# Міністерство освіти і науки України

Львівський національний університет імені Івана Франка

Біологічний факультет

“**ЗАТВЕРДЖУЮ**”

Проректор з наукової роботи,

член-кор. НАН України,

проф. Гладишевський Р. Є.

\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

“\_\_\_\_\_\_”\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_2016 р.

**МЕТАБОЛІЗМ МІКРООРГАНІЗМІВ**

# **Програма**

**нормативної навчальної дисципліни**

підготовки **\_\_\_\_\_магістрів \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_**

Галузь знань: **09 Біологія**

Спеціальність: **091 Біологія**

Спеціалізація: **Мікробіологія**

(Шифр за ОПП )

**Львів**

**2016 рік**

РОЗРОБЛЕНО: Львівським національним університетом імені Івана Франка

РОЗРОБНИКИ ПРОГРАМИ: доцент кафедри мікробіології Яворська Галина Василівна

Навчальна програма затверджена на засіданні кафедри мікробіології

Протокол № 1 від “ 29” серпня 2016 р.

Завідувач кафедри мікробіології

\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ /проф. С. О. Гнатуш/

(підпис)

“ 29” серпня 2016 р.

Схвалено методичною радою біологічного факультету

Протокол № 1 від “30” серпня 2016 р.

“30” серпня 2016 р. Голова \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_/доц. Микієвич І. М./

(підпис)

© Яворська Галина Василівна, 2016

© Львівський національний університет імені Івана Франка, 2016

**Вступ**

Програма вивчення нормативної навчальної дисципліни “Метаболізм мікроорганізмів” складена відповідно до освітньо-професійної програми підготовки магістра спеціальності 091 Біологія спеціалізації Мікробіологія

**Предметом** вивчення навчальної дисципліни є метаболізм мікроорганізмів, його компоненти і регулювання

**Міждисциплінарні зв’язки**: мікробіологія, біохімія, генетика, молекулярна біологія, біотехнологія

Програма навчальної дисципліни містить такі змістові модулі:

1. Живлення мікроорганізмів

2. Метаболізм мікроорганізмів і його регулювання

### 1. Мета та завдання навчальної дисципліни

1.1. Метою викладання навчальної дисципліни “Метаболізм мікроорганізмів” є узагальнити і поглибити знання з біохімії та генетики мікроорганізмів про особливості метаболізму залежно від типів живлення і загальні закономірності обміну речовин та його регулювання у мікроорганізмів

*Ознайомлення студентів з особливостями синтезу та регулювання активності окремих компонентів та цілих метаболітних систем мікроорганізмів*

*Виховання навичок самостійного аналізування та узагальнення наукової інформації про значення метаболізму для окремих видів та популяцій мікроорганізмів залежно від умов їх існування*

1.2.Основними завданнями вивчення дисципліни “Метаболізм мікроорганізмів” є *сформувати у студентів систему знань щодо:*

- загальних закономірностей організації метаболітних систем про- та еукаріотичних мікроорганізмів;

- особливостей транспортування поживних речовин і продуктів обміну;

- типів живлення прокаріот і дріжджів;

- принципів функціонування регуляторних ферментів та систем ферментів;

- способів регулювання метаболізму та функцій основних компонентів.

*поглибити знання студентів про:*

* організацію та функціонування регуляторних ферментів і метаболітних систем;
* механізми регулювання метаболізму в різних видів мікроорганізмів.

1.3. Згідно з вимогами освітньо-професійної програми студенти повинні:

***знати :***

* загальні закономірності метаболізму у про- та еукаріотичних мікроорганізмів на біохімічному, генетичному і молекулярному рівні;
* принципи функціонування регуляторних ферментів і систем;
* механізми регулювання метаболізму в різних видів мікроорганізмів;
* особливості метаболізму у бактерій та дріжджів, хемо- і фототрофів, катаболітної репресії, апоптозу, іонного обміну, біосинтезу вітамінів та амінокислот, азотфіксації;
* компоненти окремих компартментів клітини мікроорганізмів і їхні функції;
* методи ідентифікації та виділення регуляторних білків;
* значення сигнальних механізмів у регуляції обміну речовин.

