

<https://sites.google.com/site/lophocphanK57vnua/>

TẾ BÀO HỌC THỰC VẬT

Giảng viên: Phạm Thị Ngọc
Bộ môn Di truyền – chọn giống cây trồng

Số dt: 097 267 32 09
Email: ptngoc132@gmail.com;
ptngoc@hva.edu.vn

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- *Tế bào học*, Nguyễn Như Hiền, NXB Đại học Quốc gia
- *Molecular Biology of the Cell*, Alberts B.etal, 2002.
- *Cytogenetic: An introduction*. Garber E. D. 1979
- *Tế bào học thực vật*, Paucheva, 1988
- *Embryology of Angiosperms*, Vol 1, Johri B.M, 1990
- *Molecular Embryology of Flowering Plants*, V. Raghavan, 1997

1. TẾ BÀO – ĐƠN VỊ TỔ CHỨC CƠ BẢN CỦA SỰ SỐNG

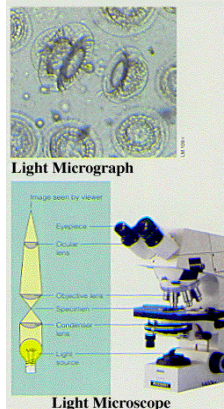
- 1665 Robert Hooke phát hiện ra tế bào lần đầu tiên trên lát cắt mô bần
- 1674 – 1683 Antonie Van Leeuwenhoek phát hiện nhiều loại tế bào khác: động vật đơn bào, tế bào máu, tinh trùng.
- 1838 – 1839 M.Schleiden và T.Schwan đề xuất học thuyết tế bào: “Tất cả cơ thể sinh vật từ đơn bào cho đến thực vật, động vật và con người đều có cấu tạo tế bào”.
- Purkinje (1838), Pholmon (1844), Brawn (1831) – tế bào là khối tế bào chất có chứa nhân và được giới hạn bởi màng nhân.
- Các bào quan lần lượt được phát hiện: trung tử (Van Beneden, Boverie - 1876), ty thể (Alman, Benda - 1894), thể Golgi (Golgi - 1898), sự phân bào không tơ (Remark - 1841), phân bào có tơ (Flemming, Strasburger - 1878).
- Virchow: Tất cả tế bào đều được sinh ra từ tế bào trước đó (*Omnis cellulae e cellulae*).

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU TRONG TẾ BÀO

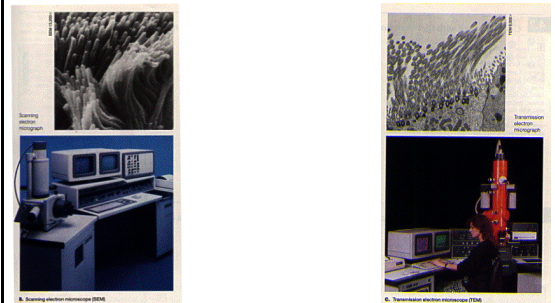
2.1 Kỹ thuật hiển vi

- 1665 Robert Hooke đã sử dụng kính hiển vi với độ phóng đại 30 lần
- Leewenhoek – kính hiển vi phóng đại 300 lần
- 1828 – Chế tạo kính hiển vi với độ phóng đại hàng nghìn lần
- Nửa sau thế kỷ 19: sử dụng các kỹ thuật hiển vi: kính hiển vi đối pha, hiển vi nền đen
- Đầu thế kỷ 20: kỹ thuật hiển vi điện tử

Cấu tạo kính hiển vi quang học



Kính hiển vi điện tử



2.2 Kỹ thuật nuôi cấy tế bào – in vitro

- **Nguyên lý:** tế bào, mô được tách ra khỏi cơ thể bằng phẫu thuật vô trùng và được nuôi cấy trong môi trường nuôi nhân tạo với các điều kiện tương tự *in vivo*.
- **Ưu điểm:** quan sát được trạng thái sống của tế bào như trong cơ thể (*in vivo*).
- Quá trình tái bản mã, phiên mã, dịch mã, quá trình trao đổi chất và thông tin qua màng sinh chất, các quá trình chuyển hóa vật chất và năng lượng trong tế bào, trong ty thể... được phát hiện nhờ phương pháp nuôi cấy tế bào kết hợp với các phương pháp hiện đại khác (đánh dấu bằng định vị phóng xạ, kỹ thuật tái tổ hợp DNA...)



