



Sự hấp thu các chất dinh dưỡng ở vi sinh vật

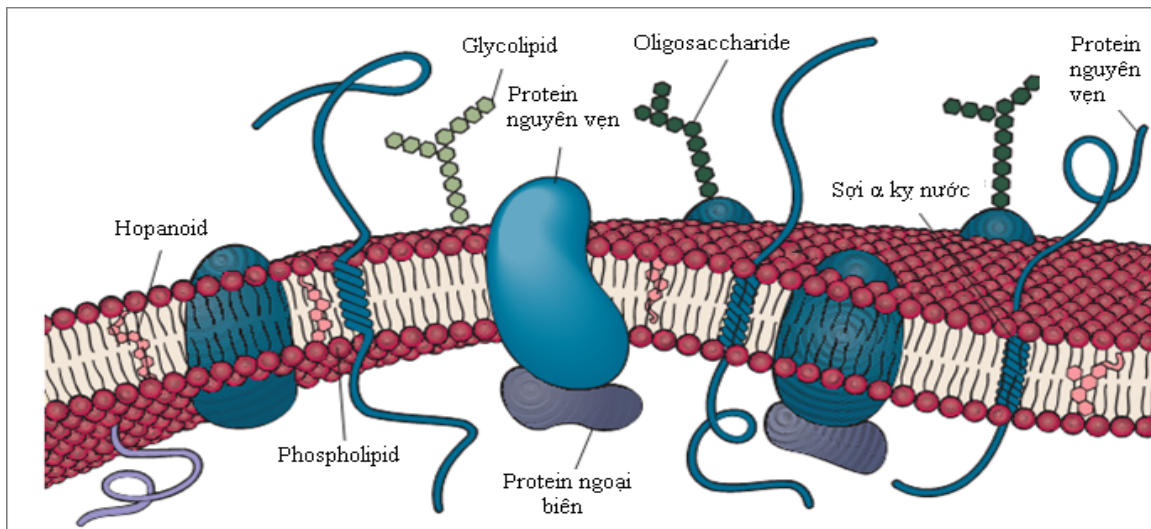
Bởi:

Nguyễn Lâm Dũng

buivietha

Để tồn tại, sinh trưởng và phát triển, tế bào vi sinh vật phải thường xuyên trao đổi vật chất và năng lượng với môi trường bên ngoài. Một mặt chúng tiếp nhận các chất dinh dưỡng từ môi trường, mặt khác chúng thải ra môi trường một số sản phẩm trao đổi chất. Tế bào vi sinh vật sử dụng các chất dinh dưỡng bắt đầu từ việc hấp thu chúng. Cơ chế của sự hấp thu này có tính chuyên hóa, nói cách khác chúng chỉ hấp thu các chất cần thiết, việc hấp thu các chất không sử dụng được là bất lợi đối với tế bào. Vi sinh vật thường sống trong các môi trường nghèo chất dinh dưỡng, do đó chúng phải có năng lực vận chuyển chất dinh dưỡng từ môi trường có nồng độ thấp vào môi trường có nồng độ cao bên trong tế bào, tức là ngược lại với gradient nồng độ. Như thế là giữa trong và ngoài tế bào có một hàng rào thẩm thấu, đó là màng sinh chất có tính thẩm thấu chọn lọc. Chúng cho phép các chất dinh dưỡng xâm nhập vào tế bào và cản trở các chất khác. Do tính đa dạng và phức tạp của các chất dinh dưỡng nên vi sinh vật có nhiều phương thức khác nhau để vận chuyển các chất dinh dưỡng. Quan trọng nhất là cách Khuếch tán xúc tiến (Facilitated diffusion), cách Vận chuyển chủ động (Active transport) và cách Chuyển vị nhóm (Group translocation). Ở các vi sinh vật có nhân thật không thấy có cách Chuyển vị nhóm nhưng có cách sử dụng quá trình Nhập bào (Endocytosis). Cấu tạo của màng sinh chất được biểu thị qua hình 6 sau đây:

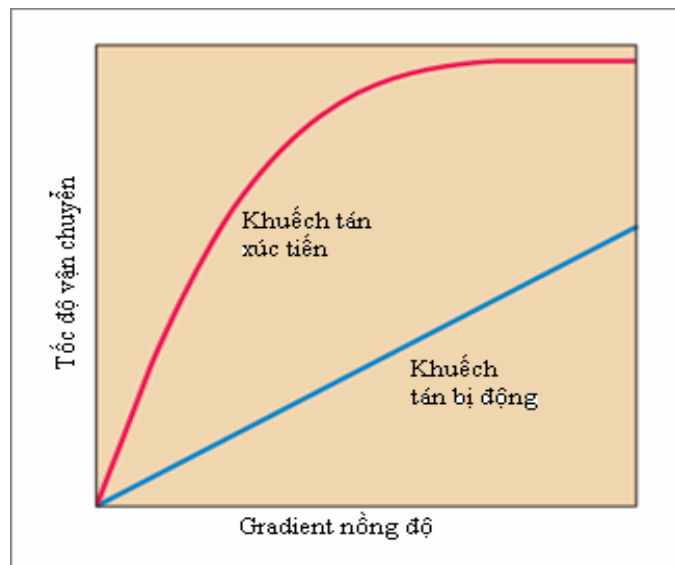
Sự hấp thu các chất dinh dưỡng ở vi sinh vật