***вміти*** :

* описувати структурно-функціональну організацію, особливості синтезу та регулювання активності окремих ферментів та комплексів ферментів мікроорганізмів;
* визначати особливості синтезу окремих компонентів системи регулювання обміну речовин даного мікроорганізму;
* передбачити можливі варіанти перебування і функціонування окремих метаболітів у даному компартменті;
* розрізняти дані ізоферменти, алостеричні ферменти та мультиферментні комплекси мікроорганізмів;
* розрізняти особливості регуляції метаболізму у бактерій та дріжджів, хемо- і фототрофного метаболізму, катаболітної репресії, апоптозу, іонного обміну, біосинтезу вітамінів та амінокислот, азотфіксації;
* за особливостями метаболізму мікроорганізму запропонувати спосіб вирощування;
* класифікувати метаболітні системи мікроорганізмів і використовувати методи ідентифікації та виділення регуляторних білків.

На вивчення навчальної дисципліни відведено 120 годин / 4 кредити ECTS.

**2. Інформаційний обсяг** **навчальної дисципліни**

**Змістовий модуль І. Живлення мікроорганізмів**

**Тема 1. Обмін речовин – невід’ємна властивість живих організмів.** Зміст, методи і завдання курсу. Основні представники про- і еукаріотичних мікроорганізмів, що використовують для вивчення метаболізму. Регуляторні системи про- і еукаріотичних мікроорганізмів. Метаболічні шляхи та ферменти як об’єкт регуляції. Значення вивчення обміну речовин у мікроорганізмів. Роль метаболізму в адаптації мікроорганізмів до умов перебування.

**Тема 2. Живлення мікроорганізмів.** Хімічний склад клітин мікроорганізмів. Потреби мікроорганізмів у поживних речовинах. Типи живлення мікроорганізмів. Транспорт поживних речовин у клітину. Транспорт феруму та його регулювання у мікроорганізмів. Транспорт білків.

**Тема 3. Ферменти – елементи контролю метаболізму.** Структура і функції ферментів мікроорганізмів. Будова та властивості ферментів. Особливості первинної будови ферментів, гомологія та подібність у будові: порівняльна характеристика ферментів з різних об’єктів. Особливості вторинної будови ферментів: α- і β-структури, їхнє співвідношення у ферментативних білках. Третинна будова ферментів, доменна організація. Роль третинної будови в утворенні активних центрів ферментів. Четвертинна будова ферментів: типи симетрії, позитивна та від’ємна кооперативність. Одно- і двохкомпонентні ферменти. Специфічність дії ферментів. Механізми дії ферментів. Класифікація та характеристика основних класів ферментів.

Хімічна рівновага та швидкість реакції – регулюючі фактори біохімічних процесів. Положення ферментативної кінетики. Константа Міхаеліса. Фактори, що впливають на швидкість ферментативної реакції (концентрація ферменту, концентрація субстрату, температура, рН). Методи визначення активності ферментів. Одиниці активності.

**Тема 4. Компартментація. Мультиферментні комплекси.** Роль мембран у впорядкуванні руху молекул. Внутрішньоклітинний розподіл ферментів. Концепції організації метаболітних процесів. Метаболон. Симбіотична компартментація. Трансляційний компартмент. Утворення мультиферментних комплексів. Функціонування і регулювання піруват- та α-кетоглутаратдегідрогеназного комплексів. Каскадний механізм дії ферментів.

**Тема 5. Значення окремих ферментів у регуляції метаболізму.** Прості, складні та алостеричні ферменти. Роль ферментів у шляхах зміни метаболізму мікроорганізмів. Використання закономірностей регуляції метаболізму в конструюванні промислових мікроорганізмів. Ферменти рестрикції і модифікації. ДНК-лігази. Полімерази. Нуклеази. Термінальна дезоксинуклеотидилтрансфераза, лужні фосфатази, полінуклеотидкіназа.

