

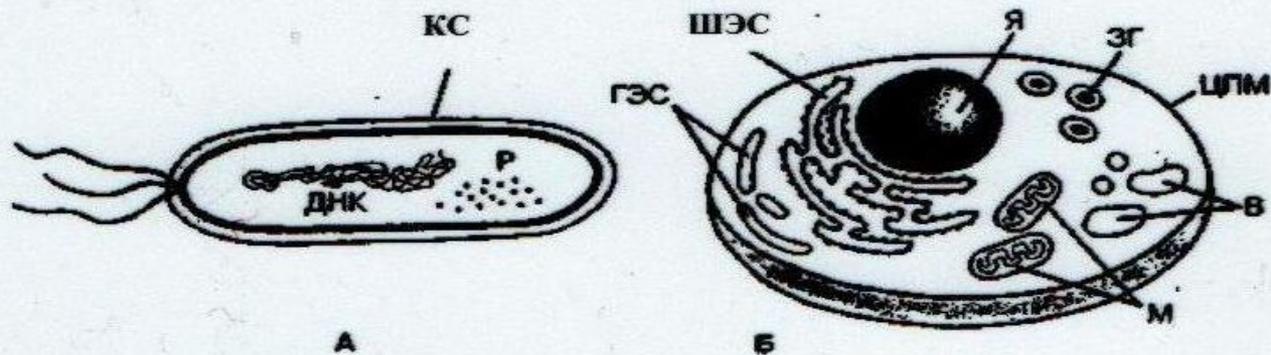
# Лекция 1

**Тема: «Взаимоотношение между структурой и функцией в клетках прокариотических и эукариотических микроорганизмов»**

# Вопросы:

1. Общие представления о различиях в структурно-функциональной организации эукариотических и прокариотических микроорганизмов.
2. Структурная организация и функционирование эукариотической клетки.
3. Структурная организация и функционирование прокариотической клетки.





**РИСУНОК. Основные различия между прокариотической (А) и эукариотической (Б) клетками**

Бактериальная (прокариотическая) клетка (А) окружена клеточной стенкой (КС). Цитоплазма обильно насыщена рибосомами (Р). Молекула ДНК обычно расположена в центре клетки. Цитоплазма эукариотической клетки (Б) окружена цитоплазматической мембраной (ЦПМ), включает митохондрии (М), вакуоли (В), шероховатую эндоплазматическую сеть с рибосомами (ШЭС), гладкую эндоплазматическую сеть (ГЭС), запасные гранулы (ЗГ) и ядро (Я).

**ТАБЛИЦА - ОСНОВНЫЕ РАЗЛИЧИЯ КЛЕТОК ПРОКАРИОТОВ И ЭУКАРИОТОВ**

Структурный (функциональный) признак	Прокариотическая клетка	Эукариотическая клетка
Размер	1-10 мкм	10-100 мкм
Анаэробное дыхание	Возможно	Обычно отсутствует
Фиксация азота	Возможна	Невозможна
Мембранные структуры	Отсутствуют	Имеются

**Генетический материал**

Расположение	Нет мембраны, отграничивающей его от цитоплазмы	Отграничен от цитоплазмы ядерной мембраной
Форма	Кольцевая молекула ДНК	Хромосома
Внехромосомная ДНК	Располагается в плаزمидях	Располагается в митохондриях
Гистоны	Отсутствуют	Имеются
Тип деления	Бинарный	Митотический

**Синтез белка**

Рибосомы	70S (50S и 30S субъединицы)	80S (60S и 40S субъединицы)
Место синтеза	Рибосомы, свободно расположенные в цитоплазме	Рибосомы в составе шероховатой эндоплазматической сети

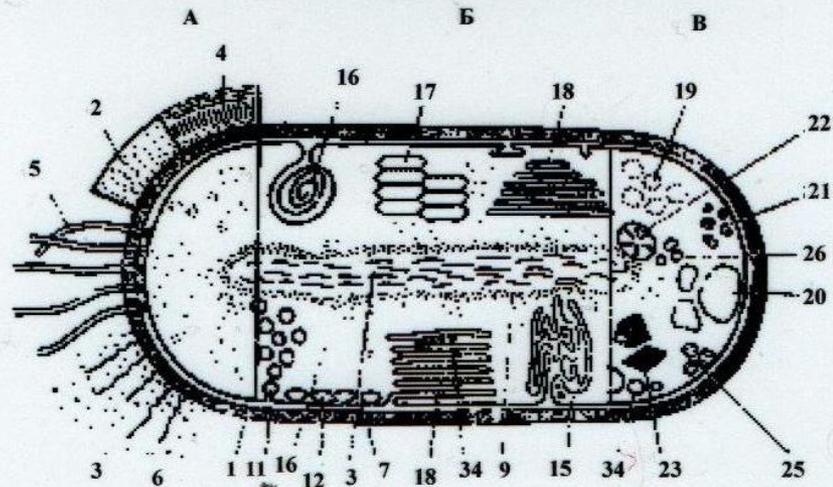
**Клеточная стенка\***

Структурные элементы	Образована пептидогликанами	Содержит хитин или целлюлозу
Стероиды	Отсутствуют	Имеются

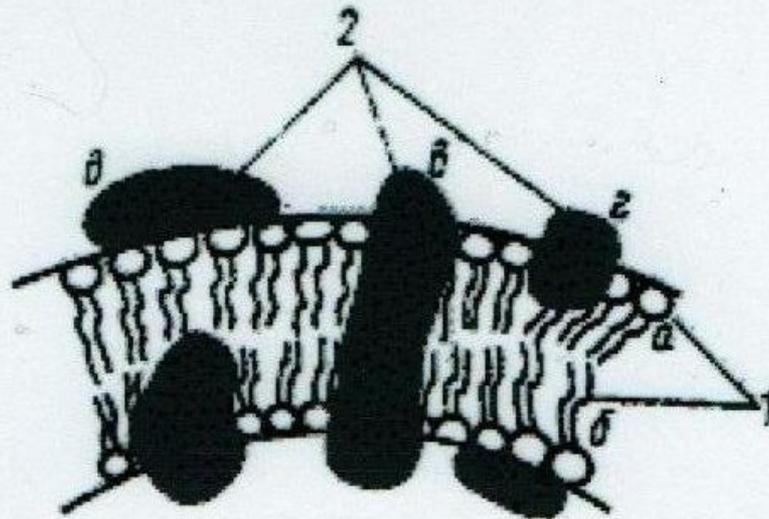
\* У эукариотов ЦПМ

# ТАБЛИЦА - НЕКОТОРЫЕ ЛИЗОСОМНЫЕ ГИДРОЛАЗЫ, РАСЩЕПЛЯЮЩИЕ БИОЛОГИЧЕСКИЕ МАКРОМОЛЕКУЛЫ

Фермент	Субстрат
Рибонуклеаза	РНК
Дезоксирибонуклеаза	ДНК
Фосфатаза	Фосфопротеиды
Катепсин	Белки
Коллагеназа	



**РИС. Комбинированное изображение прокариотной клетки.** *А* — поверхностные клеточные структуры и внеклеточные образования: *1* — клеточная стенка; *2* — капсула; *3* — слизистые выделения; *4* — чехол; *5* — жгутики; *6* — ворсинки; *Б* — цитоплазматические клеточные структуры: *7* — ЦПМ; *8* — нуклеоид; *9* — рибосомы; *10* — цитоплазма; *11* — хроматофоры; *12* — хлоросомы; *13* — пластинчатые тилакоиды; *14* — фикобилисомы; *15* — трубчатые тилакоиды; *16* — мезосома; *17* — аэросомы (газовые вакуоли); *18* — ламеллярные структуры; *В* — запасные вещества: *19* — полисахаридные гранулы; *20* — гранулы поли- $\beta$ -оксимасляной кислоты; *21* — гранулы полифосфата; *22* — цианофициновые гранулы; *23* — карбоксисомы (полиэдральные тела); *24* — включения серы; *25* — жировые капли; *26* — углеводородные гранулы (по Schlegel, 1972)



**РИСУНОК.** Модель строения элементарной биологической мембраны: 1 — молекулы липидов: а — гидрофильная "голова"; б — гидрофобный "хвост"; 2 — молекулы белков: в — интегральная; г — периферическая; д — поверхностная.

## ТАБЛИЦА - МЕМБРАНЫ ПРОКАРИОТ

Прокариоты	Физиологические группы	Мембраны				
		наружная клеточная	цитоплазматическая	внутрицитоплазматические		
				фотосинтетические	мезосомальные	прочие
Грамположительные	хемотрофы	—	+	—	±	±***
Грамотрицательные	фототрофы	±*	+	±**	±**	—
	хемотрофы	±*	+	—	±	±****

- \*Отсутствует у архебактерий, клеточная стенка которых построена из белковых субъединиц и не окрашивается по Граму.
- \*\* Отсутствуют у зеленых бактерий, цианобактерий *Gloeobacter violaceus* и экстремально галофильных архебактерий.
- \*\*\* Есть у некоторых метанобразующих архебактерий.
- \*\*\*\* Сильно развиты у нитрифицирующих, некоторых азотфиксирующих, метаноокисляющих бактерий.

# Лекция 1

Тема: «Общие представления об обмене веществ у микроорганизмов. Понятия анаболизма, катаболизма и метаболизма. Термодинамические закономерности обменных процессов у прокариот и эукариот. Понятия аэробноза и анаэробноза. Определение и природа дыхания, брожения и фотосинтеза»

# Вопросы:

1. Общие представления об обмене веществ у микроорганизмов. Понятия анаболизма, катаболизма и метаболизма.
2. Механизм метаболизма у бактерий.
3. Дыхание и брожение у микроорганизмов.
4. Фотосинтез.
5. Метаногенез.
6. Роль ферментов в обмене веществ у микроорганизмов.

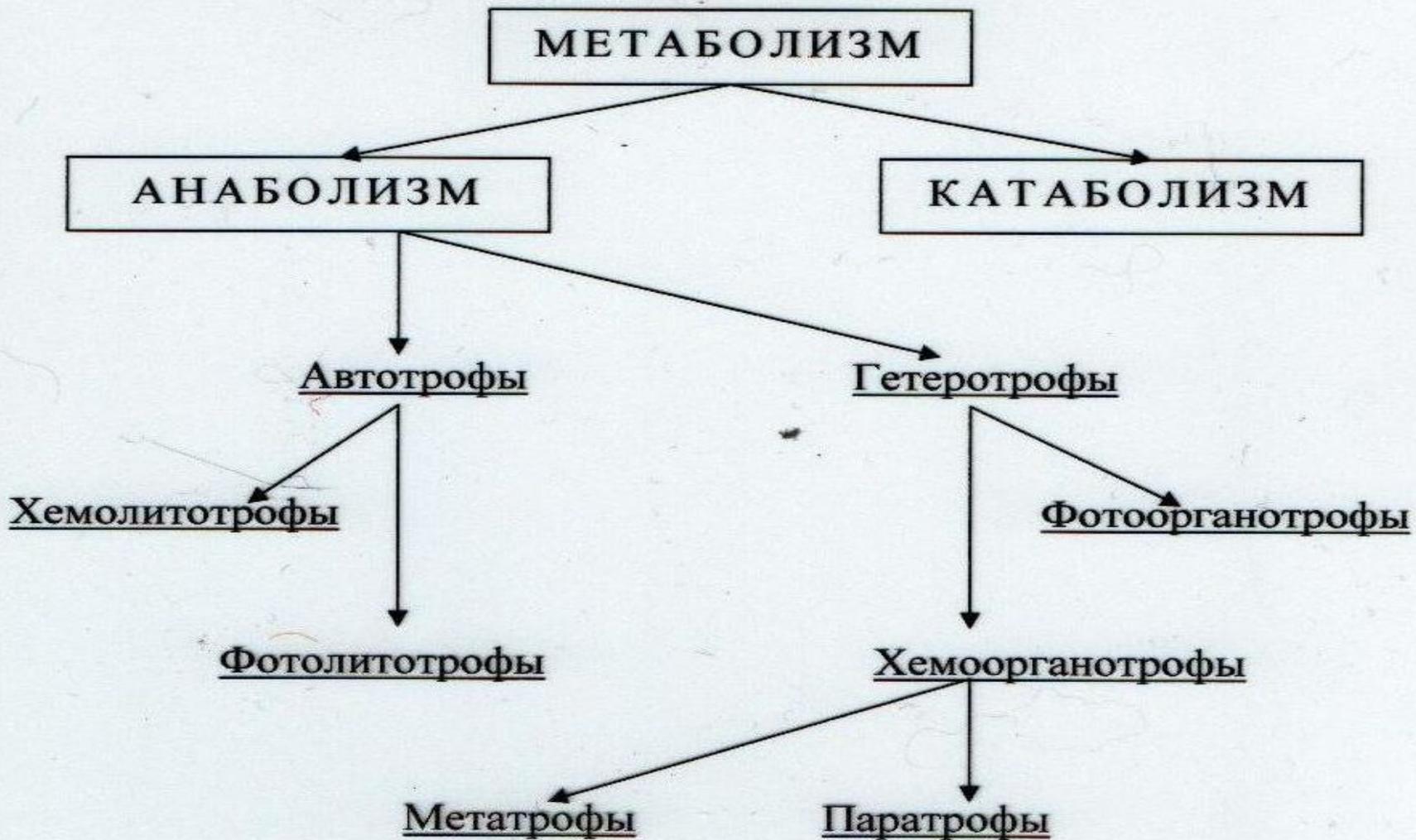


Рис. Метаболизм у микроорганизмов

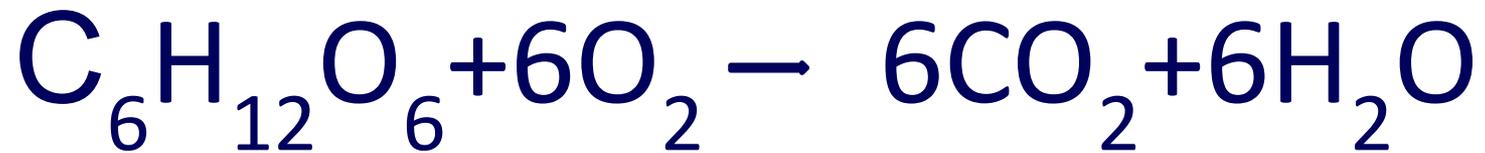
**ТАБЛИЦА** - Типы обменных процессов у микроорганизмов-прокариот

Источник энергии	Донор электронов	Источник углерода	Способ существования	Представители прокариот
Окислительно-восстановительные реакции	неорганические соединения (H <sub>2</sub> , H <sub>2</sub> S, NH <sub>3</sub> , Fe <sup>2+</sup> и др.)	CO <sub>2</sub>	хемотритоавтотрофия	нитрифицирующие, тионовые, водородные бактерии; ацидофильные железобактерии
		органические соединения	хемотритогетеротрофия	метанобразующие архебактерии, водородные бактерии
	органические соединения	CO <sub>2</sub>	хемотритоавтотрофия	факультативные метилотрофы, окисляющие муравьиную кислоту
		органические соединения	хемотритогетеротрофия	большинство прокариот*
Свет	неорганические соединения (H <sub>2</sub> O, H <sub>2</sub> S, S <sup>0</sup> , и др.)	CO <sub>2</sub>	фотолитоавтотрофия	цианобактерии, пурпурные и зеленые бактерии**
		органические соединения	фотолитогетеротрофия	некоторые цианобактерии, пурпурные и зеленые бактерии
	органические соединения	CO <sub>2</sub>	фотоорганотрофия	некоторые пурпурные бактерии
		органические соединения	фотоорганогетеротрофия	пурпурные и некоторые зеленые бактерии, галобактерии, некоторые цианобактерии

\* Все животные, грибы

\*\* Высшие растения

# Расщепление глюкозы в аэробных условиях:



( $\Delta G = -2872$  кДЖ/моль)

# Аэробное окисление этилового спирта уксуснокислыми бактериями:



Нитратное дыхание – восстановление нитратов до молекулярного азота:



Сульфатное дыхание – восстановление сульфатов до сероводорода:



# Сбраживание глюкозы:



# Гликолиз (в анаэробных условиях):



Глюкоза

Пировино  
-градная  
кислота

Чисты  
й  
выход

Фотосинтез- процесс, при котором происходит превращение световой энергии в химическую.

Фотосинтетический аппарат представлен тремя компонентами:

- антенна;
- реакционный центр;
- электронно-транспортная цепь;

# Свойства ферментов:

- специфичность действия
- термолабильность
- ферменты действуют при определенной рН

Ферменты не изменяются к концу реакции, не входят в состав конечных продуктов, нетоксичны.

# Классификация ферментов:

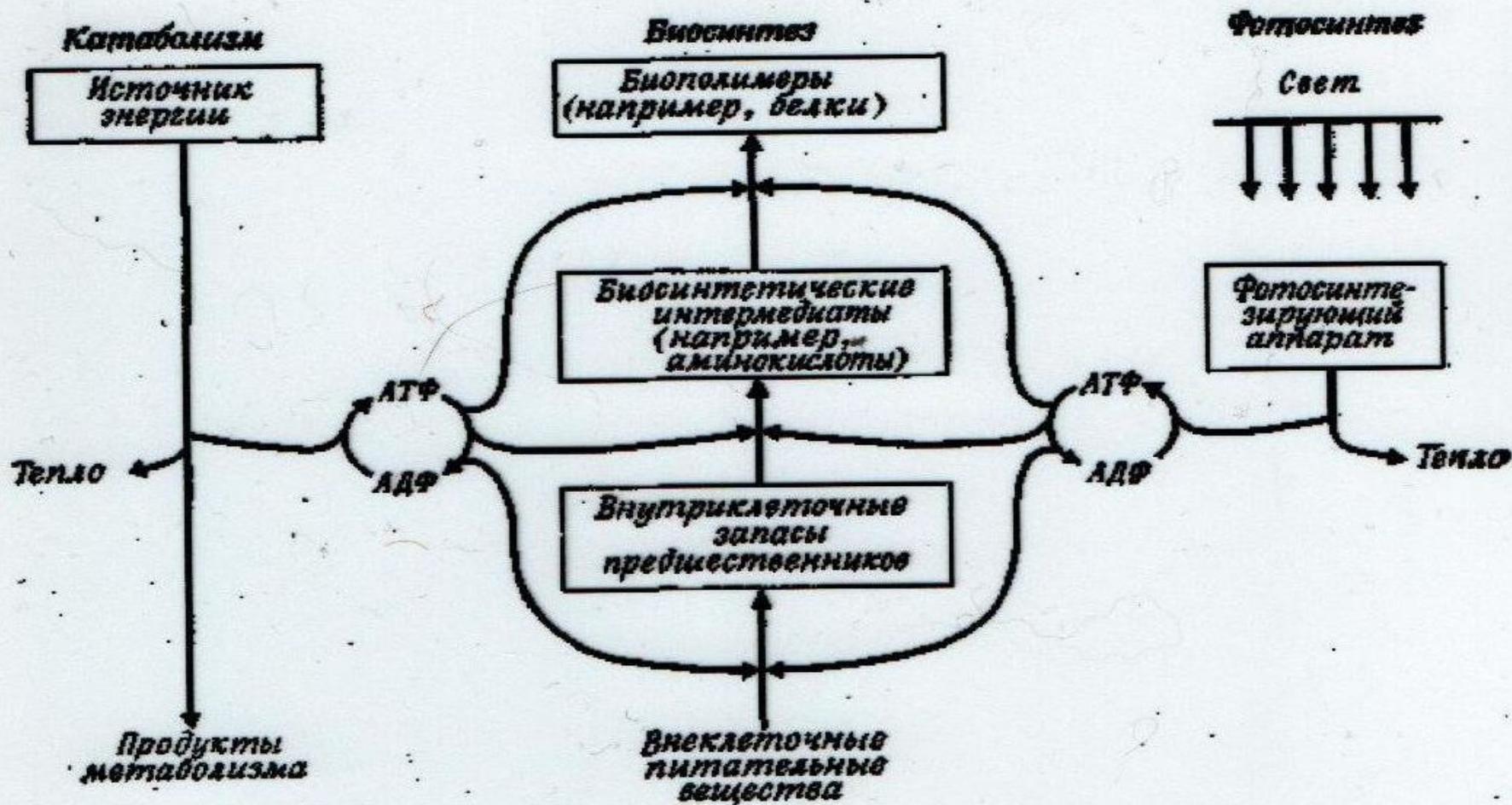
- оксидоредуктазы;
- трансферазы;
- гидролазы;
- лиазы;
- изомеразы;
- лигазы (синтетазы).