Cấu trúc của màng sinh chất (Theo sách của Prescott, Harley và Klein).

Sự khuếch tán xúc tiến (Facilitated Diffusion)

Một số ít các chất, như glycerol, có thể đi qua màng tế bào chất theo phương thức Khuếch tán bị động (Passive diffusion). Khuếch tán bị động còn được gọi tắt là Khuếch tán, đó là việc các chất dinh dưỡng chuyển từ chỗ có nồng độ cao đến chỗ có nồng độ thấp. Khuếch tán bị động muốn làm cho tế bào hấp thụ có hiệu quả một số chất dinh dưỡng cần có nồng độ chất này bên ngoài tế bào cao hơn bên trong. Tốc độ hấp thu tùy theo lúc tế bào tăng lượng hấp thụ chất này mà giảm xuống. Trừ phi loại chất dinh dưỡng này sau khi xâm nhập tế bào lập tức được sử dụng và không làm nâng cao nồng độ chất đó trong tế bào. Chỉ có nước (H_2O), O_2 và CO_2 , là những phân tử rất nhỏ mới thường được vận chuyển qua màng bằng phương thức khuếch tán bị động. Các phân tử tương đối lớn hơn, các ion và các chất có tính cực (polar substances) khó có thể đi qua màng sinh chất bằng phương thức khuếch tán bị động.



Sự hấp thu các chất dinh dưỡng ở vi sinh vật

Khuếch tán bị động (đường thẳng) và khuếch tán xúc tiến (đường cong) (Theo sách của Prescott, Harley và Klein).

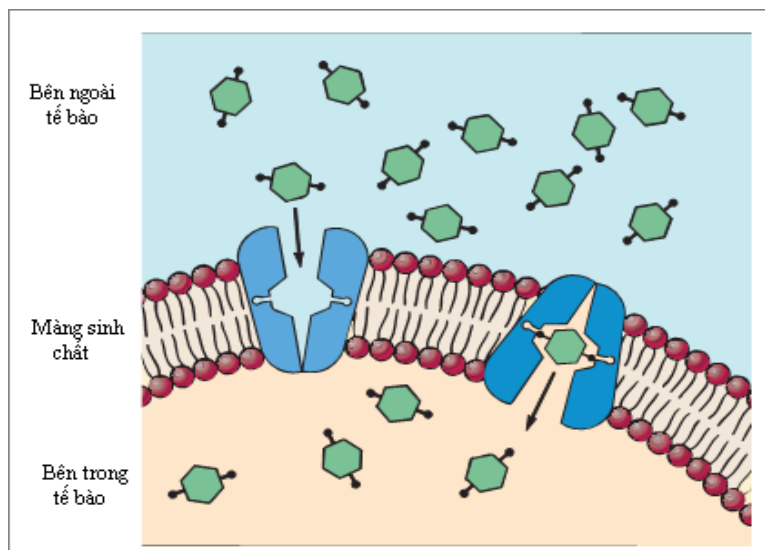
Protein mang (carrier protein) còn gọi là enzim permease là một loại protein gắn trên màng. Với sự hỗ trợ của permease có thể nâng cao rất nhiều tốc độ khuếch tán qua màng có tính thẩm thấu chọn lọc. Phương thức vận chuyển qua màng với sự hỗ trợ của permease được gọi là sự khuếch tán xúc tiến (facilitated diffusion). Tốc độ của quá trình khuếch tán xúc tiến tăng lên khi sự chênh lệch nồng độ chất dinh dưỡng giữa trong và ngoài tế bào tăng lên. Khi nồng độ các chất dinh dưỡng tương đối thấp thì không thể tăng lên cao hơn so với phương thức khuếch tán bị động. Lúc gradient nồng độ đạt tới một trị số nhất định thì dẫn đến hiệu ứng bão hòa. Sự tham gia của Permease đã làm dẫn đến hiệu ứng bão hòa (hình 7)