3. TẾ BÀO HỌC VỚI SẢN XUẤT VÀ ĐỜI SỐNG

3.1. Công nghệ tế bào động vật

- Công nghệ nhân bản vô tính động vật*
- Công nghệ tế bào gốc*
- Công nghệ sản xuất kháng thể đơn dòng (monoclonal antibody)*

3.2. Công nghệ tế bào thực vật

- Công nghệ nhân bản vô tính và vi nhân giống cây trồng*
- Kỹ thuật giâm củ, giâm cành, chiết, ghép
- Công nghệ vi nhân giống:* là công nghệ kết hợp kỹ thuật nuôi cấy tế bào, kỹ thuật lai tế bào cũng như kỹ thuật chuyển gen nhằm mục đích sản xuất cây giống có đặc điểm dự tính một cách nhanh, nhiều, tốt, rẻ.
- Công nghệ tạo cây lai soma*
- Công nghệ nuôi cấy tế bào để sản xuất các chế phẩm sinh học*

Các công đoạn nuôi cấy tế bào:

- Chọn lọc cây để lấy mô cấy
- Nuôi cấy các mảnh mô từ lá, thân hoặc rễ... trong môi trường thích hợp để sản xuất các mô sẹo.
- Chọn lọc các dòng gốc có năng suất cao về chế phẩm cần sản xuất.
- Chuyển nuôi cấy sang môi trường lỏng để sức sinh trưởng của mô cấy và tăng sản lượng chế phẩm với các bình cấy dung tích lớn (250ml). Các dòng gốc có năng suất cao được chuyển sang nuôi cấy đại trà hoặc được cất giữ lâu dài trong bình nitơ lỏng.
- Sản xuất ở mức đại trà với quy mô nuôi cấy lớn trong các lò phản ứng sinh học (bioreactor) có hệ ổn hóa, có hệ điều chỉnh tự động về các điều kiện nuôi cấy với độ tiết trùng cao.
- Chiết và tinh chế các chế phẩm cần sản xuất.

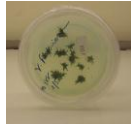
Culturing (micropropagating) Plant Tissue - the steps



- Selection of the plant tissue (**explant**) from a healthy vigorous 'mother plant' - this is often the apical bud, but can be other tissue
- This tissue must be sterilized to remove microbial contaminants

The Steps, II

- **Establishment** of the explant in a culture medium. The medium sustains the plant cells and encourages cell division. It can be solid or liquid
- **Each plant species** (and sometimes the variety within a species) has particular medium requirements that must be established by trial and error



The Steps, III



Dividing shoots

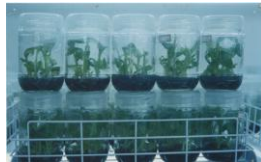


Warmth and good light are essential

- **Multiplication**- The explant gives rise to a **callus** (a mass of loosely arranged cells) which is manipulated by varying sugar concentrations and the **auxin (low)**: **cytokinin (high)** ratios to form multiple shoots
- The callus may be subdivided a number of times

The Steps, IV

- **Root formation** - The shoots are transferred to a growth medium with relatively **higher** auxin: cytokinin ratios



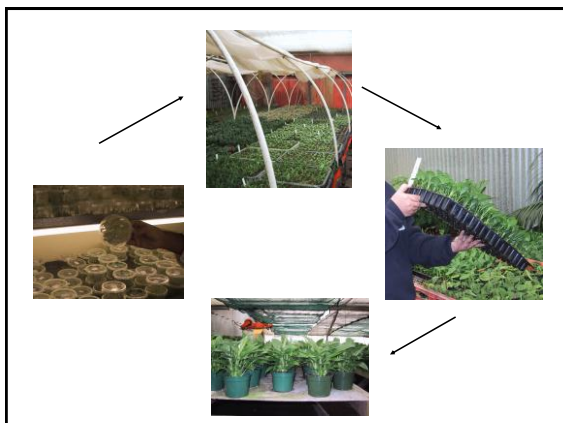
The pottles on these racks are young banana plants and are growing roots

The Steps, V



Tissue culture plants sold to a nursery & then potted up

- The rooted shoots are potted up (deflasked) and 'hardened off' by gradually decreasing the humidity
- This is necessary as many young tissue culture plants have no waxy cuticle to prevent water loss