# Лекция 2

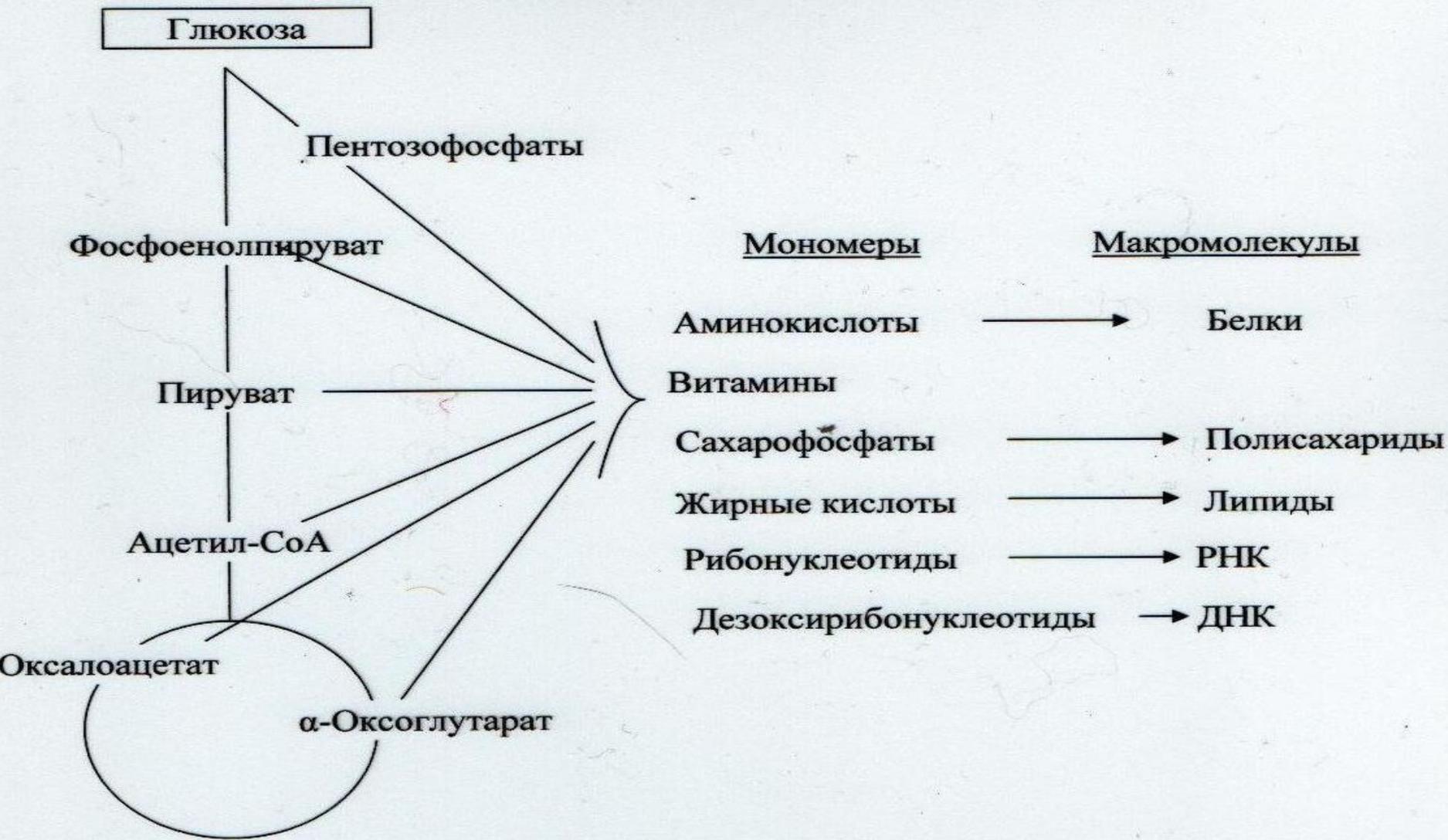
Тема: «Конструктивный метаболизм микробной клетки. Общие принципы биосинтеза макромолекул у микроорганизмов. Синтез аминокислот, нуклеотидов, липидных компонентов, ДНК, РНК, белков, полисахаридов, других структурных компонентов клетки»

# Вопросы:

1. Общие принципы биосинтеза макромолекул у микроорганизмов;
2. Синтез структурных компонентов микробной клетки;



**РИСУНОК. Поддержание баланса между энергетическими и биосинтетическими процессами в микробной клетке посредством АТФ**



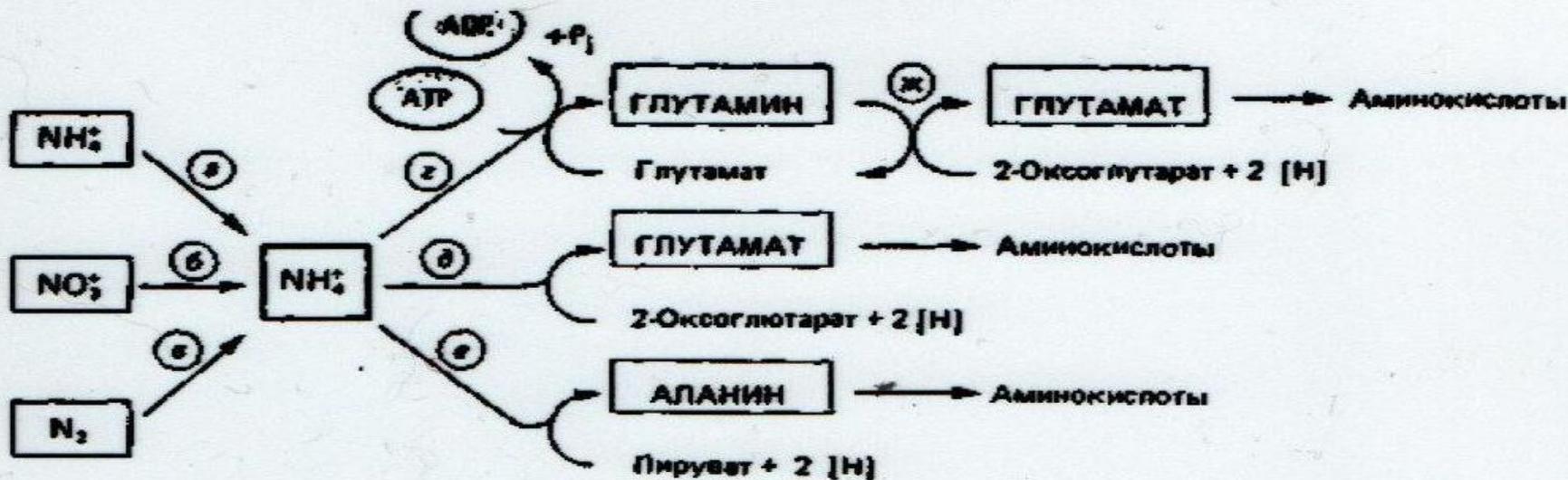
**РИСУНОК - Общая схема биосинтеза клеточного материала из глюкозы**

# Группы прокариотов по способу использования углерода для конструктивного метаболизма:

- Автотрофы-микроорганизмы, способные синтезировать все компоненты клетки из углекислоты;
- Гетеротрофы- микроорганизмы, источником углерода у которых служат органические соединения (облигатные внутриклеточные паразиты, факультативные паразиты, сапрофиты).

## ТАБЛИЦА - КОМПОНЕНТНЫЙ СОСТАВ БАКТЕРИАЛЬНОЙ КЛЕТКИ (на примере *E. coli*)

Компонент	Общее количество, % от сухих веществ клетки	Количество молекул в клетке	Число разных видов молекул в клетке
Белок	55,0	2350000	1850
РНК (всего), из них:	20,5		
23S рРНК		18700	1
16S рРНК		18700	1
5S рРНК		18700	1
тРНК		198000	60
иРНК		1380	600
ДНК	3,1	2	1
Липиды	9,1	22000000	
Липополисахариды	3,4	1430000	1
Пептидогликан	2,5	1	1
Гликоген	2,5	4300	1
Метаболиты, ко-факторы, ионы	3,5		800



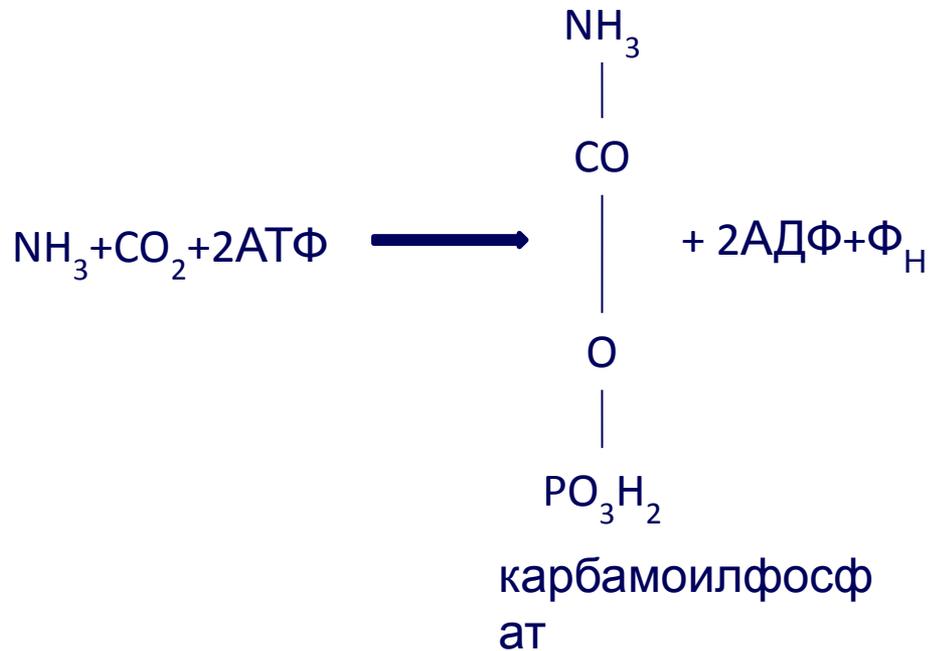
**РИСУНОК – Важнейшие пути ассимиляции азота в микробной клетке**

Ионы аммония, содержащиеся в питательной среде, непосредственно поглощаются клетками (а). Ионы нитрата при ассимиляционной нитратредукции (б), а молекулярный азот ( $\text{N}_2$ ) при фиксации азота (в) восстанавливаются до ионов аммония. В органические соединения аммонийный азот переводится либо при участии АТФ путем образования глутамина, либо без затраты АТФ путем прямого восстановительного аминирования 2-оксоглутарата или пирувата

# Синтез аминокислот посредством реакции переаминирования:

Глутаминовая кислота +  
щавелевоуксусная кислота  
аспарагиновая кислота +  
 $\alpha$ -кетоглутаровая кислота

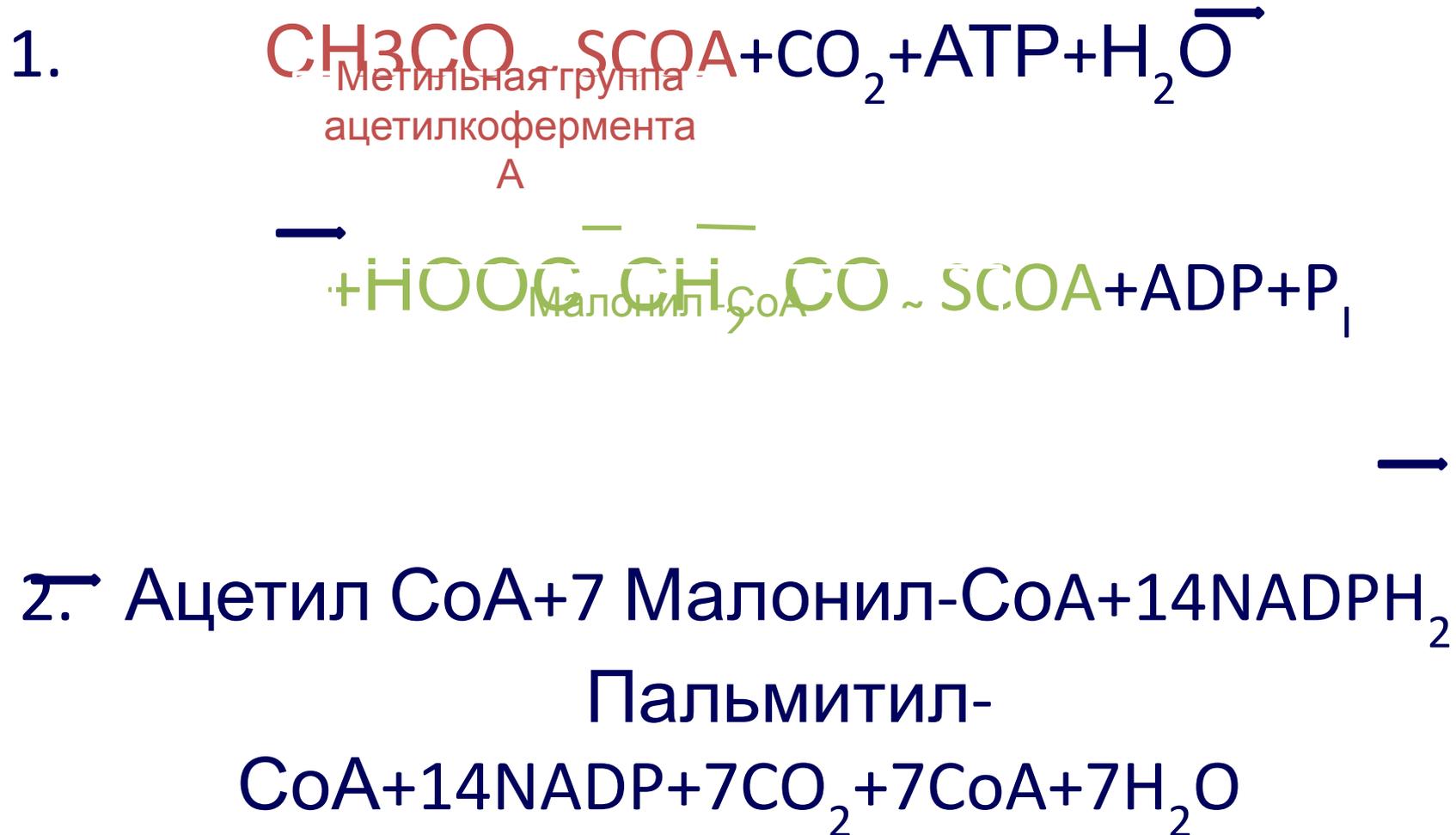
# Включение азота аммиака в состав органических соединений:

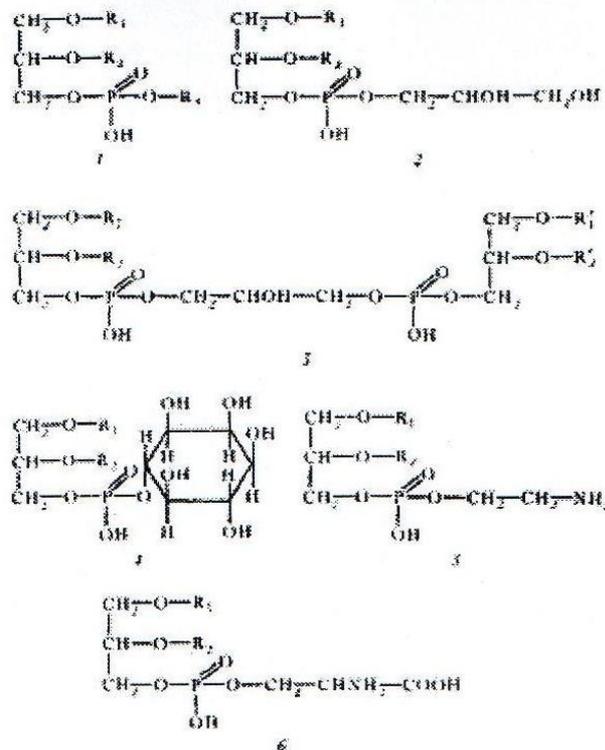


**Таблица - ГРУППЫ АМИНОКИСЛОТ С ОБЩИМИ МЕТАБОЛИЧЕСКИМИ ПРЕДШЕСТВЕННИКАМИ И ПУТЯМИ БИОСИНТЕЗА**

<b>Предшественник</b>	<b>Метаболический путь, приводящий к образованию предшественника</b>	<b>Аминокислоты с общими биосинтетическими путями</b>
Щавелевоуксусная кислота	Цикл трикарбоновых кислот, реакции карбоксилирования	аспарагиновая кислота аспарагин лизин метионин треонин изолейцин
α-Кетоглутаровая кислота	Цикл трикарбоновых кислот	глутаминовая кислота глутамин аргинин пролин
3-фосфоглицериновая кислота	Гликолиз, цикл Кальвина	серин глицин цистеин
Пировиноградная кислота	Гликолиз, путь Энтнера-Дудорова	аланин валин лейцин
Фосфоенолпировиноградная кислота + Эритрозо-4-фосфат	Гликолиз, окислительный пентозофосфатный путь	триптофан тирозин фенилаланин
5-Фосфорибозил-1-пирофосфат + АТФ	Окислительный пентозофосфатный путь	гистидин

# Пути биосинтеза жирных КИСЛОТ:





**РИСУНОК 4. Структура основных фосфолипидов бактериальных мембран**

$R_1$  и  $R_2$  — остатки длинноцепочечных жирных кислот, образующих гидрофобный "хвост" молекулы;  $R_3$  может быть остатком глицерина, его производных, этаноламина, инозита и других соединений. Эта часть составляет гидрофильную "голову" молекулы. Простейшим фосфолипидом является фосфатидная кислота, не имеющая  $R_3$ -остатка, связанного с фосфорной кислотой сложной эфирной связью.

1 — общая структура фосфолипида; 2 — фосфатидилглицерин; 3 — дифосфатидилглицерин (кардиолипин); 4 — фосфатидилинозит; 5 — фосфатидилэтаноламин; 6 — фосфатидилсерин

# Лекция 3

Тема: «Энергетический метаболизм микробной клетки. Пути метаболизма, приводящие к образованию макроэргов. Роль АТФ, пиридиновых нуклеотидов и других соединений с богатыми энергией связями в клеточном метаболизме»

# Вопросы:

1. Пути метаболизма, приводящие к образованию макроэргов.
2. Характеристика высокоэнергетических соединений.
3. Роль высокоэнергетических соединений в клеточном метаболизме.