Đáng chú ý là, lúc permease bị bão hòa, sự khuếch tán xúc tiến không tăng lên do sự tăng mức chênh lệch chất dinh dưỡng trong và ngoài tế bào. Quan hệ giữa tốc độ khuếch tán xúc tiến và gradient nồng độ chất dinh dưỡng tương tự như mối quan hệ giữa enzyme và cơ chất, và khác hẳn với đường biểu diễn thẳng phản ánh sự khuếch tán bị động. Ngoài ra sự giống nhau giữa permease và enzyme còn ở chỗ có tính chuyên nhất đối với chất vận chuyển, mỗi loại permease chỉ có thể vận chuyển một cách chọn lọc đối với một số chất tương thích. Dù có sự tham gia của permease nhưng khuếch tán xúc tiến vẫn đúng là phương thức vận chuyển khuếch tán. Việc vận chuyển vẫn phải dựa vào sự chênh lệch nồng độ chất dinh dưỡng giữa trong và ngoài màng. Khi mất đi sự chênh lệch nồng độ sự vận chuyển sẽ dừng lại. Quá trình này không cần tới năng lượng trao đổi chất (metabolic energy) của tế bào. Gradient nồng độ có thể duy trì khi tế bào chuyển biến chất dinh dưỡng được vận chuyển thành một hợp chất khác hoặc chuyển chất dinh dưỡng đó tới một vị trí khác của màng (ở sinh vật có nhân thật). Thật thú vị khi thấy một số permease này liên quan đến protein chủ chốt của thấu kính mắt ở động vật có vú, đó là các protein thuộc họ MIP. Trong vi khuẩn 2 loại kênh MIP phân bố rộng rãi nhất là aquaporins vận chuyển nước và glycerol facilitators (các nhân tố xúc tiến glycerol) vận chuyển glycerol.

Mặc dầu đã có rất nhiều nghiên cứu đối với cơ chế khuếch tán xúc tiến nhưng quá trình này vẫn chưa được hiểu biết một cách đầy đủ. Hình như phức hợp permease xuyên ngang qua màng tế bào. Sau khi chất dinh dưỡng được kết gắn bên ngoài màng, cấu hình của permease phát sinh biến hóa để phóng thích được chất dinh dưỡng vào bên trong màng. Permease sau đó lại hồi phục lại cấu hình ban đầu và sẵn sàng để đón nhận phân tử dinh dưỡng khác bên ngoài màng. Kết quả của quá trình này là một phân tử không tan trong lipid có thể đi vào tế bào đáp lại gradient nồng độ của nó. Nên nhớ rằng, cơ chế này có thể đảo ngược bởi gradient nồng độ, nếu nồng độ một số vật chất trong tế bào cao hơn bên ngoài thì cũng có thể thông qua phương thức này mà chuyển vận ra ngoài tế bào. Vì thông qua hoạt động trao đổi chất mà tế bào tiêu hao rất nhanh các chất dinh dưỡng đưa vào tế bào nên không có chuyện chất dinh dưỡng bị đưa ngược ra ngoài (hình 8).

Sự hấp thu các chất dinh dưỡng ở vi sinh vật

Ở các sinh vật nhân nguyên thủy quá trình khuếch tán xúc tiến không phải là phương thức vận chuyển chủ yếu vì nồng độ chất dinh dưỡng bên ngoài tế bào thường rất thấp cho nên không thể thực hiện được quá trình khuếch tán xúc tiến để hấp thụ chất dinh dưỡng. Glycerol được vận chuyển bởi quá trình khuếch tán xúc tiến ở *E.coli*, *Salmonella typhimurum*, *Pseudomonas*, *Bacillus* và nhiều vi khuẩn khác. Sự khuếch tán xúc tiến thường gặp ở tế bào sinh vật nhân thực, chúng dùng phương thức vận chuyển này để chuyển vận các loại đường và amino acid vào tế bào.



Một kiểu Khuếch tán xúc tiến (Theo sách của Prescott, Harley và Klein)