Chương I: CÁC DẠNG TẾ BÀO

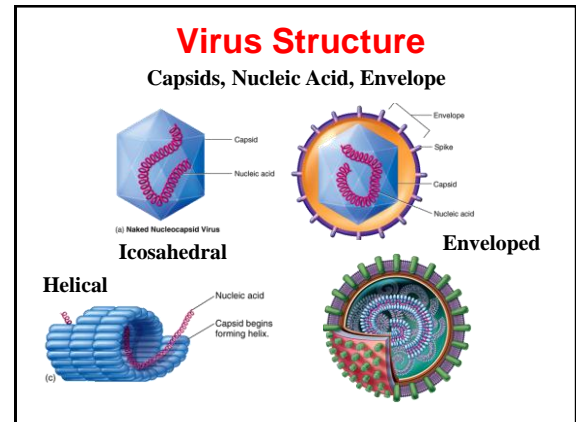
1.1. VIRUS

- **Khái niệm:** Virus là dạng sống rất bé, có kích thước từ 15 đến 350nm. Chúng chưa có cấu tạo tế bào nên chưa được coi là cơ thể sống, chúng chỉ sống ký sinh trong tế bào vi khuẩn, thực vật hoặc động vật. Đa số virus là những nhân tố gây bệnh.
- Ba quan điểm về vị trí của virus trong thế giới sống:
 - **Quan điểm 1:** virus tồn tại như một dạng sống trung gian trong bước chuyển tiếp từ vật chất chưa sống sang vật chất sống, tức là từ phức hệ đại phân tử sang tế bào.
 - **Quan điểm 2:** virus là dạng thoái hóa của một dạng vi khuẩn do đời sống siêu ký sinh của chúng trong tế bào.
 - **Quan điểm 3:** nguồn gốc của virus là một đoạn ADN hoặc ARN chứa một số gen nhất định bị tách ra từ hệ gen (genome) của tế bào và lại được chuyển nạp vào tế bào.

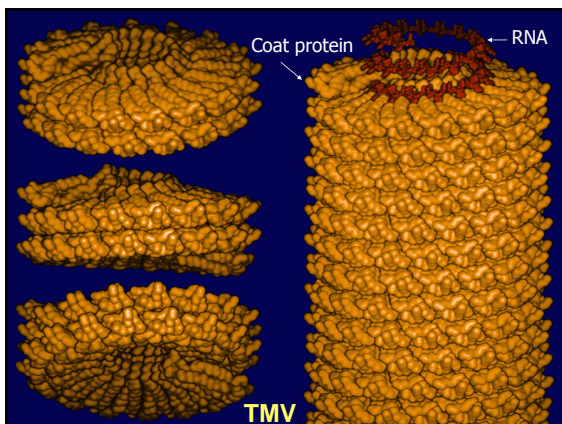
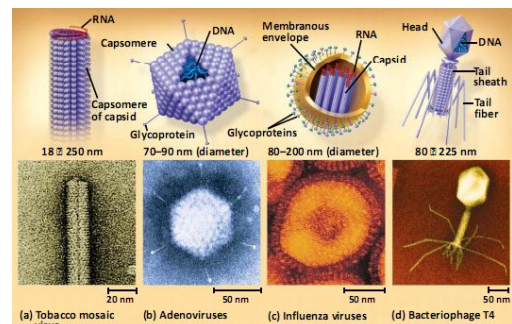
Cấu tạo virus:

- Lõi axit nucleic (axit deoxyribonucleic hoặc axit ribonucleic) là genome, vốn di truyền của virus.
- Vỏ bao protein

Hoạt động sống: khi ký sinh trong tế bào, axit nucleic của virus sẽ tự tái bản và phiên mã nhờ sử dụng hệ enzyme và bộ máy tổng hợp của tế bào chủ để tổng hợp các protein đặc trưng cho mình và sinh sản.

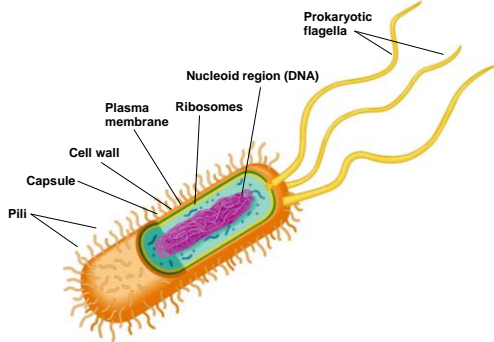
**2 kiểu đối xứng trong cấu tạo virus:**

- Đối xứng khối:** gặp ở các virus cầu. VD: các adenovirus gây bệnh viêm phế quản, viêm giác mạc, viêm phổi. Chúng chứa lõi ADN và vỏ bọc protein tạo nên 20 mặt tam giác với 12 đỉnh. (hình 1.1).
- Đối xứng xoắn:** VD: virus gây bệnh khảm ở thuốc lá là một khối hình trụ dài 300nm, đường kính 18nm, có lõi chứa ARN gồm 2200 nucleotide và một vỏ bọc gồm 2200 phân tử protein tập hợp theo kiểu xoắn ốc.

