Giai đoạn ba* : xảy ra sự oxi hoá izoxitrat dưới tác dụng của enzym *izoxitrat dehidrogenaz*. Izoxitrat bị khử hiđro, 2 nguyên tử hiđro của nó được chuyển cho coenzim NAD^+ hoặc NADP^+ . Kết quả tạo thành $\text{NADH} + \text{H}^+$ hoặc $\text{NADPH} + \text{H}^+$ và oxaloxucxinat. Ngay sau đó, oxaloxucxinat (vừa được tạo thành) lại bị khử cacboxil để biến thành α -xetoglutarat. Một nguyên tử cacbon lại được tách ra khỏi cơ chất dưới dạng CO_2 .

– *Giai đoạn bốn* : α -Xetoglutarat lại bị khử cacboxil oxi hoá do phức hệ enzym α -xetoglutarat dehidrogenaz xúc tác. Phản ứng này cũng tương tự sự oxi hoá piruvat ở giai đoạn trên và cần các coenzim như tiamin pirophosphat, lipoat, coenzim A và NAD^+ tham gia. Sản phẩm của phản ứng là đicacboxilat dạng hoạt động, đó là xucxinil coenzim A (có chứa liên kết tio-este giàu năng lượng) và một nguyên tử cacbon bị tách ra ở giai đoạn này là phân tử CO_2 .

– *Giai đoạn năm* : Năng lượng trong liên kết cao năng của xucxinil coenzim A được chuyển thành liên kết cao năng của GTP, nhờ tác dụng của enzym *xucxinat tiokinaz*, cuối cùng năng lượng được chuyển từ GTP cho ADP để tổng hợp nên ATP. Cần chú ý rằng đây là chặng phản ứng duy nhất của chu trình xảy ra sự tích lũy năng lượng trong ATP. Năng lượng đó do sự oxi hoá α -xetoglutarat mang lại.



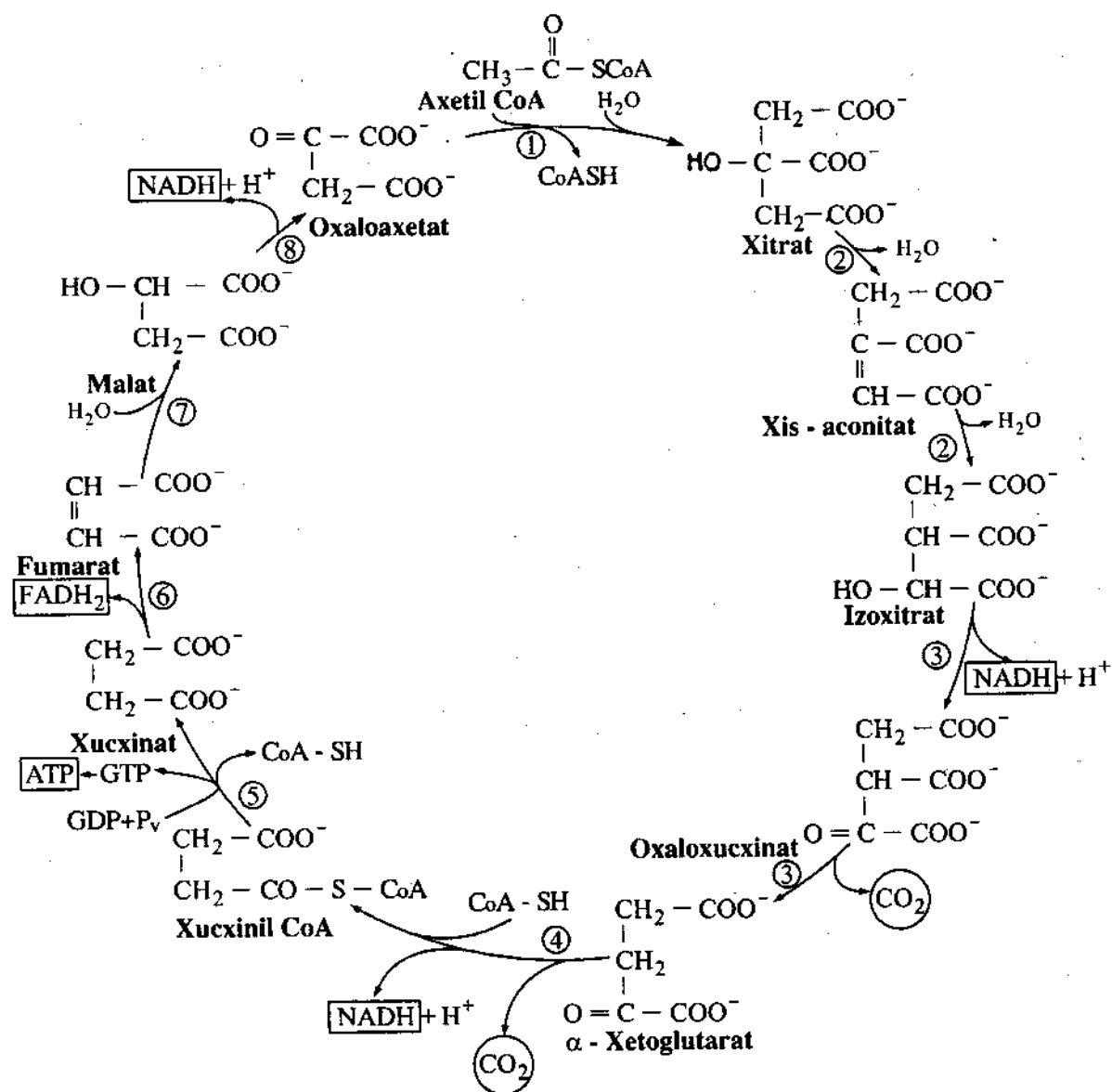
– *Giai đoạn sáu* : Xucxinat bị oxi hoá thành fumarat nhờ tác dụng của *xucxinat-dehidrogenaz*. Enzym này có coenzim là FAD, khi nhận hiđro từ cơ chất sẽ trở thành FADH_2 . Hiđro của FADH_2 được tiếp tục chuyển cho hệ thống vận chuyển điện tử để tạo thành nước và tổng hợp được 2 phân tử ATP.

– *Giai đoạn bảy* : Fumarat được hidrat hoá sẽ tạo thành malat nhờ tác dụng của *fumarat hidrataz*.

– *Giai đoạn tám* : Malat vừa được tạo thành sẽ bị oxi hoá thành oxaloaxetat dưới tác dụng của một enzym oxi hoá khử là *malat dehidrogenaz* có coenzim là NAD^+ . Khi phân tử oxaloaxetat ban đầu tham gia vào chu trình được tái tạo thì chu trình đã khép kín. Đây không phải hoàn toàn là phân tử oxaloaxetat ban đầu, bởi vì trong các phản ứng nó đã nhường 2 nguyên tử cacbon ở dạng CO_2 và được bổ sung bằng 2 nguyên tử cacbon mới từ axetil coenzim A. Phân tử oxaloaxetat mới này lại tiếp tục ngưng tụ với phân tử axetil coenzim A và chu trình được lặp lại.

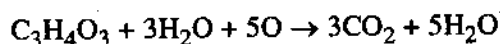
Như vậy, qua một vòng của chu trình, gốc axetil hoạt động đã tạo ra 2 phân tử CO_2 . Từ piruvat thì tạo ra được 3 phân tử CO_2 . Các phân tử CO_2 được tạo thành từ chu trình này có thể

được sử dụng vào các quá trình khác nhau trong cơ thể (sự cacboxil hoá, tổng hợp ure, tổng hợp nucleotit...) (hình 74).



Hình 74 – Chu trình Krebs.

Qua sơ đồ ở hình 73 và 74 ta cũng thấy rằng, khi oxi hoá hoàn toàn 1 phân tử piruvat, có 5 cặp nguyên tử hidro được tách khỏi cơ chất để tạo thành các coenzim khử: $4[\text{NADH} + \text{H}^+]$ và 1 FADH_2 . Trong thành phần phân tử piruvat chỉ chứa 4 nguyên tử hidro, như vậy các nguyên tử hidro còn lại là của phân tử nước trong môi trường tế bào tham gia vào. Phương trình tổng quát của sự oxi hoá piruvat như sau:



Sự tạo thành 5 phân tử H_2O trong phương trình trên là kết quả của sự oxi hoá các coenzim khử nhờ hệ thống vận chuyển điện tử, đồng thời thông qua quá trình này cũng tổng hợp được một số lớn liên kết cao năng.

c) *Tổng kết năng lượng khi oxi hoá hoàn toàn 1 phân tử glucóz.* Năng lượng trong phân tử glucóz chủ yếu được giải phóng ở giai đoạn phân giải hiếu khí. Cứ 1 vòng của chu trình giải phóng được 12 ATP ở các giai đoạn phản ứng (bảng 22).

Bảng 22

TỔNG KẾT NĂNG LƯỢNG CỦA CHU TRÌNH KREBS

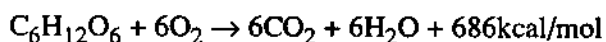
Giai đoạn phản ứng	Coenzim khử tạo thành	ATP tạo thành
Izoxitrat $\rightarrow$ α -xetoglutarat	[NADH + H^+]	3
α -xetoglutarat $\rightarrow$ xucxinil CoA	[NADH + H^+]	3
Xucxinil CoA $\rightarrow$ xucxinat		1
Xucxinat $\rightarrow$ fumarat	$FADH_2$	2
Malat $\rightarrow$ oxaloaxetat	[NADH + H^+]	3
Tổng cộng cả chu trình :		12 ATP

Tuy nhiên, trước khi đi vào chu trình, phân tử glucóz phải trải qua các phản ứng của giai đoạn đường phân và phản ứng khử cacboxil oxi hoá piruvat. Hoá năng của glucóz giải phóng ở các giai đoạn phản ứng được tổng kết như sau :

TỔNG KẾT NĂNG LƯỢNG CỦA SỰ OXI HOÁ HOÀN TOÀN MỘT PHÂN TỬ GLUCOZ

Giai đoạn phản ứng	Coenzim khử tạo thành	ATP tạo thành
Glucóz $\rightarrow$ glucóz 6-phosphat		-1
Fructoz 6-phosphat $\rightarrow$ fructoz 1,6-diphosphat		-1
2. Glixeraldehit 3-phosphat $\rightarrow$ 2.1,3-diphosphoglixerat	2. [NADH + H^+]	+6
2.1,3-Diphosphoglixerat $\rightarrow$ 2.3-phosphoglixerat		+2
2. Phosphoenolpiruvat $\rightarrow$ 2. piruvat		+2
2. Piruvat $\rightarrow$ 2. axetil CoA	2. [NADH + H^+]	+6
2. Izoxitrat $\rightarrow$ 2 α -xetoglutarat	2. [NADH + H^+]	+6
2. α -Xetoglutarat $\rightarrow$ 2-xucxinil CoA	2. [NADH + H^+]	+6
2. Xucxinil CoA $\rightarrow$ 2. xucxinat		+2
2. Xucxinat $\rightarrow$ 2. fumarat	$2FADH_2$	+4
2. Malat $\rightarrow$ 2. oxaloaxetat	2. [NADH + H^+]	+6
Tổng cộng		38ATP

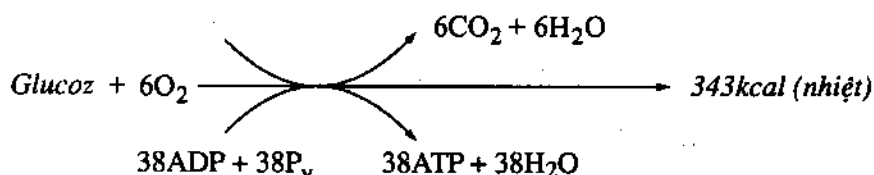
Ta biết rằng khi oxi hoá hoàn toàn 1 phân tử gam glucos sẽ thu được 686 kcal :



Nhưng để tổng hợp ATP từ ADP và P_v cần cung cấp $8 \rightarrow 10$ kcal/mol. Bởi vậy nếu toàn bộ năng lượng phân giải một mol glucos đều được dùng để tổng hợp ATP thì sẽ thu được :

$$686 : 9 \approx 76 \text{ mol ATP}$$

Thực tế chỉ tạo ra 38 mol ATP, chiếm 50% tổng số năng lượng. Như vậy còn 50% (343 kcal) được giải phóng ở dạng nhiệt năng :



d) Ý nghĩa của chu trình Krebbs : Thông qua chu trình này, phân tử glucos bị oxi hoá hoàn toàn đến CO_2 , H_2O và giải phóng toàn bộ năng lượng một phần dưới dạng hoá năng trong ATP và một phần ở dạng nhiệt năng có tác dụng giữ ấm tế bào. Từ ATP có thể tổng hợp nên GTP, XTP, UTP, là nguồn năng lượng cần thiết cho các quá trình sinh tổng hợp các chất khác nhau trong cơ thể.

Chu trình tạo ra nhiều coenzim khử. Các coenzim khử ngoài vai trò tạo thành ATP còn dùng để khử các liên kết kép, các nhóm cacbonil, nhóm imin trong các phản ứng cần thiết cho tế bào. Chu trình là con đường chung cho sự oxi hoá các nhiên liệu khác nhau trong cơ thể như axit amin, axit béo, xacarit. Hầu hết các phân tử nhiên liệu đi vào chu trình ở dạng axetil CoA.

Chu trình còn là nguồn cacbon cho các quá trình tổng hợp khác nhau. Ví dụ axetil coenzim A có thể dùng để tổng hợp các axit béo, steroid, axetoaxetat hoặc axetilcolin. CO_2 dùng để tổng hợp ure, tổng hợp mới UMP và trong các phản ứng cacboxil hoá khác. Một số xetoaxit trong chu trình như α -xetoglutarat và oxaloaxetat thường là nguyên liệu để tổng hợp các axit amin glutamat và aspartat.

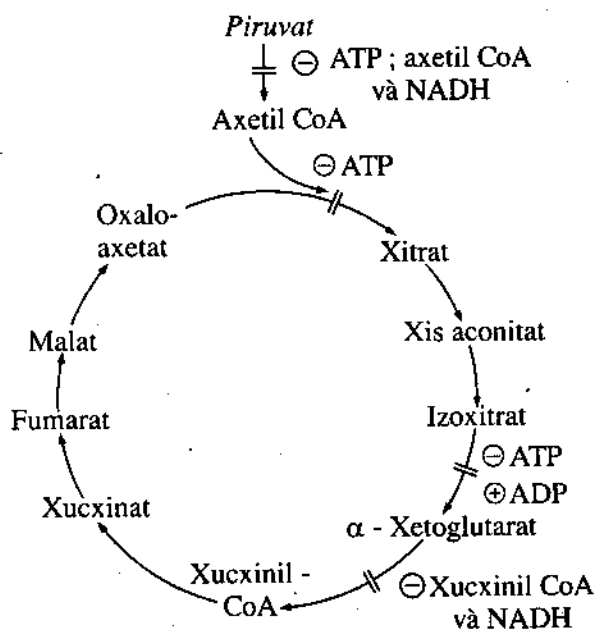
Cũng vì vậy, chu trình là mắt xích liên hợp, là điểm giao lưu của nhiều đường hướng phân giải và tổng hợp các chất khác nhau trong tế bào, đồng thời cũng là đường hướng chính để phân giải các hợp chất hữu cơ.

d) Sự điều hoà chu trình Krebbs :

Có 3 enzym vừa có vai trò xúc tác, vừa có vai trò điều hoà trong chu trình là : xitrat xintaz, izoxitrat dehidrogenaz và α -xetoglutarat dehidrogenaz.

- Xitrat xintaz bị ức chế bởi ATP, nồng độ ATP cao sẽ làm giảm sự tạo thành xitrat.
- Izoxitrat dehidrogenaz bị ức chế bởi nồng độ cao của ATP và NADH ; được hoạt hoá bởi ADP, NAD^+ và Mg^{2+} .
- α -Xetoglutarat dehidrogenaz bị ức chế bởi xuxinil CoA và NADH.

Các enzym điều hoà nói trên đều thuộc loại enzym allosteric. Nhìn chung, sự gia nhập các phân tử 2 cacbon vào chu trình và tốc độ của chu trình bị giảm đi khi tế bào có mức năng lượng ATP cao. Sự điều hoà chu trình Krebs được thể hiện ở sơ đồ dưới đây : (⊖ : chỉ sự ức chế ; ⊕ : hoạt hoá).

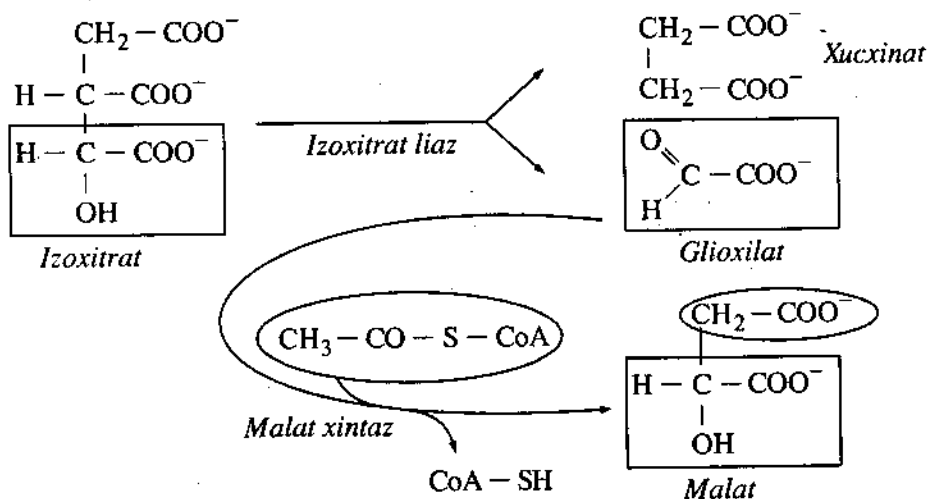


3. Chu trình glloxilat

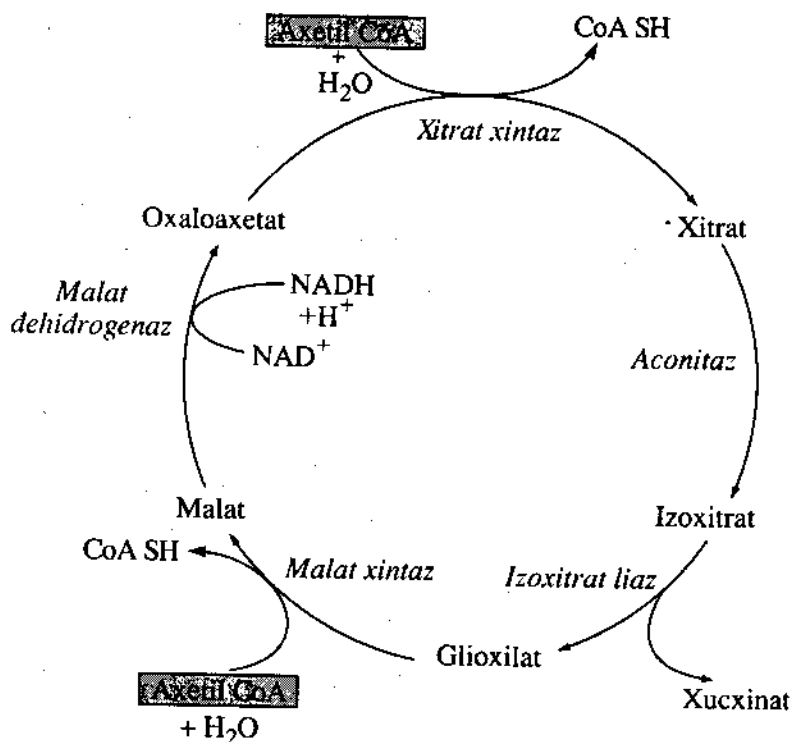
Ở thực vật và một số vi khuẩn có một con đường khác chuyển hoá axetil CoA. Các phản ứng của nó cũng tạo nên một chu trình gọi là chu trình glloxilat.

Một số phản ứng trong chu trình này giống các phản ứng trong chu trình Krebs. Chỉ có 2 phản ứng khác biệt là :

- Từ izoxitrat sẽ tạo thành xucxinat và glloxilat dưới tác dụng của enzym izoxitrat liaz
- Sau đó glloxilat kết hợp với phân tử axetil CoA thứ hai để tạo thành malat dưới tác dụng của enzym malat xintaz :



Các phản ứng khác còn lại của chu trình được thực hiện nhờ các enzym giống như đã trình bày ở chu trình Krebs. Chu trình này có thể tóm tắt trong sơ đồ sau (hình 75) :



Hình 75 – Sơ đồ chu trình glioxilat

Cứ 1 vòng của chu trình chuyển hoá được 2 phân tử axetil CoA. Bởi vậy người ta cho rằng chu trình này có ý nghĩa quan trọng trong sự chuyển hoá các axit béo.

4. Sự oxi hoá trực tiếp glucôz. Chu trình pentoz photphat

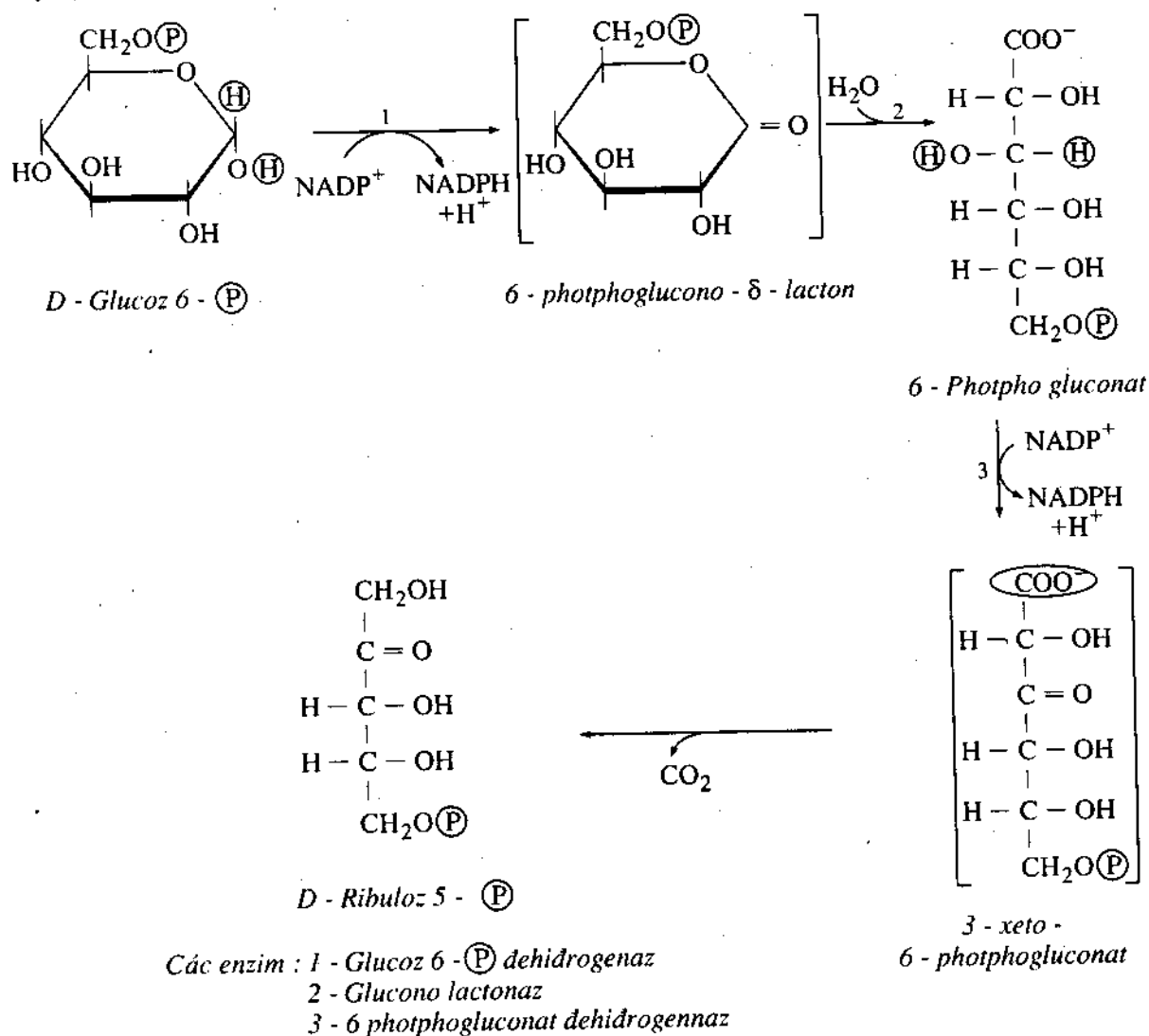
Ở cơ thể sinh vật còn có một kiểu phân giải glucôz thành CO₂ và H₂O nhưng không trải qua quá trình đường phân và chu trình Krebs. Trong quá trình này, các phản ứng cũng tạo thành một chu trình mà các sản phẩm trung gian chủ yếu là các pentoz photphat. Vì vậy người ta gọi đó là chu trình pentoz photphat. Ngoài ra, căn cứ vào chất “cửa ngõ” của chu trình là glucôz 6-photphat, người ta còn gọi chu trình này là chu trình hexoz monophotphat. Đây là quá trình oxi hoá trực tiếp glucôz vì sự oxi hoá xảy ra ở ngay giai đoạn hexoz chứ không phải qua trioz như ở quá trình đường phân. Chu trình này do Đicken, Horecơ (Dickens-Horecker) nghiên cứu và phát hiện.

a) Các phản ứng : Chu trình pentoz photphat bao gồm 2 giai đoạn phản ứng : giai đoạn oxi hoá hexoz photphat và giai đoạn tái tạo hexoz photphat.

– Giai đoạn oxi hoá glucôz 6-Ⓟ

Glucôz 6-Ⓟ là chất đầu tiên gia nhập vào chu trình. Nó bị oxi hoá dưới tác dụng của enzym glucôz 6-Ⓟ dehidrogenaz (có coenzim là NADP⁺), biến thành 6-photphogluconat. Tuy nhiên, giai đoạn này có tạo thành một sản phẩm trung gian là 6-photpho glucono δ-lacton, chất này sau đó bị thuỷ phân tạo thành 6-photphogluconat.

Quá trình oxi hoá lần thứ hai dưới tác dụng của enzym 6-phospho gluconat dehidrogenaz (có coenzim là NADP^+) tạo thành 1 hợp chất trung gian là 3-xeto 6-phospho gluconat, rồi sau đó chất này bị khử cacboxil tạo thành D-ribuloz 5-P (hình 76).



Hình 76 - Sự oxi hoá glucoz 6-P thành ribuloz 5-P

Trong toàn bộ chu trình chỉ xảy ra 2 lượt oxi hoá (phản ứng 1 và 3) như đã nêu trên. Kết quả là từ 1 hexoz photphat qua 1 vòng của chu trình tạo ra 1 pentoz photphat, 1 phân tử CO_2 và 2 ($\text{NADPH} + \text{H}^+$).

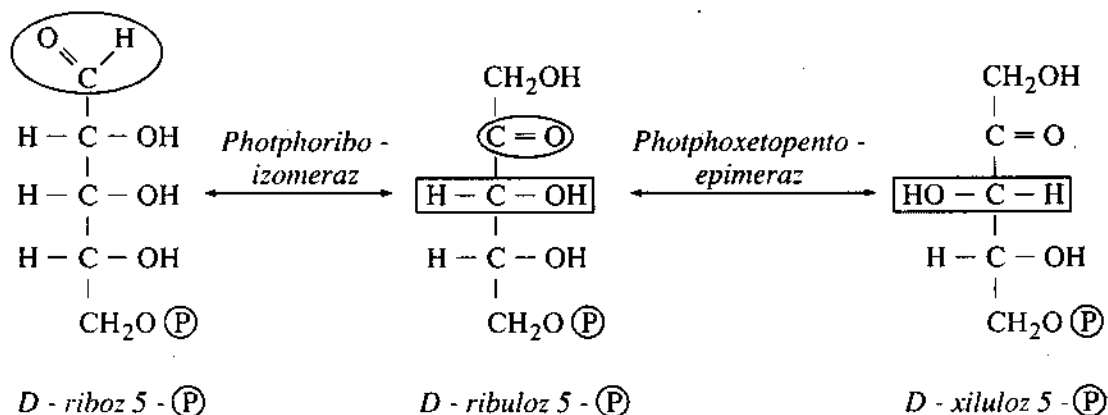
- Giai đoạn tái tạo hexoz photphat

Để sự oxi hoá được tiếp tục, pentoz photphat vừa tạo thành cần trải qua những biến đổi để tái tạo lại hexoz photphat, khép kín chu trình. Những biến đổi này có thể chia thành 2 bước sau :

Bước 1 - Sự đồng phân hoá của ribuloz 5-P

Như trên đã biết, ribuloz 5-P là 1 xetopentoz, nó có thể chuyển thành dạng aldoz là riboz 5-P nhờ tác dụng của photphoribo izomeraz. Mặt khác, ribuloz 5-P có thể biến đổi thành dạng

đồng phân epime (ở vị trí cacbon thứ ba) là xiluloz 5-(P) nhờ tác dụng của enzym *photpho xetopento epimeraz*. Hai phản ứng này có vị trí quan trọng, nó được coi là điểm nối giữa giai đoạn đầu (sự oxi hoá glucôz 6-(P) thành ribuloz 5-(P), và giai đoạn tiếp theo của chu trình.



Hình 77 – Sự đồng phân hoá của ribuloz 5-(P) thành riboz 5-(P) và xiluloz 5-(P).

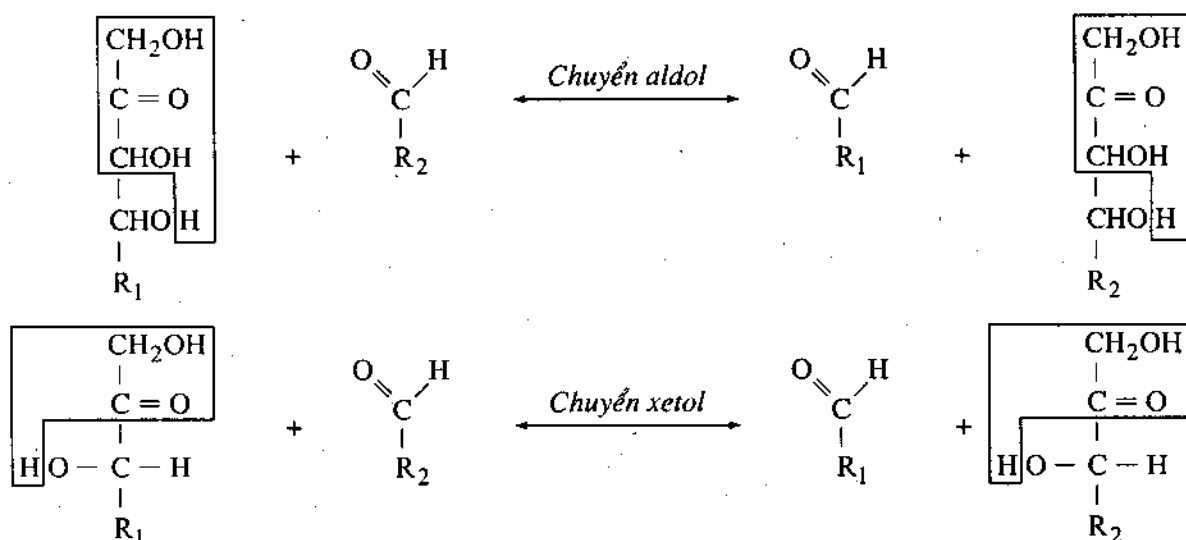
Bước 2 – Sự biến đổi tương hỗ giữa các pentoz-(P) và các hexoz-(P)

Có 2 kiểu phản ứng quan trọng trong giai đoạn này. Đó là sự chuyển aldol hoá và sự chuyển xetol hoá.

Sự chuyển aldol hoá là sự chuyển một nhóm 3 nguyên tử cacbon (dihidroxi axeton) của một xetoz photphat (ví dụ fructoz 6-(P) hoặc xedoheptuloz 7-(P) cho chất nhận là một aldoz-photphat (ví dụ glixeraldehyt 3-(P) hoặc eritroz 4-(P)).

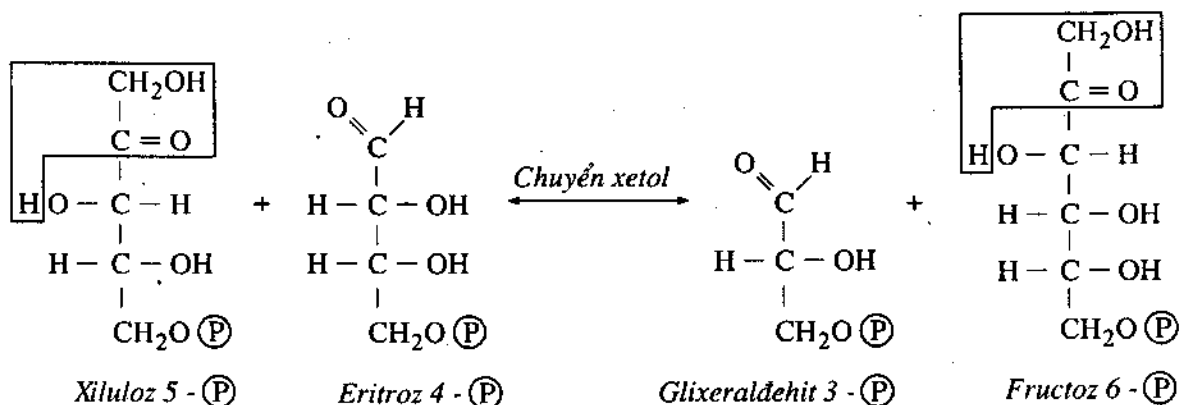
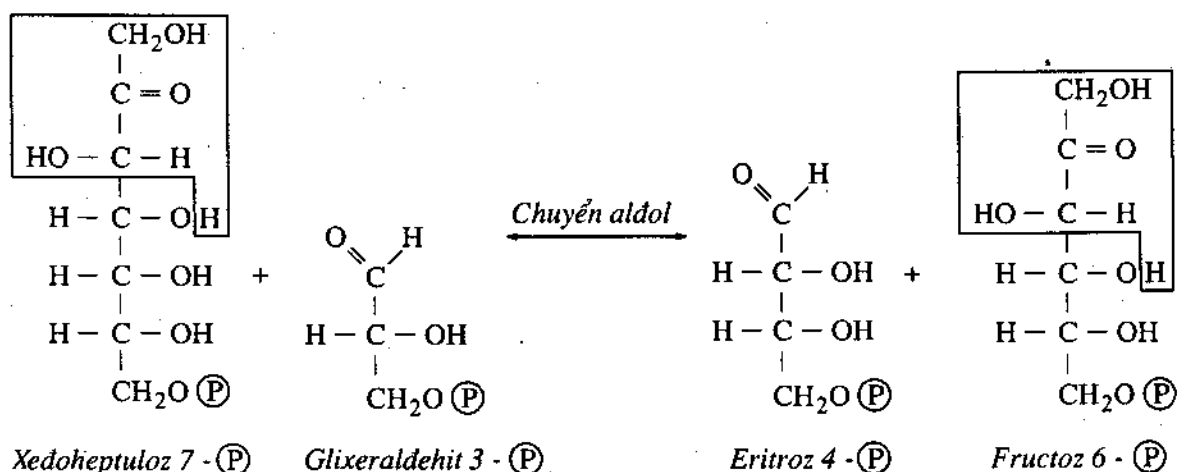
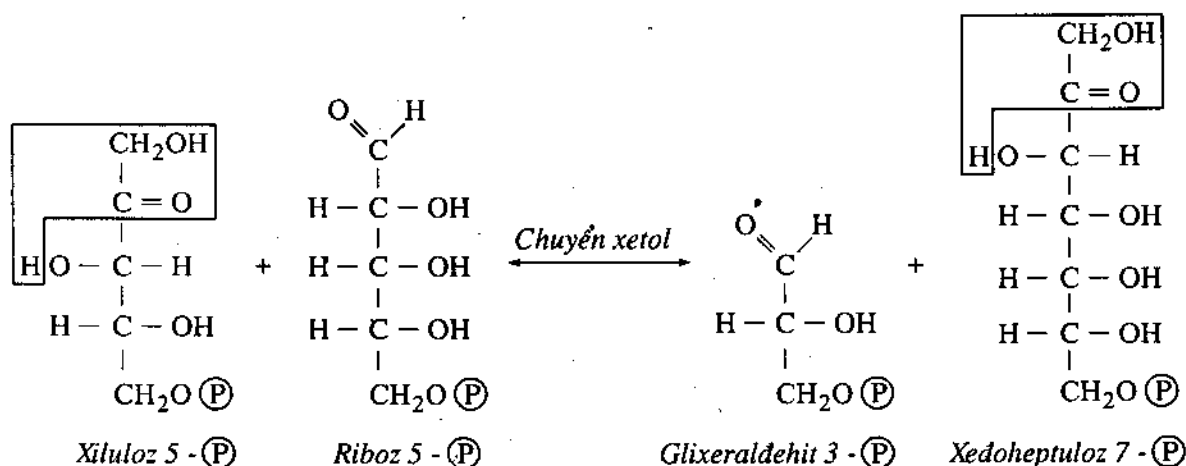
Sự chuyển xetol hoá là sự chuyển một nhóm 2 nguyên tử cacbon (xetol hoặc glicol-aldehyt) của chất cho là xetoz photphat (xiluloz 5-(P); fructoz 6-(P); xedoheptuloz 7-(P) cho chất nhận là một aldoz photphat (glixeraldehyt 3-(P); eritroz 4-(P), riboz 5-(P)).

Dưới đây là nguyên tắc của hai kiểu phản ứng này :

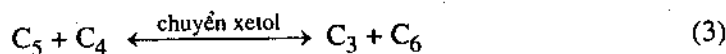
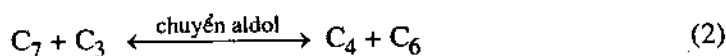
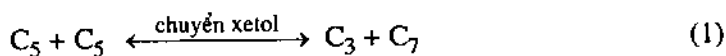


Enzim xúc tác cho kiểu phản ứng này có coenzim là tiamin pirophosphat, nó gắn với nhóm glycol-aldehit tạo thành phức hợp trung gian tương tự như trong quá trình decarboxyl oxy hoá của piruvat.

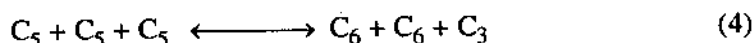
Chu trình pentoz photphat bao gồm 2 phản ứng chuyển xetol, 1 phản ứng chuyển aldol và 1 phản ứng aldol hoá tạo thành fructoz 1,6-diphosphat (xem quá trình đường phân). Các phản ứng tuần tự diễn ra như sau :



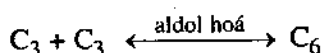
Từ các phương trình phản ứng trên, có thể khái quát hoá quá trình tái tạo hexoz photphat từ các pentoz photphat như sau :



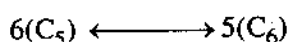
Từ các phương trình (1), (2) và (3) ta có :



mà trong quá trình đường phân ta đã biết :

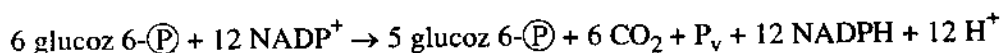


Do đó, phương trình (4) đem nhân với hệ số 2 ta sẽ có :

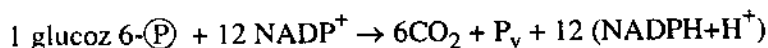


Như vậy, cứ 6 phân tử glucoz 6- P tham gia vào chu trình thì 5 phân tử được tái tạo, 1 phân tử bị oxi hoá hoàn toàn đến CO_2 và tạo thành 12 coenzim khử ($\text{NADPH} + \text{H}^+$). Quá trình oxi hoá glucoz 6- P qua chu trình pentoz photphat được trình bày ở hình 78.

b) *Tổng kết năng lượng.* Ta có thể viết phương trình tổng quát một vòng của chu trình như sau :



Hoặc viết ở dạng đơn giản :



Cứ mỗi phân tử glucoz 6- P bị oxi hoá hoàn toàn trong chu trình tạo ra được 12 phân tử NADPH và 12 H^+ . Nếu hidro được chuyển qua hệ thống vận chuyển điện tử, cho phép tạo thành 36 ATP ($3 \times 12 = 36 \text{ ATP}$). Do cần 1 ATP để photphoril hoá glucoz ban đầu thành glucoz 6- P , nên còn thu được 35 ATP. Đó là số năng lượng tương đương với sự oxi hoá hoàn toàn 1 phân tử glucoz qua sự đường phân và chu trình Krebs (38 ATP). Đồng thời, cũng hơn hẳn mức năng lượng do sự phân giải glucoz trong điều kiện kỵ khí (quá trình đường phân chỉ tạo ra 2 ATP).

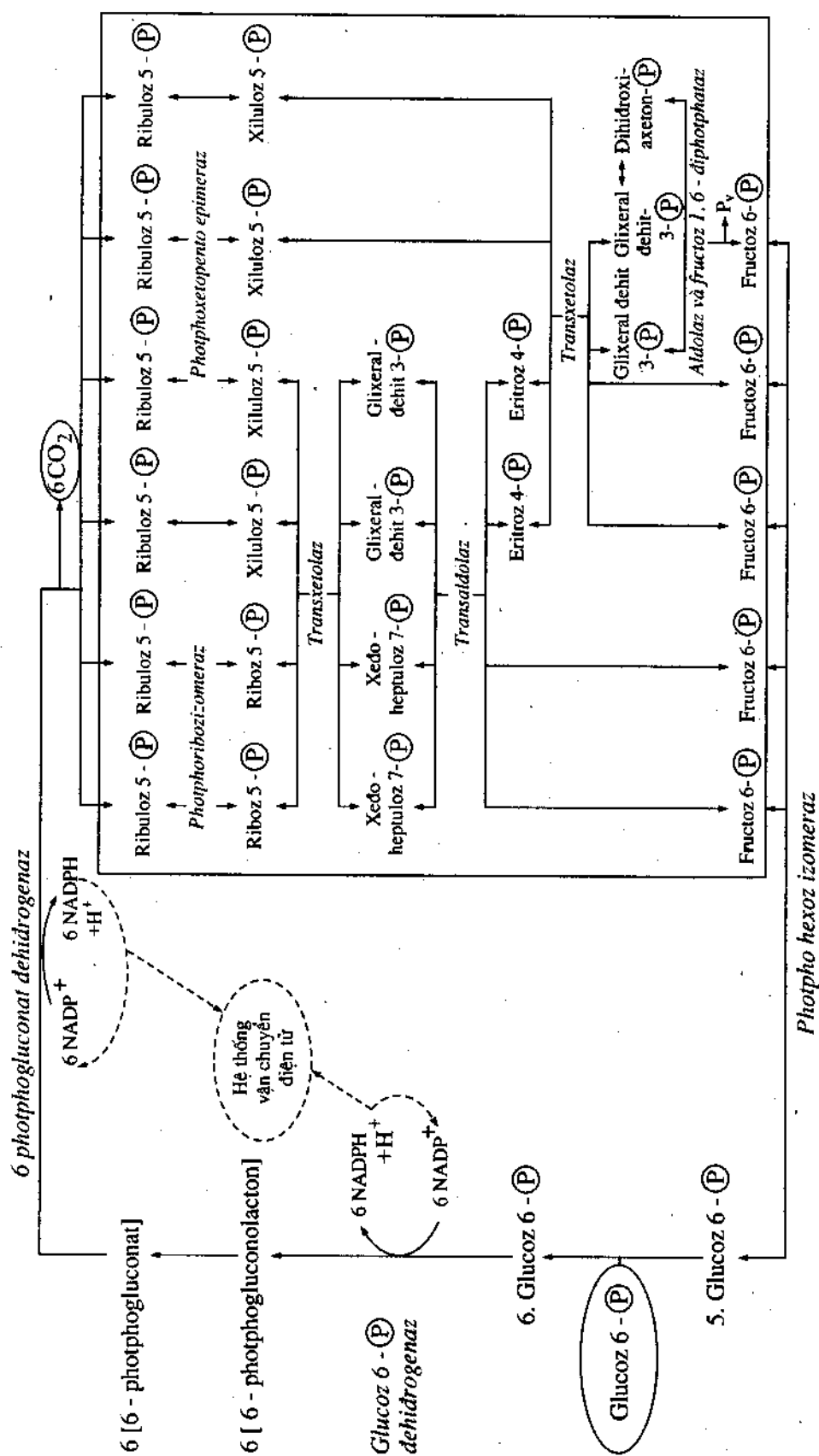
c) Ý nghĩa của chu trình pentoz photphat

– Chu trình cung cấp các pentoz photphat là nguyên liệu cần thiết cho sự sinh tổng hợp nucleotit (có trong thành phần cấu tạo của các coenzim và axit nucleic).

– Cung cấp NADPH cần thiết cho các phản ứng khác nhau, nhất là trong sự tổng hợp axit béo và steroid.

Trong điều kiện các NADPH bị oxi hoá qua chuỗi hô hấp sẽ tạo thành một lượng đáng kể ATP.

– Chu trình cho phép các cơ thể quang hợp tổng hợp được xacarit và các hợp chất hữu cơ khác từ CO_2 .



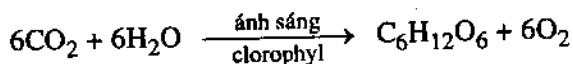
Hình 78 - Sự oxi hoá hoàn toàn 1 phân tử glucoz 6-**P** theo chu trình pentoz photphat.