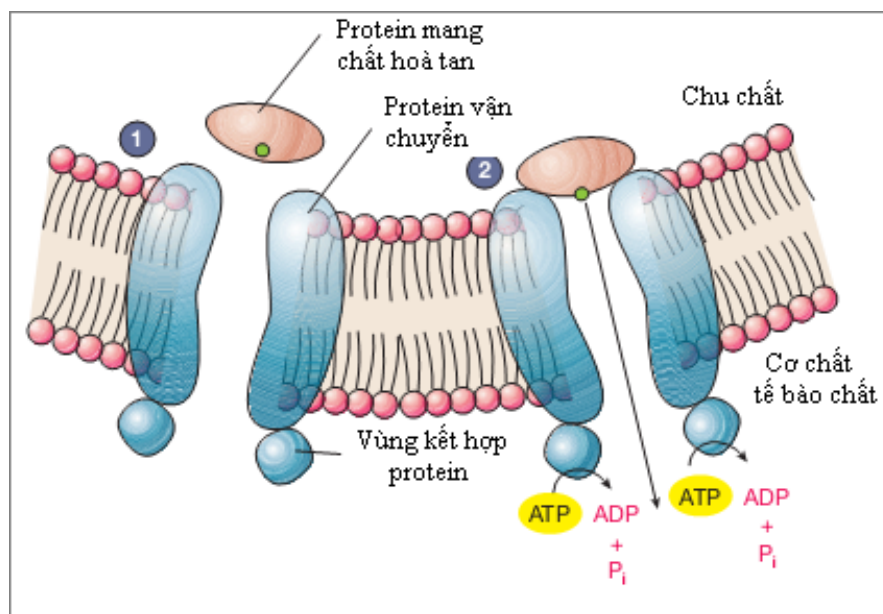
Sự vận chuyển chủ động (Active Transport)

Mặc dầu sự khuếch tán xúc tiến giúp chuyển vận có hiệu quả chất dinh dưỡng vào bên trong tế bào khi nồng độ chất hòa tan bên ngoài cao hơn bên trong tế bào, nhưng không thể vận chuyển được chất dinh dưỡng khi nồng độ chất hòa tan trong tế bào cao hơn bên ngoài. Vi sinh vật thường sống trong các môi trường có nồng độ chất dinh dưỡng rất thấp, để có thể sinh trưởng và phát triển chúng phải có thể vận chuyển và hấp thụ được từ môi trường các chất dinh dưỡng có nồng độ thấp. Khi đó khuếch tán xúc tiến không còn là phương thức vận chuyển hữu hiệu nữa mà phải có những phương thức vận chuyển khác, trong đó quan trọng nhất là phương thức vận chuyển chủ động (active transport) và phương thức chuyển vị nhóm (group translocation); cả hai phương thức này đều cần tới năng lượng.

Sự vận chuyển chủ động là loại phương thức vận chuyển các phân tử chất hòa tan tới nơi có nồng độ cao hơn, tức là ngược lại với gradient nồng độ và cần phải tiêu hao năng lượng. Vì sự vận chuyển chủ động cần tới các protein mang (permease) nên tương tự với sự khuếch tán xúc tiến trong một số phương diện. Permease có tính chuyên nhất cao đối với các phân tử được vận chuyển. Các phân tử chất hòa tan có tính chất tương tự có thể lên kết với permease trong cả hai trường hợp - khuếch tán xúc tiến và vận chuyển chủ động. Trong trường hợp nồng độ các chất dinh dưỡng khá cao sự vận chuyển chủ

động cũng có hiệu ứng bão hòa (*hình 9*). Tuy nhiên, sự khác nhau lớn nhất giữa hai loại này là vận chuyển chủ động có thể vận chuyển ngược nồng độ nhưng cần tiêu hao năng lượng trao đổi chất. Các chất ức chế trao đổi chất có thể làm trở ngại việc sản sinh năng lượng do đó làm ức chế sự vận chuyển chủ động, nhưng không làm ảnh hưởng đến quá trình khuếch tán xúc tiến (ngay cả trong thời gian ngắn).

Vi khuẩn, cổ khuẩn và các vi sinh vật nhân thật có các hệ thống vận chuyển protein kết hợp (Binding protein transport systems) hoặc protein vận chuyển hình hộp kết hợp với ATP (ATP-binding cassette transporters) hay còn gọi là protein vận chuyển ABC (ABC transporter). Loại protein vận chuyển này thường được tạo thành một phức thể nhờ sự kết hợp giữa hai vùng xuyên màng ưa nước (hydrophobic membrane - spanning domain) trên bề mặt tế bào chất và hai vùng gắn với nucleotide (*hình 9*).



Công năng của protein vận chuyển hình hộp có khả năng kết hợp với ATP (Theo sách của Prescott, Harley và Klein). (1) Protein mang chất hoà tan được gắn với cơ chất vận chuyển và hướng đến phức chất protein vận chuyển ABC. (2) Protein mang chất hoà tan gắn vào protein vận chuyển và phóng thích cơ chất, chuyển qua màng nhờ năng lượng của sự thủy phân ATP.