TÍNH ĐA DẠNG CỦA CẤU TẠO VIRUS**1.2. TẾ BÀO NHÂN SƠ (PROKARYOTA)****Cấu tạo tế bào nhân sơ:**

- Thành tế bào:** có độ dày từ 10 – 20nm và được cấu tạo bởi chất peptidoglycan (bao gồm polysaccharit liên kết với peptit).
- Màng sinh chất (lipoprotein):** chứa khoảng 45% lipid và 55% protein.
- Tế bào chất:** chứa tới 65 – 90% nước. Khối tế bào chất chứa các ribosome (từ 10.000 đến 100.000), các chất vùi, các mesosome
- Nucleoid và nhiễm sắc thể**

SƠ ĐỒ CẤU TẠO VI KHUẦN



1.3. TẾ BÀO NHÂN CHUẦN (EUKARYOTA)

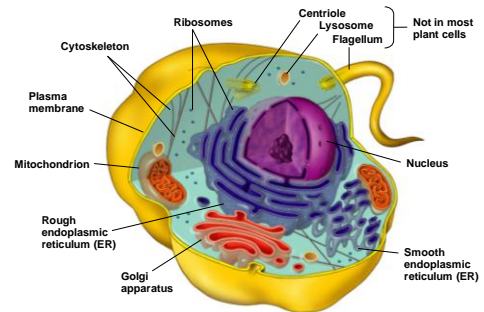
Cấu tạo:

- ✓ Một màng sinh chất có bản chất hóa học là Lipoprotein dày 8,5nm bao quanh khối tế bào chất
- ✓ Khối tế bào chất gồm:
 - + Các bào quan (*organoid*)
 - + Các chất vùi (Paraplasma) là các chất tồn dư hoặc dự trữ trong tế bào chất ở các dạng hạt (hạt glycogen, hạt tinh bột), các giọt (giọt dầu...), các tinh thể vô cơ, hữu cơ và các sắc tố.
- ✓ Nhân được cấu tạo bởi màng nhân là màng kép có nhiều lỗ. Bên trong màng nhân là dịch nhân chứa chất nhiễm sắc và hạch nhân.

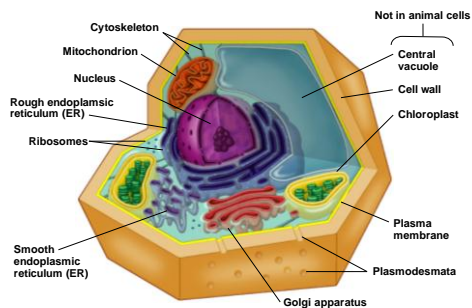
Sự khác nhau giữa tế bào động vật và thực vật

Tế bào thực vật	Tế bào động vật
<ul style="list-style-type: none"> - Có thành vỏ xenlulo bao ngoài màng sinh chất - Có lục lạp – tự dưỡng - Chất dự trữ là tinh bột - Phân bào không có sao và phân tế bào chất bằng vách ngang trung tâm - Hệ không bào phát triển 	<ul style="list-style-type: none"> - Không có thành vỏ xenlulo - Không có lục lạp – dị dưỡng - Chất dự trữ là glycogen - Phân bào có xuất hiện sao và phân tế bào chất bằng eo thắt ở trung tâm - Ít khi có không bào

• Mô hình tế bào động vật



Mô hình tế bào thực vật



1.4. HÌNH THÁI ĐẠI CƯƠNG CỦA TẾ BÀO

1.4.1. Hình dạng của tế bào

- Tế bào thường có hình dạng cố định và đặc trưng cho mỗi loại tế bào
- Hình dạng của tế bào tùy thuộc chủ yếu vào đặc tính thích nghi chức năng và một phần do sức căng bề mặt và độ nhớt của nguyên sinh chất, tác động cơ học của tế bào bên cạnh cũng như tính chất biến đổi linh hoạt của màng sinh chất.
- Trong môi trường lỏng, tế bào thường có dạng cầu
- Đa số tế bào thực vật và động vật có dạng hình khối đa giác (gồm 12 mặt)

1.4.2. Kích thước của tế bào

- Độ lớn của tế bào rất thay đổi. Thường thì tế bào có độ lớn vào khoảng 3 – 30μm.
- Thể tích của tế bào cũng rất thay đổi ở các dạng khác nhau
- Thường thì thể tích của một loại tế bào là cố định và không phụ thuộc vào thể tích chung của cơ thể
- Sự sai khác về kích thước ở các cơ quan là do số lượng tế bào chứ không phải do thể tích của tế bào quy định

1.4.3. Số lượng tế bào

- Số lượng tế bào trong cơ thể đa bào nói chung là rất lớn
- Cơ thể đa bào dù có số lượng tế bào nhiều đến mấy thì cũng được phát triển từ một tế bào khởi nguyên gọi là hợp tử (Zygote).