# Общий вид процессов-источников энергии для прокариот



Например,



# Три способа получения энергии у прокариот:

- Дыхание
- Брожение
- Фотосинтез

**ТАБЛИЦА - ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫЕ ПОТЕНЦИАЛЫ ( $E_0'$ , мВ) ВЕЩЕСТВ, УЧАСТВУЮЩИХ В ЭНЕРГЕТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССАХ У ПРОКАРИОТ**

Окислительно-восстановительная система	$E_0'$ , мВ
Пируват/ацетат + $\text{CO}_2$	-700
$\text{H}^+ + 1/2\text{H}_2$	-420
$\text{НАД}(\Phi)^+/\text{НАД}(\Phi)\cdot\text{H}_2$	-320
$\text{S}^0/\text{HS}^-$	-270
$\text{ФАД}/\text{ФАД}\cdot\text{H}_2$	-220
$\text{ФМН}/\text{ФМН}\cdot\text{H}_2$	-190
Менахинон окисл/восст	-74
Фумарат/сукцинат	+30
Цитохром <i>b</i> окисл/восст	+70
Убихинон окисл/восст	+100
Цитохром <i>c</i> окисл/восст	+220
Цитохром <i>a</i> окисл/восст	+290
$\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$	+433
$\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$	+772
$1/2 \text{O}_2/\text{H}_2\text{O}$	+820

# Три типа фотосинтеза у прокариот:

1. Зависимый от бактериохлорофилла безкислородный фотосинтез (зеленые, пурпурные, гелеобактерии);
2. Зависимый от хлорофилла кислородный фотосинтез (цианобактерии, прохлорофиты);
3. Зависимый от бактериородопсина бескислородный фотосинтез (экстремальные галофильные архебактерии);

# Две универсальные формы энергии у прокариотов:

1. Энергия высокоэнергетических химических соединений (химическая);
2. Энергия трансмембранного потенциала ионов водорода (электрохимическая);

**ТАБЛИЦА - «БОГАТЫЕ» И «БЕДНЫЕ» ЭНЕРГИЕЙ СОЕДИНЕНИЯ, УЧАСТВУЮЩИЕ В МЕТАБОЛИЗМЕ МИКРООРГАНИЗМОВ. (Указана  $\Delta G'_0$  — свободная энергия гидролиза при рН 7,0 в стандартных условиях)**

Субстрат	— $\Delta G'_0$	
	кДж	ккал
Ацетилфосфат	44,0	10,5
Ацетоацетил-СоА	44,0	10,5
Ацил-АМФ	55,7	13,3
Креатинфосфат	37,7	9,0
Фосфоенолпируват	54,4	13,0
Простые фосфоэфиры	12,6	3,0
УДФ-глюкоза	31,8	7,6
Альдозо- 1 -фосфат	20,9	5,0
АТФ( $\rightarrow$ АДФ + $\Phi_H$ )	31,0	7,4
АТР( $\rightarrow$ АМР + $\Phi\Phi_H$ )	31,8	7,6

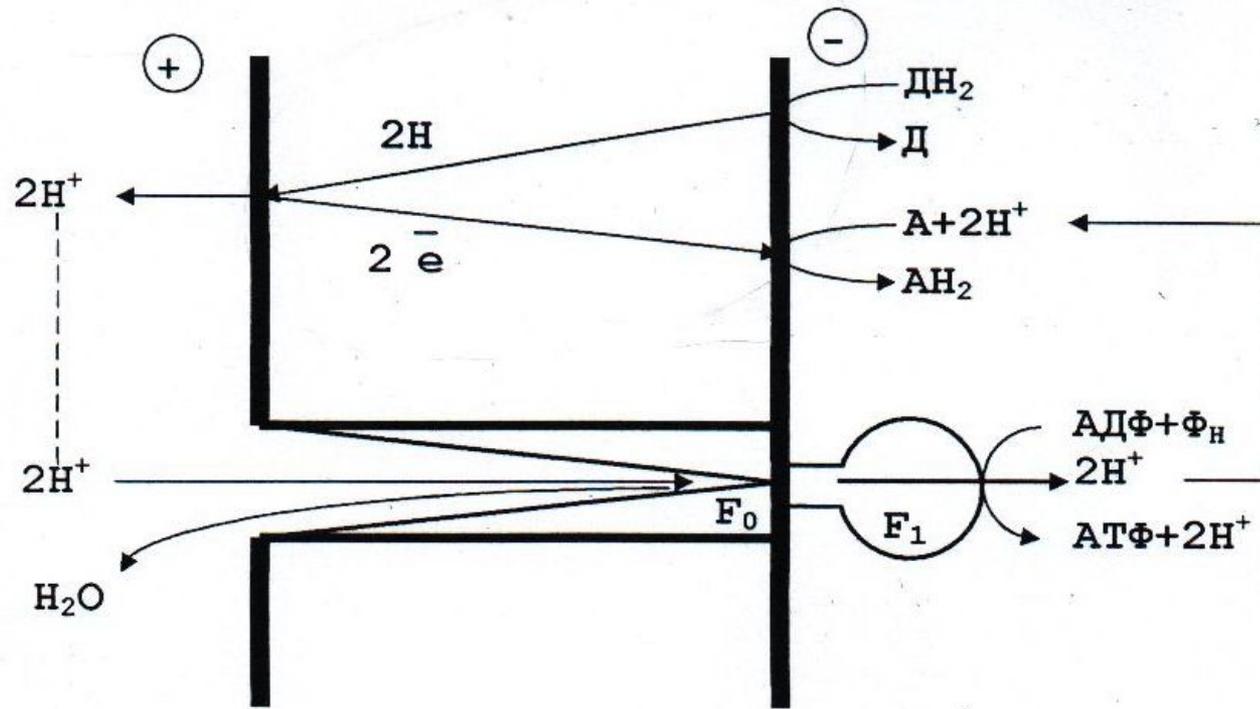
# Выделение свободной энергии при гидролизе молекулы АТФ:



Внешняя  
сторона

Мембрана

Внутренняя  
сторона

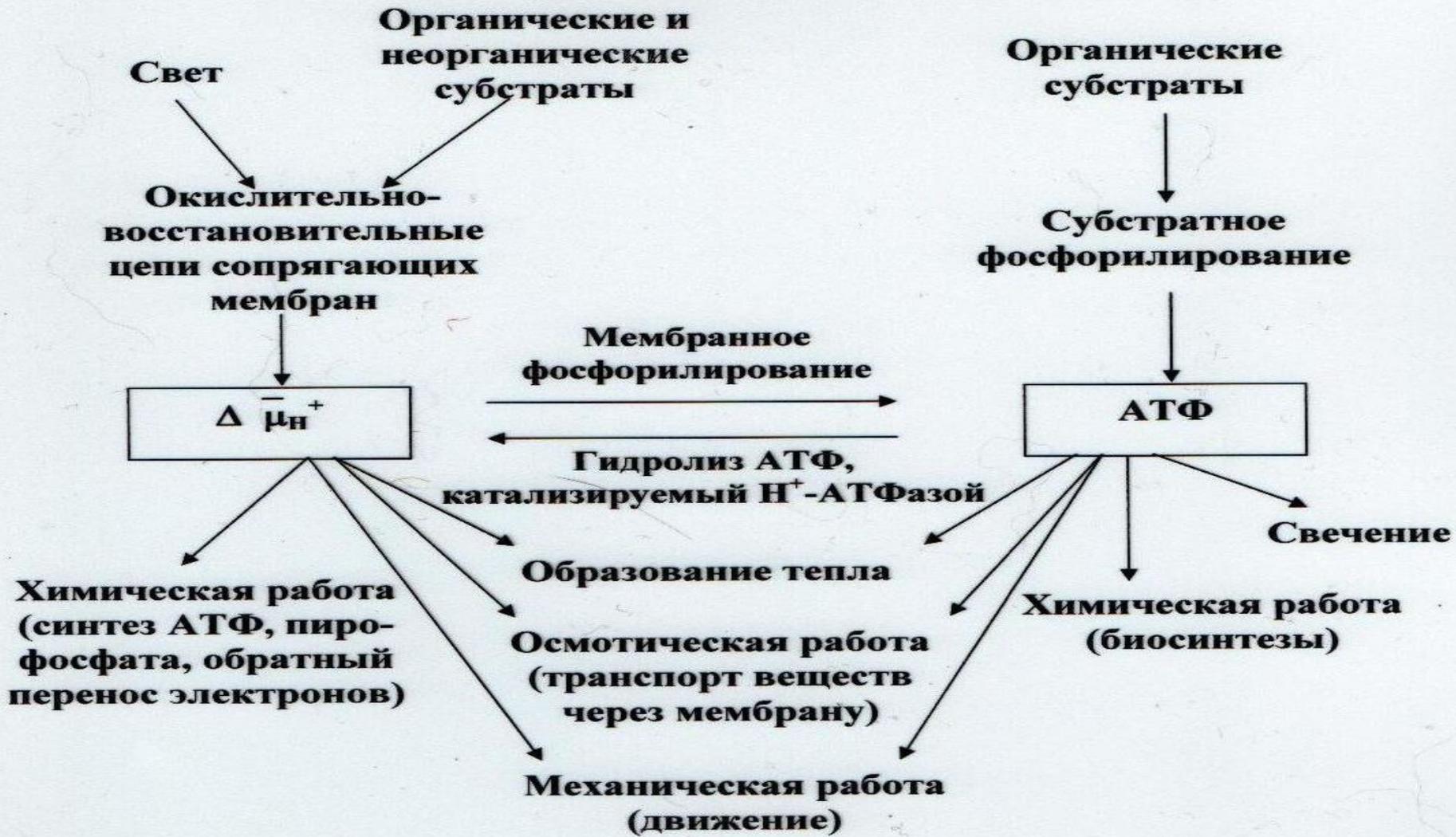


**Рисунок 1. Схема переноса электронов и протонов по электронтранспортной цепи и протонной АТФ-синтазы.**

Д – донор электронов, А – акцептор электронов,  $F_0F_1$  – компоненты  $H^+$ -АТФ-синтазы

# Уравнение реакции синтеза и гидролиза АТФ в клеточной мембране в присутствии H<sup>+</sup>-АТФ синтазы





**РИСУНОК. Преобразование энергии в клетке прокариот (по Скулачеву, 1980)**

**ТАБЛИЦА - БОГАТЫЕ ЭНЕРГИЕЙ СОЕДИНЕНИЯ (ПОМИМО АТФ), АКТИВИРУЮЩИЕ МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ИНТЕРМЕДИАТЫ И ОБЕСПЕЧИВАЮЩИЕ ТАКИМ ОБРАЗОМ ПРОТЕКАНИЕ НЕКОТОРЫХ РЕАКЦИЙ БИОСИНТЕЗА**

<b>Богатые энергией соединения</b>	<b>Обеспечивает активацию предшественника для биосинтеза следующих молекул</b>
Гуанозин —Ф~Ф~Ф (ГТФ)	Белки
Уридин —Ф~Ф~Ф (УТФ)	Пептидогликаны клеточной стенки бактерий
Цитидин —Ф~Ф~Ф (ЦТФ)	Фосфолипиды
Дезокситимидин —Ф~Ф~Ф (дТТФ)	Липополисахариды клеточной стенки бактерий
Ацил~S~КоА(ацилкофермент А)	Жирные кислоты

# Обратимые реакции окисления-восстановления НАД и НАДФ



**ТАБЛИЦА - ЗАПАСНЫЕ ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЕ ВЕЩЕСТВА ПРОКАРИОТ**

Запасное вещество	Структурные характеристики	Химический состав	Функции	Распространение
Гранулы гликогена ( $\alpha$ -гранулы)	сферической формы, диаметр 20–100 нм	высокомолекулярные полимеры глюкозы	источник углерода и энергии	широко распространенный тип запасных веществ
Гранулы поли- $\beta$ -оксимасляной кислоты	диаметр 100–1000 нм; окружены однослойной белковой мембраной 2–3 нм толщиной	98% полимера поли- $\beta$ -оксимасляной кислоты, 2% белка	источник углерода и энергии	широко распространены только у прокариот
Гранулы полифосфата	диаметр приблизительно 500 нм зависит от объекта и условий выращивания	линейные полимеры ортофосфата	источник фосфора и, возможно, энергии	распространенный тип запасных гранул
Гранулы серы	диаметр 100–800 нм; окружены однослойной белковой мембраной толщиной 2–3 нм	включения жидкой серы	донор электронов или источник энергии	пурпурные серобактерии, бесцветные бактерии, окисляющие $H_2S$
Углеводородные гранулы	диаметр 200–300 нм; окружены белковой оболочкой 2–4 нм толщиной	углеводороды того же типа, что и в среде	источник углерода и энергии	представители родов <i>Arthrobacter</i> , <i>Acinetobacter</i> , <i>Mycobacterium</i> , <i>Nocardia</i> и другие прокариоты, использующие углеводороды

# Лекция 4

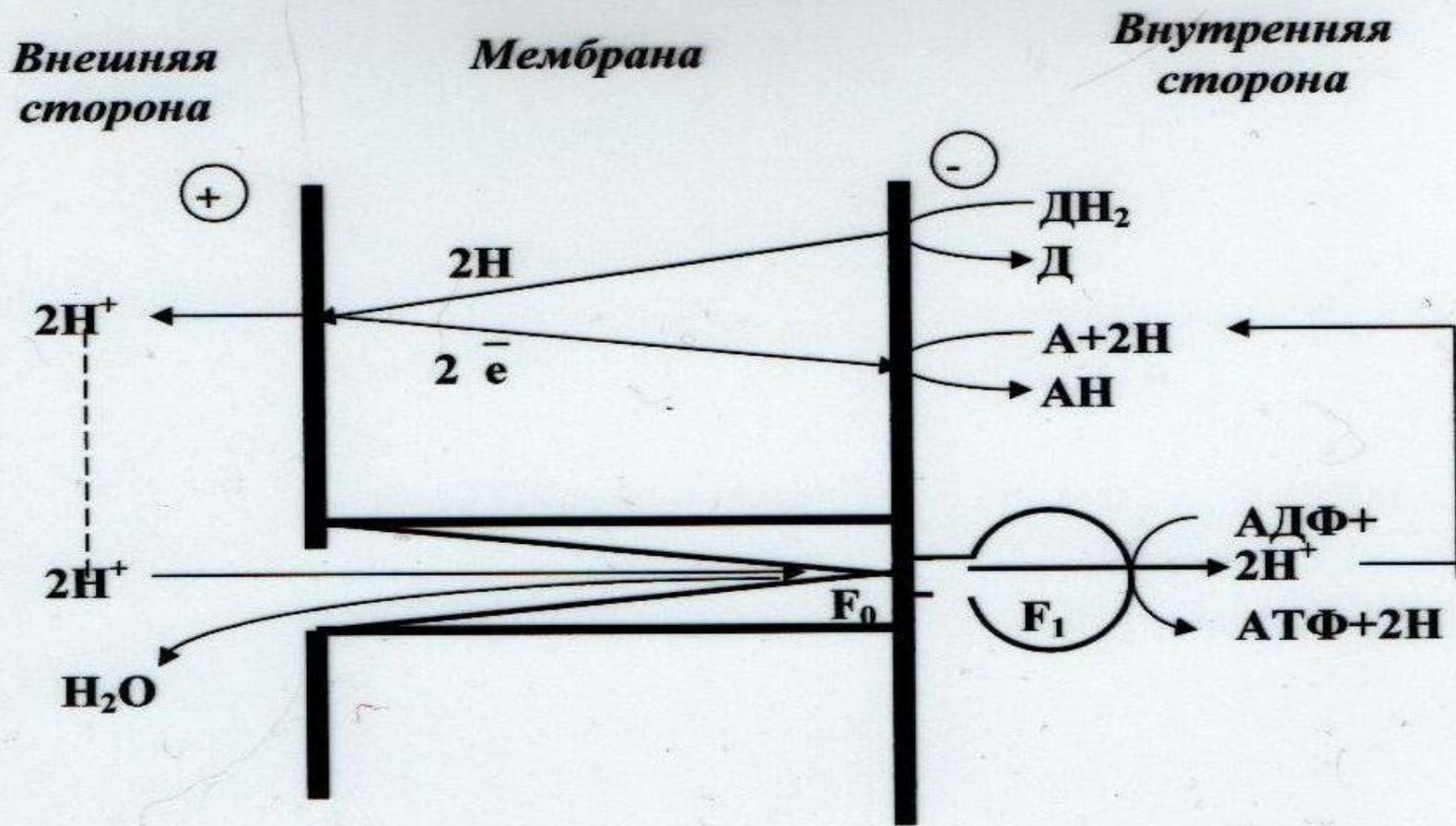
Тема: «Дыхание. Аэробный и анаэробный типы дыхания у микроорганизмов. Внутриклеточная локализация, строение и физиологическая функция электротранспортных цепей. Системы цитохромов и механизмы переноса электронов у прокариот и эукариот»

# Вопросы:

1. Определение и природа дыхания, его типы
2. Механизм дыхательного процесса. Внутриклеточная локализация, строение и физиологическая функция электротранспортных цепей
3. Системы цитохромов и механизмы переноса электронов у прокариот и эукариот

Ферментативное поглощение  
молекулярного кислорода –  
дыхание – подразделяется на:

1. Не связанное с запасанием энергии для клетки – **свободное окисление**;
2. Окисление, сопряженное с запасанием энергии.



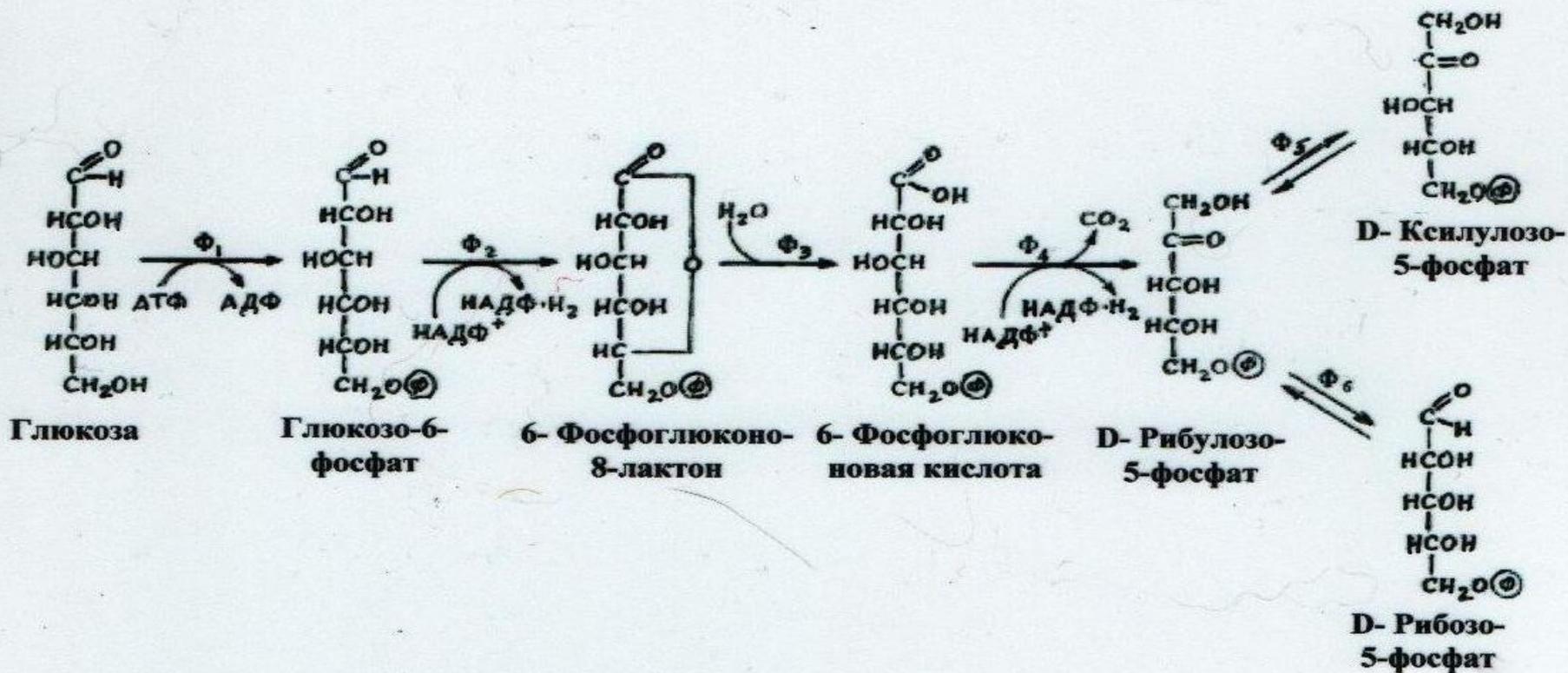
**Рисунок. Схема переноса электронов и протонов по электронтранспортной цепи и протонной АТФ-синтазы**

Д – донор электронов, А – акцептор электронов,  $\text{F}_0\text{F}_1$  – компоненты  $\text{H}^+$ -АТФ-синтазы