Vùng xuyên màng hình thành một lỗ nhỏ trong màng và vùng kết hợp nucleotide sẽ gắn với ATP rồi thủy phân ATP để hấp thụ chất hòa tan. Protein vận chuyển ABC tận dụng protein liên kết cơ chất chuyên biệt nằm trên khe chu chất của vi khuẩn Gram âm hoặc bám trên màng lipid tại mặt ngoài của màng sinh chất ở vi khuẩn Gram dương. Các protein liên kết này (cũng tham gia vào quá trình hóa hướng động-chemotaxis) sẽ gắn với phân tử được vận chuyển, rồi tương tác với protein vận chuyển màng để chuyển phân tử hòa tan vào trong tế bào. Vi khuẩn E.coli đã dùng cơ chế này để vận chuyển nhiều loại đường (arabinose, maltose, galactose, ribose) và aminoacid (glutamate, histidine, leucine).

Sự hấp thu các chất dinh dưỡng ở vi sinh vật

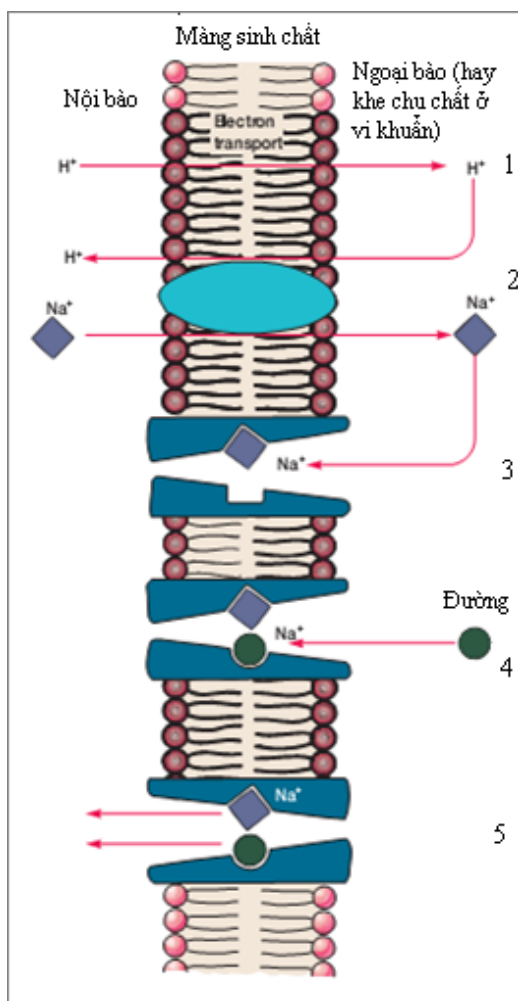
Các chất đưa vào vi khuẩn Gram (+) phải đi qua màng ngoài trước khi phát huy tác dụng của protein vận chuyển ABC và các hệ thống vận chuyển chủ động khác. Các phân tử nhỏ có thể sử dụng một protein lỗ phổ biến như OmpF. Các phân tử lớn hơn phải dùng tới các protein lỗ màng chuyên biệt. Trong một số trường hợp, ví dụ việc hấp thu sắt và vitamin B₁₂ phải dùng tới các protein vận chuyển và protein tiếp nhận màng ngoài có ái lực cao chuyên biệt.

Đáng chú ý là protein vận chuyển ABC ở sinh vật nhân thật nhiều khi có tầm quan trọng lớn trong y học. Một số tế bào ung thư sử dụng các protein vận chuyển này để bơm thuốc ra. Việc xơ hóa nang là kết quả của một đột biến làm bất hoạt một protein vận chuyển ABC đối với chuỗi chuyển ion chloride trong phổi.

Vi khuẩn cũng dùng gradient proton phát sinh ra khi chuyển vận điện tử để thúc đẩy sự vận chuyển chủ động. Các protein vận chuyển màng chịu trách nhiệm đối với quá trình này thiếu hụt các protein liên kết chu chất chuyên biệt để kết hợp với các chất dinh dưỡng. Lactose permease ở vi khuẩn *E.coli* là một ví dụ điển hình. Permease này là một protein đơn có phân tử lượng khoảng 30 000. Nó vận chuyển phân tử lactose khi có một proton xâm nhập tế bào (nồng độ proton cao bên ngoài tế bào là do hoạt động của chuỗi chuyển vận điện tử). Sự vận chuyển liên kết của hai cơ chất theo cùng một hướng được gọi là vận chuyển đồng hướng (symport). Trong quá trình này năng lượng tích tụ trong gradient proton được huy động để vận chuyển vật chất. Mặc dầu cơ chế của phương thức vận chuyển này còn chưa được hiểu biết đầy đủ nhưng nói chung được cho rằng proton và permease sau khi kết hợp sẽ cải biến hình dạng và ái lực hấp thụ chất dinh dưỡng. Vi khuẩn *E.coli* cũng dùng sự vận chuyển đồng hướng với proton để vận chuyển aminoacid và các acid hữu cơ như succinate và malate.