**Тема 6. Біосинтез і регулювання активності ферментів.** Генетичне забезпечення ферментного апарату клітини. Організація геному про- та еукаріотичних мікроорганізмів. Структура і визначення генів. Реплікація ДНК. Транскрипція РНК. Етапи синтезу РНК. РНК-полімерази мікроорганізмів, їхня будова та властивості. Точка ініціації транскрипції. Фактори транскрипції. Термінація транскрипції та механізми, що її забезпечують. Молекулярні механізми регуляції транскрипції. Транскрипційна активація. Посттранскрипційна та пострансляційна регуляція: сплайсинг, процесінг тощо.

Функціональне значення різних ділянок мРНК. тРНК – будова, функції. Локалізація рибосом, функціональні сайти, транслокація та транспептидація. Особливості про- та еукаріотичних факторів трансляції. Порівняльний аналіз білкового синтезу у бактерій та дріжджів.

Механізм регуляції біосинтезу ферментів та ферментних систем. Роль інгібіторів ферментів та метаболітів у регуляції ферментативної реакції.

Регуляція активності ферментів: зворотня і незворотня ковалентна модифікація, фосфорилювання, аденілювання, відновлення дисульфідів. Роль протеолізу у регуляції обміну речовин. Ізоферменти та регуляція їх активності. Алостерична активація та інгібування. Моделі механізму регуляції активності алостеричних ферментів.

**Змістовий модуль ІІ. Метаболізм мікроорганізмів і його регулювання**

**Тема 7. Класифікація та властивості метаболітних систем мікроорганізмів.** Метаболоніка. Типи метаболізму у мікроорганізмів. Механізми отримання енергії у мікроорганізмів. Способи синтезування АТФ у мікроорганізмів.

**Тема 8.** **Хемотрофія**. Катаболізм аеробних хемоорганотрофних мікроорганізмів. Етапи катаболізму цукрів хемоорганотрофами. Три шляхи розщеплення гексоз: гліколіз, пентозофосфатний шлях, шлях Ентнера-Дудорова. Метилгліоксалевий шунт. Шляхи окиснення пірувату мікроорганізмами. ЦТК. Поняття субстратного та окисного фосфорилювання. Причини неповного окиснення органічних субстратів хемоорганотрофними мікроорганізмами. Метилотрофи. Метанотрофи. Схема окиснення метану.

Катаболізм аеробних хемолітотрофних мікроорганізмів та деякі процеси анаболізму. Загальні особливості катаболізму хемолітотрофних мікроорганізмів. Джерела електронів. Особливості будови дихального ланцюга хемолітотрофів. Пряме і зворотнє перенесення електронів. Вихід АТФ за окисного фосфорилювання у хемолітотрофів. Водневі бактерії. Нітрифікувальні бактерії І і ІІ фаз нітрифікації. Бактерії, що окиснюють сполуки сірки: безколірні сіркобактерії, тіонові бактерії. Карбоксидобактерії.

**Тема 9. Фототрофія.** Фотосинтезувальні прокаріоти. Карбонова автотрофія. Оксигенний фотосинтез. Аноксигенний фотосинтез. Фотофосфорилювання. Пігменти фотосинтезувального апарату. Структурна організація фотосинтезувального апарату. Механізм фотосинтезу. Істинна фототрофія. Квазі-фототрофія. Світні бактерії і біолюмінесценція. Використання енергії світла галобактеріями.

**Тема 10. Анаболізм**. Три рівня біосинтезу в клітині. Метаболічні петлі. Ключові метаболіти. Потоки карбону в гетеро- та автотрофів. Анаплеротичні реакції. Шляхи асиміляції мікроорганізмами вуглекислого газу: цикл Кальвіна, цикл Еванса-Буханана-Арнона, шлях ацетил-КоА, 3-гідроксипропіонатний шлях. Три способи асиміляції мікроорганізмами формальдегіду: сериновий шлях, рибулозомонофосфатний шлях, дигідроксіацетоновий шлях. Асиміляція мікроорганізмами С2-субстратів: гліоксилатний цикл. Глюконеогенез. Синтез поліцукридів. Біосинтез насичених та ненасичених жирних кислот. Асиміляція мікроорганізмами неорганічного азоту. Асиміляційна нітратредукція. Азотфіксація. Будова та функціонування нітрогеназного комплексу. Схема азотфіксації. Механізми захисту нітрогенази від кисню. Механізми включення амонію у біосинтез: глутаматний та глутаміновий шляхи. Трансамінування амінокислот.