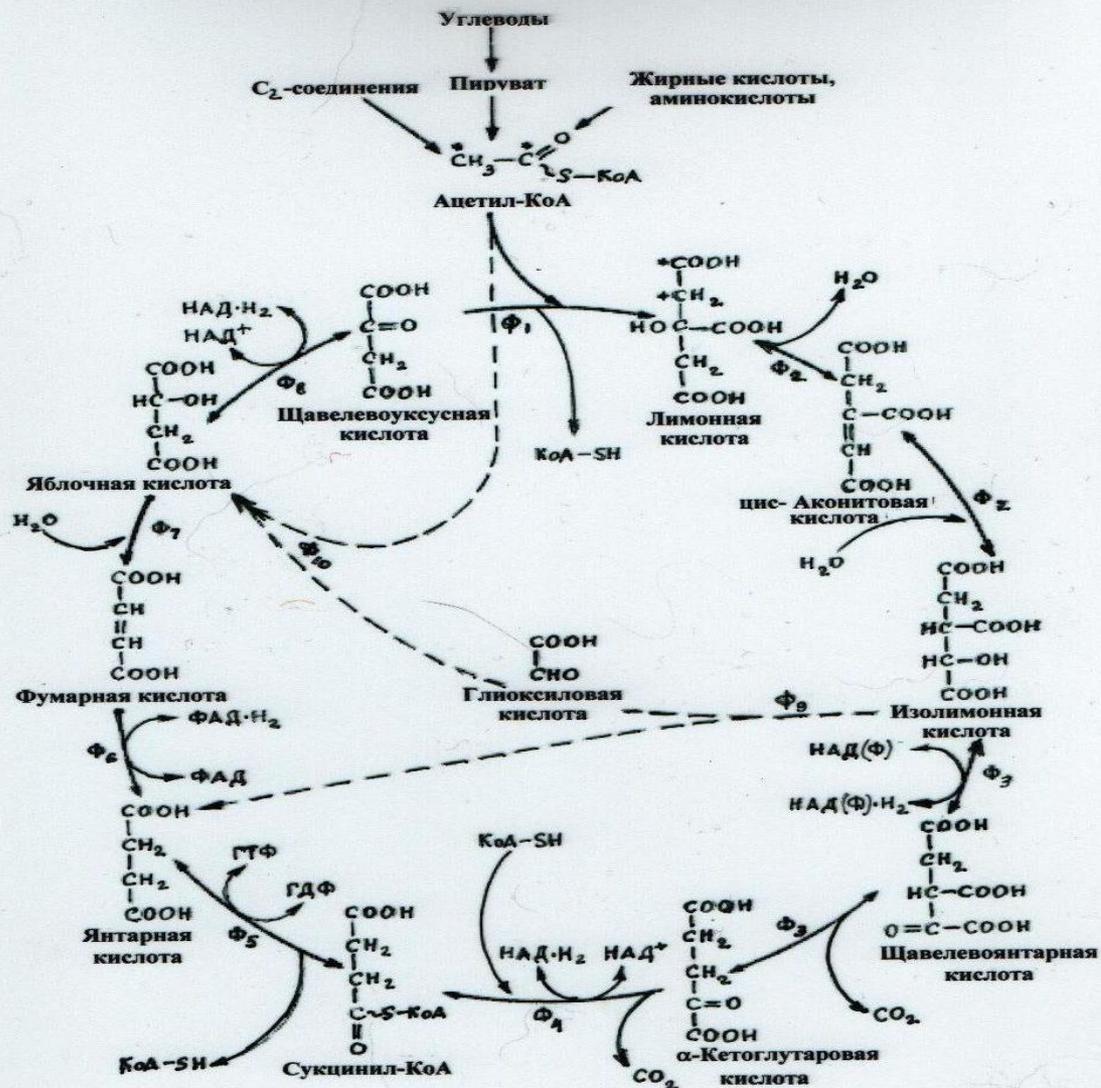
Дыхание бактерий представляет собой метаболический процесс ферментативного окисления различных органических соединений и некоторых минеральных веществ, идущий как без, так и с образованием АТФ, в ходе которого органические или неорганические соединения служат донорами электронов (окисляются), а акцепторами электронов обязательно служат неорганические соединения (восстанавливаются)

# Деление микроорганизмов по типу дыхания:

1. Аэробы
2. Анаэробы
3. Факультативные анаэробы



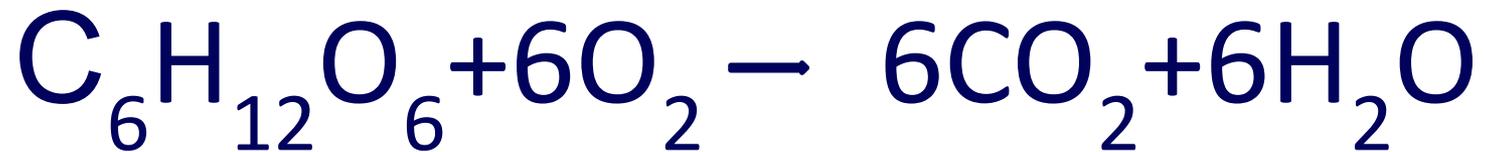
Окислительный пентозофосфатный путь (начальные этапы): Φ<sub>1</sub> — гексокиназа; Φ<sub>2</sub> — глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа; Φ<sub>3</sub> — лактоназа; Φ<sub>4</sub> — фосфоглюконатдегидрогеназа (декарбоксилирующая); Φ<sub>5</sub> — фосфопентозоэпимераза; Φ<sub>6</sub> — фосфопентозоизомераза (по Dagley, Nicholson, 1973)



Цикл трикарбоновых кислот и глиоксилатный шунт:  $\Phi_1$  — цитратсинтаза (конденсирующий фермент);  $\Phi_2$  — аконитаза;  $\Phi_3$  — изоцитратдегидрогеназа;  $\Phi_4$  —  $\alpha$ -кетоглутаратдегидрогеназа;  $\Phi_5$  — сукцинилтиокиназа;  $\Phi_6$  — сукцинатдегидрогеназа;  $\Phi_7$  — фумараза;  $\Phi_8$  — малатдегидрогеназа;  $\Phi_9$  — изоцитратлиаза;  $\Phi_{10}$  — малатсинтеттаза.

Включение углеродных атомов ацетильного остатка в молекулу лимонной кислоты помечено звездочками. Пунктирными линиями изображены реакции глиоксилатного шунта

# Расщепление глюкозы в аэробных условиях:



( $\Delta G = -2872$  кДЖ/моль)

**Дыхательная цепь –это система  
дыхательных ферментов, которые  
находятся в мембранах микробных клеток**

# Аэробное окисление этилового спирта уксуснокислыми бактериями:



Таблица 1. Типы анаэробного дыхания у зубактерий\*

Энергетический процесс	Конечный акцептор электронов	Продукты восстановления
Нитратное дыхание и денитрификация	$\text{NO}_3^-$ , $\text{NO}_2^-$	$\text{NO}_2^-$ , $\text{NO}$ , $\text{N}_2\text{O}$ , $\text{N}_2$
Сульфатное и серное дыхание	$\text{SO}_4^{2-}$ , $\text{S}^0$	$\text{H}_2\text{S}$
Карбонатное дыхание	$\text{CO}_2$	ацетат
Фумаратное дыхание	фумарат	сукцинат

\* Описаны анаэробные бактерии, способные окислять органические соединения, используя в качестве конечного акцептора электронов  $\text{Fe}^{3+}$  или  $\text{Mn}^{4+}$ .

**Таблица - Группы хемолитотрофных зубактерий\***

Группа зубактерий	Характеристика энергетического процесса			Способность к автотрофии
	донор электронов	акцептор электронов	конечные продукты**	
Тионовые бактерии	$H_2S, S^0, SO_3^{2-}, S_2O_3^{2-}$ и др.	$O_2$	$SO_4^{2-}$	+
		$NO_3^-$	$SO_4^{2-}, NO_2^-, N_2$	
Ацидофильные железобактерии	$Fe^{2+}$	$O_2$	$Fe^{3+}$	+
Нитрифицирующие бактерии	$NH_4^+$	$O_2$	$NO_2^-$	+
	$NO_2^-$		$NO_3^-$	
Водородные бактерии	$H_2$	$O_2$	$H_2O$	+
		$NO_3^-, NO_2^-$	$H_2O, NO_2^-, N_2$	
Карбоксидобактерии	$CO$	$O_2$	$CO_2$	+
Сульфатвосстанавливающие бактерии	$H_2$	$SO_4^{2-}$	$H_2S$	±***

\* Описана автотрофная бактерия *Stibiobacter senarmonitii*, источником энергии для которой служит окисление трехвалентной сурьмы до пятивалентной.

\*\* Если акцептор электронов  $O_2$ , одним из конечных продуктов является вода.

\*\*\* У отдельных представителей

# Схема разных видов анаэробного дыхания прокариот:

Нитратное дыхание – восстановление  
нитратов до молекулярного азота:

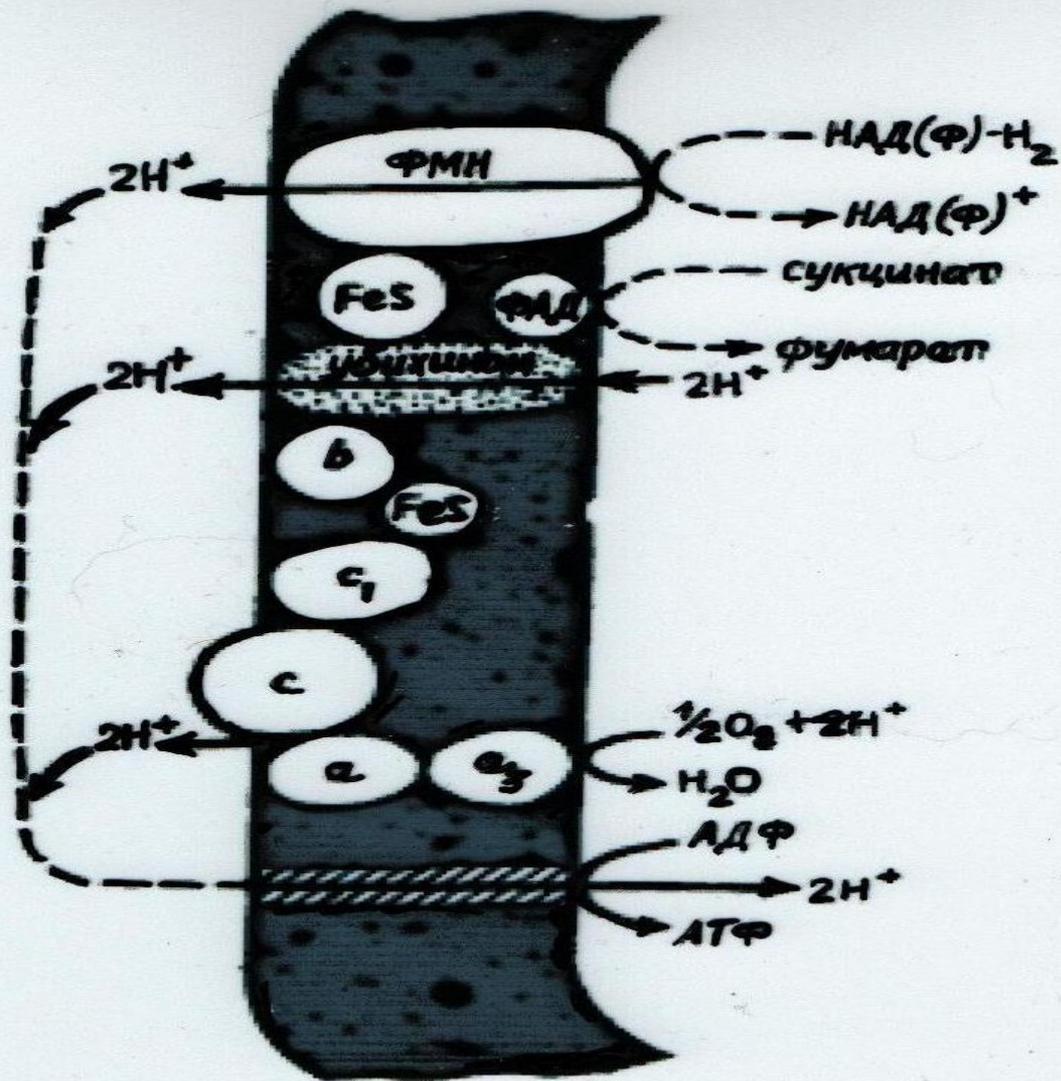


Сульфатное дыхание – восстановление  
сульфатов до сероводорода:



# Три составляющих механизма дыхания микроорганизмов

1. Клеточная локализация и компонентный состав переносчиков электронов и протонов в дыхательной цепи.
2. Взаиморасположение и функции компонентов в мембране.
3. Значения окислительно-восстановительных потенциалов компонентов дыхательной цепи

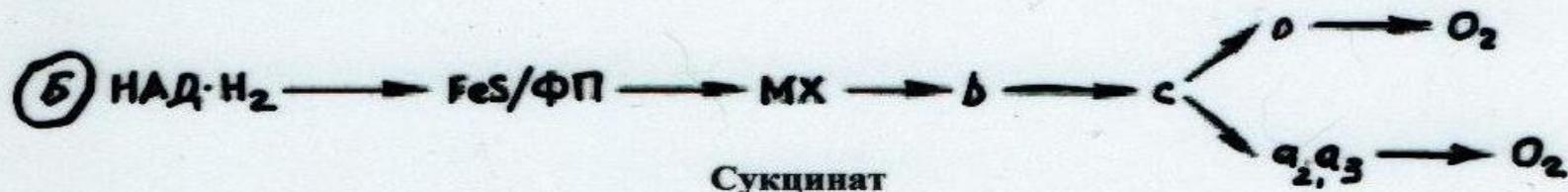
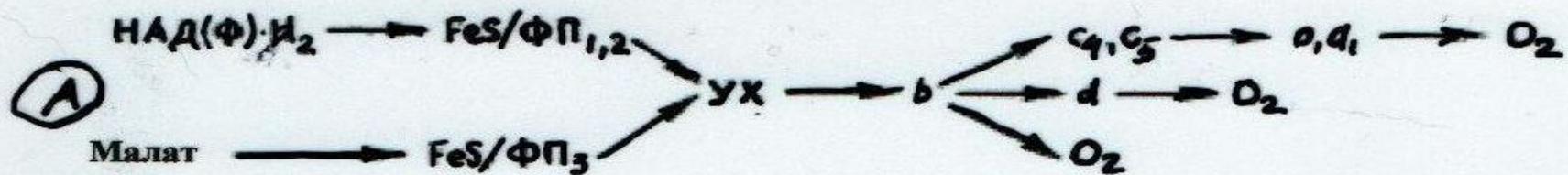


Топография компонентов дыхательной цепи ~~митохондрии~~. ФМН — простетическая группа НАД(Ф)-Н<sub>2</sub>-дегидрогеназы; ФАД — простетическая группа сукцинатдегидрогеназы; FeS — железосодержащий белок; *b*, *c*<sub>1</sub>, *c*, *a*, *a*<sub>3</sub> — цитохромы.

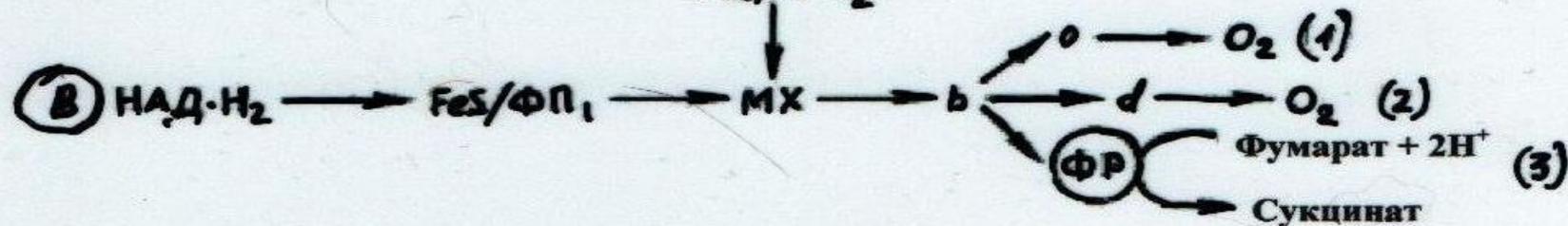
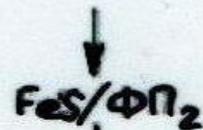
# Компоненты электротранспортной цепи, участвующие в окислении

## водорода

- **Флавопротеины**- ферменты, содержащие в качестве простетических групп флавиномононуклеотид (ФМН) или фламинадениндинуклеотид (ФАД)
- **Железосерные белки**- окислительно-восстановительные системы переносящие электроны. Содержат атомы железа, связанные, с одной стороны, с серой аминокислоты цистеина, а с другой-с сульфидной серой
- **Хиноны**- группа окислительно-восстановительных систем в дыхательной цепи. У грам(+)-бактерий-нафтохиноны, у грам(-)- убихинон, в хлоропластах- пластохиноны.
- **Цитохромы**- переносят только электроны; водород они не транспортируют. В качестве простетической группы цитохромы содержат гем.



Сукцинат



Дыхательные цепи *Azotobacter vinelandii* (А), *Micrococcus lysodeikticus* (Б) и *Escherichia coli* (В) в аэробных (1), микроаэробных (2) и анаэробных (3) условиях: ФП — флавопротеин; FeS — железосероцентр; УХ — убихинон; МХ — менахинон; ФР — фумаратредуктаза; b, c, c<sub>1</sub>, a, a<sub>3</sub> — цитохромы

Таблица 3- Окислительно-восстановительные потенциалы компонентов дыхательной цепи

Компоненты дыхательной цепи	$E_0', \text{В}$	Разность величин $E_0', \text{В}$	$-\Delta G_0' \text{ кДЖ/моль}$
Водород	-0,42		
		0,10	19,3
NAD	-0,32		
		0,24	46,4
Флавопротеин	-0,08		
		0,04	7,7
Цитохром b	-0,04		
		0,31	59,8
Цитохром c	+0,27		
		0,02	3,8
Цитохром a	+0,29		
		0,52	100,4
Кислород	+0,81		