Một gradient proton cũng có thể thông qua việc hình thành một gradient ion natri để gián tiếp tác động lên sự vận chuyển chủ động (*hình 10*).

Sự hấp thu các chất dinh dưỡng ở vi sinh vật



Tác dụng của gradient proton và natri trong vận chuyển chủ động (Theo sách của Prescott, Harley và Klein). 1- Proton bơm ra ngoài màng sinh chất khi vận chuyển điện tử. 2- Gradient proton thông qua cơ chế vận chuyển ngược hướng (antiport mechanism) để đẩy ion natri ra ngoài. 3- Ion natri liên kết với phức hợp protein mang (carrier protein complex). 4- Điểm kết hợp với chất hòa tan (dung chất) biến đổi hình dạng và gắn với dung chất (đường hoặc aminoacid). 5- Cấu hình của protein mang (carrier) thay đổi, ion natri được chuyển vào trong tế bào và sau đó dung chất cũng rời khỏi protein mang

Các chất vận chuyển được chuyên xuyên màng theo phương hướng tương phản như vậy được gọi là vận chuyển ngược hướng (antiport). Gradient natri sinh ra trong ngoài tế bào do hệ thống vận chuyển proton ngược hướng này sẽ có thể dẫn đến việc hấp thu đường và amino acid vào tế bào. Một ion natri có thể liên kết với một protein mang và gây ra sự biến đổi hình dạng. Protein mang sẽ kết hợp mật thiết với đường hay amino acid và định hướng chúng chuyển vào bên trong tế bào. Do nồng độ natri trong tế bào thấp, ion natri có thể tách rời ra khỏi protein mang và chất dinh dưỡng được vận chuyển cũng được tách ra theo. Cùng với việc ion natri di động vào tế bào vi khuẩn *E.coli* thì protein mang cũng sẽ chuyển đường melibiose và amino acid glutamate vào tế bào này

Sự hấp thu các chất dinh dưỡng ở vi sinh vật

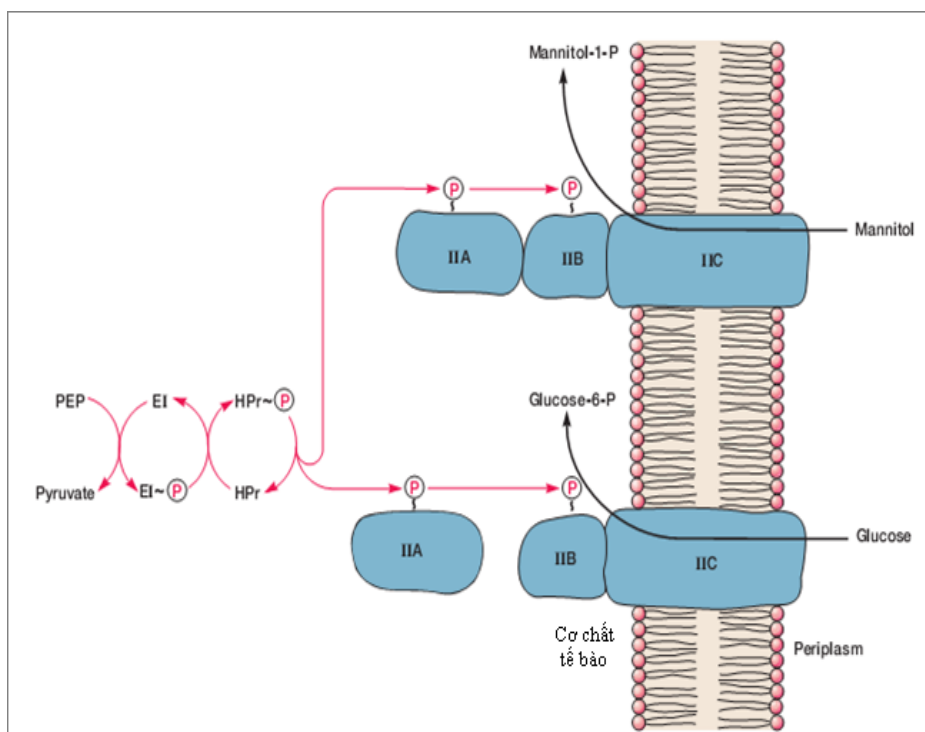
Sự vận chuyển đồng hướng (symport) hay vận chuyển hiệp đồng (cotransport) natri cũng là một quá trình quan trọng ở các tế bào nhân thật (eucaryotic) khi hấp thu đường và amino acid. Nhưng gradient ion natri thường sinh ra do việc thủy phân ATP chứ không phải do lực chuyển động của proton.