**Тема 11. Регуляція метаболізму у мікроорганізмів.** Регуляція біосинтезу ферментів. Індукція синтезу ферментів. Репресія і дерепресія синтезу ферментів. Молекулярні механізми регуляції транскрипції. Участь АТФ і ГТФ у регуляції експресії генів. Позитивна і негативна регуляція генів. Взаємодія ДНК і ДНК-зв’язуючих білків. Регуляція хемо- і фототрофного метаболізму. Особливості регуляції біосинтезу вітамінів та амінокислот. Регуляторні механізми, що контролюють процес азотфіксації. Регуляція органів руху та спороутворення у бактерій.

Регуляція метаболізму у еукаріот. Роль повторюваних послідовностей ДНК та мобільних елементів геному. Регуляція експресії генів у дріжджів. Промоторні елементи дріжджів. Специфічні ДНК-зв’язуючі білки. Білок-білкові взаємодії. Основні метаболічні шляхи та способи їх регуляції. Катаболітна репресія і GAL-система. Апоптоз. Транспорт іонів у клітину і регуляція іонного обміну у мікроорганізмів.

**Тема 12. Методи дослідження метаболізму мікроорганізмів**. Регуляція обміну речовин – основа впорядкованості біомолекул. Роль сигнальних механізмів у регуляції обміну речовин у еукаріот. Особливості регуляції метаболізму у надсинтезах.

Методи ідентифікації та виділення регуляторних білків. Методи дослідження факторів транскрипції. Гель-електрофорез та імунохімічні методи ідентифікації продуктів експресії: нозерн-блот і вестерн-блот аналіз, дот-блот аналіз, блотинг колоній, імунопреципітація, імуноферментний аналіз. Ідентифікація білкових продуктів експресії з використанням властивостей експресованого продукту та константної ділянки гібридних білків. Методи виділення рекомбінантних білків, що грунтуються на властивостях еспресованого білка. Будова антитіл, отримання моноклональних та поліклональних антитіл, кон’югати антитіл і ферментів, методи визначення активності ферментів в імуноферментному аналізі. Застосування імуноферментного аналізу (ELISA – процедура, імуноблотинг білків). Аналітичне використання ферментів. Переваги ферментативного аналізу в порівнянні з хімічним аналізом. Ферменти, що мають аналітичне застосування. Мультиферментні аналітичні системи. Системи регенерації кофактора і каталітичний аналіз. Біолюмінісцентний аналіз. Біосенсори.

Загальні підходи до визначення первинної структури біополімерів. Метод секвенування ДНК за допомогою специфічного хімічного розщеплення (метод Максама і Гілберта). Секвенування ДНК за допомогою полімеразного копіювання. Метод термінуючих аналогів нуклеотидів (метод Сенджера). Стратегії секвенування усього геному певних організмів. Етапи секвенування великих ділянок ДНК. Автоматизація секвенування ДНК. Аналіз даних секвенування. Бази даних секвенованої ДНК. Приклади секвенування ДНК окремих хромосом та геномів. Геноміка, транскриптоміка, протеоміка.