Восстановленные субстраты

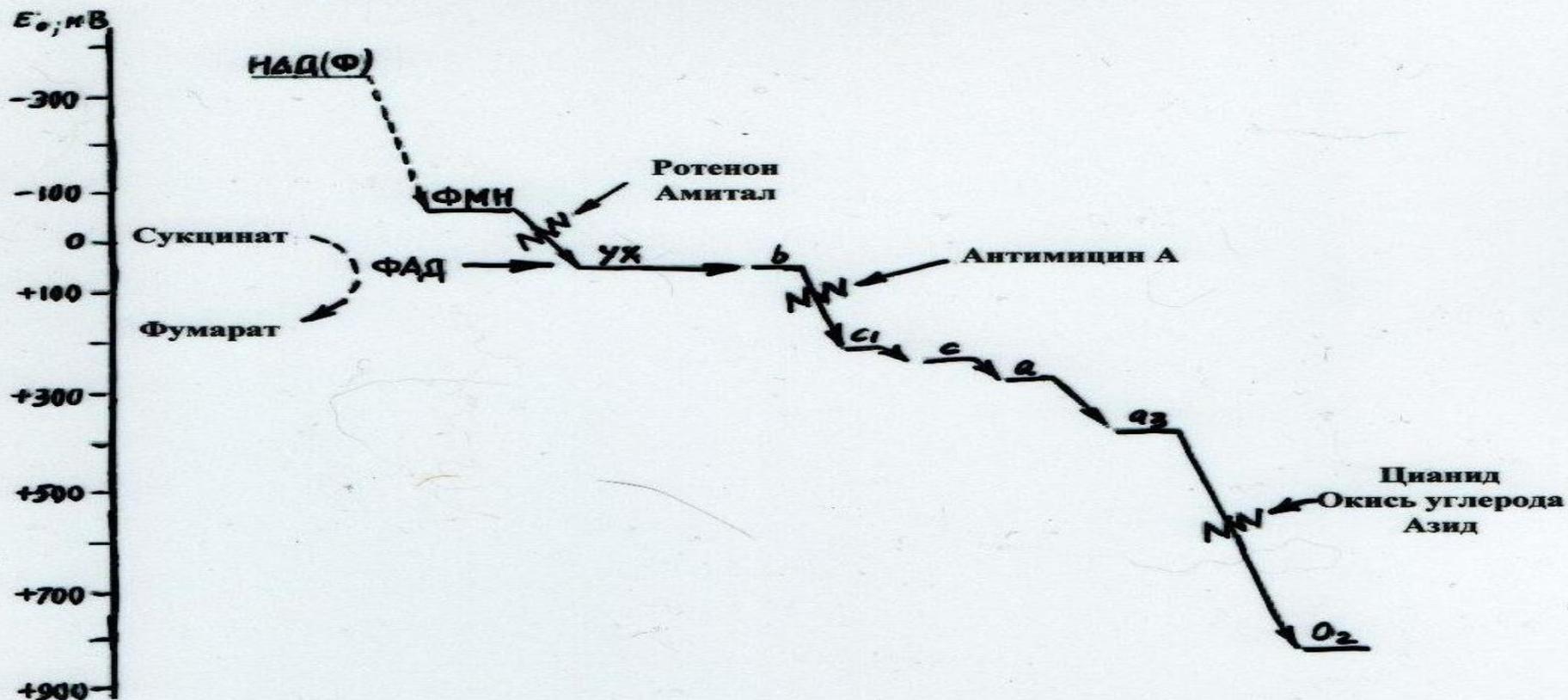
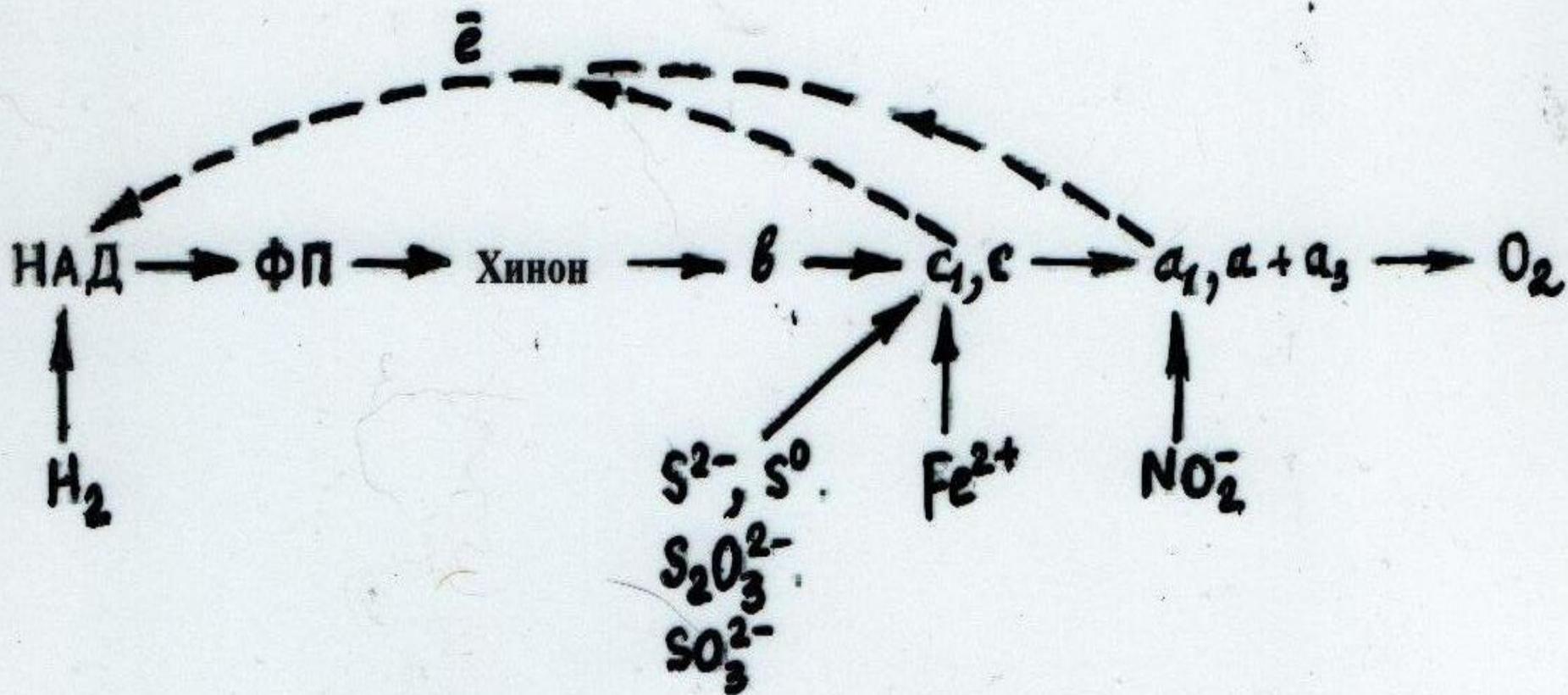


Схема переноса электронов в дыхательной цепи митохондрий: ФМН — простетическая группа  $\text{NAD}(\Phi)\text{-H}_2$  — дегидрогеназы; ФАД — простетическая группа сукцинатдегидрогеназы; УХ — убихинон;  $b, c, c_1, a, a_3$  — цитохромы.

Сплошными линиями обозначены процессы, протекающие в мембране; прерывистыми — в цитозоле клетки; зигзагообразной линией показаны места действия ингибиторов



Окисление различных неорганических субстратов аэробными хемолитотрофами с участием электронтранспортной цепи и восстановление  $NAD^+$  в результате обратного переноса электронов

# Лекция 4

Тема : «Брожение. Типы брожения у микроорганизмов. Сбраживаемые и несбраживаемые соединения. Спиртовое, молочнокислое, пропионовокислое брожение»

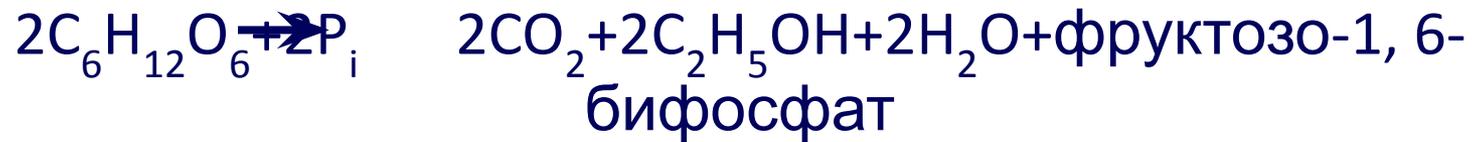
# Вопросы:

1. Определение и природа брожения
2. Сбраживаемые и несбраживаемые соединения, их роль в природном балансе
3. Типы брожения у микроорганизмов
  - 3.1. Гомоферментативное молочнокислое брожение
  - 3.2. Нетипичное (гетероферментативное) молочнокислое брожение
  - 3.3. Спиртовое брожение
  - 3.4. Пропионовокислое брожение

Брожение- это процессы, посредством которых организмы получают химическую энергию из глюкозы и других субстратов в отсутствие молекулярного кислорода, а конечным акцептором электронов является какая-либо органическая молекула.

Брожение- это анаэробный окислительно-восстановительный процесс, осуществляемый как живыми клетками микроорганизмов, так и выделяемыми ими ферментами.

# Сбраживание глюкозы дрожжевым соком (уравнение Гардена-Йонга):



# Две фазы процесса брожения:

1. Начальная(общая) фаза- проходит в анаэробных условиях, при этом сахар расщепляется до пировиноградной кислоты;
2. Конечная фаза- ее метаболическая природа зависит от особенностей микроорганизмов и условий их культивирования.

# Типы катаболических реакций субстратного фосфорилирования, приводящие к синтезу АТФ при брожении:

1. Окислительно-восстановительные реакции в процессе брожения на этапах анаэробного окисления (возникают богатые энергией соединения)
2. Реакции расщепления субстратов или промежуточных продуктов, образующихся из субстратов (катализируются эти реакции ферментами класса лиаз)

Схема ферментативного синтеза  
ацилфосфатов  
(предшественников АТФ) из  
ангидридов фосфорной кислоты:



# Типы реакций, приводящих к синтезу АТФ при брожении:

1. 1,3-фосфоглицерат + АДФ → 3-фосфоглицерат + АТФ

(катализатор - фосфоглицераткиназа)

2. фосфоенолпируват + АДФ → пируват + АТФ

(катализатор - пируваткиназа)

3. ацетилфосфат + АДФ → ацетат + АТФ

(катализатор - ацетаткиназа)

Ацетилфосфат образуется из ацетил-СоА и неорганического фосфата с помощью фосфотрансацетилазы ( $P_i$ ):

ацетил-СоА +  $P_i$  → ацетилфосфат + СоА

Химическое вещество может быть подвергнуто сбраживанию, если оно содержит неполностью окисленные(или восстановленные) углеродные атомы.

Процесс брожения связан с такими перестройками органических молекул субстратов, в результате которых на окислительных этапах процесса высвобождается часть свободной энергии, заключенной в молекуле субстрата, и происходит ее запасание в молекуле АТФ.

Соединения, сбраживаемые микроорганизмами: полисахариды, гексозы, пентозы, тетрозы, многоатомные спирты, органические кислоты, аминокислоты (за исключением ароматический), пурины и пиримидины.

Соединения, не способные сбраживаться микроорганизмами: насыщенные алифатические и ароматические углеводороды, стероиды, каротиноиды, терпены, порфирины, ароматические аминокислоты.

# Причины невозможности сбраживания некоторых органических соединений:

1. Соединения содержат только атомы углерода и водорода; при расщеплении таких веществ энергия не выделяется.
2. Насыщенные углеводороды и полиизопреноиды могут окисляться только кислородом в присутствии фермента оксигеназы.

# Типы брожения:

- Молочнокислое
- Спиртовое
- Маслянокислое
- Муравьинокислое
- Пропионовокислое
- Уксуснокислое и др.

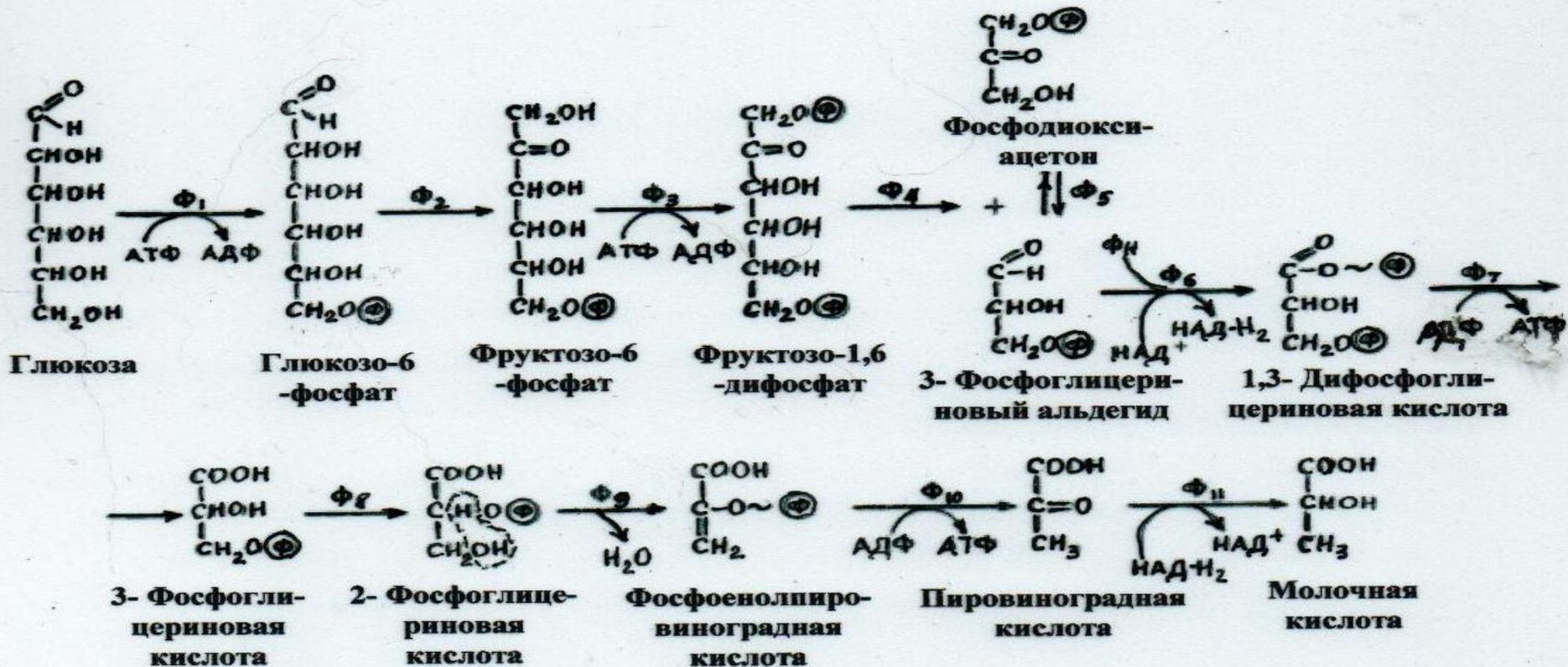
Последовательность биохимических реакций, лежащих в основе гомоферментативного молочнокислого брожения получила название гликолитического пути( гликолиза), фруктозодифосфатного пути.

Типы химических превращений при гомоферментативном молочнокислом брожении:

1. Перестройка углеродного скелета исходного субстрата.
2. Окислительно- восстановительные превращения.
3. Образование АТФ.

# Схема фосфоролитического отщепления глюкозного остатка при гликолизе полисахаридов





Гомоферментативное молочнокислое брожение:  $\Phi_1$  — гексокиназа;  $\Phi_2$  — глюкозофосфатизомераза;  $\Phi_3$  — фосфофруктокиназа;  $\Phi_4$  — фруктозо-1,6-дифосфатальдолаза;  $\Phi_5$  — триозофосфатизомераза;  $\Phi_6$  — 3-ФГА-дегидрогеназа;  $\Phi_7$  — фосфоглицерокиназа;  $\Phi_8$  — фосфоглицеромутаза;  $\Phi_9$  — енолаза;  $\Phi_{10}$  — пируваткиназа;  $\Phi_{11}$  — лактатдегидрогеназа (по Dagley, Nicholson, 1973)

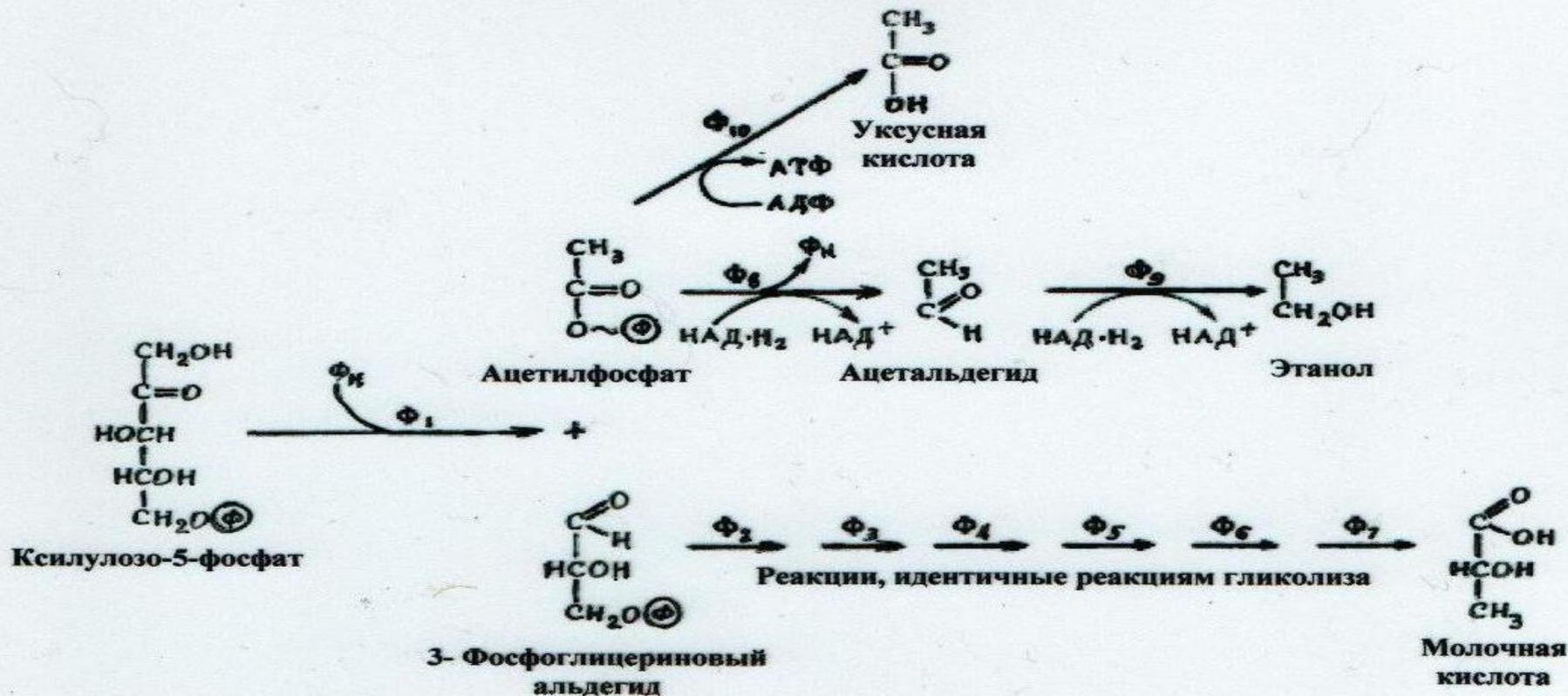
Окисление 3- фосфоглицеральдегида до 1,3- дифосфоглицериновой кислоты- важный этап гликолитического пути:



# Схема процесса гомоферментативного молочнокислого брожения:



Для гетероферментативного  
молочнокислого брожения характерно  
отсутствие ключевого фермента  
гликолитического пути-  
фруктозодифосфатаьдолазы, а также  
триозофосфатизомиразы

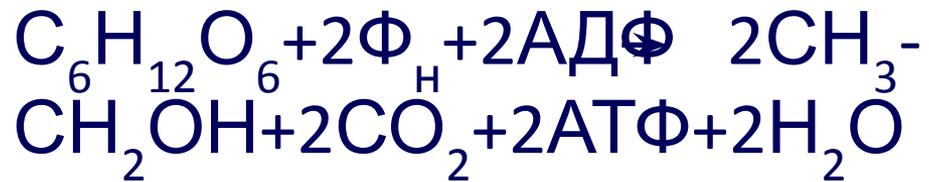


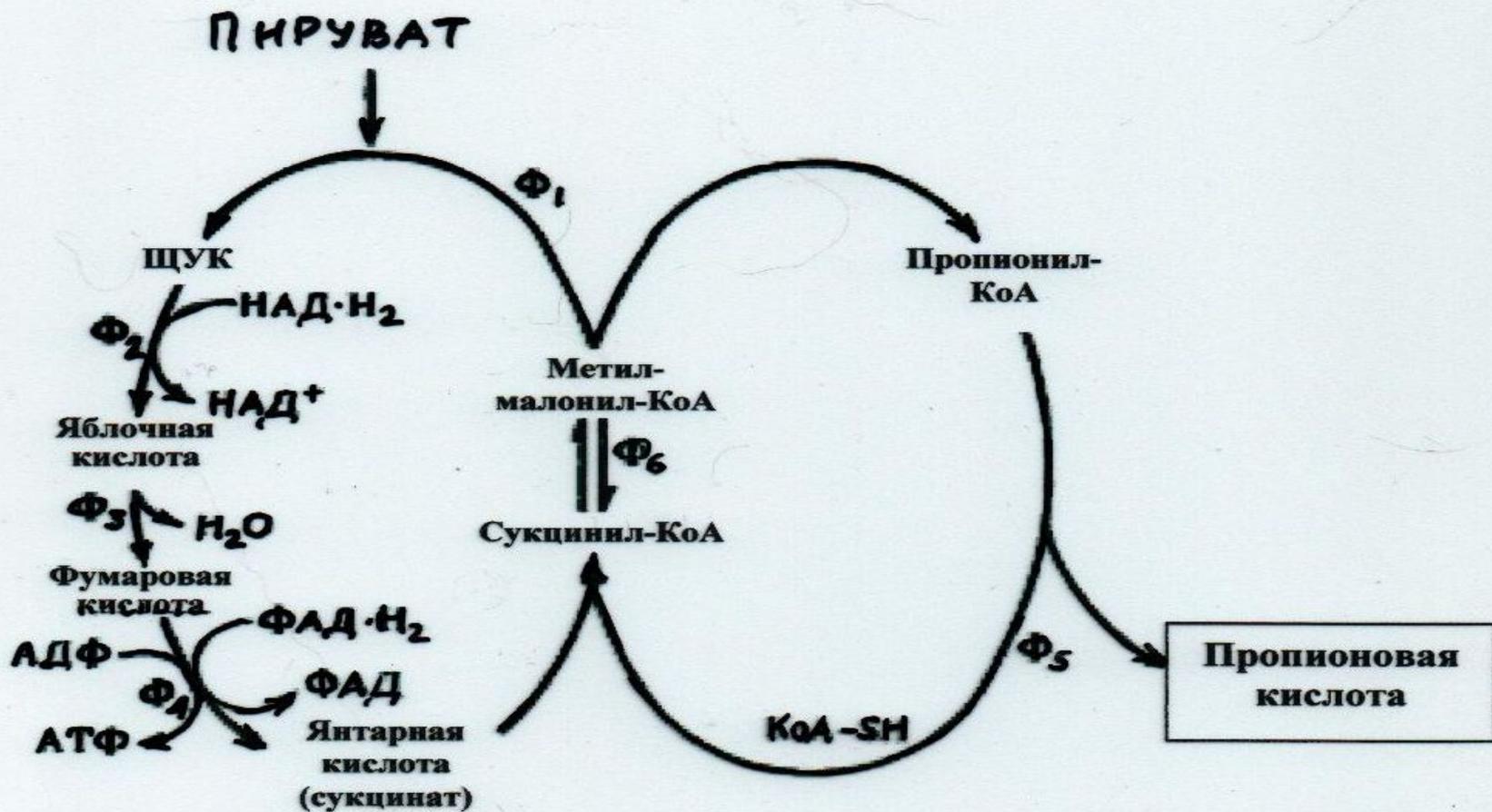
Гетероферментативное молочнокислое брожение:  $\Phi_1$  — пентозофосфокетолаза;  $\Phi_2$  — 3-ФГА-дегидрогеназа;  $\Phi_3$  — фосфоглицераткиназа;  $\Phi_4$  — фосфоглицеромутаза;  $\Phi_5$  — енолаза;  $\Phi_6$  — пируваткиназа;  $\Phi_7$  — лактатдегидрогеназа;  $\Phi_8$  — ацетальдегид-дегидрогеназа;  $\Phi_9$  — алкогольдегидрогеназа;  $\Phi_{10}$  — ацетаткиназа (по Schlegel, 1972)



Рисунок – Схема спиртового брожения

# Уравнение процесса спиртового брожения:





Превращение пировиноградной кислоты в пропионовую при пропионовокислом брожении:  $\Phi_1$  — метилмалонил-КоА-карбоксилтрансфераза;  $\Phi_2$  — малатдегидрогеназа;  $\Phi_3$  — фумараза;  $\Phi_4$  — фумаратредуктаза;  $\Phi_5$  — КоА-трансфераза;  $\Phi_6$  — метилмалонил-КоА-мутаза (по Daglev, Nicholson. 1973; Rose. 1971)

Реакция превращения сукцинил-КоА в метилмалонил-КоА, катализируемая мутазой, является ключевой в пропионовокислом брожении, так как в ней подготавливается субстрат, являющийся предшественником пропионовой кислоты.