II - SỰ TỔNG HỢP XACARIT

1. Tổng hợp xacarit đơn giản. Quá trình quang hợp

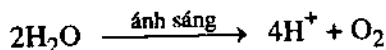
Ở cây xanh và một số vi khuẩn có thể tổng hợp được xacarit đơn giản. Xacarit đơn giản là chất hữu cơ đầu tiên được tổng hợp, từ đó cơ thể sinh vật tổng hợp nên toàn bộ các chất hữu cơ khác. Bởi vậy quá trình tổng hợp xacarit ở cây xanh chính là nguồn vật chất chủ yếu để tạo nên mọi dạng hữu cơ khác trên Trái Đất.

Cây xanh hấp thụ CO_2 của khí quyển, sau đó khử hợp chất này và tổng hợp thành xacarit nhờ năng lượng của ánh sáng mặt trời. Quá trình đó được gọi là sự quang hợp. Phản ứng tổng quát của quá trình quang hợp như sau :



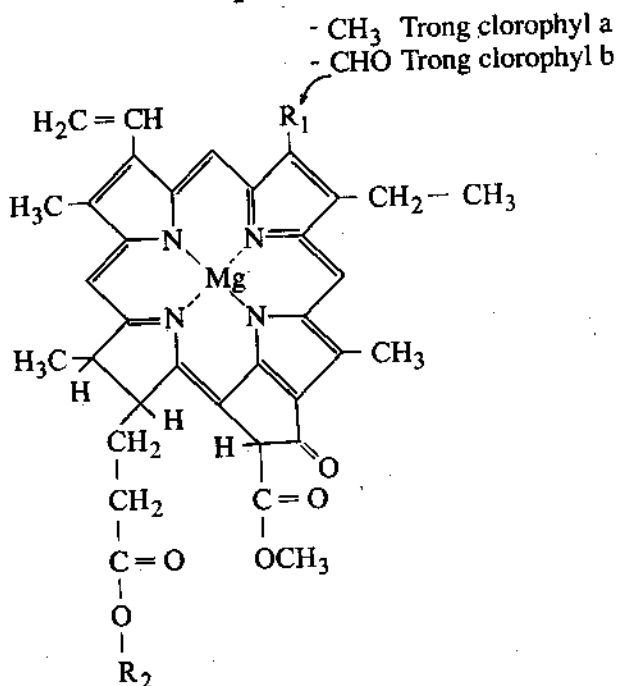
Quá trình quang hợp gồm 2 giai đoạn :

a) *Giai đoạn 1* : Giai đoạn này xảy ra sự quang phân li nước đồng thời giải phóng oxi phân tử. Đây là quá trình phân giải nước dưới tác dụng của ánh sáng, có sự tham gia của clorophyl. Có thể biểu diễn theo sơ đồ sau :

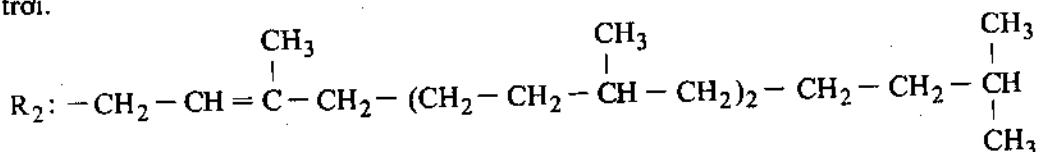


Như ta đã biết, quá trình quang hợp nhất thiết phải có sự tham gia của *clorophyl* có trong *lục lạp* ở tế bào. Bản chất của *clorophyl* là một *pocphyrin magie* (khác với *pocphyrin sắt* có trong *hem*)

Trong phân tử *clorophyl*, bốn nguyên tử nitơ của các vòng *pirol* gắn với nguyên tử magie tạo nên một mạng lưới gồm các liên kết đơn và liên kết đôi xen kẽ, khiến cho *clorophyl* trở thành chất thu nhận quang năng rất hiệu quả. Hai dạng *clorophyl a* và *b* phân biệt nhau ở chỗ có nhóm *metyl* hay nhóm *formyl* gắn với vòng *pirol*. Chúng có phổ hấp thụ ánh sáng khác nhau, vì thế bổ sung cho nhau trong sự hấp thụ ánh sáng mặt trời.

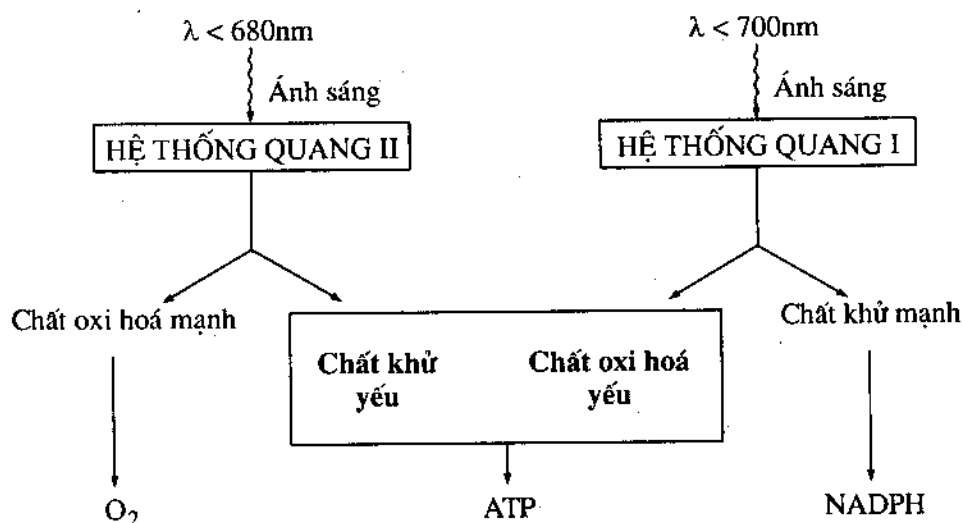


Công thức của clorophyl a và b



Ngoài diệp lục tố (chlorophyl) là sắc tố hấp thụ ánh sáng quan trọng nhất, còn có sự tham gia của các sắc tố phụ khác như sắc tố vàng (xanthophyl) sắc tố đỏ hoặc vàng cam (β -caroten) và phicobilin. Tỷ lệ và số lượng của các sắc tố ở các loài thực vật khác nhau thì khác nhau. Chính vì khả năng hấp thụ ánh sáng có độ dài bước sóng khác nhau và bổ sung lẫn nhau của hệ sắc tố thực vật đã bảo đảm cho thực vật hấp thụ hầu hết phổ ánh sáng nhìn thấy.

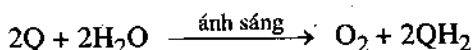
Ở cây xanh, chlorophyl tham gia vào 2 hệ thống quang (hệ thống nhận ánh sáng). Hệ thống quang I hấp thụ ánh sáng có độ dài bước sóng ngắn hơn 700nm và tạo ra chất khử mạnh, dẫn đến tạo thành NADPH. Hệ thống quang II hấp thụ ánh sáng có bước sóng ngắn hơn 680nm và tạo ra chất oxi hoá mạnh, dẫn đến tạo thành O_2 . Thêm vào đó, hệ thống quang I tạo ra chất oxi hoá yếu, còn hệ thống quang II tạo ra chất khử yếu. Vì vậy, dòng điện tử bắt buộc chuyển từ hệ thống quang II sang I, cũng giống như dòng điện tử chuyển trong mỗi hệ thống :



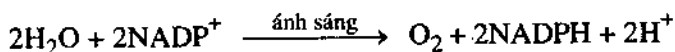
Chính dòng điện tử trong mỗi hệ thống quang và giữa các hệ thống quang đã sinh ra sự chênh lệch proton qua màng, dẫn đến tổng hợp ATP từ ADP và P_v . Như vậy, quang năng được cây xanh hấp thụ và chuyển thành hoá năng trong ATP. Nhận định trên là kết quả nghiên cứu và khám phá của Arnon (1954). Quá trình trên được gọi là sự quang photphoril hoá hay sự photphoril hoá quang hợp, để phân biệt với sự photphoril hoá oxi hoá trong hô hấp. Sự khác nhau cơ bản giữa hai quá trình trên là ở nguồn gốc điện tử có năng lượng cao trong quá trình photphoril hoá oxi hoá là do sự oxi hoá nhiên liệu đem lại, còn trong quá trình quang hợp là do sự kích động chlorophyl nhờ năng lượng ánh sáng.

Cùng với chlorophyl, có sự tham gia của một số hệ thống vận chuyển điện tử khác nhau như feredoxin, quinon, plastoquinon, xitocrom f, xitocrom b_6 v.v..

Ví dụ, trong hệ thống quang II, 2 điện tử từ nước đã được chuyển cho plastoquinon (Q). Phản ứng xúc tác quang phân li nước bởi hệ thống quang II là :

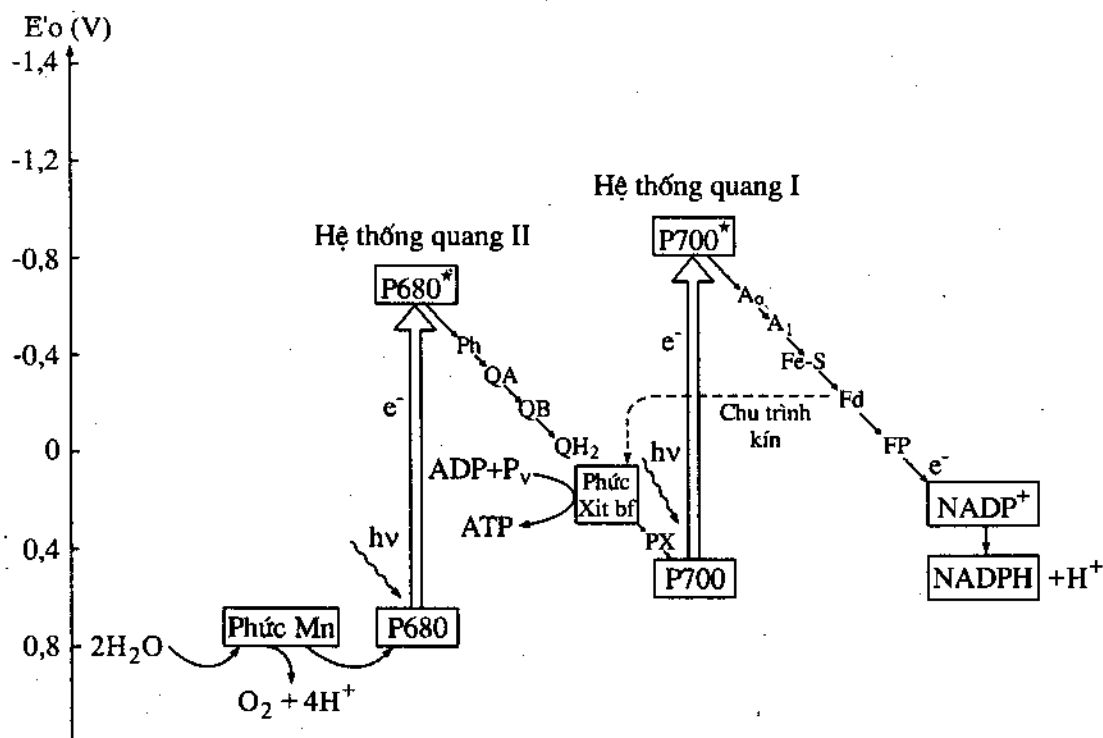


Ở hệ thống quang I, điện tử từ nước chuyển cho feredoxin (Fd) rồi được chuyển cho $NADP^+$ để tạo thành NADPH như sau :



Tuy vậy, đến nay người ta vẫn chưa biết đầy đủ cơ chế của việc tân tạo NADPH và ATP trong quá trình quang phân li nước và quang photphoril hoá.

Theo Acnông (Arnon) thì sự photphoril hoá quang hợp là 2 quá trình khác nhau : *quang photphoril hoá vòng* và *quang photphoril hoá không vòng*. Hình như điện tử bứt ra khỏi chlorophyl a khi được hoạt hoá bởi ánh sáng, nó có thể đi vào 2 con đường khác nhau. Theo con đường quang photphoril hoá vòng sẽ cho phép tổng hợp được ATP. Theo con đường quang photphoril hoá không vòng sẽ tạo thành ATP và NADPH. Tuy nhiên, về vấn đề tái sinh của chlorophyl a còn có nhiều giả thuyết không xác nhận. Dưới đây trình bày một sơ đồ đơn giản về cơ chế vận chuyển điện tử trong quang hợp, mà cho tới hiện nay các quá trình theo sơ đồ này là rất có thể xảy ra (hình 79).



Hình 79 – Sơ đồ vận chuyển điện tử từ H_2O đến $NADP^+$ trong quang hợp.

P680, P700 : Hệ thống quang II và hệ thống quang I. Ph : Pheophytin ; QA, QB : Các plastoquinon ;

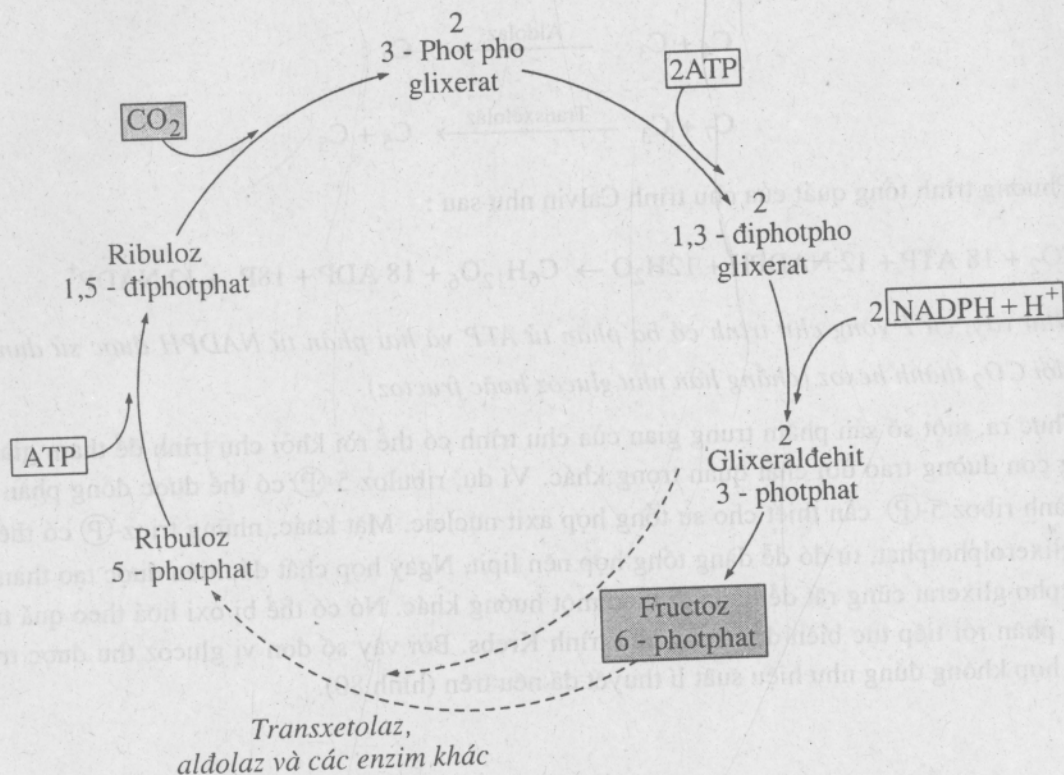
Xit bf : Phức xitocrom bf ; PX : Plastoxianin ; A₀, A₁ : Các chất nhận điện tử từ P700* ;

Fe – S : Protein sắt lưu huỳnh ; Fd : Ferredoxin ; FP : Flavoprotein (Ferredoxin– $NADP^+$ reductaz)

Như vậy, nhờ các *phản ứng quang hoá* (còn gọi là phản ứng sáng), năng lượng của ánh sáng được sử dụng để tổng hợp nên ATP và NADPH. Các sản phẩm này lại được sử dụng để khử CO_2 trong giai đoạn tổng hợp xacarit. Tuy sự đồng hoá CO_2 tiến hành không cần ánh sáng, nhưng nhất thiết phải được các phản ứng sáng cung cấp nguồn năng lượng ATP và nguồn nguyên liệu khử NADPH cần cho quá trình tổng hợp.

h) Giai đoạn 2 : Sự khử CO_2 để tạo nên xacarit bao gồm một loạt phản ứng trung gian phức tạp. M. Calvin và cộng sự, từ những năm 50 của thế kỉ XX đã nghiên cứu quá trình khử CO_2 và đưa ra sơ đồ phản ứng dạng chu trình gọi là chu trình quang hợp hoặc chu trình Calvin như sau :

Như vậy, qua một loạt phản ứng vừa nêu, nhờ sự tham gia của ATP, NADPH và các enzym, phân tử CO_2 đã bị khử để tạo thành monoxacarit đầu tiên. Các phản ứng tiếp theo còn lại của chu trình chỉ là những biến đổi để tái tạo phân tử ribuloz 1,5-diphosphat, đồng thời khép kín chu trình.



Chu trình Calvin

(Sự tạo thành ribuloz 5-phosphat từ các phân tử đường ba cacbon và đường 6 cacbon được biểu thị rút gọn bằng đường chấm).

Giai đoạn đó diễn ra như sau :

Fructoz 6-(P) tác dụng với glixeralđêhit 3-(P) tạo nên 2 đường chứa 5 cacbon và 4 cacbon là xiluloz 5-(P) và eritroz 4-(P).

Tiếp theo có sự tạo thành đường 7 cacbon là xedoheptuloz 1,7-di (P) do sự kết hợp giữa eritroz 4-(P) và dihidroxi axeton-(P).

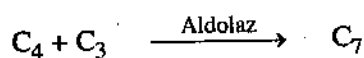
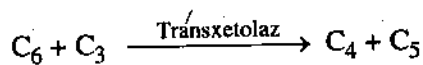
Xedoheptuloz 1,7-di (P) loại đi 1 gốc photphat để trở thành xedoheptuloz 7-(P).

Chất trên sẽ kết hợp với glixralđêhit 3-(P) để tạo ra 2 phân tử đường pentoz photphat, đó là xiluloz 5-(P) và riboz 5-(P).

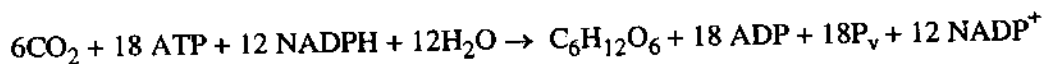
Từ xiluloz 5-(P) và riboz 5-(P) nhờ các enzym đồng phân sẽ chuyển thành ribuloz 5-(P)

Ở bước cuối cùng, ribuloz 5-(P) gắn thêm 1 gốc photphat thứ hai của ATP nhường cho để tạo thành ribuloz 1,5-di (P). Đó là chất giữ vai trò gắn CO₂ trong quang hợp và như vậy chu trình sẽ được lặp lại từ đầu.

Giai đoạn này có sự tham gia của transxetolaz và aldolaz, có thể viết dưới dạng gọn như sau :



Phương trình tổng quát của chu trình Calvin như sau :



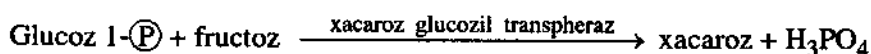
Như vậy, cứ 1 vòng chu trình có ba phân tử ATP và hai phân tử NADPH được sử dụng để biến đổi CO₂ thành hexoz (chẳng hạn như glucoz hoặc fructoz).

Thực ra, một số sản phẩm trung gian của chu trình có thể rời khỏi chu trình để tham gia vào những con đường trao đổi chất quan trọng khác. Ví dụ, ribuloz 5-(P) có thể được đồng phân hoá tạo thành riboz 5-(P) cần thiết cho sự tổng hợp axit nucleic. Mặt khác, những trioz-(P) có thể tạo ra α-glixerolphotphat, từ đó dễ dàng tổng hợp nên lipid. Ngay hợp chất đầu tiên được tạo thành là 3-phospho glixerat cũng rất dễ dàng đi theo một hướng khác. Nó có thể bị oxi hoá theo quá trình đường phân rồi tiếp tục biến đổi trong chu trình Krebs. Bởi vậy số đơn vị glucoz thu được trong quang hợp không đúng như hiệu suất lí thuyết đã nêu trên (hình 80).

Cần chú ý rằng quá trình quang hợp có một tác dụng nhất định đối với chiều hướng các phản ứng trong quá trình đường phân và chu trình pentoz photphat. Ở ngoài sáng, nhờ có các sản phẩm ATP và NADPH có nồng độ cao, chu trình quang hợp hoạt động sẽ khử CO_2 thành hexoz photphat. Chu trình đó như đã biết, sử dụng một chuỗi các phản ứng chuyển hoá nhưng theo chiều ngược lại của chu trình pentoz photphat cũng như theo chiều ngược lại ở một số phản ứng của quá trình đường phân. Trong tối, nồng độ ATP và NADPH bị giảm xuống (vì không có quang năng để thực hiện tổng hợp bù lại cho sự tiêu hao nó trong các phản ứng trao đổi chất cần năng lượng) đến mức tế bào thực vật phải phân giải glucôz thành CO_2 giống ở tế bào động vật. Nghĩa là lúc đó quá trình đường phân, chu trình Krebs hay chu trình pentoz photphat lại hoạt động. Bởi vậy, ở trong tối, cây xanh xảy ra các quá trình ngược lại với các quá trình ngoài ánh sáng. Khi đó cây xanh cũng hô hấp như động vật, nghĩa là cũng hút oxi và nhả khí cacbonic.

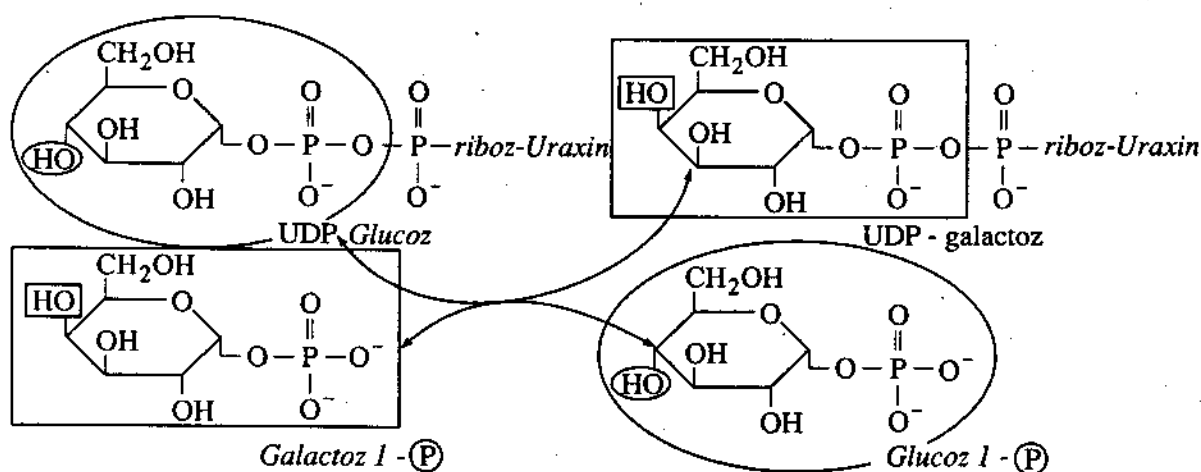
2. Tổng hợp oligoxacarit

Sự sinh tổng hợp các oligoxacarit được thực hiện nhờ phản ứng chuyển gốc glucôzyl dưới tác dụng của *glucôzyl transpherez*. Ví dụ sự tổng hợp xacaroz tiến hành bằng con đường chuyển gốc glucôz từ glucôz 1-(P) tới phân tử fructôz và giải phóng axit photphoric :



Ngoài ra, dạng dẫn xuất uridin diphospho-glucôz cũng dễ dàng chuyển glucôz cho fructôz để tạo thành xacaroz : uridin diphospho-glucôz + fructôz $\rightarrow$ uridin diphosphat + xacaroz

Uridin diphospho-glucôz, là 1 dẫn xuất nucleotit của đường. Nó rất hoạt động, trong phân tử có chứa liên kết cao năng tương tự như trong phân tử ATP. Nó là chất cho gốc glucôzyl và đóng vai trò quan trọng trong sự tổng hợp các oligoxacarit cũng như các polixacarit. Sự chuyển galactôz 1-(P) thành glucôz 1-(P) cũng được thực hiện nhờ UDP-glucôz qua cơ chế sau:



3. Tổng hợp polixacarit

Sự tạo thành polixacarit xảy ra theo con đường chuyển gốc glucôzyl. Ví dụ sự tổng hợp amilôz hoặc các glucan chứa liên kết 1, 4 có thể thực hiện nhờ sự chuyển gốc glucôz từ glucôz 1-(P) hoặc từ uridin diphospho-glucôz dưới tác dụng của các *transglucôzidaz*. Cách thứ hai được trình bày trong sơ đồ sau :

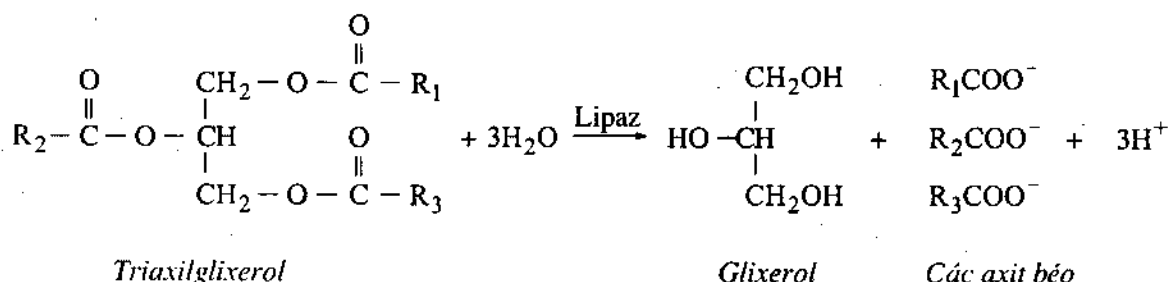
Trao đổi lipid

I - SỰ PHÂN GIẢI LIPIT

Sự phân giải lipid ở giai đoạn đầu là thủy phân các liên kết este giải phóng ra các hợp phần. Sau đó, chúng có thể bị oxi hoá đến các sản phẩm cuối cùng là CO_2 , H_2O và giải phóng năng lượng hoặc tham gia vào quá trình tổng hợp nên các chất khác trong cơ thể.

1. Sự thủy phân lipid đơn giản

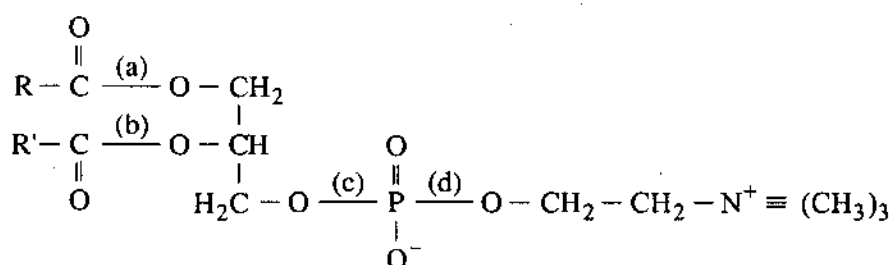
Diễn hình cho lipid đơn giản là triaxilglixerol. Chúng dễ dàng bị thủy phân do tác động của lipaz tạo thành glixerol và axit béo.



Lipaz rất phổ biến trong cơ thể động vật và thực vật. Ở hạt cây có dầu giai đoạn nảy mầm hàm lượng lipaz tăng cao. Ở động vật, phản ứng trên xảy ra nhanh chóng hơn nhờ muối axit mật (axit colic) làm tăng quá trình nhũ tương hoá lipid khiến cho lipaz dễ dàng thủy phân.

2. Sự thủy phân lipid phức tạp

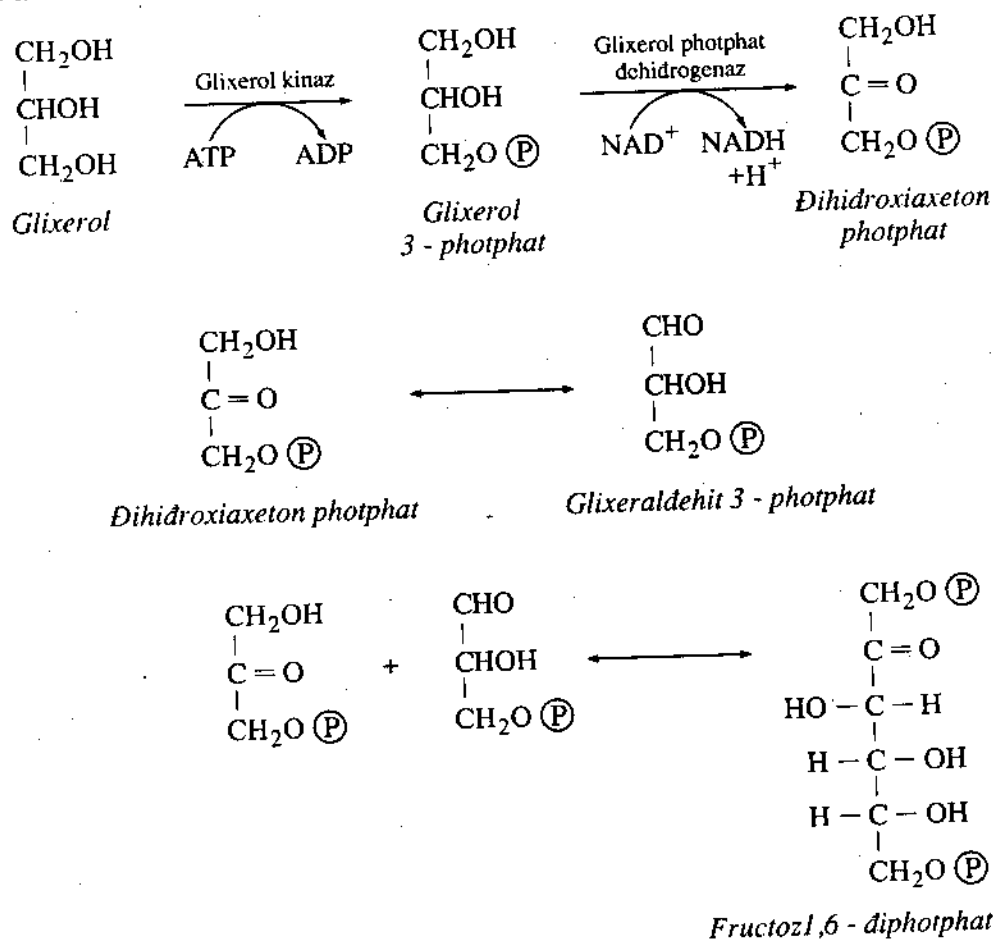
Một đại diện của lipid phức tạp là photphatit. Có tới 5 enzym tham gia thủy phân các liên kết trong photphatit. Các chữ cái a, b, c, d dùng để chỉ các liên kết trong phân tử. Người ta đã xác định được vị trí liên kết do các enzym tác động (xem phần lipid phức tạp) :



Ở động vật, albumin huyết thanh tham gia trong việc vận chuyển axit béo vào tế bào. Cũng có thể một lượng nhỏ triaxilglixerol được đưa vào tế bào, nhưng dưới tác động của lipoprotein-lipaz trong huyết tương hay trong mô mỡ, nó cũng sẽ phân giải tạo thành glixerol và axit béo.

3. Sự phân giải glixerol

Glixerol được biến thành glixerol 3-phosphat nhờ sự xúc tác của enzym *glixerol kinaz*. Sau đó nó bị oxi hoá thành glixeralđêhit 3-phosphat. Sự chuyển hoá tiếp theo của chất này có thể xảy ra theo 2 chiều hướng: tiếp tục bị oxi hoá trong phản ứng đường phân và chu trình Krebs để biến hoàn toàn thành CO_2 , H_2O và năng lượng, hoặc bằng các phản ứng ngược với sự đường phân để tổng hợp nên xacarit:



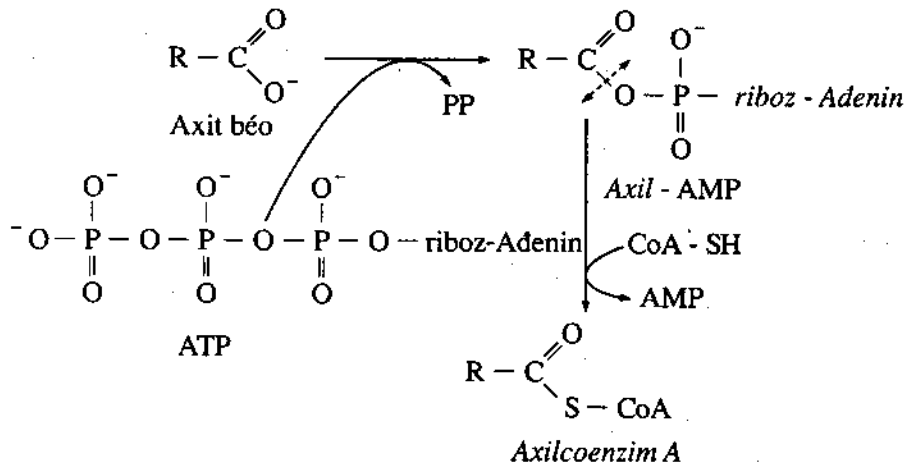
4. Sự oxi hoá axit béo

Trong cơ thể sống quá trình này chủ yếu được thực hiện theo kiểu β -oxi hoá. Gọi như vậy bởi vì sự oxi hoá xảy ra ở nguyên tử cacbon β so với nhóm cacboxil. Quá trình bao gồm giai đoạn hoạt hoá và oxi hoá.

a) *Hoạt hoá axit béo*: Trước tiên, axit béo cần được hoạt hoá thành dạng dẫn xuất của coenzim A. Sự hoạt hoá này cần năng lượng của ATP và bao gồm 2 giai đoạn. Giai đoạn đầu tạo

thành axil-AMP là một anhidrit hỗn tạp đồng thời giải phóng pirophosphat phản ứng này tương tự sự hoạt hoá axit amin trong sinh tổng hợp protein. Giai đoạn hai với sự tham gia của coenzim A (CoA.SH) sẽ tạo ra một tio-este, đó là axil coenzim A đồng thời giải phóng AMP:

Các axit béo đã hoạt hoá sẽ được chuyển từ tế bào chất vào ti thể (nơi diễn ra sự oxy hoá axil-CoA) nhờ chất mang nhóm axil là carnitin.



b) Các phản ứng của sự β -oxy hoá : Axil coenzim A bị oxy hoá nhờ một số phản ứng liên tục. Quá trình bao gồm 4 phản ứng tuần tự như sau :

- Quá trình khử hydro do tác dụng của một axil CoA dehydrogenaz có coenzim FAD tạo nên một liên kết đôi α - β , có cấu hình "trans" : dehydroaxil CoA.

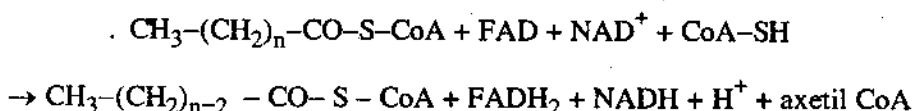
- Sự hydrat hoá liên kết đôi để tạo thành một dẫn xuất β -hidroxil có cấu hình L- β -hidroxiaxil CoA. Quá trình này được xúc tác bởi enzym enoil CoA hydrataz.

- Sự khử hydro nhờ L- β -hidroxiaxil CoA dehydrogenaz có coenzim NAD^+ sẽ tạo thành dẫn xuất β -xetonic : L- β -xetoaxil CoA.

- Do sự tham gia của một phân tử coenzim A khác sẽ tách ra hai cacbon ở dạng axetil CoA. Quá trình này được xúc tác bởi enzym β -xetotiolaz, đồng thời tạo ra một axil CoA mới có số nguyên tử cacbon ít hơn 2 so với axil CoA lúc đầu.

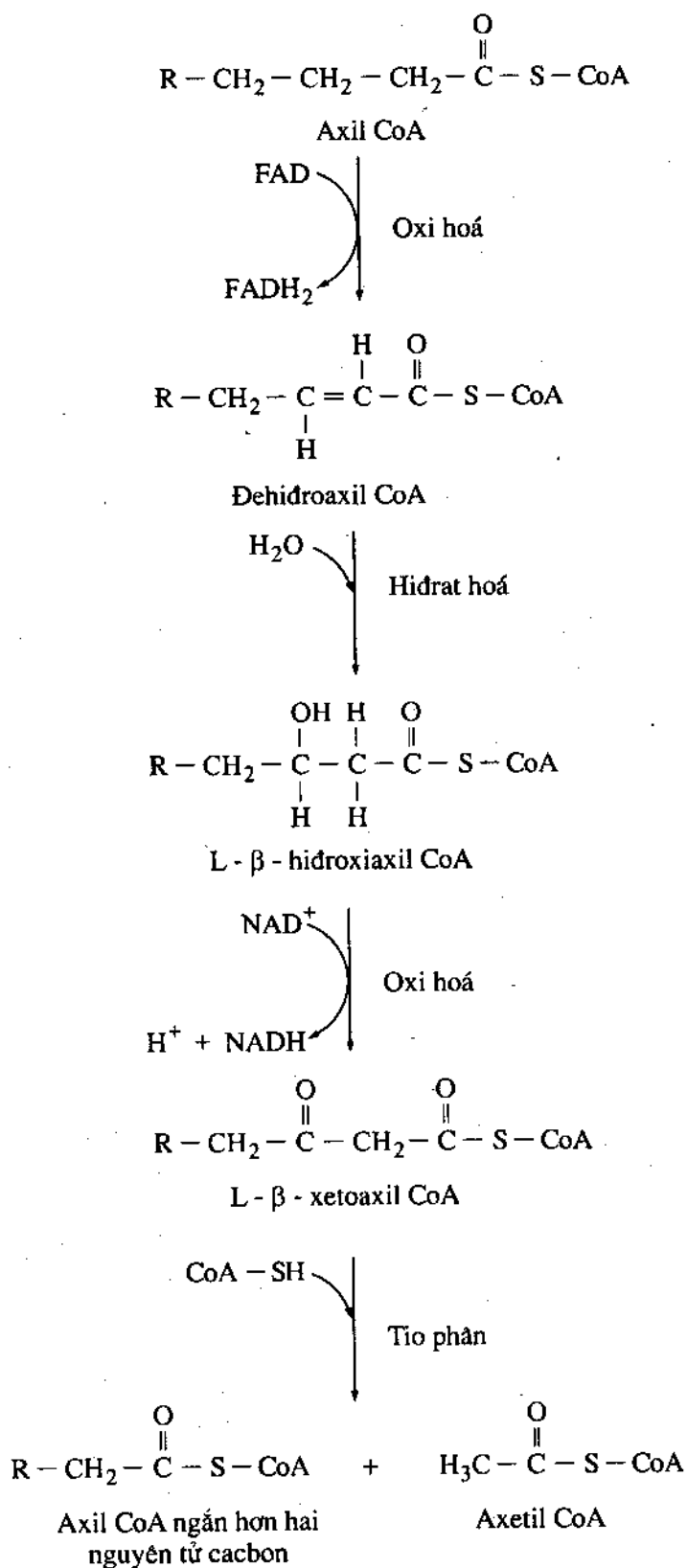
Bốn phản ứng của quá trình β -oxy hoá được trình bày ở dạng sơ đồ trong hình 82 :

Hoặc có thể viết ở dạng phương trình tổng quát sau :



Sau đó axil CoA vừa mới hình thành lại trải qua 4 phản ứng trên tạo ra một axetil CoA và một axil CoA kém hơn 4 nguyên tử cacbon so với axit béo lúc đầu.

Quá trình trên cứ lặp đi lặp lại cho tới khi phân cắt xong hoàn toàn mạch cacbon của axit béo. Sự β -oxy hoá axit béo được Linen (Lynen) trình bày dưới dạng vòng xoắn ốc, mỗi vòng xoắn sẽ tách ra một axit 2 cacbon là axetil CoA và 4 nguyên tử hydro, còn mạch cacbon của axil CoA cứ mỗi vòng xoắn lại rút ngắn đi một đoạn chứa 2 cacbon.

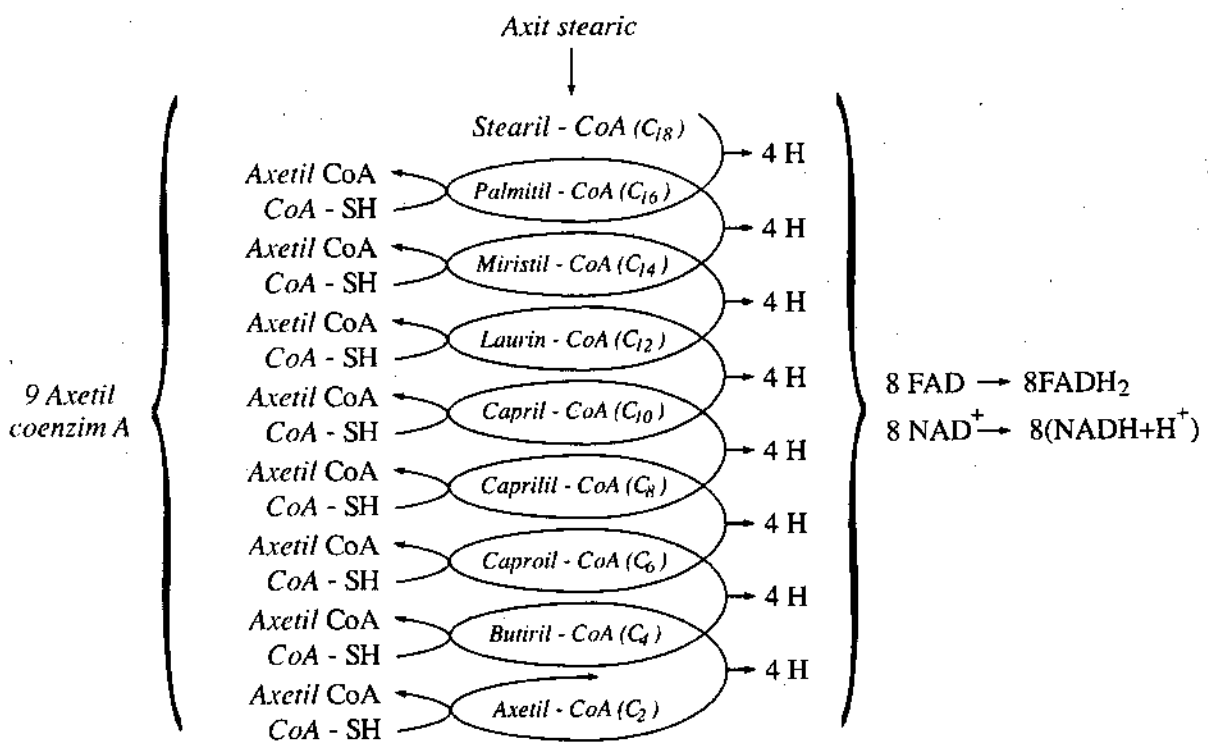


Hình 82 – Sơ đồ của sự β-oxi hoá axit béo

Đối với axit béo có số cacbon chẵn qua quá trình β -oxi hoá sẽ bị phân cắt hoàn toàn thành axetil CoA. Với axit béo có số cacbon lẻ, ngoài các phân tử axetil CoA, còn tạo ra một phân tử propionil CoA.

Quá trình β -oxi hoá xảy ra bên trong ti thể. Các phân tử axetil CoA được tạo thành sẽ được sử dụng trong các quá trình đồng hoá như : sinh tổng hợp axit béo và các dẫn xuất của lipid, là nguồn để tạo các chất xeton hoặc bị oxi hoá hoàn toàn qua chu trình Krebs.

Bên cạnh quá trình β -oxi hoá còn có con đường thứ hai là sự β -oxi hoá peroxisom xảy ra trong những peroxisom. Các phản ứng này cũng giống với sự β -oxi hoá trong ti thể, chỉ khác ở enzym trong giai đoạn đầu. Để tạo ra liên kết đôi, 2 nguyên tử hidro của axil CoA được chuyển thẳng cho xitocrom a_3 tạo thành H_2O_2 . Đây là quá trình phân giải axit béo rất quan trọng đối với thực vật. Ở động vật, hệ thống này cũng thấy có trong một số mô như gan, thận.



Hình 83 – Sự β -oxi hoá axit stearic theo Linen (Feodor Lynen).

c) Tổng kết năng lượng của sự β -oxi hoá axit béo. Quá trình β -oxi hoá tạo ra FADH₂ và NADH. Chúng bị oxi hoá lại nhờ hệ thống vận chuyển điện tử, sẽ tạo ra tương ứng với 2 và 3 phân tử ATP. Tổng cộng thu được 5 ATP đối với 1 vòng xoắn (hay là cho sự tách 2 cacbon ra khỏi phân tử axit béo). Axetil CoA sau đó bị oxi hoá bởi chu trình Krebs sẽ tạo ra 12 ATP. Như vậy sự oxi hoá hoàn toàn một cặp 2 cacbon cho ta 17 ATP. Với axit stearic có 18 nguyên tử cacbon, khi oxi hoá hoàn toàn sẽ cho phép tạo thành : $(5 \times 8) + (12 \times 9)$ tổng cộng là 148 ATP, trừ đi 1 ATP dùng để hoạt hoá axit béo lúc đầu còn thu được 147 ATP. Từ cách tính trên, có thể

tính năng lượng giải phóng khi oxi hoá hoàn toàn 1 phân tử axit béo có số nguyên tử cacbon chẵn theo công thức sau :

$$A = 5\left(\frac{n}{2} - 1\right) + 12\frac{n}{2} - 1$$

A : số năng lượng tính bằng ATP

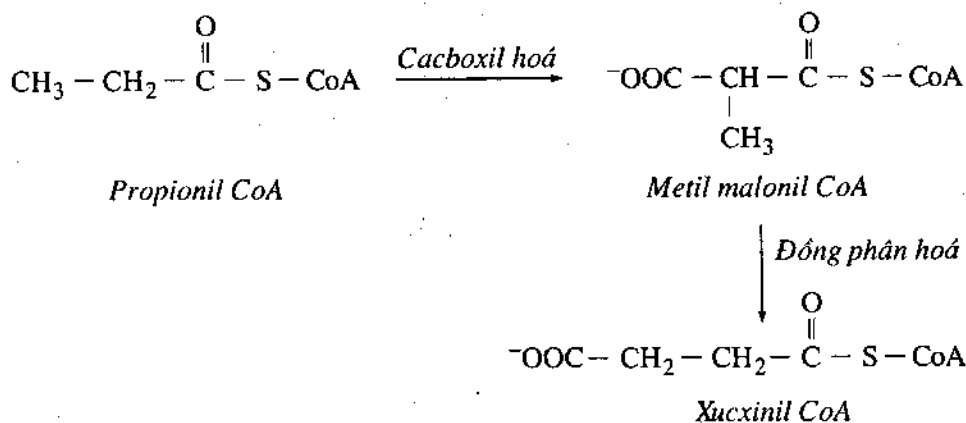
n : số nguyên tử cacbon.