### 3. Рекомендована література

1. Геохімічна діяльність мікроорганізмів та її прикладні аспекти: Навч. посібник / І. П. Козлова, О. С. Радченко, Л. Г. Степура, Т. О. Кондратюк. – К.: Наук. думка, 2008. – 528 с.
2. Глик Б., Пастернак Дж. Молекулярная биотехнология. Принципы и пременение. Пер. с англ. – М.: Мир, 2002. – 589 с.
3. Джеймсон Дж. Основы молекулярной медицины. – М.: Мир, 2002. – т.2. – 1077с.
4. Марченко М. М., Копильчук Г. П. Біохімія інформаційних молекул. – Чернівці: Вид-цтво Рута, 2003. – 344 с.
5. Нетрусов А. И., Котова И.Б Микробиология: учебник. М.: Издательский центр «Академия», 2006. – 352 с.
6. Организация генома / Под ред. Ю.Ф.Богданова и А. А. Прозорова. М.: Наука, 1989. – 240с.
7. Патрушев Л. И. Экспресия генов. – М.: Наука, 2000. – 830 с.
8. Рис Э., Стенберг М. Введение в молекулярную биологию. – М.: Мир, 2002. –142 с.
9. Радченко О. С., Степура Л. Г., Сергійчук М. Г. Метаболічна активність бактерій. Методичні рекомендації до спецпрактикуму “Фізіологія мікроорганізмів”. – Київ: Видавничо-поліграфічний центр “Київський університет”, 2001. – 30 с.
10. Сингер М., Берг Н. Гены и геномы. М.: Мир, 1998 – 823 с.
11. Современная микробиология. Прокариоты: В 2-х томах/ Под.ред. Й.Ленгнера, Г.Древса, Г.Шлегеля. – М.: Мир, 2005.
12. Степанов В.М. Молекулярная биология. Структура и функции белков. – М.:Высшая школа, 1996. – 334 с.
13. Тоцький В.М. Генетика: Підручник. – Одеса: Астропринт, 2002. – 712 с.
14. Гудзь С. П., Гнатуш С. О., Яворська Г. В., Білінська І. С., Борсукевич Б. М. Практикум з мікробіології. – Львів: Вид. центр ЛНУ імені Івана Франка, 2014. – 436 с.
15. Moat A., Foster J., Spector M. Microbial physiology. – J. Wiley & Sons, Inc., 2002 – 733 c.
16. Streips U., Yasbin R. Modern Microbial Genetics. – Wiley-Liss, Inc, 2002.
17. Richardson D. J. Bacterial respiration: a flexible process for a changing environment // Microbiology. – 2000. – v. 146. – P. 551–571.

18. Davey M. E., O’toole G. A. Microbial Biofilms: from Ecology to Molecular Genetics // Microbiology and Molecular Biology Reviews. – 2000. – V.64, N4. – P.847–867.19.

19. Palmer T., Berks B. C. Moving folder proteins across the bacterial cell membrane // Microbiology. – 2003. – V.149. – P. 547–556.

### 4.Форма підсумкового контролю успішності навчання

Підсумковий контроль – екзамен

### 5. Засоби діагностики успішності навчання

Дисципліна має два змістових модулі, які охоплюють матеріал усіх тем.

Знання студентів зі **змістових модулів 1**–**2** (тема 1–12) діагностують поточним і підсумковим контролем, які містять тестовий, письмовий та усний контроль, що оцінюють у 100 балів.

**Поточний контроль** – 50 балів. Змістовий модуль 1 (тема 1–6): тести, де кожне питання оцінюють в 1 бал, всього 10 питань – 10 балів; терміни, де кожне питання оцінюють в 1 бал, всього 5 питань – 10 балів. Разом 20 балів. Змістовий модуль 2 (тема 7–12): тести, де кожне питання оцінюють у 1 бал, всього 10 питань – 10 балів; теоретичне питання, яке оцінюють у 10 балів, всього 1 питання – 4 бали. Разом 14 балів.

Участь у семінарському занятті – 2 бали. Разом 16 балів.

**Підсумковий контроль** – **екзамен** – 50 балів. Тести, де кожне питання оцінюють у 1 бал, всього 10 питань – 10 балів; терміни: кожен термін оцінюють у 2 бали, всього 5 питань – 10 балів; теоретичні запитання, які оцінюють у 10 балів, всього 3 питання – 30 балів.

Автор \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_/ доц. Яворська Г. В. /