# Лекция 5

Тема: «Фотосинтез. Спектральный состав солнечного света. Фотосинтезирующий аппарат микроорганизмов, различия между кислородным и бескислородным фотосинтезом»

# Вопросы:

1. Спектральный состав солнечного света
2. Фотосинтез и фотосинтезирующие микроорганизмы
3. Особенности конструктивного метаболизма у фотосинтезирующих бактерий( биосинтетические процессы)

**Фотон**- это дискретная доза энергии, обратно пропорциональная длине волны электромагнитного излучения.

**Ультрафиолетовый, видимый и ближний инфракрасный свет**- это участок электромагнитного спектра с длинами волн от 200 до 1200нм, который обеспечивает энергией процесс фотосинтеза и способен вызвать химические изменения в поглотившей его молекуле.

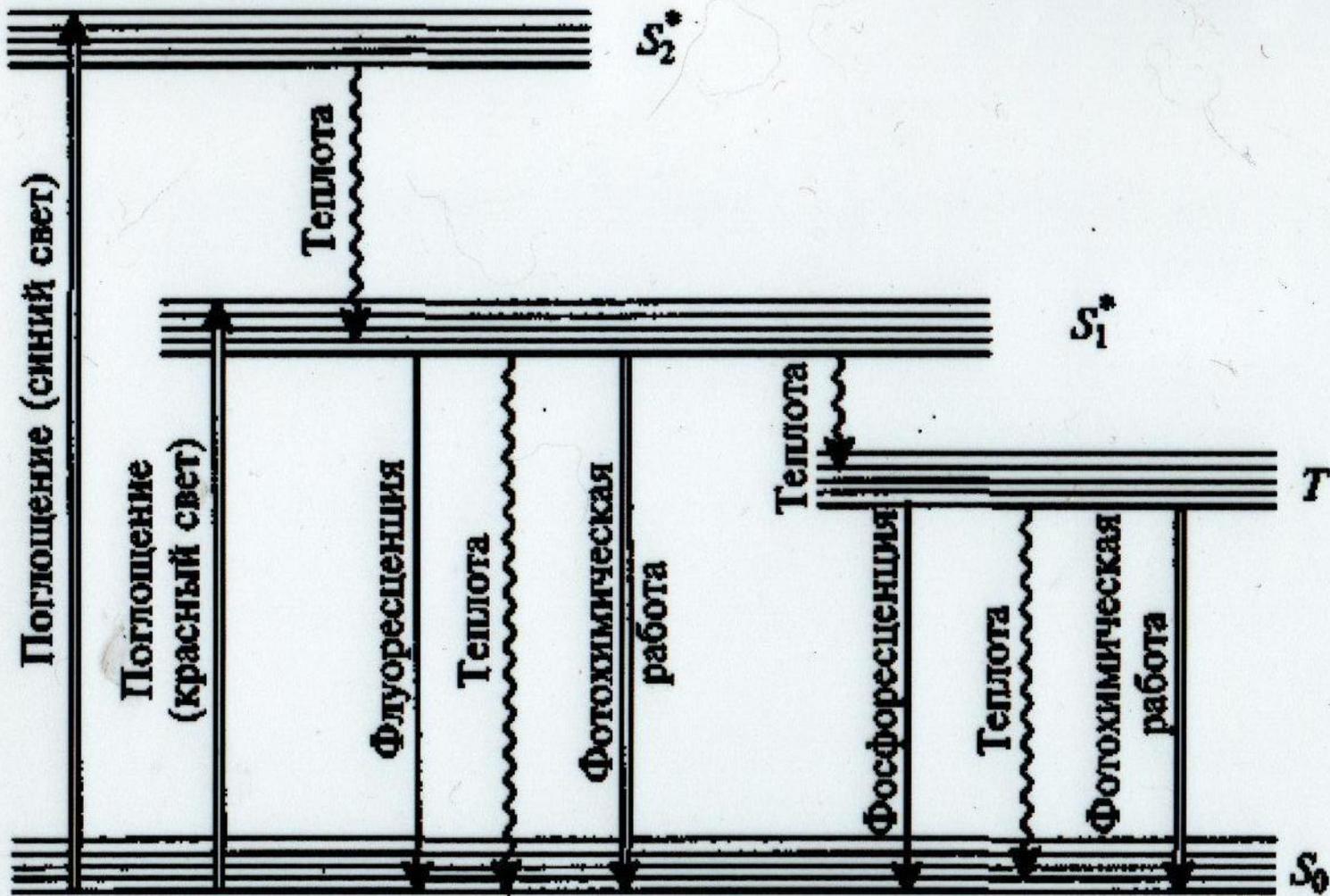


Рисунок – Схема электронных переходов между энергетическими уровнями молекулы хлорофилла при поглощении и испускании света:  $S_0$  – основной энергетический уровень;  $S_1^*$  и  $S_2^*$  – первый и второй синглетные уровни;  $T$  – триплетный уровень

Фотосинтез- процесс, при котором происходит превращение световой энергии в химическую. Специальные пигменты микроорганизмов и растений с помощью солнечной энергии из углекислого газа ( $\text{CO}_2$ ) и воды образуют органическое вещество и кислород.

Фотосинтез может быть *оксигенным и аноксигенным*.

Уравнение процесса фотосинтеза:



Фотофосфорилирование- это процесс образования АТФ при переносе энергии света поглощённого фотосинтетической пигментной системой.

Кислородный (оксигенный) фотосинтез- это процесс превращения световой энергии в химическую при использовании в качестве единственного источника восстановителя-воды с образованием кислорода.

Схема реакции нециклического фотофосфорилирования с восстановлением НАД(Ф):



Бескислородный (аноксигенный)  
фотосинтез-это процесс превращения световой энергии в химическую, при котором фотосинтезирующие микроорганизмы (пурпурные и зеленые бактерии) используют в качестве восстановителя не  $\text{CO}_2$ , а восстановленные не органические соединения ( $\text{H}_2\text{S}$  или  $\text{H}_2$ ) и некоторые органические соединения, что не приводит к образованию кислорода.

## Три основные группы фотосинтезирующих грамотрицательных микроорганизмов:

- Цианобактерии
- Пурпурные бактерии
- Зеленые бактерии

**Таблица - Структура фотосинтезирующего аппарата и механизмы фотосинтеза у прокариот и хлоропластов**

Структурно-функциональные компоненты	Прокариоты			Хлоропласты	
	Пурпурные бактерии	зеленые бактерии	цианобактерии	Красные водоросли	Зеленые водоросли и растения
Субклеточная структура, включающая фотосинтезирующий аппарат	ЦПМ и её производные	ЦПМ и хлоросомы	Тилакоиды и фикобилисомы	Тилакоиды и фикобилисомы	Тилакоиды
Фотосистемы I II	+ -	+ -	+ -	+ -	+ -
Восстановители, используемые при ассимиляции CO <sub>2</sub>	H <sub>2</sub> S, H <sub>2</sub> или орг. соединения	H <sub>2</sub> S, H <sub>2</sub>	H <sub>2</sub> O	H <sub>2</sub> O	H <sub>2</sub> O
Основной источник углерода при фотосинтезе	CO <sub>2</sub> или орг. соединения	CO <sub>2</sub> или орг. соединения	CO <sub>2</sub>	CO <sub>2</sub>	CO <sub>2</sub>

Фотосинтезирующий аппарат- это мембраносвязанная система пигментов, переносчиков электронов, липидов и белков, обеспечивающая превращение энергии при фотосинтезе.

Три основных компонента фотосинтезирующего аппарата прокариот:

1. Система улавливания световой энергии
2. Реакционный центр фотосинтеза
3. Цепь переноса электронов

# Два класса химических соединений фотосинтетических ПИГМЕНТОВ:

1. Пигменты, в основе которых лежит тетрапиррольная структура (хлорофилы, фикобилипротеины)
2. Пигменты, основу которых составляют длинные полиизопреноидные цепи (каротиноиды)

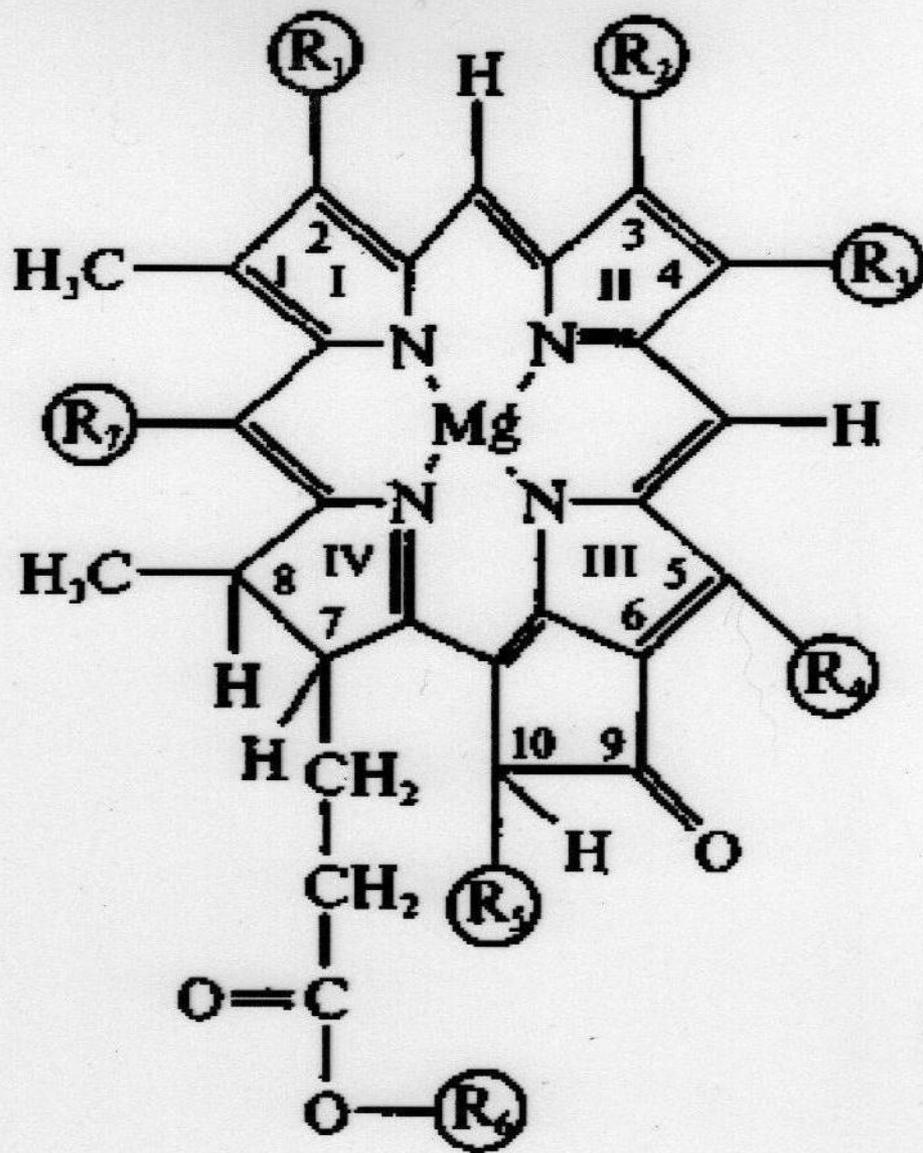
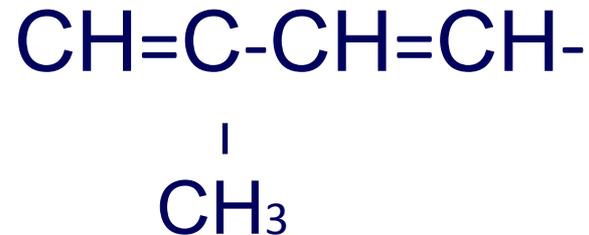


Рисунок - Обобщенная формула хлорофиллов.  
Римскими цифрами указаны пиррольные кольца

Каратиноиды представляют собой продукт конденсации остатков изопрена:



Фикобилипротеины представляют собой водорастворимые хромопротеиды, содержащие линейные тетрапептолы (содержатся только у одной группы бактерий- цианобактерий)

Таблица - Функции пигментов в фотосинтезе

Группы фотосинтезирующих эубактерий	Светособирающие пигменты			Хлорофиллы, входящие в состав реакционного центра
	хлорофиллы	фикобилипротеины	основные каротиноиды	
Пурпурные бактерии	бактериохлорофилл <i>a</i> или <i>b</i>	нет	алифатические и арильные	бактериохлорофилл <i>a</i> или <i>b</i>
Зеленые бактерии	бактериохлорофиллы <i>a+c</i> , <i>a+d</i> , <i>a+e</i>	нет	арильные и алициклические	бактериохлорофилл <i>a</i>
Гелиобактерии	бактериохлорофилл <i>g</i>	нет	единственный алифатический: нейроспорин	бактериохлорофилл <i>g</i>
Цианобактерии	хлорофилл <i>a</i>	фикоцианин, аллофикоцианин, фикоэритрин	алициклические	хлорофилл <i>a</i>
Прохлорофиты	хлорофиллы <i>a+b</i>	нет	алициклические	хлорофилл <i>a</i>

# Процесс фотохимического превращения энергии:

1. Хлорофилл+энергия света → хлорофилл<sup>+</sup>+e<sup>-</sup>
2. Ферредоксин+e<sup>-</sup> → восстановленный ферредоксин

## Таблица 3- Первичные доноры и конечные акцепторы электронов при различных способах образования АТФ за счет переноса электронов

Способ образования АТФ	Первичный донор электронов	Конечный акцептор электронов
Аэробное дыхание	Органическое или неорганическое соединение	$O_2$
Анаэробное дыхание	Органическое соединение	$NO^-$ , $SO^{2-}$ или $CO^{2-}$
Циклическое фотофосфорилирование	Хлорофилл реакционного центра	Окисленный хлорофилл реакционного центра
Нециклическое фотофосфорилирование	Химическое соединение	То же

# Общие свойства цепей переноса электронов в реакционных центрах:

1. Компоненты цепи- это переносчики, способные легко вступать в обратимые реакции окисления и восстановления.
2. АТФ образуется в результате прохождения электронов по цепи.

# Типы процессов образования АТФ у фотосинтезирующих микроорганизмов:

1. Циклическое фотофосфорилирование
2. Нециклическое фотофосфорилирование
3. Сопряженное фотофосфорилирование (комбинация циклического и нециклического процессов)