Vi sinh vật thường thông qua nhiều hệ thống vận chuyển để hấp thu một chất dinh dưỡng. Ví dụ như ở vi khuẩn *E.coli*, ít nhất cũng có tới 5 hệ thống vận chuyển để hấp thu đường galactose, 3 hệ thống vận chuyển để hấp thu glutamate và leucine, 2 hệ thống vận chuyển để hấp thu ion kali. Khi có nhiều hệ thống vận chuyển như vậy đối với cùng một cơ chất, các hệ thống có sự khác nhau về nguồn năng lượng tiêu hao, về ái lực đối với chất dinh dưỡng và về phương thức điều tiết hệ thống vận chuyển. Tính đa dạng về các phương thức vận chuyển như vậy đã giúp cho vi sinh vật càng có ưu thế cạnh tranh mạnh mẽ trong điều kiện môi trường dễ biến đổi.

Sự chuyển vị nhóm (Group Translocation)

Trong việc vận chuyển chủ động, các phân tử hòa tan vận chuyển qua màng mà không cần cải biến. Nhiều vi sinh vật nhân sơ còn có thể thông qua việc chuyển vị nhóm để hấp thu chất dinh dưỡng. Trong quá trình này vật chất được vận chuyển sẽ có phát sinh biến hóa hóa học. Nhóm này có thể xếp vào loại vận chuyển phụ thuộc năng lượng vì cần sử dụng năng lượng trao đổi chất. Hệ thống chuyển vị nhóm quen biết nhất là Phosphoenolpyruvate: hệ thống phosphotransferase đường (PTS). Nhiều loại đường thông qua phương thức vận chuyển này để chuyển vào tế bào vi sinh vật nhân sơ khi bị phosphoryl hóa và sử dụng phosphoenolpyruvate (PEP) làm thể cho phosphate:

PEP + Đường (ngoại bào) → Pyruvate + Đường + P (nội bào)



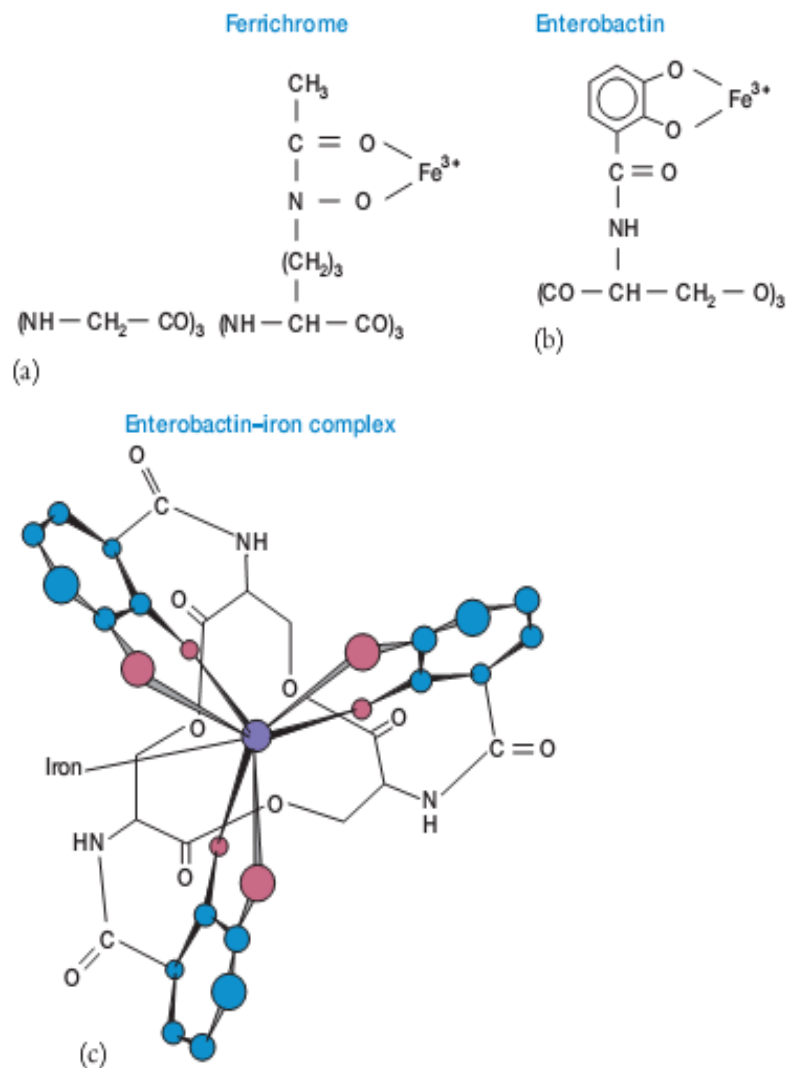
Chuyển vị nhóm (Theo sách *Microbiology của Prescott, Harley và Klein*)