Chương II CẤU TRÚC VÀ CHỨC NĂNG CỦA MÀNG SINH CHẤT

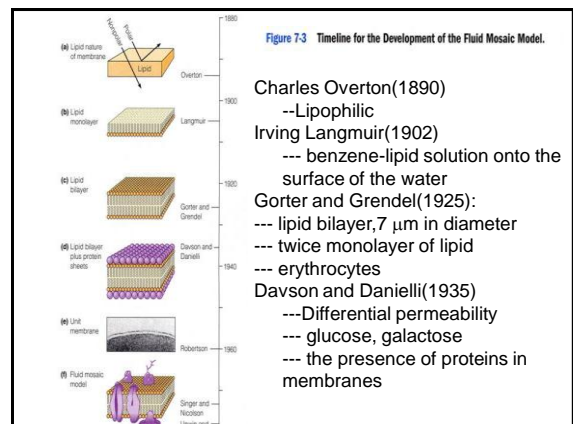
2.1. KHÁI NIỆM CHUNG VỀ HỆ THỐNG MÀNG SINH HỌC

Cấu tạo chung của hệ thống màng sinh học:

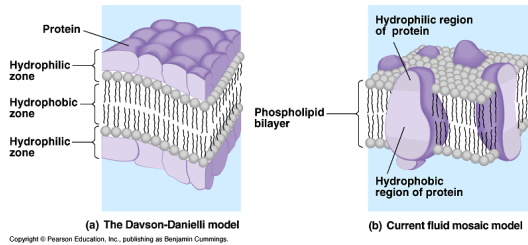
- Là màng lipoprotein có độ dày từ 7 – 10nm, có thành phần hóa học gồm lipid (25 – 75%) và protein (25 – 75%). Ngoài ra còn có hydrat cacbon (5 – 10%)
- *Lipid chủ yếu là photpholipit* tạo thành lớp kép xếp theo kiểu đầu ưa nước quay ra ngoài và vào trong, còn đuôi kỵ nước quay lại với nhau
- Protein phân bố rất đa dạng và linh hoạt trong lớp lipid kép.
- Cacbon hydrat thường liên kết với lipid hoặc protein ở mặt ngoài màng
- Hàm lượng lipid, protein và cacbon hydrat cũng như cách sắp xếp chúng trong màng tùy thuộc vào chức năng của màng.

2.2. CẤU TRÚC CỦA MÀNG SINH CHẤT

- **Khái niệm:** *Màng sinh chất là màng lipoprotein bao phủ khối tế bào chất của tế bào. Màng sinh chất khu trú, cách ly tế bào với môi trường ngoại bào, đồng thời thực hiện sự trao đổi vật chất và thông tin giữa tế bào với môi trường.*
- Màng sinh chất tồn tại ở cả các tế bào Prokaryota và Eukaryota.
- Màng sinh chất ở các dạng tế bào khác nhau có thể có cấu tạo khác nhau về hàm lượng các chất, về khu trú của các phân tử trong màng, hoặc có thể biến đổi về siêu cấu trúc để thực hiện chức năng đặc biệt, nhưng đều có diện cấu tạo chung và thành phần sinh hóa điển hình.



MÔ HÌNH CẤU TRÚC MÀNG SINH CHẤT



2.2.1. Thành phần hóa sinh và cấu trúc phân tử

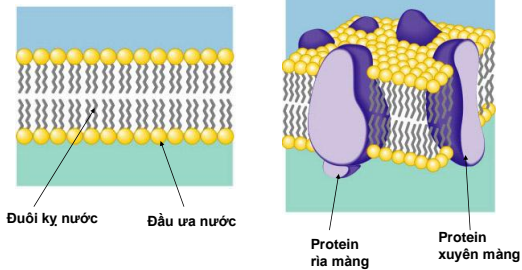
a) Lipid

Lipid ở trong màng chiếm khối lượng khoảng 50% (dao động từ 25 – 75%). Các lipid chủ yếu của màng là:

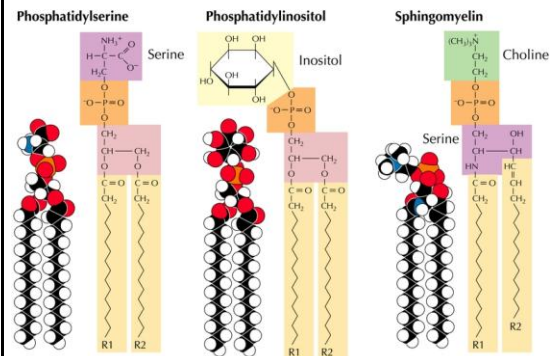
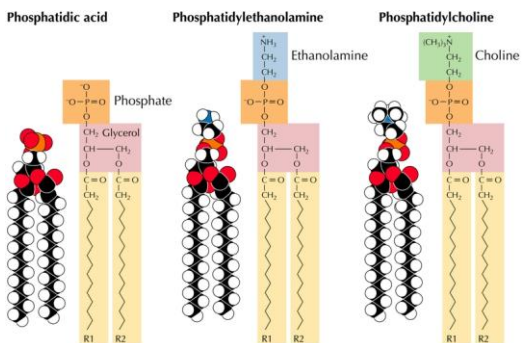
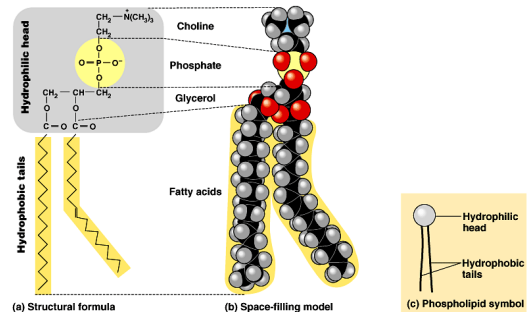
- + Phospholipids có đến 55 – 57%
phosphatidylethanolamin, phosphatidiserin,
phosphatidilcholin, sphingomyelin...).
- + Cholesterol
- + Các glycolipid (sphingosin, ceramit,
galactocerebrosit).