Hiệu suất năng lượng tính trên nguyên tử cacbon trong quá trình oxi hoá axit béo là cao : 8ATP (147:18) còn trong quá trình oxi hoá glucôz chỉ cho 6 ATP (38:6).

Khi phân giải 1 phân tử triaxilglixerol sẽ cung cấp cho tế bào một số năng lượng rất lớn. Như vậy cùng với xacarit, lipid là nguồn năng lượng to lớn của cơ thể.

d) Sự oxi hoá axit béo có số cacbon lẻ

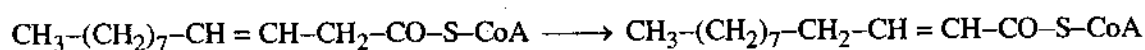
Đối với axit béo có số cacbon lẻ cũng xảy ra quá trình β -oxi hoá bình thường. Tuy nhiên, trước giai đoạn cuối cùng axil CoA còn 5 nguyên tử cacbon. Đến giai đoạn cuối, qua 1 lần tách sẽ tạo ra axetil CoA và propionil CoA. Chất sau được cacboxil hoá nhờ enzym propionil CoA cacboxilaz đồng thời có sự tham gia của biotin và ATP sẽ tạo ra metil malonil CoA. Nhờ sự xúc tác của một enzym đồng phân là metil malonil CoA mutaz (có coenzim dạng cobamit, dẫn xuất của vitamin B₁₂) sẽ tạo ra xuxinil CoA là một sản phẩm trung gian trong chu trình Krebs.



d) Sự oxi hoá axit béo không no

Axit oleic là axit béo không no rất phổ biến trong lipid, nó được hoạt hoá thành oleil CoA. Sau đó oleil CoA : $\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_7 - \text{CH} = \text{CH} - (\text{CH}_2)_7 - \text{CO} - \text{S} - \text{CoA}$ trải qua 3 vòng xoắn của quá trình β -oxi hoá, tạo nên 3 phân tử axetil CoA và 1 phân tử axil CoA chứa 1 liên kết đôi giữa vị trí β - γ do đó nó có cấu hình "Cis".

Nhờ một phản ứng đồng phân hoá, liên kết đôi chuyển sang vị trí α - β , nên có cấu hình "trans".



Khi đó sự β -oxi hoá lại tiến hành bình thường. Sơ đồ này của quá trình phân giải đúng cho tất cả các axit béo không no dù cho liên kết đôi nằm ở vị trí nào.

e) Sự oxi hoá axit béo mạch nhánh

Lấy ví dụ axit α metil butiril coenzim A bắt nguồn từ izoloxin (do kết quả của phản ứng khử amin hoặc chuyển amin) tiếp đó bị khử cacboxil oxi hoá.

Như trên hình 84 cho thấy, nhóm metil không ngăn cản các phản ứng bình thường của quá trình β -oxi hoá. Người ta vẫn thấy có sự tạo thành đầy đủ các dẫn xuất α - β không bão hoà, d- α -xuat β -hidroxi và dẫn xuất β -xeton. Giai đoạn cuối cùng được xúc tác bởi tiolaz.

Axetil CoA ở đây có thể được sử dụng để tổng hợp các lipid khác, tổng hợp các chất xeton, hoặc đi vào các phản ứng trong chu trình Krebs.

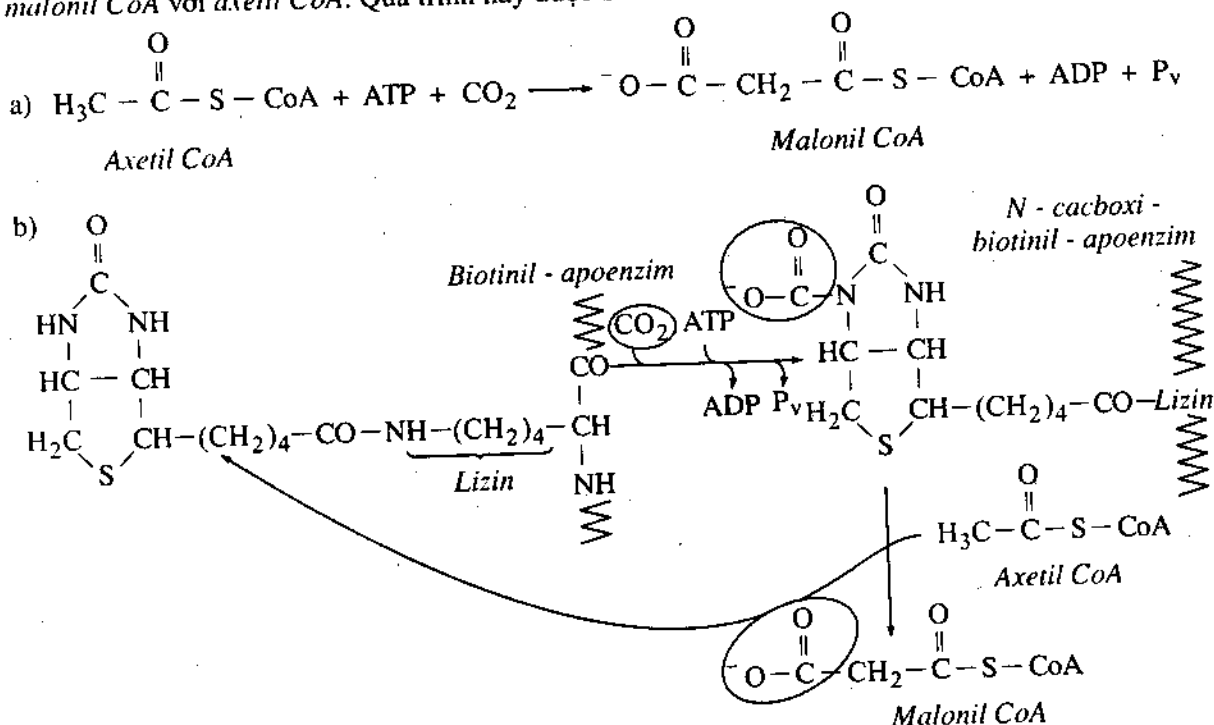
Propionil CoA sẽ biến thành xuxinil CoA là một hợp chất trung gian trong chu trình Krebs. Chất này lại chuyển hoá thành oxaloaxetat, từ đó có thể biến đổi tạo ra photphoenolpiruvat rồi tạo thành glucoz nhờ những phản ứng của quá trình tổng hợp mới glucoz. Điều này giải thích khả năng tạo thành glucoz từ axit amin izoloxin.

II - SINH TỔNG HỢP LIPIT

A- SINH TỔNG HỢP AXIT BÉO

1. Sự tổng hợp axit béo no

Nhìn chung, sự tổng hợp axit béo không phải là những phản ứng nghịch của quá trình phân giải. Quá trình phân giải xảy ra trong *ti thể*, còn sự tổng hợp lại xảy ra trong *chất tế bào* và *vi thể*. Con đường sinh tổng hợp axit béo được bắt đầu bằng sự ngưng tụ của một axit chứa ba cacbon là *malonil CoA* với *axetil CoA*. Quá trình này được S.Wakil tìm ra.



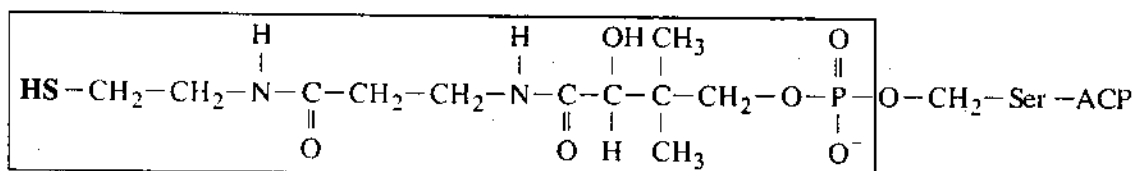
Hình 85 - Sự tạo thành malonil CoA từ axetil CoA và CO_2 .

(a - phương trình tổng quát ; b - cơ chế phản ứng)

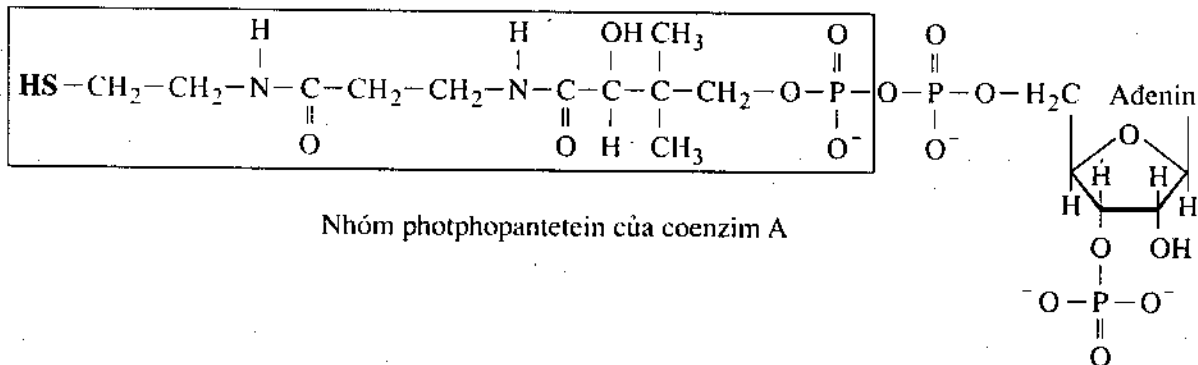
– Malonil CoA được tạo thành do sự cố định một phân tử CO_2 trên một phân tử axetil CoA. Quá trình được xúc tác bởi *axetil CoA cacboxilaz*, có nhóm hoạt động là biotin và sự tham gia của ATP (hình 85)

Theo cơ chế phản ứng trên thì đây là một ví dụ về sự cố định CO_2 của sinh vật. Ta cũng thấy một ví dụ khác, đó là sự chuyển hoá piruvat thành oxaloaxetat thực hiện bởi piruvat cacboxilaz.

– Ở procariot, để tiến hành phản ứng ngưng tụ đầu tiên, nhóm axetil của axetil CoA và nhóm malonil của malonil CoA phải được gắn với những *protein có vai trò chuyển nhóm axil* viết tắt là ACP (acyl carrier protein). Protein này là một chuỗi polipeptit đơn chứa 77 gốc axit amin (M.9000). Nhóm ngoại của nó là photphopantetein, được cố định bởi một liên kết este giữa nhóm photphat và nhóm hidroxil của một xerin trong protein. Nhóm *photphopantetein* rất giống *coenzim A* vì cùng chứa nhóm sunfidrin (SH) ở đầu tận cùng, đó là phần hoạt động trong quá trình cố định và chuyển nhóm axil (hình 86).



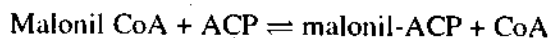
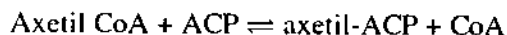
Nhóm ngoại photphopantetein của ACP



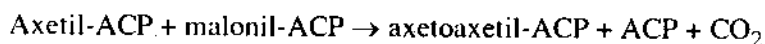
Nhóm photphopantetein của coenzim A

Hình 86 – Cấu trúc của ACP (protein vận chuyển axil) và coenzim A cùng chứa nhóm photphopantetein.

Sự tổng hợp axit béo được bắt đầu bằng sự tạo thành *axetil-ACP* và *malonil-ACP* nhờ các enzym *axetiltransaxilaz* và *maloniltransaxilaz* theo các phản ứng sau :



Sau đó, axetil-ACP phản ứng kết hợp với malonil-ACP, tạo thành *axetoaxetil-ACP* nhờ enzym trùng ngưng axil malonil-ACP.



Một vấn đề đặt ra : tại sao lại phải kết hợp một phân tử axetil-ACP với một phân tử malonil-ACP, mà không là sự kết hợp hai phân tử axetil-ACP để tạo ra một phân tử axetoaxetil-ACP chứa bốn nguyên tử cacbon ? Để trả lời câu hỏi này, ta cần nhớ rằng : đây là phản ứng trùng ngưng, là một phản ứng tiêu thụ năng lượng. Trong phản ứng cacboxil hoá axetil CoA, cần có sự tham gia của ATP. ATP không tham gia trực tiếp trong phản ứng trùng ngưng nhưng được dùng để cacboxil hoá axetil CoA thành malonil CoA. Năng lượng tự do dự trữ đó trong phân tử malonil CoA được giải phóng trong quá trình decacboxil hoá để tạo thành axetoaxetil-ACP. Qua đó ta thấy rằng tất cả các nguyên tử cacbon trong phân tử axit béo bắt nguồn từ axetil CoA.

– Tiếp theo là phản ứng khử *axetoaxetil-ACP* thành *D-β-hidroxi butiril-ACP*. Phản ứng này khác với phản ứng tương đương trong sự phân giải axit béo ở hai điểm : một là cấu hình D trong sinh tổng hợp thay cho cấu hình L trong sự phân giải, hai là NADPH được tiêu hao trong phản ứng tổng hợp, trong khi NADH được sinh ra trong sự phân giải.

Sau đó *D-β-hidroxi butiril-ACP* bị dehidrat hoá tạo thành *crotonil-ACP*, chứa một liên kết đôi giữa cacbon α - β .

– Bước cuối cùng là khử *crotonil-ACP* thành *butiril-ACP*, NADPH lại là chất khử. Trong phản ứng tương đương với bước này ở sự phân giải axit béo thì FAD là chất oxi hoá.

Như vậy, qua ba phản ứng trên, *axetoaxetil-ACP* biến đổi thành *butiril-ACP* là kết thúc một vòng phản ứng. Sơ đồ 4 bước phản ứng trong vòng thứ nhất của sự tổng hợp axit béo được thể hiện trong hình 87.

Butiril-ACP lại tiếp tục vòng phản ứng thứ hai bằng cách ngưng tụ với một phân tử malonil-ACP mới, phản ứng diễn ra tương tự như ở vòng đầu. Sản phẩm cuối của vòng hai là C_6 -axil-ACP chứa sáu nguyên tử cacbon. Cứ tiếp tục trải qua bảy vòng tổng hợp như vậy sẽ thu được C_{16} -axil-ACP. Chất này không tiếp tục ngưng tụ, nó bị thuỷ phân tạo ra axit palmitic và ACP. Từ axit palmitic, nhờ các hệ thống enzym khác xúc tác sẽ tạo thành các axit béo có mạch cacbon dài hơn hoặc có liên kết đôi.

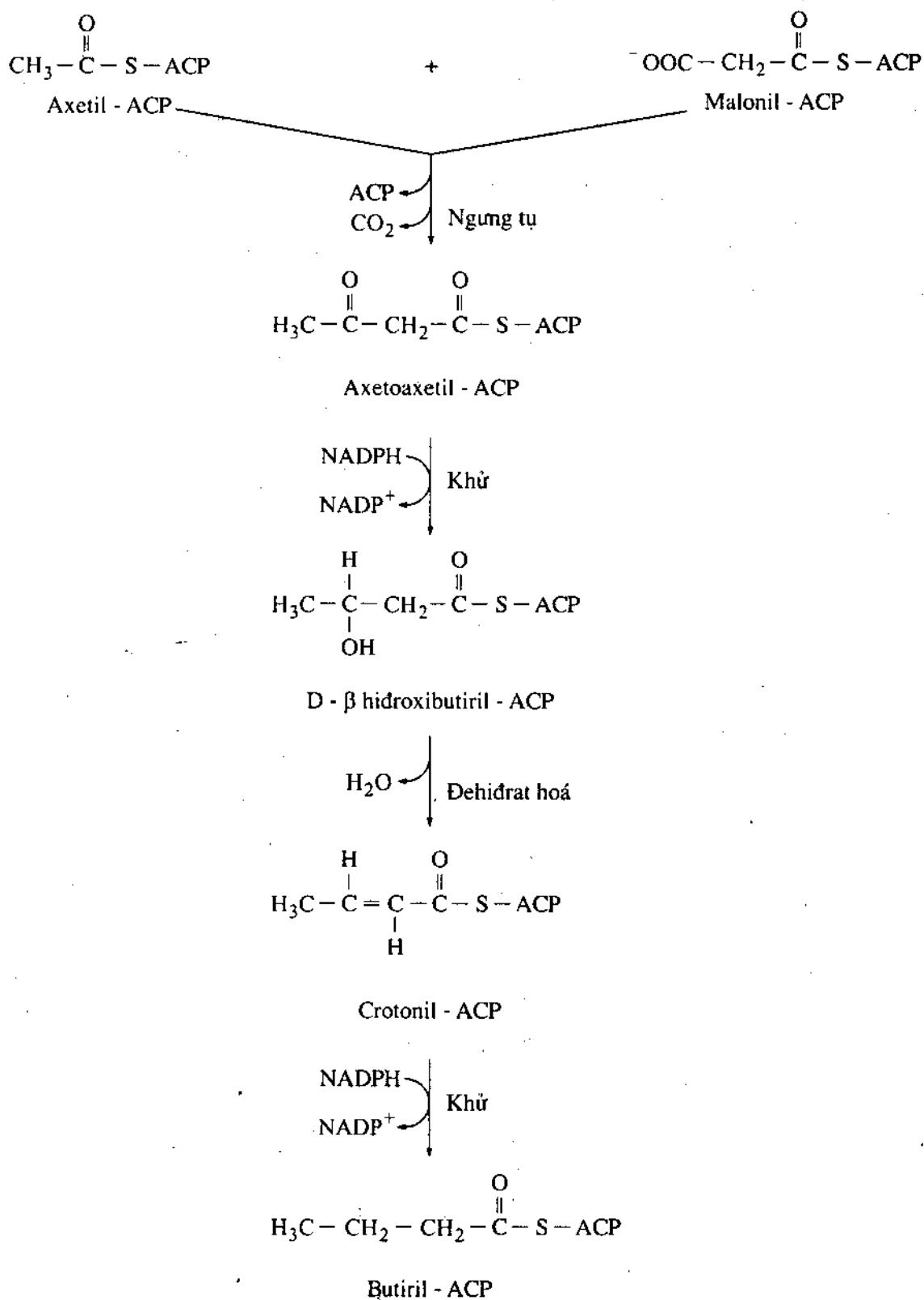
Từ axit béo no được tổng hợp : palmitic, stearic, nhờ hệ thống enzym xúc tác, tạo thành các axit béo không no như palmitoleic (C_{16}, Δ^9) và oleic (C_{18}, Δ^9). Quá trình này còn cần có sự tham gia của oxi phân tử và một coenzim khử NADPH.

2. Sự tổng hợp axit béo không no

Có 2 hệ thống enzym xúc tác tạo thành axit béo không no :

- Hệ thống kỵ khí có trong một số vi khuẩn (*E-coli*).
- Hệ thống hiếu khí có ở tất cả các tế bào khác.

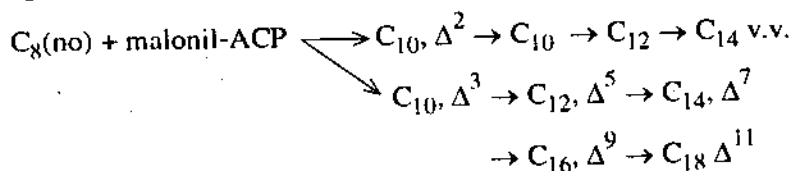
a) Ở hệ thống hiếu khí cho phép tổng hợp các axit béo không no mạch dài. Nhìn chung, có một liên kết đôi được đưa vào giữa cacbon 9 và 10 của axit palmitic và stearic, tạo ra palmitoleic (C_{16}, Δ^9) và oleic (C_{18}, Δ^9). Đặc điểm của hệ enzym xúc tác quá trình này là cần có oxi phân tử và một coenzim khử ($NADPH + H^+$) tham gia.



Hình 87 – Chuỗi các phản ứng trong sinh tổng hợp axit béo ở *E.coli*.
Phản ứng (ngưng tụ, khử, dehidrat hoá và khử) trong vòng thứ nhất của sự tổng hợp.

b) Ở hệ thống kị khí, các axit béo no được tổng hợp nhờ phức hệ enzym tổng hợp với sự biến đổi như sau: β -hidroxiacil - ACP (có 10 nguyên tử cacbon) bị khử hidrat để cho ra đồng thời một α - β dehidroxiacil-ACP (C_{10}, Δ^2) và một β γ dehidroxiacil - ACP (C_{10}, Δ^3). Chỉ có chất đầu bị khử bởi $NADPH + H^+$ tạo ra axit béo no, còn ở chất sau xảy ra sự chuyển chỗ liên kết đôi và sự kéo dài mới mạch cacbon (diễn ra theo lối cổ điển), kết quả tạo thành axit béo không no.

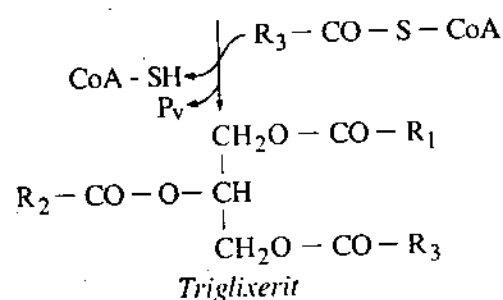
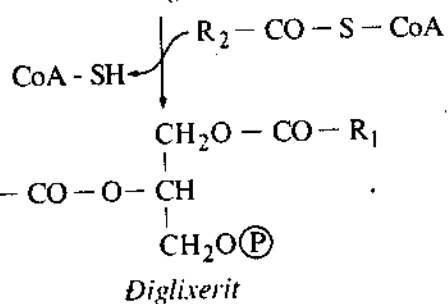
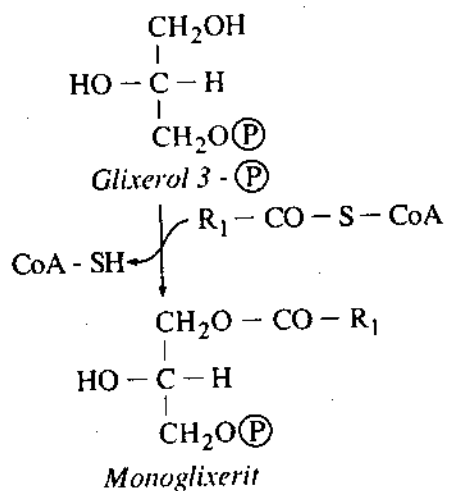
Người ta thu được lần lượt như sau :



B - SINH TỔNG HỢP TRIGLIXERIT, GLIXEROPHOTPHOLIPIT VÀ STERIT

1. Tổng hợp triglixerit (trilaxilglixerol)

Glixerol tham gia vào sự tổng hợp dưới dạng glixerol 3-phosphat. Axit béo trước khi tổng hợp cũng phải được hoạt hoá tạo thành axil CoA. Sơ đồ tổng hợp triglixerit như sơ đồ bên :



2. Tổng hợp glixerophospholipit

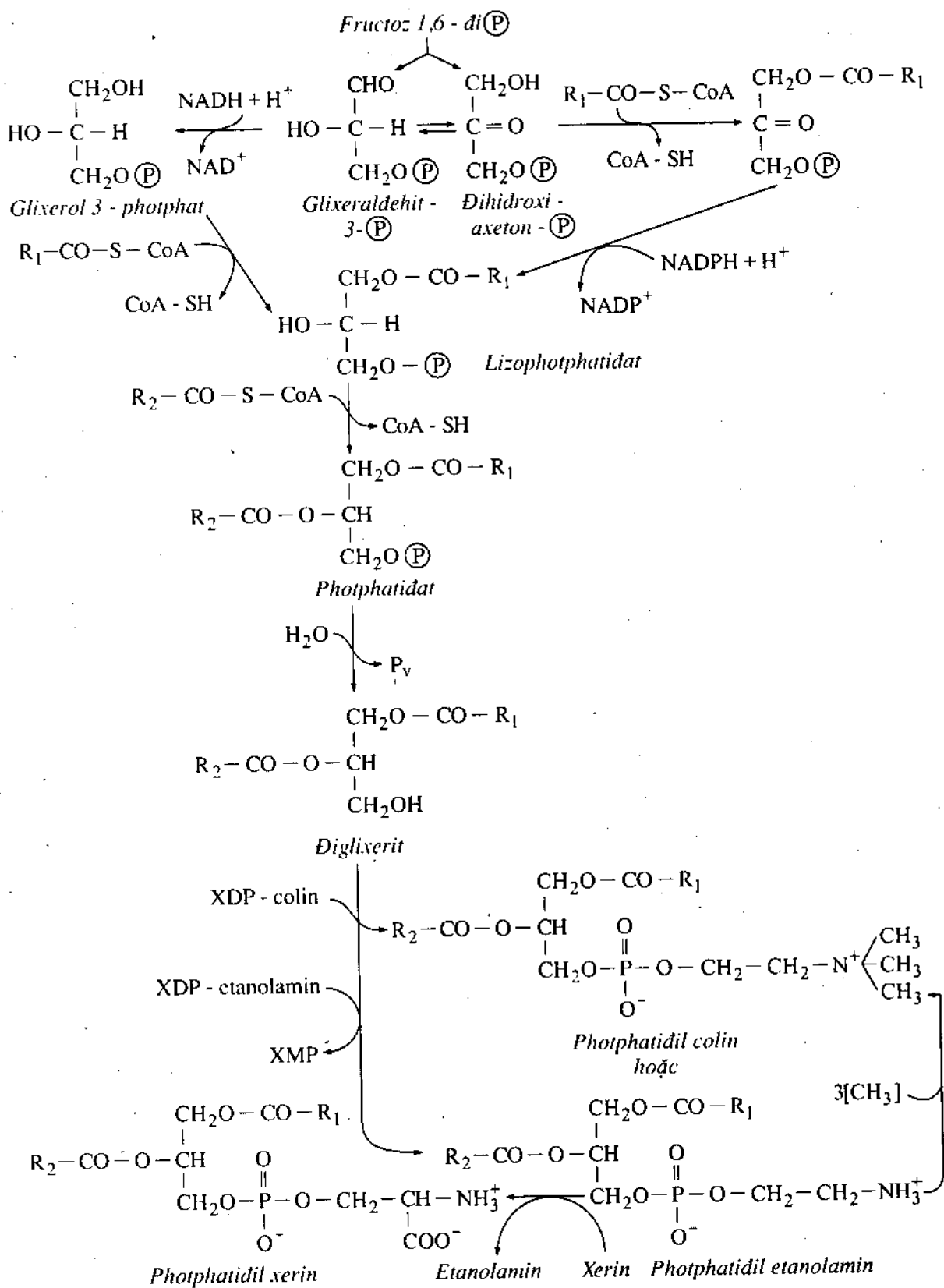
Để tổng hợp chất này nhờ sự tham gia của XTP, các baz nơơ nhất thiết phải được hoạt hoá dưới dạng XDP - colin hoặc XDP - etanolamin. Sau đó là sự chuyển gốc baz nơơ cho axit photphatidic hoặc diglixerit. Sơ đồ sự tạo thành glixero photpholipit được trình bày trong hình 88.

3. Sinh tổng hợp sterit

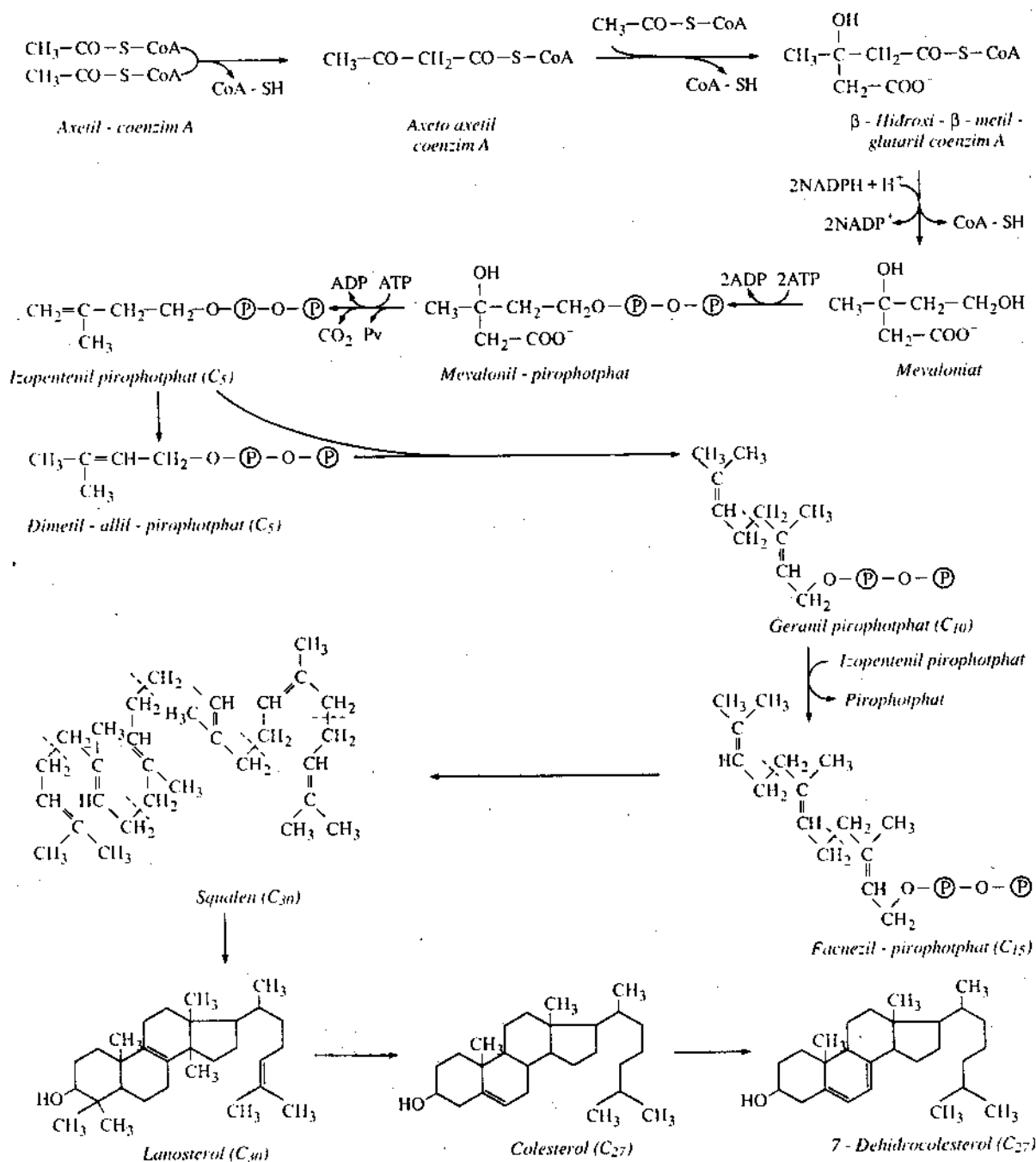
Sterit là lipid phức tạp tạo bởi sterol và axit béo. Nguyên liệu để tổng hợp sterol là axetil CoA. Quá trình sinh tổng hợp sterol (colesterol) có thể chia thành 3 giai đoạn chủ yếu sau :

- Giai đoạn chuyển axetil CoA thành axit mevalonic
- Giai đoạn tổng hợp squalen.
- Giai đoạn chuyển squalen thành cholesterol.

Sơ đồ của các giai đoạn sinh tổng hợp cholesterol được trình bày trong hình 89.



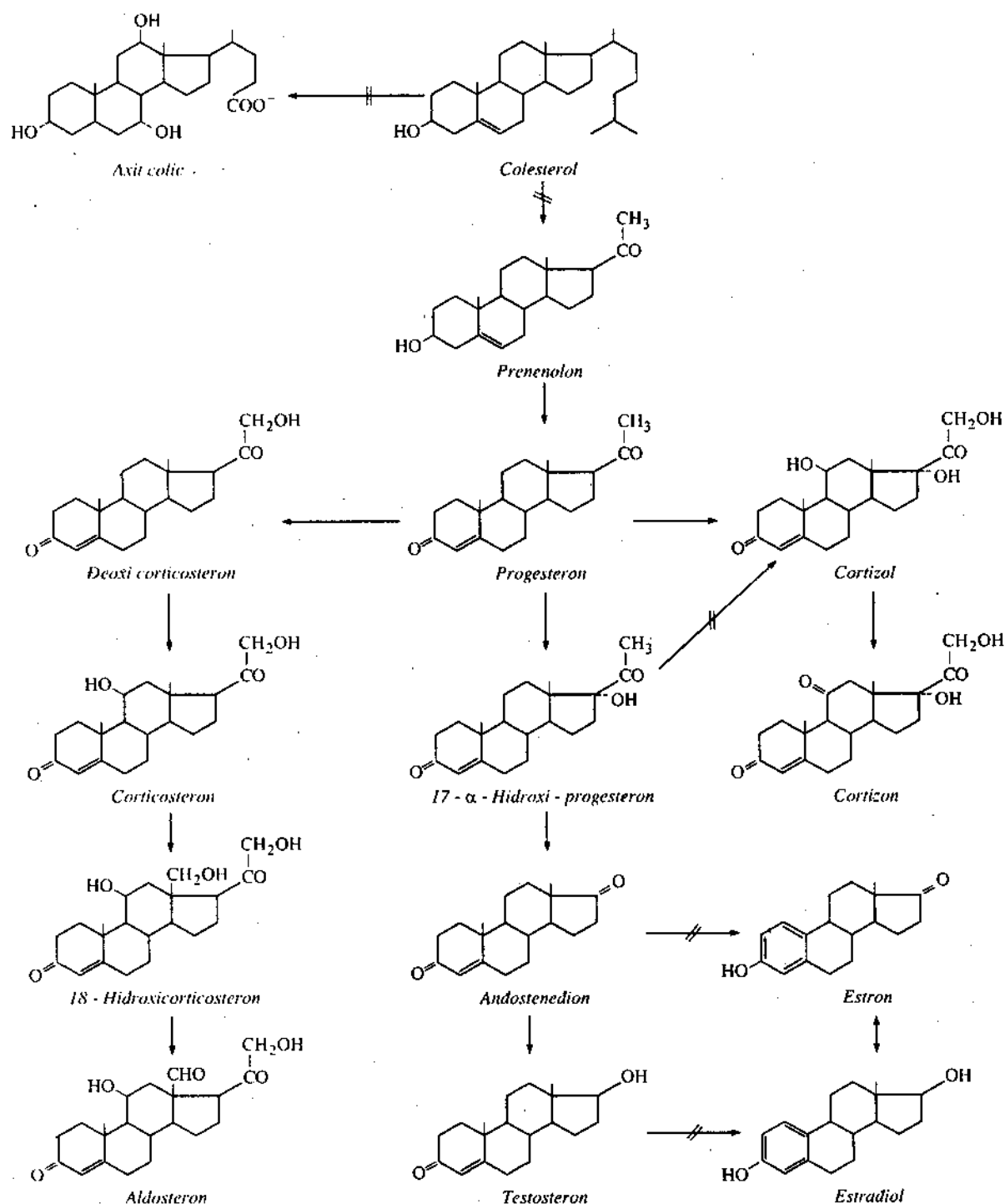
Hình 88 - Sự sinh tổng hợp glixerit và glixerophotpholipit



Hình 89 – Các giai đoạn sinh tổng hợp cholesterol
 (Squalen được tổng hợp từ 6 phân tử izopentenil pirophotphat
 theo trình tự phản ứng : C₅ → C₁₀ → C₁₅ → C₃₀)

(P) - O - (P) : pirophotphat

Colesterol có vai trò quan trọng trong cơ thể, đặc biệt là ở người. Từ cholesterol sẽ tổng hợp nên một loạt các steroid khác là các hormone trong cơ thể. Đó là các hormone sinh dục, hormone phân vỏ tuyến thượng thận. Sơ đồ tổng hợp các steroid khác từ cholesterol được trình bày trong hình sau :



Hình 90 – Sự tạo thành các steroid khác từ cholesterol
(sơ đồ đơn giản, không trình bày các bước trung gian).

Chương XI

Trao đổi protein

I - SỰ PHÂN GIẢI PROTEIN VÀ AXIT AMIN

A – THUỶ PHÂN PROTEIN

Sự phân giải protein bằng cách thuỷ phân là con đường phổ biến ở giới Động vật và Thực vật. Quá trình này được tiến hành trong bất kì một tế bào nào ở phần cấu trúc dưới tế bào, tức là trong các lizoxom. Tại đây tập trung nhiều enzym thuỷ phân, thực hiện sự biến đổi các chất cao phân tử thành các chất trao đổi có phân tử nhỏ. Trước khi protein đi vào quá trình dị hoá, chúng bị thuỷ phân bởi proteaz để tạo thành các peptit phân tử nhỏ và axit amin.

Quá trình thuỷ phân protein được nghiên cứu chi tiết hơn cả là sự thuỷ phân protein thức ăn xảy ra ở thành ruột của động vật có xương sống.

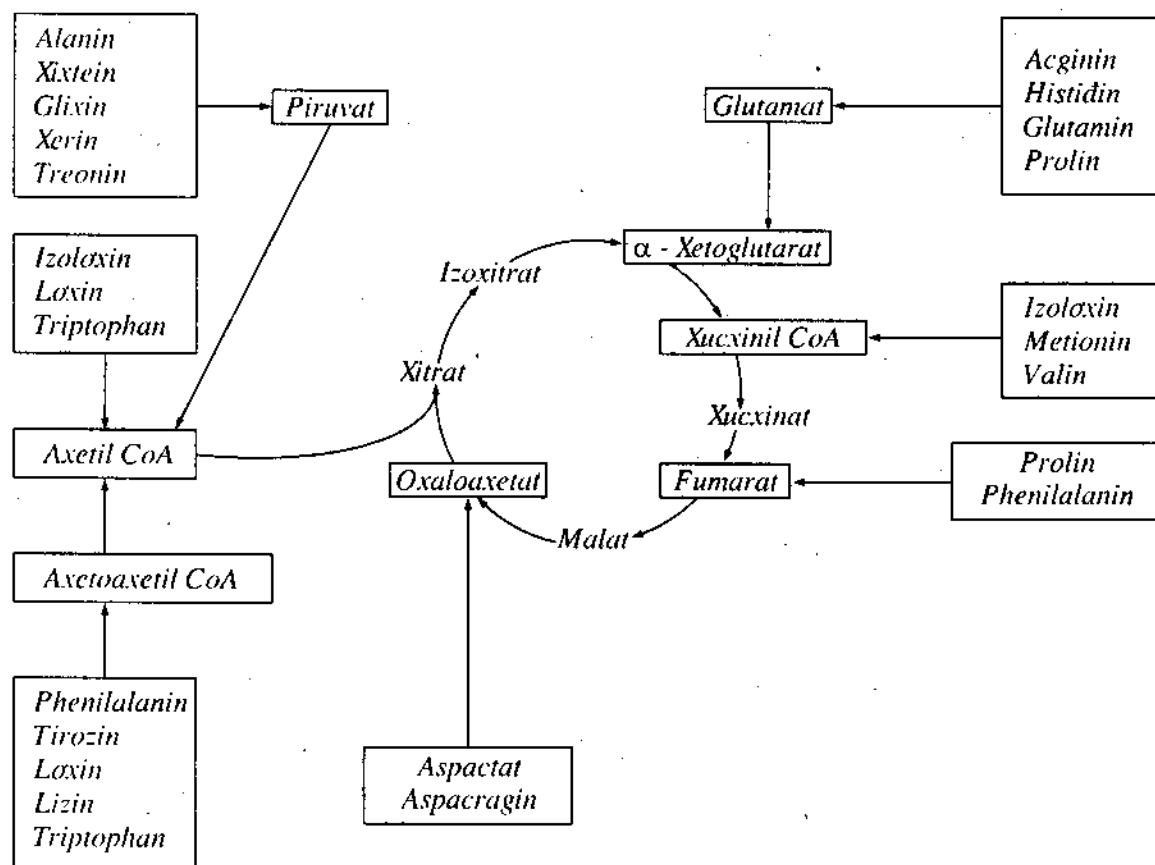
Ở động vật có vú, sự phân giải protein đầu tiên do tác động của pepsin. Tế bào niêm mạc dạ dày tiết ra pepsinogen là dạng không hoạt động (zimogen). Dưới tác dụng của pepsin tự do và HCl của dịch dạ dày pepsinogen biến đổi thành pepsin hoạt động. Độ pH thích hợp nhất cho sự hoạt động của enzym này là 1,5 – 2,5. Khi thuỷ phân protein ngoài cơ thể (in vitro), pepsin có thể giải phóng ra một số axit amin, nhưng quá trình xảy ra tương đối chậm. Bởi vậy, thức ăn protein trong dạ dày do tác động của pepsin, căn bản tạo thành một hỗn hợp polipeptit. Ở ruột, dịch tụy tiết ra một loạt các enzym dưới dạng không hoạt động : tripsinogen, kimotripsinogen, procacboxipeptidaz A, B và proelastaz. Dưới tác động của entero-peptidaz trong dịch ruột, tripsinogen nhanh chóng biến đổi thành tripsin. Kimotripsin được tạo thành từ kimotripsinogen nhờ tác động của tripsin và kimotripsin. Như vậy, hai enzym này đã phối hợp tác động, cũng vì thế sự thuỷ phân protein ở ruột xảy ra sâu sắc hơn ở dạ dày. Cacboxipeptidaz A tiếp tục phân cắt axit amin đầu C có chuỗi bên mạch vòng hay mạch thẳng. Cacboxipeptidaz B chỉ tác động lên peptit có axit amin đầu C là acginin hay lizin. Dịch niêm mạc ruột còn chứa aminopeptidaz, khi tác động lên chuỗi polipeptit sẽ lần lượt tách ra các axit amin đầu N. Dưới tác động tổng hợp của các enzym phân giải protein ở thành dạ dày, tuyến tụy và thành ruột, protein của thức ăn biến đổi thành axit amin rồi được hấp thụ qua thành ruột, theo máu về gan đi tới các mô và tế bào. Sự hấp thụ các axit amin qua thành ruột, thành mao mạch và thành tế bào là các quá trình cần năng lượng.

B – SỰ PHÂN GIẢI AXIT AMIN

Vai trò của axit amin trong cơ thể là ở chỗ : nó là nguyên liệu trong quá trình tổng hợp protein và các hợp chất có hoạt tính sinh học khác nhau, ngoài ra nó còn được dùng làm nguồn

năng lượng. Cơ thể động vật bậc cao phân giải tích cực các axit amin ngoại sinh (được cung cấp bởi protein của thức ăn) và cả các axit amin nội sinh, do quá trình tân tạo protein của cơ thể. Ở thực vật bậc cao, sự trao đổi axit amin phức tạp hơn vì ngoài hai mươi axit amin có trong thành phần của protein còn gặp nhiều axit amin khác. Phần lớn thực vật ở trong trạng thái sinh trưởng không ngừng, sự trao đổi axit amin xảy ra theo chiều hướng tổng hợp là chủ yếu mà không theo hướng phân giải. Nhiều vì sinh vật cũng có khả năng sử dụng axit amin làm nguồn cacbon và năng lượng.

Các axit amin bị phân giải qua các phản ứng loại nhóm amin, loại nhóm cacboxil và chuyển hoá mạch bên, cuối cùng đều dẫn đến một số sản phẩm đi vào chu trình Krebs (hình 91).



Hình 91 – Các con đường đưa bộ khung cacbon của axit amin vào chu trình Krebs.

Sự phân giải axit amin bao gồm sự loại nhóm amin ; loại nhóm cacboxil và sự chuyển hoá theo gốc. Sau đây ta sẽ xem xét từng quá trình trên.