PET rất phức tạp, ở vi khuẩn *E.coli* và *Salmonella typhimurium* PTS tạo thành bởi 2 enzyme (EI và EII) và 1 protein ổn định nhiệt có phân tử lượng thấp (HPr). HPr và Enzyme EI là tồn tại trong tế bào chất. Enzyme EII có nhiều biến hóa trong cấu trúc, thường do hợp thành bởi 3 tiểu đơn vị (subunits) hay vùng kết cấu (domains), trong đó EIIA (trước đây gọi là EIII) là protein tế bào chất có thể hòa tan, EIIB cũng là một protein ưa nước (hydrophilic), EIIC là protein kỵ nước nằm trên màng tế bào, hai loại sau thường kết hợp lại với nhau. Trong quá trình vận chuyển, dưới tác dụng của EI và HPr một phosphate cao năng từ PEP chuyển đến enzyme EII với sự giúp đỡ của Enzyme I và HPr. Sau đó EII đưa 1 phân tử đường qua màng vào tế bào và được phosphoryl hóa. EII chỉ vận chuyển chuyên hóa từng loại đường và trong các hệ thống PTS khác nhau có các EII khác nhau, còn EI và HPr là giống nhau trong mọi hệ thống PTS.

Hệ thống PTS phân bố rộng rãi ở các vi sinh vật nhân sơ. Các chi vi khuẩn *Escherichia*, *Salmonella*, *Staphylococcus* và các vi khuẩn kỵ khí không bắt buộc (facultatively anaerobic) khác đều có hệ thống PTS. Một số vi khuẩn kỵ khí bắt buộc, như thuộc chi *Clostridium*, cũng có hệ thống PTS. Một số vi khuẩn thuộc chi *Bacillus* có cả hai hệ thống Đường phân (Glycolyse) và PTS. Nhưng các vi khuẩn hiếu khí hầu như không có hệ thống PTS. Nhiều carbohydrate được vận chuyển bởi hệ thống này. Vi khuẩn *E.coli* hấp thu glucose, fructose, mannitol, saccharose, N-acetylglucosamine, cellobiose và nhiều carbohydrate năng phương thức chuyển vị nhóm. Ngoài vai trò dùng để vận chuyển, protein PTS còn là cơ quan cảm thụ hóa học - cảm thụ khí trong quá trình hóa hướng động.

Sự hấp thụ Sắt (Iron Uptake)

Hầu như tất cả vi sinh vật đều cần sử dụng sắt (Fe) để cấu tạo nên các Cytochrome và nhiều enzyme. Sắt rất khó hấp thụ vì ion sắt (Fe^{3+}) và các dẫn xuất của chúng rất khó hòa tan, trong môi trường thường có rất ít các hợp chất sắt dễ hòa tan để có thể vận chuyển vào tế bào. Việc hấp thụ sắt của vi sinh vật là hết sức khó khăn. Nhiều vi khuẩn và nấm phải khắc phục khó khăn này bằng cách thông qua thể mang sắt (siderophore). Đó là những phân tử có phân tử lượng thấp lại liên kết với sắt và chuyển vận được vào tế bào, thường đó là các muối hydroxamate hoặc phenolates-catecholate. Ferrichrome là một loại hydroxamate được sinh ra bởi nhiều nấm; enterobactin là loại catecholate được sinh ra bởi *E.coli*... Trong hình bên ta thấy 3 loại thể mang sắt dưới các dạng khác nhau.



Siderophore

Sự hấp thu các chất dinh dưỡng ở vi sinh vật

Khi môi trường có chứa với hàm lượng thấp các sắt có thể sử dụng vi sinh vật sẽ tiết ra các thể mang sắt (siderophones) để kết hợp với sắt và chuyển đến màng tế bào. Lúc đó sẽ kết hợp tiếp với protein thụ thể (receptor-protein) để chuyển sắt vào trong tế bào, hoặc toàn bộ phức thể Sắt-siderophone được chuyển vào trong nhờ một protein vận chuyển ABC (ATP-binding cassette transporter). Ở vi khuẩn E.coli thụ thể siderophone nằm màng ngoài (outer membrane), sau khi Fe^{3+} được chuyển đến khe chu chất (periplasmic space) thì với sự hỗ trợ của protein vận chuyển sắt sẽ được chuyển qua màng sinh chất (plasma membrane), sau đó Fe^{3+} sẽ được khử thành Fe^{2+} . Vì sắt rất cần cho quá trình sinh trưởng, phát triển của vi sinh vật cho nên vi sinh vật cần sử dụng nhiều phương thức hấp thu khác nhau để đáp ứng nhu cầu này.