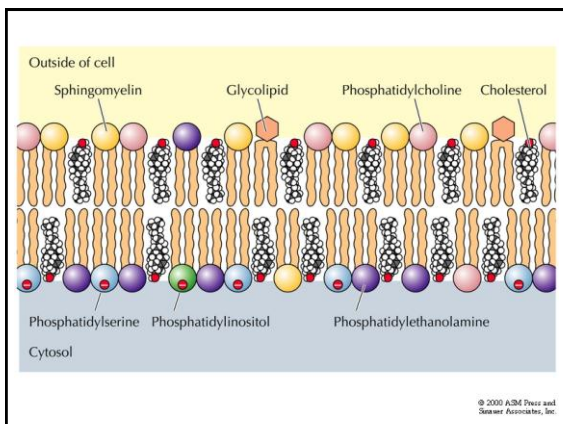
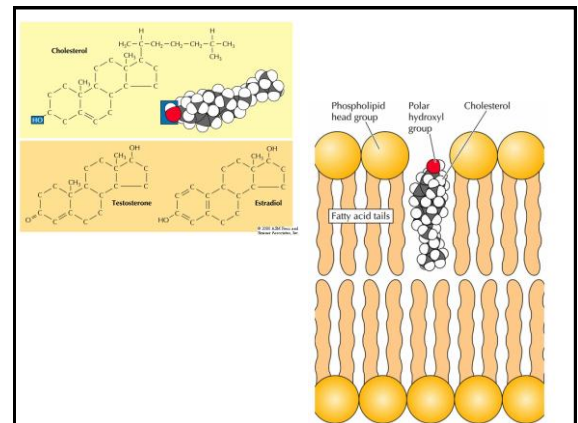
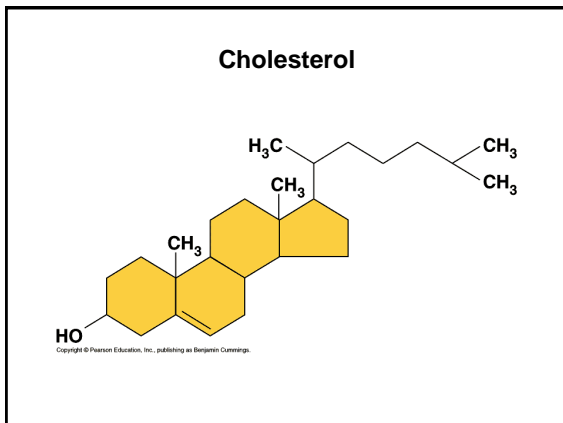
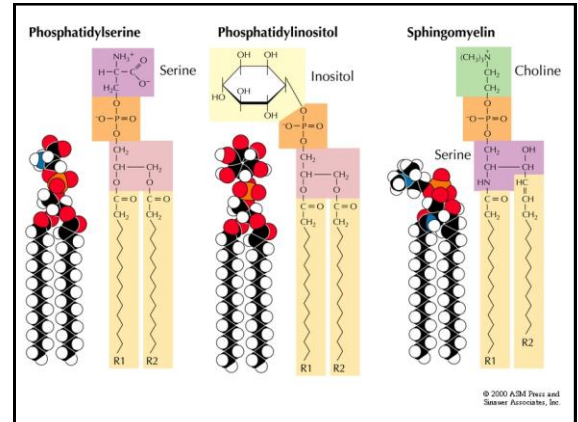
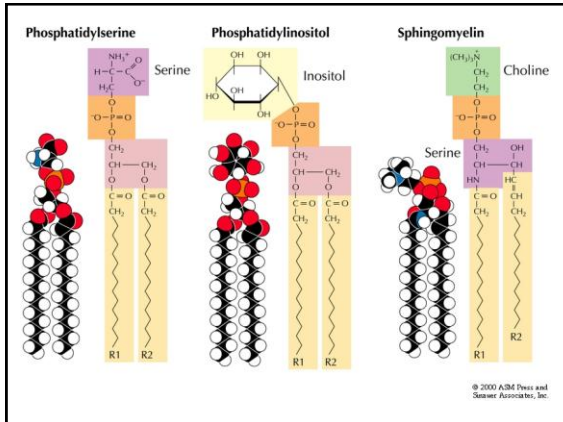
CẤU TẠO MÀNG SINH CHẤT