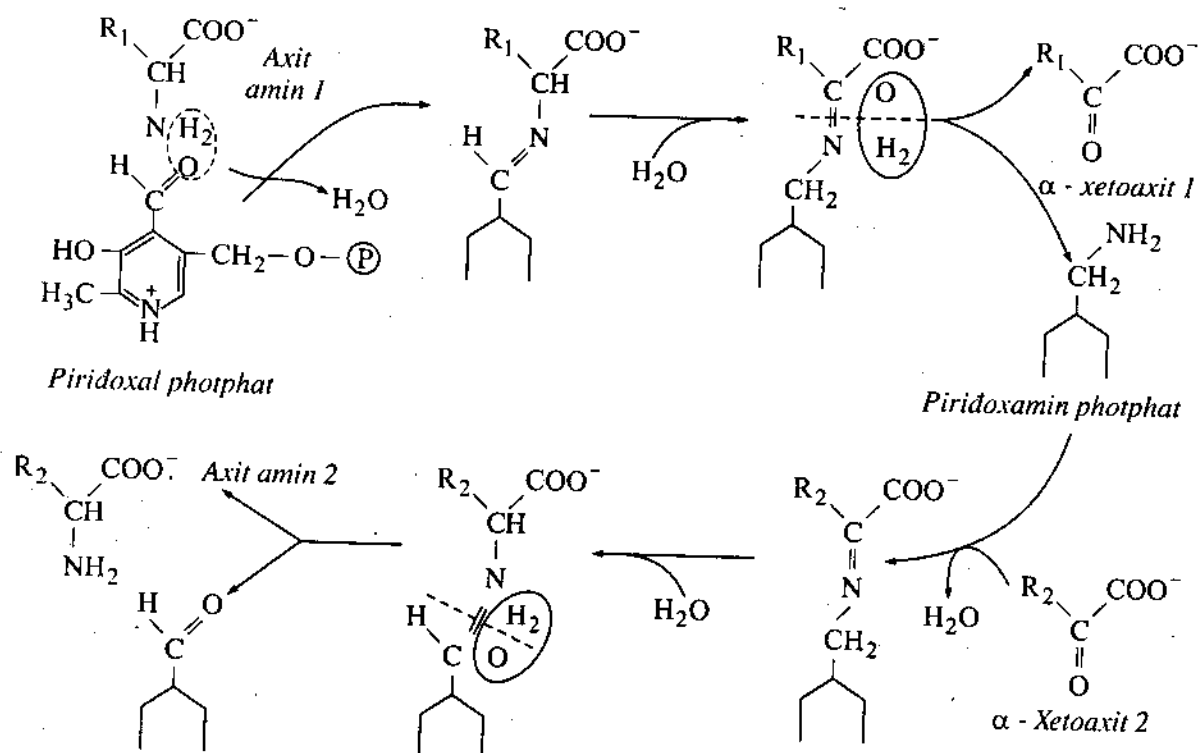
1. Sự loại nhóm amin

Có hai kiểu phản ứng chính để loại nhóm amin :

– Phản ứng chuyển amin. Trong đó nhóm α -amin của axit amin được chuyển cho nguyên tử cacbon của một trong ba xetoaxit là piruvat, α -xetoglutarat và oxalo axetat. Kết quả là axit amin sẽ trở thành xetoaxit tương ứng, còn các xetoaxit trên sẽ biến thành các axit amin tương đương (alanin, glutamat và aspactat). Phản ứng tổng quát của quá trình chuyển amin như sau:



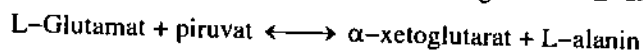
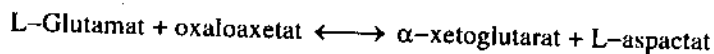
Các enzym xúc tác cho kiểu phản ứng này thuộc nhóm *aminotransferaz* có coenzim là piridoxalphotphat. Cơ chế phản ứng như sau :



Trừ hai axit amin là treonin và lizin, tất cả các axit amin còn lại đều có thể tham gia chuyển amin.

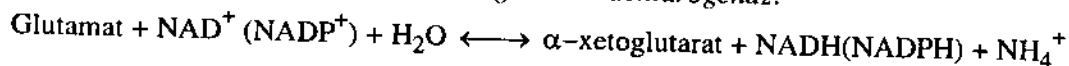
Nhìn chung, ở đa số cơ thể sống nhóm amin của axit amin được chuyển chủ yếu để tạo thành glutamat. Ở một số cơ thể khác (động vật) thì nhóm amin được chuyển để tạo thành aspartat hay alanin.

Người ta đã nghiên cứu kĩ hai *transaminaz* có nhiều trong các mô động vật, xúc tác cho hai phản ứng tạo thành aspartat và alanin như sau :

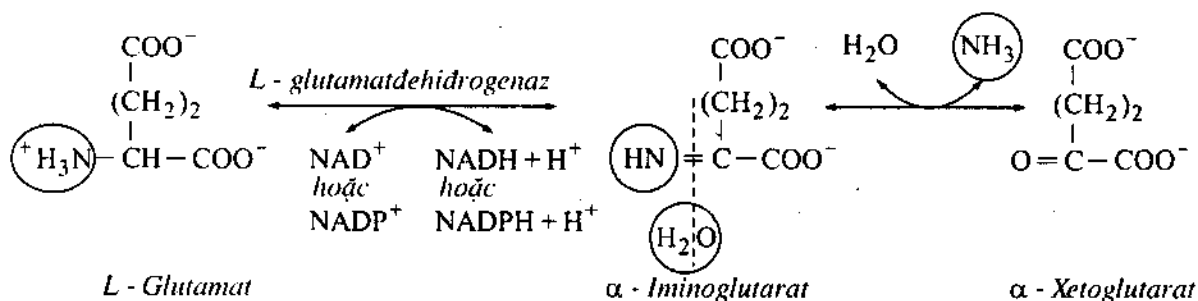


Sự chuyển amin có ý nghĩa rất quan trọng về cả hai mặt : phân giải các amin thành các xetoaxit tương ứng và chuyển nhóm amin cho các xetoaxit trong chu trình Krebs tổng hợp nên các axit amin sơ cấp như glutamat, aspartat và alanin.

- *Phản ứng loại amin oxi hoá.* Như trên đã biết, nhóm amin của glutamat là của các axit amin khác nhường cho trong phản ứng chuyển amin. Trong trường hợp này nó lại bị loại nhờ phản ứng oxi hoá dưới tác dụng xúc tác của *glutamat dehidrogenaz*.



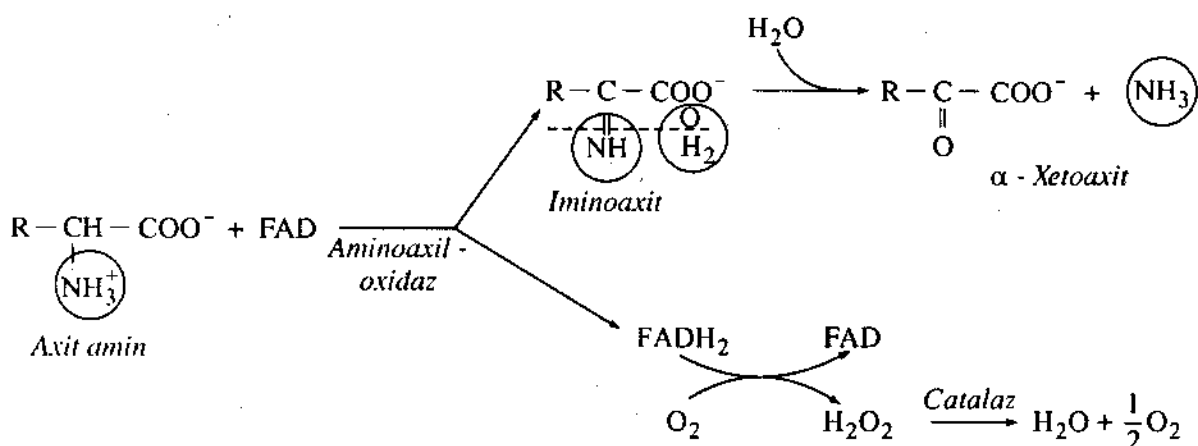
Cơ chế của phản ứng như sau :



Kết quả là nhóm amin của glutamat được giải phóng dưới dạng NH_4^+ . Trong phản ứng này NADP^+ có vai trò là chất nhận điện tử, khi đó sẽ tạo thành $(\text{NADPH} + \text{H}^+)$.

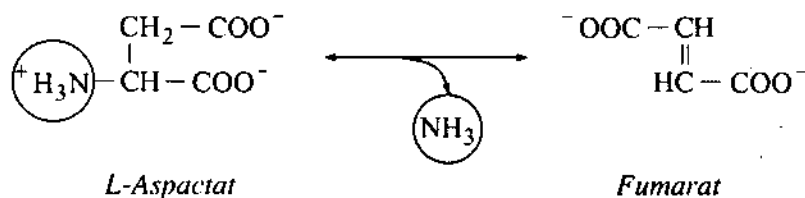
Như vậy, *glutamatedehydrogenaz* đóng vai trò trung tâm trong quá trình khử amin của axit amin ở nhiều cơ thể.

Quá trình loại amin oxi hoá của axit amin có thể tóm tắt ở sơ đồ sau :



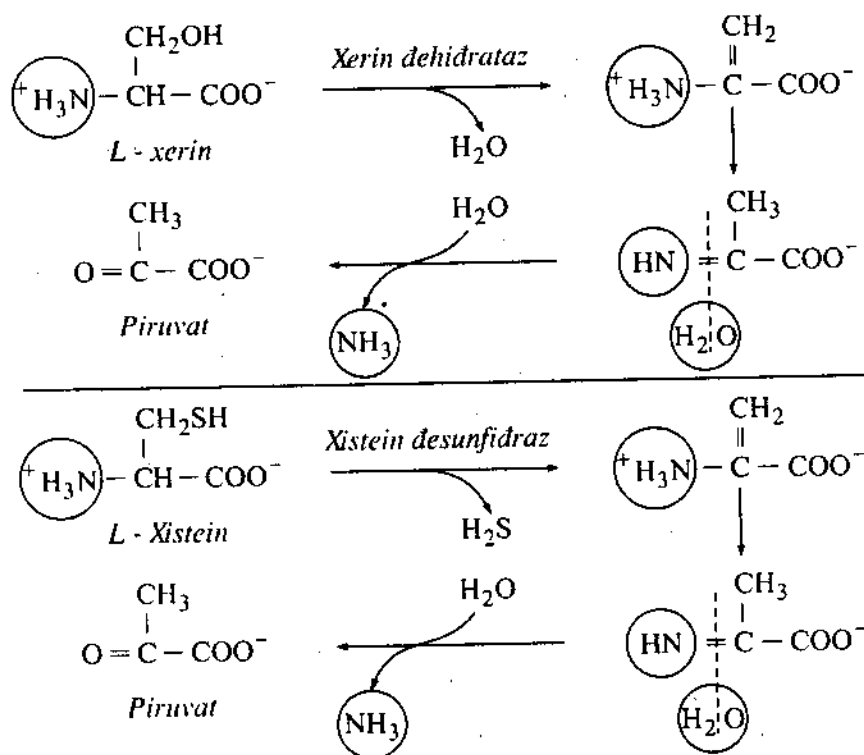
Ngoài cách loại amin chủ yếu nói trên còn một vài cách khác xảy ra riêng đối với một số axit amin, đó là :

– Sự khử amin của aspartat tạo thành fumarat :



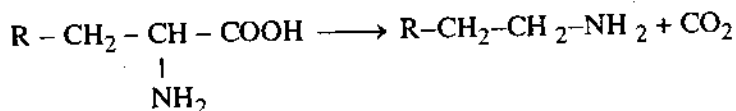
Ở thực vật và một số vi sinh vật, phản ứng nghịch giống như sự cố định NH_3 trong hợp chất hữu cơ, được xúc tác bởi *aspartaz* hoặc *aspartatamoniliaz*. Trong mô động vật không chứa aspartat-liaz nên không xảy ra quá trình này.

– Sự loại amin của L-xerin dưới tác động của *xerinhydrataz* và của L-xistein bởi *xistein desunfidraz*. Cả hai trường hợp đều tạo thành piruvat :

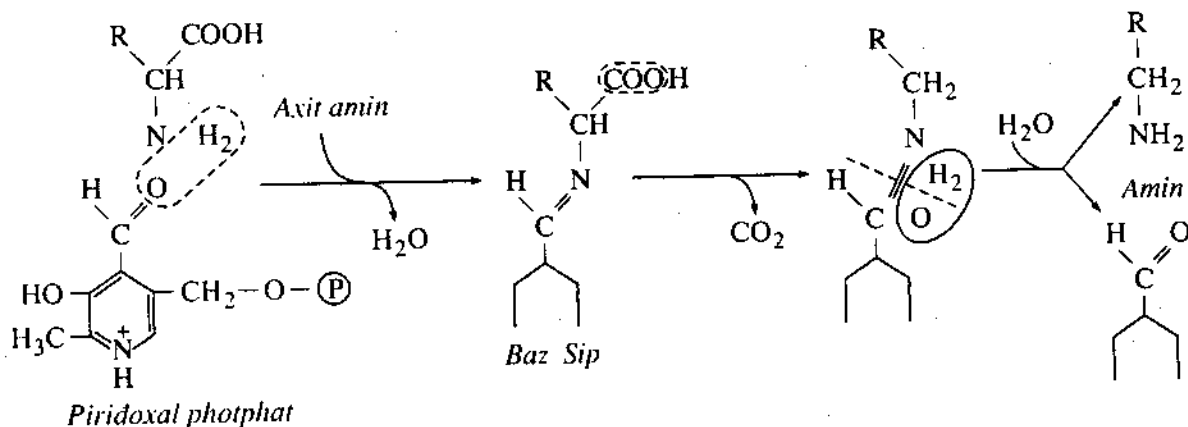


2. Sự loại nhóm cacboxil của axit amin

Sự loại cacboxil của axit amin rất phổ biến trong tự nhiên. Enzim decarboxilaz có nhóm hoạt động là piridoxalphotphat xúc tác sự khử nhóm cacboxil thành dạng CO_2 . Phản ứng tổng quát của quá trình này như sau :

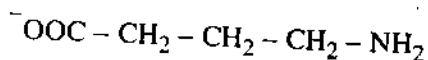


Cơ chế của phản ứng được trình bày dưới đây :



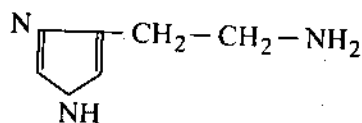
Trong đa số trường hợp, sản phẩm của phản ứng loại nhóm cacboxil là các hợp chất amin. Nhiều amin có vai trò sinh lí quan trọng. Sau đây là một vài ví dụ về vai trò của một số amin :

– γ -Aminobutirat có vai trò sinh lí quan trọng trong não. Nó được tạo thành từ glutamat và có cấu tạo như sau :

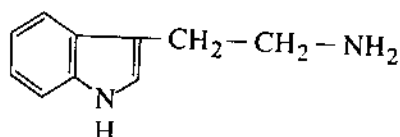


– Histamin được tạo thành từ histidin.

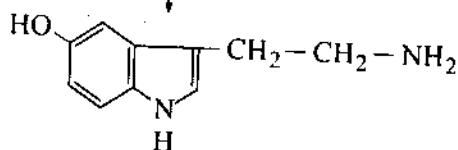
Histamin làm giảm huyết áp và kích thích hoạt động của các tuyến dạ dày. Nó được tạo thành khi cơ thể bị chấn thương hay viêm nhiễm.



Histamin



Triptamin



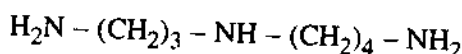
Xerotonin

– Triptamin và xerotonin được tạo thành khi loại cacboxil của triptophan.

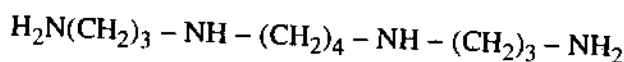
Xerotonin có vai trò điều khiển thần kinh thể dịch, ở người nó gây co mạch mạnh. Ở động vật có vú, nó làm rối loạn hoạt động của hệ thần kinh trung ương.

– Một số poliamin

Sự loại cacboxil của lizin, acginin và ornitin sẽ tạo thành cadaverin, agmatin và putretsin. Putretsin là nguyên liệu để tổng hợp specmidin và specmin :



specmidin



specmin

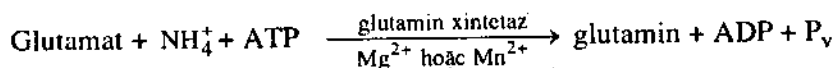
Các poliamin trên có vai trò bảo đảm đặc điểm cấu trúc và chức năng hoạt động của các riboxom trong tế bào.

3. Các sản phẩm của sự phân giải axit amin

Như trên đã trình bày, quá trình phân giải axit amin tạo ra các xetoaxit và axit cacboxilic. Bộ khung cacbon của axit amin tham gia vào chu trình Krebs sẽ bị oxi hoá dần từng bước để tạo thành CO_2 và H_2O (hình 91). Nhóm amin của axit amin được giải phóng thành NH_3 . Như vậy, H_2O , CO_2 và NH_3 đều là những sản phẩm cuối của sự phân giải axit amin. Nước sẽ đi vào quá trình trao đổi chung, khí cacbonic được thải ra ngoài cơ thể, còn amoniac thì tùy theo từng loài sinh vật mà có những chuyển hoá khác nhau. Chỉ có một số sinh vật sống ở dưới nước (địa, cua, tôm, cá v.v.), amoniac mới được bài tiết trực tiếp ra môi trường xung quanh hoặc ở dạng muối amon. Ở tuyệt đại đa số các dạng thực vật và động vật, amoniac có tác dụng độc đối với hoạt động sống của cơ thể ngay ở những nồng độ thấp và sẽ được chuyển thành những hợp chất chứa nitơ không độc đối với cơ thể như glutamin, asparagin. Ở nhiều động vật, đặc biệt là ở động vật có xương sống bao gồm cả loài có vú, amoniac được loại khỏi cơ thể ở dạng ure. Dưới đây ta sẽ xem xét một số con đường giải độc NH_3 của cơ thể.

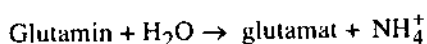
a) *Amin hoá các axit amin dicarboxilat :*

– Sự tổng hợp glutamin là con đường cơ bản cố định amoniac đồng thời là hướng chủ yếu để giải độc NH_4^+ cho cây. Phản ứng này trong gan và não được xúc tác bởi *glutamin xintetaz* (M 350.000) :



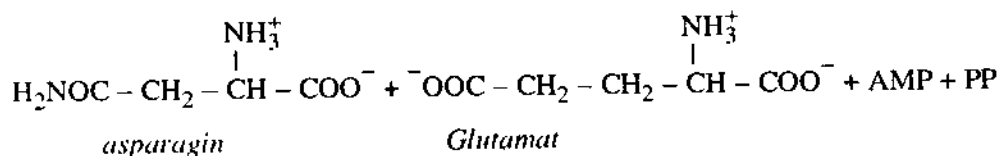
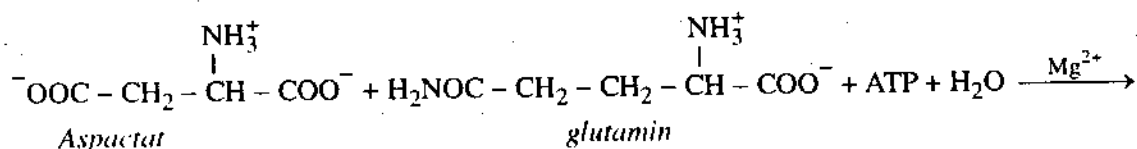
Phản ứng trải qua hai giai đoạn. Giai đoạn đầu glutamat và ATP tham gia tạo ra liên kết hoạt hoá giữa ADP - γ - glutamin photphat với enzym. Ở giai đoạn hai, hợp chất trung gian này phản ứng với NH_4^+ , kết quả tạo thành glutamin, ADP và photphat vô cơ (P_v).

Sự thủy phân glutamin do tác động của *glutaminaz* cũng rất phổ biến.



Glutamin không chỉ được sử dụng để tổng hợp protein mà còn là chất nhường nhóm amin cho nhiều hợp chất khác. Ví dụ : tổng hợp các nucleotit purat ; amin hoá UTP thành XTP ; tổng hợp cacbamil photphat, asparagin, glutamat v.v. Bởi vậy, glutamin có vị trí trung tâm trong quá trình trao đổi nitơ.

– Sự tổng hợp asparagin : Sự tổng hợp asparagin trong mô của động vật có vú được xúc tác bởi *glutamin-asparagin-xintetaz*



Trong phản ứng trên, glutamin có thể thay thế NH_4^+ . Sự amin hoá aspartat cũng là phản ứng giải độc NH_4^+ cho cây.

b) *Sự tổng hợp ure* : Quá trình tổng hợp ure (hình 92) có thể chia thành 3 bước : tổng hợp cacbamil photphat, tổng hợp acginin và bước cuối cùng là thủy phân acginin để tạo thành ure.

– Sự tổng hợp cacbamil photphat ($\text{H}_2\text{N}-\text{CO}-\text{O}-\text{PO}_3\text{H}_2$) là phức tạp vì sử dụng tới 2 ATP và được xúc tác bởi *cacbamil photphat xintetaz*. Đó là con đường trao đổi NH_4^+ phổ biến ở vi sinh vật, thực vật và động vật. Tùy cơ thể, chất cho nitơ có thể là NH_4^+ hay glutamin.

– *Sự tổng hợp acginin.*

Từ cacbamil photphat và ornitin xảy ra phản ứng kết hợp tạo thành xitrulin do sự xúc tác của *ornitin-cacbamil-transferaz* (1).

Xitrulin được tạo ra sẽ kết hợp với aspartat dưới tác dụng của *acgino-xucxinat-xintetaz* tạo thành acgino xucxinat (2).

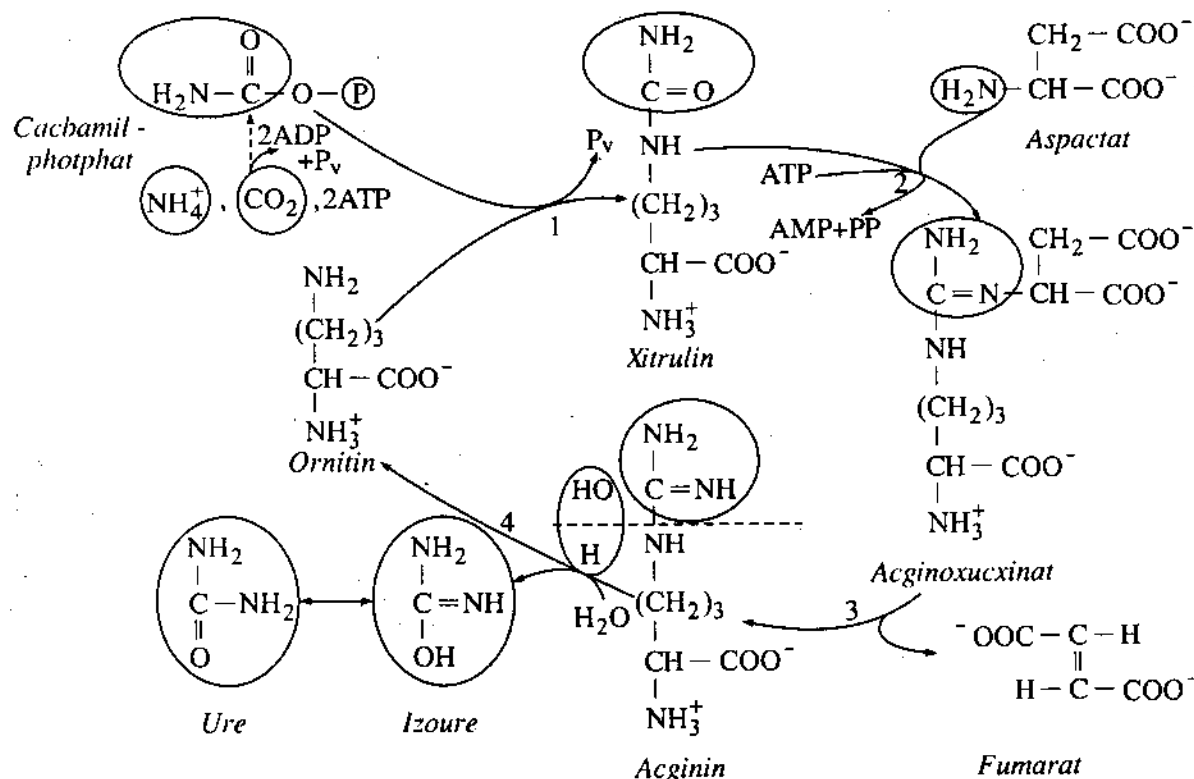
Acgino xuxinat bị phân giải tiếp bởi acgino-xuxinat-liaz tạo thành acginin và fumarat (3).

Do nhóm δ -amin của ornitin là kết quả sự chuyển nhóm amin từ glutamat ; mặt khác nhóm amin của aspactat cũng nhận từ glutamat, bởi vậy hai trong ba nguyên tử nitơ của nhóm guanidin của acginin có nguồn gốc từ glutamat. Nguyên tử nitơ thứ ba là của cacbamil-photphat, nhưng như trên đã giới thiệu nguyên tử nitơ này cũng có nguồn gốc từ glutamin.

Fumarat được tạo thành trong quá trình trên, có thể hidrat hoá để tạo ra malat, chất này bị oxi hoá thành oxaloaxetat, rồi do sự chuyển amin, axaloaxetat lại biến thành aspactat và lại tham gia vào chuỗi các phản ứng tổng hợp acginin.

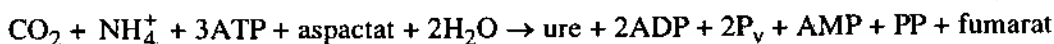
- Sự tạo thành ure : Sự thủy phân acginin để tạo thành ure là giai đoạn cuối của quá trình trao đổi nitơ ở động vật có vú (4). Sự tạo thành ure chủ yếu xảy ra ở gan, ở các cơ quan khác (thận, não) ure được tổng hợp không đáng kể. Enzim acginaz xúc tác cho phản ứng này chỉ có trong gan.

Như vậy, quá trình tổng hợp ure trong cơ thể xảy ra theo một chu trình gồm 4 phản ứng, được gọi là chu trình ure (hình 92).



Hình 92 - Chu trình ure.

Phương trình tổng quát của chu trình ure là :



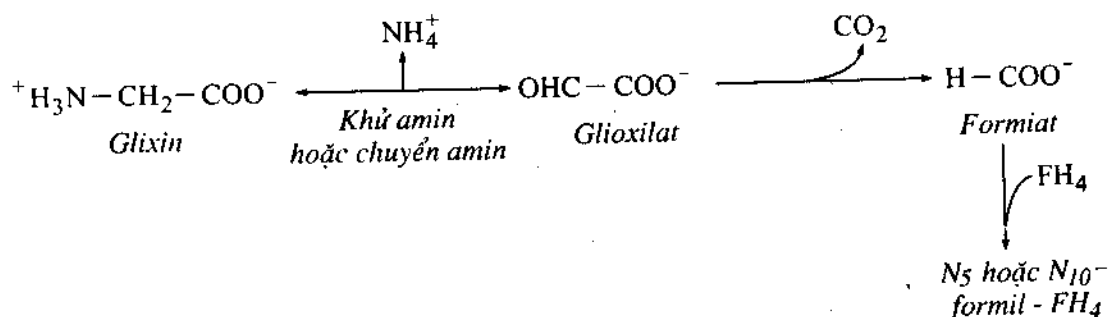
Bởi vì pirophosphat còn bị thủy phân tiếp đến photphat ($PP + H_2O = 2 P_v$), nên để tổng hợp một phân tử ure cần tiêu hao bốn liên kết photphat cao năng.

Trong phân tử ure được tạo thành, nhóm CO là của phân tử CO_2 hoặc HCO_3^- ; hai nhóm NH_2 : một là của cacbamil photphat, một là của aspartat, tất cả đều là sản phẩm của sự trao đổi amin.

4. Các con đường chuyển hoá riêng của axit amin

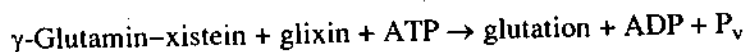
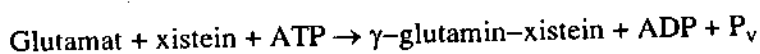
Ngoài các quá trình cơ bản phân giải axit amin như đã trình bày, các axit amin còn có thể bị biến đổi theo những đường hướng riêng, dưới đây là một vài ví dụ:

a) Sự biến đổi của glixin: dưới tác dụng của enzym deamin oxi hoá đặc hiệu, glixin chuyển thành glioxilat. Chất này tiếp tục bị khử cacboxil oxi hoá tạo thành CO_2 và formiat, cuối cùng thành N_5 hoặc N_{10} -formil- FH_4



Glixin có thể tham gia vào các chuỗi phản ứng sau:

- Tổng hợp glutation



Glutation là một tripeptit có vai trò sinh lí mạnh. Dạng oxi hoá và dạng khử của glutation là một hệ oxi hoá khử quan trọng trong tế bào.

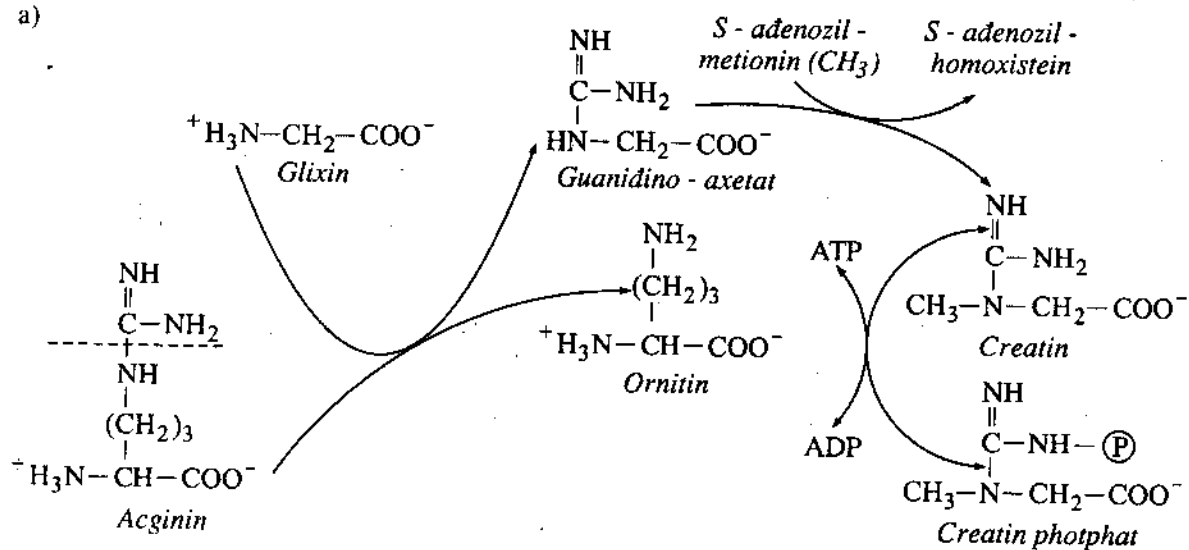
- Tổng hợp creatin

Cùng với acginin photphat và những guanidin photphat khác, creatin photphat là một trong những hợp chất cao năng, tham gia vào quá trình trao đổi năng lượng của cơ thể (hình 93).

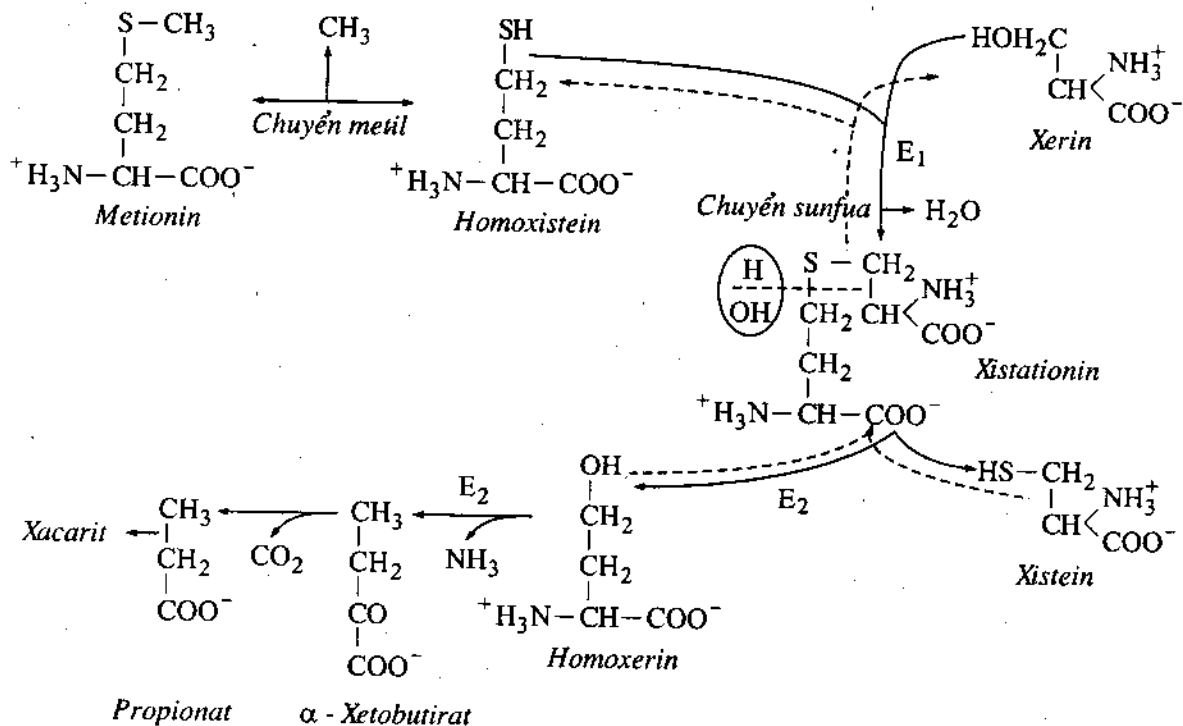
b) Sự biến đổi của metionin

Tham gia vào quá trình này có hai enzym piridoxal photphat. Đó là xistationin xintetaz (E_1) xúc tác sự tạo thành hợp chất trung gian xistationin và xistationaz (E_2) xúc tác sự tách xistationin thành xistein. Phân tử xistein này có khung cacbon và nhóm amin là của xerin còn lưu huỳnh là của metionin. Phần còn lại của xistationin tạo thành homoxerin. Chất này (vẫn gắn với E_2) sẽ bị khử amin, khử hidrat để biến thành α -xetobutirat (hình 93).

a)

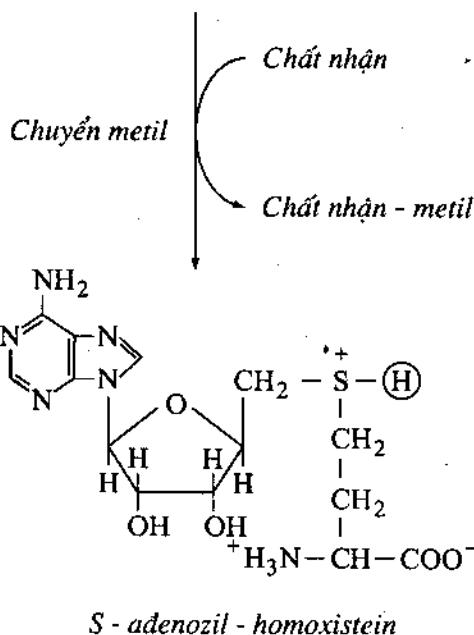
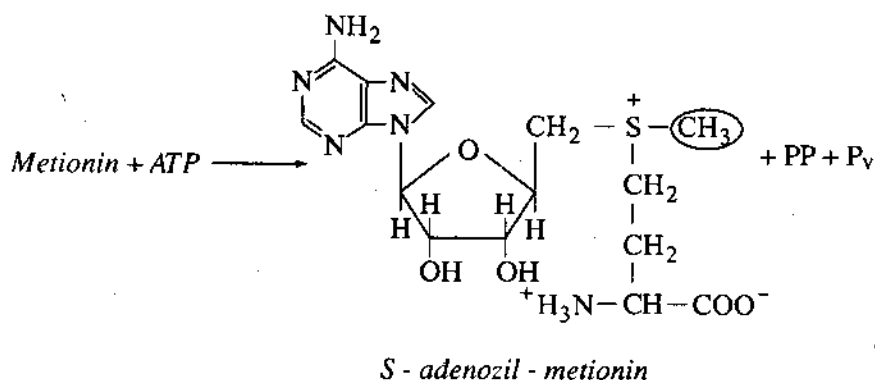


b)



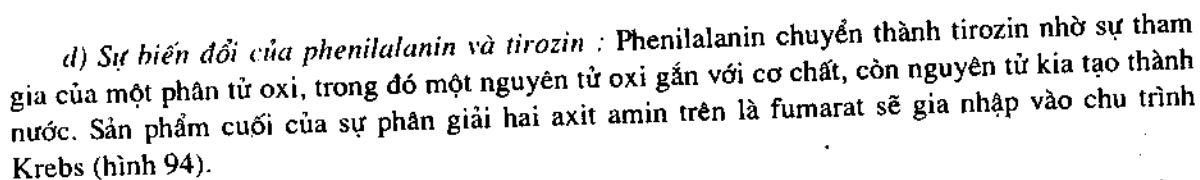
Hình 93 – Sự biến đổi của glixin (a) metionin (b)
(các phản ứng nghịch có thể xảy ra trong một số cơ thể được biểu diễn bằng đường chấm).

Metionin là chất cho nhóm metil phổ biến trong các phản ứng chuyển metil. Trước tiên metionin được hoạt hoá bởi ATP thành S-adenozil-metionin. Sau đó chất này chuyển nhóm metil cho chất nhận và trở thành S-adenozil-homoxistein.



c) Sự biến đổi của valin, loxin và izoloxin : Cần chú ý rằng sự biến đổi của cả 3 axit amin này có những giai đoạn tương tự nhau : chuyển amin tạo ra các xetoaxit, từ đó chúng tiếp tục khử cacboxil oxi hoá tạo ra các axil CoA. Các axil CoA này hoặc là trực tiếp gia nhập vào chu trình Krebs (ví dụ như xucxinil CoA) hoặc cắt mạch cacbon để tạo thành axetil CoA rồi mới tham gia vào chu trình trên. Hãy lấy sự biến đổi của valin làm ví dụ.

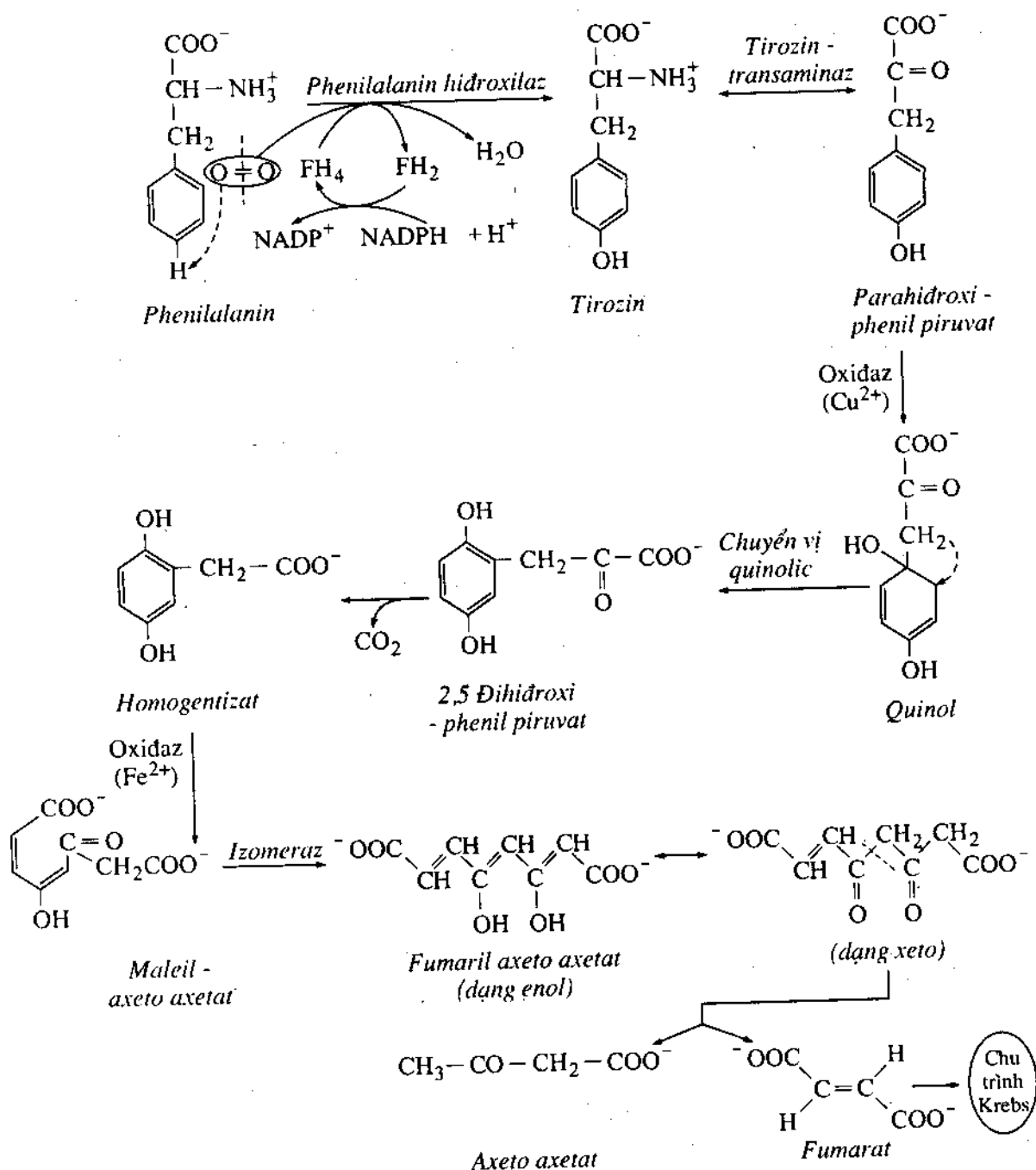
Quá trình oxi hoá valin dẫn đến sản phẩm trung gian là metil malonil CoA, tiếp theo tạo thành xucxinil CoA diễn ra theo sơ đồ sau :



Từ hai axit amin này có thể tổng hợp nên melanin và adrenalin. Melanin là sắc tố đen thường có trong cơ thể vi sinh vật, thực vật, nhưng cũng có trong động vật và người. Thiếu melanin cơ thể mắc bệnh bạch tạng. Quá trình tạo melanin là sự trùng hợp tirozin thành dạng hợp chất polime. Chặng đầu tiên của phản ứng này là sự hidroxil hoá tirozin thành ĐOPA nhờ enzym *tirozinaz* xúc tác. Bởi vậy, nguyên nhân mắc bệnh bạch tạng là do thiếu *tirozinaz* để tổng hợp melanin. (hình 94).

Ngoài ra tirozin còn là nguyên liệu để tổng hợp nên hoocmon của tuyến giáp là tiroxin (3, 5, 3', 5'-tetra iodotironin) có cấu tạo như sau :



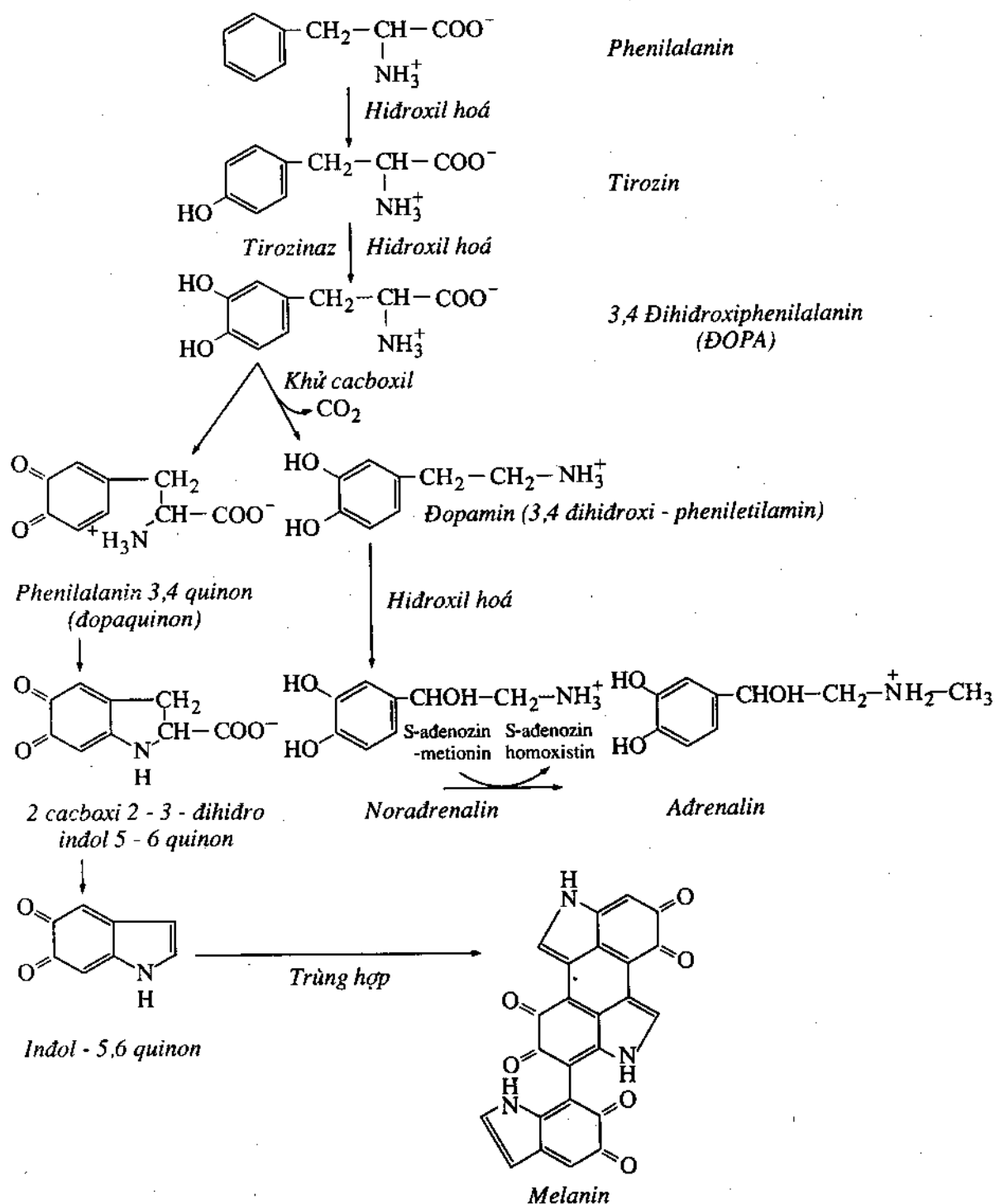


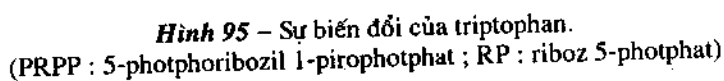
Hình 94 - Sự phân giải phenilalanin và tirozin

d) Sự biến đổi của triptophan. Triptophan được chuyển thành axit nicotinic (vitamin PP) và axit indolil-axetic (chất kích thích sinh trưởng thực vật). Khi phân giải triệt để bộ khung cacbon của triptophan, ngoài alanin còn tạo ra 2 phân tử axetil CoA (hình 95).