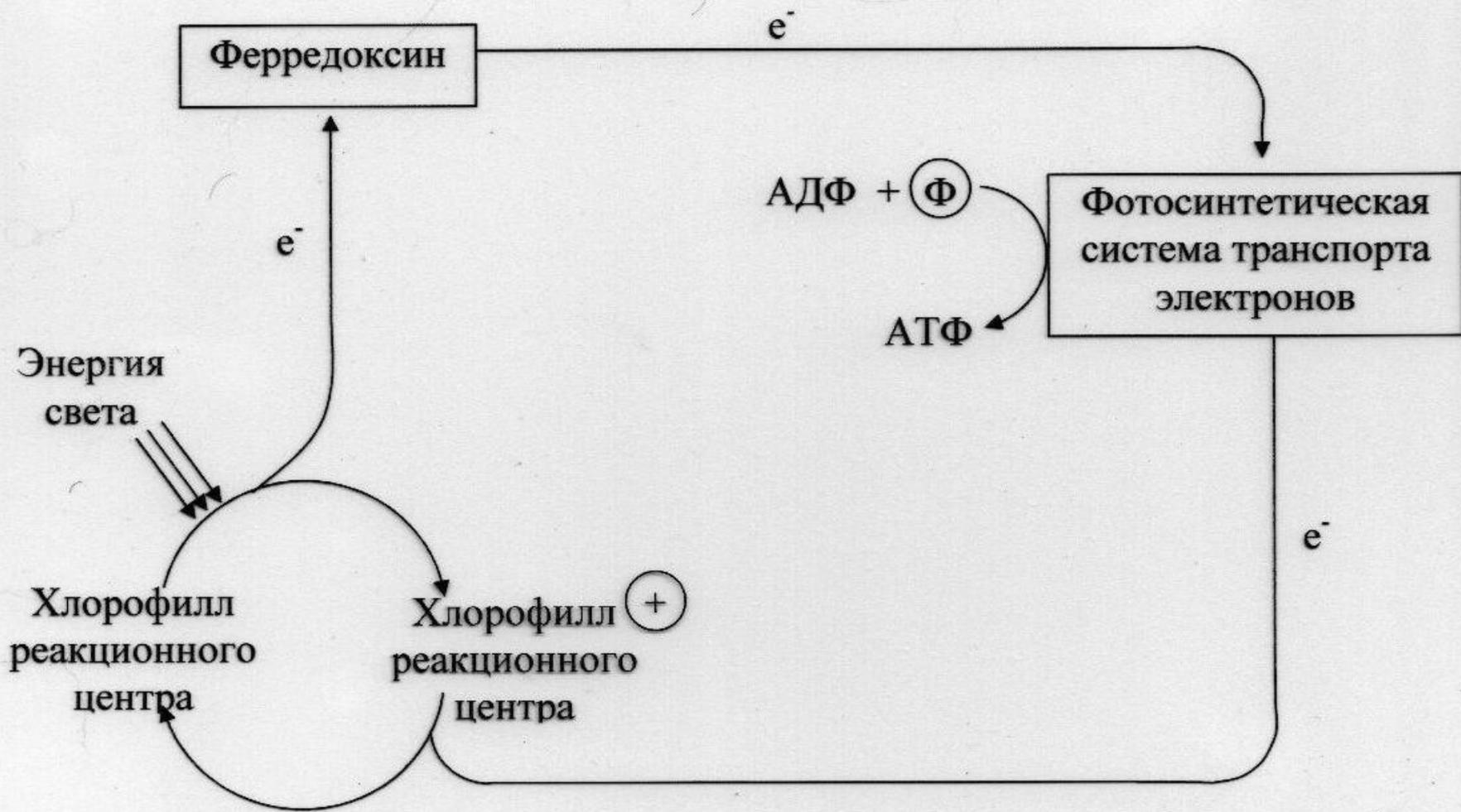


Рисунок – Схема циклического фотофосфорилирования

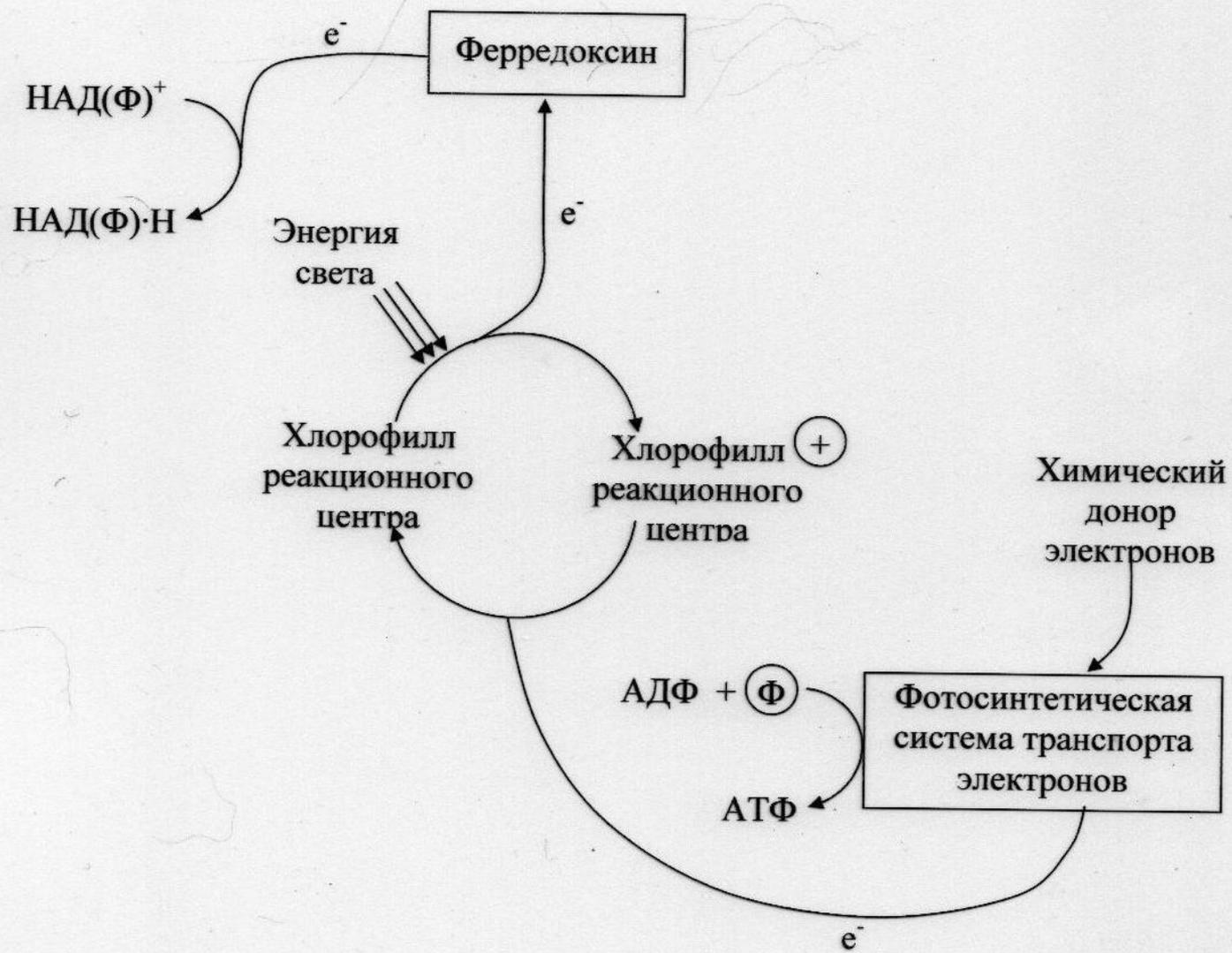


Рисунок – Фотосинтетическое восстановление пиридиннуклеотидов в реакциях нециклического фотофосфорилирования

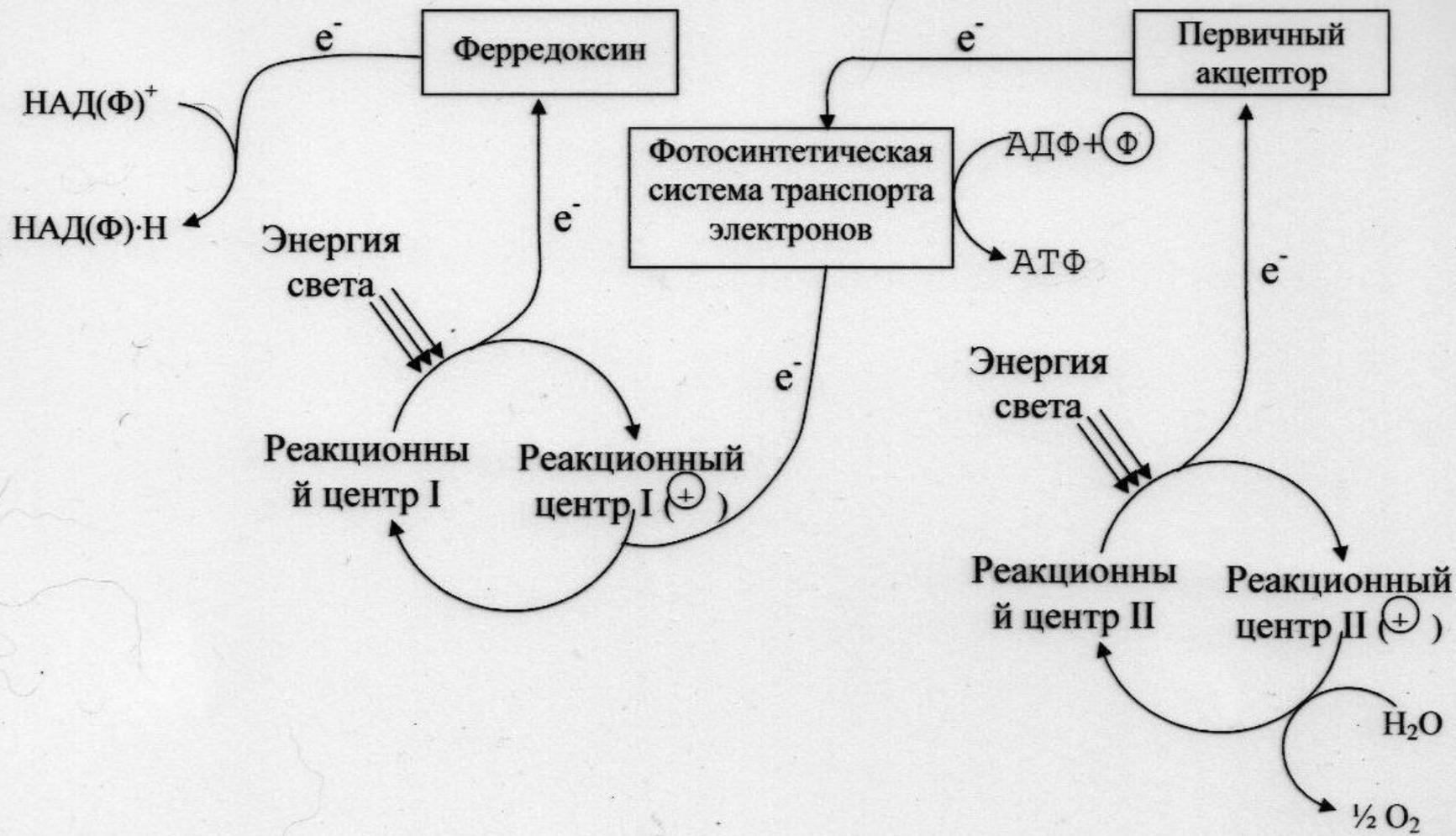
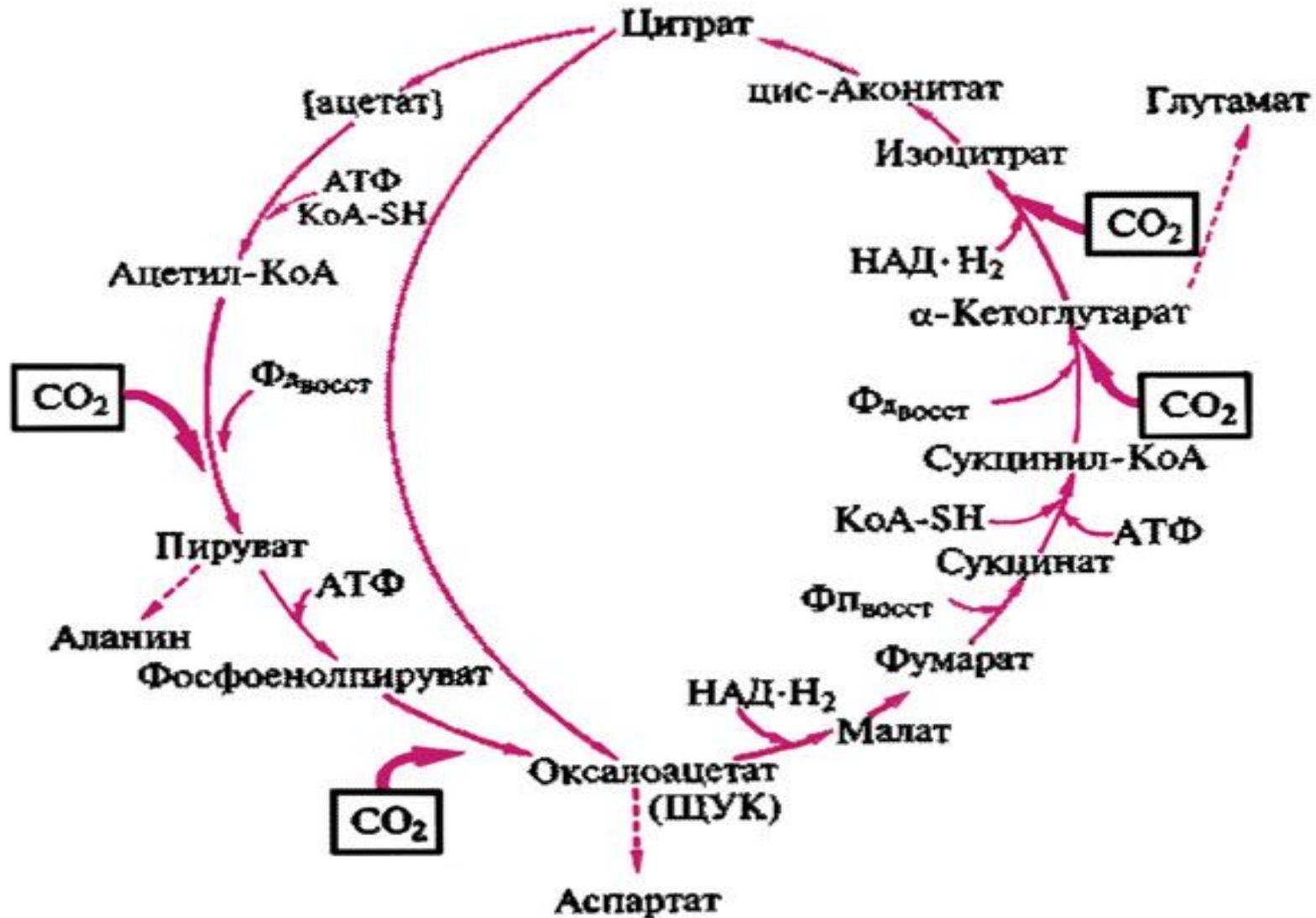
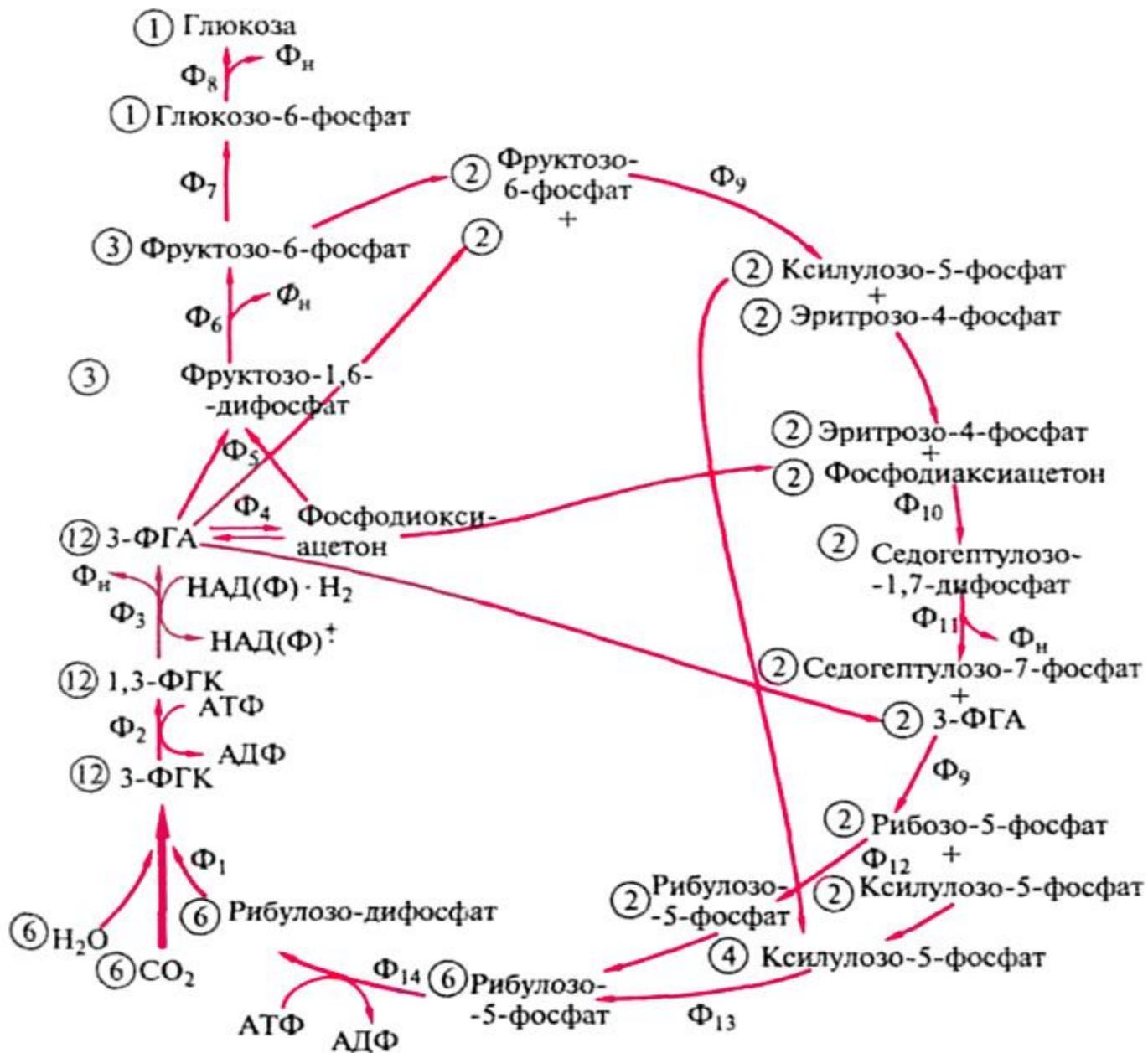


Рисунок – Сопряжение двух световых реакций кислородного фотосинтеза, приводящего к окислению воды до O<sub>2</sub>

# Восстановительный цикл трикарбоновых кислот



# Восстановительный пентозофосфатный цикл



# Лекция 6

Тема: «Методы исследования обмена веществ у микроорганизмов. Изучение ферментных систем, участвующих в превращении и утилизации субстратов. Использование биохимических мутантов, изотопных меток, продуктов анаболизма и катаболизма».

# Вопросы:

1. Стратегия обмена веществ у микроорганизмов.
2. Методы исследования обмена веществ у микроорганизмов. Изучение ферментных систем, участвующих в превращении и утилизации субстратов.
3. Методы исследования продуктов обмена веществ для дифференциации микроорганизмов.
4. Использование биохимических мутантов, изотопных меток, продуктов анаболизма и катаболизма.

## Две стратегические функции метаболических путей в микроорганизмах:

1. Нарботка и трансформация энергии в форме АТФ, электрохимического градиента протонов на мембране ( $\Delta\mu_{\text{H}^+}$ ), тепловой энергии, а также в форме восстановленных пиридиннуклеотидов [НАД(Ф)·Н]
2. Синтез новых веществ в виде мономерных и полимерных соединений

Таблица - Классы макромолекул и составляющих их блоков

Макромолекула	Химическая природа блоков	Число разновидностей блоков
<b>Нуклеиновые кислоты:</b> РНК ДНК	Рибонуклеотиды Дезоксирибонуклеотиды	4 4
Белки	Аминокислоты	20
Полисахариды	Моносахариды	~15 <sup>1)</sup>
Сложные липиды	Различные	~20 <sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> Число различных строительных блоков в каждом отдельном представителе этих 263 макромолекул обычно значительно меньше

Пути метаболизма – это последовательность скоординированных реакций, имеющих биосинтетическое или биоэнергетическое значение, например, цепь переносчиков электронов, гликолитический путь или пути биосинтеза аминокислот с разветвленными цепями.

# Основные методы исследования обмена веществ у микроорганизмов

## 1. Идентификация промежуточных продуктов

Основным методом исследования обмена веществ и биосинтеза является прямое изучение ферментов, участвующих в превращениях субстратов. Полную последовательность реакций определяют исходя из набора реагирующих веществ и продуктов отдельных реакций.

# Основные методы исследования обмена веществ у микроорганизмов

## 2. Использование ингибиторов метаболизма

При добавлении в растущую культуру микробов ингибитора одного из этапов метаболизма будет происходить накопление одного или нескольких метаболитов, образовавшихся до этого этапа. Эти метаболиты можно легко идентифицировать.

# Основные методы исследования обмена веществ у микроорганизмов

## 3. Использование аналогов субстратов

Ферменты определенного пути метаболизма могут различаться по субстратной специфичности. В этом случае при замене природного субстрата синтетическим аналогом не все ферменты будут взаимодействовать с замененным субстратом, при этом в клетках будет накапливаться частично метаболизированный аналог, который можно идентифицировать и таким образом определить место соответствующих реакций в цепи метаболизма.

# Основные методы исследования обмена веществ у микробов

## 4. Метод последовательной индукции.

При сравнении продуктов метаболизма клеток, растущих на индуцирующем субстрате, который утилизируется при определенном метаболическом пути, с метаболитами клеток, выращенных на субстрате, утилизируемом в реакциях альтернативного метаболического пути, можно выявить специфичные для индуцибельного пути метаболиты. При добавлении этих метаболитов к клеткам, выращиваемым на индуцирующем субстрате они будут немедленно утилизированы. При добавлении этих метаболитов к клеткам, растущим на альтернативном субстрате, их утилизация начнется только через некоторое время.

Это позволяет идентифицировать ферменты, специфичные для определенного метаболического пути.

# Основные методы исследования обмена веществ у микроорганизмов

## 5. Одновременная адаптация.

При выращивании бактерий на субстрате «А» одновременно индуцируется синтез всех ферментов, необходимых для утилизации субстрата «А», и продуктов его метаболизма:

$A \rightarrow B \rightarrow C \rightarrow D$ , но не других метаболитов, например  $E$ ,  $F$  и  $G$ . Ферменты, утилизирующие  $A \rightarrow B \rightarrow C \rightarrow D$ , можно идентифицировать. При этом ферменты, утилизирующие метаболиты  $E$ ,  $F$  и  $G$ , выявляться не будут.

# Основные методы исследования обмена веществ у микроорганизмов

## 6. Использование клеточных экстрактов.

Все выше перечисленные методики осуществляются с использованием клеточных экстрактов вместо живых клеток. В этом случае сложности, связанные с проникновением веществ в клетки, устраняются, что упрощает анализ. Однако ферменты изучаемого пути метаболизма при этом не находятся в естественной среде, что может повлиять на их активность.