Lớp kép lipid



Phospholipids



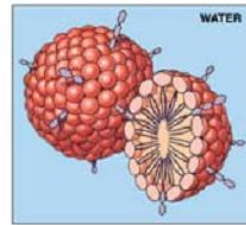


Đặc tính của lipid ở màng

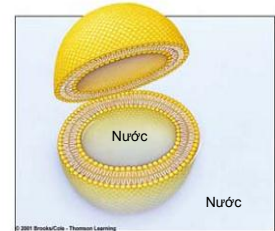
- Phân tử lipid có 1 đầu ưa nước (đầu phân cực) và 1 đầu kỵ nước. Đó là những phân tử lưỡng tính (amphiphile). VD: phân tử phospholipids có đầu phân cực được cấu tạo từ cholin, photphat, glycerol và hai đuôi kỵ nước. Đuôi gồm hai mạch hydrocarbon no ($\text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 \dots$) hoặc chưa no ($\text{CH}_2 - \text{CH} = \text{CH} - \text{CH}_2 \dots$) trong đó thường có đến 14 – 24 nguyên tử C.
- Trong môi trường nước, các phân tử lipid sắp xếp sao cho các đầu phân cực quay ra phía nước còn đuôi kỵ nước quay lại với nhau.
- Khi các phân tử phospholipids có đuôi hydrocarbon kỵ nước ở trạng thái no màng có tính bền vững, còn khi đuôi hydrocarbon có nối đôi màng trở nên nhậy và có tính lỏng lẻo.

- Các phân tử phospholipids có thể tự quay, dịch chuyển ngang, dịch chuyển trên dưới (dịch chuyển flip - flop).
- Phân tử cholesterol có 1 nhóm phân cực và nhân steroid. Các phân tử cholesterol xếp xen kẽ vào giữa các phân tử photpholipit theo cách nhóm phân cực xếp ở mức các đầu ưa nước của photpholipit và nhân steroid xếp xen kẽ vào các mạch kỵ nước của photpholipit. Cách sắp xếp này có tác dụng gây bất động cho các mạch và có vai trò cố định cơ học cho màng.
- Khi tỷ lệ photpholipit/cholesterol cao, màng mềm dẻo, còn khi tỷ lệ này nhỏ (nếu nhiều cholesterol) – màng sẽ bền chắc.
- Các glycolipit là các lipid liên kết với oligosaccarit.

Sự sắp xếp của các phân tử lipid trong môi trường nước



Phospholipids Micelle



Liposome

b) Protein

- Protein trong màng sinh chất chiếm 25 – 75%. Tùy dạng tế bào mà hàm lượng và bản chất protein có thể khác nhau và thực hiện các chức năng rất đa dạng, phong phú: cấu trúc, hoạt tính enzyme, vận chuyển các chất qua màng...
- Tùy theo cách sắp xếp của protein trong màng người ta phân biệt hai loại:
 - + Protein xuyên màng
 - + Protein rìa màng (bám ở phía ngoài của màng hoặc phía trong màng).

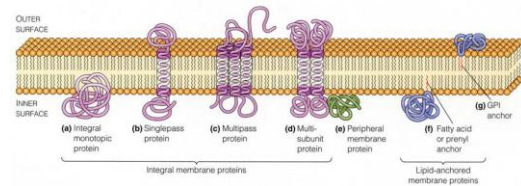
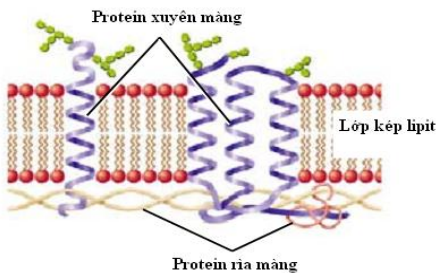


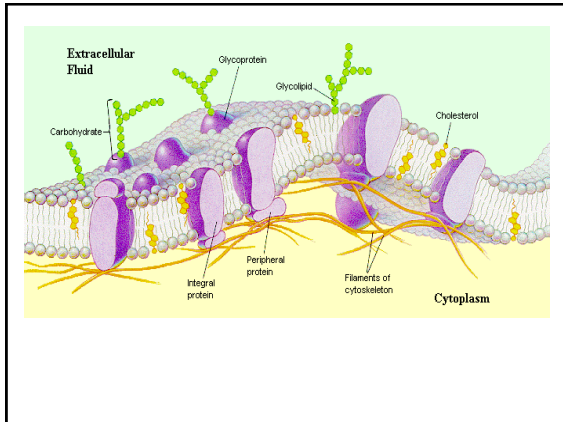
Figure 7-19 The Main Classes of Membrane Proteins.