Tóm lại, trong quá trình phân giải, khung cacbon của axit amin hoặc bị oxi hoá hoàn toàn qua chu trình Krebs, hoặc biến đổi thành các axit amin khác. Tuy nhiên, một số sản phẩm của quá trình lại có vai trò rất quan trọng trong sự trao đổi chất và năng lượng của tế bào (β -alanin là thành phần của coenzim A, axit nicotinic là thành phần của NAD^+ ; creatin photphat và

acginin photphat là các hợp chất cao năng). Một số khác có vai trò sinh lí mạnh (adrenalin, histamin, xerotonin), hoặc là chất kích thích sinh trưởng thực vật (axit indolil axetic). Bởi vậy các chuyển hoá của axit amin đóng vai trò quan trọng trong sự điều hoà trao đổi chất ở cơ thể.





II - SINH TỔNG HỢP AXIT AMIN

Axit amin là thành phần cấu tạo của protein, bởi vậy quá trình sinh tổng hợp axit amin là cần thiết đối với mọi dạng sống. Tuy nhiên, khả năng tổng hợp các axit amin ở các cơ thể khác nhau lại rất khác nhau phụ thuộc vào dạng nitơ mà chúng có thể sử dụng.

Thực vật bậc cao có khả năng tự tổng hợp tất cả các axit amin cần cho sự tổng hợp protein bằng cách sử dụng nguồn nitơ của cả amoni lẫn nitrat. Trong các nốt sần của rễ cây họ Đậu chứa các vi khuẩn cộng sinh, chúng có thể biến nitơ phân tử trong khí quyển thành amoni và sử dụng nó để tổng hợp axit amin.

Đối với vi sinh vật, khả năng tổng hợp axit amin của chúng khác nhau nhiều. Ví dụ, *leuconostoc mesenteroide* không có khả năng tổng hợp 16 axit amin cần thiết cho sự sinh trưởng của nó, bởi vậy nó chỉ tồn tại trong môi trường giàu axit amin có sẵn. Trong khi các vi khuẩn khác, chẳng hạn *E.coli* có thể tạo ra tất cả các axit amin cần thiết cho chúng từ ion amoni (NH_4^+). Mặc dù phần lớn vi sinh vật cần nitơ dạng khử (amoni), nhưng nhiều vi khuẩn và nấm, cũng như thực vật bậc cao có thể sử dụng nitrit và nitrat.

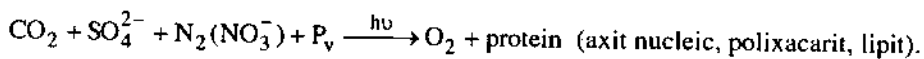
Động vật có xương sống bậc cao có thể tổng hợp được một số axit amin. Chẳng hạn, chuột bạch có khả năng tổng hợp được 10 trong số 20 axit amin cần thiết cho quá trình sinh tổng hợp protein. Những axit amin còn lại gọi là *axit amin không thay thế* thì động vật cần phải lấy từ nguồn thức ăn bên ngoài.

Đối với động vật nhai lại, chúng có thể sử dụng nitrit và nitrat nhờ vi khuẩn cộng sinh trong dạ cỏ và có khả năng khử hai chất trên thành amoni.

Sự tổng hợp axit amin là một quá trình rất phức tạp, gồm nhiều giai đoạn, được xúc tác bởi nhiều enzym. Con đường sinh tổng hợp axit amin thường khác với con đường phân giải chúng và có sự phân nhánh dẫn đến các sản phẩm riêng. Sự sinh tổng hợp phần lớn axit amin được điều hoà theo nguyên tắc *liên hệ ngược* nhờ các enzym điều hoà. Khi tế bào được cung cấp dồi dào axit amin từ nguồn bên ngoài, thì sẽ ức chế sự tổng hợp các enzym vốn xúc tác cho sự tạo thành các axit amin đó.

Các quá trình cơ bản dẫn đến sự tổng hợp axit amin đó là *sự cố định nitơ*, *sự khử nitrat* và *cố định amoni*. Ta cần xem xét các quá trình này trước khi tìm hiểu quá trình sinh tổng hợp axit amin.

Thực vật và vi sinh vật hàng năm hấp thụ 10^{12} tấn CO_2 , tạo ra những liên kết đặc trưng cho các cơ thể sống. Quá trình chung có thể biểu diễn ở sơ đồ sau :



Quá trình đầu tiên hấp thụ năng lượng là sự cố định CO_2 trong quang hợp, dẫn đến sự tổng hợp xacarit. Nitơ và lưu huỳnh cần cho sự tổng hợp axit amin có ở môi trường xung quanh dưới dạng SO_4^{2-} , N_2 và NO_3^- . Những nguyên tố này được khử thành dạng dễ trao đổi trước khi đưa vào axit amin. Từ các axit amin đã được tạo ra, do tác động tương hỗ với các sản phẩm trung gian của sự trao đổi xacarit, thực vật và nhiều vi sinh vật có thể tổng hợp toàn bộ 20 axit amin đặc trưng cho mọi cơ thể sống.

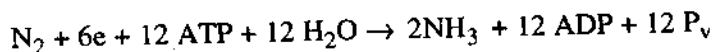
1. Sự cố định nitơ

Sự khử N_2 thành amoniac được gọi là *sự cố định nitơ*. Thực vật không thể khử nitơ nhưng nhờ một số vi sinh vật cộng sinh ở rễ (*Rhizopus*) chứa nitrogenaz có khả năng khử nitơ trong khí quyển và do đó làm giàu nitơ cho đất. Các hệ thống cố định nitơ, cộng sinh và quang hợp bảo

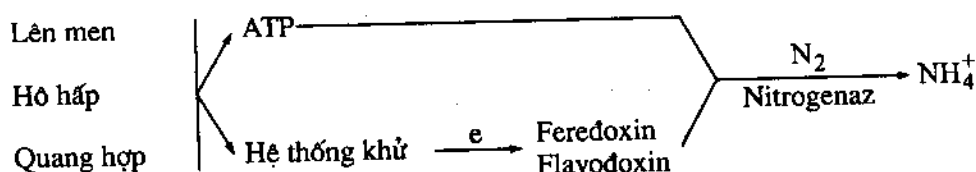
đảm hàng năm cố định khoảng 10^7 tấn nitơ, trong đó vai trò tảo xanh chiếm tỉ lệ 10 – 15% tổng số. Tảo xanh khử N_2 thành NH_3 nhờ hệ thống nitrogenaz giống như ở đa số các vi khuẩn.

Nitrogenaz có thể xúc tác sự khử các liên kết ba chứa trong phân tử của N_2 , NO_2 , NH_3 , HCN ...

Phương trình của sự cố định nitơ như sau :



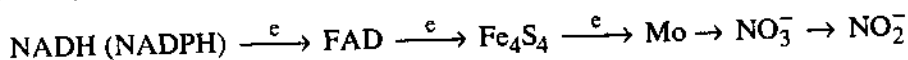
Sơ đồ chung của sự cố định nitơ là :



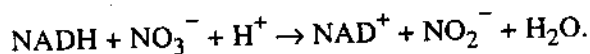
2. Sự khử nitrat

Nước mưa có chứa nitrat được tạo ra do sự phóng điện trong khí quyển. Các vi sinh vật khác nhau và phần lớn thực vật bậc cao có thể sử dụng nitrat làm nguồn nitơ và khử chúng thành NH_3 .

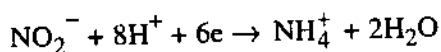
Quá trình khử nitrat bao gồm hai giai đoạn. Giai đoạn đầu được xúc tác bởi nitrat-reductaz xảy ra sự khử hai điện tử của nitrat thành nitrit. Chất cho điện tử ở tế bào vi khuẩn và thực vật là NADH, còn ở nấm mốc là NADPH. Nitrat-reductaz của nấm mốc và clorenla là flavoprotein. Con đường chuyển điện tử xảy ra như sau



Trong quá trình khử NO_3^- , xảy ra sự thay đổi hoá trị của Mo ($Mo^{5+} \rightarrow Mo^{4+}$). Phản ứng tổng quát được xúc tác bởi nitrat-reductaz của *E.coli* như sau :



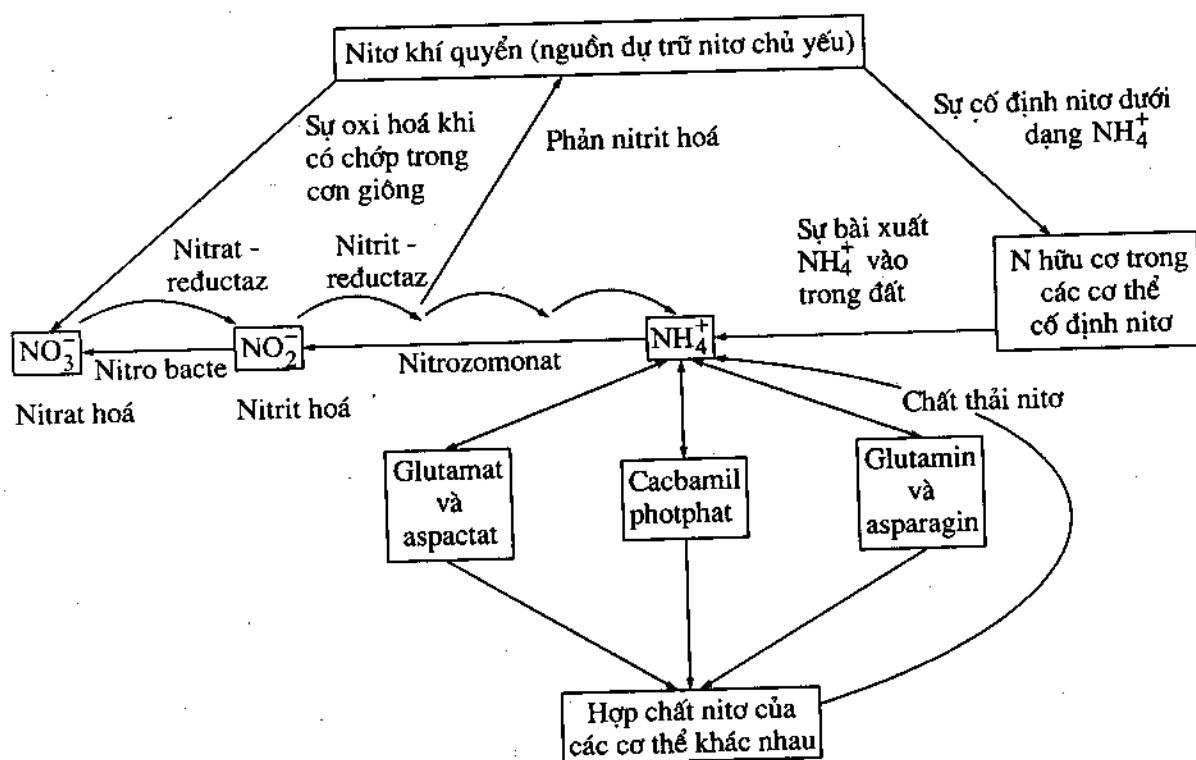
Giai đoạn hai của quá trình do nitrit-reductaz xúc tác thực hiện sự chuyển 6 điện tử :



3. Sự cố định amoni

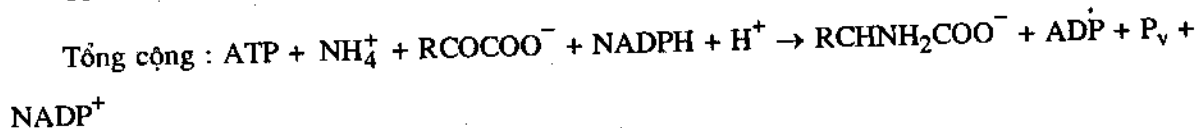
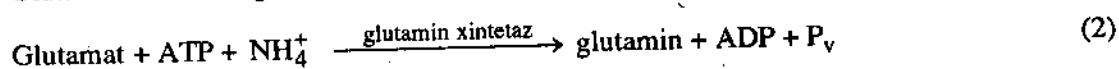
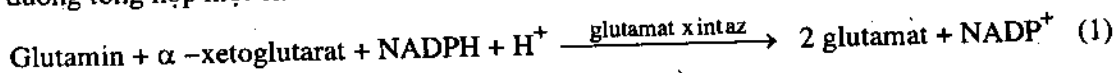
Amoni được đưa vào thành phần của các hợp chất hữu cơ do kết quả của ba phản ứng chủ yếu, đặc trưng cho tất cả các cơ thể sống. Những phản ứng này dẫn đến sự tạo thành glutamat, glutamin và cacbamil-phosphat. Cacbamil-phosphat biến đổi trong các phản ứng tiếp theo có thể tổng hợp pirimidin hoặc acinin. Glutamat và glutamin là nguồn chủ yếu cung cấp nguyên tử nitơ cho axit amin hay các hợp chất chứa nitơ khác. Chỉ trong một vài phản ứng thì amoni mới được sử dụng thay thế glutamin.

Trong thiên nhiên, nitơ biến đổi qua nhiều dạng, theo một chu trình có tính tuần hoàn gọi là chu trình nitơ (hình 96).



Hình 96 – Sơ đồ đơn giản của chu trình nitơ
Sự tạo thành NH_4^+ và sự gia nhập của chúng vào các hợp chất hữu cơ.

Trong thực tế, các phản ứng tổng hợp glutamat, glutamin và các phản ứng chuyển amin là con đường tổng hợp một chiều của tất cả axit amin :

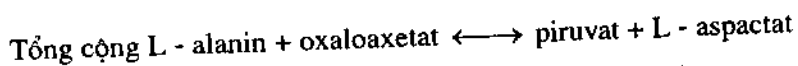
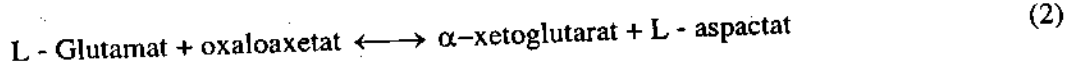
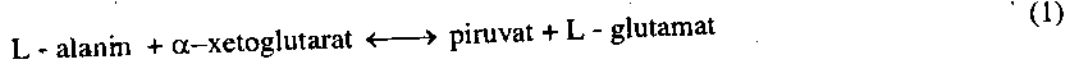


Bằng cách sử dụng các sản phẩm trung gian của sự trao đổi xacarit khi cố định NH_4^+ , tế bào thực vật có thể tổng hợp 18 axit amin còn lại theo phản ứng (3). Nhóm amin do sự cố định NH_4^+ trên α -xetoglutarat nhanh chóng và dễ dàng chuyển cho các axit amin khác. Bởi vậy glutamat có vai trò quan trọng trong quá trình cố định NH_4^+ và tổng hợp axit amin ở cơ thể thực vật.

Đối với động vật có vú, gan là cơ quan chính để tổng hợp các axit amin theo con đường chuyển amin.

Từ các hợp chất dễ hấp thu, qua các phản ứng rất đơn giản, cơ thể dị dưỡng sẽ tạo ra các axit amin thay thế. Còn các axit amin không thay thế thì bộ khung cacbon của chúng phải lấy từ bên ngoài qua thức ăn. Thông thường, thức ăn cung cấp cho động vật cả axit amin không thay thế và

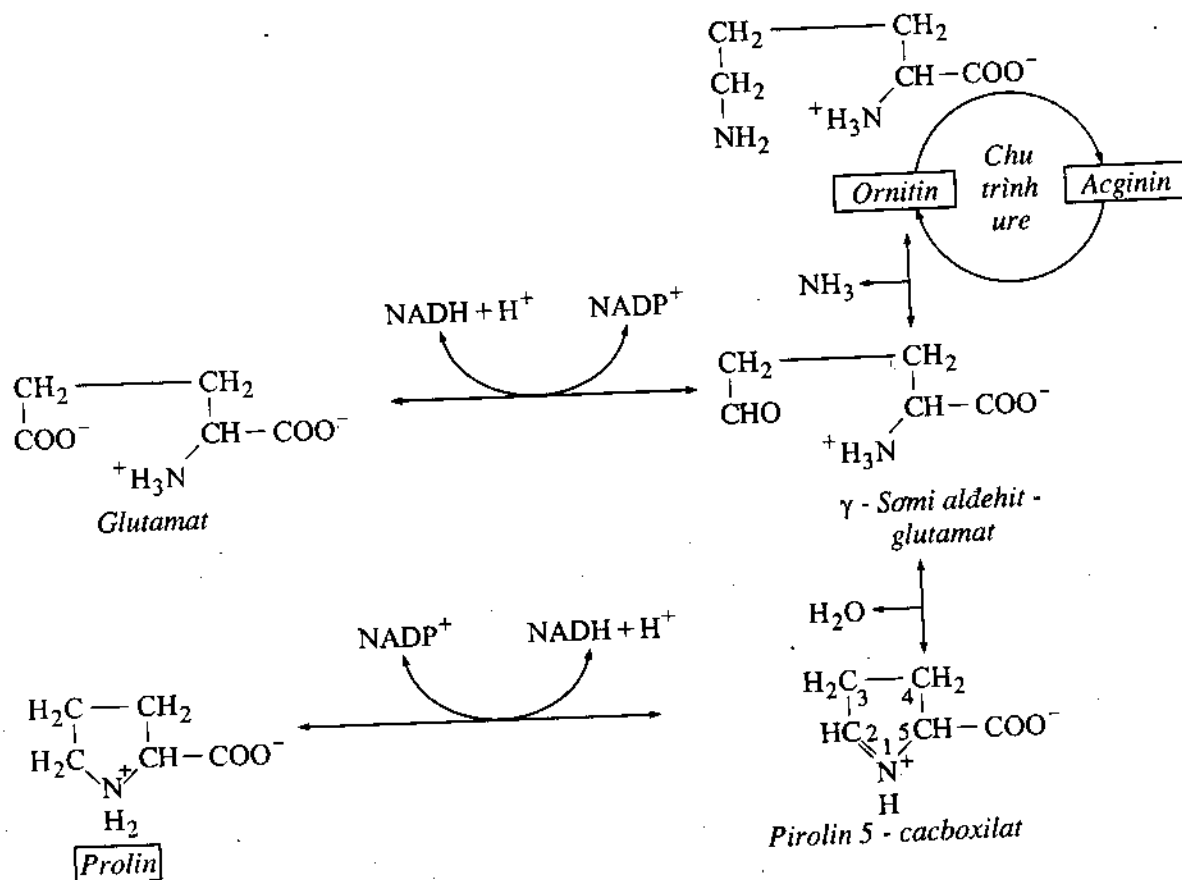
axit amin thay thế. Trong những điều kiện đó, cơ thể động vật không cần tổng hợp các axit amin thay thế nhưng phải phân phối lại nitơ amin, bảo đảm sự cân đối tối ưu về tỉ lệ axit amin cho quá trình đồng hoá. Ví dụ : Nếu thức ăn giàu alanin và nghèo aspartat, thì cần tạo thành nhiều aspartat :

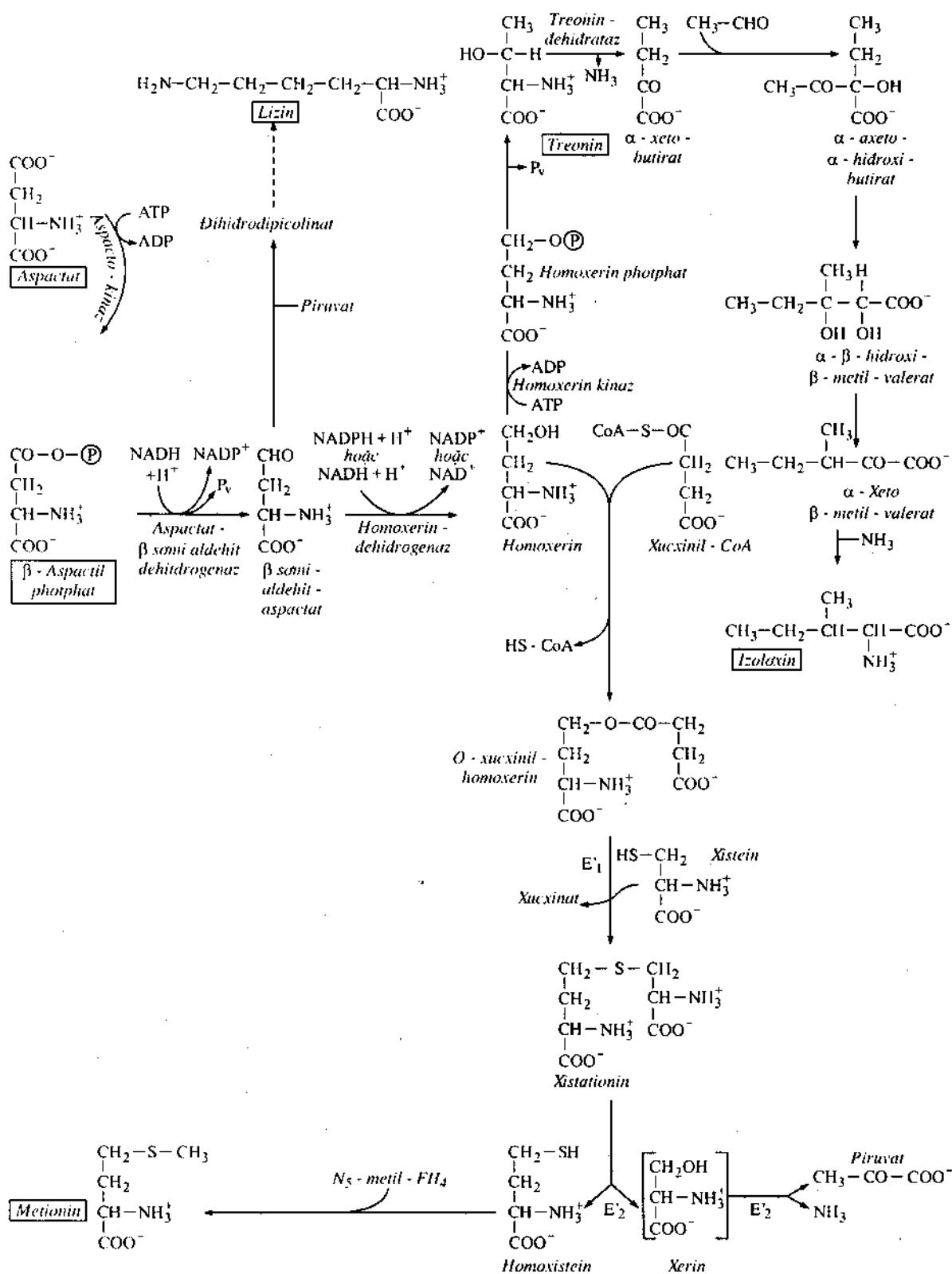


Dưới đây ta sẽ xem xét sự tổng hợp của một số axit amin

4. Sự tổng hợp một số axit amin

a) *Glutamat* : Con đường sinh tổng hợp axit amin này là chung cho mọi cơ thể sống. Như trên đã trình bày, glutamat được tạo thành từ amoni và α -xetoglutarat do tác động của L-glutamat-dehidrogenaz. Phản ứng này có ý nghĩa cơ bản đối với sự tổng hợp các axit amin trong mọi cơ thể. Bởi vì glutamat chuyển nhóm amin cho các α -xetoaxit, từ đó dẫn đến sự tổng hợp các axit amin khác. Các axit amin prolin, ornitin và acginin có thể được tạo thành từ glutamat qua các phản ứng sau :

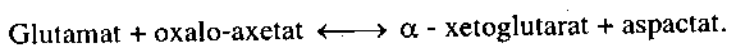
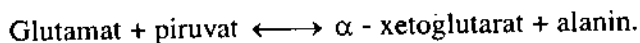




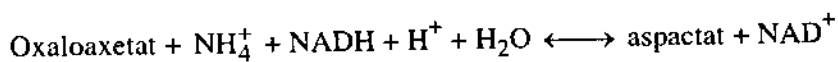
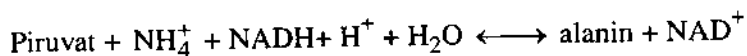
Hình 97 – Sơ đồ tổng hợp một số axit amin không thay thế : lizin, treonin, izoloxin và metionin.

(E₁, E₂ : Các enzym)

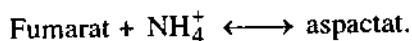
b) Alanin và aspartat : Phần lớn cơ thể tổng hợp alanin và aspartat từ piruvat và oxaloaxetat nhờ sự chuyển amin xúc tác bởi transaminaz :



Tuy nhiên ở một số thực vật và một số vi sinh vật, chúng được tạo ra bằng con đường amin hoá khử tương tự sự cố định NH_4^+ trên các xetoaxit tương ứng. (piruvat, oxalo-axetat) nhờ sự xúc tác của enzym alanin-dehydrogenaz và aspartat-dehydrogenaz :



Aspartat cũng có thể được tổng hợp bằng con đường amin hoá khử fumarat nhờ aspartaz:



Từ aspartat có thể tổng hợp nên axit α hoặc β -alanin hoặc tạo thành asparagin.

Như trên đã nêu : glutamat, alanin và aspartat rất dễ được tạo thành bằng con đường amin hoá các xetoaxit tương ứng do tác động của các dehydrogenaz. Sự tổng hợp các axit amin còn lại không theo con đường này. Chúng được tạo thành nhờ sự biến đổi tương hỗ từ các axit amin khác, hoặc khung cacbon của chúng được tạo thành từ một số sản phẩm của sự trao đổi xacarit (3-phosphoglixerat, piruvat, axetil CoA...). Chúng ta hãy xem xét sự tổng hợp của một số axit amin đó (hình 97).

III - SINH TỔNG HỢP PROTEIN

Một vấn đề lớn đặt ra khi nghiên cứu sự sinh tổng hợp protein đó là quá trình này rất *đặc thù*. Bằng cách nào cơ thể sống đã “xâu” lại trong các chuỗi polipeptit chứa hàng trăm “hạt” axit amin theo một trật tự đã cho mà không hề sai sót ? Nói cách khác, bằng cách nào một dãy liên tục các nucleotit trong phân tử axit nucleic lại được phản ánh chính xác trong một dãy liên tục các axit amin của phân tử protein ? Muốn trả lời các câu hỏi trên cần phải biết quá trình sinh tổng hợp cấu trúc bậc 1 của phân tử protein được chương trình hoá như thế nào.

A – CƠ CHẾ TRUYỀN ĐẠT THÔNG TIN DI TRUYỀN CỦA GEN

1. Luận thuyết trung tâm

Như đã biết, ADN nằm trong nhiễm sắc thể và trong nhân. Quá trình sinh tổng hợp protein lại diễn ra ở tế bào chất. Nếu thông tin được mã hoá trong ADN dùng để chỉ huy tổng hợp protein ở riboxom thì thông tin đó phải được chuyển từ nhân đến riboxom nhờ một chất chuyển trung

gian. Thực nghiệm đã cho thấy : hàm lượng ARN tăng cao khi trong tế bào đang diễn ra quá trình sinh tổng hợp protein. Ngày nay người ta đã biết rằng *thông tin di truyền* chứa trong ADN được sao lại trong ARN_{tt}. Chính ARN_{tt} là chất chuyển trung gian đã chỉ huy gắn các axit amin theo một trật tự nhất định, cho phép tổng hợp *protein đặc thù*. Quá trình này được gọi là *sự dịch mã*. Như vậy từ ADN đến protein có hai quá trình nối tiếp :

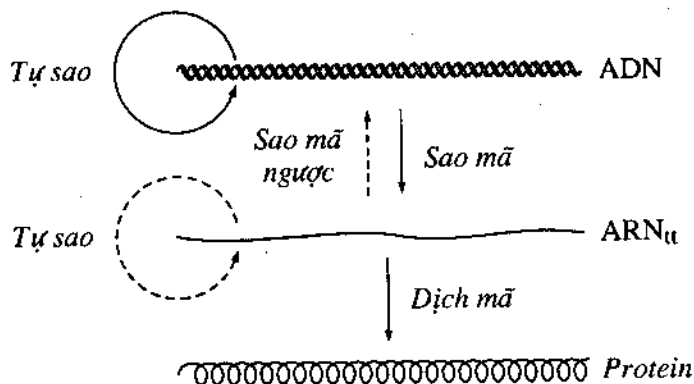


Vấn đề trên được Crick nêu lên trong “*luận thuyết trung tâm*” của sinh học phân tử, công bố vào năm 1958. Nội dung chủ yếu của luận thuyết là :

– Thông tin di truyền được giữ trong axit nucleic (ADN hoặc ở một số virus là ARN), có thể truyền theo hướng axit nucleic → protein, nhưng thông tin không thể truyền theo hướng ngược lại từ protein đến axit nucleic.

– Thông tin di truyền được sao trên ARN_{tt} chỉ có thể dùng để dịch ra protein mà không thể quay trở lại dùng làm vật liệu tổng hợp nên gen được.

Nhưng đến nay người ta đã khám phá ra quá trình *sao mã ngược* ở virus. Kết quả thực nghiệm thấy rằng : khi xâm nhập vào tế bào chủ, gen của virus gồm 1 chuỗi ARN được dùng làm khuôn để tổng hợp ADN 2 chuỗi hoặc tái tạo lại ARN bằng chính nguyên liệu và các enzym của tế bào chủ. Mặc dù sản phẩm của sự sao mã ngược, cũng như sự tái tạo ARN của virus không được tế bào sử dụng nhưng điều đó cũng chỉ ra rằng : nếu có những enzym thích hợp, hoàn toàn có thể truyền hoặc tái tạo lại thông tin giữa các dạng axit nucleic khác nhau và giống nhau. Cũng bởi những phát hiện trên, năm 1970 Crick đã phải bổ sung thêm cho “*luận thuyết trung tâm*” như hình bên .



Theo “*luận thuyết trung tâm*” của sinh học phân tử, thông tin của gen chứa trong axit nucleic có thể truyền cho hàng loạt thế hệ. Phổ biến cho hầu hết tế bào là thông tin truyền theo hướng : ADN → ADN ; ADN → ARN ; ADN → protein, hướng này được vẽ bằng đường liền đậm. Còn khả năng : ARN → ARN ; ARN → ADN chỉ đặc trưng cho gen của virus (xảy ra trong điều kiện đặc biệt khi tế bào bị nhiễm virus) thì được vẽ bằng các đường chấm.

2. Vai trò của các dạng axit nucleic trong quá trình sinh tổng hợp protein

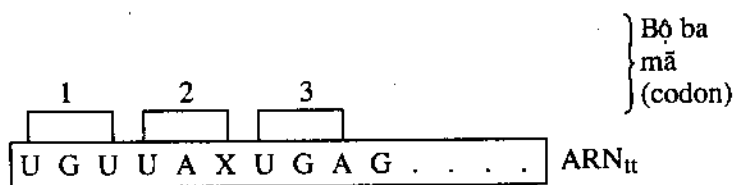
Như trên đã biết, sự sinh tổng hợp cấu trúc bậc một của phân tử protein phải trải qua hai quá trình : *sao mã* và *dịch mã*. Ta hãy xem xét vai trò và hoạt động của các dạng axit nucleic trong các quá trình này.

a) ADN : chứa thông tin di truyền, ngoài ra nó còn là khuôn để tổng hợp các dạng ARN.

Ở *E.coli*, tuyệt đại bộ phận nucleotit gen (hơn 99% ADN) dùng làm khuôn để tổng hợp ARN_{tt}, chỉ một phần rất nhỏ ADN là để tổng hợp ARN_{vc} và ARN_r.

b) ARN_{tt} : Ở procariot, các ARN_{tt} thường là polixistron, nghĩa là chúng được sao bởi nhiều gen (xistron) và chứa thông tin cần thiết cho sự tổng hợp nhiều protein. Mặt khác, ngoài các nucleotit làm nhiệm vụ mã hoá, trong phân tử ARN_{tt} còn chứa một số nucleotit không có nhiệm vụ mã hoá, nhưng có vai trò sắp xếp các phân tử đơn vị riboxom để nó có thể *mối* cho sự dịch mã ứng với axit amin đầu N.

Người ta đã tách được ARN_{tt} của globin ở hồng cầu để nghiên cứu. Những ARN_{tt} này bảo toàn được ít nhất trong một vài giờ. Bằng cách dùng ARN_{tt} đó làm khuôn, bổ sung riboxom và các yếu tố cần thiết khác vào hệ thống tổng hợp *in vitro*. Sau đó so sánh trình tự nucleotit của ARN_{tt} này với trình tự axit amin của phân tử protein tổng hợp được đã chứng tỏ rằng protein này phù hợp với ARN_{tt} xác định. Một trong những thành tựu rực rỡ nhất của sinh học hiện đại là sự khám phá ra *mật mã di truyền*. Thông tin di truyền lưu giữ trong phân tử ADN sẽ được "*chép*" lại bởi ARN_{tt}, nhưng nhờ cơ chế nào mà chỉ với 4 loại nucleotit của ARN_{tt} có thể đủ mã hoá cho 20 axit amin ? Thực tế là mã đơn, mã đôi đều không đủ để mã hoá cho tất cả các axit amin. Chỉ có mã bộ ba : $4 \times 4 \times 4 = 64$ bộ mã là thừa đủ mã hoá cho 20 axit amin. Như vậy, có nhiều axit amin được mã hoá bởi một số bộ mã, chẳng hạn valin có 4 ; acginin, loxin, xerin mỗi loại lại có tới 6 bộ mã. Do kém chuyên hoá hơn nên người ta gọi các bộ mã cùng mã hoá cho một axit amin là "*mã thoái hoá*". Bộ ba mã (*codon*) được xác định từ một điểm nhất định và về một phía trên mạch ARN_{tt}. Khi thay đổi một gốc baz nucleotit chỉ làm thay đổi duy nhất một axit amin. Chẳng hạn khi glutamat biến thành valin sẽ gây *bệnh thiếu máu hồng cầu hình liềm*. Như vậy, thuyết mã bộ ba được công nhận mà theo đó ta có thể hình dung trật tự của các bộ mã như sau :



Bằng con đường thực nghiệm, Nirenbe và Osoa (Nirenberg, Ochoa) (1961) đã khám phá được toàn bộ mật mã di truyền, đó là các bộ ba mã hoá cho 20 axit amin. Mặc dù nghiên cứu trên các đối tượng cơ thể bậc thấp như *E.coli* ; virút đốm thuốc lá, nhưng kết quả thu được cho phép các nhà khoa học khẳng định rằng *mã di truyền là chung cho toàn bộ sinh giới*, bao gồm cả động, thực vật bậc cao và con người. Kết quả của công trình nghiên cứu của Nirenbe được thu gọn trong một bảng gọi là "*từ điển mã di truyền*" dưới đây :

Bảng 21

“TỪ ĐIỂN MÃ DI TRUYỀN”

$1^{\circ} \backslash 2^{\circ}$	U	X	A	G	3°
U	Phe Phe Leu Leu	Ser Ser Ser Ser	Tyr Tyr Không mã hoá Không mã hoá	Cys Cys Không mã hoá Trp	U X A G
X	Leu Leu Leu Leu	Pro Pro Pro Pro	His His Gln Gln	Arg Arg Arg Arg	U X A G
A	Ile Ile Ile Met (F-Met)	Thr Thr Thr Thr	Asn Asn Lys Lys	Ser Ser Arg Arg	U X A G
G	Val Val Val Val (F-Met)	Ala Ala Ala Ala	Asp Asp Glu Glu	Gly Gly Gly Gly	U X A G

Trong bảng có ba ô trống tương ứng với các bộ mã UAA, UAG và UGA, đây là những “bộ mã vô nghĩa” vì không mã hoá cho một axit amin nào. Bởi vậy, thực tế chỉ có 61 bộ mã là có nghĩa. Những bộ mã vô nghĩa đóng vai trò là những tín hiệu kết thúc của một polipeptit đã hoàn thành hoặc “dấu chấm câu” khi một “câu” đã hoàn chỉnh. Quá trình tổng hợp protein sẽ dừng lại khi đến bộ mã kết thúc và chỉ khởi động tiếp khi tới bộ mã khởi đầu. Bộ mã khởi đầu là AUG dùng để mã hoá cho metionin.

c) ARN_{vc} : Người ta đã chứng minh rằng ARN_{vc} đóng vai trò là “chất thích ứng” vì cùng một lúc thực hiện hai chức năng : nhận ra cả mã lẫn axit amin phù hợp. Mỗi ARN_{vc} chỉ có thể kết hợp với một axit amin phù hợp với đối mã của nó. Trong nhiều trường hợp, một số ARN_{vc} khác nhau nhận ra cùng một axit amin phù hợp, nói cách khác : một axit amin có một số ARN_{vc} tương ứng.

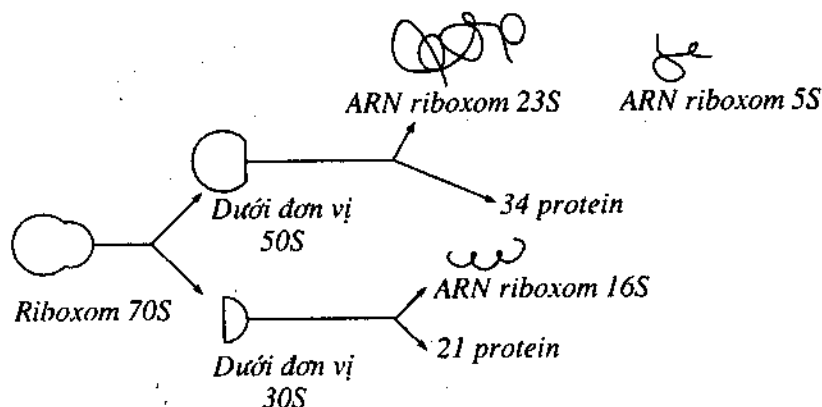
d) ARN_r : Kết hợp với protein để tạo thành riboxom là nơi diễn ra quá trình sinh tổng hợp protein.

3. Địa điểm sinh tổng hợp protein

Sự tổng hợp protein diễn ra chủ yếu trong các riboxom. Riboxom có thể xem như một nhà máy nhỏ gồm hai dưới đơn vị kết hợp với nhau : dưới đơn vị 30S và 50S.

Mỗi dưới đơn vị lại chứa các ARN_r khác nhau và nhiều loại protein. Chúng khác nhau về độ lắng. Ở loài procariot có dưới đơn vị 50S và dưới đơn vị 30S.

Đối với các protein của riboxom, người ta mới biết có một loại nằm ở dưới đơn vị 50S, đó là enzym có vai trò xúc tác tạo thành liên kết peptit trong quá trình tổng hợp protein (peptidyltransferaz). Dưới đây giới thiệu sơ đồ cấu trúc của riboxom ở vi khuẩn :



Các dưới đơn vị 30S và 50S ở loài procariot khi tương tác với nhau, chúng tạo thành riboxom 70S. Tương ứng như vậy ở loài eucariot có dưới đơn vị 40S và 60S, chúng hợp thành riboxom 80S.

Cần lưu ý rằng, riboxom cũng giống như protein nhiều thành phần, chúng dễ dàng tách rời nhau thành các dưới đơn vị cũng như tập hợp lại một cách nhanh chóng.

Khi diễn ra sự tổng hợp protein, ở riboxom tạo thành hai khu chức năng khác nhau. Khu A (aminoaxil) là khu nhận aminoaxil-ARN_{vc} mới đưa vào. Khu P (peptidil) chứa peptidil-ARN_{vc} mang chuỗi polipeptit đang được tổng hợp lúc đó.

ARN_{tt} tương tác với riboxom theo cách : trong số 10 bộ mã của ARN_{tt} có mặt trong riboxom, chỉ có 2 bộ mã là trực tiếp tham gia kết đôi bổ sung với đối mã của ARN_{vc}, còn 8 bộ mã là để tương tác với dưới đơn vị 30S của riboxom.

Trong khi đó ARN_{vc} tương tác với riboxom như sau : đầu đối mã (anticodon) tương tác với ARN_{tt} ở dưới đơn vị 30S còn đuôi mang axit amin lại nằm ở dưới đơn vị 50S. Phản ứng chuyển peptidil diễn ra ở dưới đơn vị 50S của riboxom.

B – CƠ CHẾ SINH TỔNG HỢP PROTEIN TRÊN RIBOXOM

Sự giải mã ARN_{tt} thành trình tự chuỗi polipeptit gồm bốn giai đoạn :

- Giai đoạn hoạt hoá axit amin
- Giai đoạn khởi đầu tổng hợp chuỗi polipeptit
- Giai đoạn kéo dài chuỗi polipeptit
- Giai đoạn kết thúc chuỗi polipeptit và tách khỏi riboxom.

1. Giai đoạn hoạt hoá axit amin

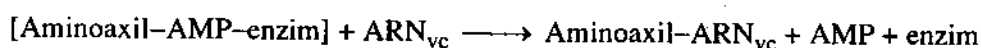
Axit amin được hoạt hoá bằng cách gắn với ARN_{vc} riêng của nó. Quá trình này gồm hai phản ứng, được xúc tác bởi cùng một enzym đặc hiệu đối với mỗi axit amin, đó là các aminoaxil-ARN_{vc}-xintetaz. Enzym này chỉ nhận biết một axit amin và tất cả các kiểu ARN_{vc} mà nó có thể kết hợp. Như vậy, có 20 axit amin thì cũng có 20 enzym khác nhau.

Trong phản ứng thứ nhất, axit amin kết hợp với ATP tạo ra amino axil-AMP kèm theo giải phóng gốc pyrophosphat (phản ứng này tương tự với phản ứng hoạt hoá axit béo tạo nên axil-AMP):

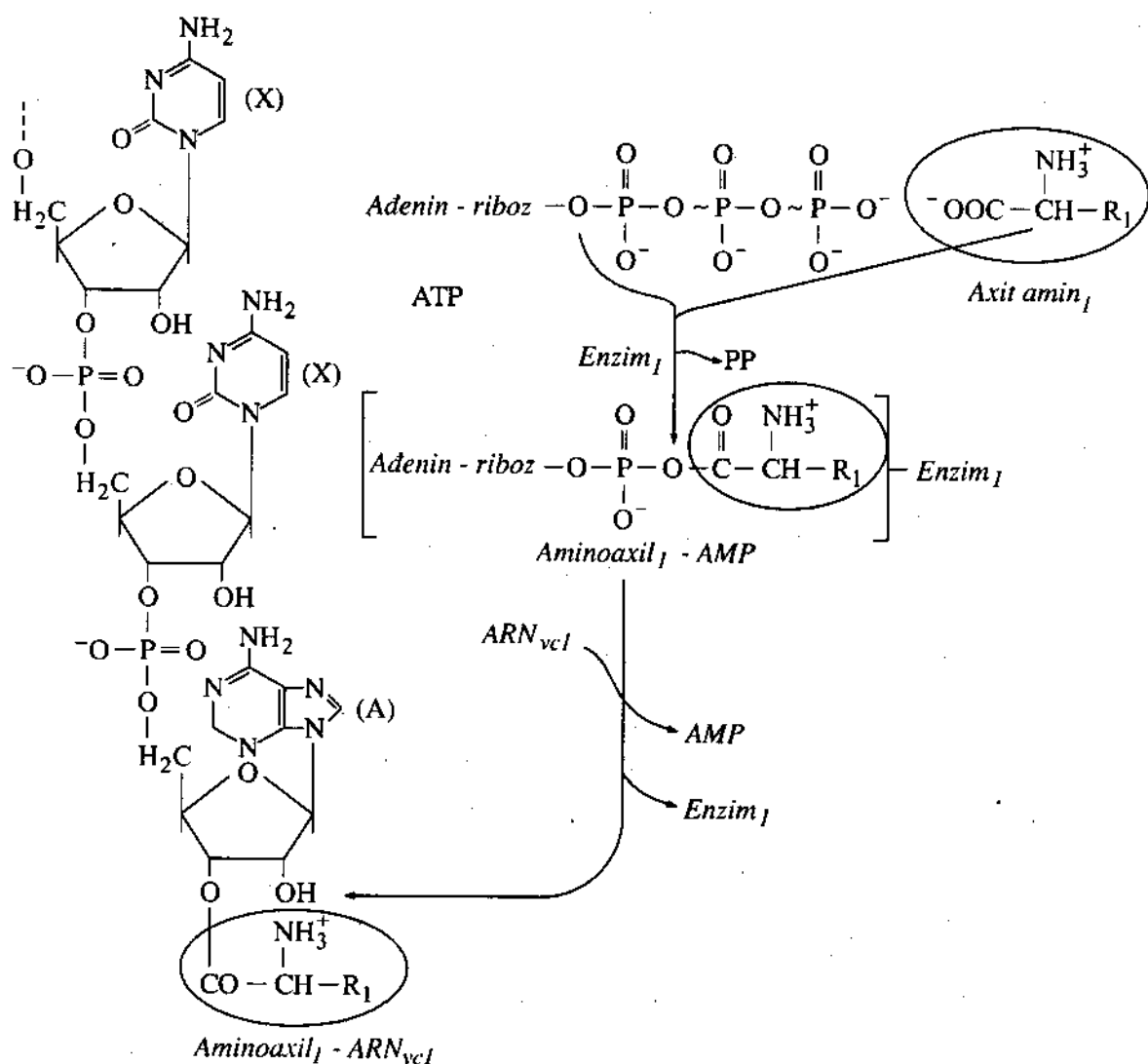


Hợp chất trên là một anhidrit hỗn tạp tạo bởi nhóm cacboxil của axit amin và một gốc photphat. Hợp chất này gắn với enzym trở nên rất hoạt động, có khả năng phản ứng cao.