**Таблица - Признаки родов, относящихся к Enterobacteriaceae**

Род	Знак «плюс» означает, что большинство штаммов по данному признаку положительно							
	Подвижность	Сбраживание глюкозы	Сбраживание лактозы	Образование H <sub>2</sub>	Образование индола	Образование ацетона	Протеолиз	Использование мочевины
<b>Escherichia</b>	+	+	+	+	+	-	-	-
<b>Klebsiella</b>	-	+	+	+	-	+	-	+
<b>Enterobacter</b>	+	+	+	+	-	+	(+)	(+)
<b>Serratia</b>	+	+	-	+	-	+	+	-
<b>Proteus</b>	+	+	-	+	+	-	+	+
<b>Citrobacter</b>	+	+	+	(+)	+	-	-	(+)
<b>Salmonella</b>	+	+	-	+	-	-	-	-
<b>Shigella</b>	-	+	-	-	+	-	-	-
<b>Erwinia</b>	+	+	(+)	-	-	(+)	(+)	-

Знак «плюс» означает, что большинство штаммов по данному признаку положительно

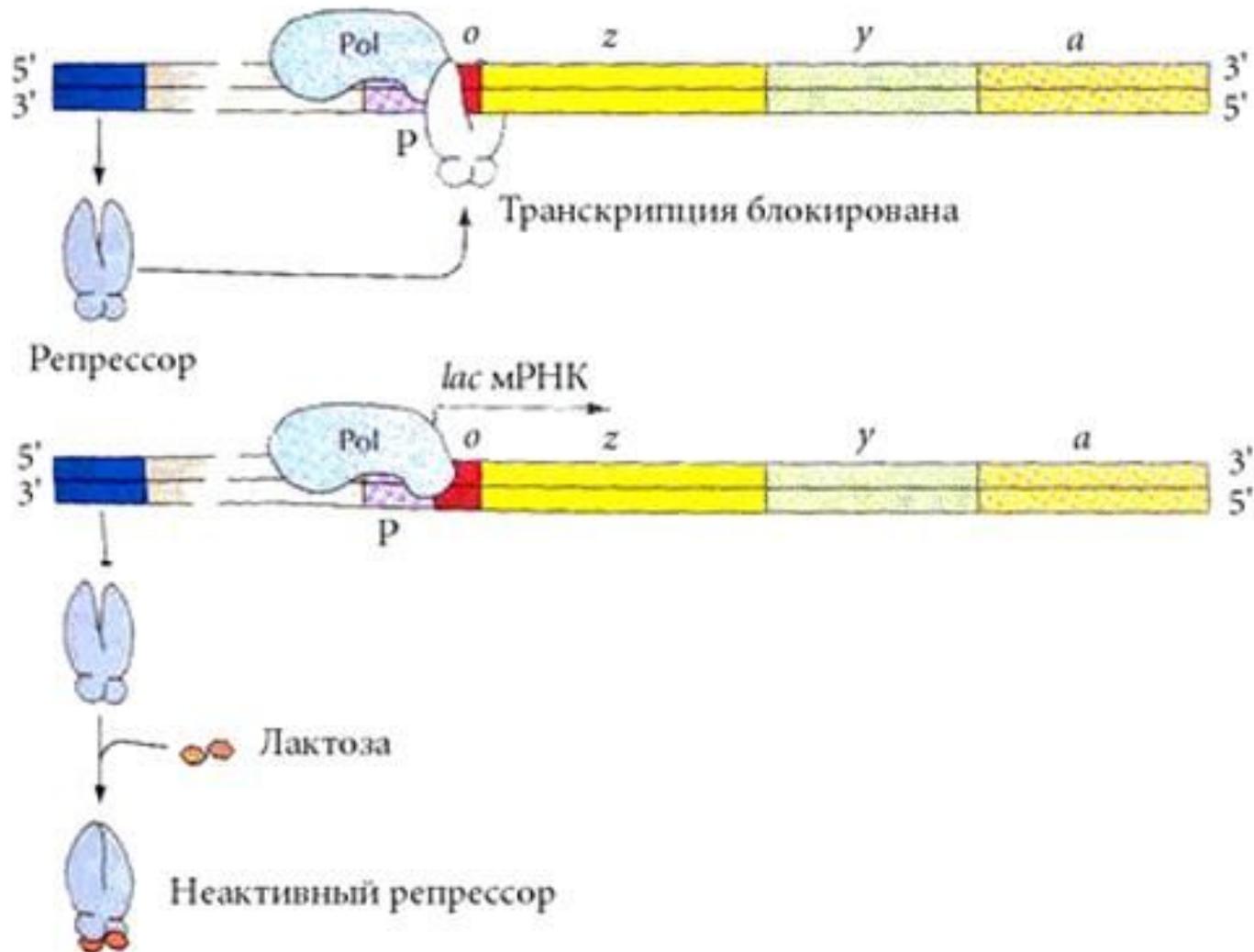
Таблица – Реакции для дифференциации *Escherichia coli* и *Enterobacter aerogenes*

	Образование индола	Проба с метиловым красным	Образование ацетона	Цитрат
<b><i>Escherichia coli</i></b>	+	+	-	-
<b><i>Enterobacter aerogenes</i></b>	-	-	+	+

Таблица – Продукты сбраживания глюкозы бактериями *Escherichia coli* и *Enterobacter aerogenes*

Продукт	Число молей на 100 молей глюкозы	
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Enterobacter aerogenes</i>
2,3-Бутандиол	0	66,5
Этанол	42	70
Янтарная кислота	29	0
Молочная кислота	84	3
Уксусная кислота	44	0,5
Муравьиная кислота	2	18
Водород	43	36
Двуокись углерода	44	172

# Структура лактозного оперона



# Типы мутантов микроорганизмов с дефектами регуляции процесса биосинтеза ферментов

1. Мутанты, не образующие функционально полноценного репрессорного белка (**идёт транскрипция**) или содержащие его в повышенном количестве (**нет транскрипции даже при добавлении лактозы**).
2. Мутанты с оператором конститутивного типа, который не способен связывать репрессорный белок (**постоянно идёт транскрипция**).
3. Мутанты с аллостерической нечувствительностью, у которых определенный фермент не может распознавать эффектор (**фермент не активируется, биосинтез останавливается**).

# Некоторые методы получения мутантов с дефектами регуляции процесса биосинтеза ферментов

## 1. Мутанты, конститутивно образующие катаболические ферменты.

Получают путем многократных пересевов на питательных средах с частой сменой питательных субстратов.

## 2. Мутанты конститутивно образующие анаболические ферменты.

Получают путем включения в питательную среду **антиметаболитов**- структурных аналогов нормальных конечных продуктов биосинтеза (аминокислот, пиримидинов и др.).

# Типы мутаций, приводящих к устойчивости бактерий к антиметаболитам

1. Мутации, приводящие к «аллостерической нечувствительности» (изменяется структура фермента и он не разрушается ни антибиотиком, ни продуктами метаболизма клетки) (*суперпродукция*).
2. Мутации, приводящие к конститутивной дерепрессии (происходит неконтролируемое образование ферментов, участвующих в синтезе конечного продукта- *суперпродукция*).

## Типы мутаций, приводящих к устойчивости бактерий к антиметаболитам

3. Мутации, затрагивающие каталитические центры ферментов, активирующие метаболиты и участвующие в их превращениях (утрачивается возможность связывания антиметаболита с ферментом, поэтому последний сохраняет активность).
4. Мутации, приводящие к нарушению транспортных процессов (изменения клеточной стенки бактерий не позволяют метаболитам проникать внутрь клетки).

# Типы мутаций, приводящих к устойчивости бактерий к антиметаболитам

5. Мутации, обуславливающие конститутивное расщепление метаболитов (вырабатывается фермент, который разрушает антиметаболит и обезвреживает его).

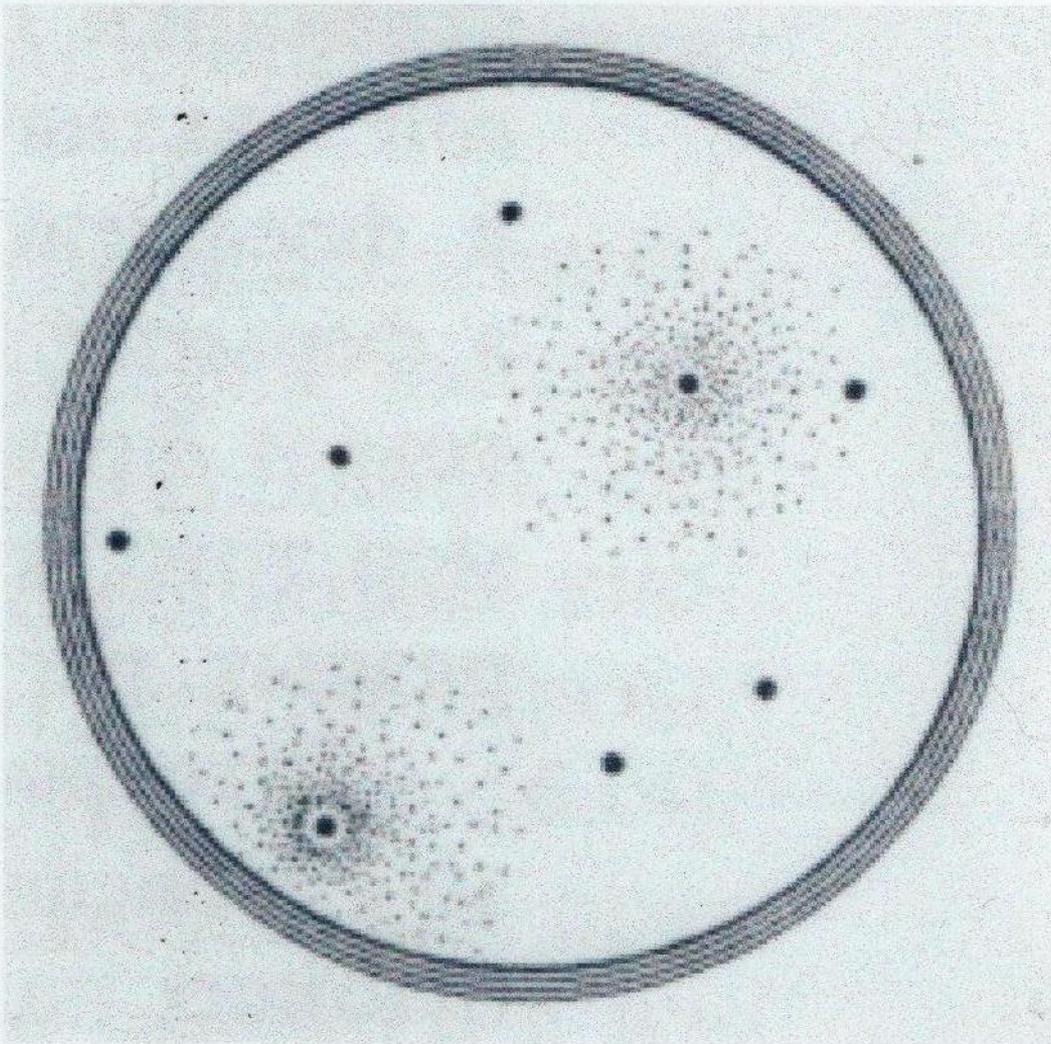
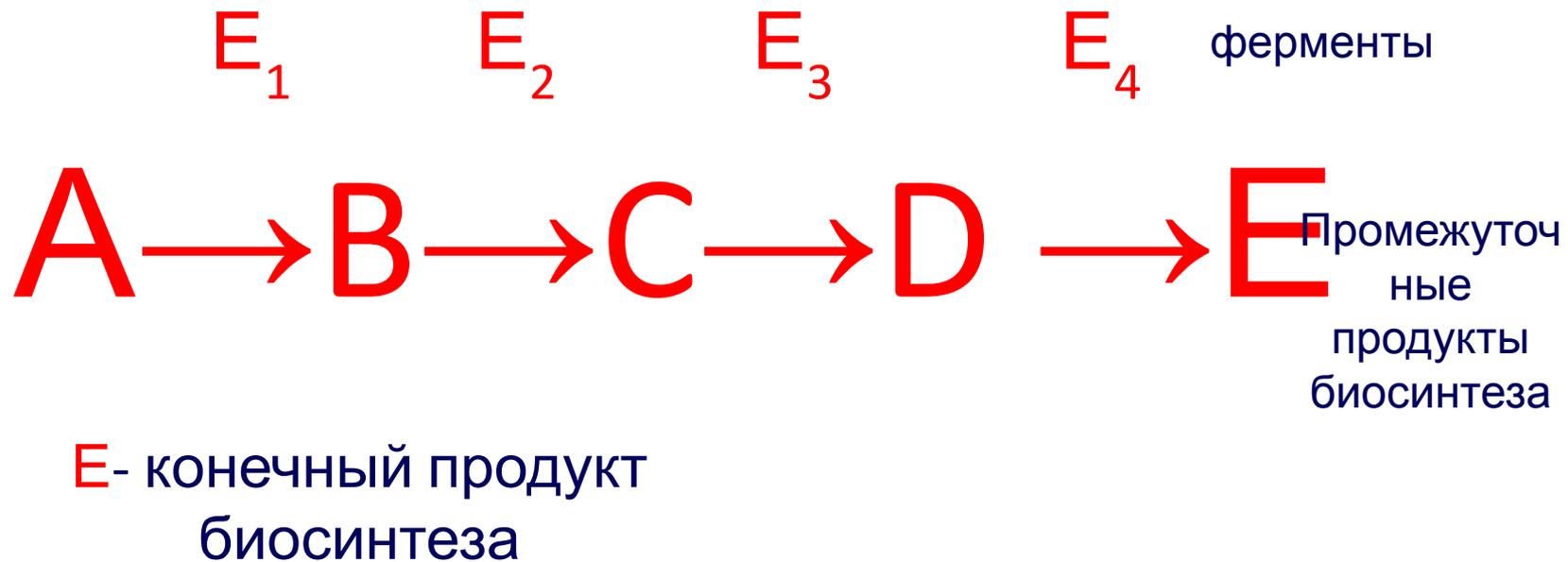


Рисунок - Мутанты, устойчивые к одному из  
антиметаболитов

# Схема последовательности пути биосинтеза



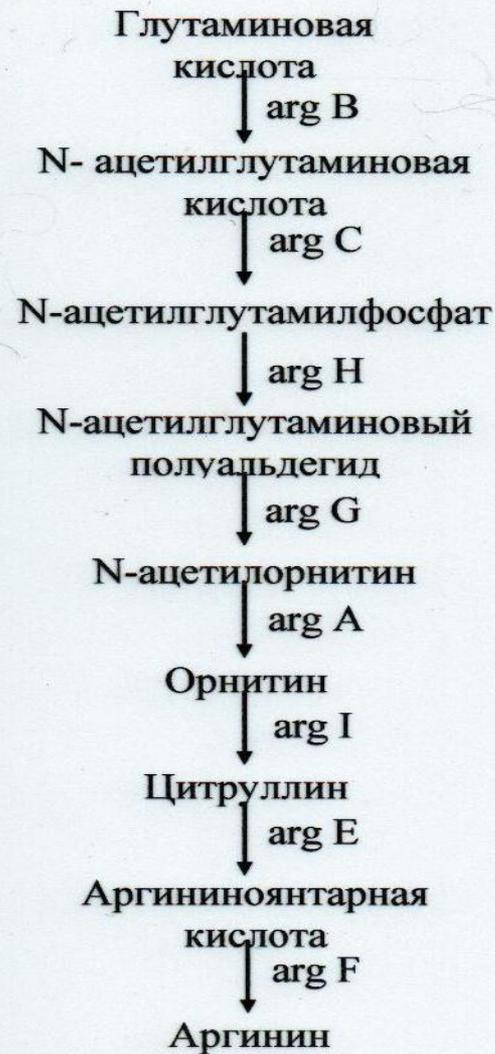


Рисунок – Последовательность реакций биосинтеза аргинина у *Salmonella typhimurium*.

Справа от стрелок указаны обозначения генов, кодирующих различные ферменты

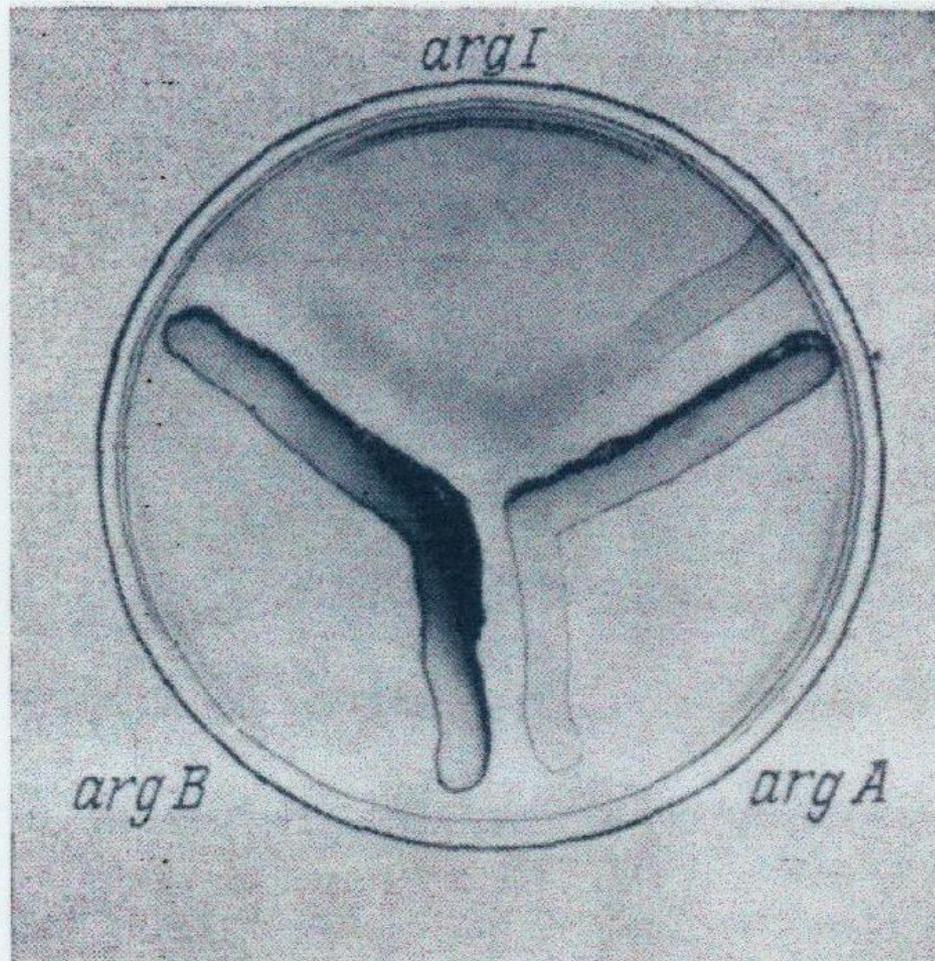


Рисунок – Штаммы *Salmonella typhimurium* с мутациями в генах *arg B*, *arg A* и *arg I*

Таблица - Характеристики изотопов, применяемых в биологических исследованиях

Изотоп	Период полураспада ( $T_{1/2}$ )	Тип распада	Энергия, МэВ	Специфическая активность	
				теоретический максимум, ТБк/атом	обычное содержание в соединениях, МБк/моль
Тритий ( $^3\text{H}$ , T)	12,26 лет	$\beta$	0,018	846,0	$10^2 - 10^4$
Углерод-14 ( $^{14}\text{C}$ )	5568 лет	$\beta$	0,155	2,3	$1 - 10^2$
Сера-35 ( $^{35}\text{S}$ )	87,2 дн.	$\beta$	0,167	55,5	$1 - 10^2$
Хлор-36 ( $^{36}\text{Cl}$ )	$3 \cdot 10^5$ лет	$\beta$	0,714	$4,4 \cdot 10^{-2}$	$10 - 10^3$
Фосфор-32 ( $^{32}\text{P}$ )	14,3 дн.	$\beta$	1,710	$340,8 \cdot 10^3$	$10 - 10^3$
Йод-131 ( $^{131}\text{I}$ )	8,06 дн.	$\gamma$	0,810	$599,0 \cdot 10^3$	$10^2 - 10^4$
Йод-125 ( $^{125}\text{I}$ )	60 дн.	$\gamma$	0,035	$80,6 \cdot 10^3$	$10^2 - 10^4$