Cấu tạo màng sinh chất



Protein xuyên màng

- Những protein này nằm xuyên qua chiều dày của màng và liên kết rất chặt chẽ với lớp kép lipid qua chuỗi axit béo. Có loại protein xuyên màng 1 lần, ví dụ như glycophorin (màng hồng cầu), hoặc nhiều lần (bacteriorhodopsin – màng vi khuẩn, xuyên qua màng 7 lần).
- Phần nằm trong màng là kỵ nước và liên kết với đuôi kỵ nước của lớp kép lipid.
- Các đầu của phân tử protein thò ra phía rìa ngoài và rìa trong là ưa nước và có thể là tận cùng nhóm amine hoặc carboxyl.
- Các protein xuyên màng thường liên kết với hydrát cacbon tạo nên các glicoprotein nằm ở phía ngoài màng.

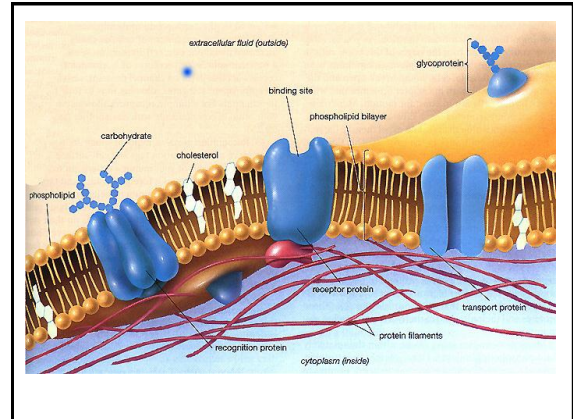


Protein rìa màng

- Những protein rìa màng thường liên kết với lớp lipid kép bằng liên kết hóa trị với 1 phân tử photpholipit và xếp ở rìa ngoài (rìa tiếp xúc với môi trường ngoại bào), hoặc rìa trong của màng (rìa tiếp xúc với tế bào chất).
- Các protein rìa ngoài thường liên kết với glucit tạo nên các *glycoprotein*. Còn protein rìa trong thường liên kết với các protein tế bào chất như ankyrin và qua ankyrin liên hệ với bộ xương tế bào tạo nên hệ thống neo màng và điều chỉnh hình dạng tế bào.

Các glycoprotein và lớp áo (cell coat)

- Glycoprotein là những protein liên kết với polysaccharit cấu tạo từ nhiều đường khác nhau (gluco, manno, fuco, glucosamin, hexosamin) xếp thành các mạch phân nhánh, trong đó axit sialic (axit noraminidic) có mang điện âm xếp ở tận cùng mạch glucit.
- Các proteoglican là những protein liên kết với mạch polysaccharit không phân nhánh – là mạch trùng hợp của đường đôi (disaccharit – glucosaminoglican).
- Các glycoprotein và glycolipit ở phía ngoài của màng tạo nên tính bất đối xứng của màng và là thành phần của lớp áo (cell coat).



Gluxit

- Gluxit trong màng sinh chất chiếm khoảng 2 – 10%. Đó là những mạch oligosaccharit hoặc polysaccharit liên kết đồng hóa trị với các protein màng tạo nên các glycoprotein hoặc proteoglican, liên kết với lipid tạo nên các glycolipit và luôn được định khu ở mặt ngoài của màng.
- Phần gluxit thò ra ngoài màng tạo nên một lớp cấu trúc sợi – là lớp áo có chức năng quan trọng như bảo vệ màng, tạo cực âm cho màng (do axit sialic), kháng nguyên bề mặt, liên kết với các tế bào bên cạnh...

2.2.2 Tính biến động của màng sinh chất

1) Tính linh hoạt của lớp kép lipid

- Thể hiện ở trạng thái lỏng hoặc nhớt của lớp do sự phân bố các photpholipit chưa no và no. Khi các photpholipit ở trạng thái no – màng trở nên nhớt, ở trạng thái chưa no (trạng thái ở nhiệt độ sinh lý) – màng trở nên lỏng.
- Sự chuyển động linh hoạt của các phân tử lipid: chuyển động dịch chỗ và chuyển động co dãn.
- Khi chuyển động dịch chỗ, các phân tử lipid chuyển chỗ theo tuyến ngang (dịch chuyển sang bên cạnh). Đây là chuyển động nhanh. Sự chuyển dịch của chúng có thể xảy ra từ lớp lipid này sang lớp lipid kia (chuyển dịch Flip - Flop). Đó là chuyển dịch chậm hơn.