Trong phản ứng thứ hai nó sẽ phân li, cho phép axit amin gắn với ARN_{vc} bằng liên kết este tạo bởi nhóm COO^- của axit amin và nhóm $3'\text{-OH}$ hoặc $2'\text{-OH}$ của ARN_{vc} tạo thành aminoaxil- ARN_{vc} :



Các phản ứng trong giai đoạn này được khái quát trong sơ đồ sau (hình 98).



Hình 98 - Sự hoạt hoá axit amin và sự tạo thành aminoaxil- ARN_{vc}

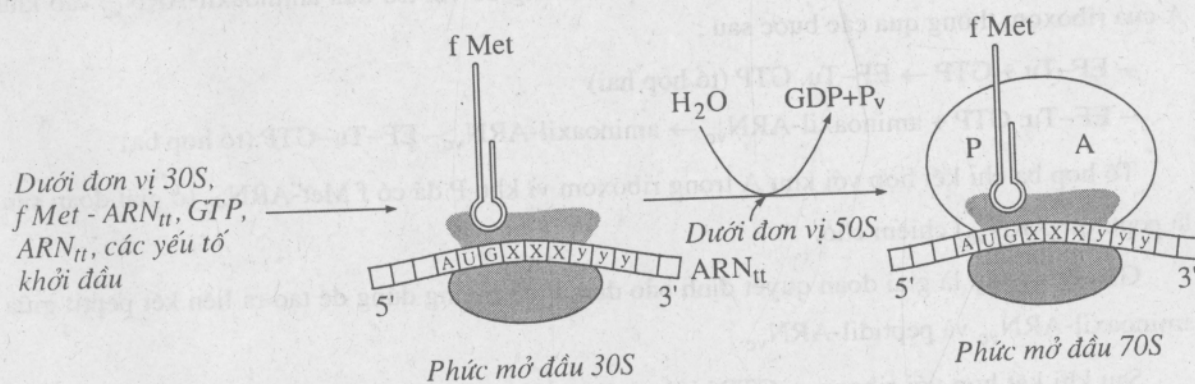
2. Giai đoạn khởi đầu tổng hợp chuỗi polipeptit

Cần có hai điều kiện để thực hiện sự khởi đầu tổng hợp chuỗi. Một là trên ARN_{tt} có một *khuvực* không mã hoá, đó là những dấu hiệu kết hợp với riboxom mở đầu cho vùng mã hoá. Hai là có bộ mã khởi đầu AUG làm điểm xuất phát. (Ở vi khuẩn đôi khi thấy mã khởi đầu GUG thay cho AUG).

Như ta đã biết bộ mã AUG mã hoá cho metionin. Nghiên cứu ở *E.coli* người ta thấy có hai loại ARN_{vc} đối với metionin : một là ARN_{vc} nhận gốc metionin để đưa vào thành phần của chuỗi polipeptit Met- ARN_{vc} , hai là ARN_{vc} nhận gốc formil-metionin (f Met- ARN_{vc}) có vai trò quan trọng trong việc khởi đầu tổng hợp chuỗi polipeptit.

Ở procariot, nhóm amin của metionin có thể được formil hoá bởi axit N^{10} formil-tetrahydrofolic nhờ trans-formilaz đặc hiệu. Do nhóm amin đã bị gốc formil bao vây nên không cho phép nó tham gia vào quá trình kéo dài chuỗi, mà chỉ tham gia vào quá trình khởi đầu tổng hợp protein. Các số liệu thực nghiệm xác định rằng ở *E.coli* hầu hết các phân tử protein đều có axit amin đầu N là metionin hoặc formilmetionin. Những trường hợp khác không có là do kết quả của sự tách nhóm formil bởi các deformilaz, hoặc ngay cả metionin cũng bị tách ra bởi các aminopeptidaz, khi đó axit amin R_2 sẽ trở thành axit amin đầu N.

Ở procariot, ngoài các yếu tố tham gia khởi đầu tổng hợp protein như f Met- ARN_{vc} ; ARN_{tt} ; các dưới đơn vị riboxom 30S và 50S ; GTP, còn có 3 protein nữa (thường không có trong riboxom) là các yếu tố khởi đầu* : IF₁ (M 9000), IF₂ (M 65000 – 80000) và IF₃ (M 29000). Kết quả của giai đoạn này là tạo thành *phức hợp khởi đầu* [f Met – ARN_{vc} – ARN_{tt} – riboxom 70S] (hình 99).



Hình 99 – Giai đoạn khởi đầu sinh tổng hợp protein.
(xxx, yyy là các bộ mã khác nhau).

Vậy ARN_{tt} và fMet- ARN_{vc} được đưa tới riboxom để khởi đầu tổng hợp protein như thế nào ? Trước tiên, dưới đơn vị riboxom 30S tạo phức hợp với 3 yếu tố khởi đầu IF₁, IF₂ và IF₃. Sau đó GTP gắn với IF₂, cho phép ARN_{tt} và fMet- ARN_{vc} gắn vào phức hợp trên, đồng thời giải phóng

* Yếu tố khởi đầu : Initiation factor.

IF3. Yếu tố IF2 được coi là có vai trò nhận biết đặc biệt đối với fMet-ARN_{vc}, còn IF3 tách khỏi phức hợp lại tạo điều kiện để phức hợp gắn với dưới đơn vị riboxom 50S. Kết quả ở giai đoạn này tạo ra phức hợp khởi đầu 30S.

Sự thủy phân GTP (nối với IF2) đã giải phóng IF1, IF2 ra khỏi phức hợp. Người ta chưa biết chính xác vai trò của IF1, có thể nó tham gia vào việc đổi mới chu trình bằng cách góp phần giải phóng IF2 ra khỏi phức hợp. Cuối cùng dưới đơn vị 50S kết hợp với dưới đơn vị 30S, tạo ra phức hợp riboxom 70S. Sự tạo thành phức hợp khởi đầu 70S là dấu hiệu cho biết riboxom đã sẵn sàng đi vào giai đoạn kéo dài của sự tổng hợp protein. Trong riboxom 70S có 2 khu liên kết với ARN_{vc} là khu P và khu A. Vấn đề quan trọng là : fMet-ARN_{vc} được sắp xếp ở vị trí nào để đối mã của nó khớp với bộ mã mở đầu AUG hoặc GUG trên ARN_{tt}. Lúc này fMet-ARN_{vc} chiếm ở khu P, có đối mã là 3'-U-A-X-5' liên kết bổ sung tạm thời với mã của metionin là 5'-A-U-G-3'.

Ở eucariot, quá trình tổng hợp polipeptit trong tế bào chất có ARN_{vc} khởi đầu cũng mang metionin nhưng không được formil hoá. Ở đây cũng có các phản ứng với các yếu tố khởi đầu eIF₁, eIF₂, eIF₃ tương tự như ở procariot.

3. Giai đoạn kéo dài chuỗi polipeptit

Axit amin thứ hai, do mã tiếp theo của ARN_{tt} quy định, gắn với ARN_{vc} riêng của nó [AA₂ - ARN_{vc}] sẽ được đưa vào phức hợp khởi đầu ở khu A, nơi mã tiếp theo vừa được sắp xếp. Giai đoạn này cần GTP và các yếu tố kéo dài* chuỗi. Ở procariot yếu tố kéo dài là EF-T, (gồm hai bộ phận hợp thành là EF-Tu và EF-Ts). Yếu tố này ở eucariot là eEF-1. Các yếu tố này là những protein : EF-Tu (M 43000), EF-Ts (M 74000). Chúng có vai trò đưa aminoaxil-ARN_{vc} vào khu A của riboxom thông qua các bước sau :

- EF-Tu + GTP → EF-Tu. GTP (tổ hợp hai)

- EF-Tu. GTP + aminoaxil-ARN_{vc} → aminoaxil-ARN_{vc}- EF-Tu-GTP (tổ hợp ba)

Tổ hợp ba chỉ kết hợp với khu A trong riboxom vì khu P đã có f Met-ARN_{vc} (ở giai đoạn sau là peptidil-ARN_{vc}) chiếm chỗ.

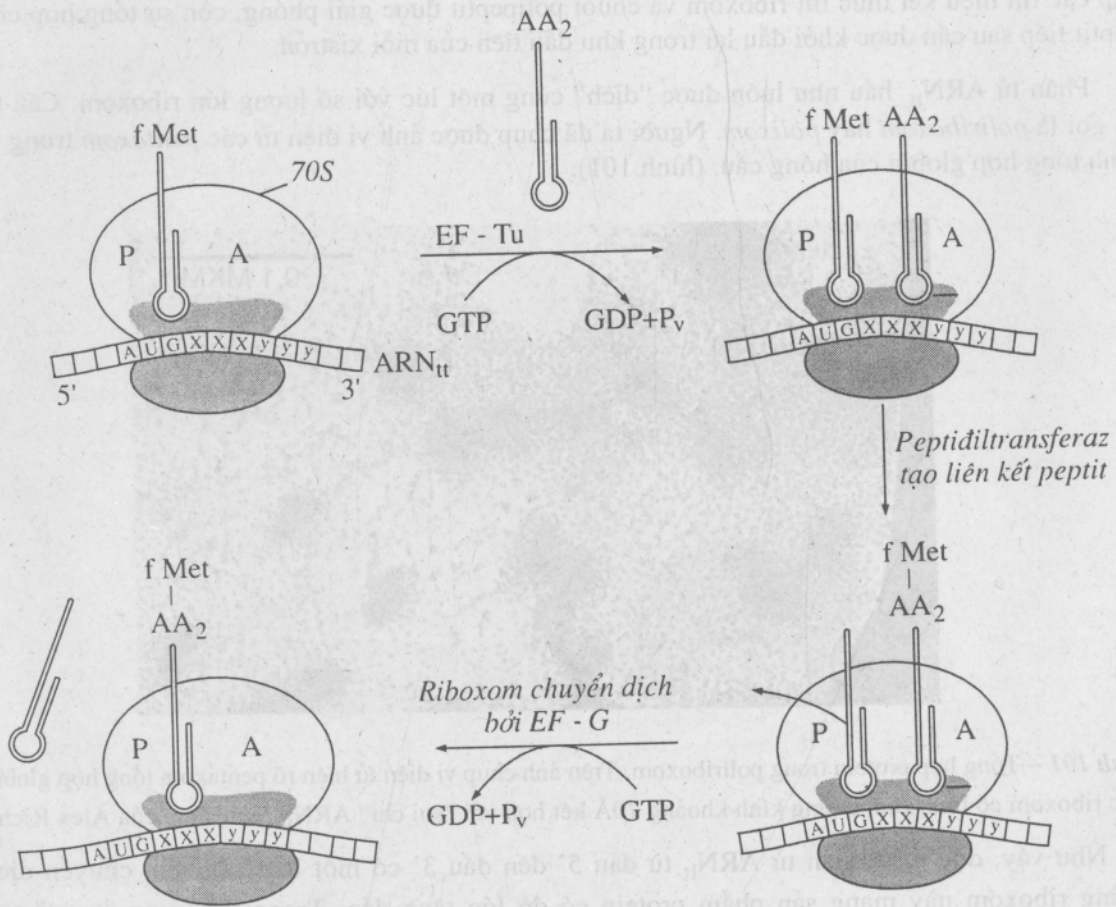
Giai đoạn này là giai đoạn quyết định bảo đảm định hướng đúng để tạo ra liên kết peptit giữa aminoaxil-ARN_{vc} và peptidil-ARN_{vc}.

Sau khi kết hợp với riboxom, GTP bị thủy phân đồng thời giải phóng tổ hợp EF-Tu-GDP ra khỏi riboxom. Phức hợp EF-Tu-GDP khi tác động tương hỗ với EF-Ts và GTP sẽ lại biến thành EF-Tu-GTP. Do đó nó lại có thể tương tác với aminoaxil-ARN_{vc} tiếp theo. Các nghiên cứu cho thấy là số lượng yếu tố EF-Tu bằng khoảng số lượng phân tử aminoaxil-ARN_{vc}. Từ đó người ta nhận thấy rằng phần lớn các aminoaxil-ARN_{vc} là nằm trong thành phần tổ hợp ba chứ không phải ở trạng thái tự do.

* Yếu tố kéo dài : elongation factor.

Ở dưới đơn vị riboxom 50S, trong trung tâm chuyển peptidil diễn ra sự chuyển gốc formilmethionin (ở giai đoạn sau là gốc peptidil) cho nhóm amin của phức $AA_2 - ARN_{vc}$. Sự tổng hợp liên kết peptit được thực hiện nhờ enzym *peptidil transferaz*. Kết quả của quá trình trên tạo ra một *dipeptit*. Trong thời điểm này, mạch dipeptit (một đầu gắn với ARN_{vc} đưa vào sau) còn nằm ở khu A.

Phản ứng tiếp theo cần có sự tham gia của GTP và một yếu tố kéo dài khác là EF-G (ở eucariot là eEF-2). Yếu tố EF-G, là một trong những protein cơ bản của tế bào, nó có khối lượng phân tử 72000. Mỗi riboxom cần có khoảng 1 phân tử của yếu tố này. Yếu tố EF-G khi kết hợp với riboxom góp phần tạo cho riboxom chuyển dịch một khoảng cách bằng một bộ mã trên phân tử ARN_{tt} . Khi đó dipeptidil- ARN_{vc} chuyển từ khu A sang khu P, ARN_{vc} của formilmethionin được giải phóng, còn GTP thủy phân thành GDP và P_v . Chu trình lại được tiếp tục khi bổ sung axit amin tiếp theo $AA_3 - ARN_{vc}$. Qua mỗi giai đoạn, chuỗi polipeptit kéo dài thêm một axit amin (hình 100).



Hình 100 – Chu trình kéo dài trong sinh tổng hợp protein.

(Theo Philip W. Kuchel, Gregory B. Ralston, Biochemistry 2nd. McGraw-Hill, 1998).

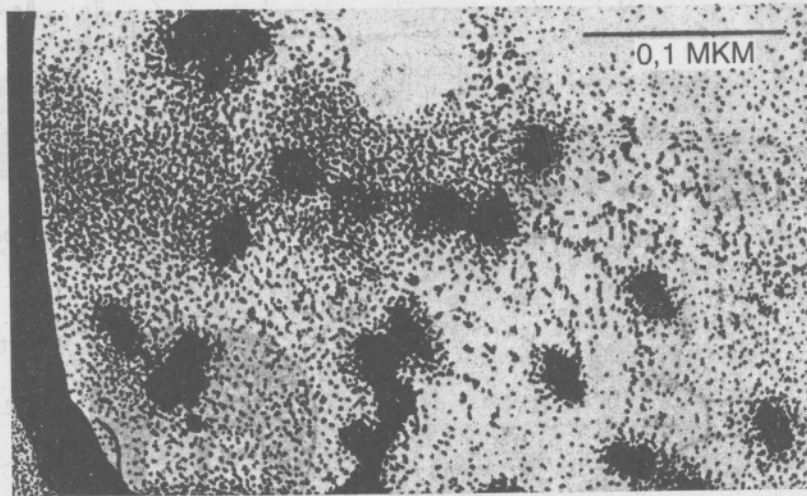
4. Giai đoạn kết thúc tổng hợp polipeptit

Sự kết thúc chuỗi polipeptit xảy ra khi có dấu hiệu kết thúc, đó là một hay một vài bộ mã trong số những bộ mã sau : UAA, UAG và UGA. Sự xuất hiện của các bộ mã này ở bất kì chỗ nào cũng dẫn đến làm ngừng sự kéo dài, giải phóng chuỗi polipeptit. Sau khi thủy phân liên kết giữa chuỗi peptit và ARN_{vc} ở khu P, cả chuỗi peptit và ARN_{vc} đều rời khỏi riboxom. Sau đó riboxom bị phân li thành các dưới đơn vị 30S và 50S rồi nhập vào kho dự trữ riboxom.

Sự nhận biết các bộ mã kết thúc được thực hiện bởi các yếu tố kết thúc*. Đó là các protein, ở procariot là RF1 (M 40000) nhận biết bộ mã UAA và UAG và RF₂ (M 47000) nhận biết mã UAA và UGA. Ở eucariot chỉ có một yếu tố kết thúc đó là eRF. Rõ ràng là để thực hiện phản ứng giải phóng chuỗi polipeptit thì polipeptidil – ARN_{vc} phải nằm ở khu P, còn các yếu tố kết thúc tương tác với khu A của riboxom. Cho tới hiện nay người ta vẫn chưa biết cơ chế nào khiến cho riboxom tách khỏi ARN_{tt} . Có giả thiết cho rằng có thể sự phân li này là do những thay đổi cấu hình do protein RF gây nên.

Thường phân tử ARN_{tt} chứa thông tin về một số protein. Mỗi protein này được mã hoá ở một khu của ARN_{tt} . Các ARN_{tt} như vậy được coi là các khuôn *polixistron*. Trong trường hợp này khi gặp các tín hiệu kết thúc thì riboxom và chuỗi polipeptit được giải phóng, còn sự tổng hợp chuỗi peptit tiếp sau cần được khởi đầu lại trong khu đầu tiên của mỗi xistron.

Phân tử ARN_{tt} hầu như luôn được “dịch” cùng một lúc với số lượng lớn riboxom. Cấu trúc đó gọi là *poliriboxom* hay *polixom*. Người ta đã chụp được ảnh vi điện tử các *pentaxom* trong quá trình tổng hợp globin của hồng cầu. (hình 101).



Hình 101 – Tổng hợp protein trong poliriboxom. Trên ảnh chụp vi điện tử hiện rõ pentaxom tổng hợp globin. Các riboxom có hình cầu, đường kính khoảng 70Å kết hợp với “sợi chỉ” ARN_{tt} (ảnh chụp của Alex Rich).

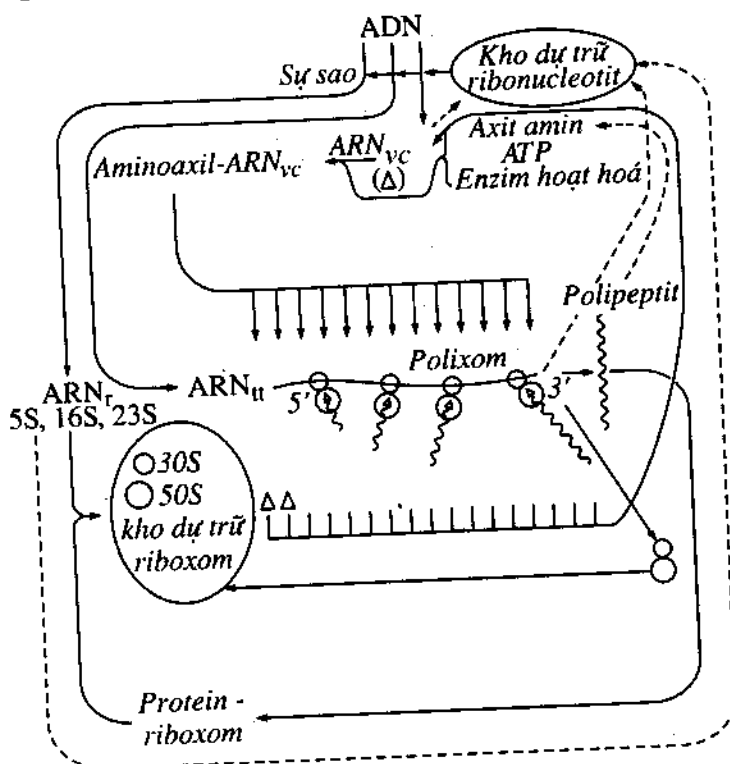
Như vậy, dọc theo phân tử ARN_{tt} từ đầu 5' đến đầu 3' có một loạt riboxom chuyển dịch. Những riboxom này mang sản phẩm protein có độ lớn tăng dần. Trong thời gian “trượt” trên ARN_{tt} , mỗi một riboxom chỉ tổng hợp một chuỗi polipeptit. Ở vi khuẩn, quá trình “dịch” xảy ra

* Yếu tố kết thúc : release factor.

sớm trước khi sự sao mã hoàn tất. Riboxom có thể gắn ngay vào một đầu của phân tử ARN_{tt} đang được tổng hợp. Vì vậy người ta có thể quan sát thấy polixom liên kết với ADN.

Độ lớn của polixom tương ứng với độ lớn của phân tử ARN_{tt} và hiệu quả tổng hợp của riboxom. Ở vi khuẩn có hàng chục riboxom đồng thời tham gia quá trình "dịch". Ở ôcariot thì ít hơn, nhưng ít nhất cũng có mười riboxom kết hợp cùng một lúc với ARN_{tt} .

Từ các vấn đề nêu trên ta có nhận xét rằng : quá trình sinh tổng hợp protein vô cùng phức tạp, bao gồm sự tham gia của rất nhiều yếu tố. Người ta đã xác định có tới hàng trăm yếu tố tham gia vào quá trình sinh tổng hợp protein trong tế bào (hình 102).



Hình 102 – Sơ đồ tổng quát các yếu tố chính tham gia quá trình sinh tổng hợp protein. Các phản ứng phân giải (của axit ribonucleic và của protein) biểu thị bằng các đường chấm.

Về mặt năng lượng, quá trình sinh tổng hợp protein là một quá trình thu năng lượng. Ở vi khuẩn cũng như ở Ôcariot, nhu cầu năng lượng cho quá trình là rất lớn. Để đưa một axit amin vào chuỗi polipeptit cần tiêu hao 3 liên kết cao năng :

- 1 ATP cho hoạt hoá axit amin ở giai đoạn đầu.
- 1 GTP để đưa aminoaxil- ARN_{vc} (trong tổ hợp ba) vào khu A của riboxom.
- 1 GTP cần để riboxom di chuyển một bộ mã trên ARN_{tt} .

Do giai đoạn khởi đầu còn cần 1 GTP tham gia, nên để tổng hợp liên kết peptit đầu tiên phải sử dụng tới 4 liên kết cao năng.

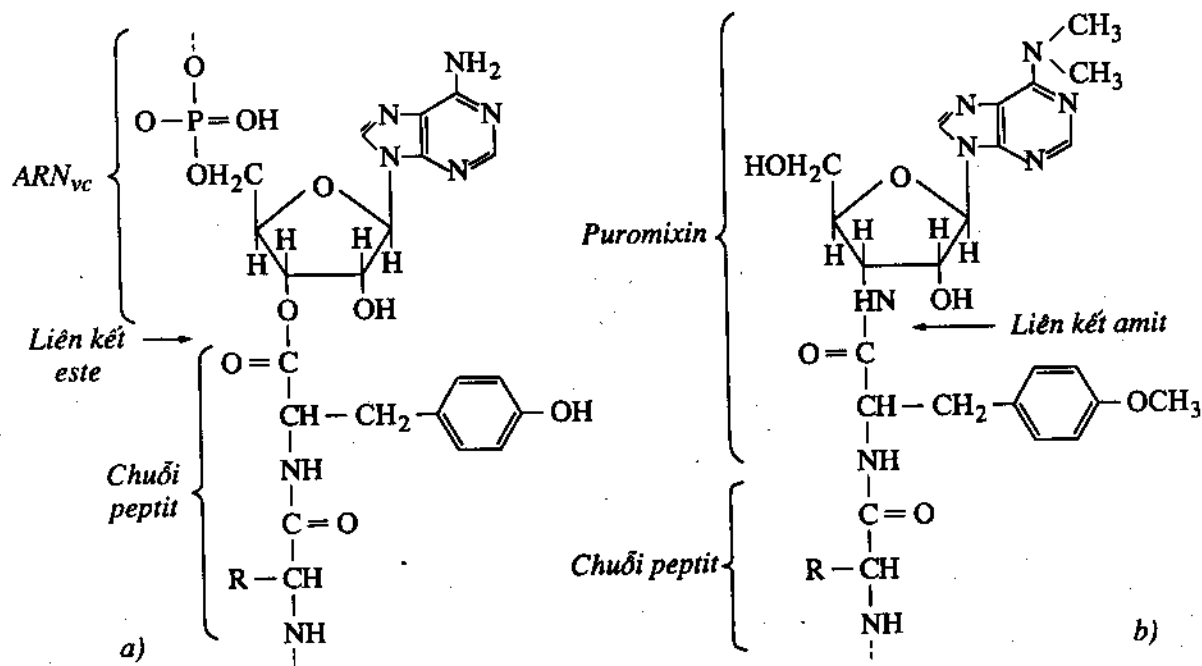
Người ta cho rằng phân tử GTP tham gia vào quá trình này có hai chức năng : một là tạo cấu hình thích hợp cần thiết cho sự tương tác tiếp theo ; hai là bảo đảm năng lượng để riboxom di chuyển trên ARN_{tt} .

Về mặt tốc độ, quá trình tổng hợp protein xảy ra rất nhanh và phụ thuộc vào nhiệt độ. Đối với vi khuẩn ở 37°C trong 1 giây, chuỗi polipeptit tăng từ 12 đến 17 axit amin. Bởi vậy, để tổng hợp 1 phân tử protein trung bình có độ lớn 300 axit amin thì mất khoảng 20 giây. Trong các tế bào *σ*cariot, tốc độ tổng hợp chậm hơn, ví dụ trong tế bào hồng cầu lưới ở 37°C, tốc độ kéo dài chuỗi peptit là 2 axit amin trong 1 giây. So với tốc độ giai đoạn kéo dài chuỗi thì giai đoạn khởi đầu và kết thúc xảy ra chậm chạp hơn.

5. Sự kìm hãm tổng hợp protein

Một số chất kháng sinh có vai trò ngăn cản sự kéo dài chuỗi polipeptit tổng hợp, ví dụ như puromixin, cloramphenicol, streptomixin v.v..

Puromixin có cấu tạo tương tự aminoaxil-ARN_{vc}. Bởi vậy nó đã thay thế aminoaxil – ARN_{vc} trong phản ứng chuyển peptidil để tạo thành peptidil-puromixin và tách rời khỏi riboxom. Như vậy, chất kháng sinh đã kìm hãm sự kéo dài của chuỗi peptit bình thường, tạo ra chuỗi peptit không hoàn chỉnh có đầu cacboxil là puromixin và bị gạt ra khỏi riboxom.



Hình 103 – Cấu trúc của một peptidil-ARN_{vc} (a) và một peptidil puromixin (b).

C – ĐIỀU HOÀ SINH TỔNG HỢP PROTEIN

1. Sự cảm ứng và sự ức chế được kiểm tra bằng các phân tử nhỏ

Ngay từ đầu thế kỉ XX người ta đã biết rằng các enzym xác định của nấm men chỉ được tạo ra trong tế bào khi nuôi cấy chúng trên những cơ chất nhất định và gọi chúng là những “enzim cảm ứng”. Sự cảm ứng đã được nghiên cứu ở vi khuẩn, nhất là ở *E*-coli, nơi có hệ thống gen lactoz.

Khi cấy tế bào vào môi trường không có hoặc thiếu lactoz thì trong tế bào chỉ có rất ít (dưới 5) phân tử galactozidaz. Chức năng của enzym này là phân giải lactoz thành glucos và galactoz dùng làm nguồn cung cấp cacbon và năng lượng cho tế bào. Khi thiếu lactoz thì tế bào không có nhu cầu về enzym này.

Khi bổ sung lactoz thì trong tế bào vi khuẩn hoạt tính của enzym nói trên tăng lên rất nhanh do kết quả tổng hợp các phân tử enzym mới. Sau 2 đến 3 phút đạt tới trên 5000 phân tử trong một tế bào (trong những điều kiện nhất định, chúng có thể chiếm từ 5 đến 10% tổng số protein hoà tan trong tế bào). Nhưng điều đó sẽ không xảy ra nếu trong môi trường cùng một lúc có cả cơ chất lactoz và glucos. Như vậy, glucos đã ức chế sự tổng hợp các enzym trao đổi lactoz. Khi tách cơ chất khỏi môi trường thì sự tổng hợp enzym cũng ngừng nhanh như lúc bắt đầu.

Phản ứng như vậy cũng được sử dụng để ngắt hoặc ức chế sự tổng hợp các hợp chất nội sinh khi chúng xuất hiện đột ngột trong môi trường. Ví dụ triptophan là một axit amin cơ bản được tổng hợp khi có enzym triptophan-xintaz tham gia. Nhưng nếu trong môi trường nuôi cấy vi khuẩn có triptophan thì việc tổng hợp enzym trên sẽ bị ngừng lại. Hiện tượng này được gọi là *sự ức chế*.

Sự cảm ứng và sự ức chế là những mặt khác nhau của cùng một hiện tượng. Ở trường hợp này, tế bào vi khuẩn điều chỉnh khả năng sử dụng cơ chất của môi trường, còn trong trường hợp khác, nó điều chỉnh sự tổng hợp một chất trung gian nào đó của con đường trao đổi chất. Cả hai kiểu điều chỉnh đều do các phân tử nhỏ quyết định. Những phân tử nhỏ này hoặc là cơ chất của enzym, hoặc là sản phẩm của enzym. Các phân tử nhỏ gây cảm ứng tổng hợp nên enzym phân giải chúng được gọi là *chất cảm ứng*. Còn các phân tử nhỏ có vai trò ngăn chặn sự tạo thành các enzym gây ra sự tổng hợp chúng thì gọi là *chất đồng kim hãm*.

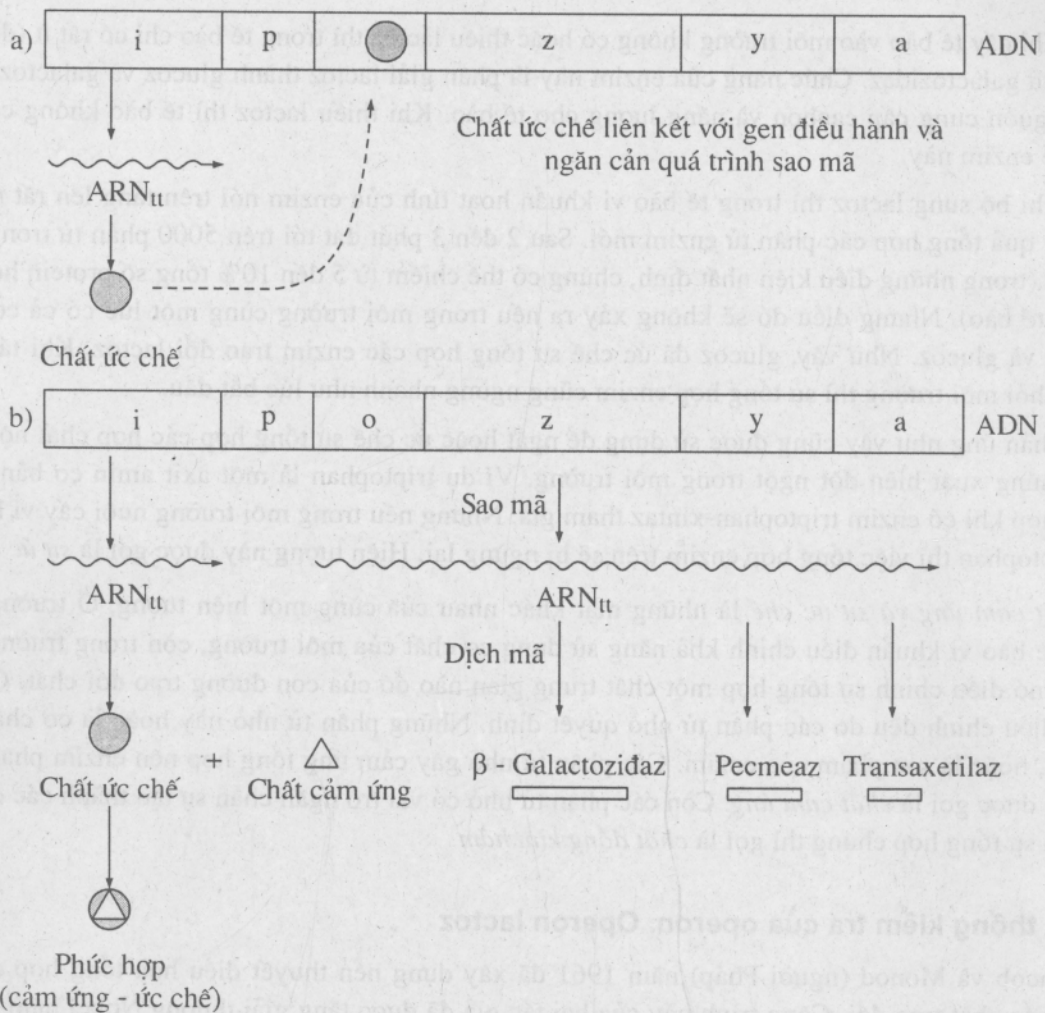
2. Hệ thống kiểm tra của operon. Operon lactoz

Jacob và Monod (người Pháp) năm 1961 đã xây dựng nên thuyết điều hoà tổng hợp enzym bằng các chất trao đổi. Công trình này của hai tác giả đã được tặng giải thưởng Nobel năm 1966. Theo các tác giả này : *operon* là một đơn vị bao gồm *gen cấu trúc*, *gen điều hoà* và các *yếu tố kiểm tra*.

Mô hình thứ nhất được coi là một operon đặc trưng đầy đủ nhất mà những nguyên tắc trong đó cũng được sử dụng cho các operon khác, đó là *operon lactoz*. Trong operon lactoz, ba gen cấu trúc kí hiệu là z, y và a tạo thành một *đơn vị sao mã*. Trong đó z quy định tổng hợp β -galactozidaz, y quy định tổng hợp permeaz và a quy định tổng hợp transaxetilaz. Sự sao mã được khởi ở *vùng khởi phát promoto* (kí hiệu là p). Nhưng sự sao có xảy ra hay không lại phụ thuộc vào một đoạn của ADN nằm giữa p và nhóm gen cấu trúc. Đoạn ADN này được gọi là *operator* (operator) hay *gen khởi động*, kí hiệu là o. *Gen điều hoà* kí hiệu là i, nằm cách xa một chút và tạo thành đơn vị sao độc lập. Sản phẩm của gen điều hoà là một protein có vai trò ức chế gọi là *protein ức chế* hay *chất ức chế* (repressor).

Chất ức chế có ái lực rất lớn đối với operator. Khi không có chất cảm ứng thì chất ức chế kết hợp với operator và ngăn chặn sự sao (thực hiện bởi ARN polymeraz ở vùng khởi phát).

Mặt khác, chất ức chế lại có thể nhận biết các phân tử của chất cảm ứng, nên khi có mặt chất cảm ứng, nó lập tức tách rời khỏi operator để kết hợp với chất cảm ứng, tạo ra tổ hợp [ức chế – cảm ứng]. Khi đó operator được giải phóng, quá trình sao và dịch sẽ bắt đầu.

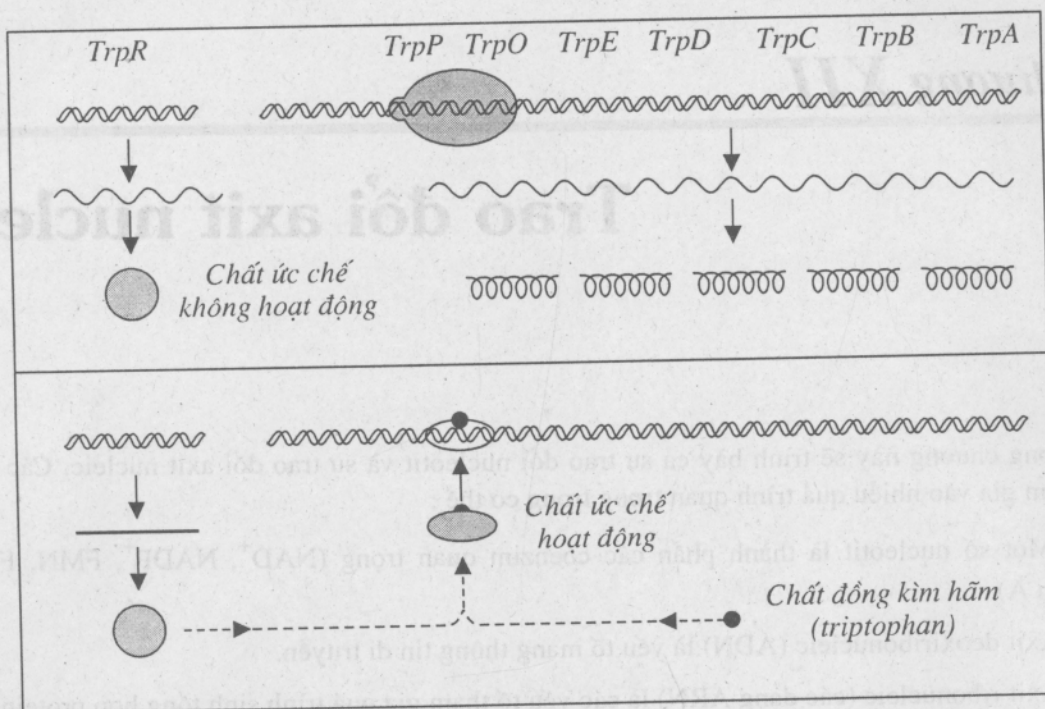


Hình 104 – Operon lactoz (a- operon đóng, b- operon mở).

Chất ức chế có khả năng tương tác như đã nêu trên chính vì trong phân tử của nó có 2 khu liên kết : 1 để kết hợp với chất cảm ứng và 1 để kết hợp với operator. Khi kết hợp chất cảm ứng vào một vị trí nhất định thì cấu hình không gian của protein ức chế bị thay đổi, điều đó làm ảnh hưởng tới hoạt tính của vị trí kia. Kiểu quan hệ tương hỗ như vậy được gọi là sự kiểm tra *allosteric* hay *sự điều hoà dị không gian*. Khi kết hợp với chất cảm ứng, chất ức chế sẽ bị biến dạng và tách khỏi operator. Sau đó ARN–polimeraz bắt đầu tiến hành sự sao các gen cấu trúc.

3. Operon triptophan

Hệ thống kiểm tra *operon triptophan* cũng tương tự hệ thống kiểm tra operon lactoz nhưng có điểm khác là : bình thường trong tế bào thiếu triptophan thì chất ức chế ở trạng thái không hoạt động. Khi đó operator “mở”, sự sao và dịch các gen cấu trúc được tiến hành, tổng hợp nên các enzym cần thiết để tạo ra sản phẩm cuối cùng là triptophan. Nhưng khi tế bào đã sản xuất đủ triptophan hoặc khi thêm triptophan vào môi trường nuôi tế bào thì triptophan sẽ kết hợp với chất ức chế, biến nó thành dạng hoạt động. Chất ức chế hoạt động sẽ lập tức kết hợp với operator, kết quả là operator bị “khóa” và sự sao mã bị dừng lại.



Hình 105 – Operon triptophan.

– Phần trên : không có triptophan thì chất ức chế không hoạt động, ARN polimeraz tiến hành sao mã 5 gen A, B, C, D và E, tạo ra 5 enzym tham gia tổng hợp nên triptophan.

– Phần dưới : Bổ sung triptophan thì chất ức chế trở nên hoạt động, nó kết hợp với operator và ngăn chặn sự sao mã.

Trong sự kiểm tra sinh tổng hợp axit amin bằng sản phẩm cuối cùng vừa nêu trên, triptophan đóng vai trò *chất ức chế phụ* (chất đồng kích hãm). Hàm lượng triptophan trong tế bào đã kiểm tra sự tổng hợp nên chính nó. Đó là mối liên hệ ngược trong sự điều hoà các phản ứng enzym 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.

Trao đổi axit nucleic

Trong chương này sẽ trình bày cả sự trao đổi nucleotit và sự trao đổi axit nucleic. Các chất này tham gia vào nhiều quá trình quan trọng trong cơ thể :

- Một số nucleotit là thành phần các coenzim quan trọng (NAD^+ , NADP^+ , FMN, FAD, coenzim A).
 - Axit deoxiribonucleic (ADN) là yếu tố mang thông tin di truyền.
 - Axit ribonucleic (các dạng ARN) là các yếu tố tham gia quá trình sinh tổng hợp protein.
- Bởi vậy sự trao đổi axit nucleic có ý nghĩa rất quan trọng.

I - SỰ PHÂN GIẢI AXIT NUCLEIC

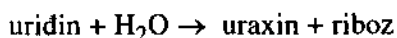
1. Sự thủy phân axit nucleic

Ở động vật, các axit nucleic có trong thức ăn không bị tiêu hoá bởi enzym trong dạ dày. Chúng bắt đầu bị phân giải ở tá tràng dưới tác dụng của nucleaz tuyến tụy. Ribonucleaz tuyến tụy chỉ thủy phân ARN tạo thành mononucleotit, P_v và oligonucleotit. Deoxiribonucleaz hoạt động khi có mặt Mg^{2+} hoặc Mn^{2+} , thủy phân ADN thành oligonucleotit. Người ta cho rằng niêm mạc ruột tạo ra diesteraz có vai trò xúc tác thủy phân oligonucleotit thành các mononucleotit.

2. Phân giải mononucleotit

Mononucleotit bị thủy phân bởi các *phosphataz* của ruột hoặc các *nucleotidaz* tạo thành nucleozit và P_v . Trong các mô khác như lách, gan, thận có chứa enzym *nucleozidaz* sẽ thủy phân liên kết N-glicozit của nucleozit tạo thành pentoz và baz nitơ. Sự trao đổi của các nucleozit diễn ra chủ yếu trong các mô này.

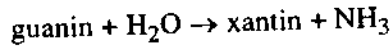
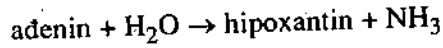
Phương trình phản ứng xúc tác bởi nucleozidaz như sau :



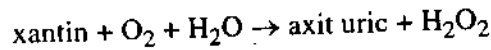
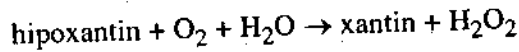
Ngoài ra liên kết N-glicozit của nucleozit còn bị phân giải bởi enzym *nucleozit photphorilaz*.

3. Phân giải purin

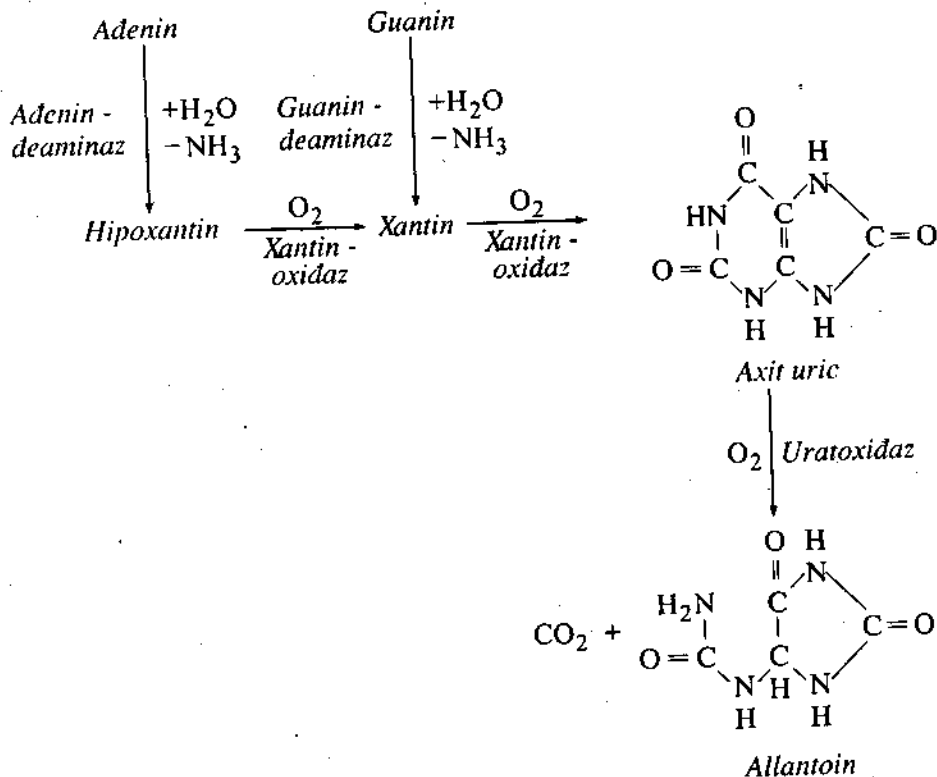
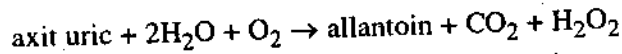
Ở động vật có vú phần lớn adenin, guanin biến đổi thành xantin và hipoxantin rồi được đưa vào nước giải dưới dạng axit uric hoặc allantoin. Các enzym adenin-deaminaz và guanin-deaminaz xúc tác cho sự thủy phân chúng :



Xantin-oxidaz là enzym flavinic, xúc tác cho sự oxi hoá cả hipoxantin lẫn xantin theo phản ứng sau :

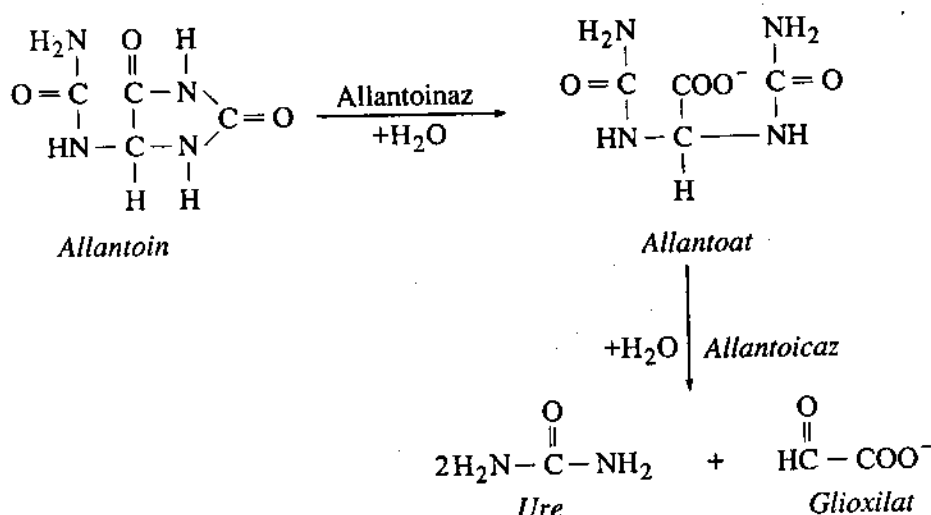


Sự tạo thành axit uric ở loài có vú xảy ra trong gan và trong niêm mạc ruột. Sau cùng axit uric bị oxi hoá hóa khí sẽ tạo thành allantoin :



Hình 106 – Các giai đoạn của sự phân giải purin từ adenin và guanin đến axit uric.

Ở động vật, trừ loài có vú, sự trao đổi purin còn bao gồm một số phản ứng tiếp theo : Dưới tác động của enzym allantoinaz và allantoicaz từ allantoin sẽ tạo thành allantoat, sau nữa là ure và glioxilat.



Ở một số sinh vật (ví dụ sinh vật đường ruột) ure được tạo thành còn bị thủy phân đến NH_3 và CO_2 dưới tác dụng của ureaz. Như vậy ở động vật bậc cao, sự phân giải vòng purin kém triệt để hơn so với động vật bậc thấp bởi vì một số enzym chẳng hạn như uratoxidaz, allantoinaz, allantoicaz đã bị mất đi trong quá trình tiến hóa.

4. Phân giải pirimidin

Ở nhiều mô động vật và ở vi khuẩn có quá trình khử amin của xitidin thành uridin nhờ sự xúc tác của *xitidin deaminaz*. Xitozin và metil xitozin bị khử amin để tạo thành uraxin và timin. Con đường phân giải uraxin và timin hiện nay người ta đã biết rõ (hình 107).

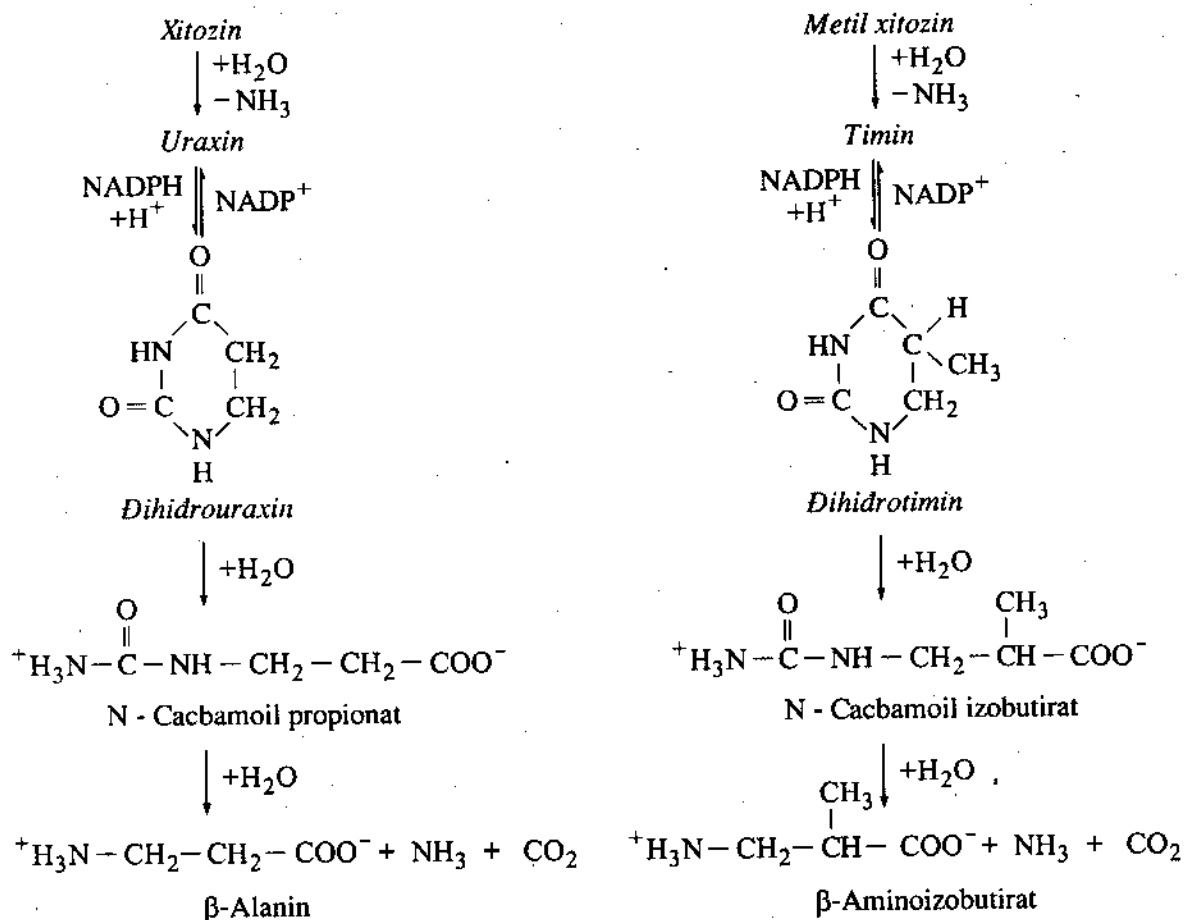
Sự trao đổi trên được bắt đầu bằng phản ứng khử, sau đó là các phản ứng thủy phân. Sản phẩm cuối cùng là β -alanin và β -amino izobutirat. β -alanin sẽ tham gia trong quá trình chuyển hoá axit amin, còn β -amino-izobutirat sẽ biến thành metilmalonat. Dẫn xuất coenzim A của chất này là metilmalonil CoA được chuyển thành dạng đồng phân là xucxinil CoA hoặc bị khử cacboxil để tạo thành axetil CoA. Các sản phẩm trên sẽ tham gia vào các con đường chuyển hoá khác nhau đã trình bày trong các chương trước.

β -Aminoizobutirat có trong nước giải của một số cơ thể với lượng từ 200 đến 300 mg trong một ngày, tùy thuộc vào đặc điểm di truyền hoặc do bệnh lí. Nó được thải ra ngoài nhiều hơn sau khi ăn thức ăn giàu ADN. Ở những cơ thể bị ung thư, lượng chất này cũng cao hơn.

II – SINH TỔNG HỢP NUCLEOTIT PURIN

1. Sinh tổng hợp inozinat

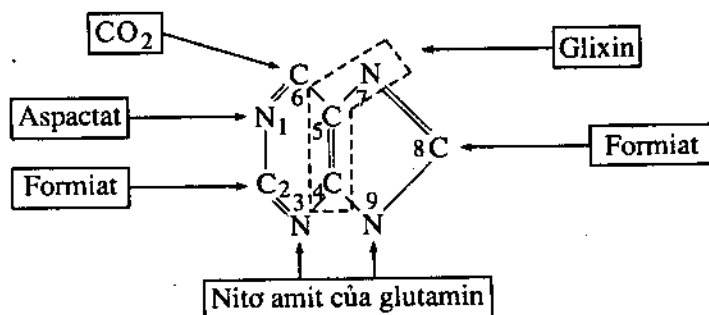
Động vật có khả năng tổng hợp trong cơ thể các hợp phần purin và pirimidin của axit nucleic. Bởi vậy không bắt buộc phải đưa chúng vào trong thức ăn. Nhưng đối với một số loài vi sinh vật, để phát triển bình thường cần phải có một lượng purin và pirimidin trong môi trường dinh dưỡng.



Hình 107 – Sự trao đổi pirimidin

Nucleotit purin và pirimidin có thể được *tổng hợp mới* từ những tiền chất không phải nucleotit như axit amin, NH₃, CO₂, formiat, hoặc là được tổng hợp trực tiếp từ những gốc purin và pirimidin sẵn có.

Nhờ phương pháp nghiên cứu dùng đồng vị ghi dấu người ta đã xác định được sơ đồ chung của sự hình thành nhân purin như sau :



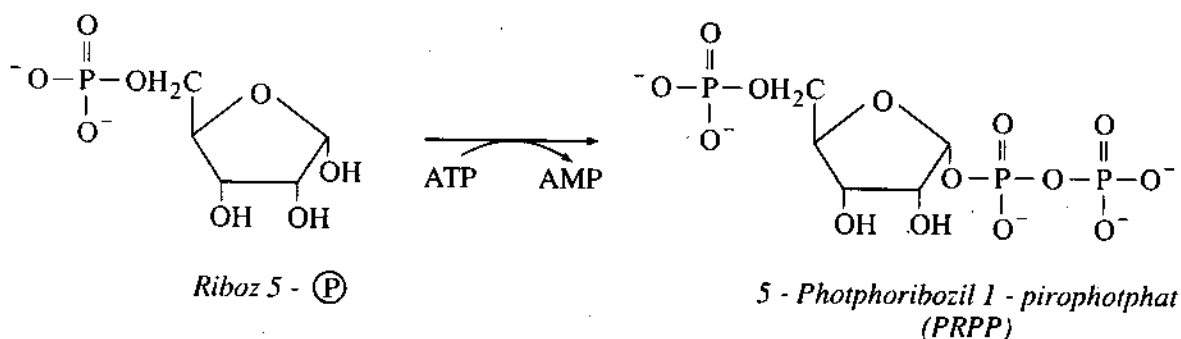
Trong sơ đồ trên, nguyên tử cacbon ở vị trí 2 và 8 là từ formiat, cacbon số 6 – từ CO₂. Glixin cho nguyên tử C-4, C-5 và nguyên tử N-7. Nguyên tử N-1 là từ aspactat, còn nguyên tử N-3 và N-9 là từ nhóm amit của glutamin.

Con đường chung của sự sinh tổng hợp mới purin ở nhiều cơ thể (động vật có vú, chim, nấm men và vi khuẩn) tương tự như nhau. Quá trình này bao gồm một loạt các phản ứng kế tiếp. Mở đầu là sự tham gia của riboz 5-phosphat, khi đó chính ở vị trí cacbon thứ nhất của phân tử này, nhân purin được tổng hợp.

Kết quả của quá trình dẫn đến sự tổng hợp nucleotit purin. Grin-bec (Greenberg) đã chứng minh rằng axit inozinic là sản phẩm đầu tiên có nhân purin hoàn chỉnh được tổng hợp trong cơ thể.

Sau đây là 11 chặng phản ứng enzym xúc tác sự tạo thành nhân purin :

- Riboz 5-(P) được dùng làm nguyên liệu đầu tiên để tổng hợp nên nucleotit purin. Trước tiên nó được gắn thêm gốc pirophosphat của ATP để tạo thành photphoribozil 1-pirophosphat (PRPP).



- Nhóm amit của glutamin được chuyển cho PRPP (dưới tác dụng của enzym chuyển nhóm amit) để tạo ra 5-phosphoribozil 1-amin.

- Axit amin glixin kết hợp với sản phẩm trên bằng liên kết amit để tạo thành glixinamit ribonucleotit.

- Xảy ra sự formil hoá hợp chất thu được ở giai đoạn trước, tạo thành formil glixinamit ribonucleotit. Chất cho gốc formil là N_5, N_{10} - metinil-tetrahydrofolat (N_5, N_{10} -metinil-FH₄).

- Sự amin hoá lần thứ hai do nhóm amit của 1 phân tử glutamin thứ hai cung cấp. Khi đó tạo thành N-formil glixinamidin ribonucleotit.

- Sản phẩm trên được đóng vòng nhờ một phản ứng khử nước, tạo ra 5-aminoimidazol ribonucleotit.

- Chất trên được cacboxil hoá với sự tham gia của một phân tử CO₂ để tạo thành 5 amino-4-imidazol cacboxilic ribonucleotit.

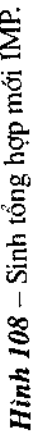
- Do sự tham gia của 1 phân tử aspactat đã tạo nên một hợp chất trung gian chứa liên kết amit là 5 aminoimidazol 4 - N - xucxino cacboxamit ribonucleotit.

- Chính nhóm amin của axit aspactic đã gia nhập vào khung purin, khi đó giải phóng fumarat để tạo thành 5 aminoimidazol 4-cacboxamit-ribonucleotit.

- Cacbon cuối cùng được nhóm N_{10} -formil-FH₄ cung cấp. Sản phẩm của giai đoạn này là 5-formamido imidazol 4-cacboxamit ribonucleotit.

- Bằng phản ứng khử nước, sản phẩm sẽ được đóng vòng tạo thành inozinat (inozinmonophotphat, viết tắt là IMP). Nó là một nucleotit cơ bản, từ đó sẽ tổng hợp nên các nucleotit purin khác.

Có thể tóm tắt con đường chuyển hoá từ riboz 5-(P) tới inozinat bằng sơ đồ các phản ứng như trong hình 108 :



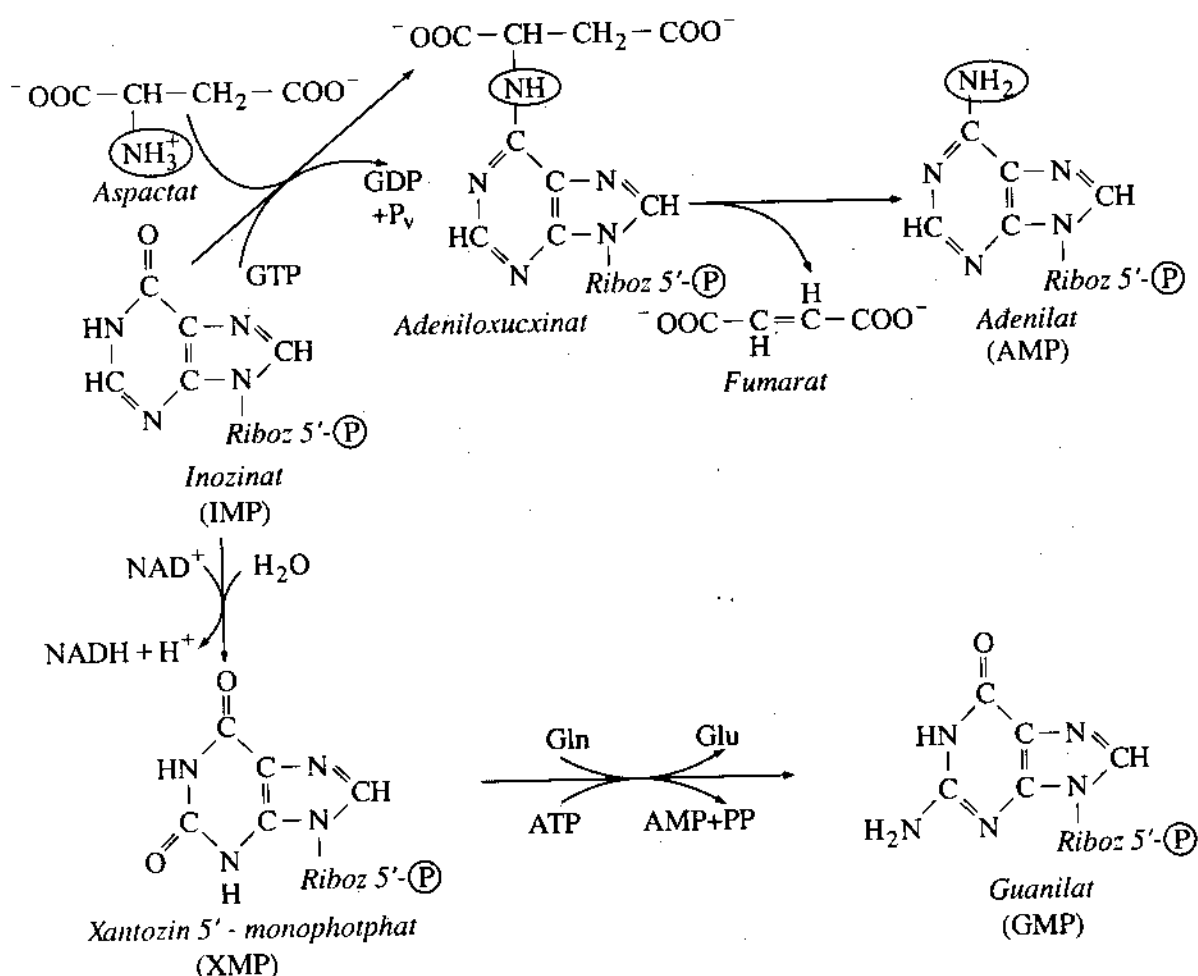
2. Sinh tổng hợp các nucleotit purin khác

Từ inozinat, theo hai hướng khác nhau sẽ tổng hợp nên adenosinmonophotphat (AMP) hoặc guanosinmonophotphat (GMP).

a) *Sự tổng hợp AMP* : Aspartat tham gia vào phản ứng với vai trò là chất cho nhóm amin, sau đó nó bị tách ra dưới dạng fumarat. Inozinat sau khi nhận được nhóm amin sẽ biến thành adenilat (AMP). Phản ứng trên cần có GTP tham gia (hình 109).

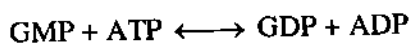
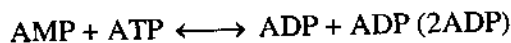
b) *Sự tổng hợp GMP* : Theo hướng này, chất cho nhóm amin tùy theo cơ thể, có thể là nhóm amit của glutamin hoặc NH_4^+ . Chim và động vật có vú, sử dụng glutamin và có thể cả amoni nhưng vi khuẩn chỉ sử dụng duy nhất amoni. Phản ứng trên cần có coenzim NAD^+ và ATP tham gia.

Sự biến đổi tương hỗ giữa các nucleotit purin được trình bày ở sơ đồ sau :

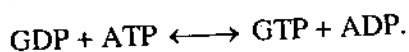
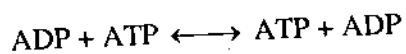


Hình 109 – Sự tạo thành AMP và GMP từ inozinat

c) *Sự tạo thành nucleozit triphotphat* : Nhờ các enzym kinaz đặc hiệu, các nucleozitmonophotphat sẽ được photphoril hoá tạo thành các nucleozit – diphotphat :

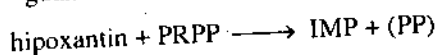
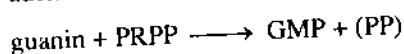
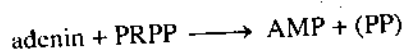


Sự photphoril hoá lần thứ hai do các enzym kinaz không đặc hiệu xúc tác sẽ tạo ra dạng nucleotit triphotphat :



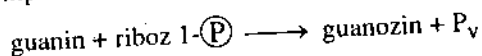
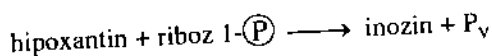
Ngoài con đường tổng hợp thông qua inozinat như đã trình bày ở trên, các nucleotit purin còn được hình thành từ các nhân purin hoặc các nucleozit purin. Con đường này được coi là dự bị vì nó cho phép tái sử dụng các purin và dẫn xuất purin được tạo ra khi phân giải axit nucleic hoặc nucleotit.

Các purin tự do có thể phản ứng trực tiếp với PRPP tạo thành nucleozit 5-(P) dưới tác dụng của các enzym chuyển gốc photphoribozil.

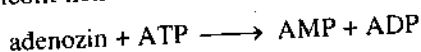


Vì gốc pirophotphat (PP) được tạo thành có thể dễ dàng bị thuỷ phân, bởi vậy sự tổng hợp nucleotit purin xảy ra không thuận nghịch.

Một con đường dự bị khác là sự chuyển purin tự do thành nucleozit và nucleozit thành nucleotit :



Sự biến nucleozit thành nucleotit tiến hành theo cách sau :



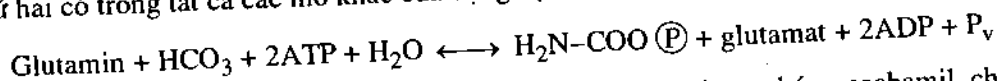
III – SINH TỔNG HỢP NUCLEOTIT PIRIMIDIN

1. Sự tổng hợp UMP (uridin 5-monophotphat)

Sự khác biệt giữa con đường này với con đường tổng hợp mới nucleotit purin là ở chỗ : vòng pirimidin được tổng hợp trước rồi mới kết hợp với riboz 5-(P)

Quá trình diễn ra theo 6 giai đoạn sau :

a) *Tạo thành cacbamil-photphat.* Người ta đã nhận định là trong mô động vật có vú có hai loại enzym tổng hợp cacbamil-photphat. Loại thứ nhất có trong gan và sử dụng NH_3 làm cơ chất. Loại thứ hai có trong tất cả các mô khác của động vật và có khả năng sử dụng glutamin :



b) *Tạo thành cacbamil-aspartat.* Cacbamil-photphat nhường nhóm cacbamil cho nhóm α -amin của aspartat để tạo thành cacbamil-aspartat.

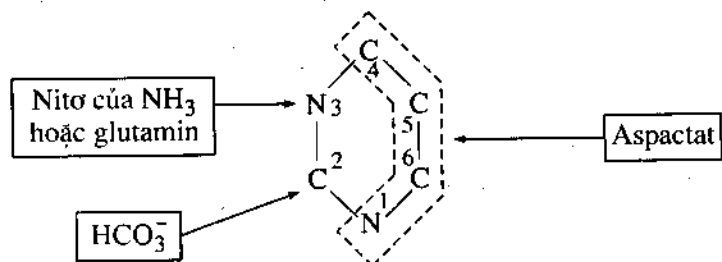
c) *Tạo thành dihidro-orotat.* Nhờ phản ứng loại nước, sản phẩm tạo thành sẽ đóng vòng.

d) Tạo thành orotat. Có sự tham gia của coenzim NAD^+ với sự tạo thành orotat

d) Kết hợp với riboz 5-phosphat sẽ tạo ra orotidin 5-phosphat.

e) Khử cacboxil tạo thành uridilat (UMP).

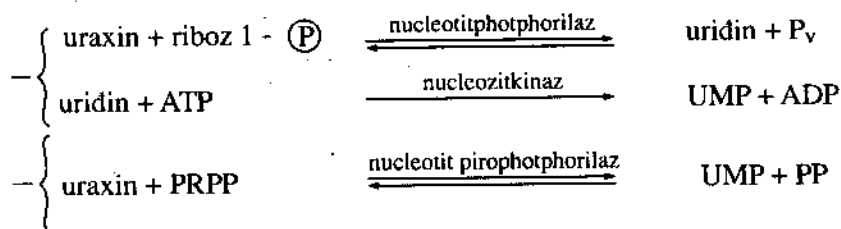
Người ta cũng đã xác định được nguồn gốc các nguyên tử trong nhân pirimidin như sau :



Quá trình tổng hợp mới nucleotit pirimidin chính là sự tổng hợp uridin 5'-monophosphat (UMP) một nucleotit cơ bản trong cấu trúc của ARN, vì nó là tiền chất để tổng hợp nên các nucleotit pirimidin khác như UDP, UTP, XTP, đTTP.

Tóm tắt các phản ứng dẫn tới sự tạo thành UMP trong hình 110.

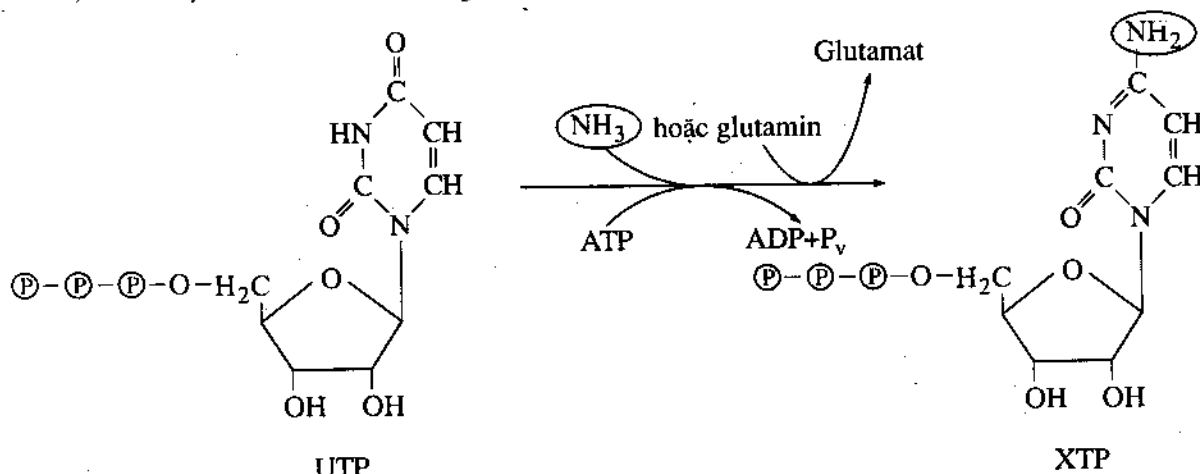
Cũng như đối với nucleotit purin, nucleotit pirimidin cũng có thể được tạo thành từ các pirimidin tự do hoặc từ các nucleozit. Đó cũng là các con đường trao đổi bổ sung :



Nhờ quá trình photphoril hóa, UMP được biến thành UDP và UTP, từ đó tổng hợp nên axit nucleic (ARN).

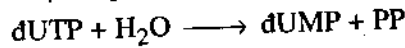
2. Sự tổng hợp XTP (xitidin 5-triphosphat) và đTTP (đeoxy timidin 5-triphosphat)

a) UTP nhận nhóm amin của NH_3 hoặc của glutamin sẽ tạo thành XTP theo cách sau :



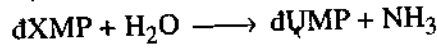
b) Có hai con đường tổng hợp dTMP (đeoxytimidin 5 - mono (P)) như sau :

- Một là : dUMP là tiền chất trực tiếp của dTMP, nó được tạo ra do kết quả thủy phân dUTP :

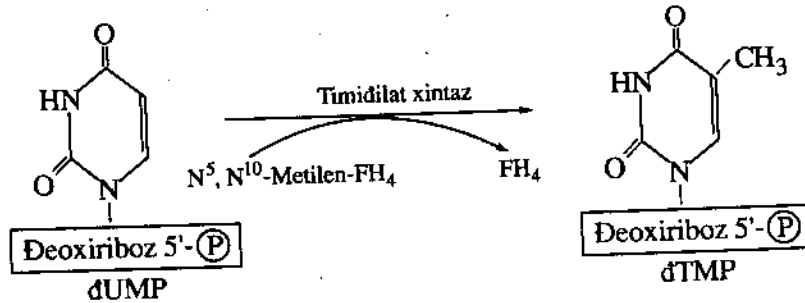


(Phản ứng này ngăn cản đưa dUTP vào ADN)

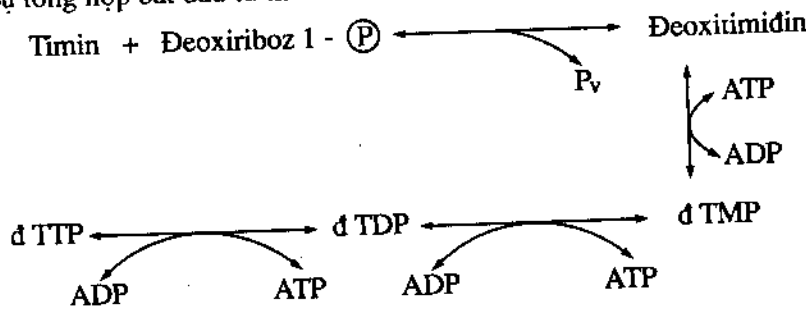
Ngoài ra dUMP cũng được tạo thành khi khử amin của dXMP theo phản ứng sau :



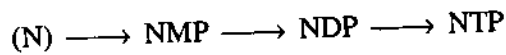
Các dUMP được tạo thành theo hai cách trên sẽ được chuyển thành dTMP nhờ chất cho nhóm một các bon là N^5, N^{10} - metilen - FH_4 .



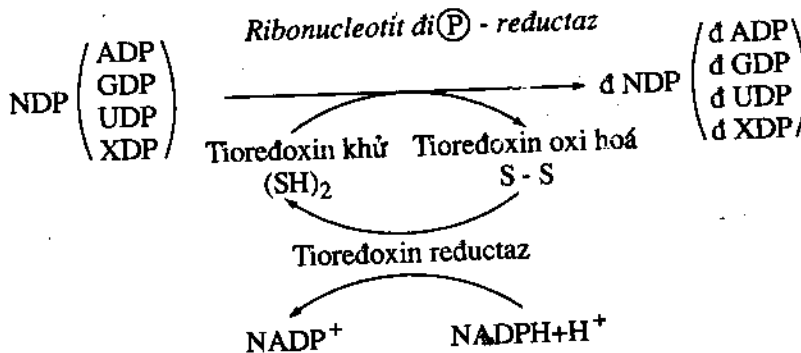
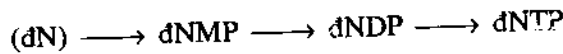
- Hai là : Sự tổng hợp bắt đầu từ timin và deoxiriboz 1-(P) theo chuỗi phản ứng sau :



Cần chú ý rằng 3 tầng chuyển photphoril hoá như trên không chỉ có trong "dây riboz" mà còn có cả trong "dây deoxiriboz". Trong thực tế có thể có các phản ứng sau đối với các ribonucleozit puric hay pirimidic (N) :



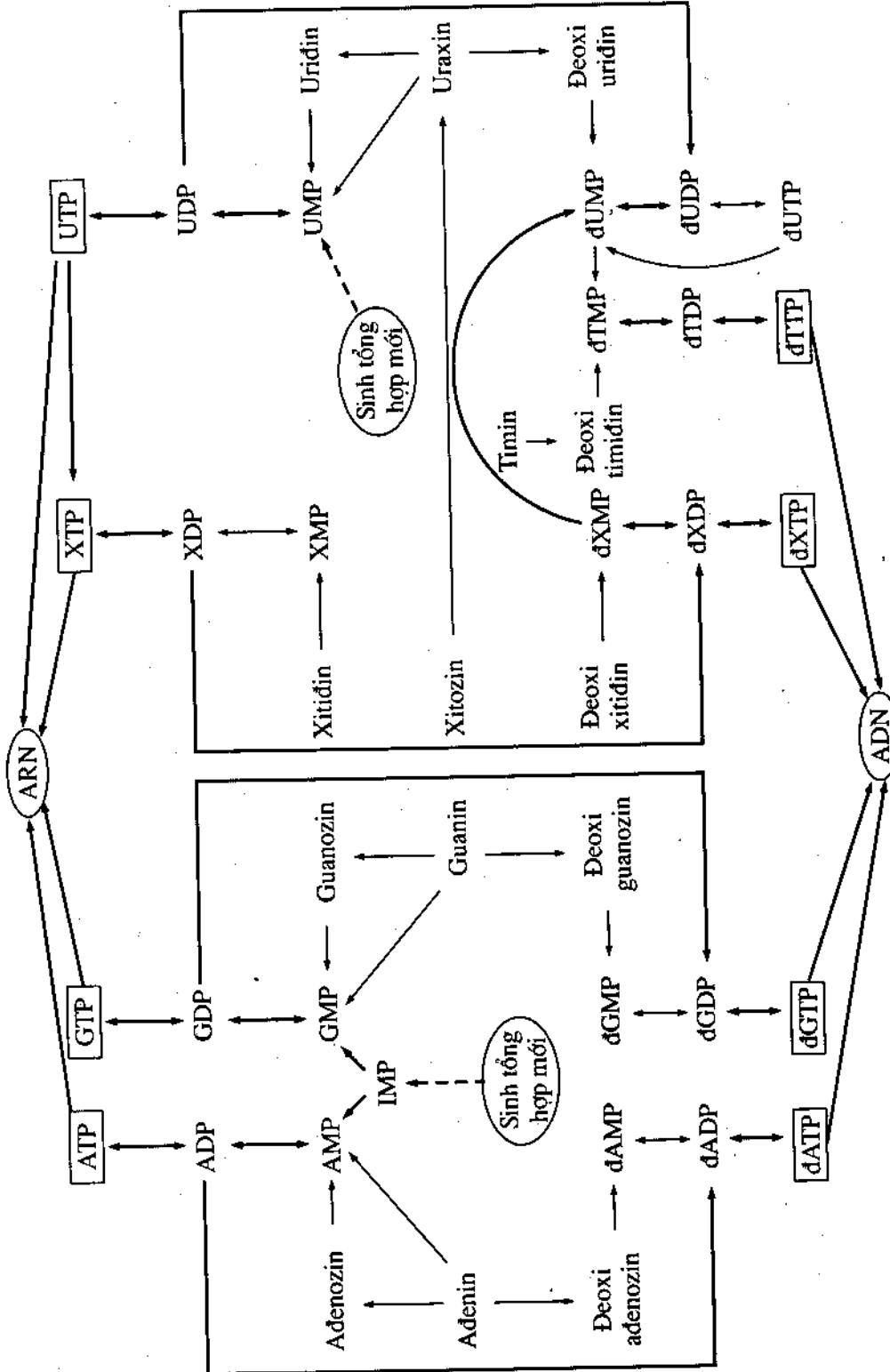
hoặc các phản ứng của deoxiriboznucleozit puric hoặc pirimidic :



Ngoài ra, các ribonucleozit-điphotphat có thể bị khử dưới tác dụng của ribonucleozit-điphotphat-reductaz để tạo thành deoxiribonucleozit-điphotphat. Từ đó, chẳng hạn như dADP và

đGDP lại được photphoril hoá bởi một kinaz tạo thành đATP và đGTP. Chúng là nguyên liệu để tổng hợp nên ADN.

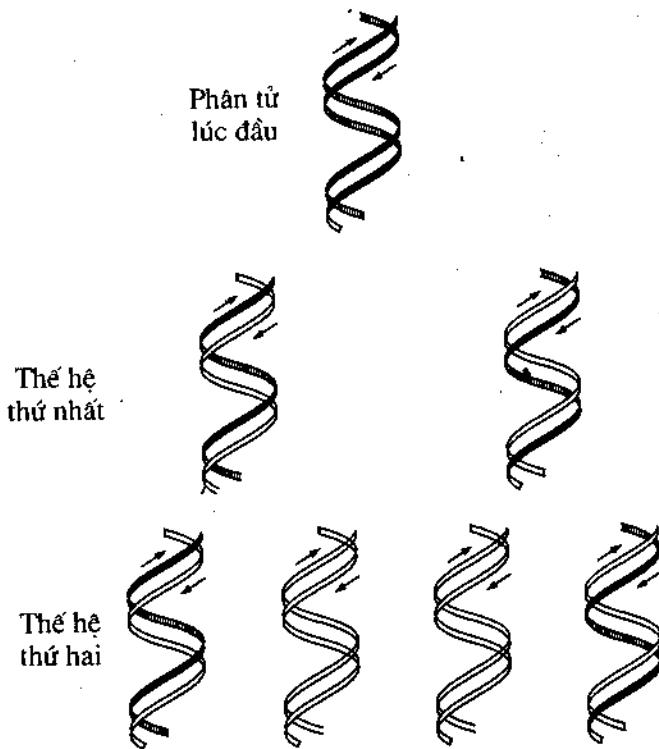
Ta có thể tóm tắt các quá trình sinh tổng hợp nucleotit purin và pirimidin trong sơ đồ sau (hình 111) :



Hình 111 – Sơ đồ tóm tắt quá trình sinh tổng hợp các ribonucleozit triphosphat puric và pirimidic và các deoxiribonucleozit triphosphat puric và pirimidic (các mũi tên đậm chỉ các phản ứng diễn ra trong quá trình sinh tổng hợp mới, còn mũi tên nhạt chỉ các phản ứng sử dụng purin và pirimidin có sẵn).

IV – SINH TỔNG HỢP ADN

1. Sự tự sao bán bảo tồn của ADN



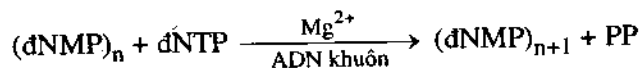
Hình 112 – Sự tự sao bán bảo tồn của ADN.

Theo Watson và Crick, phân tử ADN được cấu tạo bởi chuỗi xoắn kép. Trên cơ sở đó người ta cho rằng chuỗi xoắn kép tách ra, mỗi sợi sẽ được dùng làm khuôn để tổng hợp sợi bổ sung tạo nên hai phân tử ADN mới. Do trong mỗi phân tử có một sợi là khuôn, một sợi được tổng hợp mới, nên người ta gọi quá trình này là *sự tự sao* (hình 112).

Điều này đã được chứng minh bằng thực nghiệm: *E.coli* nuôi trong môi trường chỉ chứa nitơ đánh dấu ^{15}N , thì ADN được tổng hợp chỉ chứa ^{15}N . Sau đó thay đổi môi trường nuôi cấy: dùng ^{14}N thay cho ^{15}N và theo dõi qua vài thế hệ thì thấy rằng ADN của thế hệ thứ nhất là dạng lai (chứa 1 sợi ^{15}N và 1 sợi ^{14}N). Đến thế hệ thứ hai thì có 50% ADN là dạng lai và 50% là dạng chỉ chứa ^{14}N . Điều này được minh họa qua sơ đồ sau: Mũi tên chỉ chiều của sợi liên kết diestrophat nối C3' và C5' giữa 2 gốc đường của 2 nucleotit cạnh nhau.

2. Cơ chế quá trình tự sao ADN

a) *Sự tạo thành liên kết photphodiester*: Khi nghiên cứu cơ chế tổng hợp ADN trong dịch chiết của *E.coli*, người ta biết có enzym ADN polimeraz I. Phần lớn ADN được tổng hợp nhờ ADN polimeraz III. Enzim này xúc tác cho sự trùng hợp các nucleotit đặc thù theo khuôn ADN. Phương trình phản ứng do enzym xúc tác như sau:



Trong đó $(\text{dNMP})_n$ là 1 polime bao gồm n gốc deoxiribonucleotit, còn dNTP là deoxiribonucleozit triphotphat. Quá trình trùng hợp chỉ tiến hành theo hướng $5' \rightarrow 3'$ bằng cách kết hợp dNTP vào vị trí 3'OH của nucleotit tận cùng trong chuỗi polinucleotit $(\text{dNMP})_n$. Phản ứng kết thúc đồng thời giải phóng gốc pirophotphat (PP).

Trong quá trình này nhất thiết cần phải có ADN làm khuôn. Chính ADN khuôn sẽ hướng enzym lựa chọn các nucleozittriphosphat phù hợp theo quy tắc ghép đôi bổ sung : A-T, X-G. Sản phẩm tạo thành là sự tái sinh chính xác của khuôn. Từ một phân tử ADN ban đầu sẽ tạo thành hai phân tử ADN mới giống hệt nó.

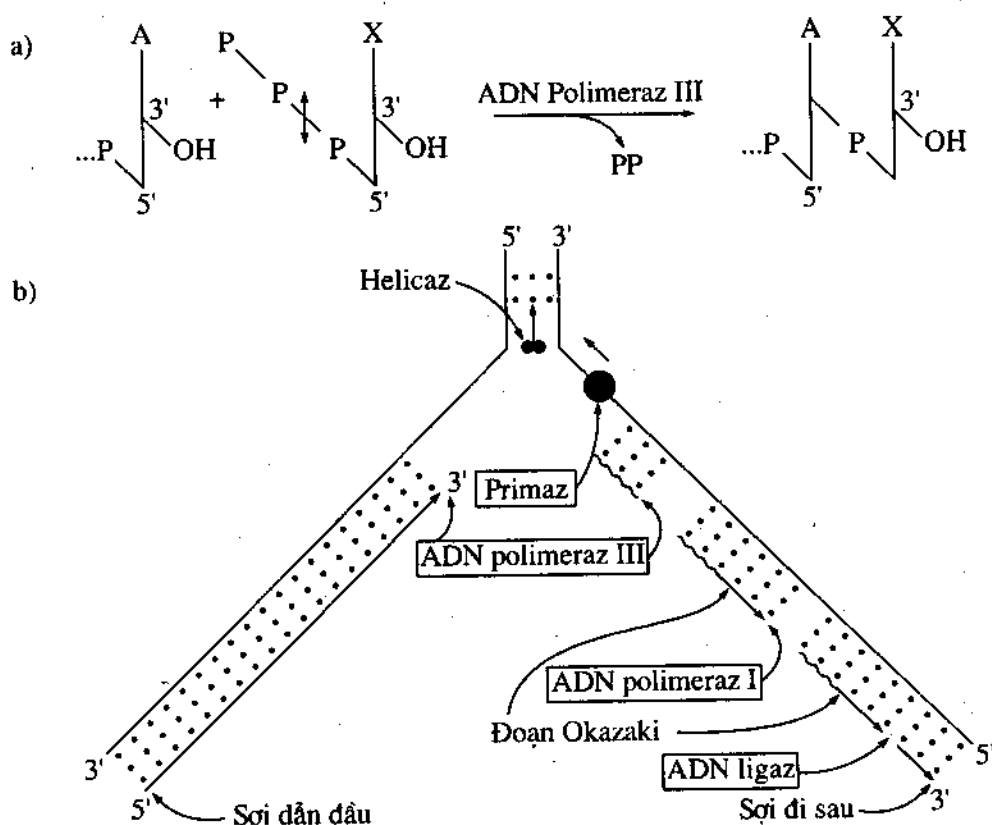
b) *Cơ chế sinh tổng hợp ADN* : Sinh tổng hợp ADN trải qua 3 giai đoạn chính :

– Giai đoạn tháo xoắn. Nhờ *enzim tháo xoắn helicaz* làm cho mạch xoắn kép ADN được mở ra tại một điểm. Ở loài *Ơcariot* sự tự sao cùng một lúc xảy ra trên hàng ngàn điểm khác nhau và tiến hành theo cả hai chiều trên cùng một nhiễm sắc thể.

– Giai đoạn tổng hợp *ARN mới*. Đó là một đoạn ARN ngắn (10 – 20 nucleotit) được tổng hợp theo khuôn ADN nhờ enzym *ARN polimeraz* (gọi là *primaz*) xúc tác. Chính ARN mới tham gia vào sự khởi đầu tổng hợp ADN. Sự tổng hợp ADN chỉ xảy ra khi có ARN mới.

– Giai đoạn kéo dài sợi. Do sự kéo dài sợi ADN mới chỉ xảy ra theo chiều $5' \rightarrow 3'$ nên sự tự sao của 2 sợi mới của ADN sẽ tiến hành theo hai chiều ngược nhau :

Trên một mạch đơn của ADN có chiều $3' \rightarrow 5'$ sẽ tạo thành *sợi dẫn đầu*. Sau khi ARN mới được tổng hợp xong, ADN polimeraz III xúc tác gắn nucleotit vào đuôi $3'-OH$ tự do của ARN mới. Sự tổng hợp sợi ADN mới nối tiếp với ARN mới cũng theo chiều $5' \rightarrow 3'$, cùng hướng với chạc sao chép và được kéo dài liên tục.

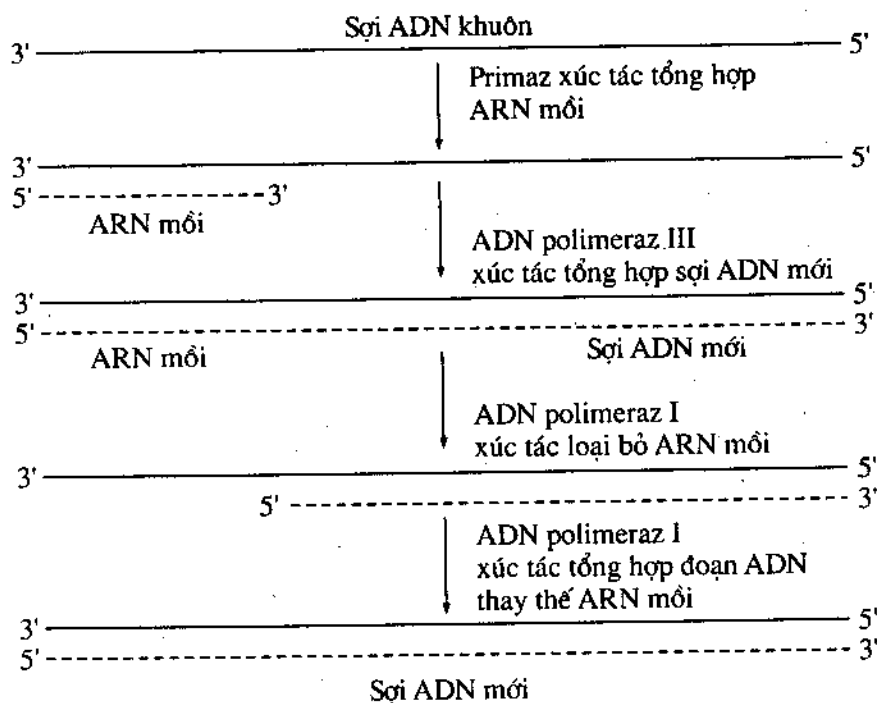


Hình 113 – Quá trình tự sao ADN.

a) Sự kéo dài mạch nucleotit ; A : Adenin ; X : Xitozin ; b) Cơ chế của quá trình tự sao ở *E.coli*.
Đường lượn sóng ở sợi đi sau chỉ để ARN mới (Lubert Stryer. Biochemistry, 4th ed, 1995)

Ở sợi đối diện, không tổng hợp nên một sợi liên tục mà tạo thành những đoạn ngắn (có chiều dài từ 100 – 200 nucleotit) gọi là những đoạn Okazaki (tên nhà bác học Nhật Bản đã phát hiện ra). Để tổng hợp các đoạn Okazaki cũng cần phải tổng hợp ARN mới. Sự tổng hợp mới cũng diễn ra theo chiều $5' \rightarrow 3'$. Ở giai đoạn sau có sự tham gia của ADN polymeraz I có tác dụng loại bỏ ARN mới và xúc tác tổng hợp đoạn ADN thay thế cho ARN mới vừa bị loại bỏ. Sau đó nhờ enzym ADN ligaz nối các đoạn Okazaki để tạo thành một sợi liên tục gọi là sợi đi sau (hình 113).

Vai trò của ARN trong quá trình sinh tổng hợp ADN giống như một chất mồi được khái quát ở sơ đồ sau :



Cần lưu ý rằng enzym ADN polymeraz I có cùng một lúc hai chức năng "*đọc và sửa*". Nó có thể nhận biết và loại bỏ các baz sai đã lắp vào. Bởi vậy enzym này vừa tham gia vào quá trình tự sao, vừa sửa chữa các sai sót của "*sản phẩm tái bản*"

V – SINH TỔNG HỢP ARN

1. Các yếu tố cần thiết cho sự sinh tổng hợp ARN

Tương tự quá trình sinh tổng hợp ADN, quá trình sinh tổng hợp ARN cần sự tham gia của các yếu tố sau đây

- Có ADN khuôn.
- Có enzym ARN polymeraz.
- Có các nucleozit triphotphat của các baz : A, G, U, X.

2. Cơ chế sự sinh tổng hợp ARN

Chiều của sự tổng hợp cũng tương tự trong tổng hợp ADN là $5' \rightarrow 3'$ (hình 114a).

Khác với sự tổng hợp ADN, sự tổng hợp ARN không cần thiết phải mỗi. Đầu $5'$ của sợi ARN mới thường là pppG hoặc pppA. Enzim ARN polymeraz có khả năng nhận biết được điểm khởi đầu trên phân tử ADN khuôn. Quá trình tổng hợp ARN trên sợi ADN khuôn được gọi là quá trình *phiên mã hoặc sao mã*. Quá trình sao mã cũng gồm các bước khởi đầu, kéo dài và kết thúc.

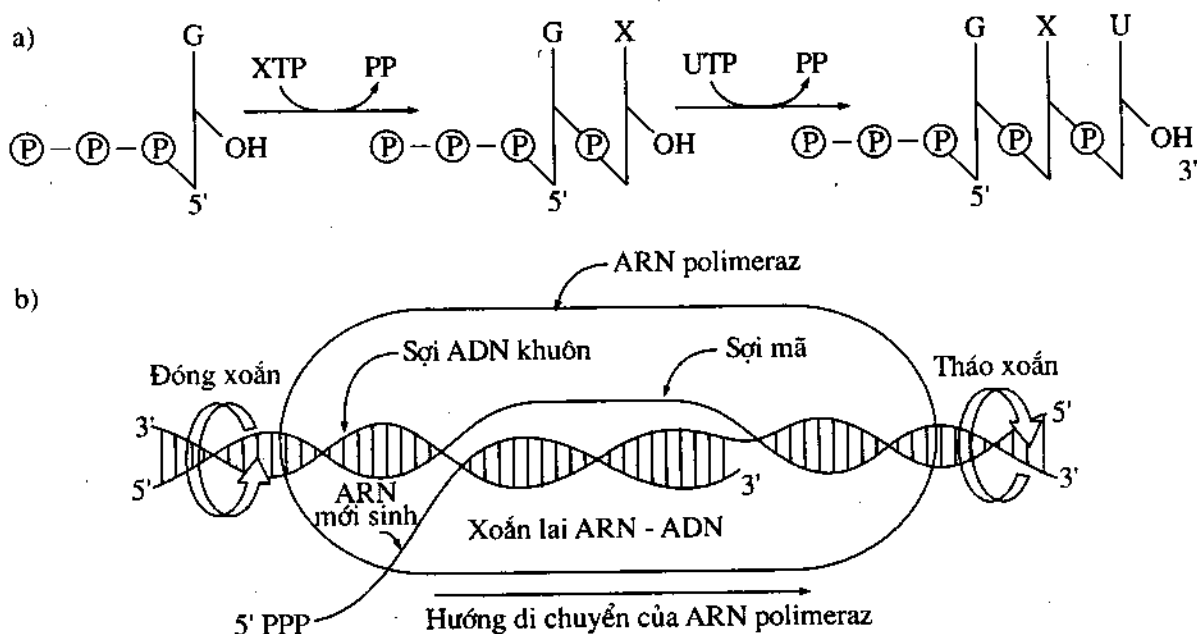
Ở bước đầu, ARN polymeraz gắn vào điểm khởi đầu của sợi ADN khuôn, tháo giãn phân tử ADN và tạo thành liên kết photphodiester đầu tiên.

Ở bước kéo dài ARN polymeraz xúc tác kéo dài sợi polinucleotit. Sợi ARN mới sinh cặp đôi với sợi ADN khuôn làm thành dạng *xoắn lai* trong vùng hoạt tính của ARN polymeraz. Các ribonucleozit triphosphat được gắn vào vị trí $3' \text{ OH}$ của sợi ARN đang tăng trưởng theo trình tự của ADN khuôn quy định. Điểm khác nhau trong bước này giữa sự tổng hợp ADN và ARN là ARN polymeraz chỉ sử dụng ribonucleozit triphosphat UTP, GTP, ATP và XTP còn ADN polymeraz lại sử dụng deoxiribonucleozit triphosphat dTTP, dGTP, dATP và dXTP.

Vùng chứa ARN polymeraz, ADN và ARN mới sinh được gọi là *bóng sao chép*, vì trong phức hợp mở này, 18 cặp gốc bazơ của ADN đã biến dạng và tạo thành *bóng sao chép* hoặc *phình sao chép*. Trong đó, 12 nucleotit của sợi ADN khuôn dùng làm mẫu để kết đôi với 12 nucleotit của sợi ARN theo nguyên tắc A liên kết với U; T liên kết với A (hình 114b).

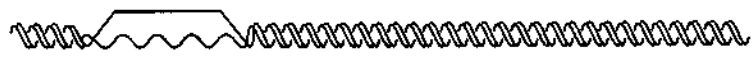
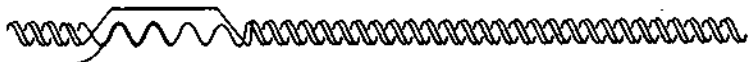
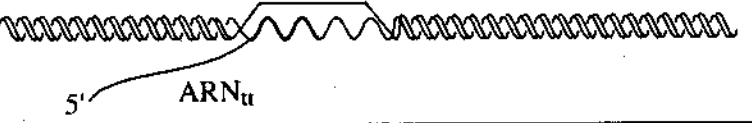
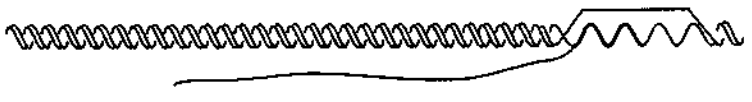
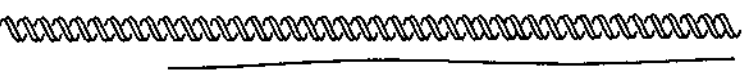
Ở bước kết thúc, tín hiệu kết thúc được mã hoá trên sợi ADN khuôn nhận biết nhờ một protein làm nhiệm vụ phân cắt *phức kéo dài*.

Vận tốc tổng hợp sợi ARN là khoảng 50 nucleotit trong một giây, chỉ bằng 1/10 tốc độ sinh tổng hợp sợi ADN.



Hình 114 – Chiều của sự tổng hợp ARN (a) và sơ đồ bước kéo dài của sự tổng hợp ARN (b). Phân tử ADN xoắn kép được tháo xoắn ở đầu phía trước của ARN polymeraz và đóng xoắn ở phía sau, xoắn lai ARN-ADN cũng được quay đồng bộ phù hợp (Lubert Stryer Biochemistry. 4th ed, 1995)

Người ta cũng đã nghiên cứu sâu quá trình sao mã. Để ghép các gốc, ADN cần phải tháo xoắn ở một chỗ thích hợp, một trong hai chuỗi dùng làm khuôn (chuỗi 3' → 5'). Phần tháo xoắn chuyển dịch dọc theo ADN và qua đó ARN_{tt} được kéo dài liên tục bằng các đơn vị nucleotit. Sau đó ARN_{tt} tách rời khỏi ADN, cấu trúc hai sợi trước đây của ADN lại được tái tạo. Sự sao chép như trên được mô tả ở hình sau :

1. Tổng hợp ARN _{tt} được bắt đầu nhờ sự tháo xoắn của ADN	
2. ARN _{tt} được tổng hợp bằng cách ghép đôi với chuỗi ADN khuôn	
3. Phần tháo xoắn chạy dọc theo phân tử ADN	Cấu trúc ADN được tái tạo 
4. Phần tháo xoắn di chuyển hết chiều dài gen	
5. ARN _{tt} tách rời hoàn toàn. Cấu trúc xoắn kép của ADN được khôi phục	

Hình 115 – Cơ chế sinh tổng hợp ARN_{tt}.

Chuong XIII

Mối liên hệ giữa các quá trình trao đổi xacarit, lipit, protein và axit nucleic

Trên đây chúng ta đã nghiên cứu sự trao đổi của từng hợp chất cơ bản trong cơ thể sống. Tuy nhiên, sự phân chia như vậy chỉ giúp làm đơn giản hoá những vấn đề ta muốn trình bày. Trong thực tế, giữa các hợp chất khác nhau có nhiều mối liên hệ tương hỗ. Điều đó buộc chúng ta phải coi sự trao đổi chất của tế bào là một tổng thể các mối liên hệ hữu cơ gộp lại.

Thật vậy, trong cơ thể không thể tìm thấy sự trao đổi của một hợp chất nào đó xảy ra tách rời với sự trao đổi của các hợp chất khác. Mối liên quan tương hỗ giữa sự trao đổi các hợp chất này thể hiện trên hai mặt cơ bản : nguyên liệu và năng lượng.

Mối liên quan về mặt nguyên liệu là khả năng chuyển hoá một chất này thành chất kia thông qua một số sản phẩm trung gian chung. Chẳng hạn như xacarit có thể chuyển hoá thành các axit amin bằng cách amin hoá một số xetoaxit ; ngược lại một số axit amin lại có thể chuyển thành xacarit bằng con đường loại nhóm amin thành các xetoaxit rồi từ đó tổng hợp mới glucos.

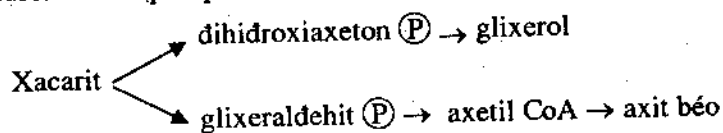
Mối liên quan về mặt năng lượng thể hiện ở chỗ : khi phân giải một hợp chất nào đó, năng lượng của chúng dù ít hay nhiều đều được tích lũy thành một số ATP xác định. Nguồn ATP này được sử dụng cho các phản ứng thu năng lượng và các quá trình sinh tổng hợp các chất khác nhau trong cơ thể. Ví dụ : ATP cũng được tạo thành trong sự đường phân và sự quang photphoril hoá (quang hợp), nhưng chủ yếu được tạo thành trong quá trình photphoril hoá oxi hoá (hô hấp). Mặt khác, trong sự photphoril hoá oxi hoá thông qua chu trình Krebs và chuỗi vận chuyển điện tử người ta thấy rằng : bất kể axetil CoA có nguồn gốc từ xacarit hoặc từ axit béo hay axit amin cũng đều bị oxi hoá và tổng hợp ATP. Ngoài ra, một số axit amin khác còn có thể đi vào chu trình Krebs ở những vị trí nhất định (hình 91), chúng bị oxi hoá tiếp và giải phóng hết năng lượng còn lại.

Nhờ khả năng chuyển hoá tương hỗ giữa các chất mà cơ thể sinh vật thích ứng được với môi trường. Ví dụ : vào mùa đông, ở cây trồng xảy ra sự chuyển hoá tinh bột thành đường và chất béo, nhờ đó khả năng chịu rét của cây được nâng cao. Hoặc đối với một số động vật ở vùng địa cực, do dự trữ lipit lớn, nên đã bảo đảm cung cấp đủ năng lượng và các chất cần thiết cho cơ thể sử dụng trong suốt thời gian ngủ đông dài.

Để vấn đề được sáng tỏ hơn, chúng ta hãy xem xét mối liên quan tương hỗ giữa sự trao đổi của từng cặp hợp chất sau.

I - MỐI LIÊN QUAN GIỮA SỰ TẠO ĐỔI XACARIT VÀ LIPIT

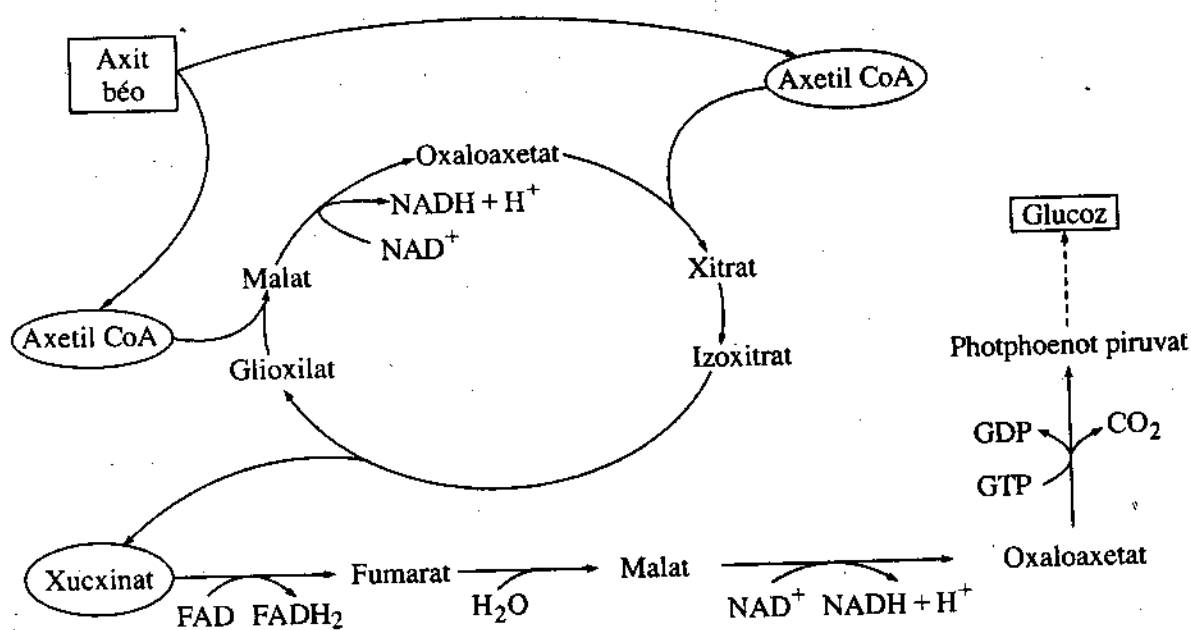
Xacarit dễ dàng chuyển thành lipit thông qua hai hợp chất trung gian là dihidroxiacetophosphat và axetil coenzim A.



Ngược lại, sản phẩm của sự phân giải lipit là glixerol và axetil CoA đều là nguyên liệu để tổng hợp xacarit.

- Glixerol được biến thành fructoz 1,6 - diphosphat.

Axetil CoA thông qua chu trình Krebs thì không thể tổng hợp được xacarit vì 2 nguyên tử cacbon của nó đã bị loại thành CO_2 trước khi tạo ra hợp chất oxaloaxetat là chất có vai trò tổng hợp mới xacarit. Nhưng ở một số cơ thể như thực vật, vi khuẩn, nấm mốc, có chu trình glioxilat hoạt động, khi đó axetil CoA có nguồn gốc axit béo sẽ tạo thành oxaloaxetat, tiếp sau là photpho-enolpiruvat rồi từ đó tạo thành glucoz.



Hình 116 - Sự chuyển hoá axetil CoA thành glucoz qua chu trình glioxilat.

Qua sơ đồ trên, cứ một vòng của chu trình, từ 2 phân tử axetil CoA tạo ra được 1 phân tử xuccinat. Xuccinat bị oxi hoá tiếp qua những phản ứng trong chu trình Krebs tạo ra oxaloaxetat.

Oxaloaxetat sẽ bị khử cacboxil và photphoril hoá để biến thành photpho-enolpiruvat. Chất này sẽ chuyển thành glucoz 6-phosphat.

Như vậy, từ 4 phân tử axetil CoA sẽ cho 2 phân tử xuccinat, sau đó là 2 phân tử oxaloaxetat. Các biến đổi tiếp theo sẽ cho ra 2 phân tử CO_2 và 2 phân tử photphoenol piruvat. Cuối cùng thu được 1 phân tử glucoz.

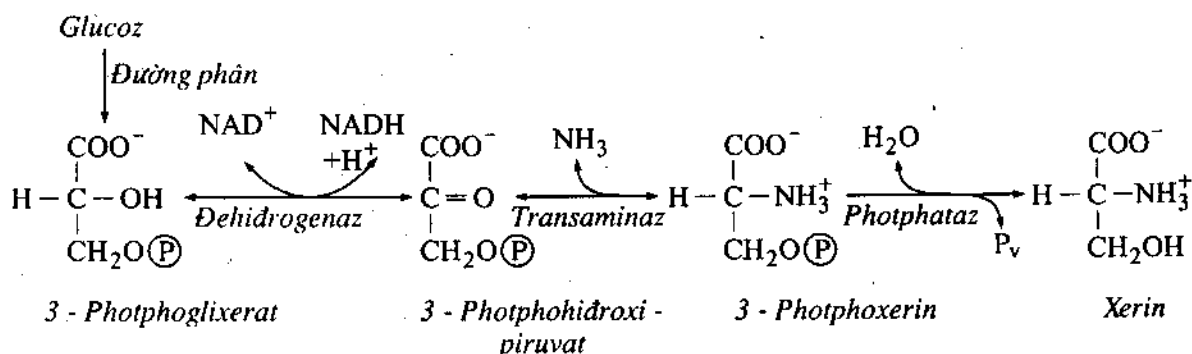
Quá trình trên xảy ra phổ biến ở thực vật và một số vi khuẩn. Ở thực vật, chu trình glyoxilat diễn ra trong những *glioxisom*, cấu trúc này cũng chứa các enzym β -oxi hoá peroxisom. Axetil CoA tạo ra do cơ chế đó được sử dụng trực tiếp vào chu trình glyoxilat.

II – MỐI LIÊN HỆ GIỮA SỰ TRAO ĐỔI XACARIT VÀ PROTEIN

Sự phân giải xacarit tạo ra một số α -xetoaxit, khi amin hoá chúng sẽ tạo thành các axit amin tương ứng. Các α -xetoaxit đó là :

- Piruvat $\longrightarrow$ alanin
- α -Xetoglutarat $\longrightarrow$ glutamat.
- Oxaloaxetat $\longrightarrow$ aspactat

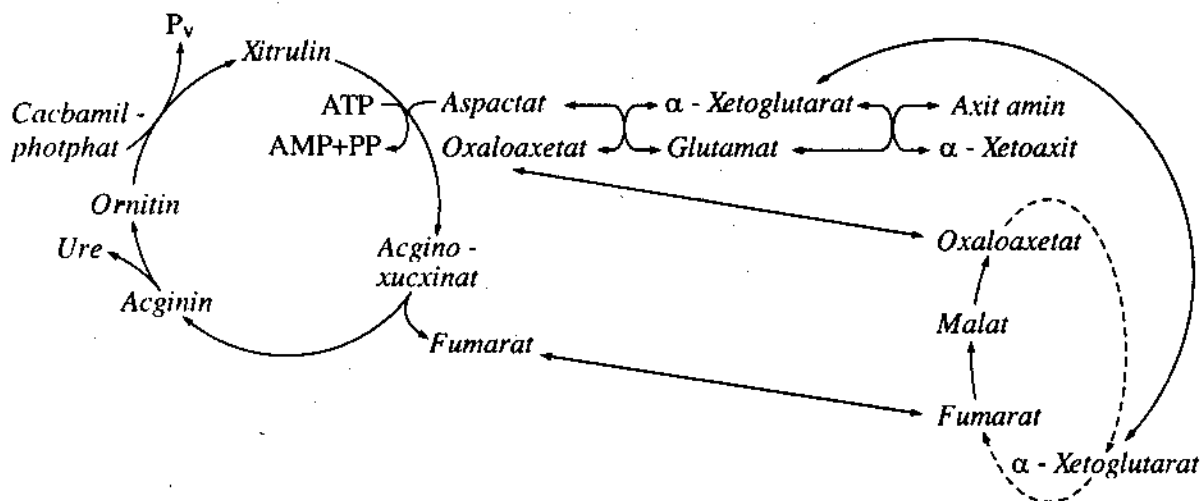
Các axit amin này nhờ khả năng chuyển hoá riêng sẽ tạo nên các axit amin khác. Chẳng hạn từ glutamat có thể tổng hợp thành prolin (xem phần tổng hợp một số axit amin) từ aspactat có thể tạo thành lizin, treonin, izoloxin và metionin (hình 97). Một sản phẩm khác của sự phân giải xacarit cũng tạo thành axit amin đó là 3-phosphoglycerat. Chất này tạo thành xerin theo cách sau :



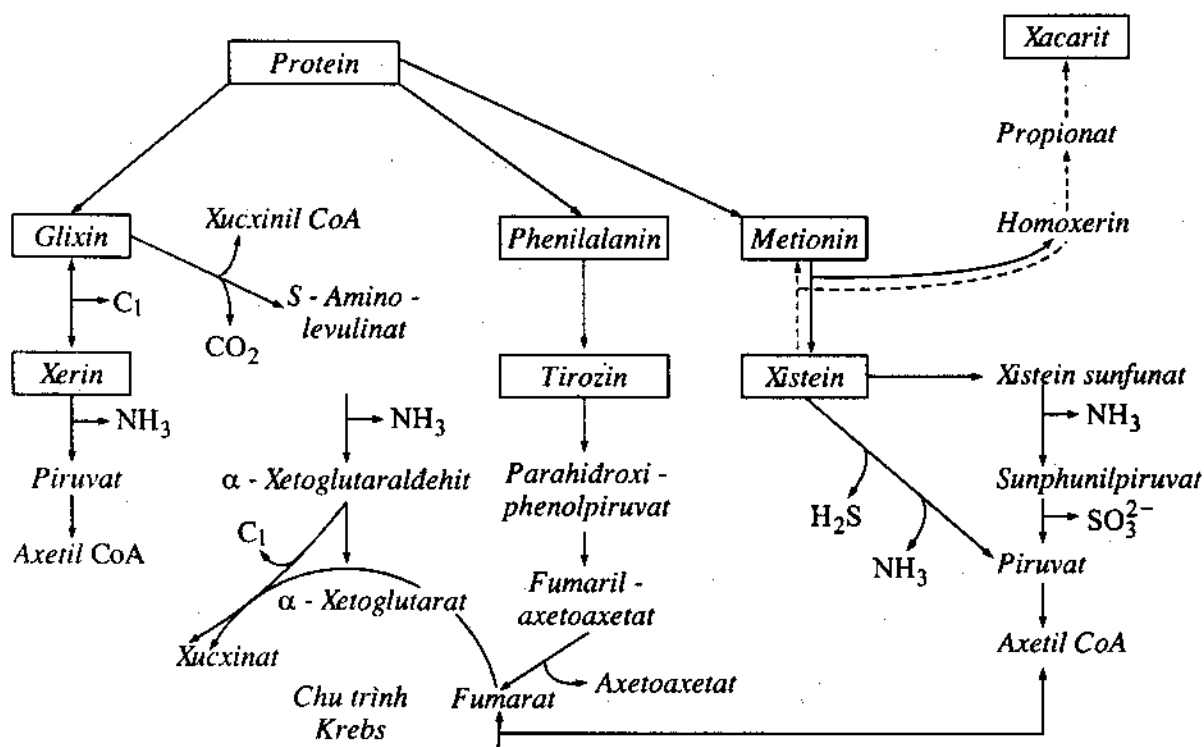
Từ xerin có thể tạo thành xistein (hình 97) hoặc tạo thành glixin (nhờ phản ứng loại bỏ nhóm gốc).

Ngược lại, một số axit amin (alanin, phenilalanin, tirozin, histidin, triptophan, xerin, xistein, glutamat, prolin, aspactat) được coi là axit amin tạo glucos. Trong quá trình trao đổi, các axit amin này tạo thành một trong số các hợp chất trung gian của chu trình Krebs như piruvat, α -xetoglutarat, oxaloaxetat. Từ oxaloaxetat có thể tạo ra photphoenol piruvat, từ đó tổng hợp mới glucos.

Ngoài ra, giữa quá trình dị hoá xacarit (chu trình Krebs) và quá trình dị hoá axit amin (chu trình ure) có những giai đoạn tạo ra các sản phẩm trung gian giống nhau. Đó là các axit như : aspactat, glutamat, fumarat. Bởi vậy chu trình ure liên hệ với chu trình Krebs qua những điểm xác định. Điều đó chứng tỏ sự trao đổi xacarit cũng ảnh hưởng qua lại đối với sự trao đổi protein (hình 117-118).

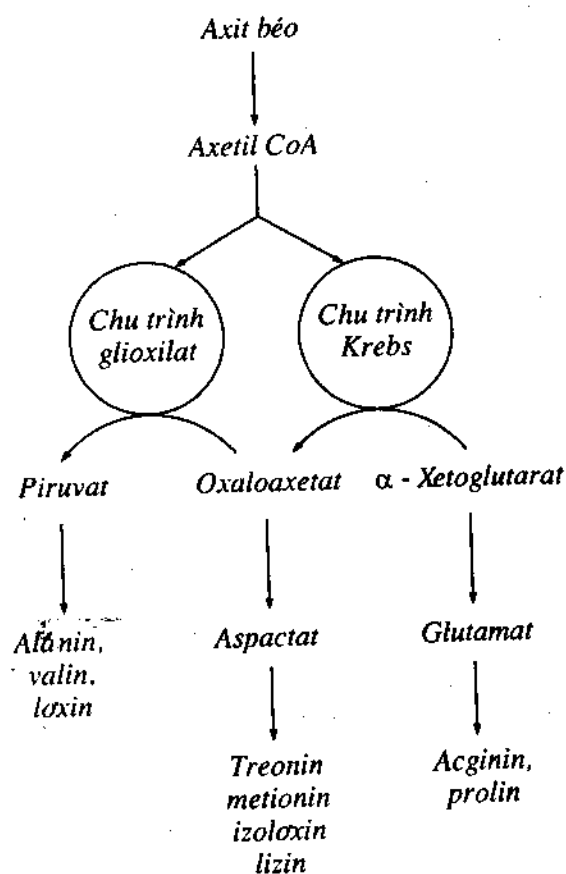


Hình 117 – Mối liên quan giữa chu trình ure và chu trình Krebs.



Hình 118 – Mối liên quan giữa sự trao đổi protein và xacarit.

III - MỐI LIÊN QUAN GIỮA SỰ TRAO ĐỔI LIPIT VÀ PROTEIN

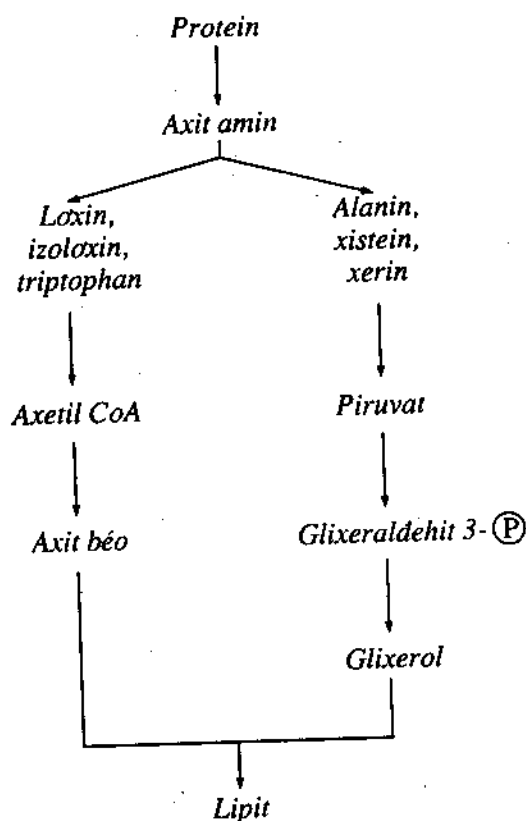


Hình 119 – Sơ đồ chuyển hoá axit béo thành axit amin.

Theo con đường tổng hợp mới glucôz, piruvat sẽ tạo thành glixeraldehyt-3-phosphat. Từ chất này sẽ tổng hợp nên glixerol như đã nêu ở phần trước (hình 72). Sự chuyển hoá protein thành lipid có thể khái quát trong sơ đồ đơn giản sau : (hình 120)

Axit béo là tiền chất của một số axit amin thông qua các quá trình sau : hoặc qua chu trình Krebs, một số axit amin được tổng hợp từ α-xetoglutarat ; hoặc là qua chu trình glyoxilat tạo ra oxaloaxetat, chất này sau đó bị loại cacboxil tạo thành piruvat. Từ 2 chất này sẽ tổng hợp nên một số axit amin (hình 118).

Ngược lại, một số axit amin (loxin, izoloxin, triptophan) khi phân giải sẽ tạo thành axetil CoA, từ đó tổng hợp nên axit béo. Một số axit amin khác (alanin, xistein, xerin) lại bị phân giải thành piruvat.



Hình 120 – Sơ đồ chuyển hoá protein thành lipid.

IV - MỐI LIÊN QUAN GIỮA SỰ TRAO ĐỔI XACARIT VÀ AXIT NUCLEIC

Khi phân giải glucoz theo chu trình pentoz photphat sẽ tạo thành riboz 5-photphat. Từ chất này sẽ tạo nên photphoribozil-pirophotphat dùng làm nguyên liệu cho sự sinh tổng hợp các nucleotit purin và pirimidin (hình 108 và hình 110).

Mặt khác, một số nucleotit cũng có vai trò đối với sự sinh tổng hợp các oligoxacarit và polixacarit. Chẳng hạn urindindiphotpho-glucoz (UDPG) là một dẫn xuất nucleotit của đường. Nó là chất cho gốc glucozil trong các phản ứng tổng hợp kể trên (hình 81).

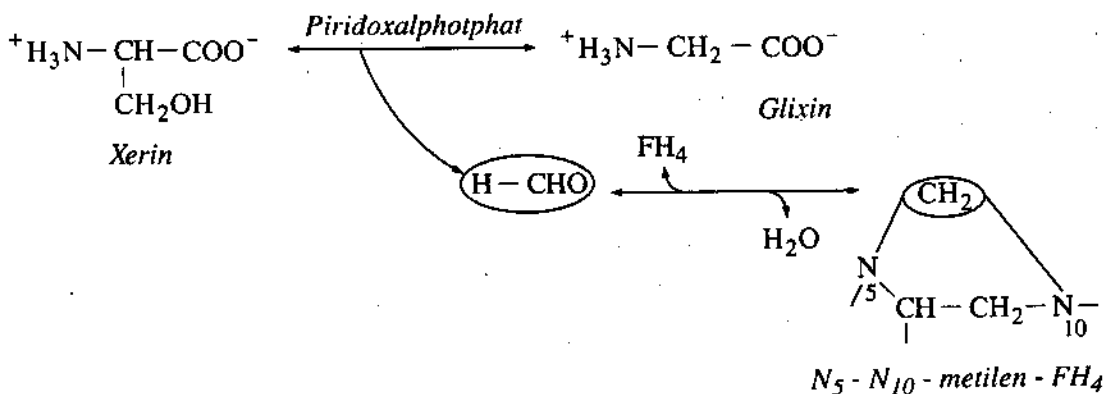
V - MỐI LIÊN QUAN GIỮA SỰ TRAO ĐỔI PROTEIN VÀ AXIT NUCLEIC

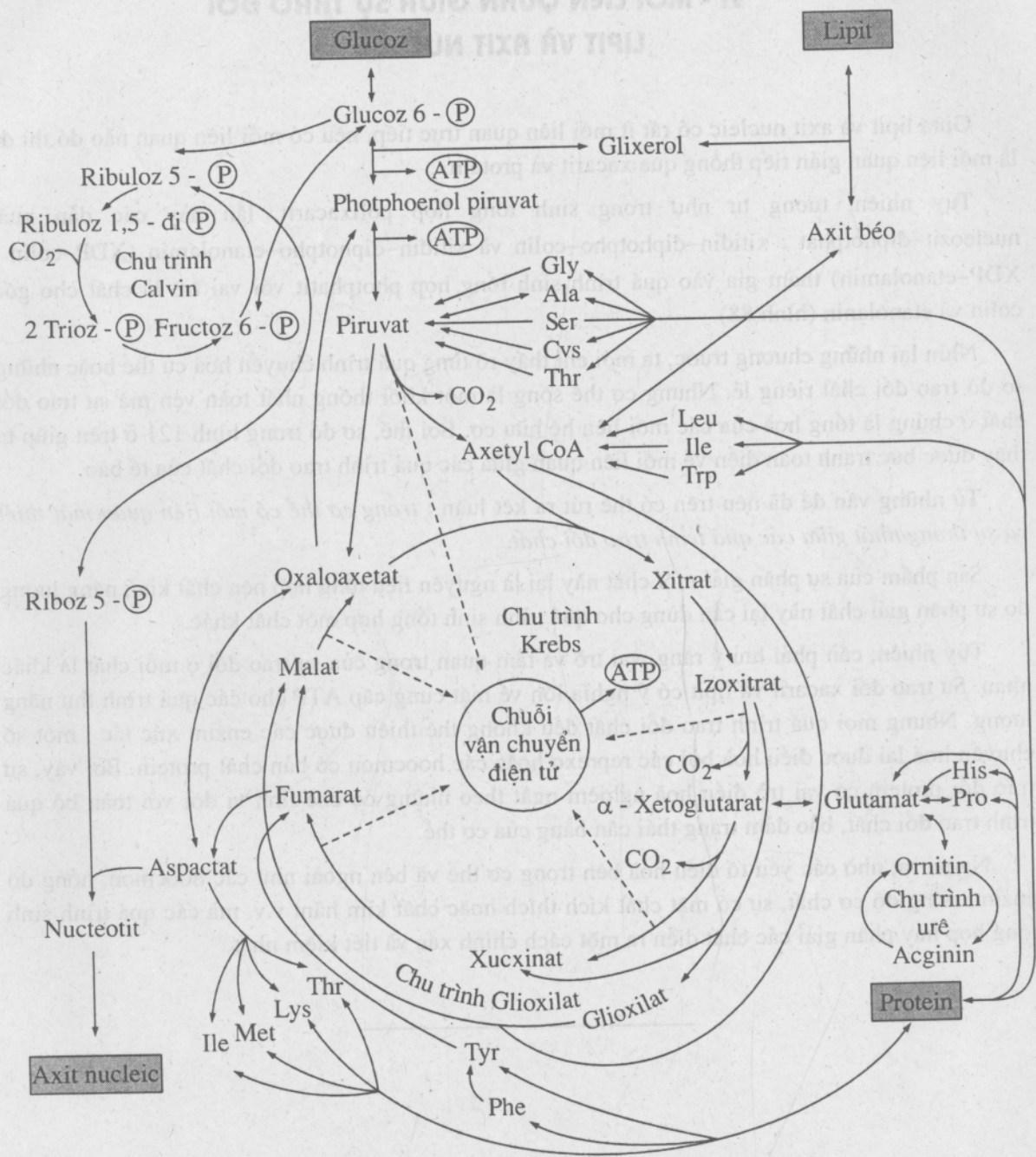
Một số axit amin (glutamin, aspactat) là nguyên liệu để tổng hợp nhân pirimidin (hình 110).

Để tổng hợp nhân purin, ngoài sự tham gia của các axit amin glutamin, glixin, aspactat, còn cần có các đơn vị 1 cacbon : N_5-N_{10} -metinil- FH_4 và N_{10} -formil- FH_4 .

Các đơn vị 1 cacbon này được tạo thành cũng chính do sự phân giải của một số axit amin đem lại. Chẳng hạn từ glixin sẽ tạo ra N_5 hoặc N_{10} - formil - FH_4 . Hoặc từ xerin tạo ra N_5-N_{10} -metilen - FH_4 .

Đến lượt mình, axit nucleic lại có vai trò quan trọng trong quá trình sinh tổng hợp protein. Axit deoxiribonucleic (ADN) và axit ribonucleic (ARN_{tt} ; ARN_{vc} ; ARN_r) tham gia thực hiện sự lắp ghép các gốc axit amin theo một trình tự xác định, tạo thành chuỗi polipeptit. Như vậy giữa sự trao đổi protein và axit nucleic có mối liên quan tương hỗ rất mật thiết.





Hình 121 – Mối liên quan giữa các quá trình trao đổi chất.

(Mũi tên chấm để chỉ các giai đoạn phản ứng tách H^+ và điện tử ra khỏi cơ chất).

VI - MỐI LIÊN QUAN GIỮA SỰ TRAO ĐỔI LIPIT VÀ AXIT NUCLEIC

Giữa lipit và axit nucleic có rất ít mối liên quan trực tiếp, nếu có mối liên quan nào đó thì đó là mối liên quan gián tiếp thông qua xacarit và protein...

Tuy nhiên, tương tự như trong sinh tổng hợp polixacarit, lần này các dẫn xuất nucleozit-diphosphat : xitidin-diphospho-colin và xitidin-diphospho-etanolamin (XDP-colin ; XDP-etanolamin) tham gia vào quá trình sinh tổng hợp photphatit với vai trò là chất cho gốc colin và etanolanin (hình 88).

Nhìn lại những chương trước, ta mới chỉ thấy rõ từng quá trình chuyển hoá cụ thể hoặc những sơ đồ trao đổi chất riêng lẻ. Nhưng cơ thể sống là một khối thống nhất toàn vẹn mà sự trao đổi chất ở chúng là tổng hoà của các mối liên hệ hữu cơ. Bởi thế, sơ đồ trong hình 121 ở trên giúp ta thấy được bức tranh toàn diện về mối liên quan giữa các quá trình trao đổi chất của tế bào.

Từ những vấn đề đã nêu trên có thể rút ra kết luận : *trong cơ thể có mối liên quan mật thiết và sự thống nhất giữa các quá trình trao đổi chất.*

Sản phẩm của sự phân giải một chất này lại là nguyên liệu tổng hợp nên chất kia ; năng lượng do sự phân giải chất này lại cần dùng cho quá trình sinh tổng hợp một chất khác.

Tuy nhiên, cần phải lưu ý rằng, vai trò và tầm quan trọng của sự trao đổi ở mỗi chất là khác nhau. Sự trao đổi xacarit và lipit có ý nghĩa lớn về mặt cung cấp ATP cho các quá trình thu năng lượng. Nhưng mọi quá trình trao đổi chất đều không thể thiếu được các enzym xúc tác ; một số chuyển hoá lại được điều hoà bởi các repressơ hoặc các hoocmon có bản chất protein. Bởi vậy, sự trao đổi protein có vai trò điều hoà nghiêm ngặt theo những cơ chế tinh vi đối với toàn bộ quá trình trao đổi chất, bảo đảm trạng thái cân bằng của cơ thể.

Ngoài ra, nhờ các yếu tố điều hoà bên trong cơ thể và bên ngoài như các hoocmon, nồng độ enzym, nồng độ cơ chất, sự có mặt chất kích thích hoặc chất kìm hãm v.v. mà các quá trình sinh tổng hợp hay phân giải các chất diễn ra một cách chính xác và tiết kiệm nhất.

SÁCH THAM KHẢO CHÍNH

- 1- Jeremy M.Berg, John L.Tymoczko, Lubert Stryer (2002)
Biochemistry, 5th ed.
W. H. Freeman and Company, New York.
- 2- William H. ELLiot, Daphne C.Elliot (2001)
Biochemistry and Molecular Biology , 2nd ed.
Oxford University Press Inc, New York.
- 3- Christopher K.Mathews, K.E. van Holde, Kenvin G.Ahern (2000)
Biochemistry, 3rd ed.
Addison Wesley Longman , Inc
- 4- Robert A. Coerland (2000)
Enzymes – A practical introduction to structure , mechanism, and data anlysis , 2nd ed.
Wiley – VCH, Inc
- 5- Robert L.Switzer, Liam F. Garrity (1999)
Experimental Biochemistry .
W . H. Freeman and Company , New York
- 6- Nicolas C. Price and Lewis Stevens (1999)
Fundamentals of Enzymology, 3rd ed.
Oxford University Press
- 7- Oxford dictionnary of Biochemistry and molecular Biology (1997)
Oxford University Press.
- 8- Albert L. Lehninger ,Davis L. Nelson , Michael M.Cox (1993)
Principle of Biochemistry , 2nd ed.
Worth publushers
- 9- Geoffrey Zubay (1993)
Biochemistry , 3rd ed.
W.C.Brown Publishers
- 10- Nguyễn Xuân Thắng (2003)
Hoá Sinh dược lý phân tử
NXB KH-KT, Hà Nội.
- 11- Hà Huy Khôi, Từ giầy, Phan thị Kim, Phạm duy Tường, Trần văn Phương, Nguyễn thị Ai Châu,
Đỗ thị Hoà, Trần thị Phúc Nguyệt (1996)
Dinh dưỡng và an toàn thực phẩm.
NXB Y học Hà Nội.
- 12- Philip W. Kuchel, Gregory B. Ralston Sydney, Australia (1998)
Biochemistry, 2nd ed. The Mc Graw. Hill Companies.
- 13- Lubert Stryer
Biochemistry, 4th ed, 1995 W.H Freeman and Company.
New York.

MỤC LỤC

	<i>Trang</i>
<i>Lời nói đầu</i>	3
<i>Bài mở đầu</i>	6
Chương I – PROTEIN	
I – Đặc tính chung và vai trò sinh học của protein, nguồn protein	10
II – Cấu tạo phân tử protein	12
A – Thành phần nguyên tố của protein	12
B – Đơn vị cấu tạo cơ sở của protein là axit amin (axit aminocacboxilic)	13
C – Các bậc cấu trúc của phân tử protein	17
III – Một số tính chất quan trọng của protein	34
IV – Phân nhóm protein	42
A – Protein đơn giản	42
B – Protein phức tạp	44
Chương II – AXIT NUCLEIC	
I – Thành phần cấu tạo	50
A – Baz nitơ	50
B – Pentoz	51
C – Cách liên kết giữa các thành phần cấu tạo của mononucleotit	52
II – Liên kết photphodiester giữa các mononucleotit trong chuỗi polinucleotit	54
A – Phân loại axit nucleic	56
B – Một số tính chất của axit nucleic	65
Chương III – XACARIT	
I – Monoxacarit	67
II – Oligoxacarit	76
Chương IV – LIPIT	
I – Lipit đơn giản	83
II – Lipit phức tạp	92
Chương V – VITAMIN	
I – Các vitamin tan trong nước	99
II – Các vitamin tan trong chất béo	104
Chương VI – ENZIM	
I – Cấu tạo hoá học của enzym	112
II – Tính đặc hiệu của enzym	115
III – Cơ chế tác dụng của enzym	116
IV – Zimogen và sự hoạt hoá zimogen	124
V – Các yếu tố ảnh hưởng đến vận tốc phản ứng enzym	126
VI – Cách gọi tên và phân loại enzym.	135

<i>Chương VII – HOOCMON</i>	141
I – Hoocmon động vật	153
II – Hoocmon thực vật (phytohoocmon)	
<i>Chương VIII – KHÁI NIỆM CHUNG VỀ SỰ TRAO ĐỔI CHẤT VÀ TRAO ĐỔI NĂNG LƯỢNG</i>	157
I – Sự trao đổi chất	159
II – Sự trao đổi năng lượng	
<i>Chương IX – TRAO ĐỔI XACARIT</i>	171
I – Sự phân giải xacarit	194
II – Sự tổng hợp xacarit	
<i>Chương X – TRAO ĐỔI LIPIT</i>	202
I – Sự phân giải lipit	209
II – Sinh tổng hợp lipit	
<i>Chương XI – TRAO ĐỔI PROTEIN</i>	217
I – Sự phân giải protein và axit amin	232
II – Sinh tổng hợp axit amin	237
III – Sinh tổng hợp protein	
<i>Chương XII – TRAO ĐỔI AXIT NUCLEIC</i>	252
I – Sự phân giải axit nucleic	254
II – Sinh tổng hợp nucleotit purin	259
III – Sinh tổng hợp nucleotit pirimidin	264
IV – Sinh tổng hợp ADN	266
V – Sinh tổng hợp ARN	
<i>Chương XIII – MỐI LIÊN HỆ GIỮA CÁC QUÁ TRÌNH TRAO ĐỔI XACARIT, LIPIT, PROTEIN VÀ AXIT NUCLEIC</i>	270
I – Mối liên quan giữa sự trao đổi xacarit và lipit	271
II – Mối liên quan giữa sự trao đổi xacarit và protein	273
III – Mối liên quan giữa sự trao đổi lipit và protein	274
IV – Mối liên quan giữa sự trao đổi xacarit và axit nucleic	274
V – Mối liên quan giữa sự trao đổi protein và axit nucleic	276
VI – Mối liên quan giữa sự trao đổi lipit và axit nucleic	

Chịu trách nhiệm xuất bản :

Chủ tịch HĐQT kiêm Tổng Giám đốc NGÔ TRẦN ÁI
Phó Tổng Giám đốc kiêm Tổng biên tập NGUYỄN QUÝ THAO

Biên tập lần đầu :

PHAN MẠNH LÂM

Biên tập tái bản :

TRỊNH NGUYỄN GIAO
NGUYỄN THỊ HỒNG

Biên tập mỹ thuật :

VŨ THANH BÌNH

Biên tập kỹ thuật :

NGUYỄN NAM THÀNH

Sửa bản in :

TRỊNH NGUYỄN GIAO
NGUYỄN THỊ HỒNG

Sắp chữ :

PHÒNG CHẾ BẢN (NXB GIÁO DỤC)

HOÁ SINH HỌC

Mã số: 7K065T6 – DAI

In 1.000 bản, khổ 19 x 27 cm, tại Công ty Cổ phần in Thái Nguyên.

Số xuất bản: 04 - 2006/CXB/110 - 1860/GD.

In xong và nộp lưu chiểu quý I/2006.



CÔNG TY CỔ PHẦN SÁCH ĐẠI HỌC - DẠY NGHỀ

HEVOBCO

Địa chỉ : 25 Hàn Thuyên, Hà Nội



8 934980 685464



Giá: 32.000đ